

Оценка активности опухолеспецифичных промоторов в клетках A549, MCF-7 и HeLa

Научный руководитель – Ульянова Вера Владимировна

Коснырев Александр Сергеевич

Аспирант

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Кафедра микробиологии, Казань, Россия

E-mail: s_kosnyrev@mail.ru

Одной из стратегий борьбы с онкологическими заболеваниями является использование генотерапевтических препаратов на основе цитотоксичных генов. Перспективным кандидатом на эту роль является биназа – секретируемая гуанилпредпочитающая рибонуклеаза *Bacillus pumilus* 7P, проявляющая избирательную онкосупрессорную активность. Для достижения терапевтического эффекта необходимо подобрать не только способ доставки трансгена в клетки-мишени, но и промотор, с которого будет осуществляться контроль его экспрессии. В связи с этим целью данной работы стала оценка активности опухолеспецифичных промоторов в клетках рака человека.

Модельные клеточные линии A549 (рак лёгкого), MCF-7 (рак молочной железы) и HeLa (рак шейки матки) трансфицировали векторами, сконструированными на основе рTurbo-GFP-C, в которых цитомегаловирусный промотор P_{CMV} , контролирующей экспрессию репортерного гена зеленого флуоресцентного белка *GFP*, был заменен на промоторы генов раково-эмбрионального антигена P_{CEA} , антилейкопротеиназы P_{hSlpA} и сурвивина P_{BIRC5} . Клетки выращивали 48 часов, с помощью фенол-хлороформа экстрагировали из них суммарную РНК, из которой получали кДНК обратной транскрипцией и амплифицировали ее методом ПЦР в реальном времени. В качестве референсного гена использовали *GAPDH*. Уровень экспрессии гена-репортера *GFP* под контролем промотора P_{CMV} принимали за 100 %.

Было установлено, что в клетках A549 наиболее активным оказался P_{BIRC5} , экспрессия которого составила 68 %, в то время как остальные промоторы показали экспрессию порядка 2 %. В клетках HeLa наиболее высокая экспрессия (72 %) наблюдалась у промотора P_{hSlpA} , в то время как P_{CEA} и P_{BIRC5} показали экспрессию 56 % и 38 %, соответственно. Также в клетках MCF-7 экспрессия под промотором P_{BIRC5} составила 96 %, активность других промоторов оказалась около 5 %.

Полученные данные дают основания полагать, что промоторы генов раково-эмбрионального антигена, антилейкопротеиназы и сурвивина обеспечивают в разных клеточных линиях дифференцированную экспрессию, в отличие от неспецифичного цитомегаловирусного промотора. В то же время, уровень экспрессии с исследуемых промоторов остаётся достаточно высоким, что позволяет использовать их в таргетной терапии рака.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект №21-74-10036)