

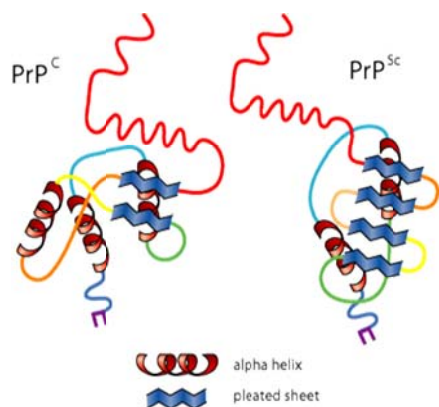
Vás zve na seminář:

PRODUKCE LIDSKÉHO PrP V TRANSFORMOVANÝCH BAKTERIÍCH ESCHERICHIA COLI

Bc. Alžběta Cardová

Abstrakt

Prionová onemocnění jsou výsledkem změny konformace PrP (Prion related protein) z nepatogenní α -šroubovice na patogenní konformaci β -skládaného listu, která tvoří takzvaný prion. Prion je charakteristický tvorbou amyloidních plaků, které zajišťují rezistenci prionů před štěpením nukleázami. Priony způsobují celou řadu onemocnění jak zvířat, tak člověka, přičemž všechna tato onemocnění jsou zatím neléčitelná. PrP jsou přirozeně přítomné v mozku, kde zajišťují udržování rovnováhy kovových iontů a buněčnou signalizaci. Hlavním cílem našeho experimentu byla příprava kompletního PrP pro následné elektrochemické a biochemické analýzy jeho vlastností a interakcí s různými látkami. K tomuto účelu byl použit pRSET-B klonovací kit pro expresi a snadnou purifikaci proteinu v *E. Coli*. PrP klonovaný v *E. Coli* obsahoval polyhistidinovou značku která fungovala jako kov-vázající doména. Tato doména umožnila snadnou purifikaci rekombinantních PrP pomocí afinitní chromatografie na vázaných kovových iontech. Klonování, kultivace i stimulace *E. Coli* k produkci rekombinantních PrP probíhala podle protokolu Invitrogen pRSET-B. Identitu purifikovaného proteinu jsme ověřovali pomocí MALDI-TOF a western-blotu. Tyto experimenty jsme doplnili i o stanovení sekvence aminokyselin pomocí iontové chromatografie. Získaný protein bude dále použit k elektrochemickým analýzám jeho interakcí s proteiny a kovy.



pátek 29. 11. 2013, od 11:00 h

Ústav chemie a biochemie, Laboratoř metalomiky a nanotechnologií

Kontakt: kizek@sci.muni.cz



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