

16. Iuchi S., Suzuki H., Kim Y.C., et al. Multiple loss-of-function of Arabidopsis gibberellin receptor AtGID1s completely shuts down a gibberellin signal // *Plant J.* – 2007. – vol. 50, № 6. – P.958-966.
17. Komorisono M., Ueuchi-Tanaka M., Aichi T., et al. Analysis of the rice mutant gladius leaf 1. Aberrant katanin-mediated microtubule organization causes up-regulation of gibberellin biosynthetic genes independently of gibberellin signalling // *Plant Physiol.* – 2005 – vol. 138, № 4. – P. 1982-1993.
18. Milczarsky P., Masojć P. The mapping of QTLs for chlorophyll content and responsiveness to gibberellic (GA3) and abscisic (ABA) acids in rye // *Cell. Mol. Biol. Lett.* – 2002. – vol. 7, № 2A. – P. 449-455.
19. Ikeda A., Ueuchi-Tanaka M., Sonoda Y., et al. Slender rice, a constitutive gibberellin response mutant, is caused by a null mutation of the SLT1 gene, an ortholog of the height-regulating gene GAI/RGA/RHT/D8 // *Plant Cell.* – 2001. – vol. 13, № 5. – P. 999-1010.
20. Zhang Y., Ni Z., Yao Y., Nie X., Sun Q. Gibberellins and heterosis of plant height in wheat (*Triticum aestivum L.*) // *BMC Genet.* – 2007. – vol. 29, № 8. P. 40.
21. Sakamoto T. Phytohormones and rice crop yield: strategies and opportunities for genetic improvement // *Transgenic Res.* – 2006. – vol. 15, № 4. – P. 399-404.
22. Stavang J.A., Lindgard B., Erntsen A., et al. Thermoperiodic stem elongation involves transcriptional regulation of gibberellin deactivation in pea // *Plant Physiol.* – 2005. – vol. 138, № 4. – P. 2344-2353.
23. Кацан В.А., Потопальський А.І. Особливості дії екзогенних ДНК при отриманні нових форм тютюну. – Київ: Колоб'іг, 2007. – 176 с.
24. Shimizu R., Ji J., Kelsey E., et al. Tissue specificity and evolution of meristematic WOX3 function // *Plant Physiol.* – 2009 – vol. 149, № 2. – P. 841-850.
25. Rosin F.M., Hart J.K., Horner H.T., et al. Overexpression of a *knotted*-like homeobox gene of potato alters vegetative development by decreasing gibberellin accumulation // *Plant Physiol.* – 2003. – vol. 132, № 1. – P.106-117.
26. Röder M.S., Huang X.Q., Börner A. Fine mapping of the region on wheat chromosome 7D controlling grain weight // *Funct. Integr. Genomic.* – 2008. – vol. 8, №1. – P. 79-86.

#### **Резюме**

При дії препаратів екзогенних ДНК рослинного та тваринного походження на проростаюче насіння озимого диплоїдного жита сорту Житомирське індуковано домінуючу моногенну мутацію короткостебловості. Водночас із короткостебловістю, в отриманих лініях рослин спостерігали комплекс змін, які сприяють підвищенню врожайності жита.

При действии препаратов экзогенных ДНК растительного и животного происхождения на прорастающие семена озимой диплоидной ржи сорта Житомирская индуцирована доминантная моногенная мутация короткостебельности. Одновременно из короткостебельностью, у полученных линиях растений наблюдали комплекс изменений, связанных с повышением урожайности ржи.

While acting of the preparations of the plant's and animal's exogenous DNAs on the germinating seeds of the cultivar of the winter diploide rye Zhytomyrska, the dominant monogenic mutation of decreasing of plant height was induced. Simultaneously with decreasing of plant height, the complex of alterations, underlying the crop yield improvement in the rye, was observed in the lines of plants to be obtained.

