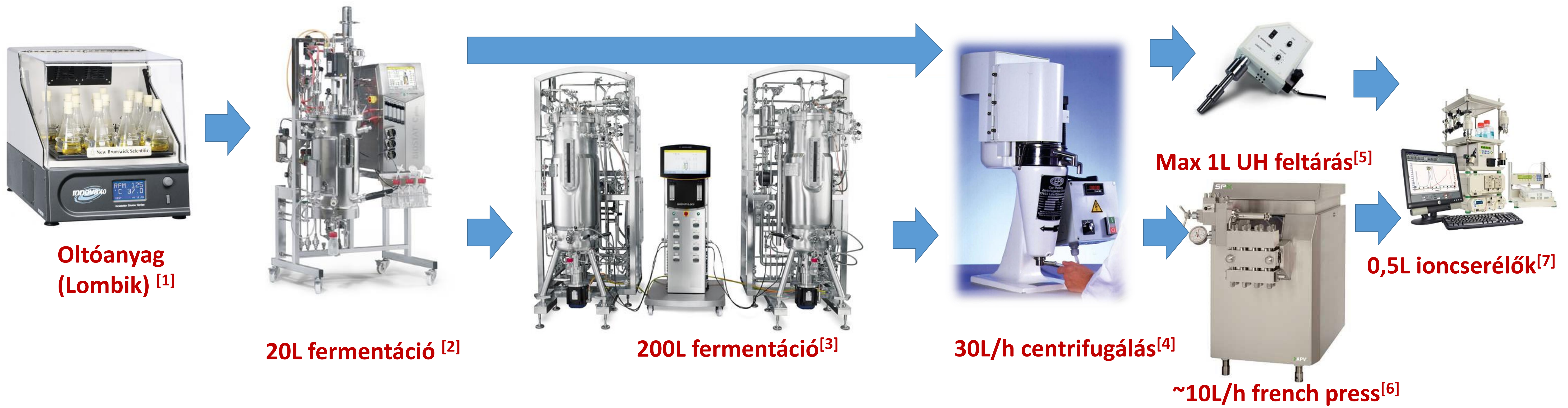




Léptéknövelt Fehérje Expressió - Protein Expression Scale-up Services (PRESS projekt)



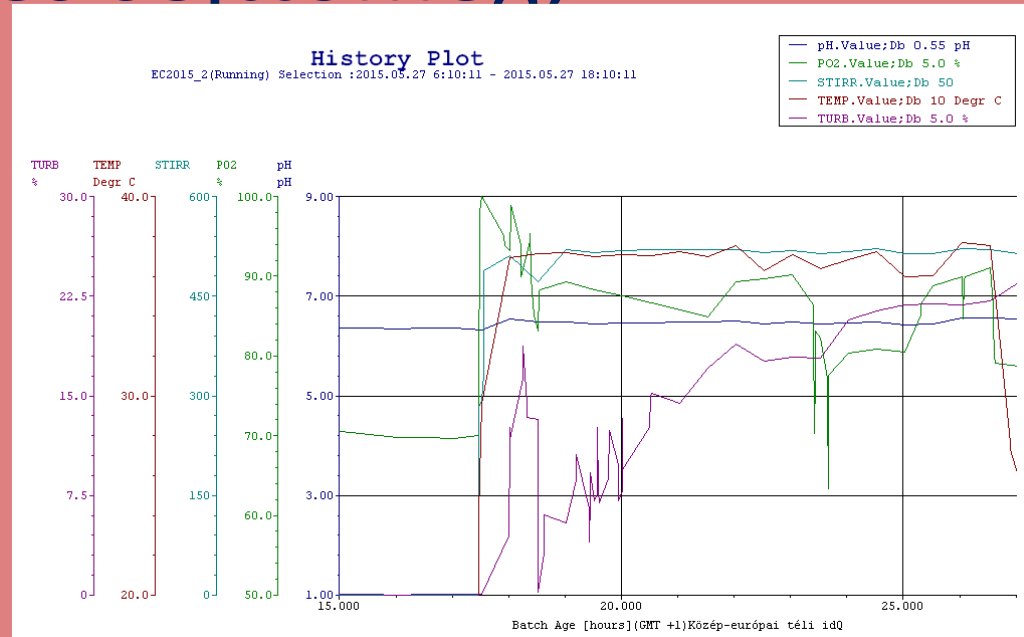
Projekt1: hrpWto-His6 (növényi immun stimuláló harpin)

Partner: Dr Szarka András (BME, ABÉT)

Lépték: 20L Gazda: E.coli BL21

Eredmény: 43g nedves sejtömeg,

7,2 mg fehérje,
ami 20x-os-a az
1L-ben elért
kitermelésnek



Projekt2: hrpZto-His6 (növényi immun stimuláló harpin)

Partner: Dr Szarka András (BME, ABÉT)

Lépték: 20L Gazda: E.coli BL21

Eredmény: 45mg fehérje

EC2016_3 fermentáció képe

A PROJEKT CÉLJA: A fehérjekutatók gyakran szembesülnek azzal, hogy az általuk kutatott fehérje expressziója az E.coli gazdaszervezetben nagyon alacsony és így még a teljes rendelkezésükre álló rázótlombikos kapacitásuk (tipikusan 3-5 liter) sem elegendő, hogy elő tudják állítani a szükséges mennyiségű fehérjét (tipikusan 50-120 mg).

