

УДК 577.218

## ТРАНСКРИПЦИОННЫЙ ФАКТОР RUNX1

© 2012 г. Е. Н. Маркова\*, Н. В. Петрова, С. В. Разин, О. Л. Кантидзе

Институт биологии гена Российской академии наук, Москва, 119334

Поступила в редакцию 14.02.2012 г.

Принята к печати 04.04.2012 г.

Транскрипционный фактор RUNX1 — один из ключевых регуляторных белков позвоночных животных. Он отвечает за процессы гемопоэза и ангиогенеза и необходим как на эмбриональной стадии развития, во время формирования сайтов дефинитивного гемопоэза, так и во взрослом организме, в костном мозге, где он регулирует процесс дифференцировки клеток крови. Ген *RUNX1* часто служит мишенью хромосомных перестроек при острых лейкозах. Кроме того, многие виды лейкозов так или иначе связаны с мутациями в этом гене. Однако до сих пор не известны точные механизмы регуляции экспрессии гена *RUNX1*. В этом обзоре мы попытались проанализировать весь массив экспериментальных данных, накопленных за последние 20 лет, начиная с момента публикации нуклеотидной последовательности кДНК гена *RUNX1*. Речь пойдет как о самом транскрипционном факторе, его структуре и модификациях, изоформах, участии в различных регуляторных каскадах, так и о гене *RUNX1*, регуляции его экспрессии, мутациях и, подробно, об участии в хромосомных перестройках.

**Ключевые слова:** RUNX1, AML1, регуляция экспрессии, хромосомные транслокации, гемопоэз.

TRANSCRIPTION FACTOR RUNX1, by E. N. Markova\*, N. V. Petrova, S. V. Razin, O. L. Kantidze (Institute of Gene Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119334 Russia; \*e-mail: lidlein@mail.ru). Transcription factor RUNX1 is one of the key regulatory proteins in vertebrates. It controls hematopoiesis and angiogenesis. It is indispensable during embryogenesis for the emergence of sites of definitive hematopoiesis and later in mature organisms for bone marrow blood stem cells differentiation. Moreover, *RUNX1* gene is a frequent target for chromosomal translocations which cause acute forms of leukemia. A lot of types of human leukemia are somehow associated with mutations in this gene. Nevertheless, to this day the precise mechanism guiding the tissue-specific manner of the *RUNX1* gene expression remains unknown. In this review we tried to summarize all the experimental data accumulated during the past twenty years beginning from the date when the cDNA sequence of the *RUNX1* gene was first annotated. In the first part of the review we shall focus on structure, isoforms, covalent modifications of the RUNX1 transcription factor and its participation in different regulatory cascades. In the second part we shall discuss expression regulation, mutations and chromosomal translocations of the *RUNX1* gene.

**Keywords:** RUNX1, AML1, regulation of gene expression, chromosomal translocations, hematopoiesis.

## ВВЕДЕНИЕ

Впервые ген *RUNX1* человека был идентифицирован в 1991 г. как один из участников хромосомной перестройки t(8;21), ассоциированной с острым миелоидным лейкозом [1]. Позднее, через два года, установили, что *RUNX1* кодирует белок, который относится к семейству эволюционно консервативных транскрипционных факторов, содержащих ДНК-связывающий домен runt [2, 3]. С тех пор показали, что ген *RUNX1* вовлечен в разнообразные хромосомные перестройки, в результате которых могут развиваться острые фор-

мы лейкоза [4]. Физиологическую функцию фактора RUNX1 установили в 1996 году в экспериментах на трансгенных мышах. Оказалось, что при повреждении обоих аллелей этого гена эмбрионы мышей погибают на ранних этапах внутриутробного развития из-за нарушения процесса дефинитивного гемопоэза в печени [5–8]. Изучению структуры фактора RUNX1, его участию в регуляторных каскадах, а также поискам генов-мишеней посвящено много исследований [9–11]. В течение последних 10 лет был подробно изучен механизм образования хромосомных перестроек с участием гена *RUNX1*, и идентифицировано более 30 генов-партнеров, вовлеченных в эти транслокации [12–15]. В представленном обзоре проанализированы данные о структуре транскрипционного

Принятые сокращения: а.о. — аминокислотный остаток (при числе); НТО — нетранслируемая область; IRES — участок внутренней посадки рибосомы.

\* Эл. почта: lidlein@mail.ru

фактора RUNX1, регуляции его экспрессии, а также об участии этого фактора в процессах дифференцировки и злокачественной трансформации клеток.

### ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СЕМЕЙСТВА ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ RUNX

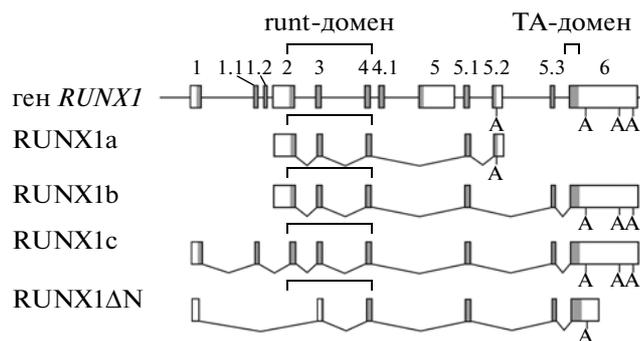
К семейству белков RUNX относятся транскрипционные факторы RUNX1, 2 и 3 (они же AML1, 3 и 2 соответственно) [16, 17]. Подобная “двойственность” в названиях неслучайна и связана, в первую очередь, с историей изучения данного семейства белков. Первым был идентифицирован ген, участвующий в хромосомных перестройках, ассоциированных с острым миелоидным лейкозом человека [1]. Отсюда происходит его первое название, AML1, акроним английского *Acute Myeloid Leukemia*. В ходе дальнейшей работы установили, что продукт этого гена – транскрипционный фактор, содержащий ДНК-связывающий домен runt [18], отсюда появилось второе название, RUNX1, акроним английского *Runt-related transcription factor 1*. Два других фактора идентифицировали позже, что позволило добавить соответствующие порядковые номера к их названиям [19, 20]. Поскольку сейчас белки этого семейства чаще называют RUNX [21], именно это название мы будем использовать в представленном обзоре.

Эволюционно консервативные факторы RUNX принимают участие в регуляции таких важнейших процессов в организме млекопитающих, как гемопоэз (RUNX1), остеогенез (RUNX2), нейrogenез, тимопоэз и регуляция пролиферации клеток эпителия желудка (RUNX3). Каждый из белков RUNX кодируется только одним геном, но в результате альтернативного сплайсинга образуются его различные изоформы. В N-концевой части всех этих белков находится консервативный домен размером 128 а.о., гомологичный транскрипционному фактору Runt *Drosophila melanogaster*. Этот домен называется runt-доменом [22]. Он взаимодействует с нуклеотидной последовательностью TG(T/C)GGT, известной как элемент, связывающий runt-домен (runt domain binding element). Runt-домен не только связывает ДНК, он взаимодействует и с фактором СBF $\beta$ , который не связывается непосредственно с ДНК, но стабилизирует взаимодействие runt-домена с ДНК. Фактор СBF $\beta$  человека гомологичен белкам Brother и Big Brother *Drosophila*. Таким образом, RUNX-белки в комплексе с фактором СBF $\beta$  регулируют транскрипцию тех генов, в регуляторной области которых содержится сайт связывания runt-домена [16]. Гены, кодирующие факторы, в состав которых входит runt-домен, идентифицированы в геномах многих организмов. Самый примитивный ортолог найден у нематоды. Это говорит о том, что транскрипционные факторы, содержащие

runt-домен, появились в эволюции довольно рано, возможно, еще у круглых червей [23]. Примитивные организмы обычно содержат только одну копию гена *RUNX*, тогда как у членистоногих и позвоночных число генов *RUNX* увеличивается за счет дупликаций, приводя к формированию целых семейств транскрипционных факторов, включающих различное число паралогов.

Экспрессия каждого из трех генов *RUNX* у позвоночных регулируется двумя промоторами: дистальным P1 и проксимальным P2. Эти промоторы содержат сайты связывания белков RUNX, что указывает на возможность ауторегуляции. Однако до сих пор не известно, действует ли каждый из факторов на свой промотор, поддерживая стабильный уровень экспрессии гена или подавляя активность промотора при высокой концентрации белка, или каждый из факторов связывается с промоторами генов других представителей семейства RUNX, подавляя их экспрессию [22]. Известно также, что у всех генов семейства *RUNX* промотор P2 и последний экзон находятся внутри двух консервативных CpG-островков. Возможно, что именно CpG-островки отвечают за тканеспецифичную регуляцию экспрессии генов семейства *RUNX* [24]. Транскрипты, синтезированные с промоторов P1 и P2, подвергаются альтернативному сплайсингу, что приводит к синтезу разнообразных изоформ белков RUNX в разных клетках на разных стадиях развития. Транскрипция всех трех генов регулируется с помощью ядерных рецепторов ретиноевой кислоты и витамина D<sub>3</sub>: повышение их концентрации активирует гены *RUNX1* и *RUNX3*, но подавляет ген *RUNX2* [25, 26]. Экспрессия гена *RUNX2* стимулируется модуляторами рецепторов эстрогена (например, тамоксифена) и глюкокортикоидным гормоном дексаметазоном [27, 28].

Экспрессия генов *RUNX1* и *RUNX2* регулируется не только на уровне транскрипции, но и на уровне трансляции. Так, мРНК, кодирующая белок RUNX2, синтезируется как в предшественниках остеобластов и в фибробластах, так и в самих остеобластах. Однако сам белок RUNX2 синтезируется только в зрелых остеобластах [29]. Механизм регуляции пока не известен. Показано также, что в 5'-НТО мРНК, синтезированных с промоторов P1 и P2 гена *RUNX2*, находятся сайты внутренней посадки рибосом (IRES), направляющие кеп-независимую трансляцию при созревании остеобластов [30]. С двух промоторов гена *RUNX1* синтезируются транскрипты, отличающиеся размером 5'-НТО. Продукты транскрипции с проксимального промотора содержат IRES и транслируются с помощью кеп-независимого механизма внутренней инициации в дифференцированных клетках. С дистального промотора транскрипты синтезируются в недифференцированных клетках крови, они не содержат IRES и



**Рис. 1.** Структура гена *RUNX1* человека и изоформы транскрипционного фактора RUNX1. Вверху представлено схематичное изображение гена *RUNX1* человека. Снизу показаны четыре варианта транскриптов этого гена, образующихся в результате альтернативного сплайсинга. Прямоугольниками отмечены экзоны, белым выделена не транскрибируемая область, скобкой обозначен runt-домен, буквой "А" — сайты полиаденилирования.

транслируются с использованием клеточных кеп-связывающих факторов [31].

