

CRISPR-AsCas12a-опосредованное редактирование геномов индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека

В.И. Ахмерова

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

v.akhmerova@g.nsu.ru

Ключевые слова: AsCas12a; геномное редактирование; индуцированные плюрипотентные клетки

CRISPR-AsCas12a-mediated genome editing of human induced pluripotent stem cells

V.I. Akhmerova

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

Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

v.akhmerova@g.nsu.ru

Key words: AsCas12a; genome editing; induced pluripotent stem cells

Для успешного изучения молекулярных механизмов заболеваний человека, поиска и тестирования лекарств необходимы модели, достоверно воспроизводящие патологический фенотип. Одним из перспективных вариантов являются модели основе индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека (ИПСК) с использованием систем редактирования генома, которые позволяют воспроизвести множество генетических вариантов. Ранее в лаборатории эпигенетики развития ИЦиГ СО РАН были получены линии ИПСК, имеющие трансген программируемой нуклеазы AsCas12a под управлением доксициклин-зависимого промотора.

Для редактирования геномов выбран AsCas12a, так как этот фермент обладает высокой специфичностью и подходит для мультиплексного редактирования генов. Однако, по некоторым данным, эффективность внесения разрывов AsCas12a сравнительно низкая и эта программируемая нуклеаза не может вносить разрыв в определенные участки генома, что связывают с плотной упаковкой хроматина в этих районах. В этой работе было показано, что эффективность внесения разрывов нуклеазой AsCas12a в локусы генома, замены в которых, ассоциированы с нейродегенеративными и сердечно-сосудистыми заболеваниями человека (локусы *MYBPC3*, *APOE*, *PSEN1*, *LRRK2* и *PRKN*), сопоставима с эффективностью внесения разрывов нуклеазой SpCas9. Кроме того, было продемонстрировано, что в линии ИПСК человека с трансгенном нуклеазы AsCas12a, успешно происходит AsCas12a-опосредованная гомологичная рекомбинация 3'-области гена *SOX6* с плазмидной донорной конструкцией. Полученные результаты показывают перспективность использования программируемой нуклеазы AsCas12a в качестве инструмента для редактирования геномов ИПСК и последующего получения клеточных моделей различных заболеваний человека.

Финансирование: Исследование поддержано бюджетным проектом ИЦиГ СО РАН, № FWNR-2022-0015.