Исследование трансвекции в локусе WHITE DROSOPHILA MELANOGASTER

Былино О.В., Мысин М.А., Мысина В.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва

В данной работе исследовали наличие трансвекции в Х-хромосомном локусе white, классическом модельном локусе для изучения различных молекулярных процессов [1]. Ранее для данного гена предполагали наличие трансвекции, опосредованной областью глазоспецифичного энхансера [2,3]. Экспрессию изучали у самок, получая комбинации двух разных аллелей, что позволило оценить, возможна ли трансвекция при данной аллельной комбинации, и приблизиться к пониманию структурно-функциональной организации регуляции транскрипции этого локуса на уровне связки энхнасер-промотор.

Показано, что cis-энхансер гена с большей вероятностью активирует свой промотор, нежели trans-промотор [4], однако ситуация, когда в локусе присутствуют два энхансера и один промотор не изучалась. Нами был поставлен вопрос, может ли trans-энхансер в локусе white вносить вклад в активацию промотора гомологичного аллеля, в дополнение к его собственному cis-энхансеру. Ответ на этот вопрос позволяет приблизиться к пониманию общих механизмов регуляции транскрипции, понять могут ли trans-энхансеры вносить вклад в регуляцию промоторов гомологичных локусов в норме.

Экспрессию аллеля дикого типа, w+, исследовали в комбинации с аллелем wapricot (wa), в котором интактны все регуляторные последовательности, однако структурная часть гена нарушена, что приводит к сниженной экспрессии этого аллеля. При наличии трансрегуляции in vivo между аллелями гена white энхансер аллеля wa будет активировать промотор аллеля w+ in trans, что должно сказаться на экспрессии w+, тогда как в обратной ситуации экспрессия практически не изменится, поскольку wa – это гипоморфная мутация. Обнаружили, что уровень экспрессии в комбинации аллелей w+/wa не отличался от аддитивного.

Отсутствие неаддитивной экспрессии в комбинации w+/wa может быть следствием того, что энхансер аллеля wa не может действовать in trans, поскольку продолжает активировать свой промотор (промоторы в обоих аллелях интактны). В связи с этим мы исследовали экспрессию в комбинации w+/w67c23(2). Аллель w67c23(2) представляет собой делецию ~ 900 п.н., охватывающую часть первого интрона гена, первый экзон и часть проксимального промотора ~100 п.н. [5]. Промотор гена white относится к промоторам внутреннего типа, или DPE-содержащим промоторам, у которых критичные для инициации транскрипции элементы сосредоточены ниже от старта транскрипции в 5'НТО [4,6]. Показано, что участок проксимального промотора гена white от −113 до −17 п.н. необходим для дистанционной активации промотора white собственным глазоспецифичным энхансером [3] и усиливает экспрессию в его присутствии [7]. Делеция в аллеле w67c23(2) охватывает оба этих района [5]. Удаление этих участков потенциально позволяет освободить энхансер в w67c23(2). Поэтому создается возможность для дополнительной активации промотора аллеля w+ in trans за счет интактного и потенциально свободного энхансера аллеля w67c23(2). Мы обнаружили, что уровень экспрессии у гетерозигот w+/w67c23(2), приближен к уровню экспрессии самок дикого типа (отношение экспрессии дикие самки/гетерозиготы w+/w67c23(2)~1,15). Это могло бы указывать на дополнительную активацию промотора аллеля w+ in trans за счет энхансера аллеля w67c23(2), однако аллель w+ в гетерозиготе с аллелем w1118, в котором удален как промотор, так и энхансер гена [8], или в комбинации с полной делецией локуса (Df(1)w258-45 y1, №734 Bloomington collection, США) демонстрировал сходную экспрессию (отношение ~1,15). Нами сделан вывод, что энхансер аллеля w+ оккупирует cis-промотор и препятствует трансактивации своего промотора энхансером оппозитной хромосомы, т.е. trans-энхансером гомологичного аллеля.

Таким образом, trans-энхансер в локусе white не может вносить вклад в активацию промотора гомологичного аллеля, в дополнение к его собственному cis-энхансеру. Мы предполагаем, что такой механизм, помимо инсуляторов и доменной организации хроматина, может являться способом ограничения действия энхансеров и поддержания правильной регуляции при плотном расположении коэкспрессирующихся генов.

Литература:

1. Green M.M. 2010. Genetics, 184:3-7.
2. Davison D. et al. 1985. Genetics, 110:479-494.
3. Qian S. et al. 1992. Genetics, 131:79-90.
4. Morris J.R. et al. 2004. Genetics, 167:1739-1747.
5. Pirrotta V. and Brockl C. 1984. The EMBO J., 3:563-568.
6. Kutach A.K. and Kadonaga J.T. 2000. Mol. Cell. Biol., 20:4754-4764.
7. Kostyuchenko et al. 2009. Chromosoma, 118:665-674.
8. Levis et al. 1982. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 79:564-568.