

Аннотация учебной дисциплины «Практикум по физико-химическим методам выделения и анализа белков»

Физико-химические методы анализа достаточно широко применяются в биохимических исследованиях и, несмотря на развитие современного аналитического приборостроения, не утратили своей значимости благодаря высокой точности, надежности, воспроизводимости и доступности. Существует большое разнообразие физико-химических методов, но наибольшее распространение для изучения биомолекул получили электрохимические, хроматографические и спектральные методы.

Практикум по физико-химическим методам выделения и анализа белков нацелен на получение студентами инструментальных навыков в освоении препаративных и аналитических методов белковой химии. С помощью этапов центрифугирования и гомогенизации в ступенчатом градиенте плотности сахарозы студенты выделяют ядра из клеток различных тканей (печень, селезенка, головной мозг) лабораторных животных (крысы линии Вистар, кролик), затем из ядер экстрагируют и осаждают хромосомные или ядерные белки. Полученные препараты белков подвергаются очистке с помощью различных подходов – диализа или ультрафильтрации, а затем концентрируются и высушиваются. Студенты проводят электрофоретический анализ полученного препарата белков с помощью диск-электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ) в денатурирующих условиях в присутствии ДДС-Na, определяют молекулярные массы, анализируя свои результаты на системе гель-документирования высокого разрешения ChemiDoc XRS. Выделенные белки подвергаются далее фракционированию с помощью различных видов хроматографии (ионообменной хроматографии, твёрдо-фазной экстракции и ВЭЖХ) и системы препаративного электрофореза 491 Prep Cell. Полученные фракции анализируются с помощью электрофорезов в ПААГ в денатурирующих и кислых условиях в присутствии мочевины. Для подготовки проб для электрофореза студенты определяют концентрацию белка в пробе с помощью спектрофотометрических, колориметрических и флуориметрических методов. Электрофоретический анализ позволяет объединить определённые фракции отдельных белков, сконцентрировать и высушить их. На заключительном этапе практикума студенты анализируют выделенные индивидуальные белки протеомными подходами – двумерным электрофорезом, иммуноблоттингом и масс-спектрометрией.

Лабораторные занятия студенты выполняют с использованием оборудования кафедры биохимии и Ресурсных центров СПбГУ.

Наполняемость группы: 2-8 человек, не более 2-х групп

Разработчик программы учебной дисциплины – доцент, к.б.н., Гришина Татьяна Васильевна.