

Влияние пространственной организации генома в локусе *Pdgfra/Kit* мыши на регуляцию активности генов

Научный руководитель – Баттулин Нариман Рашитович

Кабирова Эвелина Максимовна

Студент (магистр)

Новосибирский национальный исследовательский государственный университет,
Новосибирск, Россия

E-mail: kabevelyn@gmail.com

Развитие области 3D геномики позволило уточнить пространственную организацию ДНК в ядре. Благодаря методам определения конформации хромосом (например, Hi-C), обнаружили новый уровень упаковки ДНК: топологически ассоциированные домены (ТАДы). Внутри таких доменов участки ДНК контактируют активнее, чем с остальным геномом. Формирование ТАДов обеспечивают сайты связывания белка CTCF, которые становятся их границами [2]. Интересно, что ТАДы — это высоко консервативные структуры [1]. Зачем поддерживается такая консервативность? Важны ли ТАДы для реализации генетического материала?

Действительно, есть работы, показывающие, что ТАДы важны для нормальной экспрессии генов, а их нарушение приводит, например, к серьёзным порокам развития конечностей [3]. В связи с этим, нарушения ТАДов являются интересным объектом исследования. Мы предполагаем, что удаление границы ТАДа способно влиять на регуляцию генов за счёт изменения репертуара доступных энхансеров.

Для моделирования нарушений ТАДов мы выбрали локус *Pdgfra/Kit*. Эти гены кодируют тирозинкиназные рецепторы, влияющие на развитие клеточных типов, т.е. их экспрессия тканеспецифична. В фибробластах и глии активен *Pdgfra*, а в клетках крови, тучных клетках, меланоцитах — *Kit*. В работе мы проверяли гипотезу, согласно которой нарушение границы ТАДа *Pdgfra* изменит экспрессию соседнего к нему гена *Kit* в фибробластах мыши.

Мы получали первичные культуры фибробластов из эмбрионов и из грудины и лёгких взрослых мышей с различными вариантами делеций ТАДов *Pdgfra* и *Kit*, внесённых CRISPR/Cas9 системой. Поскольку изучаемые гены кодируют рецепторы, то мы качественно определяли наличие их продуктов в культурах фибробластов с помощью иммуноцитохимического окрашивания и анализа методом проточной цитометрии (FACS). Согласно гипотезе, мы ожидали обнаружить окрашивание фибробластов по обоим белкам. Однако по результатам FACS анализа, на поверхности фибробластов как мышей дикого типа, так и мышей наших линий, присутствует *Pdgfra* и отсутствует *Kit*.

Объединение ТАДов *Pdgfra* и *Kit* в результате введённых нами делеций мы подтвердим анализом Hi-C библиотеки фибробластов, а для уточнения экспрессии *Kit* проведём RNA-seq.

Таким образом, полученные результаты позволяют предварительно заключить, что в локусе *Pdgfra/Kit* границы ТАДов не являются необходимыми для поддержания паттерна активности генов *Pdgfra* и *Kit*. Вероятно, ТАДы не выполняют инсуляторную функцию.

Работа поддержана грантом РФФИ №18-29-07022.

Источники и литература

- 1) Battulin N. et al. Comparison of the three-dimensional organization of sperm and fibroblast genomes using the Hi-C approach // *Genome Biology*, 2015. – V. 16. – № 1. – P. 1-15.

- 2) Dixon J. et al. Topological domains in mammalian genomes identified by analysis of chromatin interactions // *Nature*, 2012. – V. 485. – № 7398. – P. 376-380.
- 3) Lupiáñez D. G. et al. Disruptions of topological chromatin domains cause pathogenic rewiring of gene-enhancer interactions // *Cell*, 2015. – V. 161. – № 5. – P. 1012-1025.