

## СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ И ХАРАКТЕРИСТИКА ОСНОВНОГО АЛЛЕРГЕНА ПЫЛЬЦЫ ОЛЬХИ ALN G 1

*А.Е. Потапов, И.В. Богданов, Д.Н. Мельникова, Т.В. Овчинникова*

*Учреждение Российской академии наук Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Москва, Россия*

На сегодняшний день аллергия входит в список наиболее часто встречающихся заболеваний XXI века. Одним из распространенных источников аллергенов в России, Европе, странах Азии и США является ольха европейская (*Alnus glutinosa*). Aln g 1 – это основной аллерген пыльцы ольхи, относящийся к группе гомологов пыльцевого аллергена березы Bet v 1. Многие пыльцевые и пищевые аллергены данного класса способны связывать липидные молекулы и вызывать аллергические реакции у людей с пыльцевой аллергией на Bet v 1 берёзы. Диагностика аллергии в настоящее время проводится с использованием индивидуальных аллергенов, ввиду этого, актуальной задачей исследователей является изучение структурно-функциональных свойств этих молекул.

Для исследования главного аллергена Aln g 1 из пыльцы ольхи был разработан способ получения его рекомбинантного аналога методом гетерологичной экспрессии в клетках *E.coli*. В качестве штамма-продуцента был выбран родительский штамм *Clear coli* BL21(DE3), позволяющий получать рекомбинантные белки, свободные от пирогенных бактериальных эндотоксинов. Трансформацию клеток *E.coli* плазмидой pET-His8-TrxL-Aln g 1 осуществляли методом теплового шока. Индукцию экспрессии гибридного белка проводили добавлением в питательную среду 0,2 мМ изопронил-β-D-1-тиогалактопиранозид. Целевой рекомбинантный белок Aln g 1 был получен в результате последовательных операций выделения гибридного белка His8-TrxL-Aln g 1 из растворимой клеточной фракции методом аффинной хроматографии на Ni<sup>2+</sup>-сефарозе, отщепления белка-партнера бромцианом, повторной металлохелатной хроматографии и финальной стадии очистки методом обращённо-фазовой ВЭЖХ. Гомогенность полученного белка была подтверждена с использованием методов MALDI-TOF масс-спектрометрии, иммуноферментного анализа и SDS-электрофореза в ПААГ.

Для изучения способности рекомбинантного Aln g 1 связывать липидные молекулы был использован флуоресцентный зонд – 2-п-толуидинилнафталин-6-сульфоновая кислота (TNS). Было показано, что аллерген ольхи Aln g 1 обладает способностью связывать широкий спектр жирных кислот, а также лизолипиды. Для анализа на цитотоксичность использовался резаурин-тест, который показал, что изучаемый белок не оказывает значительного цитотоксического действия на эукариотические клетки. После чего была проведена оценка относительного уровня экспрессии генов IL-25, IL-33, TSLP на эпителиальных клетках Caco-2. Предположительно, продукция этих генов должна возрастать при попадании в организм аллергенов, способных вызывать сенсibilизацию. Для анализа относительного уровня экспрессии генов посредством ПЦР в реальном времени с интеркалирующим красителем использовался метод ΔΔCq. Было показано, что Aln g 1 увеличивает продукцию TSLP. В свою очередь, для IL-25 и IL-33 не было выявлено увеличения экспрессии этих генов.

*Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ (проект № 20–45–05002).*