

Получение культур клеток с нокаутом отдельных рецепторов проникновения вирусов для формирования панели онколитических энтеровирусов, имеющих различающиеся спектры воздействия на опухолевые клетки человека.

Научный руководитель – Чумаков Пётр Михайлович

Ле Тхи Хоа

Аспирант

Московский физико-технический институт, Москва, Россия

E-mail: lehoa@yandex.ru

Терапия онкологических заболеваний с помощью онколитических вирусов является перспективной альтернативой традиционным методам лечения. Однако опухолевые клетки значительно различаются по своей чувствительности к отдельным терапевтическим вирусным штаммам. Для формирования панели онколитических вирусов, их которых возможен отбор эффективных для каждого больного терапевтических штаммов требуется определение потребности вирусов в том или ином рецепторе, через который вирусы проникают в клетку. Известно, что энтеровирусы человека используют несколько альтернативных поверхностных рецепторов. Это трансмембранные белки CAR или CXADR [1], CD155 или PVR [2], относящиеся к суперсемейству иммуноглобулинов, белок CD55/DAF [3], принимающий участие во взаимодействии с системой комплемента, скавенджер-рецептор типа B2 (SCARB2) [4], интегрин 21 (VLA-2; рецептор коллагена и ламинина) [5] и молекула межклеточной адгезии ICAM-1 [6]. Для получения диагностической панели клеток, на которой возможно определение потребности различных штаммов энтеровирусов в том или ином клеточном рецепторе с помощью технологии генного нокаутирования CRISPR/Cas9 нами получены клоны клеток НЕК293Т с нокаутом каждого из генов, кодирующих перечисленные рецепторы (гены PVR, CXADR, CD55, ITGA2, SCARB2, ICAM1). После верификации нокаутов с помощью проточной цитометрии, геномного секвенирования и Вестрн блоттинга полученная панель клеток была использована для определения потребности в рецепторах 11 штаммов непатогенных энтеровирусов, выделенных из кишечника здоровых детей. На основании полученных данных сформирована панель вирусов, различающихся по используемым рецепторам проникновения, которая далее будет тестирована на онколитические свойства в экспериментах на культуре клеток и лабораторных животных.

Источники и литература

- 1) Bergelson, J.M., et al. Isolation of a common receptor for Coxsackie B viruses and adenoviruses 2 and 5 // *Science*.-1997.-V. 275.-P.1320-1323.
- 2) Mendelsohn, C.L., et al. Cellular receptor for poliovirus: molecular cloning, nucleotide sequence, and expression of a new member of the immunoglobulin superfamily // *Cell*. - 1989. -V. 56. -P. 855-865
- 3) Clarkson, N. A., et al. Characterization of the echovirus 7 receptor: domains of CD55 critical for virus binding // *Journal of Virology*. -1995. -V. 69. -P. 5497 -5501.
- 4) Yamayoshi, S., Koike, S. Identification of a Human SCARB2 Region That Is Important for Enterovirus 71 Binding and Infection // *J. Virol*. -2011. -V. 85. -P. 4937-4946.
- 5) Bergelson, J.M., et al. Identification of the integrin VLA-2 as a receptor for echovirus 1 // *Science*.-1992.-V. 255.-P. 1718-20.

- 6) Shafren D. R., et al. Coxsackievirus A21 binds to decay –accelerating factor but requires intercellular adhesion molecule 1 for cell entry // J. Virol. –1997. –V.71. –P.4736 –4743.