



**Pannon Egyetem
Mérnöki Kar**



TDK téma címe:

A glikoproteinek N-glikánjait savas közegben hasító PNGase H⁺ enzim hatékony előállítására diagnosztikai célokra

Témavezető(k):

Jankovics Hajnalka

A kidolgozás helyszíne(i):

Bio-nanotechnológiai és Műszaki Kémiai Kutatóintézet
Bio-Nanorendszerek Kutatólaboratórium

A téma rövid bemutatás:

A fehérjék N-glikozilációjának vizsgálata a biotechnológiai kutatások aktív területe, mivel minden antitest, számos bioterápiás szer, valamint extracelluláris és sejt felszíni fehérje hordozza ezeket a poszttranszlációs módosításokat. A terápiás glikoproteinek részletes elemzése nagy jelentőséggel bír, mivel a gyógyszerek minősége és hatékonysága nagymértékben függ a glikánrészek felépítésétől. A peptid-N4-(N-acetil-β-glükózaminil) aszparagin amidázok (PNGázok) enzimatikusan szabadítják fel az aszparaginhoz kötött glikánrészeket a glikoproteinekből, így a glikoterápiás szerek elemzésének értékes eszközei. A bioanalitikai alkalmazásokban használt PNGázok egy alcsoportja az eukarióta glikoproteinek széles skálájával szemben aktív, beleértve a növényekből és rovarokból származó glikoproteineket is. Ezen túlmenően ezen enzimek alacsony pH-optimuma különösen érdekes a savas körülményeket igénylő analitikai módszerek, például a gyors N-glikán-származékképzési módszerek vagy a glikoproteinek hidrogén-deutériumcsere tömegspektrometriája (HDX-MS) számára.

Nemrégiben leírtak egy talajbaktériumból származó PNGáz enzimet, melynek aktivitása meglepően alacsony pH-n, 2,5 körül maximális. Az enzim a Terriglobus roseusból származik, E. coli-ban rekombinánsan expresszálták, és PNGase H⁺-nak nevezték el. Bár a Terriglobus roseusból származó PNGáz H⁺ enzimaktivitását sikeresen lehetett használni a hagyományos N-glikán analitikai protokollokban, az analitikai munkafolyamatok szélesebb körében való felhasználását hátráltatják az enzim nagyobb léptékű expressziójának és tisztításának optimalizálási nehézségei. A szakdolgozat célja olyan eljárás felkutatása, mellyel a PNGase H⁺ enzim hatékonyan expresszálnak és tisztítható. A munka során a hallgató jártasságot szerezhet a rekombináns DNS technológia, a fehérje expresszió, különböző DNS és fehérje elválasztásra alkalmas elektroforézisen alapuló technikák és a preparatív fehérje folyadék kromatográfia területén.