

UNIVERSITA' DEGLI STUDI FEDERICO II DI NAPOLI

FACOLTA' DI SCIENZE BIOTECNOLOGICHE

CORSO DI LAUREA IN BIOTECNOLOGIE INDUSTRIALI

ANALISI PROTEOMICA DI FARINA DI SEMI DI COTONE

ED INFLUENZE SULLA PRODUTTIVITA' DI

STREPTOMYCES CYANOGRISEUS

VALERIA AIELLO

TESI SPERIMENTALE DI LAUREA

Relatore interno: Chiar.^{mo} Prof. Gennaro Marino

Correlatore: Dott. Vincenzo Carciotto (Wyeth – FDAH)

ANNO ACCADEMICO 2007/2008


Indice

Introduzione	3
1. Il metabolita F-alpha	4
2. La fermentazione industriale	8
3. Pharmamedia cotton seed flour	12
4. Il cotone	14
5. Le proteine del seme di cotone	16
6. Le Vicilline e le Legumine	18
7. La Spettrometria di Massa a Desorbimento /Ionizzazione Laser Assistita da Matrice (MALDI)	19
8. La Spettrometria di Massa applicata agli studi di proteomica	28
9. MASCOT	32
10. Scopo della ricerca	37
11. Materiali e metodi	40
12. Tecniche di solubilizzazione della componente proteica	41
13. Estrazione totale	41
14. Estrazione frazione solubile/frazione insolubile.	42
15. Estrazione frazione proteica dal seme di Gossypium	42
16. Desalificazione della frazione solubile	43
17. Separazione mediante RP-HPLC delle frazioni proteiche	44

18.	<i>Elettroforesi monodimensionale (SDS-PAGE)</i>	44
19.	<i>Elettroforesi bidimensionale su Gel (2D-PAGE)</i>	46
20.	<i>Digestione in-gel delle proteine</i>	51
21.	<i>MALDI-MS</i>	53
22.	<i>Analisi Bio-informatica</i>	55
23.	<i>Risultati e discussione</i>	56
24.	<i>Elettroforesi monodimensionale SDS-PAGE</i>	57
25.	<i>Analisi RP/HPLC con rivelazione UV ed analisi MALDI/MS off-line delle frazioni</i>	58
26.	<i>MALDI/MS</i>	60
27.	<i>Elettroforesi bidimensionale 2D-PAGE</i>	63
28.	<i>Digestione in-gel delle proteine e analisi MALDI/MS</i>	64
29.	<i>Conclusioni</i>	67
30.	<i>Tabelle e Figure</i>	74
31.	<i>Ringraziamenti</i>	141
32.	<i>Bibliografia</i>	142

Introduzione

Differenze in produttività nel processo di biosintesi di F-Alpha, intermedio dell'antelmintico per la salute animale Moxidectin, vengono riscontrate nei fermentatori industriali della **Wyeth** div.

 Animal Health di Catania già a partire dal 1997. Da alcuni anni nei laboratori di Ricerca e Sviluppo FDAH, si cerca di identificare le variabili responsabili della deviazione dagli standard di produzione. In particolare, lo studio volge alla caratterizzazione della composizione dei materiali grezzi utilizzati nel terreno di fermentazione industriale. L'incidenza di tale fenomeno sembra essere correlata alla fonte organica di azoto, Pharmamedia cotton seed flour della Traders Protein: l'origine vegetale di questa materia prima, implica una certa variabilità stagionale che quindi potrebbe ripercuotersi sulla qualità e quantità della porzione proteica contenuta.