

# Анализ данных высокопроизводительного секвенирования отдельных хромосом копытного лемминга (*Dicrostonyx torquatus*)

**Прокопов Дмитрий Юрьевич**

Научный руководитель:

к.б.н., м.н.с., **Макунин Алексей Игоревич**

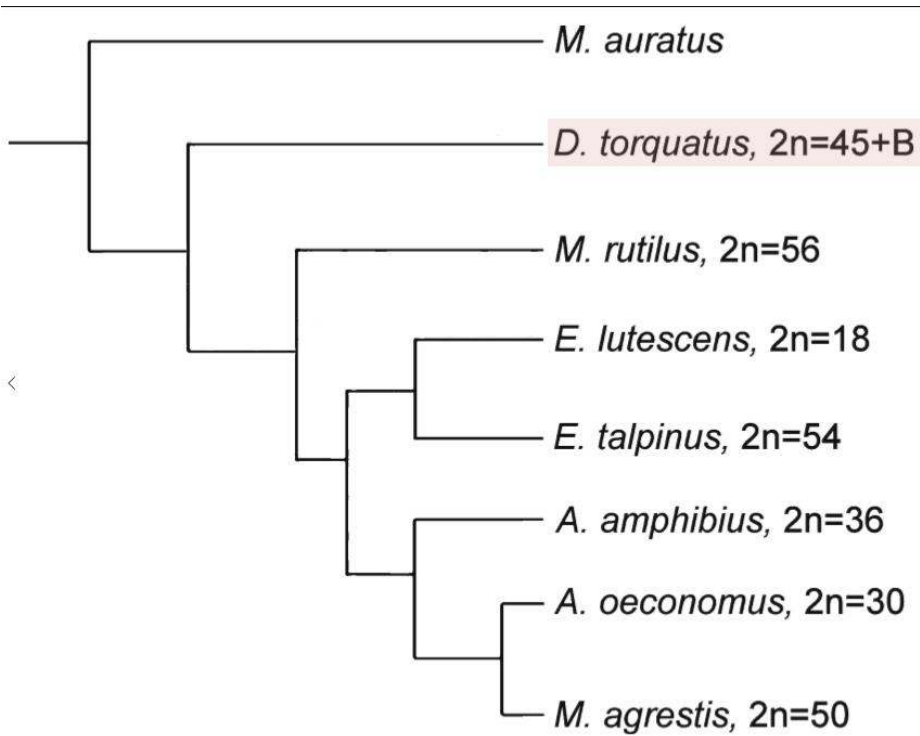
Лаборатория сравнительной геномики

Отдела разнообразия и эволюции геномов

Института молекулярной и клеточной биологии СО РАН

Новосибирск, 2018

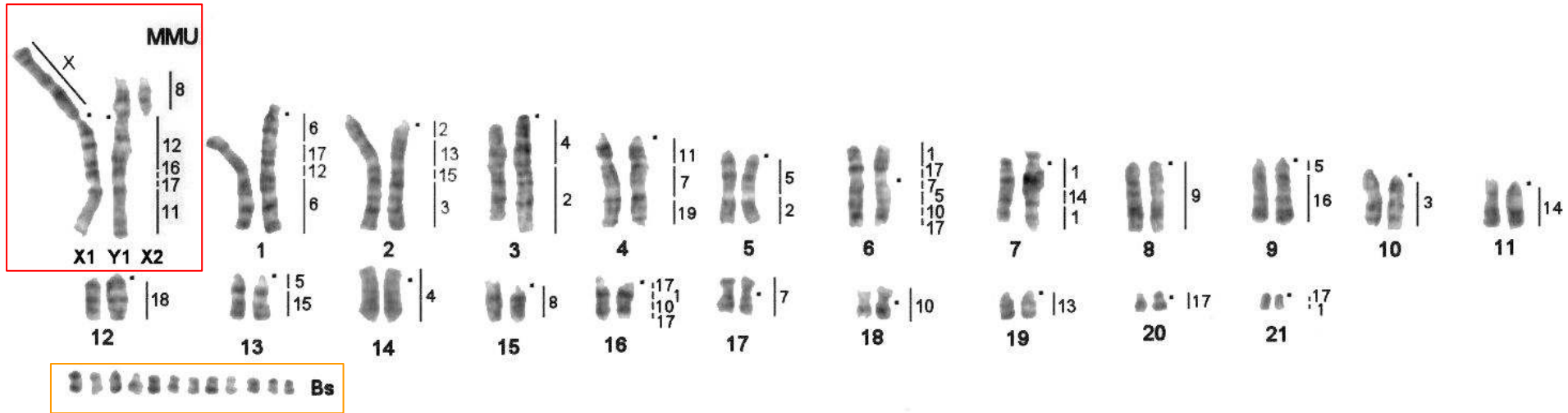
# Филогенетическое древо полёвковых



Arviconinae



# Кариотип самца копытного лемминга



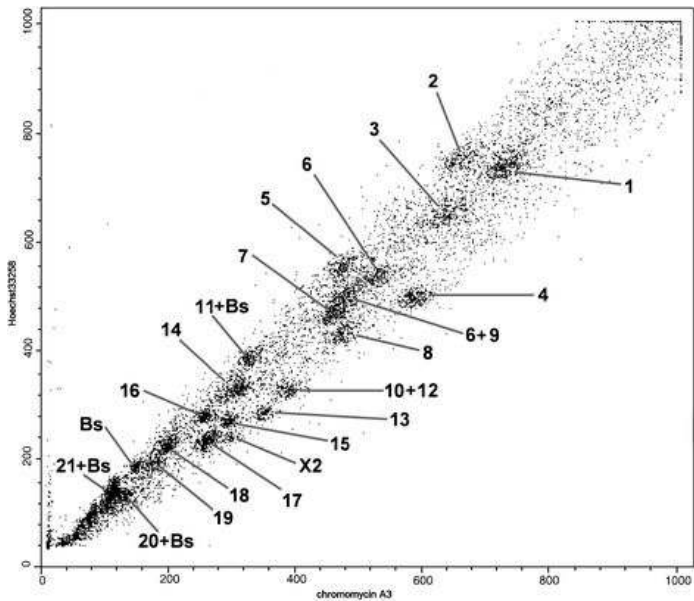
# Цель

Целью данной работы является анализ структуры генома копытного лемминга (*D. torquatus*) на основе данных высокопроизводительного секвенирования хромосомспецифичных библиотек ДНК.

