

ПОЛУЧЕНИЕ БЕСКЛЕТОЧНОЙ ТРАНСЛЯЦИОННОЙ СИСТЕМЫ ИЗ ЗАРОДЫШЕЙ ПШЕНИЦЫ

АБАКУМОВА КИРА, БУЯНОВА ЕЛИЗАВЕТА, ЗОТОВА МАРИЯ, НОВИКОВ МИХАИЛ,
ПОПКОВА АЛЁНА, СТЕПАНЬКОВА МАРИЯ
Лаборатория биосинтеза белка



Задачи:

- Получить лизат зародышей пшеницы (из двух сортов: М40 и ЭКО)
- Проверить эффективность полученных трансляционных систем на разных матрицах мРНК
- Сравнить активность полученных лизатов между собой и с лизатом ретикулоцитов кролика (RRL)

Ход работы



1. Размололи зерна пшеницы



2. Просеяли



3. Отделили зародыши в смеси CCl_4 и C_6H_{12}



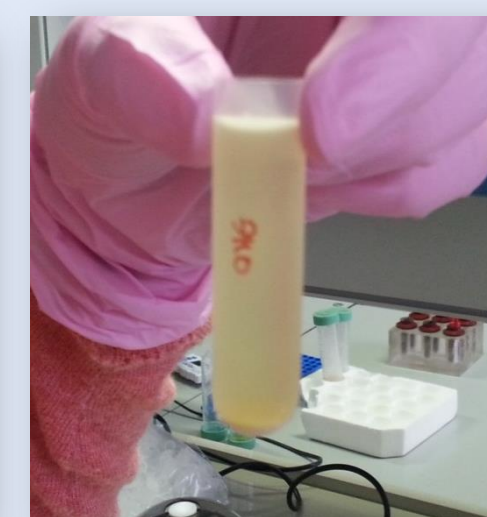
4. Высушили под тягой



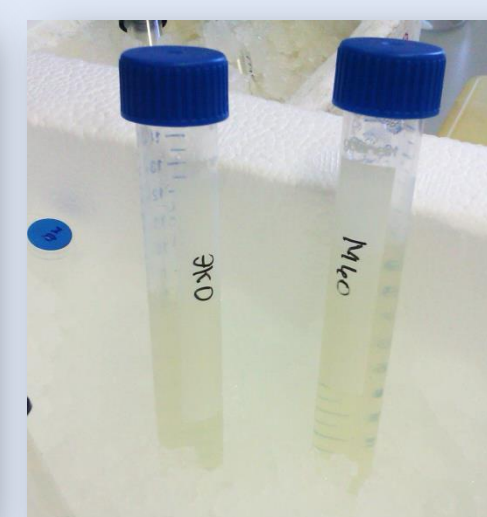
