

В работе нами была получена библиотека фрагментов локуса длиной 45 т.п.н., расположенного на хромосоме 19 человека. ДНК локуса фрагментировали ультразвуком для получения фрагментов со средней длиной 750 п.н. Фрагменты клонировали в сконструированный нами плазмидный вектор между двумя репортерными генами зеленого и красного флуоресцентных белков, расположенных «голова-к-голове». Из полученной клонотеки был выделен пул плазмид, содержащий 50 тыс. фрагментов локуса (800-кратное перекрытие), которым трансфицировали клетки линии А-431 (эпидермоидная карцинома). Если вставленные в плазмиду фрагменты библиотеки проявляют промоторную активность и инициация транскрипции происходит внутри этих фрагментов, то в трансфицированных клетках будут накапливаться транскрипты репортерных генов, содержащие на 5'-концах последовательности концевых участков таких фрагментов библиотеки. Поэтому секвенирование 5'-концов транскриптов репортерных генов, выделенных из трансфицированных клеток, позволяет определить локализацию в геноме промоторов, активных в данном типе клеток. Из трансфицированных клеток нами была выделена тотальная фракция полиаденилированной мРНК и проведен RACE-анализ 5'-концов транскриптов с использованием праймеров к репортерным генам. Анализ 8 клонов позволил выявить три фрагмента библиотеки, перекрывающихся с промоторной областью гена LIN37. В дальнейшем для получения исчерпывающих функциональных карт промоторов, активных в разных линиях клеток человека, нами планируется использовать массивное секвенирование.

ИЗУЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ РАБОТЫ КОАКТИВАТОРНЫХ КОМПЛЕКСОВ В ПРОЦЕССЕ АКТИВАЦИИ ТРАНСКРИПЦИИ

Мазина М.Ю., Воробьева Н.Е.

ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

magadovam@yandex.ru

По современным представлениям процесс реализации генетической информации у многоклеточных организмов является одним из самых сложных молекулярных процессов, протекающих в клетке. Наиболее важными стадиями, на которых происходит основная регуляция данного процесса, являются инициация, а также ранние этапы элонгации транскрипции. Для протекания процесса транскрипции в живой клетке необходимо согласованное функционирование многих коактиваторных комплексов. Коактиваторы привлекаются на промоторы генов ДНК-связывающими белками-активаторами и являются основными клеточными мишенями для действия регуляторов транскрипции. К настоящему моменту накоплен большой запас знаний, относительно функций отдельных коактиваторных комплексов и их субъединиц. Одной из самых существенных задач, стоящих перед современной молекулярной биологией гена является объединение полученных знаний в единую теорию, которая бы позволила построить общую модель пространственного и временного взаимодействия коактиваторных комплексов в процессе транскрипции. Результатом решения данной проблемы должно стать составление общей модели, описывающей механизм работы коактиваторов на усредненном варианте гена, которая в дальнейшем будет использована для характеристики транскрипционных процессов на конкретных генах. Ранее мы показали, что разные типы коактиваторных комплексов работают согласованно при активации транскрипции гена. Также нами было обнаружено, что отдельные коактиваторные комплексы способны выполнять разные функции в процессе активации транскрипции одного гена. Целью настоящей работы является создание модели, описывающей работу коактиваторных комплексов в процессе активированной транскрипции генов развития *Drosophila melanogaster*. Основной задачей будет создание первичной схемы, описывающей поведение основных коактиваторных комплексов при активации конкретного гена. Для каждого коактиваторного комплекса будут исследованы процессы привлечения и удаления с гена, а также изучены взаимосвязь его работы с другими коактиваторами. В данном проекте также планируется изучить возможность использования полученной модели для описания процесса активации транскрипции других типов генов *Drosophila melanogaster*. Для решения последней задачи будут использованы современные полногеномные методы исследования.