Функциональная активность белков RUNX1 и RUNX2 регулируется на посттрансляционном уровне. Оба белка фосфорилируются MAP-киназой, что необходимо для последующей активации генов-мишеней. В случае RUNX2 — это остеобласт-специфичный ген *OCN*, а у RUNX1 (в Т-лимфоцитах) — ген гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) [32, 33].

Несмотря на сходство в структуре и общих принципах регуляции экспрессии генов семейства *RUNX*, функции и профиль экспрессии каждого отдельного представителя этого семейства различны. В настоящий момент большое внимание уделяется генам *RUNX*, так как с нарушением их работы связано множество патологий. В частности, хромосомные перестройки, затрагивающие ген *RUNX1*, обнаружены у 15% больных острым миелоидным и В-лимфобластным лейкозом. У 3% больных лейкозом находят мутации в этом гене, которые приводят к замене аминокислотных остатков или к сдвигу рамки считывания, а, следовательно, к изменению структуры белка, в том числе ДНК-связывающего и транскрипционного доменов. Поскольку в опубликованных недавно обзорных статьях были суммированы данные по экспрессии и участию транскрипционных факторов RUNX2 [34, 35] и RUNX3 [36–38] в нормальных и патологических клеточных процессах, ниже речь пойдет в основном о факторе RUNX1.

## ТРАНСКРИПЦИОННЫЙ ФАКТОР RUNX1

### Структура, изоформы

Ген *RUNX1* (*AML1*) содержит 12 экзонов. Во избежание путаницы стоит подчеркнуть, что номенклатурные названия экзонов не совпадают с порядком их расположения в гене *RUNX1*, как это видно на рис. 1. Это связано с тем, что не все экзоны были идентифицированы в одно и то же время. Так, сначала были описаны экзоны, обозначенные целыми числами — от 1 до 6. Впоследствии обнаружили экзоны, расположенные между уже известными экзонами, которые получили дробные номера: 1.1, 1.2 и так далее. Это объясняет, почему последний, 12-й, экзон этого гена имеет номенклатурный номер 6.

Теперь обратимся подробнее к структуре и изоформам фактора RUNX1. Экзоны 2, 3 и 4 гена *RUNX1* кодируют ДНК-связывающий домен (runt-домен), а последний, шестой, экзон кодирует транскрипционный домен (ТА-домен). В результате альтернативного сплайсинга образуются мРНК, кодирующие различные изоформы RUNX1. На сегодняшний день известно четыре варианта этого транскрипционного фактора: RUNX1a, RUNX1b, RUNX1c и RUNX1ΔN (рис. 1). RUNX1a и RUNX1b синтезируются, начиная с AUG-кодона внутри экзона 2. В случае RUNX1a транслируются экзоны 2, 3, 4, 5.1, и синтез останавливается внутри экзона 5.2, тогда как при синтезе RUNX1b транслируются экзоны 2, 3, 4, 5.1, 5.3, а терминация происходит внутри экзона 6. В силу этого RUNX1a содержит только ДНК-связывающий домен runt, а RUNX1b является полноразмерным транскрипционным фактором, содержащим как runt, так и С-концевой транскрипционный домены. мРНК изоформы RUNX1c транслируется подобно RUNX1b, однако она имеет более протяженную 5'-концевую область, так как содержит экзоны 1 и 1.1. Трансляция начинается внутри экзона 1 и приводит к образованию белка RUNX1c, который длиннее RUNX1b на 33 N-концевых аминокислотных остатка. Синтез изоформы RUNX1ΔN инициируется внутри экзона 3, далее транслируются экзоны 4, 5.1, 5.3, и синтез прекращается внутри экзона 6. В результате образуется укороченная с N-конца изоформа, содержащая лишь половину runt-домена.

Изоформы RUNX1 функционально отличаются друг от друга. Так, RUNX1b и RUNX1c стимулируют транскрипцию генов-мишеней за счет взаимодействия с сайтами связывания runt-домена и привлечения транскрипционных факторов, тогда как укороченные изоформы RUNX1a и RUNX1ΔN являются факторами негативной регуляции, конкурируя с полноразмерными факторами транскрипции, первый — за взаимодействие с ДНК, а второй — за связывание с транскрипторами [39]. Увеличение содержания укороченной

формы фактора, RUNX1a, приводит к подавлению дифференцировки гранулоцитов и стимулирует пролиферацию миелоидных клеток, обработанных гранулоцитарным колониестимулирующим фактором, тогда как полноразмерный белок, наоборот, стимулирует дифференцировку клеток и транскрипцию тканеспецифичных генов [40].

Домен runt (128 а.о.) входит в состав изоформ RUNX1a, RUNX1b и RUNX1c и взаимодействует с консенсусной нуклеотидной последовательностью TG(T/C)GGT. По своей структуре этот домен относится к иммуноглобулиновым доменам S-типа, он состоит из 12  $\beta$ -тяжей, соединенных подвижными петлями. Структурную основу этого домена образуют восемь антипараллельных  $\beta$ -тяжей, которые ориентируют в пространстве петлевые домены, участвующие в формировании связей с фактором C/EBF $\beta$ . Дополнительные четыре  $\beta$ -тяжа, расположенные ниже коровой части домена, определенным образом ориентируют четыре ДНК-связывающие петли. Взаимодействие с фактором C/EBF $\beta$  приводит к конформационным перестройкам внутри домена runt, высвобождая аминокислотные остатки, участвующие в узнавании ДНК. Связывание с молекулой ДНК происходит специфично по большому желобку и неспецифично по сахаро-фосфатному остову [41]. Однако runt-домен не только связывается с ДНК, он взаимодействует и с другими транскрипционными факторами, такими как STAT, AP-1, PAX5, MEF, PU.1, C/EBP $\alpha$ , LEF-1, SUV39H1 [42]. Кроме того, в С-концевой части этого домена располагается сигнал ядерной локализации [42]. Как уже отмечалось, для полноценной работы факторов RUNX1 недостаточно ДНК-связывающего домена, необходим С-концевой трансактивационный домен. У изоформы RUNX1b этот домен простирается от 243 по 371 а.о. Внутри трансактивационного домена, ближе к его С-концу, располагается сайт PPPY, с которым связывается коактиватор транскрипции YAP, так называемый *yes-associated protein*. С этим доменом взаимодействуют также гистон-ацетилаза MOZ и p300, транскрипционный фактор Ets-1 и коактиватор ALY. Однако функции трансактивационного домена этим не ограничиваются. Так, фрагмент этого домена (320–370 а.о.) стимулирует переход клеток от G1-фазы к S-фазе, для чего не требуются факторы p300, Ets, C/EBP [43].

Наряду с активационным доменом фактор RUNX1b содержит три домена, подавляющих транскрипцию. Первый располагается в области 208–243 а.о. и взаимодействует с корепрессорами Sin3A и Egr-2 [44, 45], второй (371–411 а.о.) подавляет активность фактора в отсутствие C/EBF $\beta$  [46], третий, локализованный на С-конце белка (последние 5 а.о., VWRPY), взаимодействует с корепрессором TLE [47, 48]. Функции домена, расположенного в области 371–411 а.о., не ограни-

чиваются, вероятно, только подавлением транскрипции. Так, недавно показали, что именно этот домен отвечает за димеризацию фактора RUNX1b [49]. Это согласуется с данными о том, что регуляторная область генов-мишеней фактора RUNX1b обычно содержит несколько сайтов связывания этого белка. Кроме того, за счет димеризации RUNX1b происходит, предположительно, сближение удаленных друг от друга хроматиновых доменов, что может отражаться на регуляции сразу нескольких генов. Этот домен играет важную роль в регуляции работы фактора RUNX1b, так как нарушение его структуры при транслокациях и точечных мутациях приводит к развитию лейкозов.

Работа фактора RUNX1b регулируется также его ковалентными модификациями, а именно, ацетилизацией и фосфорилированием. Ацетилазный комплекс p300 ацетирует остатки Lys24 и Lys43 в составе RUNX1b. Ацетилированная форма RUNX1b значительно лучше связывается с ДНК [50]. Идентифицировано также несколько сайтов фосфорилирования белка RUNX1b. Два из них, Ser249 и Ser266, находятся в активационном домене и фосфорилируются ERK-киназой при стимуляции клеток интерлейкином 3 (IL-3), что приводит к активации экспрессии генов-мишеней RUNX1b [33]. Спустя несколько лет обнаружили еще два остатка – Ser276 и Thr273, которые также расположены внутри трансактивационного домена и фосфорилируются ERK-киназой при обработке клеток K562 фторболовым эфиром (PMA). Фосфорилирование этих остатков стимулирует трансактивирующую функцию фактора RUNX1 [51].

На работу фактора RUNX1 большое влияние оказывают белки, вовлеченные в регуляцию клеточного цикла. RUNX1 содержит три сайта, фосфорилируемых циклин-зависимыми киназами – Ser48, Ser303 и Ser424 – с консенсусной последовательностью (S/T)PX(R/K). Эти сайты фосфорилируются комплексами cdk1/циклин B и cdk6/циклин D3 [51, 52] зависимым от стадии клеточного цикла образом. Так, Ser48 фосфорилирован на протяжении всего клеточного цикла, тогда как Ser303 фосфорилируется во время G2/M-перехода, а Ser424 – в фазе G1. Фосфорилирование всех трех сайтов запускает трансактивирующую функцию RUNX1b и препятствует его взаимодействию с гистондеацетилазами HDAC1 и HDAC3, в результате чего стимулируется пролиферация стволовых клеток костного мозга млекопитающих [53, 54]. С другой стороны, нужно отметить, что фосфорилирование белка циклин-зависимыми киназами не только способствует его активации, но также регулирует стабильность. Так, фосфорилирование Ser276, Ser293, Ser300 и Ser303 в составе RUNX1 комплексами cdk1/циклин B и cdk2/циклин A слу-

жит сигналом для деградации этого фактора при участии комплекса APC-Cdc20 во время G2/M-перехода [55]. С другой стороны, во время G1-фазы комплекс APC-Cdh1 способствует деградации как фосфорилированного, так и нефосфорилированного белка RUNX1, в то время как в S-фазе этот фактор практически не подвергается деградации. За счет этого регулируется содержание белка в клетке на разных стадиях клеточного цикла [55].

### Мишени регуляции фактора RUNX1

Транскрипционный фактор RUNX1 принимает участие в регуляции таких важнейших процессов, как гемопоэз, ангиогенез, нейрогенез и работа скелетных мышц. На сегодняшний день известно большое число генов, в регуляции экспрессии которых принимает участие белок RUNX1. В промоторной области всех этих генов находится сайт связывания RUNX1. Обычно именно этот сайт определяет тканевую специфичность экспрессии того или иного гена, однако, в составе гетерологичного промотора не изменяет тканевую специфичность экспрессии контролируемого им гена, свидетельствуя о том, что RUNX1, скорее всего, выполняет функцию “организатора” транскрипции, привлекая тканеспецифичные факторы к сайтам их связывания в промоторах [56].

