

На правах рукописи
УДК 575.22:595.773.4

Сошникова Наталия Валерьевна

**Изучение взаимодействия TFIIID - общего фактора
транскрипции и РВАР - комплекса, ремоделирующего
хроматин**

03.00.03 – молекулярная биология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва

2009

Работа выполнена в Учреждении Российской академии наук Институте биологии гена РАН, лаборатории регуляции экспрессии генов.

Научные руководители:

доктор биологических наук, профессор
кандидат физико-математических наук

Георгиева София Георгиевна
Шидловский Юлий Валерьевич

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, профессор
кандидат биологических наук

Евгеньев Михаил Борисович
Головнин Антон Клеменсович

Ведущая организация: Учреждение Российской академии наук Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

Защита диссертации состоится 4 июня 2009 года, в 11:00 часов на заседании диссертационного совета Д 002.037.01 при Учреждении Российской академии наук Институте биологии гена РАН по адресу: 119334, Москва, ул. Вавилова, д. 34/5.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Учреждения академии наук Институте молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН по адресу: 119991, Москва, ул. Вавилова, д.32.

Автореферат разослан: 29 апреля 2009 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат фармацевтических наук

Грабовская Л.С.

I. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ.

Актуальность темы.

Живые организмы – сложно организованные системы, способные хранить и передавать потомкам свою генетическую информацию. Принципы и механизмы реализации наследственной информации интересуют исследователей с момента открытия основного постулата молекулярной биологии (ДНК \leftrightarrow РНК \Rightarrow белок). Генетическая информация о структуре отдельных белков и нуклеиновых кислот у всех организмов заключена в молекулах ДНК или РНК в виде последовательностей нуклеотидов, называемых генами. Координированная работа (экспрессия) большого числа генов возможна лишь благодаря наличию тонких регуляторных механизмов, определяющих место, время и уровень экспрессии конкретного гена или группы генов.

Экспрессия генов в эукариотической клетке представляет собой сложный многостадийный процесс, включающий в себя: транскрипцию генов (переписывание генетической информации с ДНК на специальные мРНК), процессинг и сплайсинг мРНК (модификации мРНК и удаление избыточных частей последовательностей мРНК), экспорт упакованных мРНК из ядра в цитоплазму, трансляцию (построение на основе мРНК белковой последовательности) и посттрансляционные модификации белков. Важнейшим этапом является транскрипция, осуществляемая главным ферментом ДНК-зависимой РНК-полимеразой и многочисленными регуляторными белками – факторами транскрипции. Факторы транскрипции взаимодействуют с регуляторными нуклеотидными последовательностями генов, друг с другом, с молекулами РНК-полимеразы и необходимы для правильного узнавания транскрипционным комплексом регуляторных последовательностей в составе генов, а их координированная работа приводит к повышению или понижению уровня транскрипции соответствующих генов при ответе клеток на внешние или внутренние регуляторные сигналы.

В эукариотической клетке ДНК всегда связана с белками и организована в хроматин, который находится в различных состояниях, отличающихся степенью

компактизации и транскрипционной активностью. Степень компактизации хроматина определяет доступность регуляторных элементов для действия транскрипционных факторов, а соответственно, и транскрипционную активность. Существуют разнообразные коактиваторы транскрипции, которые в ответ на действие активаторов способны изменять строение хроматина и структурировать ДНК-матрицу для инициации транскрипции и функционирования транскрипционного комплекса. Одними из коактиваторов транскрипции являются хроматин-ремоделлирующие комплексы.

В настоящее время большое количество исследований по инициации транскрипции направлено на изучение механизмов взаимодействия хроматин-ремоделлирующих комплексов и общих факторов транскрипции.

Ранее у *D.melanogaster* был описан новый коактиватор транскрипции эволюционно консервативный белок SAYP (Supporter of Activation of *Yellow* Protein). Было показано, что SAYP участвует в регуляции транскрипции большого числа генов в ходе развития дрозофилы, способен активировать транскрипцию на хроматиновой матрице.

Цель и задачи исследования

Целью настоящей работы являлось изучение функций нового эволюционно консервативного активатора транскрипции *D.melanogaster* - белка SAYP. Для этого в работе были поставлены следующие экспериментальные задачи:

- выделить и охарактеризовать комплекс, содержащий SAYP;
- изучить распределение компонентов комплекса на промоторе и кодирующей области SAYP-зависимых генов;
- определить роль компонентов комплекса в его структуре и функциях.

Научная новизна и практическая ценность работы

В данной работе был выделен SAYP-содержащий комплекс. Полностью установлен субъединичный состав комплекса. В отличие от полученных ранее данных (Мошкин, 2008) было показано, что SAYP является компонентом не только хроматин-ремоделлирующего комплекса PBAP семейства SWI/SNF, но и компонентом общего фактора транскрипции TFIID. На промоторах SAYP-

зависимых генов *in vivo* продемонстрирована необходимость каждого из компонентов этого общего суперкомплекса (TFIID, РВАР, SAYP), а также ключевая роль SAYP в его организации.

Таким образом, на молекулярном уровне была показана структурная связь ремоделирования хроматина и инициации транскрипции.

Апробация работы

Результаты работы были представлены на следующих конференциях: конференции молодых ученых по Молекулярной Биологии и Генетике (Киев, 2007), «Spring-Meeting and Workshop “Protein-protein interactions” of the International Research Training Group Gießen/Marburg-Moscow (DFG/RFBR-funded)» (Gießen, 2008), «33rd FEBS Congress & 11th IUBMB Conference, Biochemistry of cell regulation» (Athens, 2008), «8th Young Scientist Forum FEBS-IUBMB: Cell Harmony» (Loutraki, 2008).

Публикации.

По теме диссертации опубликовано 5 печатных работ. Из них статей - 1, тезисов докладов и материалов конференций - 4.

Объем и структура диссертации.

