

Суицидная генная терапия миомы матки с помощью доставки комплексов гена тимидинкиназы вируса герпеса с пептидными носителями, модифицированными лигандом к интегринам $\alpha v \beta 3$.

Научный руководитель – Киселев Антон Вячеславович

Штыкалова С.В.¹, Киселев А.В.², Егорова А.А.², Маретина М.А.¹

1 - Санкт-Петербургский государственный университет, Биологический факультет, Санкт-Петербург, Россия; 2 - Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия

Миома матки (ММ) является наиболее распространенной доброкачественной опухолью женского репродуктивного тракта. Локализация опухолей и их доступность различным эндоскопическим методам делают заболевание идеальной мишенью для суицидной генной терапии с использованием гена тимидинкиназы вируса герпеса (HSV1-ТК). Важным условием для успешного развития генной терапии является разработка эффективных систем доставки терапевтических генетических конструкций. Нами были разработаны пептидные носители, модифицированные лигандом к интегринам $\alpha v \beta 3$ для доставки плазмидной ДНК в клетки, экспрессирующие $\alpha v \beta 3$, включая первичную культуру клеток ММ.

Были синтезированы аргинин-богатые пептидные носители, модифицированные циклическим лигандом iRGD, и сформированы комплексы с плазмидой, несущей ген HSV1-ТК. Изучены физико-химические свойства ДНК-комплексов. Специфичность проникновения в клетки и доставка ДНК была продемонстрирована с помощью экспериментов по трансфекции комплексами ДНК/пептидный носитель, модифицированный циклическим лигандом iRGD, проведенных на клетках с разным поверхностным содержанием интегринов $\alpha v \beta 3$ (PANC-1, HeLa, HEK293). Суицидная генная терапия плазмидой с геном HSV1-ТК и последующее лечение ганцикловиром проводились на клетках панкреатической карциномы человека PANC-1 и первичных клетках ММ, полученных из миоматозных узлов.

Поверхностное содержание интегринов $\alpha v \beta 3$ анализировали с помощью проточной цитометрии на клетках PANC-1, HeLa, HEK293 и клетках первичной ММ и оно составило 35, 18, 3 и 73% соответственно. Специфичность проникновения была продемонстрирована при изучении транспорта ДНК, меченой YOYO-1, в клетки с разным содержанием $\alpha v \beta 3$ на поверхности. Была обнаружена зависимость между эффективностью проникновения ДНК и уровнем содержания $\alpha v \beta 3$ в клетках. Далее было показано, что добавление лиганда c(RGDfK) при соревновательной трансфекции блокирует проникновение ДНК в составе лиганд-конъюгированных комплексов. Эксперименты по токсичности Alamar Blue и Тгурап blue на клетках PANC-1 и первичных клетках ММ показали снижение пролиферативной активности среди клеток, трансфецированных комплексами с геном HSV1-ТК, по сравнению с контрольными клетками, трансфецированными плазмидой с геном LacZ. Достоверные различия были обнаружены при сравнении уровня апоптоза у трансфецированных плазмидой HSV1-ТК и контрольных клеток культуры PANC-1.

Таким образом, исследованные пептидные носители продемонстрировали высокую специфичность и эффективность трансфекции клеток ММ с последующей успешной суицидной генной терапией, что делает их перспективными для разработки генной терапии ММ.