5. Растёрли в жидком N_2



6. Добавили WGE-буфер, ультрацентрифугировали



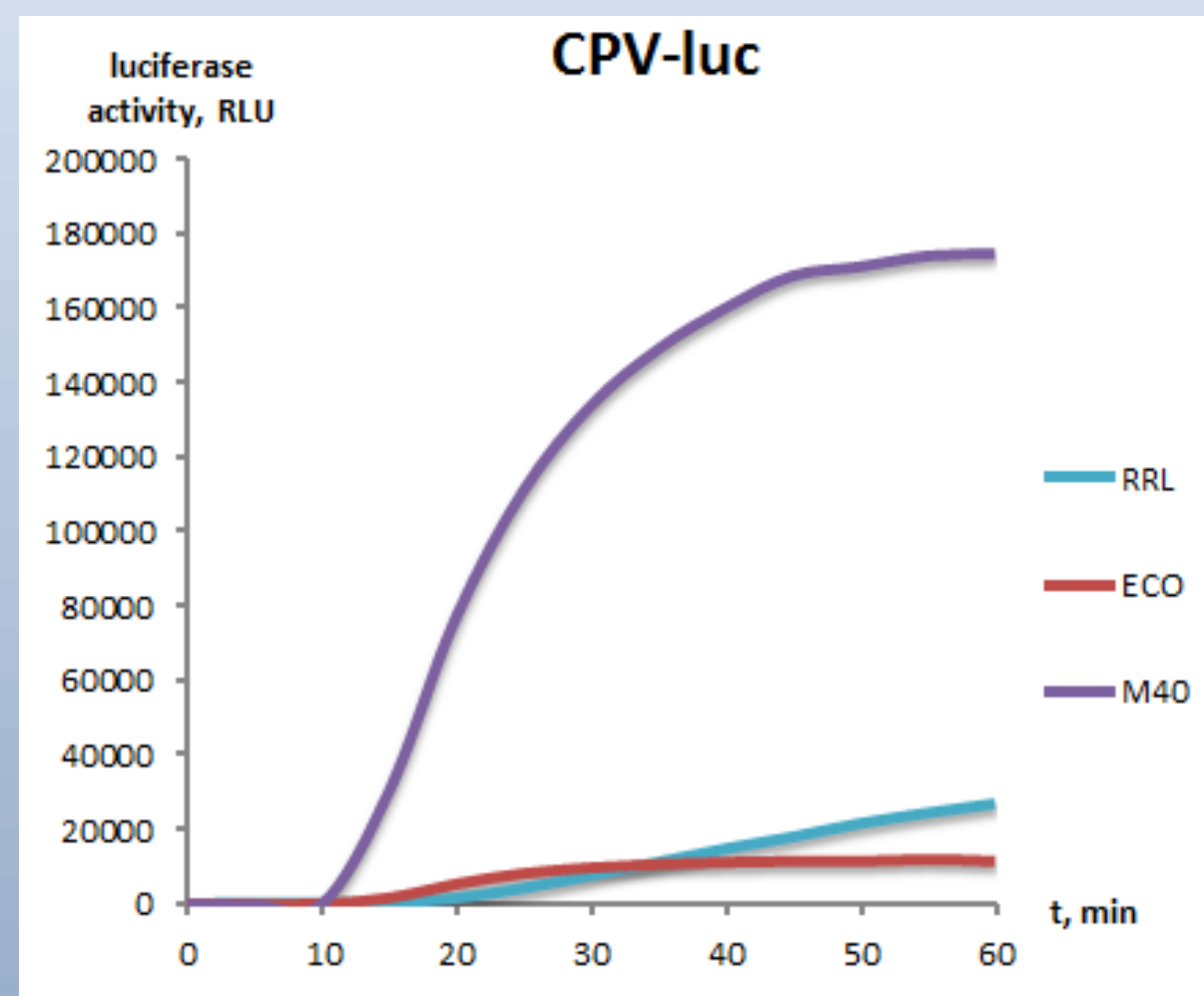
7. Разделили с помощью гель-фильтрации



8. Получили готовый лизат

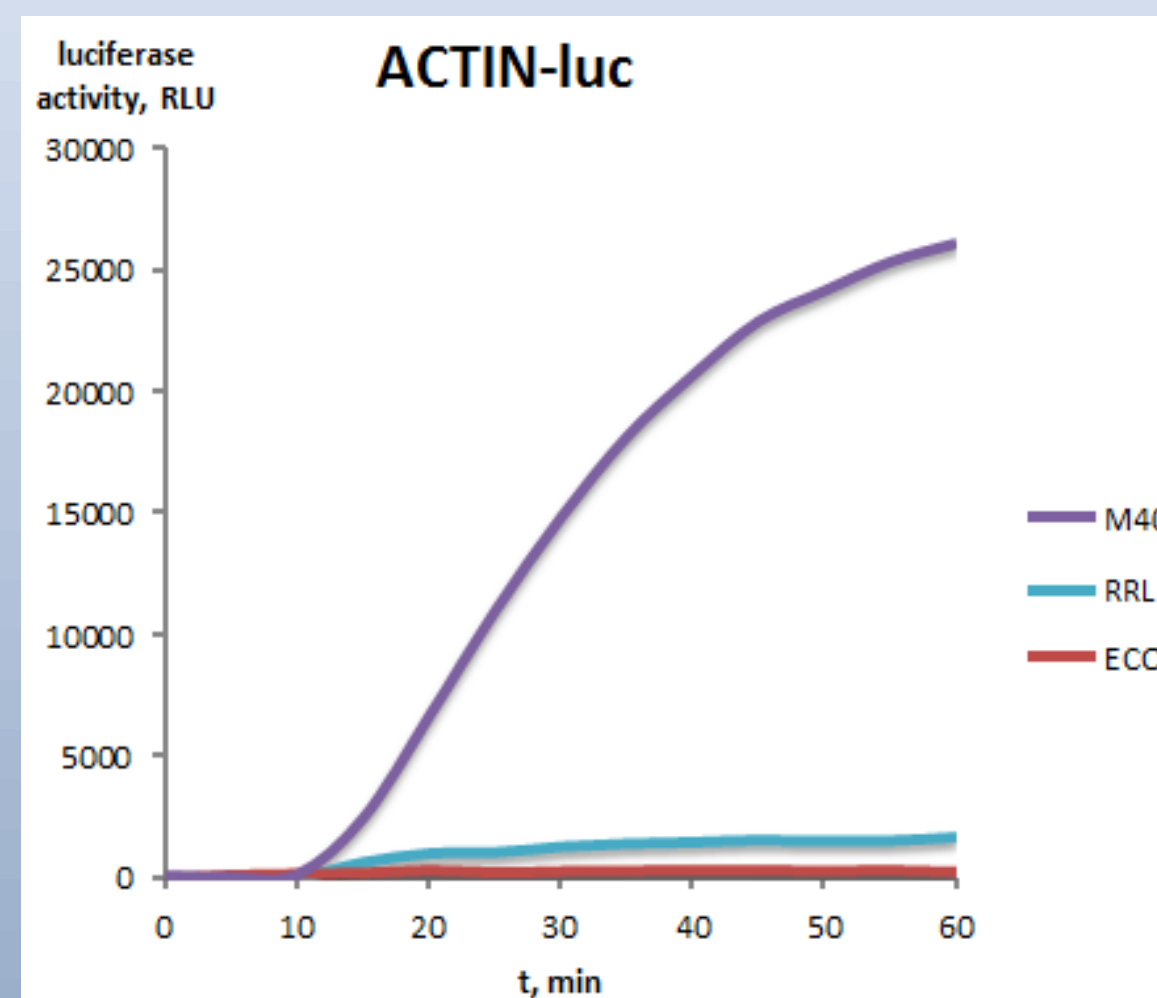
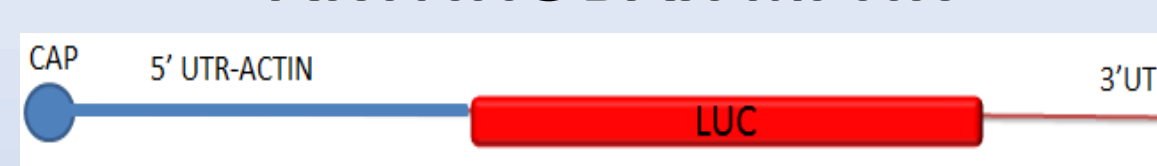
Сравнение трансляционной активности лизатов на разных матрицах

