

УДК 616.1-055.5

© Г.Г. Кривцов, Р.И. Жданов

АДРЕСНАЯ ДОСТАВКА ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ГЕНОВ В ГЕНОТЕРАПИИ С ПОМОЩЬЮ УГЛЕВОД-СОДЕРЖАЩИХ ВЕКТОРОВ

Г.Г. КРИВЦОВ^{1,2} Р.И. ЖДАНОВ^{2,3}

¹ ВНИИ с\х Биотехнологии, Москва,

² Институт Вирусных Препаратов РАМН, Москва,

³ НИИ биомедицинской химии РАМН, Москва 119832

В статье рассмотрены различные аспекты использования специфических взаимодействий с участием углеводных и олигосахаридных лигандов для повышения эффективности переноса генов в клетки эукариот, в том числе *in vivo*. Приведены данные по адресованной доставке генов с применением таких углевод-содержащих лигандов, как асиалогликопротеины и производные галактозы. Обсуждены также результаты использования гликозидных лигандов, содержащих лактозу, маннозу, глюкозу, для рецептор-опосредованного переноса генов. Особое внимание уделено использованию хитозанов для переноса функциональных генов в эукариотические клетки, которое, по мнению авторов, представляет собой случай рецептор-опосредованного переноса. Отмечена перспективность применения нео-олигосахаридных векторов, узнающих поверхностные лектины, для адресной доставки гена.

Ключевые слова: адресная доставка генов, рецептор-опосредованный перенос, углеводные лиганды, асиалогликопротеины, лектины, неоолигосахаридные векторы, гликолипиды, хитозаны,

Со времени первых работ по генетической (генной) терапии способ и системы доставки экзогенного генетического материала представляют собой ключевую проблему этой новейшей биомедицинской технологии [1-3]. По выражению Индера Вермы из Salk Institute (США) (с января 2000 г. он - редактор журнала Американского общества генной терапии "Molecular Therapy"): "В генной терапии есть три основных проблемы: это - доставка (генов), доставка и доставка". Хотя большинство протоколов генотерапии включают доставку терапевтических генов в клетки и ткани с помощью вирусных векторов [4-6], ряд очевидных недостатков вирусных векторов побуждал искать альтернативные, невирусные системы для доставки генов. Основные из этих причин рассмотрены

в работах [7, 8]. В качестве таких невирусных систем доставки чаще всего используются различные катионные липиды, поликатионы или гидрофобные поликатионы [9].

В настоящее время около 80 клинических протоколов генной терапии используют липофекцию для доставки терапевтических генов. Однако известные в настоящее время невирусные системы обладают низкой специфичностью и малой эффективностью, хотя и используются в ряде современных клинических протоколах генной терапии [10]. Предполагается, что будущие невирусные векторные системы для переноса генов в целях генотерапии будут сочетать как элементы вирусных векторов, так и невирусных систем [11]. Они должны, по-видимому, быть поликатионами (для конденсации ДНК), содержать гидрофобный фрагмент, придающий сродство к мембранам, и адресную (лигандную) группировку, которая могла бы обеспечить лиганд-рецепторные взаимодействия с клеткой. Адресная доставка генов в определенные органы, ткани или клетки-мишени является, поэтому, одной из важнейших проблем, от решения которой зависит успешное применение методов генной терапии. Для решения этой проблемы используют ряд биополимеров, таких как антитела к определенным антигенам на поверхности клеток-мишеней, белки, узнаваемые клеточными рецепторами, а также другие вещества, позволяющие использовать механизмы лиганд-опосредованного эндоцитоза.

