

Анализ активности гепатоспецифических промоторов *in vitro* в составе векторов на основе AAV

Научный руководитель – Городничева Татьяна Валерьевна

Молодцова А.А.¹, Городничева Т.В.², Галиакберова А.А.³

1 - Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия, *E-mail: nastya2001673@gmail.com*; 2 - Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия, *E-mail: tatiana-gorod@mail.ru*; 3 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра клеточной биологии и гистологии, Москва, Россия, *E-mail: adgaliakberova@gmail.com*

Введение

Аденоассоциированные вирусы (ААВ) представляют большой интерес как один из способов таргетной доставки генетического материала в органы-мишени и как платформа для создания генотерапевтических лекарственных препаратов (ГТЛП). Использование тканеспецифических промоторов является одним из способов достижения экспрессии в отдельных органах и тканях [2]. Целью настоящей работы являлось сравнение активности четырех гепатоспецифических промоторов (TBG, HCB, HCB2, ApoE [1]) в пяти эукариотических клеточных культурах, трех – immortalized культурах клеток печени (Aml12, Huh7, HepG2) и двух других (HEK293T, HeLa Kyoto), при использовании AAV для доставки векторной конструкции.

Материалы и методы

Вирусные частицы AAV получали методом трехплазмидной транзientной трансфекции клеток HEK293T: с геном интереса - *eGFP*, хелперной pHelper и pRepCap-DJ. Клетки трансдуцировали AAV и через 3 суток анализировали на проточном цитофлуориметре с использованием прямого и бокового светорассеяния, трансдуцированные клетки определяли по флуоресценции в зеленом спектре (498 нм). Вирусную нагрузку определяли как количество копий *eGFP* в 1 нг геномной ДНК. За активность промотора принимали отношение среднего уровня флуоресценции к значению вирусной нагрузки для данного образца клеток, затем нормализовали данные относительно универсального промотора CAG.

Результаты

Были получены данные об активности гепатоспецифических промоторов в сравнении с универсальным промотором - CAG, отраженные на рисунке 1.

Выводы

Активность промотора TBG в линии клеток Huh7 и HepG2 превышала активность универсального CAG-промотора в 1,75 и 0,98 раза, соответственно. В клетках HEK293T и HeLa Kyoto, напротив, TBG промотор проявлял слабую активность. В мышинных клетках Aml12 наиболее высокую активность проявляют промоторы HCB и HCB2. Таким образом, промотор TBG выглядит наиболее перспективным для создания ГТЛП на основе ААВ для экспрессии трансгена в печени. Однако разный уровень активности промоторов в клетках человеческого и мышинного происхождения может влиять на результаты доклинических исследований, что говорит о необходимости предварительной оценки векторных конструкций *in vitro* на клеточных линиях.

Источники и литература

- 1) M Gabriela Kramer, Miguel Barajas, Pedro Berraondo. In Vitro and in Vivo Comparative Study of Chimeric Liver-Specific Promoters. //Molecular Therapy – – 2023. – № 7– P. 375-385.
- 2) Wang, D., Tai, P. W. L. & Gao, G. Adeno-associated virus vector as a platform for gene therapy delivery. //Nat. Rev. Drug Discov. – – 2019. – № 18. – P. 358–378.

Иллюстрации

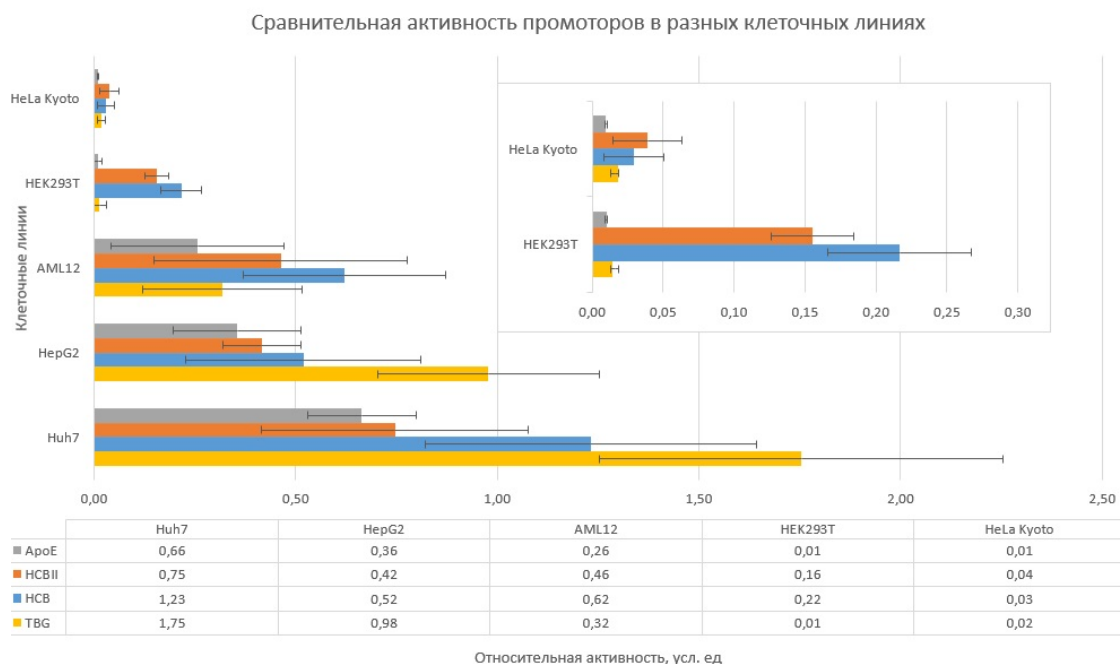


Рис. : 1. Линейная диаграмма активности промоторов относительно универсального промотора – СAG в экспериментальных клеточных линиях.