белков ведет к нарушению формирования веретена деления - образуются монополярные веретена деления и подавляется стадия анафазы. Также истощение белка Klp67A приводит к удлинению биполярного веретена. Эти результаты хорошо согласуются с литературными данными. Анализ повторного роста микротрубочек от кинетохор после ингибирования экспрессии исследуемых генов в клетках S2 выявил, что только истощение белка Mast/Orbit нарушает этот процесс.

Таким образом, обнаружен белок Mast/Orbit, необходимый для кинетохор-зависимого формирования веретена деления. Дальнейшие исследования будут направлены как на понимание молекулярной роли этого белка, так и на выявление других белковых факторов, участвующих в этом фундаментальном, но всё ещё плохо изученном, процессе.

ХАРАКТЕРИСТИКА РЕГУЛЯТОРНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ГЕНОВ СИСТЕМЫ РЕСТРИКЦИИ МОДИФИКАЦИИ IITИПА Cfr 9I

Палутина О.А., Нагорных М.О.
ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, Пущино, Россия
olesia-alis@rambler.ru

В ходе эволюции у бактерий появилось несколько механизмов защиты от чужеродной ДНК (в том числе и вирусной). Они формируют примитивный противовирусный иммунитет у прокариот и обеспечивают стабильность генетического материала. Среди этих механизмов одно из центральных мест занимают системы рестрикции-модификации (СРМ), которые состоят из двух генов, кодирующих два фермента. Один из них – это эндонуклеаза рестрикции, которая вносит двухцепочечные разрывы по уникальным сайтам, тем самым расщепляя чужеродную ДНК. В то время как второй – метилтрансфераза - защищает хозяйскую ДНК от действия рестриктазы путем внесения модификаций в те же сайты. Кроме того, СРМ, располагаясь на мобильных генетических элементах, подвержены горизонтальному переносу и во избежание расщеления ДНК нового хозяина должны точно регулироваться.

СРМ разнообразны по своему структурно-генетическому устройству, и регуляция в них осуществляется также разными способами, но в основном на уровне транскрипции. В то же время остается группа СРМ, регуляция которых происходит, по-видимому, на пост-транскрипционном уровне. Основную роль в регуляции таких систем играют РНК молекулы, их стабильность и скорость деградации, а также эффективность инициации трансляции.

В данной работе изучается СРМ Cfr9I. СРМ Cfr9I состоит из двух генов, которые расположены ковергентно. Стартовый кодон эндонуклеазы и последний кодон, кодирующий метилтрансферазу перекрываются. В ходе работы мы экспериментально обнаружили и охарактеризовали два промотора. Один из них находится перед геном метилтрансферазы и с него транскрибируется бицистронная мРНК, кодирующая оба фермента системы. Второй – находится перед геном эндонуклеазы в структурной части гена метилтрансферазы, с которого идет синтез моноцистронной мРНК, кодирующая только эндонуклеазу. Проведен сравнительный анализ этих промоторов как in vitro, так и in vivo. Промотор перед геном метилтрансферазы является основным и сильнее промотора гена эндонуклеазы в 4 раза. Второй является вспомогательным и имеет низкую транкрипционную активность. По-видимому, этот промотор обеспечивает базальный уровень эндонуклеазы в момент установления СРМ в новом генетическом окружении при попадании в нового хозяина. Роль протяженной нетранслируемой области мРНК, синтезируемой с этого промотора еще предстоит изучить. Также ранее в этой СРМ биоинформатически была предсказана последовательность, которая на уровне РНК может формировать устойчивую вторичную структуру. Роль этой последовательности в регуляции экспрессии генов СРМ Cfr9I сейчас изучается в нашей лаборатории.