



BioCentrum

## USŁUGI Z ZAKRESU BIOCHEMII BIAŁEK

Jedną z dziedzin, w jakich specjalizuje się **BioCentrum** jest świadczenie kompleksowych, dostosowanych do oczekiwań klienta usług z zakresu produkcji białek rekombinowanych oraz biochemicznych analiz białek i peptydów. Doświadczony zespół naukowców oraz nowoczesne i zaawansowane technicznie wyposażenie gwarantuje najwyższą jakość usług.

### Produkcja białek rekombinowanych

Nasza oferta dotyczy produkcji białek rekombinowanych *in vitro* stosowanych zarówno do celów naukowych, jak i terapeutycznych. Dysponujemy systemami prokariotycznymi tj. bakterie Gram dodatnie (*Bacillus subtilis*) oraz bakterie Gram-ujemne (*Escherichia coli*), jak również systemami drożdżowymi (*Pichia pastoris*, *Saccharomyces cerevisiae*).

#### PROJEKTOWANIE KONSTRUKTÓW GENETYCZNYCH

Ważnym etapem produkcji białka rekombinowanego jest zaprojektowanie optymalnego systemu ekspresji, spełniającego wszelkie niezbędne wymagania związane z uzyskaniem w pełni aktywnego produktu. Wychodząc naprzeciw tym potrzebom firma BioCentrum oferuje, zależny od biochemicznych cech białka, dobór optymalnego systemu ekspresji. Ponadto BioCentrum oferuje licencjonowanie technologii odcinania metek fuzyjnych CleanCut, bazującej na wysoce specyficznej proteinazie SplB, której aktywność umożliwia dowolne kształtowanie sekwencji N-końca produktu białkowego.

#### TESTY EKSPRESJI BIAŁEK REKOMBINOWANYCH

Oferowane przez BioCentrum testy ekspresji mają na celu określenie optymalnego środowiska produkcji białka rekombinowanego, umożliwiające uzyskanie produktu z możliwie największą wydajnością. W tym celu przeprowadzamy optymalizację spektrum czynników mających wpływ na wydajność procesów ekspresji: czas hodowli oraz temperaturę w której jest ona prowadzona, skład mediów hodowlanych oraz stężenie stosowanego induktora.

#### OPTIMALIZACJA PROCESÓW OCZYSZCZANIA

Oferta optymalizacji procesu oczyszczania obejmuje zarówno białka rekombinowane, jak również izolowane ze źródeł biologicznych. BioCentrum dysponuje zaawansowanym sprzętem z zakresu chromatografii cieczowej w technikach nisko-, średnio- i wysokociśnieniowych (FPLC i HPLC), który umożliwia przeprowadzenie takich badań. Bogaty zestaw kolumn analitycznych oraz preparatywnych umożliwia nam prowadzenie chromatografii jonowymiennej, hydrofobowej, z odwróconymi fazami oraz sączenia molekularnego.

# Analiza biochemiczna białek

## ANALIZY ELEKTROFORETYCZNE: SDS-PAGE, 2D, IZOOGNISKOWANIE, WESTERN-BLOT

Elektroforeza denaturująca (SDS-PAGE) możliwa jest w układzie jedno- oraz dwuwymiarowym, na żelach o rozmiarach mini oraz żelach wielkoformatowych. Możliwe jest barwienie żeli z wykorzystaniem szerokiego spektrum barwników oraz densytometryczna analiza uzyskanych wyników. Oferujemy również możliwość przeprowadzania analiz typu Western-blot oraz wyznaczenia punktu izoelektrycznego białka w oparciu o techniki izoelektroogniskowania.

## ANALIZY CHROMATOGRAFICZNE

Wykonujemy badania białek i peptydów oparte o metody chromatografii cieczowej w układach nisko-, średnio- oraz wysokociśnieniowych (FPLC i HPLC). Oferowana jest detekcja fluorymetryczna oraz spektrofotometryczna w świetle widzialnym a także ultrafioletowym.

## ANALIZA MS (MAPY PEPTYDOWE)

W oparciu o techniki spektrometrii mas BioCentrum wykonuje mapy peptydowe służące do identyfikacji nieznanego białka. Uzyskiwane wyniki poddawane są analizie bioinformatycznej z wykorzystaniem baz danych Mascot.

## BADANIE SKŁADU AMINOKWASOWEGO BIAŁEK I PEPTYDÓW

Posiadamy wieloletnie doświadczenie w analizie składu aminokwasowego homogennych próbek białek i peptydów poprzedzone hydrolizą w fazie gazowej (6 M HCl przez 24 godziny w 115 °C). Rozdział uwolnionych aminokwasów w postaci fenylotiokrabamiliowych (PTC) pochodnych przeprowadzamy na kolumnie PicoTag 3,9 x 150 mm firmy Waters z wykorzystaniem technik HPLC.

## SEKWENCJONOWANIE BIAŁEK

Oferujemy analizy sekwencjonowania białek i peptydów przeprowadzane na automatycznym sekwenatorze Applied Biosystems model 491, realizującym degradację Edmana łańcuchów poli-peptydowych. Analizy wykonujemy w ścisłym kontakcie z klientem, możliwa jest więc bieżąca dyskusja uzyskiwanych wyników oraz dostosowywanie parametrów analiz do oczekiwań Klienta.

## ANALIZA WIDM DYCHROIZMU KOŁOWEGO

Bogata oferta z zakresu biochemii białka dotyczy również wyznaczenia procentowej zawartości struktur drugorzędowych (alfa-helis, beta-struktur oraz regionów nieuporządkowanych) z wykorzystaniem metod dychroizmu kołowego. Analizy przeprowadzane na spektropolarymetrze firmy Jasco w zakresie długości fali od 190 do 240 nm.

## OPRACOWANIE I OPTYMALIZACJA TESTÓW ELISA

BioCentrum oferuje optymalizację warunków testu ELISA tj. blokowanie, wyznaczenie czasów inkubacji z przeciwciałami oraz stężenia przeciwciał. Analizy wykonywane są z wykorzystaniem detekcji fluorymetrycznej jak i spektrofotometrycznej.

# Krystalizacja białek

## Badania struktury trzeciorzędowej białek metodą dyfrakcji rentgenowskiej

Wykonujemy pełny zakres niezbędnych prac (obejmujący krystalizację, pomiary i obliczenia) dostarczając wysokiej rozdzielczości struktury trzeciorzędowe białek w stanie wolnym oraz w kompleksach z niskocząsteczkowymi ligandami. BioCentrum oferuje usługi z zakresu kompleksowej analizy wyników prac obejmującej m. in. charakterystykę miejsca wiązania oraz sugestie dotyczące dalszej optymalizacji ligandów, a także dokowanie ligandów *in silico*.