

ВЗАИМОСВЯЗЬ EAST-ЗАВИСИМОЙ И Su(Hw)-ЗАВИСИМОЙ РЕПРЕССИИ В ТРАНСГЕННЫХ ЛИНИЯХ *Drosophila melanogaster*

© 2019 г. А. К. Головнин¹, М. В. Костюченко¹, П. Г. Георгиев¹, Л. С. Мельникова¹, *

¹Институт биологии гена Российской академии наук, Москва, 119334 Россия

*e-mail: lsm73@mail.ru

Поступила в редакцию 09.04.2018 г.

После доработки 19.06.2018 г.

Принята к публикации 13.07.2018 г.

У *D. melanogaster* белок ядерного матрикса EAST функционально взаимодействует с Su(Hw)-зависимым инсуляторным комплексом. Ранее был описан аллель y^2 , в котором ретротранспозон МДГ4 встроен между энхансерами и промотором гена. В регуляторной области МДГ4 присутствует последовательность инсулятора Su(Hw). Увеличение концентрации белка EAST или инактивация белка Mod(mdg4)-67.2, входящего в Su(Hw)-зависимый комплекс, приводят к тканеспецифичной репрессии гена *yellow* в аллеле y^2 . В представленной работе с помощью транспозиции трансгенов, содержащих последовательности длинного концевой повтора (ДКП) ретротранспозона МДГ4 и инсулятора Su(Hw), была проанализирована степень EAST-зависимой и Su(Hw)-зависимой репрессии в различных участках генома. В результате генетических экспериментов впервые показано, что EAST-зависимая репрессия гена *yellow* наблюдается в тех же трансгенных линиях *D. melanogaster*, что и Su(Hw)-зависимая репрессия. Полученные данные подтверждают высказанное нами ранее предположение, что регуляторный комплекс, формирующийся на последовательности ДКП и функционально взаимодействующий с белком EAST, перемещает трансген в области ядра с высокой концентрацией факторов, репрессирующих транскрипцию.

Ключевые слова: репрессия транскрипции, EAST, инсулятор, Su(Hw), ген *yellow*, локализация трансгена, Mod(mdg4).

DOI: 10.1134/S0016675819030081

В настоящее время EAST является одним из немногих охарактеризованных белков ядерного матрикса дрозофилы [1–3]. При физиологических условиях в интерфазных клетках EAST локализуется в межхромосомном пространстве ядер [1]. Увеличение концентрации EAST приводит к увеличению межхромосомного пространства и сокращению объема, занимаемого хромосомами. В структуре EAST предсказаны семь последовательностей сигналов ядерной локализации (NLS) и 12 сайтов протеолитических сигналов (PEST), что свидетельствует о разнообразных вариантах посттрансляционной модификации белка [1]. Ранее мы показали, что белок EAST функционально взаимодействует с инсулятором Su(Hw) [2, 3]. Инсулятор Su(Hw) был впервые обнаружен в 5'-нетранслируемой области (5'UTR) ретротранспозона МДГ4 (*gypsy*). Он состоит из 12 сайтов связывания белка Su(Hw) [4], который рекрутирует в состав комплекса белки Mod(mdg4)-67.2 и CP190 [5, 6]. Белок EAST напрямую взаимодействует с белками Mod(mdg4)-67.2 и CP190 [2]. Влияние EAST на инсуляторную и репрессивную активность

Su(Hw)-зависимого комплекса было продемонстрировано на примере гена *yellow* [3].

Ген *yellow* отвечает за пигментацию кутикулярных структур дрозофилы [7]. В диком типе тело, крылья и щетинки мух окрашены в темный цвет. В аллеле y^2 ретротранспозон МДГ4 встроился между энхансерами тела и крыльев и промотором гена *yellow*. В этом случае инсулятор Su(Hw) полностью блокирует активацию экспрессии *yellow* в теле и крыльях, в результате чего они приобретают желтую окраску. Однако щетинки мух остаются пигментированными, так как энхансер щетинки расположен в интроне гена [8].

