

Daganatos megbetegedésekben jelentős szerepet játszó rendezetlen fehérjék új tisztítási módszereinek kidolgozása



Dr. Tantos Ágnes
MTA TTK Enzimológiai Intézet
Rendezetlen fehérjék kutatócsoport



Kutatási témái

- ◆ A rendezetlenség szerepe a rákos megbetegedésekkel összefüggő processzív enzimek működésében.
- ◆ Rendezetlen fehérjék szerkezeti adaptációjának vizsgálata.
- ◆ Rendezetlen chaperon fehérjék szerkezet-funkció összefüggéseinek tanulmányozása.



Dr. Poppe László
BME Szerves Kémia és Technológia Tanszék
BioOrganikus Kémia Kutatócsoport



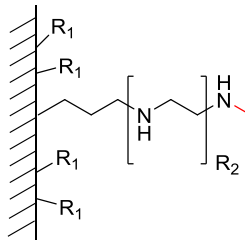
Kutatási témái

- ◆ Biokatalízis: enzimek és egész sejt rendszer alkalmazása sztereoselektív szintézisekben
- ◆ Mini és mikrofluidikai rendszerek alkalmazása kemoenzimikus folyamatokban
- ◆ Enzimek előállítása, tisztítása, mechanizmusvizsgálata és rögzítése

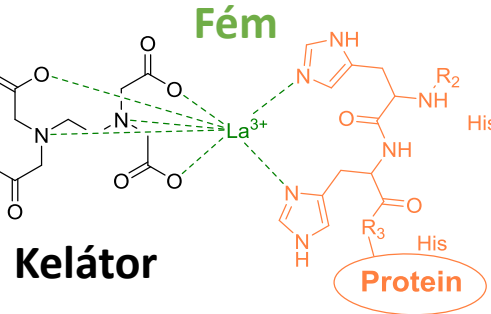
DisProPur

Az együttműködés előzménye

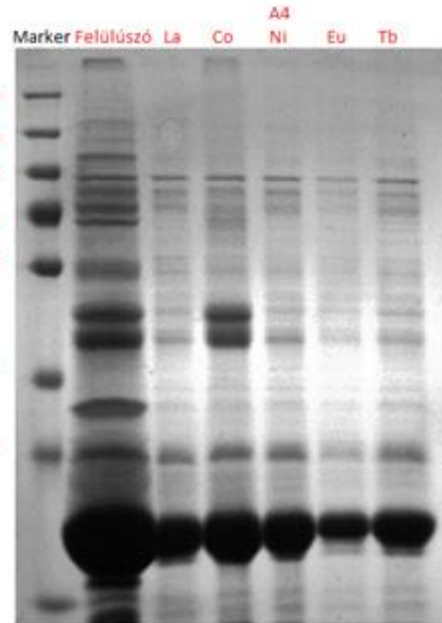
Hordozó



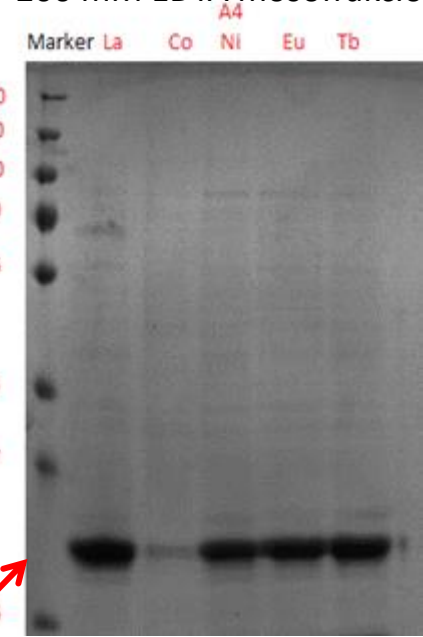
Linker



„Áteső” felülúszó frakciók



200 mM EDTA mosófrakciók



Humán dUTPáz: legjobb eredmény a La^{3+} ionokkal

IMAC hordozók fejlesztése

Szilikagélek

- Magas mechanikai stabilitás
- Könnyű funkcionálizálás
- Definiált szemcse- és pórusméret
- Davisil szilikagélek
- 40-63µm szemcseméret, irreguláris
- 250 / 500 / 1000Å pórusméret
- Funkciós csoport nélküliek

SZELLEMI TULAJDON NEMZETI HIVATALA
Budapest V., Garibaldi utca 2.
Postacím: 1374 Budapest, Pf. 552
Telefon: 312 4400

Iktatás

Iktatószám	Iktatás dátum	Iktatta
1217112	2012.05.30.	Káldi M.

