

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра биохимии

КОПОТЬ

Валерия Анатольевна

**КАТАЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С
АЗОЛСОДЕРЖАЩИМИ ЛИГАНДАМИ РЕКОМБИНАНТНОЙ
СТЕРОИД 21-ГИДРОКСИЛАЗЫ ЧЕЛОВЕКА**

АННОТАЦИЯ

к дипломной работе

Научный руководитель:

научный сотрудник

Лаборатории молекулярной диагностики и
биотехнологии

Государственного научного учреждения

«Институт биоорганической химии

Национальной академии наук Беларуси»

Сергеев Г.В.

Минск, 2014

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 53с., 10 рис., 7 табл., 34 источника

КАТАЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С АЗОЛСОДЕРЖАЩИМИ ЛИГАНДАМИ РЕКОМБИНАНТНОЙ СТЕРОИД 21-ГИДРОКСИЛАЗЫ ЧЕЛОВЕКА

ЦИТОХРОМ P450 21-ГИДРОКСИЛАЗА, СТЕРОИДЫ, АЗОЛЫ, ЦИТОХРОМ b_5

Объект исследования: рекомбинантный цитохром P450 стероид 21-гидроксилаза.

Цель: определение лиганд-связывающих и каталитических свойств цитохром P450 стероид 21-гидроксилазы.

Методы исследования: микробиологические (культивирование микроорганизмов), биохимические (электрофорез, колоночная хроматография), масс-спектральный анализ, спектрофотометрические и генетические (трансформация).

Использование метода колоночной хроматографии позволило получить рекомбинантный белок цитохром P450 21-гидроксилазу (CYP21) высокой степени очистки с концентрацией не менее 15 нмоль/мл. Очищенный белок проявлял типичное изменение в спектре при связывании с прогестероном и 17 α -гидроксипрогестероном, что свидетельствует о высокой степени сродства данных субстратов к ферменту. Среди 13 используемых азолов с различной структурой 9 из них (битертанол, кетоконазол, клотримазол, миконазол, пропиконазол, тебуконазол, ципроконазол, флюсилазол, эконазол) эффективно связывались с CYP21. Аффинность некоторых из них к CYP21 больше, чем к стероидным субстратам. Большие количества цитохрома b_5 могут снижать активность CYP21, мешая связыванию между NADPH-цитохром P450 редуктазой и CYP21.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 53с., 10 мал., 7 табл., 34 крыніцы

КАТАЛІТЫЧНЫЯ ЎЛАСЦІВАСЦІ І ЎЗАЕМАДЗЕЯННЕ З АЗОЛЗМЯШЧАЛЬНЫМІ ЛІГАНДАМІРЭКАМБІНАНТНАЙ СТЭРОІД 21-ГІДРАКСІЛАЗЫ ЧАЛАВЕКА

ЦЫТАХРОМ P450 21-ГІДРАКСІЛАЗА, СТЭРОІДЫ, АЗОЛЫ, ЦИТАХРОМ b_5

Аб'ект даследавання: рэкамбінантны цытахром P450 стэроід 21-гідраксілаза.

Мэта: выяўленне ліганд-звязваючых і каталітычных уласцівасцяў цытахром P450 стэроід 21-гідраксілазы.

Метады даследавання: мікрабіялагічныя (культываванне мікраарганізмаў), біяхімічныя (электрафарэз, калоначная храматаграфія), мас-спектральны аналіз, спектрафотаметрычныя і генетычныя (трансфармацыя).

Выкарыстанне метада калончатай храматаграфіі дазволіла атрымаць бялок высокай ступені ачысткі і канцэнтрацыяй ня менш 15 нмоль/мл. Ачышчаны бялок выяўляў тыповае змяненне ў спектры пры злучэнні з прагестэронам і 17 α -гідроксіпрагестэронам, што сведчыць аб высокай ступені роднасці дадзеных субстратаў да ферменту. Сярод 13 азолаў, якія выкарыстоўваліся, 9 з іх (бітэртанол, кетаканазол, клатрымазол, міканазол, прапіканазол, тэбуканазол, цыпраканазол, флюсілазол і эканазол) эфектыўна звязваліся з CYP21. Афіннасць некаторых з азолаў да CYP21 больш, чым у стэроідных субстратаў. Вялікія колькасці цытахрома b_5 могуць зніжаць актыўнасць, перашкаджаючы звязванню паміж NADPH-цытахром P450 рэдуктазай і CYP21.

