

## Регуляція генів інтерферонів I типу та інтерферон-індукованих генів. Білкові фактори промоторних транскрипційних комплексів

О. В. Карпов

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України  
Вул. Заболотного, 154, Київ, 03143, Україна

*Наведено огляд відомостей стосовно характеристики білкових транскрипційних факторів, що беруть участь у регуляції індукованої експресії генів інтерферонів I типу ( $\alpha$ - і  $\beta$ -ІФН), а також ІФН-індукованих генів. Описано відомі структурні характеристики та субодиничний склад таких факторів, їхні контакти з регуляторними доменами відповідних промоторів, а також білок-білкові взаємодії і їхню роль у генній експресії. Наведено також загальну картину експресії генів  $\alpha/\beta$ -ІФН та ІФН-індукованих генів у відповідь на індукцію. З огляду на останні дані підкреслено значення складної просторової структури транскрипційного комплексу (енхансосоми) з використанням відносно незалежних, але пов'язаних між собою груп транскрипційних факторів, що дає змогу організмові специфічно реагувати на зовнішні фактори (вірусна інфекція тощо).*

Вступ. Інтерферони I типу (ІФН- $\alpha/\beta$ ) беруть участь у регуляції ряду біологічних процесів, включаючи встановлення клітинного стану неспецифічної противірусної резистентності, ріст та диференціацію клітин, а також модуляцію імунних функцій [1]. З огляду на вищевикладене, а також зважаючи на ту обставину, що гени ІФН- $\alpha/\beta$  (ІФН-А/В) та ІФН-індуковані гени являють собою цікавий приклад як базальної, так і індукованої генної експресії еукаріот, транскрипційні комплекси даних генів і особливості їхнього функціонування були предметом багаточисельних досліджень, виконаних в останні роки.

У попередній роботі розглядалися нуклеїнові компоненти транскрипційних комплексів генів ІФН-А/В та ІФН-індукованих генів — регуляторні послідовності ДНК у складі їхніх промоторів [2]. Метою даного огляду є характеристика білкових транскрипційних факторів (ТФ), що беруть участь в утворенні транскрипційних комплексів даних генів.

Згідно з сучасними уявленнями, найзначущим рівнем регуляції експресії еукаріотичних генів є

транскрипція. При цьому необхідний рівень транскрипції окремого гена визначає ген-специфічний транскрипційний комплекс, який складається з цис-регуляторних промоторних послідовностей відповідного гена та зв'язаних з цими послідовностями білкових ТФ [3]. Останні відіграють важливу роль у регуляції експресії генів еукаріот.

У загальному випадку ТФ можна охарактеризувати як білок, що після своєї транслокації до ядра регулює транскрипцію, специфічно взаємодіючи з ДНК або стехіометрично взаємодіючи з іншим білком, здатним утворювати специфічний до послідовності ДНК комплекс білок—ДНК [4]. З цих правил не становлять виключення і ТФ, що входять до складу транскрипційних комплексів генів ІФН-А/В та ІФН-індукованих генів.

ТФ, які взаємодіють з промотором гена ІФН-В. Чотири позитивних регуляторних домени (PRDI, PRDII, PRDIII і PRDIV) та два негативних (NRDI і NRDI), які входять до складу промоторів генів ІФН-А/В, специфічно взаємодіють з цілим рядом ТФ. Як з'ясовано, індукція генів ІФН-А/В не потребує білкового синтезу, що вказує на присутність у клітині всіх необхідних компонентів транскрипційного комплексу ще до індукції [5, 6]. Але при цьому в ході індукційного процесу картина

зв'язування ТФ з промотором *IФН-В* змінюється [7]. Останнє може свідчити про те, що вказані ТФ потребують для зв'язування промотору посттрансляційної модифікації.

Одними з перших ідентифікованих білкових факторів, необхідних для регуляції експресії гена *IФН-В*, виявилися білки, які взаємодіють з доменами PRDI та PRDIII. Вони отримали назви інтерферон-регулюючих факторів 1 і 2 (interferon regulatory factor IRF-1 та IRF-2 відповідно). Фактор IRF-1 був виділений з бібліотеки кДНК клітин L929 миші за допомогою фрагмента ДНК, що містить у своєму складі множинні копії канонічної гексамерної послідовності 5'-AAGTGA-3', які знаходяться в складі доменів PRDI та PRDIII [8]. Клонована кДНК кодує білок розміром 37 кДа [9]. Білок є переважно гідрофобним, однак має ланцюжок основних амінокислот у середині гідрофобної ділянки поблизу N-кінця. С-кінцева ділянка білка кисла, збагачена на серин та треонін [8]. Оскільки точкові мутації в послідовності PRDI, що знижують його взаємодію з IRF-1 *in vitro*, значно зменшують відповідно і рівень вірусної індукції *in vivo*, було зроблено висновок про важливу роль IRF-1 в індукційному процесі [9].

мРНК IRF-1 індукується як вірусами, так і *IФН-α/β*, а також *IФН-γ* [10—12]. Аналіз кінетичних даних процесу вірусної індукції дозволив встановити, що внутрішньоклітинні концентрації мРНК IRF-1 і мРНК *IФН-β* виходять на пікові рівні приблизно одночасно. Виявилося також, що IRF-1 активує штучний промотор, який містить мультимерні копії гексамерної послідовності AAGTGA, в той час коли на інтактний промотор гена *IФН-В* він здійснює відносно слабкий стимулюючий ефект [8, 11, 13, 14].

Подібний до IRF-1 фактор IRF-2 [11] має молекулярну масу 39,5 кДа. IRF-2 специфічно зв'язується з множинними копіями вказаного вище гексамеру: в 5 разів ефективніше, ніж IRF-1. У той же час відмічено, що з інтактним промотором гена *IФН-В* обидва фактори зв'язуються з однаковою силою. Цей факт пояснюють тим, що IRF-1 і IRF-2 розпізнають відмінності в поодиноких парах основ, які існують між природним PRDI та двома копіями синтетичного гексамеру. мРНК IRF-2, як і IRF-1, індукується вірусами і *IФН* [11]. Аміно-кінцеві 154 амінокислотних залишки обох білків виявляють гомологію на 62 %, в той час як карбокси-кінцеві ділянки — тільки на 25 %. Це свідчить про те, що ДНК-зв'язуючу функцію здійснюють саме амінокінцеві ділянки IRF-1 і IRF-2 [12].

