



Pannon Egyetem
MÜKKI

TDK téma címe: Flagellin variánsok szerkezeti és hőstabilitásának vizsgálata CD spektrométerrel

Témavezető(k):

Dr. Vonderviszt Ferenc,
Kakasi Balázs

A kidolgozás helyszíne(i): Bio-nanotechnológiai és Műszaki Kémiai
Kutatóintézet, Bio-Nanorendszerek Kutatólaboratórium

A téma rövid bemutatása:

A baktériumok elsődleges mozgásszervei a flagellumok. Ennek a baktériumok felszínén található ostorszerű képződménynek jelentős részét, a flagelláris filamentumot a flagellin fehérje több ezer példánya építi fel. A flagellin polimerizálódásra képes, ennek az önszerveződő képességnek köszönhető az is, hogy képes filamentumot formálni. A molekula 4 doménből áll, amelyek közül a D0 és a D1 domén egy része felel a polimerizációs képesség kialakításáért, miközben polimer formában mindig a D3 domén fordul a közeg felé. A flagellin jelentős mennyiségben termeltethető és viszonylag egyszerűen preparálható és tisztítható a baktériumsejtek feltárása nélkül. Más előnyös tulajdonságaival egyetemben ezek is hozzájárulnak ahhoz, hogy vázmolekulaként alkalmazzuk és génszabási módszereket alkalmazva számunkra kedvező tulajdonságokkal ruházzuk fel.

A kutatólaboratóriumunkban számos flagellin variánst hoztunk létre, amelyek különféle molekulafelismerési vagy katalitikus tulajdonságokkal rendelkeznek. Az újonnan létrehozott flagellin variánsok a vad típusú flagellinhez képest esetenként jelentős szerkezeti módosulásokat hordoznak, melyek hatással vannak a molekula stabilitására illetve befolyásolhatják a termeltethetőséget és a termeltetéshez szükséges protokollok paramétereit.

A CD (cirkuláris dikroizmus) spektroszkópia egy korszerű eljárás a fehérjék jellemző másodlagos szerkezeti tulajdonságainak meghatározására és szerkezeti stabilitásának vizsgálatára.

A hallgató elsődleges feladata az egyes flagellin variánsok szerkezeti- és hőstabilitásának meghatározása monomer és filamentum formában egyaránt. A munka során felmerülő feladatok közé tartozik az egyes flagellinvariánsok preparálása és tisztítása, a módosított flagellin konstrukciók számítógépes molekulamodelljezése (Chimera és Jalview programokkal), a rendelkezésre álló Jasco 1100 típusú CD spektrométerrel a molekulák stabilitásának vizsgálata és kontrollokhoz viszonyítása. Ezen kívül esetleges részvétel a fehérjék további kötőtulajdonságainak meghatározásában ITC (izotermális titrációs kalorimetria) illetve DPI (kettős polarizációs interferometria) módszerekkel valamint új konstrukciók létrehozásában génszabási módszerek segítségével.

A munka során a jelölt elsajátítja a bakteriális fehérje preparálás és tisztítási folyamat módszereit, illetve megismerkedik a molekulamodelljezés alapjaival és a CD spektroszkópia módszereivel. Ezeken kívül betekintést nyerhet a rekombináns DNS technológia elméletébe és gyakorlati alkalmazásába, továbbá megismerkedhet korszerű jelölés nélküli optikai bioszenzorokkal és mérési technikákkal.

Előfeltétel: Angol nyelv ismerete. Ajánlott a Biokémia, Biopolimerek, Rekombináns DNS technológia kurzusok előzetes hallgatása. Érdeklődés, lelkesedés a téma iránt, nyitottság új kísérleti technikák megismerésére.

Kapcsolat: balazs.kakasi@mukki.richem.hu