

Создание мышинной клеточной линии-нокаута по гену *Fcrla* для изучения его роли в развитии В-лимфоцитов

Научный руководитель – Мечетина Людмила Васильевна

Матвиенко Дарья Александровна

Студент (бакалавр)

Новосибирский государственный университет, Факультет естественных наук,
Новосибирск, Россия

E-mail: dacikmatvienko@gmail.com

Созревание В-лимфоцитов в В-клетки памяти и плазматические клетки, способные к интенсивному синтезу и секреции иммуноглобулинов, контролируется множеством факторов, часть из которых неизвестна к настоящему дню. Поиск и изучение белков, регулирующих процессы дифференцировки В-лимфоцитов, необходимы для полного понимания хода гуморального иммунного ответа.

Одним из таких факторов, может являться белок FCRLA — член семейства FCRL-белков из суперсемейства иммуноглобулинов. На основании ранее полученных данных о клеточной локализации FCRLA, изменении его экспрессии при активации В-клеток и способности связываться с иммуноглобулинами была сформулирована гипотеза о функции этого белка: FCRLA может принимать участие в регуляции процесса дифференцировки В-лимфоцитов, однако на сегодняшний день его функция остаётся неизвестной.

Одним из подходов для выяснения функциональной роли FCRLA может быть получение мышинных клеточных линий-нокаут по гену *Fcrla*, что является целью данной работы. Для выполнения работы были выбраны три линии мышинных В-клеток: A20, WENI-231, I.29. Фенотипический анализ и анализ уровня экспрессии *Fcrla* у выбранных линий показал, что все три линии отличаются по своему типу, степени дифференцировки и экспрессируют *Fcrla* на высоком уровне, что делает возможным их использование в качестве моделей для исследования функциональной роли FCRLA. Для получения первой линии-нокаута была выбрана линия A20, как имеющая наибольший уровень экспрессии исследуемого гена. Редактирование генома A20 осуществлялось с использованием системы CRISPR/Cas9. Дальнейший анализ с помощью ПЦР и секвенирования показал, что в части клеток линии A20 была произведена делеция гена *Fcrla*. Таким образом, нами получена гетерогенная популяция клеток, содержащая клетки, нокаутные по гену *Fcrla*. Для создания линии-нокаута из гетерогенной популяции получены отдельные клоны и проводится их анализ.