

## **ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ТРАНСПОЗАЗ-ОПОСРЕДОВАННОЙ ИНТЕГРАЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ КОНСТРУКЦИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИНДУЦИРУЕМОЙ ТРАНСКРИПЦИОННОЙ АКТИВАЦИИ**

**Родионов А.С.<sup>1,2</sup>**

**Научный руководитель – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник**

**Орловская В.Р.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Университет ИТМО

<sup>2</sup>АО «БИОКАД»

shurshak2004@gmail.com

### **Введение**

Транспозаза представляет собой фермент, обеспечивающий перемещение мобильных генетических элементов — транспозонов — внутри генома [1]. Ее активность приводит к структурным перестройкам ДНК, включая вставки, делеции и инверсии, что определяет роль транспозаз как факторов геномной пластичности и эволюционной изменчивости [1]. В контролируемых условиях данное свойство может быть использовано для стабильной интеграции генетических конструкций в геном клетки [2], что, по сравнению с вирусными векторами, снижает риск цитотоксических эффектов и упрощает экспериментальную реализацию [3]. Изучение механизмов транспозиции и факторов, влияющих на эффективность и воспроизводимость интеграции ДНК, является актуальной задачей современной молекулярной биологии и биотехнологии [4].

### **Основная часть**

В рамках данной работы рассмотрено применение транспозазной системы для обеспечения стабильной интеграции целевых генетических конструкций в геном клеточной линии без использования вирусных векторов. В качестве целевой использовалась репортерная конструкция, содержащая ген флуоресцентного белка mCherry, экспрессия которого отсутствовала в условиях без транскрипционной индукции и регистрировалась только после активации транскрипции. В качестве модельной системы была выбрана клеточная линия НЕК293, для которой охарактеризованы параметры трансфекции и воспроизводимо достигается высокая эффективность доставки ДНК.

В ходе исследования была проведена серия экспериментов по транспозаз-опосредованной интеграции генетической конструкции в геном клеток после доставки ДНК при помощи липофильной трансфекции. На следующем этапе использовали систему CRISPR SAM для транскрипционной активации промотора, управляющего экспрессией mCherry. Такой подход позволил функционально разделить этапы интеграции и экспрессии, тем самым исключая вклад транзиентной экспрессии при оценке эффективности интеграции.

Эффективность транспозаз-опосредованной интеграции оценивалась методом проточной цитометрии по доле mCherry-положительных клеток после активации, а также по воспроизводимости результатов между биологическими повторами. Стабильность интеграции оценивалась путём моноклонирования модифицированных клеток и последующей повторной транскрипционной активацией. Дополнительно интеграция генетической конструкции в геном клеток была проверена методом ПЦР-скрининга.

По результатам проведённых экспериментов подтверждена воспроизводимая транспозаз-опосредованная интеграция репортерной генетической конструкции в геном клеточной линии НЕК293.

## Выводы

В ходе проведенного исследования показано, что системы на основе транспозазы могут быть эффективно использованы для целенаправленной интеграции генетических конструкций в геном клеточных линий. Использование транспозаз в качестве инструмента модификации генома позволяет рассматривать данный подход как перспективную альтернативу вирусным методам доставки ДНК. Дальнейшая работа направлена на оптимизацию условий интеграции и расширение применения системы на основе транспозазы в других клеточных моделях.

## Литература

1. Hassan A.H., Mokhtar M.M., El Allali A. Transposable elements: multifunctional players in the plant genome // *Frontiers in Plant Science*. 2023. Vol. 14, 1330127. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1330127>.
2. Han M, Perkins MH, Novaes LS, Xu T, Chang H. Advances in transposable elements: from mechanisms to applications in mammalian genomics // *Front Genet*. 2023. Vol. 14, 1290146. <https://doi.org/10.3389/fgene.2023.1290146>
3. Wang S, Zhang P, Sun Y, Fang Y, Wang P, Shao M, Zhang N, Shi S, Chen X, Gao H, Cheng J, Gao B, Liu T, Qian Q, Song C. Engineering of BZ transposase and transposon donor vector for enhanced efficiency and safety in gene delivery applications // *Nucleic Acids Res*. 2025. Vol. 53, P. gkaf935. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaf935>
4. Tenjo-Castaño F, Rout SS, Dey S, Montoya G. Unlocking the potential of CRISPR-associated transposons: from structural to functional insights // *Trends Genet*. 2025. Vol. 41, P. 660–677. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2025.04.005>