

Бесклеточная экспрессия ТМ и CNBD доменов человеческого канала HCN1.

Гончаров И. М.¹, Хабибуллина Н. Ф.¹, Чупин В. В.¹

1-Московский Физико Технический Институт (Государственный Университет)

Мембранные белки (МБ) играют исключительно важную физиологическую роль в жизни клетки. МБ выполняют ряд функций, таких как ретранслирование сигналов между внеклеточной и внутриклеточной средой, импорт и экспорт различных веществ через мембрану. Также МБ позволяют клеткам идентифицировать друг друга и взаимодействовать между собой. Нарушение функционирования МБ зачастую приводит к развитию заболеваний человека, а также может приводить к лекарственной устойчивости у бактерий и раковых клеток. Таким образом, эти белки представляют огромный интерес в области медицины и фармакологии.

Кроме того, решение структуры МБ позволит упростить поиск и разработку лекарств. Для того чтобы получить структуру белка, для начала необходимо пройти несколько заведомо сложных этапов получения белка, которые включают в себя: продукцию белка в препаративных количествах, выделение и очистка белка в функциональном состоянии, а также долгосрочная стабилизация неагрегированного препарата белка [1]–[2].

Одним из инструментов для преодоления первого этапа является бесклеточная система экспрессии (БСЭ), которая обладает рядом преимуществ по сравнению с другими (возможностью синтеза токсичных для клетки белков в больших количествах, синтеза белка в растворимом виде при добавлении различных мембраномоделирующих сред)[3].

В этой работе использовалась БСЭ, основанная на бактериальном лизате (так называемом “S30 экстракте”) выделенном из *E.coli*. Ранее были разработаны протоколы для получения ТМ(transmembrane) и CNB (cyclic nucleotide-binding) доменов HCN1 канала, которые нами и использовались. Также были проанализировано влияние различных детергентов на уровень экспрессии белка и его стабильность.

Исследования структурных и функциональных свойств HCN каналов необходимо для дальнейшей разработки лекарственных препаратов против эпилепсии, аритмии сердца и синдрома нейропатической боли.

[1] W. K. Fernandez C., “NMR solution structure determination of membrane proteins reconstituted in detergent micelles,” *FEBS Lett.*, vol. 555, no. 1, pp. 144–150, 2003.

[2] L. K. Tamm, F. Abildgaard, A. Arora, H. Blad, and J. H. Bushweller, “Structure, dynamics and function of the outer membrane protein A (OmpA) and in *£ uenza hemagglutinin fusion domain in detergent micelles by solution NMR,”* *FEBS Lett.*, vol. 555, pp. 139–143, 2003.

[3] J. Lian, Y. Ma, J. Cai, and M. Wu, “High-level expression of soluble subunit b of F1F0ATP synthase in *Escherichia coli* cell-free system,” pp. 303–311, 2009.