

Экспрессия биспецифичного мини-антитела MYSTI-2 с использованием аутоиндукционной среды.

Научный руководитель – Ходак Юлия Александровна

Лапунов Марк Евгеньевич

Студент (бакалавр)

Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии»

РАН», Москва, Россия

E-mail: lapunov.mark@mail.ru

E. coli является одним из самых распространённых продуцентов различных, в том числе терапевтических, белков. Несмотря на невозможность осуществлять ряд посттрансляционных модификаций, простота и дешевизна культивирования *E. coli* делает их привлекательным продуцентом даже для довольно сложных полипептидов. Наличие широкого спектра штаммов и сред для культивирования позволяет подобрать оптимальные условия экспрессии в зависимости от свойств целевых белков. Использование сред с автоматической индукцией экспрессии (аутоиндукционных сред) дополнительно облегчает процесс культивирования клеток-продуцентов.

MYSTI-2 – биспецифичное мини-антитело, разработанное для селективной нейтрализации фактора некроза опухоли человека (TNF) в миелоидных клетках [1]. Мы исследовали экспрессию MYSTI-2 в клетках *E. coli* штаммов Rosetta BL21 (DE3) и ClearColi BL21(DE3), трансформированных экспрессионным вектором pET22b-MYSTI-2, в среде LB и аутоиндукционной среде ZYM-5052 [2]. По достижении оптической плотности культур 0.6-0.8 температуру культивирования понижали с 37 до 30°C и индуцировали экспрессию в среде LB добавлением ИПТГ. В аутоиндукционной среде экспрессия самопроизвольно запускалась по мере уменьшения концентрации глюкозы, поэтому отсчёт времени индукции осуществляли от момента достижения средой температуры 30°C.

При кратковременной индукции (3-5 ч с момента индукции) содержание целевого белка в клетках штамма Rosetta достигало 35 мкг/мл при культивации в среде LB и 20 мкг/мл в среде ZYM-5052. Однако при длительном культивировании концентрация MYSTI-2 в культуре, выращенной в аутоиндукционной среде, значительно превышала концентрацию в культуре, выращенной в среде LB, и через 24 ч с момента индукции составляла около 200 мкг/мл против 120 мкг/мл в LB при сопоставимой клеточной плотности. В случае экспрессии в клетках штамма ClearColi наибольшее накопление целевого белка наблюдали через 5 ч после индукции, а далее количество белка снижалось в обеих средах, однако уровень экспрессии в аутоиндукционной среде оставался выше, чем в среде LB. Таким образом, использование аутоиндукционных сред позволяет увеличить выход целевого белка MYSTI-2 в клетках штаммов Rosetta и ClearColi.

Источники и литература

- 1) Efimov, G. A., Kruglov, A. A., Khlopchatnikova, Z. V., Rozov, F. N., Mokhonov, V. V., Rose-John, S., Scheller, J., Gordon, S., Stacey, M., Drutskaya, M. S., Tillib, S. V., and Nedospasov, S. A. (2016) Cell-type-restricted anti-cytokine therapy: TNF inhibition from one pathogenic source, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113, 3006-3011, doi: 10.1073/pnas.1520175113.
- 2) Studier, F. W. (2005) Protein production by auto-induction in high density shaking cultures, *Protein expression and purification*, 41, 207-234, doi: 10.1016/j.pep.2005.01.016.