ISSN 0233-7657. Биополимеры и клетка. 1998. Т. 14. № 3

Регуляція генів інтерферонів I типу та інтерферон-індукованих генів. 1. Організація промоторних регуляторних послідовностей

О. В. Карпов

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України
252143, Київ, вул. Академіка Заболотного, 154

Наведено огляд відомостей щодо характеристики регуляторних послідовностей генів інтерферонів I типу (α- і β-ІФН), а також ІФН-індукованих генів. Описано структурні характеристики доменів, які здійснюють позитивну і негативну регуляцію експресії даних генів, а також функціональні особливості таких послідовностей у складі гетерологічних промоторів. З огляду на останні дані підкреслено значення конформації регуляторних послідовностей самих по собі і в складі транскрипційних комплексів для ефективності регуляції експресії даних генів.

Вступ. Інтерферони (ІФН) являють собою гетерогенне сімейство багатофункціональних цитокінів, які, головним чином, спричинюють противірусну та антипроліферативну дію по відношенню до багатьох типів нормальних і трансформованих клітин.

В залежності від антигенних та фізико-хімічних характеристик, засобу індукції, ефективності і механізму дії ІФН підрозділяються на два типи: ІФН I типу (кислотостійкі ІФН α, β, ω та τ), що продукуються та секретуються більшістю клітин у відповідь на дію вірусів або дволанцюгових РНК, та ІФН II типу (імунний ІФН) — кислотолабільний ІФН-γ, який продукується Т-клітинами і клітинами — натуральними кілерами у відповідь на чужорідні антигени та мітогени [1]. Секретовані молекули ІФН обох типів, у свою чергу, зв'язуються зі специфічними рецепторами поверхні клітини, після чого утворений комплекс активує шляхи передачі сигналів до експресії великої кількості генів [1]. Продукти цих генів досить різноманітні. Окрім білків, що безпосередньо беруть участь у встановленні противірусного стану клітини — це ферменти, нуклеотид-зв'язуючі білки, фактори транскрипції, антигени МНС класу I, регуляторні білки, лімфоцитарні антигени, деякі цитокіни, а також ряд білків, функції яких досі не встановлені. Серед ІФН-індукованих білків, що мають противірусну активність, краще вивчені 2′,5′-олігоаденілатсинтетаза (OAS), протеїнкіназа R (PKR), білок Mx та РНК-зв'язуючий білок 9—27 [2].

У даній роботі розглядаються лише ІФН I типу. До того ж, оскільки відомості щодо ІФН-ω та ІФН-τ [3, 4] дуже обмежені, далі наводитимуться відомості відносно регуляції експресії тільки генів сімейства ІФН-α/β (*ІФН-А/В*) та генів білків, що ними індукуються, як найвивченіших на даний період.

Згідно з сучасними уявленнями, у еукаріот самим значущим рівнем регуляції експресії генів є транскрипція. На відміну від прокаріот, де головний механізм контролю експресії генів полягає у пригніченні звичайно активної транскрипційної системи, еукаріотам для виконання генетичних програм, що забезпечують їхнє функціонування, необхідно здійснювати набагато складнішу регуляцію експресії генів. У значній мірі така регуляція заснована на координованій активації груп генів, продукти яких необхідні клітинам і тканинам еукаріотичних організмів у різних ситуаціях. Такі

© О. В. КАРПОВ, 1998

умови, в свою чергу, залежать від функціонального стану організмів, стадій їхнього розвитку, факторів оточуючого середовища і т. ін. У цьому плані не є виключенням і гени *ІФН-А/В*. Перед індукцією рівень їхньої мРНК є настільки низьким, що не піддається визначенню. Але вже через годину після індукції продукуються біля 2000 транскриптів на клітину. Індукція, однак, є короткочасною: рівень мРНК ІФН досягає піку через 6—12 год після стимулу і далі швидко знижується [5, 6]. Такий імпульсний прояв синтезу мРНК призводить до короткочасної продукції α/β-ІФН.

Необхідний рівень транскрипції окремого еукаріотичного гена в конкретних умовах визначається ген-специфічним транскрипційним комплексом. Останній формується за рахунок *цис*-регуляторних мономерних та композиційних елементів геному, які входять до складу енхансерів і сайленсарів, з одного боку, і зв'язаних з ними специфічних білкових транскрипційних факторів, що знаходяться в ядрі даної клітини, — з іншого [7, 8]. При цьому істотне значення для встановлення відповідного рівня транскрипції гена мають регуляторні райони, розміщені як у 5'-фланкуючій області [9], так і в інтронах та на 3'-кінцях еукаріотичних генів [10]. В межах даного огляду наводяться відомості лише щодо структури та функцій регуляторних послідовностей генів *ІФН-А/В*, а також ІФН-індукованих генів.

У загальному випадку в індуцибельній експресії генів *ІФН-А/В* беруть участь тільки *цис*-діючі послідовності, розташовані в їхніх 5'-фланкуючих регіонах. Вивчення впливу мутацій у промоторах генів *ІФН-А/В* на їхню експресію *in vivo* дозволило визначити точну локалізацію послідовностей ДНК, необхідних для индукції ІФН-α та ІФН-β під дією вірусів [5, 6]. Такі фрагменти отримали в літературі назву VRE (virus responsive element) для генів *ІФН-А*, та IRE (interferon regulatory element) для гена *ІФН-В*.

