

# КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТА ПО ИЗУЧЕНИЮ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕЖДУ КОМПЛЕКСОМ CAS9-SGRNA С ДНК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ МИКРОСКОПИИ

Новиков Р.В.<sup>1</sup>, Армеев Г.А., Шайтан А.К.

НТУ «Сириус», Сочи, Адлерский р-н, 354340, Олимпийский пр-т, 1

<sup>1</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, 119991,  
ГСП-1, Ленинские горы, д. 1, стр. 73

Рибонуклеопротеиновый комплекс белка Cas9 с sgRNA, который способен связывать и расщеплять ДНК в определенных локусах, комплементарных участку последовательности sgRNA, занимает центральное место в революционной технологии редактирования генома CRISPR/Cas. Следовательно, эффективный *in vitro* анализ для характеристики сродства связывания рибонуклеопротеинового Cas комплекса с целевой последовательностью ДНК-мишени имеет большое методологическое значение. Эффективный способ измерения сродства биомолекулярного комплекса может быть основан на использовании FRET-микроскопии путем детекции увеличения сигнала FRET. В этой работе с помощью молекулярного моделирования мы показываем, что такие измерения возможны для изучения связывания комплекса Cas9-sgRNA с целевой последовательностью ДНК путем присоединения флуоресцентных меток Cy3 и Cy5 к определенным сайтам на молекулах ДНК и РНК.

Чтобы учесть гибкость линкеров между флуоресцентными метками и ДНК, мы провели моделирование с помощью молекулярной динамики меток Cy3 и Cy5, прикрепленных к короткой дцДНК, моделирование проводилось в Gromacs. Моделирование проводилось в течение 10 нс. Положения центров масс хромофорных групп по отношению к меченому тимидиновому нуклеотиду были получены из каждого кадра. Таким образом был получен ансамбль потенциальных положений Cy3 и Cy5 по отношению к их сайтам прикрепления на ДНК.

Чтобы найти оптимальные положения для позиционирования меток, мы наложили полученные ансамбли потенциальных положений Cy3 и Cy5 на петлю sgRNA (tetraloop sgRNA) (нуклеотиды 24-48), целевую (цепь, на которой расположен участок, комплементарный участку sgRNA) цепь ДНК (нуклеотиды 1-18) и нецелевую цепь ДНК (нуклеотиды 41-56) Cas9 комплекса (PDB ID 5Y36). Мы обнаружили, что наиболее оптимальными положениями для флуоресцентных меток являются 37 на sgRNA, 11 на целевой цепи ДНК и 49 на нецелевой цепи ДНК. Данные положения соответствуют коротким расстояниям между метками равному около 20 Å, что приведет к очень высокой эффективности FRET. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-34-51053.