

ПРИОРИТЕТНОЕ НАПРАВЛЕНИЕ 6.6.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ГЕНЕТИКА. МЕХАНИЗМЫ РЕАЛИЗАЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ. БИОИНЖЕНЕРИЯ

Программа 6.6.1. Биоинженерия и молекулярно-генетические механизмы реализации генетической информации

Сотрудниками Института цитологии и генетики с целью выяснения механизма опухолесупрессорного действия FOXA-белков в печени проведен поиск их потенциальных генов-мишеней, контролирующих пролиферацию. В регуляторных районах 40 дифференциально экспрессирующихся генов, связанных с регуляцией пролиферации, проведен поиск сайтов связывания FOXA компьютерным методом SITECON. Выявлено 11 генов, содержащих кластеры потенциальных FOXA-сайтов. Методом задержки в геле подтверждено взаимодействие FOXA с такими микросателлитными сайтами. Методом ПЦР в реальном времени исследовано влияние гепатоканцерогена OAT, который приводит к снижению активности FOXA, на экспрессию шести генов, содержащих подтвержденные сайты (рис. 20). Показано, что под действием OAT резко возрастает уровень мРНК двух генов *Cul2* и *CDC73*, продукты которых являются активаторами клеточного цикла. Увеличение экспрессии этих генов может способствовать развитию опухолей за счет активации пролиферации.

Ген *Trithorax-like* (*Trl*) дрозофилы кодирует многофункциональный белок GAGA, требующийся для обеспечения нормальной экспрессии многих генов дрозофилы. Для идентификации районов, участвующих в ткане- и стадийспецифической регуляции экспрессии *Trl*, учеными этого же Института был получен набор делеций, удаляющих разные участки 5'-некодирующей области гена (рис. 21, а). Установлено, что жизнеспособность мутантов *Trl*^{362ex}, *Trl*¹⁵ и *Trl*⁴⁻²⁸⁵ снижена по сравнению с нормой на 30, 90 и 50 % соответственно. Мутация *Trl*⁴⁻⁸³ приводит к полной гибели мутантов на ранних стадиях развития. У *Trl*^{362ex}-мутантов, характеризующихся минимальным сни-

жением жизнеспособности, не выявлено изменений уровня экспрессии гена на ранних стадиях развития, тогда как остальные мутанты демонстрируют значительное нарушение экспрессии гена на стадии куколки (рис. 21, б). Таким образом, в районах, удаляемых делециями *Trl*¹⁵, *Trl*⁴⁻⁸³ и *Trl*⁴⁻²⁸⁵, располагаются функционально-значимые последовательности, требующиеся для обеспечения правильной экспрессии гена на стадии куколки. При этом наибольшее значение, по-видимому, имеет участок, в котором располагается третий сайт инициации транскрипции, поскольку его удаление у *Trl*⁴⁻⁸³-мутантов приводит к их гибели.

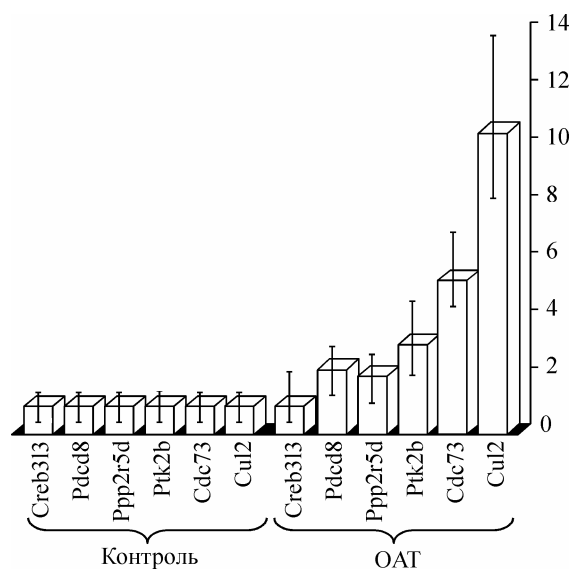


Рис. 20. Изменение экспрессии шести потенциальных генов-мишеней FOXA в печени под действием OAT.

По оси абсцисс — названия генов, по оси ординат — уровень экспрессии генов относительно внутреннего стандарта (GAPDH).

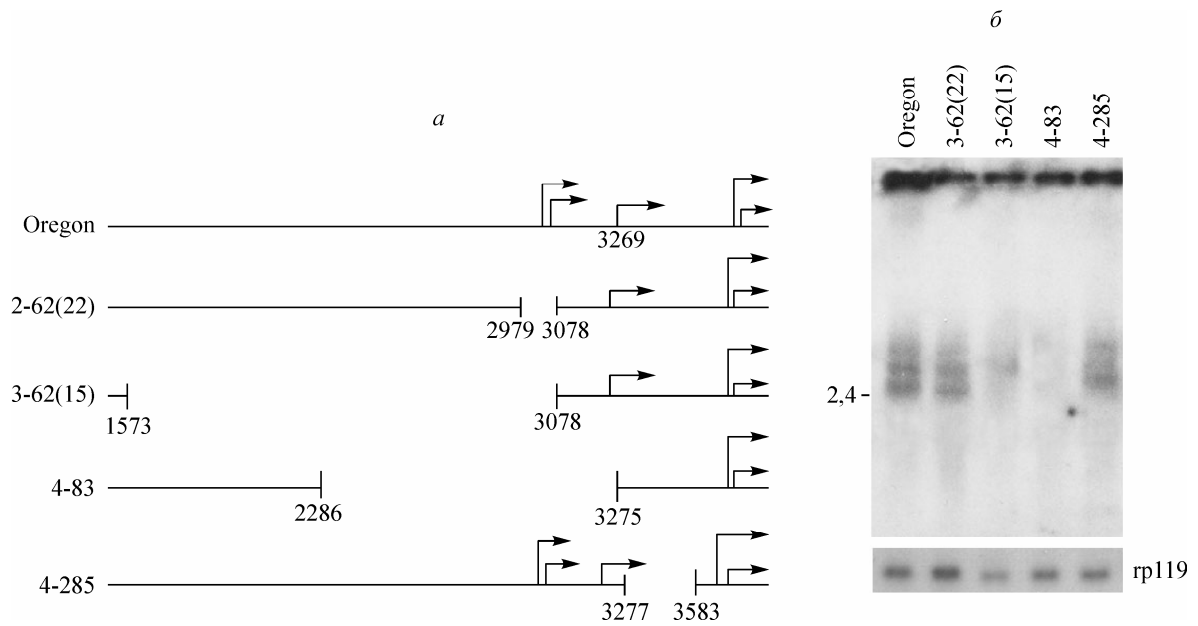


Рис. 21. Схема мутаций, затрагивающих 5'-регуляторную область гена *Tgl* (стрелками указаны сайты инициации транскрипции, картированные в яичниках. Oregon — дикий тип дрозофилы, контроль) (а) и анализ экспрессии гена *Tgl* в куколках (внизу как контроль нанесения представлена гибридизация с зондом *gr119*) (б).