

Родіон ВАРИЧ, студент,

Тетяна ЛУЦЕНКО, канд. техн. наук., доц.

Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського», м. Київ, Україна,
e-mail: lutsenko.tetiana@iit.kpi.ua

ТЕХНОЛОГІЯ БЕЗПЕРЕРВНОГО ВИРОБНИЦТВА ЕПІДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТУ ЗА ДОПОМОГОЮ БІОПЛІВКИ *E. COLI*

Анотація. Дана робота передбачає дослідження різних параметрів для ефективного безперервного синтезу Епідермального фактора росту (ЕФР), включаючи умови формування біоплівки, конструкцію біореактора, стратегії подачі поживних речовин та методи подальшої обробки. Кінцевою метою є створення масштабованої та ефективної платформи для безперервного виробництва високоякісного ЕФР для задоволення зростаючого попиту на цей цінний білок у різних сферах застосування.

Ключові слова: *Escherichia coli*, епідермальний фактор росту, біоплівка.

Актуальність дослідження

ЕФР є важливим білком, що бере участь у різних клітинних процесах, таких як проліферація клітин, загоєння ран і регенерація тканин. Попит на ЕФР у медичних та дослідницьких цілях зростає, що вимагає ефективних та економічно вигідних методів виробництва. Розробка системи безперервного виробництва ЕФР з використанням біоплівок *E. coli* має потенціал для задоволення зростаючого попиту на цей цінний білок. Така система може забезпечити сталий і масштабований метод виробництва ЕФР, що принесе користь різним галузям промисловості, включаючи фармацевтику, біотехнологію та медичні дослідження [1,2].

Мета дослідження

Розробка та оптимізація системи безперервного виробництва ЕФР з використанням біоплівок *E. coli*.

Основні матеріали досліджень

У попередніх дослідженнях вивчалось використання кишкової палички в якості хазяїна для виробництва рекомбінантного ЕФР. Однак ці методи часто покладаються на періодичні процеси, які можуть бути тривалими та трудомісткими. Порівняння двох способів виробництва наведено у таблиці 1. Крім того, дослідники вивчали потенціал біоплівок для безперервного біопродукування, але все ще існує потреба в оптимізованих та ефективних системах, спеціально пристосованих для виробництва ЕФР [2].

Таблиця 1

Порівняння переваг та недоліків безперервних та періодичних процесів виробництва ЕФР

Процес	Переваги	Недоліки
Безперервний	Вища продуктивність	Складність контролю
	Економія ресурсів	Ризик контамінації
	Стабільна якість продукту	Складність масштабування
	Менші капітальні витрати	Необхідність ретельного налаштування
Періодичний	Простота контролю	Нижча продуктивність
	Гнучкість	Вищі витрати на робочу силу
	Нижчий ризик контамінації	Вища вартість обладнання
	Простіше масштабування	Колівання якості продукту

Останні досягнення в галузі генної інженерії та технологічного дизайну проклали шлях до розробки інженерних біоплівок, оптимізованих для виробництва конкретних біопродуктів. Наприклад, дослідники вивчають використання інструментів синтетичної біології для створення біоплівок *E. coli*, які можуть ефективніше виробляти ЕФР. Модифікуючи генетичні шляхи, пов'язані з формуванням біоплівки та виробленням ЕФР, можна підвищити стабільність біоплівки та вихід ЕФР. Крім того, інтеграція передових систем моніторингу та контролю в біореактори на основі біоплівки дозволяє точно контролювати навколишнє середовище біоплівки. Це включає регулювання

потоків поживних речовин, рН і температури, які є критично важливими для оптимізації росту біоплівки і формування продукту. Технології моніторингу в режимі реального часу, такі як біосенсори та мікрофлюїдні пристрої, розробляються для ретельного моніторингу динаміки біоплівки та виробничого процесу, забезпечуючи високу якість та стабільність продукції.

Перехід до біовиробництва на основі біоплівок також відповідає цілям сталого розвитку біовиробництва. Біоплівки можна вирощувати на різноманітних субстратах, включаючи відходи сільськогосподарства та харчової промисловості, тим самим зменшуючи залежність від традиційної сировини та мінімізуючи виробництво відходів. Крім того, безперервний режим виробництва біоплівок зменшує споживання енергії та води, що зазвичай асоціюється з періодичними процесами [2].

Результати

У дослідженні Li et al. (2022) було представлено новий підхід до безперервного виробництва людського ЕФР з використанням біоплівки *E. coli*. Автори розробили біореактор, в якому бактеріальна біоплівка *E. coli*, що експресує ЕФР, була здатна до тривалого безперервного культивування та продукування цільового білка. Основним досягненням роботи стала висока продуктивність та вихід ЕФР у створеній системі. Протягом 120 годин безперервного культивування було отримано 933 мг/л ЕФР з максимальним виходом 6,75 г/л. Крім того, процес виявився стабільним, що було продемонстровано під час 25 діб безперервної роботи біореактора. Це свідчить про потенціал біоплівкових систем для промислового виробництва рекомбінантних білків. Принцип виробництва зображено на рис. 1.