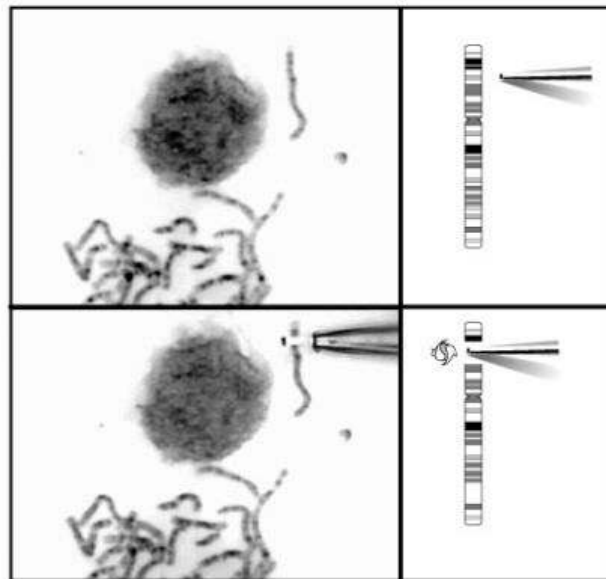
# Задачи

1. Получить библиотеки отдельных добавочных хромосом *Dicrostonyx torquatus* с помощью метода микродиссекции в дополнение к имеющимся библиотекам сортированных хромосом
2. Охарактеризовать хромосомные перестройки копытного лемминга относительно домового мыши (*Mus musculus*) с помощью секвенирования хромосомспецифичных библиотек ДНК, сравнить полученные данные с цитогенетическими данными
3. Описать особенности состава половых и добавочных хромосом *D. torquatus*
4. Описать повторенные последовательности в геноме *D. torquatus*

