

**РАЗРАБОТКА БАКТЕРИИ-НОСИТЕЛЯ НА ОСНОВЕ ГЕНЕТИЧЕСКИ  
МОДИФИЦИРОВАННОГО ШТАММА *ESCHERICHIA COLI* NISSLE 1917 С ЦЕЛЬЮ  
ДОСТАВКИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ АГЕНТОВ**

**Отинов Г.Д.** (Национальный исследовательский университет ИТМО), **Ал-Аббас М.**  
(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 возможных путей терапии заболеваний, связанных со злокачественными новообразованиями, является таргетная терапия, основанная на доставке различных агентов, влияющих на новообразование, к примеру шаттл-векторов, кодирующих гены индукции клеточной гибели. В таких случаях для этой цели могут быть использованы не только вирусы-носители, но и бактериальные векторы. Важно отметить, что для доставки агентов при помощи бактерий, они должны иметь способность переносу этого материала в клетки млекопитающих. Для этой цели необходимо что бы бактериальные клетки обладали способностью к интернализации. Однако, этой 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 важных направлений генетической инженерии является создание носителей для таргетной доставки терапевтических агентов в клетки злокачественных новообразований. В качестве носителей для адресной доставки могут выступать и бактерии. Процесс переноса ДНК от бактерии к эукариотическим клеткам называется бактофекцией и представляет собой опосредованный перенос бактериями плазмидной ДНК в клетки млекопитающих. Важно отметить, что способностью к интернализации обладают только патогенные штаммы бактерий, которые в большинстве своем не могут быть использованы в качестве носителей. Возможным решением этой проблемы явилось конструирование генетически-модифицированного пробиотического штамма *Escherichia coli* Nissle 1917, содержащего ген инвазии *inv* из *Yersinia enterocolitica*. Для оценки эффективности доставки этот штамм был также модифицирован плазмидой содержащей ген репортерного белка GFP.

**Основная часть.** Ранее был получен генетически-модифицированный штамм *E. coli* Nissle 1917 [pAL-*inv*] обладающий способностью к инвазии. Это было показано при помощи гентамицинового теста, а также флюоресцентной и конфокальной микроскопий с использованием флюоресцентных красителей DAPI (Thermo Fisher Scientific, США) и PI (Thermo Fisher Scientific, США). Модифицированный штамм-носитель был трансформирован pTurboGFP-C (evrogen, Россия). Также проводили количественную оценку способности к инвазии определяли при помощи гентамицинового метода на тестовых клеточных линиях НСТ–116. Была проведена оценка способности к переносу шаттл-вектора содержащего репортерный белок GFP при помощи проточной цитометрии на цитометре CytoFlex (Beckman Coulter, США)

**Выводы.** Генетически-модифицированному *E. coli* Nissle 1917 [pAL-*inv*] был трансформирован плазмидой несущий ген репортерного белка GFP. Тестирование интернализации полученных бактерий было проведено с использованием гентамицинового теста в результате было установлено, что процент интернализированных бактериальных клеток составил 5%. При изучении эффективности доставки было выявлено, что при таком проценте интернализации бактерий - 16,7% популяции клеток НСТ-116 способны флюоресцировать в канале FITC по сравнению с контрольной группой. Этот результат указывает на то, что полученных штамм способен переносить шаттл-векторы в клетки НСТ-116.

Отинов Г.Д. (автор)  
Дип Н.Г.  
Ал-Аббас М.  
Кошель Е.И.

Подпись  
Подпись  
Подпись  
Подпись