

Функциональная геномика клеточной стрессоустойчивости с использованием CRISPRa

И.О. Велегжанинов^{1, 2*}, Е.С. Белых¹, Е.Е. Расова¹, М.М. Тавлеева¹, А.В. Рыбак¹, Р. Мханна², А.А. Черных¹

¹ Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия

² Университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия

* vellio@yandex.ru

Ключевые слова: клеточная стрессоустойчивость; транскрипционное программирование; CRISPRa

Functional genomics of cellular stress resistance using CRISPRa

I.O. Velezhaninov^{1, 2*}, E.S. Belykh¹, E.E. Rasova¹, M.M. Tavleeva¹, A.V. Rybak¹, R. Mhanna², A.A. Chernykh¹

¹ Institute of Biology FRC Komi SC UB RAS, Syktyvkar, Russia

² ITMO University, St. Petersburg, Russia

* vellio@yandex.ru

Key words: cellular stress resistance; transcriptional programming; CRISPRa

Функциональная геномика человека – это огромная по своему объему область современной биологии. Однако применение ее знаний для управления сложным фенотипом чрезвычайно ограничено. В том числе это касается управления клеточной устойчивости к генотоксическому и окислительному стрессу. Причинами этого, среди прочих, является недостаток экспериментальных данных следующего рода: а) эффектов одновременной сверхэкспрессии или подавления комбинаций функционально взаимосвязанных генов, б) эффектов сверхэкспрессии или подавления одних и тех же генов в различной степени, в) функциональных различий альтернативных транскриптов одних и тех же генов, г) размеченных транскриптомных данных для эффективного машинного обучения.

На основе большого массива сравнительных транскриптомных данных и систематического анализа литературы были найдены перспективные мишени и их функционально комплементарные комбинации с помощью сверхэкспрессии которых можно повысить клеточную стрессоустойчивость. Предложен новый механизм формирования радиоустойчивости опухолевых клеток, связанный со сверхэкспрессией противовирусного гена *IFITM1*.

С помощью технологии CRISPRa проведена серия экспериментов по оценке влияния сверхэкспрессии *IFITM1*, а также генов антиоксидантной защиты (*SOD1-3*, *CAT*, *GPX3*), распознавания повреждений геномной (*RPA1*, *XPC*, *RAD23B*) и митохондриальной ДНК (*MUTYH*) на устойчивость клеток НЕК293Т. Показано, что сверхэкспрессия функционально обоснованных комбинаций генов стресс-ответа может приводить к повышению стрессоустойчивости клеток, при том что сверхэкспрессия тех же генов по отдельности не имеет такого эффекта. На примере гена *SOD2* показана зависимость эффектов от дозы сверхэкспрессии. Предложены новые подходы к формированию размеченных транскриптомных данных, с использованием CRISPRa и CRISPRi для более эффективного машинного обучения.

Финансирование: Исследование поддержано государственным заданием, № 122040600024-5.