

Влияние фактора сборки и ремоделирования хроматина CHD1 на включение гистона H3.3 в хроматин дрозофилы

Научный руководитель – Конев Александр Юрьевич

Гненная Юлия Андреевна

Студент (магистр)

Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург,
Россия

E-mail: gnennaya1996@mail.ru

В контроле динамического состояния генетического материала ведущую роль играет эпигенетическая регуляция, в том числе регуляция структуры хроматина. Белок CHD1 (Chromo-ATPase/ Helicase-DNA-binding protein 1) охарактеризован как АТФ-зависимый фактор ремоделирования хроматина, участвующий во включении гистонов в хроматин *in vitro* и создании регулярных промежутков между нуклеосомами. CHD1 необходим для сборки хроматина в транскрипционно неактивном мужском пронуклеусе дрозофилы [1]. В хроматин деконденсирующегося спермия включается вариантный гистон H3.3, и для этого процесса необходим CHD1. Белок CHD1 является эволюционно консервативным, а нарушения в его работе играют ключевую роль в развитии рака простаты.

С целью изучения механизмов действия фактора CHD1 нами изучено влияние нуля мутаций по гену *Chd1* на встраивание гистона H3.3 в хроматин политенных хромосом дрозофилы. Поскольку гистоны H3 и H3.3 не могут быть различены с помощью антител, мы использовали трансгенные линии, несущие встроенную конструкцию P{His3.3A-Flag}. Нами обнаружено, что, гистон H3.3-Flag включается исключительно в междиски и пуфы политенных хромосом. При этом, в отличие от процессов сборки хроматина, происходящих при реорганизации мужского пронуклеуса, для сопряженной с транскрипцией сборки хроматина в политенных хромосомах слюнных желез фактор CHD1 не является критическим и абсолютно необходимым. В то же время, сочетание делеции одного из двух кодирующих гистон H3.3 генов (*His3.3B*) с нуля-мутациями по гену *Chd1* приводит к синтетической летальности.

Нами разработана генетическая система, основанная на экспрессии укороченного гистона H3.3 (3.3-core-GFP). Этот гистон может встраиваться в хроматин только в процессе независимой от репликации сборки хроматина. Поскольку в гистоне H3.3-core-GFP отсутствуют аминокислоты, по которым гистон подвергается существенным для эпигенетической регуляции ковалентным модификациям, мы предположили, что встраивание укороченного гистона может приводить к видимым изменениям фенотипа. Мы обнаружили, что при экспрессии H3.3-core-GFP под контролем GAL4-драйвера *Bx/MS1096* наблюдается специфическое фенотипическое проявление на крыле - изменение характера жилкования и формы крыла (H3.3-core-фенотип). Мы показали, что инактивация *Chd1* с помощью РНК-интерференции приводит к полной супрессии H3.3-core-фенотипа, как и ожидается для фактора, вовлеченного в независимую от репликации сборку хроматина.

Мы предполагаем, что в процессе встраивания гистона H3.3, помимо CHD1 участвуют и другие факторы сборки хроматина, демонстрирующие существенный компенсаторный потенциал. Созданная нами генетическая система является очень чувствительной и позволяет обнаруживать даже относительно слабое влияние на процессы сборки хроматина *in vivo*.

Источники и литература

- 1) 1. Konev A.Y. CHD1 motor protein is required for deposition of histone variant H3.3 into chromatin in vivo // Science. 2007. №. 317. P. 2

