

## НОВАЯ ИЗОФОРМА мРНК ФАКТОРА ТРАНСКРИПЦИИ Oct-1 ТРАНСКРИБИРУЕТСЯ С АЛЬТЕРНАТИВНОГО ПРОМОТОРА

© 2013 г. И. Д. Крылова<sup>1,2</sup>, Т. Н. Порцева<sup>1</sup>, С. Г. Георгиева<sup>1</sup>,  
А. Г. Степченко<sup>1</sup>, Е. В. Панкратова<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва, 119991

<sup>2</sup>Московский педагогический государственный университет, Москва, 119991

Поступила в редакцию 20.02.2013 г.

Принята к печати 02.03.2013 г.

Фактор транскрипции Oct-1, принадлежащий к семейству белков с высококонсервативным ДНК-связывающим POU-доменом, участвует в регуляции экспрессии как генов “домашнего хозяйства”, так и тканеспецифических генов. Несколько изоформ Oct-1 были описаны ранее, определена нуклеотидная последовательность их генов и соответствующие аминокислотные последовательности. В представленной работе в гене *oct-1* обнаружен новый альтернативный промотор, с которого синтезируется новая мРНК, названная *Oct-1X*. Продукт трансляции мРНК *Oct-1X* – укороченный с N-конца белок, N-концевая последовательность которого не соответствует изоформам Oct-1A или Oct-1L. Изучение экспрессии новой изоформы в тканях и клеточных линиях человека показало, что Oct-1X относится к убиквитарным изоформам, однако уровень экспрессии *Oct-1X* может сильно различаться в разных тканях человека. Методами котрансфекции и двойного люциферазного анализа установлено, что Oct-1X активирует транскрипцию как генов “домашнего хозяйства” (ген гистона H2B), так и тканеспецифических генов (ген *B29*).

**Ключевые слова:** экспрессия генов, Oct-1, альтернативные промоторы.

THE NEW ISOFORM OF OCT-1 TRANSCRIPTION FACTOR IS TRANSCRIBED FROM ALTERNATIVE PROMOTER, by I. D. Krylova<sup>1,2</sup>, T. N. Portseva<sup>1</sup>, S. G. Georgieva<sup>1</sup>, A. G. Stepchenko<sup>1</sup>, E. V. Pankratova<sup>1\*</sup> (<sup>1</sup>Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia, \*e-mail: pank@eimb.ru; <sup>2</sup>Moscow State Pedagogical University, Moscow, 119991 Russia). The Oct-1 transcription factor belongs to the family of highly conserved POU-domain proteins that participate in regulation of housekeeping and tissue-specific gene expression. Several isoforms of Oct-1 were described previously. We have found the new alternative promoter of *Oct-1* gene and the corresponding mRNA *Oct-1X*. This mRNA encodes the alternative Oct-1 isoform that has truncated N-terminus comparing to isoforms Oct-1A или Oct-1L. We explored the abundance of this isoform in human tissues and cell lines and demonstrated that it is ubiquitously expressed but its expression strongly varies in different tissues. By co-transfection and double luciferase assay we have demonstrated that Oct-1X is the activator of housekeeping (histone H2B) and tissue-specific genes (*B29*) transcription.

**Keywords:** gene expression, Oct-1, alternative promoters.

DOI: 10.7868/S0026898413040083

Фактор транскрипции Oct-1 принадлежит к семейству POU-белков, участвующих в регуляции транскрипции и дифференцировки клеток. Oct-1 содержит высококонсервативный у всех белков этого семейства ДНК-связывающий POU-домен. О важной роли Oct-1 в развитии свидетельствует ранняя гибель эмбрионов мышей с разрушенным локусом *otf-1*, в котором расположен ген *oct-1*. *oct-1* – один из генов, активируемых на самых ранних стадиях эмбрионального развития, он

экспрессируется во всех делящихся клетках эукариот и участвует в регуляции многих генов, в том числе генов “домашнего хозяйства”, включая гены мРНК, гистона H2B, а также гены, специфичные для иммунной, эндокринной и нервной системы [1]. Oct-1 играет важную роль в функционировании иммунной системы и в гемопоэзе [1–5]. Под контролем Oct-1 находятся ключевые сигнальные молекулы, вовлеченные в работу этих систем. Во-первых, Oct-1 контролирует синтез таких медиаторов, как интерлейкины 2, 3, 5, 8 и

\* Эл. почта: pank@eimb.ru

гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор. Во-вторых, Oct-1 контролирует транскрипцию генов таких рецепторов, как hCCR2 – рецептор хемоаттрактантного белка 1 моноцитов (необходим для хемотаксиса моноцитов), рецептор CD11/CD18 (определяет адгезию лейкоцитов к эндотелию). Ген кининового рецептора V(1), который экспрессируется при воспалении или отторжении ткани, содержит в промоторной области oct-сайт. В-третьих, в гемопоэтических клетках Oct-1 контролирует экспрессию генов некоторых ферментов: генов простагландин-D-синтазы человека и  $\beta$ -галактозид- $\alpha$ -2,6-сиалилтрансферазы, количество которой снижается при дифференцировке *in vitro* клеток моноцитарного ряда (линия HL-60). В-четвертых, это некоторые тканеспецифические поверхностные белки В- и Т-лимфоцитов: mb-1, B29, Lu9. Белки B29 и mb-1 – это В-клеточные мембранные белки, которые экспрессируются в процессе созревания В-клеток, а Lu9 – поверхностный гликопротеин Т- и В-клеток. В-пятых, Oct-1 контролирует гены иммуноглобулинов, которые экспрессируются только в процессе дифференцировки В-клеток, начиная с самых ранних стадий и до терминальной дифференцировки – плазматических клеток. Таким образом, Oct-1 – это критический регулятор транскрипции генов иммуноглобулинов в ходе дифференцировки В-клеток [6].

