

Honlap

- **Magyar nyelvű**

Elérhetőségek-Munkatársak:

Név	Munkakör
Husztiné Dr. Nagy Georgina	tudományos munkatárs

Papné Klein Ágnest kivenni a táblázatból

- **Angol nyelvű**

Contacts - Staff

Barát-Jankovics, Hajnalka helyett Jankovics, Hajnalka

Beleírni a sorba: Kovács Noémit, Gácsi Esztert, Kakasi Balázst és Husztiné Nagy Georginát

Papné Klein Ágnest kivenni a táblázatból

Bio-Nanorendszerek Kutatólaboratórium

- **Magyar nyelvű**

Munkatársak

Dr. Vonderviszt Ferenc, DSc, egyetemi tanár, kutatócsoport vezető

Dr. Jankovics Hajnalka, PhD, tudományos munkatárs

Husztiné Dr. Nagy Georgina, PhD, tudományos munkatárs

Kakasi Balázs, MSc, ügyvivő szakértő

Tóth Éva, MSc, tanszéki mérnök

Gácsi Eszter, MSc, tanszéki mérnök

Kovács Noémi, BSc, egyetemi hallgató

Kutatási tevékenység

Glikánok részleges fragmentálására alkalmas immobilizálható rekombináns enzimek tervezése és előállítása

A fehérjékhez kötött szénhidrátok (más néven glikánok) szerkezeti változatossága az őket szintetizáló enzimek expressziós szintjétől és aktivitásától függ. A glikánok szerkezete patológiás körülmények közt megváltozhat, így ezek a molekulák biomarkerként használhatók bizonyos betegségek korai diagnózisában. A hordozó fehérjéről lehasított glikánokat kisebb részegységekre bontva lehet pl. kapilláris elektroforézissel csatolt tömegspektrometriával (CE-MS) analizálni.

A glikánok fehérjékről történő lehasítását és specifikus, kontrollált fragmentálását a megfelelő enzimekkel lehet elvégezni. Kutatócsoportunk képes a génszintézis és fehérjemérnökség eszközeivel olyan baktériumtörzseket létrehozni, melyek alkalmasak az egyes enzimek nagy mennyiségű, aktív formájú termelésére. Ezen felül lehetőség van a fehérjék szilárd hordozóra való rögzítésére, ezáltal az enzimek többször felhasználhatóak.

Szolgáltatások

Tevékenységek:

- Nagy tapasztalattal rendelkezünk rekombináns fehérjék bakteriális termelésében és tisztításában
- Molekulamodellálás és irányított mutagenézis alkalmazásával képesek vagyunk fehérjék célzott átalakítására
- Vállaljuk fehérje – ligandum kölcsönhatások kalorimetriás és spektroszkópiai jellemzését
- A cirkuláris dikroizmus (CD) spektroszkópiával lehetőségünk van a fehérjék szerkezetének, illetve szerkezetváltozásainak elemzésére

Főbb műszereink:


- izotermális titrációs mikrokaloriméter
- fluoreszcencia és UV spektrofotométer
- sötétlátóterű és fluoreszcens mikroszkóp
- kettős polarizációs interferométer
- PCR
- FPLC kromatográfiás rendszer
- CD spektroszkóp

Témakiírások - TDK témák

1. Glikánok részleges fragmentálására alkalmas immobilizálható rekombináns enzimek tervezése és előállítása diagnosztikai alkalmazásokhoz

Diplomamunka feladat vegyészmérnök mesterszak	
Szakirány:	Biotechnológia
Diplomamunka címe:	Glikánok részleges fragmentálására alkalmas immobilizálható rekombináns enzimek tervezése és előállítása diagnosztikai alkalmazásokhoz
Diplomamunka kidolgozásának helye:	Bio-nanotechnológiai és Műszaki Kémiai Kutatóintézet
Témavezető neve, beosztása:	Jankovics Hajnalka, tudományos munkatárs
Konzulens:	
<p>Feladat részletezése (speciális követelmények, határidők): A fehérjékhez kötött szénhidrátok (más néven glikánok) fontos szerepet játszanak különböző anyagcsere és jelátviteli folyamatokban, részt vesznek többek közt 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 patológiás körülmények közt 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.</p> <p>A glikánok a fehérjékről a PNGase F enzim segítségével távolíthatóak el, specifikus, és így kontrollált fragmentálásuk többek közt 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.</p> <p>A jelölt feladata: A diplomamunka célja a fent említett enzimek közül legalább kettő immobilizálható formájának megtervezése molekulamodellézési eszközökkel, aktív centrumuk térbeli orientációját szem előtt tartva. A génszétszét és fehérjemérnökség eszközeivel a jelöltnek létre kell hoznia olyan baktériumtörzseket, melyek alkalmasak az egyes fehérjék nagy mennyiségű, aktív formájú termeltetésére. Ki kell dolgoznia a termelt 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.</p> <p>Alkalmazott vizsgálati módszerek: génszétszét, fehérjemérnökség, gélelektroforézis, affinitás kromatográfia, kapilláris elektroforézissel csatolt enzimaktivitás mérés</p> <p>Speciális követelmények: -</p> <p>Részfeladatok teljesítésének határideje: legalább 1 enzim tervezése, klónozása termeltetése és tisztítása az első félév végére.</p>	
Dátum: 2019. június 13.	
Témavezető aláírása	Intézeti tanszékvezető aláírása

