

Алиса Горлова, Лайза Брусман, Джули Садино, Катерина Чагарна, Максим Марченко, Ника Михайлова, Никита Накадзава, Владислав Волков, Зои Дональдсон

## Предпосылки к исследованию:



Луговые полёвки являются моногамными. Это генетически обусловленное поведение.

Мы думаем, что эти гены отвечают за моногамное поведение.

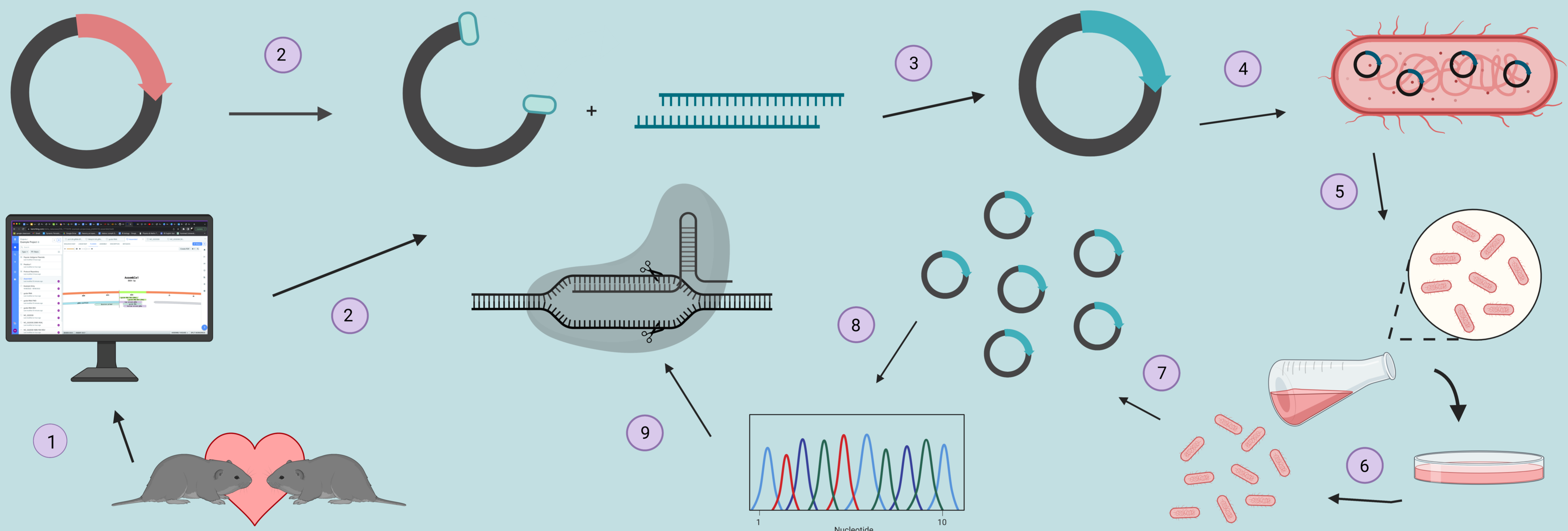
<b>DRD4</b>	(Дофаминовый рецептор D4), член семейства рецепторов, сопряженных с G-белком. Связан со склонностью к поиску новизны, со вниманием и многими психическими расстройствами.
<b>CRYM</b>	Белок связывает тиреотропный гормон. Он опосредует эффекты социальной изоляции на поощрительное поведение.
<b>CREB1</b>	(САРМ Белок 1 связывающий чувствительный элемент) кодирует транскрипционный фактор. Фосфорилированный белок вызывает транскрипцию генов в ответ на гормональный стимулятор сАРМ зависимого секреторного пути. CREB1 также очень важен в обучении и памяти.
<b>HTR1A</b>	(5-Гидрокситриптаминный рецептор 1А) Связан со стрессом и социальным поведением. Отсутствие экспрессии данного гена приводит к тревожности и депрессии.
<b>ESR2</b>	(Эстрогеновый рецептор 2) ген, ответственный за родительскую заботу и любовь во многих организмах, включая людей и полевок.
<b>ERBB3</b>	(erb-b2 Рецептор тирозинкиназы 3) повышенно экспрессируется после долгого разделения партнеров. Вероятно, долгое разделение партнеров подавляет ErbB3-ассоциированные метаболические пути, что проявляется в пониженной миелинизации олигодендроцитов.

## Цели и ожидания:

- Найти гены ответственные за парную связь
- Разработать молекулярные инструменты для подавления этих генов в конкретных участках мозга.



