

РЕПРЕССИЯ ТРАНСКРИПЦИИ ПРИ ТЕПЛОВОМ СТРЕССЕ

Мини-обзор

© 2015 О.Л. Кангидзе¹, А.К. Величко¹, С.В. Разин^{1,2*}

¹ Институт биологии гена РАН, 119334 Москва;
факс: +7(499)135-4105, электронная почта: sergey.v.razin@usa.net

² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
биологический факультет, 119991 Москва;
факс: +7(495)939-4309

Поступила в редакцию 25.02.15
После доработки 09.04.15

Тепловой стресс является одной из излюбленных моделей для изучения регуляции экспрессии генов. На протяжении десятилетий внимание исследователей было сконцентрировано на изучении механизмов активации транскрипции стресс-индуцируемых генов. Несмотря на то, что давно известно о феномене глобального снижения транскрипционной активности при тепловом стрессе, механизмы такой репрессии малоизучены. В данном мини-обзоре мы обобщили имеющиеся экспериментальные данные об индуцируемой тепловым стрессом репрессии транскрипции у млекопитающих.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: транскрипция, экспрессия генов, тепловой шок, РНК-полимераза II, РНК-полимераза III SINE, CGGBP1.

Тепловой шок (стресс) является одной из классических биологических моделей для изучения реакции клеток и живых организмов на стресс. В клеточном ответе на тепловой стресс задействованы практически все клеточные компартменты. Достаточно хорошо исследовано влияние теплового стресса на важнейшие клеточные процессы, такие как репликация и репарация ДНК, транскрипция, сплайсинг, трансляция [1, 2]. Однако стоит отметить, что на протяжении всей истории изучения теплового стресса исследователей особо интересовал вопрос о его влиянии на процесс транскрипции. История исследований клеточного ответа на тепловой стресс началась с открытия в 1962 г. индуцированной тепловым стрессом транскрипционной активации у *Drosophila* [3, 4]. Это открытие послужило толчком к обнаружению большого и важного семейства факторов, экспрессия которых индуцируется тепловым стрессом, — белков теплового шока (HSPs, heat shock proteins [5, 6]). Все последующие десятилетия основное внимание исследователей было сконцентрировано на

изучении механизмов регуляции экспрессии HSPs и их функционального значения [7–10]. Однако пока еще нет четкого представления о том, как на глобальном уровне изменяется транскрипционный статус клетки в ответ на тепловой стресс, и что происходит с транскрипционным аппаратом. Распространённым является мнение, что одновременно с активацией экспрессии небольшого числа необходимых для клеточного ответа на стресс генов общий уровень транскрипционной активности падает. Механизмы активации экспрессии стресс-индуцируемых генов достаточно хорошо изучены [1, 11]. Одним из наиболее хорошо исследованных является механизм активации экспрессии генов HSPs, связанный с работой транскрипционных факторов теплового шока (HSFs), способных связываться с регуляторными элементами в промоторных областях стресс-индуцируемых генов, стимулируя их транскрипцию [12, 13]. При нормальных условиях большинство HSFs находятся в комплексе с HSP70 или HSP90, которые взаимодействуют с активационным доменом HSF1. При тепловом стрессе HSP70 и HSP90 переключаются на взаимодействие с денатурированными белками, освобождая HSF и стимулируя собственную экспрессию. Экспрессия повышается до тех пор, пока количество HSP70 и HSP90

Принятые сокращения: HSPs — белки теплового шока; HSFs — факторы теплового шока; SINE — малые диспергированные повторы.

