

УДК 575.22:595.773.4

ВЛИЯНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ МЕЖДУ SU(HW)-ЗАВИСИМЫМИ ИНСУЛЯТОРАМИ НА ЭФФЕКТ ТРАНСВЕКЦИИ У *DROSOPHILA MELANOGASTER*

© 2024 г. Л. С. Мельникова^{1,*}, В. В. Молодина¹,
академик РАН П. Г. Георгиев¹, А. К. Головин¹

Поступило 20.02.2024 г.

После доработки 15.03.2024 г.

Принято к публикации 17.03.2024 г.

Трансвекция — явление межallelельной коммуникации, при которой энхансеры могут активировать специфичный промотор, расположенный на гомологичной хромосоме. Значительную роль в обеспечении функциональных взаимодействий между энхансерами и промоторами играют инсуляторы. В представленной работе мы смоделировали ситуацию, когда рядом с локализованными на гомологичных хромосомах энхансерами и промоторами находятся две или три копии инсулятора. На примере инсулятора Su(Hw) мы показали, что функциональное взаимодействие между парой инсуляторов способствует энхансер-промоторным транс-взаимодействиям. Взаимодействие между тремя инсуляторами, наоборот, может приводить к формированию хроматиновых петель стерически препятствующих полноценному энхансер-промоторному взаимодействию. Результаты работы позволяют предположить участие инсуляторов в регуляции гомологичного спаривания хромосом и в коммуникации между удаленными геномными локусами.

Ключевые слова: гомологичное спаривание хромосом, энхансер-промоторные взаимодействия, инсулятор, Su(Hw), регуляция транскрипции

DOI: 10.31857/S2686738924040101

Энхансер-зависимая активация является основным механизмом регуляции транскрипции генов у эукариот. Энхансеры могут активировать специфичные промоторы на расстояниях, достигающих сотен т.п.н., не затрагивая при этом соседние гены [1]. Функциональное взаимодействие между энхансерами и промоторами контролируют инсуляторы и коммуникаторные элементы, поддерживающие специфичные дистанционные взаимодействия [2]. Однако механизмы формирования и поддержания дистанционных взаимодействий между регуляторными элементами генома остаются плохо изученными.

Ключевую роль в своевременной и тканеспецифичной активации генов, определяющих развитие эукариот играет архитектура хроматина [3]. Архитектурный/инсуляторный белок Su(Hw), описанный у *Drosophila* одним из первых, содержит двенадцать цинковых пальцев C2H2 (домены

C2H2) и связывается с 12 сайтами в 5'-регуляторной области ретротранспозона *gypsy* (МДГ4) [4]. Домены C2H2 от 6 до 10 участвуют в специфическом связывании с мотивом ДНК длиной 15 п.н. [5].

Две консервативные области на N-конце белка Su(Hw) взаимодействуют с ВТВ (Broad-complex, Tramtrack и Bric-à-brac) доменом белка CP190 [6]. Также с белком CP190 напрямую взаимодействуют многие другие архитектурные белки C2H2 дрозофилы [7]. CP190 преимущественно связывается с промоторами генов и необходим для поддержания открытой структуры хроматина [8].

На С-конце белка Su(Hw) картирована область, взаимодействующая с одной из более чем 30 изоформ белка Mod(mdg4) [9,10]. Все изоформы Mod(mdg4) имеют на N-конце ТТК (Tramtrack)-подобный домен ВТВ, способный образовывать гексамеры [11]. Уникальный С-конец изоформы Mod(mdg4)-67.2 взаимодействует исключительно с С-концевым доменом белка Su(Hw) [9,10]. Белки CP190 и Mod(mdg4)-67.2 одновременно необходимы для активности Su(Hw)-зависимого комплекса и его рекрутирования в хроматин [10]. Было показано, что искусственные повторяющиеся сайты

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии гена Российской академии наук (ИБГ РАН)

*e-mail: lsm73@mail.ru

связывания белка Su(Hw) или *gypsy* инсулятор могут формировать хроматиновые петли, которые либо блокируют энхансер-промоторные взаимодействия, либо, наоборот, способствуют сближению энхансера со специфичным промотором и стимуляции транскрипции [12].

Трансквекция — явление межallelельной коммуникации, посредством которой энхансеры одного аллеля могут активировать промотор, расположенный на гомологичной хромосоме [13]. Ранее было показано, что взаимодействующие инсуляторы *gypsy* эффективно стабилизируют энхансер-промоторные взаимодействия в случае трансквекции в локусе *yellow* [14]. Однако в предыдущих исследованиях трансгены встраивали в случайные места генома с помощью вектора на основе мобильного *P*-элемента [14]. Поэтому в ряде случаев эффект взаимодействия инсуляторов мог искажаться влиянием окружающего хроматина. Так, на трансгенных конструкциях с различным расположением регуляторных элементов было показано, что два или три инсулятора Su(Hw), расположенные на одной хромосоме, могут взаимодействовать друг с другом на значительных расстояниях, через расположенные между ними энхансеры или промоторы и кодирующие последовательности, при этом оказывая совершенно разные эффекты на транскрипцию модельных генов. В зависимости от расположения инсуляторов в трансгене и расстояния между ними и регуляторными элементами блокирование энхансера может быть ослаблено, отменено или восстановлено [12].

