

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДИЗАЙНА ЭКСПЕРИМЕНТОВ В ПРОЦЕССЕ ОПТИМИЗАЦИИ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ШТАММОВ-ПРОДУЦЕНТОВ ИНСУЛИНА.

Гречко Дмитрий Андреевич (Университет ИТМО, RnD центр ГЕРОФАРМ), Бочкарева

Мария Дмитриевна (RnD центр ГЕРОФАРМ.

Научный руководитель – Хасаншина Зухра Рамилевна
(RnD центр ГЕРОФАРМ. Лаборатория генной инженерии и ферментации)

Введение. В мире ежегодно растёт число больных диабетом. По данным Международной диабетической федерации процент людей, болеющих диабетом более 370 миллионов, в 2030 году это число должно увеличиться до 552 миллионов [1]. Таким образом, с каждым годом растёт потребность в инсулине. Следовательно, разработка высокопродуктивных технологий культивирования штаммов-продуцентов инсулинов и их аналогов является актуальной задачей биотехнологии. В процессе получения генно-инженерного человеческого инсулина и его аналогов в промышленности используют бактериальную систему экспрессии *Escherichia coli*. Оптимизация условий культивирования штаммов-продуцентов включает себя максимизацию откликов – продуктивность и количества клеток. При этом на данные отклики влияют множество факторов – состав среды, условия индукции и т.п. При этом эффекты взаимодействия данных факторов оказывают влияние на экспрессию рекомбинантного белка. Использование традиционных подходов к постановке экспериментов не позволяет учесть данные эффекты и принять обоснованное решение об оптимальном сочетании данных факторов.

Основная часть. В данной работе рассмотрено использование статистического подхода к постановке экспериментов Design of Experiments (DoE). Данный подход позволяет построить модели, показывающие влияние каждого фактора и их взаимодействия на интересующие отклики.

Работа была разделена на 2 этапа: оптимизация состава питательной среды и оптимизация условий индукции. Во время первого этапа подбирали оценивали влияние таких компонентов среды, как пептон, дрожжевой экстракт, сульфат магния, фосфат калия на продуктивность и рост клеток. На втором этапе оценивали влияние pH, температуры и количества индуктора.

На каждом этапе проводили оптимизацию в колбах, далее валидировали оптимальные условия в лабораторных биореакторах рабочим объемом 1 л. К следующему этапу переходили при успешной валидации выбранных условий с предыдущего этапа.

По результатам проведенных экспериментов с использованием подхода DoE были построены предсказательные модели, которые позволили определить оптимальные условия культивирования и увеличить продуктивность штамма-продуцента инсулина.

Выводы. В результате проведенных экспериментов был подобран оптимальный состав питательной среды и условия индукции для культивирования штамма-продуцента инсулина. Использование подхода DoE была позволяет ускорить процесс разработки условий культивирования, уменьшить количество проведенных экспериментов.

Список использованных источников:

1. Baeshen, N.A., Baeshen, M.N., Sheikh, A. et al. Cell factories for insulin production. *Microb Cell Fact* 13, 141 (2014). <https://doi.org/10.1186/s12934-014-0141-0>
2. Govender, K., Naicker, T., Lin, J. et al. A novel and more efficient biosynthesis approach for human insulin production in *Escherichia coli* (E. coli). *AMB Expr* 10, 43 (2020). <https://doi.org/10.1186/s13568-020-00969-w>

Гречко Д. А. (автор)

Подпись

Бочкарева М. Д. (автор)

Подпись

Хасашина З. Р. (научный руководитель)

Подпись