Нарушение работы RUNX1 часто наблюдается при патологии кроветворной системы, поэтому в первую очередь изучали участие этого фактора в процессах гемопоэза [57]. RUNX1 активен в лимфоидных, миелоидных и эритроидных клетках. Он контролирует экспрессию генов цитокинов, клеточных рецепторов, регуляторов клеточного цикла. В В-лимфоцитах RUNX1 активирует экспрессию генов, кодирующих IgA1 и тирозинкиназу BLK, стимулирует транскрипцию генов, кодирующих  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -цепи Т-клеточных рецепторов, IL-3, гранзим В, CD3, GM-КСФ и цитокин MIP-1 $\alpha$ , в Т-лимфоцитах [22, 58–60]. В незрелых миелоидных клетках RUNX1 активирует гены миелопероксидазы и эластазы нейтрофилов [61]. В моноцитах этот транскрипционный фактор стимулирует экспрессию гена рецептора макрофагального колониестимулирующего фактора [62]. В макрофагах RUNX1 активирует ген рецептора CD36 [63], а в лейкоцитах – ген *CD11a* [64]. Экспрессия генов, кодирующих белок HERF1 (hematopoietic RING finger) и трансмембранный белок Art-1 (AML1-regulated transmembrane protein 1), принимающих участие в дифференцировке эритроидных клеток, также стимулируется фактором RUNX1 [22, 65]. Кроме того, во всех миелоидных клетках RUNX1 активирует экспрессию генов рецептора комплемента 1, ингибиторов клеточного цикла p14<sup>ARF</sup> и p21<sup>WAF-1</sup>, протеинкиназы С $\beta$ , дефензина NP-3 [56, 66–69].

Стоит подчеркнуть, что RUNX1 может не только активировать транскрипцию, но выступать и в качестве фактора негативной регуляции. Например, в незрелых миелоидных клетках он подавляет экспрессию генов, кодирующих кальций-связывающий белок MRP14, ингибитор цистеиновых протеаз stefin 3, уридинфосфорилазу [70]. Однако ингибитором чаще служит не полноразмерный белок RUNX1, а его укороченная изоформа RUNX1a. В незрелых миелоидных клетках RUNX1a снижает уровень экспрессии генов, кодирующих рецептор CD53, сериновую протеазу Pim-2, карбоксипептидазу А тучных клеток [22, 70]. В то же время, этот белок в разных клеточных линиях может вести себя по-разному: активировать транскрипцию целевого гена в одних клетках и подавлять ее в других, что показано на примере регуляции гена транскрипционного фактора PU.1. В промоторной области этого гена находятся три сайта связывания RUNX1. При этом в миелоидных клетках и В-лимфоцитах RUNX1 стимулирует экспрессию гена *PU.1*, а в Т-лимфоцитах, мегакариоцитах и эритроидных клетках, напротив, подавляет ее. Нарушение регуляции работы гена *PU.1* приводит к дедифференцировке предшественников миелоидных и лимфоидных клеток крови, их неконтролируемой пролиферации, что, в свою очередь, ведет к развитию лейкоза [71].

Процессы гемопоэза и ангиогенеза тесно связаны, однако на сегодняшний день мало что известно о физическом и функциональном взаимодействии транскрипционных факторов, вовлеченных в эти процессы. Получены экспериментальные данные, позволяющие предположить, что фактор RUNX1 связывает процессы гемопоэза и ангиогенеза. Впервые эта гипотеза была выдвинута, когда показали, что *RUNX1* экспрессируется в клетках эндотелия мышцы под воздействием ангиогенных факторов роста – основного фактора роста фибробластов (bFGF) и фактора роста сосудистого эндотелия (VEGF) [72], а сам RUNX1 стимулирует экспрессию гена ангиопоэтина-1, мотогенного белка эндотелиальных клеток [72]. Существуют также косвенные доказательства участия этого фактора в развитии сосудистой системы. Известно, что RUNX1 образует комплекс с гистон-ацетилтрансферазой p300, и для активации работы этого комплекса, а соответственно, и экспрессии целевых генов, необходимо фосфорилирование обоих белков [73]. Подобная ковалентная модификация происходит при участии ядерной серин/треониновой протеинкиназы HIPK2 (homeodomain-interacting protein kinase 2). Установлено, что мыши с двумя инактивированными аллелями гена *HIPK2* погибают на стадии эмбрионального развития из-за нарушения формирования сосудов [74]. Серьезным подтверждением участия фактора RUNX1 в ангиогенезе стало выявление

физического и функционального взаимодействия RUNX1 и фактора HIF-1 $\alpha$  (hypoxia induced protein) [75]. В условиях гипоксии HIF-1 $\alpha$  транспортируется в ядро, где, образуя гетеродимер с фактором HIF-1 $\beta$ , запускает транскрипцию генов, продукты которых необходимы для роста сосудов. Мишенями этого гетеродимера служат гены *VEGF*, эритропоэтина (*Epo*) и транспортера глюкозы 1 (*Glut-1*) [76, 77]. Фактор RUNX1 при увеличении его концентрации в миелоидных клетках вытесняет белок HIF-1 $\beta$  из гетеродимера и с помощью runt-домена связывается с HIF-1 $\alpha$ , что стабилизирует взаимодействие runt-домена с ДНК. Предполагается, что за счет подобного взаимодействия RUNX1 с HIF-1 $\alpha$  в стволовых клетках костного мозга нарушается экспрессия генов, отвечающих за образование сосудов. Это приводит к понижению содержания кислорода в костном мозге, что необходимо для нормальной дифференцировки клеток крови. Одновременно с этим транскрипционный комплекс RUNX1/HIF-1 $\alpha$  стимулирует дифференцировку миелоидных, лимфоидных и эритроидных клеток [75].

Фактор RUNX1 принимает участие и в регуляции клеточного цикла. Он связывается с промоторами генов циклинов D-типа и стимулирует их экспрессию в миелоидных и лимфоидных клетках, сокращая G1-фазу [52, 78]. Кроме того, циклин D3 ингибирует работу фактора RUNX1. Показано, что циклин D3 взаимодействует с доменом runt фактора RUNX1, вытесняя белок CBF $\beta$ , ослабляя связывание runt-домена с ДНК [79]. Таким образом, образуется петля обратной связи: фактор RUNX1, с одной стороны, стимулирует экспрессию генов циклинов D-типа и, с другой, инактивируется продуктами их экспрессии, которые накапливаются во время G1/S-фазы [79].

Как уже упоминалось, белок RUNX1 принимает участие в нейрогенезе. *RUNX1* экспрессируется в эмбриональных нервных клетках мышей, и нарушение фосфорилирования этого фактора по Ser249 и Ser276 при инактивации обоих аллелей гена *HIPK2* подавляет процесс замыкания нервной трубки, что приводит к гибели эмбрионов [74, 80]. Более подробные исследования показали, что *RUNX1* экспрессируется в определенных популяциях нейронов эмбриональной периферической и центральной нервных систем, а именно, в холинергических жаберных и висцеральных мотонейронах заднего мозга, в соматических мотонейронах центрального и латерального стволов спинного мозга, в механорецепторных нейронах ганглия тройничного нерва и 8-го черепного нерва, а также в предшественниках нейронов обонятельных рецепторов [81–83]. Фактор RUNX1 поддерживает жизнеспособность этих клеток и стимулирует их пролиферацию за счет подавления экспрессии ингибиторов клеточного цикла *p21<sup>Cip1</sup>* и *p27<sup>Kip1</sup>*, а инактивация обоих аллелей гена

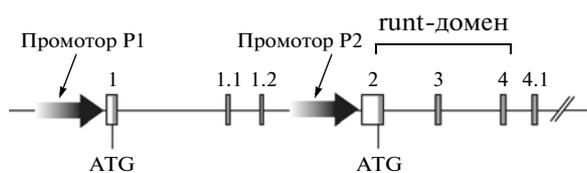
*RUNX1* приводит к массовой гибели нейронов [81, 82]. Кроме того, у мышей RUNX1 также стимулирует рост аксонов у определенного подкласса сенсорных нейронов нервного гребня, содержащих на своей поверхности рецептор нейротрофических факторов TrkA [83].

Фактор RUNX1 важен и для нормального функционирования скелетных мышц. Нарушение иннервации при заболеваниях и травмах, при гиподинамии, голодании и кахексии приводит к атрофии мышц. Стимуляция экспрессии *Runx1* предотвращает атрофию мышц и сохраняет структуру миофибрилл у мышей [84], тогда как на фоне снижения уровня экспрессии гена *Runx1* мышечная масса резко снижается и нарушается структура миофибрилл. Оказалось, что в скелетных мышцах с нарушенной иннервацией RUNX1 стимулирует экспрессию 29 генов, кодирующих ионные каналы, сигнальные и структурные белки. Подобная стимуляция способствует поддержанию структуры обездвиженных мышц [84]. Повидимому, иннервация скелетных мышц в организме взаимосвязана с уровнем экспрессии гена *RUNX1*. Так, при нарушении иннервации мышц экспрессия этого гена увеличивается в сотни раз [85]. Однако точный механизм подобной “электрофизиологической” регуляции экспрессии гена пока не известен.

В последнее время стали появляться экспериментальные данные об участии RUNX1 в регуляции экспрессии некоторых микроРНК (miR), в частности, играющих важную роль в процессе дифференцировки клеток крови. Установлено, что в отличие от функционально активного фактора RUNX1 химерный белок RUNX1-MTG8 (ETO), который образуется в клетках с транслокацией t(8;21), не способен блокировать транскрипцию miR-24. В результате в таких клетках накапливается miR-24, которая подавляет синтез MAPK-фосфатазы 7, что приводит к активному неконтролируемому делению миелоидных клеток и развитию лейкоза [86]. С другой стороны, фактор RUNX1 способен активировать транскрипцию некоторых локусов микроРНК. Он связывается с промоторной областью локуса, кодирующего miR-222/221. Эта микроРНК выключает синтез рецептора факторов роста CD117 в миелоидных клетках. При нарушении структуры фактора RUNX1 в результате мутаций и хромосомных перестроек его гена синтез miR-222/221 в клетках прекращается, что способствует малигнизации клеток за счет экспрессии гена поверхностного рецептора CD117 [87].

#### **Регуляция экспрессии гена RUNX1 в различных тканях**

Несмотря на то, что продукт гена *RUNX1* контролирует экспрессию большого числа генов, о



**Рис. 2.** Промоторы гена *RUNX1* человека. Показана 5'-область гена. Прямоугольниками обозначены экзоны, белым — нетранслируемые области. Горизонтальными стрелками обозначены промоторы внутри гена. “ATG” — точка инициации трансляции. Скобкой показана область, кодирующая runt-домен.

