

Секреторная экспрессия щелочеустойчивого модифицированного белка А с цистеином на С-конце в *E.coli*

Научный руководитель – Аль-Шехадат Руслан Исмаилович

Грескова Полина Павловна

Студент (бакалавр)

Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: ipolsha24@yandex.ru

Введение. Белок А является одним из ключевых компонентов в ряде биотехнологических процессов благодаря своей способности специфично связываться с антителами и их фрагментами посредством взаимодействия с Fc-областью иммуноглобулинов класса G [1]. Основное применение белка А – использование его в качестве лиганда в производстве сорбентов для аффинной хроматографии. Необходимым требованием является щелочеустойчивость белка, так как частое применение сорбента требует его промывку раствором щелочи после каждой очистки (CIP). Рекомбинантные штаммы *E.coli* позволяют нарабатывать белок в больших количествах в удобной для дальнейшей очистки форме [2]. Наиболее удобными для производства являются секреторные белки, так как их очистка из культуральной жидкости позволяет сократить производственный процесс на несколько этапов. Помимо этого, белок должен быть удобным для сайт-специфической конъюгации с матрицей сорбента, которую оптимально реализовать через связывание с тиольной группой цистеина, введенного на С-конец [3].

Основная часть. Для решения задачи получения и наработки белка А мы сконструировали два штамма (SecPb_A1 и SecPb_A2) посредством трансформации компетентных клеток *Escherichia coli* BL21(DE3) [4]. Белок А был клонирован в векторе pET-28a. В ходе исследования мы выбрали и оптимизировали условия культивирования микроорганизмов. Оценка экспрессии целевого белка была проведена с помощью постановки вертикального электрофореза в 15% полиакриламидном геле по Лэммли. Проанализировав результаты экспрессии белка А в двух штаммах, мы наблюдали отсутствие секретируемого в культуральную жидкость белка после наработки в штамме SecPb_A1, а в случае наработки в SecPb_A2 содержание целевого белка А от общей массы клеточных белков составило 14,6%.

Выводы. Впервые проведена наработка модифицированного щелочеустойчивого рекомбинантного белка А с С-концевым цистеином с использованием секреторной системы экспрессии бактерии *E.coli*. Был количественно оценен выход целевого белка А, а также определены такие параметры как подлинность, активность и щелочеустойчивость.

Источники и литература

- 1) Rigi, G., Ghaedmohammadi, S., & Ahmadian, G. (2019). A comprehensive review on staphylococcal protein A (SpA): Its production and applications. *Biotechnology and Applied Biochemistry*.
- 2) Mergulhão, F. J. M., Summers, D. K., & Monteiro, G. A. (2005). Recombinant protein secretion in *Escherichia coli*. *Biotechnology Advances*, 23(3), 177–202.
- 3) Fontaine, S. D.; Reid, R.; Robinson, L.; Ashley, G. W.; Santi, D.V. Long-term stabilization of maleimide–thiol conjugates. *Bioconjugate Chem.* 2015, 26, 145–152.

- 4) Хайруллин Р.Ф. Экспрессия рекомбинантных белков в E.coli: учеб. пособие / Р.Ф. Хайруллин, Р.Г. Киямова, А.А. Ризванов. – Казань: Изд-во Казан. ун-та, 2018. – 142 с

Иллюстрации

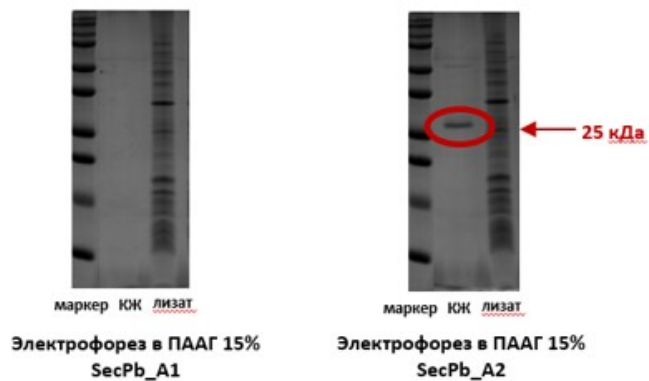


Рис. : Результаты постановки экспрессии штаммов SecPb_A1 и SecPb_A2