

Разработка экспрессионной системы наработки кальцитонин ген-родственного пептида для получения терапевтических моноклональных антител

Научный руководитель – Гончаренко Анна Владимировна

Артёмова Екатерина Николаевна

Студент (магистр)

Московский физико-технический институт, Москва, Россия

E-mail: kateart2002@icloud.com

Кальцитонин ген-родственный пептид (Calcitonin Gene-Related Peptide, CGRP) играет ключевую роль в развитии мигрени [2]. На основании информации о том, что подавление биологической активности CGRP позволяет эффективно купировать или даже предотвращать приступы мигрени были разработаны препараты – моноклональные антитела (мАТ) к CGRP, эффективность которых уже продемонстрирована в ряде клинических испытаний [1]. Несмотря на все преимущества, производство подобных препаратов в России отсутствует. В связи с этим разработка мАТ для лечения мигрени, а также создание технологии их получения на отечественных предприятиях являются актуальными задачами.

Целью работы стало получение экспрессионной системы для наработки рекомбинантного кальцитонин ген-родственного пептида.

Задачи: 1) Разработать плазмидные конструкции для экспрессии CGRP в бактериальном штамме *E. coli* BL21(DE3). 2) Получить варианты экспрессионных систем путем введения собранных плазмидных конструкций в клетки *E. coli* BL21(DE3). 3) Определить условия культивирования полученных штаммов-продуцентов, обеспечивающие наибольший выход целевого пептида и отобрать бактериальный штамм наиболее продуктивный в отношении синтеза рекомбинантного CGRP.

Результаты:

Мы собрали пять вариантов экспрессионных плазмидных конструкций, несущих вставку фрагмента гена *CALCA*, кодирующего экзон CGRP. Для сборки конструкций использовали вектора серии pET, варьируя положение His-tag, а также белок, коэкспрессирующийся с целевым пептидом. Получили экспрессионные системы для синтеза рекомбинантного CGRP, представляющие собой суспензионные культуры *E. coli* BL21(DE3), трансформированные созданными плазмидами. Мы также провели серию экспериментов, в которых продемонстрировали экспрессию целевого пептида в разных условиях. Уровень накопления рекомбинантного CGRP визуализировали и анализировали с помощью SDS-PAGE.

В результате серии экспериментов определили, что наибольшей эффективностью обладают экспрессионные системы, позволяющие нарабатывать целевой пептид в виде слитых белков: SUMO-CGRP – CGRP, слитый с убиквитин-подобным белком-модификатором (SUMO) и CGRP-CtxB – CGRP, слитый с β -субъединицей холерного токсина (CtxB).

Получение CGRP в виде слитых белков не только позволяет увеличить экспрессию целевого пептида в *E. coli*, но и потенциально повышает его иммуногенность, которая может быть снижена ввиду его малых размеров (4 кДА). Последнее в нашем случае является преимуществом, так как оба слитых белка мы планируем использовать в качестве антигенов для стимулирования иммунного ответа и образования антител у мышей.

Источники и литература

- 1) Табеева Г.Р. Современная концепция патофизиологии и новые мишени терапии мигрени / Г.Р. Табеева, З. Кацарава // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика, 2020. Т. 12. № 4. С. 143-152.

- 2) Hansen J.M. Calcitonin gene-related peptide triggers migraine-like attacks in patients with migraine with aura / J.M. Hansen, A.W. Hauge, J. Olesen, M. Ashina // Cephalalgia. 2010. Vol. 30. No 10. P. 1179-1186.