В екстрактах ядер клітин MG63 людини був знайдений ТФ, що отримав назву PRDI-BFc [15].

Цей фактор зв'язувався з тими ж послідовностями і виявляв ті ж картини захисту від метилювання, що й білки IRF-1 та IRF-2. До того ж на зв'язування PRDI-BFc впливали ті самі мутації в PRDI, які зменшували зв'язування IRF-1 і IRF-2 з цим доменом. Як і у випадку IRF-2, рівень PRDI-BFc-зв'язуючої активності значно не змінювався при індукції, викликаній вірусом або poly(I)-poly(C) [11, 15]. На даний час остаточно встановлено, що PRDI-BFc і IRF-2 є одним і тим же білком [16].

Незважаючи на спільні властивості, IRF-1 і IRF-2 притаманні різні функції, а саме: IRF-2, на відміну від активатора транскрипції IRF-1, виявляє активність репресора, який пригнічує ефект IRF-1 [17, 18]. Підвищення рівня експресії одного з цих ТФ регулює дію промоторів *IФН-В* та *IФН-А* в бік активації чи, навпаки, пригнічення. Так, у клітинах лінії P19 ембріональної карциноми миші, в яких не експресується ні один з цих ТФ, експресія кДНК гена IRF-1 призводить до значної активації як екзогенних, так і ендогенних генів *IФН-В*. Однак додаткова експресія кДНК гена IRF-2 репресує цю активність [11, 18].

Встановлено, що для зв'язування IRF-1 з відповідними доменами потрібно вилучення з ДНК репресора IRF-2 (або NRF — unidentified preinduction repressor) [19]. Вірогідно, що цей процес здійснюється внаслідок протеолітичної деградації IRF-2, оскільки в клітинах, індукованих вірусом або дволанцюговою РНК, IRF-2 піддається специфічному процесингу, в результаті якого зникає повнорозмірний репресор і утворюються його N-кінцеві вкорочені варіанти [19]. Конкурентне витіснення репресора IRF-2 фактором IRF-1 вважається малоімовірним, у всякому разі на ранніх стадіях вірусної інфекції: по-перше, для неінфікованих клітин характерний низький рівень IRF-1; по-друге, IRF-1 має в п'ять разів меншу спорідненість, ніж I F-2, до їхніх загальних сайтів зв'язування [12].

Гени *IRF-1* та *IRF-2* достатньо вивчені. Показано, зокрема, що ген *IRF-1* людини, картований на хромосомі 5q31.1, містить 10 екзонів і 9 інтронів, ген *IRF-2* — 9 екзонів і 8 інтронів; екзонна організація обох генів досить схожа. Подібні і 5'-фланкуючі ділянки згаданих генів. Вони містять у своєму складі послідовність CAAT і в них відсутній ТАТА-бокс [20].

Незважаючи на наведені вище експериментальні дані щодо безпосередньої участі згаданих ТФ в регуляції експресії генів *IФН*, відносна частка цієї участі в даному процесі залишається не до кінця з'ясованою. Так, встановлено, що делеції в складі гена *IRF-1* не впливають на вірусну

індуцибельність генів ІФН ні *in vivo* в організмі мишей, ні *in vitro* в культурі клітин [21, 22]. До того ж показано, що в організмі мишей, дефіцитних по гену *IRF-1*, хоча і спостерігалися деякі зміни фенотипу, відсутність згаданого гена ніяк не впливала ні на індукцію ІФН, ні на встановлення противірусного стану при вірусній інфекції [23]. Виходячи з аналізу даних, отриманих у вказаних дослідках, висловлено припущення про існування паралельного, ІRF-незалежного, шляху активації транскрипції генів ІФН, важливого при вірусній індукції.

Роль факторів IRF-1 та IRF-2 не обмежується участю в регуляції експресії лише гена *ІФН-В*. Вони також причетні до активації промоторів генів *ІФН-А* та ІФН-індукованих генів (див. далі). Показано також, що обмежений клітинний ріст залежить від тонкого балансу між цими антагоністичними ТФ; підвищена експресія IRF-2 спричинює трансформацію клітин NIH 3N3, яка супроводжується підвищенням туморогенності. Однак існує можливість реверсії згаданого трансформованого фенотипу за допомогою додаткової експресії IRF-1 [24]. Далі ген *IRF-1* людини виявився делетованим або інактивованим у 13 випадках лейкемії і прелейкемічної мієлодисплазії [25], що дозволяє розглядати ген *IRF-1* як можливий супресорний ген, що пригнічує канцерогенез, а ген *IRF-2* — як можливий онкоген. Показано, що ядерний фактор М гістону (HiNF-M), який, специфічно зв'язуючись із промотором, регулює експресію гена F0108 гістону H4, ідентичний IRF-2. Останнє недвозначно вказує на участь ТФ IRF-1/IRF-2 в активації даного гена [26]. Виявилось також, що IRF-1 бере безпосередню участь у регуляції експресії рецептора ангіотензину II типу 2 і, таким чином, у встановленні в клітинах стану апоптозу [27].

З доменом PRDII взаємодіє ТФ під назвою NF-κB, який належить до досить великого сімейства специфічних до послідовності ДНК-зв'язуючих білків, що регулюють транскрипцію ряду клітинних і вірусних генів [28, 29]. Вперше цей ТФ був ідентифікований як специфічний до В-клітин ядерний білок, що зв'язується з сайтом κB енхансера гена каппа ланцюга (I $\kappa$ g) імуноглобуліну [30, 31]. Показано, що NF-κB присутній в цитоплазмі багатьох клітин, утворюючи комплекс з білком I $\kappa$ B, який пригнічує його ДНК-зв'язуючу активність [32, 33]. Стимуляція цих клітин низкою агентів, таких як форболові ефіри, cAMP та ліпополісахариди, а також цитокінами або вірусними *транс*-активаторами [34, 35], призводить до дисоціації комплексу NF-κB/I $\kappa$ B і виникнення ДНК-зв'язуючої активності NF-κB в ядрі. NF-κB-зв'язу-

ючі сайти були ідентифіковані в структурі багатьох промоторів і енхансерів [28], а сам фактор NF-κB бере участь в активації деяких генів, продукти яких виконують імунні регуляторні функції, включаючи гени цитокінів, поверхневих клітинних рецепторів, що причетні до імунного розпізнавання, а також гени білків декотрих вірусів [36—38].

