

данный признак, является *Sym2*, изучение которого было начато более 80-ти лет назад. На сегодняшний день определена локализация *Sym2* в I группе сцепления генома гороха, но неизвестными остаются его нуклеотидная последовательность, а также структура и функция его белкового продукта.

В настоящей работе идентифицирован ранее неизвестный ген гороха *LykX*, который по целому ряду признаков соответствует *Sym2*. Ген *LykX* находится в I группе сцепления и кодирует рецепторную киназу, потенциально способную связывать Nod-фактор. Аллельные состояния *LykX*, проявляющиеся на уровне белка в виде аминокислотных замен, ассоциированы с проявлением признака избирательности симбиоза. Таким образом, *LykX* является наиболее вероятным кандидатом на роль *Sym2*.

Для дополнительного описания роли гена *LykX* в симбиозе был произведён поиск мутантов по данному гену с применением методики TILLING (совместно с INRA-URGV, Франция). Выявлено 23 мутантные семьи, у 8-ми из которых мутация, согласно *in silico* предсказаниям (программа SIFT), нарушает функцию белкового продукта. В дальнейшем планируется осуществить анализ симбиотического фенотипа выявленных мутантов и провести тест на аллелизм между *LykX* и *Sym2*. Положительный результат теста станет финальным подтверждением гипотезы о соответствии *LykX* гену *Sym2*.

Исследование выполнено при поддержке грантов Президента РФ (НШ-4603.2014.4) и РФФИ (14-04-32289, 15-29-02737).

ИЗУЧЕНИЕ ТРАНСКРИПЦИИ НА НУКЛЕОСОМНОЙ ДНК МЕТОДОМ spFRET

Султанов Д.Ч., Чертков О.В.

ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

sultanov.daniel.mol@gmail.com

ДНК эукариот организована во множество нуклеосом, которые определяют первичную доступность генов для транскрипции. Такая нуклеосомная организация ДНК является важной мишенью эпигенетической регуляции экспрессии генов. Понимание изменений ДНК-белковых взаимодействий в нуклеосоме является ключевым фактором для выяснения механизмов работы генетического аппарата.

Для качественного изучения транскрипции собирались модельные нуклеосомы, состоящей из октамера гистоновых белков, собранных на ДНК матрице - высокоаффинной к гистонам последовательности s603, лигированной с T7A1 промотором. Промотор лишен -Т (1-45 п.н.) и -С (1-11 п.н.) нуклеотидов в соответствующих участках; это позволяет получить остановленные комплексы в -37 положении матрицы (нулевое положение - точка отсчета - вход в нуклеосомный кор) с РНК полимеразой *E.coli*, а также -5 комплексы путем добавления dCTP, и полное прохождение через нуклеосому последующим добавлением ТТР в реакционную смесь, соответственно. В матрицу были введены флуоресцентные метки: донор Су3 (+91 положение) и акцептор Су5 (+13 положение), которые эффективно сближались в полностью собранной нуклеосоме в проксимальной ее части (относительно промотора). Изменения во время транскрипции изучались с помощью метода spFRET (single-particle Förster Resonance Energy Transfer). Контроль в экспериментах - нуклеосома без РНК полимеразы.

В комплексах -37 и -5 наблюдалось заметное падение сигнала FRET от Су5 в высокой области при длине волны 635-800 нм относительно контроля. При наличии в смеси всех четырех дезоксинуклеотидов и полном прохождении полимеразы через нуклеосомный кор наблюдалось еще большее падение FRET. Обратная картина наблюдалась в области более низкого FRET, где доля нуклеосом с сигналом в этой области была выше в остановленных комплексах, чем в контроле.

Изменение сигнала FRET говорит об изменении расстояния между метками Су3 и Су5. Так, в случае его уменьшения в комплексах -37 и -5, это указывает на расхождение меток из-за изменений в белковом коре и частичное разматывание суперспирали ДНК, соответственно. Еще большее уменьшение FRET при полной транскрипции согласуется с моделью частичной потери димера H2A-H2B с формированием гексасомы, где суперспираль ДНК представлена в менее компактной форме. Таким образом, видно динамическое изменение ДНК-белковых