

## СТВОРЕННЯ ГЕНЕТИЧНОЇ КОНСТРУКЦІЇ ДЛЯ ПРОТЕОСОМНОЇ ДЕГРАДАЦІЇ ОНКОБІЛКІВ

**П.І. КУТЬКО<sup>1\*</sup>, О.М. КЛИМОВА<sup>2</sup>, О.М. ОГУРЦОВ<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> магістрант кафедри біотехнології, біофізики та аналітичної хімії, НТУ «ХПІ», Харків, УКРАЇНА

<sup>2</sup> професор кафедри біотехнології, біофізики та аналітичної хімії, докт. біол. наук, НТУ «ХПІ», Харків, УКРАЇНА

<sup>3</sup> завідувач кафедри біотехнології, біофізики та аналітичної хімії, докт. фіз.-мат. наук, проф., НТУ «ХПІ», Харків, УКРАЇНА

\*email: [polinakutko@yandex.ua](mailto:polinakutko@yandex.ua)

Сьогодні ретельно досліджено базові механізми функціонування, проліферації та виживання ракових клітин. Після змін у генетичному коді починають експресуватися білки зі зміненою амінокислотою послідовністю або конформацією. Якщо такі білки спричиняють надвисоку проліферативну активність клітини за будь-яких умов, то називаються онкобілками. В якості онкобілку-мішені для дослідження було обрано Bcl-2, фермент протеосомної деградації – Каспаза-3. Відомо, що цей фермент розщеплює Bcl-2 у 100-фрагменті, що перетворює його з антиапоптозного білку у проапоптозний. Створення генетичної конструкції, що містить ген Caspase-3 є важливим для фундаментальних досліджень функціонування ракових клітин та індукування у таких лініях апоптозу за мітохондріальним шляхом [1].

Було проведено дослідження особливостей функціонування онкобілку, можливих шляхів його інгибування за допомогою штучно синтезованих хімічних агентів та протеосомної деградації онкобілку за рахунок додавання до сироватки крові людини субстрату, насиченого рекомбінантною Каспазою-3. Для отримання ферменту Caspase-3 було необхідно створити генетичний вектор pBR-CP3 на основі плазмідирBR-322 та гену Caspase-3 людини [2]. Генетична конструкція pBR-CP3 була трансформована у штам *Bacillus Subtilis*. Після відбору трансформованих штамів та їх культивуванні було отримано рекомбінантну Caspase-3 в якості екзометаболіту мікроорганізму.

Для підтвердження дієздатності Caspase-3, як індуктора протеосомної деградації онкобілку Bcl-2, було досліджено культуру клітин лімфоцитів під впливом субстрату, насиченого рекомбінантною Каспазою-3 людини. Дослідження показало, що у 80 % клітин лімфоцитів було індуковано апоптоз з утворенням апоптичних тілець.

### Список літератури:

1. Vogler, M. Bcl-2 inhibitors: small molecules with a [big impact on cancer therapy](#) / M. Vogler, D. Dinsdale, M.J.S. Dyer, G.M. Cohen // Cell Death and Differentiation. – 2009. – V. 16, № 3. – P. 360–367.

2. Кутько, П.І. Створення генетичної конструкції для протеосомної деградації онкобілків: дипл. робота / П.І. Кутько. – Харків, 2016. – 99 с.