

ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ВЕКТОРНОГО pH-ЗАВИСИМОГО ПЕПТИДА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ

Ащеулова Д.О.

Научный руководитель: Першина А.Г., к.б.н., старший научный сотрудник ЦНИЛ Сибирского государственного медицинского университета, г.Томск
E-mail: bur-dar@mail.ru

Таргетная молекулярная диагностика в последнее время становится ключевым инструментом современной биомедицины. Стандартные неспецифические контрастные препараты обладают низкой эффективностью по отношению к мишени, в связи с чем, все более актуальным становится поиск новых агентов таргетной доставки контраста [Seulki Lee, *Biochemistry*, 2010]. Очень перспективными являются пептиды, которые, обеспечивают высокоспецифичное связывание с клетками-мишенями, но, по сравнению с белками, имеют меньшие размеры и не вызывают иммунного ответа [Shadidi M., *The FASEB Journal*, 2003].

В настоящее время, pH-зависимый пептид (pHLIP) успешно используют для выявления ряда патологических процессов [Engelman D.M, *Chimica Oggi*, 2009], активно разрабатываются диагностические препараты на основе pHLIP, меченного флуоресцентными маркерами [Shan L., *MICAD*, 2009], радионуклидными метками [Macholl S., *Mol Imaging Biol.*, 2012] и наночастицами [Yao L., *PNAS*, 2013].

На сегодняшний день, пептид преимущественно получают методом химического синтеза. Однако, для масштабирования процесса и наработки больших количеств пептида, содержащего 37 аминокислотных остатков, выгодной альтернативой является микробный синтез с использованием технологии рекомбинантных ДНК.

Целью данной работы было получить рекомбинантный pH-зависимый пептид pHLIP в клетках *E.coli*.

В результате нами была получена рекомбинантная плазида, направляющая продукцию pHLIP. Соответствие клонированного фрагмента ДНК, кодирующего пептид, ожидаемому, подтверждено секвенированием. Подобраны оптимальные условия экспрессии пептида в составе белка слияния с кетостеройдизомеразой (pHLIP-KSI) в клетках штамма *E.coli* Rossetta DE3 pLysS. Осуществлена очистка рекомбинантного пептида в составе белка-слияния методом металл-аффинной хроматографии. Проведено химическое отщепление пептида от белка-слияния путем обработки бромцианом. Соответствие структуры полученного пептида ожидаемой подтверждено методом MALDI-TOF.