

1)) а есть неактивные пептиды, производимые организмом просто так??

***АКТИВНЫЙ ПЕПТИД,
ВЫДЕЛЕННЫЙ ИЗ ЛУКОВИЦ ЛУКА
РЕПЧАТОГО ALLIUM SERA L.***

Лаборатория Физиологически активных биополимеров №323

*Выполнил: студент 5-го курса РХТУ им. Д.И. Менделеева
Рощин А.О.*

*Научный руководитель: к.б.н. н.с.
Куликова О.Г.*

1) Важнейшие – минимум спорно! 2) две группы законов физики, ну вы помните 3) белки первой группы никакой функции не несут? 4) в первой группе все изучены и именно такие функции имеют, а во второй группе функции, даже малоизученные, другие?

Пептиды

- **Важнейший класс низкомолекулярных биорегуляторов.**
- **В растительных системах допускают существование двух групп пептидов**
- **I группа - пептиды, участвующие в ростовых процессах, межклеточной сигнализации, устойчивости растений к патогенам и т.д. Эти пептиды образуются в результате селективного расщепления белков-предшественников.**
- **II группа, клеточные эффекты для которой пока мало изучены - результат протеолитической деградации белков, имеющих собственную хорошо изученную функцию.**

Мембранотропные гомеостатические тканеспецифические биорегуляторы (МГТБ)

- **Обнаружены ранее в различных тканях млекопитающих и растений**
- **Стимулируют процессы репарации и восстановления тканей *in vivo***
- **Оказывают протекторное действие на клетки *in vitro***
- **Характеризуются отсутствием видовой, но наличием тканевой специфичности.**

1) К ЧЕМУ ВООБЩЕ ПЕРВОЕ УТВЕРЖДЕНИЕ? КОГДА БЫЛИ ОБНАРУЖЕНЫ? 2) ТАКИ ПРИ ЧЁМ ТУТ ВАШ ПЕПТИД, ВЕДЬ МГТБ не ускоряют/запускают рост, значит ваш не МГТБ 3) про специфичность – требуются пояснения, то есть видовой нет – значит один пептид не будет на все виды лука действовать одинаково, или на все виды растений? Тогда как же ваши лекарства из растений на людей действуют (см. дисер куликовой)

Мембранотропные гомеостатические тканеспецифические биорегуляторы (МГТБ)

Характеризуются сложным составом:

Пептидно-белковый комплекс (10^{-8} - 10^{-15} мг/мл)

- Биологически активные пептиды;
- Связанные с ними посредством ионов Ca^{2+} высокомолекулярные белки-модуляторы;
- Липиды, углеводы;

с кем связаны белки-модуляторы? 4) так мгтб комплекс, или индивидуальные соединения? 5) кстати, к чему тут эти концентрации, при концентрациях больше и меньше они уже ничего не регулируют? И есть доказательства?

Цель работы



- *Выделение эндогенного пептида из луковиц лука репчатого *Allium* сера L. и установление его активности.*

Объект исследования

Лук репчатый (*Allium cepa* L.)

- многолетнее растение семейства Амариллисовых (AGP II).

Лук репчатый проявляет следующие свойства:

- антиаллергическое
- противовоспалительное
- антимикробное
- противогрибковое

По действию – это их хотелки, не более, доказательств нет внятных! Да, конец предложения – что то тут с русским языком...

Обладает противораковым, антимуtagenным и антигипергликемическим и др действиями.

