

Роль фазовых конденсатов в пространственной организации и регуляции транскрипции в локусе кератиновых генов человека**Научный руководитель – Храмеева Екатерина Евгеньевна*****Молодова Мария Николаевна****Аспирант*

Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия

E-mail: mashamolodova@gmail.com

Пространственная организация хроматина, в частности, промотор-энхансерная коммуникация, играет важную роль в реализации программ экспрессии. Промотор-энхансерные контакты могут быть опосредованы разными механизмами, включая жидко-жидкостное разделение фаз и петлевую экструзию. В данной работе мы исследовали вклад процесса разделения фаз в формирование хроматиновых петель, используя в качестве модельной системы локуса кератиновых генов человека (12q13.13).

Как мы показали ранее, локус кератиновых генов обладает сложной пространственной организацией, регулирующей экспрессию кератинов. Гены кератинов экспрессируются в определенных сочетаниях, специфичных для разных типов и стадий дифференцировки кератиноцитов [1; 2]. Локус окружен двумя потенциальными суперэнхансерами, или зонами контроля локуса (Locus Control Region, LCR): LCR1 и LCR2. В клетках HaCaT (иммortalизованные кератиноциты), которые мы использовали в ходе работы, активно транскрибируется *KRT5*, и его промотор пространственно взаимодействует с обеими областями LCR1-LCR2. *KRT1*, напротив, неактивен и не контактирует с LCR.

В данном проекте мы привлекли dCas9, слитый с KLF4 – транскрипционным фактором, формирующим фазовые конденсаты [3], – на промотор неактивного гена *KRT1* с помощью специфических гидовых РНК, и подтвердили привлечение методом иммунопреципитации хроматина и количественной ПЦР (ChIP-qPCR). Используя метод захвата конформации хромосом C-TALE (Chromatin Target Ligation Enrichment) [4], мы обнаружили, что после привлечения dCas9-KLF4 возникает контакт *KRT1* с LCR2, а также увеличивается интенсивность контакта *KRT1* с предполагаемым энхансером в 5'-концевой области от *KRT1*. В то же время, как было показано с помощью количественной ПЦР с обратной транскрипцией (RT-qPCR), привлечение KLF4 не активирует транскрипцию *KRT1*. Результаты позволяют предположить, что сборка фазового конденсата на промоторе неактивного *KRT1* инициирует замыкание контакта между промотором и энхансером, но этого контакта как такового недостаточно для активации гена.

Проект выполнен при поддержке гранта РФФИ # 21-64-00001.

Источники и литература

- 1) 1. Moll R. The human keratins: biology and pathology / R. Moll, M. Divo, L. Langbein // Histochemistry and Cell Biology. – 2008. – Vol. 129. – The human keratins. – № 6. – P. 705-733.
- 2) 2. A Kaleidoscope of Keratin Gene Expression and the Mosaic of Its Regulatory Mechanisms / E.P. Kalabusheva [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – Vol. 24. – № 6. – P. 5603.
- 3) 3. Liquid condensation of reprogramming factor KLF4 with DNA provides a mechanism for chromatin organization / R. Sharma [et al.] // Nature Communications. – 2021. – Vol. 12. – № 1. – P. 5579.

- 4) 4. C-TALE, a new cost-effective method for targeted enrichment of Hi-C/3C-seq libraries / A.K. Golov [et al.] // *Methods* (San Diego, Calif.). – 2020. – Vol. 170. – P. 48-60.