

Роль транскрипционных факторов в пространственной организации и регуляции кератинового локуса

Научный руководитель – Штомпель Анастасия Сергеевна

Дукич Мария Миятовна

Студент (магистр)

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

E-mail: dukich1999@mail.ru

Локус кератиновых генов человека 12q13.13- модель для изучения регуляции кластеризованных генов. В нем локализованы близкородственные гены кератинов с дифференциальной экспрессией. Ранее в лаборатории показано, что суперэнхансеры LCR1 и LCR2, фланкирующие локус, контактируют друг с другом и с промотором KRT5. Однако их специфичность и роль в пространственной организации хроматина неизвестны [3]. Цель работы- проанализировать энхансерную активность LCR1 и LCR2 и определить детерминанты регуляции в локусе.

Для оценки энхансерной активности использовали метод STARR-seq [1]. При адаптации протокола применяли конструкции с промоторами SCP1 и KRT1. Активность оценивали для LCR1 и LCR2 в кератиноцитах HaCaT. Обнаружены пики в районе LCR1, свидетельствующие об энхансерной активности. Пики колокализуются с DHS-сайтами и областями ацетилирования H3K27Ac- меткой активных энхансеров. При анализе публичных профилей связывания KLF4 и YAP1 также выявлена колокализация с пиками STARR-seq. Регионы LCR обладают энхансерной активностью и признаками суперэнхансеров.

Транскрипционные факторы YAP/TAZ играют ключевую роль в регуляции кератиноцитов [4]. Их влияние на пространственные взаимодействия изучали методом C-TALE [2]. Первичные кератиноциты обрабатывали ингибиторами: Li (ингибитор Lats-киназы, активирует YAP1 и TAZ), EGF (активирует YAP1) и R (ингибитор ROCK-киназ, опосредованно активирует YAP1), а также их комбинацией. Совместное действие ингибиторов ослабляло взаимодействия между LCR и промотором KRT5, тогда как при нокауте YAP1/TAZ взаимодействия незначительно усиливались. Это указывает на роль этих факторов в модуляции пространственных контактов.

Таким образом, выявлена колокализация STARR-seq пиков с DHS и H3K27Ac, что позволяет рассматривать LCR как кандидатные энхансеры. Пространственные взаимодействия в локусе чувствительны к активности YAP/TAZ: их активация ослабляет контакты энхансеров с промотором, а нокаут усиливает. Данные свидетельствуют о связи между функциональной активностью регуляторных последовательностей и динамикой трехмерной организации генома.

Список литературы

Arnold C.D., Gerlach D., Stelzer C., Boryń L.M., Rath M., Stark A. Genome-wide quantitative enhancer activity maps identified by STARR-seq // Science. 2013. Vol. 339. № 6123. P. 1074-1077.

Golov A.K., Ulianov S.V., Luzhin A.V., et al. C-TALE, a new cost-effective method for targeted enrichment of Hi-C/3C-seq libraries // Methods. 2020. Vol. 170. P. 48-60.

Kalabusheva E.P., Shtompel A.S., Rippa A.L., Ulianov S.V., Razin S.V., Vorotelyak E.A. A Kaleidoscope of Keratin Gene Expression and the Mosaic of Its Regulatory Mechanisms // International Journal of Molecular Sciences. 2023. Vol. 24. № 6. P. 5603.

Pankratova M.D., Riabinin A.A., Butova E.A., Selivanovskiy A.V., Morgun E.I., Ulianov S.V.,

Vorotelyak E.A., Kalabusheva E.P. YAP/TAZ Signalling Controls Epidermal Keratinocyte Fate
// International Journal of Molecular Sciences. 2024. Vol. 25. № 23. P. 12903.