регуляции экспрессии самого гена на сегодняшний день известно немного. Установлено, что экспрессия этого гена характеризуется выраженной тканевой специфичностью. *RUNX1* экспрессируется только в клетках кроветворной системы, но не в таких системах, как ЦНС, дыхательная и репродуктивная системы [4, 20, 88]. Как уже упоминалось, экспрессия гена *RUNX1* и родственных ему *RUNX2* и *RUNX3* контролируется двумя промоторами, дистальным P1 и проксимальным P2, которые удалены друг от друга на расстояние 160 т.п.н. (показаны на рис. 2). Дистальный промотор размером около 1200 п.н. находится непосредственно перед стартовым кодоном первого экзона. Этот промотор не располагается в CpG-островке, не содержит классического TATA-бокса, но содержит CCAAT-бокс [89]. В нем находятся сайты связывания таких транскрипционных факторов, как GATA, PU.1, CRE, Myb, а также два сайта связывания самого *RUNX1* [90, 91]. Внутри промотора P1 идентифицированы четыре точки инициации транскрипции. Проксимальный промотор размером ~1200 п.н. локализован внутри интрона 1.2 перед кодирующей последовательностью экзона 2 (рис. 2). Он не имеет TATA-бокса, располагается внутри консервативного CpG-островка, содержит три сайта старта транскрипции с консенсусной последовательностью (T/G)CA(T/C)T(C/T)N(C/T)A (подчеркнута точка старта транскрипции) и два CCAAT-боксы [89]. В состав проксимального промотора входят также сайты связывания различных факторов транскрипции: Oct, Ets, PU.1 и два сайта связывания *RUNX1* [92–94].

Результаты исследований последних лет, проведенных на эмбрионах мыши, свидетельствуют о функциональной значимости двух альтернативных промоторов гена *RUNX1*, поскольку они работают на разных этапах гемопоэза во время пренатального развития. Установлено, что в кроветворном эндотелии парной дорсальной аорты и желтковой артерии активно работает P2, в эндотелиальных клетках центральных сосудов и в развивающихся клетках дефинитивного гемопоэза на следующих стадиях развития эмбриона оба промотора одинаково активны, а позднее, при

формировании эмбриональной печени, происходит переключение транскрипции на промотор P1 [95–97]. Стоит также подчеркнуть, что промотор P2 располагается внутри консервативного CpG-островка, и эволюционно он значительно “старше” промотора P1. Так, например, у круглых червей и членистоногих есть только P2, а у рыб и млекопитающих появляется дополнительный промотор P1 [24]. Интересно, что у рыб промоторы P1 и P2 обладают тканевой специфичностью в отличие от хорошо известных и охарактеризованных промоторов человека и мыши [98]. Таким образом, позвоночные приобрели дистальный промотор P1 как дополнительный рычаг регуляции, который, с одной стороны, усложнил механизм экспрессии гена *RUNX1*, а, с другой, позволил более тонко настраивать транскрипцию этого гена по принципу “в нужное время в нужном месте”. Наличие двух промоторов позволяет осуществлять регуляцию и на уровне трансляции. Действительно, мРНК, синтезированные с промоторов P1 и P2, имеют различия в 5'-НТО. У мРНК, синтезированной с P1, 5'-НТО короткая (452 п.н.), в силу чего трансляция этой мРНК инициируется по стандартному механизму с использованием кеп-связывающих белков. В случае транскрипции с промотора P2 нетранслируемый участок значительно длиннее (1631 п.н.), обладает сложной вторичной структурой, характерной для вирусных IRES-элементов, что обеспечивает инициацию трансляции по кеп-независимому механизму. Это позволяет синтезировать фактор *RUNX1* в тех условиях, когда невозможна кеп-зависимая трансляция, в частности, при митозе, дифференцировке и клеточном стрессе [24].

Промоторы гена *RUNX1* человека не обладают тканевой специфичностью. В составе модельных конструкций с репортерным геном они работают как в лимфоидных, так и в эпителиальных клетках. Однако активность обоих промоторов заметно увеличивалась и приобретала тканевую специфичность под воздействием лимфоидного энхансера гена T-клеточного рецептора  $\beta$  (TCR $\beta$ ), что позволило предположить существование дополнительных тканеспецифичных геномных элементов, контролирующих экспрессию гена *RUNX1* [89]. Несколько лет назад в гене мыши локализовали один из потенциальных регуляторных элементов, которым оказался фрагмент первого интрона гена *Runx1* размером 500 п.н., расположенный в 3'-области на расстоянии 23.5 т.п.н. от иницирующего ATG-кодона первого экзона. Внутри этого элемента с помощью компьютерного анализа удалось найти несколько сайтов связывания транскрипционных факторов GATA, PU.1, Ets и *RUNX1*. Кроме того, этот геномный элемент характеризуется высоким уровнем консервативности у различных позвоночных [99]. Одновременно показали, что в эмбриональных

гемопоэтических стволовых клетках данный элемент, расположенный внутри гена *Runx1* мыши, обладает гиперчувствительностью к ДНКазе I. По-видимому, этот элемент может быть тканеспецифичным регуляторным элементом гена *Runx1* [99]. Это предположение было подтверждено экспериментально. Установлено, что данный геномный элемент, названный “+23”, обладает энхансерной активностью по отношению к обоим промоторам (P1 и P2) гена *Runx1* мыши. В трансгенных эмбрионах мышей промоторы P1 и P2, контролируемые этим энхансером, начинали работать только в сайтах образования гемопоэтических стволовых клеток, что выявляли по экспрессии репортерных генов [100, 101]. Участок первого интрона гена *RUNX1* человека, соответствующий элементу “+23” мыши, также обладает энхансерной активностью по отношению к промоторам P1 и P2 [102]. В этой же работе с использованием метода фиксации конформации хромосом (3C, chromosome conformation capture) проанализировали пространственную организацию гена *RUNX1* в различных клетках человека. Оказалось, что в ядрах лимфоидных и эритроидных клеток человека промоторы P1, P2 и энхансер из первого интрона физически сближены и образуют единый активаторный блок транскрипции (хроматиновый хаб) [102].

Отдельно стоит отметить, что экспрессия гена *RUNX1* может также регулироваться микроРНК. Так, в 3'-НТО транскриптов гена *RUNX1* человека обнаружены участки связывания ряда микроРНК (miR-27a, miR-9, miR-18a, miR-30c, and miR-199a\*), которые негативно регулируют экспрессию этого гена [103]. Интересно, что сам *RUNX1* может действовать как позитивный регулятор экспрессии miR-27a [103, 104]. Поскольку микроРНК, регулирующие экспрессию *RUNX1*, обнаружили относительно недавно, можно ожидать, что их функциональная роль в процессах гемопоза будет выяснена в дальнейшем.

## УЧАСТИЕ ГЕНА *RUNX1* В ТРАНСЛОКАЦИЯХ

На сегодняшний день известны многочисленные повреждения гена *RUNX1*, в том числе точечные мутации в кодирующей области, приводящие к аминокислотным заменам, делеции и дупликации локуса q22 хромосомы 21 человека, а также хромосомные транслокации. Последние вызывают наибольший интерес, так как они чаще всего коррелируют с развитием различных лейкозов. Описано более 30 хромосомных транслокаций, затрагивающих ген *RUNX1* (таблица). Из таблицы видно, что при охарактеризованных хромосомных перестройках разрыв гена *RUNX1* чаще всего картируется в интронах 4.1, 5.1 и 5.2. Эти точки разрыва разделяют область, кодирующую N-концевой ДНК-связывающий runt-домен, и область,

кодирующую C-концевой трансактивационный домен. Таким образом, в результате хромосомных перестроек образуются химерные белки, которые содержат либо ДНК-связывающий домен белка *RUNX1*, либо его трансактивационный домен. Химерные белки, содержащие runt-домен, вытесняют полноразмерный фактор *RUNX1* с промоторов целевых генов, что приводит к подавлению их экспрессии. Как уже говорилось, мишенями фактора *RUNX1* в первую очередь служат гены, кодирующие белки дифференцировки лимфоидных и миелоидных клеток. В этой связи понятно, что хромосомные перестройки, в которые вовлечен ген *RUNX1*, могут приводить к развитию различных лейкозов.

Среди хромосомных перестроек с участием гена *RUNX1* лучше всего изучены транслокации t(8;21) и t(3;21). Хромосомную перестройку t(8;21)(q22;q22) впервые обнаружили и описали в 1973 году у больных острым миелоидным лейкозом (AML) [105]. Позднее установили, что эта транслокация ассоциирована с M2-подтипом AML (у 30% больных AML1-M2 и у 8–10% AML1) [106]. Эта хромосомная перестройка встречается чаще при первичных и реже при вторичных лейкозах (т.е. при лейкозах, возникающих в результате химиотерапии первичных опухолей с использованием ингибиторов ДНК-топиомеразы II и ряда других агентов, повреждающих ДНК). При транслокации t(8;21) часть гена *RUNX1*, расположенного на хромосоме 21, присоединяется к гену *ETO* (eight-twenty-one), локализованному на хромосоме 8. В результате на хромосоме 8 в локусе q22 образуется химерный ген, кодирующий белок с runt-доменом на N-конце и полноразмерным белком *ETO* на C-конце. Фактор *ETO* содержит несколько доменов: область гомологии с коактиваторами транскрипции (TAF105, TAF130 и TAF110), гидрофобный гептаповтор NHR (hydrophobic heptad repeat),  $\alpha$ -спиральный участок NHR3 (nerve homology region 3) и два цинковых пальца, так называемые MYND-домены (myeloid-nerve-dEAF-1), на C-конце. Ген *ETO* обычно экспрессируется в клетках нервной системы и в CD34<sup>+</sup>-клетках кроветворной системы [107, 108]. Однако при транслокации t(8;21) профиль экспрессии гена *ETO* повторяет профиль гена *RUNX1*. Химерный белок *RUNX1-ETO* выступает в качестве репрессора транскрипции. За счет цинковых пальцев *ETO* связывается с ядерным корепрессором N-CoR, а в N-концевой области он образует контакты с корепрессором Sin3A [109, 110]. Корепрессоры привлекают гистондеацетилазы [111], в силу чего химерный белок *RUNX-ETO1* вызывает полное выключение транскрипции и компактизацию хроматина [112].