#### **ПІДПАЛА О.В., ЯЦИШИНА А.П., ЛУКАШ Л.Л.**

*Інститут молекулярної біології та генетики НАН України,*

*Україна, 03680, Київ, вул.Заболотного, 150, e-mail:specrada@imb.org.ua*

#### **ПОТЕНЦІЙНІ ЦИС-ЕЛЕМЕНТИ *AluSp*-ПОВТОРУ В ПРОМОТОРІ ГЕНА *MGMT***

Мобільні генетичні елементи (МГЕ) становлять значну частину ДНК еукаріотів, зокрема, майже 45 % геному людини [1]. Численні дані свідчать про різноманітну роль цих елементів у геномі – від чинників пластичності до мутабельності чи нестабільності. Обговорюється їхня роль в еволюції геномів [2,3] та еволюції генної регуляції [4-6]. Інтегруючи в екзони, МГЕ можуть спричиняти мутації [7,8], в інтрони – бути джерелом сайтів альтернативного сплайсингу [9], у промоторні ділянки генів – джерелом цис-регуляторних модулів, які є кластерами сайтів зв'язування транскрипційних факторів [10-13]. Наприклад, у консенсусній послідовності *Alu*-повторів виявлено наявність сайтів зв'язування для 20-ти транскрипційних факторів, функціональну активність

більшості із яких доведено експериментально [13]. Безпосередню участь *Alu*-повторів у регуляції експресії показано для шести генів, які пов'язані із диференціюванням і розвитком (*PTH*, *FcεRI-γ*, *CD8α*, *CHRNA3*, *BRCA-1* і *PLOD-1*) [14]. Відомо, що близько 24 % генів геному людини містять МГЕ у промоторних ділянках [10]. Особливо збагачені МГЕ (зокрема, *Alu*-повторами) гени, які пов'язані із метаболічними процесами [13]. На прикладі генів *DNAseII* і *CAML* людини показано, що наявність *Alu*-повторів у складі промотору може впливати на експресію досліджуваних генів [15].

Ген *MGMT* є онкосупресором, який кодує репаративний фермент O<sup>6</sup>-метилгуанін-ДНК метилтрансферазу (*MGMT* - у людини, *Mgmt* – у гризунів), що захищає клітину від мутагенної дії алкілувальних канцерогенів [16]. Цей ген експресується як у нормальних, так і у злоякісних клітинах, проте рівень його експресії варіює залежно від типу клітин та їхніх ростових характеристик [17]. Чи є МГЕ у промоторі гена *MGMT* і чи можуть вони впливати на рівень його експресії? Метою даного дослідження було проаналізувати промоторну ділянку гена *MGMT Homo sapiens* (а також для порівняння *Mus musculus* і *Rattus norvegicus*) на наявність МГЕ та з'ясувати чи містять вони потенційні цис-регуляторні елементи.

### Матеріали і методи

Нуклеотидні послідовності промоторних ділянок гена репаративного ферменту O<sup>6</sup>-метилгуанін-ДНК метилтрансферази *Homo sapiens*, *Mus musculus* і *Rattus norvegicus* взято із бази даних Transcriptional Regulatory Element Database, TRED (<http://rulai.cshl.edu/cgi-bin/TRED>). Основну інформацію про досліджувані промоторні ділянки наведено у табл. 1.

Таблиця 1

Дані про промоторні ділянки гена репаративного ферменту O<sup>6</sup>-метилгуанін-ДНК метилтрансферази

Організм	Ген, назва	Хромосомна локалізація	Ланцюг	Координати старту транскрипції	Номер у базі даних TRED
<i>Homo sapiens</i>	<i>MGMT</i>	10 q26	+	131264108	5071
<i>Mus musculus</i>	<i>Mgmt</i>	7 66.0 cM	+	125854096	77428
	<i>Mgmt</i>	7 66.0 cM	+	125906036	77429
	<i>Mgmt</i>	7 66.0 cM	+	125910396	77430
<i>Rattus norvegicus</i>	<i>Mgmt</i>	1q41	+	189574476	85957

Гомологію із МГЕ шукали за допомогою програми CENSOR (<http://www.girinst.org/censor/index.php>) [18]. Функціональні сайти визначали користуючись програмою TFSEARCH: Searching Transcription Factor Binding Sites (ver 1.3) (<http://www.cbrc.jp/research/db/TFSEARCH.html>). Наявність CpG-острівців виявляли за допомогою програми MethPrimer (<http://www.urogene.org/methprimer/index1/html>) та CpG Island Searcher ([http://www.uscnorris.com/cpgislands\\_2/cpg.aspx](http://www.uscnorris.com/cpgislands_2/cpg.aspx)). Для їхнього пошуку використовували стандартні критерії: довжина острівця повинна становити як мінімум 200 н.п., склад GC повинен бути не меншим 50 %, співвідношення спостережуваної кількості CpG-динуклеотидів до очікуваної – більше 0,6.

