

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА DRAS1 У ДРОЗОФИЛ

СИВОПЛЯС Е.А.¹, КУЛИКОВ А.М.²

¹ ФГБОУ ВО «Московский педагогический государственный университет» (МПГУ), Москва, Россия

² ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН (ИБР РАН), Москва, Россия

ANALYSIS OF DROSOPHILA DRAS1 GENE EXPRESSION

SIVOPLYAS E.A.¹✉, KULIKOV A.M.²

¹ Federal State Budgetary Educational Institution Of Higher Education «Moscow State University of Education» (MSPU), Moscow, Russia.

² Koltzov Institute of Developmental Biology of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Ключевые слова: дрозофила, экспрессия генов, протоонкоген *Dras1*, микроРНК, *Drosophila melanogaster*, *Drosophila virilis*.

Ген *Ras* — один из наиболее консервативных генов, продукт экспрессии которого встречается на всех стадиях развития от дрожжей до человека. Данный ген входит в семейство кодирующих белков, относящихся к малым G-белкам (малые ГТФазы), играющих роль «молекулярных переключателей». Ген *Ras1* является универсальным переключателем от рецепторов к транскрипционным факторам. Ген *Ras* – самый известный протоонкоген. У человека также присутствуют гены, родственные данному гену (*H-ras*, *K-ras* и *N-ras*), при этом они мало отличимы от *Dras1* дрозофил, поэтому мы можем использовать этот ген в качестве модели для изучения связанных с канцерогенезом сигнальных каскадов. Считается, что большинство мутаций нейтральны и их накопление протекает постепенно. Однако нами показано, что возможны кардинальные изменения регуляторной

Keywords: drosophila, gene expression, , proto-oncogen *Dras1*, micro RNA, *Drosophila melanogaster*, *Drosophila virilis*.

The *Dras1* gene is the most well-known proto-oncogene. The most researches of carcinogenesis showed the participation of Ras family genes in the formation of malignant tumors. The *Dras1* gene is an orthologist of human genes (*N-ras*, *K-ras* and *H-ras*) and belongs to the highly conservative gene: the nucleotide sequence is little variable from yeast to human. These genes were first discovered in rat sarcoma cells which led to the name of this group. *RAS* genes are involved in the regulation of cell division, normal and in pathologies. Mutation of these genes is found in nearly 15% of all cases of tumors of human tumor formation. Most often in the cells of large tumors point mutations activate proto-oncogenes of the RAS family.

Цитирование: Сивопляс Е. А., Куликов А. М. Анализ экспрессии гена DRAS1 у дрозофил. Russian Scientist. 2020. т.4 №1: 11-12

Citing: Sivoplyas E.A., Kulikov A.M. Analysis of Drosophila DRAS1 gene expression. Russian Scientist.2020. v.4 №1: 11-12

✉ sivoplyas-ekater@mail.ru

Работа поддержана грантом РФФИ // This work is supported by RFBR grant № 16-34-00840 mol_a

Материал прошёл одностороннее слепое рецензирование.

The manuscript took a single-blind peer review.

области гена, произошедшие в очень короткие сроки.

В эксперименте использованы 11 близкородственных видов *Drosophila* группы *virilis* из коллекции Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН. Показана полная смена промоторной области гена *Dras1* у дрозофил группы *virilis* по сравнению с *D. melanogaster*. На ранних этапах эволюции в ходе дивергенции видов подродов *Drosophila* и *Sophophora* от общего предка изменения промоторной области данного гена были вызваны инсерцией мобильных элементов. Данная инсерция сопровождалась инверсионной перестройкой хромосомы. Дивергенция общего предка видов *D. littoralis*, *D. ezoana* и *D. kanekoi* сопровождалась инсерцией мобильного элемента в центральную часть предпромоторной области. Мы наблюдаем процесс полной смены регуляторной и промоторной области гена как минимум в трех случаях, в ходе дивергенции видов дрозофил разной степени родства. Это показатель высокой скорости эволюции, так как в кратчайшие сроки было восстановлено функционирование гена, при инактивации которого появляется летальный аллель, не способный поддерживать экспрессию данного гена.

В нашем эксперименте последовательность микроРНК связывается с матричной РНК гена *Dras1*, препятствуя началу синтеза белка на рибосоме. Путем биоинформационного анализа определены сайты посадки микроРНК. В дальнейшем были получены три линии дрозофил с гиперэкспрессией нескольких разновидностей микроРНК (miR-312, miR-313 и miR-92a). Для подтверждения связывания микроРНК с мРНК мы использовали репортерный ген флюоресцирующего белка GFP под промотором Gal4. Для дрозофил-трансформантов была разработана уникальная схема скрещивания. У особей, полученных в результате такого скрещивания, в отличие от исходных трансформантов, не наблюдалось свечения GFP.

The *Dras1* gene and the protein produced by it belongs to the *ras* superfamily. Participation of *Ras* genes in signal transmission from cell receptors to the MAR-kinase cascade is shown. In addition to this function, proteins in this family affect the state of the actin cytoskeleton, malignant transformation and other processes. However, data on the regulation of the gene's own transcriptional activity are very little known. The involvement of miRNAs in regulating gene expression activity of orthologous *ras* gene has previously been shown to man. This process includes the participation of 17 miRNAs. For *Drosophila*, the influence of miRNAs on the expression of oncogenes previously was not shown. For invertebrates, data were obtained only for *Caenorhabditis elegans*.

The landing sites of mobile elements that caused a change in the promoter region of the *Dras1* gene were found. Also sites of binding of miRNA (mir-313, mir-92a, mir-312) with the investigated gene *Dras1* in the region 3'-UTR were found. The transgenic construct containing the GFP gene and the 3'UTR of the *Dras1* gene in *D. melanogaster* with the presence / absence of the analyzed conservative sequence was made. Transgenic flies were obtained. The degree of gene expression was analyzed.

For the first time, transgenic structures based on the R-element with a reporter gene containing and not containing the region of binding of micro RNA were obtained.