

ПОЛУЧЕНИЕ ШТАММ-ПРОДУЦЕНТА РЕКОМБИНАНТНОГО ХИМЕРНОГО БЕЛКА, СОСТОЯЩЕГО ИЗ КОМБИНАЦИИ ТРЕХ НАИБОЛЕЕ ПЕРСПЕКТИВНЫХ АНТИГЕНОВ *TOXOPLASMA GONDII*

К.А. Турсунов, Л.А. Тохтарова, К.Н. Мукантаев

Национальный центр биотехнологии, Республика Казахстан, 010000, г. Астана, Кургальжинское шоссе 13/5

e-mail: kanat_tka@mail.ru

Токсоплазмоз - широко распространенная зоонозная инфекция, вызываемая внутриклеточным паразитом *Toxoplasma gondii*, поражающая людей и практически всех теплокровных животных. Токсоплазмоз поражает примерно треть населения земного шара. Это имеет огромное экономическое и социальное значение, влияющее на здоровье населения и животноводство. В основном заболевание протекает бессимптомно или может проявляться гриппоподобными симптомами и другими неспецифическими клиническими признаками. У сельскохозяйственных животных, в частности овец и коз, инфекция может привести к аборт, мумификации или мацерации плода, внутриутробной эмбриональной гибели, мертворождению или постнатальной смерти новорожденных, что угрожает выращиванию овец и коз во всем мире. Своевременная и точная диагностика *T. gondii* является ключевым фактором в эффективном контроле токсоплазмоза, как для населения, так и для животноводства. ИФА считается золотым стандартом и может быть использован как для обнаружения ранних антител класса IgM, так и более поздних антител класса IgG.

Применение рекомбинантных антигенов для диагностики токсоплазмоза позволяет повысить стандартизацию метода, поскольку антигенный состав точно известен. В одном тесте можно использовать два и более рекомбинантных антигена для повышения его чувствительности.

Целью данной работы явилось получение штамм-продуцента рекомбинантного химерного белка, состоящего из комбинации трех наиболее перспективных антигенов для диагностики токсоплазмоза коров, овец и коз.

В результате проведенных исследований

был получен штамм-продуцент рекомбинантного химерного антигена, состоящего из последовательности белков SAG1, SAG2 и GRA7 *T. gondii* с молекулярной массой около 50 кДа. При оптимизации параметров культивирования штамм-продуцента, было установлено, что наиболее оптимальная концентрация изопропил- β -D-1-тиогалактопиранозида для экспрессии белка составляет 0,1 мМ, температура инкубации 25°C и время инкубации 5-6 часов. При этом, более длительная инкубация снижает экспрессию белка.

Очистку химерного белка из клеточного лизата осуществляли методом металл-аффинной хроматографии с помощью колонок His-Trap HP, в соответствии с наставлениями производителя. Установлено, что основной выход рекомбинантного химерного белка из колонки наблюдается при концентрации имидазола 500 мМ. Концентрацию белка в лизате и фракциях определяли по Бредфорду с использованием бычьего сывороточного альбумина в качестве стандарта. Максимальная концентрация очищенного белка *T. gondii* составила 1,2 мг/мл. Анализ аминокислотной последовательности очищенного рекомбинантного химерного белка методом масс-спектрометрии достоверно показал, что набор триптических пептидов соответствует белку P30 *T. gondii* представленном в базе данных Mascot.

Таким образом в результате проведенных исследований получен рекомбинантный химерный белок, состоящий из иммунодоминантных участков трех белков *T. gondii*. В дальнейшем на основе данного белка будет проводиться работа по разработке иммуноферментного анализа для диагностики токсоплазмоза животных.