

# Получение рекомбинантных белков

Выполнил ст.гр.МТБ01-17-01  
Алимгулова Г.Р.

***Рекомбинантный белок*** – белок, кодируемый геном, который экспрессируется в клонированной рекомбинантной ДНК.

Для достижения эффективной экспрессии гена сконструировано много специфических векторов; для этого проводились манипуляции с целым рядом генетических элементов, контролирующим процессы транскрипции и трансляции, стабильность белков, секрецию продуктов из клетки-хозяина и т. д.

*Для стабильной экспрессии клонированного гена важно:*

- тип промотора и терминатора транскрипции
- прочность связывания иРНК с рибосомой
- число копий клонированного гена и его локализации
- конечная локализация синтезируемого продукта
- эффективность трансляции в организме хозяине
- стабильность продукта в клетке хозяина

# Получение рекомбинантного белка

1. Первый шаг, необходимый для получения рекомбинантного белка – это клонирование гена, кодирующего этот белок.
2. Следующий шаг - это введение гена в клетку, где будет происходить синтез белка. Наиболее популярные для этих целей организмы: бактерии, дрожжи, клетки насекомых и млекопитающих.

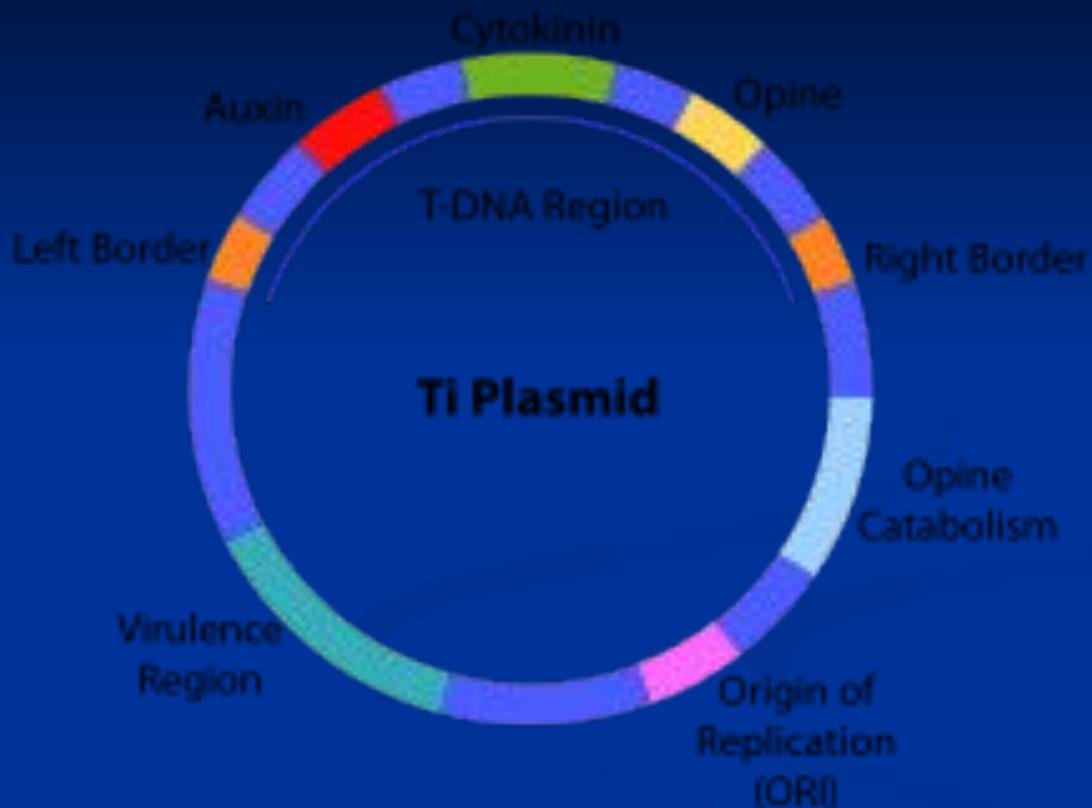
Одним из самых ранних применений технологий рекомбинантных белков было производство в бактериальных клетках человеческих белков в медицинских целях.

