

**Разработка системы коррекции однонуклеотидной замены с.840 С>Т в 7 экзоне гена SMN2**

**Научный руководитель – Валетдинова Камила Робертовна**

**Овечкина Вера Сергеевна**

*Студент (бакалавр)*

Новосибирский государственный университет, Факультет естественных наук,  
Новосибирск, Россия

*E-mail: Vs\_ovechkina@mail.ru*

Однонуклеотидные замены в кодирующих участках генов являются распространенной причиной многих наследственных заболеваний [1]. В случае спинальной мышечной атрофии (СМА) замена с.840 С>Т в 7 экзоне гена *SMN2* приводит к нарушению сплайсинга и вырезанию данного экзона из большей части (до 90%) транскриптов [2]. Коррекция сплайсинга путем обратной замены Т→С является перспективным подходом для разработки методов лечения данного заболевания.

Целью работы является создание молекулярно-генетических инструментов на основе системы CRISPR/Cas9 для коррекции замены с.840 С>Т в 7 экзоне гена *SMN2* и их тестирование на линии фибробластов, полученных от пациента со СМА.

На основании биоинформатического анализа было выбрано три потенциальных мишени (Т1-3) для системы CRISPR/Cas9. Эффективность внесения двуцепочечных разрывов каждой из трех систем в фибробласты пациента со СМА была проанализирована с помощью программного обеспечения TIDE. Показано, что наименьшее количество инсерций/делеций ( $10,1 \pm 2,1\%$ ) наблюдается при работе системы Т1, наибольшее ( $17,9 \pm 3,7\%$ ) - при работе системы Т2. Система Т3 показала промежуточное значение эффективности -  $12,1 \pm 1,9\%$ . При анализе нецелевых эффектов с помощью программного обеспечения COSMID было показано, что наименьшее количество потенциальных нецелевых сайтов имеет протоспейсер Т1, наибольшее - Т3. Однако наиболее вероятные сайты нецелевой активности находятся в некодирующих участках генов. Таким образом, по результатам анализа целевой и нецелевой активности для дальнейшей работы по коррекции замены с.840 С>Т в 7 экзоне гена *SMN2* была выбрана система Т2. Также были сконструированы различные варианты донорных плазмид, несущие в своём составе помимо участков гомологии селекционную кассету. Их эффективность будет изучена в последующих экспериментах.

Исследование выполнено в институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН при поддержке гранта РФФИ № 17-75-10041.

**Источники и литература**

- 1) Li M., Goncarenco A., Panchenko A.R. (2017) Annotating Mutational Effects on Proteins and Protein Interactions: Designing Novel and Revisiting Existing Protocols. In: Comai L., Katz J., Mallick P. (eds) Proteomics. Methods in Molecular Biology, vol 1550. Humana Press, New York, NY
- 2) Monani, U. R., Lorson, C. L., Parsons, D. W., Prior, T. W., Androphy, E. J., Burghes, A. H. M., & McPherson, J. D. (1999). A single nucleotide difference that alters splicing patterns distinguishes the SMA gene SMN1 from the copy gene SMN2. Human Molecular Genetics, 8(7), 1177–1183.