# Методы получения отдельных хромосом

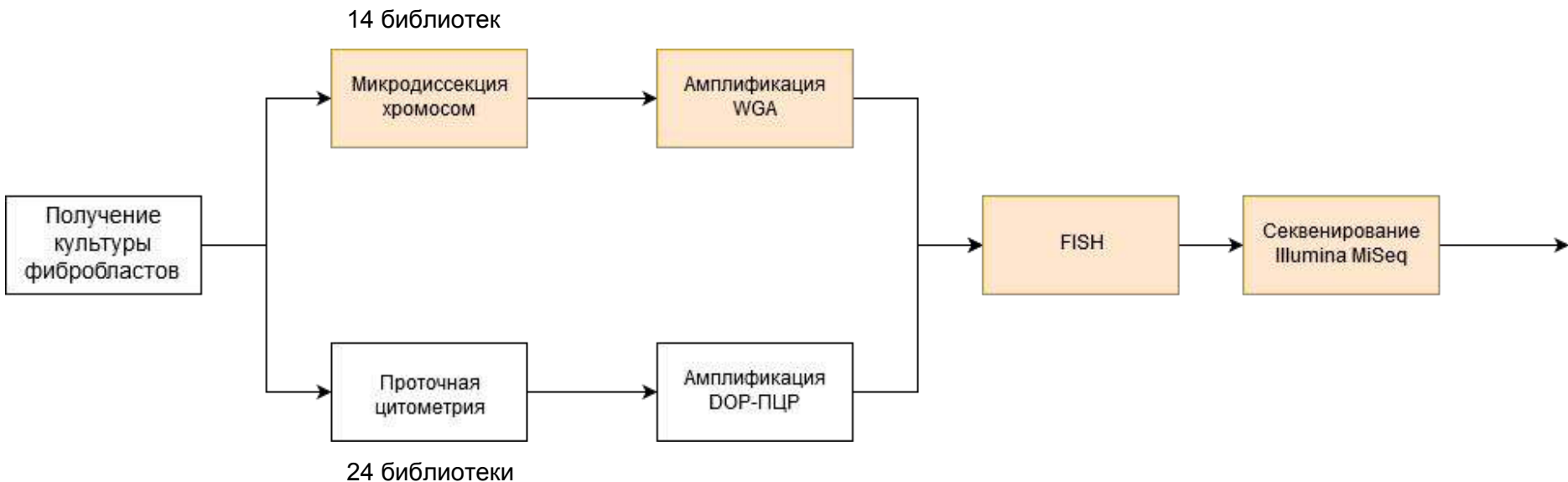


Проточная цитометрия



Микродиссекция

# Схема эксперимента

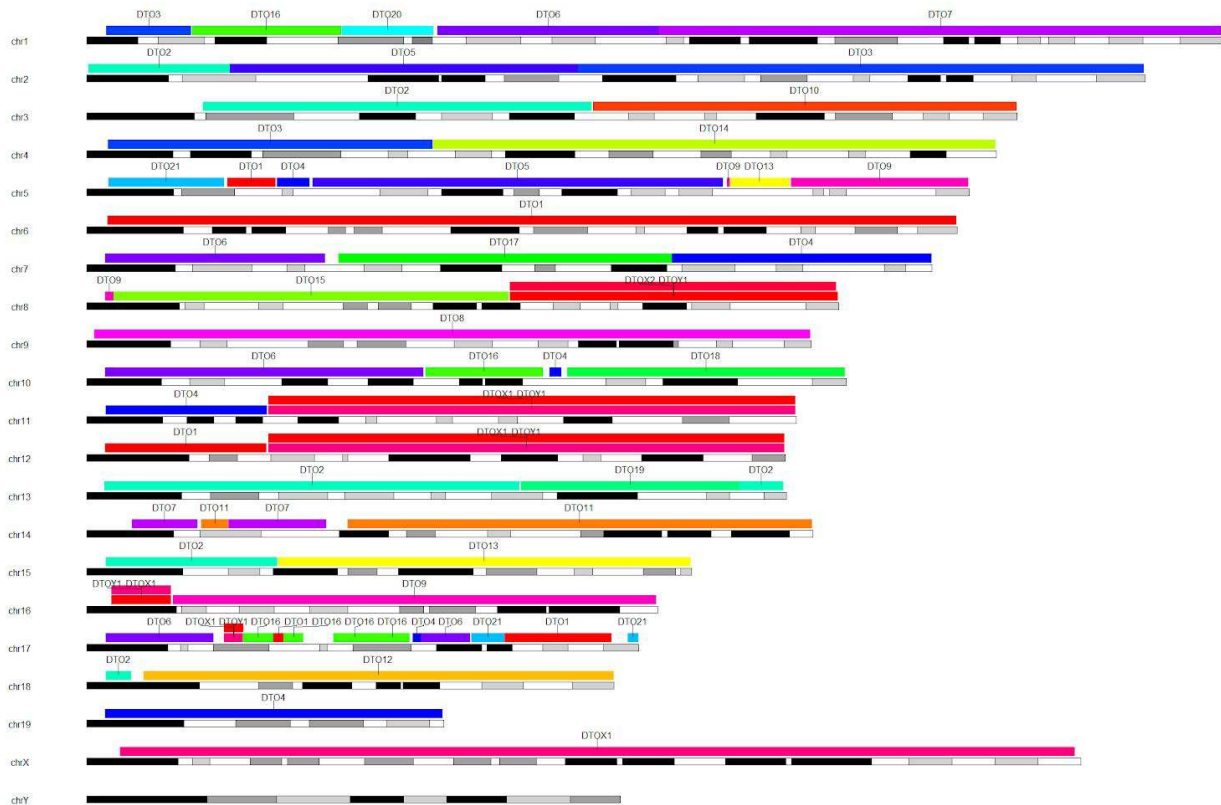


# Биоинформатический анализ



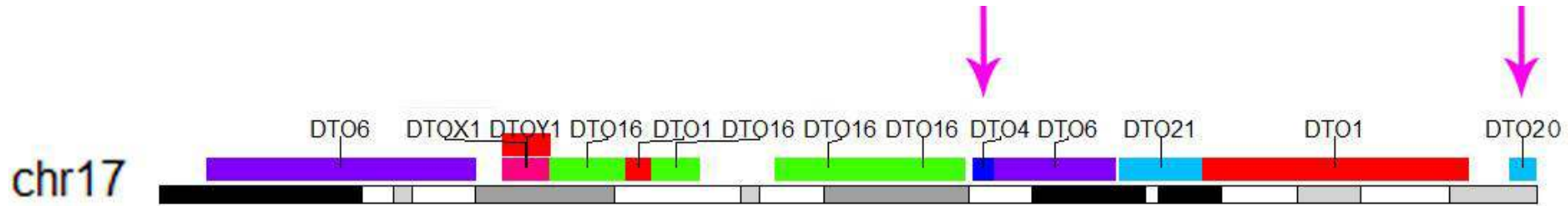


# Характеристика А-хромосомом копытного лемминга

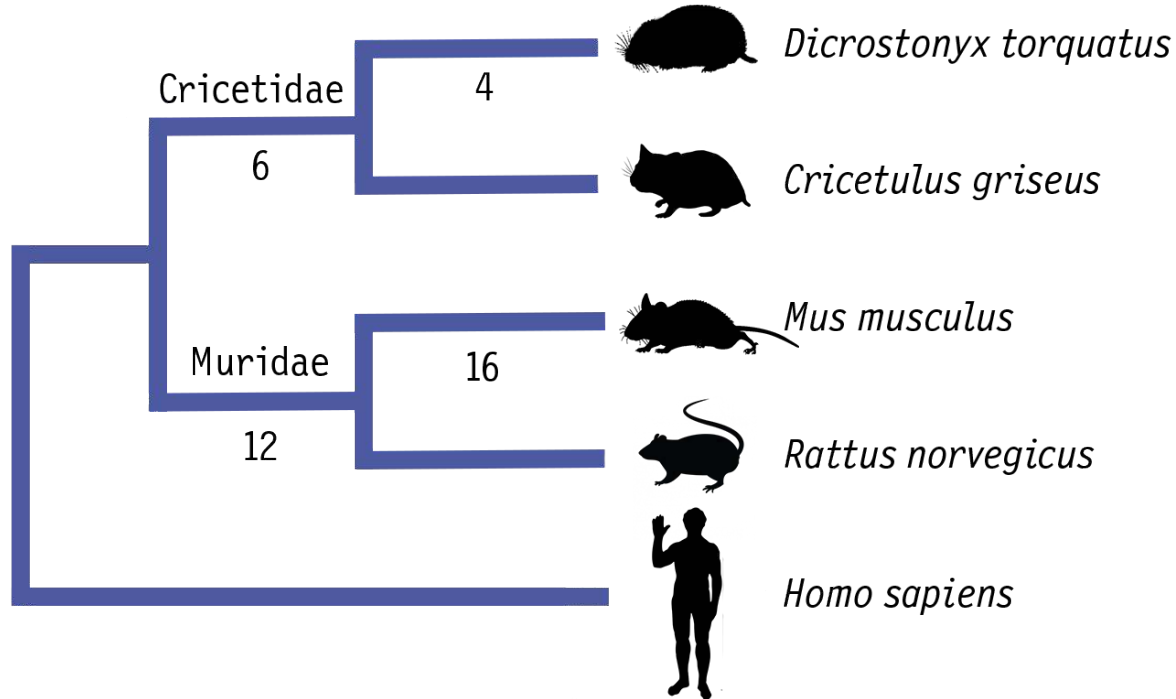


