



Меркулова Татьяна Ивановна  
доктор биологических наук,  
заведующая лабораторией

## Разработка экспериментально-компьютерного подхода к распознаванию сайтов связывания транскрипционных факторов семейства HNF3

Полученные ранее данные об опухолесупрессорной функции HNF3 белков в печени (Kgorashev et al., 2001; Merkulova et al., 2005) поставили задачу поиска потенциальных генов-мишеней этих транскрипционных факторов, связанных с регуляцией пролиферации и апоптоза.

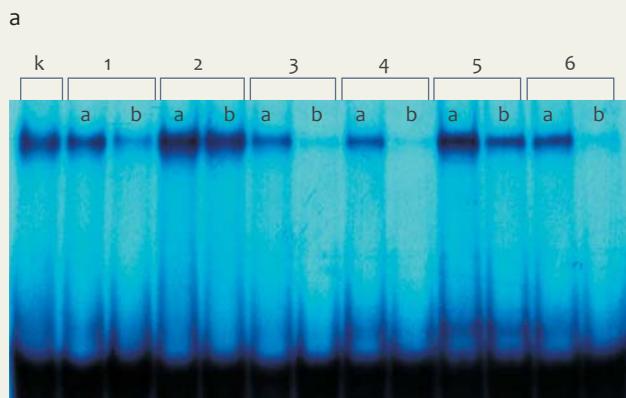
Целью исследования были разработка компьютерного метода распознавания сайтов связывания HNF3, его экспериментальная проверка и выявление новых генов-мишеней этих факторов.

С помощью компьютерного метода распознавания сайтов связывания транскрипционных факторов семейства HNF3, разработанного на основе программного пакета SITECON (Oscherkov et al., 2004), выявлен новый тип сайтов связывания этих белков — микросателлитный повтор TTTG (от трех до шести звеньев). С использованием олигонуклеотидов, соответствующих сайтам с разным числом копий TTTG, и GST-слитых белков, содержащих ДНК-связывающие домены HNF3 $\alpha$  и HNF3 $\beta$ , показано, что для эффективного связывания микросателлитов необходимо не менее трех

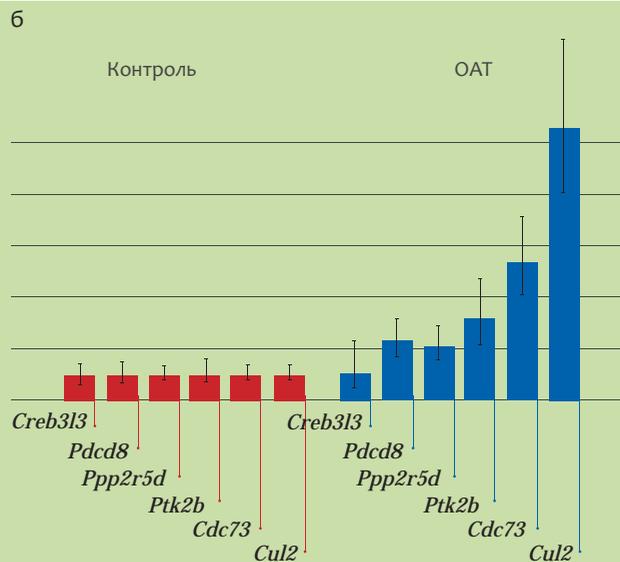
звеньев TTTG (рис. а). Методом ПЦР в реальном времени исследовано влияние аминоазокрасителя ОАТ, который приводит к снижению активности HNF3 в печени мыши, на экспрессию 6 генов, содержащих микросателлитные сайты (рис. б). Показано, что под действием ОАТ возрастает уровень мРНК 5 генов, что подтверждает вовлеченность HNF3 белков в регуляцию их транскрипции.

Таким образом, разработанный метод успешно распознает HNF3 сайты и пригоден для выявления потенциальных генов-мишеней этих белков.

Метод планируется использовать для выявления новых генов-мишеней HNF3 с целью выяснения механизма опухолесупрессорного действия этих факторов.



Конкуренция олигонуклеотидов, содержащих двух- (2), трех- (3), четырех- (4), пяти- (5) и шести- (6) кратный повтор TTTG, за связывание с HNF3 $\beta$ . Показано связывание GST-DBD- HNF3 $\beta$  с HNF3 сайтом из промотора гена транстретина без конкурента (к) и в присутствии конкурентов: а – соотношение зонда и конкурента – 1 : 1; б – конкурент взят в 10 кратном избытке



Изменение экспрессии 6 потенциальных генов-мишеней FOXA в печени под действием ОАТ