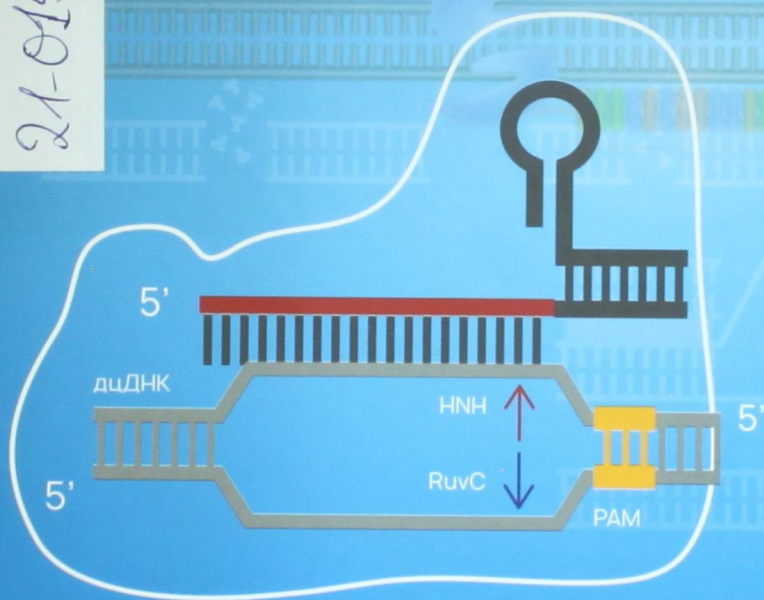


НА ДОМ НЕ ВЫДАЕТСЯ

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ

21-01522



**Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей
и благополучия человека**

ФБУН Центральный НИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ

**Под редакцией
академика РАН В.Г. Акимкина**

Москва

ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

2020

УДК 575
ББК 28.04
Г 34

Рецензенты:

Виктор Васильевич Малеев, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, лауреат Государственной премии и премии Правительства Российской Федерации в области науки и техники, советник директора по научной работе ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

Арег Артемович Тотолян, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, директор ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера»

Г 34 Генетические технологии / Ю.В. Михайлова, А.М. Нагорных, В.В. Петров, А.Е. Судьина, А.И. Тюменцев, М.А. Тюменцева, А.А. Шеленков; под общей редакцией академика РАН В.Г. Акимкина. — М.: ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, 2020. — 200 с.

ISBN 978-5-6045286-0-0

Книга «Генетические технологии» освещает широкий спектр вопросов в области генетических технологий, касающихся направленного редактирования генома, и охватывает последние научные сведения о применении программируемых нуклеаз в различных областях, связанных с модификацией генома. Монография будет интересна и полезна студентам биологических и медицинских вузов, аспирантам, молодым ученым, научным сотрудникам, руководителям и работникам практического здравоохранения и поможет сформировать понимание и систематизировать знания в стремительно развивающейся области генетических технологий и направленного редактирования генома. Можно надеяться, что описанные в книге инновационные технологии послужат научным заделом для создания диагностических и терапевтических препаратов для борьбы с ныне неизлечимыми заболеваниями.

Книга «Генетические технологии» издана при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках гранта в форме субсидии на создание и развитие «Центра геномных исследований мирового уровня по обеспечению биологической безопасности и технологической независимости в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий», соглашение № 075-15-2019-1666.



УДК 575
ББК 28.04

DOI: <https://doi.org/10.36233/978-5-6045286-0-0>
ISBN 978-5-6045286-0-0

© Коллектив авторов, 2020
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, 2020