CPV мРНК



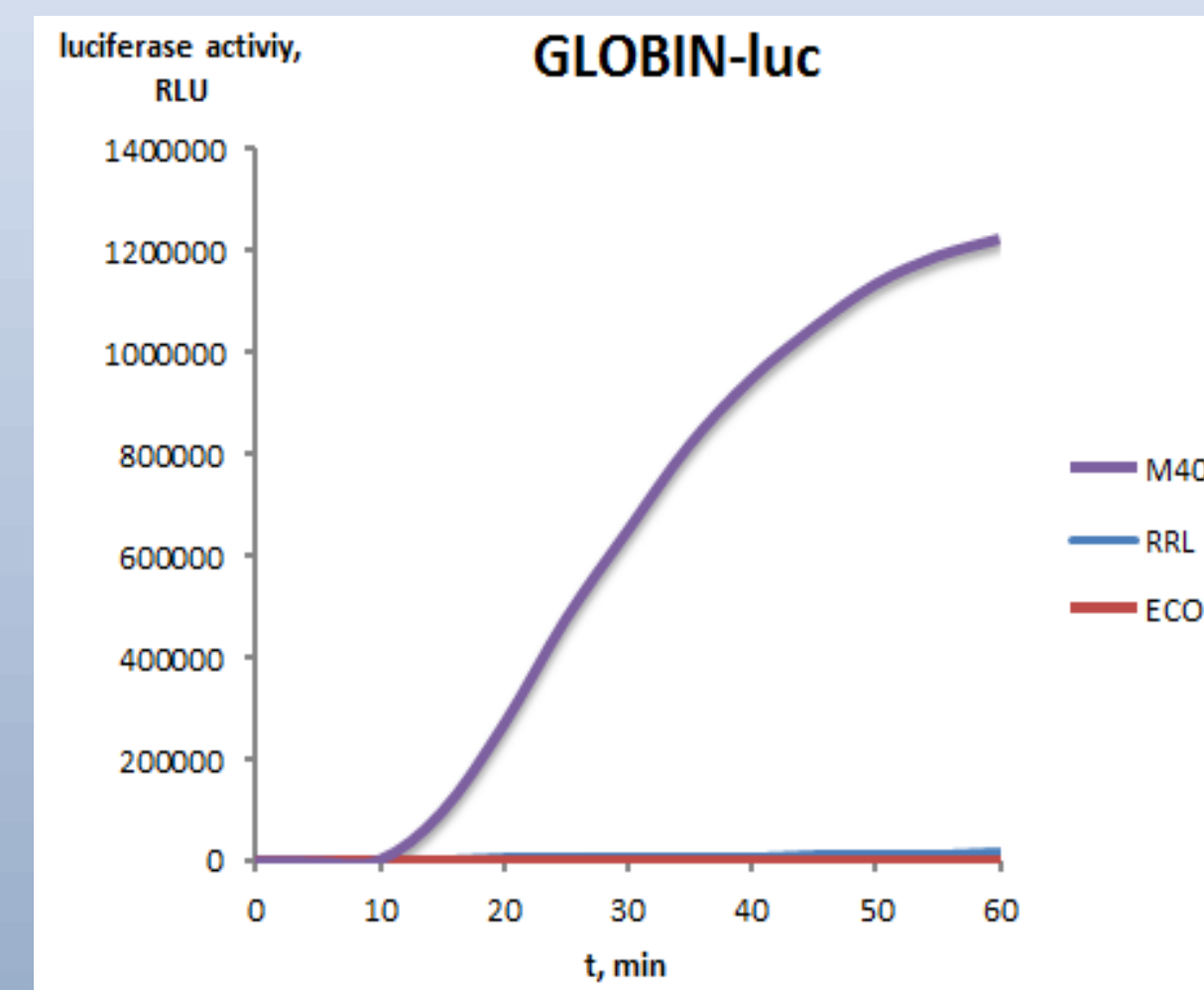
Эффективность синтеза люциферазы в RRL с разных мРНК-матриц