Еще одна хромосомная транслокация с участием гена *RUNX1* t(3;21) часто встречается при вторичных лейкозах [113, 114]. Типичные для вто-

Хромосомные транслокации с участием гена *RUNX1* человека

Хромосомная перестройка	Ген, участвующий в транслокации	Заболевание	Точка разрыва в гене <i>RUNX1</i>	Ссылка
t(1;21)(q21.2;q22)	<i>ZNF687</i>	AML	Интрон 2	[115]
t(1;21)(p35~36.1;q22)	<i>YTHDF2</i>	AML	Интрон 4.1	[116]
t(1;21)(p36;q22)	<i>PRDM16</i>	t-AML	Интрон 5.1	[117]
t(2;21)(p11.2;q22)	Не установлен	AML-M1	Не установлен	[118]
t(2;21)(q21;q22)	Не установлен	AML	Не установлен	[119]
t(3;21)(q26;q22)	<i>EAP, MDS1, EVI-1</i>	CML-BC/t-MDS	Интрон 5.1	[120]
t(4;21)(q21;q22)	Не установлен	t-MDS → AML	Не установлен	[119]
t(4;21)(q28;q22)	<i>FGA7</i>	t-ALL	Интрон 5.1	[121]
t(4;21)(q31;q22)	<i>SH3D19</i>	t-ALL, AML	Интрон 5.1	[122]
t(5;21)(q13;q22)	Не установлен	AML-M4	Интрон 5.1	[115]
t(6;21)(p22;q22)	Не установлен	t-RAEB	Не установлен	[123]
t(7;21)(p22;q22)	<i>USP42</i>	AML	Интрон 5.2	[119]
t(8;21)(q13;q22)	Не установлен	t-AML	Не установлен	[124]
t(8;21)(q22;q22)	<i>RUNX1T1 (ETO)</i>	AML-M2	Интрон 4.1	[119]
t(8;21)(q24;q22)	<i>TRPS1</i>	AML-M4	Не установлен	[125]
t(9;21)(p21~22;q22)	Не установлен	ALL, t-AML	Не установлен	[119]
t(10;21)(q21;q22)	Не установлен	AML-M1	Не установлен	[119]
t(11;21)(q13;q22)	<i>LRP16</i>	MDS → AML	Интроны 4.1, 5.1	[119]
t(12;21)(q12;q22)	<i>CPNE8 (Copine VIII)</i>	AML-M2	Интрон 5.1	[126]
t(12;21)(p13;q22)	<i>ETV6(TEL)d</i>	B-ALL	Интрон 1	[127]
t(12;21)(q24;q22)	Не установлен	AML	Интрон 5.1	[128]
t(14;21)(q13;q22)	Не установлен	t-MDS <sub>t</sub> → AML	Не установлен	[129]
t(14;21)(q22;q22)	Не установлен	t-AML	Не установлен	[123]
t(14;21)(q24;q22)	Не установлен	RAEB	Не установлен	[119]
t(15;21)(q22;q22)	Не установлен	t-MDS	Интрон 5.1	[123]
t(16;21)(q24;q22)	<i>CBFA2T3 (MTG16)</i>	MDS/AML	Интрон 4.1	[119]
t(17;21)(q11.2;q22)	Не установлен	t-AML	Интрон 4.1	[123]
t(18;21)(q21;q22)	Не установлен	MDS	Не установлен	[130]
t(19;21)(q13.4;q22)	<i>AMP19</i>	AML	Интрон 5.1	[123]
t(20;21)(q13.1;q22)	Не установлен	AML	Не установлен	[117]
t(21;21)(q11;q22)	<i>UPS25</i>	MDS	Не установлен	[117]
t(X;21)(p22;q22)	<i>PRDX4</i>	AML-M2	интрон 5.1	[118]
t(X;21)(p22.3;q22)	<i>ZFPM2 (FOG2)</i>	MDS	интрон 5.1	[131]

Примечание. AML (acute myeloid leukemia) – острый миелоидный лейкоз; t-(therapy related) – связанный с терапией (при определяемом термине); CML-BC (chronic myelogenous leukemia-blast crisis) – бластный криз при AML; MDS (myelodysplastic syndrome) – миелодиспластический синдром; RAEB (refractory anemia excess blasts) – рефрактерная анемия с избытком бластных клеток; ALL (acute lymphoblastic leukemia) – острый лимфобластный лейкоз.

ричных лейкозов хромосомные перестройки характеризуются тем, что фрагмент гена *RUNX1*, кодирующий runt-домен, присоединяется к одному из трех генов, расположенных в локусе q26 на хромосоме 3 – *EAP*, *MDS1* или *EVI1*. Функции белка *EAP* не до конца ясны. Известно только, что он взаимодействует с малой РНК вируса Эпштейна-Барр. Белок *EVI1* взаимодействует с белком AP-1 и активирует транскрипцию гена, кодирующего фактор c-Fos. О функциях белка *MDS1* ничего не известно. Продукты химерных генов

*RUNX1-EAP*, *RUNX1-MDS1* и *RUNX1-EVI1*, как и при транслокации t(8;21), действуют в качестве репрессоров транскрипции генов-мишеней фактора *RUNX1* [15].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключение стоит отметить, что, начиная с 1991 г., накоплено много информации о факторе *RUNX1* и о кодирующем его гене. На сегодняшний день известна структура *RUNX1*, охарактери-

зованы его изоформы и ковалентные модификации. Определена также структура гена *RUNX1*, картированы промоторы, описаны точечные мутации и локализованы участки кластеризации точек разрыва (BCRs, breakpoint cluster regions) внутри этого гена, характерные для различных хромосомных перестроек. Известны также партнеры по транслокациям гена *RUNX1*. Однако до сих пор целый ряд вопросов остается без ответа, в том числе, каким образом обеспечивается тканевая специфичность экспрессии гена *RUNX1*? Работа в этом направлении продолжается, но точные механизмы регуляции экспрессии этого гена на разных этапах развития организма не установлены. Кроме того, несмотря на то что описаны многочисленные и разнообразные хромосомные перестройки с участием гена *RUNX1*, нет четкого представления о том, как происходит малигнизация клеток, несущих химерные гены. Здесь также возникает целый ряд вопросов. Если перестройка повреждает только один аллель гена *RUNX1*, то экспрессируется ли при этом нормальный аллель? На каком уровне экспрессируется химерный ген? Какова летальная концентрация химерного белка в клетке? Ответ на эти вопросы позволит понять механизмы возникновения и развития лейкозов, что, в свою очередь, может быть использовано в генной терапии рака. Все сказанное свидетельствует о том, что изучение работы гена *RUNX1* и его продукта в норме и при патологии представляет интерес как для фундаментальной молекулярной биологии, так и для клинической онкологии.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (10-04-01068-а) и Министерства науки и образования Российской Федерации (госконтракты №16.740.11.0483 и №16.512.11.2243). Работа Е.Н. Марковой поддержана грантом компании ОПТЭК для молодых ученых.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Miyoshi H., Shimizu K., Kozu T., Maseki N., Kaneko Y., Ohki M. 1991. t(8;21) breakpoints on chromosome 21 in acute myeloid leukemia are clustered within a limited region of a single gene, *AML1*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **88**, 10431–10434.
- Bae S.C., Ogawa E., Maruyama M., Oka H., Satake M., Shigesada K., Jenkins N.A., Gilbert D.J., Copeland N.G., Ito Y. 1994. PEBP2 alpha B/mouse *AML1* consists of multiple isoforms that possess differential transactivation potentials. *Mol. Cell. Biol.* **14**, 3242–3252.
- Bae S.C., Yamaguchi-Iwai Y., Ogawa E., Maruyama M., Inuzuka M., Kagoshima H., Shigesada K., Satake M., Ito Y. 1993. Isolation of PEBP2 alpha B cDNA representing the mouse homolog of human acute myeloid leukemia gene, *AML1*. *Oncogene*. **8**, 809–814.
- Nucifora G., Rowley J.D. 1995. *AML1* and the 8;21 and 3;21 translocations in acute and chronic myeloid leukemia. *Blood*. **86**, 1–14.
- Okuda T., van Deursen J., Hiebert S.W., Grosveld G., Downing J.R. 1996. *AML1*, the target of multiple chromosomal translocations in human leukemia, is essential for normal fetal liver hematopoiesis. *Cell*. **84**, 321–330.
- Sasaki K., Yagi H., Bronson R.T., Tominaga K., Matsunashi T., Deguchi K., Tani Y., Kishimoto T., Komori T. 1996. Absence of fetal liver hematopoiesis in mice deficient in transcriptional coactivator core binding factor beta. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **93**, 12359–12363.
- Wang Q., Stacy T., Miller J.D., Lewis A.F., Gu T.L., Huang X., Bushweller J.H., Bories J.C., Alt F.W., Ryan G., Liu P.P., Wynshaw-Boris A., Binder M., Marin-Padilla M., Sharpe A.H., Speck N.A. 1996. The CBFbeta subunit is essential for CBFalpha2 (*AML1*) function *in vivo*. *Cell*. **87**, 697–708.
- Wang Q., Stacy T., Binder M., Marin-Padilla M., Sharpe A.H., Speck N.A. 1996. Disruption of the *Cbfa2* gene causes necrosis and hemorrhaging in the central nervous system and blocks definitive hematopoiesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **93**, 3444–3449.
- Cleary M.L. 1999. A new angle on a pervasive oncogene. *Nat. Genet.* **23**, 134–135.
- Uchida H., Zhang J., Nimer S.D. 1997. *AML1A* and *AML1B* can transactivate the human IL-3 promoter. *J. Immunol.* **158**, 2251–2258.
- Niitsu N., Yamamoto-Yamaguchi Y., Miyoshi H., Shimizu K., Ohki M., Umeda M., Honma Y. 1997. *AML1a* but not *AML1b* inhibits erythroid differentiation induced by sodium butyrate and enhances the megakaryocytic differentiation of K562 leukemia cells. *Cell Growth Differ.* **8**, 319–326.
- Martens J.H., Stunnenberg H.G. 2010. The molecular signature of oncofusion proteins in acute myeloid leukemia. *FEBS Lett.* **584**, 2662–2669.
- De Braekeleer E., Ferec C., De Braekeleer M. 2009. *RUNX1* translocations in malignant hemopathies. *Anticancer Res.* **29**, 1031–1037.
- Pabst T., Mueller B.U. 2007. Transcriptional dysregulation during myeloid transformation in *AML*. *Oncogene*. **26**, 6829–6837.
- Perry C., Eldor A., Soreq H. 2002. Runx1/*AML1* in leukemia: disrupted association with diverse protein partners. *Leuk. Res.* **26**, 221–228.
- Westendorf J.J., Hiebert S.W. 1999. Mammalian runt-domain proteins and their roles in hematopoiesis, osteogenesis, and leukemia. *J. Cell Biochem. Suppl* **32–33**, 51–58.
- Ito Y., Miyazono K. 2003. *RUNX* transcription factors as key targets of TGF-beta superfamily signaling. *Curr. Opin. Genet. Dev.* **13**, 43–47.
- Ogawa E., Maruyama M., Kagoshima H., Inuzuka M., Lu J., Satake M., Shigesada K., Ito Y. 1993. PEBP2/PEA2 represents a family of transcription factors homologous to the products of the *Drosophila runt* gene and the human *AML1* gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **90**, 6859–6863.
- Banerjee C., McCabe L.R., Choi J.Y., Hiebert S.W., Stein J.L., Stein G.S., Lian J.B. 1997. Runt homology domain proteins in osteoblast differentiation: *AML3/CBFA1* is a major component of a bone-specific complex. *J. Cell. Biochem.* **66**, 1–8.
- Levanon D., Negreanu V., Bernstein Y., Bar-Am I., Avivi L., Groner Y. 1994. *AML1*, *AML2*, and *AML3*, the human members of the runt domain gene-family: cDNA structure, expression, and chromosomal localization. *Genomics*. **23**, 425–432.

