

СУЧАСНІ ТЕНДЕНЦІЇ У СТВОРЕННІ ПРОБІОТИЧНИХ ПРЕПАРАТІВ НА ОСНОВІ РЕКОМБІНАНТНИХ МІКРООРГАНІЗМІВ

Доля Є.С., Заєць М.О.

КПІ ім. Ігоря Сікорського,

dolia.yevheniia@gmail.com, mashazaets00@gmail.com

Через широке застосування антибіотиків як терапевтичних засобів та зловживання ними спостерігається підвищення антибіотикорезистентності бактерій, порушення балансу нормальної мікрофлори та наявність залишків ліків у харчових продуктах [1]. Це призвело до розширення наукових досліджень по створенню нових високоєфективних пробіотиків.

Попередні дослідження продемонстрували, що при вживанні як частини щоденного раціону пробіотиків, вони можуть підтримувати імунну систему в активному стані та запобігати різним кишковим розладам [2,3,4].

Для розширення та покращення сприятливого впливу пробіотичних штамів, протягом останніх десятиліть проводилися дослідження з використанням методів генної інженерії. Рекомбінантні пробіотики можна використовувати для доставки ліків або вакцин, націлювання на специфічні патогени або токсини, посилення імунної відповіді.

Таким чином були створені рекомбінантні пробіотики для доставки через слизову оболонку терапевтичних та/або профілактичних молекул, що містять ДНК, пептиди, одноланцюгові варіабельні фрагменти, цитокіни, ферменти та алергени, що призвело до концепції «біопрепарату» для профілактики та лікування різних захворювань [5,6]. Більшість досліджень з використанням генетичних маніпуляцій проводиться з видами, які належать до групи молочно-кислих бактерій (МКБ), наприклад мікроорганізми родів *Lactococcus* і *Lactobacillus*. Дослідження передбачали використання видів цих родів у двох різних напрямках: перший - як продуцентів гетерологічного білка, а другий - як засобів доставки ДНК-вакцин [7].

Існує кілька способів змусити МКБ виробляти гетерологічні білки, і найбільш використовуваною формою є введення плазмиди в клітину бактерії. Вперше на основі даного методу система виробництва гетерологічного білка була розроблена для *L.lactis*. В плазмиди включали індуковані і конститутивні промотори, які забезпечують ефективну експресію антигену. Переважна більшість векторів експресії містять індуковані промотори, які дозволяють контролювати експресію білка, захищаючи від агрегації та деградації білка в цитоплазмі бактерії.

Існує кілька систем регулювання, що дозволяють продукувати різні молекули, що представляють інтерес, включаючи антигени патогенів [8,9]. Найбільш часто використовувані системи регулювання в МКБ: експресія генів, керована нізином (NICE), система експресії, індукована ксилозою (XIES), система контрольованої експресії, викликана стресом (SICE).

На відміну від виробництва гетерологічного білка, на платформі ДНК-вакцини бактерії діють лише як засіб доставки для профілактичних та терапевтичних цілей [8].

Були розроблені нові вектори для наближення до ДНК-вакцини з використанням МКБ як живих засобів доставки. Ці вектори мають ряд загальних характеристик, таких, як наявність еукаріотичного промотору, який забезпечує експресію білка еукаріотичними клітинами; прокаріотичну область, яка має селективний маркер (зазвичай стійкість до антибіотиків); сайт множинного клонування, куди буде вставлена відкрита рамка зчитування; і оріджин реплікації прокаріотів, який гарантує, що плазмід буде реплікуватись лише в прокаріотичних клітинах [8-10].

Рекомбінантні пробіотики можуть використовуватися в різних сферах, однак, існує потреба в запобіганні надмірного поширення модифікованого організму. Крім того, важливо враховувати їх біологічну безпеку та їх здатність викликати алергію через тривале вживання. Хоча існує кілька перешкод у розробці безпечних та ефективних біоінженерних пробіотиків, прогрес у технологіях та подальше вдосконалення методів продовжуватимуть надавати нові біотерапевтичні засоби для лікування та профілактики кишкових захворювань.

Список використаної літератури:

1. Fayol-Messaoudi D, Berger CN, Coconnier-Polter MH, Liévin-Le Moal V, Servin AL. pH-, lactic acid-, and non-lactic acid-dependent activities of probiotic lactobacilli. *Appl Environ Microbiol.* 2005;71:6008–6013.
2. de LeBlanc AD, Castillo NA, Perdigon G. Anti-infective mechanisms induced by a probiotic *Lactobacillus* strain. *Int J Food Microbiol.* 2010;138:223–231.
3. Valdez JC, Rachid M, Gobbato N, Perdigon G. Lactic acid bacteria induce apoptosis inhibition in *Salmonella typhimurium* infected macrophages. *Food Agric Immunol.* 2001;13:189–197
4. Cano PG, Perdigon G. Probiotics induce resistance to enteropathogens in a re-nourished mouse model. *J Dairy Res.* 2003;70(4):433–440.
5. D’Silva I. Recombinant technology and probiotics. *International Journal of Engineering & Technology.* 2011;3(4):288-293
6. Gupta C, Prakash D, Gupta S. Genetically engineered probiotics. *Afr J Basic Appl Sci.* 2014;6(3):57–64.
7. Wells JM, Mercenier A. Mucosal delivery of therapeutic and prophylactic molecules using lactic acid bacteria. *Nature Reviews. Microbiology.* 2008;6(5):349-362
8. Cano-Garrido O, Seras-Franzoso J, Garcia-Fruitós E. Lactic acid bacteria: Reviewing the potential of a promising delivery live vector for biomedical purposes. *Microbial Cell Factories.* 2015;14(137):1-12
9. Mercenier A, Müller-Alouf H, Grangette C. Lactic acid bacteria as live vaccines. *Current Issues in Molecular Biology.* 2000;2(1):17-25.
10. Cano-Garrido O, Seras-Franzoso J, Garcia-Fruitós E. Lactic acid bacteria: Reviewing the potential of a promising delivery live vector for biomedical purposes. *Microbial Cell Factories.* 2015;14(137):1-12