

Получение растворимого белка E2 вируса чикунгунья в бактериальной системе экспрессии

Научный руководитель – Додина Мария Сергеевна

Красильникова Александра Алексеевна

Аспирант

Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН, Москва, Россия

E-mail: kras2048@gmail.com

Вирус чикунгунья (семейство *Togaviridae*) уже несколько десятилетий вызывает вспышки одноименной лихорадки по всему миру. По данным ВОЗ, ежегодно лихорадкой чикунгунья заболевает до полумиллиона человек и около трех миллиардов находятся в зоне риска инфицирования. Лихорадка чикунгунья вызывает артриты с высокой степенью хронификации, что приводит к ухудшению качества жизни. На данный момент против инфекции нет одобренных терапевтических препаратов, а вакцинация доступна лишь в ограниченном количестве стран. Поэтому актуальным вопросом является разработка новых методов профилактики и лечения заболевания.

Наибольшим иммуногенным потенциалом обладает поверхностный белок вириона E2, отвечающий за связывание с рецептором для проникновения вируса в клетку. Это также делает его потенциальной мишенью противовирусных соединений. Однако, для разработки и тестирования вакцин и лекарств требуется получить растворимый полноразмерный белок E2, что осложняется отсутствием его корректного фолдинга во время экспрессии.

Целью нашей работы является разработка метода получения растворимого белка E2 в бактериальной системе экспрессии (клетки *E. coli*), избегая этап рефолдинга.

Ген, кодирующий белок E2, был клонирован в вектор pCold TF (Takara Bio, Япония). Особенностью этого вектора является наличие промотора «холодового шока» и последовательности, кодирующей белок-шаперон. При резкой смене температуры инкубации промотор и шаперон будут способствовать ингибированию бактериальных протеаз и правильному фолдингу белка. Экспрессию белка проводили в клетках *E. coli* штамм BL21(DE3). Электрофорез образцов клеточного осадка и супернатанта, собранных после экспрессии, показал успешное получение белка E2, ассоциированного с шапероном, в растворимой форме. Далее, при помощи вестерн блот метода, было оценено влияние различных параметров, таких как длительность и температура экспрессии, концентрации индукторов и буферных составляющих на количество получаемого белка и его агрегацию, в результате чего были оптимизированы условия. После этого была проведена препаративная экспрессия белка E2 и его хроматографическая очистка также с оптимизацией условий.

Таким образом, был получен и очищен растворимый полноразмерный белок E2 вируса чикунгунья в бактериальной системе экспрессии без стадии рефолдинга. В дальнейшем планируется оценить связывание белка с антителами и протестировать белок в качестве антигена на животных моделях.