Предполагается, что Oct-1 играет очень важную роль и в регуляции эндокринной системы [1]. Влияние Oct-1 проявляется на всех уровнях функционирования эндокринной системы. Oct-1 регулирует транскрипцию гена гонадотропин-рилизинг фактора, который синтезируется в гипоталамусе и является самым верхним звеном гормональной регуляции репродуктивной функции организма. В аденогипофизе Oct-1 контролирует экспрессию генов пролактина и фактора Pit-1, который, в свою очередь, регулирует транскрипцию генов соматотропного, лактотропного и тиреотропного гормонов. В щитовидной железе Oct-1 контролирует экспрессию гена тиреоидного фактора транскрипции 1 (ТТФ1). Oct-1 взаимодействует с ядерными рецепторами гормонов, что также указывает на значимость Oct-1 для функционирования эндокринной системы. Oct-1 взаимодействует с рецептором андрогенов и регулирует работу гена *Slp*, экспрессия которого ограничена полом. Oct-1 связывается с рецептором глюкокортикоидов и в составе такого комплекса подавляет экспрессию гена гонадотропин-рилизинг фактора. Из этих данных следует, что Oct-1 участвует в гормонзависимой регуляции различных генов и является фактором, осуществляющим взаимодействие между разными гормонами путем активации или репрессии генов.

Высокий уровень транскрипции *Oct-1* выявлен в нервной трубке эмбрионов мыши (13-й день эм-

бриогенеза), но в процессе эмбрионального развития высокий уровень экспрессии *Oct-1* постепенно ограничивается только отдельными областями головного мозга. Подобное динамическое изменение экспрессии *Oct-1* в тканях зародыша свидетельствует о важной роли Oct-1 в формировании нейронов, клеток нервного гребня и их производных [7].

ДНК-связывающий белок Oct-1 подвергается сложным посттрансляционным модификациям (в основном фосфорилированию множества сайтов, расположенных как в ДНК-связывающем домене, так и в N-концевой области) [8, 9]. В зависимости от характера модификации могут изменяться как ДНК-связывающие свойства Oct-1, так и его взаимодействие с другими белками транскрипционного комплекса [1, 2, 10–13].

Существование альтернативных промоторов в гене *oct-1* и альтернативный сплайсинг его мРНК приводят к образованию нескольких изоформ Oct-1. Ранее мы показали, что помимо промотора U, с которого транскрибируются мРНК убиквитарных изоформ Oct-1A и Oct-1B, ген *oct-1* содержит тканеспецифический промотор L, который определяет синтез изоформ Oct-1L и Oct-1R у мыши и Oct-1L у человека [1, 13]. Oct-1L синтезируется только в Т- и В-лимфоцитах и в головном мозге, а Oct-1R – только в В-лимфоцитах мыши, причем на ранних стадиях дифференцировки [10, 12, 14–16].

Данные о функциях белка Oct-1 [1, 2] носят отчасти противоречивый характер в силу того, что обычно изучают общий пул белков Oct-1, а не отдельные изоформы, непосредственно вовлеченные в какой-то определенный процесс.

В гене *oct-1* мы обнаружили новый альтернативный промотор, с которого синтезируется неизвестная ранее изоформа мРНК, *Oct-1X*. 5'-конец мРНК этой изоформы отличается от уже известных *Oct-1A*, *Oct-1B* и *Oct-1L*. Характер экспрессии Oct-1X в различных тканях и клеточных линиях человека позволяет отнести эту изоформу к убиквитарным, при этом ее уровень значительно варьирует в разных тканях. Нами показано, что Oct-1X активирует транскрипцию как генов “домашнего хозяйства” (ген гистона H2B), так и тканеспецифических генов (ген *B29*).

Это принципиально новые результаты, говорящие о дополнительных механизмах регуляции экспрессии вездесущего фактора транскрипции Oct-1.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

**Клеточные линии.** Клеточные линии человека Namalva, Raji, Jurkat, K562, HeLa, HL-60, SKBR3 и MCF-7 культивировали на среде DMEM (“Sigma”) с добавлением 10%-ной эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота (“HyClone”) в

**Таблица 1.** Олигонуклеотиды, используемые для 5'-RACE

Раунд	5'-концевой олигонуклеотид	3'-концевой олигонуклеотид
I	M1	5'-aggtgagctgctgtcccac-3'
II	Mix1	5'-gttgacaggttgagattc-3'
III	Mix2	5'-gtttctgacggattgttcattc-3'

атмосфере 5% CO<sub>2</sub>. Все опыты проводили на клетках в стадии экспоненциального роста. За 16 ч до начала трансфекции клетки переносили в свежую инкубационную среду.