Диссертация изложена на 92 страницах и состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы, объект и задачи исследования, материалы и методы, результаты, обсуждение результатов, выводы, благодарности и список литературы. Диссертация содержит 14 рисунков и 3 таблицы. Библиография включает 140 источников.

II. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

1. Очистка SAYP-содержащего комплекса из ядерного экстракта эмбрионов

Для изучения функций SAYP, а также его механизма действия в клетке и роли в активации транскрипции был проведен ряд хроматографических очисток ядерного экстракта эмбрионов дрозофилы. Сначала ядерный экстракт предварительно фракционировали на колонке с Superose-6 (гель-фильтрация). SAYP детектировался в 16-17 фракциях, которые содержали высокомолекулярный комплекс размером не менее 2 МДа (рис. 1). Этот комплекс не является продуктом неспецифической агрегации, так как он элюируется во фракциях, следующих после исключенного объема (ИО). Неспецифические агрегаты содержались в более ранней 15-ой фракции. Элюированные вместе с SAYP белки не связаны через ДНК, так как при обработке ядерного экстракта эмбрионов ДНКазой I изменения профиля элюции SAYP не происходит. Это подтверждает существование высокомолекулярного SAYP-содержащего комплекса.

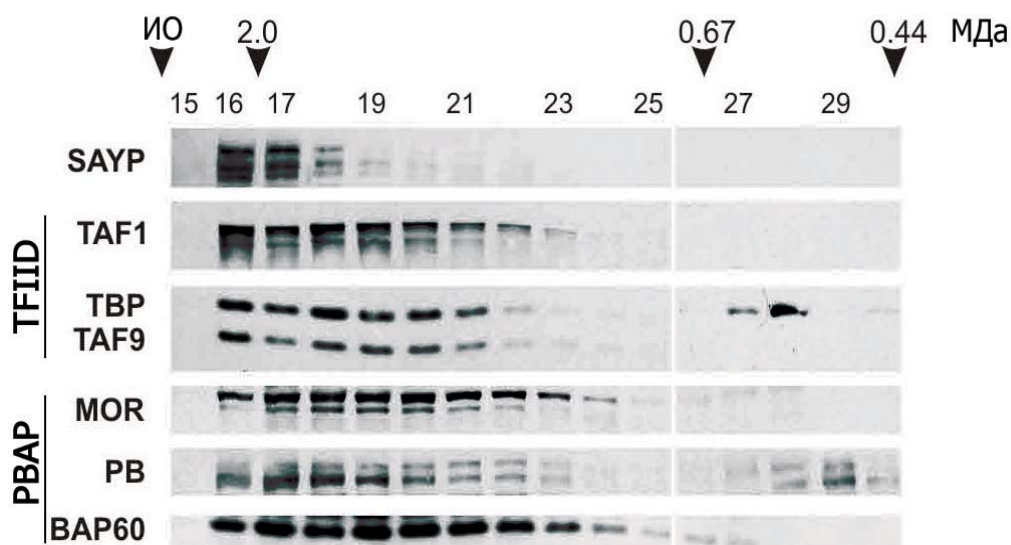


Рис 1. Гель-фильтрация ядерного экстракта эмбрионов дрозофилы на колонке с Superose-6. Вестерн-блот анализом детектировали субъединицы TFIID комплекса (TAF1, TBP, TAF9) и PBAP комплекса (MOR, PB, BAP60).

