

Оптимизация гетерологичной экспрессии множественных генов в клетках млекопитающих с использованием лентивирусных векторов

Научный руководитель – Горбачев Дмитрий Андреевич

Строкач Н.Н.¹, Власова А.А.², Горбачев Д.А.³

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биоорганической химии, Москва, Россия, *E-mail: strokach-1999@mail.ru*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра иммунологии, Москва, Россия, *E-mail: pomponshik@gmail.com*; 3 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра молекулярной биологии, Москва, Россия, *E-mail: d.gorbachev.92@yandex.ru*

Одним из основных способов изучения экспрессии генов или взаимодействия белков в клетках млекопитающих является трансдукция клеточных линий с использованием векторов на основе лентивирусов [1]. Основными преимуществами применения лентивирусных векторов являются стабильная экспрессия генов интереса, а также способность лентивирусов трансфецировать практически все широко используемые типы клеточных линий [2]. Однако одним из недостатков лентивирусных векторов является небольшой размер генома, что затрудняет исследование экспрессии крупных целевых генов или нескольких генов одновременно, представленных отдельными транскрипционными единицами. Одним из подходов к снижению числа транскрипционных единиц является создание единой полипептидной цепи, кодируемой одной транскрипционной единицей и содержащей белки интереса, соединенные с помощью 2A-пептидов — коротких последовательностей аминокислот, которые способствуют “проскакиванию” рибосом. Это приводит к высвобождению индивидуальных белков и позволяет контролировать их соотношение в клетках [3].

Таким образом, задачей настоящей работы стало сравнение эффективности экспрессии генов, находящихся в одной или нескольких транскрипционных единицах. Для этого была исследована экспрессия 3 генов флуоресцентных белков — mScarlet, TagBFP или NeonGreen, представленных в виде (а) транскрипционных единиц в отдельных плаزمиде, (б) трех отдельных транскрипционных единиц в одной плазмиде, (в) единой транскрипционной единицы, кодирующей гены флуоресцентных белков, соединенных через 2A-пептид. Получение вирусных частиц и экспрессию генов проводили в клетках HEK293T. Было показано, что снижение длины переносимой лентивирусным вектором ДНК за счет использования 2A-пептидов увеличивает уровень экспрессии генов и является перспективным методом для проведения гетерологичной экспрессии генов на высоком уровне в клетках млекопитающих.

Источники и литература

- 1) Milone, M. C., O'Doherty, U. (2018). Clinical use of lentiviral vectors. *Leukemia*, 32(7), 1529–1541. <https://doi.org/10.1038/s41375-018-0106-0>
- 2) Sakuma, T., Barry, M. A., Ikeda, Y. (2012). Lentiviral vectors: basic to translational. *The Biochemical journal*, 443(3), 603–618. <https://doi.org/10.1042/BJ20120146>
- 3) Ryan, M. D., Donnelly, M., Lewis, A., Mehrotra, A. P., Wilkie, J., Gani, D. (1999). A model for nonstoichiometric, cotranslational protein scission in eukaryotic ribosomes. *Bioorganic Chemistry*, 27, 55-79.