



Европейски съюз

ЕВРОПЕЙСКИ СОЦИАЛЕН ФОНД 2007 – 2013
МИНИСТЕРСТВО НА ОБРАЗОВАНИЕТО И НАУКАТА
ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА „РАЗВИТИЕ НА ЧОВЕШКИТЕ РЕСУРСИ”
BG051PO001-3.3.06 -0059



ФУНДАМЕНТАЛНО И ПРИЛОЖНО ОБУЧЕНИЕ НА ДОКТОРАНТИ, ПОСТДОКТОРАНТИ, СПЕЦИАЛИЗАНТИ И МЛАДИ УЧЕНИ В ИНТЕРДИСЦИПЛИНАРНИ БИОЛОГИЧНИ НАПРАВЛЕНИЯ И ИНОВАЦИОННИ БИОТЕХНОЛОГИИ

УЧАСТНИК В ЦЕЛЕВАТА ГРУПА:

инж. Лъчезар Стефанов Мановски
катедра “Биотехнология”,
ХТМУ - София

*Проектът се осъществява с финансовата подкрепа на Оперативна програма „Развитие на човешките ресурси”
2007-2013, съфинансирана от Европейския съюз чрез “Европейския социален фонд”*



Европейски съюз

ЕВРОПЕЙСКИ СОЦИАЛЕН ФОНД 2007 – 2013
МИНИСТЕРСТВО НА ОБРАЗОВАНИЕТО И НАУКАТА
ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА „РАЗВИТИЕ НА ЧОВЕШКИТЕ РЕСУРСИ”
BG051PO001-3.3.06 -0059



Европейски социален
фонд

Тема на дипломната работа:

**Кинетични изследвания, нови инхибитори и имобилизация на соева
липоксигеназа**

с научни ръководители:
проф. д-р инж. Любов Йотова
инж. Рая Райкова



Европейски съюз

ЕВРОПЕЙСКИ СОЦИАЛЕН ФОНД 2007 – 2013
МИНИСТЕРСТВО НА ОБРАЗОВАНИЕТО И НАУКАТА
ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА „РАЗВИТИЕ НА ЧОВЕШКИТЕ РЕСУРСИ”
BG051PO001-3.3.06 -0059



Европейски социален фонд

Значимост на разработката:

- Разработката е важна, тъй като засяга области от практиката с фундаментално значение за човека
- Намира приложение при:
 - ✓ прилагането на нови подходи за диагностициране и лечение в областта на медицинската практика
 - ✓ поддържане на екологичното равновесие, поради приложението на ензима за пречистване на отпадни води от промишлеността
 - ✓ новополучените носители могат да разширят приносите на ензима, в частност за клиничната практика.



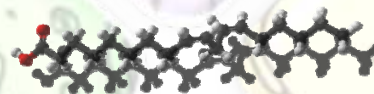
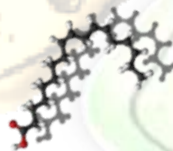
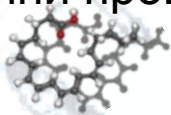
Европейски съюз

ЕВРОПЕЙСКИ СОЦИАЛЕН ФОНД 2007 – 2013
МИНИСТЕРСТВО НА ОБРАЗОВАНИЕТО И НАУКАТА
ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА „РАЗВИТИЕ НА ЧОВЕШКИТЕ РЕСУРСИ”
BG051PO001-3.3.06 -0059



Според литературни данни:

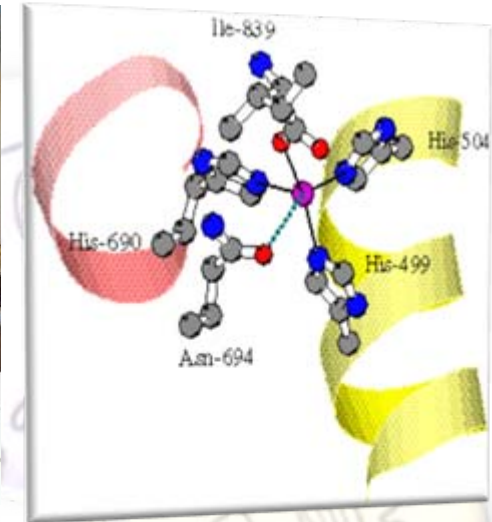
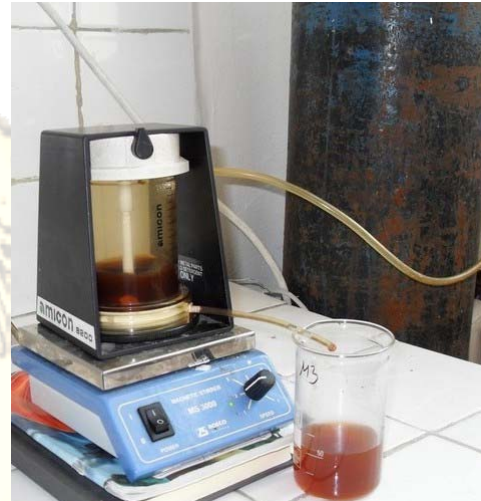
1. Липоксигеназа се изолира както от растителни, така и от микробни източници
2. Иммобилизацията на липоксигеназа върху носители с разнообразна природа, придава по-висока стабилност на биомолекулата по време на ензимно катализираните реакции.
3. Иммобилизираната липоксигеназа би могла да намери приложение за измерване съдържанието на афлатоксини в храните, проследяване на възпалителни процеси и др.