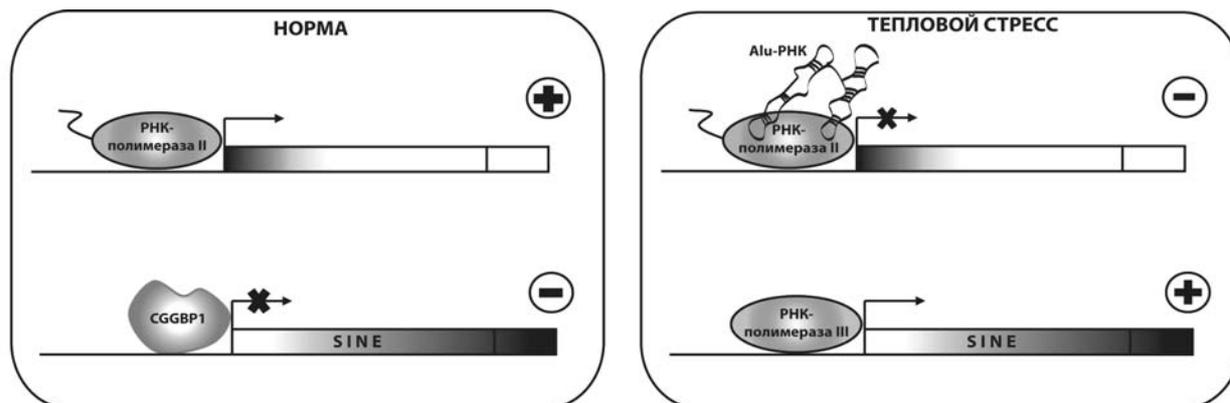
* Адресат для корреспонденции.

вновь не станет достаточным для блокирования активационного домена HSFs [7]. Этот механизм активации генов при тепловом стрессе не является единственным [14]. В этой связи стоит отметить, что при тепловом стрессе повышается экспрессия не только HSPs, но и целого ряда других белков (регуляторы шаперонов, белки систем пострепликационной модификации, протеасомной деградации, сигнальной трансдукции, мембранного транспорта и общего метаболизма) [15] и микроРНК [16]. Данные нескольких исследований по идентификации дифференциально-экспрессирующихся при тепловом стрессе генов свидетельствуют о том, что спектр активируемых генов может меняться в зависимости от клеточной линии и использованной для индукции температуры, но общее число активируемых генов обычно не превышает нескольких сотен [15, 17–20]. Стоит, однако, иметь в виду, что количество активируемых генов может увеличиваться многократно в течение нескольких часов после теплового стресса [20], а также то, что в некоторых клеточных моделях происходит активация большего, чем обычно, количества генов (более 1000 генов активируется при тепловом стрессе клеток линии HUVEC [18]).

Если активации экспрессии стресс-индуцируемых генов не вызывает особых вопросов, то утверждение о глобальной репрессии транскрипции, происходящей при тепловом стрессе, не столь однозначно. Попытка разобраться, на чем основано такое мнение, приведет вас к нескольким достаточно старым экспериментальным работам [21–24]. Более того, почти все исследования, свидетельствующие о глобальном падении уровня транскрипции в клетке при тепловом шоке, проведены с использованием клеток *Drosophila* [21–23]. Это важно учитывать, поскольку предполагаемые механизмы транскрипционной репрессии в клетках плодовой мухи и млекопитающих могут отличаться [25–27]. Гораздо меньше экспериментальных данных, демонстрирующих глобальное падение транскрипционной активности в клетках млекопитающих [24, 28]. Показано, что тепловой стресс ингибирует синтез «высокомолекулярной РНК» (рРНК и предшественники мРНК), но не влияет на продукцию «низкомолекулярной РНК» (транскрипты РНК-полимеразы III) [24]. В той же работе было продемонстрировано, что *in vitro* все РНК-полимеразы в разной степени, но сохраняли после теплового стресса свою активность [24]. Упомянутый выше анализ экспрессии генов, проведенный с помощью технологии ДНК-чипов, показал, что при тепловом стрессе клеток млекопитающих подавляется (более чем в

два раза) экспрессия всего нескольких сотен генов [15, 17–20]. Количество и спектр генов, экспрессия которых подавляется при тепловом стрессе, также зависят от типа клеток и температуры. Согласно нескольким исследованиям списки генов, экспрессия которых падает при тепловом стрессе, достоверно обогащены факторами, связанными с регуляцией экспрессии, клеточным циклом, клеточной смертью [17, 20]. Противоречит ли такое небольшое количество генов, экспрессия которых подавляется при тепловом стрессе, факту глобальной транскрипционной репрессии? С одной стороны, нет, поскольку упомянутые полногеномные исследования ничего не говорят о собственно процессе транскрипции, а только о количестве мРНК, что также отражает и такие переменные, как, например, стабильность специфических мРНК. Однако, с другой стороны, сам факт обогащения списков подавляемых генов онтологическими группами может свидетельствовать о том, что транскрипционная репрессия при тепловом стрессе носит не глобальный, а скорее точечный регулируемый характер.

