

## Центр протеомных исследований



### Цель организации

ЦПИ организован на базе лаборатории молекулярных биотехнологий для обеспечения в ИЦиГ СО РАН современного методического уровня исследований. ЦПИ осуществляет приборное и методическое сопровождение протеомных проектов, оказывает консультативную и методическую помощь лабораториям Института.

Протеомика – область науки, изучающая белки и их взаимодействия в живых организмах. Протеомика позволяет разделить и визуализировать (с помощью двумерного электрофореза в полиакриламидном геле с последующим окрашиванием полипептидов) большую часть клеточных белков. При этом возможна количественная оценка изменения эффективности синтеза белков при различных воздействиях, введении мутаций по генам, кодирующим ферменты метаболизма и т. п. Интересующие зоны (пятна) белков вырезаются из геля, и соответствующие белки, а также продукты их последующего расщепления (например трипсином) анализируются с помощью методов масс-спектрометрии. В результате молекулярная масса анализируемого белка (и продуктов его расщепления) определяется с высокой точностью. В настоящий момент созданы базы данных структур белков и их протеолитических фрагментов многих живых организмов включая человека. Это позволяет быстро и надежно идентифицировать белки по их молекулярной массе и массе их фрагментов. В последнее десятилетие в протеомном анализе получили широкое применение такие высокотехнологичные методы, как хроматография высокого давления (HPLC) с последующей масс-спектрометрией и использование белковых чипов с различным оптическим типом детекции.



Рис. 1. Электрофоретическая ячейка PROTEAN IEF cell для разделения белковой пробы по заряду в тонкой полоске полиакриламидного геля с иммобилизованным градиентом pH – ReadyStrip IPG strips.

### Материально-техническая база

#### Оборудование для проведения электрофоретического анализа

- электрофоретическая ячейка PROTEAN IEF cell;
- электрофорезная камера PROTEAN II xi multi-cell;
- прибор VersaDoc MP 4000;
- прибор EXQuest spot cutter.

#### Оборудование для масс-спектрометрии

- масс-спектрометр Ultraflex III;
- хроматографическая система Agilent 1200;
- оптический биосенсор BioRad ProteOn 36.

#### Источники снабжения реактивами

Централизованные источники снабжения реактивами отсутствуют. Заинтересованным лицам необходимо обсудить проблему с представителями центра и в соответствии с их рекомендациями заказать требуемые реактивы. ЦПИ может оказывать разовую помощь реактивами для проведения пилотных экспериментов.



Рис. 2. Электрофорезная камера PROTEAN II xi multi-cell для разделения белковой пробы по молекулярной массе ее компонентов в вертикальном полиакриламидном геле размером 18 × 20 см.

Рис. 3. Прибор VersaDoc MP 4000 для визуализации картины разделения белка в геле. При использовании специальных аналитических программ возможно проводить определение молекулярных весов, количественный и качественный анализ изменения экспрессии белковых образцов.



Рис. 4. Прибор EXQuest spot cutter – инструмент для точной локализации и вырезания белковых пятен либо полос из одно- или двумерных гелей или блотов. Вырезанные кусочки гелей или блотов помещаются автоматически в 96- или 384-луночные микроплашки для дальнейшей обработки и анализа.



