

Получение и свойства рекомбинантного нейротоксин-подобного белка из медицинской пиявки *Hirudo medicinalis*

Научный руководитель – Лазарев Василий Николаевич

Варламова В.Ю.¹, Харлампиева Д.Д.², Лавренова В.Н.³

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биоорганической химии, Москва, Россия, *E-mail: v_varlamova@mail.ru*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия, *E-mail: harlampieva_d@mail.ru*; 3 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биохимии, Москва, Россия, *E-mail: pkviktoria@mail.ru*

Нейротоксины - вещества, которые с высокой селективностью взаимодействуют со своими мишенями, что делает их незаменимым инструментом для идентификации и изучения рецепторов и ионных каналов нейронов [1]. Кроме того, они могут быть использованы для создания фармацевтических препаратов, в первую очередь - анальгетического действия, а также для лечения нейродегенеративных заболеваний [4]. Поэтому открытие новых нейротоксинов является важным направлением исследований в современной науке. На данный момент, в литературе не были описаны вещества с нейротоксическими свойствами для медицинской пиявки *Hirudo medicinalis*.

С помощью биоинформатического анализа генома и транскриптома *H. medicinalis* была выявлена последовательность, кодирующая нейротоксин-подобный белок из 174 аминокислот. Он содержит цистеиновые мотивы, характерные для некоторых белковых токсинов пауков. Был получен вектор для экспрессии в суспензионной культуре эукариотических клеток Expi293F гена изучаемого белка, слитого с полигистидиновой последовательностью. Для детекции белка в экспрессионной системе проводили электрофорез в полиакриламидном геле.

После трансфекции была обнаружена транзientная экспрессия исследуемого белка в культуре клеток. Основное количество белка находилось в культуральной жидкости, а часть - в нерастворимой фракции клеточных белков. Для получения стабильной клеточной линии производили селекцию экспрессирующих клонов на среде с антибиотиком G418. Затем анализировали экспрессию в различных клонах. Клон-продуцент, секретирующий наибольшее количество белка, использовали для его наработки. Очистку белка проводили с помощью металл-афинной хроматографии на Ni-сефарозе с последующим диализом.

Сходство данного белка медицинской пиявки с токсином паука из группы терафотоксинов позволяет предположить наличие нейротоксических свойств у изучаемого белка. Указанный токсин паука является агонистом TRPV1-рецепторов [2], которые играют важную роль в формировании болевых импульсов, что делает их агонисты перспективной моделью для создания новых анальгетических препаратов [3]. Для определения действия целевого белка на TRPV1-рецепторы необходимо провести ряд экспериментов с использованием метода локальной фиксации потенциала, что будет являться задачей для дальнейших исследований.

Источники и литература

- 1) Bagal S.K. et al. Ion channels as therapeutic targets: a drug discovery perspective // Journal of Medicinal Chemistry. 2013. 56(3): 593-624.
- 2) Bohlen, C. J. et al. A Bivalent Tarantula Toxin Activates the Capsaicin Receptor, TRPV1, by Targeting the Outer Pore Domain // Cell. 2010. 141(5), 834-845.

- 3) Dai, Y. TRPs and pain // *Seminars in Immunopathology*. 2015. 38(3), 277–291.
- 4) Mortari M.R. et al. Neurotoxins from invertebrates as anticonvulsants: From basic research to therapeutic application // *Pharmacol Ther*. 2007. 114(2):171-83.