

**Создание и характеристика линий индуцированных плюрипотентных
стволовых клеток человека, несущих трансген программируемой нуклеазы
AsCpf1 (Cas12a)**

Научный руководитель – Медведев Сергей Петрович

Вартанова Валерия Александровна

Студент (бакалавр)

Новосибирский государственный университет, Факультет естественных наук,
Новосибирск, Россия

E-mail: valeriavrtnv@gmail.com

Развитие систем редактирования генома в последние годы значительно увеличило возможности ученых изучать функции различных генов и модифицировать их. Внося различные изменения в существующие гены или интегрируя новые, возможно оценить роль различных генетических элементов в формировании фенотипа клетки. Отклонения фенотипа клеток от нормального способны приводить к различным заболеваниям, например, болезни Паркинсона, которая на данный момент является неизлечимой. Существующая терапия направлена на лечение симптомов заболевания, но со временем у пациентов возникает толерантность к используемым препаратам [3]. Поэтому актуальной задачей является изучение причин, лежащих в основе болезни Паркинсона, а также создание и тестирование новых лекарственных средств и методов терапии. Одним из существующих подходов к решению этой задачи является создание изогенных клеточных линий на основе клеток пациентов. Получение изогенных линий позволит изучать процесс развития патогенеза без влияния генетического фона и получать более адекватные данные.

Создание клеточных линий с мутациями в целевых генах стало возможным с помощью CRISPR-опосредованных систем, которые считаются наиболее перспективным инструментом генетической инженерии [2]. Однако CRISPR-ассоциированные системы имеют ряд недостатков, например, возникновение нецелевых эффектов, а также отсутствие высокой эффективности доставки компонентов системы в клетку [1]. Уменьшить влияние этих ограничений возможно, встроив часть CRISPR-системы в геном клетки, например, ген, кодирующий CRISPR-ассоциированную эндонуклеазу. В данной работе мы создали трансгенные линии: тестовую линию на основе HEK293A и трансгенную линию индуцированных плюрипотентных стволовых клеток пациента, страдающего болезнью Паркинсона. В своем геноме они несут ген эндонуклеазы AsCpf1 (Cas12a) под управляемым доксициклиновым промотором. Таким образом, для того, чтобы запустить процесс редактирования в такой клеточной линии, в клетку необходимо доставить лишь направляющую РНК или вирус, ее кодирующий. Наличие управляемого промотора позволит снизить нецелевую активность системы CRISPR/AsCpf1. В будущем данные линии станут платформами для создания прочих изогенных линий с различными мутациями, что позволит изучить их роль в развитии болезни Паркинсона.

Источники и литература

- 1) Fu Y. [et al.]. High frequency off-target mutagenesis induced by CRISPR-Cas nucleases in human cells // Nature Biotechnology. 2014. № 9 (31). С. 822–826.
- 2) Martinez-Lage M., Torres-Ruiz R., Rodriguez-Perales S. CRISPR/Cas9 Technology: Applications and Human Disease Modeling // Progress in Molecular Biology and Translational Science. 2017. №152. С. 23–48.

- 3) Nutt J.G. [et al.]. Does tolerance develop to levodopa? Comparison of 2-and 21-h levodopa infusions // *Movement Disorders*. 1993. № 2 (8). С. 139–143.