

Оптимизация протокола лентивирусной трансдукции первичных CD4+ лимфоцитов человека для генотерапии ВИЧ

Научный руководитель – Масленникова Александра Констанция Юрьевна

Червякова Я.В.¹, Гамзик Д.Д.²

1 - Российский государственный аграрный университет МСХА имени К.А. Тимирязева, Агрономии и биотехнологии, Генетики и биотехнологии, Москва, Россия, *E-mail: chervyakovayaroslava@gmail.com*; 2 - Российский государственный аграрный университет МСХА имени К.А. Тимирязева, Агрономии и биотехнологии, Генетики и биотехнологии, Москва, Россия, *E-mail: diana.gamzik@mail.ru*

Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) — это социально-значимый патоген. В медицинской практике для борьбы с ВИЧ назначается антиретровирусная терапия (АРТ). АРТ подавляет репликацию ВИЧ, однако не оказывает влияния на интегрированный в геном инфицированной клетки провирус. Кроме того, для ВИЧ свойственно развитие устойчивости к препаратам. Из-за описанных факторов применение АРТ является пожизненным.

Генотерапия является перспективным направлением борьбы с ВИЧ. Ранее в нашей лаборатории были разработаны лентивирусные векторы, кодирующие конструкцию для GPI-заякорения на мембране целевой клетки защитных С-пептидов, позволяющие передавать CD4+ лимфоцитам человека устойчивость к инфицированию ВИЧ. С-пептиды — это короткие аминокислотные последовательности из вирусного белка слияния, которые блокируют проникновения вируса в клетку [1].

В рамках настоящего исследования была проведена оптимизация протокола лентивирусной трансдукции CD4+ Т-лимфоцитов человека. Задачами исследования было: 1- подобрать условия, при которых достигается максимальная эффективность лентивирусной трансдукции и сохраняется жизнеспособность и функциональная активность модифицированных клеток, 2- определить потенциальный оптимальный день для трансплантации модифицированных клеток пациенту.

В рамках данной работы мы разработали и протестировали несколько протоколов лентивирусной трансдукции. Оценка эффективности трансдукции проводилась с помощью иммуофлюоресцентного окрашивания и последующей проточной цитометрии. Для оценки функциональной активности были измерены уровни выработки цитокинов: фактора некроза опухоли и интерферона гамма. Для приживания модифицированных лимфоцитов необходимо сохранение ими пролиферативного потенциала. Оценка этого показателя была проведена путем подсчёта окрашенных трипановым синим CD4+ лимфоцитов в течение 10 дней после трансдукции.

В результате исследования был подобран оптимальный протокол лентивирусной трансдукции, позволяющий добиться не менее чем 50% эффективности трансдукции без изменения уровней продукции цитокинов и с сохранением клетками пролиферативной активности. По совокупности факторов было выявлено, что день пять является потенциально оптимальным для трансплантации модифицированных клеток пациенту.

Автор выражает благодарность своему научному руководителю к.б.н. Масленниковой А.К.Ю. за помощь в работе.

Исследование выполнено при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации №075-15-2019-1661

Источники и литература

- 1 A. Maslennikova et al. "Engineering T-cell resistance to HIV-1 infection via knock-in of peptides from the heptad repeat 2 domain of gp41.", *Mbio*, vol. 13, no. 1, Feb. 2022, doi: 10.1128/mbio.03589-21