4. Иммобилизираният ензим би могъл да се използва в многостепенна реакция за производство на левкотриени и други подобни на тях съединения, които представляват интерес за медицината и химическата индустрия.

Експериментална работа до момента:

1. Изолиране и пречистване на липоксигеназа от соя



2. Определяне активността на липоксигеназата и кинетичните параметри за ензимно катализираната реакция

Ензим	Белтъчно съдържание mg/g	Активност U/mg	Km, 10 ⁻⁶ M	Vmax, 10 ⁻⁶ M/mg.min	Ea, J/mol
Свободна LOX от соя	5,3272	5,3499	0,472	4,716	820,2

3. Определяне pH_{опт} и T_{опт}

pH_{опт} = 8
 T_{опт} = 35 °C



Европейски съюз

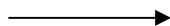
ЕВРОПЕЙСКИ СОЦИАЛЕН ФОНД 2007 – 2013
 МИНИСТЕРСТВО НА ОБРАЗОВАНИЕТО И НАУКАТА
 ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА „РАЗВИТИЕ НА ЧОВЕШКИТЕ РЕСУРСИ”
BG051PO001-3.3.06 -0059



Ензим	Белтъчно съдържание, mg/g	Относителна активност, Е/мг		Активност, Е/мг		Km, 10 ⁻⁶ М		Vmax, 10 ⁻⁶ М/мг.мин	
		LA	LN	LA	LN	LA	LN	LA	LN
Свободен М 2	0.5	-	-	2.15	1.34	3.4137	-	3.2573	-
Свободен М 3	0.5	-	-	2.02	1.27	0.1303	0.1303	-	1,5152
Имобилизиран М3 (РАА, АН, Ti)	0.5	16.9	1.38	-	-	-	0.82	-	0.7915
Имобилизиран микробиаелен ензим (РАА, АН)	5.4	-	65	-	-	-	0.89	-	0.8469



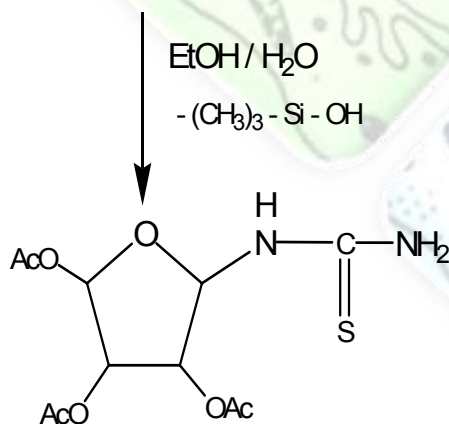
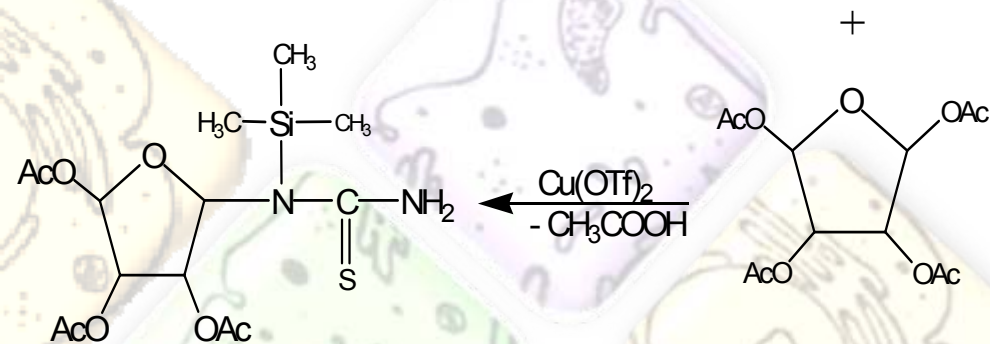
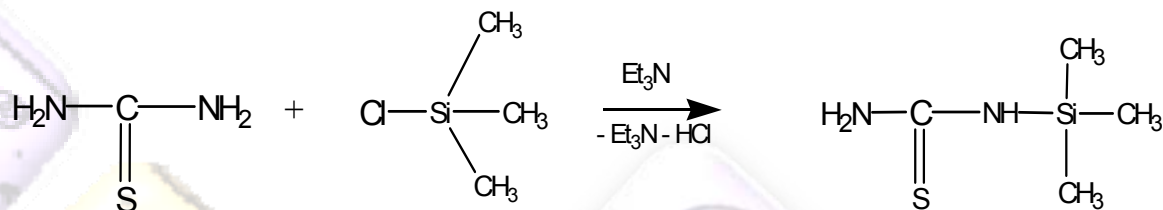
4. Измерване на кислородна консумация по време на ензимната реакция





