

CRISPR-АСОЦІЙОВАНІ ТРАНСПОЗАЗИ В БІОТЕХНОЛОГІЇ ОТРИМАННЯ ДОКСОРУБІЦИНУ ГІДРОХЛОРИДУ

Франчук Є.Р.

*Національний технічний університет
«Харківський політехнічний інститут», м. Харків*

Використання CRISPR-Cas9 в традиційній геномній інженерії призводить до утворення дволанцюгових розривів (ДЛР), що є причиною появи небажаних побічних продуктів і зниження чистоти, тому виникає необхідність у пошуку способів модифікувати дані молекулярні ножиці для застосування не тільки в медичній генетиці, а й в мікробіологічному синтезі [1, 2].

За допомогою CRISPR-асоційованих транспозаз (CASTs) типу I-F можна уникнути цих негативних наслідків. Відбувається оптимізація таргетування ДНК-комплексом QCascade за допомогою комплексу білків та залучення потужних транскрипційних активаторів, завдяки багатовалентному рекрутингу AAA⁺ АТФази TnsC до геномних ділянок, на які спрямований QCascade [1].

Інтеграція на основі плазмиди дозволила перевірити 15 додаткових систем CAST з широкого спектру бактеріальних хазяїв. Ідентифікований гомолог з *Pseudoalteromonas* покращив активність комплексу і підвищив ефективність інтеграції. Було виявлено, що бактеріальний ClpX посилює геномну інтеграцію на кілька порядків, ймовірно, шляхом сприяння активному розбиранню постінтеграційного комплексу CAST [1].

CRISPR-асоційовані транспозази мають здатність відновлювати складні багатокомпонентні механізми в клітинах людини, що створює основу для їх використання в еукаріотичної геномної інженерії. Зокрема, в конструюванні еукаріотичного надпродуценту доксорубіцину. В цій технології цілевою клітиною може виступати гібридома пухлинних і епітеліальних клітин. Клітина-гібридома буде синтезувати за рахунок введеного вектора необхідний антибіотик, а залучення пухлинної клітини надасть їй спроможність виживати протягом тривалого часу. Іншим способом отримання надпродуценту є використання добре вивченої клітини дріжджів [1, 2].

Отже, новітні методи генної інженерії з використанням CRISPR-асоційованих транспозаз (CASTs) типу I-F допоможуть у вдосконаленні отримання доксорубіцину. Хоча ще потрібні досліді, щоб визначити ефективність даних технологій.

Література:

1. George D.L., Rebeca T.K., Tyler S. H. et al. Публікація в журналі PMID: 36993517, "Nature Biotechnology". Targeted DNA integration in human cells without double-strand breaks using CRISPR RNA-guided transposases. 2023. DOI: 10.1101/2023.03.17.533036
2. Niraula N.P., Kim S.H., Sohng J.K., et al. Публікація в журналі Vol. 87 Issue 4, p. 1187-1194, "Appl Microbiol Biotechnol". Biotechnological doxorubicin production: pathway and regulation engineering of strains for enhanced production. 2010. DOI: 10.1007/s00253-010-2675-3