

СОЗДАНИЕ ШТАММА-ПРОДУЦЕНТА НАНОАНТИТЕЛА К ПРОСТАТ-СПЕЦИФИЧЕСКОМУ МЕМБРАННОМУ АНТИГЕНУ

Шевченко А. С. (ИТМО)

Научный руководитель – кандидат биологических наук, доцент Аль-Шехадат Р. И. (ИТМО)

Введение. Рак предстательной железы является ведущей причиной онкологической смертности у мужчин во всем мире [1]. Ранняя диагностика рака предстательной железы дает больше шансов на излечение, и пациенты могут пройти через менее агрессивное лечение. Мишенью для диагностики и терапии рака предстательной железы является простат-специфический мембранный антиген (ПСМА), который высоко экспрессируется на клетках рака предстательной железы [2]. В качестве средств тераностики таких раковых опухолей могут использоваться наноантитела к ПСМА. Наиболее эффективным методом получения наноантител является гетерологичное производство в клетках *Escherichia coli* [3]. Однако внешняя мембрана *E. coli* содержит мощную иммуностимулирующую молекулу липополисахарид (ЛПС). В организме млекопитающих ЛПС также известен как эндотоксин, может вызывать пирогенную реакцию и в итоге провоцировать септический шок. Поэтому перед безопасным введением пациентам необходимо удалить ЛПС из рекомбинантных терапевтических белков. Удаление эндотоксина требует значительных усилий, кроме того, на сегодняшний день не описано ни одной методики постэкспрессии, которая могла бы полностью удалить эндотоксин [4]. Решением этой проблемы является разработка генетически-модифицированного штамма *Escherichia coli*, свободного от липополисахаридов и способного экспрессировать наноантитела к ПСМА.

Основная часть. В качестве продуцента выбран штамм *Escherichia coli* под названием ClearColi BL21(DE3), который позволяет получать рекомбинантные терапевтические белки без эндотоксинов, поскольку имеет модифицированную клеточную мембрану. В данной работе была проведена трансформация плазмидной ДНК, содержащей генетическую вставку с целевым геном, кодирующим синтез наноантител к ПСМА, в клетки ClearColi BL21(DE3). В клетках модифицированного штамма оценивалась экспрессия наноантител к ПСМА. Также была проведена оценка биологической активности белка в исследовании по локализации рекомбинантных наноантител при экспрессии в созданном штамме.

Вывод. В результате проведенных экспериментов был разработан штамм *Escherichia coli*, свободный от липополисахаридов, экспрессирующий наноантитела к ПСМА. Наноантитела экспрессируются в клетках созданного штамма в неактивной форме. В дальнейшем требуется дополнительная оптимизация для перевода белка в активную форму.

Список использованных источников:

1. Sung H. et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries //CA: a cancer journal for clinicians. – 2021. – Т. 71. – №. 3. – С. 209-249.
2. Jeitner T. M., Babich J. W., Kelly J. M. Advances in PSMA theranostics //Translational Oncology. – 2022. – Т. 22. – С. 101450.
3. Jember T. F. Molecular Cloning, Expression and Purification of Recombinant VHH Proteins Expressed in *E. coli* //American Journal of Molecular Biology. – 2021. – Т. 11. – №. 4. – С. 129-141.
4. Mamat U. et al. Detoxifying *Escherichia coli* for endotoxin-free production of recombinant proteins //Microbial cell factories. – 2015. – Т. 14. – С. 1-15.