

Молекулярные последствия CRISPR/Cas9-редактирования дубликации гена *STAG2*

М.И. Тубалова^{1,2*}, Г.С. Кокшарова³, М.М. Гридина^{1,2,3}, С. Коста⁴, А. Крепичи⁴, В.С. Фишман^{1,2,3}

¹ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

³ Научно-технологический университет «Сириус», Сочи, Россия

⁴ Университет Сан-Пауло, Сан-Пауло, Бразилия

* m.tubalova@g.nsu.ru

Ключевые слова: 3D-геномика; регуляция генов; индуцированные плюрипотентные клетки

The molecular consequences of CRISPR/Cas9-mediated editing of the duplicated *STAG2* gene

M.I. Tubalova^{1,2*}, G.S. Koksharova³, M.M. Gridina^{1,2,3}, S. Costa⁴, A. Krepischi⁴, V.S. Fishman^{1,2,3}

¹ Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

³ Sirius University of Science and Technology, Sochi, Russia

⁴ University of Sao-Paulo, Sao-Paulo, Brazil

* m.tubalova@g.nsu.ru

Key words: 3D-genomics; gene regulation; induced pluripotent stem cells

STAG2 – ключевой компонент комплекса когезина. Мутации в гене *STAG2* могут приводить к развитию когезинопатий. Нами описаны два брата с когезинопатией. Метод аCGH выявил у них микродубликацию Xq25 длиной 418 кб, в состав которой входил один полноразмерный ген – *STAG2*. Механизм развития данной патологии и роль сверхэкспрессии *STAG2* неясны.

Индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК) – хорошая модель для изучения механизмов развития заболеваний. Изогенные линии ИПСК позволяют минимизировать вариабельность, связанную с генетическим фоном. Мы запланировали эксперимент по «геномной коррекции», внося в ИПСК пациентов сдвиг рамки считывания в одну из копий гена *STAG2*, используя CRISPR/Cas9.

В 48 из 87 клонов была выявлена только одна геномная модификация. Мы предположили, что геномное редактирование привело к появлению идентичных мутаций. Однако в результате проведенного анализа транскриптома 10 клонов у 3 выявлено несоответствие между геномными модификациями и отсутствием экспрессии *STAG2*. Для более детального понимания структуры мутаций было проведено таргетное секвенирование. Выяснилось, что в 4 из 10 клонов в одну из копий встроились фрагменты плазмиды, содержащей Cas9, а в двух случаях произошли инверсии.

Наша работа подчеркивает, что детальный анализ локусов внесения разрывов при использовании CRISPR/Cas9 необходим для предотвращения неверной интерпретации результатов. Мы предложили эффективный метод анализа локусов редактирования, позволяющий определить структуру возникших перестроек, которую не видно при стандартном генотипировании с использованием ПЦР.

Финансирование: Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075-15-2024-539 от 24.04.2024) и бюджетным проектом ИЦиГ СО РАН (FWNR-2025-0017).