

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра биохимии

ЖАРИНОВ
Владислав Сергеевич

**ВЫДЕЛЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ЭКТОДОМЕНА ЭФРИНОВОГО
РЕЦЕПТОРА ТИПА A5 ИЗ ТЕЛЕЦ ВКЛЮЧЕНИЯ**

АННОТАЦИЯ
к дипломной работе

Научный руководитель:
зав. НИЛ биохимии обмена
веществ,
кандидат биологических наук
Шолух М. В

Минск, 2014

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 64 с., 15 рис., 8 табл., 47 источников.

ЭКСТРАКЦИЯ БЕЛКА, ТЕЛЬЦА ВКЛЮЧЕНИЯ, МОЧЕВИНА, ТРИС, РЕКОМБИНАНТНЫЙ БЕЛОК, ЭФРИНОВЫЙ РЕЦЕПТОР А5 –ТИПА, СУЛЬФИТОЛИЗ, ЭТИЛЕНГЛИКОЛЬ, ГЛИЦЕРИН.

Объектом исследования: является рекомбинантный эктодомен эфрин А5-типа из телец включения E.coli.

Цель: выделение рекомбинантного эктодомена рецептора эфрина А5-типа из телец включения E.coli.

В работе использовались спектрофотометрические методы определения белка и нуклеиновых кислот, методы очистки белка от нуклеиновых кислот и статистические методы обработки полученных данных.

Актуальность исследований обусловлена тем, что эфриновые рецепторы играют непосредственную роль в ангиогенезе, а так же при образовании лейкозов и прочих онкологических заболеваний. При успешном выделении, очистке и рефолдинге данного рецептора, откроется возможность использования его в качестве тест-системы для огромного спектра противоопухолевых препаратов.

В ходе исследований опробованы различные системы солюбилизации рекомбинантного эктодомена рецептора эфрина А5-типа. Установлено, что наиболее эффективной системой экстракции является раствор, содержащий 1 моль/л трис и 8 моль/л мочевины, при pH= 12,5. Сульфитолиз повышает эффективность экстракции целевого продукта, однако введение добавок, стабилизирующих белок, таких как этиленгликоль и глицерин, приводит к значительному снижению действия сульфитолиза и переводит белок в осадок.

Осуществлен подбор оптимального анионообменного сорбента для очистки рекомбинантного эктодомена рецептора эфрина А5-типа. Установлено, что DEAE– бисцеллюлоза в качестве анионообменного сорбента позволяет существенно снизить содержание нуклеиновых кислот в экстракте белка.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 64 с., 15 мал., 8табл., 47 крыніц.

ЭКСТРАКЦЫЯ, БЯЛКУ, ЦЕЛЬЦЫ ЎЛУЧЭННЯ, МАЧАВІНА, ТРИС, РЕКАМБІНАНТНЫ БЯЛОК, ЭФРИНОВЫЙ РЕЦЭПТАР А5 –ТЫПУ, СУЛЬФИТОЛИЗ, ЭТЫЛЕНГЛІКОЛЬ, ГЛІЦЭРЫН.

Аб'ект даследавання: рекомбинантны эктодомен А5-тыпу з цельцаў улучэння E.coli.

Мэта: вылучэнне рекомбінантнага эктодомена рэцэптара эфрина А5-тыпу з цельцаў улучэння E.coli.

У працы выкарыстоўваліся спектрафотаметрычныя метады вызначэння бялку і нуклеінавых кіслот, метады ачысткі бялку ад нуклеінавых кіслот і статыстычныя метады апрацоўкі атрыманых дадзеных.

Актуальнасць даследаванняў абумоўлена тым, што эфриневыя рэцэптары гуляюць наўпростую ролю ў ангиогенезе, а гэтак жа пры адукацыі лейкозаў і іншых анкалагічных захворванняў. Пры паспяховым вылучэнні, ачыстцы і рефолдінг-дадзенага рэцэптара, адкрыецца магчымасць выкарыстання яго ў якасці тэст-сістэмы для велізарнага спектра протівоопухлевых прэпаратаў.

Падчас даследаванняў апрабаваны розныя сістэмы солубілізацыі рекомбінантнага эктодомена рэцэптара эфрина А5 тыпу. Усталявана, што найбольш эфектыўнай сістэмай экстракцыі з'яўляецца раствор, утрымоўвальны 1 моль/л трис і 8 моль/л мачавіну, пры рН= 12,5. Сульфитолиз павялічвае эфектыўнасць экстракцыі мэтавага прадукту, аднак уводзіны дадаткаў, якія стабілізуюць вавёрак, такіх як этиленгліколь і гліцэрына, прыводзіць да значнага зніжэння дзеяння сульфитолиза і перакладае у асадак. Ажыццёўлены падбор аптымальнага аніёнапаменнага сарбенту для ачысткі рекомбінантнага эктодомена рэцэптара эфрина А5 тыпу. Усталявана, што DEAE – бисцеллюлоза ў якасці аніёнапаменнага сарбенту дазваляе істотна зменшыць утрыманне нуклеінавых кіслот у экстракце бялку.