

Оригинальное исследование

DOI: <https://doi.org/10.17816/ecogen678785>

EDN: PINYHT

Изменение экспрессии генов, контролирующих белки секрета слюнных желез дрозофилы, при повышенной продукции белка CHD1

А.В. Торощина, А.Ю. Конев

Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Гатчина, Россия

АННОТАЦИЯ

Обоснование. Генетический материал эукариот в ядре находится в виде нуклеопротеинового комплекса — хроматина. Реализация генетической информации требует ремоделирования хроматина, которое осуществляется АТФ-зависимыми белками ремоделирования хроматина семейства SNF2. Эволюционно консервативный фактор сборки и ремоделирования хроматина CHD1 связан с развитием рака предстательной железы. Развитию этого заболевания способствуют как делеция CHD1, так и увеличение количества белка CHD1 в клетке.

Цель — анализ влияния повышенной экспрессии белка CHD1 в модельном организме — дрозофиле — на транскрипцию гормон-зависимых тканеспецифичных генов в слюнных железах.

Материалы и методы. Использовали генетическую модель, основанную на сверхэкспрессии белка CHD1 дрозофилы дикого типа либо его каталитически неактивной формы в слюнных железах под действием GAL4-драйвера *P{GawB}AB1*. Уровень транскрипции генов в слюнных железах исследовали методом обратной транскрипции с последующей полимеразной цепной реакцией в реальном времени.

Результаты. Нами показано, что повышенная продукция белка CHD1 в клетках слюнных желез приводит к нарушению прикрепления куколок к поверхности. Этот фенотип обусловлен специфическим подавлением транскрипции генов, кодирующих основные белки секрета слюнных желез SGS (Salivary gland secretion, Sgs).

Заключение. Создана модельная система для изучения генетических эффектов, вызванных увеличением количества белка CHD1 в клетках дрозофилы. Эта модель может быть использована для исследования механизмов регуляции транскрипции белком CHD1 и ее нарушений в результате повышенной продукции белка CHD1.

Ключевые слова: *Drosophila melanogaster*; секрет слюнных желез; CHD1; SNF2; Sgs.

Как цитировать

Торощина А.В., Конев А.Ю. Изменение экспрессии генов, контролирующих белки секрета слюнных желез дрозофилы, при повышенной продукции белка CHD1 // Экологическая генетика. 2025. Т. 23. № 2. С. 163–171. DOI: 10.17816/ecogen678785 EDN: PINYHT

Original Study Article

DOI: <https://doi.org/10.17816/ecogen678785>

EDN: PINYHT

Influence of Increased Amounts of the CHD1 Protein on Salivary Gland Secretion Genes Expression in *Drosophila* Salivary Glands

Anastasia V. Toroshchina, Aleksandr Yu. Konev

Konstantinov Petersburg Nuclear Physics Institute of National Research Centre "Kurchatov Institute", Gatchina, Russia

ABSTRACT

BACKGROUND: The genetic material of eukaryotes exists in the nucleus in the form of a nucleoprotein complex named chromatin. Realization genetic information requires chromatin remodeling mediated by ATP-dependent chromatin remodeling proteins of the SNF2 family. Evolutionarily conserved chromatin assembly and remodeling factor CHD1 is associated with the development of prostate cancer. Development of prostate cancer is promoted both by deletions and by increase in the amount of CHD1 protein in the cell.

AIM: To analyze the effect of increased expression of the CHD1 protein in a model organism — *Drosophila* — on the transcription of hormone – dependent tissue-specific genes in the salivary glands.

METHODS: We used a genetic model based on the overexpression of either wild-type *Drosophila* CHD1 protein or its catalytically inactive form in the salivary glands under the control of the GAL4-driver *P{GawB}AB1*. The level of gene transcription in the salivary glands was investigated by reverse transcription followed by real-time PCR.

RESULTS: We have shown that increased production of the CHD1 protein in the salivary glands leads to a disruption in the attachment of pupae to the surface. It is shown that this phenotype is caused by specific suppression of transcription of *Salivary gland secretion (Sgs)* genes.

CONCLUSION: A model system has been created for studying genetic effects caused by an increase in the amount of CHD1 protein in *Drosophila* cells. This model can be used to investigate the mechanisms of transcriptional regulation by CHD1 and its disturbance as a result of increased production of CHD1 protein.

Keywords: *Drosophila melanogaster*; prostate cancer; CHD1; SNF2; *Sgs*.

To cite this article

Toroshchina AV, Konev AY. Influence of Increased Amounts of the CHD1 Protein on Salivary Gland Secretion Genes Expression in *Drosophila* Salivary Glands. *Ecological genetics*. 2025;23(2):163–171. DOI: [10.17816/ecogen678785](https://doi.org/10.17816/ecogen678785) EDN: PINYHT

