

## ПОДХОД К ПРЕПАРАТИВНОМУ РАЗДЕЛЕНИЮ БЕЛКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

Мешечко М. И. (Университет ИТМО)

Научный руководитель – к. б. н. Аль-Шехадат Р. И.  
(Университет ИТМО)

**Введение.** Препаративное разделение белков является важным этапом в биохимических и биологических исследованиях, а также в производстве биологически активных веществ. Одним из методов препаративного разделения белков является препаративный электрофорез, который основан на разделении заряженных белков в электрическом поле и по молекулярной массе за счет пор различного размера в полиакриламидном геле. Этот метод обладает высокой разрешающей способностью и позволяет получать чистые фракции белков для дальнейшего исследования и применения [1, 3, 5]. Промышленное использование метода ограничено низкой масштабируемостью процесса: максимально разделяемые количества белка не более 500 мг [2]. В качестве решения предложены оценка и последующая оптимизация параметров на основе опытных данных.

**Основная часть.** Препаративный электрофорез в полиакриламидном геле основан на использовании электрического поля для разделения белков в геле. Ключевыми аспектами препаративного электрофореза являются оптимальные условия для разделения, такие как состав геля, pH среды, напряжение и время электрофореза [4]. Эти параметры должны быть оптимизированы для достижения максимальной эффективности разделения.

В ходе написания работы были проведены опыты по препаративному электрофорезу прецизионной смеси белков для определения оптимальной длины геля и его состава. Опытным путем было установлено, что разделение белков, отличающихся по молекулярной массе на 15 и более % может быть проведено на коротких гелях (длиной не более 5 см). Разделение же белков с разницей в массе 10–15% требует удлинения геля на 2 см (до 7 см). Использование для разделения белков с разницей молекулярной массы от 2 до 10% возможно при увеличении длины на 0,3 см относительно каждого процента массы разделяемого белка. Высокая концентрация мономера, с одной стороны, позволяет разделять близкие по массе белки, с другой стороны — увеличивает время элюирования и ведет к избыточному нагреву системы, поэтому была выбрана концентрация акриламида, равна 12,5%. Время элюирования зависит от длины геля и характеристик электрического тока: при повышении тока скорость проведения электрофореза увеличивается, но также ухудшается качество разделения за счет повышения температуры вследствие влияния теплового эффекта электрического тока. Опытным путем доказано, что оптимальные параметры для разделения смеси белков, при которых не происходит значительного изменения качественного состава фракций, такие: 200 В, 4 мА, 1 Вт. При указанном напряжении и мощности достигается высокое качество разделения белка на фракции. Время элюирования индивидуально и зависит от состава каждой смеси, так как зависит от Rf (Retardation factor — коэффициента удержания) каждой фракции на колонке. Коэффициент удерживания представляет собой функцию, зависящую от молекулярной массы белка как степенная функция.

**Вывод.** Препаративный электрофорез представляет собой метод для разделения белков, который находит широкое применение в биохимических исследованиях, биотехнологии и производстве биологически активных веществ. Этот метод обладает высокой разрешающей способностью и способен обеспечить получение чистых фракций белков, что позволяет его шире внедрять в практику выделения и очистки белков. Полученные экспериментальные данные — концентрация разделяющего геля, его длина, режим подачи электрического тока

— могут служить в качестве отправной точки при конструировании промышленных аппаратов для препаративного электрофореза.

#### **Список использованной литературы:**

1. Препаративное выделение специфических антигенов полного клеточного лизата *M. Bovis* [Электронный ресурс]. – 2021. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/preparativnoe-vydelenie-spetsificheskikh-antigenov-polnogo-kletochnogo-lizata-m-bovis> (дата обращения 15.02.2024).
2. Protein fractionation by preparative electrophoresis [Электронный ресурс]. – 2008. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18369871/> (дата обращения 15.02.2024).
3. Preparative SDS PAGE as an Alternative to His-Tag Purification of Recombinant Amelogenin [Электронный ресурс]. – 2017. – URL: <https://www.frontiersin.org/journals/physiology/articles/10.3389/fphys.2017.00424/full> (дата обращения 15.02.2024).
4. Offline preparative separation methods based on electromigration: An overview and current trends – 2024. – URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165993623005150> (дата обращения 15.02.2024).
5. Fractionation of liver proteins by preparative electrophoresis | Request PDF [Электронный ресурс]. URL: [https://www.researchgate.net/publication/8894412\\_Fractionation\\_of\\_liver\\_proteins\\_by\\_preparative\\_electrophoresis](https://www.researchgate.net/publication/8894412_Fractionation_of_liver_proteins_by_preparative_electrophoresis) (дата обращения: 15.02.2024).

