

Поиск корреляции между копийностью трансгена в геноме и продуктивностью клеточной линии

Научный руководитель – Дрожжачих Мария Сергеевна

Сергеев Александр Олегович

E-mail: alexandrsergeev100@gmail.com

Целью работы является определение зависимости между копийностью трансгена в геноме клонов и уровнем их продуктивности. Найденная зависимость позволит упростить процедуру и повысить достоверность данных стадии скрининга – основного этапа получения клеточных линий продуцентов [1].

В ходе работы использовали клеточные линии СНО-К1, продуцирующие два разных антитела. Продуктивность выбранных клеточных линий определяли по титру секретируемых ими в культуральную среду рекомбинантных антител с использованием системы Forte-Bio The Octet QK^e System. Для исследования копийности трансгенов лёгкой и тяжёлой цепей выделяли гДНК из клеточных осадков и проводили метод ПЦР в режиме реального времени.

В ходе исследования было выявлено: для клонов клеточной линии А, полученных разным количеством раундов введения генетической конструкции в клетки, не наблюдается явной зависимости между копийностью трансгенов лёгкой и тяжёлой цепей антитела в геноме и титром секретируемого клоном белка. Так, у более продуктивных клонов число копий трансгена было ниже, чем у менее продуктивных. Вероятно, это объясняется проведением наибольшего количества раундов введения генетической конструкции в клетки при получении менее продуктивных, а отсутствие у них высокого значения титра – потенциально возможным встраиванием гена интереса в область гетерохроматина.

Тем не менее, для клонов клеточной линии В, полученных проведением одинакового количества раундов введения генетической конструкции с использованием генетической конструкции, кодирующее другое антитело, наблюдается тенденция повышения титра антитела с увеличением копийности трансгенов. Интересным наблюдением является более высокое значение титра антитела, наработанного клонами клеточной линии В, в сравнении с титром иммуноглобулина, продуцируемого клонами клеточной линии А, при меньшем числе копий трансгена лёгкой и тяжёлой цепей антитела в геноме.

Результаты исследования также свидетельствуют о том, что для клонов клеточной линии А наблюдается более широкий разброс значений соотношения копийности трансгена лёгкой и тяжёлой цепей в геноме (от 2:1 до 4:1), чем для клонов клеточной линии В (1:1).

Был сделан вывод о том, что универсальная зависимость между копийностью трансгена лёгкой и тяжёлой цепей антитела в геноме и уровнем продуктивности разных клеточных линий СНО не прослеживается. Использование копийности в качестве маркера для высокопроизводительного скрининга ограничено, требуется оценка другой генетической характеристики клеток-продуцентов. На текущий момент проводится поиск зависимости между уровнем экспрессии мРНК цепей антитела в клонах клеточных линий, использованных в ходе данной работы, для определения корреляции между параметрами копийности трансгена, уровня экспрессии мРНК и титром белка, наработанного клетками-продуцентами.

Источники и литература

- 1) Lai T., Yang Y., Ng S. K. Advances in Mammalian cell line development technologies for recombinant protein production // Pharmaceuticals (Basel, Switzerland). 2013. № 5 (6). С. 579–603.