Submitted: 22.04.2025

Accepted: 12.05.2025

Published online: 30.06.2025

ОБОСНОВАНИЕ

В эукариотических клетках генетический материал организован в хроматин-комплекс, состоящий из ДНК и гистонов. Преобразования хроматина необходимы для осуществления всех происходящих с ДНК процессов — транскрипции, репликации, репарации, рекомбинации, а также как основа для эпигенетической регуляции. Одним из основных механизмов преобразований хроматина является его ремоделирование, осуществляемое моторными белками — АТФазами из семейства SNF2 [1]. Среди них подсемейство CHD (Chromo-ATPase/Helicase-DNA-binding protein) характеризуется наличием двойных хромодоменов [2, 3]. У классического модельного организма — дрозофилы представлены все 3 группы этого подсемейства — CHD1, CHD3-4 и kismet (CHD6-9), которые есть и в геноме млекопитающих [4]. Среди белков данного подсемейства CHD1 наиболее консервативен и его уникальность состоит в том, что он вовлечен не только в ремоделирование хроматина, но и в его сборку из ДНК и гистонов *in vitro* [5] и *in vivo* [6–8]. Удаление и сборка нуклеосом выполняется в результате совместного действия АТФ-зависимых хроматин ремоделирующих факторов и гистоновых шаперонов [7, 9]. *In vivo* CHD1 необходим для включения вариантного гистона H3.3 в репликативно-независимой сборке хроматина в ходе преобразования мужского пронуклеуса у дрозофилы после оплодотворения [6]. Подобная функция CHD1 описана и для млекопитающих [10].

CHD1 играет важную роль в регуляции процесса транскрипции. Изначально он был охарактеризован как хроматин-ремоделирующий белок, связывающийся с регионами активной транскрипции — пуфами и междисками в политенных хромосомах личинок третьего возраста у дрозофилы [11]. Исследования на дрожжах и на культуре клеток человека показали, что CHD1 выделяется в комплексе с различными факторами элонгации транскрипции и с компонентами системы сплайсинга. CHD1 участвует в регуляции инициации, элонгации и терминации транскрипции [3, 12–15]. В процессе элонгации транскрипции у дрожжей-сахаромицетов CHD1 взаимодействует с факторами элонгации Spt4-Spt5 и Spt16-Pob3, а также с субъединицей Rtf1 комплекса PAF1, который регулирует элонгацию [13]. Как показано в исследованиях на мышах, при инициации транскрипции CHD1 является компонентом преинициаторного комплекса [16]. Во время его формирования CHD1 рекрутируется к промоторам активных генов через взаимодействие с компонентом Med1 комплекса Mediator [16]. У дрожжей-шизосахаромицетов Chd1 также входит в состав этого комплекса [17, 18]. В промоторах генов дрожжей, дрозофилы и клеток человека функция CHD1, вероятно, заключается в преодолении барьера для транскрипции, которым служит первая после сайта старта транскрипции нуклеосома [19–22]. У дрозофилы CHD1 проявляет себя и как активатор, и как репрессор транскрипции генов [23, 24].

Геном человека содержит 2 гомолога *Chd1* дрозофилы — CHD1 и CHD2, возникшие в результате полногеномной дупликации в ходе эволюции позвоночных и оба они вовлечены в канцерогенез. Мутации в гене CHD1 ассоциированы с раком простаты [25–27]. При этом CHD1 проявляет себя раковым супрессором, играющим ключевую роль в развитии рака простаты и определяющим метастазирование. Делеции, мутации и перестройки, затрагивающие ген CHD1, относятся к наиболее частым изменениям, наблюдающимся при раке простаты. CHD1 необходим для рекрутирования андрогенного рецептора к промоторам контролируемых им генов — раковых супрессоров, таких как NKX3-1, FOXO1 и PPAR γ [28]. Однако наиболее существенную роль в канцерогенезе играют не делеции, а наоборот избыток белка CHD1. Наиболее часто при раке простаты выявляются мутации в гене PTEN, которые приводят к нарушению протеолитической деградации белка CHD1 [29]. Избыточное количество CHD1, в свою очередь, вызывает индукцию генов про-онкогенного пути TNF-NF- κ B. Мутации PTEN в раковых клетках проявляют синтетическое летальное взаимодействие с мутациями CHD1 или инактивацией этого гена с помощью РНК-интерференции. Таким образом в опухолях, несущих делеции PTEN, приводящие к накоплению белка CHD1, он может служить привлекательной мишенью для развития таргетной терапии заболевания. Однако, учитывая множественную роль CHD1 в регуляции генетических процессов, для использования его в качестве мишени для таргетной терапии необходимо тщательное изучение всех его функций и механизма действия. Поэтому мы решили разработать генетическую модель для анализа влияния повышенной продукции белка CHD1, используя классический модельный организм *Drosophila melanogaster*. Для этого мы индуцировали экспрессию этого белка в слюнных железах, что позволяет изучить влияние повышенной продукции белка CHD1 как на структуру хромосом и хроматина, так и на экспрессию генов. С помощью GAL4-драйвера *P{GAWB}AB1*, который экспрессирует белок GAL4 в слюнных железах, начиная с эмбриональной и до конца личиночной стадий развития, мы индуцировали транскрипцию трансгенов, кодирующих либо белок CHD1 дикого типа (*P{UAST-Chd1^{(wt)}}*), либо его каталитически не активную форму (*P{UAST-Chd1^{(KR)559}}*). Замена лизина на аргинин в позиции 559 консервативного АТФазного домена полностью элиминирует АТФазную активность белка и его способность к ремоделированию или сборке хроматина [6]. В процессе этих исследований мы заметили, что куколки особей с повышенной экспрессией белка CHD1 в обеих его формах очень слабо крепятся к стенке пробирок для культивирования дрозофилы и легко отваливаются при прикосновении препаратальной иглой. Прикрепление куколок к субстрату осуществляется с помощью секрета слюнных желез. Именно поэтому в данной работе мы исследовали влияние повышенной продукции CHD1 на экспрессию генов, кодирующих основные белки этого секрета SGS (*Salivary gland secret, Sgs*).

