

Optimiranje sustava za izlaganje rekombinantnih proteina na površini stanica kvasca: uloga UPR-a, ERAD-a i dinamike endoplazmatskog retikuluma

SAŽETAK

Izlaganje različitih rekombinantnih proteina na površini stanica mikroorganizama, posebno kvasca, privuklo je tijekom posljednja dva desetljeća znatnu pozornost istraživača. Ova metoda je brza, jednostavna i isplativa, a kombinira biosintezu i sekreciju rekombinantnih proteina s njihovom imobilizacijom na površini stanice domaćina. Proteini sintetizirani ovom tehnikom transportiraju se na površinu stanice i ugrađuju u staničnu stijenku blagim, nativnim procesima, izbjegavajući agresivne metode kemijske imobilizacije koje često dovode do gubitka fiziološke aktivnosti. Proteini imobilizirani na površini stanice općenito su stabilniji i otporniji na promjene u okolišu od onih u otopini. Ovisno o korištenom promotoru, stanice mogu kontinuirano obnavljati rekombinantni protein na svojoj površini ili ga eksprimirati samo pod određenim uvjetima. Osim toga, stanice koje nose enzime imobilizirane na površini mogu se lako odvojiti od reakcijske smjese i ponovno upotrijebiti više puta. Ovi enzimi također mogu katalizirati reakcije sa supstratima koji ne mogu ući u stanice, olakšavajući izvanstaničnu sintezu i pojednostavljajući pročišćavanje produkta. Međutim, glavna prepreka industrijskoj primjeni ove metode često je mala učinkovitost, što rezultira ograničenim količinama imobiliziranog proteina. Učinkovitost ovisi o procesima koje protein prolazi na putu do površine stanice, slijedeći isti put kao i nativni sekretorni proteini: sintezu u endoplazmatskom retikulumu (ER), transport do Golgijevog aparata i transport na površinu stanice putem vezikula. Velike količine sekretornih proteina mogu preopteretiti ER, pokrećući stanični odgovor na nesmotane i pogrešno smotane proteine (UPR) i degradacijski put povezan s endoplazmatskim retikulumom (ERAD). Unatoč značajnim poboljšanjima za neke proteine, univerzalni sustav za sve rekombinantne proteine još nije razvijen. Međutim, složenost putova obrade i sekrecije proteina sugerira da je jedan sustav koji poboljšava produktivnost svih rekombinantnih proteina malo vjerojatan. Umjesto toga, možda će biti potrebno nekoliko optimiranih sustava prilagođenih specifičnim strukturama proteina. Ovaj rad daje pregled procesa koje rekombinantni proteini namijenjeni za imobilizaciju na površini stanice prolaze na putu do površine stanice u endoplazmatskom retikulumu, čime predstavljaju ključno usko grlo za uspješnu imobilizaciju rekombinantnih proteina na površini stanice.

Ključne riječi: izlaganje proteina na površini stanica kvasca; rekombinantni protein; degradacijski put povezan s endoplazmatskim retikulumom (ERAD); stanični odgovor na nesmotane i pogrešno smotane proteine (UPR)