Среди последних широкое распространение получили лиганды, содержащие олигосахариды, поскольку на поверхности многих животных клеток присутствуют лектины - белки-рецепторы, специфически связывающие их. Лектины были обнаружены в составе плазматических мембран многих нормальных и трансформированных клеток. Показано, в частности, непосредственное участие белков, специфически связывающих углеводы, в процессах эндоцитоза и в различных межклеточных взаимодействиях [12]. Представляется также весьма вероятным, что определенные лектины вовлечены в процесс метастазирования [13]. Экспрессия генов лектинов резко возрастает в трансформированных клетках [14]. Все это объясняет большой интерес, проявляемый многими исследователями к различным поли- и олигосахаридам, «узнаваемым» лектинами, находящимися на поверхности клеток. Главные усилия в уже опубликованных работах сосредоточены на поиске олигосахаридов, которые могут оказаться специфичными, а значит и наиболее эффективными «векторами» для переноса генов в определенные типы клеток, тканей или органов.

Асиалогликопротеины и галактоза как углеводные лиганды для адресной доставки генов.

Среди полисахаридных адресных лигандов наиболее часто используют так называемые «асиалогликопротеины» (АГП), которые получают из ряда гликопротеинов после их ферментативной или химической модификации, приводящей к удалению остатков сиаловой кислоты и появлению концевых галактозильных групп [15]. В клетках печени были обнаружены так называемые «асиалогликопротеиновые рецепторы», специфически связывающие белки, несущие концевые галактозильные группы [16, 17]. Начиная с работ Ву с сотрудниками [18, 19], многие исследователи использовали для трансфекции клеток печени комплексы ДНК-конъюгаты асиалогликопротеинов с различными

поликатионами [20-24]. Было показано, что лигандами для АГП рецепторов могут быть не только гликопротеины, но и другие полимеры с присоединенными концевыми или боковыми галактозильными группами. Вследствие этого такие полимеры, а также их комплексы с ДНК при контакте с клетками печени подвергаются эндоцитозу (известно, однако, что реальным лигандом для АГП рецептора печени является трехантенный 15-мерный олигосахарид). Так, используя комплексы ДНК/конъюгаты полилизина с трипептидом тирозил-глутамил-глутаматом, соединенным амидной связью с триплетом N-ацетилгалактозаминаминогексил гликозида, в качестве лиганда для АГП рецептора, удалось достигнуть эффективной трансфекции клеток печени мыши *in vitro* и *in vivo* [25]. Аналогичная работа была проведена с использованием в качестве лиганда конъюгата поли-L-лизина с "тирозинамид-трехантенным" олигосахаридом [26]. Комплексы ДНК с лактозилированным поли-L-лизином оказались эффективными при трансфекции функционального гена в клетки гепатомы человека (Нер G2) [27]. Успешная трансфекция клеток гепатомы была достигнута при использовании в качестве лиганда комплексов ДНК/поли-L-лизин, модифицированных монозамещенным полиэтиленгликолем, содержащим лактозу [28-30]. Эффективный перенос гибридных РНК/ДНК олигонуклеотидов в гепатоциты (печень) в рамках подхода корригирующей генотерапии - метода химеропластики - был осуществлен с помощью лактозилированного полиэтиленimina [31]. Направленный транспорт в гепатоциты может быть также осуществлен с помощью гликолипидных липосом [32]. Показано, в частности, что галактозилированные липосомы взаимодействуют со специфическим лектином.

Другие гликозидные лиганды для адресной доставки функциональных генов.

Маннозидные лиганды.

Помимо вышеописанных лигандов, широкое применение находят и другие гликозидные производные полилизина или полиэтиленimina. Известно, что макрофаги экспрессируют несколько типов лектинов, локализованных на клеточной поверхности и являющихся рецепторами для следующих лигандов: маннозо-фукозы, маннозо-6-фосфата, сиалоадгезина, глюкана, а также несколько форм лектинов, специфически связывающих галактозу. Поэтому неудивительно, что маннозилированный полилизин был использован для введения генетической конструкции в макрофагоподобные клетки, причем трансфекция в этом случае более эффективна, чем липофекция или использование ДЭАЭ-декстрана. Полиэтиленимин, модифицированный остатками маннозы (ман-ПЭИ), использовали также для успешной трансфекции дендроцитов человека, которые, как известно, имеют на своей поверхности большое количество маннозных рецепторов [33, 34]. В этих работах были использованы также тройные комплексы ДНК-ман-ПЭИ-аденовирус для увеличения эффективности трансфекции.

