

ГЕНОМИКА.
ТРАНСКРИПТОМИКА

УДК 577.217.34

КЛОНИРОВАНИЕ И ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА *ORF19.2286*, ВЫДЕЛЕНИЕ И ОЧИСТКА ДЕЗОКСИГИПУЗИНГИДРОКСИЛАЗЫ ПАТОГЕННЫХ ДЛЯ ЧЕЛОВЕКА ДРОЖЖЕЙ *Candida albicans*[#]

© 2022 г. Э. Агбоигба^a, Е. Кучаев^{a, b, *}, Н. Гараева^a, Э. Клочкова^a, А. Варфоломеев^a,
К. Усачев^{a, b, *, *}, М. Юсупов^{a, c}, Ш. Валидов^{a, b, **, *}

^aКазанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, 420008 Россия

^bФедеральный исследовательский центр “Казанский научный центр Российской академии наук”,
Казань, 420008 Россия

^cInstitute of Genetics and Molecular and Cellular Biology (IGBMC), Illkirch-Graffenstaden,
67400 France

*e-mail: k.usachev@kpfu.ru

**e-mail: szvalidov@kpfu.ru

Поступила в редакцию 04.03.2021 г.

После доработки 07.10.2021 г.

Принята к публикации 07.10.2021 г.

Candida albicans (*C. albicans*) – патогенный грибок, вызывающий поверхностные и гематогенные инфекции у пациентов с ослабленным иммунитетом или лиц с несбалансированной микрофлорой. Заболеваемость клиническим кандидозом ежегодно растет, в связи с чем его эффективная терапия все более востребована. Для разработки лекарственных препаратов необходимо выявление мишеней, в том числе направленных на нарушение посттрансляционных модификаций жизненно важных белков *C. albicans*. Ген *ORF19.2286* в геноме *C. albicans* кодирует ортолог дезоксирибозингидроксилазы (ДОНН) человека. В представленной работе структурный ген *ORF19.2286* штамма *C. albicans* SC5314 экспрессировали в *Escherichia coli* в виде конструкции GB1-*Ca*ДОНН с 6-гистидиновым тегом (6×His) на N-конце рекомбинантного белка. После нескольких последовательных этапов очистки 6×His-GB1 удаляли в результате обработки протеазой вируса крапчатости табака (TEV). Установлено несколько различий в аминокислотной последовательности ДОНН из *C. albicans* и животных, что может быть использовано в дальнейшем для выбора сайтов связывания антимикробных препаратов с *Ca*ДОНН. В работе приведен протокол гетерологичной экспрессии и очистки белка ДОНН из *C. albicans*, который можно использовать в дальнейшем при подготовке образцов для рентгеноструктурного анализа.

Ключевые слова: дезоксирибозингидроксилаза, *Candida albicans*, eIF5α, посттрансляционная модификация, рибосома, трансляция

DOI: 10.31857/S0026898422020021

ORF19.2286* GENE: ISOLATION AND PURIFICATION OF DEOXYHYPPUSINE HYDROXYLASE FROM THE HUMAN PATHOGENIC YEAST *Candida albicans

E. Agboigba¹, E. Kuchaev^{1, 2, *}, N. Garaeva¹, E. Klochkova¹, A. Varfolomeev¹,
K. Usachev^{1, 2, *, *}, M. Yusupov^{1, 3}, and Sh. Validov^{1, 2, **, *}

¹Kazan Federal University, Kazan, 420008 Russia

²Federal Research Center “Kazan Scientific Center of Russian Academy of Sciences”, Kazan, 420008 Russia

³Institute of Genetics and Molecular and Cellular Biology (IGBMC), Illkirch-Graffenstaden, 67400 France

*e-mail: k.usachev@kpfu.ru

**e-mail: szvalidov@kpfu.ru

[#] Статья представлена авторами на английском языке.

Candida albicans (*C. albicans*) is a fungal pathogen that causes infections of the wet body surfaces and the blood in immunocompromised patients or individuals with imbalanced microflora. Since the cases of clinically meaningful candidosis are on the rise, efficient *C. albicans* therapy is in a high demand. Informed drug design requires well-characterized *C. albicans* targets, including these aimed at disrupting its post-translational modifications. *C. albicans* ORF19.2286 gene encodes an ortholog of human deoxyhypusine hydroxylase (DOHH). Here, this ORF was cloned from the SC5314 strain and re-expressed in *Escherichia coli* as sGB1-*Ca*DOHH construct with 6×His tag on the N-terminus of the fusion protein, then purified, and GB1-tag was removed with Tobacco etch virus (TEV) protease. Several amino acid sequence differences between *C. albicans* and animal DOHHs were noted, and are useful for a selection of the binding sites for antimicrobials in *Ca*DOHH. We present the protocol for the heterologous expression and purification of *C. albicans* DOHH, which is suitable for further crystallization.

Keywords: deoxyhypusine hydroxylase, *Candida albicans*, eIF5 α , post-translational modification, ribosome, translation