Задачи исследования

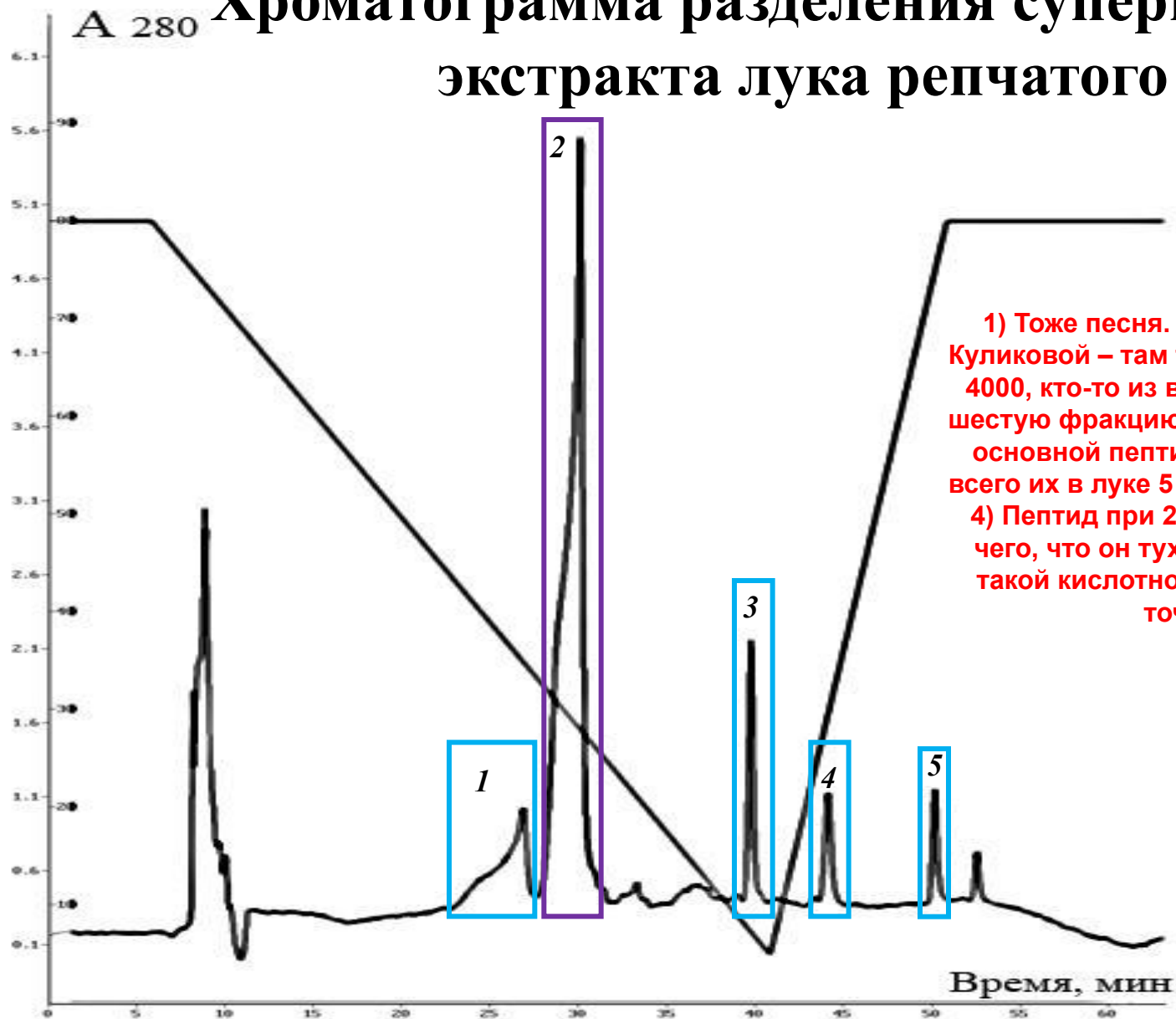
- **Получение экстракта ткани лука репчатого (*Allium cepa* L.);**
- **Выделение пептида из супернатанта экстракта ткани лука репчатого (*Allium cepa* L.) с помощью фракционирования растительного экстракта с последующим разделением методом обращённо-фазовой ВЭЖХ;**
- **Идентификация полученного пептида методом MALDI-TOF масс-спектрометрического и аминокислотного анализов;**
- **Исследование биологической активности полученного пептида на модели прорастания семян лука репчатого.**

Методика фракционирования экстракта



1) 21 день на центрифуге??? 2) ПРО ДИАЛИЗ ПРИ +4! ПРИ КОМНАТНОЙ ВСЁ ДЕЛАЕТЕ! И СКОЛЬКО РАЗ? И КАКАЯ ВОДИЧКА БЫЛА? вранье 3) ха, уже отсюда вопрос – как соблюдали на всех этапах стерильность? Ответ – НИКАК!!!! 4) +40 на испарителе, таки точность поддержания температуры какова, ибо 41 уже начинается смерть пептидов пожалуй, тут хватит, работа уже стала равна нулю...

