

## PhD. Graduate Seminar

**נועה כץ / Noa Katz**

מנחה: פרופ' רועי עמית / Prof. Roe Amit

נושא הסמינר:

**להתגבר על צוואר הבקבוק של מחזורי התכנון, בנייה, ובדיקה לסינתזה של קסטות RNA קושרות חלבון ללא חזרתיות**

Research Topic:

**Overcoming the design, build, test bottleneck for synthesis of nonrepetitive protein-RNA binding cassettes**

תקציר ההרצאה בעברית: \*\* ההרצאה תינתן באנגלית \*\*

מעגלים ביולוגיים בביולוגיה סינתטית נועדו לבצע פונקציות לוגיות, בדומה לעמיתיהם מהנדסת חשמל, בתוך תאים חיים. עם זאת, בניגוד לחלקים אלקטרוניים, חלקים ביולוגיים לרוב רעשים ומועדים לטעויות, ודורשים איטרציות רבות של ניסוי וטעייה לפני שמושגת מערכת מוצלחת. מחזורים אלה מהווים צוואר בקבוק מרכזי להתקדמות בתחום. הופעתן של טכניקות ניסיוניות בעלות תפוקה גבוהה בשילוב עם אלגוריתמי למידת מכונה (ML), מספקות את המרכיבים לפתרון פוטנציאלי של "ביג-דאטה" שיכול ליצור יכולת ניבוי להתגבר על צוואר הבקבוק. בעבודה זו, אנו מיישמים גישה כזו לתכנון קסטות של RNA המשמשות במערכות עריכת גנים ומעקב אחר מולקולות RNA בתאים חיים. קלטות RNA עשויות בדרך כלל מאתרי קשירה חוזרים ונשנים המובנים בסיכת ראש, ולכן מעכבים את שימורם בגנום, הסינתזה והפונקציונליות שלהם. בעבודה זו, ביצענו ניסוי מבוסס אוליגו-ספרייה כדי ליצור אלפי אתרי קשירה חדשים לחלבוני המעטפת של הבטקריופאגים MS2, PP7 ו-Q $\beta$ . לאחר מכן יישמנו למידה עמוקה כדי ללמוד ולחזות את קשירת החלבון. לאחר מכן תכננו קלטות חזויות שאינן חוזרות על עצמן ואימתנו את הפונקציונליות שלהן בתאים אנימאליים. לסיכום, פיתחנו כלי לשיפור ניסויי הדמיה חיה של מולקולות RNA, עם מדידות חסינות יותר וקבלת דאטה כמותי.

Abstract: \*\* Lecture will be held in English \*\*

Biological circuits in synthetic biology are designed to perform logical functions, similar to their electrical counterparts, inside living cells. However, unlike electronic parts, biological parts are often noisy and error-prone, requiring many iterations of trial and error, termed the design-build-test (DBT) cycle, before a successful design is achieved. These cycles are a major bottleneck for progress in the field. The emergence of high-throughput experimental techniques combined with machine learning (ML) algorithms, provide the ingredients for a potential "big-data" solution that can generate predictive capability to overcome the DBT bottleneck. In this work, we apply such an approach to the design of RNA cassettes used in gene editing and RNA tracking systems. RNA cassettes are typically made of repetitive hairpin-structured binding sites, therefore hindering their retention, synthesis, and functionality. Here, we carried out an oligo-library-based experiment to generate thousands of new binding sites for the phage coat proteins (CP) of bacteriophages MS2, PP7, and Q $\beta$ . We then applied a neural network to study and predict protein binding. We then designed new predicted non-repetitive cassettes and validated their functionality in mammalian cells. Taken together, we developed a tool for improving imaging experiments, with more robust measurements and quantitative data.

**Wednesday, 28/10/2020, 14:00 – 15:00**

**Meeting ID: 951 2663 4777**

<https://technion.zoom.us/j/95126634777>