АКТИНОВАЯ мРНК



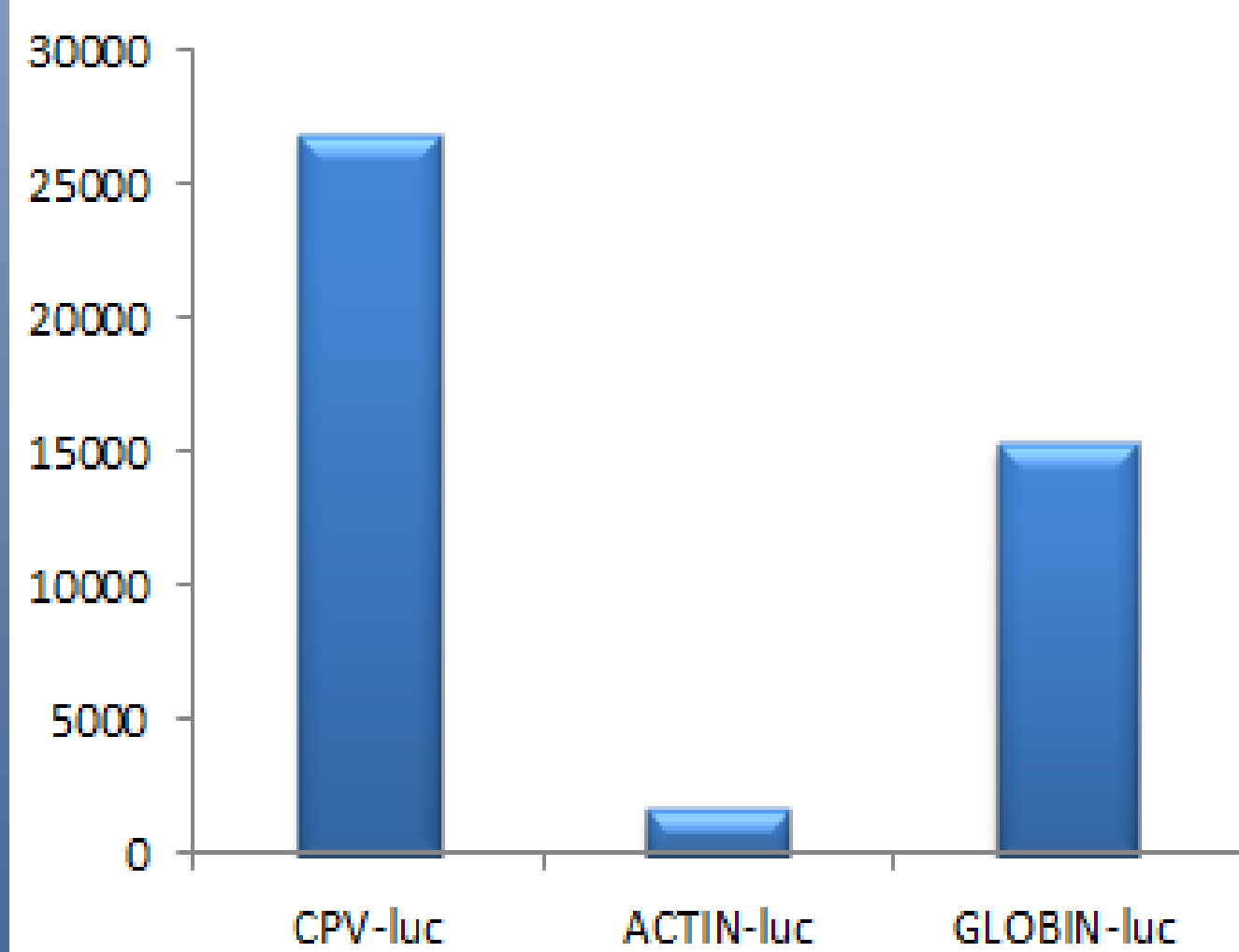
Эффективность синтеза люциферазы в лизате из пшеницы ЭКО с разных мРНК-матриц

