

Rezumat

Producția industrială de peptide se bazează în mod obișnuit pe trei tehnologii alternative: sinteza în fază solidă, sinteza în fază lichidă și tehnologia recombinantă biotehnologică in vivo. Strategiile chimice sintetice sunt provocatoare din punct de vedere economic. Producerea de peptide cu tehnici recombinante s-a dovedit a fi mai eficientă. Peptidele au primit o atenție specială în biologia moleculară în ultima perioadă, deoarece peptidele ar putea fi utilizate în studiul structurii și funcției proteinelor. Apoptoza este un proces esențial în dezvoltarea celulelor. Proteine inhibitorii ale apoptozei (IAP) suprimă moartea celulară. Această supresie este cauzată de inhibarea activității caspazelor. Proteina mitocondrială SMAC (al doilea activator al caspazelor derivat din mitocondrie) promovează apoptoza prin eliminarea efectului inhibitor al IAP prin interacțiuni fizice. Secvențele amino-terminale din proteina SMAC (AVPI) sunt necesare pentru această funcție. În cazul apoptozei, cercetătorii s-au concentrat pe mimetici Smac cu molecule mici care vizează domeniile BIR3 IAP's. Acești inhibitori ai IAP sunt în prezent investigați ca medicamente anticanceroase în studiile clinice. În această lucrare, am studiat biosinteza peptidelor mici cu lungimea de 13 aminoacizi. Aceste peptide conțin fracțiune tetrapeptidică AVPI a SMAC, care sunt implicate în interacțiunea cu IAP. Mai mult, marcarea C-terminală a peptidelor a fost executată prin reacție de marcarea fluorescentă. S-a folosit un colorant Alexa Flour pentru reacția de reticulare. Studiile de interacțiune au fost efectuate prin metoda de polarizare a fluorescenței. În plus, domeniul BIR3 al IAP a fost produs și prin tehnici recombinante. În timpul cercetării noastre am investigat expresia heterologă a IAP's. În acest sens, solubilizarea din corpul de incluziune și replierea cu succes a XIAP au fost executate folosind condiții de nedenaturare. Această cercetare include, de asemenea, investigația in vitro a interacțiunii proteine-proteine prin tehnica pull-down.