Целью представленной работы стало изучение влияния двух или трех взаимодействующих инсуляторов Su(Hw), не опосредованного окружающим хроматином, на транс-взаимодействия между энхансерами и специфичными промоторами. В качестве репортеров мы использовали ген *yellow*, отвечающий за пигментацию кутикулы тела и крыльев [15], и ген *white*, обеспечивающий пигментацию глаз [16]. Инактивация генов *yellow* и *white* не влияет на жизнеспособность мух, а уровень их экспрессии можно с высокой точностью определить визуально. В кутикуле тела и крыльях транскрипция *yellow* контролируется энхансерами, расположенными на расстоянии 1100 п.н. от промотора [15]. Они определяют темную окраску тела и крыльев, а также черную окраску двух последних брюшных сегментов (A5 и A6) у самцов. В отсутствие энхансеров гена *yellow* или при их блокировке инсулятором *gypsy* в аллеле y^2 [17] тело и крылья мух желтые, а два брюшных сегмента самцов становятся светло-коричневыми (базовый уровень активации). Степень пигментации тела и крыльев напрямую коррелирует с эффективностью активации гена *yellow* энхансерами и оценивается по шкале от 1 до 5 [6]. Транскрипция гена *white* в глазном имгинальном диске контролируется специфичным

для глаз энхансером, расположенным на 1150 п.н. выше промотора [16]. Базальная экспрессия гена *white* в трансгенах обычно варьирует от желтого до оранжевого. В присутствии энхансера глаз возрастание экспрессии гена *white* коррелирует с усилением пигментации глаз до темно-коричневого или красного цвета. В трансгенах мы использовали стандартный ген *mini-white* (далее — *white*), у которого удален первый интрон.

Мы сконструировали три трансгена, каждый из которых содержал сайт *attB* и искусственно созданные последовательности для связывания белка Su(Hw) (S^{x4}) [18], окруженные сайтами *loxP*. Трансгены $S^{x4}EyS^{x4}$ и $ES^{x4}y$ включали энхансер глаз (E), окруженный сайтами *FRT* и репортерный ген *yellow* (*y*). Трансген $WBS^{x4}w$ включал окруженные сайтами *FRT* энхансеры тела и крыльев (WB) и репортерный ген *white* (*w*) (рис. 1). С помощью $\phi C31$ -зависимой рекомбинации [19] все трансгены были интегрированы в геномный район 2R:11890256 линии y^1w^{1118} с полностью инактивированными генами *yellow* и *white*, в интрон гена *ERp60*, куда предварительно был интегрирован сайт *attP*. Согласно данным Chorogenome Navigator (<http://chorogenome.ie-freiburg.mpg.de/>), этот район относится к транскрипционно активному хроматину и не содержит эндогенные сайты для связывания

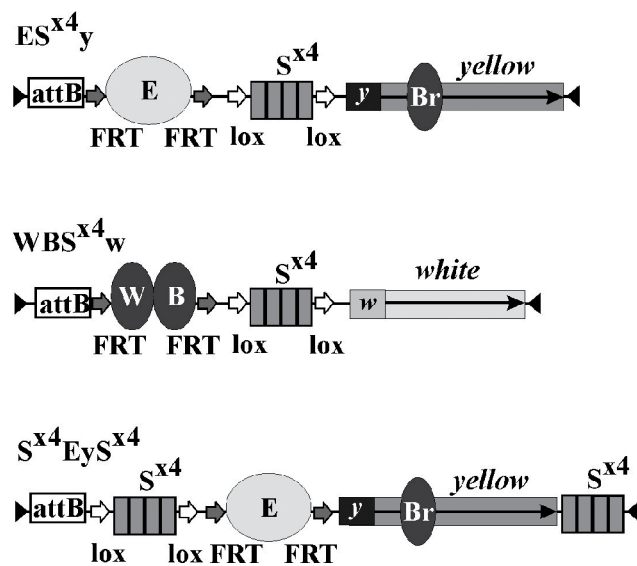


Рис. 1. Схематичное изображение трансгенов (Schematic representation of transgenes). Над каждой схемой указано название трансгена. Сайт *attB* изображен в виде прямоугольника и подписан. Сайты связывания белка Su(Hw) (S^{x4}) — вертикальные прямоугольники; энхансеры глаз (E), щетинок (Br), крыловых пластин (W) и тела (B) — овалы; сайты *FRT* и *loxP* — горизонтальные стрелки; промоторы генов *yellow* (*y*) и *white* (*w*) — квадраты внутри прямоугольников, изображающих гены, направление транскрипции которых обозначено стрелкой.

