

Секция «Биоинженерия и биоинформатика»

Метод тестирования *in vivo* регуляторных хромосомных элементов путём их встраивания в один и тот же «хромосомный адрес».

Бурлин Антон Иванович

Аспирант

Учреждение институт биологии гена РАН, Эпигенетические механизмы регуляции активности генов, Москва, Россия

E-mail: entire87@inbox.ru

Разработан метод тестирования *in vivo* гипотетических регуляторных тканеспецифических хромосомных элементов (на примере TRITHORAX (TRX)-ассоциированных элементов, TRE) путём адресного встраивания проверяемых элементов в один и тот же «хромосомный адрес» генома *Drosophila melanogaster*. Этот метод базируется на использовании минимизированной базовой трансгенной конструкции, содержащей необходимые элементы для эффективной детекции TRE в промоторной области гена *fork head (fkh)* и локализованной в известном адресе генома, для параллельного сравнения различных гипотетических регуляторных элементов (гипотетических TRE) путем их замещающего рекомбинационного встраивания (с помощью интегразы фага C31) в одно и то же место генома, в одну и ту же базовую конструкцию. В базовой конструкции ген *yellow*, определяющий окраску тела *Drosophila*, был помещён между двумя сайтами рекомбинации attP. Исследуемый встраиваемый элемент, фланкированный двумя противоположно направленными рекомбинационными сайтами attB (комплементарными партнерами для рекомбинации с attP-сайтами), вводился в составе плазмидной ДНК путем инъекции в ранние эмбрионы. В результате прохождения эффективной рекомбинации attP/B по двум сайтам одновременно происходила замена последовательности гена *yellow* на ДНК встраиваемого исследуемого элемента (TRE), что детектировали по заметному изменению окраски тела (с серой на желтую) и затем подтверждали секвенированием. В месте встраивания возникал новый сильный сайт связывания белка TRX. Хотя предложенный метод был использован пока только для функционального анализа TRE гена *fkh* в клетках слюнных желёз дрозофилы, мы не исключаем возможности использования этой же нашей модельной системы и для анализа гипотетических TRE из других генетических локусов, а может быть даже и подобных элементов из геномов других организмов.

Слова благодарности

Я хотел бы выразить благодарность своему научному руководителю - Тиллибу Сергею Владимировичу.