

Клеточная линия с повышенной экспрессией рецептора hTfR1 для вирусологических работ

Савенкова Дарья Александровна

Сотрудник

Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», Кольцово,
Россия

E-mail: d.savenkova@g.nsu.ru

Клеточные технологии часто применяются в вирусологических исследованиях, например, в разработке препаратов и вакцин против вирусов, для изучения эффектов, оказываемых вирусами на зараженные клетки, а также для детекции вирусных инфекций. Для этих целей используют чувствительные клеточные линии, которые эффективно заражаются вирусными агентами и поддерживают их активную репликацию. То, насколько эффективно вирус способен инфицировать клетки, прежде всего определяется наличием на клеточных мембранах рецепторов, необходимых вирусу для проникновения в клетки-мишени.

На сегодняшний день уже созданы и протестированы клеточные линии, проявляющие повышенную чувствительность к вирусам SARS-CoV-1, SARS-CoV-2, вирусу гриппа человека и ряду других вирусов [1-3]. Известно, что разные вирусы попадают в клетку с помощью определенных клеточных рецепторов, необходимых для проникновения конкретного вируса. Вследствие этого путем увеличения уровня экспрессии какого-либо клеточного рецептора, можно создать клеточную линию, демонстрирующую повышенную чувствительность к определенной группе вирусных агентов. В нашей работе мы получали культуру клеток с повышенной экспрессией трансферринового рецептора человека (hTfR1).

С помощью системы транспозона Sleeping Beauty мы интегрировали ORF гена *hTfR1* в геном клеток линии Vero (клетки эпителия почки зеленой мартишки). На этом этапе работы из клонов, несущих необходимую нам вставку ORF *hTfR1*, была получена панель клеточных линий, отличающихся местом интеграции трансгена в геном, а также количеством его встроок. Экспрессия трансгена в полученных линиях панели оценивалась как на уровне мРНК, так и на уровне белка методами количественной ПЦР и вестерн-блоттингом, соответственно. Для исследования чувствительности полученных трансгенных клеточных линий использовали лентивирус, псевдотипированный белком MACV GPC. Данным вирусом трансдуцировали полученные трансгенные линии и оценивали эффективность заражения методами проточной цитометрии и количественной ПЦР. Полученные экспериментальные данные по экспрессии трансгена *hTfR1* и эффективности заражения псевдотипированным лентивирусом сравнивались с результатами, полученными для исходной линии Vero.

Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075-15-2019-1665).

Источники и литература

- 1) Dolskiy A.A. et al. Increased LAMP1 Expression Enhances SARS-CoV-1 and SARS-CoV-2 Production in Vero-Derived Transgenic Cell Lines // *Mol Biol.* 2022. Vol. 56, № 3. P. 463–468.
- 2) Dolskiy A.A., Grishchenko I. V., Yudkin D. V. Cell Cultures for Virology: Usability, Advantages, and Prospects // *Int J Mol Sci.* 2020. Vol. 21, № 21. P. 7978.
- 3) Zhang L. et al. Developing a Triple Transgenic Cell Line for High-Efficiency Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Infection // *PLoS One.* 2016. Vol. 11, № 5. P. e0154238.