Фактор NF-κB відіграє важливу роль у PRDII-залежній вірусній індукції генів *ІФН-В* [17, 39—41]. Оскільки, як вказувалося вище, індукція ІФН-β відбувається у відсутності синтезу білків *de novo*, вважається, що первинним активатором транскрипції гена *ІФН-В* є саме фактор NF-κB, який вже присутній в цитоплазмі неінфікованих клітин [19].

NF-κB специфічно зв'язується з сайтом PRDII, а мутації в цьому домені, що зменшують вірусну індукцію *in vivo*, також знижують зв'язування NF-κB з даною послідовністю *in vitro* [40, 41]. Вивчення промоторів, які містили множинні сайти κB або PRDII, показало, що ці два сайти є функціонально взаємозамінними [13, 39, 40]. Обидва елементи функціонують як конститутивні енхансери у В-клітинах та як вірус-індуковані енхансери в фібробластах. Найважливішим вважається те, що процеси зв'язування і транслокації до ядра NF-κB активуються як вірусами, так і poly(D)-poly(C) [17, 39, 40].

Детальне вивчення молекулярного комплексу, який утворює фактор NF-κB у цитоплазмі, дозволило встановити, що даний комплекс складається з трьох субодиниць: ДНК-зв'язуючих білків 48—55 кДа (p50) (інша назва — KBF-1) і 58—65 кДа (p65) та вже згаданій не зв'язуючої ДНК інгібіторної субодиниці I $\kappa$ B $\alpha$  [42, 43]. Остання специфічно взаємодіє не тільки з білком p65, як було попередньо встановлено [36], але і з p50 [42]. Молекулярне клонування генів білків p50 та p65 (гени *NFKB1* і *RelA* відповідно) виявило, що ДНК-зв'язуючі аміно-кінцеві ділянки цих білків мають високий ступінь гомології з протоонкогеном *c-rel* [44]. Тому згадані білки відносять зараз до ТФ численного сімейства gel-білків [45]. Один клас білків цього сімейства включає p50 і близький до нього p52; обидва утворюються в результаті протеолітичного процесингу великих білків-попередників [44, 46—48]. Другий клас білків gel включає c-rel, p65 (RelA), RelB (інша назва — I-rel) і фактор *dif* [49—51]. Білки цього класу містять домени транскрипційної активації на своїх карбоксильних кінцях і не потребують для свого утворення етапу процесингу. Представники обох класів сімейства білків gel можуть утворювати гомо- або гетеродимери як з членами свого, так і іншого класу білків

gel за допомогою специфічних амінокислотних ділянок у складі gel-гомологічних доменів [45]. Щодо безпосередньо NF-κB, то цей ТФ зв'язується з ДНК і здійснює транскрипційну активацію за допомогою як гомо-, так гетеродимерів субодиниць p50 та p65, що містяться в його складі. При цьому в структурі субодиниці p65 виявлено три відмінних один від одного домени активації транскрипції. Один з цих доменів містить структуру типу «лейцинової застібки», два інших — кислі і збагачені на пролін [52]. На сьогодні вважається, що специфічність активації транскрипції генів-мішеней за допомогою ТФ сімейства NF-κB обумовлюється різними комбінаціями субодиниць в їхньому складі [53].

На додаток до ДНК-зв'язуючої форми NF-κB було ідентифіковано також три відмінні одна від одної форми регуляторних білків IκB: 1) IκBα (MAD3, або p40), який був визначений як продукт гена негайної відповіді в макрофагах, індукованих форболовим ефіром [54]; 2) *bcl3*, ідентифікований спочатку як продукт гена транслокації В-клітин лімфоми [55, 56]; 3) IκBα — білок (70 кДа), ідентифікований як С-кінцева половина білка — продукту гена *p105* [57]. Усі згадані білки містять множинні структурні елементи, що можуть відігравати суттєву роль у білок-білковій димеризації та цитоплазматичному прикріпленні NF-κB. Так, білок IκBα (MAD3) містить п'ять повторів послідовності, знайденої в багатьох білках, що беруть участь у контролі клітинного циклу і клітинній диференціації [58].

Показано, що саме інгібіторна субодиниця IκBα є відповідальною за локалізацію NF-κB у цитоплазмі в неактивній формі. Вивільнення від цієї субодиниці комплексу відбувається після її фосфорилування протеїнкіназою PK [59,60], яка активується при вірусних інфекціях. Фосфорилування і швидка деградація IκBα є першою зміною, що спостерігається в комплексі NF-κB—IκB після індукції; вилучення білка IκBα призводить до появи функціонально активної форми NF-κB, яка транслокується до ядра. При цьому білок p65 стимулює транскрипцію IκBα *de novo* за допомогою механізму ауторегуляції [37, 61—64].

Встановлено, що NF-κB має високий потенціал активації транскрипції після його зв'язування з доменом PRDII [65]. Зв'язування NF-κB потребує попереднього усунення репресора NRE-BP, яке може проходити або при конкурентному витісненні NRE-BP активованим фактором NF-κB, або при вірус-індукованій деградації репресора.

Протягом індукції експресії гена *IFN-β* відбуваються певні зміни в складі субодиниць NF-κB, асоційованих з доменом PRDII, в залежності від

часу, що пройшов від моменту вірусної інфекції. В досліджах по котрансфекції з використанням ряду плазмід, експресуючих різні субодиниці NF-κB, показано, що експресія білків p65, c-Rel, p50 або комбінацій p50—p65 та p65—c-Rel диференційно стимулює PRDII-залежну транскрипцію. В той же час коекспресія IκBα повністю усувала активність гена *IFN-β*, індуковану згаданими білками [65]. Ці дані інтерпретують як доказ того, що або гомодимери p65, або гетеродимери p65—p50 стимулюють транскрипцію PRDII на ранньому етапі вірусної індукції. Останню можливість підтвердив прямий аналіз білкового складу транскрипційного комплексу, який утворюється на домені PRDII [45].

На наступному етапі здійснюється зворотна регуляція цього домену за допомогою гомодимерів p50, які після свого утворення досить слабо взаємодіють з PRDII, а також ресинтезу інгібіторної субодиниці IκBα, яка відновлює цитоплазматичний пул латентного NF-κB шляхом вилучення p65—p50. До того ж, як показано, субодиниця p65 у цитоплазмі взаємодіє з попередником субодиниці p50 — білком p105, утворюючи гетеродимер, що залишається в цитоплазмі. Індукція призводить до процесингу p105 у p50; останнє спричинює утворення активного NF-κB [37].