Регуляторні послідовності гена *ІФН-В*. У дослідах з гетерологічним промоторним елементом гена *ІФН-В* людини, внесеним у клітини миші С127, показано, що для отримання індукованої відповіді необхідна і водночас достатня коротка послідовність, розміщена в положенні від −36 до −77 вище старту транскрипції [11]. Цей регіон, IRE, являє собою вірус-індуцибельний транскрипційний енхансер. Встановлено, що даний елемент необхідний також для постіндукційної репресії гена *ІФН-В* [12]. При цьому вимоги до IRE, які необхідні для досягнення максимального рівня експресії *ІФН-В*, у деякій мірі залежать від типу клітин [13]. IRE, в свою чергу, складається з позитивних і негативних регуляторних доменів (PRD і NRD), що, як було показано, підтримують стан врівноваженої репресії гена *ІФН-В* [14—16].

Регуляторна послідовність IRE гена *ІФН-В* на даний час є найвивченішою у функціональному плані порівняно з усіма іншими генами ІФН I типу. В складі IRE було ідентифіковано чотири позитивних регуляторних домени (PRD I—PRD IV) і два негативних (NRD I та NRD II) (рис. 1). Хоча кожен з цих доменів у складі їхніх множинних копій вивчався в ізольованому вигляді, інтактний промотор *ІФН-В* потребує для правильної регуляції специфічної комбінації обох елементів: позитивного і негативного. Показано, що поодинокі копії кожного з цих регуляторних елементів не виявляли здатності індукуватися під дією вірусної інфекції. У той же час присутності їхніх мультимеризованих копій, а також різних поєднань поодиноких копій виявилося достатнім для здійснення індукції на гетерологічних промоторах [17]. У складі IRE *ІФН-В* також відмічено наявність множинних повторів типу AA(A/G)(T/G)GA [13]. Показано, що мультимери AAGTGA або AAATGA, розміщені вище усіченого промотора *IFN-B*, здійснюють вірусну індукцію [18].

За допомогою аналізу делецій і точкових мутацій домен PRDI був картований у положенні між −77 та −64 [19]. Він містить у своєму складі дві копії гексамерної послідовності AAGTG(A/G) [13]. Існує припущення, що одна копія PRD I функ-

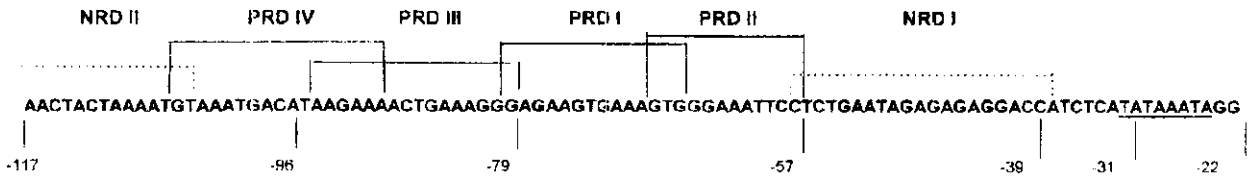

Рис. 1. Організація регуляторних послідовностей гена ІФН-В людини. Цифрами вказано відстань у нуклеотидах від початкової точки зчитування. Відмічено TATAA-бокс (TATA), позитивні регуляторні домени (PRD) і негативні регуляторні домени (NRD)

ціонально рівноцінна двом копіям цього гексамеру [19, 20]. Крім того, дані копії включаються при вірусній інфекції і в той же час одиночний гексамер, знаходячись в гетерологічному промоторі між енхансером SV40 і TATA-боксом, пригнічує транскрипцію [21, 22]. Під дією вірусної інфекції такий пригнічуючий вплив знімається.

Домен PRD II, що знаходиться в положенні між −66 и −55, був ідентифікований як елемент, який легко індукується за допомогою вірусів. Аналіз делецій і точкових мутацій показав, що цей домен функціонально відрізняється від PRD I [14, 23]. На це ж вказали і результати дослідів, у яких встановлено, що множинні копії PRD II можуть функціонувати як вірус-індуцибельний енхансер в гетерологічному промоторі [22, 24, 25]. Оскільки PRD II перекриває NRD I, точкові мутації в цьому регіоні впливають як на вихідну, так і на індуковану експресію ІФН-β [20, 25]. Встановлено, що PRD II на відміну від PRDI не пригнічує транскрипції енхансера SV40 і не індукується за допомогою ІФН [22]. До того ж PRD II виявився сильнішим транскрипційним елементом, ніж PRD I: у клітинах C127 PRD II діє як конститутивний енхансер. Послідовність PRD II подібна до асиметричного консенсусу сайта κB, що виявлений у багатьох енхансерах [26].

