



КВАНТОРИУМ

**Международный конкурс детских инженерных
команд**

КОНКУРСНОЕ ЗАДАНИЕ

**«ИНСТРУМЕНТЫ РЕДАКТИРОВАНИЯ
ГЕНОВ»**

МОСКВА

2019

1. Тема задания заочного отборочного этапа конкурса

Разработка инструментов для определения PAM-последовательности Cas-эффекторов с помощью методов биоинформатики и молекулярной биологии.

Преамбула

Технология CRISPR/Cas в настоящее время является одним из самых стремительно развивающихся направлений современной биотехнологии. Системы редактирования генома уже активно применяются для модификации и улучшения ценных признаков сельскохозяйственных животных и растений. Активно разрабатываются методы генной терапии с помощью CRISPR/Cas.

К сожалению, как и любая технология, она имеет свои ограничения. Cas-эффектор способен разрезать целевую последовательность в молекуле нуклеиновой кислоты при одновременном выполнении двух условий: комплементарном связывании направляющей РНК (спейсера) и таргетируемой последовательности и обнаружении определенного сочетания нуклеотидов, прилегающих к участку связывания с направляющей РНК. Данный мотив называется PAM-последовательностью и является строго специфичным для каждого белка. Соответственно, возможности редактирования будут ограничены теми местами гена, где встречается данное сочетание нуклеотидов.

В настоящее время активно ведется поиск новых белков-эффекторов, распознающих альтернативные PAM-последовательности. С помощью биоинформатических инструментов обнаружено более 3,5 тысяч Cas9 белков из разных видов бактерий, из них в лабораторной практике применяется менее 10. Чтобы использование белка в экспериментах стало возможным, его необходимо охарактеризовать: подобрать оптимальные условия работы, установить структуру направляющей РНК и, разумеется, определить PAM-последовательность.

В рамках выполнения трека участники проводят изыскания в следующих научных областях: биоинформатика, генная инженерия, геномное редактирование.

2. Задание заочного отборочного этапа конкурса

Соревновательная задача: создать инструменты, которые позволят охарактеризовать PAM-последовательность Cas-эффектора.

Подзадачи:

Разработать биоинформатический инструмент (*in silico*) для предсказания РАМ-последовательности Cas-эффектора.

Разработать *in vitro* систему для определения РАМ-последовательности Cas-эффектора.

Требования к инструментам

Биоинформатический инструмент

Назначение: инструмент должен предсказывать РАМ-последовательность для любого Cas-эффектора с помощью анализа бактериальных CRISPR-кассет и соответствующих им геномов бактериофагов. В рамках данного задания с помощью инструмента необходимо проанализировать Cas-эффекторы следующих видов бактерий:

Streptococcus pyogenes,

Streptococcus mutans,

Streptococcus canis,

Streptococcus thermophilus.

Требования:

Инструмент может использовать сторонние программы и ресурсы.

Инструмент может быть реализован в виде набора независимых скриптов.

В результате работы инструмент должен определять консенсусную РАМ-последовательность для анализируемого белка.

In vitro система

Назначение: данная система должна позволять определять РАМ-последовательность предложенного Cas-эффектора.

Требования:

Необходимо предложить принципиальную схему системы, которая позволит определять РАМ для любого Cas-эффектора.

Далее эта система должна быть спроектирована для белка Cas9 из *Streptococcus pyogenes*.

Система должна быть бесклеточной. Работа с клетками допускается только на этапе сборки необходимых генетических конструкций.

3. Форма представления результатов выполнения задания заочного отборочного этапа конкурса

Результаты выполнения конкурсного задания должны быть представлены в виде:

Для биоинформатического инструмента:

программных кодов всех использованных в работе скриптов,
найденных в бактериальных геномах спейсерных последовательностей,
координат протоспейсеров после картирования на геномы бактериофагов,
консенсусных последовательностей PAM-сайтов, визуализированных с помощью WebLogo3,

отчета с анализом результатов работы инструмента и сопоставлением полученных данных с литературными.

Для *in vitro* системы в виде отчета, включающего следующие пункты:

описание вашей системы, в том числе принципа действия
общая схема эксперимента с указанием основных этапов создания и тестирования системы

файлы с картами созданных генетических конструкций в формате .gb
список необходимых реактивов (в том числе последовательности праймеров) и оборудования

протоколы процедур для выполнения в лаборатории

Требования к демонстрационным материалам: демонстрационный материал не требуется.

4. Критерии оценки задания заочного отборочного этапа конкурса:

Биоинформатический инструмент

Качество исходного кода

Код не удовлетворяет общепринятым стандартам разработки выбранного языка – 0 баллов.

Код частично удовлетворяет общепринятым стандартам разработки выбранного языка – 1 балл.

Код полностью удовлетворяет общепринятым стандартам разработки выбранного языка – 2 балла.

Оригинальность скриптов

Заимствованные конструкции – 0 баллов.

Собственная разработка – 2 балла.

Результат работы инструмента

Полученные данные не соответствуют литературным - 0 баллов.

Полученные данные соответствуют литературным - 5 баллов

Оценка оригинальности решения работы команды по анализу представленных кодов, результатов работы и анализа данных – от 0 до 10 баллов.

In vitro система

Продуманность системы

Предложенная принципиальная схема тест-системы проработана не полностью и не позволяет решить поставленную задачу - 0 баллов.

Предложенная принципиальная схема тест-системы содержит все необходимые ключевые компоненты и позволяет успешно решить поставленную задачу – 5 баллов.

Создание генетических конструкций для определения РАМ-сайта spCas9

Генетические конструкции не предоставлены или не могут быть использованы для решения задачи – 0 баллов.

Генетические конструкции содержат небольшие недочеты или ошибки проектирования, которые потенциально могут сказаться на работоспособности системы – 1 балл.

Генетические конструкции собраны в соответствии с предложенной участниками схемой решения и не содержат ошибок – 2 балла.

Продуманность плана и техники выполнения эксперимента

Протоколы не предоставлены или предоставлены не для всех используемых в эксперименте процедур – 0 баллов.

Протоколы предоставлены для всех используемых процедур, но содержат неточности или неполную информацию – 1 балл.

Протоколы прописаны полностью и корректно – 2 балла.

Оценка оригинальности решения работы команды по анализу представленных генетических конструкций и предложенной схемы эксперимента – от 0 до 10 баллов.

Дополнительная информация: источники данных и ПО

Статьи

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>

<https://scholar.google.ru>

Нуклеотидные последовательности и плазмиды

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov> – база данных для поиска нуклеотидных последовательностей.

<https://crispr.i2bc.paris-saclay.fr/crispr/> – база данных для анализа CRISPR-кассет.

<http://www.addgene.org> – репозиторий генетических конструкций.

<https://www.snapgene.com/resources/plasmid-files/> (для работы с файлами требуется ПО SnapGene или SnapGeneViewer)

Программное обеспечение

<http://ugene.net/ru/> – дизайн генетических конструкций.

<https://www.snapgene.com> – дизайн генетических конструкций (можно использовать либо бесплатный софт SnapGeneViewer или пробную версию SnapGene, в этом случае файлы можно присылать в формате .dna)

Bowtie2 – выравнивание и картирование последовательностей.

WebLogo3 – анализ консенсусных последовательностей и визуализация.