

# РЕГУЛЯЦИЯ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ И ВТОРИЧНЫЕ СТРУКТУРЫ ДНК

Заикин А.В., Попцова М.С.

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,  
физический факультет, кафедра биофизики,  
ул. Ленинские горы, д.1, кор.2, г. Москва, Россия, 119991*

Со времени открытия Уотсоном и Криком ДНК-структуры в виде двойной спирали [1], так называемой канонической В-формы, или В-ДНК, были получены экспериментальные доказательства существования структур, отличных от классической В-формы [2]. К таким структурами относятся структуры стебель-петля (известные также как шпильки или крестообразные структуры), триплексы, квадруплексы, А-ДНК, Н-ДНК, Z-ДНК и другие.

Важная роль вторичных структур ДНК была показана для разных геномных процессов, от бактерий до человека. Было показано, что структуры стебель-петля могут функционировать как терминаторы, аттенюаторы, промотеры и рекогниционные элементы [3-5]. В настоящей работе мы рассматриваем отдельный тип вторичных структур – структуры стебель-петля. Данные структуры могут образовываться в местах палиндромных участков последовательностей ДНК или РНК и образовывать шпильку в одинарной последовательности или крестообразную структуру в двойной спирали.

Ранее нами были проаннотированы геномы бактерий палиндромными структурами (аннотация доступна на сайте [www.dnapunctuation.org](http://www.dnapunctuation.org)). Распределение этих структур по геному показало, что в геноме бактерий гены транскрипционных факторов (ТФ) и их окрестности статистически значимо обогащены структурами стебель-петля. Профили плотности покрытия структурами стебель-петля межгенных областей, прилегающих непосредственно к гену, выявили наличие шпилек как в терминаторных, так и в промотерных областях. Хорошо известно, что у бактерий шпильки часто служат терминаторами транскрипции, однако роль шпилек в промотерной области еще плохо изучена.

Транскрипционные факторы – это гены, кодирующие белки-регуляторы множества генов, кодирующих разнофункциональные белки. ТФ обычно связываются с промотерными последовательностями ДНК в областях до 50 нуклеотидов отстоящих от сайта. Однако, остается от-

крытым вопрос, как осуществляется регуляция самих транскрипционных факторов.

Существуют экспериментальные данные, подтверждающие влияние вторичных структур на уровень экспрессии кластера генов [6]. В данной работе было показано, что шпилька между генами *arsC* и *arsD* сильно влияет на экспрессию кластера, но механизмы действия пока еще плохо изучены. Аналогично, регуляция оперона *dra-nupC-pdp* у бактерии *Bacillus subtilis* происходит с посредством шпильки, расположенной в промоторной области оперона [7].

Целью настоящей работы является определение подкласса авторегуляторных ТФ, чья регуляция осуществляется структурами стебель-петля. Для этого был произведен анализ транскрипционной регуляторной сети бактерии *Bacillus subtilis*, из которой были вычленены элементы с положительной и отрицательной обратной связью, в которых участвуют ТФ. Также были определены ТФ, которые потенциально регулируются структурами стебель-петля.

Для этого сначала с посредством эволюционного алгоритма был определен статистически значимый набор параметров структуры стебель-петля в промоторных областях ТФ. В эволюционном алгоритме был использован критерий согласия Пирсона для направленной селекции (чем больше значение критерия, тем лучше набор параметров шпильки). Критерий согласия Пирсона считался для двух вариантов выборов: ТФ противопоставлялись всем остальным генам *B.subtilis* и все авторегуляторные ТФ (ТФ с петлей обратной связи) – всем остальным ТФ.

В случае выборки второго типа с помощью эволюционного алгоритма был найден такой набор параметров, что характеризующие их шпильки были найдены в промоторных областях генов ТФ с петлей обратной связи, а во всех остальных ТФ структуры стебель-петля отсутствовали в принципе. Этот результат говорит в пользу возможной регуляторной роли шпилек, находящихся в промоторных областях ТФ.

Для выборок первого типа было обнаружено 27 генов, имеющих шпильку с определенным набором параметров в промоторной области. В этом случае гены можно было разбить на четыре основных группы: имеющие идентичную шпильку с идентичными координатами (12 генов), имеющие идентичную шпильку с идентичными координатами (4 гена), имеющие идентичную шпильку с идентичными координатами (тоже 4 гена) и все остальные (7 генов).

В первом случае (12 генов) было обнаружено, что вся исследуемая промоторная область (100 нуклеотидов) почти абсолютно идентична у этих 12 генов, хотя гены имеют разные функции (резистентность к мы-

шьяку, регуляция уровня фруктозы и т.д.) и находятся в разных штаммах *B.subtilis*. Вторая и третья группы (по 4 гена) имеют аналогичное свойство (почти абсолютная идентичность исследуемой промотерной области). Четвертая же группа не имеет каких-то явно выраженных общих свойств.

Полученные результаты свидетельствуют о важной роли структур стебель-петля в авторегуляторных циклах ТФ. Требуется дальнейшие исследования генетической сети и усовершенствования методов эволюционного алгоритма для поиска статистически значимых структур в промотерных областях ТФ.

### Литература

1. Watson, J.D. and F.H. Crick, Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid // Nature. – 1953. – V. 171. – P. 737–738.
2. Smith, G.R., Meeting DNA palindromes head-to-head // Genes Dev, – 2008. – V. 22. – P. 2612–2620.
3. Wilson, K.S. and P.H. von Hippel, Transcription termination at intrinsic terminators: the role of the RNA hairpin // Proc Natl Acad Sci U S A, – 1995. – V. 92. – P. 8793–8797.
4. Wong, T.N., T.R. Sosnick, and T. Pan, Folding of noncoding RNAs during transcription facilitated by pausing-induced nonnative structures // Proc Natl Acad Sci U S A, – 2007. – V. 104. – P. 17995–18000.
5. Haasnoot, P.C., et al., A conserved hairpin structure in Alfamovirus and Bromovirus subgenomic promoters is required for efficient RNA synthesis *in vitro* // Rna, 2000. – V. 6. – P. 708–716.
6. Yu, X., et al., Transcriptional and posttranscriptional regulation of *Bacillus sp. CDB3* arsenic-resistance operon *ars1*. // PeerJ, 2015. – V. 3. – P. e1230.
7. Zeng, X. and H.H. Saxild, Identification and characterization of a DeoR-specific operator sequence essential for induction of *dra-nupC-pdp* operon expression in *Bacillus subtilis* // J Bacteriol, 1999. – V. 181. P. 1719–1727.