Регіон між нуклеотидами −77 і −37, що містить PRD I, PRD II та NRD I, виявився достатнім для здійснення індукції ІФН-β під дією вірусів на гетерологічному промоторі в клітинах C127 [11]. Ця послідовність є необхідною для індукції ІФН у всіх досліджених типах клітин, але в деяких з них тільки її присутності недостатньо для того, щоб викликати індукований вірусом синтез ІФН.

Домен PRD III локалізований в положенні між −89 та −77. У дослідах по котрансфекції встановлено, що він необхідний для вірусної індукції *ІФН-В* у клітинах HeLa і L-клітинах миші, але без нього можна обійтися у випадку клітин миші C127 [13, 18, 27]. Високий ступінь схожості між послідовностями доменів PRD I і PRD III вказує на те, що PRD III є варіантом PRD I.

Послідовність, локалізована між −104 і −91, отримала назву PRD IV. Виявилося, що цей домен потрібен для вірусної індукції ІФН-β у клітинах миші L929 [13], але не в клітинах C127 [28]. Встановлено також, що множинні копії PRD IV забезпечують як cAMP-залежне включення синтезу ІФН на гетерологічних промоторах, так і таке, що викликається вірусною інфекцією [29].

У складі IRE було ідентифіковано також два негативних регуляторних домени (NRD). Як виявилося спочатку, точкові мутації і делеції в проміжку між −55 та −37 збільшують початковий рівень транскрипції. Цей домен, який отримав назву NRD I, пригнічує конститутивну транскрипцію в разі перенесення його ближче до 3′-кінця і розміщення безпосередньо біля гетерологічного промотора. Однак точного положення 5′-кінцевої точки NRD I визначено не було, оскільки згаданий домен перекривається з PRD II, а мутації в цьому регіоні впливають як на вихідний, так і на індукований рівні транскрипції [14, 19, 30].

Для репресії *ІФН-В*, що передує його індукції, також необхідний NRD II [14, 19]. 5′-Кінцева точка домену NRD II розміщена між −210 та −104. У випадку, коли цей регіон промотора гена ІФН-В вилучений, встановлено, що початковий рівень транскрипції підвищується у 5—10 разів [28]. При картуванні геномного локуса, що містить ген *ІФН-В*, на моделі клітин людини MG63 та порівнянні картини вказаного гена, отриманої за допомогою методу футпринтингу, до і після включення виявлено розбіжності в висновках щодо точної локалізації NRD II у складі ділянки ДНК, розміщеної в проміжку від −94 до −167 [30].

Негативні регуляторні домени було ідентифіковано з використанням вірусу бичачої папіломи (BPV) як вектора в стабільно трансформованих клітинах миші C127 [14, 19, 28]. У даних дослідах трансфікуючий ген вводили в складі плазміди з постійним числом копій. Схожі результати було отримано також і в дослідах з стабільно трансфікованими клітинами HeLa. Слід, однак, відмітити, що мутації в NRD не змінювали вихідного рівня транскрипції в дослідах з короткочасної експресії гена ІФН-В людини в гетерологічній системі [18].

Хоча чітко встановлено, що ген *ІФН-В* повністю виключається на транскрипційному рівні, для зниження кількості відповідної мРНК після індукції також важливий і її швидкий розпад [12]. Вивчення гена *ІФН-В*, введеного до стабільно трансфікованої клітини миші C127, показало, що в його транскрипті містяться два різних дестабілізатори. Один з них розміщений в 3′-нетрансльованій ділянці і подібний до AU-багатого дестабілізатора, який знайдений в багатьох інших генах [31]. Інший дестабілізатор розміщений в 5′-напрямку від кодону, що припиняє трансляцію (від стоп-кодону), і виходячи з порівняння послідовностей відрізняється від дестабілізатора, багатого на AU-сполучення. Існує досить обгрунтована думка, що хоча згадані дестабілізатори і необхідні для постіндукційної репресії, але все ж цей процес повністю регуляції не піддається. Тому постіндукційне пригнічення гена *ІФН-В* відбува-

ється в результаті поєднання транскрипційної репресії та постійного швидкого розпаду транскриптів мРНК ІФН-β [17].

Регуляторні послідовності генів *ІФН-А*. На відміну від IRE *ІФН-Б*, VRE генів *ІФН-А* в функціональному відношенні вивчені менш детально. Щодо гена *ІФН-А1* людини, то досліди, проведені на стабільних або короткочасно трансформованих L-клітинах, індукованих вірусом, показали, що його транскрипція здійснюється за допомогою відносно короткого фрагмента (довжиною 46 п. н.), який отримав назву VRE-1A (рис. 2). Даний фрагмент міститься в положенні від −109 до −64 вище стартового сайта транскрипції [21, 32] і включає в себе два неповних повтори довжиною 19 п. н. — regA і regB. Встановлено, що не тільки сам VRE-1A, але й тетрамерна послідовність зі складу regA, а також тетрамерні послідовності GAAAGT (субпослідовність regB) та AAGTGA здатні забезпечувати індуцибельність репортерного гена у випадку, коли він міститься вище промотора. При застосуванні в цих дослідах мінімального промотора (тільки TATA-бокс) індукована транскрипція виявилася досить слабкою. У той же час транскрипція значно підсилювалася під дією енхансера вірусу SV40, розміщеного безпосередньо вище індуцибельного елемента. Несподіваним виявилося те, що у відсутності індукції тетрамерні regA, GAAAGT і AAGTGA (але не повний VRE *ІФН-А1*) майже цілком пригнічувати підвищення конститутивної транскрипції, викликане повтором з 72 п. н. енхансера SV40. Однак таке пригнічення знімається за допомогою вірусної інфекції. До того ж тетра-regA-послідовність взаємодіє з вірусними енхансерами після вірусної індукції — властивість, що розглядається як функціональний зв'язок енхансерів [21].