Наявність ядерної активності NF-κB хоча й необхідна, але недостатня для вірусної індукції. Показано, що присутність лише NF-κB слабо активує експресію гена *IFN-β* [65]. У той же час, коли фактори NF-κB і IRF-1 синтезувалися одночасно, спостерігалася синергічна активація промотору цього гена.

Ще один ТФ, що взаємодіє з PRDII, був ідентифікований за допомогою скринінгу бібліотеки кДНК клітин L929 миші з множинними копіями PRDII [66]. У результаті цих дослідів були отримані два відмінних один від одного клони кДНК. Обидва зразки ДНК кодували білки високомобільної групи (HMG). HMG є головними низькомолекулярними хроматин-асоційованими білками [67]. Виявилось, що одна з отриманих кДНК кодує HMG I, а друга — HMG Y, ізоформу HMG I, яка відрізняється від неї відсутністю 11 амінокислот (у положеннях 35—46). Функціональне значення цієї різниці не встановлено.

Клони кДНК HMG I(Y) вперше були виділені на основі встановлення амінокислотної послідовності очищених білків [68], після чого ізольовані з бібліотеки кДНК клітин L929 миші з використанням нуклеотидної послідовності октамерного білок-зв'язуючого сайту як проби [69]. HMG I і HMG Y є невеликими (≈ 10 кДа) негістоновими хромосом-

ними білками, які містять повторювану тричі специфічну амінокислотну послідовність, багату на основні амінокислоти, а також кислу ділянку, локалізовану поблизу карбоксильного кінця білка.

Встановлено, що HMG I(Y) бере безпосередню участь у регуляції гена *ІФН-В*. При цьому HMG I(Y) має підвищену здатність до зв'язування з А—Т-багатими послідовностями одного сайту в складі домену PRDII і двох сайтів у складі PRDIV [70]. Показано, що цей білок необхідний для PRDII-, але не κВ-залежної вірусної індукції. В домені PRDII сайт зв'язування HMG I(Y) розміщений всередині сайту зв'язування NF-κВ. Взаємовідносини між зв'язуванням HMG I(Y) і NF-κВ з RDII досліджували шляхом порівняння впливу мутацій поодиноких основ на процес зв'язування HMG I(Y) і NF-κВ [40, 41] з ефектом даних мутацій на вірусну індукцію *in vivo* [6]. Виявилось, що мутації в згаданій вище АТ-багатій області всередині PRDII-зв'язуючого сайту (GGGAAATTCC) головним чином негативно впливають на зв'язування HMG I(Y), у той час як мутації в GC-багатій фланкуючій послідовності переважно знижують зв'язування з NF-κВ. Суттєво, що обидва типи мутацій знижують рівень вірусної індукції *in vivo*. Ці спостереження свідчать про те, що зв'язування як NF-κВ, так і HMG I(Y) необхідне для індукції, але при цьому згадані два білки взаємодіють з різними ділянками PRDII.

При вивченні функціональної ролі HMG I(Y) у процесі індукції виявилось, що його котранскрипція незначно підвищує рівень вірусної індукції трансфікованих репортерних генів у клітинах HeLa. Останнє могло свідчити або про те, що ендогенний HMG I(Y) не є ТФ, обмежуючим транскрипцію, або ж що HMG I(Y) не є дійсним активатором транскрипції. Така можливість підтвердилася спостереженням, що котранскрипція експресуючого вектора савця, який містить вбудований ген GAL4/HMG I(Y), не стимулювала експресії репортерних генів, які містили GAL4-зв'язуючі сайти, перед або після індукції [66].

Суперекспресія гетеродимеру NF-κВ у клітинах при відсутності індукції призводить до активації транскрипції, здійснюваної за допомогою PRDII. При цьому спостерігається такий же рівень активації транскрипції, як і при вірусній індукції [66]. Це свідчить про те, що індукція PRDII *per se* залежить від присутності в ядрі NF-κВ, але не від подальшої модифікації HMG I(Y) і (або) білків NF-κВ, що відбувається внаслідок вірусної інфекції.

Два сайти зв'язування HMG I(Y), локалізовані в домені PRDIV, фланкують послідовність, не-

обхідну для зв'язування з іншим ТФ — ATF-2. Фактори ATF (adenovirus transcription factor) належать до сімейства білків ATF/CREB, які зв'язуються з групою cAMP індуктованих промоторних елементів та елементів, що відповідають на індукцію білком аденовірусу E1A. Вказані елементи послідовності отримали загальну назву CRE (cAMP response element) [71—74]. Для білків ATF/CREB характерне те, що вони зв'язуються з ДНК у вигляді димерів. Їхні ДНК-зв'язуючі домени містять N-кінцеву ділянку, збагачену основними амінокислотами, яка переходить в елемент «лейцинова застібка». При цьому головна ділянка безпосередньо контактує з ДНК, а «лейцинова застібка» потрібна для специфічної димеризації. Активаторна дія цих факторів відбувається після фосфорилування двох залишків треоніну N-кінцевої ділянки за допомогою кіназ сімейства MAPK [75]. У складі сімейства даних білків розрізняють підгрупу, утворену білками CREB і ATF-1, що базується на їхній загальній амінокислотній гомології, здатності до гетеродимеризації і залежності від cAMP для активації [76], та підгрупу cAMP-незалежних білків, у яку входять ATF-ακ, ATF-2 та ATF-3 [77]. ATF-2 та ATF-3 димеризуються один з одним, а також утворюють гетеродимери з білком c-Jun [78]. Останній є продуктом протоонкогена *c-jun*, опосередковує клітинну відповідь на позаклітинні стимули — форболові ефіри, фактори росту, онкобілки. Транскрипційна активність c-Jun модулюється рівнем фосфорилування його амінокислотних залишків, зокрема залишків серину, в його N-кінцевій ділянці [79].

Зараз встановлено, що саме фактор ATF-2 у складі як гомодимерів, так і гетеродимерів з білком c-Jun бере участь в активації гена *ІФН-В*, специфічно зв'язуючись з RDIV [80]. При цьому він може активуватися білком аденовірусу E1A [77]. Мутації поодиноких основ у складі PRDIV, які перешкоджають зв'язуванню з ATF-2, знижують також і вірусну індукцію інтактного промотору *ІФН-В* у клітинах миші L929 [80]. З доменом PRDIV ATF-2 зв'язується в межах сайту CREB.