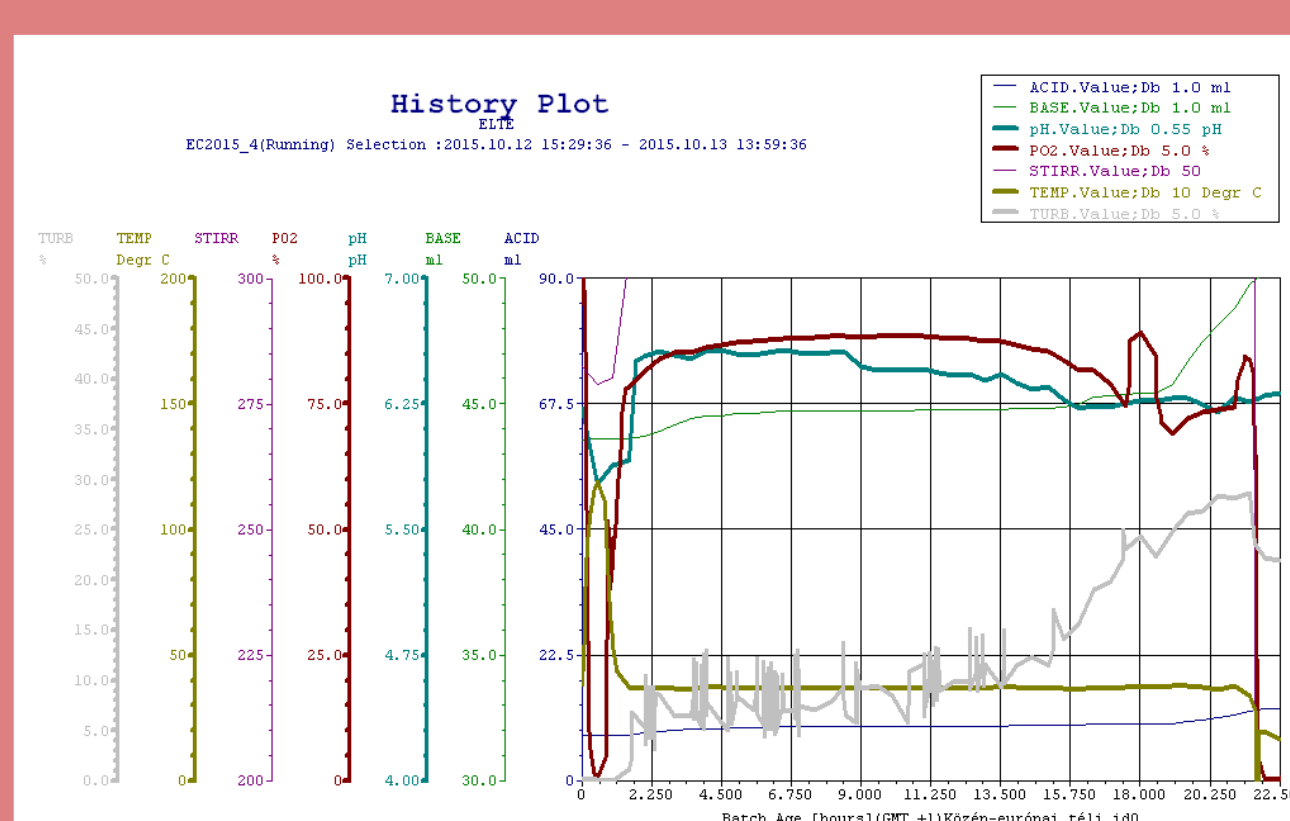
Az MTA Med-In-Prot közösség Tavaszi Lendület pályázatán arra kaptunk támogatást, hogy egy léptéknövelt fehérje-expressziós szolgáltatást alakítsunk ki. A szolgáltatás lényege, hogy optimalizálás nélkül extenzív módon megnöveljük (20 – 200 literre) az adott kutató által kialakított rázótlombikos eljárás térfogatát, így arányosan több, 20x – 200x több fehérjéhez jut a kutató projektje. Kimarad egy számára érdektelen, időt rabló, más tudást igénylő munka (a technológia optimalizálás), és rögtön a számára fontos projekt-részletekkel tud foglalkozni, pl. fehérje kristályosítás, kölcsönhatások vizsgálata más fehérjékkel vagy kismolekulákkal, stb.