P.feat: Szabadalom / Bejelentés*

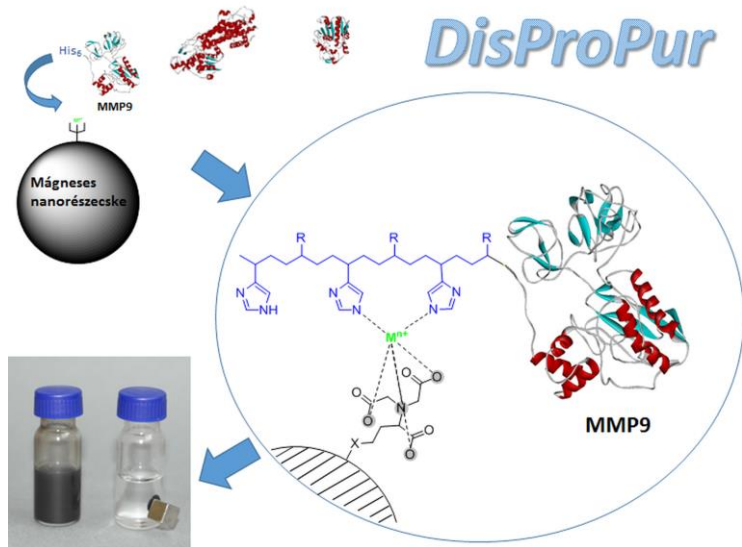
Ügyszám: **P1200327**
Ügyiratszám: **P1200327 / 1**
Ügyintéző:
Benyújtó: BUDAPESTI MŰSZAKI ÉS GAZD
Képvisele:
Tárgy: FEMKOMPLEXÁLÓ LIGANDUMOKKAL ÉS S

Benyújtott iratok:

Bejelentési kérelem	(db)	1
Meghatározás	(db)	1
Leírás	(db)	3
Kivonat	(db)	3
Igénypont	(db)	3
Rajz	(db)	12

SZELLEMI TULAJDON NEMZETI HIVATALA
SZ/TNH/2011/05

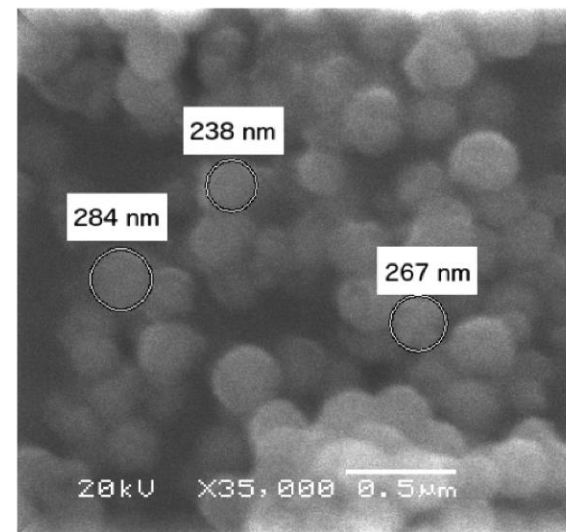
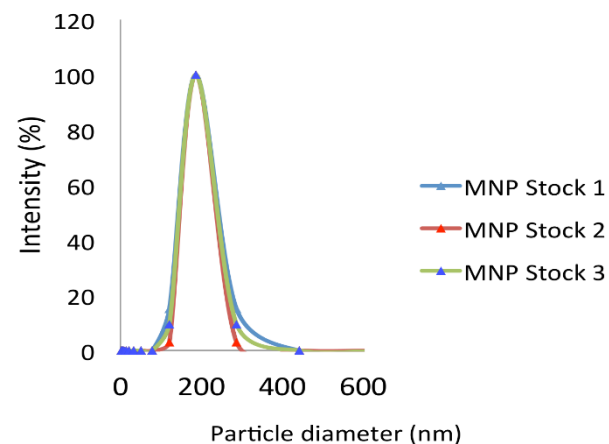
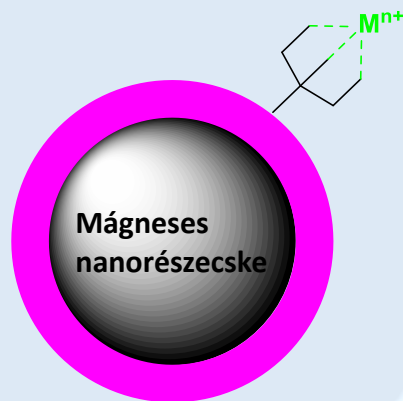
Az együttműködés célja



