

Изучение кофактора транскрипции ТТН с помощью флуоресцентных репортеров на модельном организме *Drosophila melanogaster***Научный руководитель – Мерцалов Илья Борисович****Куваева Елена Евгеньевна***Аспирант*

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

E-mail: lena_kuv@mail.ru

Ген *toothrin* (*tth*) относится к эволюционно консервативному семейству генов *dd*. У позвоночных животных семейство представлено тремя генами, два из которых дифференциально экспрессируются в центральной и периферической нервной системе [3]. У дрозофилы обнаружено два гена-гомолога этого семейства, но только один из них (*drosophila dd* - *dd4*) кодирует белок с характерным С-концевым доменом парных цинковых пальцев РНД-типа, или D4-доменом (DPF). Ген *tth* является особенным геном, кодирующим белок без домена D4, но с доменом 2/3, который также есть у D4-белков, и среди всех животных найден только у двукрылых насекомых. Однако до сих пор не ясна роль генов семейства *dd* и их продуктов в развитии и функционировании нервной системы. По литературным данным, домен 2/3 играет роль коактиватора транскрипции в сигнальном пути NF- κ B, который участвует в воспалительном ответе, пролиферации клеток и апоптозе. Наличие гена, кодирующего белок только с доменом 2/3, даёт возможность изучать роль этого домена и самого гена в онтогенезе на модельном организме *Drosophila melanogaster*.

С целью выяснения функции *tth* в нашей лаборатории был проведён его нокаут, который показал нарушение развития оптических зачатков мозга эмбриона.

Для изучения специфической картины экспрессии *tth* нами были получены линии дрозофил, имеющих в геноме дополнительный локус гена, модифицированный для экспрессии: 1) флуоресцентно-меченого химерного белка ТТН::GFP и 2) дрожжевого транскрипционного фактора GAL4 под промотором *tth*.

Ранее мы получили линию трансгенных дрозофил, трансформированных конструкцией ВАС, у которой в первый экзон локуса *tth* был встроены фрагмент, кодирующий дрожжевой транскрипционный фактор GAL4. Анализ картины экспрессии GAL4 у личинок дрозофил с помощью репортерной линии *UAS-RFP.nls* показал окраску центральной и периферической нервной системы. В то же время экспрессия *tth*, меченого GFP, была обнаружена дополнительно в эпидермальной и мышечной ткани личинки. Такое несовпадение, вероятно, обусловлено нарушением регуляторной области гена встроенным фрагментом GAL4. С целью изучения полной картины экспрессии *tth*, мы применили новый метод коэкспрессии целевого гена (*tth*) и репортерного *Gal4* в одной рамке считывания и разделённых вирусным пептидом Т2А [1,2]. При трансляции такой конструкции формируются два белка, которые функционируют независимо. Результаты анализа картины экспрессии этой конструкции будут представлены на конференции.

На основе наших предварительных данных, можно предположить, что ген *tth* участвует в развитии центральной и периферической нервной системы, и в частности, зрительных органов, а также в развитии и функционировании органов секреции, контролирующей гормональную регуляцию и пищеварение *D. melanogaster*.

Данное исследование выполнено при финансовой поддержке раздела Государственного задания ИБР РАН 2022 года № 0088-2021-0007; 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) Diao F., White BH. A novel approach for directing transgene expression in *Drosophila*: T2A-Gal4 in-frame fusion // Genetics. 2012. V 190(3). P. 1139-44
- 3) Kulikova D.A., Mertsalov I.B., Simonova O.B. d4 family genes: Genomic organization and expression // Russ. J. Dev. Biol. 2013. V. 44. P. 1-6