Цель — анализ влияния повышенной экспрессии белка CHD1 в модельном организме — дрозофиле — на транскрипцию гормон-зависимых тканеспецифичных генов в слюнных железах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе были использованы следующие линии дрозофилы: линия дикого типа Oregon-R; линия GAL4-драйвер *w; P{GaWB}AB1*; линии несущие трансгены *w; P{UAST-Chd1^(wt)}*, кодирующий белок дикого типа, и *w; P{UAST-Chd1^(KR559)}*, кодирующий белок с неактивной АТФазой [6]; а также две линии несущие делеции гена *Chd1* — *w; Df(2L) Df(2L)Chd1¹/T(2;3) SM6b-TM6B Tb* и *w; Df(2L) Exel7014/T(2;3) SM6b-TM6B Tb*. В делеции *Df(2L)Chd1¹* удалены 3 гена, включая *Chd1*, а крупная делеция *Df(2L)Exel7014* перекрывается с *Df(2L)Chd1[1]* только в одном гене — *Chd1* [6]. При скрещивании этих двух линий отбирали нуль-мутантов по гену *Chd1* [6]. Все культуры поддерживались на стандартной среде при температуре 25°C.

Для количественной оценки прикрепления куколок к стенкам пробирки использовали следующий метод: культуры выращивали в разборных пробирках со съёмным доннышком. После окукливания особей, доннышки со средой заменяли на заполненные водой комнатной температуры и переворачивали определенное число раз, а затем подсчитывали количество оставшихся прикрепленными к стенкам куколок и количество смытых. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью критерия χ^2 с поправкой Йейтса [30].

Для выделения тотальной РНК использовали метод, основанный на гуанидин-тиоцианат-фенол-хлороформной экстракции с помощью реагента Trizol (Invitrogen, США) в соответствии с инструкцией. РНК выделяли из изолированных слюнных желез либо из целых личинок на различных стадиях развития. Выделенную РНК обрабатывали ДНКазой и проводили обратную транскрипцию с помощью набора LunaScript (New England Biolabs, США). Для проведения ПЦР в реальном времени использовали реакционную смесь для RT-PCR SyberGreen + Rox (2,5X) (BioRad) и амплификатор BioRad CFX96. РНК выделяли из личинок на пуффовой стадии PS1-2; 0-часовых предкуколок (стадия PS10) и 0-часовых предкуколок + 2 ч (стадия PS10+2). Для определения физиологического возраста личинок выращивали на среде с добавленным красителем бромфеноловым синим, который позволяет разделять стадии развития по заполненности кишечника личинок окрашенной средой [31]. В качестве референсных генов использовали гены сплайсинговой РНК *U6 (SnRNA:U6)*, актина *Act42A (Actin42A)* и рибосомального белка *RpL32 (Ribosomal protein L32)*. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы REST 2009 [32]. Праймеры, использованные для РТ-ПЦР, доступны по запросу.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Как уже упоминалось, предпосылкой данного исследования была замеченная нами особенность куколок особей генотипов *w; P{GaWB}AB1/P{UAST-Chd1^(wt)}* и *w; P{GaWB}AB1/P{UAST-Chd1^(KR559)}* — их слабое прикрепление к стенкам пробирок. Поскольку для прикрепления к субстрату окукливающиеся личинки стадии PS10 используют выделяемый ими секрет слюнных желез, служащий «клеем», мы предположили, что такой фенотип может быть связан с нарушением синтеза основного компонента этого «клея» — белков секрета слюнных желез SGS. О нарушении их синтеза свидетельствовало и практически полное отсутствие секрета в просвете слюнных желез на всех исследованных стадиях развития. Железы таких особей несколько уменьшены и не превышают по толщине жирового тела, но в остальном сохраняют нормальную морфологию. С тем чтобы количественно охарактеризовать степень прикрепления куколок к поверхности, мы проводили смыв куколок с помощью последовательного переворачивания культуральных стаканчиков с водой и подсчета количества смытых и остающихся прикрепленными куколок. Результаты этого анализа приведены в табл. 1.

Как видно из табл. 1, после 50 переворачиваний смывается 88,7 % куколок генотипа *w; P{GaWB}AB1/P{UAST-Chd1^(wt)}*, 92 % особей *P{GaWB}AB1/P{UAST-Chd1^(wt)}* и только 5 % особей *w; P{GaWB}AB1/+*. Таким образом, мы смогли получить практически качественные различия по фенотипу прикрепления к поверхности, что свидетельствует о практически полном нарушении функциональности секрета слюнных желез при повышенной экспрессии в клетках слюнных желез как белка CHD1, так и его не активной формы.