- ◆ **Új, mágneses nanorészecskékhez (MNP) kötött, nem konvencionális fémionokat kötő kelátorok tesztelése**
Cél: a Ni-NTA agaróznál jobb hatékonyságl a His-tag fuzionált fehérjék megkötése során.
- ◆ **Két, EDTA anhidridből kialakított trifunkciós fémkötőt hordozó MNP – fémion sorozat vizsgálata**
A sorozat: MNP – kelátor kötése hosszabb, hidofil karral
B sorozat: MNP – kelátor kötés rövid hidrofób karral
- ◆ **Három, a Ni-NTA agarózhoz gyengén kötődő rendezetlen fehérje/fehérjeszakasz tisztítása**
Tisztítási / rögzítési lehetőségek vizsgálata és optimalizálása az új MNP – fémion sorozatok segítségével.

Az MNP affinitáshordozók előállítása

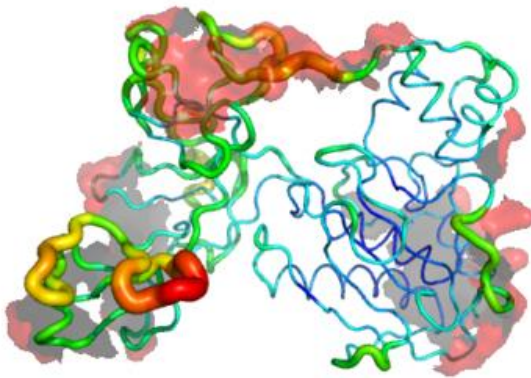
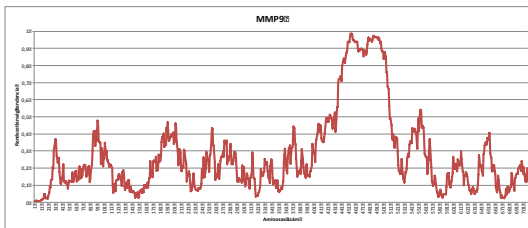
- ◆ Vas(II,III)-oxid mágneses nanorészecskékhez (MNP) előállítása szolvotermál módszerrel
- ◆ Felszín bevonása szilícium-oxid réteggel
- ◆ A szilícium-oxid réteg felszínén a kelátor egység kialakítása
- ◆ A kelátort tartalmazó MNP feltöltése különböző fémionokkal



A vizsgálni kívánt rendezetlen fehérjék

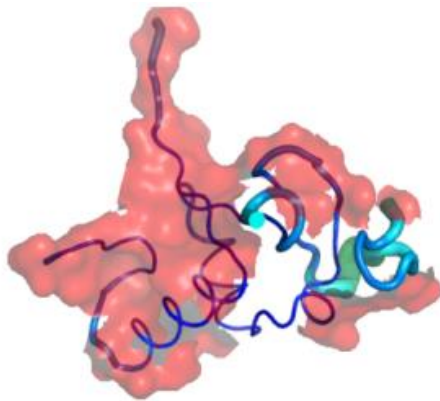
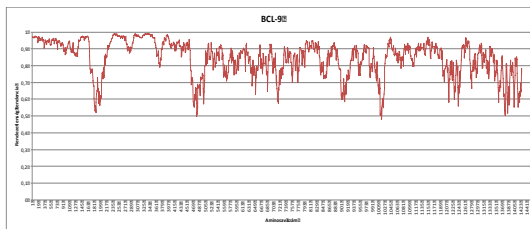
Az új affinitás-MNP sorozatokat három, daganatos megbetegedésekben szerepet játszó, a Ni-NTA agarózhoz gyengén kötődő rendezetlen fehérje/fehérjeszakasz – a mátrix metalloproteináz 9 (MMP9), a B-cell CLL/lymphoma 9 protein (BCL9) és a DNA hibajavító protein (hMLH1) – tisztításával és megkötésével teszteljük.