Инактивация белка Mod(mdg4)-67.2 вследствие делеции 145 ак С-концевого домена (мутация *mod(mdg4)^{u1}*) влияет на активность Su(Hw)-инсулятора и, с одной стороны, частично восстанавливает энхансер-промоторное взаимодействие, а с другой — превращает инсулятор в сайленсер. В линии $y^2; mod(mdg4)^{u1}/mod(mdg4)^{u1}$ Su(Hw)-зависимая репрессия выражается в депигментации щетинок — они становятся желтыми [5, 9]. Интересно, что такую же тканеспецифичную репрессию

транскрипции гена *yellow* в щетинках вызывает и суперэкспрессия белка EAST. В линии $y^2; P\{w^+; east^+\}/CyO; P\{w^+; east^+\}/TM6, Tb$ введение двух копий конструкции $P\{w^+; east^+\}$, экспрессирующей белок EAST, в аллель y^2 не влияет на окраску тела и крыльев, но приводит к полной депигментации щетинок [10]. Ранее мы показали, что при локализации трансгена в различных участках генома репрессия, обусловленная белком EAST, часто зависит от присутствия в составе трансгена последовательности длинного концевой повтора (ДКП) ретротранспозона МДГ4 [11]. В последовательности ДКП ретротранспозона МДГ4 был локализован инвертированный повтор, включающий сайт связывания белка Mad, ключевого компонента сигнального каскада TGF- β /BMP [12]. Результаты предыдущих работ [11, 12] позволяют предположить, что белок Mad рекрутирует на хроматин регуляторный комплекс, который не только функционально взаимодействует с белком EAST и усиливает EAST-зависимую репрессию, но и обуславливает локализацию трансгенов в репрессионных компартментах ядра.

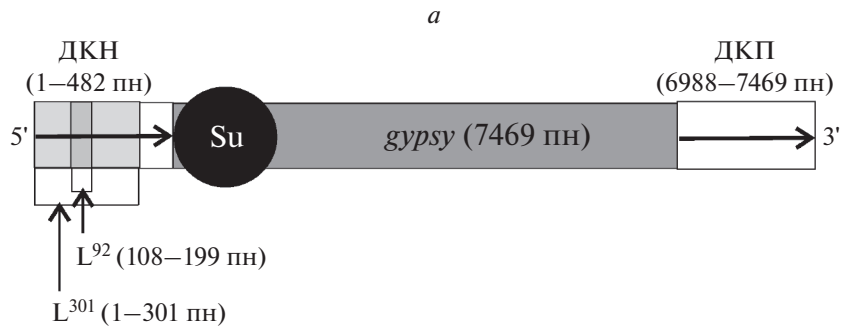
Цель представленной работы состояла в изучении влияния геномной локализации трансгенов, содержащих Su(Hw)-инсулятор и последовательность ДКП из МДГ4, на репрессию, обусловленную Su(Hw)-зависимым комплексом, и EAST-зависимую репрессию. Для этого мы использовали созданные нами ранее [11] трансгенные линии дрозофил $E(Su)(L^{301dir})YW$, $E(Su)(L^{301rev})YW$, $E(Su)(L^{92})YW$, $E(Su)(L^{5 \times 92})YW$ и $E(Su)YW$ (рис. 1), в которых соответствующий трансген был встроен в хромосому X. Для получения коллекции линий, в которых перечисленные трансгены встроены в различные места генома, мы индуцировали транспозиции конструкций с хромосомы X на аутосомы на фоне мутации $mod(mdg4)^{u1}$. В качестве источника P-транспозазы [13] использовалась линия $y^2w^{118}; P\{ry^+ \Delta 2-3\}(99B), mod(mdg4)^{u1}/TM6, Tb$. Самцы этой линии индивидуально скрещивались с пятью-шестью самками из трансгенных линий $y^2w^{118}; P\{y^+w^+\}; mod(mdg4)^{u1}/TM6, Tb$, где $P\{y^+w^+\}$ обозначает каждый из перечисленных трансгенов. Из потомков F_1 этого скрещивания отбира-

