

АННОТАЦИЯ

выпускной квалификационной работы по теме:
«Сравнительная оценка остаточной протеолитической активности
препаратов трипсина».

Исполнитель: студентка 402 группы медико-биологического факультета Волгоградского государственного медицинского университета Костина Анна Сергеевна, направление подготовки «Биология» (профиль Биохимия)

Научный руководитель: зав. кафедрой фундаментальной медицины и биологии ВолгГМУ, к.м.н. Стрыгин Андрей Валерьевич

Научный консультант: старший научный сотрудник лаборатории геномных и протеомных исследований Волгоградского медицинского научного центра, к.м.н. Андрей Сергеевич Кляусов

Сроки выполнения: 2019-2020 учебный год

Цель исследования: проведение сравнительного анализа влияния различных стрессовых факторов физической и химической природы на остаточную активность трипсина, содержащегося в лекарственных ферментных препаратах, получаемый из поджелудочной железы крупного рогатого скота.

Задачи исследования:

1. Провести литературный поиск и анализ статей, посвященных методам оценки активности протеолитических ферментов, входящих в составе лекарственных препаратов.
2. Разработать и оптимизировать протокол оценки активности трипсина на основании флуоресцентной детекции продуктов ферментативного гидролиза специфического субстрата.
3. Провести сравнительный анализ влияния денатурирующих факторов различной интенсивности на стабильность трипсина в составе фермент-содержащих лекарственных препаратов Трипсин кристаллический и Химопсин.

Дизайн исследования. Настоящее исследование будет выполнено на базе кафедры фундаментальной медицины и биологии ВолгГМУ. К основному оборудованию, задействованному в ходе выполнения исследования, будут относиться многофункциональный микропланшетный ридер BMG Labtech Clariostar Plus, pH-метр Mettler Toledo, автоматические пипетки-дозатора переменного объема Eppendorf. В качестве объектов исследования будут выступать лекарственные препараты Трипсин кристаллический (трипсин, лиофилизат для приготовления раствора для инъекций и местного применения, 10 мг) и Химопсин (смесь трипсина и химотрипсина, лиофилизат для приготовления раствора для наружного и местного применения, 50 мг). В ходе экспериментов будет оцениваться стабильность данных препаратов в условиях

воздействия на них повышенной температуры и денатурирующих агентов (соляной кислоты и щелочи различных концентраций) различной концентрации.

Предполагаемые пути решения задач. Для проведения сравнительного анализа стабильности белковых препаратов будет использован высокопроизводительный микропланшетный метод, основанным на детекции интенсивности флуоресценции продукта ферментативного гидролиза специфического субстрата трипсина, соединения Boc-Gln-Ala-Arg-MCA, при расщеплении которого образуется краситель MCA (7-метоксикумарин-4-уксусная кислота), определяемый при длине волны экстинкции 320 нм и длине волны эмиссии 380 нм. Оптимизация протокола спектрофлуориметрической оценки стабильности препаратов Трипсин кристаллический и Химопсин будет включать подбор условий (температура, длительность инкубации, значение показателя pH среды, концентрация денатурирующего агента), обеспечивающих наибольшую воспроизводимость и информативность получаемых результатов. Обработка данных и статистический анализ будет произведен с использованием программы GraphPad Prism 5.0.

21.10.19

Исполнитель:

студентка 402 группы
медико-биологического факультета ВолгГМУ,
направление подготовки
«Биология» (профиль «Биохимия»)

А.С. Костина

Научный руководитель:

зав. кафедрой фундаментальной медицины
и биологии ВолгГМУ, к.м.н.

А.В. Стрыгин

Научный консультант:

с.н.с. лаборатории геномных и
протеомных исследований
Волгоградского медицинского
научного центра (ВМНЦ), к.м.н.

А. С. Кляусов