

Получение дермальных фибробластов человека линии HT 1608 с генетическим нокдауном *YAP1*

Моргун Е.И.^{1*}, Черкашина О.Л.¹, Шитова М.С.¹, Мачинская М.А.¹,
Воротеляк Е.А.^{1, 2}

¹ Институт биологии развития РАН, Москва, Россия

² Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

* lady.morgun2016@yandex.ru

Ключевые слова: YAP; фибробласты; нокдаун

Мотивация и цель: целью нашего исследования было получение дермальных фибробластов человека линии HT 1608 с генетическим нокдауном *YAP1* для исследования генов-мишеней пути YAP/TAZ.

Методы и алгоритмы: в эксперименте были использованы иммортализованные фибробласты дермы человека линии HT 1608. Для ингибирования сигнального пути YAP/TAZ разработали плазмиду, экспрессирующую shRNA, нацеленную на мРНК гена *YAP1*. В качестве контроля использовали shRNA Scramble. Далее при помощи клеток HEK293T собирали лентивирусные частицы, содержащие плазмиду, и трансдуцировали целевые клетки. Спустя 3 дня после трансдукции добавили пуромицин для селекции клеток, содержащих плазмиду. После завершения селекции из клеток выделяли РНК, проводили обратную транскрипцию и ПЦР на ген-мишень пути YAP/TAZ – *CCN2*.

Результаты: показано, что экспрессия гена-мишени пути YAP/TAZ – *CCN2* в фибробластах, трансфицированных плазмидой, экспрессирующей анти-*YAP1* shRNA, была достоверно ниже, чем в контроле ($p \leq 0.05$).

Выводы: в ходе эксперимента были получены дермальные фибробласты человека линии HT1608 с генетическим нокдауном *YAP1*.

Финансирование: Исследование поддержано РНФ (проект № 21-74-30015).

Obtaining of the HT 1608 human dermal fibroblasts with gene-tic knockdown of *YAP1*

Morgun E.I.^{1*}, Cherkashina O.L.¹, Shitova M.S.¹, Machinskaya M.A.¹,
Vorotelyak E.A.^{1, 2}

¹ Koltzov Institute of Developmental Biology of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

² Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

* lady.morgun2016@yandex.ru

Key words: YAP; fibroblasts; knockdown

Motivation and Aim: the purpose of our study was to obtain human HT 1608 dermal fibroblasts with YAP1 genetic knockdown for the study of target genes of the YAP/TAZ pathway.

Methods and Algorithms: HT 1608 immortalized human dermal fibroblasts were used in the experiment. To inhibit the YAP/TAZ signaling pathway, a plasmid expressing shRNA targeting the mRNA of the *YAP1* gene was developed. shRNA Scramble was used as a control. Next, lentiviral particles containing plasmid were collected using HEK293T cells and the target cells were transduced. 3 days after transduction, puromycin was added to select cells containing plasmid. After the selection was completed, RNA was isolated from the cells, reverse transcription and PCR were performed on the target gene of the YAP/TAZ pathway – *CCN2*.

Results: it was shown that the expression of the target gene of the YAP/TAZ pathway *CCN2* in fibroblasts transfected with a plasmid expressing anti-YAP1 shRNA, was significantly lower than in the control ($p < 0.05$).

Conclusions: during the experiment, human dermal fibroblasts of the HT1608 line with a genetic knockdown of YAP1 were obtained.

Funding: The study is supported by the Russian Science Foundation (grant 21-74-30015).