На следующем этапе мы проанализировали экспрессию генов секрета слюнных желез *Sgs3 (Salivary gland secretion 3)*, *Sgs4 (Salivary gland secretion 4)*, *Sgs5 (Salivary gland secretion 5)*, *ng2 (new glue 2)* и *Pig1 (Pre-intermoult gene 1)*, которые экспрессируются исключительно в слюнных железах. Экспрессию всех генов анализировали в слюнных железах личинок на стадии PS1-2, на которой начинается очень активная транскрипция всех трех генов *Sgs*, а активная транскрипция *ng2* и *Pig1*, наоборот, начинает прекращаться [33]. В качестве референсного гена в этих экспериментах использовали ген сплайсинговой РНК *U6 (SnRNA:U6)*, который транскрибируется с помощью РНК полимеразы III. В отличие от генов, транскрибируемых РНК полимеразой I и II, для генов, транскрибируемых полимеразой III, влияния на их экспрессию фактора CHD1 не показано. Результаты анализа приведены на рис. 1, данные представлены с использованием логарифмической шкалы.

На этой стадии экспрессия обоих трансгенов *Chd1* приводит к практически полному отсутствию транскрипции всех исследованных генов, кодирующих белки секрета

Таблица 1. Зависимость прикрепления куколок к поверхности от экспрессии белка CHD1 в клетках слюнных желез

Изначальное количество куколок	Количество смытых куколок в зависимости от числа оборотов пробирки			Количество не смытых куколок	Общее количество смытых куколок (доля в %), <i>p</i> *
	10 об.	30 об.	50 об.		
<i>P{GaWB}AB1</i>					
39	0	0	2	37	2
10	1	0	0	9	1
12	0	1	0	11	1
40	1	0	1	38	2
52	1	0	1	50	2
12	0	0	0	12	0
16	1	0	0	15	1
42	1	0	0	41	1
24	2	0	0	22	2
19	0	1	1	17	2
266**	7	2	5	252 (94,7%)	14 (5,2%)
<i>P{GawB}AB1/P{UASTCHD1(WT)}</i>					
30	12	8	8	2	28
36	15	11	7	3	33
48	15	16	11	6	42
31	6	16	2	7	24
33	15	11	7	0	33
36	9	17	7	3	33
58	24	28	3	3	55
272#	96	107	45	36 (11,3%)	282 (88,7%), <i>p</i> =3,3×10 ⁻⁸⁹
<i>P{GaWB}AB1/P{UAST-Ch1(KR)559}</i>					
49	17	18	10	4	45
21	9	7	3	2	19
20	4	8	8	0	20
18	5	9	4	0	18
37	9	13	11	4	33
16	3	8	4	1	15
25	12	7	3	3	22
21	11	6	3	1	20
38	19	11	5	3	35
19	6	9	1	3	16
264##	95	96	52	21 (8,0 %)	243 (92,0%), <i>p</i> =4,1×10 ⁻⁸⁸

Примечание. **p* — вероятность того, что соотношение смытых и не смытых куколок не отличается от соотношения в контрольной линии *P{GaWB}AB1*; **соотношение смытых и не смытых куколок не отличается между пробирками (*p*=1,00), поэтому данные были объединены; #соотношение смытых и не смытых куколок не отличается между пробирками (*p*=0,18), поэтому данные были объединены; ##соотношение смытых и не смытых куколок не отличается между пробирками (*p*=0,98), поэтому данные были объединены.

слюнных желез — SGS3, SGS4 и SGS5. В то же время транскрипция двух других тканеспецифичных для слюнных желез генов либо не изменена (*Pig1*), либо даже повышена при экспрессии каталитически не активной формы белка CHD1 (*ng2*). Таким образом, подавление транскрипции именно генов *sgs* является высоко специфичным, а не вызвано общим угнетением транскрипции

в клетках слюнных желез. Дополнительным свидетельством этого является и сохранение практически нормальной структуры слюнных желез за исключением отсутствия в их просвете секрета, основным компонентом которого являются именно белки SGS.

На следующем этапе мы проанализировали динамику изменений количества РНК, транскрибируемого