**Создание репортерных плазмид.** Фрагмент промотора гена гистона H2B человека получен согласно [17]. Фрагменты промоторов гена *B29* и промотора X гена *oct-1* человека получены с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) на матрице геномной ДНК человека ("Promega"). Фрагмент промотора гена *B29* мы амплифицировали с использованием праймеров:

B29-5' 5'-atactcgaggagctcagagctgcagacaacaattca-3'  
 B29-3' 5'-atattgcaagacaactccaggctccttg-3'.

Фрагменты промотора X гена *oct-1* амплифицировали с использованием праймеров:

hOct-1x-1000(d)-5' 5'-caggacaacagataaatgattatg-3'  
 exonX-3' 5'-ttcaattctcgaaacagcatcac-3'  
 exonX-3'(-250) 5'-aggttattgctttactggca-3'  
 exonX-3'(-500) 5'-agtagctgggattacaggcacg-3'.

Плазмидную ДНК выделяли с помощью набора Wizard Plus ("Promega"), структуру вставки определяли секвенированием.

**Транзиентная трансфекция и определение люциферазной активности.** Клетки линий Namalva, K562 и HeLa трансфицировали с использованием реактивов LipofectAMINE 2000 ("Invitrogene") согласно инструкции производителя. В опытах по изучению промотора X клетки трансфицировали двумя плазмидами одновременно: плазмидой (4 мкг), содержащей фрагмент исследуемого промотора и ген люциферазы светлячка (Firefly), и контрольной плазмидой pRL-CMV (0.5 мкг), содержащей ген люциферазы *Renilla* ("Promega"). Для изучения транскрипционной активности изоформ *Oct-1A* и *Oct-1X* клетки котрансфицировали конструкциями pcDNA3.1-Oct-1A-3FLAG или pcDNA3.1-Oct-1X-3FLAG с вектором pGL-3 Basic Vector, содержащим фрагмент изучаемого промотора, и контрольной плазмидой pRL-CMV в соотно-

шении 5 : 5 : 1. Суммарное содержание обеих плазмид также составляло 4 мкг. Через 48 ч клетки лизировали с помощью Reporter Lysis Buffer ("Promega"). Люциферазную активность определяли с использованием набора реактивов Dual Luciferase Reporter Assay ("Promega") в соответствии с указаниями производителя. На каждое определение брали 20 мкл клеточного лизата. Уровень экспрессии каждой конструкции рассчитывали по формуле: (сигнал люциферазы светлячка)/(сигнал люциферазы *Renilla*). Каждый опыт повторяли не менее 3 раз.

**Выделение РНК.** Суммарную РНК из линий клеток человека выделяли с помощью набора SV Total RNA isolation kit ("Promega") согласно инструкции производителя. Выход РНК определяли спектрофотометрически. Использовали также суммарную РНК из нормальных тканей человека ("Ambion", США).

**Определение 5'-концов мРНК методом 5'-RACE.** 5'-Концевые последовательности изоформ *Oct-1* определяли с использованием набора для быстрой амплификации концевых фрагментов ДНК (Mint RACE cDNA amplification set, "Евроген", Россия) согласно рекомендациям фирмы. кДНК из нормальных лейкоцитов человека амплифицировали в три раунда. В каждом раунде использовали 5'-концевые олигонуклеотиды из набора и 3'-концевые олигонуклеотиды, специфичные для *Oct-1* (табл. 1). Продукты ПЦР лигировали в вектор pAL-TA ("Евроген"), трансформировали клетки JM109, ДНК выделяли и секвенировали.

**ПЦР в реальном времени (РВ-ПЦР).** Экспрессию изоформ *Oct-1A* и *Oct-1X* в клеточных линиях человека анализировали методом обратной транскрипции-ПЦР (ОТ-ПЦР) и РВ-ПЦР. С этой целью подбирали праймеры, специфичные для каждой изоформы (табл. 2). РВ-ПЦР изоформ *Oct-1A* и *Oct-1X* проводили с использованием одновременно трех праймеров: *Oct-1A-5'-(Oct-1A-inter-ROX)-ex2* и *Oct-1X-5'-(Oct-1X-inter-Cy5)-ex2* соответственно.

**Получение ДНК-конструкций в векторах для экспрессии изоформ *Oct-1* с FLAG-эпитопами в клетках млекопитающих.** Полноразмерные кДНК изоформ *Oct-1A* и *Oct-1X* получали методом ПЦР с парами олигонуклеотидов (*Oct-1A-5'* и *Oct-1-3'*) и (*Oct-1X-5'*, *Oct-1-3'*) соответственно (табл. 2). На основе вектора pcDNA3.1(+) ("Invitrogene") получили плазмиды для экспрессии в клетках млекопитающих рекомбинантных изоформ *Oct-1* с эпитопом 3×FLAG на С-конце. Плазмидную ДНК выделяли с помощью набора Wizard Plus ("Promega"), структуру вставки определяли секвенированием.