### Результати та обговорення

Досліджуючи промотор гена *MGMT*, який у базі даних TRED значиться як реферована послідовність, виявили частково делетований *AluSp*-повтор у дистальному сегменті промотору (табл. 2, рис. 1). *AluSp*-повтор, як видно із рис.2, виявляє гомологію із сайтами зв'язування для восьми транскрипційних факторів: Elk-1 (ключовий регулятор індукційної транскрипції протоонкогена *c-fos*); SREBP (ключовий регулятор експресії генів ліпідного метаболізму); Sp1 (один із основних факторів

транскрипції, бере участь у регуляції клітинного циклу, зміні структури хроматину і регуляції метилування ДНК); GATA-2 (гематопоетичний транскрипційний фактор); Tst-1 (транскрипційний регулятор у кератиноцитів, гліальних клітин і нейронів); E47 (гематопоетичний транскрипційний фактор); E2F (ключова роль у регуляції клітинного циклу) та Oct-1 (відіграє важливу роль у розвитку і функціонуванні нервової системи).

Таблиця 2

**Мобільні генетичні елементи у промоторних ділянках гена репаративного ферменту O<sup>6</sup>-метилгуанін-ДНК метилтрансферази**

Організм	Умовне позначення промотору	Дані про мобільні генетичні елементи				
		Елемент	Клас	Довжина	Напрямок	Координати у межах промотору
<i>Homo sapiens</i>	hO <sup>6</sup> P1	<i>AluSp</i>	Non-LTR/SINE	180	с	-768/-589
<i>Mus musculus</i>	mO <sup>6</sup> P1	<i>MLT1B</i>	ERV/ERV3	79	с	-842/-769
		<i>MLT1B</i>	ERV/ERV3	163	с	-734/-572
	mO <sup>6</sup> P2	<i>CLAUDIA1 TM</i>	LTR/Copia	29	с	-272/-244
	mO <sup>6</sup> P3	<i>Copia12-VV_I</i>	LTR/Copia	31	d	+31/+61
<i>Rattus norvegicus</i>	rO <sup>6</sup> P1	<i>MLT1B</i>	ERV/ERV3	104	с	-743/-640
		<i>ERV2X1A-I ML</i>	ERV/ERV3	100	d	+156/+255

Примітки: с – комплементарний; d – прямий.

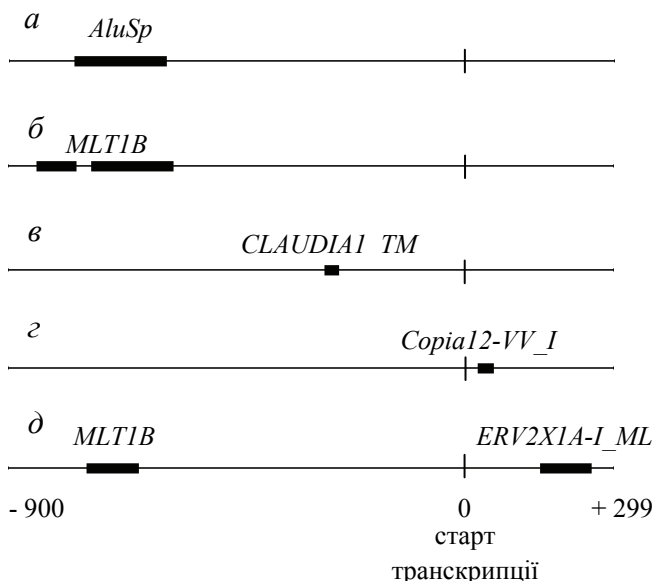


Рис. 1. Ідентифіковані мобільні генетичні елементи у промоторних ділянках гена репаративного ферменту O<sup>6</sup>-метилгуанін-ДНК метилтрансферази: а – hO<sup>6</sup>P1; б – mO<sup>6</sup>P1; в – mO<sup>6</sup>P2; з – mO<sup>6</sup>P3; д – rO<sup>6</sup>P1

```

a
1  CTGGGTGCAG TGGCTCATGC CTGTAATCCC AGCACTTTGG AAGGCTGAGA
----- Elk-1

51  CAGGAAGATC ACTTGAATC AGGAGTTGAA ACCAGACTGG GCAACGTAGC
----->
-----> SREBP-1
-----> Elk-1

101 AAGACCCTGC CCCAAAAGAA TTAATAATTAG CTGGGTATGA TAGCACACAC
<-----
-----> Sp1
-----> GATA-2
-----> Tst-1
-----> E47
-----> E2F
-----> Oct-1

151 CTGTAGTTCC AGCTGCTCAG GAGGCTGAAG
-----
----- E47

