

Создание генетических конструкций для экспрессии белков *Flavivirus* биофармацевтической направленности

Научный руководитель – Долгова Анна Сергеевна

Илюшкин М.С.¹, Кассиров И.С.²

1 - Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: misha.ilyushkin@bk.ru*; 2 - Санкт-Петербургский государственный университет, Биологический факультет, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: kassirovilya@gmail.com*

В некоторых случаях традиционные прокариотические системы не подходят в качестве экспрессионных платформ для получения белков. Например, для вирусов рода *Flavivirus* (вирус Зика, вирус Денге и т. д.) необходим эукариотический аппарат гликозилирования, процессинга и фолдинга рекомбинантных белков, в то время как эти белки имеют широкое применение в качестве компонентов тест-систем (ИФА), и при разработке вакцинных [1], [4]. Одним из вариантов решения этой проблемы является использование растительных систем экспрессии, но при этом в каждом конкретном случае необходимо подбирать условия для того или иного белка. Нашей задачей является разработать оптимальную генетическую конструкцию, позволяющую получать антигены *Flavivirus* в достаточном количестве, позволяющую обойти растительный «иммунитет» на посттранскрипционном [2] и посттрансляционном уровнях [3] и решить ряд вопросов: подобрать оптимальное сочетание регуляторных элементов и выбрать адекватную локализацию целевого белка.

Целью данного исследования являлась разработка алгоритма определения направленной компартиментализации рекомбинантного белка в растительной клетке и эффективности его экспрессии.

На основе изучения литературных данных нами была определена оптимальная конструкция, которая должна содержать следующие классы регуляторных элементов - MARS : Промотор : 5'-некодирующую область : интрон : целевой белок : 3'-некодирующую область : терминатор : MARS. Для проверки различных составляющих данной конструкции среди множества существующих биоинформатических инструментов были выбраны следующие: WoLF PSORT, позволяет определять компартиментализацию белка; NetGene2, позволяет установить корректность ожидаемого сплайсинга и отсутствие скрытых интронных сайтов; NetOGlyc, позволяет проанализировать сайты гликозилирования и онлайн ресурс для оптимизации кодонных последовательностей (<http://www.kazusa.or.jp/>).

Выбранный нами перечень биоинформатических ресурсов позволяет оптимизировать растительные экспрессионные кассеты для каждого конкретного белка интереса, перед непосредственным клонированием и сборкой векторов. В соответствии с темой работ нашей группы этот метод был опробован для анализа и выбора оптимальной конструкции для экспрессии белков антигенов вирусов рода *Flavivirus*. В дальнейшем планируется экспериментальным путем проверить эффективность данных конструкций поочередно заменяя регуляторные элементы.

Работа выполнена в рамках гранта Президента Российской Федерации № МК-569.2020.4.

Источники и литература

- 1) Garg H., Mehmetoglu-Gurbuz T., Joshi A. Recent advances in Zika virus vaccines //Viruses. – 2018. – Т. 10. – №. 11. – С. 631.

- 2) Incarbone M., Dunoyer P. RNA silencing and its suppression: novel insights from in planta analyses //Trends in plant science. – 2013. – Т. 18. – №. 7. – С. 382-392.
- 3) Mandal M. K. et al. Tackling unwanted proteolysis in plant production hosts used for molecular farming //Frontiers in plant science. – 2016. – Т. 7. – С. 267.
- 4) Margolin E. et al. Production of complex viral glycoproteins in plants as vaccine immunogens //Plant biotechnology journal. – 2018. – Т. 16. – №. 9. – С. 1531-1545.