

Rekombinowane wektory AAV w termowrażliwej transdukcji komórek nowotworowych

Rekombinowane wirusy związane z adenowirusami (rAAV) wykorzystywane są z dużym sukcesem jako wektory terapii genowej. W przypadku chorób nowotworowych wektory rAAV charakteryzują się wysokim potencjałem jako nośniki genów. Obecnie jednym z wyzwań w zakresie stosowania nośników genów jest potęgowanie wydajności transferu genów. Uwagę zwracają badania wskazujące na możliwość zwiększenia transdukcji rAAV do komórek na drodze hipertermii. Podwyższona temperatura może potęgować skuteczność terapii genowej poprzez różne mechanizmy. Istotną rolę w stymulacji transdukcji rAAV do komórek odgrywają białka szoku termicznego (HSP).

Celem pracy była ocena wydajności transdukcji wektorem rAAV/DJ w warunkach hipertermii komórek raka jajnika i raka jelita grubego. W przebiegu badań zanalizowano zmiany w ekspresji genów kodujących białka zaangażowane w transmisję rAAV i HSP po ekspozycji na hipertermię oraz oceniono stabilność wektora rAAV/DJ w różnych warunkach fizykochemicznych. W pracy scharakteryzowano recepturowe formułacje genowe o potencjale zastosowania w terapii genowej. Poszukiwanie nowych formułacji dla genoterapii pozostaje w centrum zainteresowania laboratoriów inżynierii genetycznej. W opracowywaniu nowych formułacji dla preparatów terapii genowej niezbędnych narzędzi dostarcza receptura apteczna i Farmakopea Polska. Wskazuje się na skuteczność doustnych preparatów genowych, donosowych postaci farmaceutycznych oraz półstałych postaci do stosowania zewnętrznego.

Hipertermia stymuluje wnikanie wektora rAAV/DJ do komórek raka jajnika i jelita grubego. Badane linie komórkowe transdukowały się z różną wydajnością po ekspozycji na hipertermię. Optymalne warunki hipertermii, pozwalające na zwiększenie wydajności transdukcji to 1 godzina w 43°C. Otrzymane wyniki ujawniły różnice w sygnaturach badanych genów (kodujących HSP i receptory dla AAV) po ekspozycji na hipertermię, które wiązały się ze zmianami w wydajności wnikania wektorów rAAV do komórek. Zaobserwowano, że wzrost ekspresji genów kodujących HSPB1 (HSP27), HSPA2 i HSPA5 (HSP70) wiąże się

ze wzrostem wydajności transdukcji w hipertermii komórek raka jajnika i jelita grubego. Ekspozycja komórek na hipertermię spowodowała wzrost ekspresji genów kodujących receptory dla AAV (AAVR, HSPG1 i HSPG2). Ocena stabilności rAAV/DJ dostarczyła istotnych informacji dotyczących przechowywania wektora. Optymalna temperatura przechowywania rAAV to -80°C , bezpieczne jest krótkie przetrzymywanie w temperaturze pokojowej.

Niniejsza praca rozszerza wiedzę dotyczącą wektorów rAAV i dostarcza odpowiednich informacji, które mogą być pomocne przy projektowaniu protokołów klinicznych łączących hipertermię z terapią genową dla pacjentów z nowotworami jajnika i jelita grubego.