

ПРИЛОЖЕНИЕ

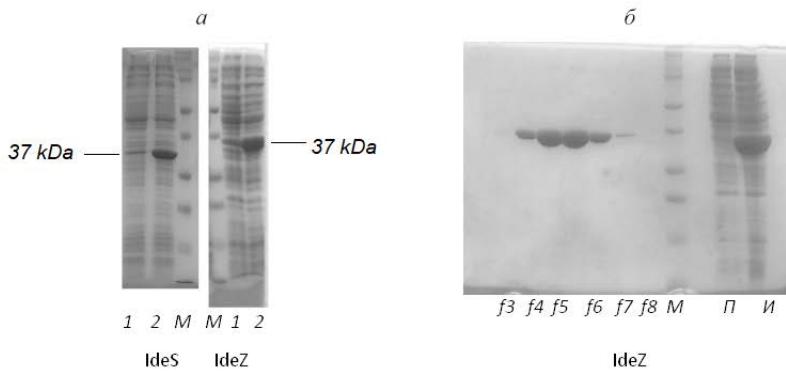


Рис. 1. *a* – Картина электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ) экстрактов белков клеток продуцентов IdeS и IdeZ до и после индукции изопропилтиогалактозидом (ИПТГ). Дорожки: *M* – белковые маркеры молекулярной массы: 15-20-25-30-40-50-60-70-85-100-120-150-200 (кДа); *I* – экстракт клеток до индукции; 2 – экстракт клеток после индукции гена целевого белка изопропилтиогалактозидом. *б* – Электрофоретическая картина ПААГ исходного «супернатанта» и фракций белка IdeZ, не связавшегося с сорбентом, и элюатов с колонки WorkBeads 40Ni. В карманы 15%-ного ПААГ нанесены образцы фракций f3 f4 f5 f6 f7 и f8 объемом по 5 мкл каждого, а также белковые маркеры молекулярных масс (*M*), «проскок» сквозь колонку (*П*) и исходный образец (*И*) (объем – 5 мкл)

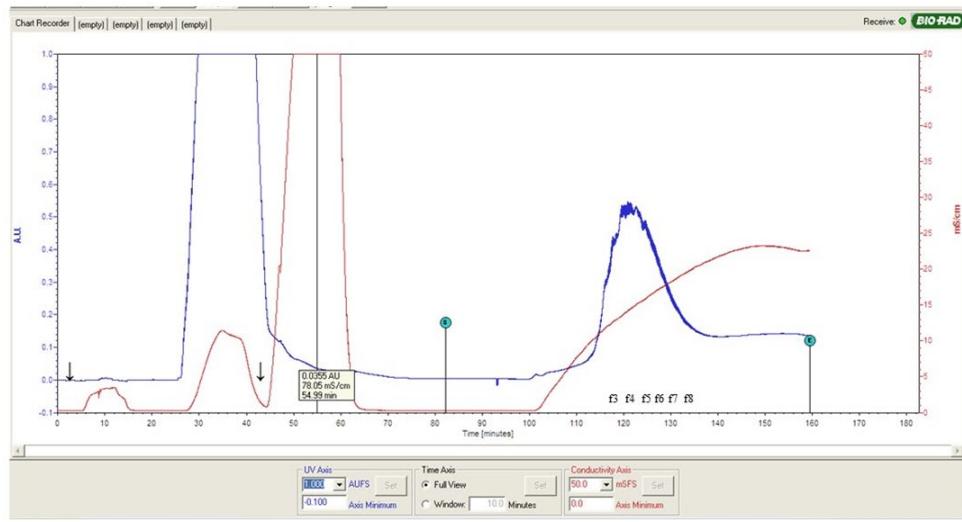


Рис. 2. Профиль, полученный при хроматографии IdeZ на колонке с WorkBeads 40 Ni. Первая стрелка ↓ – момент нагрузки белка на колонку; вторая стрелка ↓ – момент промывания колонки раствором 0,5 М NaCl. Между этими стрелками – пик поглощения при 280 нм – «проскок» – фракция белка, не связавшаяся с сорбентом колонки. S – начало элюции градиентом концентрации имидазола и NaCl (0–150 mM), E – окончание элюции градиентом концентрации имидазола и NaCl

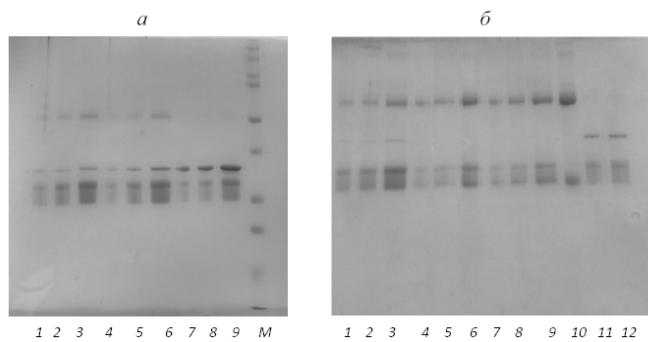


Рис. 3. *a* – Электрофоретическая картина продуктов гидролиза IgG человека эндопептидазой IdeS. На дорожки 15%-ного ПААГ нанесены: 1–3 – смесь (1) объемом 1, 2 и 5 мкл; 4–6 – смесь (2) объемом 1, 2 и 5 мкл; 7–9 – смесь (3) объемом 1, 2 и 5 мкл. *б* – Электрофоретическая картина продуктов гидролиза IgG человека эндопептидазой IdeZ. На дорожки 15%-ного ПААГ нанесены: 1–3 – смесь (2) объемом 1, 2 и 5 мкл; 4–6 – смесь (3) объемом 1, 2 и 5 мкл; 7–9 – смесь (4) объемом 1, 2 и 5 мкл; 10 – IgG (контроль без IdeZ), 11–12 – смесь (1) объемом 1 и 2 мкл