21. McCarthy T.L., Ji C., Chen Y., Kim K.K., Imagawa M., Ito Y., Centrella M. 2000. Runt domain factor (Runx)-dependent effects on CCAAT/ enhancer-binding protein delta expression and activity in osteoblasts. *J. Biol. Chem.* **275**, 21746–21753.
22. Otto F., Lubbert M., Stock M. 2003. Upstream and downstream targets of RUNX proteins. *J. Cell. Biochem.* **89**, 9–18.
23. Rennert J., Coffman J.A., Mushegian A.R., Robertson A.J. 2003. The evolution of *Runx* genes I. A comparative study of sequences from phylogenetically diverse model organisms. *BMC Evol. Biol.* **3**, 4.
24. Levanon D., Groner Y. 2004. Structure and regulated expression of mammalian *RUNX* genes. *Oncogene*. **23**, 4211–4219.
25. Jimenez M.J., Balbin M., Alvarez J., Komori T., Bianco P., Holmbeck K., Birkedal-Hansen H., Lopez J.M., Lopez-Otin C. 2001. A regulatory cascade involving retinoic acid, *Cbfa1*, and matrix metalloproteinases is coupled to the development of a process of perichondrial invasion and osteogenic differentiation during bone formation. *J. Cell Biol.* **155**, 1333–1344.
26. Drissi H., Pouliot A., Kooloos C., Stein J.L., Lian J.B., Stein G.S., van Wijnen A.J. 2002. 1,25-(OH)<sub>2</sub>-vitamin D<sub>3</sub> suppresses the bone-related *Runx2/Cbfa1* gene promoter. *Exp. Cell Res.* **274**, 323–333.
27. Tou L., Quibria N., Alexander J.M. 2001. Regulation of human *cbfa1* gene transcription in osteoblasts by selective estrogen receptor modulators (SERMs). *Mol. Cell Endocrinol.* **183**, 71–79.
28. Prince M., Banerjee C., Javed A., Green J., Lian J.B., Stein G.S., Bodine P.V., Komm B.S. 2001. Expression and regulation of *Runx2/Cbfa1* and osteoblast phenotypic markers during the growth and differentiation of human osteoblasts. *J. Cell Biochem.* **80**, 424–440.
29. Sudhakar S., Li Y., Katz M.S., Elango N. 2001. Translational regulation is a control point in *RUNX2/Cbfa1* gene expression. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **289**, 616–622.
30. Xiao Z.S., Simpson L.G., Quarles L.D. 2003. IRES-dependent translational control of *Cbfa1/Runx2* expression. *J. Cell. Biochem.* **88**, 493–505.
31. Pozner A., Goldenberg D., Negreanu V., Le S.Y., Elroy-Stein O., Levanon D., Groner Y. 2000. Transcription-coupled translation control of *AML1/RUNX1* is mediated by cap- and internal ribosome entry site-dependent mechanisms. *Mol. Cell Biol.* **20**, 2297–2307.
32. Xiao G., Jiang D., Thomas P., Benson M.D., Guan K., Karsenty G., Franceschi R.T. 2000. MAPK pathways activate and phosphorylate the osteoblast-specific transcription factor, *Cbfa1*. *J. Biol. Chem.* **275**, 4453–4459.
33. Tanaka T., Kurokawa M., Ueki K., Tanaka K., Imai Y., Mitani K., Okazaki K., Sagata N., Yazaki Y., Shibata Y., Kadowaki T., Hirai H. 1996. The extracellular signal-regulated kinase pathway phosphorylates *AML1*, an acute myeloid leukemia gene product, and potentially regulates its transactivation ability. *Mol. Cell Biol.* **16**, 3967–3979.
34. Komori T. 2011. Signaling networks in *RUNX2*-dependent bone development. *J. Cell Biochem.* **112**, 750–755.
35. Komori T. 2010. Regulation of bone development and extracellular matrix protein genes by *RUNX2*. *Cell Tissue Res.* **339**, 189–195.
36. Lee Y.M. 2011. Control of *RUNX3* by histone methyltransferases. *J. Cell Biochem.* **112**, 394–400.
37. Kudo Y., Tsunematsu T., Takata T. 2011. Oncogenic role of *RUNX3* in head and neck cancer. *J. Cell Biochem.* **112**, 387–393.
38. Chuang L.S., Ito Y. 2010. *RUNX3* is multifunctional in carcinogenesis of multiple solid tumors. *Oncogene*. **29**, 2605–2615.
39. Zhang Y.W., Bae S.C., Huang G., Fu Y.X., Lu J., Ahn M.Y., Kanno Y., Kanno T., Ito Y. 1997. A novel transcript encoding an N-terminally truncated *AML1/PEBP2* alphaB protein interferes with transactivation and blocks granulocytic differentiation of 32Dcl3 myeloid cells. *Mol. Cell Biol.* **17**, 4133–4145.
40. Tanaka T., Tanaka K., Ogawa S., Kurokawa M., Mitani K., Nishida J., Shibata Y., Yazaki Y., Hirai H. 1995. An acute myeloid leukemia gene, *AML1*, regulates hemopoietic myeloid cell differentiation and transcriptional activation antagonistically by two alternative spliced forms. *EMBO J.* **14**, 341–350.
41. Bartfeld D., Shimon L., Couture G.C., Rabinovich D., Frolow F., Levanon D., Groner Y., Shakked Z. 2002. DNA recognition by the *RUNX1* transcription factor is mediated by an allosteric transition in the *RUNT* domain and by DNA bending. *Structure*. **10**, 1395–1407.
42. Ito Y. 2004. Oncogenic potential of the *RUNX* gene family: 'overview'. *Oncogene*. **23**, 4198–4208.
43. Bernardin F., Friedman A.D. 2002. *AML1* stimulates G1 to S progression via its transactivation domain. *Oncogene*. **21**, 3247–3252.
44. Ahn M.Y., Huang G., Bae S.C., Wee H.J., Kim W.Y., Ito Y. 1998. Negative regulation of granulocytic differentiation in the myeloid precursor cell line 32Dcl3 by ear-2, a mammalian homolog of *Drosophila* seven-up, and a chimeric leukemogenic gene, *AML1/ETO*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **95**, 1812–1817.
45. Lutterbach B., Westendorf J.J., Linggi B., Isaac S., Seto E., Hiebert S.W. 2000. A mechanism of repression by acute myeloid leukemia-1, the target of multiple chromosomal translocations in acute leukemia. *J. Biol. Chem.* **275**, 651–656.
46. Kanno T., Kanno Y., Chen L.F., Ogawa E., Kim W.Y., Ito Y. 1998. Intrinsic transcriptional activation-inhibition domains of the polyomavirus enhancer binding protein 2/core binding factor alpha subunit revealed in the presence of the beta subunit. *Mol. Cell Biol.* **18**, 2444–2454.
47. Imai Y., Kurokawa M., Tanaka K., Friedman A.D., Ogawa S., Mitani K., Yazaki Y., Hirai H. 1998. TLE, the human homolog of Groucho, interacts with *AML1* and acts as a repressor of *AML1*-induced transactivation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **252**, 582–589.
48. Levanon D., Goldstein R.E., Bernstein Y., Tang H., Goldenberg D., Stifani S., Paroush Z., Groner Y. 1998. Transcriptional repression by *AML1* and *LEF-1* is mediated by the TLE/Groucho corepressors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **95**, 11590–11595.
49. Li D., Sinha K.K., Hay M.A., Rinaldi C.R., Sauntharajah Y., Nucifora G. 2007. *RUNX1-RUNX1* homodimerization modulates *RUNX1* activity and function. *J. Biol. Chem.* **282**, 13542–13551.
50. Yamaguchi Y., Kurokawa M., Imai Y., Izutsu K., Asai T., Ichikawa M., Yamamoto G., Nitta E., Yamagata T., Sasaki K., Mitani K., Ogawa S., Chiba S., Hirai H. 2004. *AML1* is functionally regulated through p300-mediated acetylation on specific lysine residues. *J. Biol. Chem.* **279**, 15630–15638.

