

**Применение технологии CRISPR/Cas9 в целях исследования роли
T-кадгерина в патогенезе атеросклероза**

Васильев Петр Андреевич

Студент (специалист)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет
фундаментальной медицины, Москва, Россия

E-mail: Vasiluev1993@yandex.ru

В настоящее время в медицинской науке наблюдается устойчивый тренд перехода от макроскопического уровня изучения заболевания к изучению его молекулярных механизмов. В связи с этим одним из наиболее перспективных объектов для изучения различных патологий являются клеточные культуры первичных и линейных клеток. Они позволяют моделировать различные заболевания и способствуют поиску новых способов их терапии. Культуры клеток могут быть использованы "как есть" или же, для расширения возможностей их применения, могут быть временно или перманентно модифицированы с использованием технологий siRNA, ZFNs, TALENs или CRISPR/Cas9.

Атеросклероз является актуальной проблемой современного общества. Существуют литературные данные о том, что одной из молекул, принимающих участие в развитии атеросклероза и других метаболических нарушений, является поверхностный GPI-заякоренный белок T-кадгерин. [n1, n2] Однако, его роль в развитии метаболических нарушений, молекулярные механизмы этих нарушений и способы их возможной коррекции остаются неясными. Для определения его вклада в формирование патологического сигнала при стимуляции клеток липопротеидами низкой плотности на основе линии клеток HeLa была создана популяция клеток, характеризующаяся низким уровнем экспрессии T-кадгерина.

Для получения данной популяции клеток использовали технологию CRISPR/Cas9. [n3] Был сформирован дизайн вектора, получена эффективно действующая конструкция и разработан уникальный протокол последовательной трансфекции клеток.

В результате, можно утверждать, что все аллели в отобранных клонах были изменены (данные сиквенса в прикрепленных файлах). Эффективность модифицирования на каждом из 3 этапов трансфекции составила 50%. Таким образом, была получена популяция клеток со сниженной на 87% экспрессией T-кадгерина. В качестве отдельного результата хотелось бы выделить, что проведенное исследование позволяет применять отработанную систему редактирования генома в клеточной и генной терапии в будущем. Изученная технология становится эффективным инструментом для работы с клеточными линиями при исследовании молекулярных механизмов разнообразных заболеваний.

Источники и литература

- 1) Парфенова Н.С., Танянский Д.А. АДИПОНЕКТИН: БЛАГОПРИЯТНОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ И СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫЕ НАРУШЕНИЯ. Артериальная гипертензия. 2013;19(1):84-96. DOI:10.18705/1607-419X-2013-19-1-84-96
- 2) Рубина К. А., Ткачук В. А., сосудов Рос Ф. Ж. T-кадгерин как антиадгезивная молекула и возможный рецептор липопротеидов низкой плотности в клетках кровеносных сосудов. Antiadhesive molecule t-cadherin is an atypical low-density lipoprotein receptor in vascular cells // Russian Physiological Journal. — 2004. — Т. 90, № 8. — С. 968–98

- 3) Multiplex Genome Engineering using CRISPR/Cas Systems Cong L, Ran FA, Cox D, Lin S, Barretto R, Habib N, Hsu PD, Wu X, Jiang W, Marraffini LA, Zhang F. Science. 2013 Jan 3. DOI: 10.1126/science.1231143

Иллюстрации

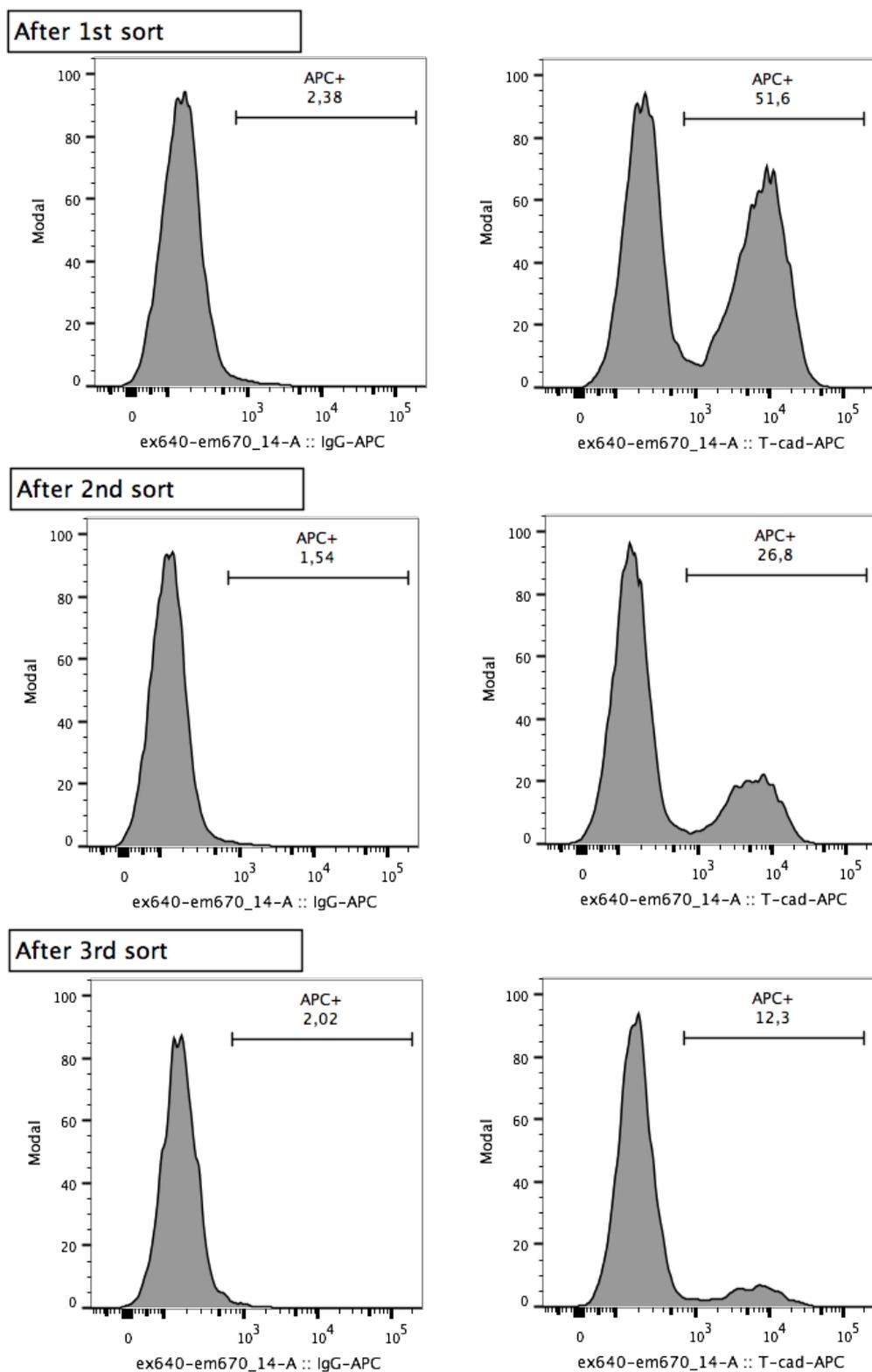


Рис. 1. Окраска поликлональными АТ к Т-кадгерину и измерение активности флуоресценции на сортере клеток.