

Proje Yöneticisi: Arş. Gör. Dr. SUNDE YILMAZ SÜSLÜER

Proje ID: 20393

Proje Kodu: TGA-2019-20393

Proje Başlığı: CRISPR-Cas9 Teknolojisi ile in vitro F8 Geninin Fonksiyonunun Bozulmasının Sağlanması

Proje Türü: GENEL ARAŞTIRMA

Proje Özeti

Hemofili A, F8 eksikliği sonucunda gelişen nadir bir kalıtsal hastalıktır. F8'de meydana gelen intron 1 ve intron 22 inversiyonları, nokta mutasyonları, delesyonlar, insersiyonlar ve yeniden düzenlemeler Hemofili A hastalığına neden olan mutasyonlardır (Rossetti et al., 2008). Ağır hemofili A tanılı olguların yaklaşık yarısında veya tüm olguların yaklaşık %30 kadarında "F8 intron 22 inversiyon mutasyonu" bulunmaktadır (Bowen, 2002; Park et al., 2015). Nokta mutasyonları (tek nükleotid değişiklikler) en yaygın gen defekti sayılır ve yaklaşık olarak hemofili hastalarının %90'ında bulunmaktadır (Bowen, 2002). Hemofili "tek gen hastalığı" olması açısından genetik tedavi yaklaşımı için ideal hastalıklardan biri olarak görülmektedir.

Çalışmamızda, karaciğer hücre hattında F8 geninin belirlediğimiz bölgesinden genom düzenleme yöntemlerinden CRISPR-Cas9 (Düzenli aralıklarla bölünmüş palindromik tekrar kümeleri) sistemi kullanılarak çift sarmallı DNA'yı kesip F8 proteinin yapımının engellenmesi sağlanacaktır.

F8 geni, DNA sekansına tabi tutulacak ve meydana gelen İNDEL mutasyonlar belirlenip, Real Time-PCR ile F8 gen ifadesi ve Western blot yöntemi ile F8 protein ifadesi incelenecektir. Bu yöntemin laboratuvarımızda daha sonra genomdaki mutasyonların düzeltilebilmesi için kullanılabileceği öngörülmektedir.