Прочие глюконилированные лиганды.

Полилизин, ковалентно модифицированный остатками глюкозы, использовали в качестве медиатора трансфекции клеток плазмидной ДНК. Такие конъюгаты нетоксичны для клеток и увеличивают эффективность трансфекции в десятки раз [35]. Подобный эффект наблюдается и в случае катионных липидов:

введение остатка глюкозы в катионный липид между его полярным и гидрофобным фрагментами (Рис. 1) привело к значительному увеличению эффективности трансфекции репортерного гена в трансформированные клетки с помощью липосом, содержащих этот гликокатионный липид, по сравнению с липосомами, приготовленными на основе исходного катионного липида (Рис. 2) [36]. Гликозилированные поликатионы применялись не только для трансфекции, но и для введения в клетки антисмысловых олигонуклеотидов. Так, фукозилированный полилизин был использован для введения фосфоротиоатных олигодезоксинуклеотидов, комплементарных определенной области гена, кодирующего синтез молекул, контролирующей адгезию клеток [37].

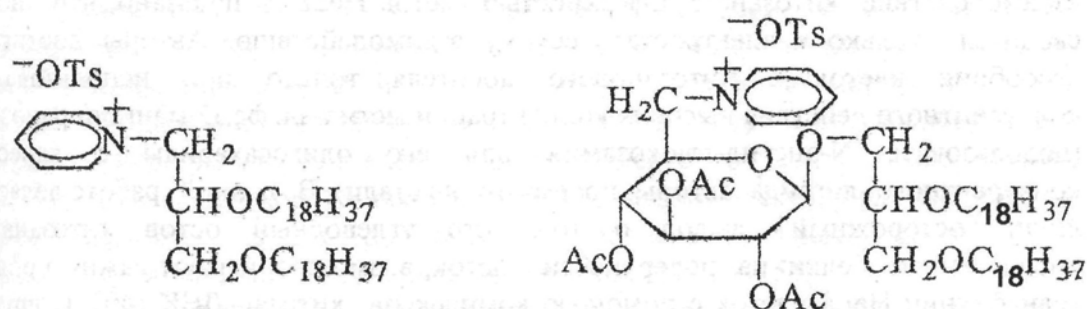


Рисунок 1.
Структура катионного и гликокатионного липидов.

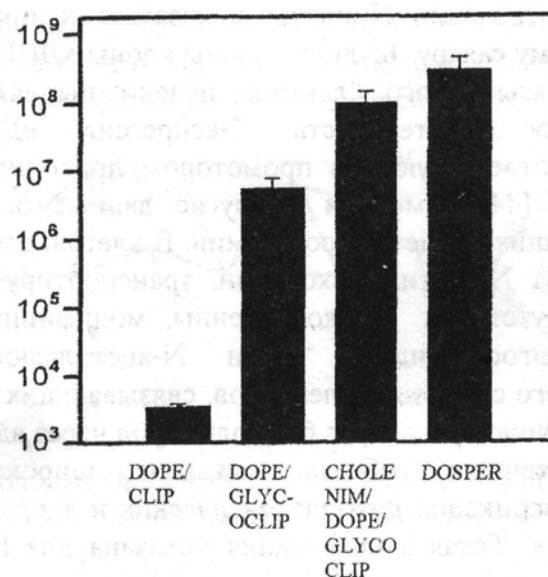


Рисунок 2.
Эффективность трансфекции с помощью липосом, содержащих гликокатионный липид, по сравнению с липосомами, содержащими катионные липиды и гидрофобные поликатионы.

Производные N-ацетилглюкозамина как лиганды для рецептор-опосредованного переноса генов.