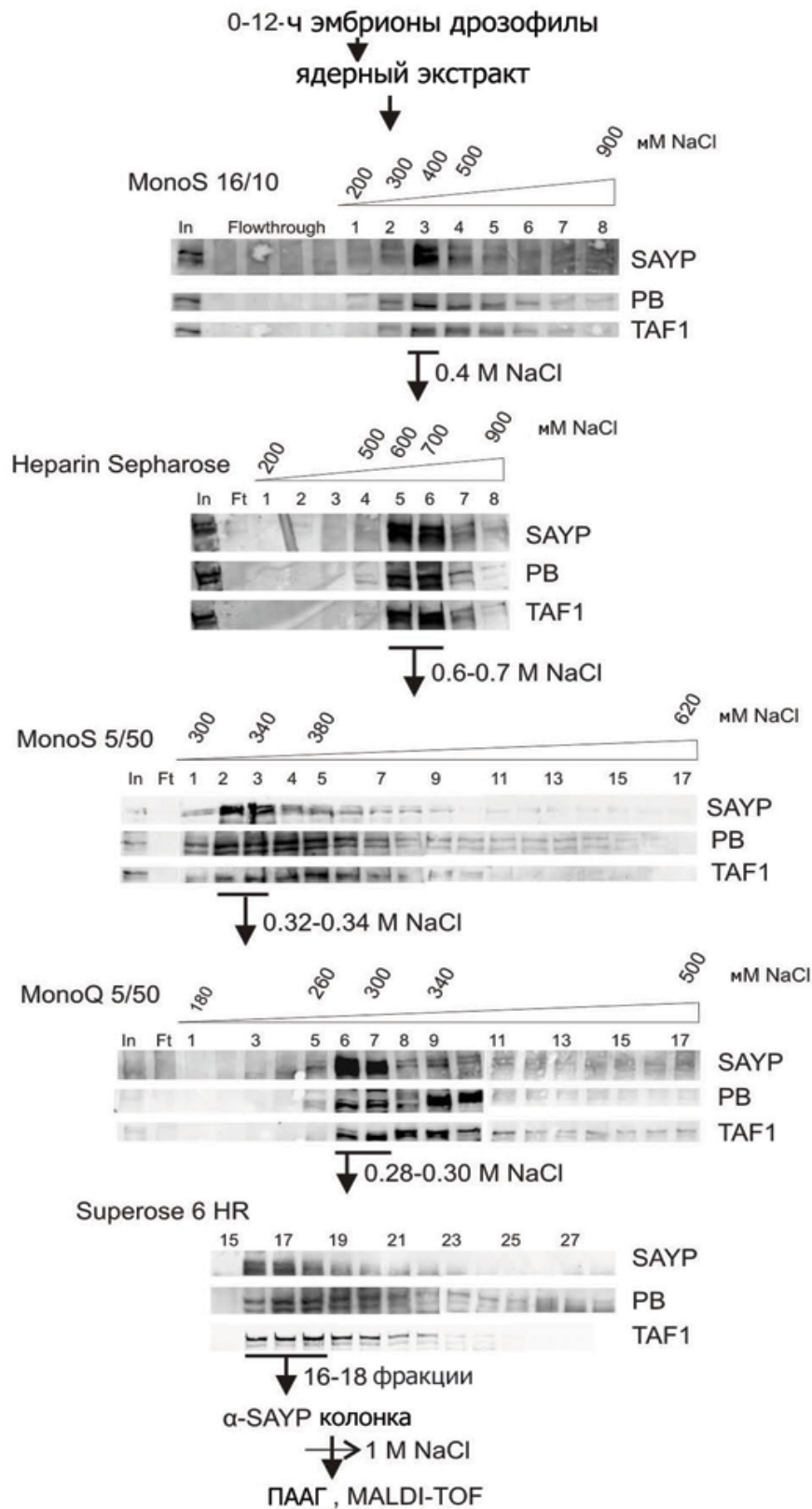


Рис 2. Схема очистки комплекса, содержащего SAYP. Фракции анализировали на наличие SAYP, субъединицы TFIID – TAF1 и субъединицы РВАР – РВ.

Затем была проведена более тщательная последовательная многоступенчатая очистка эмбрионального ядерного экстракта (рис. 2). На каждой стадии отбирали только SAYP-содержащие фракции, которые затем наносили на колонку другого типа. Элюцию с каждой колонки проводили в градиенте NaCl, а затем фракции проверяли с помощью Вестерн-блот анализа. На последней стадии очистки SAYP-содержащий комплекс иммунопреципитировали с помощью антител к N-концу SAYP. Промывали высокосолевым буфером (1M NaCl) и элюировали глицином с низким pH (pH=2.7). Элюат анализировали на SDS-ПААГ. После окраски геля Coomassie было детектировано около 20 полос (рис.3,а, верхняя панель). В качестве контроля использовали IgG кролика (рис.3,б, верхняя панель).

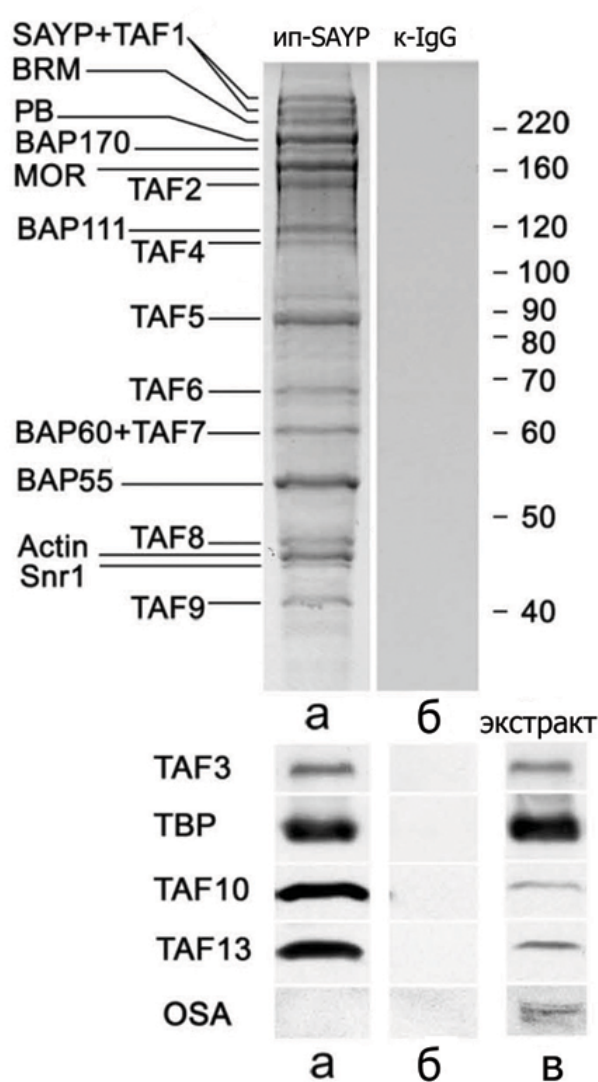


Рис 3. Верхняя панель: а - анализ 16-18 фракций на 9% SDS-ПААГ, окраска Coomassie; видимые полосы затем были проанализированы с помощью масс-спектро스코пии; б - контроль, преиммунные IgG кролика.

(*) - белки SAYP и TAF1 были совместно детектированы в двух соседних полосках;

(**) - полоска вместе с TAF5 содержала Hpr1, субъединицу THO комплекса, детектирующуюся в следовых количествах;

(***) - помимо BAP55 был детектирован pontin, часто ассоциирующий с SWI/SNF комплексами;

нижняя панель: Вестерн-блот анализ тех же фракций (а) и ядерного экстракта (в), демонстрирующий наличие компонентов TFIIID и отсутствие субъединицы OSA

2. Анализ компонентов комплекса:

2.1. Результаты фингер-принтного анализа с использованием MALDI-TOF масс-спектропии

С помощью фингер-принтного анализа с использованием MALDI-TOF масс-спектропии вырезанных из геля полосок было установлено, что вместе с SAYP были выделены все субъединицы ремоделирующего комплекса PVAR - Brahma (BRM), Moira (MOR), Polybromo (PB), VAP170, VAP111, VAP60, VAP55, актин и Snr1. Наличие субъединиц VAP170 и PB, но не OSA, подтверждает, что ассоциированный с SAYP ремоделирующий комплекс, относится к подсемейству PVAR комплексов SWI/SNF (рис. 3,а, нижняя панель).

