

**Векторные системы доставки морфогенов для изучения механизмов формирования очагов гетеротопической оссификации на мышинных моделях**

**Научный руководитель – Липатова Анастасия Валерьевна**

**Воробьев Павел Олегович**

*Аспирант*

Московский физико-технический институт, Москва, Россия

*E-mail: pavel.gealbhain@phystech.edu*

Использование хирургических манипуляций в сочетании технологиями молекулярной биологии, визуализации и с трансгенными технологиями сыграло важную роль в понимании клеточных и молекулярных механизмов, лежащих в основе процессов органогенеза и формирования тканей, в частности формирование костной ткани в очагах гетеротопической оссификации на мышинных моделях Valb/c и c57bl/6. Например, регенерация фалангу пальца мыши [3,4]. Применение вирусных векторов для эффективной экзогенной экспрессии генов *in vivo* широко применяется на различных животных моделях [1,2,5]. Вирус осповакцины, лентивирусы и модифицированные бакуловирусы могут обеспечить высокий уровень экспрессии в тканях в ограниченном хорошо прогнозируемом временном отрезке.

В данной работе были получены векторные конструкции вируса осповакцины, а также лентивируса и бакуловируса, экспрессирующих ген люциферазы светлячка (firefly luciferase - fluc).

Лентивирусный вектор содержал ген fluc под управлением цитомегаловирусного промотора. Длина интеграционной кассеты около 2500 тыс.п.о. Конструкт на базе вируса осповакцины содержал ген fluc под управлением 7.5 килобазного промотора и был создан на базе вакцинного штамма ЛИВП. Бакуловиролучен путем ко-трансфекции плазмиды содержащей целевой ген и плазмиды содержащей ДНК бакуловируса.

Данные модельные препараты были использованы для количественной оценки экспрессии трансгена в различных нормальных тканях организма с использованием системы прижизненной визуализации IVIS при внутримышечном введении препарата.

Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что лентивирусная система доставки дает экспрессию в течение 14-20 суток, вирус осповакцины и бакуловиролучен в течение 3-4 суток после введения. Однако уровень экспрессии в этих двух случаях существенно выше.

В зависимости от поставленной задачи для экспрессии морфогена может быть выбрана оптимальная система его доставки.

### **Источники и литература**

- 1) 1-Bryant DM, Johnson K, DiTommaso T, Tickle T, Couger MB, Payzin-Dogru D, Lee TJ, Leigh ND, Kuo TH, Davis FG, Bateman J, Bryant S, Guzikowski AR, Tsai SL, Coyne S, Ye WW, Freeman RM Jr, Peshkin L, Tabin CJ, Regev A, Haas BJ, Whited JL. A Tissue-Mapped Axolotl De Novo Transcriptome Enables Identification of Limb Regeneration Factors. Cell Rep. 2017 Jan 17;18(3):762-776. doi: 10.1016/j.celrep.2016.12.063. PMID: 28099853; PMCID: PMC5419050.
- 2) 2-Charlotte A. Collins, Kai Kretzschmar, Fiona M. Watt “Reprogramming adult dermis to a neonatal state through epidermal activation of  $\beta$ -catenin” Development 2011 138: 5189-5199; doi: 10.1242/dev.064592

- 3) 3-ten Berge D, Brouwer A, Korving J, Martin JF, Meijlink F. Prx1 and Prx2 in skeletogenesis: roles in the craniofacial region, inner ear and limbs. *Development*. 1998 Oct;125(19):3831-42. PMID: 9729491.
- 4) 4-Mekayla A. Storer, Neemat Mahmud, Konstantina Karamboulas, Michael J. Borrett, Scott A. Yuzwa, Alexander Gont, Alaura Androschuk, Michael V. Sefton, David R. Kaplan, Freda D. Miller “Acquisition of a Unique Mesenchymal Precursor-like Blastema State Underlies Successful Adult Mammalian Digit Tip Regeneration” *Developmental Cell*, Volume 52, Issue 4, 2020, Pages 509-524.e9, ISSN 1534-5807, <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2019.12.004>.
- 5) 5-Quinonez R, Sutton RE. Lentiviral vectors for gene delivery into cells. *DNA Cell Biol*. 2002 Dec;21(12):937-51. doi: 10.1089/104454902762053873. PMID: 12573051.