

**Изучение транскрипционного контроля экспрессии генов иммунного ответа
Drosophila melanogaster.**

Научный руководитель – Шидловский Юлий Валерьевич

Мусабиров Антон Альфредович

Студент (магистр)

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

E-mail: anton.am88@gmail.com

Молекулярные основы работы врождённого иммунитета являются в настоящее время актуальной областью исследований. В качестве объекта исследований в нашем проекте выступают факторы транскрипции, участвующие в активации генов иммунного ответа: транскрипционные факторы семейства NF- κ B (Dif, Dorsal, Relish), DEAF-1 и коактиватор транскрипции SAYP модельного организма *Drosophila melanogaster*. Известно, что указанные белки участвуют также в процессах онтогенеза и имеют гомологи у человека. В настоящем исследовании мы изучаем и описываем новые молекулярные взаимодействия при активации генов иммунного ответа и участие в них описанных факторов.

Фрагменты кДНК генов, кодирующих различные эпитопы изучаемых белков, нами были встроены в экспрессирующий вектор, наработаны в культуре *E. coli* и очищены, после чего к данным эпитопам были получены поликлональные антитела. Их специфичность была проверена с помощью вестерн-блот анализа ядерного эмбрионального экстракта дрозофилы. Посредством коиммунопреципитации было обнаружено совместное осаждение некоторых из этих факторов и SAYP. Таким образом найдены новые взаимодействия между факторами транскрипции и коактиватором SAYP. Мы локализуем отдельные домены белков, которые опосредуют найденное взаимодействие. Для этого фрагменты кДНК, кодирующие указанные факторы, встроены в экспрессионные векторы и совместно трансфицируются в культуру клеток S2 *Drosophila melanogaster*, после чего проводится коиммунопреципитация.

Для исследования механизмов активации генов иммунного ответа нами была разработана система их активации в культуре клеток S2. При обработке культуры клеток дрозофилы суспензией *E. coli* и *Micrococcus luteus* (грамотрицательная и грамположительная бактерии) происходит индукция сигнальных путей IMD или Toll, опосредующих экспрессию генов антимикробных пептидов. Методом хроматин-иммунопреципитации (ChIP) показано привлечение на промоторы генов антимикробных пептидов изучаемых факторов. Проведённый с помощью РНК-интерференции нокадаун SAYP привёл к снижению активности генов иммунного ответа в несколько раз.

Посредством ChIP и иммуноокрашивания политенных хромосом мы изучаем связывание факторов Dif, Dorsal, Relish и DEAF-1 с геномом и их привлечение на промоторы конкретных генов. Наконец, с помощью нокадауна и сверхэкспрессии изучаемых генов мы изучаем их роль в иммунном ответе. Эти методы также позволят выяснить взаимное влияние указанных факторов друг на друга при активации генов. Активность изучаемых генов будет изучена и в эмбрионах дрозофилы. Кроме того, планируется изучить иммунный ответ у дрозофил, мутантных по исследуемым генам.

Работа поддержана грантом РФФИ №19-34-51003.