**Daganatos megbetegedésekben jelentős szerepet játszó rendezetlen fehérjék új tisztítási módszereinek kidolgozása**

A szerkezeti és biokémiai vizsgálatokhoz a fehérjéket rekombináns technikával, bakteriális illetve rovarsejtes expressziós rendszerekben állítjuk elő. Az expresszált fehérjék tisztításának egyik legegyszerűbb módja a fémkelát affinitás kromatográfia, ahol a tisztítani kívánt fehérje His-tag fúzionált formáját fejeztetjük ki. A kereskedelmi forgalomban elérhető Ni-NTA oszlopos tisztítás során azonban e tisztítási lépés hatásfoka az esetek túlnyomó részében nem elegendő. A rendezetlen fehérjék Ni-NTA affinitás kromatográfiás tisztítása azért is nehézségekbe ütközhet, mert jelentős flexibilitásuk miatt a fúziós His-tag hozzáférhetősége csökkenhet.

Együttműködésünk célja olyan új, mágneses nanorészecskékhez (MNP) kötött kelátorok kialakítása és tesztelése, melyek az általánosan elterjedt Ni-NTA agaróznál jobb hatékonysággal kötik meg a His-tag fuzionált fehérjéket, különös tekintettel a rendezetlen fehérjeszakaszokra.

E célból két MNP affinitáshordozó sorozat vizsgálatát tervezzük: az egyik sorozat az EDTA anhidridből kialakított trifunkciós fémkötőt rövid hidrofób szakaszon át, a felszínhez közel tartalmazza, míg a másik sorozat ugyanezen fémkötő egységet egy hosszabb, hidrofil karon át, a felszíntől távolabb hordozza. A két sorozat különböző tagjai a nikkel- és kobaltionoknál kevésbé mérgező, és jobb ligandkötő képességű lantanida és egyéb nehézfémionokkal (14 különböző fémion) töltött MNP hordozók.

Vizsgálataink folytatásaképpen az optimális affinitásanyagok segítségével megtisztított fehérjékkel különböző szerkezeti és biokémiai vizsgálatokat tervezünk. Olyan fehérjék vizsgálatát tervezzük, melyek összefüggésbe hozhatóak különböző daganatos megbetegedésekkel. llyen fehérjék a mátrix metalloproteináz 9, a B-cell CLL/lymphoma 9 protein és a DNA mismatch repair protein.

