

Секция «Биоинженерия и биоинформатика»

Получение рекомбинантных аденовирусов, экспрессирующих нейропротекторные и нейротрофические факторы

Усманов Р.Х.¹, Черенкова Е.Е.²

1 - К(П)ФУ, Факультет биолого-почвенный, 2 - Казанский государственный университет им. В.И. Ульянова-Ленина, Биологический факультет, Казань, Россия
E-mail: yesmanov.ravil@gmail.com

Одним из ключевых моментов в генной терапии является поиск оптимального вектора для переноса рекомбинантной генетической информации. Вирусы представляют собой естественную биологическую систему переноса генов в эукариотические клетки [1]. Совершенствование технологий клонирования привело к созданию вирусных векторов, которые используются для экспрессии рекомбинантных белков для генной терапии наследственных и онкологических заболеваний, повышения регенеративного потенциала тканей при травмах, производства вакцин (антигенная экспрессия), стабильной продукции антител *in vivo*, клеточной трансдукции и репрограммирования соматических клеток человека в индуцированные плюрипотентные стволовые клетки [2].

Аденовирусные вектора эффективно переносят гены как в делящиеся, так и в покоящиеся клетки, не встраиваются в геном, обеспечивают высокие титры рекомбинантного вируса при продукции и высокий уровень экспрессии трансгенов в системах *in vivo* и *in vitro*.

Целью нашего исследования стало конструирование рекомбинантных аденовирусов, экспрессирующих нейротрофические и нейропротекторные факторы (эндотелиальные сосудистые факторы роста VEGF121 и VEGF165, глиальный нейротрофический фактор GDNF). Клонирование осуществляли по технологии Gateway (Invitrogen, США), базирующейся на сайт – специфической рекомбинации между сайтами *att* плазмиды-донора (pENTR – VEGF121, pENTR – VEGF165, pENTR - GDNF) и вектора-назначения (pAd/CMV/V5-Dest). Трансфекция клеточной линии HEK293A (human embryonic kidney 293) рекомбинантными плазмидами (pAd – VEGF121, pAd – VEGF165, pAd - GDNF) привела к эффективной экспрессии рекомбинантных генов, что подтверждено иммунофлуоресцентным анализом с применением специфичных антител (Santa Cruze). Цитопатический эффект, а также изменение формы клеток свидетельствуют об эффективной продукции вируса уже на 3 день после трансфекции. Таким образом, получены рекомбинантные аденовирусы, экспрессирующие нейропротекторные и нейротрофические факторы VEGF121, VEGF165 и GDNF. В дальнейшем полученные вирусы будут использованы в экспериментах *in vivo* и *in vitro* для разработки методов генной и генно-клеточной терапии различных заболеваний человека, в том числе нейродегенеративных.

Литература

1. de Felipe P. Polycistronic viral vectors / P. de Felipe // Current gene Therapy. - 2002. - Vol.2. - P. 355 - 378.
2. Chan H.Y. Comparison of IRES and F2A-Based Locus-Specific Multicistronic Expression in Stable Mouse Lines / H.Y. Chan, V. Sivakamasundari, P. Kraus, S.Peng Yap, P. Ng, S. L. Lim, T. Lufkin // PLoS One. - 2011. - Vol.6.