

СУЧАСНІ МЕТОДИ БІЛКОВОЇ ІНЖЕНЕРІЇ

Іншина Н.М., кандидат біологічних наук, доцент
Сумський державний університет, м. Суми, Україна

Білкова інженерія є відносно новою галуззю молекулярної біології та біотехнології, завдання якої полягає у модифікації структури білкових молекул з метою оптимізації їх властивостей для застосування у промисловості, хімічному синтезі, наукових дослідженнях та ін.

Метою даної роботи є аналіз і висвітлення основних методів структурної перебудови та конструювання білкових молекул, що спрямовані на зміну їх функціональних характеристик і розширення спектру практичного застосування.

Дослідження проводили на основі узагальнення даних наукових публікацій з інформаційно-пошукових систем PubMed, Web of Science Core Collection, Scopus та Google Scholar.

Основними об'єктами білкової інженерії є ферменти, що пов'язано з їх активним використанням у різних галузях практичної діяльності людини [1, 1]. Використання ферментів у промисловості обмежене їх чутливістю до дії високих температур. У зв'язку з цим одним із основних завдань інженерної ензимології є підвищення термостабільності ферментів, що досягається за рахунок хімічних модифікацій їх молекул. Наприклад, приєднання декількох амінокислотних залишків до молекули протеїнази *Bacillus stearothermophilus* збільшує активність фермента у 340 разів за температури 100°C. Приєднання залишків метіоніну, серину, аланіну до молекули β -галактозидази підвищує період існування фермента *in vitro* з 2 хв до 20 год.

З метою підвищення стабілізації ферментів здійснюють заміну певних амінокислот у їх складі, найчастіше аспарагіну і глутаміну. При дії високих температур ці амінокислоти підлягають дезамінуванню, що призводить до зміни конформації поліпептидного ланцюга і втрати каталітичної активності фермента.

Іншим підходом для зміни функціональних характеристик промислових ферментів є стабілізація їх молекул для функціонування в органічних розчинниках, оскільки за цих умов активний центр ферментів не зазнає змін.

Сучасні методи білкової інженерії дозволяють створювати молекули білків, що не зустрічаються в природі. З цією метою конструюють ген відповідного білка, клонують у векторі та здійснюють його експресію у клітинах мікроорганізмів. Для індукування мутацій у клонованих генах використовують метод сайт-специфічного мутагенезу. Спрямована еволюція білкових молекул постачає нові комбінації амінокислотного складу білків, що відображається на зміні їх властивостей. Змінюючи специфічні сайти в молекулі фермента, можна підвищити його термостабільність, знизити чутливість до рН, вплинути на специфічність, регуляцію, потребу у коферментах чи кофакторах та ін. За рахунок об'єднання фрагментів різних поліпептидних ланцюгів створюють гібридні мультиферментні комплекси з підвищеною каталітичною активністю.

Раціональний дизайн білкових молекул забезпечує можливість одержувати білки з новими функціональними характеристиками: гуманізовані моноклональні антитіла зі зниженою імуногенністю, абзими – антитіла з каталітичною активністю та ін.

Таким чином, хімічні модифікації поліпептидів, стабілізація ферментів в органічних розчинниках, спрямована еволюція білкових молекул та їх раціональний дизайн є основними методами сучасної білкової інженерії, що дозволяють оптимізувати властивості білків для їх застосування в якості ефективних каталізаторів, специфічних рецепторів або компонентів лікарських засобів.

Література

1. Jiang Y., Ran X., Yang ZJ. Data-driven enzyme engineering to identify function-enhancing enzymes, *Protein Engineering, Design and Selection*, 2023. Vol. 36. P. 1-13.