

Подходы к изучению структурно-функциональных особенностей неканонического комплекса SWI/SNF у *Drosophila melanogaster***Научный руководитель – Чмыхало Виктор Константинович*****Напрягло Елизавета Алексеевна****Студент (магистр)*

Московский физико-технический институт, Москва, Россия

E-mail: napriaglo.ea@phystech.edu

Одним из ключевых механизмов эпигенетического контроля экспрессии генов является ремоделирование хроматина, осуществляемое специализированными белковыми комплексами, в том числе консервативным семейством ремоделеров SWI/SNF. Исследование сосредоточено на неканоническом подсемействе SWI/SNF – BAP (ncBAP) комплексов у *D.melanogaster*, характеризующийся наличием субъединиц Bicra и Brd7-9, гомологи которых исследуются у млекопитающих в качестве новых онкологических мишеней для терапии. Изучение ncBAP на модели дрозофилы заложит фундамент для понимания эволюционно консервативных механизмов контекст-зависимой эпигенетической регуляции экспрессии генов *in vivo*. Нарушения этих механизмов ассоциированы с рядом заболеваний человека: мутации генов белков-компонентов SWI/SNF обнаруживаются 20% случаев раковых заболеваний, а, кроме этого, нарушения в гомологах *Bicra* человека являются причиной врождённых синдромов, сопровождающихся нарушениями развития нервной системы и интеллекта [1].

Цель исследования – изучение структурно-функциональных особенностей ncBAP комплексов *D.melanogaster*: исследование протеомного окружения ncBAP и фенотипического проявления нокдауна отдельных субъединиц ncBAP (Brd7-9, Bicra). Задачи исследования: получение трансгенных линий мух для *in vivo* GAL4/UAS-опосредованной РНК-интерференции генов *Brd7-9* и *Bicra*, оценка эффективности нокдауна целевых генов при использовании различных типов интерферирующих РНК; верификация антител к Brd7-9.

Ранее полученные векторы на основе *pOT-AttB-UAS-RNAi-LoxP-eGFP*, несущие последовательности микроРНК против Brd7-9 и длинные двуцепочечные РНК против (ддцРНК) Brd7-9 или Bicra, для PhiC-зависимой интеграции микроинъекцированы в эмбрионы линии #34772 (Bloomington), мутанты верифицированы методом ПЦР и скрещены с носителями *nSyb-Gal4* (для микроРНК) или *elav-Gal4; UAS-Dcr2* (для ддцРНК) для паннейронального нокдауна. В качестве контрольных линий взяты гибриды с генотипом *nSyb-Gal4 / VALIUM 20-mCherry.RNAi* или *elav-Gal4; UAS-Dcr2; VALIUM 20-mCherry.RNAi*. Анализ нокдауна гена *Brd7-9* методом кПЦР показал эффективность: около 10% (микроРНК) и 50% (ддцРНК). Более высокая эффективность ддцРНК по сравнению с микроРНК указывает на предпочтительность данной стратегии для функционального анализа субъединиц ncBAP *in vivo*.

Специфичность антител к Brd7-9 подтверждена методами иммунопреципитации и Вестерн-блоттинга. Показано, что Brd7-9 коиммунопреципитирует с субъединицами SAYP и Brm, но не белками инсуляторного комплекса. Полученные данные свидетельствуют взаимодействии Brd7-9 с ключевыми субъединицами SWI/SNF комплексов.

Совокупность результатов закладывает основу для дальнейших омиксных исследований ncBAP как интергративную платформу для эпигенетической регуляции экспрессии генов в нейрональной ткани.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 23-14-00348.

Источники и литература

- 1) Chmykhalo V.K., et al. SWI/SNF complex connects signaling and epigenetic state in cells of nervous system // *Mol. Neurobiol.* 2025. Vol. 62. No. 2. P. 1536–1557.