

**Исследование роли промотора гена *Pou5f1*(Oct4) в регуляции экспрессии
окружающих его генов**

Научный руководитель – Томилин Алексей Николаевич

Ермакова Вероника Владимировна

Аспирант

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: v.ermakova@incras.ru

Исследования гена *Pou5f1* (или Oct4) начались ещё с конца 80-ых годов. Его центральная роль в поддержании и индукции плюрипотентного состояния клеток на данный момент хорошо известна [1]. Однако, неясна эволюционная обусловленность расположения гена *Pou5f1* в кластере с высокой плотностью генов, активно транскрибирующихся в неплюрипотентных клетках. Ведь экспрессия *Pou5f1* в неплюрипотентных клетках может приводить к аномалиям развития, или быть ассоциирована с канцерогенезом [2].

С развитием новых молекулярно-биологических методов было показано, что 2-3% всех человеческих коровых промоторов могут проявлять энхансерную активность [3]. В то же время с помощью метода CREST-seq для гена *Pou5f1* было выявлено 41 ранее неизвестных цис-регуляторных элементов (CRE), 17 из которых являлись промоторами других генов [4]. Промоторы с энхансерной активностью были определены как эПромоторы. Однако, методы идентификации CRE имеют ряд ограничений [5], так как отношения и состав группы взаимодействующих промоторов зависит от типа и состояния клеток. По ряду признаков промотор *Pou5f1* может сам выступать в роли эПромотора.

В данном исследовании была осуществлена биаллельная делеция промотора *Pou5f1* в эмбриональных стволовых клетках (ЭСК) мыши, с сохранением плюрипотентных свойств клеток за счет внедрения в дистальное геномное положение функциональной копии гена *Pou5f1*. За исключением некоторых морфологических отличий, полученные ЭСК обладали сходными с ЭСК дикого типа характеристиками, продолжали нормально пролиферировать, и экспрессировали маркеры плюрипотентности: Oct4, Nanog, Sox2, Klf4, и Rex1. В сравнении с контролем ЭСК *Pou5f1^{Δ/Δ}Rosa26^{Pou5f1/+}* показали более равномерное распределение *Klf4*, а также более высокий уровень экспрессии Nanog.

Результаты данного исследования подтверждают определенные ранее границы *Pou5f1*, а полученные ЭСК послужат незаменимой моделью для изучения влияния CRE, расположенных в пределах гена *Pou5f1* на экспрессию окружающих его генов, что может внести вклад в развитие новых направлений тканезаместительной терапии и понимания природы некоторых патологий.

Источники и литература

- 1) Niwa H. et al. Quantitative expression of Oct-3/4 defines differentiation, dedifferentiation or self-renewal of ES cells //Nature genetics. 2000. V. 24. № 4. P. 372-376.
- 2) Aoto T. et al. Nuclear and chromatin reorganization in the MHC-Oct3/4 locus at developmental phases of embryonic stem cell differentiation //Developmental biology. 2006. V. 298. №. 2. P. 354-367.
- 3) Dao L.T. et al. Genome-wide characterization of mammalian promoters with distal enhancer functions //Nature genetics. 2017. V. 49. № 7. P. 1073

- 4) Diao Y. et al. A tiling-deletion-based genetic screen for cis-regulatory element identification in mammalian cells //Nature methods. 2017. V. 14. № 6. P. 629-635.
- 5) Mitchelmore J. et al. Functional effects of variation in transcription factor binding highlight long-range gene regulation by epromoters //Nucleic acids research. 2020. V. 48. №. 6. P. 2866-2879.