лись самцы $y^2w^{118}; P\{y^+w^+\}; mod(mdg4)^{u1}/P\{ry^+ \Delta 2-3\}(99B), mod(mdg4)^{u1}$, которые в свою очередь скрещивались с самками $y^2w^{118}; mod(mdg4)^{u1}/mod(mdg4)^{u1}$. Мухи гомо- и гемизиготные по мутации w^{118} имеют белые глаза. Самцы $y^2w^{118}; mod(mdg4)^{u1}/mod(mdg4)^{u1}$ с транспозициями трансгена, маркированного геном *miniwhite*, на аутосоме выявлялись в потомстве F_2 по изменению цвета глаз. Отбирались только самцы с окрашенными глазами. В результате мы получили коллекцию трансгенных линий с гомозиготной мутацией $mod(mdg4)^{u1}$ и проанализировали частоту проявления Su(Hw)-зависимой репрессии (рис. 1).

В подавляющем большинстве линий (от 90 до 98%) $E(Su)(L^{301dir})YW$, $E(Su)(L^{301rev})YW$ и $E(Su)(L^{5 \times 92})YW$ от 60 до 100% щетинок у мух имели желтую окраску, т.е. наблюдалась Su(Hw)-зависимая репрессия. В линиях $E(Su)(L^{92})YW$ и $E(Su)YW$ Su(Hw)-зависимая репрессия наблюдалась лишь в половине случаев (55–51%). Интересно, что Su(Hw)-зависимая репрессия не была тесно связана с инсуляцией. Для каждой конструкции были получены линии с желтой окраской тела и крыльев, т.е. с эффективной инсуляцией, и линии с промежуточной или даже очень слабой инсуляцией, в которых тело и крылья мух имели темную окраску. При этом депигментация щетинок на фоне мутации $mod(mdg4)^{u1}$ наблюдалась в обоих случаях.

Затем мы протестировали частоту проявления EAST-зависимой репрессии в полученных линиях (табл. 1). Для каждой из тестируемых конструкций мы отобрали самцов из линий с разной степенью Su(Hw)-зависимой репрессии и скрестили их с самками линии $y^2w^{118}; P\{w^+; east^+\}/CyO; P\{w^+; east^+\}/TM6, Tb$, где $P\{w^+; east^+\}$ обозначает конструкцию, сверхэкспрессирующую белок EAST. В F_1 потомстве этого скрещивания мы получили мух $y^2w^{118}; P\{w^+; east^+\}/+; P\{w^+; east^+\}/P\{y^+w^+\}; mod(mdg4)^{u1}$ либо $y^2w^{118}; P\{w^+; east^+\}/P\{y^+w^+\}; P\{w^+; east^+\}/mod(mdg4)^{u1}$. Мутация $mod(mdg4)^{u1}$ является рецессивной, поэтому в гетерозиготных по ней линиях Su(Hw)-зависимая репрессия не проявляется. Таким образом, депигментация щетинок в линиях,

Рис. 1. Проявление репрессии, опосредованной Su(Hw)-зависимым инсуляторным комплексом, в полученных в результате транспозиций трансгенных линиях. *a* – схематичное изображение последовательности ретротранспозона МДГ4 и последовательностей, использованных в конструкциях, изображенных ниже. Цифрами обозначены размеры ретротранспозона МДГ4 (*gypsy*) и его фрагментов в составе конструкций; пн – пары нуклеотидов; направление транскрипции МДГ4 показано стрелками; *b* – приведены схематичные изображения конструкций, на которых энхансер крыльев обозначен как W, энхансер тела – B, энхансер щетинок – Bg, инсулятор Su(Hw) – Su. Направление транскрипции указано горизонтальными стрелками. Темно-серые вертикальные стрелки обозначают сайты связывания Сге-рекомбиназы *loxP*, белые вертикальные стрелки – сайты связывания *FRT*, узнаваемые рекомбиназой Flp. Буква E в названиях конструкций обозначает энхансеры тела и крыльев гена *yellow*. Под схемами конструкций представлены результаты фенотипического анализа мух в трансгенных линиях. “+” – линии, в которых на фоне мутации $mod(mdg4)^{u1}$ наблюдалась Su(Hw)-зависимая репрессия, “–” – линии, в которых такая репрессия не наблюдалась. Пигментация тела и крыльев у самцов обозначена цифрами от 5 – темная окраска, как в диком типе, до 2 – желтая окраска, соответствующая фенотипу аллеля y^2 . Число трансгенных линий каждого фенотипа обозначено цифрами.