**Таблица 2.** Олигонуклеотиды, используемые для ПЦР и ПЦР в реальном времени

Название	Нуклеотидная последовательность
Oct-1X-inter-Cy5	5'-(Cy3)ttagcttaagatggaatggttctgggcaa(BHQ2)-3'
Oct-1A-inter-ROX	5'-(ROX)tgagtctgctgctgctgccgc(BHQ2)-3'
Ex2	5'-gtttctgacggattgttcattc-3'
Oct-1A-5'	5'-tattcaaatggcggacgga-3'
Oct-1-3'	5'-cagtccaatcacactgcagagtga-3'
Oct-1X-5'	5'-cagcacgattgttgatgtg-3'

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

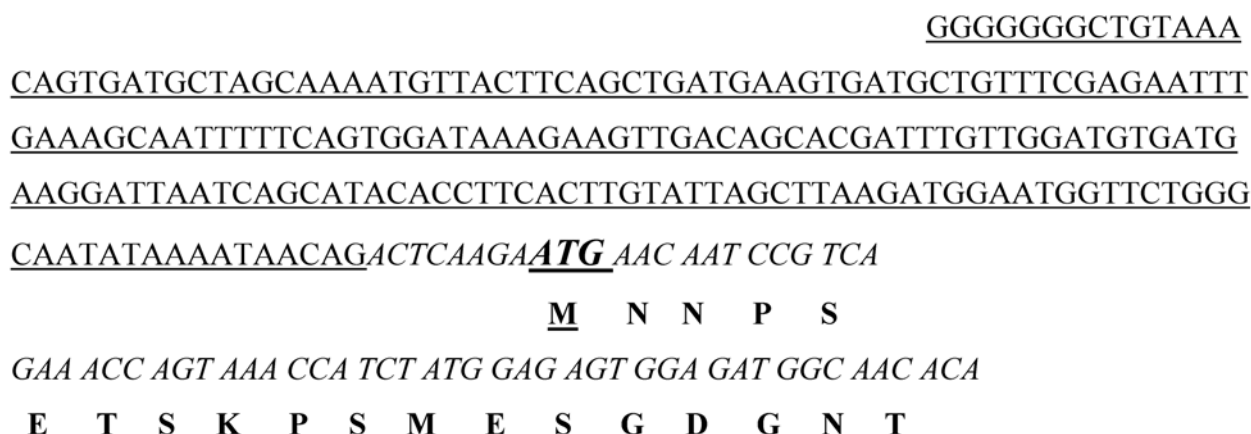
**Новая изоформа мРНК Oct-1X содержит на 5'-конце неизвестный ранее экзон и кодирует белок, укороченный с N-конца**

С помощью набора для определения полных 5'-концевых мРНК (“Евроген”) получили новую изоформу мРНК *Oct-1* человека, названную *Oct-1X*. Эта изоформа содержит новый 5'-концевой экзон, названный экзоном X, который в результате сплайсинга соединяется с экзоном 2 (рис. 1). Нуклеотидные последовательности мРНК *Oct-1X* и *Oct-1A*, начиная со второго экзона, идентичны. Экзон X гена *oct-1* располагается между альтернативными первыми экзонами 1U и 1L на расстоянии 20 т.п.н. от экзона 1U и 88 т.п.н. от экзона 1L (рис. 2). В результате сплайсинга экзонов X и 2 открытая рамка считывания сдвигается в 3'-область, и трансляция начинается с первого AUG-кодона второго экзона. Таким образом, с мРНК *Oct-1X* транслируется укороченный с N-конца белок, N-концевая последовательность которого не соответствует Oct-1A или Oct-1L.

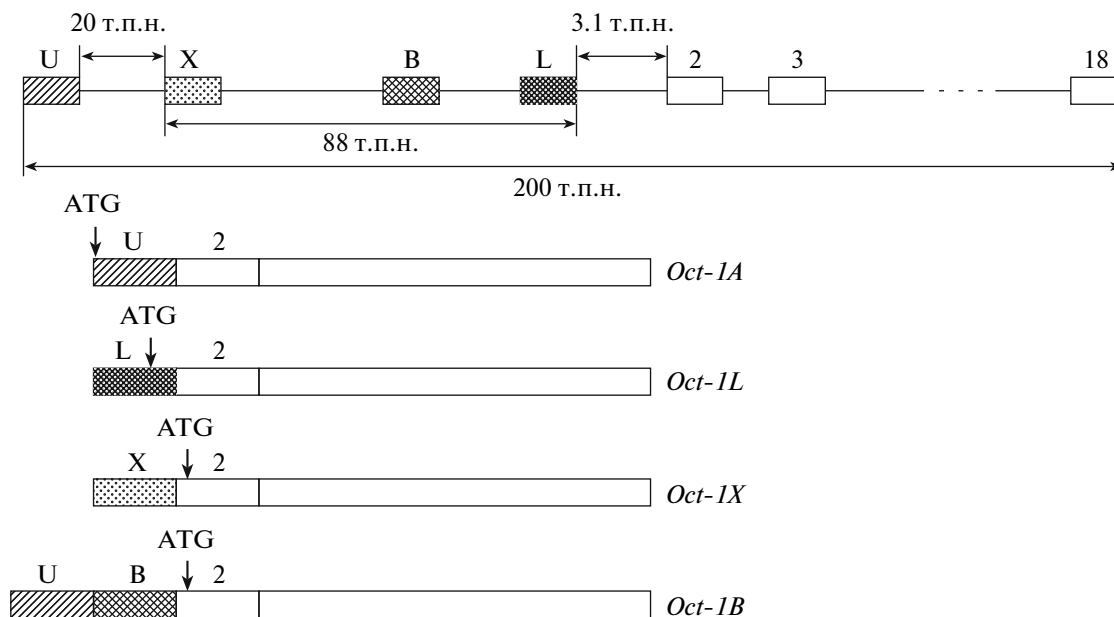
**Уровень экспрессии мРНК Oct-1X различается в тканях и клеточных линиях человека**

