В ИЦиГ СО РАН разработали доступный инструмент поиска трансгена в геноме

Метод MYSTIC-seq определяет, куда встроилась генетическая конструкция прямо в лаборатории, не передавая её в специализированные центры.

Сотрудники Института цитологии и генетики (ИЦиГ) СО РАН разработали новый метод определения места интеграции трансгена в геном – MYSTIC-seq (Mapping Your Secret Transgene Integration Coordinates). Он позволяет установить, куда встроилась генетическая конструкция, с помощью стандартного секвенирования коротких прочтений и без разработки специальных зондов. Метод значительно дешевле подходов на основе длинных прочтений и доступен лабораториям с компетенциями в геномике. Результаты работы опубликованы в журнале Transgenic Research.

При создании трансгенных животных конструкция чаще всего встраивается в практически случайный участок генома. От этого места зависит работа трансгена: окружающий хроматин может подавлять его экспрессию. Встраивание также может сопровождаться делециями и другими перестройками, нарушающими работу собственных генов организма.

«Определить, где произошла эта интеграция, очень сложно, потому что геном большой, а эта информация достаточно важна, например, для того, чтобы лучше понять, как работают механизмы интеграции генов в ДНК», – пояснил **ведущий научный сотрудник лаборатории генетики развития ИЦиГ СО РАН, к.б.н. Нариман Баттулин**.

Знание координат трансгена нужно и для повседневной работы. Оно позволяет создать ПЦР-тест, различающий гемизиготных, гомозиготных и диких (немодифицированных) особей, и получать гомозиготные линии.

Главная особенность MYSTIC-seq в том, что библиотеку зондов для захвата нужных фрагментов ДНК получают непосредственно из плазмиды, которую использовали для создания трансгенных животных. Обогащённые фрагменты секвенируют на стандартной платформе Illumina с умеренной глубиной покрытия – около 1 миллиона прочтений на образец. Место интеграции определяют по локальному увеличению покрытия генома вблизи точки вставки и по прочтениям, охватывающим границы трансгена и генома.

«Очень круто делать это длинными прочтениями, но получается дорого. Мы предлагаем более дешёвый вариант, который доступен геномным лабораториям», – отметил Нариман Баттулин. По его словам, задачу можно решать прямо в лаборатории, не передавая её в специализированные центры.

Метод проверили на трёх линиях трансгенных мышей, полученных методом пронуклеарной микроинъекции. Для линии ACE5 удалось картировать обе границы соединения трансгена с геномом и выявить делецию размером около 54 т.п.н. Это позволило разработать ПЦР-тест для определения зиготности и создать гомозиготную линию без дополнительных скрещиваний. Для линий MT1 и APP определили по одной границе интеграции, и этого оказалось достаточно для генотипирования.

Как и любой другой, этот метод имеет свои ограничения. Для полной реконструкции локуса его можно дополнить секвенированием длинных прочтений. Однако для быстрого определения координат интеграции при генотипировании MYSTIC-seq, по оценке разработчиков, достаточно.

«Мы создали его для того, чтобы решать свои задачи, но он абсолютно универсальный, и им можно пользоваться. Он применим к любой генетической конструкции, для которой доступна исходная плазмида, а также для поиска сайтов интеграции вирусов», – сказал Нариман Баттулин.

Пресс-служба Института цитологии и генетики СО РАН
+7 983 314 2337