б

Трансгенная линия	Репрессия на фоне <i>mod(mdg)^{u1}</i>	Пигментация крыльев/тела			
		5/5	5/3-4	4/2-3	2-3/2-3
 E(Su)(L ^{301dir})YW	+ (98%) - (2%)	2 -	17 1	16 -	18 -
 E(Su)(L ^{301rev})YW	+ (93%) - (7%)	- 1	12 -	18 2	12 -
 E(Su)(L ⁹²)YW	+ (55%) - (45%)	- -	7 5	15 11	16 15
 E(Su)(L ^{5 × 92})YW	+ (90%) - (10%)	- -	17 3	22 3	24 1
 E(Su)YW	+ (51%) - (49%)	2 2	2 2	4 4	28 27

Таблица 1. Su(Hw)-зависимая и EAST-зависимая репрессия в трансгенных линиях

Трансгенная линия	<i>mod(mdg4)^{u1}</i>	Число линий	EAST+	EAST–
E(Su)(L ^{301dir})YW	+	32	29	3
	–	1	0	1
E(Su)(L ^{301rev})YW	+	30	26	4
	–	3	0	3
E(Su)(L ⁹²)YW	+	20	18	2
	–	20	3	17
E(Su)(L ^{5 × 92})YW	+	23	21	2
	–	7	0	7
E(Su)YW	+	28	13	15
	–	26	2	24

Примечание. В первой колонке указано название трансгенов; во второй колонке знаком “+” обозначены линии, в которых на фоне мутации *mod(mdg4)^{u1}* наблюдалась репрессия, обусловленная инсультором Su(Hw), а знаком “–” – линии, в которых такая репрессия отсутствовала; в третьей колонке указано число проанализированных линий каждого из двух фенотипов; в четвертой колонке указано число линий, в которых на фоне суперэкспрессии белка EAST возникла EAST-зависимая репрессия, а в пятой колонке – число линий, где такая репрессия не проявлялась.

где суперэкспрессировался белок EAST, была связана только с EAST-зависимой репрессией. В результате EAST-зависимая репрессия возникала почти во всех линиях E(Su)(L^{301dir})YW, E(Su)(L^{301rev})YW и E(Su)(L^{5 × 92})YW, где наблюдалась Su(Hw)-зависимая репрессия, и не проявлялась ни в одной линии, где на фоне мутации *mod(mdg4)^{u1}* щетки оставались черными (табл. 1). Среди линий E(Su)(L⁹²)YW и E(Su)YW обнаружались отдельные линии, в которых не проявлялась Su(Hw)-зависимая репрессия, но наблюдалась слабая EAST-зависимая репрессия, т.е. на фоне суперэкспрессии белка EAST около 30–40% щеток у мухи становились непигментированными. При этом EAST-зависимая репрессия возникала только в половине *mod(mdg4)^{u1}*-чувствительных линий E(Su)YW.