Методом РВ-ПЦР мы сравнили экспрессию новой изоформы *Oct-1X* и убиквитарной изоформы *Oct-1A* в тканях и клеточных линиях человека (рис. 3).

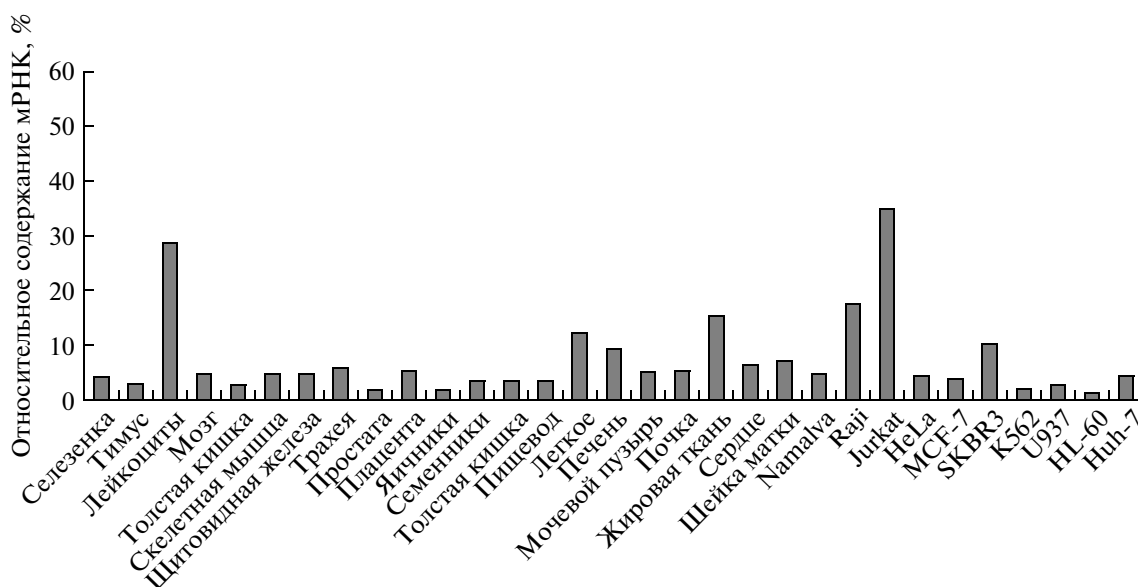
Из представленных на диаграмме данных видно, что новая изоформа *Oct-1X* представлена во всех изученных тканях и клеточных линиях человека, однако на более низком уровне, чем *Oct-1A*. Максимальная экспрессия изоформы *Oct-1X* выявлена в нормальных лейкоцитах человека и в линии Т-лимфобластных клеток человека Jurkat – 29 и 35%, соответственно, от уровня экспрессии изоформы *Oct-1A*. Экспрессия *Oct-1X* в легких, печени, шейке матки, сердце и адипоцитах человека, а также в линии недифференцированных лимфобластоидных клеток В-типа Raji и линии клеток рака молочной железы SKBR3 составила от 18 до 6.5% от экспрессии *Oct-1A*. В предстательной железе, яичниках человека, а также в линиях клеток миелоидного лейкоза человека K562 и промиелоцитарного лейкоза человека HL-60 уровень экспрессии мРНК *Oct-1X* был очень низким.



**Рис. 1.** Экспрессия новой изоформы Oct-1X в лимфоцитах человека. 5'-Концевой участок кДНК *Oct-1X*, содержащий экзон X (подчеркнут), экзоны 2 и 3 (курсив) и соответствующая N-концевая аминокислотная последовательность.



**Рис. 2.** Интрон-экзонная организация 5'-области гена *oct-1*, и схематичное изображение изоформ мРНК Oct-1 человека. Экзоны изображены прямоугольниками, буквами и цифрами указаны их обозначения и номера. ATG со стрелкой – кодоны, с которых начинается трансляция.



