

**В-клеточные линии мыши с нокаутом *Fcrla* – модель для изучения роли белка FCRLA**

**Научный руководитель – Мечетина Людмила Васильевна**

**Орлова Елизавета Андреевна**

*Студент (магистр)*

Новосибирский национальный исследовательский государственный университет,  
Новосибирск, Россия

*E-mail: tetraheadral@gmail.com*

Белок FCRLA является членом суперсемейства FcR-подобных рецепторов (FCRL), но отличается от остальных его представителей отсутствием трансмембранного домена и внутриклеточной локализацией в ЭПР. У человека и мыши данный белок специфически экспрессируется В-лимфоцитами на всех стадиях их дифференцировки. Наибольший уровень экспрессии у мыши наблюдается в небольшой популяции активированных В-лимфоцитов. У человека синтез FCRLA обнаружен также в популяциях диффузных больших В-клеточных лимфом [1] и клетках меланомы [2], что делает его потенциальным маркером новообразований. Была выявлена также способность FCRLA связывать молекулы иммуноглобулинов класса M, G и A, что позволило предположить, что FCRLA может участвовать в регуляции сборки иммуноглобулинов и/или их секреции [3]. Однако к настоящему моменту точная роль данного белка в биологии В-клеток не установлена.

В данной работе с помощью технологии CRISPR/Cas9 мы получили нокаутированные по гену *Fcrla* В-клеточные линии мыши для изучения роли FCRLA - одного из предполагаемых факторов, регулирующих развитие В-лимфоцитов.

В работе использовали линии I.29, WENI-231, CH31, представляющие собой разные стадии дифференцировки В-клетки. Для нокаутирования *Fcrla* использовали шесть плазмид на основе вектора eSpCas9(1.1), кодирующих шесть различных guide РНК, комплементарных участкам первого и второго экзонов гена *Fcrla*, по три на каждый экзон. В качестве ко-трансфектанта использовали плазмиду, кодирующую флуоресцирующий белок GFP. Из отобранных на клеточном сортере GFP<sup>+</sup> клеток выделяли ДНК и проводили ПЦР-скрининг на наличие делеций. В результате для каждой линии получили клоны с различными делециями первого и второго экзонов гена *Fcrla* в гомо- и гетерозиготном состоянии.

Отобранные нокаутные по *Fcrla* клоны использовали для изучения влияния FCRLA на процессы активации и апоптоза В-клеток, класс-переключения, синтеза и секреции иммуноглобулинов, экспрессии молекул МНС класса II. Полученные в работе данные позволяют приблизиться к пониманию роли FCRLA в физиологии В-клетки. Помимо фундаментального значения это исследование может иметь также практическую значимость с точки зрения участия данного белка в патогенезе заболеваний иммунной системы и рака.

**Источники и литература**

- 1) Facchetti F. et al. An unusual Fc receptor-related protein expressed in human centroblasts // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2002. V. 99(6). P. 3776-3781.
- 2) Inozume T. et al. Novel melanoma antigen, FCRL/FREB, identified by cDNA profile comparison using DNA chip are immunogenic in multiple melanoma patients // International Journal of Cancer. 2005. V. 114(2). P. 283-290.
- 3) Santiago T. et al. FCRLA is a resident endoplasmic reticulum protein that associates with intracellular Igs, IgM, IgG and IgA // Int Immunol. 2011. V. 23. P. 43-53.