Представляется вероятным, что перспективным (хотя пока еще недостаточно изученным и используемым) лигандом может оказаться сам N-

ацетилглюкозамин или олиго- и полисахариды его содержащие. Нам не удалось обнаружить публикаций, где бы этот лиганд использовали "сознательно". Однако в ряде работ показано, что хитозан как поликатион может способствовать эффективной трансфекции эукариотических клеток плазмидной ДНК. Данные, полученные в работах [38-43], явно свидетельствуют, что трансфекция идет по механизму лиганд-опосредованного эндоцитоза. Если принять к сведению тот факт, что все имеющиеся в настоящее время коммерческие препараты хитозана содержат от 5 до 20% N-ацетилглюкозамина, то следует признать большую вероятность того, что "крипическим" лигандом в данных экспериментах был этот N-ацетилированный аминоксахар.

Так, в работе [39] в модельных экспериментах было исследовано взаимодействие хитозана с поверхностью клеток HeLa и показано, что оно не сводится только к электростатическому взаимодействию. Авторы достигали десорбции клеток с хитозанового носителя только при использовании конкурентного действия высоких концентраций метил-альфа-D-маннопиранозида (использовать N-ацетил-глюкозамин или его олигосахариды в качестве конкурентного лиганда авторы почему-то не стали). В данной работе делается лишь "осторожный" вывод о том, что углеводный остов хитозана и определенные белки на поверхности клеток, возможно, играют важную роль в трансфекции HeLa клеток с помощью комплексов хитозан-ДНК [40]. С другой стороны, в ряде животных клеток экспериментально обнаружены белки, специфически связывающие N-ацетил-глюкозамин. Так, в печени птиц был найден белок, участвующий в рецептор-опосредованном эндоцитозе гликопротеинов, содержащих N-ацетилглюкозамин и проявляющий высокую специфичность к этому сахару. Были получены клоны кДНК, кодирующей синтез этого белка (так называемого "лектина печени цыплят"), установлена его аминокислотная последовательность. Экспрессия кДНК, введенной в фибробласты под соответствующим промотором, приводила к синтезу данного рецепторного белка [44]. Имеются и другие данные о животных лектинах, специфически узнающих N-ацетилглюкозамин. В клеточном ядре имеются белки, которые акцептируют N-ацетилглюкозамин, транспортируемый в ядро [45]. В ядерных порах присутствуют гликопротеины, модифицированные по атомам кислорода их олигосахаридной части N-ацетилглюкозамином, причем блокировка последнего с помощью лектинов, связывающих N-ацетилглюкозамин приводит к прекращению транспорта биополимеров через ядерные поры [46,47].

В многочисленных работах выявлена широко распространенная ферментативная модификация цитоплазматических и ядерных белков остатками N-ацетилглюкозамина. Такая модификация показана для РНК-полимеразы-П и ассоциированных с ней транскрипционных факторов, белков цитоскелета, нуклеопоринов, вирусных белков, онкогенов, белков теплового шока и др. Модификация приводит к присоединению одиночных остатков N-ацетилглюкозамина к гидроксильным группам серина и треонина за счет O-гликозидной связи [48]. Высказано предположение, что эта ферментативная реакция может выступать как "антагонист" фосфорилирования тех же самых аминокислотных остатков, осуществляемого протеин-киназами, и таким образом участвовать во многих ключевых процессах, протекающих в клетке. Обзор многочисленных работ, посвященных вышеописанной ферментативной

модификации, содержится в работе Сноу и Харта [48]. Исследования, проведенные группой французских ученых, показали, что олигосахариды N-ацетилглюкозамина вероятно являются сигналом для транспорта из цитоплазмы в клеточное ядро белков, ковалентно модифицированных данными олигосахаридами, причем процесс транспорта является зависимым от температуры (он не протекает при 0°) и требует для своего осуществления сопутствующего гидролиза АТФ [49-51].

