

Исследование свойств последовательностей, обладающих активностью терминаторов транскрипции при создании генетических конструкций для трансгенеза.

Научный руководитель – Дейкин Алексей Васильевич

Гудок Антон Александрович

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет пищевых производств, Москва, Россия

E-mail: goodok-zvonok@mail.ru

Биотехнологическое производство биологически активных белков все чаще основывается на продуцировании в клетках высших эукариот. В качестве биореакторов могут использоваться культуры клеток или сами многоклеточные организмы: бактерии, грибы, растения и животные. Для нормального функционирования многих белков человека им необходимо пройти посттрансляционные модификации. Поэтому бактериальные культуры не всегда применимы. Высокие затраты на производство определяют высокий уровень цен на лекарственные препараты, полученные с помощью культур клеток млекопитающих. Снизить себестоимость производства рекомбинантных белков можно путем использования в качестве биореакторов трансгенных животных, например, продуцирующих рекомбинантный белок с молоком [1]. При этом необходимо, чтобы целевой ген экспрессировался только в молочной железе во время лактации, при этом побочные действия на организм животного будут минимальны [2]. Наиболее удобным и перспективным способом получения трансгенных животных является метод микроинъекции яйцеклеток млекопитающего экспрессирующим вектором, содержащим целевой ген [3]. Однако, при этом происходят многокопийные тандемные интеграции конструкций в геном. При образовании повторяющихся последовательностей ДНК происходит транскрибирование в обоих направлениях, что запускает репрессию по механизму РНК интерференции, в результате чего происходит затухание экспрессии трансгенов. В нашем эксперименте мы получаем новые линии трансгенных мышей, содержащие генетическую вставку гена люциферазы светлячка под контролем β -казеинового промотора, а также различные варианты терминаторов транскрипции, окружающих экспрессионную кассету, которые обладают способностью эффективно обрывать геномные транскрипты в геноме млекопитающих, защищая экспрессию трансгена от последующей репрессии. Ожидается, что при анализе уровня продукции люциферазы с молоком мыши ее уровень должен варьировать в зависимости от использованного варианта терминатора и в сравнении с базовой конструкцией. В результате будут выбраны оптимальные варианты генетических конструкций для экспрессии рекомбинантных белков с молоком трансгенных животных.

Работа выполняется при поддержке гранта РФФИ 16-14-00150 на базе ЦКП ИБГ РАН

Источники и литература

- 1) Гудок А.А., Дейкин А.В. Лактоферрин – перспективы использования и анализ имеющихся результатов. *Russian Scientist*, 2017, 1(1): 3-12. Веб. 28 Фев. 2017
- 2) Дейкин А.В., Ермолкевич Т.Г., Гурский Я.Г. и др. Состояние здоровья и воспроизводительная способность трансгенных мышей, продуцирующих с молоком рекомбинантный белок человека лактоферрин. Доклады Академии наук. 2009. Т. 427. № 4. С. 545-548.

- 3) Максименко О.Г., Дейкин А.В., Ходарович Ю.М. и др. Использование трансгенных животных в биотехнологии: перспективы и проблемы. Acta Naturae (русскоязычная версия). 2013. Т. 5. № 1 (16). С. 33-47.