

Разработка методов анализа данных секвенирования нового поколения в экспериментах по лентивирусной трансдукции мезенхимальных стволовых клеток

Научный руководитель – Шайтан Алексей Константинович

Кожеевникова Дарья Дмитриевна

Студент (бакалавр)

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

E-mail: daria.d.kozhevnikova@gmail.com

Работа посвящена исследованию пролиферативного и дифференцировочного потенциала популяции мезенхимных стволовых клеток (МСК) в красном костном мозге мышей. Задача заключалась в анализе клонального состава (количества и размера клонов) клеток, составляющих строму очагов эктопического кроветворения. Клетки предварительно были маркированы лентивирусным вектором, который интегрируется в ДНК в условно-случайном месте, и тем самым обеспечивает наследуемый маркер всего клеточного потомства трансдуцированной клетки в виде сайта интеграции.

Пробоподготовка повторяла процедуру, описанную в статье [1] и была устроена таким образом, что после фрагментации ДНК ультразвуком к каждой молекуле ДНК пришивались линкеры, состоящие из нескольких участков: участка, общего для всех образцов, уникального для каждого образца, и баркода, уникального для каждой молекулы ДНК. Исходя из процедуры пробоподготовки была создана схема фильтрации данных и выявлена необходимость кластеризации ридов по последовательностям баркодов, находящихся в них, и по расположению сайтов интеграции в геноме. Код алгоритма обработки данных был написан на языке Python с использованием библиотек BioPython и HTSeq, выравнивание ридов производилось с помощью программы BWA. Визуализация кластеров последовательностей была создана с помощью библиотек Networkx и Pyvis.

Источники и литература

- 1 Sherman E, et al. INSPIRED: A Pipeline for Quantitative Analysis of Sites of New DNA Integration in Cellular Genomes. Mol Ther Methods Clin Dev. 2016 Dec 18;4:39-49. doi: 10.1016/j.omtm.2016.11.002.