

**Пространственная организация локуса кератиновых генов человека**

**Научный руководитель – Ульянов Сергей Владимирович**

***Штомпель Анастасия Сергеевна***

*Студент (магистр)*

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра молекулярной биологии, Москва, Россия

*E-mail: shtompel.an@gmail.com*

Важную роль в регуляции клеточной физиологии играет пространственная организация дифференциально экспрессирующихся геномных локусов и механизмы, обеспечивающие контакт между промотором и энхансерными элементами. Паттерн экспрессии кератинов специфичен для разных типов эпителиев и этапов созревания кератиноцитов [3]. Ранее методом фиксации конформации хромосом C-TALE [2] было показано, что локус 12q13.13 кератиновых генов обладает сложной пространственной организацией, специфичной для эпителиальных клеток. Также были идентифицированы потенциальные зоны контроля локуса (Locus Control Region, LCR1 и LCR2), участвующие в регуляции экспрессии кератинов. В данной работе с помощью метода C-TALE и 3D-FISH в сочетании со сверхразрешающей микроскопией STED мы охарактеризовали пространственную структуру локуса 12q13.13 кератиновых генов в ходе дифференцировки индуцированных плюрипотентных клеток (ИПСК) и в иммортализованных кератиноцитах HaCaT. В ходе дифференцировки ИПСК в кератиноциты по данным C-TALE вначале устанавливается петлевой контакт между LCR1 и LCR2 до активации экспрессии гена KRT5, что обеспечивает топологическую изоляцию локуса от соседних регионов хромосомы. В клетках HaCaT, в которых ген KRT5 активно транскрибируется, формируется контакт между промотором этого гена и обоими зонами LCR1-LCR2, что говорит о потенциальной возможности формирования тройственного регуляторного комплекса (хаба) [1]. Полученные наблюдения соотносятся с данными, полученными методом 3D-FISH. При активации гена KRT5 в клетках HaCaT наблюдается увеличение степени компактности локуса по сравнению с недифференцированными ИПСК. Используя метод C-TALE, мы также обнаружили, что после обработки 1,6-гександиолом, способным разрушать фазовые конденсаты [4], наблюдается исчезновение петли между промотором KRT5 и обеими LCR, а также ослабление регуляторной петли между энхансерами, что предполагает участие механизма фазового разделения в формировании активаторного комплекса.

Проект выполнен при поддержке гранта РФФИ # 20-04-00778.

**Источники и литература**

- 1) de Laat W, Grosveld F. Spatial organization of gene expression: the active chromatin hub // *Chromosome Res.* 2003;11(5):447-59.
- 2) Golov AK, Ulianov SV, Luzhin AV et al. C-TALE, a new cost-effective method for targeted enrichment of Hi-C/3C-seq libraries // *Methods.* 2020 Jan 1;170:48-60
- 3) Moll R, Divo M, Langbein L. The human keratins: biology and pathology // *Histochem Cell Biol.* 2008 Jun;129(6):705-33.
- 4) Ulianov SV, Velichko AK, Magnitov MD, et al. Suppression of liquid-liquid phase separation by 1,6-hexanediol partially compromises the 3D genome organization in living cells // *Nucleic Acids Res.* 2021 Oct 11;49(18):10524-10541.