

**Получение рекомбинантного аденоассоциированного вирусного вектора,
экспрессирующего ген человеческого ангиогенина**

Научный руководитель – Есмагамбетов Ильяс Булатович

Дресвянникова Анастасия Александровна

Студент (магистр)

Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И.

Пирогова, Москва, Россия

E-mail: anastasiya.dresvyannikova@spcpu.ru

Аденоассоциированный вирус (AAV) - один из наиболее перспективных векторов генной терапии, который уже используют для лечения различных заболеваний, в т.ч. и нейродегенеративных [3]. Эффективность и безопасность препаратов на основе AAV значительно зависит от генетической конструкции в составе вектора – от ее промотора, сигнала полиаденилирования и кодонового состава [1].

В нашем исследовании мы использовали рекомбинантный AAV девятого серотипа (rAAV9) для доставки оптимизированного гена ангиогенина. Ангиогенин - фактор ангиогенеза, обладающий нейропротекторными свойствами. Была показана возможность использования ангиогенина для лечения бокового амиотрофического склероза (БАС) [2]. В нашей лаборатории уже получен прототип препарата на основе rAAV9, несущего ген ангиогенина, целью получения второго оптимизированного препарата является увеличение эффективности и безопасности препарата. Оптимизация генетической конструкции, несущей последовательность ангиогенина, заключается в добавлении последовательности Козак, удалении CpG мотивов и оптимизации кодонов.

В ходе исследования было показано, что экспрессия гена ANG в составе оптимизированной генетической конструкции происходит эффективнее на 20% и на 13% в клетках CHO-S и в HEK293T соответственно в сравнении с не оптимизированной конструкцией. Путем трехплазмидной трансфекции мы получили препарат rAAV9, несущий оптимизированную генетическую последовательность ANG и оценили его трансдуцирующую способность на клетках нейробластомы SH-SY5Y. На 96 ч после трансдукции (10^5 геномных копий на клетку) был показан значимый уровень экспрессии ANG: концентрация фактора в культуральной жидкости составила 1,66 нг/мл.

Таким образом, мы показали, что экспрессия ANG в составе оптимизированной генетической конструкции происходит более эффективно, чем в составе не оптимизированной. Мы получили препарат rAAV9 с оптимизированной последовательностью ANG и показали его специфическую активность на релевантной клеточной модели нервных тканей. В дальнейшем мы планируем изучение терапевтического действия полученного препарата на мышцах с БАС-подобными симптомами.

Источники и литература

- 1) Егорова Т.В. Генная терапия наследственных заболеваний на основе аденоассоциированных вирусных векторов: современные проблемы применения и пути их решения // БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2024. No. 24(2). С. 123–139.
- 2) Киран Д. Контроль выживаемости мотонейронов с помощью ангиогенина // Журнал нейрофизиологии. 2008. No 28 (52). 14056–61
- 3) Kowshik N.C.S.S. AAV vector manufacturing: challenges, innovations, and future directions for gene therapy // Front. Mol. Med. 2025. No. 5. 1709095.