

**Разработка лентивирусного вектора для получения биомедицинского
клеточного продукта на основе гемопоэтических стволовых клеток человека
для генотерапии ВИЧ-инфекции**

Научный руководитель – Масленникова Александра Констанция Юрьевна

Червякова Ярослава Всеволодовна

Студент (магистр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет
фундаментальной медицины, Москва, Россия

E-mail: chervyakovayaroslava@gmail.com

ВИЧ-инфекция на сегодняшний день является пожизненным диагнозом, для терапии которого назначается антиретровирусная терапия (АРТ), имеющая ряд минусов. Поэтому разрабатываются новые подходы терапии ВИЧ-инфекции на основе генотерапии.

Одна из стратегий основана на экспонировании на поверхности клетки защитных С-пептидов из gp41, которые ингибируют проникновение вируса в клетку. Ранее в нашей лаборатории была разработана панель защитных С-пептидов, экспонирующихся в контексте GPI-заякоренного белка CD52 и эффективно ингибирующих проникновение ВИЧ в клетку [2]. Были созданы генотерапевтические конструкции и лентивирусы третьего поколения на их основе.

Перспективной мишенью для генотерапии ВИЧ-инфекции являются CD34+ гемопоэтические стволовые клетки (ГСК). При генетической модификации ГСК существует проблема низкой приживаемости модифицированных клеток. Оверэкспрессия гена *CXCR4*, который отвечает за миграцию ГСК в нишу, помогает повысить уровень их приживаемости [3]. Однако поскольку *CXCR4* является корецептором ВИЧ, такой подход может повысить подверженность клеток заражению Х4-тропными штаммами.

Мы предположили, что экспонирование *CXCR4*, модифицированного защитным С-пептидом 2P23 на N-конце, будет способствовать как повышению приживаемости клеток, так и устойчивости клеток к заражению ВИЧ. Ранее Leslie с соавторами показали, что защитный пептид С34, слитый с N-концом *CXCR4* ингибирует проникновение ВИЧ в клетку, однако нивелирует функцию хемотаксиса [1].

Мы разработали генетическую конструкцию, кодирующую совместно *CXCR4*, слитый с защитным С-пептидом 2P23 на N-конце для увеличения активности хемотаксиса клеток, и защитный С-пептид МТ-С34 в контексте GPI-заякоревания, необходимый для блокирования проникновения ВИЧ в клетку. В рамках данной работы были созданы и охарактеризованы модельные клеточные линии для изучения влияния 2P23 слитого с N-концом *CXCR4* на миграцию клеток.

Обнаружилось, что экзогенный *CXCR4* с пептидом 2P23 на N-конце, увеличивает хемотаксис на уровне, сравнимом с действием экзогенного *CXCR4* дикого типа. Также мы провели сравнение уровня экспрессии 2P23 и его защитных характеристик при расположении на N-конце экзогенного *CXCR4* и в контексте GPI-заякоренного белка CD52. Было установлено, что при локализации 2P23 на N-конце экзогенного *CXCR4* его экспрессия выше, чем в контексте CD52, а его защитные свойства при этом сохраняются.

Источники и литература

- 1) Leslie G.J. et al. Potent and Broad Inhibition of HIV-1 by a Peptide from the gp41 Heptad Repeat-2 Domain Conjugated to the CXCR4 Amino Terminus // PLoS Pathog. Public Library of Science. 2016. Vol. 12, No 11. P. e1005983.

- 2) Maslennikova A. et al. Engineering T-Cell Resistance to HIV-1 Infection via Knock-In of Peptides from the Heptad Repeat 2 Domain of gp41 // Mbio. 2022. Vol. 13, No 1.
- 3) Wang H. et al. In vivo HSC transduction in rhesus macaques with an HDAd5/3+ vector targeting desmoglein 2 and transiently overexpressing cxcr4 // Blood Adv. American Society of Hematology. 2022. Vol. 6, No 15. P. 4360–4372.