Также вместе с PVAR комплексом при очистке SAYP были выделены все субъединицы общего фактора транскрипции TFIID. TAF1, TAF2 и TAF4–TAF9 были идентифицированы с помощью фингер-принтного анализа с использованием MALDI-TOF масс-спектропии (рис. 3,а, верхняя панель), а наличие низкомолекулярных субъединиц TAF10 и TAF13 было подтверждено Вестерн-блот анализом (рис. 3,а, нижняя панель). TAF3 и TBP субъединицы, для которых было показано, что они недопредставлены в очищенных препаратах TFIID, были выявлены в очищенных фракциях с SAYP с помощью Вестерн-анализа (рис. 3,а, нижняя панель). Сам SAYP был обнаружен вместе с TAF1 в двух верхних полосках (рис. 3,а, верхняя панель).

Таким образом, специфично иммунопреципитированные белки можно охарактеризовать как единый комплекс, состоящий из общего фактора транскрипции TFIID, ремоделирующего хроматин комплекса PVAR и коактиватора SAYP. Следует отметить, что каких-либо компонентов других комплексов, имеющих отношение к транскрипции, в соотносимых количествах обнаружено не было. Из экспериментов гель-фильтрации следует, что молекулярная масса выделенного комплекса составляет не менее 2.0МДа, что соответствует сумме молекулярных масс его компонентов (1 МДа - PVAR, 1.3 МДа - TFIID и 0.2МДа - SAYP). Важно, что после тщательной

многоступенчатой очистки SAYP имеет такой же профиль элюции, что и на гель-фильтрации. Это подтверждает стабильность выделенного комплекса.

2.2. Коиммунопреципитация компонентов комплекса

Чтобы подтвердить, что коактиватор SAYP, комплексы TFIID и PBAP непосредственно взаимодействуют друг с другом были проведены эксперименты по соосаждению (коиммунопреципитации) на 16-17 фракциях, содержащих SAYP. Антитела к Polybromo (PB) и Moira (MOR) - компонентам PBAP комплекса, соосаждали SAYP, TAF4 и TAF5, а антитела к TAF1 и TAF8 – компонентам TFIID, в свою очередь, соосаждали SAYP, PB и MOR (рис. 4,а). Комплексы PBAP и TFIID не соосаждались друг с другом из фракций не содержащих SAYP (20-21 фракции, рис. 1), (рис. 4,б). Это доказывает, что комплексы TFIID и PBAP не агрегируют неспецифично.

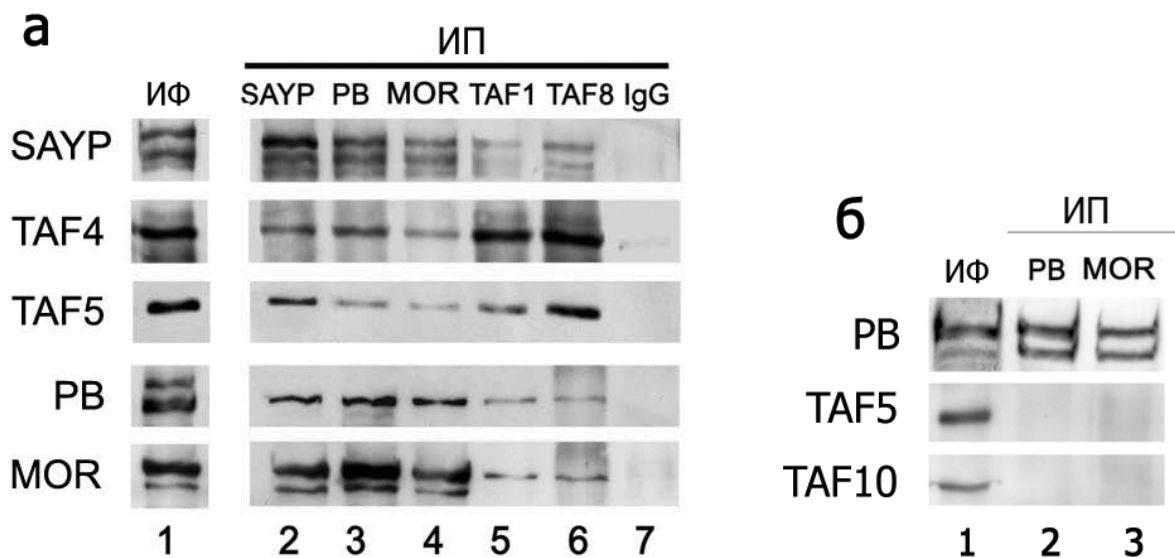


Рис 4. SAYP, часть комплексов PBAP и TFIID связаны в один общий суперкомплекс. а - на 16-18 фракциях проводили соосаждение антителами к SAYP, PB, MOR, TAF1, TAF8 белкам, в качестве контроля использовали IgG кролика. Одинаковые количества исходной фракции (ИФ) и преципитатов (ИП) анализировали на присутствие белков SAYP, TAF4, TAF5, PB, MOR.

б - соосаждение антителами к PB и MOR на 20-22 фракциях после гельфильтрации. Исходную фракцию и преципитаты анализировали на присутствие PB, TAF5 и TAF10.

2.3. Истощение

Ключевая роль SAYP в организации PBAР и TFIID в один комплекс была подтверждена с помощью иммуноистощения SAYP специфическими антителами из 16-17 фракций после гельфильтрации. Последующая коиммунопреципитация PBAР и MOR антителами к TAF1 и TAF9 подтвердила, что недостаток SAYP исключает взаимодействие PBAР и TFIID (рис. 5).

