

author: Максименко Оксана Геннадьевна  
organization: Институт Биологии гена РАН  
section: 1  
alt\_section: 0  
title: Исследование участия белка E(y)2 в реализации барьерной активности Su(Hw)-зависимых инсуляторов D.me  
authors: Максименко О.Г., Куршакова М.М., Краснов А.Н., Георгиев П.Г.  
location: Институт Биологии гена РАН, Москва, Россия

Наиболее хорошо изученным инсулятором у *D.melanogaster* является инсулятор Su(Hw) из ретротранспозона МДГ4. Он содержит 12 сайтов связывания для белка Su(Hw). В последнее время много внимания уделяется эндогенным Su(Hw)-зависимым инсуляторам. Так, очень удобным для изучения инсулятором оказался 1A2 инсулятор, расположенный в конце гена *yellow*, содержащий 2 сайта связывания для белка Su(Hw), обладающий и энхансер-блокирующей и барьерной инсуляторными активностями. Ранее было показано, что в реализации этих активностей важную роль играет белок Su(Hw). Но одновременно было продемонстрировано и то, что критичным является и работа других белковых факторов. Так, используя трансгенные модельные системы мы продемонстрировали, что и в инсуляторе 1A2 и в инсуляторе из ретротранспозона МДГ4 за энхансер-блокирующую активность отвечает белок Mod(mdg4), который в то же время никак не задействован в реализации барьерной активности инсуляторов. Далее мы приступили к поиску компонента, участвующего в реализации барьерной активности Su(Hw)-зависимых инсуляторов. При помощи дрожжевого двугибридного скрининга библиотеки кДНК в качестве одного из белков, взаимодействующих с белком Su(Hw), был идентифицирован белок E(y)2 – транскрипционный фактор, связывающийся с гистоновой ацетилазой GCN5, факторами транскрипции TAF9 и TAF10. Это взаимодействие было подтверждено коиммунопреципитацией на культуре клеток S2 *D.melanogaster*. Кроме этого была показана колокализация белков Su(Hw) и E(y)2 на политенных хромосомах и доказано присутствие избытка белка E(y)2 у описанных в геноме сайтов связывания белка Su(Hw). После этого мы провели анализ влияния белка E(y)2 на барьерную активность Su(Hw)-зависимых инсуляторов на созданных ранее модельных трансгенных системах в *D.melanogaster*. В трансгенные линии мух мы могли вводить мутации по генам, кодирующим белки Su(Hw) и E(y)2. В результате нами было показано, что белок E(y)2 принимает непосредственное участие в реализации барьерной активности Su(Hw)-зависимых инсуляторов. Более того, важность взаимодействия белков Su(Hw) и E(y)2 в регуляции генной экспрессии подтвердилась достаточно сильными синергичными эффектами при введении в линии мух мутаций одновременно по двум генам. Дополнительная проверка подтвердила, что на энхансер-блокирующую функцию инсуляторов белок E(y)2 не оказывает влияния. Таким образом для того чтобы Su(Hw)-зависимые инсуляторы могли служить барьерами распространения зон зарепрессированного хроматина необходим дополнительный белок – E(y)2, - который непосредственно взаимодействует с белком Su(Hw). В дальнейшем мы планируем проведение дополнительных экспериментов, направленных на изучение конкретного механизма, превращающего белок E(y)2 в эффективную инсуляторную границу.