```

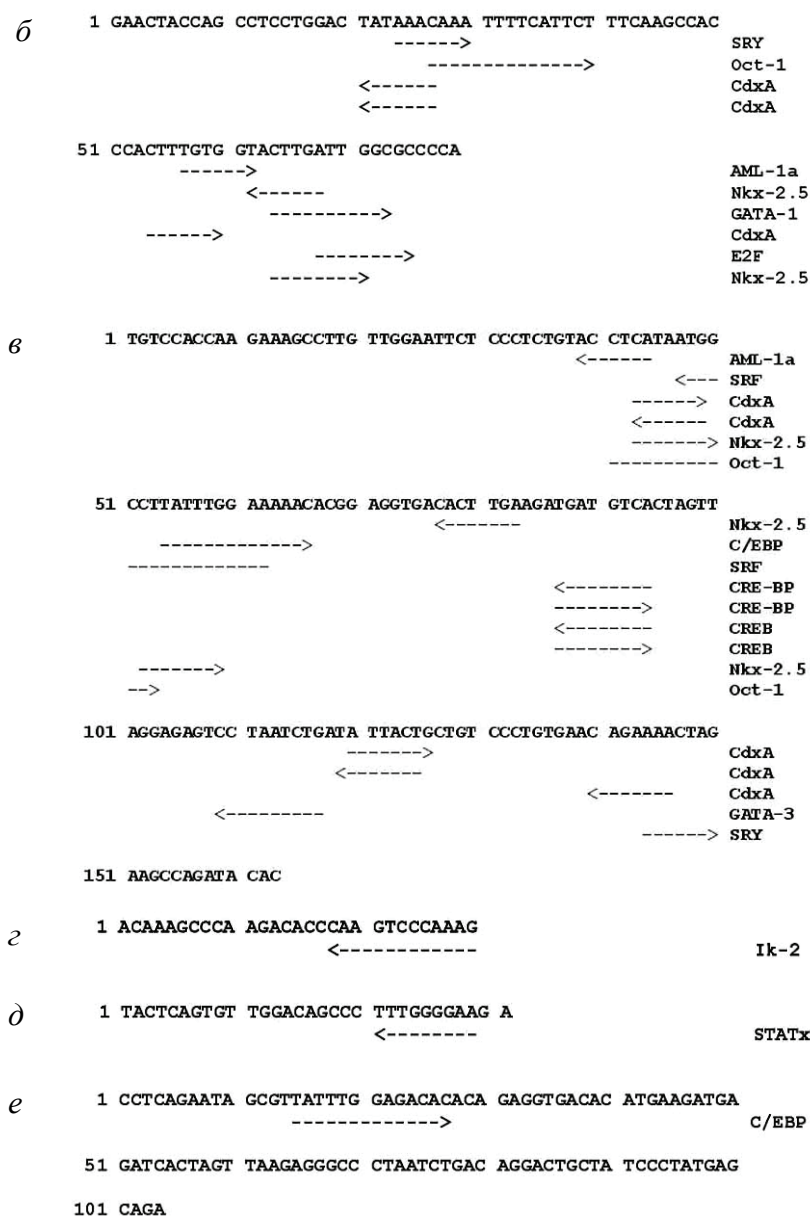


Рис. 2. Можливі сайти зв'язування транскрипційних факторів у мобільних генетичних елементах, виявлених у промоторних ділянках гена репаративного ферменту O<sup>6</sup>-метилгуанін-ДНК метилтрансферази: *а* – *AluSp* (*Homo sapiens*); *б, в* – *MLT1B* (*Mus musculus*); *г* – *CLAUDIA1\_TM* (*Mus musculus*); *δ* – *Copia12-VV\_I* (*Mus musculus*); *е* - *MLT1B* (*Rattus norvegicus*)

