

FTB 49 (3) 286-290.

(FTB-2748)

Kloniranje, funkcionalna ekspresija i karakterizacija L-asparaginaze II iz *E. coli* MTCC79

Sažetak

L-asparaginaza je antineoplastični agens koji selektivno smanjuje razinu L-asparaginaze u krvi i sprečava proliferaciju kanceroznih stanica. L-asparaginaze iz bakterije *Escherichia coli* koriste se za klinička ispitivanja zbog njihove specifičnosti za supstrat i ograničene aktivnosti glutaminaze. Gen *ansB* za kodiranje L-asparaginaze II izoliran je iz *E. coli* MTCC 739, kloniran pomoću pelB sekvencije prokariotskog vektora pET20b i izražen u stanicama *E. coli* DE3. Pojačana je ekspresija rekombinantnog proteina postignuta pomoću 10 μ M izopropil β -D-1-tiogalaktopiranozidaze, pri čemu je izražen protein bio topljiv, a na C završetku imao je heksahistidinsku oznaku. Rekombinirani je protein pročišćen kromatografijom pomoću nikal(II)-nitrilotrioctene kiseline. Ispitani su ovi parametri: optimalna temperatura i pH-vrijednost za aktivnost enzima, te utjecaj temperature na njegovu stabilnost. Utvrđeno je da je pročišćeni protein imao optimalnu aktivnost pri 37 °C i pH=6.

Ključne riječi: funkcionalna ekspresija, L-asparaginaza II, svojstva enzima