Отображение целевых районов хромосом копытного лемминга на схематическом кариотипе домовый мыши. Одинаковым цветом показаны районы, соответствующие одной хромосоме копытного лемминга.

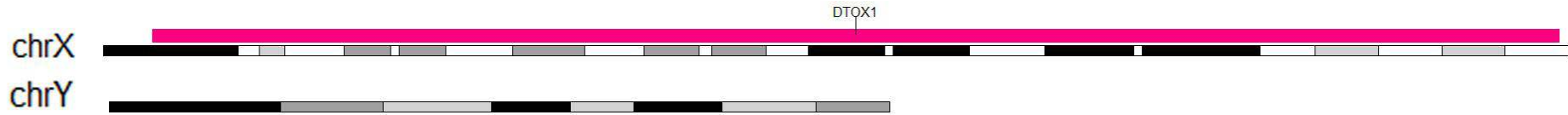
# Обнаружение новых хромосомных перестроек



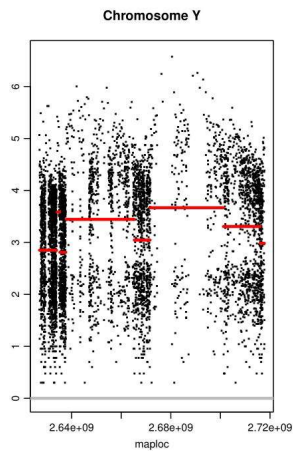
# Линиеспецифичность хромосомных разрывов



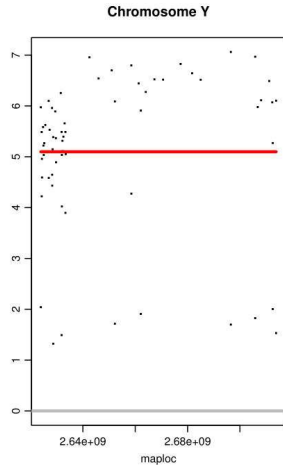
# Характеристика половых хромосом копытного лемминга



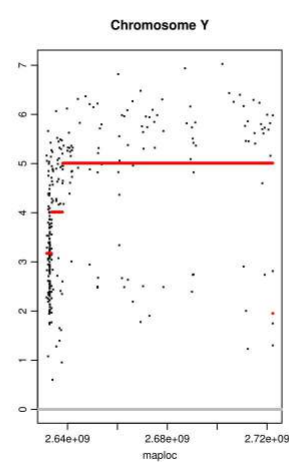
# Анализ секвенированных библиотек половых хромосом с помощью DOPseq\_analyzer



