

Редактирование генома *Drosophila melanogaster* с помощью CRISPR для изучения функций ДНК-связывающих инсуляторных белков

Научный руководитель – Максименко Оксана Геннадьевна

Соколинская Елена Леонидовна

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра молекулярной биологии, Москва, Россия

E-mail: elena.sokolinskaya@gmail.com

Инсуляторы - класс регуляторных генетических элементов эукариот, отделяющих функциональные единицы генома друг от друга. Инсуляторы выполняют две основные функции: энхансер-блокирующую и барьерную [1]. В первом случае инсулятор подавляет взаимодействие энхансера и промотора, если находится между ними. Барьерная функция заключается в ограничении распространения доменов факультативного гетерохроматина, в формировании которого участвуют белки группы Polycomb [3]. Активность инсуляторов реализуется при участии ДНК-связывающих инсуляторных белков, например, dCTCF. Мы предполагаем, что инсуляторными белками также являются Orbp, CG10321, CG6808 и CG1792. В данной работе мы хотим создать модельную систему для изучения этих белков путем удаления гена или замены на различные производные.

В качестве основного инструмента для редактирования генома использовалась система CRISPR/Cas9 [2,4]. CRISPR/Cas9 вносит двухцепочечный разрыв в целевую последовательность, который может быть репарирован путем гомологичной рекомбинации с использованием сконструированной матрицы (см. рис. 1). Данная методика позволяет заменить исходную последовательность на новую или внести в нее специфические делеции или инсерции.

В результате эксперимента были получены трансгенные линии мух с делецией генов CTCF, Orbp, CG10321, CG6808. Следующий этап работ предполагает восстановление экспрессии целевых белков, чтобы исключить влияние неспецифичных повреждений генома на выживаемость мух, и проверку летальности нокаута по исследуемым генам. Эксперимент покажет роль инсуляторных белков dCTCF, Orbp, CG10321, CG6808 и CG1792 в развитии *Drosophila melanogaster*. В результате будут созданы модельные системы, позволяющие изучать функции инсуляторных белков в естественном генетическом контексте.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ №14-24-00166.

Источники и литература

- 1) Gaszner M., Felsenfeld G. Insulators: exploiting transcriptional and epigenetic mechanisms. // Nat. Rev. Genet. 2006. Vol. 7, № 9. P. 703–713.
- 2) Gratz S.J. et al. Genome engineering of *Drosophila* with the CRISPR RNA-guided Cas9 nuclease // Genetics. 2013. Vol. 194, № 4. P. 1029–1035.
- 3) Maksimenko O. et al. Highly conserved ENY2/Sus1 protein binds to *Drosophila* CTCF and is required for barrier activity // Epigenetics. 2014. Vol. 9, № 9. P. 1261–1270.

- 4) Port F. et al. Optimized CRISPR/Cas tools for efficient germline and somatic genome engineering in *Drosophila* // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2014. Vol. 111, № 29. P. 2967-2976.

Иллюстрации

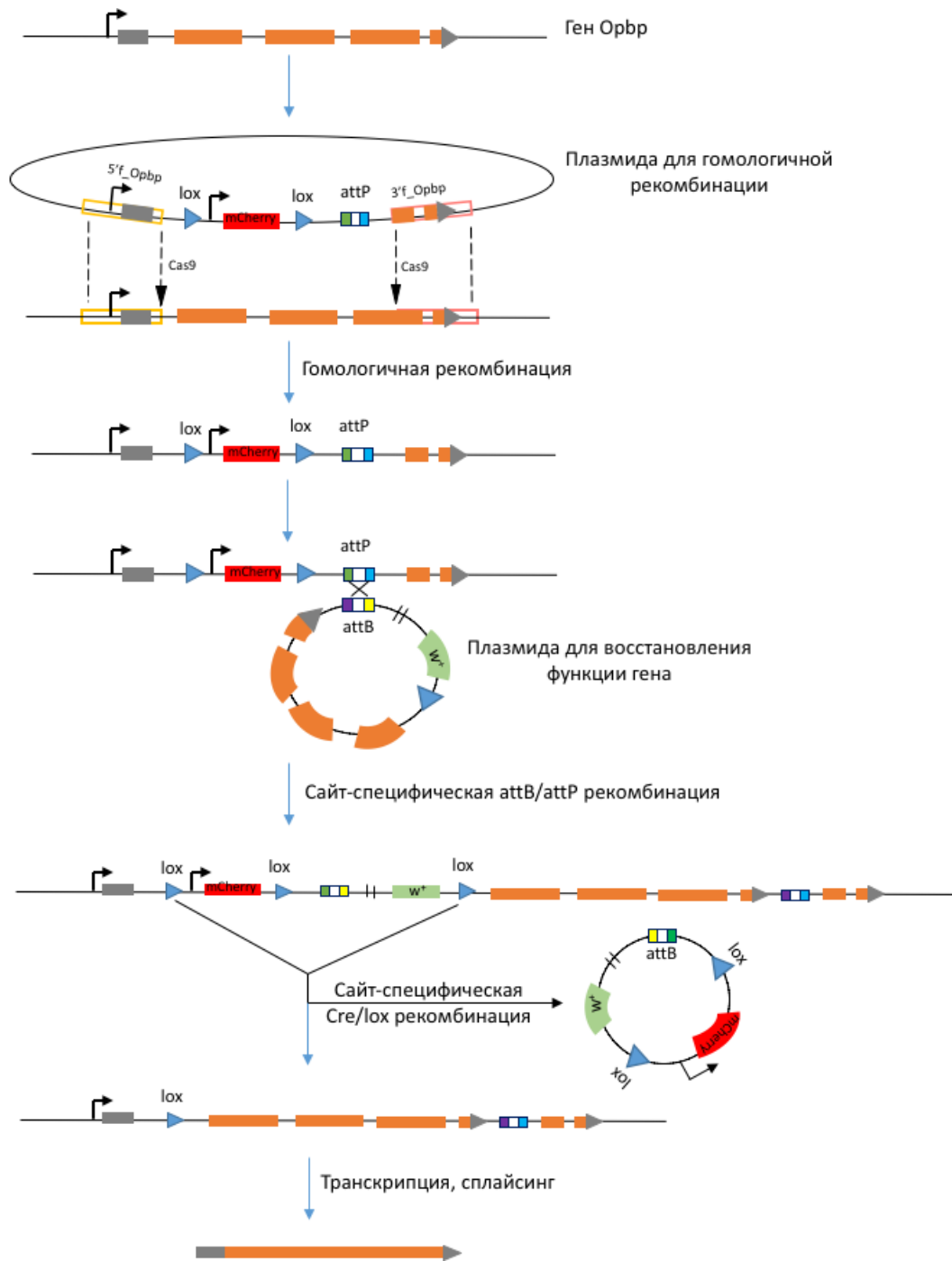


Рис. 1. Схема эксперимента