В настоящее время наиболее изучен механизм репрессии при тепловом стрессе транскрипции, осуществляемой РНК-полимеразой II. Этот механизм связан с функционированием двух некодирующих РНК, представляющих собой транскрипты коротких диспергированных повторов (SINE, short interspersed elements [29]) мыши и человека. Давно было замечено, что зависимость от РНК-полимеразы III экспрессия коротких некодирующих РНК не только не падает при тепловом стрессе [24], но в некоторых случаях быстро и значительно возрастает. В частности, в ответ на тепловой стресс увеличивается транскрипция B1 и B2 SINE мыши и Alu-повторов человека [30–32]. Важно отметить, что активация при тепловом стрессе экспрессии B1 и B2 SINE носит специфический характер, так как продукция других зависимых от РНК-полимеразы III РНК не увеличивается [32]. В лаборатории Гудрич и Кугель было определено функциональное значение такого повышения экспрессии SINE, и кроме того, был открыт и исследован механизм SINE-зависимой транскрипционной репрессии (рисунок) [33, 34]. В частности, показано, что B2 и Alu РНК напрямую связываются с РНК-полимеразой II, образуя кинетически стабильные комплексы, и, тем самым, подавляют транскрипцию некоторых белок-кодирующих генов [35–37]. В подвергнутых тепловому стрессу клетках млекопитающих эти РНК обнаруживаются в комплексе с РНК-полимеразой на промоторах репрессированных генов [37]. Подробное исследование механизма SINE-зависимой репрессии



Схематическое изображение возможного механизма индуцируемой тепловым стрессом репрессии транскрипции (подробности см. в тексте)

транскрипции показало, что SINE РНК не препятствуют взаимодействию РНК-полимеразы с ТВР и основными транскрипционными факторами (т.е. привлечению РНК-полимеразы к промоторам), но мешают связыванию РНК-полимеразы с ДНК и предотвращают образование закрытого комплекса [38, 39]. Существенно, что репрессирующие малые РНК должны связаться с РНК-полимеразой до формирования закрытого комплекса на промоторе [38]. По этой причине данный механизм не может препятствовать осуществлению транскрипции теми молекулами РНК-полимеразы II, которые уже находятся в составе «замороженных» комплексов, например, молекулами РНК-полимеразы II, сидящими на промоторах генов белков теплового шока [40, 41]. Интересно, что В2 РНК, находящаяся в комплексе с РНК-полимеразой II, также подавляет ТФИИВ-зависимое фосфорилирование STD-домена полимеразы [42]. Исследования, проведенные в лаборатории П. Кука с использованием РНК-полимеразы II, меченной зеленым флуоресцентным белком, показали, что в результате теплового стресса практически вся РНК-полимераза диссоциирует от ДНК [28]. Этот факт, с одной стороны, полностью подтверждает SINE-зависимый механизм транскрипционной репрессии при тепловом стрессе, а с другой, свидетельствует о наличии других механизмов, которые могли бы, например, объяснить диссоциацию элонгирующих полимераз с ДНК. Поскольку исследования SINE-зависимой репрессии транскрипции проводили на нескольких модельных генах, а не с использованием полногеномных подходов, невыясненным остался вопрос об универсальности этого механизма в случае теплового стресса. Не ясно и то, каким образом обеспечивается многократное увеличение уровня экспрессии стресс-индуцируемых ге-

нов, которых может быть более 1000 (см. выше), а также как регулируется экспрессия самих SINE. Определенный прогресс был достигнут в последнем вопросе: в прошлом году было показано, что белок CGGBP1 (CGG triplet repeat binding protein 1 [43, 44]) регулирует осуществляемую РНК-полимеразой III транскрипцию SINE (рисунок) [45, 46]. В частности, было показано, что CGGBP1 может связываться с АТЕ-элементами (Alu transcription enhancer sequence) Alu-повторов и блокировать их транскрипцию [45]. Активность белка CGGBP1 может регулироваться посттрансляционно [45] и путем изменения его внутриядерной локализации – при тепловом стрессе CGGBP1 перераспределяется из нуклеоплазмы в гетерохроматинизированные районы [47].

