

СИНТЕЗ РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА rVPr1 ИЗ ЯДА ОСЫ-НАЕЗДНИКА *PIMPLA HYPOCHONDRIACA* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БАКУЛОВИРУСНОЙ СИСТЕМЫ ЭКСПРЕССИИ

Шухалова А.Г. (ИТМО), Тимофеев. С.А. (ВИЗР)

Научный руководитель – кандидат биологических наук Велегжанинов И.О. (ИТМО)

Введение. Химически синтезированные пестициды, используемые в сельском хозяйстве, могут иметь отрицательное влияние на окружающую среду и здоровье человека. Одним из перспективных вариантов биологической защиты растений является применение естественных врагов вредителей, например, вирусов [1]. Однако главный недостаток этого метода заключается в медленном и слабом воздействии пестицидов на насекомых. Это можно частично решить, увеличив эффективность используемых вирусов, в том числе через их генетическую модификацию. Рекомбинантный вирус способен индуцировать в клетках насекомого синтез молекул, токсичных для него, что ускоряет гибель заражённого организма. Примером такой молекулы является иммуносупрессорный белок rVPr1, выделенный из яда осы-наездника *Pimpla hypochondriaca*.

Основная часть. В данной работе был выполнен коммерческий синтез последовательностей, кодирующих иммуносупрессорный белок rVPr1 из яда осы-наездника *P. hypochondriaca*. Для бактериальной экспрессии эти последовательности были интегрированы в вектор pRSET A. Полученные конструкции использовались для трансформации бактерий *E. coli* штамм XL-1Blue MRF, после чего они были выделены и подтверждены методом секвенирования. Белок был успешно синтезирован в клетках *E. coli* C41, а для рекомбинантных продуктов в нашей лаборатории были получены антитела, что позволило идентифицировать эти молекулы в других биологических системах. В дальнейшем экспрессию белка rVPr1 осуществляли в клеточной культуре кукурузной лиственной совки Sf9 с использованием системы бакуловирусной экспрессии Bac-to-Bac™ [3]. В ходе работы образуется рекомбинантный вирус множественного ядерного полиэдроза *Autographa californica* (MNPV), который безопасен для человека и имеет узкий круг хозяев [4]. После клетки насекомых разрушали и проводили разделение на растворимую и нерастворимую фракции, а также анализировали культуральную среду. Для подтверждения результатов использовали метод иммуноблотинга с антителами, полученными ранее. Эксперименты показали, что белок rVPr1 синтезировался заражёнными клетками, присутствовал в растворимой форме и секретировался во внешнюю среду. Для усиления секреции белка из клеток были созданы конструкции с сигнальным пептидом GP67, который, согласно литературным данным, демонстрирует высокую эффективность в улучшении секреции белков.

Выводы. Создана бакуловирусная система экспрессии иммуносупрессорного белка rVPr1, выделенного из яда осы-наездника *P. hypochondriaca*. Система демонстрирует высокий уровень экспрессии, однако низкий уровень секреции белка во внеклеточное пространство. Для решения данной проблемы создана и тестируется конструкция с добавлением в ORF сигнального пептида GP67.

Список использованных источников (не менее двух источников)

1. Pimentel D. Environmental and economic costs of the application of pesticides primarily in the United States // Environment, Development and Sustainability. 2005. P. 229–252.

2. Richards E.H., Bradish H., Dani M.P., Pietravalle S., Lawson A. Recombinant immunosuppressive protein from *Pimpla hypochondrica* venom (rVPr1) increases the susceptibility of *Mamestra brassicae* larvae to the fungal biological control agent, *Beauveria bassiana* // *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 2011. T. 78, № 3. С. 119–131.

3. Fabre M.L., Arrías P.N., Masson T., Pidre M.L., Romanowski V. Baculovirus-Derived Vectors for Immunization and Therapeutic Applications // *Emerging and Reemerging Viral Pathogens*. 2020. С. 197–224.

4. Хасанов Ш. Ш., Сасмаков С. А., Абдурахманов Ж. М., Азимова Ш. С. Бакуловирусная система экспрессии, как безопасная и эффективная система для получения рекомбинантных белков: «Univsum: химия и биология», 2019. С. 13.