Таблица. 1. Оценка фенотипов *yellow* (тело и крылья) и *white* (глаза) в трансгенных линиях (Evaluation of *yellow* (body and wings) and *white* (eyes) phenotypes in transgenic lines)

Генотип	Фенотип		
	тело	крылья	глаза
$S^{\times 4}EyS^{\times 4}/+$	2	2	белые
$ES^{\times 4}y/+$	2	2	белые
$WBS^{\times 4}w/+$	1	1	желтые
$ES^{\times 4}y/WBS^{\times 4}w$	5	5	красные
$\Delta ES^{\times 4}y/\Delta WBS^{\times 4}w$	2	2	желтые
$ES^{\times 4}y/+;su(Hw)^v/su(Hw)^2$	2	2	белые
$WBS^{\times 4}w/+;su(Hw)^v/su(Hw)^2$	1	1	желтые
$ES^{\times 4}y/WBS^{\times 4}w;su(Hw)^v/su(Hw)^2$	3	4	оранжевые
$ES^{\times 4}y/WB\Delta S^{\times 4}w$	3	4	красно-коричневые
$WBS^{\times 4}w/S^{\times 4}EyS^{\times 4}$	3	4	красные
$\Delta WBS^{\times 4}w/S^{\times 4}\Delta EyS^{\times 4}$	2	2	желтые
$WBS^{\times 4}w/S^{\times 4}EyS^{\times 4};su(Hw)^v/su(Hw)^2$	3	4	оранжевые
$WB\Delta S^{\times 4}w/S^{\times 4}EyS^{\times 4}$	2	2	желтые
$WBS^{\times 4}w/\Delta S^{\times 4}EyS^{\times 4}$	4	4	коричневые
$WB\Delta S^{\times 4}w/\Delta S^{\times 4}EyS^{\times 4}$	3	4	красно-коричневые

каких-либо известных инсуляторных/архитектурных белков.

Полученные трансгенные линии были жизнеспособны и фертильны. Во всех линиях репортеры в составе конструкций экспрессировались на базовом уровне, т.е. в линиях $y^1w^{1118};S^{\times 4}EyS^{\times 4}/+$ и $y^1w^{1118};ES^{\times 4}y/+$ мухи имели белые глаза и желтые тело и крылья, а в линии $y^1w^{1118};WBS^{\times 4}w/+$ глаза мух были желтыми, а тело и крылья неокрашенными (табл. 1). Следовательно, окружающий хроматин не активировал и не репрессировал транскрипцию трансгенов.

Пигментацию тела и крыльев оценивали по пятибалльной шкале, где 1 — отсутствие транскрипции гена *yellow*; 5 — пигментация тела и крыльев на уровне дикого типа, что соответствует максимальной активации транскрипции соответствующими энхансерами; 2 — базовый уровень транскрипции, который наблюдается в отсутствии энхансеров; 3 и 4 — промежуточные уровни транскрипции в порядке возрастания. Транскрипцию гена *white* оценивали по окраске глаз мух. Белые глаза — отсутствие транскрипции; красные глаза — пигментация на уровне дикого типа, что соответствует максимальной активации транскрипции энхансером глаз; желтый, оранжевый и красно-коричневый — промежуточные уровни транскрипции в порядке возрастания.

Для изучения роли двух инсуляторов в транс-векции мы скрестили между собой линии $y^1w^{1118};ES^{\times 4}y/+$ и $y^1w^{1118};WBS^{\times 4}w/+$ (рис. 2а). В транс-гетерозиготе $ES^{\times 4}y/WBS^{\times 4}w$ мухи демонстрировали окраску глаз и кутикулярных структур дикого типа — ярко красные глаза и черные тело и крылья (табл. 1). Максимальный уровень экспрессии репортерных генов свидетельствовал, что в линии

$y^1w^{1118};ES^{\times 4}y/WBS^{\times 4}w$ энхансеры функционально взаимодействуют со специфичными промоторами и активируют транскрипцию (рис. 2б).

Чтобы выяснить, какую роль в наблюдаемой транс-активации играют формирующиеся на сайтах $S^{\times 4}$ инсуляторные комплексы, с помощью Flp-опосредованной рекомбинации мы получили производные линии с вырезанными энхансерами. Вырезание энхансеров из обоих трансгенов не влияло на фенотип мух в линиях $y^1w^{1118};\Delta ES^{\times 4}y/+$ и $y^1w^{1118};\Delta WBS^{\times 4}w/+$. В транс-гетерозиготе $\Delta ES^{\times 4}y/\Delta WBS^{\times 4}w$ оба репортерных гена экспрессировались на базовом уровне (табл. 1). Следовательно, инсуляторы $S^{\times 4}$, даже в случае взаимодействия, не способны самостоятельно активировать транскрипцию репортеров (рис. 2в).