Виявлення високого ступеню гомології між регіоном (−98 — −87) генів *ІФН-А* та доменом PRD I *ІФН-В* призвело до думки про можливість існування загального шляху індукції цих генів [33—35]. Але в подальшому цей висновок було піддано сумніву. Так, було встановлено, що промотор ІФН-А1 людини містить як мінімум один вірус-відповідаючий елемент, «TG-послідовність», який відрізняється як від PRD I, так і від PRD II промотора *ІФН-В*. Тому, незважаючи на їхню подібність, зараз переважає точка зору що вірусна індукція в даних випадках здійснюється різними шляхами [36].

Щодо регуляторних послідовностей генів *ІФН-А* миші, то відомості про них ще більш обмежені. Так, показано, що 5′-фланкуюча послідовність гена *ІФН-А4* миші відіграє ключову роль в експресії цього гена [37, 38]. Згадана послідовність, хоча і має високий ступінь гомології з 5′-послідовностями інших генів *ІФН-А*, все ж виявила суттєву відмінність — наявність пурин-збагаченого регіону, відсутнього в інших генах *ІФН-А* миші [39]. Консенсус даної послідовності (GTAAA-GAAAGT) присутній також і в індуцибельному регіоні генів *ІФН-А* людини [40].

З іншого боку, встановлено, що клітини мишей, індуковані вірусом хвороби Ньюкасла (ВХН), продукують α4-мРНК на рівні, значно більшому, ніж мРНК інших генів *ІФН-А* миші [39]. До того ж, як далі було показано, різниця у відносних рівнях індивідуальних мРНК генів *ІФН-А* миші обумовлена відмінностями в транскрипційній силі відповідних промоторних регіонів [41]. Подальше вивчення промотора гена *ІФН-А4* миші дозволило ідентифікувати в його складі регіон, визначений як вірус-індуцибельний елемент (IE-A4). Останній знаходиться в положенні від −109 до −75 і, як виявилося, має високий ступінь гомології з VRE-1A та IRE *ІФН-В* людини [42]. Показано також, що IE-A4 містить у своєму складі індуцибельний (від −109 до −196) і конститутивний (від −96 до −88) домени і що тандемний повтор послідовності AGTGAA, яка представлена в складі IE-A4 у двох

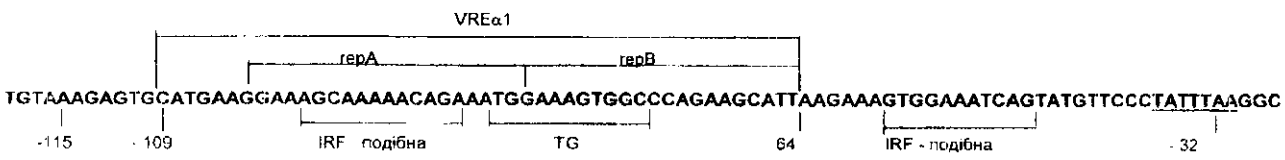

Рис. 2. Організація регуляторних послідовностей гена ІФН-А1 людини. Цифрами вказано відстань в нуклеотидах від початкової точки зчитування. Відмічено TATAA-бокс (TATA), послідовності VRE, regA та regB, а також TG-послідовність і IRF-подібні послідовності

копіях, підвищує як конститутивну, так і індуцибельну експресію і гомологічних, і гетерологічних промоторних регіонів, у той час як аналог згаданої послідовності — AATGAA — забезпечує тільки індуцибельну експресію [42]. Слід зауважити, що послідовність AGTGAA міститься також у складі IRE *ІФН-В*, регуляторних регіонів ряду ІФН-індукованих генів та декількох генів, експресія яких не пов'язана з вірусною інфекцією [43, 44].

На відміну від гена *ІФН-А4*, який добре експресується у клітинах L929 при індукції за допомогою ВХН, ген *ІФН-А6* такої здатності позбавлений. Але при цьому останній краще експресується у первинних макрофагах та в макрофаг-споріднених клітинних лініях [37, 41, 42]. Такий дефект індуцибельності промотора *ІФН-А6* у клітинах L929, як було експериментально доведено, пояснюється заміною у його складі двох основ G в положеннях −103 та −94 на T та A відповідно [45].

