

**Изучение механизма дальнего взаимодействия р53-зависимого энхансера  
75С6 с геном Хgr1 Drosophila**

**Научный руководитель – Шидловский Юлий Валерьевич**

**Конова Ксения Юрьевна**

*Сотрудник*

Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

*E-mail: konovakseniya07@gmail.com*

Белок р53, являющийся транскрипционным фактором, активирует гены-мишени в ответ на повреждение молекулы ДНК, запуская процесс апоптоза [n4]. В модельном организме *Drosophila melanogaster* найдены гены-мишени для р53-зависимой активации апоптоза, находящиеся в локусе проапоптотического гена *reaper* (*rpr*) [n2, n3]. Также, в локусе 75С6 (4.8 kb выше локуса *rpr*) находится р53-зависимый энхансер - р53RE - который активирует гены в локусе *rpr* [n5], и также ген *Xgr1* [n1, n5], находящимся более чем в 20 Mb от энхансера на другом плече хромосомы [n5]. Кроме того, около р53RE и *Xgr1* находятся сайты связывания факторов, которые влияют на архитектуру хроматина (CTCF и GAF).

Для изучения молекулярного механизма дальнего взаимодействия р53RE с *Xgr1* мы используем несколько подходов. Используя технологию CRISPR/Cas9, была получена линия мух с вырезанным фрагментом, включающим р53RE и последовательности связывания факторов CTCF и GAF. Этот фрагмент размером 7 kbp был замещен различными мутантными конструкциями для анализа изменений в экспрессии р53-зависимых генов. Также используются методы ДНК FISH и конфокальной микроскопии для визуализации взаимодействия изучаемых локусов в 3D в ответ на облучение. Наконец, для поиска участков гена *Xgr1*, необходимых для взаимодействия с р53-зависимым энхансером, различные фрагменты гена *Xgr1*, клонированы вместе с GFP-репортером..

Наше исследование позволит найти последовательность ДНК и белковые факторы, отвечающие за дальние взаимодействия р53-зависимого энхансера с генами-мишенями в геноме.

Проект выполнен при поддержке гранта РФФ 20-14-00201.

**Источники и литература**

- 1) Akdemir, F., Christich, A., Sogame, N., Chapo, J. and Abrams, J.M. (2007). p53 directs focused genomic responses in *Drosophila*. *Oncogene*, [online] 26(36), pp.5184–5193.
- 2) Brodsky, M.H., Nordstrom, W., Tsang, G., Kwan, E., Rubin, G.M. and Abrams, J.M. (2000). *Drosophila* p53 Binds a Damage Response Element at the reaper Locus. *Cell*, 101(1), pp.103–113.
- 3) Brodsky, M.H., Weinert, B.T., Tsang, G., Rong, Y.S., McGinnis, N.M., Golic, K.G., Rio, D.C. and Rubin, G.M. (2004). *Drosophila melanogaster* MNK/Chk2 and p53 Regulate Multiple DNA Repair and Apoptotic Pathways following DNA Damage. *Molecular and Cellular Biology*, 24(3), pp.1219–1231.
- 4) Christich, A., Kauppila, S., Chen, P., Sogame, N., Ho, S.-I. and Abrams, J.M. (2002). The Damage-Responsive *Drosophila* Gene *sickle* Encodes a Novel IAP Binding Protein Similar to but Distinct from reaper, grim, and hid. *Current Biology*, [online] 12(2), pp.137–140.
- 5) Link, N., Kurtz, P., O’Neal, M., Garcia-Hughes, G. and Abrams, J.M. (2013). A p53 enhancer region regulates target genes through chromatin conformations in cis and in trans. *Genes & Development*, 27(22), pp.2433–2438.