Затем мы ввели в линию $y^1w^{1118};ES^{\times 4}y/WBS^{\times 4}w$ сочетание мутаций $su(Hw)^v/su(Hw)^2$, инактивирующих белок Su(Hw) [20]. Нокаут по белку Su(Hw) не влиял на фенотип мух в линиях $y^1w^{1118};ES^{\times 4}y/+;su(Hw)^v/su(Hw)^2$ и $y^1w^{1118};WBS^{\times 4}w/+;su(Hw)^v/su(Hw)^2$. Однако в линии $y^1w^{1118};ES^{\times 4}y/WBS^{\times 4}w;su(Hw)^v/su(Hw)^2$ мухи имели промежуточный фенотип, т.е. оранжевые глаза и более темные тело и крылья, чем в линии $y^1w^{1118};\Delta ES^{\times 4}y/\Delta WBS^{\times 4}w$ (табл. 1).

Этот результат показывает, что локализованные в одном и том же месте на гомологичных хромосомах энхансер и специфичный промотор способны взаимодействовать друг с другом, но не с максимальной эффективностью (рис. 2г). Взаимодействия между расположенными поблизости от этих регуляторных элементов инсуляторами Su(Hw) стабилизируют энхансер-промоторные взаимодействия

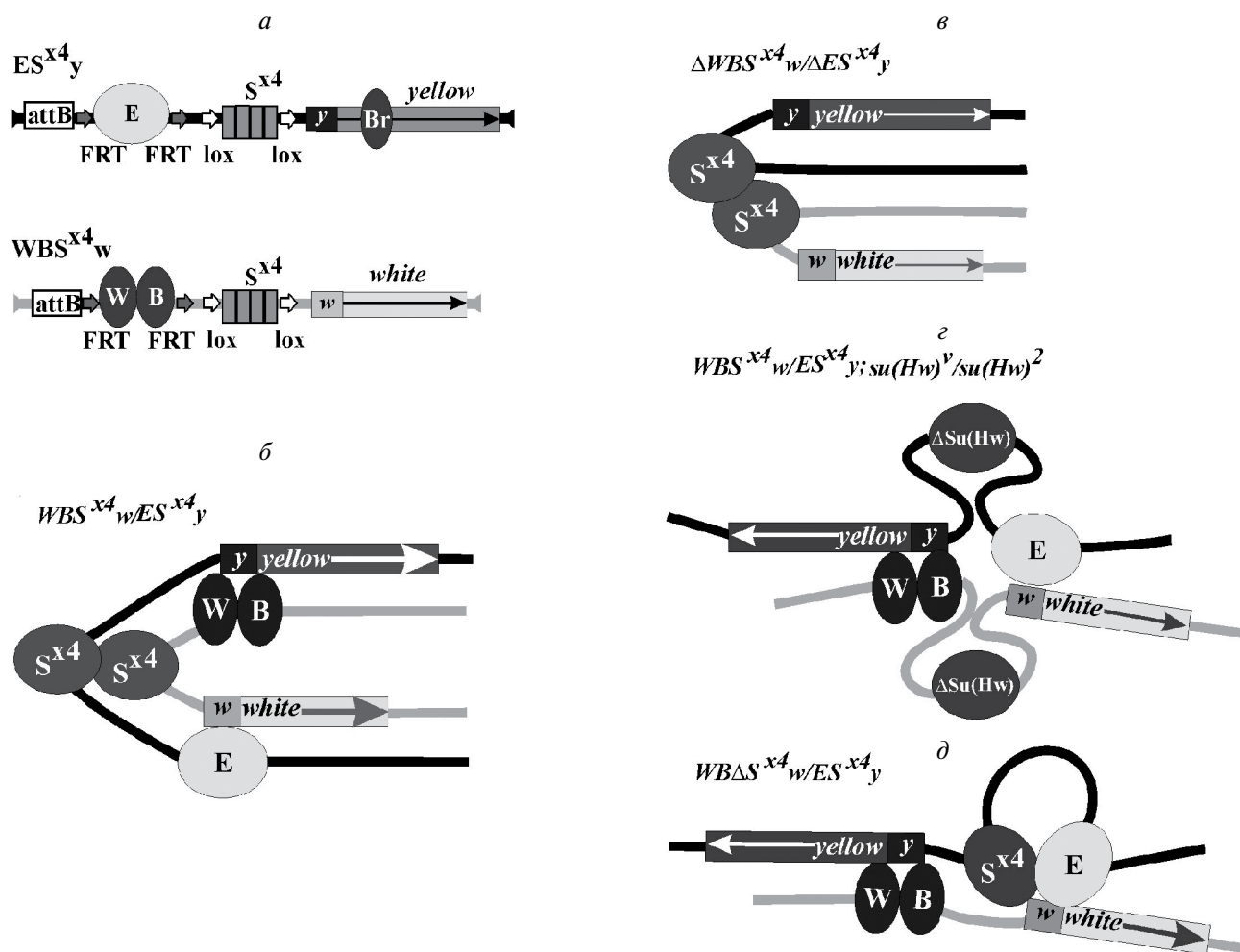


Рис. 2. Влияние взаимодействий пары инсульторов на транс-активацию модельных генов в линии $WBS^{x4}w/ES^{x4}$ и ее производных (The effect of insulators pair interactions on trans activation of model genes in the $WBS^{x4}w/ES^{x4}$ line and its derivatives). Гомологичные хромосомы изображены, как жирные черная и серая линии; $\Delta Su(Hw)$ обозначает инактивацию белка $Su(Hw)$ в результате введения в линию сочетания мутаций $su(Hw)^v/su(Hw)^2$. Остальные обозначения, как на рис. 1.

