

**Использование генетических конструкций, созданных на основе модифицированного локуса *tth*, для исследования локализации продуктов экспрессии этого гена в трансгенных линиях дрозофилы**

**Научный руководитель – Симонова Ольга Борисовна**

**Куваева Елена Евгеньевна**

*Аспирант*

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

*E-mail: lena\_kuv@mail.ru*

Ген *tth* относится к семейству генов *d4*, которые представляют собой эволюционно консервативную группу генов дифференциально экспрессирующихся в центральной и периферической нервной системе. У дрозофилы обнаружено два гена-гомолога семейства, один из которых кодирует белок с характерным С-концевым доменом цинковых пальцев РНД-типа, или D4-доменом. *tth* является уникальным, характерным лишь для двукрылых насекомых геном, кодирующим белок без домена D4. Белки семейства D4 дрозофилы входят в состав нейрональных хроматин-ремоделлирующих SWI/SNF-подобных ВАР комплексов, характерных для дифференцированных нейронов, но не нейробластов. Однако до сих пор не ясна роль генов семейства *d4* и их продуктов в развитии и функционировании нервной системы.

С целью выяснения функции *tth* в нашей лаборатории был проведен его нокаут, который показал нарушение развития оптических зачатков мозга эмбрионов. Тем не менее, подтвердить локализацию *tth* в центральной нервной системе с помощью специфических антител было трудно вследствие высокого уровня фона.

Для изучения специфической картины экспрессии *tth* нами, с помощью бактериальной системы высокоэффективной рекомбинации [1, 2], были внесены изменения в последовательность ВАС (*attB-P(acman)-Cam<sup>R</sup> ВАС(CH322-14C11)*), содержащую фрагмент генома дрозофилы с локусом *tth*. Были созданы три генетические конструкции: две кодировали белок ТТН меченый GFP и FLAG, соответственно. Третья конструкция несла последовательность Gal4, так чтобы экспрессировать этот дрожжевой белок под промотором гена *tth*. В будущем, используя линию-драйвер *tth-Gal4* в двухкомпонентной системе UAS-Gal4, можно индуцировать экспрессию маркерного гена *UAS-GFP* в мембранах нейронов для определения их типа.

Анализ картины экспрессии химерного белка ТТН::GFP показал его локализацию в ядрах нейронов оптических долей мозга и по краям брюшной нервной цепочки, а также в ядрах клеток кольцевой железы и слюнных желёз. Экспрессия в кольцевой железе говорит о возможной роли *tth* в развитии и функционировании этого гормонального органа. Таким образом, по предварительным данным ген *tth* участвует в развитии оптических долей головного мозга у дрозофилы, и, возможно, вовлечён в нейрогуморальную регуляцию.

*Данное исследование выполнено при финансовой поддержке раздела Государственного задания ИБР РАН 2021 года № 0108-2019-0001; Работа проводилась с использованием оборудования ЦКП ИБР им Н.К. Кольцова РАН.*

**Источники и литература**

- 1) Baumann A.A. et al. Genetic tools to study juvenile hormone action in Drosophila // Scientific Reports 7. 2017. No. 2132.

- 2) Venken K.J. et al. Recombineering-mediated tagging of Drosophila genomic constructs for in vivo localization and acute protein inactivation // Nucleic Acids Research. 2008. Oct;36(18).