

УДК 615.322

## УДОСКОНАЛЕННЯ БІОТЕХНОЛОГІЇ ВИРОБНИЦТВА ІНСУЛІНУ ІЗ ВИКОРИСТАННЯМ *ESCHERICHIA COLI*.

**К. В. Барнашевська<sup>1</sup>, М. Ф. Клещев<sup>2</sup>, О. М. Близнюк<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> магістрант кафедри біотехнології, біофізики та аналітичної хімії, НТУ «ХПІ», Харків, Україна

<sup>2</sup> професор кафедри біотехнології, біофізики та аналітичної хімії, професор, канд. техн. наук, НТУ «ХПІ», Харків, Україна

<sup>3</sup>завідувач кафедри біотехнології, біофізики та аналітичної хімії, професор, докт. техн. наук, НТУ «ХПІ», Харків, Україна

[onbliznjuk@ukr.net](mailto:onbliznjuk@ukr.net)

Інсулін – специфічний гіпоглікемічний засіб, гормон, що регулює вуглеводний обмін, підсилює засвоєння тканинами глюкози та полегшує проникнення глюкози в клітини, підсилює утворення продуктів перетворення глюкози, прискорює синтез глікогену в м'язах, стимулює синтез білків. Інсулін лишається єдиним та безальтернативним лікарським препаратом для замісної терапії сахарного діабету 1-го типу, рятуючи життя багатьох тисяч людей [1–3].

В основі процесу біосинтезу інсуліну – використання штаму-продуценту *E. coli* JM 109 з рекомбінантною плазмідною рPINS 07. Рекомбінантна плазмідна ДНК містить штучний ген, що кодує гібридний поліпептид, який складається з одного IgG-зв'язуючого домена білка А із *Staphylococcus aureus*, пептидного лінкера His<sub>6</sub>GlySerArg та проінсуліну людини. Плазміда містить як генетичний маркер ген β-лактамази, що визначає стійкість трансформованих нею клітин бактерій до ампіциліну. Експресія рекомбінантного білка штамом-продуцентом індукується ізопропіл-β-D-тіогалактозидом (завдяки наявності в плазміді *tac*-промотору) та досягає 30% від сумарного клітинного білку [1,2]. Технологічний процес включає отримання посівного матеріалу штаму-продуцент, біосинтез гібридного білка, виділення та очистка рекомбінантного білка, ферментативне розщеплення рекомбінантного білка, хроматографічна очистка інсуліну, отримання кристалічного інсуліну [1, 2]. Важливими показниками якості є вміст імунореактивних домішок та ДНК, що пов'язано з біотехнологічним способом отримання інсуліну людиною та необхідністю ретельного контролю цих граничних параметрів. Вихід продукту складає не менше 100 г з 1000 л культуральної рідини штаму-продуцента. Переваги процесу наступні: одностадійна очистка ренатурованого рекомбінантного білка; сумісне ферментативне розщеплення рекомбінантного білка трипсином та карбоксипептидазою Б; ефективне використання хроматографії низького тиску для очистки інсуліну. Це дозволить оптимізувати існуючу біотехнологію, збільшити вихід та чистоту цільового продукту, скоротити час технологічного циклу процесу отримання ферменту та підвищити питому активність препарату, забезпечити енергоефективність та ресурсозбереження, знизити собівартість кінцевого продукту.

### Список літератури:

1. Баирамашвили, Д.И. Генноинженерный инсулин человека: успехи и перспективы / Д.И. Баирамашвили // Рос.хим. ж. – 2015. - том XLIX. - № 1. – С. 34–45.
2. O. Coskun Separation techniques: Chromatography / Coskun O. // North Clin Istanb. – 2016. – №3(2). – P. 156–160.
3. Heinemann L. New ways of insulin delivery / L. Heinemann // Int J Clin Pract Suppl. – 2011. – №170. – P. 31–46.