

Оценка эффективности коррекции сплайсинга гена SMN2 при помощи антисмысловых олигонуклеотидов, доставленных пептидным носителем в культуру фибробластов пациента со СМА.

Научный руководитель – Киселев Антон Вячеславович

Крылова Надежда Владимировна

Студент (бакалавр)

Санкт-Петербургский государственный университет, Биологический факультет,

Санкт-Петербург, Россия

E-mail: nadushka.5@mail.ru

Спинальная мышечная атрофия (СМА) - одно из самых тяжелых наследственных нервно-мышечных заболеваний, которое характеризуется дегенерацией мотонейронов передних рогов спинного мозга, что является причиной прогрессирующей мышечной атрофии, которая в большинстве случаев приводит к параличу и смерти. Причиной развития СМА являются гомозиготные мутации, вовлекающие ген *SMN1* (survival of motor neuron) в локусе 5q13 [1]. Мутации в данном гене приводят к недостаточному содержанию белка SMN, который присутствует как в цитоплазме, так и в ядре, где он располагается в составе особых структур - "gems" [2]. В геноме человека содержится ген *SMN2* - высокоомологичная дупликация гена *SMN1*, способный также синтезировать белок SMN, однако лишь 10% транскриптов гена *SMN2* приводят к трансляции функционального белка, что вызвано синонимичной точковой мутацией С→Т в седьмом экзоне гена *SMN2*, что приводит к исключению седьмого экзона из иРНК и синтезу усеченного белка [3].

На данный момент существуют подходы к терапии СМА, основанные на коррекции сплайсинга гена *SMN2* на фоне мутаций гена *SMN1* с помощью антисмысловых олигонуклеотидов (АСО). Но проблема доставки АСО в клетки пациентов остается актуальной.

Работа была выполнена с целью оценки терапевтического эффекта от доставки антисмысловых олигонуклеотидов пептидным носителем в культуру фибробластов СМА.

Для доставки олигонуклеотидов в культуры фибробластов, полученных от пациентов со СМА, мы использовали ранее разработанный нами аргинин-богатый пептидный носитель, модифицированный лигандом к интегрину $\alpha v \beta 3$.

Для оценки уровня полноразмерных и усеченных транскриптов мы использовали метод полуколичественной ПЦР с обратной транскрипцией с последующим электрофоретическим разделением проб в полиакриламидном геле. Количество внутриядерных структур gems оценивали на флуоресцентном микроскопе после окрашивания препаратов антителами к белку SMN.

В результате проведенного исследования было показано значимое увеличение доли полноразмерных транскриптов и количества белка SMN при доставке пептидным носителем терапевтических антисмысловых олигонуклеотидов в культуру фибробластов СМА.

Источники и литература

- 1) Lefebvre S., Burglen L., Reboullet S. et al. Identification and Characterization of a Spinal Muscular Atrophy-Determining Gene // Cell. 1995. Vol. 80. N 1. P. 155-165.
- 2) Liu, Q., Dreyfuss, G. A novel nuclear structure containing the survival of motor neurons protein. // EMBO J. 1996. Vol. 15. P. 3555-3565.

- 3) Monani, U. R., Lorson, C. L., Parsons, D. W., Prior, T. W., Androphy, E. J., Burghes, A. H. M., & McPherson, J. D. A single nucleotide difference that alters splicing patterns distinguishes the SMA gene SMN1 from the copy gene SMN2 // Human Molecular Genetics. 1999. Vol. 8. N 7. P. 1177-1183.