

## ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ИНСУЛИНОПОДОБНОГО ФАКТОРА РОСТА 1 И ПОЛИМЕРНЫЕ СИСТЕМЫ ДЛЯ ДОСТАВКИ В КЛЕТКУ

Найдёнышева Ю.А. (Университет ИТМО)

Научный руководитель – доцент, кандидат химических наук, Морозкина С.Н.  
(Университет ИТМО)

**Введение.** Разработка методов изменения генетического аппарата клеток, позволяющих вводить в них чужеродные гены, клонировать их, экспрессировать и получать нужные продукты, совершила настоящую революцию в биологии. Среди всего многообразия созданных на сегодняшний день рекомбинантных белков, особенно значимыми являются белки, которые оказывают влияние на рост, развитие и дифференцировку клеток и тканей организма. Одним из таких белков является инсулиноподобный фактор роста 1 (ИФР-1). Более перспективным является метод получения рекомбинантного ИФР-1 в клетках *Escherichia coli*. Преимущество использования *E.coli* в качестве продуцента состоит в том, что данный метод позволяет получить рекомбинантный ИФР-1 в короткие сроки, является относительно простым способом и подходит для использования в производственных масштабах. Поскольку в России не отработана методика получения рекомбинантного ИФР-1, то её разработка является актуальной. Не менее актуальной задачей является выбор способа доставки рекомбинантного ИФР-1 в клетку, который можно осуществить с помощью полимерных «переносчиков», способных обеспечить поступление ИФР-1 в орган-мишень в необходимой концентрации с максимальным терапевтическим эффектом и минимальными побочными действиями.

**Основная часть.** Получение рекомбинантного инсулиноподобного фактора роста 1 можно разделить на следующие этапы:

1. Культивирование штамма-продуцента со встроенным в плазмиду геном ИФР-1 [1]. На индукцию экспрессии белка влияют различные факторы, такие как: температура культивирования штамма-продуцента, концентрация индуктора и время его воздействия. Подбор оптимальных условий индукции экспрессии позволяет получить на данном этапе максимально возможный выход рекомбинантного ИФР-1, который накапливается в клетках бактерий в виде телец включения.
2. Выделение телец включения, содержащих рекомбинантный ИФР-1, из клеток *Escherichia coli* [2]. Тельца включения можно выделить после разрушения клеток при помощи центрифугирования на высоких оборотах. Помимо этого необходимо подобрать оптимальные условия и провести несколько этапов их отмывки.
3. Выделение и очистка рекомбинантного ИФР-1. Поскольку белок находится в тельцах включения в агрегатном состоянии, необходимо подобрать условия для правильного рефолдинга, то есть возвращения ему нативной структуры, при которой он способен реализовать свои функции. Дальнейшую очистку белка целесообразно осуществить хроматографическими методами, в частности, с помощью жидкостной хроматографии [3].
4. Конъюгация очищенного ИФР-1 с полимерным переносчиком. Выбор полимера для доставки рекомбинантного ИФР-1 в клетку-мишень может обеспечить поступление белка в необходимой концентрации с максимальным терапевтическим эффектом и минимальными побочными действиями.

**Выводы.** На данный момент определены оптимальные условия индукции экспрессии рекомбинантного инсулиноподобного фактора роста 1 в клетках *Escherichia coli*: температура культивирования 34°C; концентрация ИПТГ (индуктор) 0,1 мМ; время воздействия индуктора 5-6 часов. В дальнейших исследованиях планируется определить оптимальные условия отмывки телец включения и очистки рекомбинантного ИФР-1, а также подобрать полимер для конъюгации с ИФР-1.

**Список использованных источников:**

1. Mofid M.R. Efficient process development for high-level production, purification, formulation, and characterization of recombinant mecasein in *E.coli* / M.R. Mofid, V. Babaeipour, S. Jafari, L. Haddad, S. Moghim, J. Ghanavi // *Biotechnology and Applied Biochemistry*. - 2020. - V. 68. - P. 776-788.
2. Kim S., High level expression and simple purification of recombinant human insulin-like growth factor 1 / S. Kim, Lee Y. // *Journal of Biotechnology*. - 1996. - P. 97-105.
3. Ибрагимов А.Н. Хроматографические методы очистки белков. / А.Н. Ибрагимов, А.Г. Бикмуллин, Д.А. Сатаева, Л.В. Лопухов, Л.И. Зайнуллин, Ф.К. Алимова // Учебно-методическое пособие. — Казань: ФГАОУ ВПО КФУ, 2013. — 48 с.