

**Получение и изучение свойств человеческого гистона H2A,  
модифицированного лигандом к PDGFR $\beta$**

**Научный руководитель – Кузьмич Алексей Иванович**

***Ракитина Ольга Андреевна***

*Студент (бакалавр)*

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

*E-mail: rakitinaolga97@gmail.com*

Увеличению эффективности доставки ДНК в клетки с помощью гистона H2A может способствовать использование лигандов, связывающихся с поверхностными рецепторами клеток [1]. Перспективной мишенью для доставки ДНК могут служить клетки опухолевой стромы, включая опухоль-ассоциированные фибробласты (ОАФ). Их фенотип активирован опухолью, в связи с чем на поверхности ОАФ имеются несколько специфических белковых маркеров. Одним из таких маркеров является рецептор фактора роста тромбоцитов PDGFR $\beta$ , для которого описаны несколько пептидных лигандов. Так, пептид уG2 способен связываться с PDGFR $\beta^+$  клетками и накапливаться внутри них [2]. Мы предположили, что слияние гистона H2A с уG2 способно улучшить эффективность доставки ДНК в ОАФ. Целью данной работы было получение рекомбинантного гистона H2A, слитого с лигандом к PDGFR $\beta$ , и оценка его трансфицирующих свойств.

В ходе работы получена плаزمид, несущая последовательность H2A-YG2. Целевой белок наработан в бактериальной системе, выделен и очищен в два этапа с помощью ионообменной и обращено-фазовой ВЭЖ хроматографий. Выход очищенного белка составлял около 8,5 мг на литр культуры, чистота не менее 90%. В эксперименте по измерению подвижности ДНК в агарозном геле было показано, что H2A-YG2 способен связывать плазмидную ДНК не хуже, чем гистон H2A. Поэтому далее проводилось сравнение двух гистонов по эффективности доставки плазмидной ДНК, кодирующей двойной репортер (pCMV-EGFP-P2A-luc2), в Pdgfr $\beta^+$  клетки. В качестве таких клеток выбрана линия мышечных фибробластов NIH3T3, т. к. наличие мРНК Pdgfr $\beta$  в них подтверждено с помощью ОТ-ПЦР, а присутствие рецептора на их поверхности ранее было показано в нашей лаборатории. Клетки трансфицировали комплексами гистонов с плазмидной ДНК в различных N/P соотношениях, после чего определяли долю GFP $^+$  клеток и измеряли активность люциферазы. В качестве положительного контроля использовался Lipofectamine® 2000. Доля GFP $^+$  клеток при трансфекции H2A и H2A-YG2 в одинаковых N/P соотношениях была сопоставима, но значительно меньше, чем при липофекции. Максимальная активность люциферазы в лизатах клеток при трансфекции H2A-YG2 оказалась примерно в 5 раз выше, чем для H2A, что может указывать на Pdgfr $\beta$ -зависимую доставку.

Таким образом, нам удалось подобрать условия выделения и очистки гистона H2A-YG2 и показать, что введенная пептидная модификация приводит к улучшению трансфицирующих свойств гистона H2A в Pdgfr $\beta^+$  клетках.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-00852.

**Источники и литература**

- 1) Han H. et al. A comprehensive review on histone-mediated transfection for gene therapy // Biotechnol. Adv. 2019. № 1 (37). С. 132–144.

- 2) Marr A. et al. Peptide arrays for development of PDGFR $\beta$  affine molecules // Mol. Imaging Biol. 2013. № 4 (15). С. 391–400.