

**Получение растворимого рекомбинантного белка Е оболочки вируса  
клещевого энцефалита**

**Научный руководитель – Додина Мария Сергеевна**

***Красильникова Александра Алексеевна***

*Студент (специалист)*

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

*E-mail: kras2048@gmail.com*

Вирус клещевого энцефалита (ВКЭ) – оболочечный вирус, относящийся к семейству *Flaviviridae*. Инфекция, вызванная вирусом, может поражать центральную нервную систему и приводить к клещевому энцефалиту.

Основным иммуногенным компонентом вакцины от КЭ и потенциальной лекарственной мишенью является белок оболочки Е вируса. В 1995 году появилась первая статья о попытке анализа структуры белка Е в очищенных вирионах. С этого момента ученые пытаются отдельно получить рекомбинантный белок, используя различные системы экспрессии. Это осложняется тем, что данный белок подвержен агрегации в тельца включения при экспрессии в бактериальной системе, поэтому каждое его получение сопровождается трудоемким процессом рефолдинга. Целью нашей работы было получение белка Е непосредственно в растворимой форме, не используя рефолдинг.

Плазмидный вектор, кодирующий экспрессию целевого белка, был получен методом молекулярного клонирования с использованием вектора Pet28a и последовательности гена белка Е ВКЭ штамм Абсеттаров (GenBank ID KU885457.1). Экспрессия проводилась в бактериальной системе *E. coli* штамм BL(DE3)-21. Полученный белок был выделен из клеточной суспензии и очищен с помощью металл-афинной хроматографии.

При экспрессии с плазмидного вектора весь белок ожидаемо агрегировал. Для восстановления правильной структуры целевого белка и ингибирования агрегации нами было принято решение дополнительно использовать шапероны. Экспрессию шаперонов проводили при помощи коммерческого набора Chaperone Plasmid Set (Takara Bio), содержащего несколько плазмид (*dnaK-dnaJ-grpE*, *groES-groEL*, *groES-groEL-tig*, *tig*). Для выбора оптимальной системы шаперонов все плазмиды были по очереди коэкспрессированы вместе с плазмидой, несущей ген белка Е. Вестерн-блот анализ образцов лизата и клеточного осадка показал, что только одна комбинация шаперонов (*dnaK-dnaJ-grpE* и *groES-groEL*) способствовала успешной экспрессии белка Е, а также приводила к правильному фолдингу и переводу белка в растворимую форму.

Таким образом, создана воспроизводимая система экспрессии, которая позволяет получить белок Е ВКЭ в растворимой форме, избегая процесса рефолдинга. В дальнейшем полученный нами белок будет использоваться для биофизических исследований и поиска противовирусных препаратов.