

## Оптимизация защитной конструкции лентивирусного вектора для генотерапии ВИЧ

Научный руководитель – Масленникова Александра Констанция Юрьевна

*Гамзик Д.Д.<sup>1</sup>, Червякова Я.В.<sup>2</sup>*

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

Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) является социально-значимым патогеном. Антитретровирусная терапия (АРТ) не позволяет добиться эрадикации ВИЧ, в связи с чем ее применение является пожизненным. Применение АРТ часто вызывает развитие побочных эффектов и появление резистентных штаммов. Генотерапия является перспективным подходом в лечении ВИЧ-инфекции. С-пептиды – это пептиды из белка слияния ВИЧ, ингибирующие проникновение вируса в клетку. Они взаимодействуют с N-концевым гептадным повтором белка слияния ВИЧ и блокируют образование 6-спирального пучка, необходимого для проникновения ВИЧ в клетку.

Наибольшая эффективность достигается при экспонировании С-пептидов на цитоплазматической мембране [1]. Ранее в нашей лаборатории было показано, что наиболее высокой анти-ВИЧ активностью обладают генетически кодируемые С-пептиды МТ-С34 и 2Р23 в контексте GPI-заякоренного белка человека CD52, при этом защитная активность пептида зависит от уровня его поверхностной экспрессии [1]. Целью данного исследования была оптимизация защитной последовательности.

Для достижения этой цели были созданы лентивирусные векторы 3 поколения, кодирующие С-пептид 2Р23, помещенный между сигналом экспорта и сигналом GPI-заякорения белка CD52, экспрессируемый с промотора CMV (CMV-2Р23) или EF1 $\alpha$  (EF1 $\alpha$ -2Р23), а также вектор, кодирующий аналогичную последовательность, где сигнал экспорта был заменен на сигнал из люциферазы *Gaussia* (EF1 $\alpha$ -Gl-2Р23). Также были созданы лентивирусные векторы, кодирующие одновременно две конструкции для GPI-заякорения пептидов 2Р23 и МТ-С34, экспрессируемые с одного промотора EF1 $\alpha$  и разделенные последовательностью Р2А.

С помощью лентивирусной трансдукции на основе Т-лимфобластной клеточной линии СЕМ-R5 [1] были получены модельные клеточные линии. Уровень поверхностной экспрессии пептидов, был измерен с помощью иммунофлюоресцентного окрашивания и последующей проточной цитометрии.

Было выявлено, что конфигурация EF1 $\alpha$ -Gl-2Р23 позволяет добиться наиболее высокого уровня поверхностной экспрессии одиночного пептида 2Р23. При сочетанной экспрессии двух пептидов с одного промотора наибольшую эффективность продемонстрировала конструкция EF1 $\alpha$ -МТ-С34-Gl-2Р23.

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