Аналізуючи промоторні ділянки гена *Mgmt* *Mus musculus* і *Rattus norvegicus* ідентифікували фрагменти МГЕ, які належать до класу LTR-повторів або ендегенних ретровірусів (табл. 2, рис. 1). Цікаво, що у випадку реферованої послідовності промотору mO<sup>6</sup>PЗ *Mus musculus* фрагмент LTR-повтору є частиною корового промотору і містить послідовність гомологічну сайту зв'язування для транскрипційного фактора STAT, що, очевидно, вказує на залучення LTR-повтору в регуляцію досліджуваного гена. Реферована послідовність промотору гена *Mgmt* *Rattus*

*norvegicus* rO<sup>6</sup>P1 і відома mO<sup>6</sup>P1 *Mus musculus* містить фрагмент LTR (довгого кінцевого повтору) ретровірусоподібного MaLR елемента. Він присутній, хоча і зазнав делецій, у промоторі досліджуваного гена у представників гризунів (миша, щур), тоді як у приматів (на прикладі людини) відсутній. Натомість у *Homo sapiens* присутній МГЕ, який належить до класу SINE-елементів (табл. 2). Порівнюючи сайти зв'язування для транскрипційних факторів у МГЕ, які присутні у промоторних ділянках видно, що вони різні у досліджуваних організмів (рис. 2). Лише два із них E2F і Oct-1 присутні у *Homo sapiens* та *Mus musculus* і один C/EBP у *Mus musculus* та *Rattus norvegicus*. Це узгоджується із думкою про ускладнення регуляції генів упродовж еволюції та участі у цьому процесі МГЕ [19-21].

Чи може *AluSp*-повтор, ідентифікований нами у промоторі гена *MGMT*, бути функціональним? Для виявлення функціональних *Alu*-повторів запропоновано принцип, який базується на тому, що наявність у промоторах генів цис-регуляторних модулів і CpG-острівців, які перекриваються із *Alu*-повтором, підвищує ймовірність того, що даний *Alu*-повтор виконує регуляторну роль [22]. Як видно із наведених результатів (рис.2), *AluSp*-повтор перекривається із цис-регуляторним модулем, але, застосовуючи два методи пошуку CpG-острівців, їх не було виявлено для даного МГЕ. Тому питання його функціональної активності є дискусивним і потребує подальших досліджень.

#### **Висновки**

У промоторній ділянці гена *MGMT Homo sapiens* ідентифіковано *AluSp*-повтор, який містить сайти зв'язування для восьми транскрипційних факторів. Наявність цис-регуляторного модуля може свідчити про функціональну активність даного МГЕ.

#### **Література**

1. *International Human Genome Sequencing Consortium: Initial sequencing and analysis of the human genome // Nature.- 2001.- vol.409, № 6822.- P.860-921.*
2. *Deininger P.L., Moran J.V., Batzer M.A., Kazazian H.H. Jr. Mobile elements and mammalian genome evolution // Curr. Opin. Genet. Dev. - 2003.- vol.13, № 6.- P.651-658.*
3. *Евгеньев М.Б. Мобильные элементы и эволюция генома // Молекулярная биология.- 2007.- Т.41, № 2.- С.234-245.*
4. *Medstrand P., van de Lagemaat L.N., Dunn C.A., Landry J.R., Svenback D., Mager D.L. Impact of transposable elements on the evolution of mammalian gene regulation // Cytogenet Genome Res.- 2005.- vol.110, № 1-4.- P.342-352.*
5. *Jurka J. Conserved eukaryotic transposable elements and the evolution of gene regulation // Cell. Mol. Life Sci.- 2008.- vol.65, № 2.- P.201-204.*
6. *Feschotte C. Transposable elements and the evolution of regulatory networks // Nat.Rev.Genet.- 2008.- vol.9, № 5.- P.397-405.*
7. *Kazazian H.H. Jr. Mobile elements and disease // Curr. Opin. Genet. Dev.- 1998.- vol.8, № 3.- P.343-350.*
8. *Callinan P.A., Batzer M.A. Retrotransposable elements and human disease // Genome Dyn.- 2006.- vol.1.- P. 104-115.*
9. *Sorek R., Ast G., Graur D. Alu-containing exons are alternatively spliced // Genome Res.- 2002.- vol.12, № 7.- P.1060-1067.*
10. *Jordan I.K., Rogozin I.B., Glazko G.V., Koonin E.V. Origin of a substantial fraction of human regulatory sequences from transposable elements // Trends Genet.- 2003.- vol.19, № 2.- P.68-72.*
11. *Shankar R., Grover D., Brahmachari S.K., Mukerji M. Evolution and distribution of RNA polymerase II regulatory sites from RNA polymerase III dependant mobile Alu elements // BMC Evol.Biol.- 2004.- vol.4, № 1.- P.37.*
12. *Thornburg B.G., Gotea V., Makalowski W. Transposable elements as a significant source of transcription regulating signals // Gene.- 2006.- vol.365.- P.104-110.*

