

Применение системы прайм-редактирования геномов для создания релевантных моделей наследственных заболеваний человека на основе изогенных линий ИПСК

Е.Р. Никитин^{1,2}, С.В. Павлова^{1,3}, С.М. Закиян^{1,3}, С.П. Медведев^{1,3*}

¹ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

³ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

* medvedev@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: прайм-редактирование; ИПСК; нейродегенерация; *SNCA*; *MAPT*

Application of genome prime editing to create isogenic iPSC-based relevant models of human inherited diseases

E.R. Nikitin^{1,2}, S.V. Pavlova^{1,3}, S.M. Zakian^{1,3}, S.P. Medvedev^{1,3*}

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

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

³ Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, SB RAS, Novosibirsk, Russia

* medvedev@bionet.nsc.ru

Key words: prime editing; iPSCs; neurodegeneration; *SNCA*; *MAPT*

Создание релевантных моделей для изучения заболеваний до сих пор остается актуальной проблемой биомедицины. Получение для исследований образцов тканей или органов пациентов затруднительно, а животные модели часто не способны полностью воспроизвести патологический фенотип, свойственный для человеческих заболеваний. Направленное внесение патогенных генетических вариантов в геномы индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) человека позволяет не только изучать молекулярные основы патогенеза заболеваний, но и является перспективным инструментом для клеточной терапии. С момента первого применения системы CRISPR/Cas9 для редактирования геномов эта технология претерпела множество модификаций. Одним из значимых открытий в данной области стала разработка системы прайм-редактирования, которая способна с большой точностью и эффективностью вносить целевые модификации в ДНК размером до 80 п.н., теоретически позволяя исправить до 89% известных патогенных вариантов в геноме человека.

В данном исследовании система прайм-редактирования была применена для создания изогенной клеточной модели болезни Паркинсона и таупатий, ассоциированных с патогенными вариантами в генах *SNCA* (с.88G>C и с.157G>A) и *MAPT* (с.14G>T, с.815G>T и с.902C>T). Были созданы плазмидные конструкции для повышения эффективности редактирования, экспрессирующие ngРНК, а также флуоресцентные белки, hMLH1dn и mp53DD. Применение стратегии, основанной на использовании белка-редактора PEmax, совместно с hMLH1dn, mp53DD и сортировки клеток (FACS), позволило добиться высокой эффективности редактирования и выхода целевых клонов на клетках линии HEK293FT и ИПСК человека.

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