На основании вышеизложенного можно утверждать, что хитозан и его олигосахариды хорошо подходят на роль углеводных векторов для переноса экзогенной ДНК в цитоплазму и далее в ядро животной клетки, поскольку хитозан представляет собой природный поликатионный полисахарид легко образующий ионные комплексы с ДНК (при этом происходит компактизация ДНК). Это утверждение верно еще и потому, что N-ацетилглюкозаминовые остатки в этом аминополисахариде могут служить в качестве лигандов как для специфического эндоцитоза, так и для последующего специфического транспорта в клеточное ядро. Следует отметить также низкую цитотоксичность хитозана (в особенности его низкомолекулярных форм) [52], причем имеются данные об обратной зависимости между степенью N-ацетилирования хитозана и степенью его цитотоксичности [53].

Весьма интересным представляется тот факт, что препараты хитозана, первичные аминогруппы которого модифицированы во вторичные и третичные аминогруппы (Рис. 3), обнаруживают высокую активность в трансфекции культур трансформированных клеток, как монослойных, так и суспензионных [54]. Их активность была выше, чем активность Са-фосфатного преципитата, липосом и полиэтиленimina, причем очень хороший эффект был получен даже для клеток Jugcat, которые трудно трансфицируются любыми системами.

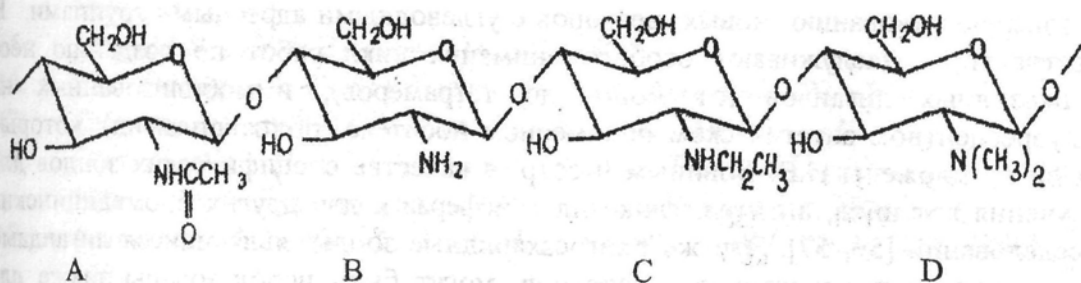


Рисунок 3.

Структурные компоненты хитина (А), хитозана (В) и модифицированного хитозана (D).

Весьма вероятно, что способность хитозана «адресовать в клеточное ядро» прочно связанные с ним молекулы или конструкции может найти важное применение и в процедурах фотодинамической терапии. Пока с этой целью используют белки и полипептиды. Так, Соболевым и сотр. было показано, что в результате присоединения к фотосенсибилизируемому агенту белка, имеющего так называемую «ядерно-локализирующую» последовательность аминокислот, (например, инсулина), эффективность фотодинамического действия резко возрастает [55].

Нео-олигосахариды, узнающие поверхностные лектины, для адресованного транспорта генов.

Как видно из приведенных выше данных, в настоящее время разработаны различные типы эффективных векторов, использующих углеводные лиганды, для адресной доставки генетического материала в клетки-мишени (Таблица 1.). Однако число различных клеток - мишеней, которые были успешно трансфицированы, пока еще весьма ограничено. Несомненно, что необходимы дальнейшие исследования, которые будут способствовать созданию

Таблица 1. Примеры использования углеводных лигандов с поликатионными векторами

| Моно,- олиго,- или полисахарид | «Адрес» - целевые клетки | Поликатион | Ссылка |
|--------------------------------|--|---------------|----------------|
| Асиалоорсомукоид | Гепатоциты | Полилизин | 24 |
| Асиалогликопротеин | Гепатоциты | Полилизин | 19 |
| Асиалоорсомукоид | Гепатоциты | Полилизин | 20 |
| (GalNAcAH) ₃ | Гепатоциты | Полилизин | 25 |
| Лактоза | Клетки гепатомы | Полилизин | 28 |
| Манноза | Макрофаги | Полилизин | 30 |
| Манноза | Дендритные клетки | Полиэтиленмин | 33, 34 |
| Глюкоза | Эпителиальные клетки дыхательных путей | Полилизин | 35 |
| Фукоза | | Полилизин | 37 |
| GluNAc | Различные животные клетки | Хитозаны | 38, 42, 43, 54 |

