

Секция «Биоинженерия и биоинформатика»

Получение ФНО-связывающих белков на основе домена фибронектина с использованием метода CIS-дисплея

Ключарева Александра Юрьевна

Студент

МГУ им. Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия

E-mail: a.klychareva@mail.ru

Фактор некроза опухолей-альфа человека (ФНО) – полифункциональный цитокин, участвующий в регуляции важнейших физиологических процессов (противоопухолевого иммунитета, пролиферации клеток иммунной системы, апоптоза и др.). Биологически активной формой является тример ФНО, состоящий из одинаковых субъединиц с молекулярной массой 17 кДа (Рис.1а). Существует два типа рецепторов этого белка, TNFR1 (p55) и TNFR2 (p75), которые связывают ФНО примерно с одинаковой аффинностью.

ФНО является одним из основных медиаторов воспалительных явлений в организме человека. Повышение концентрации ФНО характерно для таких патологических состояний, как ревматоидный артрит, псориаз, болезнь Крона, септический шок, рассеянный склероз и других (Рис.1б). Таким образом, конструирование ФНО-связывающих белков для снижения уровня этого цитокина в организме представляет собой актуальную задачу белковой инженерии. Домен фибронектина (10 домен фибронектина III типа, Fn3) является структурным аналогом VN домена иммуноглобулинов. Этот небольшой белок не содержит остатков цистеина и хорошо экспрессируется в клетках *E. coli* в растворимой форме. Варьирование аминокислотных последовательностей в трех петлях Fn3, соответствующих CDR в молекулах антител, позволяют получать белки, обладающие способностью связывать различные антигены.

Методом ДНК-шаффлинга получена библиотека кодирующих последовательностей ФНО-связывающих белков на основе домена фибронектина. Проведена селекция библиотеки при помощи бесклеточного CIS-дисплея с отбором вариантов, связывающих биотинилированный ФНО. Полученные варианты экспрессированы в клетках *E. coli* и охарактеризованы физико-химическими и иммунологическими методами.

Таким образом, в результате проделанной работы нами сконструирован ряд ФНО-связывающих белков на основе домена фибронектина и проведено предварительное изучение их свойств. Показано, что CIS дисплей является эффективным инструментом селекции комбинаторных библиотек, содержащих кодирующие последовательности вариантов 10FN3.

Слова благодарности

Работа проводится при финансовой поддержке гранта НШ- 5207.2010.4, программы РАН «Молекулярная и клеточная биология» и федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009 – 2013 г.