

OPEN
BIO

СБОРНИК ТЕЗИСОВ

**IX МЕЖДУНАРОДНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ:
ВИРУСОЛОГОВ, БИОТЕХНОЛОГОВ, БИОФИЗИКОВ,
МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГОВ И БИОИНФОРМАТИКОВ**

В РАМКАХ ПЛОЩАДКИ ОТКРЫТЫХ КОММУНИКАЦИЙ OPENBIO

НАУКОГРАД КОЛЬЦОВО, 2022



ФБУН ГНЦ ВБ «ВЕКТОР»



ИННОВАЦИОННЫЙ
ЦЕНТР КОЛЬЦОВО



НАУКОГРАД КОЛЬЦОВО



БИОТЕХНОПАРК
КОЛЬЦОВО



БИОФАРМ



МЕЖДУНАРОДНЫЙ ФАКТОР
ИННОВАЦИОННЫЙ

**IX МЕЖДУНАРОДНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ:
ВИРУСОЛОГОВ, БИОТЕХНОЛОГОВ, БИОФИЗИКОВ,
МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГОВ И БИОИНФОРМАТИКОВ**

Сборник тезисов

Новосибирск
Наукоград Кольцово
2022

УДК 577.2:62.01:578+(001)
ББК 28.07:30.16:28.4
М431

М431 IX Международная конференция молодых ученых: вирусологов, биотехнологов, биофизиков, молекулярных биологов и биоинформатиков — 2022: Сб. тез. / АНО «Иннов. центр Кольцово». — Новосибирск : ИПЦ НГУ, 2022. — 764 с.

ISBN 978-5-4437-1362-5

Сборник тезисов составлен на основе материалов, присланных российскими и иностранными учеными в оргкомитет Международной научно-практической конференции молодых ученых биотехнологов, молекулярных биологов, вирусологов и биофизиков, проходящей в рамках площадки открытых коммуникаций OpenBio-2022.

Издание предназначено для преподавателей и научных сотрудников, аспирантов, магистрантов и студентов, интересующихся актуальными проблемами и разработками в области биотехнологии, вирусологии, молекулярной биологии и биофизики.

УДК 577.2:62.01:578+(001)
ББК 28.07:30.16:28.4

ЦИКЛИЧЕСКИЕ НАПРАВЛЯЮЩИЕ РНК ДЛЯ СОЗДАНИЯ ФОТОАКТИВИРУЕМОЙ СИСТЕМЫ CRISPR/Cas9*

Е. В. Иванская, Л. В. Саковина, Е. С. Горленко, И. П. Вохтанцев, Д. С. Новопашина

*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск
Новосибирский государственный университет*

✉ e.agalakova@g.nsu.ru

Аннотация

Одним из вариантов контроля активности систем геномного редактирования CRISPR/Cas является использование фоточувствительных направляющих РНК. Данная работа направлена на получение циклических фотоактивируемых crРНК для системы CRISPR/Cas9. Реализован дизайн, синтез конструкций олигорибонуклеотидов и осуществлена их циклизация. Продемонстрирована возможность фотоактивируемого расщепления модельной плазмиды системой CRISPR/Cas9, содержащей циклические фотомодифицированные направляющие crРНК.

Ранее нами были разработаны и использованы фоточувствительные направляющие РНК, содержащие фоторасщепляемые группировки в середине цепи, которые при облучении разрушаются, при этом действие системы CRISPR/Cas9 останавливается [1]. В качестве включения системы путем облучения светом мы предложили другой вариант конструкции, имеющий дополнительный фоторасщепляемый олигонуклеотид, который исходно блокирует направляющую РНК, а после облучения высвобождает ее, при этом система геномного редактирования активируется [2, 3].

В данной работе для создания фотоактивируемой системы CRISPR/Cas9 нами было предложено использовать циклические фоторасщепляемые направляющие crРНК, которые должны значительно хуже взаимодействовать с мишенью, tracrРНК и белком Cas9, в связи с чем система CRISPR/Cas9 не будет проявлять активности. После облучения светом с длиной волны 365 нм циклические РНК переходят в линейную форму, узнаются другими компонентами системы редактирования генома и могут взаимодействовать с ДНК-мишенью, что приводит к активации системы CRISPR/Cas9 (рис. 1).

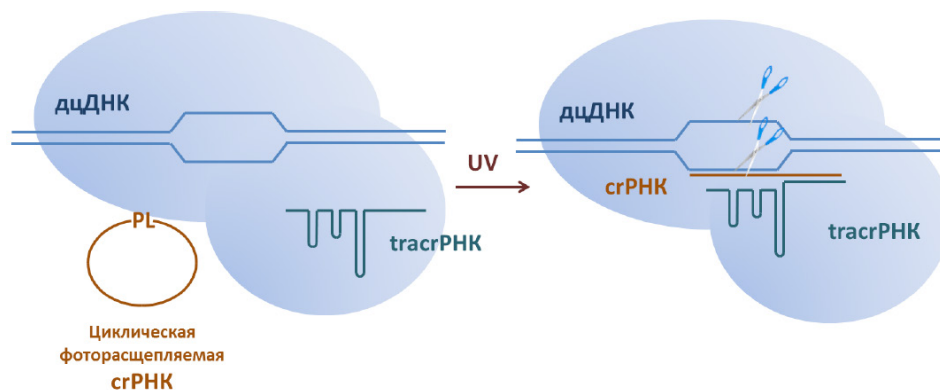


Рис. 1. Фотоактивация системы CRISPR/Cas9, PL — фотолинкер. А — ДНК-мишень и компоненты фотоактивируемой системы CRISPR/Cas9 до облучения. Б — активация системы геномного редактирования CRISPR/Cas9

Синтез исходных crРНК и введение фотолинкера осуществляли твердофазным фосфитамидным автоматическим методом. Для циклизации предварительно вводили алкиновую группировку на 3'-конец и азидогруппу на 5'-конец олигорибонуклеотидов, затем проводили реакцию азид-алкинового циклоприсоединения в водно-органической среде в присутствии одновалентной меди.

При исследовании эффективности расщепления плазмиды в системе CRISPR/Cas9 показано, что белок Cas9 в присутствии циклических немодифицированных crРНК, не содержащих фотолинкер, значительно хуже

* Исследования выполнены при поддержке гранта Российского научного фонда (№ 22-14-00294).

© Е. В. Иванская, Л. В. Саковина, Е. С. Горленко, И. П. Вохтанцев, Д. С. Новопашина, 2022

Научное издание

**IX МЕЖДУНАРОДНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ:
ВИРУСОЛОГОВ, БИОТЕХНОЛОГОВ, БИОФИЗИКОВ,
МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГОВ И БИОИНФОРМАТИКОВ**

Сборник тезисов

Корректоры

М. В. Власова, Д. И. Ковалёва, С. В. Исакова, Т. А. Маркова

Верстка А. С. Терешкиной

Обложка Е. В. Неклюдовой

Формат 60 × 84 1/8. Уч.-изд. л. 95,5. Усл. печ. л. 88,8.

Заказ № 214.

Издательско-полиграфический центр НГУ
630090, Новосибирск, ул. Пирогова, 2.