Хроматограмма разделения супернатанта экстракта лука репчатого

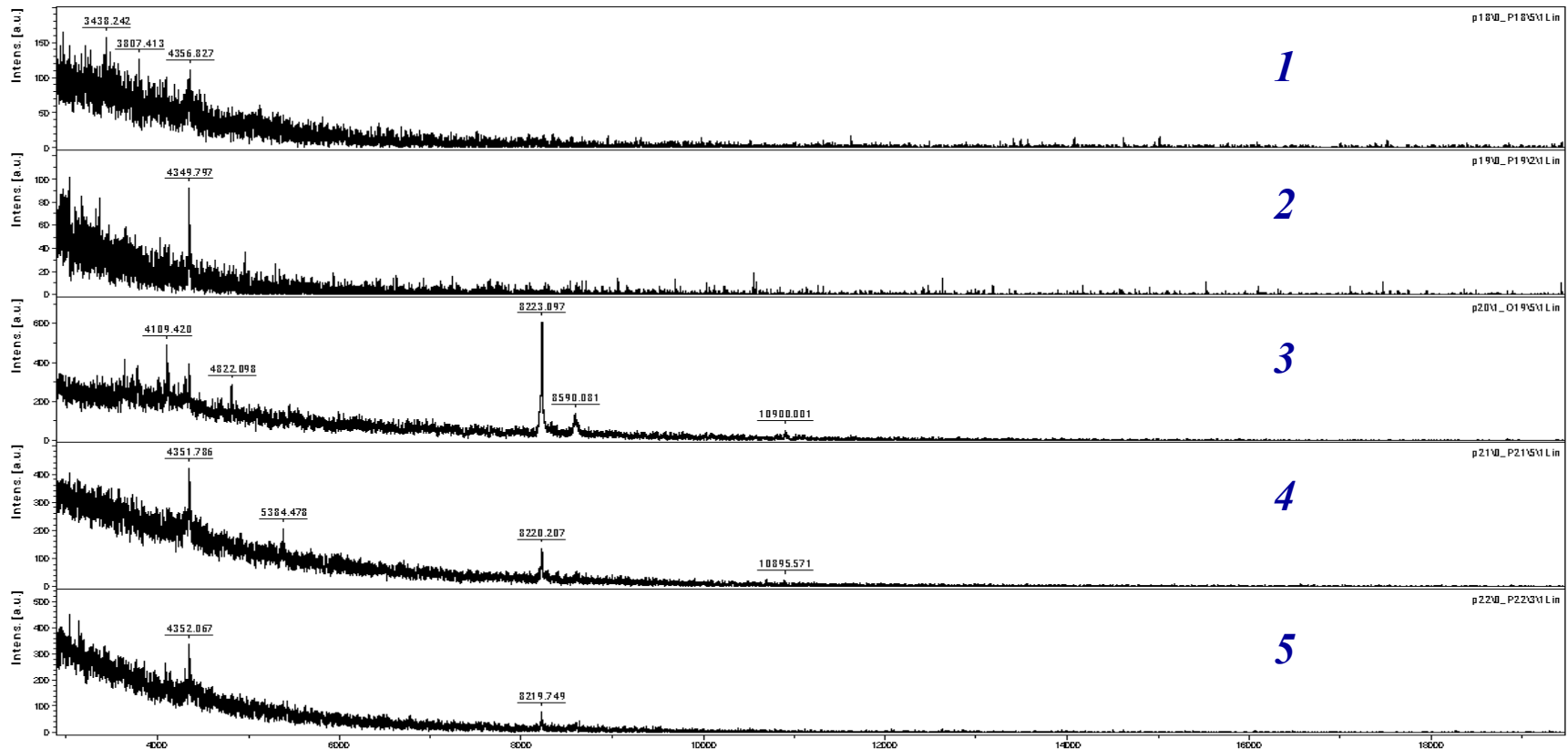


1) Тоже песня. Смотрим работу Куликовой – там только один пик на 4000, кто-то из вас двоих 2) зачем шестую фракцию обидели 3) значит основной пептид ваш второй? И всего их в луке 5 штук, так, али нет? 4) Пептид при 2.2 пэаш гоним, ни чего, что он тухнуть должен при такой кислотности, частично уж точно?

