

ПОЛУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОЙ ФОРМЫ ДНК МЕТОДОМ ЛИОФИЛИЗАЦИИ

Ельцов А.А., Гоголевский А.С., Мясников В.А.

*ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» МО РФ, 195043, Санкт-Петербург, К-43,
e-mail: gniiivm_2@mil.ru*

Генная терапия с использованием систем доставки на основе плазмидных конструкций является актуальной стратегией по разработке новых лекарственных препаратов пролонгированного действия. В качестве наиболее перспективных веществ для включения в состав гена рассматривается модифицированный инсулиноподобный фактор роста IGF-LR 3.

Для экспрессии белков в клетках *E. coli* использовали вектор pcDNA3.1+. Назначение конструкции pcDNA3.1+_IGF-LR 3 – временная экспрессия IGF-LR 3. Маркерный признак: устойчивость к ампициллину.

С помощью ПЦР-амплификации была получена последовательность ДНК длиной 318 п. н. и встроена в вектор pcDNA3.1. Далее клетки *E. Coli* штамма TOP10F были трансформированы плазмидной ДНК с помощью метода электропорации. Контрольный посев показал успешность трансформации клеток с эффективностью 250 трансформантов на мкг ДНК. После выделения ДНК получали ее комплекс с полиэтиленимином массой 10 кДа. Полученный комплекс лиофильно высушивали в течение 8 ч при глубине вакуума 120 мторр. Для оценки изменения биологической активности лиофилизат регидратировали и определяли эффективность трансформации. Проверку сохранения биологической активности при длительном хранении проводили с помощью метода «ускоренного хранения» (таблица 1).

Таблица 1. Влияние долговременного хранения на полученный препарат плазмидной ДНК

Срок хранения	Эффективность трансформации (трансформантов на мкг ДНК)
Контроль	$2,10 \times 10^3$
189 суток	$2,08 \times 10^3$
378 суток	$2,03 \times 10^3$
756 суток	$2,04 \times 10^3$
1512 суток	$2,00 \times 10^3$
2268 суток	$1,12 \times 10^3$

В результате после лиофилизации удалось получить препарат плазмидной ДНК IGF-LR 3, способный сохранять биологические свойства до 3 лет. При более длительном хранении происходило значительное снижение эффективности трансформации.