51. Zhang Y., Biggs J.R., Kraft A.S. 2004. Phorbol ester treatment of K562 cells regulates the transcriptional activity of AML1c through phosphorylation. *J. Biol. Chem.* **279**, 53116–53125.
52. Bernardin-Fried F., Kummalue T., Leijen S., Collector M.I., Ravid K., Friedman A.D. 2004. AML1/RUNX1 increases during G1 to S cell cycle progression independent of cytokine-dependent phosphorylation and induces cyclin D3 gene expression. *J. Biol. Chem.* **279**, 15678–15687.
53. Zhang L., Fried F.B., Guo H., Friedman A.D. 2008. Cyclin-dependent kinase phosphorylation of RUNX1/AML1 on 3 sites increases transactivation potency and stimulates cell proliferation. *Blood.* **111**, 1193–1200.
54. Guo H., Friedman A.D. 2011. Phosphorylation of RUNX1 by cyclin-dependent kinase reduces direct interaction with HDAC1 and HDAC3. *J. Biol. Chem.* **286**, 208–215.
55. Biggs J.R., Peterson L.F., Zhang Y., Kraft A.S., Zhang D.E. 2006. AML1/RUNX1 phosphorylation by cyclin-dependent kinases regulates the degradation of AML1/RUNX1 by the anaphase-promoting complex. *Mol. Cell Biol.* **26**, 7420–7429.
56. Kim J.H., Lee S., Rho J.K., Choe S.Y. 1999. AML1, the target of chromosomal rearrangements in human leukemia, regulates the expression of human complement receptor type 1 (CRI) gene. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **31**, 933–940.
57. Friedman A.D. 2009. Cell cycle and developmental control of hematopoiesis by Runx1. *J. Cell Physiol.* **219**, 520–524.
58. Liu H., Holm M., Xie X.Q., Wolf-Watz M., Grundstrom T. 2004. AML1/Runx1 recruits calcineurin to regulate granulocyte macrophage colony-stimulating factor by Ets1 activation. *J. Biol. Chem.* **279**, 29398–29408.
59. Redondo J.M., Pfohl J.L., Hernandez-Munain C., Wang S., Speck N.A., Krangel M.S. 1992. Indistinguishable nuclear factor binding to functional core sites of the T-cell receptor delta and murine leukemia virus enhancers. *Mol. Cell Biol.* **12**, 4817–4823.
60. Bristow C.A., Shore P. 2003. Transcriptional regulation of the human *MIP-1alpha* promoter by RUNX1 and MOZ. *Nucl. Acids Res.* **31**, 2735–2744.
61. Nuchprayoon I., Meyers S., Scott L.M., Suzow J., Hiebert S., Friedman A.D. 1994. PEBP2/CBF, the murine homolog of the human myeloid AML1 and PEBP2 beta/CBF beta proto-oncoproteins, regulates the murine myeloperoxidase and neutrophil elastase genes in immature myeloid cells. *Mol. Cell Biol.* **14**, 5558–5568.
62. Petrovick M.S., Hiebert S.W., Friedman A.D., Hetherington C.J., Tenen D.G., Zhang D.E. 1998. Multiple functional domains of AML1: PU.1 and C/EBPalpha synergize with different regions of AML1. *Mol. Cell Biol.* **18**, 3915–3925.
63. Armesilla A.L., Calvo D., Vega M.A. 1996. Structural and functional characterization of the human *CD36* gene promoter: identification of a proximal *PEBP2/CBF* site. *J. Biol. Chem.* **271**, 7781–7787.
64. Puig-Kroger A., Lopez-Rodriguez C., Relloso M., Sanchez-Elsner T., Nueda A., Munoz E., Bernabeu C., Corbi A.L. 2000. Polyomavirus enhancer-binding protein 2/core binding factor/acute myeloid leukemia factors contribute to the cell type-specific activity of the *CD11a* integrin gene promoter. *J. Biol. Chem.* **275**, 28507–28512.
65. Harada Y., Harada H., Downing J.R., Kimura A. 2001. A hematopoietic-specific transmembrane protein, Art-1, is possibly regulated by AML1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **284**, 714–722.
66. Linggi B., Muller-Tidow C., van de Locht L., Hu M., Nip J., Serve H., Berdel W.E., van der Reijden B., Quelle D.E., Rowley J.D., Cleveland J., Jansen J.H., Pandolfi P.P., Hiebert S.W. 2002. The t(8;21) fusion protein, AML1 ETO, specifically represses the transcription of the p14(*ARF*) tumor suppressor in acute myeloid leukemia. *Nat. Med.* **8**, 743–750.
67. Lutterbach B., Hiebert S.W. 2000. Role of the transcription factor AML-1 in acute leukemia and hematopoietic differentiation. *Gene.* **245**, 223–235.
68. Westendorf J.J., Yamamoto C.M., Lenny N., Downing J.R., Selsted M.E., Hiebert S.W. 1998. The t(8;21) fusion product, AML-1-ETO, associates with C/EBP-alpha, inhibits C/EBP-alpha-dependent transcription, and blocks granulocytic differentiation. *Mol. Cell Biol.* **18**, 322–333.
69. Hug B.A., Ahmed N., Robbins J.A., Lazar M.A. 2004. A chromatin immunoprecipitation screen reveals protein kinase Cbeta as a direct *RUNX1* target gene. *J. Biol. Chem.* **279**, 825–830.
70. Shimada H., Ichikawa H., Nakamura S., Katsu R., Iwasa M., Kitabayashi I., Ohki M. 2000. Analysis of genes under the downstream control of the t(8;21) fusion protein AML1-MTG8: overexpression of the *TIS11b* (ERF-1, cMG1) gene induces myeloid cell proliferation in response to G-CSF. *Blood.* **96**, 655–663.
71. Huang G., Zhang P., Hirai H., Elf S., Yan X., Chen Z., Koschmieder S., Okuno Y., Dayaram T., Growney J.D., Shivdasani R.A., Gilliland D.G., Speck N.A., Nimer S.D., Tenen D.G. 2008. PU.1 is a major downstream target of AML1 (RUNX1) in adult mouse hematopoiesis. *Nat. Genet.* **40**, 51–60.
72. Namba K., Abe M., Saito S., Satake M., Ohmoto T., Watanabe T., Sato Y. 2000. Indispensable role of the transcription factor PEBP2/CBF in angiogenic activity of a murine endothelial cell MSS31. *Oncogene.* **19**, 106–114.
73. Kitabayashi I., Yokoyama A., Shimizu K., Ohki M. 1998. Interaction and functional cooperation of the leukemia-associated factors AML1 and p300 in myeloid cell differentiation. *EMBO J.* **17**, 2994–3004.
74. Aikawa Y., Nguyen L.A., Isono K., Takakura N., Tagata Y., Schmitz M.L., Koseki H., Kitabayashi I. 2006. Roles of HIPK1 and HIPK2 in AML1- and p300-dependent transcription, hematopoiesis and blood vessel formation. *EMBO J.* **25**, 3955–3965.
75. Peng Z.G., Zhou M.Y., Huang Y., Qiu J.H., Wang L.S., Liao S.H., Dong S., Chen G.Q. 2008. Physical and functional interaction of Runt-related protein 1 with hypoxia-inducible factor-1alpha. *Oncogene.* **27**, 839–847.
76. Pugh C.W., Ratcliffe P.J. 2003. Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the HIF system. *Nat. Med.* **9**, 677–684.
77. Manalo D.J., Rowan A., Lavoie T., Natarajan L., Kelly B.D., Ye S.Q., Garcia J.G., Semenza G.L. 2005. Transcriptional regulation of vascular endothelial cell responses to hypoxia by HIF-1. *Blood.* **105**, 659–669.
78. Strom D.K., Nip J., Westendorf J.J., Linggi B., Lutterbach B., Downing J.R., Lenny N., Hiebert S.W. 2000.

- Expression of the *AML-1* oncogene shortens the G(1) phase of the cell cycle. *J. Biol. Chem.* **275**, 3438–3445.
79. Peterson L.F., Boyapati A., Ranganathan V., Iwama A., Tenen D.G., Tsai S., Zhang D.E. 2005. The hematopoietic transcription factor AML1 (RUNX1) is negatively regulated by the cell cycle protein cyclin D3. *Mol. Cell Biol.* **25**, 10205–10219.
  80. Simeone A., Daga A., Calabi F. 1995. Expression of runt in the mouse embryo. *Dev. Dyn.* **203**, 61–70.
  81. Theriault F.M., Roy P., Stifani S. 2004. AML1/Runx1 is important for the development of hindbrain cholinergic branchiovisceral motor neurons and selected cranial sensory neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **101**, 10343–10348.
  82. Theriault F.M., Nuthall H.N., Dong Z., Lo R., Barnabe-Heider F., Miller F.D., Stifani S. 2005. Role for Runx1 in the proliferation and neuronal differentiation of selected progenitor cells in the mammalian nervous system. *J. Neurosci.* **25**, 2050–2061.
  83. Marmigere F., Montelius A., Wegner M., Groner Y., Reichardt L.F., Ernfors P. 2006. The Runx1/AML1 transcription factor selectively regulates development and survival of TrkA nociceptive sensory neurons. *Nat. Neurosci.* **9**, 180–187.
  84. Wang X., Blagden C., Fan J., Nowak S.J., Taniuchi I., Littman D.R., Burden S.J. 2005. Runx1 prevents wasting, myofibrillar disorganization, and autophagy of skeletal muscle. *Genes Dev.* **19**, 1715–1722.
  85. Zhu X., Yeadon J.E., Burden S.J. 1994. AML1 is expressed in skeletal muscle and is regulated by innervation. *Mol. Cell Biol.* **14**, 8051–8057.
  86. Zaidi S.K., Dowdy C.R., van Wijnen A.J., Lian J.B., Raza A., Stein J.L., Croce C.M., Stein G.S. 2009. Altered Runx1 subnuclear targeting enhances myeloid cell proliferation and blocks differentiation by activating a miR-24/MKP-7/MAPK network. *Cancer Res.* **69**, 8249–8255.
  87. Brioschi M., Fischer J., Cairoli R., Rossetti S., Pezzetti L., Nichelatti M., Turrini M., Corlazzoli F., Scarpati B., Morra E., Sacchi N., Beghini A. 2010. Down-regulation of microRNAs 222/221 in acute myelogenous leukemia with deranged core-binding factor subunits. *Neoplasia.* **12**, 866–876.
  88. Levanon D., Bernstein Y., Negreanu V., Ghozi M.C., Bar-Am I., Aloya R., Goldenberg D., Lotem J., Groner Y. 1996. A large variety of alternatively spliced and differentially expressed mRNAs are encoded by the human acute myeloid leukemia gene *AML1*. *DNA Cell Biol.* **15**, 175–185.
  89. Ghozi M.C., Bernstein Y., Negreanu V., Levanon D., Groner Y. 1996. Expression of the human acute myeloid leukemia gene *AML1* is regulated by two promoter regions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **93**, 1935–1940.
  90. Leiden J.M., Thompson C.B. 1994. Transcriptional regulation of T-cell genes during T-cell development. *Curr. Opin. Immunol.* **6**, 231–237.
  91. Perez C., Coeffier E., Moreau-Gachelin F., Wietzerbin J., Benesch P.D. 1994. Involvement of the transcription factor PU.1/Spi-1 in myeloid cell-restricted expression of an interferon-inducible gene encoding the human high-affinity Fc gamma receptor. *Mol. Cell Biol.* **14**, 5023–5031.
  92. Faisst S., Meyer S. 1992. Compilation of vertebrate-encoded transcription factors. *Nucl. Acids Res.* **20**, 3–26.
  93. Wasylyk B., Hahn S.L., Giovane A. 1993. The Ets family of transcription factors. *Eur. J. Biochem.* **211**, 7–18.
  94. Klemsz M.J., McKercher S.R., Celada A., van Bevern C., Maki R.A. 1990. The macrophage and B cell-specific transcription factor PU.1 is related to the *ets* oncogene. *Cell.* **61**, 113–124.
  95. Bee T., Swiers G., Muroi S., Pozner A., Nottingham W., Santos A.C., Li P.S., Taniuchi I., de Bruijn M.F. Nonredundant roles for *Runx1* alternative promoters reflect their activity at discrete stages of developmental hematopoiesis. *Blood.* **115**, 3042–3050.
  96. Bee T., Liddiard K., Swiers G., Bickley S.R., Vink C.S., Jarratt A., Hughes J.R., Medvinsky A., de Bruijn M.F. 2009. Alternative *Runx1* promoter usage in mouse developmental hematopoiesis. *Blood Cells Mol. Dis.* **43**, 35–42.
  97. Sroczyńska P., Lancrin C., Kouskoff V., Lacaud G. 2009. The differential activities of *Runx1* promoters define milestones during embryonic hematopoiesis. *Blood.* **114**, 5279–5289.
  98. Lam E.Y., Chau J.Y., Kalev-Zylinska M.L., Fontaine T.M., Mead R.S., Hall C.J., Crosier P.S., Crosier K.E., Flores M.V. 2009. Zebrafish *runx1* promoter-EGFP transgenics mark discrete sites of definitive blood progenitors. *Blood.* **113**, 1241–1249.
  99. Nottingham W.T., Jarratt A., Burgess M., Speck C.L., Cheng J.F., Prabhakar S., Rubin E.M., Li P.S., Sloane-Stanley J., Kong A.S.J., de Bruijn M.F. 2007. Runx1-mediated hematopoietic stem-cell emergence is controlled by a Gata/Ets/SCL-regulated enhancer. *Blood.* **110**, 4188–4197.
  100. Bee T., Ashley E.L., Bickley S.R., Jarratt A., Li P.S., Sloane-Stanley J., Gottgens B., de Bruijn M.F. 2009. The mouse Runx1 +23 hematopoietic stem cell enhancer confers hematopoietic specificity to both *Runx1* promoters. *Blood.* **113**, 5121–5124.
  101. Ng C.E., Yokomizo T., Yamashita N., Cirovic B., Jin H., Wen Z., Ito Y., Osato M. A. 2010. *Runx1* intronic enhancer marks hemogenic endothelial cells and hematopoietic stem cells. *Stem Cells.* **28**, 1869–1881.
  102. Markova E.N., Kantidze O.L., Razin S.V. 2011. Transcriptional regulation and spatial organization of the human *AML1/RUNX1* gene. *J. Cell. Biochem.* **112**, 1997–2005.
  103. Ben-Ami O., Pencovich N., Lotem J., Levanon D., Groner Y. 2009. A regulatory interplay between miR-27a and *Runx1* during megakaryopoiesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **106**, 238–243.
  104. Feng J., Iwama A., Satake M., Kohu K. 2009. MicroRNA-27 enhances differentiation of myeloblasts into granulocytes by post-transcriptionally downregulating Runx1. *Br. J. Haematol.* **145**, 412–423.
  105. Rowley J.D. 1973. Identification of a translocation with quinacrine fluorescence in a patient with acute leukemia. *Ann. Genet.* **16**, 109–112.
  106. Rowley J.D. 1998. The critical role of chromosome translocations in human leukemias. *Annu. Rev. Genet.* **32**, 495–519.
  107. Era T., Asou N., Kunisada T., Yamasaki H., Asou H., Kamada N., Nishikawa S., Yamaguchi K., Takatsuki K. 1995. Identification of two transcripts of *AML1/ETO*-fused gene in t(8;21) leukemic cells and expression of wild-type *ETO* gene in hematopoietic cells. *Genes Chromosomes Cancer.* **13**, 25–33.
  108. Era T., Asou N., Yamaguchi K., Yamasaki H., Kamada N., Nishikawa S., Takatsuki K. 1995. Expression of *AML1* and *ETO* transcripts in hematopoietic cells. *Leukemia.* **9** (Suppl 1), S26–28.