и совершенствованию новых векторов с углеводными адресными группами. В частности, заслуживают особого внимания цикл работ по созданию нео-гликозидных лигандов (от моно- до тетрамеров), иммобилизованных на флуоресцентном синтетическом полимерном носителе (полиакриламид), которые были предложены Н.В. Бовиным и сотр. в качестве специфических зондов для изучения лектинов, антител, гликозилтрансфераз и для других биомедицинских исследований [56, 57]. Эти же олигосахаридные зонды, являющиеся лигандами для эндогенных рецепторов - лектинов, могут быть использованы также для диагностики опухолей и направленного транспорта лекарственных препаратов [58]. В нашей лаборатории, совместно с Н.В. Бовиным и Н.Э. Нифантьевым, начата работа по созданию на этом принципе новой группы невирусных векторных систем. Из серии таких зондов отбираются лиганды, специфичные к лектинам данной линии эукариотических клеток, и используются затем в качестве углеводных адресов при создании векторов для направленной доставки функциональных (терапевтических) генов при системном введении [59, 60]. В частности, были отобраны лиганды, β -D-Gal-PAA-Flu и Gal β 1-3GalNAc α -PAA-Flu, специфичные, по-видимому, для клеток невриномы Гассерова узла крысы [60].

Авторы благодарят А.С. Борисенко и О.В. Подобед за помощь при подготовке работы и ценные замечания. Работа поддержана грантом подпрограммы "Национальные приоритеты в медицине и здравоохранении", направление 05. Генодиагностика и генотерапия" и грантом РФФИ 98-04-49042.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Andersen W.F. et al* (1992) *Science*, **256**, 801-813.
2. *Жданов Р.И., Хусаинова Р.С., Иваницкий Г.Р., Борисенко А.С.* (2000) *Вопр. Биол. Мед. Фарм. Химии*, № 1, 10-17.
3. *Xanthopoulos K., ed.* (1998) *Gene Therapy* *Вопр. Биол. Мед. Фарм. Химии*, №. ASI Series H: Cell Biology, v. **105**, Springer, Berlin-Heidelberg-New York.
4. *Kaplitt M.G., Loewy D.A.* (1995) *Viral Vectors: Gene Therapy and Neuroscience Applications*, New York, 486 pp.
5. *Hodgson C.P.* (1996) *Retroviral Vectors for Human Gene Therapy*, Springer, Berlin-Heidelberg, 149 pp.
6. *Strauss M., Barranger J., eds.* (1998) *Concepts in Gene Therapy*, De Gruyter, Berlin.
7. *Жданов Р.И., Куценко Н.Г., Федченко В.И.* (1997) *Вопр. Мед. Хим.* **43**, 3-11.
8. *Подобед О.В., Жданов Р.И.* (1999) *Вопр. Биол. Мед. Фарм. Химии*, № 4, 7-15.
9. *Lasic D.D.* (1997) *Liposomes in Gene Delivery*, Boca Raton, FL, 295 pp.
10. *Жданов Р.И.* (1999) *Вопр. Биол. Мед. Фарм. Химии*, № 4, 3-6.
11. *W.F. Andersen* (1998) *Therapeutic horizons. Supplement to Nature*, **392**, 25-30.
12. *Lis H. and Sharon N.* (1998) *Chem. Reviews*, 637-674.
13. *Gabius H.-J.* (1987) *Cancer Invest.*, **5**, 39 – 46.
14. *Bovin N.V.* (1993) In: *Gabius H.-J., ed. Lectins and Glycobiology*, Springer, Stuttgart, 23 – 30.
15. *Weigel PH.* (1994) *Bioessays*, **16**, 519 – 524.
16. *Kolb-Bachofen V.* (1981) *Biochim. Biophys. Acta*, **645**, 293 – 299.
17. *Schwartz A.L.* (1984) *CRC Crit. Rev. Biochem.*, **16**, 207-233
18. *Wu G.Y., Wu C.H., eds* (1991) *Liver Diseases, Targeted Diagnosis and Therapy Using Specific Receptors and Ligands*, Marcel Dekker, Inc, New York.
19. *Chowdhury N.R., Wu G.Y., Wu C.H. et al* (1993) *J. Biol. Chem.*, **268**, 11265-11271.
20. *McKee TD., DeRome ME., Wu GY., and Findeis MA.* (1994) *Bioconjugate Chem.*, **5**, 306-311.
21. *Findeis M.A., Merwin J.R., Spitalny G.L. and Chiou H.C.* (1993) *Trends Biotechnol.*, **11**, 202-205.
22. *Chiou H.C., Spitalny G.L., Merwin J.R. and Findeis M.A.* (1994) In: *Gene Therapeutics: Methods and Applications of Direct Gene Transfer* (J.A. Wolff, ed.) Birkhauser, Boston, 143-156.
23. *Thurner M., Wagner E., Clausen H. et al* (1994) *Glycobiology*, **4**, 429-435.
24. *Kwoh D.Y., Coffin C.C., Brostoff S.W., Carlo D.J.* (1999) *Biochim. Biophys. Acta*, **1444**, 171 - 190.
25. *Merwin J.R., Noell G.S., Thomas W.L.* (1994) *Bioconjugate Chem.*, **5**, 612-620.
26. *Wadhwa M.S., Knoell D.L., Young A.P., Rice K.G.* (1995) *Bioconjugate Chem.*, **6**, 283 – 291.