2. Flagellin variánsok szerkezeti és hőstabilitásának vizsgálata CD spektrométerrel

	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: <p>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 génebézészeti módszereket alkalmazva számunkra kedvező tulajdonságokkal ruházzuk fel.</p> <p>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.</p> <p>A CD (cirkuláris dikroizmus) spektroszkópia egy korszerű eljárás a fehérjék jellemző másodlagos szerkezeti tulajdonságainak meghatározására és szerkezeti stabilitásának vizsgálatára.</p> <p>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 molekulamodellézése (Chimera és Jalview programokkal), a rendelkezésre álló Jasco 1100 típusú CD spektrométerrel a molekulák stabilitásának vizsgálta 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 génebézészeti módszerek segítségével.</p> <p>A munka során a jelölt elsajátítja a bakteriális fehérje preparálás és tisztítási folyamat módszereit, illetve megismerkedik a molekulamodellézés alapjaival és a CD spektroszkópia módszereivel. Ezeken kívül betekintést nyerhet a rekombináns DNS technológia elméletébe és gyakorlati alkalmazásaiba, továbbá megismerkedhet korszerű jelölés nélküli optikai</p>		

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

3. Sejtadhéziót elősegítő flagellin variánsok kötőtulajdonságainak vizsgálata optikai mikroszkóppal



Pannon Egyetem MÜKKI

TDK téma címe: Sejtadhéziót elősegítő flagellin variánsok kötőtulajdonságainak vizsgálata optikai mikroszkóppal

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 sejtadhézió minden többsejtes élőlény esetében alapvető fontosságú folyamat. A sejtadhézió, a sejtkitapadás és a sejt-szubsztrátum kontaktzóna tulajdonságainak és mechanizmusainak megismerése nagy jelentőséggel bír, hiszen az ismeretanyag segítségével számos speciális biomimetikus anyag állítható elő, fontos bioszenzorikai, orvosbiológiai alkalmazásai vannak (pl.: gyógyszerfejlesztés, implantátumok) és megteremti a szövet mérnökség alapjait.

A baktériumok flagelláris filamentumait a négy doménből felépülő flagellin fehérje több ezer példánya alkotja. A filamentumok felszínén elhelyezkedő hipervariábilis D3 domén a flagellin polimerizációs képességének megzavarása nélkül módosítható, de helyére akár más fehérjék vagy specifikus kötőmotívumok is beépíthetők. A flagellin variánsok filamentumokat formálnak a sejtek felszínén, ahonnan könnyen leválaszthatók, az alkotó alegységek nagy mennyiségben, egyszerűen izolálhatók.

Korábbi munkánk során számos sejtadhéziót elősegítő flagellin variánst hoztunk létre, melyekben a D3 domén helyére a sejt felszíni integrin receptorokhoz kötődni képes rövid aminosav szekvenciákat építettünk be. Bizonyított, hogy a flagellin molekulák hidrofób felületeken képesek orientált monorétegek kialakítására, továbbá ismeretes, hogy a vad típusú flagellin sejtaszító hatású, míg az RGD motívumot hordozó flagellin variáns elősegíti a sejtek kitapadását. Ezek különböző arányú keverékeinek alkalmazásával hangolható a felületen a sejtadhézió. Az RGD variánssal már több kísérletet végeztünk, azonban számos más integrinkötő motívummal ellátott flagellin variánssal még nem végeztünk sejtadhéziós vizsgálatokat

A hallgató elsődleges feladata a már létrehozott integrinkötő flagellin variánsokkal történő sejtadhéziós kísérletek kivitelezése illetve azok értékelése. A munka során a jelölt hidrofób felületű műanyag Petricsészék felszínén az egyes flagellin variánsokból illetve ezek keverékeiből orientált monoréteget hoz létre, melyre rákos sejtvonalakhoz tartozó sejteket juttat és a sejtek morfológiai tulajdonságai alapján mikroszkópos sejtszámlálással meghatározza a kialakított felületek sejtadhéziós tulajdonságait.

A munka során a jelölt elsajátítja a bakteriális fehérje preparálás és tisztítás módszereit,

megismeri és rutinszeren alkalmazza az eukarióta sejtvonalak fenntartásának mikéntjét továbbá különböző mikroszkópos technikákat. Ezeken kívül s munka egyes fázisai során betekintést nyerhet a rekombináns DNS technológia elméletébe és gyakorlati alkalmazásaiba, megismerkedhet korszerű jelölés nélküli optikai bioszenzorokkal és mérési technikákkal. a molekulamodellezés alapjaival illetve flow citométeres mérési módszerekkel is.

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

Kapcsolat: balazs.kakasi@mukki.richem.hu

Bio-Nanosystems Laboratory

Members

Ferenc Vonderviszt, DSc, Vice-Rector, Director, Professor

Hajnalka Jankovics, PhD, Research fellow

Georgina Husztiné Nagy, PhD, Research fellow

Balázs Kakasi, MSc, Managing expert

Éva Tóth, MSc, Department engineer

Gácsi Eszter, MSc, Department engineer

Kovács Noémi, BSc, University student

Research topics

Design and production of immobilizable recombinant enzymes suitable for partial fragmentation of glycans

The structural variability of protein-bound carbohydrates (also called glycans) depends on the expression level and activity of the enzymes that synthesize them. The structure of glycans can change under pathological conditions, so these molecules can be used as biomarkers in the early diagnosis of certain diseases. Glycans cleaved from carrier protein and fragmented into smaller subunits can be analysed by capillary electrophoresis coupled mass spectrometry (CE-MS).

Cleavage and specific, controlled fragmentation can be accomplished with appropriate enzymes. Using genetic engineering, our research group is able to create such bacterial strains that are capable of producing large quantities of active enzymes. In addition, it is possible to attach the proteins to a solid support, so that the enzymes can be used several times.