109. Wang J., Hoshino T., Redner R.L., Kajigaya S., Liu J.M. 1998. *ETO*, fusion partner in t(8;21) acute myeloid leukemia, represses transcription by interaction with the human N-CoR/mSin3/HDAC1 complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **95**, 10860–10865.
110. Lutterbach B., Westendorf J.J., Linggi B., Patten A., Moniwa M., Davie J.R., Huynh K.D., Bardwell V.J., Lavinsky R.M., Rosenfeld M.G., Glass C., Seto E., Hiebert S.W. 1998. *ETO*, a target of t(8;21) in acute leukemia, interacts with the N-CoR and mSin3 corepressors. *Mol. Cell Biol.* **18**, 7176–7184.
111. Gelmetti V., Zhang J., Fanelli M., Minucci S., Pelicci P.G., Lazar M.A. 1998. Aberrant recruitment of the nuclear receptor corepressor-histone deacetylase complex by the acute myeloid leukemia fusion partner *ETO*. *Mol. Cell Biol.* **18**, 7185–7191.
112. Downing J.R., Higuchi M., Lenny N., Yeoh A.E. 2000. Alterations of the AML1 transcription factor in human leukemia. *Semin. Cell Dev. Biol.* **11**, 347–360.
113. Zent C., Rowley J.D., Nucifora G. 1997. Rearrangements of the *AML1/CBFA2* gene in myeloid leukemia with the 3;21 translocation: *in vitro* and *in vivo* studies. *Leukemia*. **11** (Suppl 3), 273–278.
114. Nucifora G., Begy C.R., Erickson P., Drabkin H.A., Rowley J.D. 1993. The 3;21 translocation in myelodysplasia results in a fusion transcript between the *AML1* gene and the gene for *EAP*, a highly conserved protein associated with the Epstein-Barr virus small RNA *EBER 1*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **90**, 7784–7788.
115. Nguyen T.T., Ma L.N., Slovak M.L., Bangs C.D., Cherry A.M., Arber D.A. 2006. Identification of novel *Runx1* (*AML1*) translocation partner genes *SH3D19*, *YTHDF2*, and *ZNF687* in acute myeloid leukemia. *Genes Chromosomes Cancer*. **45**, 918–932.
116. Sakai I., Tamura T., Narumi H., Uchida N., Yakushijin Y., Hato T., Fujita S., Yasukawa M. 2005. Novel *RUNX1-PRDM16* fusion transcripts in a patient with acute myeloid leukemia showing t(1;21)(p36;q22). *Genes Chromosomes Cancer*. **44**, 265–270.
117. Hromas R., Shopnick R., Jumean H.G., Bowers C., Varella-Garcia M., Richkind K. 2000. A novel syndrome of radiation-associated acute myeloid leukemia involving *AML1* gene translocations. *Blood*. **95**, 4011–4013.
118. Richkind K., Hromas R., Lytle C., Crenshaw D., Velasco J., Roherty S., Srinivasiah J., Varella-Garcia M. 2000. Identification of two new translocations that disrupt the *AML1* gene. *Cancer Genet. Cytogenet.* **122**, 141–143.
119. Slovak M.L., Bedell V., Popplewell L., Arber D.A., Schoch C., Slater R. 2002. 21q22 balanced chromosome aberrations in therapy-related hematopoietic disorders: report from an international workshop. *Genes Chromosomes Cancer*. **33**, 379–394.
120. Nucifora G., Begy C.R., Kobayashi H., Roulston D., Claxton D., Pedersen-Bjergaard J., Parganas E., Ihle J.N., Rowley J.D. 1994. Consistent intergenic splicing and production of multiple transcripts between *AML1* at 21q22 and unrelated genes at 3q26 in (3;21)(q26;q22) translocations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **91**, 4004–4008.
121. Mikhail F.M., Coignet L., Hatem N., Mourad Z.I., Farawela H.M., El Kaffash D.M., Farahat N., Nucifora G. 2004. A novel gene, *FGA7*, is fused to *RUNX1/AML1* in a t(4;21)(q28;q22) in a patient with T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Genes Chromosomes Cancer*. **39**, 110–118.
122. Mikhail F.M., Serry K.A., Hatem N., Mourad Z.I., Farawela H.M., El Kaffash D.M., Coignet L., Nucifora G. 2002. *AML1* gene over-expression in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*. **16**, 658–668.
123. Roulston D., Espinosa R., 3rd, Nucifora G., Larson R.A., Le Beau M.M., Rowley J.D. 1998. *CBFA2(AML1)* translocations with novel partner chromosomes in myeloid leukemias: association with prior therapy. *Blood*. **92**, 2879–2885.
124. Paulsson K., Bekassy A.N., Olofsson T., Mitelman F., Johansson B., Panagopoulos I. 2006. A novel and cytogenetically cryptic t(7;21)(p22;q22) in acute myeloid leukemia results in fusion of *RUNX1* with the ubiquitin-specific protease gene *USP42*. *Leukemia*. **20**, 224–229.
125. Miyoshi H., Kozu T., Shimizu K., Enomoto K., Maseki N., Kaneko Y., Kamada N., Ohki M. 1993. The t(8;21) translocation in acute myeloid leukemia results in production of an *AML1-MTG8* fusion transcript. *EMBO J.* **12**, 2715–2721.
126. Imagama S., Abe A., Suzuki M., Hayakawa F., Katsumi A., Emi N., Kiyoi H., Naoe T. 2007. *LRP16* is fused to *RUNX1* in monocytic leukemia cell line with t(11;21)(q13;q22). *Eur. J. Haematol.* **79**, 25–31.
127. Ramsey H., Zhang D.E., Richkind K., Burcoglu-O'Ral A., Hromas R. 2003. Fusion of *AML1/Runx1* to copine VIII, a novel member of the copine family, in an aggressive acute myelogenous leukemia with t(12;21) translocation. *Leukemia*. **17**, 1665–1666.
128. Golub T.R., Barker G.F., Bohlander S.K., Hiebert S.W., Ward D.C., Bray-Ward P., Morgan E., Raimondi S.C., Rowley J.D., Gilliland D.G. 1995. Fusion of the *TEL* gene on 12p13 to the *AML1* gene on 21q22 in acute lymphoblastic leukemia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **92**, 4917–4921.
129. Romana S.P., Poiriel H., Leconiat M., Flexor M.A., Mauchauffe M., Jonveaux P., Macintyre E.A., Berger R., Bernard O.A. 1995. High frequency of t(12;21) in childhood B-lineage acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. **86**, 4263–4269.
130. Gamou T., Kitamura E., Hosoda F., Shimizu K., Shinohara K., Hayashi Y., Nagase T., Yokoyama Y., Ohki M. 1998. The partner gene of *AML1* in t(16;21) myeloid malignancies is a novel member of the *MTG8(ETO)* family. *Blood*. **91**, 4028–4037.
131. Huret J.L., Senon S., Bernheim A., Dessen P. 2004. An Atlas on genes and chromosomes in oncology and haematology. *Cell. Mol. Biol. (Noisy-le-grand)*. **50**, 805–807.
132. Zhang Y., Emmanuel N., Kamboj G., Chen J., Shurafa M., Van Dyke D.L., Wiktor A., Rowley J.D. 2004. *PRDX4*, a member of the peroxiredoxin family, is fused to *AML1 (RUNX1)* in an acute myeloid leukemia patient with a t(X;21)(p22;q22). *Genes Chromosomes Cancer*. **40**, 365–370.
133. Chan E.M., Comer E.M., Brown F.C., Richkind K.E., Holmes M.L., Chong B.H., Shiffman R., Zhang D.E., Slovak M.L., Willman C.L., Noguchi C.T., Li Y., Heiber D.J., Kwan L., Chan R.J., Vance G.H., Ramsey H.C., Hromas R.A. 2005. AML1-FOG2 fusion protein in myelodysplasia. *Blood*. **105**, 4523–4526.