

Создание модельной системы для изучения *in vivo* роли белка CLAMP в привлечении комплекса дозовой компенсации на X-хромосому самцов *Drosophila melanogaster* путем направленного редактирования генома с использованием CRISPR/Cas9 системы.

Научный руководитель – Максименко Оксана Геннадьевна

Котов Александр Александрович

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биоинженерии, Москва, Россия

E-mail: cotov.sanya.2009@yandex.ru

В последнее время использование системы CRISPR/Cas9 приобрело большую популярность в биологических исследованиях. Особенностью CRISPR/Cas9 системы является её относительная простота в использовании по сравнению с TALEN и нуклеазами, содержащими цинковые пальцы. На данный момент существует большое число модификаций CRISPR/Cas9 системы, которые применяются в различных областях биологии для широкого спектра задач, таких как: нокаут одиночных генов, создание трансгенных организмов, проведение геномных скринингов, внесение масштабных геномных мутаций (делеций и инверсий), и даже попытки применения в генной терапии и использования её в качестве генных драйверов.

Цели. Целью данной работы было использование системы CRISPR/Cas9 для создания устойчивых линий мух с делецией гена *clamp* и репарирующей ген *clamp* трансгенной конструкцией.

Общий план работы. На первом этапе мы получали мутантную по гену *clamp* линию мух. Для этого с помощью CRISPR/Cas9 системы производилось вырезание кодирующей части гена белка с последующей его заменой на последовательность, которая содержала маркерный ген *mCherry* под актиновым промотором и сайт рекомбинации *attP*. Отбор трансформантов производился по свечению флуоресцентного белка *mCherry*. Встройка конструкции в нужное место генома подтверждалась методом ПЦР с использованием специфичных праймеров.

Результаты. На данный момент имеются четыре линии мух *Drosophila melanogaster* с делецией гена *clamp*. Полученные линии мух выживают в гетерозиготном по делеции состоянии (гомозиготные особи не доживают до стадии имаго).

Далее с помощью рекомбинации по *attP* сайту планируется восстановление гена *clamp*. Для этого была создана трансгенная конструкция, содержащая вырезанную последовательность гена *clamp*, сайт рекомбинации *attB* и маркерный ген *white*.

В дальнейшем на данной модельной системе планируется исследовать влияние мутаций участков белка CLAMP, ответственных за связывание GAGA-богатых геномных мотивов и компонентов комплекса дозовой компенсации (*Msl2*, *Mle*).

Выводы. Несмотря на то, что работа ещё продолжается, уже на основании промежуточных результатов можно говорить об успешном использовании CRISPR/Cas9-системы для редактирования целевой последовательности.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №14-24-00166