

Функциональный анализ rs56119169 и rs16910241, ассоциированных с болезнью Паркинсона**Алиев Тимур Илхамович**

Студент (магистр)

Новосибирский государственный университет, Факультет естественных наук,
Новосибирск, РоссияE-mail: aliev.timur99@yandex.ru

Одной из актуальных задач медицинской генетики является изучение молекулярных механизмов развития нейродегенеративных заболеваний человека, в частности болезни Паркинсона. По современным данным значимую роль в формировании предрасположенности таких заболеваний играют однонуклеотидные замены — SNPs, в том числе регуляторные SNPs (rSNPs), участвующие в контроле экспрессии генов. Ранее в лаборатории регуляции экспрессии генов ИЦиГ СО РАН был разработан оригинальный подход для поиска потенциально регуляторных SNPs, основанный на анализе аллель-специфичных данных ChIP-seq и RNA-seq. С его помощью были отобраны два SNP, ассоциированных с болезнью Паркинсона: rs56119169(C/A) в промоторе гена *MYL6* и rs16910241(C/A) в 5' области гена *H4-16*. В данной работе поставлена цель: экспериментально оценить их регуляторный потенциал. Методом EMSA проведена оценка способности rs56119169 и rs16910241 влиять на связывание ДНК с белками ядерного экстракта различных отделов головного мозга мыши. Было показано, что олигонуклеотиды, воспроизводящие участки локализации данных SNPs в геноме, способны формировать комплексы с некоторыми транскрипционными факторами (ТФ) тканеспецифическим образом. Выявлены различия в подвижности комплексов ДНК-белок для олигонуклеотидов, соответствующих альтернативным аллелям данных SNPs. Однонуклеотидная замена C → A для rs16910241 и rs56119169 влияет на сродство сайтов связывания неких ТФ в условиях *in vitro*. Использование пакета программы motifbreakR позволило идентифицировать ТФ, сайты связывания которых могут быть повреждены данными SNPs. Проведённый конкурентный анализ позволил верифицировать часть из них. Предполагается, что однонуклеотидная замена C/A в положении rs56119169 изменяет сайты связывания для MAZ, SP1 и KLF13, а в положении rs16910241 — для RAR. Для оценки регуляторного потенциала в условиях *in vivo* были получены репортёрные конструкции с аллельными вариантами вставок: для rs16910241 на базе вектора pGL4.23, для rs56119169 — на базе pGL-3 *Basic*. Оба вектора содержат репортёрный ген люциферазы. Полученные репортёрные конструкции трансфецировали в эукариотические клетки линии HepG2. Уровень экспрессии репортёрного гена люциферазы существенно и достоверно ($p < 0,05$) снижался в случае аллеля А в положении rs56119169. Влияние однонуклеотидной замены в положении rs16910241 на уровень экспрессии репортёрного гена в клетках линии HepG2 не обнаружено.