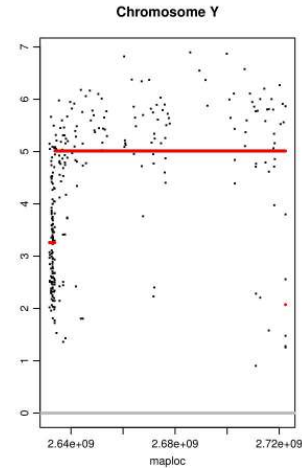
*M. musculus*



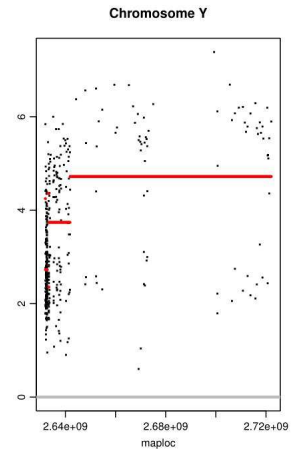
*M. agrestis*



*M. ochrogaster*



*M. mogollonensis*

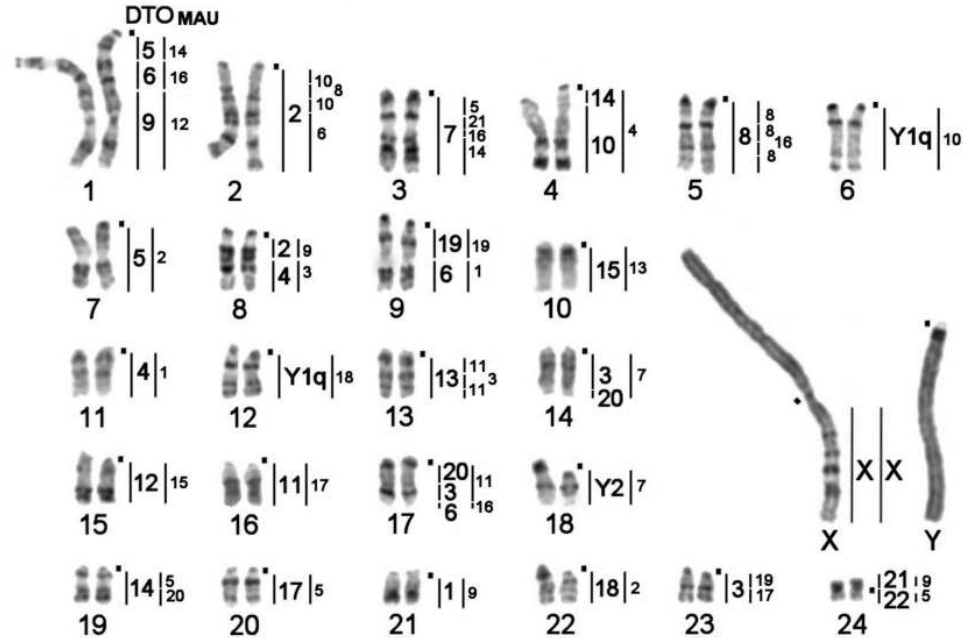


*M. montanus*

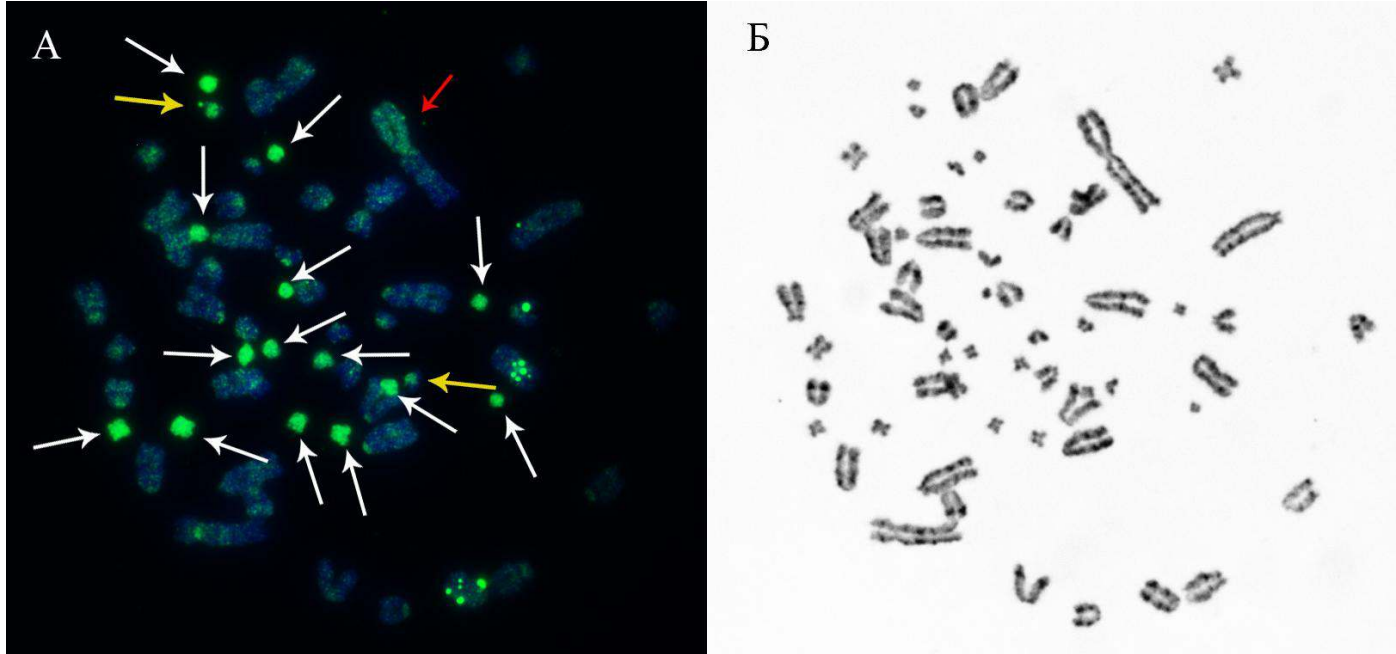
*Mus*

*Microtus*

# Кариотип *Microtus agrestis*



# Гомогенность состава В-хромосом



А - локализация микродиссекционной хромосомоспецифичной пробы В-хромосомы (зеленый) на метафазной пластинке *D. torquatus*; Б - GTG дифференциальная окраска.

# Обнаружение генов на В-хромосомах

Гены	Район	Размер, п.н.
<i>Grb14(p)</i> <sup>1</sup>	2:64,813,815-64,964,240	150 425
-	5:118,812,932-118,841,698	28 766
<i>Dync1i1</i> <sup>1</sup> , <i>Slc25a13</i> <sup>1(p)</sup> , <i>1700019G24Rik</i> <sup>2</sup>	6:57,214,02-60,58,996	337 594
<i>Adam12</i> <sup>1(p)</sup> , <i>D7Ertd443e</i> <sup>1</sup>	7:134,098,421-134,528,171	429 750
-	9:3,000,018-3,024,634	24 616
<i>Atp12a</i> <sup>1(p)</sup> , <i>Rnf17</i> <sup>1</sup>	14:56,379,405-56,514,734	135 329
<i>Abcc1</i> <sup>1</sup>	16:14,422,688-14,470,369	47 681
<i>Parn</i> <sup>1</sup>	16:13,625,542-13,633,408	7 866
<i>Clcn5</i> <sup>1</sup>	X:7,147,334-7,216,823	69 489
<i>Ofd1</i> <sup>1</sup>	X:166,378,482-166,440,113	61 631

Аннотация проводилась с помощью Ensembl 90, в таблице.  
 (p) обозначены фрагменты генов, которые расположены на границе районов.  
 Цветом выделены полноразмерные гены.

Указаны координаты для генома мыши GRCm38.