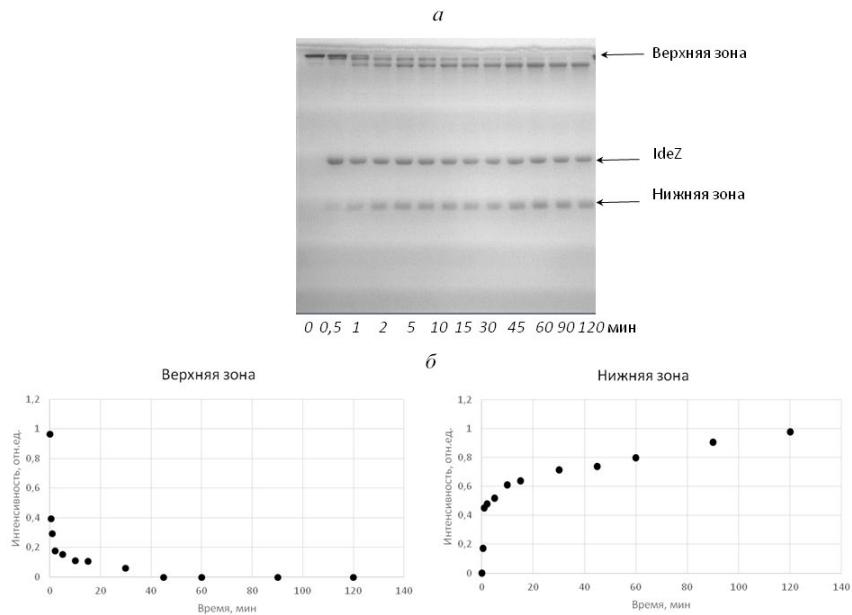


Рис. 4. *a* – Электрофоретическая картина (в 10%-ном ПААГ) продуктов гидролиза IgG человека эндопептидазой IdeZ в зависимости от времени. *б* – Изменение интенсивности окраски белковых зон во времени: на диаграмме слева – верхней зоны, соответствующей целым молекулам IgG, справа – нижней зоны, соответствующей отщепленным фрагментам тяжелых цепей

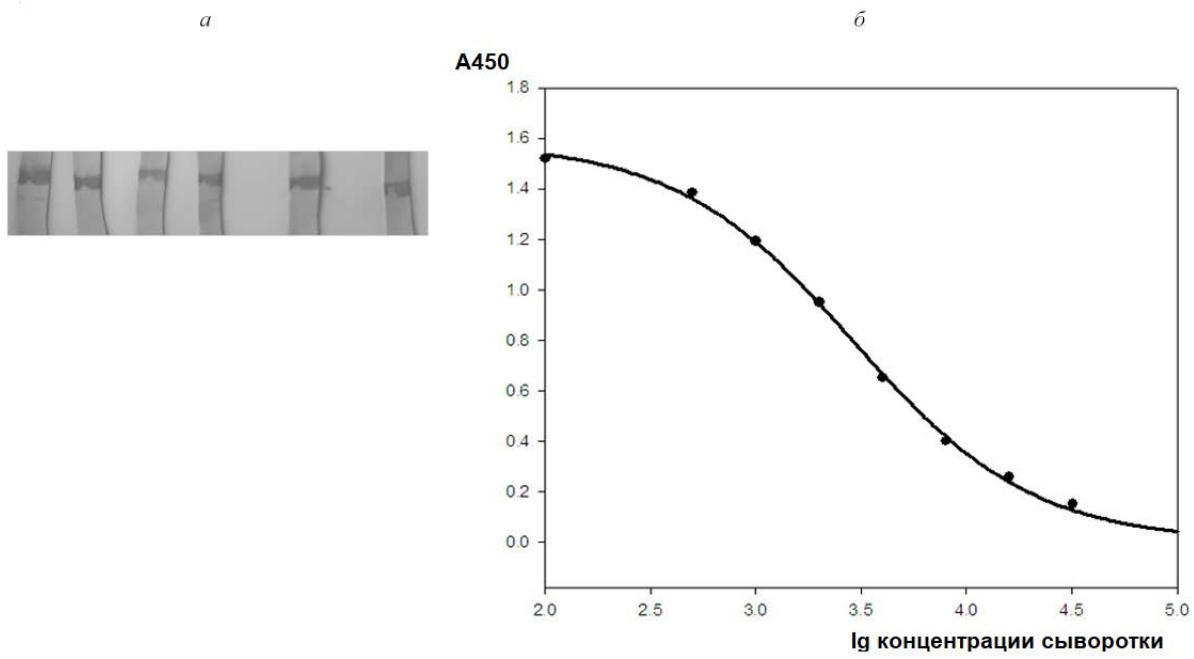


Рис. 5. *a* – Пример окрашивания нитроцеллюлозы после проведения иммуноблоттинга IdeZ с лошадиными сыворотками. *б* – Кривая титрования в ИФА для образца сыворотки № 3 (зависимость оптической плотности от концентрации сыворотки, представленной как её разведение от 1 : 100 до 1 : 10 0000 (экспериментальные точки – от 1 : 500 до 1 : 32 000). Параметры кривой: $R^2 = 1,0$; $a = 1,593301$; $b = 1,105941$; $c = 2599,286145$; $d = 0,066838$