E projekt keretében demonstráltuk, hogy az egyszerű léptéknövelés egy gyors, hasznos és elérhető módja a rosszul expresszálódó fehérjék előállításának, a sejtek feltárásának, és a fehérje részleges előtisztításának, ez utóbbi a gazdasejt fehérjétől való kromatográfias elválasztását jelenti.

Projekt3: bioinszekticid fehérjék Partner: Dr Szatmári Ágnes (MTA, NKI)

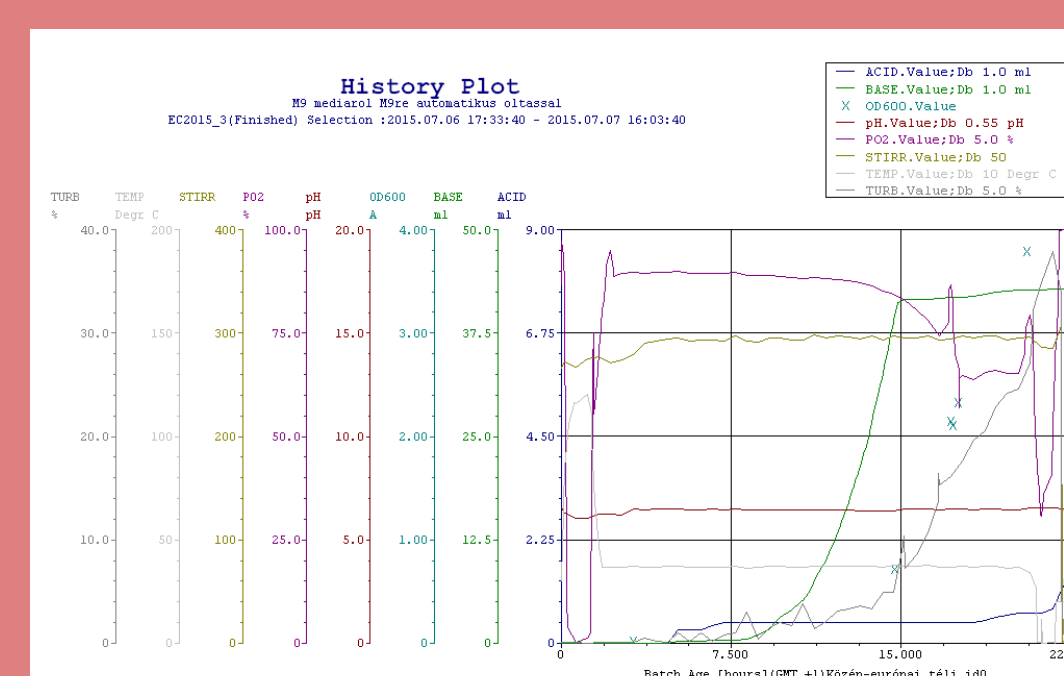
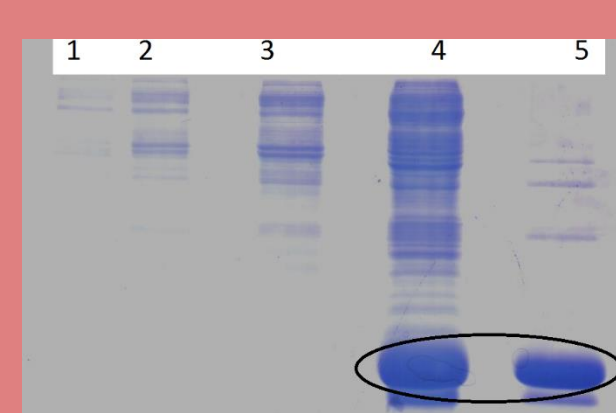
Lépték: 12L Gazda: E.coli BL21
Indukció: anhidrotetraciklin

