

Секция «Молекулярная и клеточная биоинженерия и биоинформатика»

Влияние токсин-антитоксिनного генетического элемента на уровень и динамику биосинтеза интерферона β человека в клетках *E.coli*

Научный руководитель – Воробьев Иван Иванович

Пискарева Арина Алексеевна

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия

E-mail: piskareva.arisha2010@yandex.ru

В настоящее время множество важных для медицины человеческих белков можно получать с помощью методов генетической инженерии, используя клетки-продуценты, в частности бактерии *E. coli*. Часть из этих белков оказывается достаточно токсичной для бактерии-хозяина, что существенно ограничивает продуктивность бактериальных систем экспрессии генов таких белков. Экспрессия гена токсичного гетерологического белка повышает вероятность потери бактериальной клеткой всех копий плазмиды, что приводит к быстрому замещению в культуре клеток-продуцентов быстро делящимися непродуцирующими клетками. Таким образом, продуктивность биосинтеза некоторых рекомбинантных человеческих белков в бактериальных клетках может быть увеличена за счет повышения сегрегационной стабильности плазмид, которые кодируют гены этих белков. Один из возможных способов увеличения сегрегационной устойчивости плазмиды - это включение в ее состав токсин-антитоксिनного локуса, например, пары генов *hok/sok*, относящихся к токсин-антитоксин системам I типа. Ранее на основе плазмиды pET28a нами был сконструирован вектор pHYR, содержащий локус *hok/sok* в положении даунстрим от промотора T7lac. Данный вектор обладал увеличенной в несколько раз сегрегационной устойчивостью, однако не изменял достоверным образом уровень биосинтеза модельного белка - укороченного варианта тканевого активатора плазминогена человека. Было предположено, что вектор pHYR может позволить увеличить уровень биосинтеза более токсичного для клеток белка - интерферона β .

На основе вектора pHYR была получена экспрессионная плаزمида pHYR-MBIF, содержащая ген целевого белка - интерферона β человека и штамм-продуцент BL(21)DE3/pHYR-MBIF. Данный штамм позволял синтезировать на 45 % больше интерферона β , чем контрольный штамм, содержащий тот же синтетический ген интерферона β в составе плазмиды pET28. Также было установлено, что после 3 ч индукции клеток 1 mM ИПТГ плазмиду сохраняет в 3 раза больше клеток штамма BL(21)DE3/pHYR-MBIF, что может объяснять видимую разницу в динамике накопления целевого белка.

Увеличенная продуктивность штамма BL(21)DE3/pHYR-MBIF связана с лучшим удерживанием плазмиды клетками в процессе индукции. Плазмидные векторы с генетическим элементом *hok/sok* могут быть применены для увеличения уровня биосинтеза различных токсичных для хозяина белков в бактериальной системе экспрессии.