Mátrix metalloproteináz 9 (MMP9)



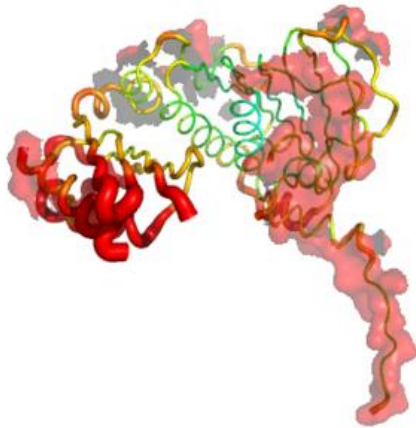
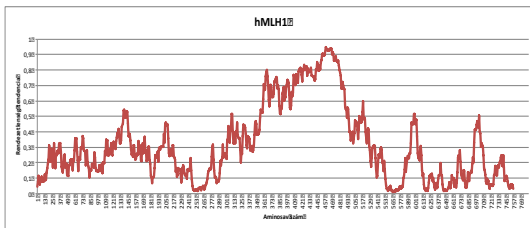
Mátrix metalloproteináz 9 (MMP9):
az extracelluláris mátrix komponenseit
bontó processzív enzim, melynek a
daganatos sejtek áttétképzésében
tulajdonítanak jelentőséget.

B-cell CLL/lymphoma 9 protein (BCL9)



B-cell CLL/lymphoma 9 protein (BCL9): a Wnt jelátviteli útvonal egyik fehérjéje, melyről kimutatták, hogy emeli a β -katenin transzkripciós aktivitását, ez pedig hozzájárul a kolorektális karcinóma kialakulásához.

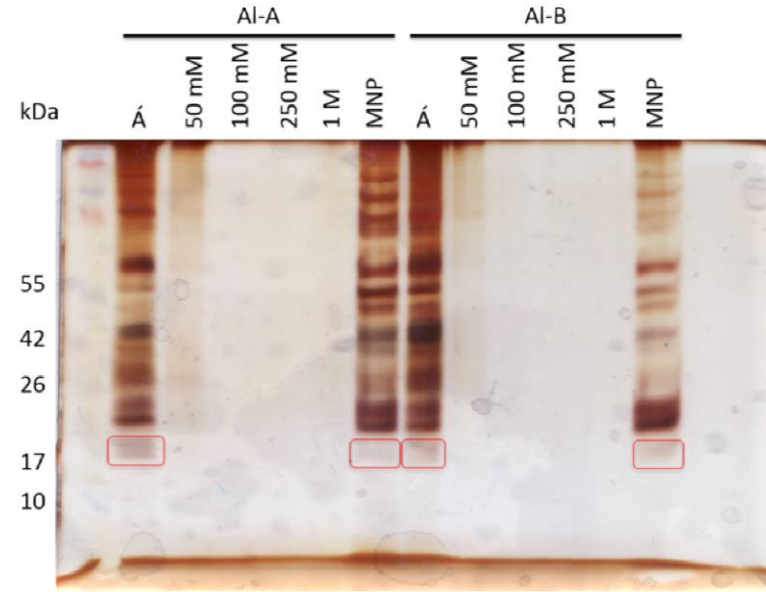
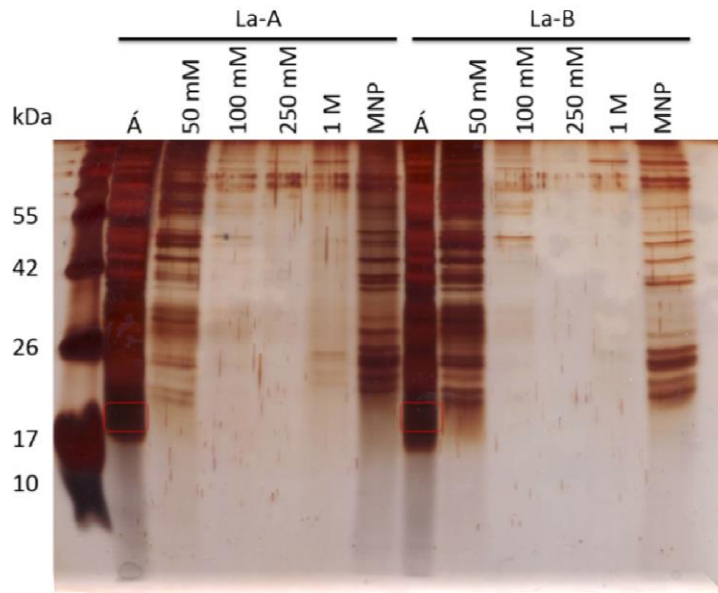
DNA mismatch repair protein (hMLH1)



DNA mismatch repair protein (hMLH1):
az egyik DNS hibajavító mechanizmus
kulcsenzime, hiányában több rákos
megbetegedés kockázata is megnő.

