

ПОЛУЧЕНИЕ КЛЕТОК ГАПЛОИДНОЙ ЛИНИИ НАР1 С АУКСИН-ЗАВИСИМОЙ ДЕПЛЕЦИЕЙ КОНДЕНСИНОВ И КОГЕЗИНА

Афонникова С.Д. (Новосибирский национальный исследовательский государственный университет)

Научный руководитель – к.б.н. Баттулин Н.Р. (Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук)

Конденсины и когезин взаимодействуют с хроматином на протяжении всего клеточного цикла, а также участвуют в контроле активности генов. В нашей работе для исследования функций этих белков мы создаем клеточные линии, позволяющие быстро и полно проводить деплецию конденсинов и когезина. Затем на основе этих линий можно изучать функциональные взаимоотношения конденсинов и когезина в контроле экспрессии генов и поддержании архитектуры генома в интерфазе. В ходе работы были получены линия клеток НАР1 с ауксин-зависимой деградацией конденсинов и линия НАР1 с деградацией когезина.

Хроматин в ядре клетки имеет иерархично организованную структуру. Он сформирован из крупных компартментов, внутри которых были обнаружены локальные контакты, образующие топологически ассоциированные домены (ТАДы). Эти домены характеризуются повышенным числом контактов хроматина внутри и сниженной частотой каонтактов за пределами ТАДа. ТАД может как сближать и обеспечивать промотор-энхансерные взаимодействия, так и ограничивать действие энхансеров, что важно для правильной экспрессии генов.

Ключевую функцию в образовании ТАДов млекопитающих выполняет белковый комплекс когезин, взаимодействующий с хроматином путем протягивания нити ДНК через свою кольцевую структуру. Однако по экспериментальным данным при деплеции когезина ТАДы исчезают, но в то же время экспрессия генов кардинально не меняется. Такой относительно стабильный уровень экспрессии генов можно объяснить наличием дополнительных механизмов, поддерживающих энхансер-промоторные взаимодействия. В качестве структуры, поддерживающей функции когезина, может выступать конденсин II, имеющий схожие с когезином строение и принцип работы.

Для ответов на эти вопросы мы решили исследовать эффекты деплеции когезина и конденсинов на трехмерную организацию генома и экспрессию генов. В качестве способа деплеции выбрали метод ауксин-зависимой деградации белка. Благодаря этому методу можно быстро и обратимо обеспечить полную деградацию какого-либо белка. Для обеспечения направленной деплеции когезина была выбрана его субъединица RAD21, для деплеции конденсинов выбрали субъединицу SMC2.

В работе на основе клеток линии НАР1 были получены линии клеток с ауксин-зависимой деградацией когезина и конденсинов. С помощью проточного цитофлуориметра BD FACSAria™ III было проведено исследование динамики деградации во времени каждой из субъединиц. Степень деградации SMC2 после двух часов обработки ауксином составляет более 99%, а Rad21—около 92%. Данные результаты мы подтвердили методом Вестерн блоттинга.

Афонникова С.Д. (автор)

Подпись

Баттулин Н.Р. (научный руководитель)

Подпись