

Усиление контактов кластеров генов рДНК с тандемно повторяющимися генами *Stellate* в клеточной линии S2 *Drosophila melanogaster* после теплового шока

Научный руководитель – Чуриков Николай Андреевич

Букреева А.С.¹, Клушевская Е.С.²

1 - Институт молекулярной биологии им. В.А.Энгельгардта РАН, Москва, Россия, *E-mail: 3385142@gmail.com*; 2 - Институт молекулярной биологии им. В.А.Энгельгардта РАН, Москва, Россия, *E-mail: giedre@inbox.ru*

Кластеры рибосомных генов (рДНК) образуют большое количество контактов с разными областями генома, влияя на пространственную организацию хромосом. Трехмерная организация хроматина играет важную роль в генной экспрессии и дифференцировке. Ранее с помощью метода 4С (Circular Chromosome Conformation Capture) в клетках S2 дрозофилы было обнаружено появление контактов между кластерами рДНК и тандемно повторяющимися генами *Stellate* (*Ste*) после теплового шока [3]. Гены *Ste* локализованы в гетеро- и эухроматиновых районах X хромосомы и кодируют функциональный гомолог β -субъединицы протеинкиназы СК2. Экспрессия генов *Ste* репрессирована у самцов дикого типа, а дерепрессирование в отсутствие супрессора, кодирующегося Y-хромосомой, приводит к частичной или полной стерильности самцов [2, 4].

Цель данной работы - исследовать частоты контактов генов *Ste* и рДНК с помощью независимого подхода - ДНК-FISH. Клетки S2 были разделены на 2 группы, одна из которых подвергалась тепловому шоку в течении 1 часа при 37°C с последующим восстановлением 1 час при 27°C. Вторая группа в течение 2 часов находилась при 27°C. Анализ результатов ДНК-FISH проводили на конфокальном микроскопе Leica TCS SP5 с последующей обработкой данных с помощью программы LAS AF Lite. Было рассмотрено более 100 ядер из каждой группы и установлено примерное расстояние между фокусами гибридизации рДНК и генами *Ste*.

За контакт между фокусами гибридизации принималось расстояние менее 70 нм. Для подтверждения данных были изучены срезы ядер (0,2 μm). Обнаружено, что в исходных клетках процент контактов ядрышек с генами *Ste* составляет 42%. Он возрастает до 60% после теплового шока. Среднее расстояние между фокусами гибридизации после теплового шока составило 43,6 нм, а без него - 59 нм, что указывает на сближение фокусов гибридизации после теплового шока. Кроме того, после теплового шока чаще наблюдалось наложение фокусов друг на друга. Таким образом, наши данные дополняют результаты, полученные ранее методом 4С для *Ste*, и подтверждают наличие изменений в пространственной локализации кластеров рДНК и генов *Ste* после теплового шока. Следовательно, метод 4С замечает более близкие контакты генов рДНК с генами, когда расстояние между 30 нм фибриллами хроматина составляет по ДНК около 2.5 kb или около 17 нм [1]. Наши данные свидетельствуют о том, что гены *Ste* часто находятся вокруг ядрышек, приближаясь к ним после теплового шока.

Источники и литература

- 1 Bystricky K. et al. Long-range compaction and flexibility of interphase chromatin in budding yeast analyzed by high-resolution imaging techniques //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2004. – Т. 101. – №. 47. – С. 16495-16500.

- 2 Livak K. J. Organization and mapping of a sequence on the *Drosophila melanogaster* X and Y chromosomes that is transcribed during spermatogenesis // *Genetics*. – 1984. – Т. 107. – №. 4. – С. 611-634.
- 3 Tchurikov N. A. et al. Dynamics of Whole-Genome Contacts of Nucleoli in *Drosophila* Cells Suggests a Role for rDNA Genes in Global Epigenetic Regulation // *Cells*. – 2020. – Т. 9. – №. 12. – С. 2587.
- 4 Tulin A. V. et al. Heterochromatic Stellate gene cluster in *Drosophila melanogaster*: structure and molecular evolution // *Genetics*. – 1997. – Т. 146. – №. 1. – С. 253-262.