

CRISPRa-опосредованная сверхэкспрессия генов *SOD3* и *GPX3* повышает устойчивость клеток HEK293 и HeLa к окислительному стрессу

Е.Е. Расова^{1*}, М.М. Тавлеева¹, Е.С. Белых¹, А.В. Рыбак¹, Л.М. Сенча², И.В. Балалаева², И.О. Велегжанинов¹

¹ *Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, Сыктывкар, Россия*

² *Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия*

* *elrasova@mail.ru*

Ключевые слова: CRISPRa; окислительный стресс; клеточная стрессоустойчивость

CRISPRa-mediated overexpression of *SOD3* and *GPX3* genes enhances the resistance of HEK293 and HeLa cells to oxidative stress

E.E. Rasova^{1*}, M.M. Tavleeva¹, E.S. Belykh¹, A.V. Rybak¹, L.M. Sencha², I.V. Balalaeva², I.O. Velegzhaninov¹

¹ *Institute of Biology of Komi Science Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, Russia*

² *National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russia*

* *elrasova@mail.ru*

Key words: CRISPRa; oxidative stress; cellular stress resistance

Регуляция клеточной стрессоустойчивости посредством CRISPRa-опосредованной сверхэкспрессии генов антиоксидантной системы является перспективным подходом по преодолению последствий окислительного стресса на клеточном уровне. Целью данного исследования была оценка эффектов одновременной сверхэкспрессии генов *SOD3* и *GPX3* на устойчивость клеток человека HEK293 и HeLa к окислительному стрессу, вызванному ионизирующим излучением и паракватом. Клетки подвергали трансфекции плазмидой, кодирующей белок dCas9 с активатором транскрипции VPН, и плазмидами, кодирующими геновые РНК к промоторам генов *SOD3* и *GPX3*. После облучения или воздействия паракватом оценивали выживаемость клеток с помощью флуориметрического анализа цитотоксичности в микрокультурах (FMCA), а также скорость миграции и пролиферации клеток на фоне сверхэкспрессии *SOD3* и *GPX3* без воздействия стрессовых факторов. По данным FMCA, после облучения и воздействия паракватом выживаемость клеток HEK293 со сверхэкспрессией *SOD3* (в 843-954 раза относительно базального уровня) и *GPX3* (в 22-36 раз) была достоверно выше в сравнении с контролем. Данный результат был частично воспроизведен на клетках HeLa. Кроме того, одновременное повышение экспрессии *SOD3* и *GPX3* в клетках HEK293 не стимулировало, а в HeLa снижало скорость миграции клеток, а также приводило к снижению уровня пролиферации в обеих культурах. Данные результаты, на наш взгляд, дают оптимистичный прогноз о целесообразности выбора *SOD3* и *GPX3* как эффективных и потенциально безопасных мишеней транскрипционной регуляции клеточной стрессоустойчивости.

Финансирование: Исследование поддержано Министерством науки и высшего образования Российской Федерации (Государственное задание №125020501526-3).