Нещодавно в складі геномного фрагмента миші довжиною 40 тис. п. н. було ізольовано три нових гени ІФН-α, які отримали назви *ІФН-А7*, *ІФН-А8* та *ІФН-А11* [46—48]. Виявилося, що всі вони кодують біологічно активні білки. При вивченні впливу ДНКазної обробки на експресію гена *ІФН-А11* у клітинах L929 встановлено, що в порівнянні з *ІФН-А4* та *ІФН-А2* згаданий ген індукується за допомогою ВХН дуже слабо [39, 46]. Було відмічено сильну гомологію між 5′-фланкуючими послідовностями промоторів генів *ІФН-А4* та *ІФН-А11*, особливо в регіоні від −109 до −64, де саме і міститься індуцибельний елемент. Фактично ці регіони відрізняються між собою тільки заміною A → → G в положенні −78. Виявлено негативний ефект згаданих мутацій на ВХН-індуковану транскрипцію промотора *ІФН-А11* у клітинах L929. Зменшення рівня експресії вказаного гена після індукованої експресії пояснюють присутністю негативно діючих послідовностей, локалізованих вище індуцибельного елемента.

Регуляторні послідовності ІФН-індукованих генів. Як уже згадувалося, участь ІФН в фізіологічних процесах клітин здійснюється за рахунок стимуляції транскрипції генів, що кодують різноманітні білки. Деякі з таких білків є транскрипційними факторами, які беруть участь у регуляції експресії генів, у тому числі і генів ІФН [49]. Це призводить до формування складної генної мережі, регулюючої функціонування системи ІФН.

Гени, що індукуються у відповідь на дію ІФН І типу, здатні до експресії не лише таким чином. Так, певна група згаданих генів може бути прямо індукована за допомогою дволанцюгових РНК, вірусів, ІФН-γ та фактора некрозу пухлин (ФНП-α) в умовах, коли дія самого ІФН виключена [50].

Промотори ІФН-індукованих генів містять елемент з консенсусом (G/A)GGAAAN(N)GAAACT, який отримав назву ISRE (interferon stimulated response element). Виявилося, що цей елемент є необхідним і водночас достатнім для індукції таких генів під дією ІФН І типу [51]. У свою чергу ISRE входить до складу специфічної консервативної регуляторної послідовності довжиною біля 30 п. н. (interferon response sequence, IRS) [52]. Цієї послідовності достатньо для здійснення індуцибельності за допомогою ІФН-α, ІФН-γ, poly(I)-poly(C) та ВХН. Було відмічено схожість послідовностей згаданого консенсусу з VRE та IRE генів *ІФН-А/В*. До того ж показано, що повтори гексамерної послідовності (AGTGAA), що міститься як в ISRE, так і в промоторах *ІФН-А* та *ІФН-В*, у клітинах Vero функціонують не тільки як ІФН-, але й вірус-індуцибельний елемент [53]. Виходячи з цих даних зроблено висновок стосовно того, що перекривання між індукцією ІФН та індукцією poly(I)-poly(C) і вірусу забезпечується дією саме згаданих *цис*-діючих послідовностей ДНК (ISRE або гексамерних повторів).

Підсумовуючи викладене вище щодо структурно-функціональних властивостей регуляторних послідовностей генів *ІФН-А/В* та ІФН-індукованих генів можна вирізнити деякі загальні тенденції. По-перше, в усіх згаданих випадках у регуляції генної експресії задіяні досить короткі послідовності ДНК.

При цьому встановлено, що елементам обох зазначених типів генів притаманний значний ступінь подібності, хоча існують і досить суттєві відмінності. Ці послідовності, що є сайтами зв'язування багаточисельних транскрипційних білкових факторів, зумовлюють процес транскрипції за рахунок утворення з останніми великої кількості ДНК-білкових контактів, забезпечуючи побудову активного тракскрипційного комплексу.

Щодо загальної довжини як IRE, VRE та ISRE, так і подібних гексануклеотидних послідовностей у їхньому складі, необхідно відмітити тенденцію до еволюційного зменшення розміру таких транскрипційно значущих ділянок в порівнянні з генами мікроорганізмів. Дане явище було відмічено на прикладі інших сайтів зв'язування транскрипційних факторів, а саме: TATA-боксів [54]. При цьому встановлено, що такі сайти характеризуються значними конформаційними відмінностями від ДНК у В-формі з випадковою послідовністю, тобто з меншим кутом спірального обертання, коротшою відстанню між сусідніми парами основ вздовж вісі

спіралі, ширшою малою боріздкою та вужчою великою. Беручи до уваги значний ступінь блочності розташування АТ-пар у регуляторних ділянках IRE, VRE та ISRE, можна з деякою певністю припустити, що згадані конформаційні властивості будуть притаманні також і даним елементам. Такі властивості, в свою чергу, поряд з унікальними конформаційними параметрами транскрипційних білкових факторів можуть робити суттєвий внесок у специфічність ДНК-білкової взаємодії при утворенні транскрипційних комплексів.

