

**Структурные исследования детерминант специфичности димеризации ZAD-доменов транскрипционных факторов *Drosophila melanogaster* in vitro**

**Научный руководитель – Бончук Артём Николаевич**

***Камалаян Софья Ованесовна***

*Студент (бакалавр)*

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра вирусологии, Москва, Россия

*E-mail: Sofya171@gmail.com*

Многие транскрипционные факторы эукариот содержат ДНК-связывающий домен типа цинковый палец. Наиболее распространенным является домен C2H2 (Cys2-His2) типа, в котором ион цинка координирован двумя цистеиновыми и двумя гистидиновыми остатками. Кроме связывания консенсусной последовательности ДНК такие белки могут содержать домены, участвующие в белок-белковых взаимодействиях. К ним относятся, в частности, VTB/POZ-, SCAN-, KRAB- и ZAD- домены.

Объектом данного исследования стали белки - транскрипционные факторы - *D. melanogaster*, содержащие домен, ассоциированный с цинковыми пальцами (Zinc finger associated domain - ZAD). Для одного из них - ZAD-домена белка Grauzone - известна кристаллическая структура. Известно, что ZAD-домены одного белка могут взаимодействовать, образуя димеры. Однако между ZAD-доменами разных белков наблюдается низкая гомология, и, в связи с этим, требуется определить, насколько сходны пространственные структуры данных доменов и является ли димеризация специфичной или возможна гетеродимеризация с ZAD-доменами других белков, а также выявить структурные детерминанты специфичности димеризации.

На основе множественного выравнивания аминокислотных последовательностей были выявлены высокоомологичные кластеры генов ZAD-содержащих транскрипционных факторов, по всей видимости, возникших недавно в ходе эволюции в результате дупликации. В данной работе мы выбрали две пары таких факторов: CG2712 - Zw5, CG9797 - CG9793, и исследовали их взаимодействие при помощи сосаждения и дрожжевой двугибридной системы. В результате было выяснено, что, несмотря на большое сходство аминокислотных последовательностей, эти белки не гетеродимеризуются. Были созданы генно-инженерные конструкции для экспрессии и очистки ZAD-доменов этих белков. Были протестированы аффинные таги (MBP-, GST-, 6xHis-) для оптимизации условий очистки белков, наиболее эффективным оказалось использование GST-тага, после чего были проведены ионообменная хроматография и гель-фильтрация. В результате удалось выделить CG2712 в количестве, достаточном для структурных исследований, и получить кристаллы. Для белков CG9793 и CG9797 были созданы химерные производные, в которых структурные элементы взаимозаменены. Мы собираемся проверить способность к взаимодействию химерных белков между собой. Таким образом, планируется оценить вклад разных структурных элементов в специфичность гетеродимеризации.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №14-24-00166.