Несмотря на долгую историю исследований, вопрос об индуцируемой тепловым стрессом транскрипционной репрессии все еще далек от полного понимания. В первую очередь, нет современных достоверных данных о том, является ли индуцируемая тепловым стрессом транскрипционная репрессия универсальным процессом, характерным для клеток млекопитающих. Вышеописанный SINE-зависимый механизм транскрипционной репрессии при тепловом стрессе хорошо изучен. Однако остается несколько неясных внутренне противоречивых утверждений: не понятно, не только экспрессия какого количества генов подавляется таким образом при тепловом стрессе, но и как преодолевается такого рода транскрипционный блок на промоторах стресс-индуцируемых генов и на репрессированных генах после удаления индуцирующего стимула. Возможно, данный механизм является не единственным реализуемым в ответ на тепловой стресс.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант 14-24-00022).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Velichko, A.K., Markova, E.N., Petrova, N.V., Razin, S.V., and Kantidze, O.L. (2013) Mechanisms of heat shock response in mammals, *Cell. Mol. Life Sci.*, **70**, 4229–4241.
2. Velichko, A.K., Petrova, N.V., Kantidze, O.L., and Razin, S.V. (2012) Dual effect of heat shock on DNA replication and genome integrity, *Mol. Biol. Cell*, **23**, 3450–3460.
3. Ritossa, F.M. (1962) A new puffing pattern induced by temperature shock and DNP in *Drosophila*, *Experientia*, **18**, 571–573.
4. Ritossa, F.M. (1964) Experimental Activation of Specific Loci in Polytene Chromosomes of *Drosophila*, *Exp. Cell Res.*, **35**, 601–607.
5. Ashburner, M., and Bonner, J.J. (1979) The induction of gene activity in *Drosophila* by heat shock, *Cell*, **17**, 241–254.
6. Peterson, N.S., Moller, G., and Mitchell, H.K. (1979) Genetic mapping of the coding regions for three heat-shock proteins in *Drosophila melanogaster*, *Genetics*, **92**, 891–902.
7. Richter, K., Haslbeck, M., and Buchner, J. (2010) The heat shock response: life on the verge of death, *Mol. Cell*, **40**, 253–266.
8. Ischia, J., and So, A.I. (2013) The role of heat shock proteins in bladder cancer, *Nature Rev. Urol.*, **10**, 386–395.
9. Wick, G., Jakic, B., Buszko, M., Wick, M.C., and Grundtman, C. (2014) The role of heat shock proteins in atherosclerosis, *Nature Rev. Cardiol.*, **11**, 516–529.
10. Zhang, L., Fok, J.H., and Davies, F.E. (2014) Heat shock proteins in multiple myeloma, *Oncotarget*, **5**, 1132–1148.
11. Shamovsky, I., and Nudler, E. (2008) New insights into the mechanism of heat shock response activation, *Cell. Mol. Life Sci.*, **65**, 855–861.
12. Akerfelt, M., Morimoto, R.I., and Sistonen, L. (2010) Heat shock factors: integrators of cell stress, development and lifespan, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **11**, 545–555.
13. Vihervaara, A., and Sistonen, L. (2014) HSF1 at a glance, *J. Cell Sci.*, **127**, 261–266.
14. Place, R.F., and Noonan, E.J. (2014) Non-coding RNAs turn up the heat: an emerging layer of novel regulators in the mammalian heat shock response, *Cell Stress Chaperones*, **19**, 159–172.
15. Murray, J.I., Whitfield, M.L., Trinklein, N.D., Myers, R.M., Brown, P.O., and Botstein, D. (2004) Diverse and specific gene expression responses to stresses in cultured human cells, *Mol. Biol. Cell*, **15**, 2361–2374.
16. Wilmlink, G.J., Roth, C.L., Ibey, B.L., Ketchum, N., Bernhard, J., Cerna, C.Z., and Roach, W.P. (2010) Identification of microRNAs associated with hyperthermia-induced cellular stress response, *Cell Stress Chaperones*, **15**, 1027–1038.
17. Tabuchi, Y., Takasaki, I., Wada, S., Zhao, Q.L., Hori, T., Nomura, T., Ohtsuka, K., and Kondo, T. (2008) Genes and genetic networks responsive to mild hyperthermia in human lymphoma U937 cells, *Int. J. Hyperthermia*, **24**, 613–622.
18. Zhou, M., Zhang, A., Lin, B., Liu, J., and Xu, L.X. (2007) Study of heat shock response of human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) using cDNA microarray, *Int. J. Hyperthermia*, **23**, 225–258.
