

Подавление экспрессии гентингтина (*Huntingtin, HTT*) в мозге мышей с помощью разветвленных олигонуклеотидов

М.И. Антипина¹, С.А. Каспаров¹, Е. Улащик², О. Шарко², А. Терешко², В. Шманай²

¹Балтийский федеральный университет им. И. Канта, Калининград, Россия

²Институт физико-органической химии Национальной академии наук Беларуси,

Минск, Республика Беларусь

E-mail: antipinaria@gmail.com

Синтез aberrантных белков является причиной многих генетических заболеваний. Подавление экспрессии таких белков возможно с помощью терапевтических олигонуклеотидов (ТО). ТО – это препараты, разработанные на основе нуклеиновых кислот, которые способны взаимодействовать с генетическими мишенями, подавляя их экспрессию. В данной работе были использованы разветвленные малые интерферирующие РНК (siRNA), рекрутирующие комплекс RISC (RNA-induced silencing complex). Олигонуклеотиды такого типа были созданы и описаны в 2019 г. научной группой под руководством доктора медицинских наук, профессора института РНК-терапии А. Хворовой.

Была изучена возможность длительного подавления экспрессии белка гентингтина (*Huntingtin, HTT*), мутации в гене которого вызывают экспансию полиглутаминового тракта, что является механизмом патогенеза болезни Гентингтона.

Нуклеотиды (siRNA) были синтезированы в лаборатории профессора В. Шманая, помечены флуоресцентной меткой для последующей визуализации в клетках мозга и протестированы на мышах с целью подавления экспрессии гентингтина (*HTT*). Самок и самцов C57BL/6J разделили на контрольную и экспериментальные группы. В условиях анестезии изофлураном выполняли однократное введение siRNA с помощью стереотаксиса в латеральные желудочки (10 мкл). В качестве контроля вводили физиологический раствор. Через 2 месяца животных гуманно умерщвляли путем передозировки анестетика. Из левого полушария выделяли регионы коры и стриатума для последующего выделения РНК и постановки от ПЦР к ПЦР с целью дальнейшего относительного количественного анализа экспрессии генов. Правое полушарие фиксировали в 4 % PFA, на замораживающем микротоме делали срезы в области стриатума толщиной 40 микрон для подтверждения наличия флуоресценции на конфокальном микроскопе.

Однократная инъекция siRNA показала статистически значимое подавление экспрессии гентингтина у мышей экспериментальной группы, которое было подтверждено методом deltaCt. Различие между экспериментальной и контрольной группами составило $1,288 \pm 0,378$ Ct, $p = 0,002$. Конфокальная микроскопия подтвердила визуальное распределение siRNA в околососудистые пространства и в клетках паренхимы.

Таким образом, была подтверждена эффективность ТО для подавления экспрессии гентингтина в ЦНС. Данная технология имеет потенциал, не ограниченный заболеваниями полиглутаминового ряда, поскольку возможно подавление экспрессии любого белка. Внутриклеточная локализация, растворимость и модификации белка-мишени не имеют значения.

Возьмите на заметку:

Инъекции siRNA данного типа обеспечивают длительное подавление таргетного белка после однократной инъекции. Использование ТО перспективно для терапии заболеваний центральной нервной системы и не ограничено болезнями полиглутаминового типа.

