



Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение
высшего профессионального образования

Уфимский государственный
нефтяной технический университет

Промышленный синтез белков при участии рекомбинантных микроорганизмов

Студент группы МТБ02-17-01

А.Ю. Семёнова

Преподаватель,
доктор химических наук

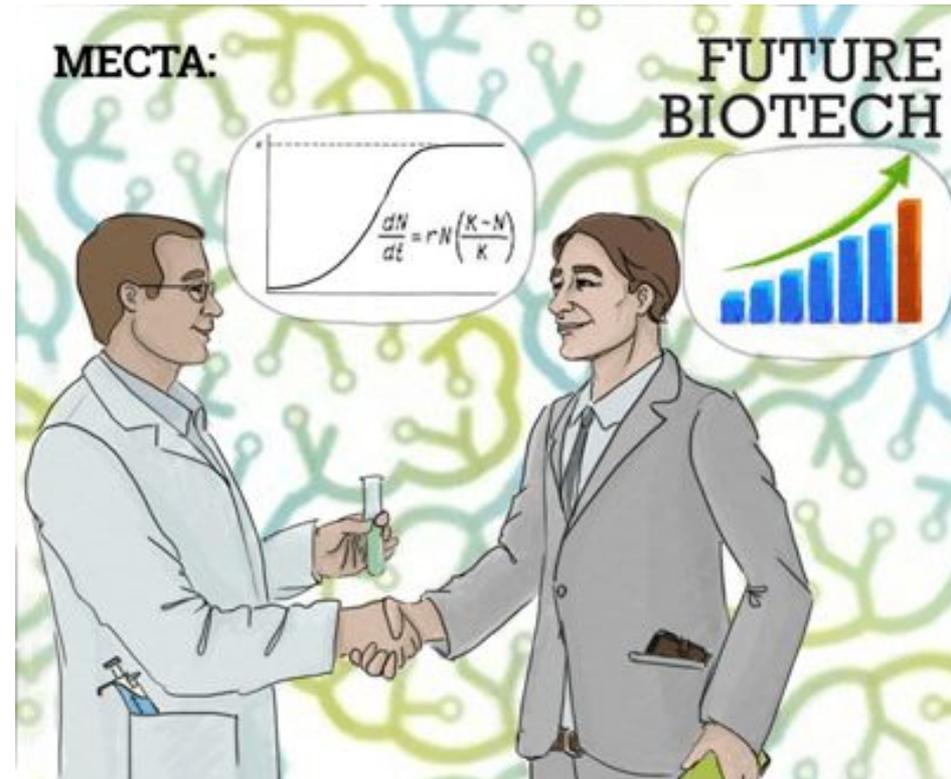
В.В. Зорин



Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение
высшего профессионального образования

**Уфимский государственный
нефтяной технический университет**

Для получения
коммерческих
продуктов с помощью
рекомбинантных
микроорганизмов
необходимо
сотрудничество
специалистов в двух
областях:
молекулярных биологов
и биотехнологов.





Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение
высшего профессионального образования

Уфимский государственный
нефтяной технический университет

Для получения максимального выхода продукта необходимо оптимизировать такие параметры, как:

- Температура;
- рН;
- Интенсивность и способ перемешивания среды;
- Концентрация кислорода (в случае аэробных организмов).

*Оптимальные условия меняются в зависимости от объема реактора.



Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение
высшего профессионального образования

Уфимский государственный
нефтяной технический университет

- Достаточный уровень стерильности в реакторе;
- Условия, предотвращающие утечку генетически измененных микроорганизмов;
- Снабжение реактора контрольно-измерительной аппаратурой;





Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования

Уфимский государственный нефтяной технический университет

Исходная культура (5-10 мл)



Встряхиваемая колба (200-1000 мл)



Ферментер для посевного материала (10-100 л)



Промышленный ферментер (≥ 100 л)



Сбор биомассы



Клетки

Культуральная среда

Разрушение

Экстракция

Очистка продукта



Критерии отбора микроорганизма при промышленном получении рекомбинантных белков:

- микроорганизмы должны быть непатогенные;
- микроорганизмы должны расти в производственных условиях на экономически дешевых средах;
- должен быть изучен геном микроорганизма;
- должен быть исследован метаболизм микроорганизма на уровне вида.



