

Создание системы на основе белка внешней мембраны INP для экспорта рекомбинантных белков

Научный руководитель – Тищенко Светлана Викторовна

Блинова Полина Ивановна

Студент (бакалавр)

Институт белка РАН, Пущино, Россия

E-mail: polinchuki@ya.ru

В биологических отраслях рекомбинантные белки имеют немалое значение, они нарабатываются и применяются в больших количествах. Их востребованность растет в сельском хозяйстве, экологии, пищевой промышленности, в фармакологической и медицинской областях. В связи с большим спросом актуальной задачей остается модификация существующих методов получения рекомбинантных белков для их упрощения и повышения их производительности.

На данный момент для производства белковой продукции наиболее распространены бактериальные системы. Однако современные способы наработки имеют ряд недостатков: токсичность белка для клетки-хозяина, неправильное сворачивание и агрегация белков с большим количеством дисульфидных связей, образование телец включения и инактивация целевого белка. Одним из способов решения этих проблем могут стать дисплейные технологии - вынесение белка на поверхность бактериальной клетки. В рамках этого метода продуцируется химерный белок, включающий сигнальный пептид, белок-переносчик и, непосредственно, целевой белок. Белок-переносчик, иначе именуемый якорным мотивом, встраивается в мембрану и выносит целевой белок наружу клетки, оставляя его закрепленным на поверхности мембраны.

Наша работа направлена на улучшение современного способа получения рекомбинантных белков. Предложенная нами модификация позволит упростить процесс и получать рекомбинантные белки в одну стадию, избегая этапов дополнительной очистки.

В рамках данного исследования мы начали работу по созданию платформы для экспорта целевых белков на основе белка внешней мембраны INP из фитопатогенной бактерии *Pseudomonas syringae*. Нами получена генетическая конструкция, включающая фрагменты гена белка внешней мембраны INP из *P. syringae*: N-концевого домена, части центрального повторяющегося домена (CRD) INP. Также в генетическую конструкцию включена последовательность сайт специфичного расщепления ионами никеля (-G-) SNAC-tag. В будущем в данную генетическую конструкцию планируется вставка генов модельных белков. Применение SNAC-tag позволит отойти от необходимости использования дополнительных реагентов (например, протеаз) для высвобождения целевого белка.

Базовая конструкция получена на основе вектора рЕТ22b(+), под контролем T7 промотора. В данном векторе содержится лидерная последовательность *pelB*, продукт которой обеспечивает транспорт химерного белка из цитоплазмы в переплазматическое пространство грамотрицательной бактерии. Мы показали, что такой модифицированный белок-переносчик продуцируется в клетках штамма BL21(DE3) *Escherichia coli*. Таким образом, мы получили систему экспорта рекомбинантных белков на основе белка внешней мембраны INP для ее дальнейшего тестирования на модельных белках.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 25-24-00331.