На важливість конформації регуляторних послідовностей генів *ІФН-А/В* та ІФН-індукованих генів вказують останні дані, отримані при вивченні транскрипційного комплексу промотора *ІФН-В*. Так, показано, що для вірусної індукції, транскрипційного синергізму і укладки енхансеосоми *ІФН-В in vitro* необхідне спіральне фазування сайтів зв'язування індивідуальних транскрипційних факторів у складі цього енхансера [55]. Це було доведено за допомогою штучно сконструйованих промоторів *ІФН-В*, у яких половина або цілий виток спіралі ДНК були розміщені між індивідуальними PRD. Виявилося, що енхансери, інактивовані вставкою половини витка спіралі, можуть бути реінактивовані додаванням другої половини витка спіралі. Останнє повністю відновлювало нормальне спіральне фазування сайтів зв'язування транскрипційних факторів. З іншого боку, методом спектроскопії кругового дихроїзму і за допомогою топоізомеразного тесту показано, що один з білкових транскрипційних факторів — HMG I(Y) — при зв'язуванні з сайтом PRD II IRE змінює структуру ДНК, хоча природу локальних конформаційних змін не встановлено [56]. І, нарешті, показано, що сайт PRD II сам по собі містить характерне вигинання на 20° у напрямку малої боріздки, обумовлене нуклеотидним складом, у той час як зв'язування HMG I(Y) з PRD II призводить до зменшення вигинання до 7° [57]. Таке конформаційне підстроювання, в свою чергу, є необхідною умовою функціонування транскрипційного комплексу.

Таким чином, загальні висновки огляду даних щодо регуляторних послідовностей генів *ІФН-А/В* та ІФН-індукованих генів можуть полягати, по-перше, у виявленні таких властивостей останніх, як досить невеликі розміри і значний ступінь подібності одне одному, і, по-друге, у відзначенні важливості конформаційного стану даних послідовностей у кожному окремому випадку для забезпечення ефективного функціонування транскрипційного комплексу.

З огляду на це вважається, що подальший прогрес у вивченні тонких механізмів, які лежать в основі регуляції генів *ІФН-А/В* та ІФН-індукованих генів, у великій мірі залежить від встановлення конформаційних властивостей регуляторних послідовностей згаданих генів як самих по собі, так і в комплексі зі специфічними білковими регуляторними факторами.

А. В. Карпов

Регуляция генов интерферонов I типа и интерферон-индуцируемых генов. 1. Организация промоторных регуляторных последовательностей

Резюме

Представлен обзор сведений, касающихся характеристики регуляторных последовательностей генов интерферонов I типа (α- и β-ИФН), а также ИФН-индуцируемых генов. Описаны структурные характеристики доменов, осуществляющих позитивную и негативную регуляцию экспрессии данных генов, а также функциональные особенности таких последовательностей в составе гетерологичных промоторов. Принимая во внимание последние данные, подчеркнуто значение конформации регуляторных последовательностей самих по себе и в составе транскрипционных комплексов для эффективности регуляции экспрессии данных генов.

A. V. Karpov

Regulation of the type I interferon genes and interferon-inducible genes. 1. Organization of the promoter regulatory sequences

Summary

A review of information concerning the regulatory motifs in the genes coding the I type interferons (α- and β-IFNs) and IFN-inducible genes is presented. The structural properties of the domains realizing both positive and negative expression regulation of these genes as well as the junctional peculiarity of such sequences in heterologous promoter structures have been described. Taking into account the novel data the significance of regulatory sequences conformation above and in transcriptional complexes for the effectivity of the interferon genes expression is emphasized.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *De Maeyer E., De Macyer-Guignard J.* Interferons and other regulatory cytokines.—New York: John Wiley and Sons, 1988.—P. 24—28.
2. *Staeheli P.* Interferon-induced proteins and the antiviral state // Adv. Virus. Res.—1990.—38.—P. 147—200.
3. *Hauptmann R., Swetly P.* A novel class of human type I interferon // Nucl. Acids Res.—1985.—13.—P. 4739—4749.
4. *Roberts R. M., Leaman D. W., Gross L. C.* Role of interferons in maternal recognition of pregnancy in raminants // Proc. Soc. Exp. Biol. Med.—1992.—200.—P. 7—18.
5. *Maniatis T., Goodbourn S., Fischer J. A.* Regulation of inducible and tissue-specific gene expression // Science.—1987.—236.—P. 1237—1245.
6. *Taniguchi T.* Regulation of cytokine gene expression // Annu. Rev. Immunol.—1988.—6.—P. 439—464.
7. *Wingender E.* Gene expression in eukaryotes.—Weinheim: VCH, 1993.—430 p.
8. *Kel O. V., Romaschenko A. G., Kel A. E. et al.* A compilation of composite regulatory elements affecting gene transcription in vertebrates // Nucl. Acids Res.—1995.—23.—P. 4097—4103.

