

Создание новых клеточных моделей транслокаций с участием гена *KMT2A*

Николаев Николай Андреевич

Студент (специалист)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет
биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

E-mail: nnikolaev@fbb.msu.ru

Ген *KMT2A* кодирует гистоновую лизин-метилтрансферазу, регулирующую экспрессию генов, участвующих в раннем развитии и гемопоэзе. Хромосомные транслокации с его участием играют важную роль в возникновении острых лейкозов [1, 2]. Прогноз и предпочтительный путь лечения зависят как от точки разрыва, так и от гена-партнёра по транслокации. Партнёры многочисленны и разнообразны по функциям. Они включают, например, белки, участвующие в апоптозе, формировании межклеточных контактов, элонгации транскрипции [2]. Для выяснения механизмов онкогенеза мы получаем ряд клеточных моделей, различающихся перестройками *KMT2A*.

Даже при индукции разрывов в целевых локусах транслокация является редким событием. Для преодоления этой проблемы мы использовали два подхода. Первый состоит в трансфекции клеток плазмидой, содержащей гены Cas9, гидовых РНК и флуоресцентного белка. Затем на клеточном сортере в каждую лунку планшета распределяется определенное число клеток. Часть клеток из группы лунок объединяется и используется в прямой вложенной ПЦР для детекции транслокации. При положительном результате лунки из группы анализируются по отдельности. Клетки из лунки, в которой была обнаружена транслокация, распределяются на клеточном сортере уже по одной в лунку. Клоны анализируются с помощью прямой ПЦР.

Второй подход основан на репарации, направляемой гомологией (HDR). В нём используется ещё одна плазида, содержащая плечи гомологии к целевым локусам и кассету с селективными маркерами, фланкированную LoxP-сайтами. В клетках с транслокациями маркеры оказываются между фрагментами перестроенного хромосомы и позволяют провести селекцию. Затем клетки трансфицируются плазмидой с геном рекомбиназы Cre для удаления маркеров. Наличие перестройки подтверждается с помощью ПЦР.

Оба подхода позволили получить линию с транслокацией, причём подход с HDR - за 16 недель, а подход с NHEJ - за 8. Таким образом, при наличии оптимальной стратегии обнаружения транслокации последний оказывается эффективнее.

Источники и литература

- 1) Andersson, A., Ma, J., Wang, J. et al. The landscape of somatic mutations in infant MLLrearranged acute lymphoblastic leukemias. *Nat Genet* 2015; 47:330–337.
- 2) Marschalek R. MLL (myeloid/lymphoid or mixed lineage leukemia). *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol*. 2003; 7(1):16-19.