

РАЗРАБОТКА СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ ЧЕЛНОЧНЫХ ВЕКТОРОВ В ЭУКАРИОТИЧЕСКИЕ КЛЕТКИ ПРИ ПОМОЩИ БАКТЕРИЙ.

М.А. Мисюрина (Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург).

Руководитель: к.б.н. Е. И. Кошель (Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург).

Генная терапия стала реалистичной перспективой лечения рака и включает доставку генетической информации в опухоль для облегчения производства терапевтических белков. Генно-модифицированные бактерии имеют большой потенциал для локализованной доставки лекарственных средств за счет их способности проникать внутрь клетки и высвобождать плазмидную конструкцию, несущую гены цитотоксических агентов, экспрессирующиеся непосредственно в эукариотических клетках. Однако, остается необходимость в повышении безопасности данной бактериальной системы, а также эффективности в распознавании и уничтожении опухоли.

Целью данного исследования являлась разработка системы доставки челночных векторов в эукариотические клетки при помощи бактерий. В работе применялись микробиологические методы, а также методы генной инженерии и молекулярной биологии.

Для конструирования бактериальной системы был выделен и культивирован пробиотический штамм *Escherichia coli* Nissle 1917. С целью придания инвазивной способности данному штамму были получены образцы ДНК патогенной грамотрицательной бактерии *Yersinia enterocolitica* и выделен ген *inv* белка инвазина, с целью вставки в плазмиду pKNG-p1 донорного штамма *E. coli* CC118. Для конструирования челночного вектора был отобран ряд цитотоксических агентов, индуцирующих гибель раковых клеток посредством апоптоза. К ним относятся члены семейства Bcl-2 белки tBid и PUMA, а также белок iCasp9, активируемый димеризирующим лекарственным препаратом AP1903. Соответственно предложены следующие конструкции:

промотер/трансген	tBID	PUMA	iCasp9
CMV	CMV-tBID	CMV-PUMA	CMV-iCasp9
Beta-catenin-dependent	TOPFLASH-tBID	TOPFLASH-PUMA	TOPFLASH-iCasp9
Tet-On	Tet-On-tBID	Tet-on-PUMA	Tet-On-iCasp9

Полученные результаты предоставляют возможность для трансформации *E. coli* Nissle 1917 данными сконструированными плазмидами с последующим тестированием на клеточной линии рака толстой кишки человека HCT116.