9. *Hernandez-Munain C., Krangel M. S. c-Myb* and core-binding factor/PEBP2 display functional synergy but bind independently to adjacent sites in the T-cell receptor δ enhancer // Mol. Cell Biol.—1995.—**15**.—P. 3090—3099.
10. *Pongubala J. M. R., Nagulapalli S., Klemsz M. J. et al.* PU-1 recruits a second nuclear factor to a site important for immunoglobulin-κ-3′ enhancer activity // Ibid.—1992.—**12**.—P. 368—378.
11. *Goodbourn S. E. Y., Zinn K., Maniatis T.* Human β-interferon gene expression is regulated by an inducible enhancer element // Cell.—1985.—**41**.—P. 509—520.
12. *Whittemore L.-A., Maniatis T.* Postinduction turnoff of beta-interferon gene expression // Mol. Cell Biol.—1990.—**10**.—P. 1329—1337.
13. *Fujita T., Ohno S., Yasumitsu H., Taniguchi T.* Delimination of DNA sequences required for the regulated expression of human interferon-β gene // Cell.—1985.—**41**.—P. 489—496.
14. *Goodbourn S., Burstein H., Maniatis T.* The human β-interferon gene enhanser is under negative control // Ibid.—1986.—**45**.—P. 601—610.
15. *Clark A. R., Docherty K.* Negative regulation of transcription in eukaryotes // Biochem. J.—1993.—**296**.—P. 521—541.
16. *Nourbakhsh M., Hoffmann K., Hauser H.* Interferon-β promoters contain a DNA element that acts as a position-independent silincer on the NF-κB site // EMBO J.—1993.—**12**.—P. 451—459.
17. *Maniatis T., Whittemore L. A., Du W., Fan C. M. et al.* Transcriptional regulation / Ed. S. McKnight, K. Yamamoto.—New York: Cold Spring Harbor Lab. press, 1992.—P. 1193—1220.
18. *Fujita T., Shibuya H., Hotta H. et al.* Interferon-β gene regulation: tandemly repeated sequences of a synthetic 6bp oligomer function as a virus-inducible enhancer // Cell.—1987.—**49**.—P. 357—367.
19. *Goodbourn S., Maniatis T.* Overlapping positive and negative regulatory domains of the human β-interferon gene // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1988.—**85**.—P. 1447—1451.
20. *Keller A., Maniatis T.* Identification of an inducible factor that binds to a positive regulatory element of the human β-interferon gene // Ibid.—P. 3309—3313.
21. *Kuhl D., de la Fuente J., Chaturvedi M. et al.* Reversible silencing of enhancers by sequences derived from the human IFN-α promoter // Cell.—1987.—**50**.—P. 1057—1069.
22. *Fan C.-M., Maniatis T.* Two different virus-inducible elements are required for human interferon-β gene regulation // EMBO J.—1989.—**8**.—P. 101—110.
23. *Taniguchi T.* Regulation of cytokine gene expression // Ann. Rev Immunol.—1988.—**6**.—P. 439—464.
24. *Fujita T., Kimura Y., Miyamoto M. et al.* Induction of endogenous IFN-α and IFN-β genes by a regulatory transcription factor, IRF-1 // Nature.—1989.—**337**.—P. 270—272.
25. *Visvanathan K. V., Goodbourn S.* Double-stranded RNA activates binding of NF-κB to an inducible element in human β-interferon promoter // EMBO J.—1989.—**8**.—P. 1129—1138.
26. *Lenardo M. J., Baltimore D.* NF-κB: A pleiotropic mediator of inducible and tissue-specific gene control // Cell.—1989.—**58**.—P. 227—229.
27. *LeBlanc J.-F., Cohen L., Rodrigues M., Hiscott J.* Synergism between distinct enhanson domains in viral induction of human beta interferon gene // Mol. Cell Biol.—1990.—**10**.—P. 3987—3993.
28. *Zinn K., DiMaio D., Maniatis T.* Identification of two distinct regulatory regions adjacent to the human β-interferon gene // Cell.—1983.—**34**.—P. 865—879.
29. *Du W., Maniatis T.* An ATF/CREB element is required for virus induction of the human interferon-β gene // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1992.—**89**.—P. 2150—2154.
30. *Zinn K., Maniatis T.* Detection of factors that interact with the human β-interferon regulatory region *in vivo* by DNAase I footprinting: Dissociation and binding correlate with gene activity // Cell.—1986.—**45**.—P. 611—618.
31. *Brawerman G.* mRNA decay: Finding the right targets // Ibid.—1989.—**57**.—P. 9—10.
32. *Ryals J., Dierks P., Ragg H., Weissmann C.* A 46-nucleotide promoter segment from an IFN-α gene renders an unrelated promoter inducible by virus //Ibid.—1985.—**41**.—P. 497—507.
33. *Miyamoto M., Fujita T., Kimura Y. et al.* Regulated expression of a gene encoding a nuclear factor, IRF-1, that specifically binds to IFN-β gene regulatory elements // Ibid.—1988.—**54**.—P. 903—913.
34. *Harada H., Willison K., Sakakibara J. et al.* Absence of type I IFN system in EC cells: transcriptional activator (IRF-1) and repressor (IRF-2) genes are developmentally regulated // Ibid.—1990.—**63**.—P. 303—312.
35. *Reis L. F. L., Harada H., Wolchok J. D. et al.* Critical role of a common transcription factor IRF-1 in the regulation of IFN-β and IFN-inducible genes // EMBO J.—1992.—**11**.—P. 185—193.
36. *MacDonald N. J., Kuhl D., Maguire D. et al.* Different pathways mediate virus inducibility of the human IFN-α1 and IFN-β genes // Cell.—1990.—**60**.—P. 767—779.
37. *Au W.-C., Raj N. B. K., Pine R., Pitha P. M.* Distinct activation of murine interferon-α promoter region by IRF-1/ISGF-2 and virus infection // Nucl. Acids Res.—1992.—**20**.—P. 2877—2884.
38. *Au W.-C., Su Y., Raj N. B. K., Pitha P. M.* Virus-mediated induction of IFNA gene requires cooperation between multiple binding factors in the IFNA promoter region // J. Biol. Chem.—1993.—**268**.—P. 24032—24040.
39. *Kelley K. A., Pitha P. M.* Characterization of a murine interferon gene locus. II. Differential expression of α-interferon genes // Nucl. Acids Res.—1985.—**13**.—P. 825—839.
40. *Megyeri K., Au W.-C., Rosztochy I. et al.* Stimulation of interferon and cytokine gene expression by imiquimod and stimulation by Sendai virus utilize similar signal transduction pathways // Mol. Cell Biol.—1995.—**15**.—P. 2207—2218.
41. *Bisat F., Raj N. B. K., Pitha P. M.* Differential and cell type specific expression of murine alpha-interferon genes is regulated on the transcriptional level // Nucl. Acids Res.—1988.—**16**.—P. 6067—6083.
42. *Raj N. B. K., Israeli R., Kellum M., Pitha P. M.* Upstream regulatory elements of murine α_4-interferon gene confer inducibility and cell type-restricted expression // J. Biol. Chem.—1989.—**264**.—P. 11149—11157.
43. *Nabel G., Baltimore D.* An inducible transcription factor activates expression of human immunodeficiency virus in T cells // Nature.—1987.—**326**.—P. 711—713.
44. *Schirm S., Jiricny J., Schaffner W.* The SV40 enhancer can be dissected into multiple segments, each with a different cell type specificity // Genes and Develop.—1987.—**1**.—P. 65—74.
45. *Raj N. B. K., Au W.-C., Pitha P. M.* Identification of a novel virus-responsive sequence in the promoter of murine interferon-α genes // J. Biol. Chem.—1991.—**266**.—P. 11360—11365.
46. *Coulombel C., Vodjdani G., Doly J.* Isolation and characterization of a novel interferon-α-encoding gene, IFN-α11, within a murine IFN claster // Gene.—1991.—**104**.—P. 187—195.

