

Модификация системы праймированного редактирования с использованием нуклеаз для повышения ее эффективности

О.В. Володина^{1*}, А.Г. Демченко¹, А.А. Анучина^{1,2}, О.П. Рыжкова¹, В.А. Ковальская¹,
Е.В. Артемова¹, А.В. Лавров¹, С.А. Смирнихина¹

¹ ФГБНУ «МГНЦ», Москва, Россия

² МФТИ, Долгопрудный, Московская область, Россия

* olgavolodina@med-gen.ru

Ключевые слова: геномное редактирование; праймированное редактирование; генная терапия; муковисцидоз

Modification of prime editing system using nucleases to enhance its efficiency

O.V. Volodina^{1*}, A.G. Demchenko¹, A.A. Anuchina^{1,2}, O.P. Ryzhkova¹, V.A. Kovalskaya¹,
E.V. Artemova¹, A.V. Lavrov¹, S.A. Smirnikhina¹

¹ RCMG, Moscow, Russia

² MIPT, Dolgoprudny, Moscow Region, Russia

* olgavolodina@med-gen.ru

Key words: gene editing; prime editing; gene therapy; cystic fibrosis

Праймированное редактирование (PE) – современная платформа для точного внесения изменений в геном без образования двуцепочечных разрывов ДНК. Ее эффективность может снижаться из-за потери внесенных изменений в процессе удаления выступающих участков ДНК [1]. Для решения этой проблемы мы разработали 12 модифицированных систем PE, соединив редактор PEmax с одной из нуклеаз (FEN1, EXO1 или укороченной HEX-N2) через 4- или 16-аминокислотные линкеры.

Дизайн конструкций создавали с помощью PE-Designer, pegLIT и Benchling. Для сборки pegRNA использовали pU6-pegRNA-GG-акцептор, модифицированные редакторы клонировали в pCMV-PEmax. Эксперименты проводили на базальных клетках легкого, полученных из ЧИПСК пациентов с муковисцидозом (гомозиготы F508del в гене *CFTR*). Доставку осуществляли липофекцией, эффективность оценивали через 72 часа глубоким таргетным секвенированием. Статистический анализ проводили с использованием теста Данна в программе Graphpad Prism 9.

Наибольшую эффективность показала система редактирования на основе FEN1, связанной с PEmax 4-аминокислотным линкером – средний уровень коррекции F508del в гене *CFTR* был в два раза выше, чем при редактировании с помощью стандартной системы PEmax. Таким образом, была разработана эффективная модификация праймированного редактирования, перспективная для дальнейшего применения как в исследовательских целях, так и в целях разработки генной терапии на основе геномного редактирования.

Финансирование: Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России для ФГБНУ «МГНЦ».

Список литературы

1. Chen P.J., Hussmann J.A., Yan J. et al. Enhanced prime editing systems by manipulating cellular determinants of editing outcomes. *Cell*. 2021;184(22):5635-5652.e29. doi 10.1016/j.cell.2021.09.018