

Повторы мотива EBS в промоторах генов в регулируют EIN3-зависимый ответ на этилен у *Arabidopsis thaliana* L.**Научный руководитель – Землянская Елена Васильевна****Пухова Евгения Максимовна**

Студент (магистр)

Новосибирский государственный университет, Факультет естественных наук,
Новосибирск, Россия

E-mail: janepuh12@gmail.com

Этилен - фитогормон, регулирующий ответы на стресс и многие процессы развития. EIN3 - ключевой транскрипционный фактор (ТФ) ответа на этилен. Он способен к димеризации и взаимодействует с мотивом EBS (AYGWAYCT) в промоторах генов-мишеней. Районы связывания EIN3 в геноме обогащены инвертированным повтором EBS с перекрытием копий в 1 нуклеотид (2EBS[-1]), который вызывает более сильный ответ генов на этилен *in vivo*, чем одиночный EBS. Однако по нашим предположениям, сайты связывания EIN3 другой структуры могут отвечать за тканевую или временную специфичность этиленового ответа. Цель данной работы - анализ обогащения повторов EBS в районах связывания EIN3 и изучение их функций в регуляции транскрипции отдельных генов.

Для анализа использовали публично доступные данные ChIP-seq по связыванию EIN3. *De novo* поиск обогащенных мотивов с использованием программы Homer выявил обогащение в пиках не только описанных ранее повторов 2EBS[-1] (33% пиков, $p = 1e-363$), но и новых, с перекрытием в 2 нуклеотида (2EBS[-2]) (12% пиков, $p=1e-90$). Повторов другой структуры обнаружено не было. В отличие от 2EBS[-1], повтор 2EBS[-2] значительно сходен с сайтом связывания другого ТФ *A.thaliana* - FUS3 ($e=1,39e-6$). Предположительно, гены, содержащиеся в промоторах 2EBS[-2], могут регулироваться совместно EIN3 и FUS3, а 2EBS[-1] отвечает только за связывание EIN3.

С помощью позиционно-весовой матрицы мы распознавали повтор 2EBS[-2] в пиках ChIP-seq EIN3 в промоторах и предсказали 111 генов - мишеней совместной регуляции EIN3 и FUS3. Для 4 чувствительных к этилену генов из этого списка методом количественной ПЦР проверили чувствительность экспрессии к обработке предшественником этилена и к нуль-мутации *fus3-3* в 3-дневных проростках *A.thaliana*. С помощью двухфакторного дисперсионного анализа мы выявили взаимосвязь влияния мутации *fus3-3* и обработки этиленом на экспрессию генов *EBF2* ($p=5,59e-3$), *ADS1* ($p=2,26e-3$) и AT5G02760 ($p=0,02$), проявляющуюся в ослаблении их ответа на этилен в линии *fus3-3* по сравнению с диким типом. Поскольку мутация *fus3-3* не влияет на чувствительность к этилену гена *EDF3*, описанный выше эффект взаимодействия, вероятно, не связан с влиянием мутации на сигнальный путь этилена, а обусловлен кооперацией FUS3 и EIN3 на уровне их промоторов. В настоящее время мы продолжаем анализ других предсказанных мишеней совместной регуляции.

Обнаруженная взаимосвязь сигнального пути этилена и FUS3, наиболее вероятно объясняющаяся взаимодействием EIN3 и FUS3 при связывании общего сайта 2EBS[-2], может представлять один из механизмов, обуславливающих пространственно-временную специфичность действия этилена.

Работа частично поддержана Российским Фондом Фундаментальных Исследований, грант № 18-29-13040.