

Ранняя детекция активации промотора гена с использованием агрегирующего флуоресцентного белка

Научный руководитель – Поварова Наталья Владимировна

Блохина Анна Евгеньевна

Студент (специалист)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Москва, Россия

E-mail: anne.blokhina@gmail.com

Ранняя детекция активации промотора гена с использованием агрегирующего флуоресцентного белка. Для флуоресцентной микроскопии необходимы яркие генетически кодируемые метки. Обычно для этого отбирают наиболее яркие природные флуоресцентные белки, которые затем улучшают искусственно. Одним из лучших зеленых флуоресцентных белков, полученных таким образом, является белок mNeonGreen. В нашей работе мы хотели получить более яркую генетически кодируемую флуоресцентную метку. Мы предположили, что сосредоточение флуоресцентного сигнала в одной точке значительно увеличит яркость по сравнению с сигналом от метки, молекулы которой равномерно распределены по клетке. Для проверки этой гипотезы мы создали сильно агрегирующий тандемный флуоресцентный белок TrioG из трех копий зеленого флуоресцентного белка AG4, который в растворе образует тетрамер. Согласно нашему предположению, из-за невозможности образовать внутримолекулярный тетрамер молекулы тройного тандема будут эффективно образовывать крупные агрегаты. Флуоресцентная микроскопия клеток млекопитающих, экспрессирующих TrioG, подтвердила это предположение — в клетках были четко видны отдельные яркие частицы. Мы решили проверить, поможет ли такой способ усиления сигнала обнаружить флуоресценцию при низкой концентрации белка. Для этого в клетках млекопитающих экспрессировали белок TrioG под контролем промотора гена гистона H1. Этот ген экспрессируется только в S-фазу клеточного цикла — таким образом, в клетке образуется небольшое количество белка. В результате мы наблюдали появление зеленых частиц TrioG в S-фазу клеточного цикла, тогда как сигнал от mNeonGreen, экспрессируемого под тем же промотором, обнаружить не удалось. Наши результаты показывают, что TrioG является подходящим инструментом для ранней детекции активации промоторов генов.