

Взаимодействие процесса CRISPR интерференции и механизмов, обеспечивающих стабильность генома, в клетках *Escherichia coli*.

Фоменко Елена Алексеевна

Студент (специалист)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

E-mail: lenafom1009@gmail.com

CRISPR-Cas система прокариот является одним из механизмов защиты бактериальных клеток от чужеродной ДНК. Она состоит из CRISPR кассет, локусов ДНК с идентичными повторами и разделяющими их уникальными спейсерами, и ассоциированных с CRISPR каскетами *cas* генов. Новые спейсеры встраиваются в CRISPR кассету в ходе CRISPR адаптации. CRISPR-cas система осуществляет разрезание ДНК фагов или плазмид, в которых имеются последовательности, идентичные последовательностям спейсеров, протоспейсеры [2]. Разрушение молекулы мишени под действием CRISPR-Cas системы называют CRISPR интерференцией. В настоящее время практически ничего не известно о взаимодействии CRISPR-Cas системы с системами клетки, обеспечивающими стабильность генома. Хотя изучение таких взаимодействий имеет как фундаментальное, так и большое прикладное значение, для развития технологий редактирования геномов у прокариот и в биотехнологических производствах.

В недавней работе [1] было показано значение ряда белков, обеспечивающих стабильность генома, в процессе CRISPR адаптации. Данная работа посвящена изучению роли белков систем рекомбинации и репарации в процессе CRISPR интерференции. В работе был использован штамм *E. coli*, имеющий CRISPR кассету со спейсером, комплементарным протоспейсеру в составе собственного генома клетки, и *cas* гены, находящиеся под индуцибельными промоторами. Индукция экспрессии *cas* генов в данном штамме приводит к аутоиммунной реакции и разрушению геномной ДНК в районе протоспейсера. В ходе работы методом трансдукции были получены четыре производных штамма с делециями генов *rnhA*, *recD*, *recG* и *ruvC*, ответственных за поддержание стабильности генома. В исходном и полученных штаммах был проведен сравнительный анализ эффективности CRISPR интерференции методом qPCR. Было показано, что делеции в генах *rnhA*, *recD* и *ruvC* влияют на степень повреждения генома, причем характер изменений зависит от конкретной мутации. Полученные результаты позволяют предположить несколько возможных механизмов взаимодействия систем, обеспечивающих стабильность генома, с процессом CRISPR интерференции.

Источники и литература

- 1) Ivančić-Baće I, Cass S, Wearne S, Bolt E. Different genome stability proteins underpin primed and naïve adaptation in *E. coli* CRISPR-Cas immunity. *Nucl. Acids Res.* 2015; 43(22):10821-10830.
- 2) Marraffini L. CRISPR-Cas immunity in prokaryotes. *Nature.* 2015; 526:55–61.

Слова благодарности

Автор благодарит научного руководителя Савицкую Екатерину Евгеньевну, а также Метлицкую Анастасию Зусьевну за вклад в работу и поддержку.