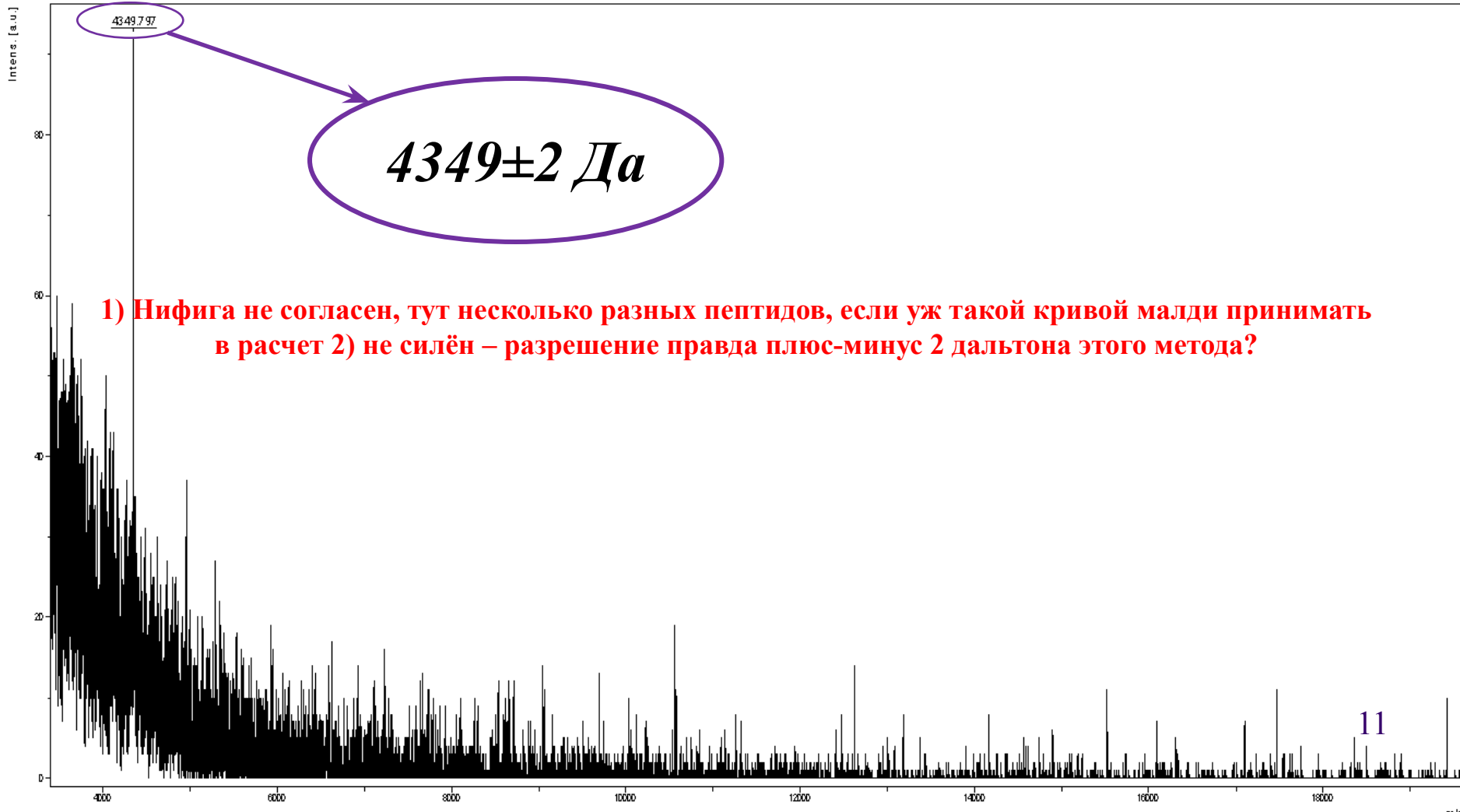
Колонка (4.6×250 мм) Kromasil C18 (Россия). Элюцию осуществляли в градиенте концентрации ацетонитрила (24-96%) в 0.1%-ной трифторуксусной кислоте (pH 2.2) со скоростью 0.5 мл/мин в течение 70 мин. Детекцию проводили при 280 нм.

