

10-11 сентября
2015 г.

|| INTERNATIONAL
CONFERENCE

PHYSTECH
MED

ФИЗИКА ЖИВЫХ СИСТЕМ: ПРОШЛОЕ, НАСТОЯЩЕЕ И БУДУЩЕЕ

СБОРНИК ТЕЗИСОВ

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ГЛАВЫ



Министерство образования и науки
Российской Федерации



www.fiztekhmed.ru



Бактериальная продукция Мамбалгина-2, обезболивающего токсина из яда черной мамбы

М.А. Шулепко^{1,2}, Е.Н. Люкманова¹, Д.А. Долгих^{1,2}, М.П. Кирпичников^{1,2}

¹ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, РАН, Москва, Россия.

² Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Россия.

e-mail: mikhailshulepko@gmail.com

Протон-чувствительные ионные каналы (ASICs) вовлечены в широкий спектр физиологических процессов, включая вкусовую чувствительность, восприятие боли, синаптическую пластичность, обучение и память, ощущение страха и механочувствительность. Особое внимание приковано к роли ASICs в возникновении болевой чувствительности. ASICs считаются перспективной биологической мишенью при поиске новых веществ анальгетического действия. Недавно в яде змеи *Dendroaspis polylepis* (черная мамба) были обнаружены токсины, получившие название мамбалгинов (mambalgines), способные ингибировать различные рецепторы ASICs в наномолярных концентрациях. Отмечается, что анальгетический эффект мамбалгинов, тестируемый *in vivo* столь же силен, как эффект морфина, но при этом отсутствуют известные побочные действия анальгетиков опиоидной природы.

Мамбалгины относятся к семейству трехпетельных токсинов яда змей. По своей структуре это небольшие бета-структурные белки, стабилизированные системой из нескольких (4-5) дисульфидных связей. Вследствие высокого содержания остатков цистеина бактериальная продукция трехпетельных токсинов представляет собой непростую задачу. Для ее решения нами была использована стратегия прямой экспрессии мамбалгина-2 в составе цитоплазматических телец включения с последующей ренатурацией полученного белка. Тельца включения сульфировали в денатурирующих условиях. Затем проводили их очистку хроматографическими методами. Были опробованы различные подходы для ренатурации мамбалгина-2 и проведен поиск условий с целью оптимизации выхода целевого белка в процессе ренатурации. Конечный выход ренатурированного мамбалгина-2 при оптимальных условиях составил 0.5 мг с литра бактериальной культуры. Чистота полученного препарата была проанализирована методами ВЭЖХ, масс-спектрометрии и SDS-ПААГ электрофореза. Была продемонстрирована высокая степень чистоты продукта и соответствие массы полученного белка теоретически рассчитанной массе мамбалгина-2. Наличие корректной пространственной структуры у рекомбинантного белка было показано с помощью ¹H-ЯМР спектроскопии.

Таким образом, разработана эффективная система для бактериальной продукции мамбалгина-2 из яда *Dendroaspis polylepis*, которая позволит получить новые научные данные о механизмах, лежащих в основе анальгетического действия мамбалгинов.