

Использование систем CRISPR-активации для разработки противовирусных препаратов

И.В. Карандашов^{1,2*}, А.П. Костюшева¹, С.А. Брезгин^{1,2}, А.С. Фролова¹, А.С. Тихонов¹, В.В. Володин¹, А.В. Качанов¹, И.А. Гоптарь¹, Ю.А. Дуванова¹, А.Н. Лукашев¹, Н.Ф. Закирова², А.В. Иванов², В.П. Чуланов^{1,2}, Д.С. Костюшев^{1,2}

¹ *Институт медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского Сеченовского Университета, Москва, Россия*

² *Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия*

* *ivan.karandashov@gmail.com*

Ключевые слова: CRISPR-активация; вирусные гепатиты В и D; внутриклеточный противовирусный иммунитет

Using CRISPR Activation systems for the development of antiviral drugs

I.V. Karandashov^{1,2*}, A.P. Kostyusheva¹, S.A. Brezgin^{1,2}, A.S. Frolova¹, A.S. Tikhonov¹, V.V. Volodin¹, A.V. Kachanov¹, I.A. Goptar¹, Yu.A. Duvanova¹, A.N. Lukashev¹, N.F. Zakirova², A.V. Ivanov², V.P. Chulanov^{1,2}, D.S. Kostyushev^{1,2}

¹ *Martsinovsky Institute of Medical Parasitology, Tropical and Vector-Borne Diseases, Sechenov University, Moscow, Russia*

² *Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Science, Moscow, Russia*

* *ivan.karandashov@gmail.com*

Key words: CRISPR activation; viral hepatitis B and D; antiviral innate immunity

Коинфекция вирусами гепатита В (ВГВ) и D (ВГД) вызывает наиболее тяжелую и быстро прогрессирующую форму вирусного гепатита. Пятилетняя выживаемость инфицированных пациентов не превышает 50% из-за быстрого развития цирроза и рака печени. Одним из перспективных направлений в лечении инфекции является поиск новых противовирусных факторов, способных элиминировать вирус из клеток человека.

В рамках данного исследования был определен список >150 потенциальных противовирусных факторов с исследованием их действия на моделях ВГВ и ВГД при использовании систем транзиторной CRISPR-активации транскрипции.

qПЦР подтвердил увеличение транскрипции целевых генов до 20000 раз. По результатам скрининга было выявлено, что 31 фактор способствует снижению более чем на 50% прегеномной РНК (пгРНК) и кольцевой ковалентно замкнутой ДНК (ккз ДНК) вируса гепатита В; 96 факторов снижают уровни РНК ВГД на >50%. Наиболее значимое снижение произошло при активации группы генов, связанных с m⁶A-метилированием РНК. Измерение стабильности РНК показало, что при активации отдельных факторов увеличивается скорость деградации РНК ВГВ и ВГД, при этом происходит увеличение стабильности мРНК и уровней белков факторов внутриклеточного ответа TLR3, TBK1, IRF7, STING.

В результате, с использованием систем CRISPR-активации были определены потенциальные кандидаты для элиминации ВГВ и ВГД и определены механизмы действия данных факторов.

Финансирование: Исследование поддержано грантом РФФИ № 25-65-00010.