

## Выявление хромосомных перестроек в клетках линии эритробластов курицы HD3 методами Hi-C и FISH

Научный руководитель – Маслова Антонина Владимировна

*Плотников Владимир Алексеевич*

*Студент (бакалавр)*

Санкт-Петербургский государственный университет, Биологический факультет,  
Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: Gidrovova@yandex.ru*

Методы захвата конформации хроматина (С-методы) позволяют оценить частоту взаимодействий произвольных локусов в геноме и исследовать общие закономерности трехмерной организации хроматина в ядре и их взаимосвязь с функционированием генома. С помощью полногеномного метода захвата конформации хроматина (Hi-C), в частности показано, что локусы, расположенные на одной хромосоме, взаимодействуют чаще, чем локусы, расположенные на разных хромосомах. Это свойство пространственной организации хромосомных территорий позволяет использовать метод Hi-C для исследования хромосомных перестроек при опухолевой трансформации клеток разных типов. Линия эритробластов курицы HD3, трансформированных вирусом эритробластопа птиц, является удобной моделью для изучения процессов эритроидной дифференцировки у птиц *in vitro*. Однако кариотип данной иммортализованной клеточной линии до настоящего времени систематически не исследовался, хотя, как известно, хромосомные aberrации могут вызывать существенные изменения экспрессии генов и влиять на фенотип клетки.

Целью нашей работы стало выявление структурных перестроек кариотипа в клетках линии HD3 на основе визуального анализа тепловой Hi-C карты взаимодействий геномных локусов. В качестве референса для оценки внутри- и межхромосомных контактов в нормальном кариотипе мы использовали Hi-C карту эмбриональных фибробластов курицы, полученную ранее. Отличия в структуре и интенсивности внутри- и межхромосомных взаимодействий на Hi-C карте клеток HD3 мы интерпретировали как свидетельство перестройки. В результате нами были выявлены многочисленные случаи реорганизации хромосом, большая часть которых (около 80%) относится к межхромосомным транслокациям и слияниям хромосом. Наиболее трансформированной среди макрохромосом оказалась хромосома 4 (GGA4). Рисунок контактов GGA4 свидетельствуют о независимом вовлечении в перестройки разных участков хромосомы: малого плеча, центромеры с проксимальным фрагментом большого плеча и дистального фрагмента большого плеча. Методом флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) с зондами к центромерному повтору и «хромосомных красок» к большому и малому плечу GGA4 мы подтвердили присутствие малого плеча и проксимального фрагмента большого плеча в составе производных хромосом. Сравнительные цитогенетические исследования ранее показали, что в ходе эволюции кариотипа курицы GGA4 образовалась в результате слияния макрохромосомы (4q), и микрохромосомы (4p), что могло стать предпосылкой к возникновению точки разрыва в прицентромерной области малого плеча. Внутрихромосомные перестройки были малочисленны и, в основном, представлены делециями. Аннотация перестроек кариотипа клеточной линии HD3, предложенная в нашей работе, является необходимым этапом для исследования изменений в архитектуре генома на разных этапах дифференцировки.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 19-74-20075 с использованием оборудования ресурсного центра «Развитие молекулярных и клеточных технологий» Научного парка СПбГУ.