

CRISPR/Cas9-опосредованное моделирование семейной гиперхолестеринемии

Научный руководитель – Захарова Ирина Сергеевна

Зуева Александра Сергеевна

Студент (бакалавр)

Новосибирский национальный исследовательский государственный университет,

Новосибирск, Россия

E-mail: a.zueva@umschool.pro

Семейная гиперхолестеринемия (СГХС) – распространенное моногенное заболевание, которое характеризуется повышенным риском развития атеросклеротических поражений сосудов, приводящих к хроническим заболеваниям сердечно-сосудистой системы. Патогенез обусловлен нарушениями в работе рецепторов липопротеинов низкой плотности и повышением уровня липопротеинов низкой плотности, связывающих и переносящих холестерин [1].

Возникновение атеросклеротических бляшек в сосудах как следствия семейной гиперхолестеринемии, в основном, обусловлено патогенными вариантами гена рецептора *LDLR*. Сегодня не существует эффективных методов диагностики и лечения СГХС, поэтому необходимо создать модели для разработки таргетной и персонализированной терапии заболевания.

Целью исследования является получение генетически модифицированных линий индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) со скорректированными аллельными вариантами гена *LDLR*, изогенных линии ИПСК пациента-компаундной гетерозиготы с СГХС.

Линия ИПСК, используемая в работе, получена от пациента с СГХС с двумя аллельными вариантами гена *LDLR*: с.530C>T (p.Ser177Leu), ClinVar ID 3686/rs121908026 и с.1054T>C (p.Cys352Arg), ClinVar ID 251618/rs879254769 [3]. Эти однонуклеотидные замены являются патогенным и вероятно патогенным аллельными вариантами гена *LDLR*. Функциональное исследование внесет вклад в подтверждение патогенности данных миссенс-мутаций.

Для эффективной и точной коррекции однонуклеотидных замен в работе использован CRISPR/Cas9-опосредованный метод редактирования оснований (base editing), позволяющий внести изменения без двухцепочечных разрывов ДНК с минимальным количеством нецелевых эффектов [2]. Для этого синтезирована универсальная плаزمиды pC9-sgRNA-mCherry, в которую были заклонированы последовательности направляющих РНК. Плазмиды, кодирующие адениновый и цитидиновый редакторы оснований, а также направляющие РНК, доставлены в ИПСК методом липофекции. Полученные генетически модифицированные ИПСК будут дифференцированы в эндотелиальном и гепатоцитарном направлениях для изучения вклада исследуемых аллельных вариантов *LDLR* в развитие патогенетических признаков СГХС на модели релевантных клеточных типов.

Источники и литература

- 1) Benito-Vicente et al. Familial hypercholesterolemia: the most frequent cholesterol metabolism disorder caused disease // International journal of molecular sciences. 2018, V. 19 (11), 3426.
- 2) Porto et al. Base editing: advances and therapeutic opportunities // Nature Reviews Drug Discovery. 2020, V. 19, p. 839–859.

- 3) Zakharova et al. Induced pluripotent stem cell line ICGi036-A generated by reprogramming peripheral blood mononuclear cells from a patient with familial hypercholesterolemia caused due to compound heterozygous p.Ser177Leu/p.Cys352Arg mutations in LDLR // Stem Cell Research. 2022, V. 59, 102653.