

Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования «Новосибирский национальный
исследовательский государственный университет»
Факультет естественных наук
Кафедра цитологии и генетики

СОЗДАНИЕ КЛЕТОЧНОЙ МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ ХАНТИНГТОНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СИСТЕМЫ РЕДАКТИРОВАНИЯ ГЕНОМА CRISPR/Cas9

Динара Витальевна Шарипова

Руководитель: к.б.н. А. А. Малахова, н.с. ИЦиГ СО РАН

Объем работы: 44 страницы, 15 рисунков, 8 таблиц, 54 источника литературы.

Цель:

Внесение мутаций в ген *HTT* с использованием системы редактирования генома CRISPR/Cas9 и исследование их влияния на жизнеспособность клеток человека *in vitro*.

Методы проведенных исследований:

Генно-инженерные методы: рестриктазно-лигазный метод конструирования гибридных молекул ДНК, трансформация компетентных клеток *E. coli*, секвенирование ДНК, ПЦР, электрофоретическое разделение ДНК; выделение ДНК и РНК, методы культивирования клеток млекопитающих, трансфекция клеток млекопитающих, иммунофлуоресцентное окрашивание клеток, окрашивание клеток на Annexin/PI, измерение скорости пролиферации клеток реагентом ХТТ.

Основные результаты:

Получено 4 клонa клеточной линии SH-SY5Y, несущих делецию в первом экзоне гена *HTT*. Клетки линии HEK293 экспрессируют некоторые нейральные маркеры. *HTT* экспрессируется как в нормальных, так и в мутантных линиях HEK293. Добавление ингибитора протеасом приводит к повышению уровня гибели мутантных клеток относительно нормальных. Мутантные линии клеток демонстрируют повышенный уровень апоптоза и сниженную скорость пролиферации по сравнению с нормальной линией клеток.