Чтобы выяснить, не связана ли наблюдаемая репрессия с транспозициями конструкций в области репрессивного хроматина, мы выбрали линии с различной степенью Su(Hw)-зависимой и EAST-зависимой репрессии и картировали в них места встраивания соответствующих трансгенов (табл. 2). Для этого использовалась обратная ПЦР с последующим секвенированием амплифицированных последовательностей ДНК (стандартный протокол из Berkeley Drosophila Genome Project <http://www.fruitfly.org/about/methods/inverse.pcr.html>). Проанализировав полученные данные, мы не обнаружили какой-либо закономерности в геномном распределении линий с различной степенью репрессии. Также не наблюдалось зависимости между местом инсерции трансгена и силой инсу-

ляции. Однако даже в линиях с ярко выраженной репрессией не наблюдалась специфическая репрессия маркирующего конструкции гена *mini-white*. Следовательно, трансгены не были интегрированы в геномные районы, способные вызывать репрессию транскрипции, например в теломерные повторы, HP1-обогащенные эухроматиновые районы, области мобильных элементов или PREs (Polycomb Response Elements) [14–18].

Известно, что в интерфазе хромосомы занимают в пространстве ядра определенные локации – хромосомные территории. Расположение участков хромосом влияет на возможность протекания *trans*-взаимодействий и определяет активный или репрессированный статус геномного локуса [19, 20]. Перемещение участков хромосом между хромосомными территориями приводит к изменению активности генов [21, 22]. Например, активно транскрибирующийся на данной стадии развития ген может перемещаться во внутриядерные скопления транскрипционных комплексов, так называемые транскрипционные фабрики [23]. В свою очередь, инактивация транскрипции достигается привлечением локуса в репрессивные ядерные структуры.

Полученные результаты показывают, что в случае присутствия в составе конструкций E(Su)(L^{301dir})YW, E(Su)(L^{301rev})YW и E(Su)(L^{5 × 92})YW фрагментов ДКП EAST-зависимая репрессия и Su(Hw)-зависимая репрессия возникают почти во всех трансгенных линиях. Следовательно, можно предположить, что обуславливающие, как было показано ранее, EAST-зависимую репрес-

Таблица 2. Результаты картирования сайтов интеграции трансгенов в геном

Локализация трансгена	Пигментация крыльев/тела	<i>mod(mdg4)^{u1}</i>	EAST	Место инсерции
E(Su)(L ^{301dir})YW				
3L:14724091 70F1	2/2	+	+	Промотор гена <i>ome</i>
3L:24301156 —	5/5	+	+	Между генами <i>Snap25</i> и <i>nvd</i>
3R:29933264 99C7	5/3	+	+	Промотор гена <i>CG42557</i>
2R:12880267 49D7	3/2	—	—	Промотор гена <i>Nmda1</i>
E(Su)(L ^{301rev})YW				
3L:5745556 64E5	5/4	+	—	Интрон гена <i>Usp47</i>
3L:7643395 66A8	5/3	+	+	Между генами <i>CG7506</i> и <i>CG32373</i>
3L:16799603 73C4	2/2	+	+	Интрон гена <i>CG9674</i>
3R:11963458 87A3	4/3	—	—	Интрон гена <i>aurA</i>
2R:17600788 54C12	3/2	—	—	Экзон гена <i>Smurf</i>
E(Su)(L ⁹²)YW				
2R:14390912 51A1	4/2	+	+	Экзон гена <i>CG10104</i>
2R:170094305 53F7	3/3	—	—	Интрон гена <i>GstS1</i>
E(Su)(L ^{5 × 92})YW				
3R:11568231 86E10-86E11	4/3	+	+	Между генами <i>sea</i> и <i>Mrp4</i>
2L:4822056 25A7	5/4	+	+	5'UTR гена <i>CG15628</i>
2R:19502394 56D14	4/2	—	—	Между генами <i>CG16926</i> и <i>CG11007</i>
2L:21221379 39B3	5/3	—	—	5'UTR гена <i>CG8677</i>
E(Su)YW				
3R:29157638 98F13	2/2	+	+	Между генами <i>Rpn2</i> и <i>CG11897</i>
3R:16195331 89B12-89B7	3/2	+	+	Интрон гена <i>sra</i>
2R:6501998 42B1-42B2	4/3	+	+	Промотор гена <i>jing</i>
3R:25065834 96B19	2/2	—	—	5'UTR гена <i>PQBPI</i>
3R:12369293 87B8	3/2	—	—	Промотор гена <i>GstD1</i>
3R:19190344 91F11	4/3	—	—	Интрон гена <i>CG31475</i>

Примечание. Пигментация крыльев и тела обозначена как на рис. 1. Знаками “+” и “—” обозначено проявление репрессии на фоне мутации *mod(mdg4)^{u1}* или на фоне суперэкспрессии белка EAST. Места встраивания конструкций определяли с помощью базы данных Flybase R5.13 (www.flybase.org).

