

## ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА UBI<sub>18-35</sub> ДЛЯ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ ВОСПАЛЕНИЙ

Д.О. Ащеулова<sup>1,2</sup>

Научный руководитель – к.биол.н., доцент, с.н.с. А.Г. Першина<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Национальный исследовательский Томский политехнический университет  
634050, Россия, г. Томск, пр. Ленина 30

<sup>2</sup>Сибирский государственный медицинский университет  
Центральная научно-исследовательская лаборатория  
634050, Россия, г. Томск, Московский тракт 2 стр.18, bur-dar@mail.ru

На сегодняшний день перед практикующими хирургами остро стоит проблема разграничения асептического и гнойного воспалений. Эффективным подходом к дифференциальной диагностики инфекционного воспаления является использование радиоактивно-меченых антимикробных пептидов [1]. Группа производных антимикробного пептида убиквицидина – UBI<sub>31-38</sub>, UBI<sub>29-41</sub>, UBI<sub>18-35</sub> и UBI<sub>1-18</sub> – представляет особый интерес, благодаря высокой тропности к очагам инфекционного воспаления [2], формирующейся за счет способности пептида встраиваться в мембрану микробной клетки, тогда как накопление в стерильных участках тканей не происходит.

В настоящее время антимикробные пептиды получают методом твердофазного синтеза, который является высокочувствительным. В связи с этим, крайне актуальным становится развитие подходов к получению пептидов рекомбинантным путем, с целью повышения экономической эффективности широкомасштабного производства белковых препаратов [3]. Для реализации подхода к получению антимикробного пептида в бактериальной системе необходимо учитывать риск протеолитической дегградации пептида с одной стороны, и возможный токсический эффект антимикробного пептида на клетку-хозяина, с другой. Подход к нерастворимой экспрессии пептида в интеграции с белком-партнером позволяет избежать этих негативных эффектов.

Данное исследование было направлено на

оптимизацию условий получения и очистки пептида UBI<sub>18-35</sub>.

Дублированная последовательность, кодирующая пептид UBI<sub>18-35</sub> была амплифицирована с использованием ПЦР и клонирована в плазмиду рЕТ-31b+ (Novagen) по сайту рестрикции AlwNI. Успешное встраивание кодирующего пептид фрагмента в плазмиду было подтверждено секвенированием T7 участка плазмиды, содержащего клонированный ген. Пептид UBI<sub>18-35</sub> был экспрессирован в составе белка слияния с кетостероидизомеразой (KSI), при варьировании температуры и концентрации индуктора (ИПТГ), наибольший уровень экспрессии достигался при 28 °С, 0,1 мМ ИПТГ. Белок слияния UBI<sub>18-35</sub>-KSI успешно очищен с использованием аффинной хроматографии на NiNTA (Qiagen) колонке. Выход (80 мг на 1 л культуральной жидкости) и чистота (95%) полученного белка рассчитаны на основании данных SDS-ПААГ электрофореза, Вестерн блот анализа и спектрофотометрически, методом Бредфорда. Рекомбинантный пептид UBI<sub>18-35</sub> отщеплен от белка слияния с использованием BrCN и проанализирован методом SDS-ПААГ-трицин электрофореза с использованием в качестве контроля синтетического пептида. Индивидуальный пептид выделен из смеси методом ВЭЖХ с обращенной фазой. Соответствие молекулярной массы рекомбинантного UBI<sub>18-35</sub> ожидаемой подтверждено методом масс-спектрометрии.

### Список литературы

1. Ebenhan T. // *Bio Med Research International*, 2014.– Vol.2014.– Article ID 867381.– P.1–15.
2. Brouwer C. // *Peptides*, 2006.– Vol.27.– P.2585–2591.
3. Li Y. // *Protein Expression and Purification*, 2011.– Vol.80.– Iss.2.– P.260–267.