

ЮБИЛЕЙНАЯ 25-АЯ ПУЩИНСКАЯ
ШКОЛА-КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ
СБОРНИК ТЕЗИСОВ

25
БИОЛОГИЯ
НАУКА XXI ВЕКА



УДК 576:577:579:574
ББК 28.7 + 28.4
С23

С23 Сборник тезисов 25-ой Пушкинской школы-конференции молодых ученых с международным участием «БИОЛОГИЯ – НАУКА XXI ВЕКА».
Пушино: ФИЦ ПНЦБИ РАН, 2022. – 379 с.

ISBN 978-5-91874-907-4

С 18 по 22 апреля в г. Пушкино проходила юбилейная 25-ая Пушкинская школа-конференция молодых ученых с международным участием «Биология – наука XXI века». На конференции были рассмотрены новейшие достижения и результаты исследований молодых ученых, специализирующихся в различных областях биологической науки. Были проведены мастер-классы и пленарные лекции ведущих ученых. В сборнике представлены тезисы 370 докладов участников конференции по следующим направлениям:

- микробиология и вирусология;
- биофизика и биоинформатика;
- молекулярная биология;
- биохимия;
- экология;
- почвоведение;
- биофармацевтика;
- биотехнология;
- физиология животных и фундаментальная биомедицина;
- физиология растений и фотобиология.

Публикуется в авторской редакции

УДК 576:577:579:574
ББК 28.7 + 28.4

Сборник издан при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках проекта Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019-2027 годы (Соглашение № 075-15-2021-1051).

ISBN 978-5-91874-907-4

© Коллектив авторов
© Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», 2022



РАЗРАБОТКА СИСТЕМ ДЛЯ РЕДАКТИРОВАНИЯ ЖИЗНЕННО-ВАЖНЫХ ГЕНОВ ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* С ПОМОЩЬЮ CRISPR/CAS9

Матвеевко А.Г., Михайличенко А.С., Зайцева Н.А., Журавлева Г.А.

Кафедра генетики и биотехнологии, Санкт-Петербургский государственный университет,
Санкт-Петербург, Россия

a.matveenko@spbu.ru

Изучение функций жизненно-важных генов является сложной задачей для генетики микроорганизмов. Для таких исследований как правило используют жизнеспособных или условно-жизнеспособных мутантов, но в организмах, способных поддерживать плазмиды, возможно анализировать любые мутации или модификации жизненно-важных генов. Для этого существует методика «плазмидного шаффлинга», активно используемая в исследованиях дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Однако для использования этой методики необходимо сначала получить штамм, в котором единственная копия жизненно-важного гена поддерживается на плазмиде, а хромосомная копия полностью инактивирована. Классический способ получения таких штаммов весьма трудоёмок и занимает довольно длительное время, так как для этого сначала необходимо получить аутодиплоид из анализируемого нами штамма, затем нужно получить штамм, в котором активная и неактивная копия гена находятся в гетерозиготе, трансформировать этот штамм плазмидой, содержащей тот же самый ген, после чего провести споруляцию и отобрать только тех гаплоидных сегрегантов, которые несут данный ген на плазмиде, но не в хромосоме.

В последнее десятилетие бурно развиваются технологии редактирования генома, что во многом связано с открытием системы CRISPR/Cas9, позволяющей относительно легко осуществлять разрывы в ДНК с заданной последовательностью. В совокупности с высокой эффективностью гомологичной рекомбинации, использование системы CRISPR/Cas9 позволяет осуществлять самые разнообразные манипуляции с геномом дрожжей. Мы попробовали использовать эту систему для редактирования жизненно-важных генов, в частности, для их дизрупции в гаплоидных штаммах. Мы разработали векторы, позволяющие встраивать различные мишени в геномную РНК с помощью стандартных методов клонирования. С помощью полученных конструкций удавалось эффективно вносить мутации в жизненно-важный ген *SUP35*, однако все попытки осуществить дизрупцию гена *SUP35* оказались неудачными. Тогда мы воспользовались тем, что фактор элонгации трансляции eEF1A кодируется у дрожжей двумя генами, *TEF1* и *TEF2*, с идентичными кодирующими последовательностями, но различными промоторами и терминаторами. Нам удалось осуществить дизрупцию гена *TEF1*, который являлся жизненно-необходимым в штамме с дизрупцией гена *TEF2*, в присутствии *TEF2* на плазмиде. Таким образом получить дизрупцию жизненно-важного гена возможно, но при наличии плазмиды, в которой кодирующая последовательность этого гена фланкирована промотором и терминатором другого гена.

Работа поддержана РЦ РМиКТ НП СПбГУ и грантами РНФ 18-14-00050 и РФФИ 20-34-70156.