

Редактирование мутации в гене *MEN1* как новый подход к изучению молекулярных механизмов развития множественной эндокринной неоплазии 1 типа

Научный руководитель – Молдогазиева Нурбюбю Тентиевна

Незлина Александра Леонидовна

Студент (специалист)

Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова,
Москва, Россия

E-mail: ala.nezlina@gmail.com

Множественная эндокринная неоплазия 1 типа (МЭН1) - это аутосомно доминантный наследственный синдром, при котором наблюдается гиперплазия или злокачественная трансформация сразу нескольких эндокринных желез. В большинстве случаев у пациентов с МЭН1 обнаруживаются мутации в гене *MEN1*, однако молекулярные механизмы развития данного синдрома до сих пор не ясны ввиду нечетких генотип-фенотип корреляций. Перспективным подходом является создание изогенных клеточных линий, моделирующих заболевание, с помощью технологии геномного редактирования CRISPR/Cas9. Система CRISPR/Cas9 дает возможность исправить мутацию благодаря внесению в конкретный участок генома двухцепочечного разрыва, который затем может быть репарирован по механизму гомологичной рекомбинации [2].

Целью данной работы было создание генетических конструкций, экспрессирующих компоненты системы CRISPR/Cas9, для исправления мутации в гене *MEN1*. Моделью для геномного редактирования и создания изогенной системы служили клетки пациента с диагнозом МЭН1, у которого была обнаружена однонуклеотидная замена в экзоне 9 гена *MEN1*. На первом этапе работы была проанализирована последовательность гена и выбраны три потенциальные мишени для системы CRISPR/Cas9. С использованием биоинформатических ресурсов был проведен дизайн направляющих РНК. Далее соответствующие олигонуклеотиды были клонированы под контроль промотора U6 в вектор, содержащий ген Cas9. Затем посредством секвенирования плазмидной ДНК мы проанализировали клоны трансформантов *E. coli* на наличие вставки, т.е. спейсера направляющей РНК. В результате были получены три конструкции, экспрессирующие соответствующие направляющие РНК, предназначенные для редактирования мутации в гене *MEN1*.

В настоящее время мы проводим оценку эффективности и специфичности работы полученных генетических конструкций на культурах клеток. В дальнейшем будет выбрана оптимальная конструкция и проведено редактирование пациент-специфичных клеток, мутантных по гену *MEN1* с использованием донора для гомологичной рекомбинации. Полученная система изогенных клеточных линий послужит релевантной моделью для изучения молекулярно-генетических механизмов развития синдрома МЭН1.

Источники и литература

- 1) Falchetti A. Genetics of multiple endocrine neoplasia type 1 syndrome: what's new and what's old // F1000Res. 2017. 6:73.
- 2) Jinek M. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity // Science. 2012. 337 (6096). P. 816-21.