

Diplomamunka feladat vegyész mérnök mesterszak

Szakirány:	Biotechnológia
Diplomamunka címe:	Glikánok részleges fragmentálására alkalmas immobilizálható rekombináns enzimek tervezése és előállításuk diagnosztikai alkalmazásokhoz
Diplomamunka kidolgozásának helye:	Bio-nanotechnológiai és Műszaki Kémiai Kutatóintézet
Témavezető neve, beosztása:	Jankovics Hajnalka, tudományos munkatárs
Konzulens:	

Feladat részletezése (speciális követelmények, határidők): A fehérjékhez kötött szénhidrátok (más néven glikánok) fontos szerepet játszanak különböző anyagcsere és jelátviteli folyamatokban, részt vesznek többek között a fehérjék térszerkezetének kialakításában, a molekuláris felismerésben, az immunitás kialakításában. Az N-glikánok az aszparagin oldalláncán keresztül kapcsolódnak a fehérjékhez ko- és poszttranszlációs módosulások során, méretük viszonylag nagy, szerkezetük többszörösen elágazó, bonyolult. A glikánok szerkezeti változatossága az őket szintetizáló enzimek expressziós szintjétől és aktivitásától függ, ami patológiai körülmények között megváltozhat, így ezek a molekulák biomarkerként is használhatók, segítségükkel lehetővé válhat betegségek korai diagnózisa, költséghatékonyabb és kíméletesebb kezelése. A hordozó fehérjéről lehasított glikánokat kisebb részegységekre bontva lehet pl. kapilláris elektroforézissel csatolt tömegspektrometriával (CE-MS) analizálni.

A glikánok a fehérjékről a PNGase F enzim segítségével távolíthatók el, specifikus, és így kontrollált fragmentálásuk többek között a szialidáz, galaktóz-aminidáz és hexóz-aminidáz enzimekkel kivitelezhető. Ezek az enzimek, bár kereskedelmi forgalomban kaphatóak, beszerzésük – különösen a diagnosztikai módszer kidolgozásához szükséges mintaszámnál – rendkívül költséges. Ezen felül egy nagy áteresztőképességű módszer alkalmazásánál hasznos tulajdonság, ha ezek az enzimek szilárd hordozóra rögzíthetőek, illetve többször újrahasználhatóak.

A jelölt feladata: A diplomamunka célja a fent említett enzimek közül legalább kettő immobilizálható formájának megtervezése molekulamodellezési eszközökkel, aktív centrumuk térbeli orientációját szem előtt tartva. A génszintézis és fehérjemérnökség eszközeivel a jelöltnek létre kell hoznia olyan baktériumtörzseket, melyek alkalmasak az egyes fehérjék nagy mennyiségű, aktív formájú termeltetésére. Ki kell dolgoznia a termeltetett fehérjék kinyerésére illetve tisztítására alkalmas eljárásokat, melyekben külön figyelmet fordít az egyes enzimek cisztein tartalmára, a diszulfidhidak megfelelő kialakulásának biztosítására. Végül, ha mindegyik enzimből rendelkezésére áll megfelelő mennyiségű és tisztaságú minta, azok helyes feltekeredését is igazolhatja, biológiai aktivitás mérésével.

Alkalmazott vizsgálati módszerek: génszintézis, fehérjemérnökség, gélelektroforézis, affinitás kromatográfia, kapilláris elektroforézissel csatolt enzimaktivitás mérés

Speciális követelmények: -

Részfeladatok teljesítésének határideje: legalább 1 enzim tervezése, klónozása termeltetése és tisztítása az első félév végére.

Dátum: 2019. június 13.	
Témavezető aláírása	Intézeti tanszékvezető aláírása