СОДЕРЖАНИЕ

Предисловие (академик РАН В.И. Покровский)	9
ГЛАВА 1. Искусственные нуклеазы с «цинковыми пальцами» (А.Е. Судьина)	12
1.1. История развития нуклеаз с «цинковыми пальцами»	13
1.2. Структура и функции нуклеаз с «цинковыми пальцами»	14
1.3. Применение нуклеаз с «цинковыми пальцами»	19
ГЛАВА 2. TALE-нуклеазы (В.В. Петров)	37
2.1. Открытие TALE	37
2.2. Структура TALE	38
2.3. Специфичность RVD	40
2.4. Эффективность RVD	42
2.5. Количество повторов TALE	43
2.6. Устойчивость к заменам	43
2.7. Изменчивость структуры повторов	44
2.8. Белки семейства TALE	45
2.9. Создание TALEN	46
2.10. Доставка TALEN	47
2.11. Применение TALEN в науке, биотехнологии и генной терапии	47
2.12. Онлайн-ресурсы для разработки TALEN	50
ГЛАВА 3. CRISPR нуклеазы (М.А. Тюменцева, А.И. Тюменцев)	58
3.1. История открытия CRISPR/Cas	58
3.2. Белки системы CRISPR/Cas	63
3.3. Разнообразие и классификация систем CRISPR/Cas	64
3.4. Системы CRISPR/Cas для направленного редактирования генома	66
3.4.1. Cas9	66
3.4.2. Никазы Cas9	69
3.4.3. dCas9	71

3.4.4. Направленное редактирование азотистых оснований.....	77
3.4.5. Cas9 для «праймированного» редактирования	79
3.4.6. Cas12.....	80
3.4.7. Cas13.....	81
3.4.8. Cas14.....	81
3.5. Применение CRISPR/Cas.....	85
3.5.1. CRISPR/Cas в пищевой промышленности	86
3.5.2. Типирование микроорганизмов	86
3.5.3. Конструирование штаммов микроорганизмов, устойчивых к бактериофагам и нежелательным плазмидным ДНК	87
3.5.4. Модификация микроорганизмов	89
3.5.5. Антимикробная активность.....	90
3.5.6. Терапия ВИЧ-инфекции	91
3.5.7. Борьба с персистирующими вирусными инфекциями	92
3.5.8. Разработка терапевтических подходов для лечения моногенных заболеваний	93
3.5.9. Разработка терапевтических подходов для лечения рака.....	94
3.6. Клинические испытания	94
3.7. Системы доставки CRISPR/Cas	94
3.8. Диагностика инфекционных заболеваний.....	104
3.8.1. Диагностика с использованием CRISPR/Cas9	111
3.8.2. Диагностика с использованием CRISPR/Cas12 и CRISPR/Cas13.....	112
3.9. Ресурсы для работы с CRISPR/Cas.....	114

ГЛАВА 4. Способы определения неспецифической активности систем редактирования генома (Ю.В. Михайлова, А.А. Шеленков)...

4.1. Методы подтверждения нецелевых мутаций в предсказанных сайтах	138
4.2. Методы скрининга нецелевых мутаций по всему геному.....	139
4.2.1. Полногеномное секвенирование.....	139
4.2.2. Секвенирование полного экзона	140
4.2.3. Хроматин-иммунопреципитационное секвенирование (ChIP-seq)	140

4.2.4. Лентивирусные векторы, дефицитные по интегразе	142
4.2.5. Полногеномное определение двунитевых разрывов с помощью секвенирования	143
4.2.6. Прямое мечение разрывов <i>in situ</i> , обогащение с помощью стрептавидина и NGS	144
4.2.7. Полногеномное секвенирование транслокаций, опосредованное линейной амплификацией.....	144
4.2.8. Секвенирование полного генома, «расщепленного» Cas9 <i>in vitro</i>	146
4.2.9. Селективное обогащение и идентификация меченых концов геномной ДНК с помощью секвенирования	148
4.2.10. Циркуляризация для определения двуцепочечных разрывов и секвенирование	149
4.2.11. Полногеномный анализ нецелевых сайтов с помощью инъекции двухклеточного эмбриона.....	151

ГЛАВА 5. Нозологические и терапевтические аспекты

редактирования генома животных (А.М. Нагорных)	157
5.1. Рыбы.....	162
5.2. Грызуны	164
5.3. Кролики	171
5.4. Свиньи	172
5.5. Крупный рогатый скот	174
5.6. Мелкий рогатый скот.....	174
5.7. Лошади	175
5.8. Кошки.....	176
5.9. Собаки	178
5.10. Нечеловекообразные приматы.....	182
Заключение	193
Приложение.....	195