и способствуют максимальной активации экспрессии репортерных генов.

Чтобы выяснить, как взаимодействие трех $Su(Hw)$ -зависимых комплексов влияет на транс-активацию, мы скрестили между собой линии $y^1w^{1118}; WBS^{x4}w/+$ и $y^1w^{1118}; S^{x4}EyS^{x4}/+$ (рис. 3а). В транс гетерозиготной линии $y^1w^{1118}; WBS^{x4}w/S^{x4}EyS^{x4}$ глаза мух приобрели окраску дикого типа. Однако кутикулярные структуры имели промежуточный фенотип. Окраска тела была близка к исходному фенотипу линии $y^1w^{1118}; S^{x4}EyS^{x4}/+$, крылья были окрашены в серый цвет (табл. 1).

Чтобы выявить роль энхансеров в активации каждого из репортерных генов мы скрестили между собой производные линии с делетированными энхансерами. Следствием вырезания энхансеров в полученной транс-гетерозиготе $\Delta WBS^{x4}w/$

$S^{x4}\Delta EyS^{x4}$ стало снижение транскрипции модельных генов до базового уровня (желтые глаза, светлое тело и крылья) (табл. 1). Поэтому даже 3 инсультора S^{x4} не способны самостоятельно активировать экспрессию репортеров в случае транс-взаимодействия (рис. 3б).

Далее мы изучили роль инсульторов в обеспечении энхансер-промоторных взаимодействий. Поскольку мы не могли вырезать из конструкции $S^{x4}EyS^{x4}$ сайты связывания $Su(Hw)$, расположенные на 3' конце гена *yellow*, для инактивации всех $Su(Hw)$ -зависимых комплексов мы ввели в линии модельной системы мутации $su(Hw)^v/su(Hw)^2$. В полученной линии $y^1w^{1118}; WBS^{x4}w/S^{x4}EyS^{x4}; su(Hw)^v/su(Hw)^2$ транскрипция обоих репортеров активировалась частично: окраска глаз у мух становилась оранжевой, т.е. в сравнении с взаимодействием