19. Sonna, L.A., Gaffin, S.L., Pratt, R.E., Cullivan, M.L., Angel, K.C., and Lilly, C.M. (2002) Effect of acute heat shock on gene expression by human peripheral blood mononuclear cells, *J. Appl. Physiol.* (1985) **92**, 2208–2220.
20. Furusawa, Y., Tabuchi, Y., Wada, S., Takasaki, I., Ohtsuka, K., and Kondo, T. (2011) Identification of biological functions and gene networks regulated by heat stress in U937 human lymphoma cells, *Int. J. Mol. Med.*, **28**, 143–151.
21. O'Brien, T., and Lis, J.T. (1993) Rapid changes in *Drosophila* transcription after an instantaneous heat shock, *Mol. Cell. Biol.*, **13**, 3456–3463.
22. Gilmour, D.S., and Lis, J.T. (1985) *In vivo* interactions of RNA polymerase II with genes of *Drosophila melanogaster*, *Mol. Cell. Biol.*, **5**, 2009–2018.
23. Findly, R.C., and Pederson, T. (1981) Regulated transcription of the genes for actin and heat-shock proteins in cultured *Drosophila* cells, *J. Cell Biol.*, **88**, 323–328.
24. Caizergues-Ferrer, M., Bouche, G., Banville, D., and Amalric, F. (1980) Effect of heat shock on RNA polymerase activities in Chinese hamster ovary cells, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **97**, 538–545.
25. Teves, S.S., and Henikoff, S. (2011) Heat shock reduces stalled RNA polymerase II and nucleosome turnover genome-wide, *Genes Dev.*, **25**, 2387–2397.
26. Teves, S.S., and Henikoff, S. (2013) The heat shock response: A case study of chromatin dynamics in gene regulation, *Biochem. Cell Biol.*, **91**, 42–48.
27. Li, L., Lyu, X., Hou, C., Takenaka, N., Nguyen, H.Q., Ong, C.T., Cubenas-Potts, C., Hu, M., Lei, E.P., Bosco, G., Qin, Z.S., and Corces, V.G. (2015) Widespread Rearrangement of 3D Chromatin Organization Underlies Polycomb-Mediated Stress-Induced Silencing, *Mol. Cell*, **58**, 216–231.
28. Hieda, M., Winstanley, H., Maini, P., Iborra, F.J., and Cook, P.R. (2005) Different populations of RNA polymerase II in living mammalian cells, *Chromosome Res.*, **13**, 135–144.
29. Kramerov, D.A., and Vassetzky, N.S. (2011) SINES, *Wiley Interdiscip. Rev. RNA*, **2**, 772–786.
30. Li, T., Spearow, J., Rubin, C.M., and Schmid, C.W. (1999) Physiological stresses increase mouse short interspersed element (SINE) RNA expression *in vivo*, *Gene*, **239**, 367–372.
31. Fornace, A.J., Jr., and Mitchell, J.B. (1986) Induction of B2 RNA polymerase III transcription by heat shock: enrichment for heat shock induced sequences in rodent cells by hybridization subtraction, *Nucleic Acids Res.*, **14**, 5793–5811.
32. Liu, W.M., Chu, W.M., Choudary, P.V., and Schmid, C.W. (1995) Cell stress and translational inhibitors transiently increase the abundance of mammalian SINE transcripts, *Nucleic Acids Res.*, **23**, 1758–1765.
33. Kugel, J.F., and Goodrich, J.A. (2012) Non-coding RNAs: key regulators of mammalian transcription, *Trends Biochem. Sci.*, **37**, 144–151.
34. Ponicsan, S.L., Kugel, J.F., and Goodrich, J.A. (2010) Genomic gems: SINE RNAs regulate mRNA production, *Curr. Opin. Genet. Dev.*, **20**, 149–155.
35. Allen, T.A., Von Kaenel, S., Goodrich, J.A., and Kugel, J.F. (2004) The SINE-encoded mouse B2 RNA represses mRNA transcription in response to heat shock, *Nature Struct. Mol. Biol.*, **11**, 816–821.
36. Espinoza, C.A., Goodrich, J.A., and Kugel, J.F. (2007) Characterization of the structure, function, and mechanism of B2 RNA, an ncRNA repressor of RNA polymerase II transcription, *RNA*, **13**, 583–596.
37. Mariner, P.D., Walters, R.D., Espinoza, C.A., Drullinger, L.F., Wagner, S.D., Kugel, J.F., and Goodrich, J.A. (2008) Human Alu RNA is a modular transacting repressor of mRNA transcription during heat shock, *Mol. Cell*, **29**, 499–509.
38. Yakovchuk, P., Goodrich, J.A., and Kugel, J.F. (2009) B2 RNA and Alu RNA repress transcription by disrupting contacts between RNA polymerase II and promoter DNA within assembled complexes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 5569–5574.

