



Pécsi Tudományegyetem
Természettudományi Kar
Szentágotthai Szakkollégium
H-7624 Pécs, Ifjúság útja 6.



Regionális hatókörű akkkreditált kiváló
tehetségpont
TP 170 003 962

Presents this

Certificate of attendance.

Hereby I certify, that

Emese GALGÓCZI

participated at

Pharmacy Section

of

JSMC-2021

(18th and 19th János SZENTÁGOTTHAI

Multidisciplinary Conference and Student Competition)

and **won 1th place of Section with lecture:**

*Haemophilus influenzae L-fukóz-proton szimporter fehérje
klónoozása, expresszálása és tisztítása.*

Hungary, PÉCS, 26th of March, in 2021

HATVANI Zsolt PhD

director

of University of PÉCS, Faculty of Sciences
János SZENTÁGOTTHAI Scholastic Honorary Society

ABSZTRAKT KÖTET BOOK OF ABSTRACTS

2021. MÁRCIUS 26.
XIX. SZENTÁGOTHA
MULTIDISZCIPLINÁRIS
KONFERENCIA ÉS
HALLGATÓI VERSENY

XIX.SZENTÁGOTHA
MULTIDISCIPLINARY
CONFERENCE AND
STUDENT COMPETITION

26TH
MARCH
2021.



XIX. Szentágothai János Multidiszciplináris Konferencia és Hallgatói Verseny

XIX. János Szentágothai Multidisciplinary Conference and Student Competition



Szerkesztette:

Dr. Prisztóka Gyöngyvér

Kertai Bendegúz

Pécs, 2021

XIX. Szentágothai János Mutidiszciplináris Konferencia és Hallgatói Verseny

Absztrakt kötet

XIX. János Szentágothai Multidisciplinary Conference and Student Competition

Book of Abstracts

Kiadja a Szentágothai János Szakkollégiumi Egyesület

Felelős kiadó a Szentágothai János Szakkollégiumi Egyesületének ügyvezető elnöke,

Dr. Hatvani Zsolt Ákos

Cím: 7624 Pécs, Szent István tér 17.

Tel.: 72/503-600/24372

Borító:

Pfefferkorn Laura-Jane

1. kiadás

2021. május

ISBN 978-963-429-647-8 (nyomtatott)

ISBN: 978-963-429-648-5 (online)

DOI: 10.15170/SZJSZ.conf.abstract-2021

Nyomda: B-Press Digitális Nyomda, a B-Group Kft. tagja

Felelős vezető: Borbély Zsolt

Pécs, 2021

***Haemophilus influenzae* L-fukóz-proton szimporter fehérje klónozása, expresszálása és tisztítása**

Galgóczi Emese, Rajki Eszter, Dr. Szakonyi Gerda

Szegedi Tudományegyetem Gyógyszerésztudományi Kar Gyógyszeranalitikai Intézet

g.emese98@gmail.com

Bevezetés

A baktériumokban megtalálható transzmembrán fehérjék megismerése fontos többek között azért is, mert általuk megtudhatjuk hogyan lehet bizonyos patogén kórokozók ellen hatékonyan védekezni. A membránfehérjék szerkezetének hatékonyabb tanulmányozásához molekuláris chaperonokat, mint T4 lizozimot vagy antitesteket is használhatunk. Tudományos munkánk során célunk az, hogy *Haemophilus influenzae* HI0610 membránfehérjét T4 lizozimmal összekapcsoljuk, majd ennek a fúziós fehérjének a szerkezetét tanulmányozzuk klónozást, expresszálást, tisztítást és kristályosítást követően röntgenkristallográfia módszerével.

Anyag és módszerek

Rekombináns DNS technológia felhasználásával a HI0610 transzmembrán fehérjét klónoztuk pTTQ18 vektorba. A célfehérjéhez a klónozás során kovalens fúzióval T4 lizozim fehérjét kapcsoltunk C-terminálisan. A fehérjeexpresszióhoz BL21(DE3) sejteket használtunk, majd gélelektroforézissel ellenőriztük a kívánt makromolekula kifejeződését. Elvégeztük a fehérjetermelés optimalizációját is. Ezt követően a kinyert fehérjét affinitáskromatográfia alkalmazásával tisztítottuk meg és összehasonlítottuk Ni-NTA és a Talon gyanták hatékonyságát.

Eredmények

A gélelektroforézis igazolta, hogy a kívánt makromolekula megfelelő mennyiségben expresszálódott. A fehérjeexpresszió optimális körülményeit is sikerült megállapítani. Az affinitás kromatográfia során a célfehérjét igen nagy tisztaságban sikerült kinyernünk.

Következtetés

A gélelektroforézis eredményei alapján megállapítottuk, hogy a *Haemophilus influenzae* célfehérje és C-terminális T4 lizozim kovalens fúzió eredményes volt, az általunk összeépített gén megfelelően expresszálódott az *E. coli* sejtekben.

A fehérjetisztítás során kapott eluátumok vizsgálatával két különböző összetételű affinitás oszlopot használva, arra a következtetésre jutottunk, hogy a Ni-NTA gyanta hatékonyabban kötötte meg a célfehérjét, mint a Co²⁺ ionokat tartalmazó Talon gyanta.

Kulcsszavak: bakteriális membránfehérje, T4 lizozim, kovalens fúzió, fehérjeexpresszió, affinitás kromatográfia

Cloning, expression and purification of *Haemophilus influenzae* L-fucose-proton symporter protein

Emese Galgóczi, Eszter Rajki, Gerda Szakonyi

University of Szeged, Faculty of Pharmacy, Institute of Pharmaceutical Analysis

g.emese98@gmail.com

Introduction

Investigation of the transmembrane proteins found in bacteria is important, among others, to gain knowledge how to effectively control certain pathogens. Molecular chaperones such as T4 lysozyme or antibodies are found to be efficient for studying the structure of membrane proteins. Our aim is to covalently fuse T4 lysozyme to the C terminus of *Haemophilus influenzae* HI0610 membrane protein to study the structure of this fusion protein by X-ray crystallography after cloning, expression, purification and crystallization.

Materials and methods

HI0610 transmembrane protein was cloned into pTTQ18 plasmid by using recombinant DNA technology. T4 lysozyme was covalently fused to the target protein during the cloning. BL21(DE3) cells were used for the protein expression and the presence of the required macromolecule was visualized by SDS gel-electrophoresis. Optimization of protein expression was also performed. Subsequently, the protein was purified by affinity chromatography and the efficiency of Ni-NTA and Talon resins was compared.

Results

Gel-electrophoresis confirmed that the target macromolecule was expressed in an appropriate amount. Optimal conditions for protein expression were also determined. During affinity chromatography, the target protein was recovered in very high purity.

Conclusion

Based on the results of gel-electrophoresis, we found that the covalent fusion of *Haemophilus influenzae* target protein and C-terminal T4 lysozyme covalent fusion was successful, and the gene construct expressed properly in *E. coli* cells.

Investigating the eluted proteins obtained during protein purification using two affinity columns, we concluded that the Ni-NTA resin bound the target protein more efficiently than that of Co²⁺ ion containing Talon resin.

Keywords: bacterial membrane protein, T4 lysozyme, covalent fusion, protein expression, affinity chromatography