27. *Stahl P.D.* (1992) *Curr. Opin. Immunol.*, **4**, 45 – 52.
28. *Choi Y.H., Liu F., Park J.S., Kim S.W.* (1998) *Bioconjug. Chem.*, **9**, 708-718.
29. *Erbacher P., Bousser M.-T., Mosigny M., Midoux P., Roche A.C.* (1996) XVI Journées Mediterraneennes du Glucides, la Sorgue Groupe Francais des Glucides, AB 22.
30. *Erbacher P., Roche A.C., Mosigny M., Midoux P.* (1995) *Bioconjugate Chem.*, **6**, 401-410.
31. *Kren B.T., Bandyopadhyay P., Steer C.* (1998) *Nature Medicine*, **4**, 285-290/
32. *Евстигнеева Р.П., Себякин Ю.Л., Е.В. Калинина, Казакова Е.В.* (1992) Доклады Академии наук, **325**, 959-963.
33. *Diebold S.S., Kursa M., Wagner E., Cotten M., Zenke M.* (1999) *J. Biol. Chem.*, **274**, 19087-19094.
34. *Diebold S.S., Lehrmann H., Kursa M., Wagner E., Cotten M., Zenke M.* (1999) *Hum. Gene Ther.*, **10**, 775-786.
35. *Kollen W.J., Midoux P., Erbacher P. et al* (1996) *Hum. Gene Ther.*, **7**, 1577-1586.
36. *Zhdanov R.I., Serebrennikova G.A., Borisenko A.S., et al* (2000) *FEBS Lett.* (submitted).
37. *Stewart A.J., Pichon C., Meunier L. et al* (1996) *Mol. Pharmacol.*, **50**, 1487-1494.
38. *Erbacher P., Zou S., Bettinger T. et al* (1998) *Pharmaceutical Research.*, **15**, 1332 – 1339.
39. *Venkatesh S., Smith J.* (1998) *Biotechnol. Appl. Biochem.*, **27**, 265-267
40. *Venkatesh S., Smith J.* (1997) *Pharmaceut. Dev. Tech.*, **2**, 417- 418.
41. *MacLaughlin F.C., Mumper R.J., Wang J. et al* (1998) *J. Controlled Release*, **56**, 259-272.
42. *Lee K.Y., Kwon.I.C., Kim Y.-H. et al* (1998) *J. Controlled Release*, **51**, 213-220.
43. *Leong K.W., Mao H.-Q., Truong-Le V.L. et al* (1998) *J. Controlled Release.*, **53**, 183-193.
44. *Mellow T.E., Halberg D., Drickamer K.* (1988) *J. Biol. Chem.*, **263**, 5468-5473.
45. *Bellemin-Magninot P. et al* (1992) *Int. J. Biochem.*, **24**, 827-830.
46. *Yoneda Y., Imamoto-Sonobe N., Yamaizumi M., Uchida T.* (1987) *Exp. Cell Res.*, **173**, 586-595.
47. *Finlay D.R., Newmeyer D.D., Price T.M., and Forbes D.J.* (1987) *J. Cell Biol.*, **104**, 189-200.
48. *Snow D.M., Hart G.W.* (1998) *Int. Rev. Cytol.*, **181**, 43-47.
49. *Duverger E., Carpentier V., Roche AC., Monsigny M.* (1993) *Exp. Cell Res.*, **207**, 197-201.
50. *Duverger E., Pellerin-Mendes C., Mayer R. et al* (1995) *J. Cell Sci.* **108**, 1325 – 1332.
51. *Duverger E., Roche A.C., Monsigny M.* (1996) *Glycobiology*, **6**, 381 – 386.
52. *Richardson SC., Kolbe HV., Duncan R.* (1999) *Int. J. Pharm.*, **178**, 231-243.
53. *Schipper N.G., Olsson S., Hoogstraate J.A. et al* (1997) *Pharm. Res.*, **14**, 923-929.
54. *Borisenko A.S., Krivtsov G.G., Faizulloev E. et al* (2000) submitted
55. *Akhlynina T.V. et al.* (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 20328-20331.

