

УДОСКОНАЛЕННЯ БІОТЕХНОЛОГІЧНОГО РЕГЛАМЕНТУ ОТРИМАННЯ БІЛКІВ ТЕПЛОВОГО ШОКУ

Стародубова А.А., Звягінцева О.В., Клімова О.М., Огурцов О.М.

*Національний технічний університет
«Харківський політехнічний інститут», м. Харків*

Сьогодні більшість нових білкових препаратів медичного призначення отримують шляхом виділення з генетично трансформованих клітин. Застосування білків теплового шоку (БТШ, heatshockproteins, HSP) є актуальним для біотехнології, фармакології, медицини, оскільки ці білки мають здатність здійснювати ефективний рефолдингконформаційно змінених білків організму при різноманітних захворюваннях. Забезпечення ефективного джерела отримання високоочищеного HSP70 є однією з важливих задач, що виникають при створенні сучасних вакциноподібних препаратів [1]. Доцільним є використання нових біотехнологічних ген-рекомбінантних технологій для отримання таких білків та отримання цільових продуктів з мінімальною кількістю домішок. На теперішній час достатніми розробками є методи верифікації, ампліфікація та векторний транспорт до клітини продуцента, будь-якого структурного гену, який відповідальний за синтез HSP70 [2].

Метою даної роботи була розробка біотехнологічного регламенту для отримання рекомбінантного цільового продукту – HSP70, продуцентом якого є культура *E. coli*, та його очистка від цитотоксичних домішок методом хроматографії. Також одним із завдань було визначення біодоступності отриманого цільового продукту за допомогою лімфоцитотоксичного тесту.

Новий біотехнологічний регламент включає наступні основні стадії: отримання рекомбінантного штаму *E. coli*, що містить плазмиду із трансформованим геном, який забезпечує синтез HSP70; культивування штаму у сучасному ферментері на 10 дм³; виділення білкового продукту та двох стадійна хроматографічна очистка, що забезпечує отримання кінцевого білкового препарату з чистотою не менше 98 %. Також за допомогою лімфоцитотоксичного тесту на різних етапах виробництва провели аналіз HSP70 на токсичність, що дало змогу впевнитися у його нешкідливості для організму людини. Метод імуоферментного аналізу використовували для визначення ефективності кінцевого продукту. В роботі проведені розрахунки матеріального та теплового балансів, а також економічні розрахунки, що доводять ефективність запропонованого технологічного рішення.

Таким чином був розроблений нами зручний, доступний та універсальний спосіб отримання рекомбінантних препаратів білку сімейства стресових та отриманий високоочищений препарат білка HSP70.

Література:

1. Пат. 2283128 Росс. Федерация МПК А 61 К 38/12, С 12 N 1/00. Способполученияпрепаратабелкаизсемействастрессовых и препарат белка HSP70, полученныйэтим способом / Дигтярь А. В., Корженевский Д. А., Луценко Е. В. [и др.], патентообладатели: Луценко С .В., Северин Е. С., Северин С. Е. – №2005109540/15; заявл. 05.04.05; опубл. 10.09.06.
2. Стародубова А. А. Біотехнологічний спосіб отримання та хроматографічна очистка білків теплового шоку : дипл. проект / А. А. Стародубова. – Харків: НТУ «ХПІ», 2016. – 90 с.