

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

*Институт фундаментальной медицины и биологии
Кафедра микробиологии*

Направление: 06.03.01 – Биология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

**СОЗДАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ КОНСТРУКЦИИ ДЛЯ
ЭКСПРЕССИИ ГЕНА БИНАЗЫ В КЛЕТКАХ ЭУКАРИОТ**

Студент 4 курса
Группы 01-601


«__» _____ 2020 г.



(В.А. Иконникова)

Научный руководитель
к.б.н., асс.

«__» _____ 2020 г.



(Ю.В. Сурченко)

Заведующий кафедрой
д.б.н., профессор

«__» _____ 2020 г.



(О.Н. Ильинская)

Казань-2020

РЕФЕРАТ

Вопрос поиска альтернативных средств терапии онкологических заболеваний сейчас как нельзя остро стоит перед исследователями. Сегодня основой для разработки современных противоопухолевых средств является создание систем их адресной доставки, и основная задача – определить терапию, селективную для опухолевых с ограниченной токсичностью для нормальных клеток организма. Таким подходом, обладающим потенциалом для достижения гораздо более высокого уровня специфичности действия, чем это достигается с помощью традиционной лекарственной терапии, является генная терапия рака, когда генетический материал с помощью специальных вирусных или не вирусных терапевтических генетических конструкций вводится в клетки организма [Lundstrom, 2017].

Благодаря селективной цитотоксичности и низкой иммуногенности большим потенциалом в терапии рака обладают некоторые рибонуклеазы (РНКазы) – ферменты, чьей мишенью является РНК. Разрушая РНК, они блокируют способность раковой клетки к пролиферации и в конечном счете индуцируют её апоптоз. Однако многочисленные исследования показывают, что способность рибонуклеаз разрушать РНК не является единственной детерминантой в проявлении их противоопухолевой активности [Ilinskaya *et al.*, 2004]. Большой вклад вносят также положительный заряд белка, способность к олигомеризации, стабильность, устойчивость к действию ингибиторов, а также определенное действие продуктов каталитического расщепления РНК [Mitkevich *et al.*, 2014; Mitkevich *et al.*, 2013; Matousek *et al.*, 2004; Kim *et al.*, 2004; Сокуренок с соавт., 2014].

Среди микробных РНКаз в качестве наиболее изученного и перспективного противоопухолевого агента можно выделить РНКазу *Bacillus pumilis* – биназу. Установлено, что она способна избирательно блокировать рост опухолевых клеток, экспрессирующих онкогены *ras*, *kit*, AML/ETO и FLT3 [Mitkevich *et al.*, 2011; Mitkevich *et al.*, 2013; Mitkevich *et al.*, 2014]. Также показано, что биназа обладает низкой иммуногенностью, не вызывая

T-клеточный иммунный ответ [Зеленихин с соавт., 2006]. Дополнительным преимуществом биназы, как и других микробных РНКаз, является ее нечувствительность к блокирующему действию цитозольного ингибитора РНКаз млекопитающих [Sevcik *et al.*, 2002; Cho, Joshi, 1989].

Целью нашей работы стало создание генетической конструкции для экспрессии гена неактивной биназы в клетках эукариот.

В соответствии с поставленной целью в работе решались следующие задачи:

- 1) Создать генетическую конструкцию для экспрессии гена неактивной биназы на основе вектора pCS2+;
- 2) Трансфицировать опухолевые клетки полученной конструкцией;
- 3) Детектировать возможное влияние биназы без каталитической активности в составе конструкции pCS2+H101E на рост линии трансфицированных опухолевых клеток аденокарциномы легких A549.

ВЫВОДЫ

- 1) Была создана генетическая конструкция на основе вектора pCS2+, несущая ген каталитически неактивной биназы и способная экспрессироваться в клетках млекопитающих.
- 2) Была проведена трансфекция линии опухолевых клеток A549 созданной конструкцией, а также получены клеточные лизаты для дальнейшей детекции биназы без каталитической активности.
- 3) Установлено, что биназа без каталитической активности в составе конструкции pCS2+H101E не влияет на рост линии трансфицированных опухолевых клеток.