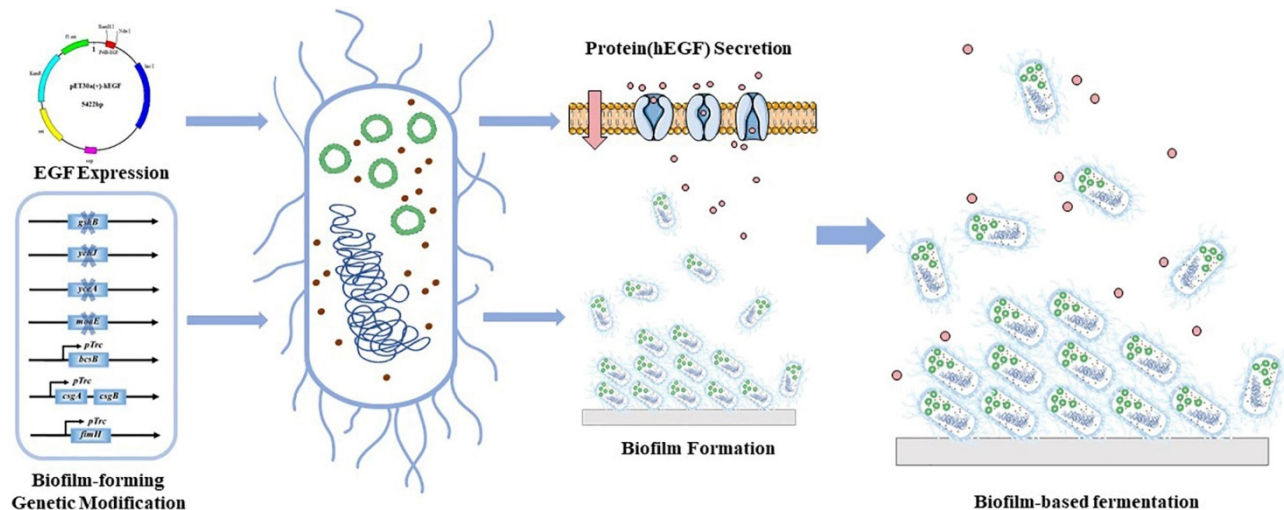


Рис. 1. Графічна ілюстрація секречії ЕФР на основі біоплівки [3]

Однак, дослідження також виявило певні обмеження та необхідність подальших вдосконалень. Зокрема, формування товстої біоплівки може обмежувати дифузію поживних речовин та кисню, що може негативно впливати на продуктивність. Також існує ризик накопичення побічних продуктів метаболізму, які можуть інгібувати ріст біоплівки. Крім того, масштаб дослідження був відносно невеликим, оскільки використовувався лабораторний біореактор. Для подальшого вдосконалення та промислової реалізації цього підходу необхідно оптимізувати умови росту біоплівки для поліпшення масопереносу та профілактики відшарування. Важливим є також вивчення довгострокової стабільності та стійкості процесу до різних збурень. Необхідно розробити стратегії регенерації/заміни біоплівки для подовження тривалості виробничого циклу. Масштабування процесу до пілотного та промислового рівнів потребуватиме урахування специфічних проблем, пов'язаних зі збільшенням масштабу. Нарешті, необхідно вдосконалити методи очищення продукту та забезпечити відповідність стандартам якості.

Висновок

Хоча деякі дослідження щодо безперервного виробництва ЕФР з використанням біоплівок *E. coli* були проведені, все ще існує потреба в подальшій оптимізації та масштабуванні цих систем. Такі фактори, як формування біоплівки, постачання поживних речовин і відновлення продукту, потребують поглибленого вивчення для досягнення високих врожаїв і економічної ефективності. Крім того, конструкція системи біореактора відіграє життєво важливу роль у сприянні росту

біоплівки, доставці поживних речовин і вилученню продукту. Для підвищення продуктивності та спрощення подальшої обробки можна дослідити безперервні системи з іммобілізованими біоплівками або мембранні біореактори. Нарешті, слід розробити ефективні методи подальшої обробки, такі як мембранна фільтрація або хроматографічні методи, для вилучення та очищення EGF з біоплівкової культури з високим виходом і чистотою.

Література

1. Abdull Razis, A. F., Ismail, E. N., Hambali, Z., Abdullah, M. N., Ali, A. M., & Mohd Lila, M. A. (2008). Expression of recombinant human epidermal growth factor in *Escherichia coli* and characterization of its biological activity. *Applied biochemistry and biotechnology*, 144(3), 249–261. <https://doi.org/10.1007/s12010-007-8019-9>.
2. Kim, Y.S., Lee, HJ., Han, Mh. et al. Effective production of human growth factors in *Escherichia coli* by fusing with small protein 6HFh8. *Microb Cell Fact* 20, 9 (2021). <https://doi.org/10.1186/s12934-020-01502-1>.
3. Li M, Wang Z, Zhou M, Zhang C, Zhi K, Liu S, Sun X, Wang Z, Liu J and Liu D (2022) Continuous Production of Human Epidermal Growth Factor Using *Escherichia coli* Biofilm. *Front. Microbiol.* 13:855059. doi: 10.3389/fmicb.2022.855059.