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.Рая Николова Райкова
докторант в 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 СОЦИАЛЕН ФОНД 2007 – 2013
МИНИСТЕРСТВО НА ОБРАЗОВАНИЕТО И НАУКАТА
ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА „РАЗВИТИЕ НА ЧОВЕШКИТЕ РЕСУРСИ”
BG051PO001-3.3.06 -0059

Тема на дисертацията:

Синтез, кинетични изследвания и биологична активност на инхибитори на мултиензимни системи

с научни ръководители:

1. проф. д-р инж. Любов Йотова
2. доц. д-р Данчо Даналев

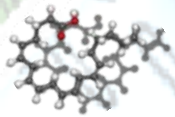
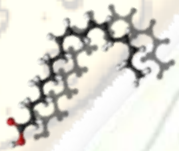
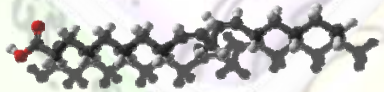
Значимост на разработката:

- 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

Според литературни данни:

1. Липоксигеназа се изолира както от растителни, така и от микробиални източници

2. Взаимодействието на липоксигеназата със съответните й субстрати, както и участието на подходящи инхибитори при ензимно катализираната реакция, притежава ключова роля при известни туморни заболявания (рак на простатата, рак на гърдата), заболявания, засягащи ЦНС (множествена склероза), атеросклероза и др.

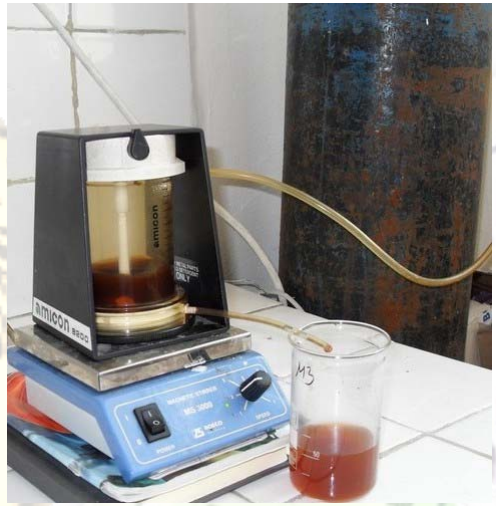




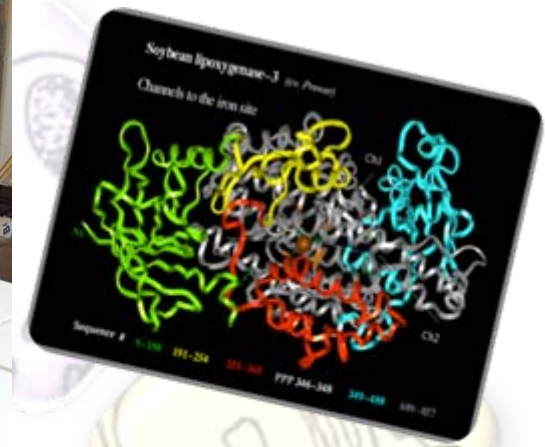
3. Имобилизираната липоксигеназата би могла да намери приложение за измерване съдържанието на афлатоксини в храните, проследяване на възпалителни процеси и др.

4. Имобилизирания 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 $T_{опт}$

$pH_{опт} = 8$
$T_{опт} = 35\ ^{o}C$

Ензим	Белтъчно съдържание, mg/g	Относителна активност, Е/мг		Активност, Е/мг		Km, 10^{-6}M		Vmax, 10^{-6} M/mg.min	
		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 (PAA, AN, Ti)	0.5	16.9	1.38	-	-	-	0.82	-	0.7915
Имобилизиран микробиален ензим (PAA, AN)	5.4	-	65	-	-	-	0.89	-	0.8469

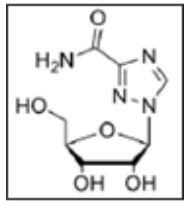
4. Измерване на кислородна консумация по време на ензимната реакция

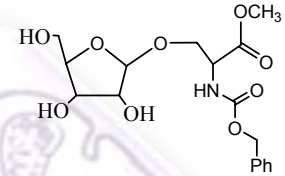
Европейски съюз

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

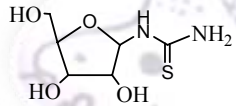
Европейски социален фонд

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

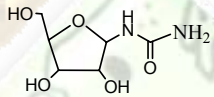




3

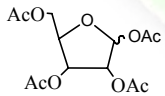
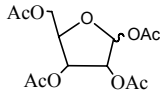
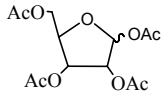


2



1

6. Определяне на кинетичните параметри с участието на природни инхибитори – рибавирин и галантамин

Donor	eq.	Acceptor	eq.	Lewis acid	eq.	Conditions
	1	carbamide	1.5	$Cu(OTf)_2$	2	1 hour, room temperature
	1	thiocarbamide	1	TMSOTf	2	1 hour, room temperature
	1	Ser-Methyl-ester	2	$Cu(OTf)_2$	1	72 hours, room temperature

Принос на разработката:

1.Изготвянето на съответните изводи би могло да доведе след себе си до нови интересни и актуални теми за допълнитени 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.Възможно е ролята на липоксигеназните инхибитори да има значение при разпространението на левкемичните клетки.

Планирани експерименти:

1. Изследване приноса на липоксигеназата за мултиензимните системи в организма

2. Изследване кинетиката на инхибиране за деблокирани от ОАс – групи инхибитори. Определяне типа на инхибиране в зависимост от структурни различия на инхибиторите

3. В бъдеще е добре да се определят кои аминокиселинните остатъци участват при свързването на субстрата (съответно инхибиторът) с ензимната молекула.

№	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	HgCl2
12	BAPNA
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

ЕСФ България
Европейски социален фонд

БЛАГОДАРЯ ВИ ЗА ВНИМАНИЕТО!