Окрім вищезгаданих факторів, у позитивній регуляції промотору *ІФН-В* бере участь також фактор ISGF3 (interferon stimulated gene factor 3), опис якого наведено далі. Показано, що цей ТФ специфічно зв'язується з доменом PRDI, але роль такої взаємодії у вірус-індукованій експресії гена *ІФН-В* не встановлена [81].

Щодо негативно регульованих доменів NRDI та NRDIІ промотору *ІФН-В*, то з ними відповідно взаємодіють репресорні ТФ — NRE-VP та NRF-2, відомості про які досить обмежені [82]. Вважа-

ється, що обидва ці ТФ поряд з фактором IRF-2 блокують транскрипцію гена *IФН-В* в неіндукованих клітинах.

Важливе значення для активації промотору гена *IФН-В* мають білок-білкові зв'язки, що виникають між окремими описаними ТФ. Так, при вивченні взаємодії промотору гена *IФН-В* з ТФ в умовах *in vitro* було встановлено, що фактор HMG I(Y) зв'язується з елементами PRDII та PRDIV, утворюючи контакти в малій боріздки, в той час як NF-κB і ATF-2/*c-jun* зв'язують ці елементи шляхом утворення контактів у великій боріздки. Щодо взаємодії факторів NF-κB і HMG I(Y), то, як показано, перший з них зв'язується з двома GC-багатими послідовностями в складі PRDII [30], у той час як другий взаємодіє з AT-багатою послідовністю того ж домену [83, 84]. Встановлено, що HMG I(Y) взаємодіє з NF-κB у відсутності ДНК, при цьому підвищує подальше зв'язування білків p50/p65 NF-κB з PRDII приблизно в 10 разів [70]. Функціональний синергізм, який виявляють вказані ТФ, обумовлюється ДНК-білковими та білок-білковими взаємодіями [70, 85]. Вважається, що саме тривимірна структура енхансера відіграє ключову роль у механізмах специфічної активації гена *IФН-В*, а фактор HMG I(Y) є відповідальним за встановлення цієї структури.

У дослідях по котрансфекції *in vivo* встановлено, що фактор HMG I(Y), який сам по собі не функціонує як активатор транскрипції, потрібен для синергічної взаємодії інших причетних до цього процесу ТФ *in vivo* та для кооперативних взаємодій *in vitro*, причому ці функції HMG I(Y) залежать від специфічного розташування білок-зв'язуючого сайту на ДНК [45].

При вивченні функціональних властивостей фактора HMG I(Y) було показано, що цей ТФ специфічно взаємодіє з малою боріздкою AT-збагачених ділянок вільної ДНК у місцях, де структура ДНК відрізняється від канонічної В-форми. В штучно реконструйованих моно- і динуклеосомах зв'язування HMG I(Y) залежить від орієнтації і розміщення сайту на поверхні гістонового октамеру, причому утворення ДНК-білкового комплексу змінює спіральну періодичність витка [86]. Досліди з застосуванням спектроскопії кругового дихроїзму, а також топоізомеразні тести показали, що HMG I(Y) змінює структуру ДНК при зв'язуванні, хоча природа локальних конформаційних змін не встановлена [87]. Вважається, що саме такі зміни структури ДНК або хроматину в ділянці PRDII дозволяють формуватися функціональному комплексу NF-κB/PRDII. Виходячи з цього факторові HMG I(Y) в останній час відводиться роль «архі-

тектурного фактора», функція якого полягає в полегшенні побудови транскрипційно активного нуклеопротеїдного комплексу за допомогою викликаного ним вигинання ДНК [88].

Фактор HMG I(Y) специфічно взаємодіє не тільки з NF-κB, але і з ATF-2. При цьому останній взаємодіє з HMG I(Y) у відсутності ДНК, після чого зв'язується кооперативно з PRDIV, а HMG I(Y) стабілізує таке зв'язування [7]. До того ж ATF-2 взаємодіє з PRDII-зв'язаним NF-κB [70]. Максимальну індукцію гена *IФН-В* відмічено при спільній дії факторів NF-κB, IRF-1 та ATF-2 [45]. Для зв'язування ATF-2, як і IRF-1, потрібно вилучення з ДНК репресорів IRF-2 і, можливо, NRF-2. Було показано також фізичну і функціональну взаємодію між доменом *rel* NF-κB і доменом «лейцинової застіжки» білків C/EBP та ATF-2 [89].

Наведені вище дані щодо синергічної дії ТФ привели до думки, що для ефективної транскрипції промотору гена *IФН-В* потрібна побудова високопорядкованого енхансерного комплексу (енхансеосоми) [45]. При цьому для індукції необхідні не тільки специфічна кількість і тип сайтів зв'язування ТФ, але і їхнє точне розташування на поверхні подвійної спіралі ДНК та правильна укладка енхансерного комплексу. Так, показано, що енхансер гена *IФН-В* інактивується інсерцією половинного витка спіралі, але при інсерції другого такого витка, який відновлює нормальне спіральне фазування сайтів зв'язування транскрипційних факторів, активація енхансера відновлюється до нормального стану [45].

Виходячи з цього було запропоновано модель енхансеосоми гена *IФН-В*, суттєвим моментом якої є просторові зміни форми ДНК при індукції, що викликаються зв'язуванням з фактором HMG I(Y). На доказ правомірності такої моделі свідчать дані про те, що доменам PRDII і PRDIV притаманне характерне вигинання, яке зникає при контакті першого — з HMG I(Y) у взаємодії з NF-κB, а другого — з ATF-2/*c-jun*. Вважається, що конформація ДНК у таких комплексах далі модулюється HMG I(Y) [90].

ТФ, що взаємодіють з промоторами генів *IФН-А*. Експресію генів *IФН-А* вивчено менш детально, ніж *IФН-В*. Однак на даний час виявлені як загальні риси цих процесів, так і деякі суттєві відмінності, які дозволяють вважати, що промотори вказаних генів контролюються не тільки загальними, але й різними транскрипційними факторами. На це в першу чергу вказували результати аналізу промоторів генів *IФН-А*, якими було встановлено, що ці гени містять у своєму складі як сайти, подібні до сайтів зв'язування факторів IRF-1/IRF-

2, так і нові позитивні вірус-відповідальні елементи — TG-послідовність [91] та I-послідовність [92].

