

Создание клеточных моделей заболеваний, ассоциированных с точечными нуклеотидными заменами

Научный руководитель – Карагяур Максим Николаевич

Скрябина М.Н.¹, Гладкова М.Г.²

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Кафедра биологической и медицинской химии, Москва, Россия, *E-mail: skrebbka@gmail.com*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия, *E-mail: marinegladkova@gmail.com*

Гладкова М.Г., Скрябина М.Н., Джауари С.С., Кулебякин К.Ю., Карагяур М.Н.*

Факультет Биоинженерии и Биоинформатики ФГБОУ МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Институт Регенеративной Медицины, Медицинский научно-образовательный центр МГУ имени М.В. Ломоносова

Факультет фундаментальной медицины ФГБОУ МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

* - <mailto:m.karagyaur@mail.ru>

Клеточные линии являются удобной модельной системой для выяснения роли отдельных белков в развитии и патогенезе различных заболеваний. Для установления роли конкретного белка с помощью генетических методов, как правило, изменяют уровень синтеза белка интереса путем увеличения уровня экспрессии конкретного гена или его полного выключения (генетический нокаут). Однако полученные таким образом клеточные модели не способны адекватно отразить изменения структуры белка или изменения клеточной физиологии, ассоциированные с отдельными точечными нуклеотидными заменами (мутациями или полиморфизмами (SNP)), которые являются самой частой разновидностью изменений последовательности генома. Поэтому в настоящее время все большее внимание уделяется созданию и изучению клеточных моделей, моделирующих конкретные точечные нуклеотидные замены.

Одним из наиболее удобных инструментов для этого являются редакторы оснований (аденозин-/цитозин-дезаминазы), базирующиеся на различных системах редактирования генома. В этой работе нами была предпринята попытка создания клеточных линий, несущих некоторые из клинически значимых SNP в гене PPAR γ (мастер-гене адипоцитарной дифференцировки): rs200479885, rs1553643326, rs1378972597, rs28936407, rs530007199 и rs370830238. Ранее были показаны корреляции между названными SNP и предрасположенностью к развитию метаболических нарушений (метаболический синдром), однако однозначной причинно-следственной связи установлено не было.

В качестве модельного объекта нами была использована культура иммортализованных мезенхимных стромальных клеток (МСК) человека ASC52telo, характеризующихся диплоидным генотипом и относительной близостью к первичной культуре МСК. Эффективную генетическую модификацию этих клеток возможно произвести только с использованием вирусных частиц, поэтому на первом этапе работы нами были созданы генетические конструкции, способные обеспечить лентивирусную доставку редакторов оснований и направляющих РНК (gRNA).

Полученные генетические конструкции будут использованы для создания клеточных линий МСК, несущих названные точечные нуклеотидные полиморфизмы в гене PPAR γ , что, предположительно, позволит установить их вклад в развитие метаболического синдрома и возможные механизмы этого влияния.

Исследование выполнено за счёт гранта Российского фонда фундаментальных исследований - проект №18-015-00535. В работе были использованы коллекции клеток и генетических конструкций, собранных и сохраняемых в рамках проекта «Ноев ковчег», и оборудования, приобретенного за счет средств Программы развития МГУ имени М.В. Ломоносова.