13. Polak P., Domany E. Alu elements contain many binding sites for transcription factors and may play a role in regulation of developmental processes // BMC Genomics.- 2006.- vol.7.- P.133.
14. Hamdi H.K., Nishio H., Tavis J., Zielinski R., Dugaiczky A. Alu-mediated phylogenetic novelties in gene regulation and development // J.Mol.Biol.- 2000.- vol.299, № 4.- P.931-939.
15. Усманова Н.М., Казаков В.И., Томилин Н.В. Ретротранспозоны *Alu*- семейства из цис-регуляторных модулей промоторов генов *DNaseII* и *SAML* влияют на генную экспрессию в клетках А549 и НЕК293 // Цитология.- 2008.- Т.50, № 3.- С.249-255.
16. Pegg A.E. Repair of O<sup>6</sup>-alkylguanine by alkyltransferases // Mutat. Res.- 2000.- vol.262, № 2-3.- P.83-100.
17. Guan Q., Matsumoto K., Nakabeppu Y., Iwaki T. A comparative immunohistochemistry of O<sup>6</sup>-methylguanine-DNA methyltransferase and p53 in diffusely infiltrating astrocytomas // Neuropathology.- 2003.- vol.23, № 3.- P.203-209.
18. Kohany O., Gentles A.J., Hankus L., Jurka J. Annotation, submission and screening of repetitive elements in Repbase: Repbase Submitter and Censor // BMC Bioinformatics.- 2006.- vol.7.- P. 474.
19. Mariño-Ramírez L., Lewis K.C., Landsman D., Jordan I.K. Transposable elements donate lineage-specific regulatory sequences to host genomes // Cytogenet. Genome Res.- 2005.- vol.110, №1-4.- P.333-341.
20. Polavarapu N., Mariño-Ramírez L., Landsman D., McDonald J.F., Jordan I.K. Evolutionary rates and patterns for human transcription factor binding sites derived from repetitive DNA // BMC Genomics.- 2008.- vol.9.- P.226.
21. Bourque G., Leong B., Vega V.B., Chen X., Lee Y.L., Srinivasan K.G., Chew J.L., Ruan Y., Wei C.L., Ng H.H., Liu E.T. Evolution of the mammalian transcription factor binding repertoire via transposable elements // Genome Res.- 2008.- vol.18, №11.- P.1752-1762.
22. Oei S.L., Babich V.S., Kazakov V.I., Usmanova N.M., Kropotov A.V., Tomilin N.V. Cluster of regulatory signals for DNA polymerase II transcription associated with Alu family repeats and CpG islands in human promoters // Genomics.- 2004.- vol.83, № 5.- P.873-882.

#### Резюме

В промоторной области гена *MGMT Homo sapiens* идентифицировано *AluSp*-повтор, который несет сайты связывания для восьми транскрипционных факторов. Наличие цис-регуляторного модуля может свидетельствовать о функциональной активности данного МГЕ.

*AluSp* repeat having eight binding sites for transcription factors have been identified in the human *MGMT* promoter. The availability of cis-regulatory module may be evidence of possible functional significance of this mobile element.

**РОМАНЮК Л.В.<sup>1</sup>, ЖУМИНСКАЯ А.И.<sup>2</sup>, МУКВИЧ Н.С.<sup>1</sup>, ТОВКАЧ Ф.И.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Институт микробиологии и вирусологии НАН Украины,  
Украина, Киев ГСП, Д03680, ул. Академика Заболотного, 154,  
e-mail: lyuromanyuk@rambler.ru

<sup>2</sup>Одесский национальный университет им. И.И Мечникова,  
Украина, 65029, Одесса, ул. Дворянская, 2

### **ОБЩАЯ ТРАНСДУКЦИЯ ХРОМОСОМНЫХ И ПЛАЗМИДНЫХ МАРКЕРОВ ЭРВИНИОФАГОМ ZF40**

Явление трансдукции - это перенос бактериальных генов из одной клетки в другую бактериофагами, приводящий к изменению наследственных признаков клетки.