

Оценка доли полноразмерных транскриптов гена SMN2 после терапии антисмысловыми LNA-олигонуклеотидами культуры фибробластов пациента со спинальной мышечной атрофией

Научный руководитель – Киселёв Антон Вячеславович

Ильина Арина Вячеславовна

Студент (бакалавр)

Санкт-Петербургский государственный университет, Биологический факультет,
Санкт-Петербург, Россия

E-mail: arischunya@gmail.com

Спинальная мышечная атрофия (СМА) - аутосомно-рецессивное нейродегенеративное заболевание, вследствие которого развивается прогрессирующая мышечная слабость по причине дегенерации альфа-мотонейронов передних рогов спинного мозга. В конечном итоге приводит к параличу туловища и конечностей и смерти вследствие развития дыхательной недостаточности [3]. Является одним из наиболее распространенных аутосомно-рецессивных заболеваний [1]. Генетической основой заболевания являются мутации в гене *SMN1*. У данного гена есть высокоомологичный паралог - ген *SMN2*, он отличается от *SMN1* 10 синонимичными заменами и 5-нуклеотидной вставкой [4]. Критической является замена в 7 экзоне. В результате нее 90% транскриптов гена *SMN2* лишены 7 экзона, в результате чего считывается функционально неактивный белок SMN [2].

Одним из подходов к терапии СМА является воздействие на сплайсинг гена *SMN2* антисмысловыми олигонуклеотидами (АСО).

Цель работы - оценка увеличения доли полноразмерного транскрипта гена *SMN2* после терапии антисмысловыми LNA-олигонуклеотидами. В нашей лаборатории были разработаны антисмысловые фосфотиоатные олигонуклеотиды, имеющие модификацию LNA. Для сравнения использовались разработанные ранее фосфотиоатные АСО с метильной модификацией. Трансфекции АСО проводили на культуре фибробластов пациентов со СМА.

Основным методом была ПЦР с обратной транскрипцией и последующим электрофоретическим разделением проб в полиакриламидном геле. Обработка результатов производилась при помощи денситометрического анализа в программе Image J.

В результате проведенного эксперимента мы пришли к выводу, что разработанные нами АСО с модификацией LNA способны проявлять терапевтический эффект в повышении доли полноразмерных транскриптов гена *SMN2*. Кроме того, для некоторых олигонуклеотидов с модификацией LNA был выявлен терапевтический эффект, которого не наблюдалось у АСО F8 с метильной модификацией. Таким образом, АСО с модификацией LNA являются эффективными при повышении уровня полноразмерных транскриптов *SMN2* и могут быть применимы при разработке подходов к терапии СМА.

Источники и литература

- 1) Coady Tristan H. and Lorson Christian L. SMN in spinal muscular atrophy and snRNP biogenesis // WIREs RNA. 2011. V.2. P.546–564.
- 2) Shababi Jacqueline Glascock and Christian L. Lorson. Combination of SMN Trans-Splicing and a Neurotrophic Factor Increases the Life Span and Body Mass in a Severe Model of Spinal Muscular Atrophy Monir // HUMAN GENE THERAPY. 2011. V. 22. P.135–144.

- 3) Sivanesan S. et al. Antisense oligonucleotide mediated therapy of spinal muscular atrophy // *Translational neuroscience*. 2013. V. 4. P. 1-7.
- 4) Wu X., Wang S. H., Sun J., Krainer A. R., Hua Y., Prior T. W. A-44G transition in SMN2 intron 6 protects patients with spinal muscular atrophy // *Human molecular genetics*. 2017. V. 26. № 14. P. 2768-2780.