N9-EXP-02 · Struttura N9 (Svezia) · 2025 · in corso · Protocollo F

Predizione degli effetti fuori bersaglio dell'editing

Dr.ssa Astrid Lindqvist, Dr. Erik Johansson, Dr.ssa Maja Bergström
Centro N.9 — Kiruna (Lapponia), Svezia

ABSTRACT

Contesto: La riduzione degli effetti fuori bersaglio è essenziale per la sicurezza degli interventi CRISPR-Cas9 pianificati nelle altre sedi. Metodo: Abbiamo modellato in silico l'attività di taglio di sgRNA candidati mediante reti neurali profonde addestrate su dati sperimentali di clivaggio genome-wide, integrando la predizione dell'efficacia on-target e del profilo off-target in un unico flusso di progettazione delle guide. Risultati: Nei disegni sperimentali sottoposti a verifica, la selezione delle guide guidata dal modello ha ridotto del 30% i tagli fuori bersaglio rispetto alle guide scelte con criteri convenzionali, mantenendo l'efficacia on-target. I siti off-target predetti sono stati confermati mediante sequenziamento mirato. Conclusioni: L'integrazione della predizione off-target nella progettazione delle guide riduce il rischio di editing non desiderato; la validazione sperimentale sistematica resta necessaria, poiché una frazione dei siti off-target non è catturata dai soli metodi computazionali.

OBIETTIVO

Ridurre gli effetti off-target degli interventi CRISPR pianificati nelle altre sedi.

METODO

Modellazione in silico dei siti di taglio con reti neurali validate su dati di sequenziamento sperimentali.

RISULTATI E CONCLUSIONI

La predizione riduce i tagli fuori bersaglio del 30% nei disegni sperimentali sottoposti a verifica.

BIBLIOGRAFIA

[1] Tsai S.Q., Zheng Z., Nguyen N.T., et al. (2015). GUIDE-seq enables genome-wide profiling of off-target cleavage by CRISPR-Cas nucleases. Nature Biotechnology 33(2):187-197. https://doi.org/10.1038/nbt.3117

[2] Doench J.G., Fusi N., Sullender M., et al. (2016). Optimized sgRNA design to maximize activity and minimize off-target effects of CRISPR-Cas9. Nature Biotechnology 34(2):184-191. https://doi.org/10.1038/nbt.3437

[3] Listgarten J., Weinstein M., Kleinstiver B.P., et al. (2018). Prediction of off-target activities for the end-to-end design of CRISPR guide RNAs. Nature Biomedical Engineering 2(1):38-47. https://doi.org/10.1038/s41551-017-0178-6

[4] Chuai G., Ma H., Yan J., et al. (2018). DeepCRISPR: optimized CRISPR guide RNA design by deep learning. Genome Biology 19:80. https://doi.org/10.1186/s13059-018-1459-4

Opera di finzione. Autori e risultati sono immaginari; la bibliografia elenca opere reali a solo scopo di contesto scientifico. © Eden Exotic — universo 47B1