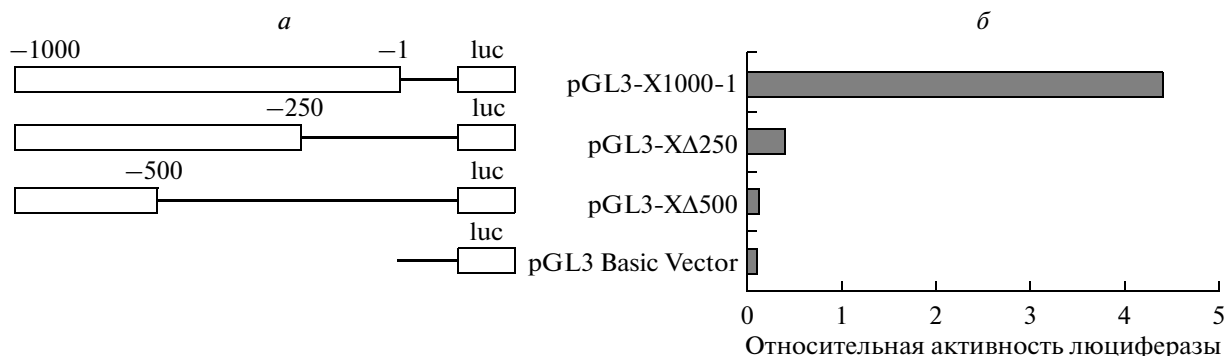
**Рис. 3.** Относительный уровень экспрессии мРНК Oct-1X в различных тканях и клеточных линиях человека. Уровень экспрессии изоформы Oct-1A принят за 100% в каждой точке.

Таким образом, данные РВ-ПЦР показывают, что изоформа Oct-1X не является тканеспецифической, ее можно отнести к убиквитарным изоформам, таким как Oct-1A и Oct-1B. Различия в уровне экспрессии *Oct-1X* в тканях и клеточных линиях отражают, вероятно, тонкую регуляцию экспрессии изоформ фактора Oct-1 на уровне транскрипции в различных тканях человека.

#### **Изоформа Oct-1X транскрибируется с нового альтернативного промотора**

Анализ структуры мРНК *Oct-1X* позволил нам предположить, что эта изоформа транскрибируется с нового альтернативного промотора.

Активность промотора X мы изучали с использованием фрагмента геномной ДНК человека, расположенного перед экзоном X на расстоя-



**Рис. 4.** Влияние 3'-концевых делеций на промоторную активность 5'-концевой нетранскрибируемой области перед экзоном X. *a* – Схема векторных конструкций pGL-3 Basic Vector с фрагментами промотора X. *б* – Промоторная активность конструкций, содержащих фрагменты промотора X гена *oct-1* в клеточной линии HeLa.

нии 1000 п.н. от старта транскрипции. Получены также фрагменты с делециями (–1000... –250) и (–1000...–500). Все фрагменты клонировали в pGL-3 Basic Vector (“Promega”). Рекомбинантными плазмидами трансфицировали клетки HeLa и определяли промоторную активность клонированных фрагментов ДНК методом двойного люциферазного анализа (Dual-Luciferase® Reporter Assay System, “Promega”).

Полученные данные подтверждают, что ген *oct-1* содержит новый промотор, расположенный перед обнаруженным нами экзоном X, локализованным между альтернативными первыми экзонами 1U и 1L. Этот промотор обладает достаточно высокой транскрипционной активностью в клетках HeLa, а делеции в его 3'-концевой области (–1...–250) и (–1...–500) приводят к резкому снижению активности – до 8.7 и 2.7% остаточной активности соответственно (рис. 4).

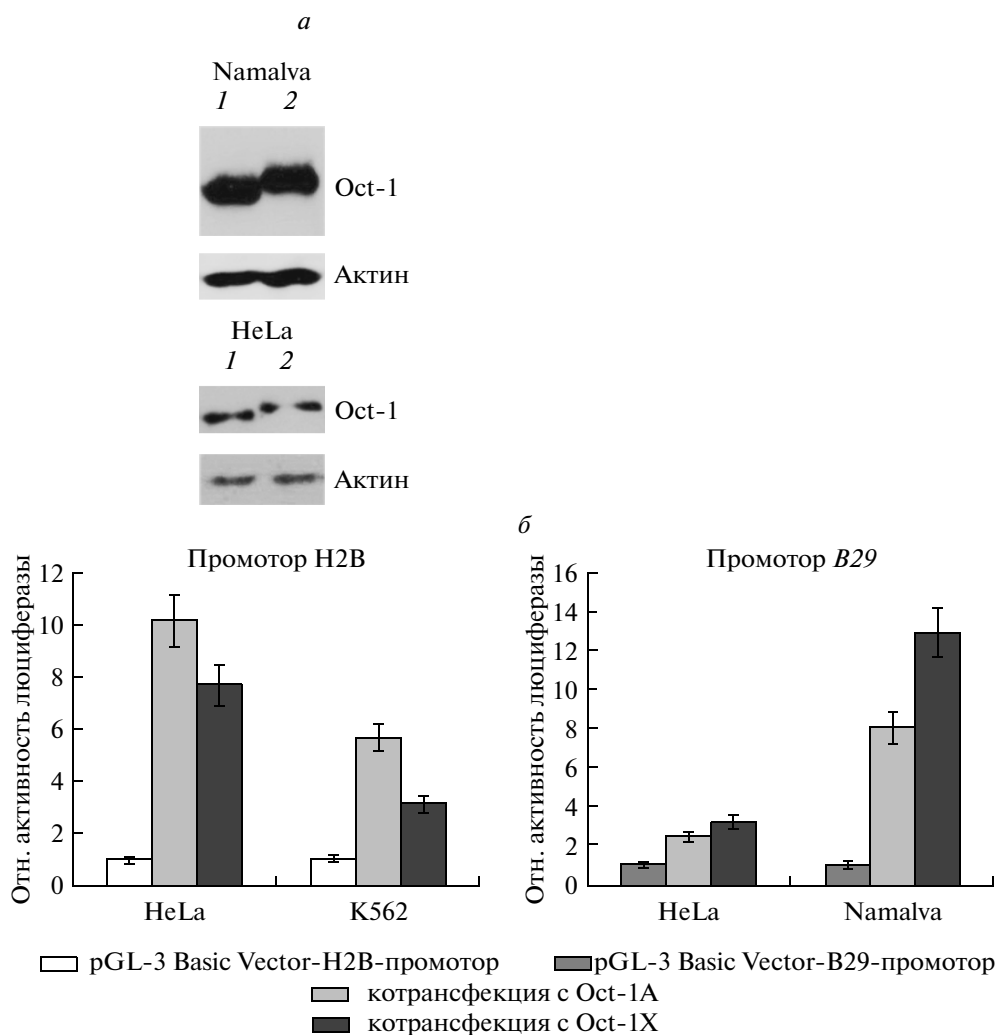
**Сравнительный анализ транскрипционной активности изоформ белка Oct-1 на промоторах гена гистона H2B и тканеспецифичного лимфоцитарного гена B29**