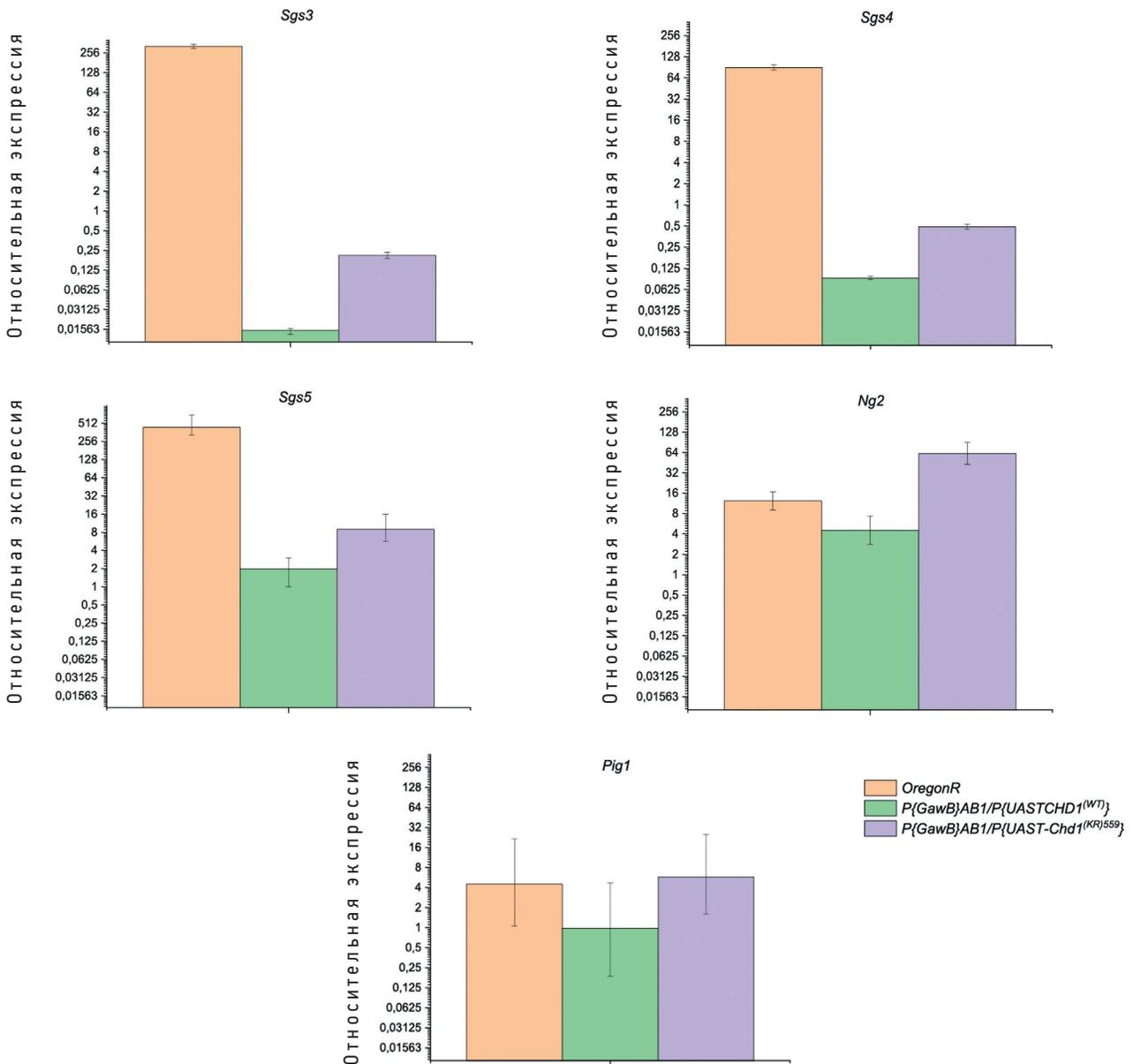


Рис. 1. Влияние повышенной продукции конструкций, кодирующих нормальную ($P\{UAST-Chd1(wt)\}$) и каталитически неактивную ($P\{UAST-Chd1^{(KR)559}\}$) формы белка CHD1 на экспрессию тканеспецифических генов слюнных желез дрозофилы. Показаны значения относительной экспрессии и 95% доверительный интервал.

с генов *Sgs4* и *Sgs5* в ходе развития. В этом эксперименте РНК выделяли из целых личинок, так как экспрессия и исследуемых генов, и GAL4 драйвера $P\{GawB\}AB1$ происходит исключительно в слюнных железах, а их отделение от жирового тела затруднительно у личинок, экспрессирующих трансгены *Chd1*. В данном эксперименте использованы 2 контроля — линия дикого типа *Oregon-R* и гетерозиготы $P\{GawB\}AB1/+$, а также нуль-мутантные по гену *Chd1* особи (рис. 2). В качестве референсных использованы гены *Act42A* и *RpL32*. Чтобы показать динамику изменений количества РНК в ходе развития, показаны значения относительной экспрессии по отношению к референсным генам и минимальному значению относительной экспрессии в ходе развития у контрольных особей генотипа $P\{GawB\}AB1/+$ [34].

На стадии PS1-2 нуль-мутанты по гену *Chd1* особи также показывают снижение транскрипции *Sgs4*, но не *Sgs5*. Следовательно влияние каталитически неактивной формы белка CHD1 на экспрессию генов *Sgs* не может быть объяснено отсутствием его активности и сходно с влиянием на экспрессию генов секрета слюнных желез повышенной продукции белка CHD1 дикого типа. С течением времени относительный уровень экспрессии генов *Sgs* несколько увеличивается при повышенной продукции CHD1 (в особенности его неактивной формы), что может быть объяснено медленным нарастанием их транскрипции при повышении количества белка CHD1 в клетке. Таким образом, CHD1 не полностью блокирует процесс транскрипции генов *Sgs* в результате повышенного рекрутирования к хроматину, интерферирующим с привлечением РНК полимеразы.