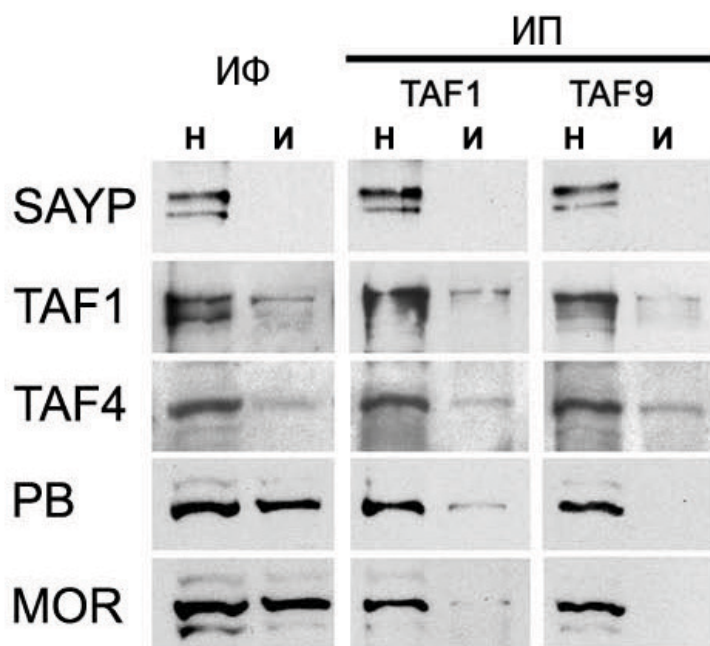


Рис 5. Соосаждение комплексов TFIID и PBAР зависит от наличия SAYP. Из фракций 16-18 после гельфильтрации (ИФ) после истощения IgG (Н) или специфическими антителами к SAYP (И) были проведены иммунопреципитации антителами к TAF1 и TAF9, преципитаты (ИП) анализировали антителами к SAYP, TAF1, TAF4, PBAР, MOR.

При очистке SAYP-содержащего комплекса только часть комплексов TFIID и PBAР соочищается совместно с SAYP. Также профиль элюции SAYP после гель-фильтрации значительно уже профиля элюции TFIID и PBAР комплексов - перекрытие происходит только в 16-17 фракциях (рис.1). Иммуноистощение SAYP также почти полностью истощает TFIID комплекс (рис.5), то есть почти весь TFIID комплекс в 16-17 фракциях находится в связанном с SAYP состоянии. В то же время при иммуноистощении SAYP количество субъединиц PBAР комплекса падало незначительно (рис. 5), это показывает, что только незначительная часть PBAР комплекса связана с SAYP. Таким образом, мы оцениваем, что примерно 20% TFIID комплекса и несколько процентов PBAР комплекса, содержащихся в ядерном экстракте эмбрионов

дрозофилы, находится в связанном с SAYP состоянии, образуя единый суперкомплекс.

3. Иммуноокрашивание политенных хромосом

На политенных хромосомах слюнных желез личинок дрозодилы с помощью иммуноокрашивания специфическими антителами была проведена колокализация субъединицы комплекса TFIID – TAF1 и SAYP. При наложении видно, что сайты локализации TAF1 и SAYP совпадают. Это подтверждает, что *in vivo* в хроматине SAYP и TFIID находятся в одних и тех же функциональных сайтах (рис. 6). Колокализация SAYP и субъединицы РВАР комплекса - ВАР170 была выполнена ранее. Сайты также совпадали. Таким образом SAYP, TFIID и РВАР локализуются на хромосомах в сайтах транскрипции совместно.

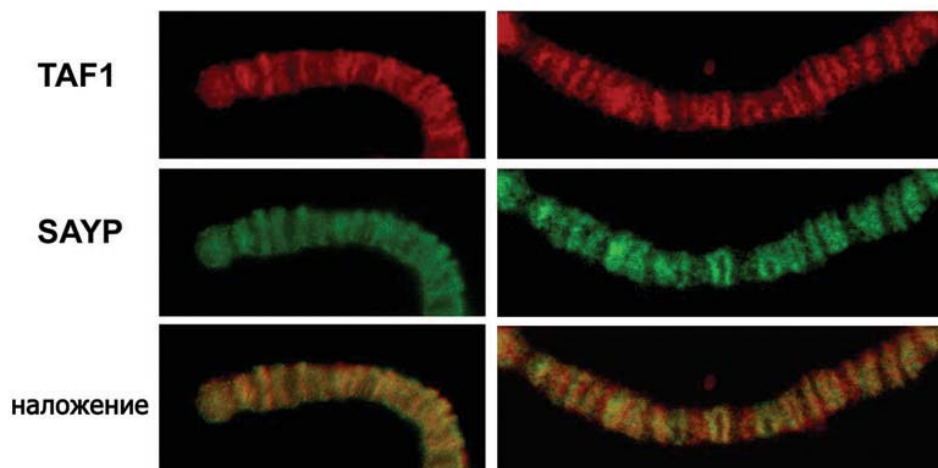


Рис 6. Иммуноокрашивание политенных хромосом дрозодилы антителами против TAF1 и SAYP. Показаны два участка хромосом. Показано наложение сайтов локализации TAF1 и SAYP.

4. Распределение компонентов комплекса на промоторе и кодирующей области SAYP-зависимых генов

Для исследования функций SAYP и других компонентов общего комплекса *in vivo* в хроматине также были проведены эксперименты по хроматиниммунопреципитации (ChIP) с последующим анализом количественной ПЦР. В процессе эксперимента была изучена способность компонентов комплекса привлекаться на промоторы SAYP-зависимых генов. SAYP-зависимые гены (*CG11395*, *CG11400* и *globin1*) – гены экспрессия которых понижается в 7-10 раз после нокаута SAYP с помощью РНК-интерференции в S2 клетках (данные были любезно предоставлены Р. Verrijzer).

