

**Генетический нокдаун транскриптов перекрывающихся генов *lawc* и *Trf2* в соматических и репродуктивных тканях *Drosophila melanogaster*****Научный руководитель – Симонова Ольга Борисовна****Заволока Екатерина Леонидовна**

Аспирант

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

E-mail: [workerbh000@gmail.com](mailto:workerbh000@gmail.com)

Известно, что у эукариот значительная доля генома может транскрибироваться в разных направлениях - смыслом и антисмыслом. Это может приводить к возникновению общих для разных генов регуляторных зон и появлению перекрывающихся транскриптов. Накапливаются сведения, что антисмысловая транскрипция представляет собой дополнительный уровень регуляции экспрессии генов наряду с транскрипционными факторами, метилированием ДНК и модифицированием гистонов [2].

Исследования антисмысловой транскрипции поднимают несколько важных вопросов. Например, если два гена расположены на противоположных цепях, формируют ли их перекрывающиеся транскрипты РНК-дуплекс? Если да, то каким образом этот дуплекс влияет на молекулярно-генетические процессы в клетке? Если же РНК-дуплекс не формируется, то при каких условиях и какие факторы предотвращают образование двухцепочечной молекулы РНК и его последствия [3]?

Биоинформационный анализ геномов и транскриптомов даёт лишь общие сведения о количестве и структуре антисмысловых транскриптов и перекрывающихся генах. В связи с этим актуально исследовать функции естественных антисмысловых транскриптов на хорошо аннотированных генетических системах *in vivo* и *in vitro*, в конкретных ситуациях.

Ранее было показано, что ген дрозофилы *Tbp-related factor 2 (Trf2)* перекрывается с геном *lawc* и разнонаправленные транскрипты этих генов, возможно, могут участвовать в координировании своей экспрессии в онтогенезе. Оба гена функционально родственны и их продукты участвуют в регуляции транскрипции других генов. Однако функции гена *lawc* изучены слабо, ввиду отсутствия его мутаций.

Мы решили использовать систему перекрывающихся генов *lawc/Trf2* для исследования эволюционно сложившегося механизма регуляции сбалансированной экспрессии прямых и обратных транскриптов этого комплекса в соматических и герминативных тканях. Кроме того, мы решили исследовать возможную роль двух микроРНК (*mir2491*, *mir4968*), комплементарных транскриптам гена *lawc*. Эти эволюционно консервативные микроРНК недавно были обнаружены в геноме дрозофилы. Однако мишени для этих микроРНК остаются неизвестными. Исследование координированной экспрессии перекрывающихся генов в онтогенезе, а также выявление новых мишеней для конкретных микроРНК и их функций является одной из актуальнейших задач [1].

В результате генетических экспериментов по направленному подавлению экспрессии транскриптов генов *Trf2* и *lawc in vivo* в тканях глазного поля, антенны и в репродуктивных клетках с использованием системы *Gal4/UAS* мы показали, что снижение экспрессии гена *lawc* приводит к падению уровня экспрессии гена *Trf2*. На это указывают одинаковые нарушения морфологии глаз, антенн и репродуктивных органов, вызванные подавлением *lawc* и *Trf2*. Мы сделали вывод, что в этих тканях оба гена работают конкордантно. Однако подавление экспрессии этих генов в соматических фолликулярных клетках вызвало различные нарушения. Мы сделали вывод, что в этих клетках оба гена работают

независимо, возможно с альтернативных промоторов. Эксперименты по коэкспрессии гибридного фрагмента гена *lawc* с пришитым к нему геном зелёного флуоресцентного белка GFP и двух микроРНК, комплементарных *lawc*, показали, что уровень его экспрессии может находиться под контролем этих микроРНК. Ген *Trf2* является важным фактором базовой транскрипции, поэтому он имеет некое предпочтение в использовании общей с геном *lawc* регуляторного района в соматических и репродуктивных тканях. И вероятно, в этом ему "помогают" микроРНК, инактивирующие обратные транскрипты *lawc*. Тем не менее, функция *lawc* в формировании эпителия фолликулярных клеток, возможно, стала препятствием на пути "захвата" геном *Trf2* его регуляторного района, что позволило *lawc* сохранить свою независимость от *Trf2* в этих клетках.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ (проект № 20-04-00272а).

### Источники и литература

- 1) 1. Bartel D.P. MicroRNAs: Genomics, Biogenesis, Mechanism, and Function // Cell. 2004. Т. 116. № 2. С. 281–297
- 2) 2. Vanhee-Brossollet C., Vaquero C. Do natural antisense transcripts make sense in eukaryotes? // Gene. 1998. Т. 211. № 1. С. 1–9.
- 3) 3. Черезов Р.О., Симонова О.Б. Перекрывающиеся гены и антисмысловая транскрипция у эукариот // Генетика. 2014. Т. 50. № 7. С.749.