

ДИЗАЙН ЛЕНТИВИРУСНОГО ВЕКТОРА ДЛЯ ТРАНСДУКЦИИ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК

Таланкина А.С., Позняк Т.А., Гончаров А.Е.

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Введение. Меланома представляет собой наиболее агрессивную и смертоносную форму рака кожи. Современные терапевтические подходы включают хирургическую резекцию, химиотерапию, иммунотерапию, биохимиотерапию и таргетную терапию, которые имеют большое количество противопоказаний и побочных эффектов. Одним из решений данной проблемы является использование генетически-модифицированных антигенпредставляющих клеток [1]. Одним из первых шагов на пути к генетической трансформации клеток является визуализация успешности вставки необходимого целевого гена.

Цель работы: визуализация генетической вставки в лентивирусный вектор с помощью программы SnapGene для последующей работы с генетически-модифицированными дендритными клетками.

Материалы и методы. Выбор вектора был произведен с помощью общедоступного интернет-сайта AddGene.com, по следующим критериям: плазмидный лентивирусный вектор, разновидность – человек, экспрессия – млекопитающие. Для предварительного дизайна генетической конструкции среди предложенных векторов с заданными критериями случайным образом был выбран лентивирусный вектор pHR_PGK. В качестве целевого гена был выбран опухолеассоциированный меланомный белок MART1/MLANA. С использованием общедоступного интернет-портала.ncbi.com была идентифицирована генетическая последовательность данного белка. Вставка генетической последовательности проводилась между сайтами BamHI и NotI. BamHI является одним из наиболее популярных сайтов рестрикции, описанных в литературе [2].

Результаты и их обсуждение. В результате предварительного дизайна генетической конструкции было получено схематичное изображение готового лентивирусного вектора со вставкой гена MART1/MLANA. В составе генетической вставки имеется сайт *BclI*, который блокируется сайтом *dam*. Согласно интернет-ресурсу international.neb.com, чтобы избежать метилирования *dam*, нужно использовать штамм с дефицитом *dam*. Эти результаты показывают, что при использовании данного лентивирусного вектора и данной последовательности, кодирующей целевой ген, можно получить эффективные трансформированные клетки *in vitro*.

Библиографические ссылки

1. Chonghua Ren et al. Strategies for the Enrichment and Selection of Genetically Modified Cells//Trends in Biotechnology. 2019. Vol. 37. P. 56–71.
2. Tong Z et al. "2'-O-methyl nucleotide modified DNA substrates influence the cleavage efficiencies of BamHI and BglII"//Journal of Biosciences. 2014. Vol. 39 P. 621–630.