

Скрининг белков МКБ на плазминоген-связывающую активность с применением Вестерн-блот анализа

Научный руководитель – Шайхин Серик Мурзахметович

Сыздыкова Лаура Ризабековна

Сотрудник

Республиканская коллекция микроорганизмов, Казахстан, г.Астана, Лаборатория генетики и биохимии микроорганизмов, Астана, Казахстан

E-mail: callista@bk.ru

Поиски новых генов и белков у пробиотических бактерий, обладающих плазминоген связывающей активностью, является актуальным направлением в области медицинской биотехнологии. Выделение связывающих плазминоген штаммов молочнокислых бактерий (МКБ) из казахских традиционных продуктов питания позволяет изучать новые варианты в механизмах взаимодействия бактерий с плазминогеном человека и раскрыть важность внеклеточных белков во взаимодействиях между пробиотиками и их хозяевами, лежащими в основе полезных эффектов [1].

Для скрининга из традиционных продуктов питания домашнего производства были выделены и идентифицированы 35 изолятов МКБ с использованием анализа нуклеотидной последовательности 16S rRNA; подготовлены образцы внеклеточных белков. Белки получали из суточной культуры с корректировкой pH до 8,0 для диссоциации кислых белков и удаления осаждением клеток в центрифуге. Бесклеточный супернатант концентрировали добавлением сухой соли аммония (СА) до концентрации 70%. Осажденную фракцию «70% СА» ресуспендировали в 1 мл буфера А (Трис-HCl, pH 7,5; 0,5 mM МЭТ; 0,1 mM ЭДТА) и диализовали против буфера А с 0,05M NaCl, затем против буфера А без добавления соли.

С белками был проведен Вестерн-блот анализ по стандартному протоколу с использованием коммерческих реактивов: белка плазминогена из человеческой плазмы (Sigma-Aldrich, SRP6518), первичных антител (antibodies-online GmbH, ABIN5596692) и вторичных антител (SIGMA, A8919). Для этого белки разделяли в 10% SDS-PAGE геле и проводили электроперенос на PVDF мембрану (Immobilon-PSQ). Режим источника питания устанавливали с ограничением по силе тока: $1\text{mA}=1\text{ см}^2$, время переноса 1,5 часа.

В результате скрининга внеклеточных белков из МКБ с помощью Вестерн-блот было выявлено 3 штамма, белки которых показали специфическое связывание с плазминогеном. Один штамм *L. fermentum* и 2 штамма *Lactobacillus plantarum* хорошо согласуются с литературными данными для белков из человеческого патогена *Mycobacterium tuberculosis* [2]. Полученные результаты позволяют выбрать эти штаммы для дальнейшей работы по изучению рецепторов плазминогена в МКБ.

Источники и литература

- 1) V. Kainulainen, T. K. Korhonen Dancing to another tune-adhesive moonlighting proteins in bacteria // *Biology* 2014. V 3. P. 178-204
- 2) W. Xolalpa, A. J. Vallecillo, M. Lara Identification of novel bacterial plasminogen-binding proteins in the human pathogen *Mycobacterium tuberculosis* // *Proteomics* 2007. V 7. P.3332–3341