47. *Dion M., Vodjdani G., Doly J.* Sequence and expression of a novel murine interferon-alpha gene. Honology with enhancer elements in the regulatory region of the gene // Biochem. and Biophys. Res. Communs.—1986.—**138**.—P. 826—834.
48. *Navarro S., Dion M., Vodjdani G. et al.* Isolation and characterization of a functional murine interferon alpha gene which is not expressed in fibroblasts uponvirus induction // J. Gen. Virol.—1989.—**70**, N 5.—P. 1381—1389.
49. *Harada H., Takahashi E., Itoh S. et al.* Structure and regulation of the human interferon regulatory factor 1 (IRF-1) and IRF-2 genes: Implications for a gene network in the interferon system // Mol. Cell Biol.—1994.—**14**.—P. 1500—1509.
50. *Wathelet M. G., Berr P. M., Huez G. A.* Regulation of gene expression by cytokines and virus in human cells lacking the type-1 interferon locus // Eur. J. Biochem.—1992.—**206**.—P. 901—910.
51. *Reich N., Evans B., Levy D. et al.* Interferon-induced transcription of a gene encoding a 15-kDa protein depends on an upstream enhancer element // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1987.—**84**.—P. 6394—6398.
52. *Reid L. E., Brasnett A. H., Gilbert C. S. et al.* A single DNA response element can confer inducibility by both α- and β-interferons // Ibid.—1989.—**86**.—P. 840—844.
53. *Raj N. B. K., Engelhardt J., Au W.-C. et al.* Virus infection and interferon can activate gene expression through a single synthetic element, but endogenous genes show distinct regulation // J. Biol. Chem.—1989.—**264**.—P. 16658—16666.
54. *Пономаренко М. П., Пономаренко Ю. В., Кель А. Э. и др.* Компьютерный анализ конформационных особенностей ДНК TATA-боксов промоторов эукариот // Молекуляр. биология.—1997.—**31**.—С. 733—740.
55. *Thanos D., Maniatis T.* Virus induction of human IFNβ gene expression requires the assembly of an enhanceosome // Cell.—1995.—**83**.—P. 1091—1100.
56. *Nissen M. S., Reeves R.* Changes in superhelicity are introduced into closed circular DNA by binding of high mobility group protein I/Y // J. Biol. Chem.—1995.—**270**.—P. 4355—4360.
57. *Falvo J. V., Thanos D., Maniatis T.* Reversal of intrinsic DNA bends in the IFN-β gene enhancer by transcription factors and the architectural protein HMG I(Y) // Cell.—1995.—**83**.—P. 1101—1111.

Надійшла до редакції 27.11.97