

СЕКЦІЯ 12. УДОСКОНАЛЕННЯ ТЕХНОЛОГІЙ ОРГАНІЧНИХ РЕЧОВИН, ПЕРЕРОБКИ ГОРЮЧИХ КОПАЛИН І ПРОДУКТІВ ХАРЧУВАННЯ

ВЕРИФИКАЦІЯ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНИХ БЕЛКОВ С ПОМОЦЬЮ РАЗЛИЧНИХ МЕТОДОВ ЕЛЕКТРОФОРЕЗА

Апальков Б.Р., Климова Е.М., Огурцов А.Н.

Национальный технический университет

«Харьковский политехнический институт», г. Харьков

Низкомолекулярные белки необходимы для тонкой регуляции метаболических процессов и очень важны как для диагностики, так и для направленного лечения различных заболеваний [1]. На современном этапе развития биотехнологической промышленности существует целый ряд проблем, одна из которых – верификация минорного количества целевого продукта.

Одним из самых эффективных методов верификации белков является электрофорез, поскольку он позволяет определить молекулярный вес белков и их суммарный заряд, что является необходимой информацией для выбора метода очистки целевого продукта. Однако не все виды электрофореза одинаково эффективны в различных случаях.

Для верификации низкомолекулярных белков были использованы методы капиллярного электрофореза, электрофореза в полиакриламидном геле и зимография. В качестве источника целевых белков была взята сыворотка крови человека и цитозольная фракция ткани вилочковой железы человека. Данные образцы были выбраны, поскольку они содержат широкий спектр белковых фракций, молекулярный вес которых находится в пределах от 10 да 300 кДа.

В ходе исследования были доработаны и усовершенствованы методики определения низкомолекулярных белков: шаперонов (белки теплового шока, БТШ) и металлопротеиназ.

Для верификации шаперонов самым эффективным методом оказался капиллярный электрофорез благодаря высокой разрешающей способности, обусловленной электроосмотическим потоком на стенках капилляра, в котором происходит разделения смеси белков [2].

В тоже время для верификации металлопротеиназ был выбран метод зимографии, так как с помощью этого метода возможно определить не только качественно и количественно данный белок, но и определить его ферментативную активность за счёт сополимеризации субстрата данного фермента в разделяющий гель.

Усовершенствование методик позволило определить большее количество белковых фракций, что, в свою очередь, позволяет более качественно оценивать чистоту конечного продукта биотехнологического производства.

Литература:

1. Berg J.M. Biochemistry, 7th Ed. / J.M. Berg, J.L. Tymoczko, L. Stryer. – New York : W.H. Freeman and Company, 2012. – 1224 p.

2. Апальков Б.Р. Разработка и верификация технологии производства рекомбинантных шаперонов – регуляторов апоптозного каскада :дипл. работа / Б.Р. Апальков. – Харьков, 2016. – 100 с.