сию последовательности ДНК [11] способствуют встраиванию трансгена в локусы, находящиеся в наиболее доступной для репрессивных факторов области ядра, где возможны сборка и функционирование любых репрессивных комплексов.

При транспозиции конструкции E(Su)(L⁹²)YW, содержащей маленький фрагмент ДКП, недостаточный для обеспечения стабильной EAST-зависимой репрессии, и конструкции E(Su)YW, включающей только последовательность Su(Hw)-инсультатора, Su(Hw)-зависимая репрессия наблюдается лишь в половине линий. При этом в линиях E(Su)YW нет взаимосвязи между EAST-зависимой и Su(Hw)-зависимой репрессиями. Это свидетельствует о случайном характере транспозиций.

В сумме результаты работы доказывают, что на последовательность ДКП МДГ4 рекрутируется белковый комплекс, который не только функционально взаимодействует с белком EAST, но и обуславливает локализацию трансгенов в репрессивных компартментах ядра. Такой комплекс может связываться с хроматином через белок Mad, сайт связывания которого в составе ДКП ретротранспозона МДГ4 был локализован нами ранее [12].

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 18-14-00295).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Wasser M., Chia W. The EAST protein of drosophila controls an expandable nuclear endoskeleton // Nat. Cell Biol. 2000. V. 2. P. 268–275. doi 10.1038/35010535
2. Golovnin A., Melnikova L., Shapovalov I. et al. EAST organizes drosophila insulator proteins in the inter-chromosomal nuclear compartment and modulates CP190 binding to chromatin // PLoS One. 2015. V. 10. e0140991. doi 10.1371/journal.pone.0140991
3. Melnikova L., Shapovalov I., Kostyuchenko M. et al. EAST affects the activity of Su(Hw) insulators by two different mechanisms in *Drosophila melanogaster* // Chromosoma. 2017. V. 126. P. 299–311. doi 10.1007/s00412-016-0596-3
4. Spana C., Corces V.G. DNA bending is a determinant of binding specificity for a *Drosophila* zinc finger protein // Genes Dev. 1990. V. 4. P. 1505–1515.
5. 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. P. 4807–4817. doi 10.1128/MCB.21.14.4807-4817.2001
6. Pai C.Y., Lei E.P., Ghosh D., Corces V.G. The centrosomal protein CP190 is a component of the gypsy chromatin insulator // Mol. Cell. 2004. V. 16. P. 737–748. doi 10.1016/j.molcel.2004.11.004
7. 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. P. 996–1004.
8. 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. P. 2657–2662.
9. Georgiev P., Kozycina M. Interaction between mutations in the suppressor of Hairy wing and modifier of mdg4 genes of *Drosophila melanogaster* affecting the phenotype of gypsy-induced mutations // Genetics. 1996. V. 142. P. 425–436.
10. Мельникова Л.С., Кривега И.В., Георгиев П.Г., Головнин А.К. Белок ядерного матрикса EAST участвует в регуляции транскрипции гена yellow у *Drosophila melanogaster* // ДАН. 2007. Т. 415. № 5. С. 1–4.
11. Мельникова Л.С., Костюченко М.В., Кривега И.В. и др. Картирование последовательности в ретротранспозоне МДГ4, отвечающей за EAST-зависимую репрессию в модельной системе гена yellow у *Drosophila melanogaster* // Генетика. 2017. Т. 53. № 9. С. 1042–1052.
12. Головнин А.К., Молодина В.В., Шаповалов И.С. и др. Последовательность ДКП ретротранспозона МДГ4 содержит сайт связывания белка MAD, усиливающий EAST-зависимую репрессию // ДАН. 2017. Т. 473. № 3. С. 365–369.
13. Robertson H.M., Preston C.R., Phillips R.M. et al. A stable genomic source of P element transposase in *Drosophila melanogaster* // Genetics. 1988. V. 118. P. 461–470.
14. Cryderman D.E., Morris E.J., Biessmann H. et al. Silencing at *Drosophila* telomeres: nuclear organization and chromatin structure play critical roles // EMBO J. 1999. V. 18. P. 3724–3735.
15. Fanti L., Berloco M., Piacentini L., Pimpinelli S. Chromosomal distribution of Heterochromatin Protein 1 (HP1) in *Drosophila*: a cytological map of euchromatic HP1 binding sites // Genetica. 2003. V. 117. P. 135–147.
16. Carmona M., González C. Transposable elements map in a conserved pattern of distribution extending from beta-heterochromatin to centromeres in *Drosophila melanogaster* // Chromosoma. 1995. V. 103. P. 676–684.
17. Четверина Д.А., Елизарьев П.В., Ломаев Д.В. и др. Контроль активности генов белками групп Polycomb и Trithorax у *Drosophila* // Генетика. 2017. Т. 53. № 2. С. 133–154.
18. Erokhin M., Georgiev P., Chetverina D. *Drosophila* DNA-binding proteins in polycomb repression // Epigenomes. 2018. V. 2. № 1. doi 10.3390/epigenomes2010001
19. Cremer T., Kupper K., Dietzel S., Fakan S. Higher order chromatin architecture in the cell nucleus: on the way from structure to function // Biol. Cell. 2004. V. 96. P. 555–567. doi 10.1016/j.biocel.2004.07.002
20. Fraser P., Bickmore W. Nuclear organization of the genome and the potential for gene regulation // Nature. 2007. V. 447. P. 413–417. doi 10.1038/nature05916
21. Branco M.R., Pombo A. Intermingling of chromosome territories in interphase suggests role in translocations and transcription-dependent associations // PLoS Biol. 2006. V. 4. e138. doi 10.1371/journal.pbio.0040138
22. Chambeyron S., Bickmore W.A. Does looping and clustering in the nucleus regulate gene expression? // Curr. Opin. Cell Biol. 2004. V. 16. P. 256–262. doi 10.1016/j.cceb.2004.03.004
23. Chakalova L., Fraser P. Organization of transcription // Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2010. V. 2. a000729. doi 10.1101/cshperspect.a000729

