

Разработка технологии моделирования однонуклеотидных полиморфизмов с целью изучения роли изоформ белка PPAR γ в развитии метаболического синдрома

Научный руководитель – Карагяур Максим Николаевич

Скрябина М.Н.¹, Гладкова М.Г.², Джауари С.С.³

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Кафедра биологической и медицинской химии, Москва, Россия, *E-mail: skrebbka@gmail.com*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия, *E-mail: marinegladkova@gmail.com*; 3 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Кафедра биологической и медицинской химии, Москва, Россия, *E-mail: Stalik.djauari@yandex.ru*

Метаболический синдром - это совокупность метаболических нарушений (таких как центральное и абдоминальное ожирение, системная гипертензия, инсулинорезистентность и атерогенная дислипидемия), повышающих вероятность развития воспалительной патологии, сердечно-сосудистых заболеваний, инсульта, сахарного диабета, болезней накопления etc. Примерно 20-25% взрослого населения мира страдают от этой патологии и число жертв метаболического синдрома ежегодно растёт. Важнейшим фактором решения данной проблемы является работа по изучению молекулярно-генетических путей развития метаболического синдрома.

Одним из ключевых генов, влияющих на развитие метаболического синдрома, является мастер-ген адипоцитарной дифференцировки PPAR γ . Некоторые точечные нуклеотидные мутации этого гена (SNP rs200479885, rs1553643326, rs1378972597, rs28936407, rs530007199 и rs370830238) ассоциированы с развитием метаболических нарушений, однако взаимосвязь между этими явлениями изучена недостаточно. Наш коллектив работает над моделированием таких однонуклеотидных мутаций при помощи редакторов оснований: аденозин- и цитозиндезаминаз. В качестве модельного объекта нами используется культура иммортализованных мезенхимных стромальных клеток человека ASC52telo,

На данный момент нами получены оптимизированные генетические конструкции, обеспечивающие лентивирусную доставку редакторов оснований и направляющих РНК (gRNA) в модифицируемые клетки, а также сами редакторы оснований: четыре плазмиды, кодирующие различные аденозиндезаминазы со сниженной нецелевой активностью. На следующем этапе мы планируем начать работать с клеточными культурами, что, предположительно, позволит нам установить взаимосвязь между указанными SNP в гене PPAR γ , развитием метаболического синдрома и индивидуальной восприимчивостью таких пациентов к терапии.

В работе были использованы коллекции клеток и генетических конструкций, собранных и сохраняемых в рамках проекта «Ноев ковчег», и оборудования, приобретенного за счет средств Программы развития МГУ имени М.В. Ломоносова.

Источники и литература

- 1) Agostini M. и др. Non-DNA binding, dominant-negative, human PPAR γ mutations cause lipodystrophic insulin resistance // Cell Metab. 2006. Т. 4. No 4. С. 303–311.
- 2) Arthur A., Zannettino A., Gronthos S. The therapeutic applications of multipotential mesenchymal/stromal stem cells in skeletal tissue repair // J. Cell. Physiol. 2009. Т. 218. No 2. С. 237–245.

- 3) Berger J. и др. A PPAR γ mutant serves as a dominant negative inhibitor of PPAR signaling and is localized in the nucleus // *Mol. Cell. Endocrinol.* 2000. Т. 162. No 1–2. С. 57–67.
- 4) DeFronzo R.A., Ferrannini E. Insulin resistance: A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease // *Diabetes Care.* 1991. Т. 14. No 3. С. 173–194.
- 5) Doudna J.A., Charpentier E. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9 // *Science* (80-.). 2014. Т. 346. No 6213.
- 6) Eid A., Alshareef S., Mahfouz M.M. CRISPR base editors: Genome editing without double-stranded breaks // *Biochem. J.* 2018. Т. 475. No 11. С. 1955–1964.
- 7) Grünewald J. и др. Transcriptome-wide off-target RNA editing induced by CRISPR-guided DNA base editors // *Nature.* 2019a. Т. 569. No 7756. С. 433–437.
- 8) Kim Y.B. и др. Increasing the genome-targeting scope and precision of base editing with engineered Cas9-cytidine deaminase fusions // *Nat. Biotechnol.* 2017. Т. 35. No 4. С. 371–376.
- 9) Takada I., Kouzmenko A.P., Kato S. Wnt and PPAR γ signaling in osteoblastogenesis and adipogenesis // *Nat. Rev. Rheumatol.* 2009. Т. 5. No 8. С. 442–447.