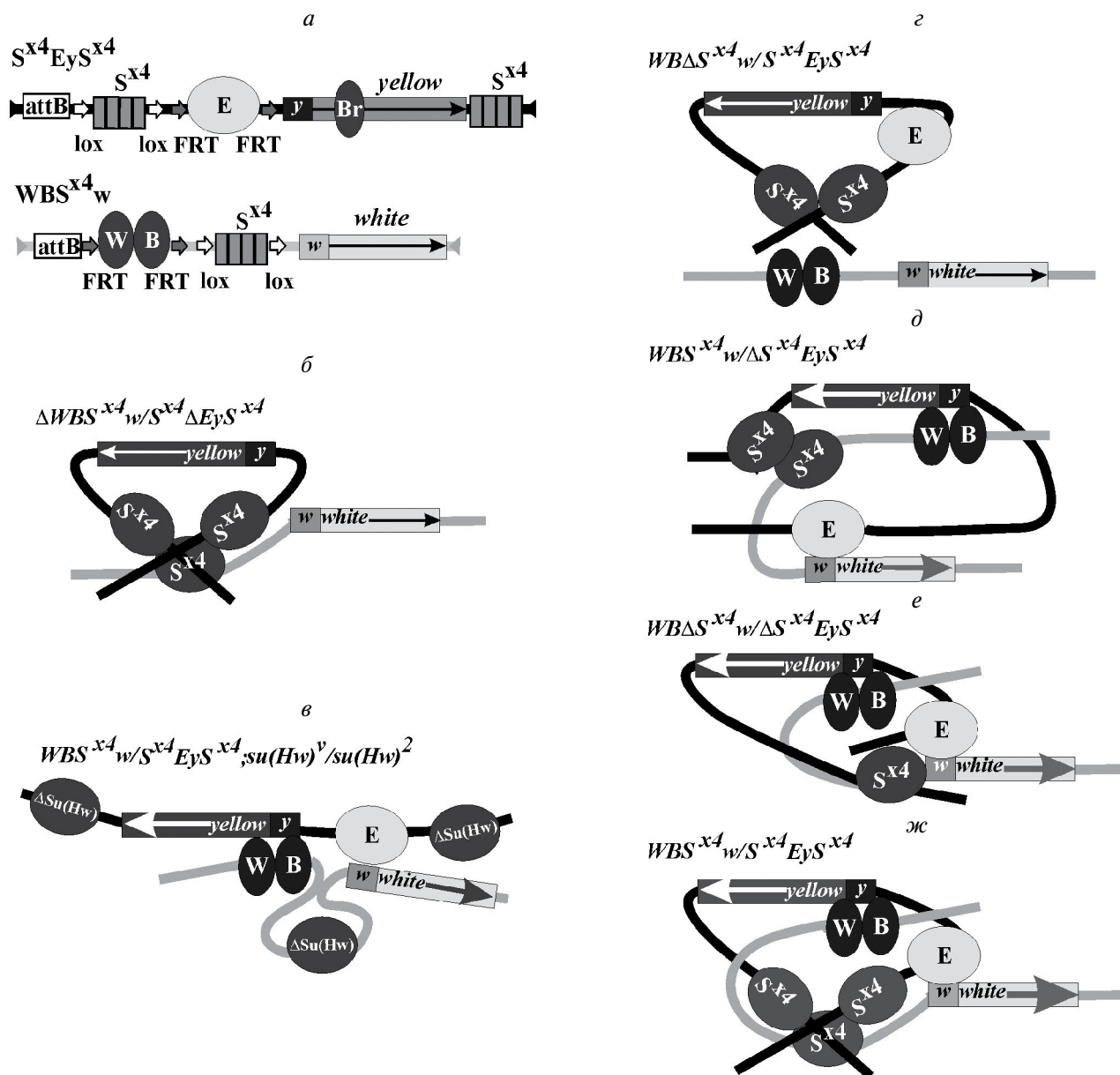


Рис. 3. Влияние взаимодействий трех инсуляторов на транс-активацию модельных генов в линии $ES^{x4}/WBS^{x4}w$ и ее производных (The effect of three insulator interactions on trans activation of model genes in the $ES^{x4}/WBS^{x4}w$ line and its derivatives). Все обозначения, как на рис. 1 и 2.

трех инсуляторов $Su(Hw)$ в линии $y^1w^{1118}; WBS^{x4}w/S^{x4}EyS$ ген $white$ активировался слабее, а окраска кутикулярных структур оставалась практически такой же (табл. 1). Этот результат подтверждает, что локализованные в одном и том же месте на гомологичных хромосомах промотор и специфичный энхансер способны взаимодействовать друг с другом (рис. 3в), однако функциональное взаимодействие между инсуляторами $Su(Hw)$ способствует энхансер-промоторным взаимодействиям.

В линии $y^1w^{1118}; WBS^{x4}w/S^{x4}EyS^{x4}$ при взаимодействии трех инсуляторов транскрипция гена $yellow$ активировалась гораздо хуже, чем транскрипция

гена $white$ (табл. 1). Чтобы изучить механизм взаимодействия между тремя инсуляторами, мы поочередно вырезали сайты S^{x4} из трансгенов и скрестили полученные производные линии.

При вырезании сайта S^{x4} , расположенного между энхансерами тела и крыльев и промотором гена $white$, фенотип мух из транс-гетерозиготной линии $y^1w^{1118}; WBS^{x4}w/S^{x4}EyS^{x4}$ был таким же, как при вырезании всех энхансеров: желтые глаза, светлые тело и крылья (табл. 1). Мы предполагаем, что взаимодействие между двумя инсуляторами в конструкции $S^{x4}EyS^{x4}$ приводит к формированию петли, которая препятствует сближению гомологичных

районов хромосом и полностью изолирует заключенные в ней ген *yellow* и энхансер глаз (рис. 3г).

При вырезании сайта S^{x4} , расположенного перед энхансером глаз, мухи из трансгетерозиготной линии $y^1w^{1118}; WBS^{x4}w/\Delta S^{x4}EyS^{x4}$ имели коричневые глаза, темное тело (темная окраска брюшных сегментов A5 и A6 у самцов) и темные крылья. Специфичные энхансеры активировали экспрессию репортерных генов, но не до уровня дикого типа (табл. 1). Вероятно, взаимодействие между инсуляторами разворачивало трансгены таким образом, что каждый из энхансеров оказывался на 3' конце специфичного гена. Такая ориентация энхансеров и промоторов пропорционально снижала активацию обоих репортеров (рис. 3д).

В трансгетерозиготе $WB\Delta S^{x4}w/\Delta S^{x4}EyS^{x4}$ сайты связывания $Su(Hw)$, расположенные перед специфичными энхансерами, были делетированы в обоих трансгенах. В этом случае мы наблюдали частичную активацию транскрипции обоих репортеров: окраска глаз у мух приближалась к дикому типу, т.е. в сравнении с линией $y^1w^{1118}; WBS^{x4}w/S^{x4}EyS^{x4}; su(Hw)^v/su(Hw)^2$ ген *white* активировался сильнее, а окраска кутикулярных структур оставалась практически такой же (табл. 1). Следовательно, присутствие сайта S^{x4} на 3' конце гена *yellow* в линии $y^1w^{1118}; WB\Delta S^{x4}w/\Delta S^{x4}EyS^{x4}$ позволяет энхансеру глаз более эффективно взаимодействовать с промотором *white* (рис. 3е). Возможно, в отсутствие инсуляторов-партнеров сайт S^{x4} непосредственно взаимодействует с промотором гена *white*, что либо стабилизирует энхансер-промоторное взаимодействие, либо инсулятор непосредственно активирует экспрессию *white*. При этом ген *yellow* оказывается внутри петли, сформированной энхансером глаз, промотором гена *white* и сайтами S^{x4} , что препятствует полноценной активации транскрипции *yellow* энхансерами тела и крыльев (рис. 3е).