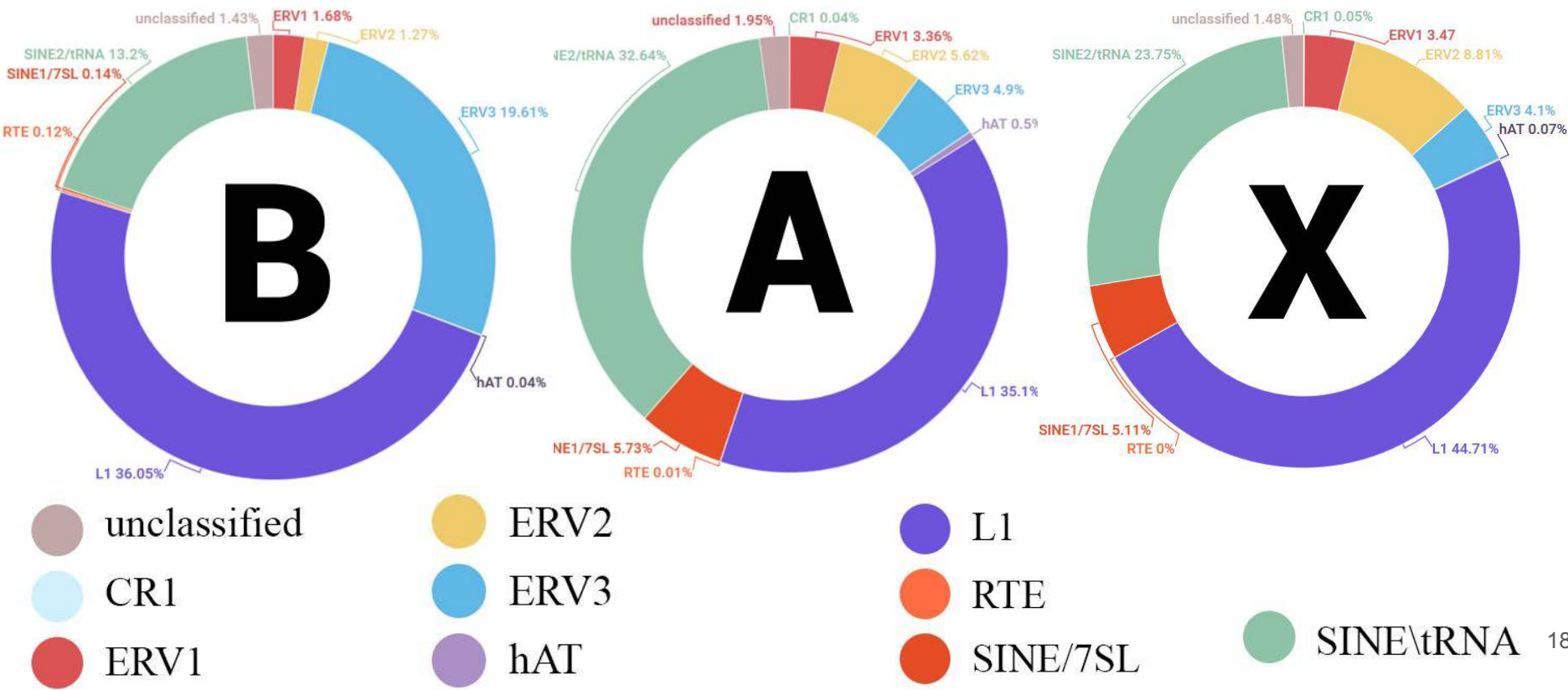
Надстрочные цифры обозначают тип гена:  
 1 - белок-кодирующий,  
 2 - asRNA



# Анализ функционального обогащения генов В-хромосом

Коэффициент обогащения	Термин геной онтологии	Число генов
1.24	cytoskeleton	3
	cytoplasm	6
	phosphoprotein	5
	coiled coil	4
	nucleus	6

# Сравнительный анализ повторённых последовательностей ДНК в геноме *D. torquatus*



# Выводы

1. В результате FISH-анализа 14 микродиссекционных библиотек В-хромосом *Dicrostonyx torquatus*, полученных из одной метафазной пластинки, был показан гомогенный состав всех В-хромосом, наличие общих повторённых последовательностей с А-хромосомами;
2. Полученные координаты хромосомных перестроек копытного лемминга относительно домово́й мыши хорошо согласуются с данными сравнительного пэ́йнтинга, 12 хромосомных перестроек были обнаружены впервые;
3. Подтверждена и уточнена перестройка аутосомы на предковую Х-хромосому, среди исследованных хромосом копытного лемминга не было обнаружено районов «настоящей» Y-хромосомы;

# Выводы

4. В-хромосомы копытного лемминга имеют в своём составе 10 геномных районов с 8 полными генами и 4 генными фрагментами, 3 из них связаны с цитоскелетом клетки;
5. В-хромосомы копытного лемминга имеют состав повторённых элементов, сильно отличающийся как от аутосом, так и от X-хромосомы. В частности, они обогащены ERV3 и обеднены SINE ретроэлементами.