Interdependence of East-Dependent and Su(Hw)-Dependent Repression in Transgenic Lines of *Drosophila melanogaster*

A. K. Golovnin^a, M. V. Kostyuchenko^a, P. G. Georgiev^a, and L. S. Melnikova^{a, *}

^a*Institute of Gene Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119334 Russia*

**e-mail: lsm73@mail.ru*

The *D. melanogaster* nuclear matrix protein EAST (*enhanced adult sensory threshold*) functionally interacts with Su(Hw) insulator complex. Previously, was described y^2 allele with insertion of *gypsy* retrotransposon between enhancers and promoter. Presence of Su(Hw) insulator in *gypsy* regulatory region blocks enhancer action. Increase amount of EAST protein or inactivation of the Mod(mdg4)-67.2 protein – member of Su(Hw) insulator complex – results in the same phenotype: tissue specific repression of the *yellow* gene in y^2 allele model system. In this work we tested level of EAST-dependent or Su(Hw)-dependent repression in different genome regions. For this we made transpositions of transgenes which containing LTR of *gypsy* retrotransposon and Su(Hw) insulator sequences between enhancers and promoter of the *yellow* gene. We show that there is positive correlation between EAST-dependent and Su(Hw)-dependent repression in the same genome regions. These results confirm our hypothesis that regulatory complex which organized on the LTR is able functionally interacts with EAST protein and attracts transgene to the region of nuclear with high concentration of repressive factors.

Keywords: repression of the transcription, EAST, insulator, Su(Hw), *yellow* gene, transgene localization, Mod(mdg4).