

Определение роли белка ROW в регуляции транскрипции генов *Drosophila melanogaster*

Научный руководитель – Ким Александр Иннокентьевич

Киташова Анастасия Андреевна

Студент (бакалавр)

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

E-mail: a.a.kitashova@gmail.com

Транскрипцией генов у *Drosophila melanogaster* (в частности, генов, контролирующих морфогенез) управляет сложный комплекс транскрипционных факторов. Частью этого комплекса являются белки WOC (Without Children), ROW (Relative of WOC) и HP1c (Heterochromatin Protein 1c) [1]. Предположительно, ROW выполняет свою функцию, специфически связываясь с ДНК цинковыми пальцами (далее - ZnF) Cys2-His2 типа, которые также могут участвовать в белок-белковых взаимодействиях [2].

Для изучения регулирующей функции ROW необходимо понимание его участия в привлечении комплексов-регуляторов на хроматин, что, в свою очередь, может быть сделано с помощью мутантов ROW.

Путем редактирования (методами рестрикции и ПЦР) кодирующей последовательности были получены делеционные производные ROW. С их помощью методом двугибридной дрожжевой системы были определены его участки, ответственные за взаимодействие с ранее найденными белками-партнерами, потенциально являющимися транскрипционными факторами (рис. 1).

При делеции ZnF в участке «В» взаимодействие сохранялось, тогда как при делеции части кодирующей последовательности перед участком с ZnF - исчезало.

В участке «А» была выявлена кодирующая последовательность, консервативная для видов рода *Drosophila*.

Полученные данные позволили начать изучение роли ROW в других транскрипционных процессах, таких как дозовая компенсация, на *D. melanogaster*. Были получены ноль-мутанты, несущие на второй хромосоме делецию 5' конца гена ROW. Для этого с помощью системы CRISPR-Cas9 на место гена ROW вставлялась конструкция, содержащая сайт рекомбинации *attP*, а также маркерный ген *mCherry*, по которому производился отбор положительных трансформантов. Эта конструкция необходима для дальнейшего получения других мутантов, содержащих делеции определенных кодирующих участков гена ROW, выявленных на основании данных, полученных ранее с помощью дрожжевой двугибридной системы.

Таким образом, в работе:

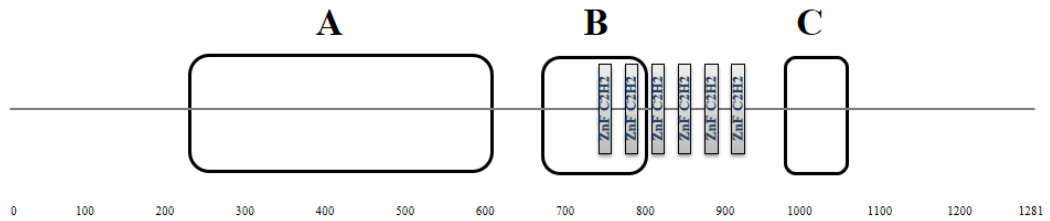
- 1) уточнены взаимодействующие с потенциальными транскрипционными факторами участки ROW;
- 2) подготовлена методическая база для дальнейшего исследования роли ROW в регуляции транскрипции генов на *D. melanogaster*.

Источники и литература

- 1) Abel J., Eskeland R, Raffa G.D., Kremmer E., Imhof A. *Drosophila* HP1c Is Regulated by an Auto-Regulatory Feedback Loop through Its Binding Partner WOC. *PLoS ONE*. 2009; 4: e5089.

- 2) Font-Burgada J., Rossell D., Auer H., Azorin F. Drosophila HP1c Isoform Interacts with the Zinc-finger Proteins WOC and Relative-of-WOC to Regulate Gene Expression. *Genes & Development*. 2008; 22: 3007-3023.

Иллюстрации



A group: Fu2, Odd, CG10654, CG11906, Ci, CG6791, ZIPIC, GRAU, M1BP, WEK

B group: CG12769, MEP1

C group: MSL1

Рис. 1. Структура ROW. Длина приведена в аминокислотах