

Разработка клеточных линий для производства рекомбинантных белков с использованием CRISPR/Cas9-опосредованной активации эндогенных факторов роста

В.А. Манувера*, П.А. Бобровский, Е.Н. Графская, Д.Д. Харлампиева, В.Н. Лазарев
*Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина
Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия*
* vmanuvera@yandex.ru

Ключевые слова: CRISPR-Cas9; пролиферация; факторы роста; HEK293

Development of cell lines for recombinant protein production using CRISPR/Cas9-mediated activation of endogenous growth factors

V.A. Manuvera*, P.A. Bobrovsky, E.N. Graftskaia, D.D. Kharlampieva, V.N. Lazarev
*Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of Federal Medical Biological
Agency, Moscow, Russia*
* vmanuvera@yandex.ru

Key words: CRISPR-Cas9; proliferation; growth factors; HEK293

Эффективное производство рекомбинантных белков для медицинских применений требует клеточных культур, способных к суспензионному росту в средах минимального состава, свободных от компонентов животного происхождения, таких как эмбриональная телячья сыворотка (ЭТС). Это обеспечивает масштабируемость, экономическую эффективность и снижает риск контаминации. В данной работе предложен новый подход к созданию клеточных линий, способных к автономной пролиферации за счет активации эндогенных генов факторов роста. В качестве модели использована линия Expi293F – суспензионный вариант клеток эмбриональной почки человека HEK293, оптимизированный для высокоплотного культивирования и продукции рекомбинантных белков. Для снижения зависимости от экзогенных факторов роста применена система CRISPR-Cas9-SAM (синергичные медиаторы активации), позволяющая избирательно усилить экспрессию генов *IGF-1*, *FGF-2* и *EIF3I*, критически важных для пролиферации. В ходе работы было показано, что модифицированные линии (Expi-IGF1, Expi-FGF2, Expi-EIF3I) демонстрируют повышенную скорость роста в стандартной среде с ЭТС. В среде без ЭТС автономный рост возможен только при совместном культивировании всех трех модифицированных линий. Кроме того, показано, что кондиционированная среда от модифицированных клеток повышает метаболическую активность нативных Expi293F. Полученные данные подтверждают, что активация эндогенных факторов роста позволяет снизить зависимость клеточных культур от экзогенных добавок. Дальнейшая оптимизация системы может привести к созданию полностью автономных линий, что упростит и удешевит производство рекомбинантных белков для биомедицины.

Финансирование: Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Федеральная научно-техническая программа развития генетических технологий на 2019–2030 годы № 075-15-2025-518).