

**СЕЛЕКЦИЯ ИСКУССТВЕННЫХ АНТИТЕЛ (АПТАМЕРОВ)  
ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БАКТЕРИЙ *SALMONELLA ENTERITIDIS* И  
*SALMONELLA TYPHIMURIUM***

**Замай О.С.**

**Научный руководитель, к.б.н. Титова Н.М.**

В настоящее время в Российской Федерации наблюдается неблагоприятная ситуация по острым кишечным инфекциям, что является отражением мировых тенденций. Ежегодно до 30% населения промышленно развитых стран страдает болезнями пищевого происхождения.

Применяемые классические бактериологические методы требуют длительного культивирования и соблюдения норм безопасности. Себестоимость таких исследований включает в себя обслуживание квалифицированным персоналом специально оборудованной лаборатории, необходимые реагенты.

Преодолеть основные недостатки традиционных методов диагностики позволяют биоинженерные технологии. В частности, в последнее время в мировой науке появились новые перспективные технологии на основе технологии SELEX, дающие возможность получать высокоэффективные средства диагностики и терапии на основе высокоспецифичных аптамеров (искусственных антител) к любым биологическим мишеням. Аптамеры, могут стать основой для разработки экспресс тест-систем для идентификации сальмонелл, анализа их патогенности и лекарственной устойчивости.

В ходе работы был произведен сбор штаммов сальмонелл с разной патогенностью и лекарственной устойчивостью и селекция к ним аптамеров.

Селекцию аптамеров к сальмонеллам осуществляли с использованием технологии SELEX путем чередования позитивной и негативной селекции. SELEX – процесс скрининга очень большой библиотеки олигонуклеотидов со случайными последовательностями повторяющихся циклов селекции и амплификации. Для выбора аптамеров использовали бактерии *Salmonella Enteritidis* и *Salmonella Typhimurium*. В качестве негативной мишени использовали *E.coli*, *Stafilococcus Aureus* и др.

Селекция аптамеров проходила на протяжении нескольких раундов, в которых осуществляли отбор последовательностей, связывающихся с молекулой-мишенью. Каждый раунд включал 5 основных стадий: 1) библиотеку олигонуклеотидов инкубировали с биологической мишенью; 2) комплексы олигонуклеотидов с мишенью отделяли от несвязавшихся олигонуклеотидов; 3) связавшиеся аптамеры отделяли от биологической мишени; 4) полученные аптамеры инкубировали с негативной мишенью; 5) несвязавшиеся с негативной мишенью аптамеры отделяли и амплифицировали. В результате отбора происходило постепенное обогащение библиотеки последовательностями, обладающими повышенным сродством к мишени.

Исследование аффинности аптамеров к *Salmonella Enteritidis* и *Salmonella Typhimurium* проводили на проточном цитофлуориметре Beckman Coulter Cytomics FC 500. Долю бактерий, связанных с аптамерами, определяли по флуоресценции аптамеров в зеленой области спектра на проточном цитофлуориметре.

Анализ данных осуществляли с помощью программы CXP Cytometer.

Максимальная специфичность связывания аптамеров с *Salmonella Enteritidis* и *Salmonella Typhimurium* наблюдалась на седьмом раунде селекции (Рис.1-2)

ted] Salmonella SE\_7 00001881 2011-06-07 1212 258.LMD : FS Lin:FL11

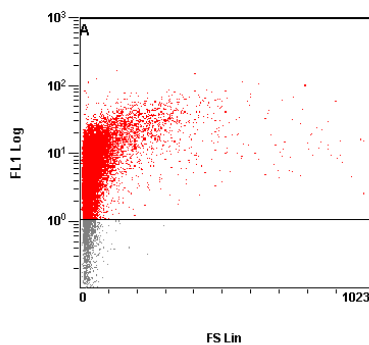
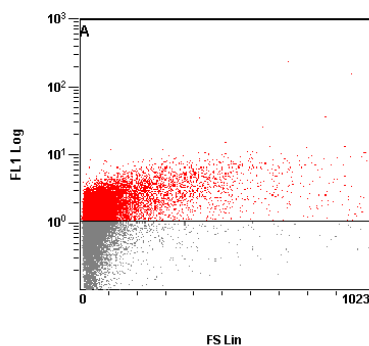


Рис. 1. Связывание аптамеров 7 раунда селекции с *Salmonella Enteritidis*.

ted] Salmonella ST\_7 00001889 2011-06-07 1220 266.LMD : FS Lin:FL11



Б

Рис. 2. Связывание аптамеров 7 раунда селекции с *Salmonella Typhimurium*.

Таким образом, в ходе работы были получены высокоспецифичные искусственные антитела к *Salmonella Enteritidis* и *Salmonella Typhimurium*, на основе которых в дальнейшем будет проводиться разработка диагностических экспресс тест-систем.