MALDI-TOF масс-спектры фракций 1-5

- 1) куча мусорных пиков помечена, которые в шумах, с такой чистотой работать нельзя, тут не понять чистота или смесь веществ – в итоге чистота и однородность пептида не доказаны, забудьте вообще о нём
2) ну где тут 4036 пептид куликовой из диссертации?))) 3) ПРИКОЛЬНЫЕ ТАМ ЕСТЬ ПЕПТИДИКИ НА 100000, ЭТО БЕЛОК, КОТОРЫЙ УЖЕ ДАВНО Д.Б. ОТВАЛИТЬСЯ ПРИ ТАКОЙ-ТО ОБРАБОТКЕ 4) ОПЯТЬ-ТАКИ СТЕРИЛЬНОСТЬ 5) во фракции 2 даже с таким разрешением несколько пиков



MALDI-TOF масс-спектр фракции 2



1) Нифига не согласен, тут несколько разных пептидов, если уж такой кривой малди принимать в расчет 2) не силён – разрешение правда плюс-минус 2 дальтона этого метода?

Результаты анализа аминокислотного состава

1) Исходя из предыдущего слайда тут у вас не один пептид, а несколько, вы вообще неясно чем занимаетесь, и эта смесь суммарная аминокислот для всех пептидов, завязывайте со сказками

| Название аминокислоты | Сокращение | Количество аминокислот |
|-----------------------------------|------------|------------------------|
| Аспарагиновая кислота + аспарагин | Asx | 2 |
| Серин | Ser | 6 |
| Глутамин + глутаминовая кислота | Glx | 5 |
| Аланин | Ala | 2 |
| Глицин | Gly | 17 |
| Треонин | Thr | 2 |
| Пролин | Pro | 2 |
| Валин | Val | 1 |
| Метионин | Met | 1 |
| Изолейцин | Ile | 1 |
| Лейцин | Leu | 2 |
| Тирозин | Tyr | 1 |
| Фенилаланин | Phe | 1 |
| Лизин | Lys | 2 |
| Гистидин | His | 1 |
| Аргинин | Arg | 1 |

Итого:

- Молекулярная масса согласно анализу:

4346,06 Да

- Молекулярная масса согласно MALDI-TOF методу:

4349,70 Да

- Таким образом

$\Delta = 3,64$ Да

Результаты исследования пептида с молекулярной массой 4349 ± 2 Да на модели прорастания семян лука репчатого, концентрация соответствует 10^{-12} мг/мл

Эксперимент был проведен согласно ГОСТу 12038-84

| | Длина побега, мм | Масса побега, мг |
|-------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| Контроль * | $28,6 \pm 2,9$ | $9,52 \pm 1,1$ |
| Опыт * | $39,9 \pm 3,6$ | $13,7 \pm 1,3$ |
| Эффект, % | 39-41 | 42-44 |

*** Данные статистически достоверны при $p < 0.05$**

Выводы

- 1) Из ткани луковиц лука репчатого *Allium* сера L. был выделен эндогенный пептид с молекулярной массой 4349 ± 2 Да и определен его аминокислотный состав;
- 2) Показано, что данный пептид с молекулярной массой 4349 ± 2 Да оказывает стимулирующее действие на прорастание семян лука репчатого *Allium* сера L.

Если читали внимательно выше – то оба вывода не верны.

Публикации и конференции



Круто, первое место за такое???? С ужасом думаю, что же тогда было вообще на этой сессии



1) Сборник тезисов XII Международной Молодежной Конференции ИБХФ РАН-ВУЗЫ "Биохимическая Физика", Школа "Современные проблемы биохимической физики", 29-31 октября 2012 г., Москва

2) Сборник тезисов XII Международной Молодежной Конференции ИБХФ РАН-ВУЗЫ "Биохимическая Физика", Школа "Современные проблемы биохимической физики", 28-30 октября 2014г., Москва



СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!!!

))))))

Спасибо за внимание!