Чтобы выяснить, способен ли одиночный инсулятор $Su(Hw)$ стимулировать трансекцию в гене *white* независимо от положения в трансгене, мы скрестили линию $y^1w^{1118}; WB\Delta S^{x4}w/+$ с линией $y^1w^{1118}; ES^{x4}y/+$, в которой инсулятор располагался вблизи энхансера глаз (рис. 2д). В линии $y^1w^{1118}; ES^{x4}y/WB\Delta S^{x4}w$ окраска тела и крыльев у мух была такой же, как в линии $y^1w^{1118}; ES^{x4}y/WBS^{x4}w; su(Hw)^v/su(Hw)^2$, т.е. сохранялось нестабильное транс-взаимодействие между энхансерами и промотором гена *yellow*. В то же время глаза были пигментированы значительно сильнее, чем при нокдауне по белку $Su(Hw)$ (табл. 1). Следовательно, одиночный инсулятор $Su(Hw)$, как и в трансгетерозиготе $WB\Delta S^{x4}w/\Delta S^{x4}EyS^{x4}$, способствовал стимуляции промотора гена *white* (рис. 2д).

Проанализировав полученные результаты, мы пришли к выводу, что в линии $y^1w^{1118}; WBS^{x4}w/$

$S^{x4}EyS^{x4}$ происходит взаимодействие всех трех инсуляторов $Su(Hw)$, которое стабилизирует гомологичные хромосомы и обеспечивает непосредственный контакт между энхансером глаз и промотором гена *white*, что приводит к эффективной активации транскрипции и пигментации глаз на уровне дикого типа. При этом сайты S^{x4} в составе конструкции $S^{x4}EyS^{x4}$ формируют петлю, внутри которой оказывается ген *yellow*, что затрудняет доступ специфичных энхансеров к промотору (рис. 3ж). Кроме того, в непосредственной близости от энхансеров и промотора *yellow* располагаются взаимодействующие инсуляторные комплексы. Взаимодействие между инсуляторами нейтрализует их активность, однако большие белковые комплексы могут являться физическим препятствием для энхансер-промоторной коммуникации. Поэтому, несмотря на пространственную близость, энхансер-промоторные взаимодействия в гене *yellow* нарушены, что является причиной не полной активации транскрипции и приводит к промежуточному фенотипу (табл. 1).

Несмотря на множество примеров трансекции, механизм спаривания хромосом во время интерфазы до сих пор до конца неясен. В представленной работе мы продемонстрировали, что взаимодействие между парой $Su(Hw)$ -зависимых инсуляторов способствует транс-активации транскрипции модельных генов специфичными энхансерами. Этот результат предполагает участие инсуляторов в регуляции гомологичного спаривания хромосом и в коммуникации между удаленными локусами. Вероятно, взаимодействия между белками, связанными с парными инсуляторными сайтами, в нашем случае с последовательностями S^{x4} , могут улучшить локальное спаривание между гомологичными хромосомами. Введение в модельную систему третьего инсулятора может привести к формированию хроматиновых петель, стерически препятствующих полноценному энхансер-промоторному взаимодействию. Эффект, который несколько взаимодействующих инсуляторов оказывают на транскрипцию, зависит от взаимного расположения инсуляторов, энхансеров и промоторов. Еще одним интересным фактом является стимуляция единичным инсулятором $Su(Hw)$ транскрипции гена *white*, что еще раз подтверждает возможность прямого взаимодействия инсулятора с энхансером и промотором. В сумме результаты работы показывают, что инсуляторные элементы являются важным звеном, организующим транс-взаимодействия между регуляторными элементами генома.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено за счет гранта РФ (проект № 22-24-00719).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ
И СТАНДАРТОВ