# **В качестве носителей можно ИСПОЛЬЗОВАТЬ:**

- 1) плазмиды;**
- 2) различные типы бактериофагов (в первую очередь это бактериофаги  $\lambda$  и M13);**
- 3) космиды;**
- 4) фагмиды, фазмиды;**
- 5) многообразие сверхъёмких векторов (так называемых «искусственно созданных» хромасом (AC – artificial chromosomes))**

# Плазмиды

Дополнительные факторы наследственности, расположенные в клетках вне хромосом и представляющие собой кольцевые (замкнутые) или линейные молекулы ДНК



## **Примеры лекарств, производимых с помощью биотехнологии:**

**Activase – для разрушения тромбов в кровеносных сосудах**

**Herceptin – лечение рака молочной железы**

**Neutropin, Humatrope – лечение недостатка гормона роста**

**Xolair – лечение аллергической астмы**

**Rativa, Amevive – лечение псориаза**

**Erogen и Procruif – лечение анемии**

**Enbrel, Humira, Remicade – лечение ревматоидного артрита**

**Avonex, Betaseron – лечение множественного склероза**

**Recombivax – вакцина против гепатита В**

**Flumist – вакцина против гриппа**

**Forteo – лечение остеопороза**

**Reopro – предотвращает тромбообразование**

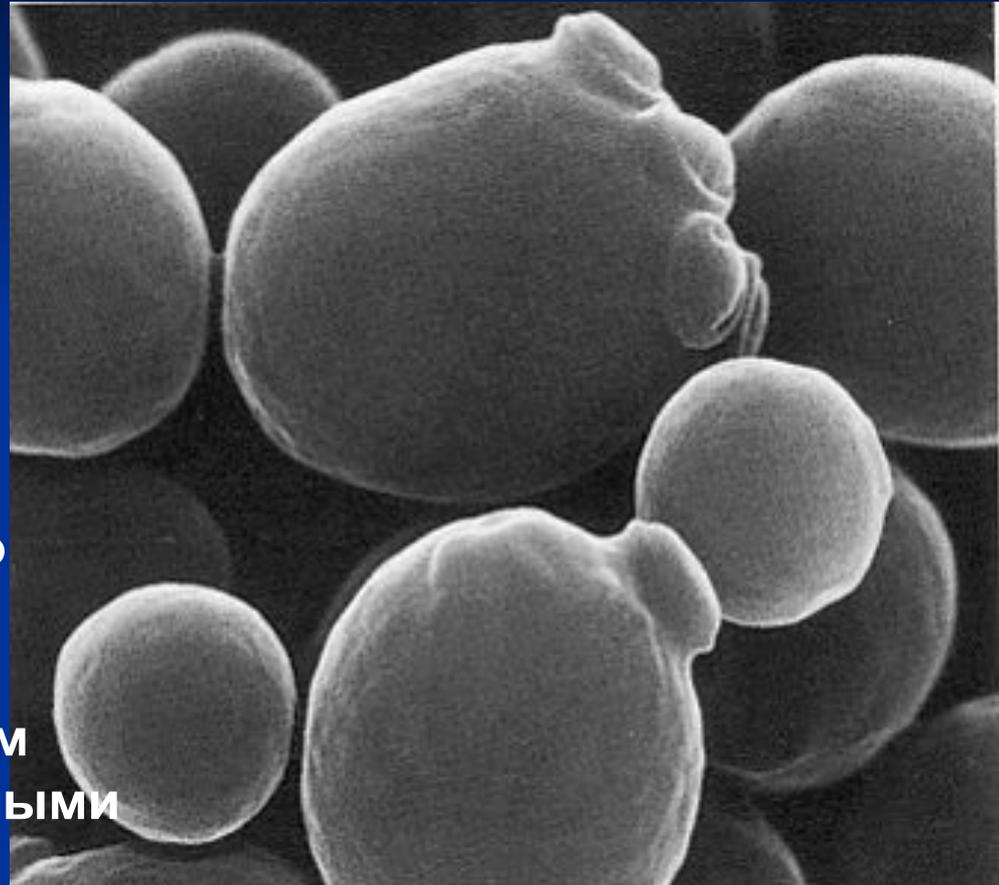
**Xigris – лечение сепсиса**

**Рекомбинантные белки, которые  
используют в  
терапевтических целях.**

<b>Год</b>	<b>Продукт</b>	<b>Клиническое применение</b>
<b>1982</b>	<b>Человеческий инсулин</b>	<b>Диабет</b>
<b>1985</b>	<b>Гормон роста человека</b>	<b>Карликовость</b>
<b>1986</b>	<b>Вакцина гепатита В</b>	<b>Профилактика гепатита В</b>
<b>1989</b>	<b>Эритропоэтин</b>	<b>Анемия</b>
<b>1992</b>	<b>Фактор VII</b>	<b>Гемофилия А</b>
<b>1997</b>	<b>Фактор IX</b>	<b>Гемофилия В</b>
<b>1999</b>	<b>Фактор VIIa</b>	<b>Гемофилия</b>