## Методы:



## Результаты:

### Синтез gRNA

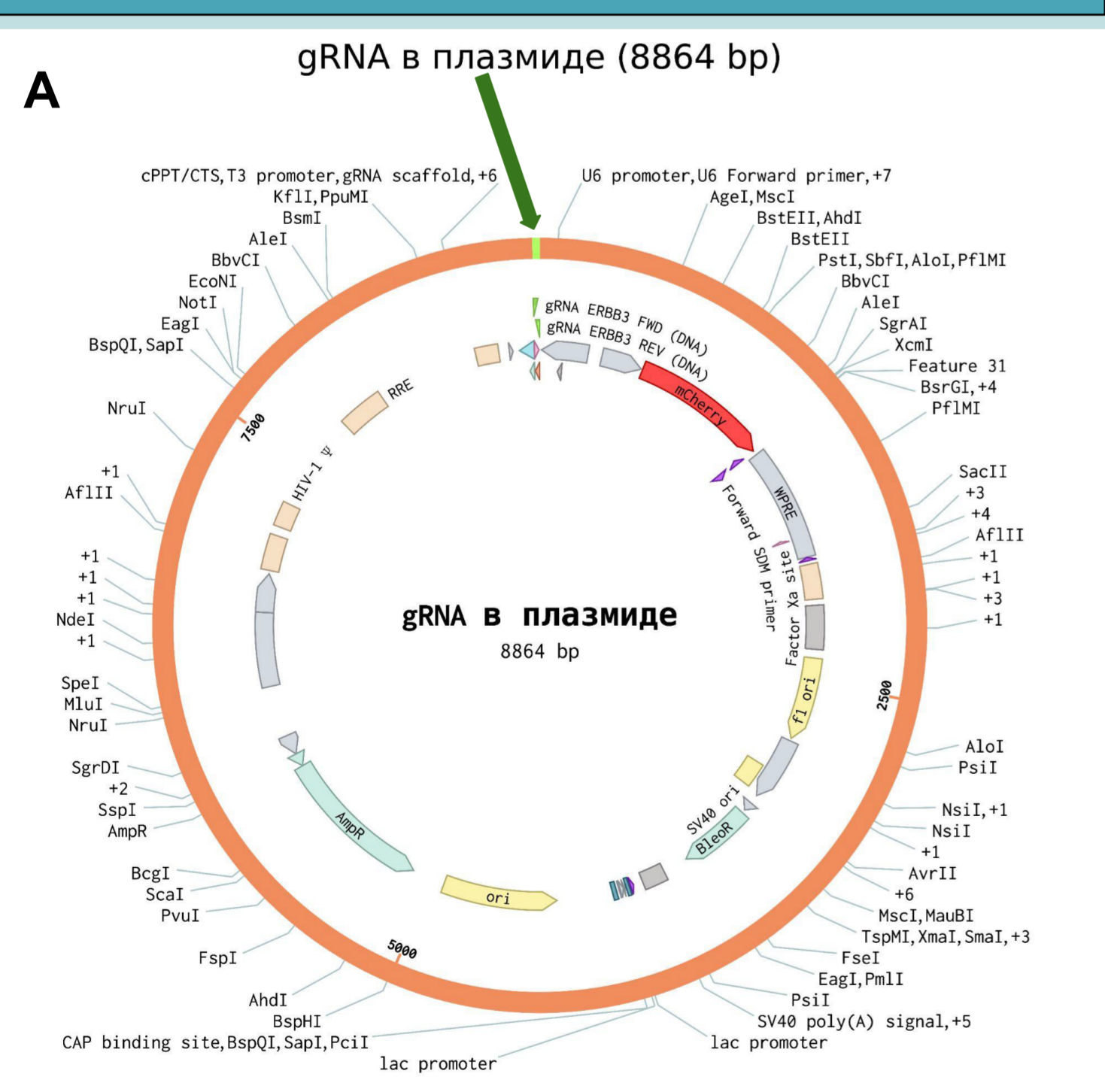
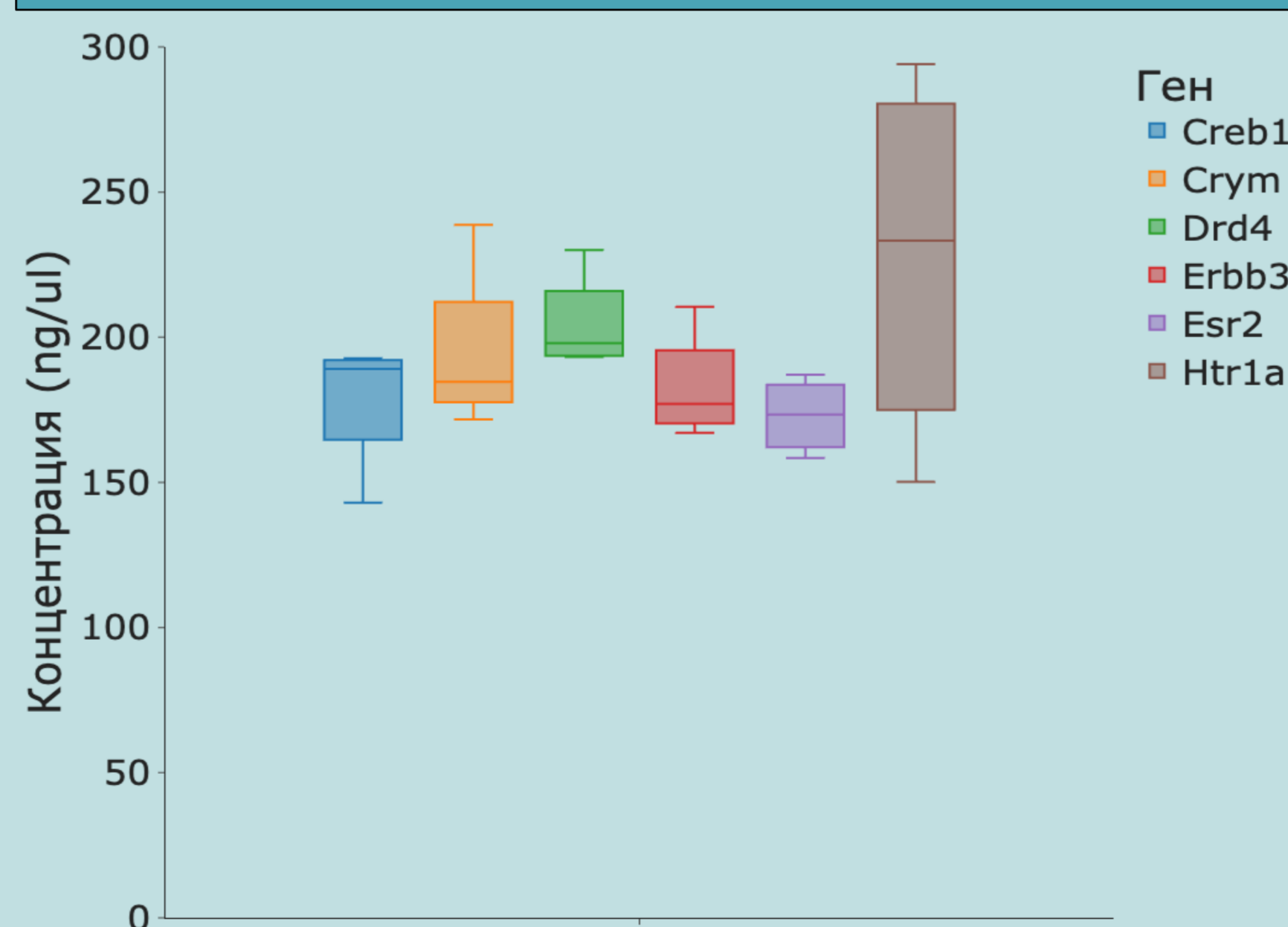