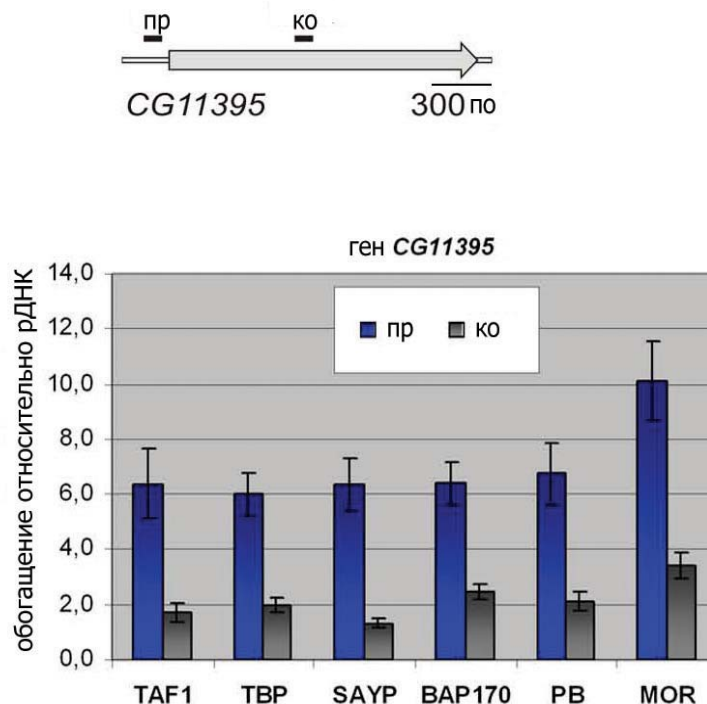


Рис 7. Распределение субъединиц комплексов на гене *CG1139*. Верхняя панель – схема SAYP-зависимого гена *CG11395* показаны участки гена на промоторной области (ПО) и кодирующей области (КО), использовавшиеся для количественной ПЦР.

Нижняя панель – SAYP, TFIID и РВАР связываются предпочтительнее с промоторной областью гена. Уровень SAYP, субъединиц TFIID (TBP и TAF1) и субъединиц РВАР (BAP170, PB, MOR) комплексов на промоторе (синие столбики) и кодирующей области (серые столбики) гена *CG11395* измерялся с помощью ChIP. Все результаты ChIP даны в виде обогащения относительно рДНК.

В результате ChIP с помощью специфических антител к SAYP, субъединицам TFIID (TAF1 и TBP) и субъединицам PVAR (VAR170, PB и MOR) выявил, что все компоненты общего комплекса стабильно связываются с промоторной областью гена (ПР) и в значительно меньшей степени с кодирующей областью (КО) (рис. 7).

5. Влияние «нокдаунов» компонентов комплекса на связывание общего комплекса с промоторами SAYP-зависимых генов:

5.1. Влияние нокдауна SAYP на распределение компонентов TFIID и PVAR на промоторах SAYP-зависимых генов

С помощью РНК-интерференции был проведен отдельно «нокдаун» каждого из компонентов общего суперкомплекса в S2 клетках и также методом ChIP с последующим анализом количественной ПЦР изучена способность SAYP и комплексов TFIID и PVAR привлекаться на промоторы *CG11395*, *CG11400* и *globin1* генов.

В результате «нокдауна» SAYP происходит значительное падение уровня компонентов комплексов TFIID (TAF1 и TBP) и PVAR (VAR170, PB и MOR) на промоторах всех трех генов (рис. 8). «Нокдаун» SAYP не влияет на общий уровень TBP и TAF's в S2 клетках – количество субъединиц комплекса остается прежним, что видно из результатов Вестерн-блот анализа (рис. 9,а). Однако в результате «нокдауна» SAYP уменьшался общий уровень субъединиц PB и VAR170 комплекса PVAR в клетках (рис. 9,а), что, несомненно, влияло на привлечение PVAR к промоторным областям в хроматине. Таким образом, можно утверждать, что TFIID комплекс не может связываться с промоторными участками SAYP-зависимых генов в отсутствие SAYP и комплекса PVAR.

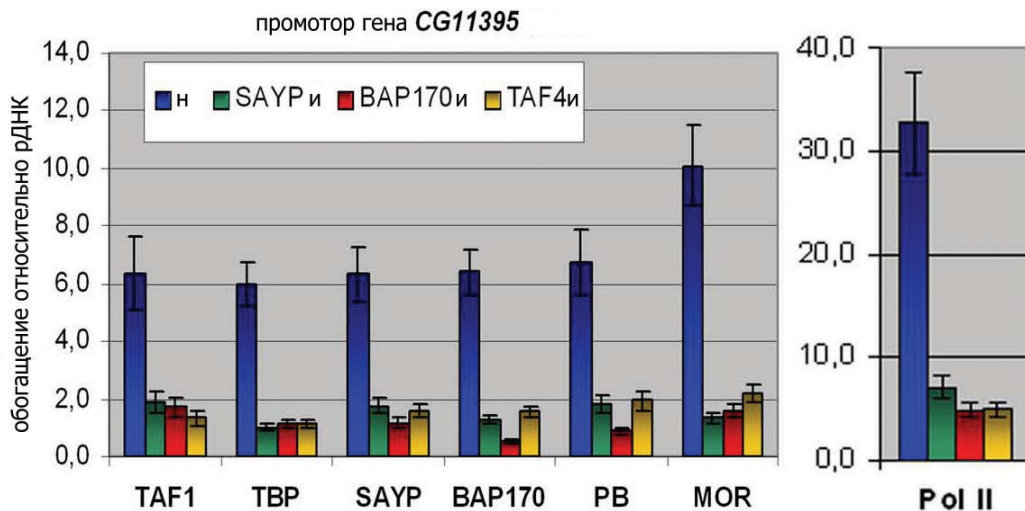


Рис 8. SAYP, PBAP, TFIID совместно привлекаются на промоторы и каждый из них является ключевым в этом процессе. Уровень SAYP, TFIID и PBAP комплексов на промоторе *CG11395* был изучен на нормальных S2 клетках (синие столбики), и после «нокдауна» SAYP (зеленые столбики), «нокдауна» BAP170 (красные столбики), «нокдауна» TAF4 (желтые столбики), аналогичные эксперименты провели для изучения уровня РНК-полимеразыII (PolII).