ГЛОБИНОВАЯ мРНК

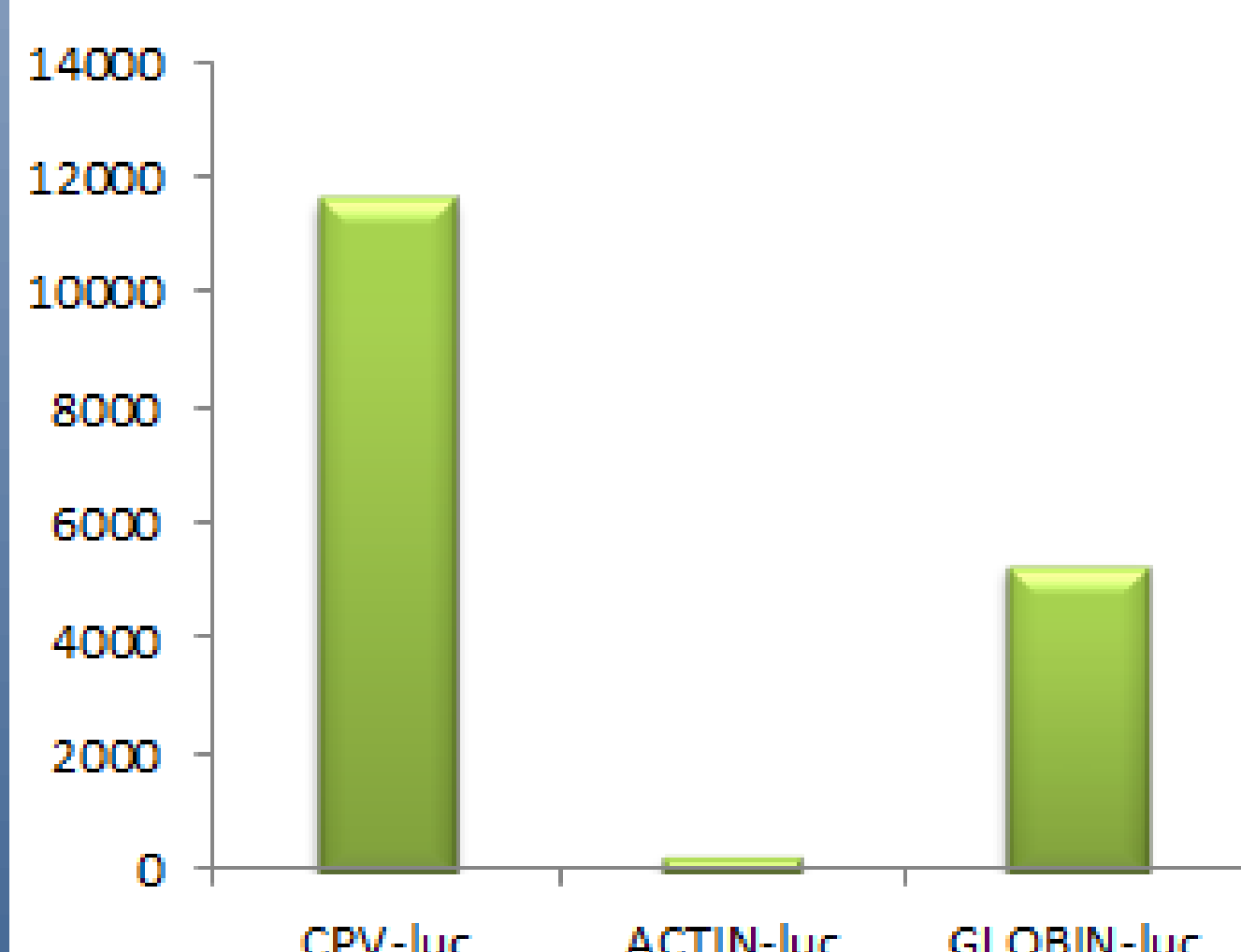


Эффективность синтеза люциферазы в лизате из пшеницы М40 с разных мРНК-матриц

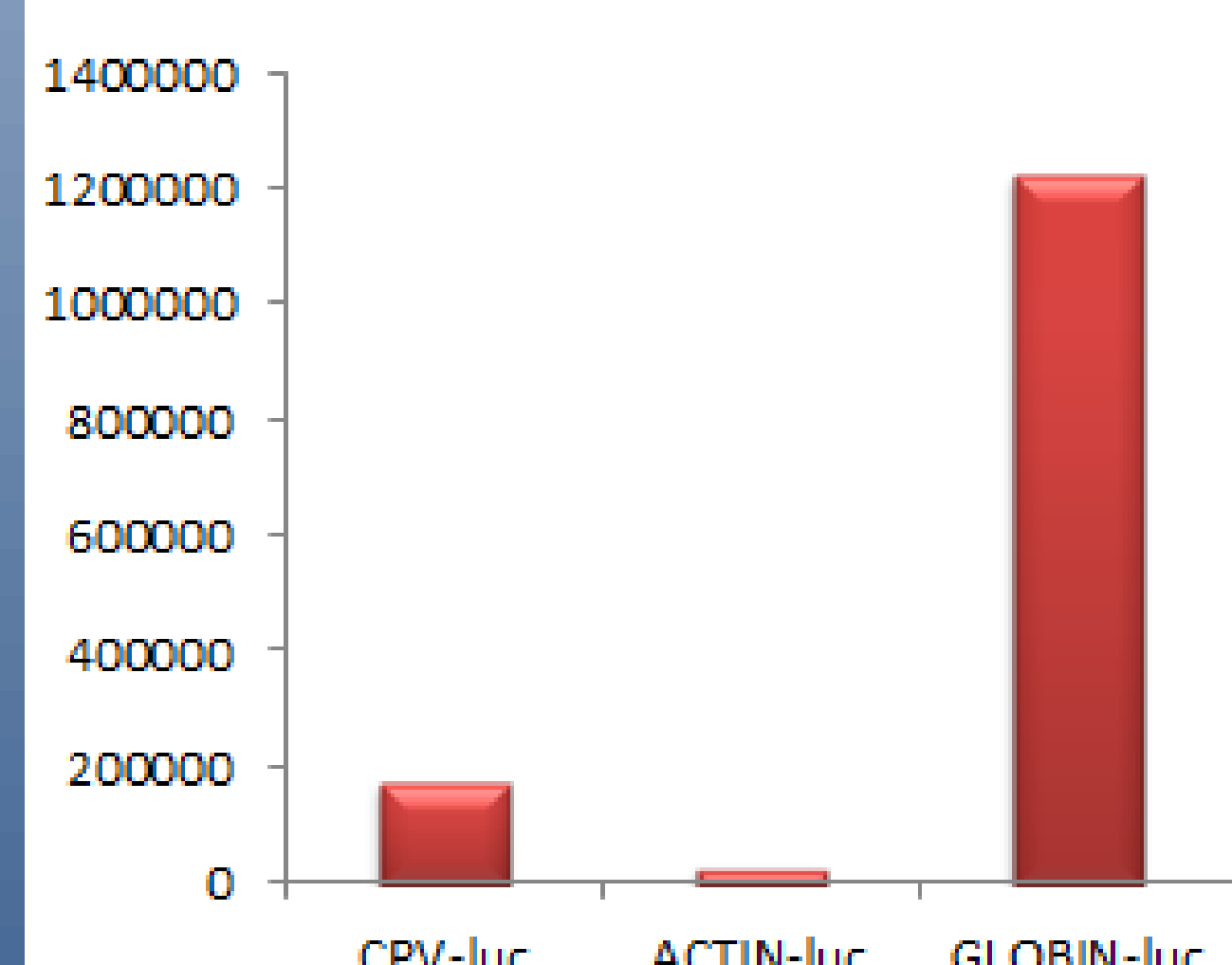
RRL



ECO



M40



Выводы:

1. В ходе работы мы получили 5 мл лизата двух сортов пшеницы (М40 и ЭКО);
2. При проверке эффективности трансляционных систем на разных матрицах мРНК оказалось, что лизаты из обоих видов пшеницы трансляционно активны, но лизат из пшеницы М40 оказался на порядок активнее;
3. В лизате пшеницы ЭКО и лизате ретикулоцитов кролика кэп-независимая трансляция идет эффективнее, чем кэп-зависимая; следовательно, эти трансляционные системы обеднены факторами инициации.