ОБСУЖДЕНИЕ

Главный результат данной работы — обнаружение высоко специфичного подавления транскрипции генов секрета слюнных желез в результате повышения количества белка CHD1 в клетках слюнных желез, приводящего к нарушению крепления куколок к поверхности. Такой легко анализируемый признак позволяет создать экспериментальную модель для исследования факторов, влияющих на фенотип, связанный с повышением количества белка CHD1 в клетках дрозофилы. У человека стабилизация белка CHD1 вызванная мутациями в фосфатазе PTEN, приводящими к увеличению количества CHD1 в клетке, приводит к раковой трансформации клеток простаты. Обнаружение очень специфичного фенотипа, связанного с повышенной продукцией CHD1 в клетках слюнных желез у дрозофилы, создает предпосылки для изучения регуляции транскрипции у модельного организма — дрозофилы — в результате увеличения концентрации данного белка. Такие исследования могут прояснить как механизмы действия белка CHD1, так и механизмы гормон-зависимой регуляции активности генов. У человека рак простаты является гормон-зависимым [35]. Гормональная регуляция экспрессии генов андрогенным рецептором (AR) строго контролируется множеством транскрипционных кофакторов, включая пионерские факторы FOXA1 и GATA2 [35]. Экспрессия генов секрета слюнных желез зависит от стероидного гормона экдизона и опосредуется экдизоновым рецептором EcR, который является ближайшим гомологом андрогенного рецептора [36]. Экспрессия генов *Sgs4* и *Sgs3* зависит и от экдизонового рецептора EcR и от транскрипционного фактора *forkhead*, являющегося прямым гомологом FOXA1 [36, 37]. Таким образом, гормон-зависимая регуляция активности генов в слюнных железах дрозофилы напоминает процессы андроген-зависимой регуляции транскрипции у человека в клетках простаты.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Созданная модельная система для изучения генетических эффектов, вызванных увеличением количества белка CHD1 в клетках дрозофилы, может быть использована для исследования механизмов регуляции транскрипции белком CHD1 и ее нарушений в результате повышенной продукции белка CHD1.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. А.В. Торощина — сбор и подготовка образцов, проведение ПЦР в реальном времени, анализ полученных данных, написание текста; А.Ю. Конев — концепция и дизайн исследования, анализ полученных данных, написание текста, обзор литературы, окончательная редакция текста. Авторы одобрили версию для публикации, а также согласились нести ответственность за все аспекты работы, гарантируя надлежащее рассмотрение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой ее части.

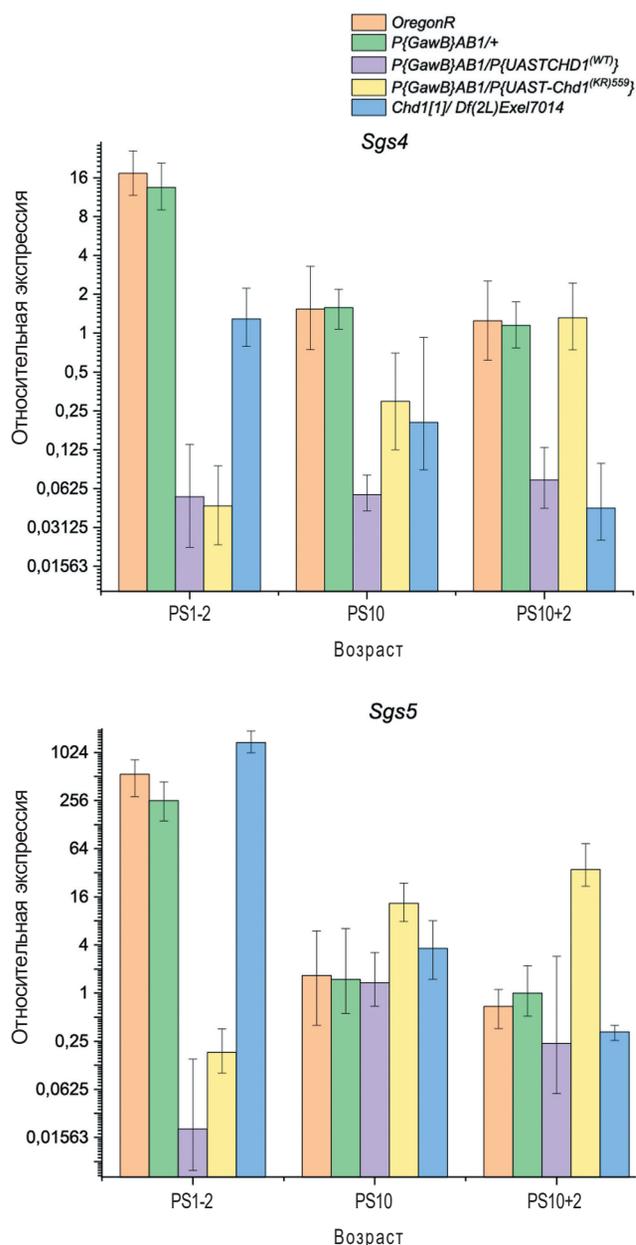


Рис. 2. Изменение экспрессии генов секрета слюнных желез дрозофилы *Sgs4* и *Sgs5* с возрастом. Показаны значения относительной экспрессии и 95% доверительный интервал.

Благодарности. Благодарим Юлию Александровну Ильину за обучение методам, которые мы использовали в работе, и за ее значительный вклад в достижение результатов данного исследования.

Этическая экспертиза. Исследования проведены с использованием плодовой мушки *Drosophila melanogaster*. Заключение этического комитета не требуется.

Источники финансирования. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 1023031500033-1-1.6.7;1.6.4;1.6.8 «Функциональная и структурная организация сложных, мультикомпонентных биологических систем и их динамика», регистрационный номер № 121060200127-6).

Раскрытие интересов. Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов за последние три года, связанных с третьими

лицами (коммерческими и некоммерческими), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи.

Оригинальность. При создании настоящей работы авторы не использовали ранее опубликованные сведения (текст, иллюстрации, данные).

Доступ к данным. Все данные, полученные в настоящем исследовании, доступны в статье.

Генеративный искусственный интеллект. При создании настоящей статьи технологии генеративного искусственного интеллекта не использовались.

