

**СЕКРЕТОРНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ЩЕЛОЧЕУСТОЙЧИВОГО  
МОДИФИЦИРОВАННОГО БЕЛКА А С ЦИСТЕИНОМ НА С-КОНЦЕ В E.COLI  
Грескова П.П. (ИТМО)**

**Научный руководитель – кандидат биологических наук, доцент Аль-Шехадат Р.И.  
(ИТМО)**

**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 подобрали 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.

**Список использованных источников:**

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. d
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

Автор \_\_\_\_\_ Грескова П.П.

Научный руководитель \_\_\_\_\_ Аль-Шехадат Р.И.