

УДК 579.254.2

РАЗРАБОТКА ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННОГО ПРОБИОТИЧЕСКОГО ШТАММА *ESCHERICHIA COLI* ДЛЯ ДОСТАВКИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ АГЕНТОВ

Отинов Г.Д. (Национальный исследовательский университет ИТМО), Олунайки Э.Б.

(Национальный исследовательский университет ИТМО), Дип Н.Г. (Национальный исследовательский университет ИТМО)

Научный руководитель – к.б.н., доц. химико-биологического кластера Кошель Е.И.

(Национальный исследовательский университет ИТМО)

Одним из перспективных методов лечения различных заболеваний является таргетная терапия, основанная на доставке терапевтических агентов, к примеру ДНК. В некоторых случаях для этой цели могут быть использованы не только вирусы-носители, но и бактерии. Важно отметить, что для доставки агентов при помощи бактерий, они должны иметь способность к проникновению в клетки млекопитающих. Однако, такой способностью обладают только патогенные штаммы, поэтому целесообразно в качестве вектора использовать пробиотический генетически-модифицированный штамм бактерии. В данной работе описывается разработка генетически-модифицированного штамма *Escherichia coli* Nissle 1917.

Введение. Одним из перспективных направлений генетической инженерии является создание систем - носителей для таргетной доставки различных терапевтических агентов в эукариотические клетки. В качестве носителей для адресной доставки могут явиться бактерии. Перенос ДНК от бактерии к эукариотическим клеткам называется бактофекцией и представляет собой опосредованный перенос бактериями плазмидной ДНК в клетки млекопитающих. Прежде всего стоит обратить внимание на то, что способностью к проникновению в клетки млекопитающих обладают только патогенные штаммы бактерий, которые не могут быть использованы в качестве носителей. Решением этой проблемы явилось конструирование генетически-модифицированного пробиотического штамма *Escherichia coli* Nissle 1917, содержащего ген инвазии *inv* из *Yersinia enterocolitica*.

Основная часть. Была проведена амплификация целевого гена инвазии (*inv*) находящегося под *trp* промотором с созданной ранее библиотеки генов *pGEM:full inv* при помощи полимеразной цепной реакции (ПЦР). Полученный ампликон был клонирован в pAL2-T (evrogen, Россия). Созданной генетической конструкцией *pAL:full inv* были трансформированы клетки *E. coli* Nissle 1917. Была проведена оценка уровня экспрессии гена *inv* в модифицированной бактерии при помощи количественной ПЦР относительно гена домашнего хозяйства *gusA*. В исследовании уровня экспрессии гена были использованы праймеры, сконструированные в пакете программ «Vector NTI 9» (Invitrogen, США). Количественную оценку способности к инвазии определяли при помощи гентамицинового метода на тестовых клеточных линиях HPF, НСТ-116 и Сасо-2. Также была проведена визуальная оценка уровня инвазивности при помощи флюоресцентной микроскопии с красителями DAPI (Thermo Fisher Scientific, США) и PI (Thermo Fisher Scientific, США), а также окрашивание по Романовскому – Гимзе.

Выводы. Была получена генетически-модифицированная *E. coli* Nissle 1917, которая в дальнейшем будет трансформирована различным генетическим материалом для оценки эффективности доставки генетического материала на клеточных линиях рака кишечника.

Отинов Г.Д. (автор)

Подпись

Олунайки Э.Б. (соавтор)

Подпись

Дип Н.Г. (соавтор)

Подпись

Кошель Е.И. (научный руководитель)

Подпись