Рассмотрение и рецензирование. Настоящая работа подана в журнал в инициативном порядке и рассмотрена по обычной процедуре. В рецензировании участвовали два внешних рецензента и член редакционной коллегии.

ADDITIONAL INFO

Author contribution: A.V. Toroshchina: sample collection and preparation, real-time PCR, data analysis, writing the text; A.Yu. Konev: research concept and design, data analysis, writing the text, literature review, final editing of the text. All authors have approved the publication version and also agreed to be responsible for all aspects of the each part of the work and ensured reliable consideration of the issues related to the accuracy and integrity.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

- Clapier CR, Cairns BR. The biology of chromatin remodeling complexes. *Annu Rev Biochem.* 2009;78:273–304. doi: 10.1146/annurev.biochem.77.062706.153223
- Delmas V, Stokes DG, Perry RP. A mammalian DNA-binding protein that contains a chromodomain and an SNF2/SWI2-like helicase domain. *PNAS USA.* 1993;90(6):2414–2418. doi: 10.1073/pnas.90.6.2414
- Kelley DE, Stokes DG, Perry RP. Original articles CHD1 interacts with SSRP1 and depends on both its chromodomain and its ATPase/helicase-like domain for proper association with chromatin. *Chromosoma.* 1999;108:10–25. doi: 10.1007/s004120050347
- Trujillo JT, Long J, Aboelnour E, et al. CHD chromatin remodeling protein diversification yields novel clades and domains absent in classic model organisms. *Genome Biol Evol.* 2022;14(5):evac066. doi: 10.1093/gbe/evac066
- Lusser A, Urwin DL, Kadonaga JT. Distinct activities of CHD1 and ACF in ATP-dependent chromatin assembly. *Nat Struct Mol Biol.* 2005;12(2):160–166. doi: 10.1038/nsmb884
- Konev AY, Tribus M, Sung YP, et al. CHD1 motor protein is required for deposition of histone variant H3.3 into chromatin *in vivo*. *Science.* 2007;317(5841):1087–1090. doi: 10.1126/science.1145339
- Il'ina IuA, Konev AY. The role of aTp-dependent chromatin remodeling factors in chromatin assembly *in vivo*. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding.* 2019;23(2):160–167. doi: 10.18699/VJ19.476 EDN: ODEJLD
- Schoberleitner I, Bauer I, Huang A, et al. CHD1 controls H3.3 incorporation in adult brain chromatin to maintain metabolic homeostasis and normal lifespan. *Cell Rep.* 2021;37(1):109769. doi: 10.1016/j.celrep.2021.109769
- Fyodorov DV, Blower MD, Karpen GH, et al. Acf1 confers unique activities to ACF/CHRAC and promotes the formation rather than disruption of chromatin *in vivo*. *Genes Dev.* 2004;18:170–183. doi: 10.1101/gad.1139604
- Flury V, Reverón-Gómez N, Alcaraz N, et al. Recycling of modified H2A-H2B provides short-term memory of chromatin states. *Cell.* 2023 Mar;186(5):1050–1065. doi: 10.1016/j.cell.2023.01.007
- Stokes DG, Tartof KD, Perry RP. CHD1 is concentrated in interbands and puffed regions of *Drosophila* polytene chromosomes. *PNAS USA.* 1996;93(14):7137–7142. doi: 10.1073/pnas.93.14.7137
- Krogan NJ, Kim M, Ahn SH, et al. RNA polymerase II elongation factors of *saccharomyces cerevisiae*: a targeted proteomics approach. *Mol Cell Biol.* 2002;22(20):6979–6992. doi: 10.1128/MCB.22.20.6979–6992.2002
- Simic R, Lindstrom DL, Tran HG. Chromatin remodeling protein Chd1 interacts with transcription elongation factors and localizes to transcribed genes. *EMBO J.* 2003;22(8):1846–1856. doi: 10.1093/emboj/cdg179
- Tai HH, Geisterfer M, Bell JC, et al. CHD1 associates with NCoR and histone deacetylase as well as with RNA splicing proteins. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003;308(1):170–176. doi: 10.1016/S0006-291X(03)01354-8
- Sims RJ III, Millhouse S, Chen C-F, et al. Recognition of Trimethylated Histone H3 lysine 4 facilitates the recruitment of transcription position initiation factors and Pre-mRNA splicing. *Mol Cell.* 2007;28(4):665–676. doi: 10.1016/j.molcel.2007.11.010
- Lin JJ, Lehmann LW, Bonora G, et al. Mediator coordinates PIC assembly with recruitment of CHD1. *Genes Dev.* 2011;25(20):2198–2209. doi: 10.1101/gad.17554711
- Khorosjutina O, Wanrooij PH, Walfridsson J, et al. A chromatin-remodeling protein is a component of fission yeast mediator. *J Biol Chem.* 2010;285(39):29729–29737. doi: 10.1074/jbc.M110.153858
- Pointner J, Persson J, Prasad P, et al. CHD1 remodelers regulate nucleosome spacing *in vitro* and align nucleosomal arrays over gene coding regions in *S. pombe*. *EMBO J.* 2012;31(23):4388–4403. doi: 10.1038/emboj.2012.289
- Petes SJ, Lis JT. Rapid, transcription-independent loss of nucleosomes over a large chromatin domain at *Hsp70* loci. *Cell.* 2008;134(1):74–84. doi: 10.1016/j.cell.2008.05.029
- Ehrensberger AH, Kornberg RD. Isolation of an activator-dependent, promoter-specific chromatin remodeling factor. *PNAS USA.* 2011;108(25):10115–10120. doi: 10.1073/pnas.1101449108

