

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-120

## ОПТИМИЗАЦИЯ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ АНАЛЬГЕТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА HCRG21 \*

### OPTIMIZATION OF THE PRODUCTION TECHNOLOGY FOR THE ANALGESIC PEPTIDE HCRG21

А. А. Рар<sup>1</sup>, Е. А. Волосникова<sup>1</sup>, Т. И. Есина<sup>1</sup>, Я. С. Гогина<sup>1</sup>, Н. Г. Мотовилова<sup>1</sup>,  
Е. Д. Даниленко<sup>1</sup>, В. Н. Степаненко<sup>2</sup>, М. Н. Терешин<sup>2</sup>, Е. В. Лейченко<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово

<sup>2</sup>Институт трансляционной медицины и биотехнологии

Первого Московского государственного медицинского университета им. И. М. Сеченова

<sup>3</sup>Передовая инженерная школа Дальневосточного федерального университета, Владивосток

А. А. Рар<sup>1</sup>, Е. А. Волосникова<sup>1</sup>, Т. И. Есина<sup>1</sup>, Я. С. Гогина<sup>1</sup>, Н. Г. Мотовилова<sup>1</sup>,  
Е. Д. Даниленко<sup>1</sup>, В. Н. Степаненко<sup>2</sup>, М. Н. Терешин<sup>2</sup>, Е. В. Лейченко<sup>3</sup>

<sup>1</sup>State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Koltsovo

<sup>2</sup>Institute for Translational Medicine and Biotechnology, Sechenov First Moscow State Medical University

<sup>3</sup>Advanced Engineering School, Far Eastern Federal University, Vladivostok

✉ raranas@yandex.ru

#### Аннотация

В работе представлены результаты оптимизации технологии получения рекомбинантного анальгетического пептида HCRG21 — высокоспецифичного блокатора TRPV1-каналов. Оптимизация процесса культивирования штамма-продуцента позволила достичь выхода биомассы 6,7–13,15 г/л с содержанием целевого белка 35–40 %. Усовершенствование схемы очистки обеспечило получение серии лиофилизированной субстанции высокой степени чистоты — более 97 %.

#### Abstract

The paper presents the results of optimizing the technology for producing recombinant analgesic peptide HCRG21, a highly specific blocker of TRPV1 channels. Optimization of the cultivation process of the producing strain made it possible to achieve a biomass yield of 6.7–13.15 g/l with a target protein content of 35–40 %. The improvement of the purification scheme ensured the production of a series of lyophilized substances with a high degree of purity — more than 97 %.

Хроническая боль представляет собой серьезную медико-социальную проблему, затрагивающую до 40 % взрослого населения развитых стран. Существующие анальгетики, такие как опиоиды и нестероидные противовоспалительные средства, обладают ограниченной эффективностью и значительными побочными эффектами, что делает разработку новых препаратов крайне актуальной. Одной из перспективных мишеней для создания современных анальгетиков являются TRPV1-каналы, играющие ключевую роль в передаче болевых сигналов [1–3]. В этом контексте особый интерес представляет пептид HCRG21 — рекомбинантный 56-аминокислотный полипептид, найденный при транскриптомном профилировании морской анемоны *Heteractis magnifica*. Этот пептид является высокоспецифичным блокатором TRPV1-каналов ( $IC_{50} = 6,9 \text{ мкМ}$ ) и демонстрирует уникальные фармакологические свойства: длительное анальгетическое действие (до 13 ч), выраженный гипотермический эффект (снижение температуры тела на 1,5 °C) и противовоспалительную активность [4]. Все это позволяет рассматривать пептид HCRG21 в качестве перспективного кандидата для разработки нового поколения анальгетиков.

Целью данной работы являлось воспроизведение и адаптация лабораторной технологии получения HCRG21 для оценки возможности ее масштабирования в условиях опытно-промышленного производства. Исходная технология предусматривала использование штамма-продуцента *Escherichia coli* BL21(DE3)/pSMT3\_HCRG21, синтезирующего гибридный белок SMT3-HCRG21, который затем подвергался ферментативному расщеплению с помощью Ulp1-протеазы с последующей очисткой целевого пептида. В ходе работы в технологический процесс был внесен ряд существенных модификаций. Прежде всего, в качестве продуцента был использован штамм *E. coli* Origami2(K12)/pLysS/pSMT3\_HCRG21, что позволило повысить стабильность синтеза целевого белка. Оп-

\* Исследование выполнено за счет средств субсидии федерального бюджета в рамках реализации Программы развития Дальневосточного федерального университета в рамках Программы стратегического академического лидерства «Приоритет-2030».

© А. А. Рар, Е. А. Волосникова, Т. И. Есина, Я. С. Гогина, Н. Г. Мотовилова, Е. Д. Даниленко, В. Н. Степаненко, М. Н. Терешин, Е. В. Лейченко, 2025

тимизация условий культивирования обеспечила выход биомассы на уровне 6,7 г/л с содержанием целевого белка 40 % и 13,15 г/л при его 35%-м содержании.

На этапе выделения и очистки были применены следующие ключевые усовершенствования: замена сепаратора на высокоскоростную центрифугу для сбора биомассы, введение дополнительной стадии центрифугирования для осветления лизата и модификация ионообменной хроматографии на Q-сепарозе с использованием ступенчатого градиента. Эти изменения позволили повысить эффективность очистки и выход целевого продукта. В результате проведенных работ были получены серии лиофилизированной субстанции HCRG21, соответствующей требованиям НД по чистоте ( $\geq 97\%$ ).

Проведенные исследования подтвердили возможность успешного масштабирования технологии производства HCRG21, что открывает перспективы для его дальнейшего внедрения в практику. Оптимизированная технология получения HCRG21 представляет собой важный шаг в создании современных анальгетиков с улучшенными характеристиками.

### Литература

1. Salat K., Monczewski A., Librowski T. Transient receptor potential channels — emerging novel drug targets for the treatment of pain // Curr. Med. Chem. 2013. Vol. 20 (11). P. 1409–1436.
2. Julius D. TRP channels and pain // Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 2013. Vol. 29. P. 355–384.
3. Синцова О. В., Паликов В. А., Паликова Ю. А. и др. Пептидный блокатор ионного канала TRPV1 проявляет длительный анальгетический эффект в модели тепловой стимуляции // Доклады Российской академии наук. Науки о жизни. 2020. Т. 493 (1). С. 423–426.
4. Sintsova O., Gladkikh I., Klimovich A. et al. TRPV1 blocker HCRG21 suppresses TNF- $\alpha$  production and prevents the development of edema and hypersensitivity in carrageenan-induced acute local inflammation // Biomedicines. 2021. Vol. 9 (7), No. 716.