

**Способ получения клинически значимых растительных аллергенов для
компонентной аллергодиагностики**

А. Д. Зазыкина^{1,2}, Д. Н. Мельникова^{1,2}, И. В. Богданов¹, Е. И. Финкина¹,
Т. В. Овчинникова^{1,2}

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук

²Московский физико-технический институт (государственный университет)

Белки, связанные с патогенезом, или PRP (pathogenesis-related proteins), в частности, относящиеся к подклассу PRP-10 гомологи пыльцевого аллергена березы Bet v 1 и принадлежащие к подклассу PRP-14 липид-транспортирующие белки (LTP), являются одними из наиболее значимых растительных паналлергенов, участвующих в развитии перекрестных аллергических реакций на растительные продукты и пыльцу. Разработка способов получения рекомбинантных растительных аллергенов является необходимым этапом для создания диагностических тест-систем нового поколения, что позволит проводить компонентную аллергодиагностику и повысить эффективность противоаллергической терапии.

В качестве объектов исследования нами были выбраны 3 клинически значимых аллергена: Gly m 4 из бобов сои, Bet v 1 из пыльцы березы и Art v 3 из пыльцы полыни. Были разработаны системы для гетерологичной экспрессии данных аллергенов в клетках *E. coli* штамма BL-21(DE3) в виде гибридных конструкций с тиоредоксином А и октагистидиновой последовательностью. С целью проведения структурно-функциональных исследований нами была разработана система на основе плазмиды серии рЕТ и штамма *E. coli* BL-21 (DE3) для гетерологичной экспрессии данных аллергенов в виде гибридного белка с тиоредоксином А и октагистидиновой последовательностью. Для последующей очистки рекомбинантных аналогов аллергенов в область между тиоредоксином А и целевыми белками были введены сайты расщепления полипептидной цепи: в случае Gly m 4 и Bet v 1 - тетрапептид IDGR, позволяющий проводить расщепление фактором Ха, а в случае Art v 3 – пентапептид IDGRM, позволяющий проводить как ферментативное расщепление фактором Ха, так и химическое расщепление бромцианом по карбоксильной группе остатка метионина. Схема выделения целевых рекомбинантных аллергенов включала аффинную хроматографию, реакции расщепления гибридных белков фактором Ха или бромцианом, повторную аффинную хроматографию и ОФ-ВЭЖХ. Разработанная методика выделения аллергенов позволила получить их рекомбинантные аналоги, полностью идентичные природным белкам по молекулярной массе, аминокислотной последовательности и спектру кругового дихроизма.

Работа по выделению и очистке рекомбинантного аллергена Art v 3 из пыльцы полыни выполнена за счет гранта Российского научного фонда (проект № 14-50-00131).