У дослідах по короткочасній трансфекції було встановлено, що описані вище фактори IRF-1 та IRF-2 беруть безпосередню участь і в активації генів *IФН-А* [18, 93]. Так, встановлено, що IRF-1 індукує експресію ендогенних генів *IФН-А* та підвищує експресію трансфікованих промоторних ділянок *IФН-А*. Показано також здатність IRF-1-експресуючої плазмиди, введеної в L-клітини, індукувати в них експресію промоторів екзогенних генів *IФН-А4* та *IФН-А6*, але не впливати при цьому на індукцію ендогенних генів *IФН-А* [94]. Для пояснення цього результату було зроблено припущення про кооперацію між IRF-1 та новим транскрипційним фактором, що отримав назву  $\alpha$ F1/B. Останній, як було показано, складається з двох ДНК-зв'язуючих білків розміром 68 та 96 кДа. IRF-1 та  $\alpha$ F1/B, які зв'язуються відповідно з PRD1-подібним фрагментом і послідовністю GTAAAGAAAGT промотору, потрібні для вірус-індукованої експресії гена *IФН-А4* у клітинах L929 миші [93, 95].

На даний час у геномах людини і миші виявлено існування як мінімум дев'яти інших генів сімейства *IRF* [96]. До них, зокрема, належить ген *ISGF3 $\gamma$* , продукт якого виявився необхідним для позитивної зворотної регуляції генів *IФН* у деяких клітинах [81], гени *ICSBP* та *IRF4/pip/LSIRF*, що експресуються виключно в лімфоїдних клітинах [97, 98], гени *IRF-5*, *IRF-6* та *IRF-7* [99], а також ген *IRF-3*, продукт якого, як виявилось, підвищує вірус-індуковану активацію гена *IФН*, не зв'язуючись при цьому з PRDII [100]. Показано, що вірусна інфекція призводить до специфічного фосфорилування фактора IRF-3, подальшої асоціації з коактиватором CBP/p300 і, як результат, до утворення транскрипційного комплексу IRF3/CBP/p300. Останній, транслокуючись до ядра і зв'язуючись специфічно з відповідним промоторним сайтом, бере участь у регуляції генів *IФН-А*, а також *IФН*-індукованих генів [96]. Досить цікавим є те, що даному білковому комплексу відводиться роль, яку для промотору *IФН-В* відіграє фактор HMG I(Y), — змінювати форму ДНК при утворенні транскрипційно активної енансеосоми. Функціональне значення продуктів інших згаданих генів на даний час не встановлено.

ТФ, який взаємодіє з TG-послідовністю, отримав назву TG-білка [91, 101]. Цей поки що не охарактеризований ТФ, як показано, специфічно розпізнає послідовність GAAATGGAAA, локалізовану в промоторі гена *IФН-А1* людини в положенні

від -84 до -75. Сама наявність TG-білка і  $\alpha$ F1-зв'язуючих факторів, а також вищезгаданого комплексу IRF3/CBP/p300, які беруть участь у регуляції генів *IФН-А*, вказує на можливість існування різних шляхів, що ведуть до вірусної індукції генів *IФН-А* та *IФН-В*.

При порівняльному аналізі промоторів генів *IФН-А4* та *IФН-А11* миші був ідентифікований фактор VIF, який специфічно розпізнає PRD1-подібний домен промоторів обох генів і TG-подібний домен індукбельного елемента *IФН-А4*. Цей ТФ, як показано, бере участь у регуляції генів *IФН* I типу і має властивості, відмінні від попередньо описаних PRD1-зв'язуючих активностей [102].

На відміну від гена *IФН-А4*, який ефективно експресується в клітинах L929 при вірусній індукції, експресія гена *IФН-А11* обмежена, що пов'язують зі станом репресії, в якому він постійно знаходиться. При вивченні *IФН-А11* в його складі був визначений потенційний сайленсер, з яким, як виявилось, взаємодіє IRF-2, забезпечуючи вказаний стан репресії [103].

Недавно було доведено існування ще одного ТФ, який специфічно зв'язується з I-подібним доменом промоторів генів *IФН-А4* та *IФН-А11* [92].

Досить цікавим у цьому плані є і спостереження щодо впливу залежної від дволанцюгової РНК протеїнкінази R (PKR) на регуляцію експресії *IФН-А* [104], оскільки система факторів NF- $\kappa$ B— I $\kappa$ B, які є субстратами вказаного ферменту, в даному випадку на відміну від *IФН-В* відсутня.

У цілому ж вважається, що детальна картина регуляції індукованої експресії генів *IФН-А*, як і повне визначення складу ТФ, які беруть участь у даному процесі, ще досить далекі до завершення.

ТФ, що взаємодіють з промоторами *IФН*-індукованих генів. Молекули *IФН* діють на клітини, зв'язуючись з поверхневими рецепторами і активуючи далі експресію низки специфічних генів. До продуктів цих генів входять білки, що безпосередньо причетні до встановлення протівірусного стану клітини (2',5'-олігоаденілатсинтетаза, протеїнкіназа R, білок Mx та РНК-зв'язуючий білок 9—27) [105—107], а також ферменти, нуклеотид-зв'язуючі білки, ТФ, антигени МНС класу I, регуляторні білки, лімфоцитарні антигени, деякі цитокіни, а також ряд білків, функції яких досі не встановлені [82]. Показано, що деякі, якщо не всі, з названих генів індукуються, окрім власне *IФН*, також вірусами та дволанцюговою РНК [108].

Як встановлено, індукція цих генів за допомогою *IФН* викликає два типи відповідей — ранню

(первинну) і пізню (вторинну). При ранній відповіді експресія гена збільшується в декілька разів за 10—15 хв, досягає максимуму протягом години і, як правило, через 3—4 год повертається до вихідного рівня. Індукція генів у даному випадку не залежить від білкового синтезу *de novo* і пов'язана з активацією латентних ТФ [109]. При пізній відповіді експресія гена підсилюється через 2—3 год після дії ІФН, досягає максимуму через декілька годин і досить довго тримається на високому рівні [110—112]. Показано, що вторинна індукція генів повністю залежить від білкового синтезу і пов'язана з індукованим синтезом ТФ, відсутніх у нестимульованій клітині [113].