Транскрипционную активность новой изоформы Oct-1X и Oct-1A изучали методом котрансфекции *Oct-1X* с промоторами гена домашнего хозяйства – гена гистона H2B, и тканеспецифичного лимфоцитарного гена *B29*. кДНК изоформ Oct-1X и Oct-1A, полученные с помощью ПЦР на матрице геномной ДНК человека, были клонированы в плазмиду pcDNA 3.1 (рис. 2), а фрагменты промоторов гена гистона H2B и гена *B29* – в pGL-3 Basic Vector. Изоформы *Oct-1A* и *Oct-1X* образуются в результате альтернативного сплайсинга и отличаются только 5'-концевыми участками. В 5'-концевой области *Oct-1A* находится экзон 1U, тогда как у *Oct-1X* – экзон X. Оба экзона в результате сплайсинга соединяются с экзоном 2, но трансляция *Oct-1A* начинается с AUG-кодона в экзоне 1U, а

*Oct-1X* транслируется с AUG-кодона в экзоне 2. Котрансфекцию проводили на эпителиоподобных клетках HeLa и клетках кроветворного ряда – лимфобластоидных клетках Namalva и клетках миелоидного лейкоза K562. Методом Вестерн-блот-гибридизации показано, что уровень трансляции экзогенных изоформ *Oct-1* одинаков в эпителиоподобных клетках и клетках кроветворного ряда. Методом двойного люциферазного анализа установлено, что транскрипционная активность изоформ Oct-1X и Oct-1A зависит от типа промотора и клеточной линии. На промоторе гена *B29* транскрипционная активность изоформы Oct-1X превышает активность Oct-1A – в 1.6 раза в клетках Namalva и в 1.33 раза в клетках HeLa, тогда как на промоторе гена гистона H2B активность изоформы Oct-1A выше как в клетках HeLa, так и в K562 (в 1.32 и 1.84 раза соответственно) (рис. 5).

**ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ**

Как следует из результатов нашей работы, в клетках человека экспрессия гена *oct-1* контролируется тремя промоторами, два из которых (U и L), обнаруженные ранее, регулируют транскрипцию убиквитарных и тканеспецифических изоформ мРНК *Oct-1* соответственно. Нами показано, что ген *oct-1* человека содержит третий альтернативный промотор (промотор X), с которого транскрибируется функционально активная мРНК – *Oct-1X*. В результате альтернативной инициации транскрипции с промотора X и альтернативного сплайсинга образуется мРНК *Oct-1X*, содержащая 5'-концевой нетранслируемый экзон X, который в ходе сплайсинга соединяется с экзоном 2. мРНК *Oct-1X*, начиная со второго экзона, идентична убиквитарной изоформе *Oct-1A*. Первый AUG-кодон мРНК изоформы *Oct-1X* с открытой рамкой считывания находится во втором экзоне, поэтому в результате трансляции образуется белок, укороченный на 23 N-концевых аминокислотных



**Рис. 5.** Синтез изоформ Oct-1 и их транскрипционная активность в линиях клеток человека. *a* – Эффективность трансляции в клеточных линиях экзогенных изоформ Oct-1A и Oct-1X, содержащих эпитоп 3×FLAG. На одну дорожку наносили лизат из  $3 \times 10^4$  клеток при одинаковой эффективности трансфекции. 1 – Трансфекция Oct-1X; 2 – трансфекция Oct-1A. *b* – Транскрипционная активность изоформ Oct-1A и Oct-1X на промоторах генов гистона H2B и B29 в линиях клеток человека. Активность конструкций pGL-3-Basic Vector-H2B-промотор и pGL-3-Basic Vector-B29-промотор без котрансфекции принята за единицу.