Иллюстрации

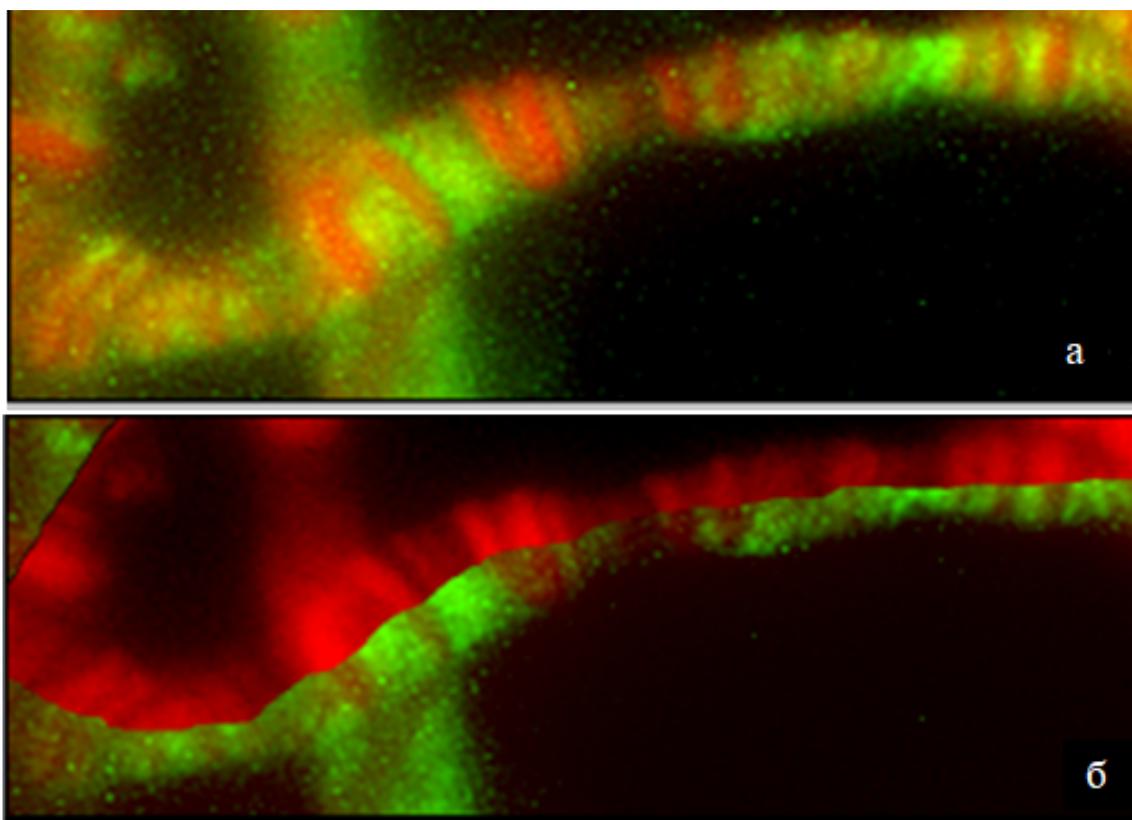


Рис. 1. Относительная локализация гистона H3.3-Flag в междисках и пуфах на политенной хромосоме, выделенной из слюнных желез самца из исследуемой линии. На фотографии 1а представлено совмещение двух оригинальных снимков: DAPI – красный, H3.3-Flag – зеленый; на фотографии 1б – сплит-фотография



Рис. 2. Фенотипические проявления, обусловленные экспрессией гистона H3.3-core-GFP под действием GAL4-драйвера Bx[MS1096]. Стрелка указывает на лишнюю продольную жилку на крыле

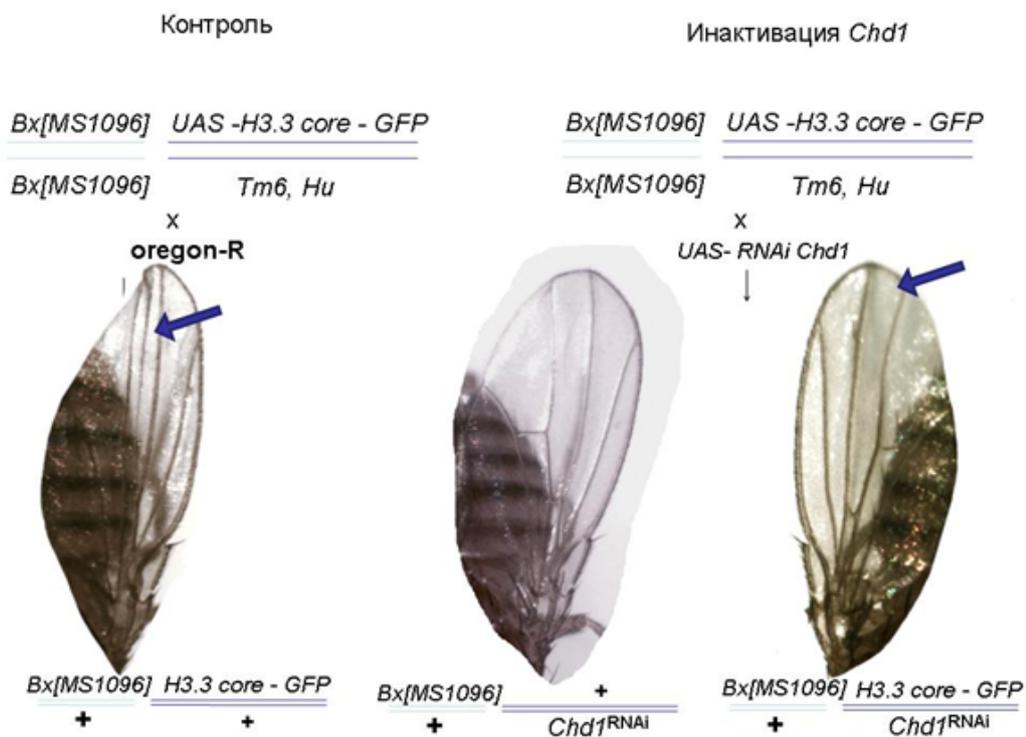


Рис. 3. Инактивация Chd1 с помощью РНК – интерференции приводит к супрессии H3.3-core-фенотипа. Стрелки указывают на присутствие лишней жилки у контрольных особей и отсутствие ее при инактивации Chd1