В качестве отрицательного контроля рассматривали связывание компонентов комплекса с промотором гена *Hsp70*, который не является SAYP-зависимым геном, и SAYP в нормальных S2 клетках не обнаруживается на его промоторах, что и было подтверждено с помощью ChIP (рис. 10). «Нокдаун» SAYP не влиял на уровень TFIID на промоторе *Hsp70*. Уровень компонентов PBAP немного падает, так как падает общее содержание PBAP в клетке (рис. 9) после интерференции SAYP (рис. 10).

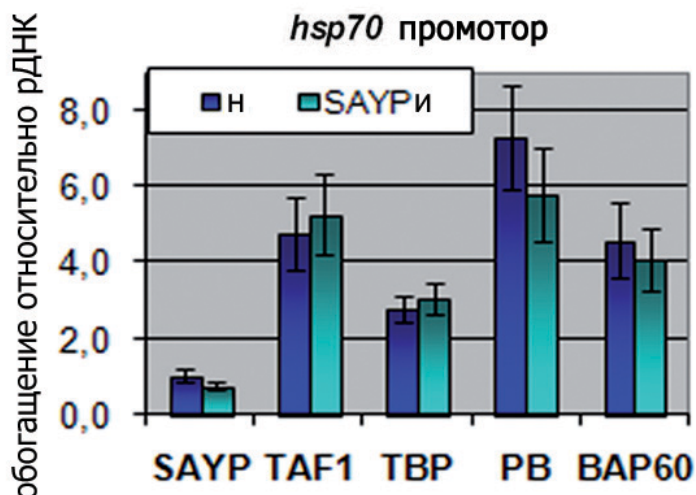


Рис 10. Уровень TFIID комплекса на SAYP-независимом гене *Hsp70* не изменялся после «нокдауна» SAYP. Уровень SAYP, субъединиц TFIID (TAF1 и TBP) и субъединиц PBAP (PB и BAP60) в нормальных S2 клетках (н-синие столбики) и после «нокдауна» SAYP (SAYPи – голубые столбики).

5.2. Влияние «нокдауна» BAP170 на распределение SAYP и компонентов комплексов TFIID и PBAF на промоторах SAYP-зависимых генов.

При «нокдауне» субъединицы BAP170 комплекса PBAF происходит значительное падение уровня SAYP и субъединиц комплекса TFIID на промоторах SAYP-зависимых генов (рис. 8). В то же время общий уровень субъединиц комплексов PBAF и TFIID в S2 клетках уменьшался, но общий уровень SAYP оставался прежним (рис. 9,а). Из этого можно сделать вывод, что свободный SAYP не привлекается на промоторы в отсутствие комплексов PBAF и TFIID.

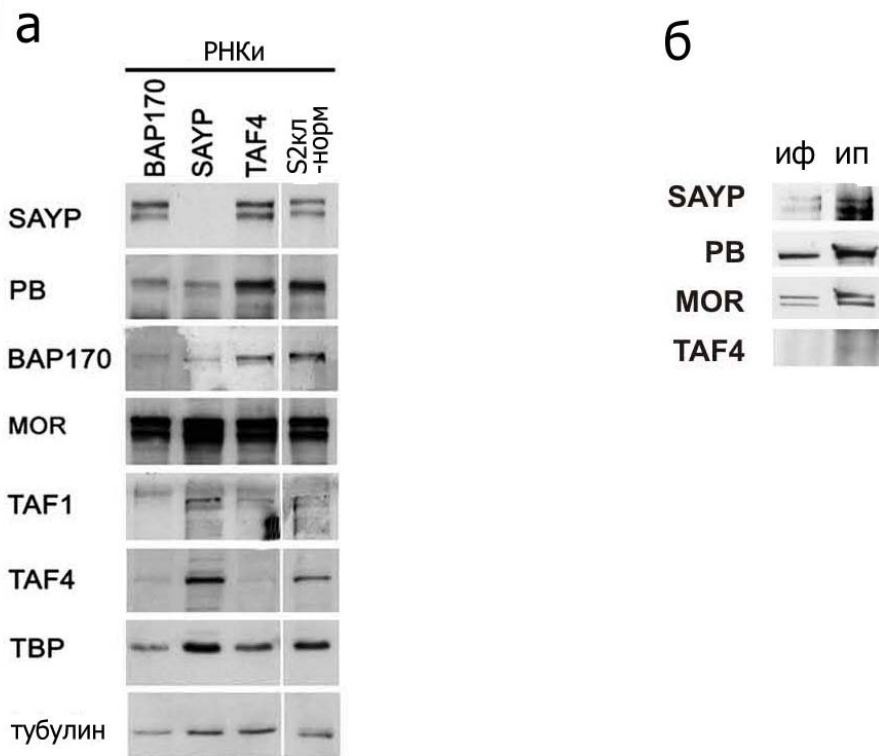


Рис 9. а – общий уровень SAYP и субъединиц комплексов PBAF (PB, BAP170, MOR) и TFIID (TAF1, TAF4, TBP) в нормальных S2 клетках (S2кл-норм) и после «нокдауна» - РНК-интерференции (РНКи) SAYP, BAP170, TAF4 соответствующими двуцепочечными РНК, выравнивание проводили по тубулину; б – в отсутствие TFIID SAYP соосаждается комплексом PBAF. Иммунопреципитации антителами к SAYP были выполнены на нормальных S2 клетках после «нокдауна» TAF4. 25% исходной фракции (ИФ) и 50% преципитата (ИП) нанесено.

5.3. Влияние «нокдауна» TAF4 на распределение SAYP и компонентов TFIID и PBAF на промоторах SAYP-зависимых генов

РНК-интерференция TAF4 также оказывала сильный отрицательный эффект на связывание PBAF и SAYP с промоторами SAYP-зависимых генов (рис. 8). Согласно сведениям, опубликованным ранее, «нокдаун» TAF4 приводил к разрушению комплекса TFIID (Wright *et al.*, 2006), не влияя на общий уровень SAYP и PBAF (рис.9,а). При этом SAYP оставался в клетке в связанном с PBAF состоянии (рис. 9,б), однако этот комплекс (PBAF & SAYP) без TFIID не способен стабильно ассоциировать с промоторами SAYP-зависимых генов (рис.8). Этот результат наиболее важен, так как согласно модели последовательного привлечения транскрипционных факторов на промотор, ремоделирующий комплекс должен первым ассоциировать с промотором независимо от других.