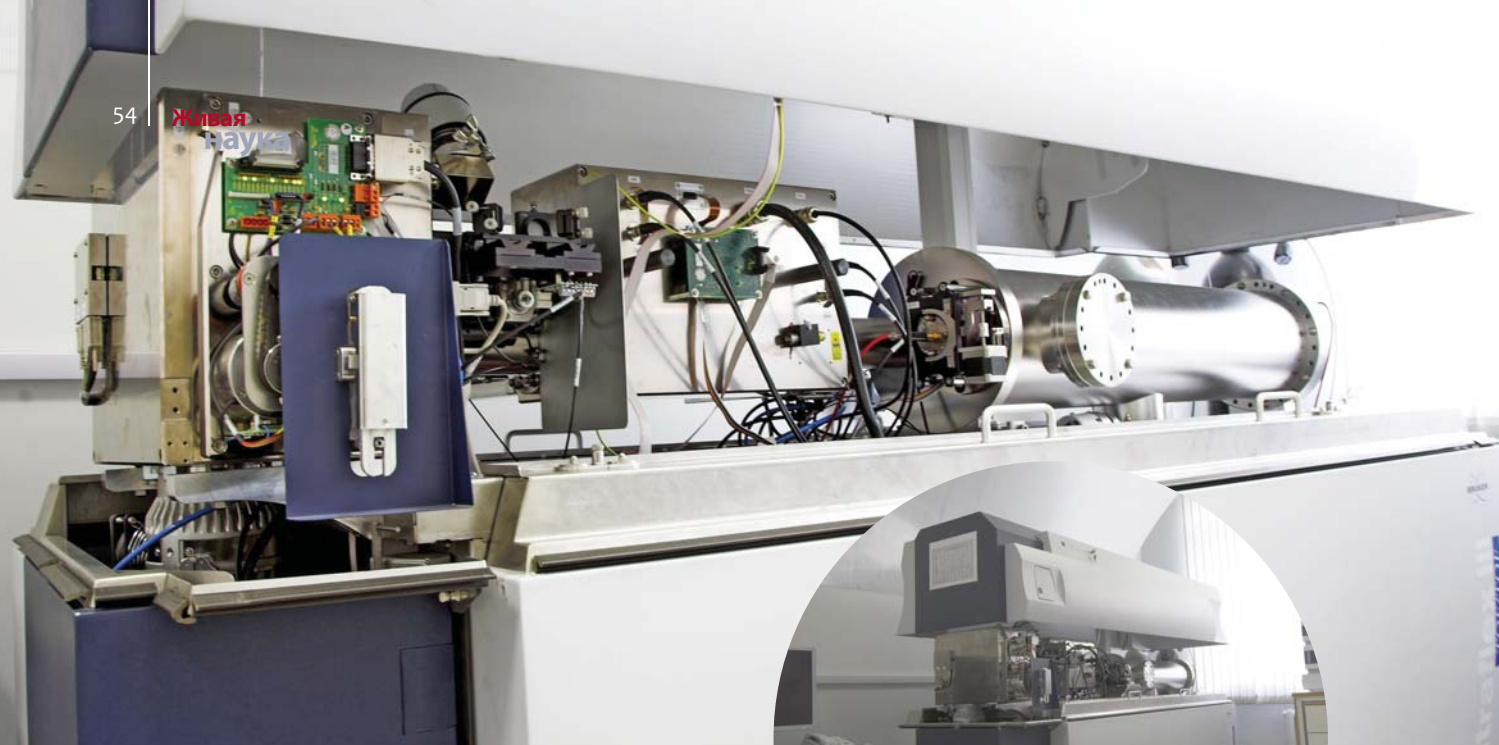


Рис. 5. Масс-спектрометр Ultraflex III – новейшее поколение MALDI-TOF и TOF/TOF технологии: позволяет детектировать массы в диапазоне от 0 до 500 000 D, массовой разрешающей способностью до 40 000, с точностью определения масс 1 ppm. В результате белки могут быть идентифицированы с абсолютной достоверностью.

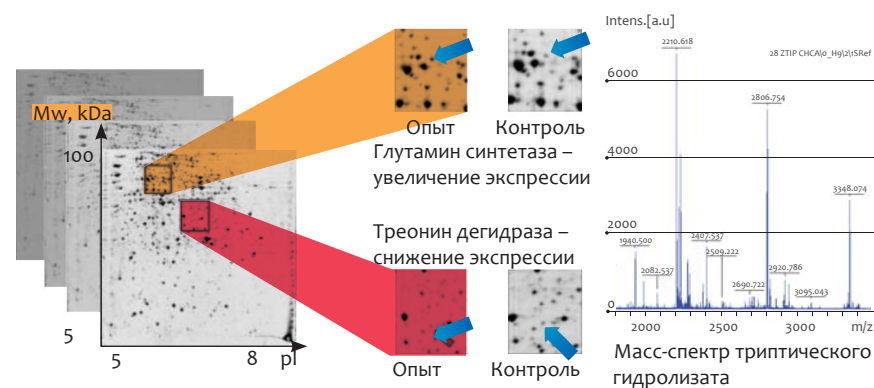


Рис. 6. Высоковоспроизводимый двумерный электрофорез белков *E. coli*. Разделение белков проводили в двух направлениях – согласно их изоэлектрическим точкам (pI) и молекулярным массам (Mw). Стрелками отмечены фракции белка, изменившие свою экспрессию в результате воздействия терагерцового излучения. Идентификация белков проведена методом MALDI-TOF масс-спектрометрии (UltraflexIII, Bruker).



Рис. 7. Agilent triple quad 6430 в комплекте с хроматографической системой Agilent 1200 позволяет решать задачи количественного анализа компонентов в сложных матрицах. Анализ метаболитов лекарственных препаратов в биологических жидкостях, оценка уровня содержания гербицидов в пищевых продуктах, содержание загрязнителей в сточных и грунтовых водах – классические задачи использования масс-спектрометра с тройным квадруполем. Чувствительность на уровне фемтограмм.

### Организация деятельности ЦПИ

Текущая деятельность ЦПИ определяется правилами внутреннего распорядка ИЦиГ СО РАН.

Персонал ЦПИ прошел обучение и имеет сертификаты фирм-производителей оборудования. Время работы на оборудовании ЦПИ и сопровождение исследований квалифицированными сотрудниками определяются по предварительной заявке.

Обязательными условиями проведения исследований с использованием оборудования и реактивов ЦПИ являются

обязательства учреждений-пользователей ЦПИ по компенсации возможного ущерба, причиненного их сотрудниками при выполнении работ.

Персоналом ЦПИ формируется инструктивный материал по эксплуатации оборудования и аппаратуры, выполнению методик и безопасным методам осуществления работ, специфичных для ЦПИ. Введение инструкций в действие производится в соответствии с правилами ИЦиГ СО РАН.

Рис. 8. Протеомный анализ с помощью оптического биосенсора BioRad ProteOn 36 на основе эффекта поверхностного плазмонного резонанса. Пригоден для скрининга и ранжирования в режиме реального времени антител, картирования эпитопов, изучения кинетики белок-белковых, белок-пептидных взаимодействий, взаимодействий белка с малыми молекулами и нуклеиновыми кислотами, проведения скрининга малых молекул.



### Контактная информация

Руководитель ЦПИ к.б.н. Сергей Евгеньевич Пельтек;  
Зам. руководителя Евгений Александрович Демидов  
г. Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 10,  
ИЦиГ СО РАН, ком. 1121.  
тел.: +7(383) 363-49-97  
e-mail: peltek@bionet.nsc.ru