39. Kassube, S.A., Fang, J., Grob, P., Yakovchuk, P., Goodrich, J.A., and Nogales, E. (2013) Structural insights into transcriptional repression by noncoding RNAs that bind to human Pol II, *J. Mol. Biol.*, **425**, 3639–3648.
40. Rougvié, A.E., and Lis, J.T. (1988) The RNA polymerase II molecule at the 5' end of the uninduced hsp70 gene of *D. melanogaster* is transcriptionally engaged, *Cell*, **54**, 795–804.
41. Gilmour, D.S., and Lis, J.T. (1986) RNA polymerase II interacts with the promoter region of the noninduced hsp70 gene in *Drosophila melanogaster* cells, *Mol. Cell Biol.*, **6**, 3984–3989.
42. Yakovchuk, P., Goodrich, J.A., and Kugel, J.F. (2011) B2 RNA represses TFIIH phosphorylation of RNA polymerase II, *Transcription*, **2**, 45–49.
43. Naumann, F., Remus, R., Schmitz, B., and Doerfler, W. (2004) Gene structure and expression of the 5'-(CGG)(n)-3'-binding protein (CGGBP1), *Genomics*, **83**, 106–118.
44. Deissler, H., Wilm, M., Genc, B., Schmitz, B., Ternes, T., Naumann, F., Mann, M., and Doerfler, W. (1997) Rapid protein sequencing by tandem mass spectrometry and cDNA cloning of p20-CGGBP. A novel protein that binds to the unstable triplet repeat 5'-d(CGG)n-3' in the human FMR1 gene, *J. Biol. Chem.*, **272**, 16761–16768.
45. Agarwal, P., Enroth, S., Teichmann, M., Wiklund, H.J., Smit, A., Westermark, B., and Singh, U. (2014) Growth signals employ CGGBP1 to suppress transcription of Alu-SINEs, *Cell Cycle*, DOI: 10.4161/15384101.2014.967094.
46. Ichihyanagi, K. (2014) Regulating Pol III transcription to change Pol II transcriptome, *Cell Cycle*, **13**, 3625–3626.
47. Singh, U., Bongcam-Rudloff, E., and Westermark, B. (2009) A DNA sequence directed mutual transcription regulation of HSF1 and NFIX involves novel heat sensitive protein interactions, *PLoS One*, **4**, e5050.

TRANSCRIPTIONAL REPRESSION INDUCED BY HEAT STRESS

O. L. Kantidze^{1*}, A. K. Velichko¹, S. V. Razin^{1,2}

¹ Institute of Gene Biology, Russian Academy of Sciences,
ul. Vavilova 34/5, Moscow 119334, Russia; fax: +7(499)135-4105,
E-mail: sergey.v.razin@usa.net

² M. V. Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology,
Moscow 119991, Russia; fax: +7(495)939-4309

Received February 25, 2015

Revision received April 9, 2015

Heat stress is one of the most popular models for studying the regulation of gene expression. For decades, attention has focused on the study of mechanisms of transcriptional activation of stress-induced genes. Although the phenomenon of heat stress-induced global transcriptional repression has been known for a long time, the exact molecular mechanisms of such repression are poorly explored. In this mini-review, we summarize existing experimental data on heat stress-induced transcriptional repression in mammals.

Key words: transcription, gene expression, heat shock, RNA polymerase II, RNA polymerase III, SINE, CGGBP1