

Клеточная модель для изучения цис-регуляторных свойств промоторной области гена *Pou5f1****Ермакова Вероника Владимировна****Аспирант*

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: v.ermakova@incras.ru

Роль гена *Pou5f1* в поддержании и индукции плюрипотентного состояния эмбриональных и индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ЭСК и iPСК) давно известна, но структура регуляторной сети, в которую он вовлечён, не до конца изучена. В частности, не ясна функциональная значимость расположения гена *Pou5f1* в области кластера с высокой плотностью генов, экспрессирующихся в неплюрипотентных клетках [3]. Тогда как его экспрессия в неплюрипотентных клетках ассоциирована с аномалиями развития, и канцерогенезом [1].

По мере развития молекулярно-биологических методов было показано, что 2-3% всех коровых промоторов человека могут проявлять энхансерную активность [2], и по ряду признаков промотор *Pou5f1* может обладать подобными свойствами.

Для подтверждения гипотезы была получена уникальная модель на основе ЭСК мыши, которая позволит охарактеризовать совершенно новую активность гена *Pou5f1*, а не его продукта - транскрипционного фактора Oct4. В полученных ЭСК промотор и первый экзон гена *Pou5f1* удалены в обоих аллелях, и произведена вставка полноразмерного *Pou5f1* (включая промотор, проксимальный и дистальный энхансеры) в локус гена *Rosa26*, что позволило обеспечить схожий уровень экспрессии гена в получаемых клеточных линиях и подвергнуть анализу не только влияние отсутствия промотора гена *Pou5f1* в локусе дикого типа, но и влияние нового генетического окружения на экспрессию гена.

В ходе характеристики полученных линий было выявлено, что перенос одной копии гена *Pou5f1* в эктопическое положение сохраняет его экспрессию в ЭСК *Pou5f1^{Δ/Δ} Rosa26^{Pou5f1/+}* на достаточном уровне для поддержания самообновления культуры и экспрессии основных маркеров плюрипотентности.

Однако, полученные линии не обладают регуляцией гена *Pou5f1* аналогичной контрольным линиям ЭСК *Pou5f1^{flox/flox}* и *Pou5f1^{flox/Δ}*, в особенности в условиях культивирования в «наивном» состоянии, что приводит к последующим нарушениям регуляции перехода клеток в состояние «праймированной» плюрипотентности.

Процесс перехода ПСК из «наивного» состояния в «праймированное» сопряжён с переключением активности проксимального и дистального энхансеров и другими изменениями архитектуры генома, поэтому более детально дезорганизацию регуляторных связей, происходящую в модельных ЭСК позволят оценить такие высокопроизводительные методы, как RNA-seq и Hi-C.

Источники и литература

- 1) Dao L.T. et al. Genome-wide characterization of mammalian promoters with distal enhancer functions //Nature genetics. 2017. V.49. №7. P.1073.
- 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) Niwa H, Miyazaki J-i, Smith AG. Quantitative expression of Oct-3/4 defines differentiation, dedifferentiation or self-renewal of ES cells. Nature genetics. 2000;24(4):372-6.