

Site-specific insertion of genes into the *Arabidopsis thaliana* genome using Cas9 endonuclease

**Permyakova N.V., Marenkova T.V., Belavin P.A.,
Zagorskaya A.A., Sidorchuk Yu.V.,
Uvarova E.A., Kuznetsov V.V., Rozov S.M.,
Deineko E.V.**

Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia
E-mail: puh@bionet.nsc.ru



Сайт-специфическое встраивание целевых генов в такой район генома, который характеризуется стабильно высоким уровнем экспрессии может решить проблему низкого уровня экспрессии рекомбинантных белков. В нашей лаборатории был проведен ряд экспериментов, позволивших разработать эффективный протокол сайт-специфического встраивания генов с помощью эндонуклеазы Cas9. Нами был экспериментально выявлен оптимальный состав трансгенной конструкции для встраивания. Целевые гены должны быть окружены участками ДНК гомологичными сайту встраивания в геномной ДНК дополненными сайтами узнавания эндонуклеазы Cas9. Эксперимент с различными способами доставки позволил выяснить, что доставка при помощи генной пушки более эффективна, чем агробактериальная трансформация. При этом при доставке конструкций с помощью генной пушки сайт-специфическое встраивание проходит эффективнее, если используются две плазмиды, одна из которых несет гены системы редактирования, а другая конструкцию с целевыми генами, так как для успешной гомологичной рекомбинации матрица для гомологичной рекомбинации должна быть представлена в клетке в достаточном количестве. Работа поддержана грантом РФФИ 21-14-00091.

The main publications of authors on the subject of the abstract:

1. Permyakova, N. V. et al. Assessment of the Level of Accumulation of the dIFN Protein Integrated by the Knock-In Method into the Region. *Cells* 2021, 10, 2137, doi:<https://doi.org/10.3390/cells10082137>.

2 Permyakova, N. V. et al. CRISPR/Cas9-Mediated Targeted DNA Integration: Rearrangements at the Junction of Plant and Plasmid DNA. *Int. J. Mol. Sci.* 2022, 23, doi:10.3390/ijms23158636.

Take-home message:

Для эффективного *knock-in* в геном растительной клетки матрица для гомологичной рекомбинации должна быть окружена плечами гомологии и сайтами узнавания Cas9

Для доставки конструкций в клетки лучше использовать генную пушку.