Néhány kezdeti eredmény

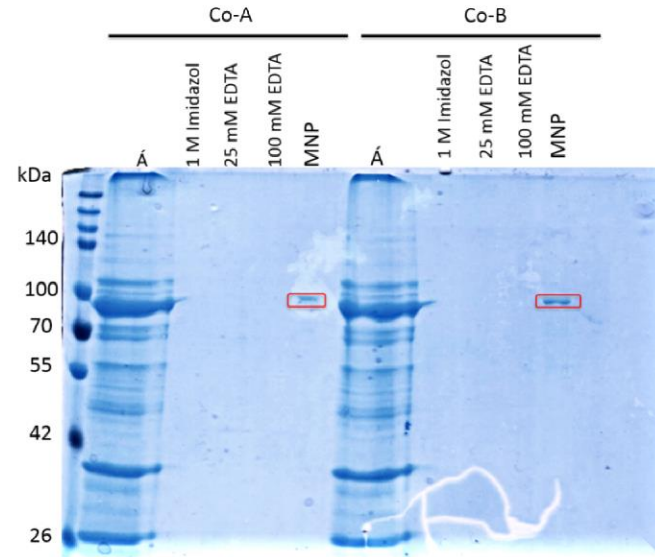
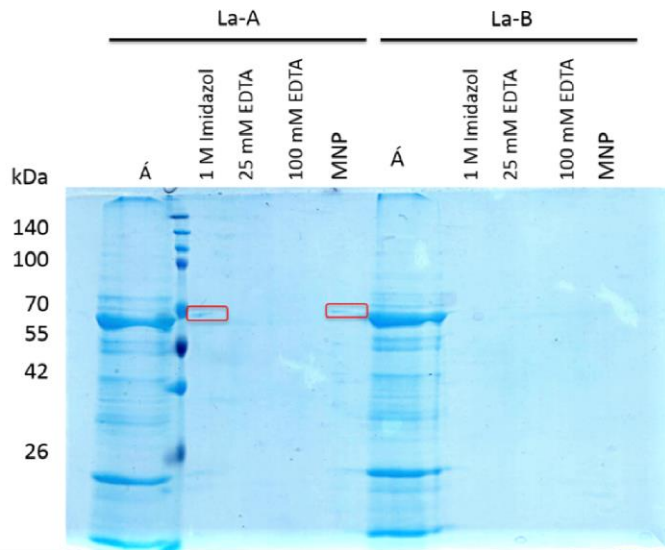
A vizsgált protein: MMP9
 Imidazolozos lemosási
 eredmények két fémion
 (Al^{3+} és La^{3+} esetében)



Á: áteső frakció;
 Imidazol: 50 mM, 100 mM, 250 mM és 1 M
 koncentráció;
 MNP: a mágneses nanogyöngyből vett minta,
 minden, amit 1 M imidazol se mosott le
 -> **Kötődés? Detektálás?**

Néhány kezdeti eredmény

A vizsgált protein: hMLH1
 Imidazolós és EDTA-s lemosási
 eredmények Co^{2+} és La^{3+}
 esetében



Á: áteső frakció;

Imidazol: 1 M koncentráció;

EDTA: 25 mM és 100 mM

MNP: a mágneses nanogyöngyből vett minta,
 minden, amit 1 M imidazol és 100 mM EDTA
 se mosott le

-> Co rögzítésre, La tisztításra alkalmasabb

KÖSZÖNJÜK A FIGYELMET!



MTA TTK Enzimológiai Intézet
Rendezetlen fehérjék kutatócsoport

KÖSZÖNET:

Tompa Péter
Szabó Beáta



OTKA 105049



BME Szerves Kémia és Technológia Tanszék
BioOrganikus Kémia Kutatócsoport

KÖSZÖNET:

Oláh Márk
Weiser Diána



KMR_12-1-2012-0140