21. Radman-Livaja M, Quan TK, Valenzuela L, et al. A key role for Chd1 in histone H3 dynamics at the 3' ends of long genes in yeast. *PLoS Genet.* 2012;8(7):e1002811. doi: 10.1371/journal.pgen.1002811
22. Skene PJ, Hernandez AE, Groudine M, Henikoff S. The nucleosomal barrier to promoter escape by RNA polymerase II is overcome by the chromatin remodeler Chd1. *Elife.* 2014;3(3):2042. doi: 10.7554/eLife.02042
23. Sebald J, Moretini S, Podhraski V, et al. CHD1 Contributes to Intestinal Resistance against Infection by *P. aeruginosa* in *Drosophila melanogaster*. *PLoS One.* 2012;7(8):e43144. doi: 10.1371/journal.pone.0043144
24. Mazina MYu, Kovalenko EV, Derevyanko PK, et al. One signal stimulates different transcriptional activation mechanisms. *Biochim Biophys Acta — Gene Regul Mech.* 2018;1861(2):178–189. doi: 10.1016/j.bbaggm.2018.01.016
25. Grasso CS, Wu Y-M, Robinson DR, et al. The mutational landscape of lethal castration-resistant prostate cancer. *Nature.* 2012;487(7406):239–243. doi: 10.1038/nature11125
26. Huang S, Gulzar ZG, Salari K, et al. Recurrent deletion of CHD1 in prostate cancer with relevance to cell invasiveness. *Oncogene.* 2012;31(37):4164–4170. doi: 10.1038/ncr.2011.590
27. Liu W, Lindberg J, Sui G, et al. Identification of novel CHD1-associated collaborative alterations of genomic structure and functional assessment of CHD1 in prostate cancer. *Oncogene.* 2012;31(35):3939–3948. doi: 10.1038/ncr.2011.554
28. Burkhardt L, Fuchs S, Krohn A, et al. CHD1 Is a 5q21 tumor suppressor required for ERG rearrangement in prostate cancer. *Cancer Res.* 2013;73(9):2795–2805. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-1342
29. Zhao D, Lu X, Wang G, et al. Synthetic essentiality of chromatin remodeling factor CHD1 in PTEN deficient cancer. *Nature.* 2017;542(7642):484–488. doi: 10.1038/nature21357
30. Zaks L. *Statistical evaluation.* Moscow: Statistics; 1976. 598 p. (In Russ.)
31. Maroni C, Stamey SC. Use of blue food to select synchronous, late third instar larvae. *Dros Inf Serv.* 1983;59:142–143.
32. Pfaffl MW, Horgan GW, Dempfle L. Relative expression software tool (REST©) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. *Nucleic Acids Res.* 2002;30(9):e36. doi: 10.1093/nar/30.9.e36
33. Graveley BR, Brooks AN, Carlson JW, et al. The developmental transcriptome of *Drosophila melanogaster*. *Nature.* 2011;471(7339):473–479. doi: 10.1038/nature09715
34. Neuman SD, Ihry RJ, Gruetzmacher KM, Bashirullah A. INO80-dependent regression of ecdysone-induced transcriptional responses regulates developmental timing in *Drosophila*. *Dev Biol.* 2014;387(2):229–239. doi: 10.1016/j.ydbio.2014.01.006
35. Zhao JC, Fong K-W, Jin H-J, et al. FOXA1 acts upstream of GATA2 and AR in hormonal regulation of gene expression. *Oncogene.* 2016;35(33):4335–4344. doi: 10.1038/ncr.2015.496
36. Lehmann M, Wattler F, Korge G. Two new regulatory elements controlling the *Drosophila Sgs-3* gene are potential ecdysone receptor and fork head binding sites. *Mech Dev.* 1997;62(1):15–27. doi: 10.1016/S0925-4773(96)00644-2
37. Mach V, Ohno K, Kokubo H, Suzuki Y. The *Drosophila* fork head factor directly controls larval salivary gland-specific expression of the glue protein gene *Sgs3*. *Nucleic Acids Res.* 1996;24(12):2387–2394. doi: 10.1093/nar/24.12.2387

ОБ АВТОРАХ

*Торошина Анастасия Владимировна; адрес: Россия, 188300, Ленинградская обл., Гатчина, мкр. Орлова роща, д. 1; ORCID: 0009-0002-5574-1108; e-mail: toroshchina_av@pnpi.nrcki.ru

Конев Александр Юрьевич, канд. биол. наук; ORCID: 0000-0003-0195-4044; e-mail: konev_ay@pnpi.nrcki.ru

AUTHORS' INFO

*Anastasia V. Toroshchina; address: 1 Orlova roshcha, Gatchina, Leningrad region, 188300, Russia; ORCID: 0009-0002-5574-1108; e-mail: toroshchina_av@pnpi.nrcki.ru

Aleksandr Yu. Konev, Cand. Sci. (Biology); ORCID: 0000-0003-0195-4044; e-mail: konev_ay@pnpi.nrcki.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author