

Streszczenie

W ramach dysertacji autorka podjęła próbę otrzymania rekombinowanego czynnika VIII zarówno w systemie eukariotycznym, jak i w dotychczas niewykorzystywanym systemie prokariotycznym. W pierwszym etapie prac badawczych otrzymano syntetyczny gen ludzkiego czynnika VIII krzepnięcia krwi oraz uzyskano stabilną linię komórkową CHO, produkującą aktywne białko. Komórki ssaków umożliwiają uzyskanie aktywnych katalitycznie białek mających wszystkie niezbędne modyfikacje potranslacyjne. Jednakże hodowla tych komórek jest czasochłonna i bardzo kosztowna, a ilość uzyskanego produktu jest przeważnie niewielka. W przeciwieństwie do komórek eukariotycznych, hodowla bakterii jest stosunkowo tania i pozwala uzyskać, w krótkim czasie, duże ilości rekombinowanych białek. Dlatego też w kolejnym etapie badań podjęto próbę skonstruowania szczepu bakteryjnego *E.coli* wytwarzającego rekombinowany ludzki czynnik krzepnięcia krwi. Ekspresję genu kodującego czynnik VIII krzepnięcia krwi na poziomie białka potwierdzono metodą spektrometrii mas. Następnie powstała biotechnologiczna metoda otrzymywania białka w komórkach bakteryjnych. Pozwoliło to na znaczne obniżenie kosztów wytwarzania oraz uzyskanie znacznie większych ilości białka w dużo krótszym czasie w stosunku do produkcji tego białka w systemie eukariotycznym czy na drodze syntezy. Dalsze kierunki prowadzonych prac powinny skupić się na podwyższeniu poziomu aktywności i eliminacji zanieczyszczeń w otrzymanym preparacie.