

Создание слитного белка SRP14-SRP9 китайского хомячка для улучшения секреции рекомбинантных белков клетками CHO

Научный руководитель – Орлова Надежда Александровна

Триска Тарас Игоревич

Студент (бакалавр)

Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии»
РАН», Москва, Россия

E-mail: triskka.t@gmail.com

Гетеродимер SRP9/SRP14 является важным компонентом цитоплазматической сигнализующей частицы (SRP), которая обеспечивает котрансляционный транспорт секреторных и мембранных белков к мембране эндоплазматического ретикулума (ЭР). У эукариот SRP состоит из молекулы 7SL РНК и шести белков (SRP72, SRP68, SRP54, SRP19, SRP14, SRP9). Гетеродимер SRP9/SRP14 играет ключевую роль в остановке трансляции, что позволяет SRP корректно направлять синтезируемые белки к ЭР.

SRP, лишенная гетеродимера SRP9/SRP14, сохраняет способность связывать сигнальные пептиды, но теряет способность вызывать арест трансляции. Это указывает на то, что SRP9/SRP14 является ключевым компонентом, необходимым для остановки синтеза белка на рибосоме, что обеспечивает корректный транспорт белков к ЭР. Добавление гетеродимера SRP9/SRP14 к SRP, лишенной этих белков, полностью восстанавливает функцию ареста трансляции.

В клетках человека и приматов гетеродимер SRP9/SRP14 присутствует в 20-кратном избытке по сравнению с другими компонентами SRP, что указывает на его возможную дополнительную роль, например, взаимодействие с РНК, кодируемой Alu-элементами. В клетках грызунов свободный SRP14 вне состава комплекса SRP не выявляется. В ряде работ было показано, что оверэкспрессия гена SRP14 человека в клетках CHO блокирует проскальзывание рибосом при трансляции некоторых генов цепей антител за конец сигнального пептида, вызывающее нежелательное накопление нерастворимых полипептидов целевых белков и, таким образом, существенно увеличивает уровень секреции трудных для экспрессии антител. В нашей лаборатории ген SRP14 был клонирован в экспрессионный вектор p1.2-Neo [1], которым трансфицировали различные линии клеток-продуцентов. Было установлено, что оверэкспрессия гена SRP14 китайского хомячка в клетках CHO увеличивает экспрессию только некоторых «трудных» антител и понижает продуктивность для легко экспрессирующегося Fc-слитного белка. Для достижения сбалансированной экспрессии генов антител и сборки гетеродимера SRP9/SRP14 нами была разработана генетическая конструкция для экспрессии этих белков в виде слитного полипептида с гибким линкером. Минимальная длина линкерной области была рассчитана при помощи моделирования в программе AlphaFold, чтобы сохранить структуру гетеродимера и его взаимодействие с РНК. Оверэкспрессия гетеродимерного комплекса SRP9/SRP14 может быть полезной для повышения секреции сложных для экспрессии белков, таких как антитела, в клеточных линиях, используемых в биотехнологии.

Работа поддержана грантом РНФ 25-24-00140.

Источники и литература

- 1) Orlova, N. A., Kovnir, S. v., Hodak, J. A., Vorobiev, I. I., Gabibov, A. G., & Skryabin, K. G. (2014). Improved elongation factor-1 alpha-based vectors for stable high-level expression of heterologous proteins in Chinese hamster ovary cells. BMC Biotechnology, 14. <https://doi.org/10.1186/1472-6750-14-56>