Европейски съюз

ЕВРОПЕЙСКИ СОЦИАЛЕН ФОНД 2007 – 2013
МИНИСТЕРСТВО НА ОБРАЗОВАНИЕТО И НАУКАТА
ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА „РАЗВИТИЕ НА ЧОВЕШКИТЕ РЕСУРСИ”
BG051PO001-3.3.06 -0059



5. Получаване на синтетични инхибитори за липоксигеназа, изолирана от соя и изследване кинетикаа на инхибиране



Европейски съюз

ЕВРОПЕЙСКИ СОЦИАЛЕН ФОНД 2007 – 2013
МИНИСТЕРСТВО НА ОБРАЗОВАНИЕТО И НАУКАТА
ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА „РАЗВИТИЕ НА ЧОВЕШКИТЕ РЕСУРСИ”
BG051PO001-3.3.06 -0059



Европейски социален фонд

Принос на разработката:

1. Изготвянето на съответните изводи би могло да доведе след себе си до нови интересни и актуални теми за допълнителни разработки.
2. Имобилизираният от нас ензим от микробиален произход дава възможност за бъдещата му употреба за определяне на афлатоксини в храните, определяне на арахидонова киселина, като клиничен показател, производство на простагландини и др.
3. Инхибирането на липоксигенази е пряко свързано с левкотриеновата синтеза, подтиска се левкоцитна активация и се намалява увреждането на тъканите.

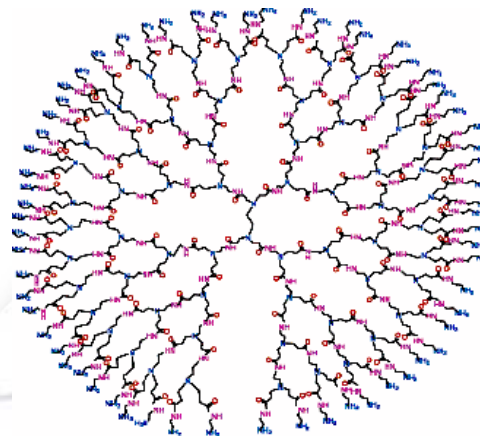


Европейски съюз

ЕВРОПЕЙСКИ СОЦИАЛЕН ФОНД 2007 – 2013
МИНИСТЕРСТВО НА ОБРАЗОВАНИЕТО И НАУКАТА
ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА „РАЗВИТИЕ НА ЧОВЕШКИТЕ РЕСУРСИ”
BG051PO001-3.3.06 -0059



Планирани експерименти:



1. Иммобилизиране на ензима върху хибридни носители на базата на биосъвместими и биоразградими гелове и/или твърди частици (дендримери и др.).
2. Изследване кинетиката на реакциите за иммобилизирания ензим.
3. В бъдеще е добре да се определят кои аминокиселинни остатъци участват при свързването на ензимната молекула със съответният носител.



Европейски съюз

ЕВРОПЕЙСКИ СОЦИАЛЕН ФОНД 2007 – 2013
МИНИСТЕРСТВО НА ОБРАЗОВАНИЕТО И НАУКАТА
ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА „РАЗВИТИЕ НА ЧОВЕШКИТЕ РЕСУРСИ”
BG051PO001-3.3.06 -0059



Европейски социален
фонд

№	Наименование
1	Ексикатор с кран и плоча-материал полипропилен и поликарбонат-вакуум-740 mmHg
2	Калибрационен разтвор, pH=4,01
3	Калибрационен разтвор, pH=7,01
4	Магнитна бъркалка с тефлоново покритие
5	Парафилм
6	Pi – помпа за пипети
7	Реактивна банка с винтова капачка
8	Реактивна банка с винтова капачка, тъмна
9	Контейнери за проби
10	Колба, мерителна, тъмна ISO 1042, DIN 12 664
11	HgCl ₂
12	BAРNA
13	o-dianisidine
14	Resazurin sodium salt
15	Methyl viologen dichloride hydrate
16	Linoleic acid
17	Arachidonic acid
18	Linolenic acid
19	Солна киселина за хидролиза на протеини



Европейски съюз

ЕВРОПЕЙСКИ СОЦИАЛЕН ФОНД 2007 – 2013
МИНИСТЕРСТВО НА ОБРАЗОВАНИЕТО И НАУКАТА
ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА „РАЗВИТИЕ НА ЧОВЕШКИТЕ РЕСУРСИ”
BG051PO001-3.3.06 -0059



Европейски социален
фонд

БЛАГОДАРЯ ВИ ЗА ВНИМАНИЕТО!