Требования биоэтического комитета не распространяются на объект исследования, исследование человека не проводилось.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Hafner A., Boettiger A.* The spatial organization of transcriptional control // *Nat Rev Genet.* 2023. V. 24. № 1. P. 53–68.
2. *Kyrchanova O., Sokolov V., Georgiev P.* Mechanisms of Interaction between Enhancers and Promoters in Three Drosophila Model Systems // *Int J Mol Sci.* 2023. V. 24. № 3. P. 2855.
3. *Cavalheiro G.R., Pollex T., Furlong E.E.* To loop or not to loop: what is the role of TADs in enhancer function and gene regulation? // *Curr Opin Genet Dev.* 2021. V. 67. P. 119–129.
4. *Geyer P.K., Corces V.G.* DNA position-specific repression of transcription by a Drosophila zinc finger protein // *Genes Dev.* 1992. V. 6. № 10. P. 1865–1873.
5. *Baxley R.M., Bullard J.D., Klein M.W., et al.* Deciphering the DNA code for the function of the Drosophila polydactyl zinc finger protein Suppressor of Hairless // *Nucleic Acids Res.* 2017. V. 45. № 8. P. 4463–4478.
6. *Melnikova L., Kostyuchenko M., Molodina V., et al.* Interactions between BTB domain of CP190 and two adjacent regions in Su(Hw) are required for the insulator complex formation // *Chromosoma.* 2018. V. 127. № 1. P. 59–71.
7. *Golovnin A., Melnikova L., Babosha V.* The N-Terminal Part of Drosophila CP190 Is a Platform for Interaction with Multiple Architectural Proteins // *Int J Mol Sci.* 2023. V. 24. № 21. P. 15917.
8. *Bartkuhn M., Straub T., Herold M., et al.* Active promoters and insulators are marked by the centrosomal protein 190 // *EMBO J.* 2009. V. 28. № 7. P. 877–898.
9. *Gause M., Morcillo P., Dorsett D.* Insulation of enhancer-promoter communication by a gypsy transposon insert in the Drosophila cut gene: cooperation between suppressor of hairy-wing and modifier of mdg4 proteins // *Mol Cell Biol.* 2001. V. 21. № 14. P. 4807–4817.
10. *Melnikova L., Kostyuchenko M., Molodina V., et al.* Multiple interactions are involved in a highly specific association of the Mod(mdg4)-67.2 isoform with the Su(Hw) sites in Drosophila // *Open Biol.* 2017. V. 7. № 10. P. 170150.
11. *Stogios P.J., Downs G.S., Jauhal J.J.S., et al.* Sequence and structural analysis of BTB domain proteins // *Genome Biol.* 2005. V. 6. № 10. P. R82.
12. *Savitskaya E., Melnikova L., Kostyuchenko M., et al.* Study of long-distance functional interactions between Su(Hw) insulators that can regulate enhancer-promoter communication in Drosophila melanogaster // *Mol Cell Biol.* 2006. V. 26. № 3. P. 754–761.
13. *Duncan I.W.* Transvection effects in Drosophila // *Annu Rev Genet.* 2002. V. 36. P. 521–556.
14. *Kravchenko E., Savitskaya E., Kravchuk O., et al.* Pairing between gypsy insulators facilitates the enhancer action in trans throughout the Drosophila genome // *Mol Cell Biol.* 2005. V. 25. № 21. P. 9283–9291.
15. *Geyer P.K., Corces V.G.* Separate regulatory elements are responsible for the complex pattern of tissue-specific and developmental transcription of the yellow locus in Drosophila melanogaster // *Genes Dev.* 1987. V. 1. № 9. P. 996–1004.
16. *Qian S., Varjavand B., Pirrotta V.* Molecular analysis of the zeste-white interaction reveals a promoter-proximal element essential for distant enhancer-promoter communication // *Genetics.* 1992. V. 131. № 1. P. 79–90.
17. *Geyer P.K., Spana C., Corces V.G.* On the molecular mechanism of gypsy-induced mutations at the yellow locus of Drosophila melanogaster // *EMBO J.* 1986. V. 5. № 10. P. 2657–2662.
18. *Scott K.C., Taubman A.D., Geyer P.K.* Enhancer blocking by the Drosophila gypsy insulator depends upon insulator anatomy and enhancer strength // *Genetics.* 1999. V. 153. № 2. P. 787–798.

19. *Bischof J., Maeda R.K., Hediger M., et al.* An optimized transgenesis system for *Drosophila* using germ-line-specific phiC31 integrases // *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007. V. 104. № 9. P. 3312–3317.
20. *Baxley R.M., Soshnev A.A., Koryakov D.E., et al.* The role of the Suppressor of Hairless insulator protein in *Drosophila* oogenesis // *Dev Biol*. 2011. V. 356. № 2. P. 398–410.

IMPACT OF INTERACTIONS BETWEEN SU(HW)-DEPENDENT INSULATORS ON THE TRANSVECTION EFFECT IN *DROSOPHILA MELANOGASTER*

**L. S. Melnikova^{a, #}, V. V. Molodina^a,
Academician of the RAS P. G. Georgiev^a, A. K. Golovnin^a**

^a*Institute of Gene Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation*

[#]*e-mail: lsm73@mail.ru*

Transvection is a phenomenon of interallelic communication in which enhancers can activate a specific promoter located on a homologous chromosome. Insulators play a significant role in ensuring functional interactions between enhancers and promoters. In the presented work, we created the model where two or three copies of the insulator are located next to enhancers and promoters localized on homologous chromosomes. Using the Su(Hw) insulator as model, we showed that the functional interaction between a pair of insulators promotes enhancer-promoter trans interactions. The interaction between the three insulators, on the contrary, can lead to the formation of chromatin loops that sterically hinder the full enhancer-promoter interaction. The results of the work suggest the participation of insulators in the regulation of homologous chromosome pairing and in communication between distant genomic loci.

Keywords: homologous chromosome pairing, enhancer-promoter interactions, insulator, Su(Hw), transcription regulation