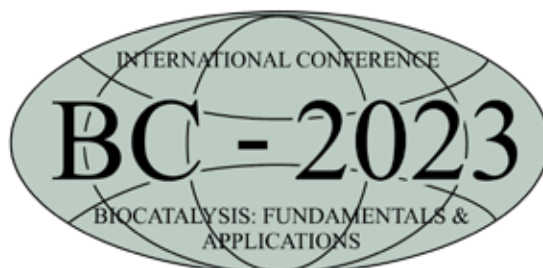




ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

13-ой Международной научной конференции
«БИОКАТАЛИЗ. ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ
ИССЛЕДОВАНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ»
(БИОКАТАЛИЗ - 2023),
г. Суздаль, Россия | Июнь, 25-29 2023





ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ
13-ой Международной научной конференции
«БИОКАТАЛИЗ. ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ
И ПРИМЕНЕНИЯ» (БИОКАТАЛИЗ - 2023),
г. Суздаль, Россия | Июнь, 25-29 2023

В рамках конференции прошли школы молодых учёных:

**«Разработка генетических технологий создания
штаммов-продуцентов для промышленной
биотехнологии»**

и

**«Генетические технологии для профилактики
и лечения инфекционных, онкологических
и аутоиммунных заболеваний»**

13-ая Международная научная конференция «БИОКАТАЛИЗ. ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ» (БИОКАТАЛИЗ - 2023), Суздаль, 2023. – 261 с.

ISBN 978-5-6048945-8-3

Настоящие материалы Конференции созданы на основании информации, предоставленной участниками и одобренные организационным комитетом. Материалы тезисов публикуются в авторской версии. Организаторы не несут ответственности за неточности и упущения в названиях и адресах, представленных в данном сборнике.

Основная тематика конференции:

- Структура, каталитический механизм, генетическая инженерия ферментов, методы и достижения в конструировании белков. Модели ферментов (биозимы).
- Получение и применение биокатализаторов на основе иммобилизованных ферментов, мультиферментных систем и клеток микроорганизмов в пищевой промышленности, органическом синтезе, агробиотехнологии и экологии.
- Ферменты и эффекторы в медицине, иммунохимии, нейрохимии и геномике. Биокаталитические технологии в развитии физико-химических методов для биомедицинских исследований. Биосенсоры и биочипы. Цифровые технологии в биокатализе. Ферменты резистентности. Ферменты и новая энергетика. Космическая энзимология.

ISBN 978-5-6048945-8-3



9 785604 894583

Издательство: ООО «АДМИРАЛ ПРИНТ»,
Москва, ул. Баркляя, д. 13 стр. 1

АНАЛИЗ АКТИВНОСТИ И СПЕЦИФИЧНОСТИ РАЦИОНАЛЬНО СКОНСТРУИРОВАННЫХ ВАРИАНТОВ БЕЛКА CAS9 ИЗ *STREPTOCOCCUS PYOGENES*

Вохтанцев И.П.,^{а,б} Кадцын Е.Д.,^{б,в} Аманова М.М.,^{а,б} Бакулина А.Ю.,^г Жарков Д.О.^{а,б}

^а *Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
630090, Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8*

^б *Новосибирский государственный университет,
630090, Новосибирск, ул. Пирогова, 1
e-mail: ivanvohtancev@gmail.com*

^в *Институт химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского СО РАН,
630090, Новосибирск, ул. Институтская, 3*

^г *Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»,
630559, Новосибирская обл., р.п. Кольцово*

В последнее десятилетие метод рационального дизайна широко использовался для улучшения инструментов редактирования генома на основе белка Cas9 из *Streptococcus pyogenes* [1-3]. Подход заключался в анализе рентгеноструктурных данных и создание замен аминокислот, участвующих в стабилизации неадресуемой цепи ДНК или дестабилизации гетеродуплекса sgРНК/ДНК, чтобы повысить специфичность системы CRISPR/Cas9. В данной работе использовались методы молекулярной динамики и химической кинетики для того, чтобы прояснить термодинамические и кинетические аспекты активности и специфичности CRISPR/Cas9.

Посредством молекулярно-динамического анализа были идентифицированы аминокислоты, оказывающие наибольший вклад во взаимодействие с sgРНК/ДНК. Для дальнейшего аланинового скрининга были выбраны аминокислоты (K163, F164, R403, K918) с различной энергией взаимодействия.

Кинетические исследования показали, что нет существенных изменений в наблюдаемых константах скорости реакции для белков дикого типа (WT) и мутантов при расщеплении дуплексных субстратов без мисматча. Однако для всех субстратов с одним мисматчем (4, 9, 14, 18 п.н. от РАМ) наблюдалось снижение активности расщепления белком дикого типа. Профили специфичности белка дикого типа и мутантов K163A, F164A незначительно отличались друг от друга. Мутант R403A был более специфичным, а K918A был менее специфичен относительно белка дикого типа.

Полученные данные свидетельствуют о том, что полная энергия белка и термодинамический вклад отдельных аминокислот не коррелируют с кинетикой.

Для того, чтобы выявить основы термодинамической специфичности Cas9 было проведено моделирование гетеродуплекса с мисматчем в положение 14 п.н. от РАМ для мутанта R403A и белка дикого типа, а также создана библиотека всех сочетаний исследуемых замен для редактирования гена *rpoB E. coli*.

Литература

1. Kleinstiver B.P. et al. *Nature*, 2016, **529**, 490-495.
2. Slaymaker I.M. et al. *Science*, 2016, **351**, 84-88.
3. Chen J.S. et al. *Nature*, 2017, **550**, 407-410.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 21-74-10104.