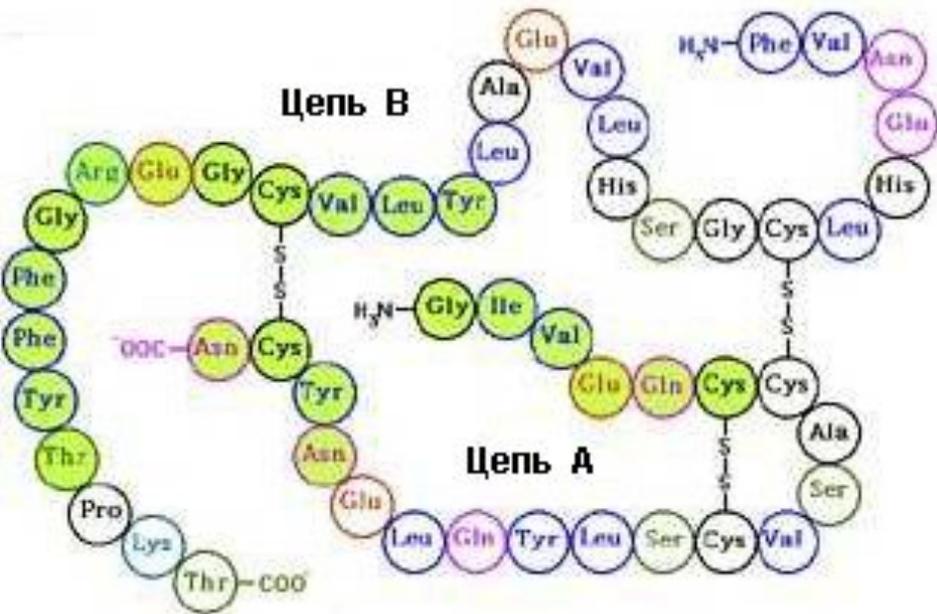
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение
высшего профессионального образования

Уфимский государственный
нефтяной технический университет

наиболее распространенные продуценты белковых препаратов:

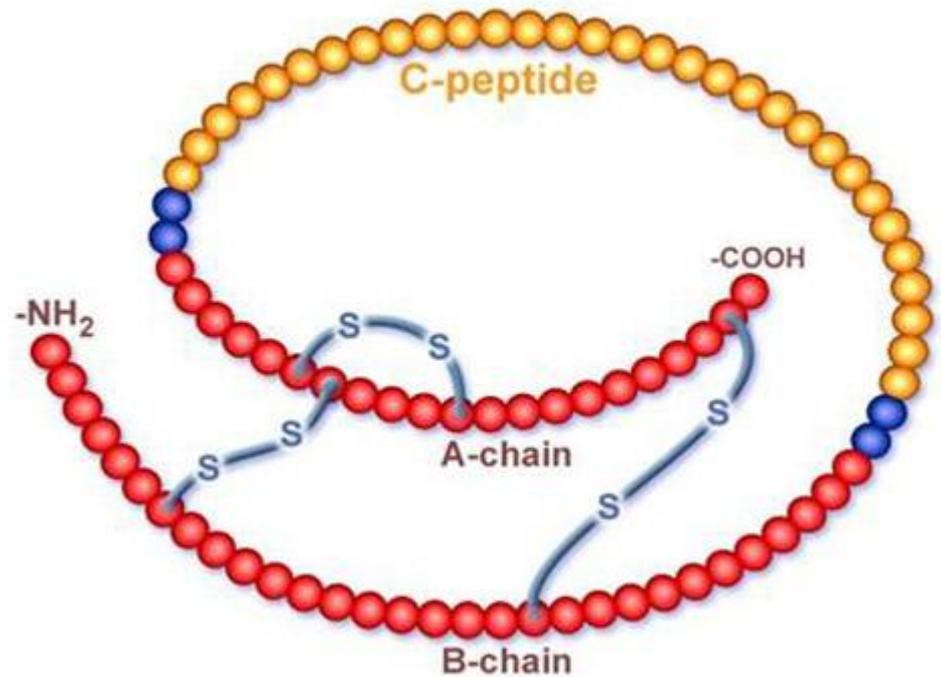
- *E. coli*;
- *Bacillus* spp.;
- *Erwinia* spp.;
- *Pseudomonas* spp.;
- *Rhizobium* spp.;
- *Saccharomyces cerevisiae*;
- *Pichia pastoris* и др.

