

Поиск и изучение биохимических свойств новой глютеназы пшеницы

Солонкина Алёна Дмитриевна

Студент (специалист)

Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова,
Москва, Россия

E-mail: alene.s@mail.ru

Целиакия - это аутоиммунное заболевание, симптомы которого обусловлены воспалительными реакциями в кишечнике на продукты расщепления глютена. Глютен представляет собой смесь проламиновых белков: глиадинов и глютенинов. В результате расщепления глиадина образуется 33-мерный пептид, обладающий иммуногенным и токсическим свойствами [1]. Возможным подходом к симптоматической терапии целиакии является энзимотерапия - применение ферментов в качестве лекарственных средств. Одним из таких ферментов является цистеиновая протеиназа пшеницы *Triticum aestivum* L. тритикаин- α , способный расщеплять глютен на короткие пептиды [3]

Целью исследования был поиск белка, способного расщеплять глютен эффективнее, чем тритикаин- α , и исследование его биохимических свойств. В ходе биоинформатического анализа с использованием метода моделирования по гомологии был обнаружен белок с UniProt-идентификатором A0A3B6JDP7 (далее - P7), который, предположительно, способен расщеплять глютен более эффективно, чем тритикаин- α .

Поскольку глютен является запасующим белком в семенах пшеницы, вероятно, расщепляющие его ферменты экспрессируются на ранних стадиях развития растения [2]. Тотальную РНК выделяли из стеблей и корней пшеницы *T. aestivum* на третий день прорастания семян, далее проводили синтез кДНК методом ОТ-ПЦР. Затем в плазмиду рЕТ 28/22 встроили участок ДНК, кодирующий белок P7, с 6xHis-тегом на N-конце. Производство белка проводили в экспрессионном штамме *E.coli* Rosetta gami B. Выделение и очистку полученного белка выполняли методами аффинной и эксклюзионной хроматографии. Для оценки чистоты белка использовали электрофорез в 14% ДСН-ПААГ. Проверку аутокаталитической активации белка и реакцию ферментативного расщепления глютена проводили при pH 2,6-7,5 и температуре 37°C.

В результате исследования был получен очищенный белок, который при pH от 2,6 до 5,6 переходит в активную форму за счет отщепления про-домена. Активированный P7 специфично расщепляет глютен при pH 2,6-5,6. Таким образом, белок можно рассматривать в качестве потенциального препарата для терапии целиакии, а также использовать для производства безглютеновых продуктов.

Источники и литература

- 1) Properties of Gluten Intolerance: Gluten Structure, Evolution, Pathogenicity and Detoxification Capabilities; Anastasia V. Balakireva, Andrey A. Zamyatnin; 2016
- 2) What is gluten?; Jessica R Biesiekierski; 2017
- 3) Glutenase and collagenase activities of wheat cysteine protease Triticaain-[U+F061]: Feasibility for enzymatic therapy assays; Lyudmila V. Savvateeva, Neonila V. Gorokhovets, Vladimir A. Makarov, Marina V. Serebryakova, Andrey G. Solovyev, Sergey Yu. Morozov, V. Prakash Reddy, Evgeni Yu. Zernii, Andrey A. Zamyatnin Jr., Gjumrakch Aliev; 2015