

**Рекомбинантный поверхностный гликопротеин вируса клещевого энцефалита
для оценки связывания с ингибиторными молекулами**

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

Несмотря на современные научные достижения, для большинства вирусных инфекций все еще отсутствуют одобренные терапевтические препараты. На фоне увеличения количества вспышек новых и возвращающихся инфекций, поиск противовирусных соединений остается актуальной задачей. Для направленного поиска лекарственных средств против клещевого энцефалита, вызываемого вирусом клещевого энцефалита (*Orthoflavivirus encephalitidis*, ВКЭ), одной из перспективных мишеней является поверхностный гликопротеин (белок Е), который играет роль в слиянии вируса с клеткой. Широкомасштабный скрининг библиотек ингибирующих соединений требует получения биоактивного белка Е в больших количествах. В ходе данной работы была разработана методика получения растворимой формы белка sЕ (эктодомен белка Е) в бактериальной системе экспрессии, с которым были проведены такие исследования, как иммуноферментный анализ (ИФА) и поверхностный плазмонный резонанс (surface plasmon resonance, SPR).

Рекомбинантный растворимый поверхностный гликопротеин ВКЭ получали методом ко-экспрессии целевого белка с системой молекулярных шаперонов в бактериальных клетках *E. coli* штамм BL21(DE3). Активность полученного белка проверяли методом ИФА с использованием сывороток крови мышей и людей, иммунизированных вакциной от клещевого энцефалита. Для всех сывороток наблюдалось достоверное уменьшение значений оптической плотности с увеличением концентрации белка. Связывание белка с антителами в поликлональных сыворотках подтверждает его биоактивность.

Чтобы убедиться, что полученный белок может быть использован как мишень для тестирования библиотек ингибирующих соединений, проводили анализ связывания белка методом SPR. В качестве аналитов использовали два низкомолекулярных ингибитора (LCTA952, LCTA336-Б), а также моноклональное коммерческое антитело (14D5), для которого известна равновесная константа связывания с белком sЕ (K_D). Полученные K_D демонстрируют успешное взаимодействие белка и аналитов, причем для антитела K_D соответствует литературным данным. Таким образом, рекомбинантный гликопротеин ВКЭ можно использовать для поиска селективных ингибирующих соединений методом SPR.

В нашем исследовании, рекомбинантный растворимый поверхностный гликопротеин ВКЭ был впервые получен в бактериальной системе экспрессии и протестирован методом SPR, что показывает возможность дальнейшего поиска низкомолекулярных селективных ингибиторов с использованием полученного гликопротеина в качестве мишени.