* Сокращение «spp» в названии штамма означает, что бактерии принадлежат роду, но не идентифицируются по виду, т.к. имеют значительные различия с имеющимися известными



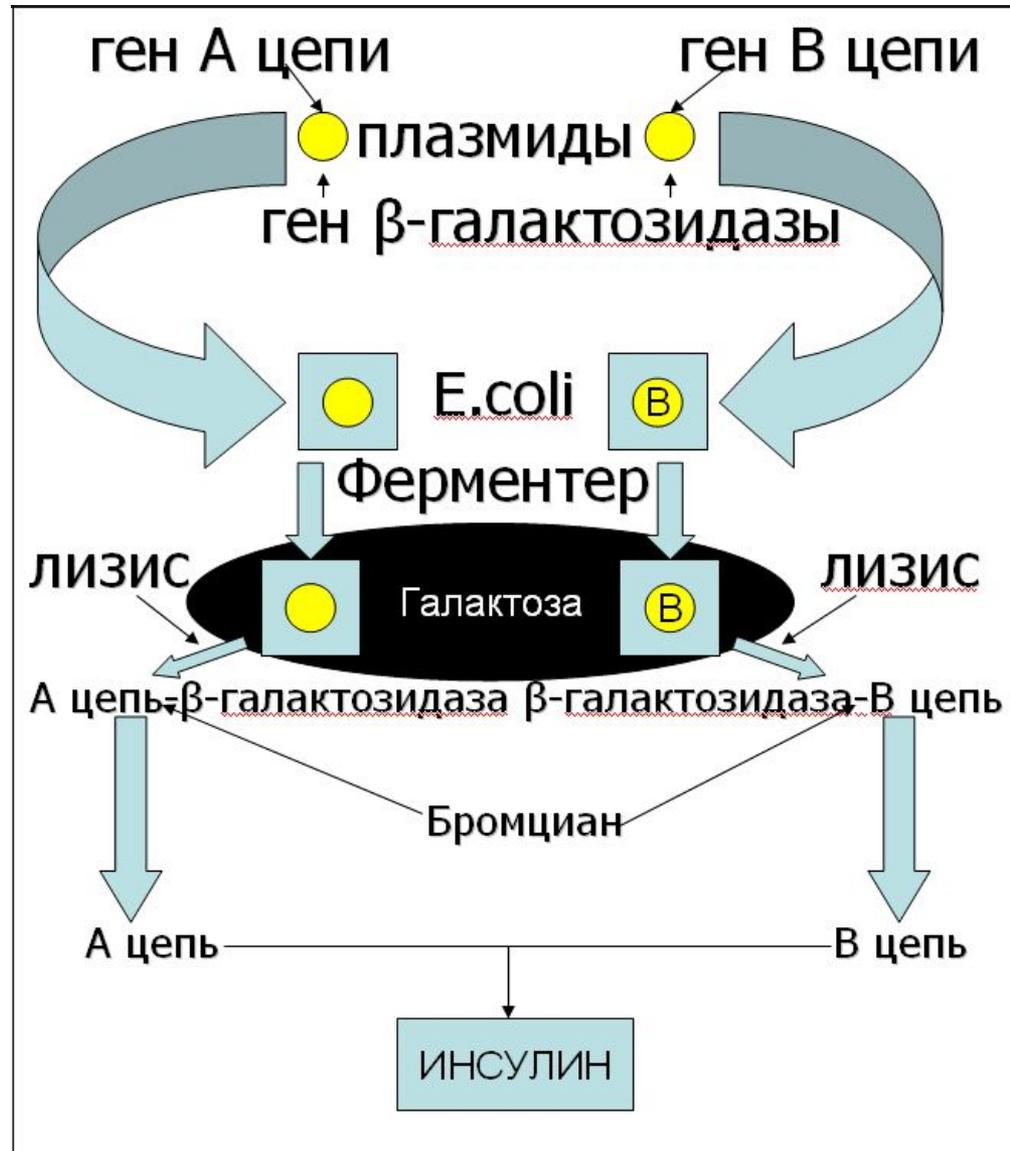
Инсулин

Проинсулин



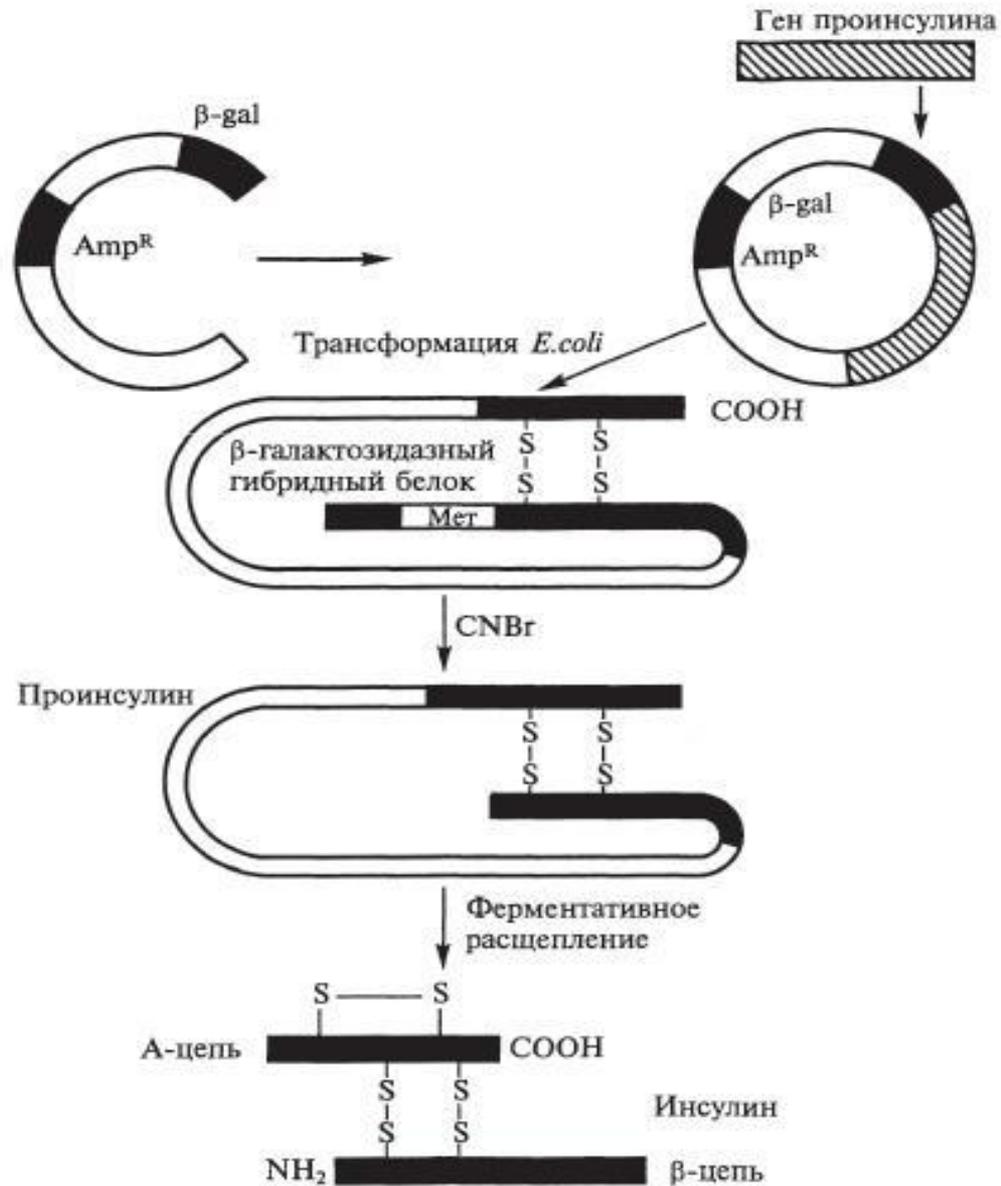


Раздельный синтез А- и В-цепей с последующим заключением между ними дисульфидных связей





Синтез проинсулина с последующим выщеплением С-пептида





Преимущества и недостатки использования E. Coli

Преимущества:

- Потенциально очень высокие уровни экспрессии;
- Низкая стоимость;
- Простые условия культуры;
- Быстрый рост;
- Простое преобразование протоколов;
- Многие параметры могут быть изменены, чтобы оптимизировать экспрессию.

Недостатки:

Неэффективное формирование дисульфидных связей;
Возможное нарушение формирования белков в цитоплазме
(включая бактериальные белки).



Преимущества и недостатки рекомбинантного инсулина

«+»:

- Идентичен по составу человеческому инсулину → нет аллергических реакций;
- Более экономичен по сравнению с животным инсулином.

«-»:

Тщательный контроль выделения и очистки, из-за примеси микробных липо- и глико-протеинов, которые обладают пирогенными свойствами.



Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение
высшего профессионального образования

**Уфимский государственный
нефтяной технический университет**

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!