

ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АНТИГЕНА GP51 ВИРУСА ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА С ПОМОЩЬЮ ЛИНИЙ КЛЕТОК МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Тургимбаева А.М., Хасенов Б.Б.

РГП «Национальный центр биотехнологии» КН МОН РК, Астана, Казахстан

aigerim6119@gmail.com

Лейкоз КРС - инфекция опухолевой природы, вызываемая вирусом семейства *Retroviridae*, подсемейства *Oncoviridae* типа С. Болезнь проявляется лимфоцитозом или опухолегенезом, больные животные погибают. Ранняя диагностика инфекции основана на серологическом выявлении антител против антигенов р24 и gp51, что позволяет искоренять лейкоз КРС и контролировать распространение вируса. Современные способы получения диагностических антигенов базируются на использовании технологии рекомбинантных ДНК. Для разработки тест-системы необходим антиген максимально близкий по структуре к природному аналогу. Нами был получен рекомбинантный белок р24 в клетках *E.coli*, но бактериальная экспрессионная система не подходит для белка gp51, представляющего собой гликопротеин. Использование экспрессионной системы дрожжей *Pichia pastoris*, *Pichia methanolica*, *Saccharomyces cerevisiae* имеет свои минусы, для них характерно гипергликозилирование. Это не всегда благоприятно сказывается на финальной конформации и антигенных свойствах интересующего белка. В качестве альтернативы могут выступать клетки млекопитающих, для которых характерно наличие полного спектра посттрансляционных модификаций, включая сложное N-, O-гликозилирование, фосфорилирование и гамма-карбоксилирование. В связи с этим клетки млекопитающих имеют наиболее подходящую систему экспрессии белка gp51.

Цель работы - получить рекомбинантный антиген gp51 вируса лейкоза КРС с помощью линий клеток млекопитающих.

В результате ПЦР-скрининга 14 образцов ДНК крови коров, предположительно больных лейкозом, с помощью специфичных олигонуклеотидов был выявлен ген вируса лейкоза протяженностью 906 п.н. В результате сравнения нуклеотидной последовательности полученного гена и референсного гена с базы данных NCBI (GenBank: FM209472.1) был выявлен полиморфизм казахстанского штамма. Установлено 12 аминокислотных замен: 29R→Q, 48A→T, 73A→P, 74K→R, 82S→F, 86Y→C, 121R→H, 134N→D, 146S→F, 181Q→H, 254S→L, 906S→N.

В качестве экспрессионной системы была использована клеточная линия HeLa S3. Ген gp51 был клонирован в вектор pOZ-C по сайтам рестрикции XhoI и NotI. Сборка вирусов, содержащих плазмиду pOZ-C/gp51, осуществлялась клетками линии HEK293 (100000 кл/мл) после кальций-фосфатной трансфекции. Для получения рекомбинантного gp51 антигена в HeLa S3, клетки были подвержены трансдукции вирусными частицами, наработанных в клетках линии HEK293. Отбор трансдуцированных клеток осуществлялся с помощью магнитных частиц Dynabeads CD25. После трехэтапной селекции получена генетически модифицированная клеточная линия HeLa S3, продуцирующая рекомбинантный белок gp51.

СРАВНЕНИЕ АКТИВНОСТЕЙ ОПУХОЛЕСПЕЦИФИЧНОГО ПРОМОТОРА И ПРОМОТОРОВ ГЕНОВ С ПОВЫШЕННОЙ ЭКСПРЕССИЕЙ В СТРОМЕ ОПУХОЛИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Тюлькина Д.В.

ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и
Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

tyulkina.dina@mail.ru

Микроокружение опухолевых клеток, представленное фибробластами и другими типами иммунных и стволовых клеток, играет важную роль в развитии злокачественных новообразований, участвует в росте и метастазировании раковых клеток, выступает в качестве барьера при доставке противоопухолевых средств. Его использование в качестве терапевтической мишени перспективно особенно в терапии опухолей с большим количеством стромальных элементов. Обычно при генной терапии опухолей применяют транскрипционный