# ДРОЖЖЕВЫЕ КЛЕТКИ

- это эукариотические организмы, которые могут расти так же быстро как бактерии
- могут осуществлять некоторые необходимые модификации
- генетика и физиология детально изучена
- дрожжи используются человеком давно и оно признаны безопасными



дрожжевые клетки

# Некоторые рекомбинантные белки, синтезируемые в клетках насекомых:

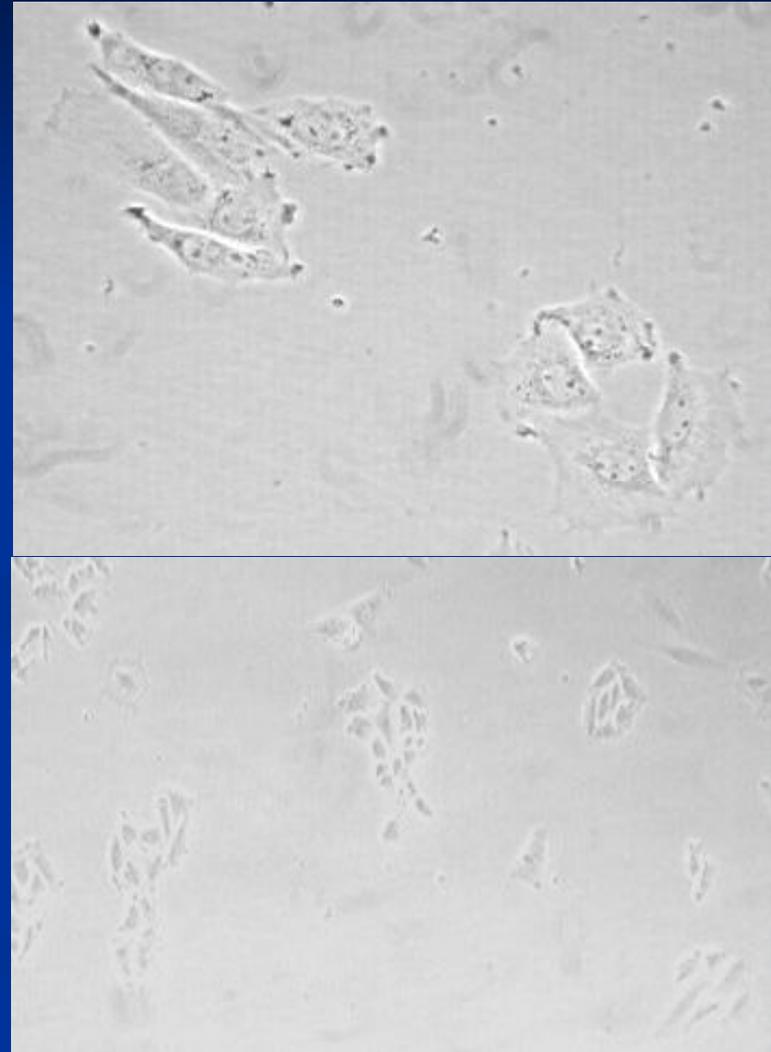
- $\alpha$ -интерферон
- эритропоэтин
- щелочная фосфатаза человека
- липаза поджелудочной железы человека
- интерлейкин-2
- активатор тканевого плазминогена
- регулятор проницаемости мембран, нарушения в котором приводят к муковисцидозу

# Клетки млекопитающих

Созданы экспрессирующие векторы для культуры клеток млекопитающих

Промышленный синтез рекомбинантных белков с использованием модифицированных клеток млекопитающих обходится слишком дорого

Системы экспрессии на основе клеток млекопитающих используют для получения рекомбинантных белков, которые невозможно получить с помощью других систем получения



**Получение определенных лечебных белков может быть достигнуто только с помощью культуры клеток млекопитающих, где белок соответствующим образом укладывается и модифицируется**

**Выработка этого белка в *трансгенных животных* может быть альтернативным методом**

# Использование растений для получения рекомбинантных белков

Растения – возможная альтернатива, позволяющая отказаться от использования животных и культуры клеток млекопитающих при получении рекомбинантных белков.

- растения легко выращивать, и путь от лабораторных тестов к коммерческому использованию быстр и легок
- использование животных сопряжено с риском заражения эндогенными вирусами
- растения выполняют очень схожие с животными модификации белков

Растения рассматривают как дешевую, безопасную и эффективную систему для получения вакцин