Слід відмітити, що ряд індукованих ІФН генів виявляє змішаний тип відповіді. Їхня експресія залежить як від ТФ, індукованих на рівні транскрипції, так і від ТФ, які індукуються на пост-транскрипційному рівні [114].

На початку досліджень індукції ІФН-стимульованих генів було показано, що в цьому процесі беруть участь знайдені в ядерних екстрактах три білкових фактори (IFN-stimulated gene factor — ISGF), які взаємодіють з універсальними промоторними ділянками (IFN-stimulated response element — ISRE) даних генів *in vitro* [115, 116]. При цьому фактор ISGF1 є конститутивним, у той час як другий фактор — ISGF2 — присутній в клітинах на низькому базовому рівні, а його синтез індукується у відповідь на дію як ІФН, так і фактора некрозу пухлин TNF- $\alpha$ , інтерлейкіну-1 (IL-1) або вірусної інфекції [115, 117]. Далі було встановлено, що ISGF2 є ідентичним факторові IRF-1 і здатний відповідно взаємодіяти з доменом PRD1 гена *IFN-B* [117].

На відміну від інших третій фактор, ISGF3, у функціональній формі не виявляється в неіндукованих клітинах, а ідентифікується через хвилини після обробки клітин *IFN-A/B*, причому його рівень підвищується і знижується паралельно з рівнем транскрипції. ISGF3 складається з субодиниць ISGF3 $\alpha$  та ISGF3 $\gamma$ , які асоціюють після активації ISGF3 $\alpha$ -субодиниці. В свою чергу ISGF3 $\alpha$ -субодиниця складається з трьох білків сімейства STAT (signal transducers and activators of transcription): STAT1, що має дві форми — Stat1 $\alpha$  (p91) і Stat1 $\beta$  (p84) — продукти альтернативного сплайсингу, та Stat2 (p113) [118—120], які синтезуються в неіндукованих клітинах. Амінокислотні послідовності Stat1 $\alpha$  і Stat1 $\beta$  виявилися ідентичними за винятком 38 С-кінцевих амінокислот, відсутніх у Stat1 $\beta$ , а Stat2 має 40 % гомології з Stat1 $\alpha$ /Stat1 $\beta$  [121].

У випадку активації генів ранньої відповіді

після взаємодії ІФН I типу з мембранними рецепторами відбувається фосфорилування всіх компонентів ISGF3 $\alpha$ . Фосфорилування стосується єдиного залишку тирозину (Tyr<sup>701</sup>) латентних цитоплазматичних факторів — попередників згаданих білків [116] і потребує участі тирозинкінази і тирозинфосфатази [122, 123]. Встановлено, що таке фосфорилування здійснюється специфічними тирозинкіназами JAK-сімейства (Janus-kinase), фізично пов'язаними з мембранними рецепторами типу I для ІФН I типу (JAK-1 і Tyr-2) [121, 124, 125]. Активація згаданих тирозинкіназ у свою чергу пов'язана з власним фосфорилуванням їхніх тирозинових залишків [121].

Усі представники сімейства STAT мають домен SH2, який забезпечує мультимеризацію активованих факторів [116]. Показано, що фосфорильовані фактори Stat1 ( $\alpha$  або  $\beta$ ) та Stat2 об'єднуються в гетеродимер ISGF3 $\alpha$ , який далі транслокується до ядра [118]. В ядрі у присутності ДНК ISGF3 $\alpha$  взаємодіє з субодиницею ISGF3 $\gamma$  [126], утворюючи активний транскрипційний фактор ISGF3. ISGF3 $\gamma$ -субодиниця, що має розмір 48 кДа (інша назва — білок p48), здатна до зв'язування з ISRE сама по собі, але після асоціації з ISGF3 $\alpha$ -субодиницею сила зв'язування підвищується в 25 разів. Білок p48 належить до сімейства факторів IRF. Він синтезується в неіндукованій клітині, однак під дією ІФН експресія його гена підсилюється [127]. Показано, що всі три білки, які беруть участь в утворенні гетеромерного комплексу ISGF3, контактують з ДНК [126].

Фосфорильовані STAT-фактори виявляються в ядрі вже через 5 хв після стимуляції ІФН [128]. Їхня взаємодія зі специфічними сайтами зв'язування на ДНК призводить до значного підсилення експресії індукованих ІФН генів [129]. Важливо відмітити, що аденовірусний білок E1A блокує дію ISGF3, останнє спричинює необмежену репродукцію вірусу в клітинах. При вивченні даного явища встановлено, що білки p300 та CBP — транскрипційні адаптори, які направляються E1A, специфічно взаємодіють з Stat2-субодиницею ISGF3. У цій взаємодії беруть участь цистеїн-гістидин-збагачена ділянка комплексу p300/CBP та С-кінцевий сегмент Stat2, *транс*-активаторна активність якого корелює з його p300/CBP-зв'язуючою активністю [130].

На відміну від ISGF3 активатором пізньої транскрипції індукованих ІФН генів є вже описаний фактор IRF-1 [117]. Оскільки, як зазначалося вище, IRF-1 практично відсутній в неіндукованих клітинах, експресія його гена починається тільки після стимуляції клітин ІФН або іншими індук-



торами [131]. Вважається, що фактор IRF-1 може підсилювати на пізній стадії експресію генів, ініційовану на ранній стадії фактором ISGF3. При взаємодії з промоторами ІФН-індукованих генів IRF-1, як і фактор ISGF3, може зв'язуватися з ISRE-сайтами [128]. Разом з цим для зв'язування IRF-1 достатньо лише частини послідовності, необхідної для зв'язування ISGF3 [132]. Тому IRF-1 може стимулювати транскрипцію не тільки генів, у промоторах яких є сайт ISRE, але й низки інших генів, наприклад, генів головного комплексу гістосумісності класу I (MHC I) [65, 110], у промоторах яких відсутній сайт ISRE. Показано також, що IRF-1 є відповідальним за проведення індукційного сигналу у випадку деяких ІФН-індукованих генів за допомогою дволанцюгової РНК [133].

Підсумовуючи наведені вище дані, можна відмітити деякі загальні тенденції побудови і функціонування як ТФ, що беруть участь у регуляції експресії генів ІФН-А/В і ІФН-індукованих білків, так і відповідних транскрипційних комплексів у цілому.