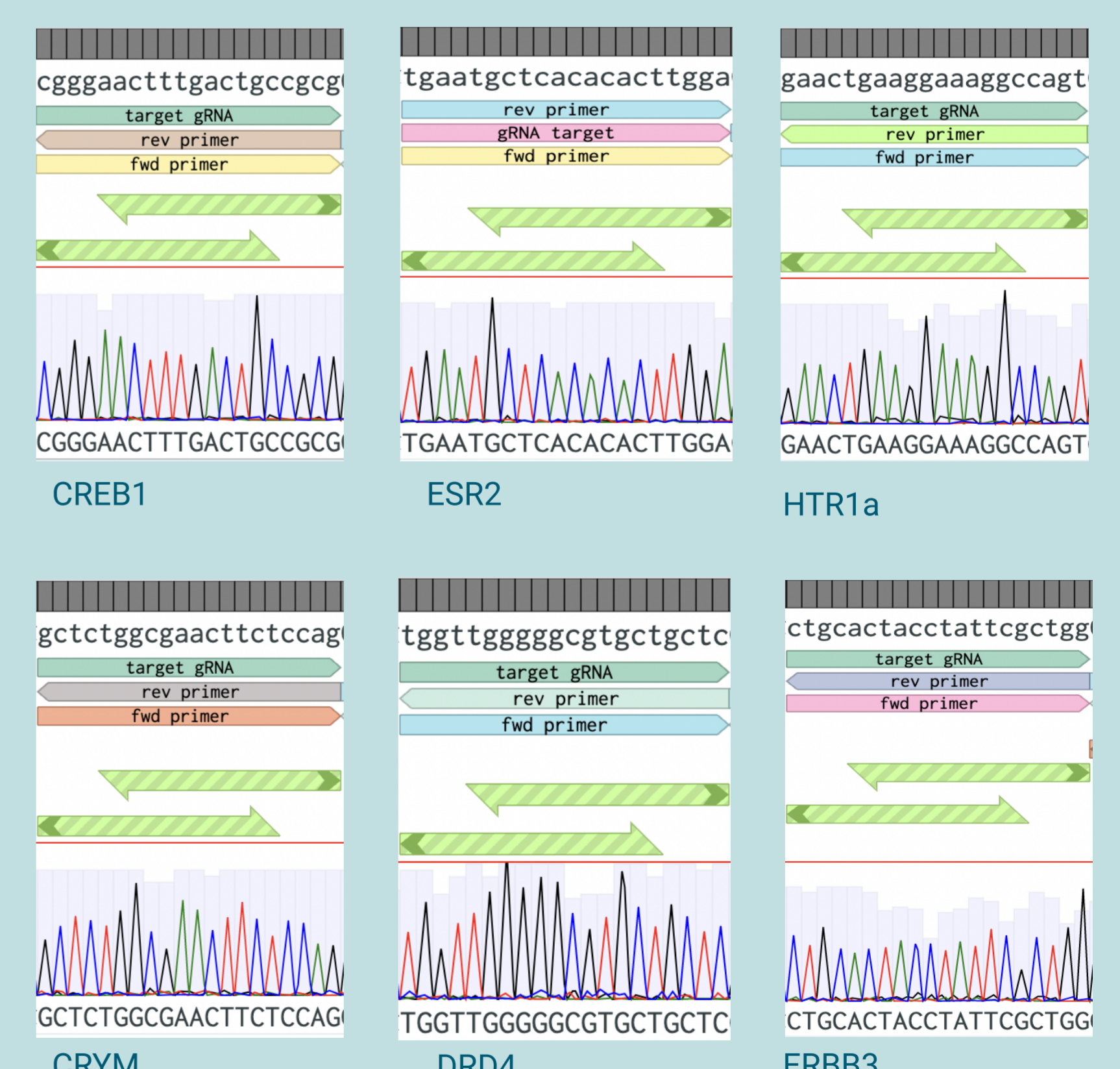
Рисунок А. Использование инструментов биоинформатики для моделирования gRNA последовательности и имплементирования её в бактериальную плазмиду.

