

более устойчивой оказалась линия растений с наиболее высоким уровнем экспрессии трансгена.

СОЗДАНИЕ ЛЕНТИВИРУСНОГО ВЕКТОРА, НЕСУЩЕГО ГЕН ИНСУЛИНА ЧЕЛОВЕКА, ДЛЯ ТРАНСДУКЦИИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Т.В. Романовская, В.В. Гринев

*Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь
romanovskaya.t@mail.ru*

Сахарный диабет – заболевание, связанное с нарушением регуляции метаболизма глюкозы в организме, является актуальной проблемой нашего времени, требующей поиска эффективных и безопасных терапевтических подходов. Одним из перспективных подходов является использование генетически модифицированных стволовых клеток.

Целью нашей работы является получение трансдуцирующего лентивирусного вектора, предназначенного для получения инсулин-продуцирующих клеток из мезенхимальных стволовых клеток человека (МСК). За основу для получения целевого вектора была взята плаزمиды рHR-SINcPPT-SIEW, содержащая все необходимые генетические элементы, за исключением последовательности, кодирующей ген инсулина.

Формирование зрелого инсулина предполагает частичный протеолиз белка-предшественника с участием тканеспецифических протеаз, экспрессируемых клетками островков поджелудочной железы. Согласно результатам нашего исследования, экспрессия этих протеаз отсутствует или слабо выражена в МСК. Вероятно, наработка зрелого инсулина в этих клетках при использовании нативной формы гена инсулина будет идти с низкой эффективностью. Для решения этой проблемы используется два подхода. Первый предполагает замещение специфических сайтов протеолиза на сайты, распознаваемые протеазой фурином, экспрессируемой в различных тканях, включая МСК [1]. Второй предполагает использование одноцепочечного инсулина, который проявляет инсулиноподобную активность в непротессированной форме, и, следовательно, не требовательного к наличию каких-либо протеаз [2]. Нативная и модифицированные формы гена инсулина были получены нами с использованием ряда подходов, основанных на ПЦР, клонированы и секвенированы в составе промежуточного вектора и переклонированы в составе целевого лентивирусного трансдуцирующего вектора.

1. Thule P.M., Liu J., Phillips L.S. Glucose regulated production of human insulin in rat hepatocytes. // Gene Therapy. – 2000. – V. 7. – P. 205–214.

2. Rajpal G., Liu M., Zhang Y., Arvan P. Single-Chain Insulins as Receptor Agonists.

ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИОФАГА

ФЕа2809 *ERWINIA AMYLOVORA*

О.В. Садовская, А.Л. Лагоненко, А.Н. Евтушенков

Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь
lagonenkoal@mail.ru

На первом этапе работы нами был осуществлен поиск бактериофагов, способных лизировать клетки *Erwinia amylovora*. Исследовались образцы почвы, листья, плоды и побеги яблони и груши отобранные в разных областях Беларуси. Лишь в одном случае, с поверхности листьев яблони, отобранных в Смолевичском районе Минской области, удалось изолировать бактериофаг (здесь и далее ФЕа2809), образующий негативные колонии на газоне индикаторного штамма *Erwinia amylovora* 1/79. ФЕа2809 формирует круглые прозрачные негативные колонии различного размера диаметром 0,5 – 2 мм с мутным, нечетким краем. Для определения спектра литического действия выделенный фаг был проверен на способность репродуцироваться в клетках других штаммов *Erwinia amylovora* и клетках других видов бактерий. Для этой цели были использованы следующие культуры бактерий: *Erwinia amylovora* – 15 штаммов, *Erwinia carotovora* – 2, *Erwinia atroseptica* – 3, *Erwinia chrysanthemi* – 1, *Pseudomonas corrugata* – 1, *Pseudomonas syringae* pv. *lacrymans* – 1; *Pseudomonas fluorescens* – 1, *E. coli* – 2, *Erwinia herbicola* – 29. ФЕа2809 проявлял свою литическую активность только по отношению к клеткам *Erwinia amylovora* и *Erwinia herbicola*, однако и в пределах этих двух видов были выявлены устойчивые штаммы. По данным электронной микроскопии ФЕа2809 – бактериофаг с сократимым отростком (~ 130 нм) и икосаэдрической головкой (~ 83 нм), относящийся к семейству *Myoviridae*. ДНК изучаемого бактериофага разрезалась лишь четырьмя рестриктазами – *HindIII*, *DraI*, *TasI*, *VspI* и не содержала сайтов для *EcoRI*, *BglII*, *BamHI*, *BstEII*, *XbaI*, *PvuII*, *PstI*, *NdeI*, *AsuII*, *NcoI*, *ClaI*, *SmaI*, *XhoI*, *NotI*, *Eco130I*. Единственный описанный в литературе бактериофаг *Erwinia amylovora* со сходным спектром литического действия (ФЕа21-4) значительно меньше по размерам, чем ФЕа2809 и отличается от него по данным рестрикционного анализа и ДСН-ПААГ электрофореза белков капсида.