56. *Bovin N.V., Gabius H.-J.* (1995) *Chem. Soc. Rev.*, **24**, 413-421.
57. *Bovin N.V.* (1996) *Rus. J. Bioorg. Chem.*, **22**, 547-566.
58. *Gabius S., Kayser K., Bovin N.V. et al* (1996) *Eur. J. Pharmaceut. Biopharmaceut.*, **42**, 250-261.
59. *Zhdanov R.I., Podobed O.V., Bovin N.V. et al* (1997) Abstract book of Keystone Symposium "Molecular and Cellular Biology in Gene Therapy", Snowbird, U.S.A., # 107, 10.
60. *Zhdanov R.I., Bovin N.V., Sergeeva N.S.* (1998) Abstract book of 6th Symposium on Gene Therapy "Towards Gene Therapeutics", MDC, Berlin, Germany, May 4-6, 1998, p. 103.

Поступила 24.02.00.

TARGETED DELIVERY OF FUNCTIONAL GENES FOR GENE THERAPY USING CARBOHYDRATES CONTAINING VECTORS

G.G. KRIVTSOV ^{1,2} AND R.I. ZHDANOV ^{2,3}

¹ Institute of Agricultural Biotechnology, Moscow,

² Institute for Viral Preparations, RAMS, Moscow,

³ Institute of Biomedical Chemistry, RAMS, Moscow 119832

Various aspects of use of specific interactions with a participation of carbohydrate and oligosaccharide ligands to increase an efficiency of gene transfer into eukaryotic cells (including in vivo experiments) are considered in details. Data on addressed gene delivery with applying carbohydrate-containing ligands (such as asialoglycoproteins and galactosides) are discussed in the paper. Results on the usage of glycoside ligands, containing lactose, mannose, glucose residues, for receptor-mediated gene transfer, are analysed. Special attention is paid to application of chitosans for functional gene transfer into eukaryotic cells, which is considered by authors as a case of receptor-mediated gene transfer. It is notice that neo-oligosaccharide vectors, recognizing surface lectins, represent very perspective type of gene delivery systems.

Key words: targeted gene delivery, receptor-mediated transfer, carbohydrate ligands, asialoglycoproteins, lectins, neo-oligosachharide ligands, chitosans, glycolipids