

Разработка мультиплексной ПЦР-тест системы для определения трансгена на основе вектора для экспрессии рекомбинантных белков в молоке рBC1 и его производных на генетическом фоне *Mus Musculus*

Научный руководитель – Дейкин Алексей Васильевич

Ковыршина Анна Витальевна

Студент (магистр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра вирусологии, Москва, Россия

E-mail: annkovyrshina@gmail.com

Технология создания генетически модифицированных животных, продуцирующих рекомбинантные белки с молоком, выходит на уровень промышленного применения: созданы первые фармацевтические продукты на основе молока таких животных-продуцентов. При экспрессии в молоке белок может быть посттрансляционно модифицирован в клетках животного, его экономически выгодно выделять в препаративных количествах [1]. Общепринятым вектором для создания животных-продуцентов рекомбинантного белка в молоке является рBC1 Milk Expression Vector Kit (Invitrogen, Carlsbad, CA) на основе криптической плазмиды *Bacillus Subtilis* [2]. ПЦР является основным методом определения наличия вставки трансгена в геноме животного-продуцента. И, хотя технология ПЦР разработана достаточно хорошо, ключевым этапом применения метода является разработка и валидация тест-системы для получения репрезентативных результатов.

Сложность разработки стабильной тест-системы связана с высокой вероятностью фрагментации конструкции при микроинъекции, а также тандемного многокопийного встраивания в прямой или обратной координации в геном животных после процедуры трансформации. Кроме того, необходимо обеспечить высокую специфичность праймеров из-за повышенной гомологии между регуляторными элементами из геномов разных видов.

Для возможности тестирования линий мышей-продуцентов различных белков человека, была разработана универсальная мультиплексная тест-система для определения трансгена на основе вектора рBC1 и его производных, позволяющая выявлять β -казеиновый промотор *Capra hircus*, β -глобиновый инсулятор *Gallus gallus* из состава конструкций для трансформации на основе рBC1, остающиеся без изменений при правильном встраивании в геном мыши.

Разработанная система анализа провалидирована на различных конструкциях на основе рBC1 и обладает потенциалом для разработки на ее основе набора стандартных праймеров для характеристики генетических регуляторных элементов в составе различных векторов для получения трансгенных животных.

Работа выполнена с использованием приборной базы ЦКП ИБГ РАН при поддержке гранта Российского научного фонда №16-14-00150.

Источники и литература

- 1) Maksimenko, O. G., A. V. Deykin, Yu M. Khodarovich // Use of Transgenic Animals in Biotechnology: Prospects and Problems. Acta Naturae. 2013. 5(1): 33–46. ISSN 2075-8251

- 2) De Rossi, E., A. Milano, P. Brigidi, et al. 1992 Structural organization of PBC1, a Cryptic Plasmid from *Bacillus Coagulans*. // *Journal of Bacteriology* 174(2): 638–642. 0021-9193 ISSN 0021-9193