остатка по сравнению с изоформой Oct-1A. Отсутствие функциональных сайтов на N-конце Oct-1A и независимая альтернативная регуляция экспрессии могут, вероятно, быть причиной существенных функциональных отличий между Oct-1X, Oct-1A и Oct-1L. Известна изоформа мРНК (*Oct-1B*), которая транслируется, как и *Oct-1X*, с первого AUG-кодона второго экзона, но ее мРНК синтезируется с промотора U. По-видимому, существование двух промоторов обеспечивает тонкую регуляцию синтеза изоформ Oct-1 в клетке.

Разнообразие функций Oct-1 объясняется, видимо, существованием различных изоформ данного белка. Присутствие трех промоторов в гене *oct-1* позволяет синтезировать в клетках различ-

ные изоформы белка Oct-1, которые могут значительно отличаться по своим функциям. Однако функции отдельных изоформ Oct-1 до сих пор не изучали. Неясными остаются молекулярные механизмы, определяющие функциональные различия между тканеспецифичными и убиквитарными изоформами фактора транскрипции Oct-1.

Работа выполнена с использованием приборной базы ЦКП “Геном” ИМБ РАН.

Работа выполнена при поддержке ФЦНТП (ГК № 16.512.11.2244), Программы Президиума Российской академии наук “Молекулярная и клеточная биология” и Программы “Научно-педагогические кадры инновационной России” (соглашение № 8058).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Сытина Е.В., Панкратова Е.В. 2003. Фактор транскрипции Oct-1 – пластичность и полифункциональность. *Молекуляр. биология.* **37**, 755–767.
2. Kang J., Shaky A., Tantin D. 2009. Stem cells, stress, metabolism and cancer: a drama in two Octs. *Trends Biochem. Sci.* **34**, 491–500.
3. Zhao F.Q., Zheng Y., Dong B., Oka T. 2004. Cloning, genomic organization, expression, and effect on beta-casein promoter activity of a novel isoform of the mouse Oct-1 transcription factor. *Gene.* **326**, 175–187.
4. Stepchenko A.G. 1991. The nucleotide sequence of mouse OCT-1 cDNA. *Nucl. Acids Res.* **20**, 1419.
5. Pankratova E.V., Deyev I.E., Zhenilo S.V., Polanovsky O.L. 2001. Tissue-specific isoforms of the ubiquitous transcription factor Oct-1. *Mol. Genet. Genom.* **266**, 239–245.
6. Luo J., Roeder R.G. 1995. Cloning, functional characterization, and mechanism of action of the B-cell specific transcriptional co-activator OCA-B. *Mol. Cell. Biol.* **15**, 4115–4124.
7. He X., Treacy M.N., Simmons D.M., Ingraham H.A., Swanson L.W., Rosenfeld M.G. 1989. Expression of a large family of POU-domain regulatory genes in mammalian brain development. *Nature.* **340**, 35–42.
8. Kang J., Goodman B., Zheng Y., Tantin D. 2011. Dynamic regulation of Oct1 during mitosis by phosphorylation and ubiquitination. *PLoS One.* **6**(8). e23872.
9. Mancini M., Leo E., Aluigi M., Marcozzi C., Borsi E., Barbieri E., Santucci M.A. 2012. Gadd45a transcriptional induction elicited by the Aurora kinase inhibitor MK-0457 in Bcr-Abl-expressing cells is driven by Oct-1 transcription factor. *Leuk. Res.* **36**(8), 1028–1034.
10. Magne S., Caron S., Charon M., Rouyes M.-C., Dusanter-Fourt I. 2003. STAT5 and Oct-1 forms a stable complex that modulates Cyclin D1 expression. *Mol. Cell Biol.* **23**(24), 8934–8945.
11. Zheng L., Roeder R.G., Luo Y. 2003. S phase activation of the histone H2B promoter by OCA-S, a coactivator complex that contains GAPDH as a key component. *Cell.* **114**, 255–266.
12. Shakoori A.R., Hoessli D.C., Nasir-Ud-Din. 2012. Post-translational modifications in activation and inhibition of Oct-1-DNA binding complex in H2B and other diverse genes regulation: prediction of interplay sites. *J. Cell Biochem.* **10**, 1002/jcb.24382.
13. Pankratova E.V., Sytina E.V., Luchina N.N., Krivega I.V. 2003. The regulation of the *oct-1* gene transcription is mediated by two promoters. *Immunol. Lett.* **88**, 15–20.
14. Luchina N.N., Krivega I.V., Pankratova E.V. 2003. Human Oct-1 isoform has tissue-specific expression pattern similar to Oct-2. *Immunol. Lett.* **85**, 237–241.
15. Pankratova E., Sytina E., Polanovsky O. 2006. Autoregulation of *Oct-1* gene expression is mediated by two octa-sites in alternative promoter. *Biochimie.* **88**, 1323–1329.
16. Деев И.Е., Поляновский О.Л. 2004. *oct*-гены и Oct-белки. *Молекуляр. биология.* **38**, 48–55.
17. Панкратова Е.В., Мануйлова Е.Ф., Степченко А.Г. 2009. Сайты связывания для транскрипционных факторов, отвечающих за NO-зависимое подавление транскрипции гена гистона H2B. *Молекуляр. биология.* **43**, 368–373.