Предыдущие данные использования CRISPRi показали, что самую высокую эффективность связывания gRNA с нужной комплементарной частью ДНК достигается после 50 нуклеиновых оснований от промотора соответствующего гена. На данном этапе, существует проблема разработки и моделирования последовательности которая демонстрирует высокую селективность в связывании с конкретной частью ДНК.

### Концентрации выделенных ДНК:



### Данные секвенирования:



## Выводы:

- Полученные результаты синтезированных плазмид продемонстрировали релевантность использованного протокола и дальнейшие его преимущества.
- Больше, чем 91% gRNAs были успешно имплементированы в бактериальную плазмиду *E. Coli*.
- Мы согласны, что всё еще существует потребность в увеличении эффективности методов синтеза gRNA.
- Разработка новых методов контроля экспрессии генов является перспективным направлением и согласно нашему мнению нуждается в дальнейшем исследовании в будущем.

## Почва для дальнейших исследований:

- Получены данные для дальнейшего анализа поведения полевок луговых (*Microtus ochrogaster*), понимания биологической природы способности формировать моногамные отношения.
- Необходимо конвертировать вставленные фрагменты ДНК в gRNA для использования в CRISPRi и проверить их влияние на полевок.
- Дальнейшее улучшение процедуры необходимо для повышения селективности и эффективности методов, используемых в лаборатории для регуляции экспрессии генов