«Нокдауны» белков SAYP, BAP170 или TAF4 также значительно понижали уровень РНК- полимеразы II на промоторах изучаемых SAYP-зависимых генов (рис. 8), подтверждая, что присутствие SAYP, TFIID и PBAF на промоторах является необходимым условием при активации транскрипции.

III. ОБСУЖДЕНИЕ

Активация транскрипции – сложный процесс, требующий участия и координированной работы многих комплексов. В нашей работе было показано, что координация ремоделирования хроматина и инициации транскрипции, двух ключевых процессов активации транскрипции, может осуществляться единым суперкомплексом, состоящим из коактиватора транскрипции SAYP, общего фактора транскрипции TFIID и ремоделирующего хроматин комплекса PBAF. В один общий комплекс с SAYP связываются только 20% TFIID и несколько процентов PBAF в экстракте клетки. При этом транскрипция, опосредованная

SAYP, широко распространена в геноме дрозофилы: при колокализации SAYP и РНК-полимеразы II на политенных хромосомах в эухроматине было обнаружено около 150 сайтов, что в настоящей работе было подтверждено колокализацией SAYP и TAF1.

Несмотря на то, что ранее встречались сведения, что SAYP ассоциирован с комплексом РВАР, с помощью ChIP нами было показано, что в таком состоянии этот комплекс не способен связываться с промоторами SAYP-зависимых генов и является нефункциональным. Также с помощью ChIP была показана необходимость присутствия на промоторах SAYP-зависимых генов каждого из компонентов единого суперкомплекса. Привлечение SAYP, РВАР или TFIID в свободном состоянии на эти промоторы невозможно. Таким образом, общий суперкомплекс функционирует при активации транскрипции как единый модуль, а взаимодействия между его субъединицами и с окружающими белками необходимы для стабильного взаимодействия суперкомплекса с промоторами SAYP-зависимых генов.

Ключевая роль в организации общего комплекса принадлежит коактиватору SAYP, с которым могут взаимодействовать активаторы, таким образом, обеспечивая специфичность активации транскрипции соответствующих генов, как предполагалось ранее.

Ремоделинг хроматиновой матрицы – ключевой этап активации транскрипции, а связывание TFIID комплекса лимитирует скорость инициации транскрипции, поэтому объединение нескольких активностей компонентов в одном суперкомплексе может быть оправдана и функционально реализоваться, т.к. не требует предварительно подготовленной матрицы для инициации транскрипции. Активация SAYP-зависимых генов не зависит от локального состояния хроматина и от общего состояния транскрипционного аппарата, что может быть необходимым в процессе развития организма. В случае единого суперкомплекса сопряжение TFIID и РВАР может повышать эффективность транскрипции определенных генов. Таким образом, общий суперкомплекс способен осуществлять активацию транскрипции определенных генов

независимо от положения гена в хроматине, локальной концентрации TFIID или аффинности компонентов к промотору.

IV. ВЫВОДЫ

1. Выделен и охарактеризован новый комплекс, состоящий из общего фактора транскрипции TFIID, ремоделирующего хроматин комплекса РВАР и коактиватора транскрипции SAYP. Показано, что в состав нового комплекса входят все субъединицы комплексов TFIID и РВАР.

2. SAYP – основной фактор клетки, объединяющий TFIID - общий фактор транскрипции и РВАР - комплекс, ремоделирующий хроматин.

3. Единый комплекс, содержащий РВАР, TFIID и SAYP, локализуется на промоторах SAYP-зависимых генов и необходим для рекрутирования РНК-полимеразы II.

4. Все компоненты общего комплекса (SAYP, TFIID, РВАР) необходимы для его эффективного связывания с промоторами SAYP-зависимых генов

V. СПИСОК ПЕЧАТНЫХ РАБОТ

1. Сошникова Н.В., Воробьева Н.Е., Краснов А.Н., Георгиева С.Г., Набирочкина Е.Н., Ильин Ю.В., Шидловский Ю.В. Взаимодействие коактиваторов на промоторе. ДАН, 2008, 423: 561-563.
2. Soshnikova N.V., Vorobyeva N.E., Georgieva S.G., Shidlovskii Y.V., Ilyin Y.V. Novel transcription factor SAYP directly couples chromatin remodeling and transcription initiation. Conference for young scientists, PhD students and students on molecular biology and genetics, dedicated to 120th anniversary of M.I. Vavilov, Ukraine, Kyiv, 20-22 September 2007, Abstract book, p. 92
3. Soshnikova N., Georgieva S. The ubiquitous transcription co-activator SAYP interacts with PBAP chromatin remodeling complex and recruits PBAP on gene promoters. Spring-Meeting and Workshop “Protein-protein interactions” of the International Research Training Group Gießen/Marburg-Moscow (DFG/RFBR-funded) from 9th - 12th of March 2008 in Schloß Rauischholzhausen, Germany. Abstract book. p. 31.
4. Soshnikova N., Vorobyeva N., Shidlovskii Y., Georgieva S., Ilyin Y. Novel mechanism of coupling of chromatin remodeling and transcription initiation. 33rd FEBS Congress & 11th IUBMB Conference, Biochemistry of cell regulation, Athens, Greece, 28th of June- 3rd of July 2008, Abstract book, p. 156.
5. Soshnikova N., Vorobyeva N., Shidlovskii Y., Georgieva S., Ilyin Y. Novel mechanism of coupling of chromatin remodeling and transcription initiation. 8th Young Scientist Forum FEBS-IUBMB: Cell Harmony, Loutraki, Greece, 26th - 28th of June, Abstract book p. 134.