Eredmény: 120g nedves sejt,



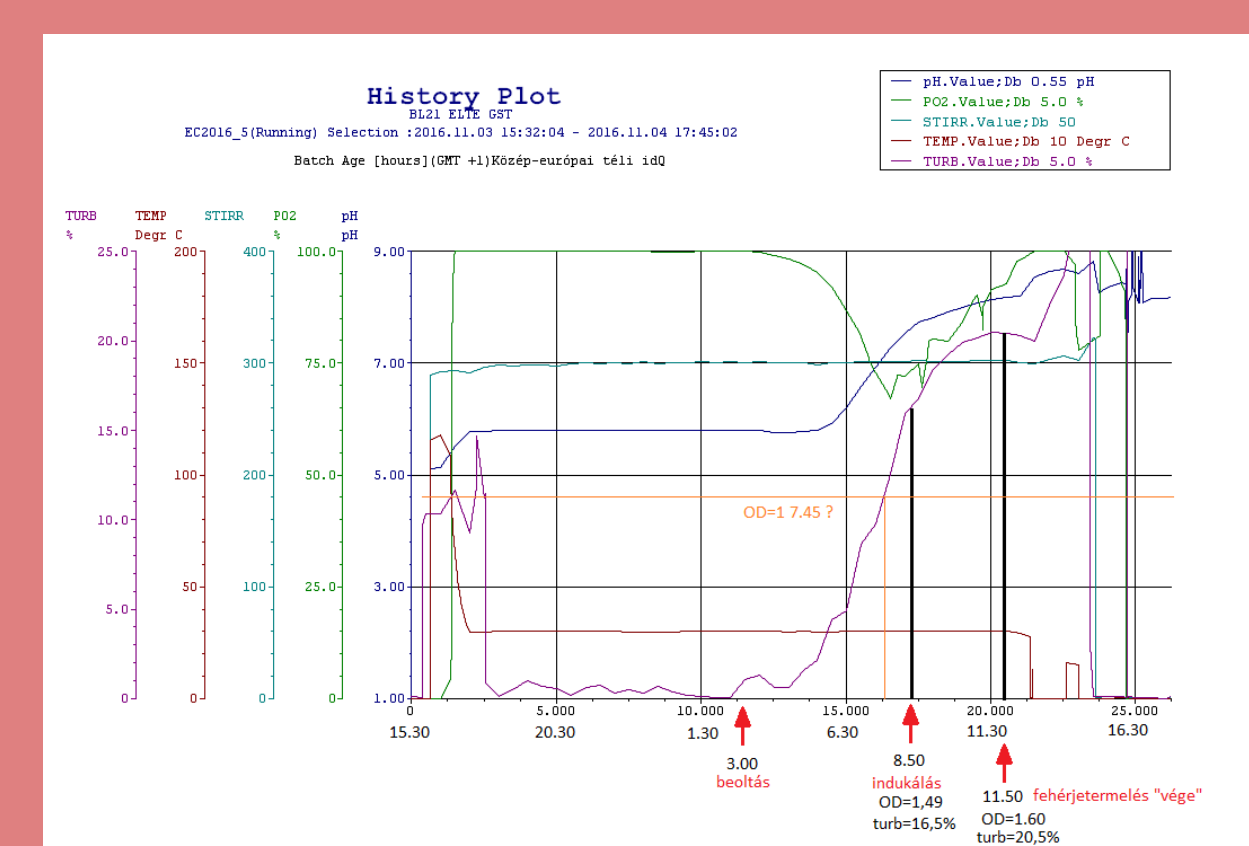
Projekt4: E5-Ubq fúziósfehérje Partner: Dr Szabó Mária (ELTE)

-Lépték: 20L
--Cél: több fehérje a szerkezet kutatáshoz (1-1,5mg/L)
-Eredmény: 5mg/L tisztított E5 (Σ:105mg)
1,5 nap alatt(!) 5x



Projekt5: podocin-GST Partner: Stráner Pál (ELTE) Tory Kálmán (SE)

-Lépték: 20L +200L
-Gazda: E.coli BL21
-Eredmény:
105g nedves sejt/14L



Dr Németh Áron adjunktus, Laborvezető, az MTA Biomérnöki Munkabizottságának korábban titkára, jelenleg elnöke. A BME Vegyészmérnöki és Biomérnöki Kar Tudományos Bizottságának Titkára.

Ivanics Balázs (MSc Hallgató)
BME Biomérnöki szak, Alkalmazott Biotechnológia specializáció

Ballagi András, dr. Biotechnológiai fejlesztési és termelési igazgató, Diagon Kft., BME címzetes egyetemi tanár).

[1] <https://online-shop.eppendorf.us/US/en/Shakers-44544/incubator-Shakers-44545/New-Brunswick-Innova-40-40R-PF-11012.html>
[2] <https://www.sartorius.us/us/products/bioreactors-fermentors/in-situ-sterilizable-pilot-production/biostat-c-plus/>
[3] <https://www.sartorius.us/us/products/bioreactors-fermentors/in-situ-sterilizable-pilot-production/biostat-c-plus/>
[4] <http://www.labwrench.com/equipment-view/equipmentNo/12840/New-Brunswick-Scientific/CEPA-High-Speed-Centrifuges/>
[5] http://www.spflow.com/en/app/pdf-080_mp-homogenizers-rannie-5/
[6] http://www.spflow.com/en/app/pdf-080_mp-homogenizers-rannie-5/
[7] <http://www.bio-rad.com/en-us/product/biologic-duoflow-10-system>