

Клеточная модель для изучения формирования хромосомной транслокации AML1-ETO

Научный руководитель – Рубцов Михаил Александрович

Загирова Д.Р.¹, Вьюшков В.С.²

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия, *E-mail: diana.zagirova@yandex.ru*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра молекулярной биологии, Москва, Россия, *E-mail: oxygenium22@mail.ru*

Применение химиотерапевтических подходов для лечения злокачественных опухолей может являться причиной развития вторичного острого миелоидного лейкоза [1]. У 12% пациентов с данным заболеванием наблюдается транслокация, приводящая к образованию слитого гена AML1-ETO [2]. Развитие хромосомных транслокаций с участием гена AML1 (RUNX1), регулирующего гемопоэз, связывают с использованием в качестве противоопухолевых препаратов ингибиторов топоизомераз [3]. Удобным способом изучения механизмов, ведущих к появлению транслокаций, является создание модельной клеточной линии, где в значительной доле клеток будут наблюдаться описанные перестройки. Индукция транслокации в такой линии будет обуславливаться процессами негомологичной репарации двухцепочечных разрывов, внесенных системой CRISPR/Cas9 [4].

Для создания клеточной линии была собрана плаزمиды, включающая гены РНК-гидов, подобранных к генам AML1 и ETO, и ген Cas9 с системой индукции транскрипции Tet-ON. Полученная плаزمиды использовалась для трансфекции клеток лимфобластоидной культуры RPMI 8866. Индукция хромосомной транслокации AML1-ETO обуславливалась активацией доксициклином гена Cas9, усиление экспрессии которого подтверждается данными количественной ПЦР с обратной транскрипцией. После чего была подсчитана частота возникновения хромосомной транслокации AML1-ETO в культуре трансформированных лимфобластных клеток методом количественной ПЦР, а также оценена кинетика ее возникновения. На основе трансформированной культуры получена моноклональная линия. Данная клеточная модель использовалась для анализа влияния ингибитора белка репарации MRE11 (Mirin) на предмет снижения частоты возникновения транслокаций методом количественной ПЦР.

В результате была получена клеточная линия LCL_iAML/ETO, в которой возможно воспроизведение лейкозогенных транслокаций между генами AML1 и ETO путем активации доксициклином системы CRISPR/Cas9. В дальнейшем такая линия может быть использована для скрининга химических препаратов, потенциально способных снижать вероятность перестроек.

Источники и литература

- 1) Azarova A.M. и др. Roles of DNA topoisomerase II isozymes in chemotherapy and secondary malignancies // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2007. № 104(26). С. 11014–11019.
- 2) Peterson L.F., Zhang D.E. The 8;21 translocation in leukemogenesis // Oncogene. 2004. № 23(24). С. 4255–4262.
- 3) Cowell I.G., Austin C.A. Mechanism of generation of therapy related leukemia in response to anti-topoisomerase II agents // Int. J. Environ. Res. Public Health. 2012. № 9(6). С. 2075–2091.
- 4) Gaj T. и др. Genome-Editing Technologies: Principles and Applications // Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2016. № 8(12).