Відносно специфічності дії розглянутих ТФ слід зазначити, що абсолютно всі з найвивченіших ТФ, як свідчить викладене вище, причетні до регуляції експресії не тільки генів ІФН-А/В і ІФН-індукованих білків, але й багатьох інших генів і тому не можуть розглядатися як ген-специфічні. Відсутні також і прямі факти, які вказували б на виключну роль якогось ТФ лише в системі транскрипційного комплексу ІФН-А або ІФН-В.

Усі розглянуті ТФ, як правило, мають модульну будову і можуть містити ДНК-зв'язуючий, димеризаційний (олігомеризаційний), *транс*-активуєчий та ліганд-зв'язуючий домени. Більшість (якщо не всі) ТФ потребують для свого переходу від латентної до активної форми етап активації. Остання може здійснюватися декількома шляхами: 1) вилученням білка, маскуючого дію ТФ; 2) модифікацією (фосфорилуванням) ТФ; 3) формуванням гомо- або гетеромерних транскрипційних комплексів. Вказані шляхи активації, як вважається, саме і забезпечують у кінцевому підсумку виникнення унікальної специфічності універсальних ТФ щодо взаємодії з тим чи іншим промоторним елементом відповідних генів.

На сьогодні встановлено, що регуляція ТФ у загальному випадку відбувається на двох рівнях — концентрації їх у клітині, та їхньої активності. При цьому регуляція внутрішньоклітинного рівня ТФ може бути опосередкована ауторегуляцією транскрипції і контролем на рівні сплайсингу РНК, деградації мРНК і трансляції. Регуляція активності

ТФ здійснюється за допомогою посттрансляційної модифікації (фосфорилування). Така модифікація в свою чергу залежить від активації лігандами і білок-білкових взаємодій [134]. Все вищезгадане, судячи з наведених даних, притаманне і ТФ, які беруть участь у регуляції експресії генів ІФН-А/В і ІФН-індукованих білків.

Побудова транскрипційного комплексу (енхансеосоми) з використанням відносно незалежних, але пов'язаних між собою груп позитивно і негативно діючих ТФ у випадку генів ІФН-А/В і ІФН-індукованих генів дає змогу організмові специфічно реагувати на різноманітні зовнішні фактори (вірусна інфекція тощо), а також створювати умови для функціонального перехрещення шляхів активації генів у різних точках мережі даної генної групи. Це в свою чергу забезпечує високий ступінь надійності фізіологічної відповіді [3,4]. До того ж наявність у генній мережі шляхів активації різної направленості та їхня відокремленість у часі дії дозволяють системі ІФН здійснювати самоконтроль і в залежності від сили зовнішнього сигналу оптимізувати відповідь і підсилювати свій вплив або виключати систему [82]. При цьому синергізм дії різних ТФ забезпечує неадитивне підсилення відповіді при дії декількох індукторів.

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 як структурно-функціональних властивостей ТФ, причетних до цього процесу, самих по собі, так і енхансеосом в цілому.

*А. В. Карпов*

Регуляция генов интерферонов I типа и интерферон-индуцируемых генов. Белковые факторы промоторных транскрипционных комплексов

Резюме

*Представлен обзор сведений, касающихся характеристики белковых транскрипционных факторов, участвующих в регуляции индуцированной экспрессии генов интерферонов I типа ( $\alpha$ - и  $\beta$ -ИФН), и также ИФН-индуцируемых генов. Описаны известные структурные характеристики и субъединичный состав таких факторов, их контакты с регуляторными доменами соответствующих промоторов, а также белок-белковые взаимодействия и их роль в генной экспрессии. Приведена общая картина экспрессии генов  $\alpha/\beta$ -ИФН и ИФН-индуцируемых генов в ответ на индукцию. Принимая во внимание последние данные, подчеркнуто значение сложной пространственной структуры транскрипционного комплекса (энхансеосомы) с использованием относительно независимых, но связанных между собой группы транскрипционных факторов, что дает возможность организму специфически реагировать на внешние факторы (вирусная инфекция и т. д.).*

A. V. Karpov

Regulation of the type I interferon genes and interferon-inducible genes. The protein factors of promoter transcription complexes

## Summary

The information concerning the protein transcription factors involved in regulation of the expression of the type I interferons ( $\alpha$ - and  $\beta$ -IFNs) and IFN-inducible genes is presented in the review. The known structural characteristics and subunit composition as well as their contacts with regulator domains of corresponding promoters, protein-protein interactions and their role in gene expression have been described. A renewed general scheme of the  $\alpha/\beta$ -IFN genes and IFN-inducible genes expression in response to the induction has been offered. Taking into account the new data, it is emphasized the significance of high order spatial structure of the transcription complex (enhanceosome) consisting of relatively independent but bound with each other groups of transcription factors. This gives a possibility for an organism to react specifically to external factors (viral infection, etc).

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. De Maeyer E., De Maeyer-Guignard J. Interferons and other regulatory cytokines.—New York: John Wiley and Sons, 1988.—P. 24—28.
2. Карпов О. В. Регуляція генів інтерферонів I типу та інтерферон-індукованих генів. I. Організація промоторних регуляторних послідовностей // Біополімери і клітина.—1998.—14, № 3.—С. 223—230.
3. Wingender E. Gene regulation in eukaryotes.—Weinheim: VCH, 1993.
4. Вингендер Э. Классификация транскрипционных факторов эукариот // Молекуляр. биология.—1997.—31, № 4.—С. 548—600.
5. Taniguchi T. Regulation of cytokine gene expression // Annu. Rev. Immunol.—1988.—6.—P. 439—464.
6. Goodbourn S., Maniatis T. Overlapping positive and negative regulatory domains of the human  $\beta$ -interferon gene // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1988.—85.—P. 1447—1451.
7. Zinn K., Maniatis T. Detection of factors that interact with the human  $\beta$ -interferon regulatory region *in vivo* by DNase I footprinting: Dissociation and binding correlate with gene activity // Cell.—1986.—45.—P. 611—618.
8. Miyamoto M., Fujita T., Kimura Y., Maruyama M., Harada H., Sudo Y., Miyata T., Taniguchi T. Regulated expression of a gene encoding a nuclear factor, IRF-1, that specifically binds to IFN- $\beta$  gene regulatory elements // Cell.—1988.—54.—P. 903—913.
9. Fujita T., Sakakibara J., Sudo Y., Miyamoto M., Kimura Y., Taniguchi T. Evidence for a nuclear factor(s), IRF-1, mediating and silencing properties to human IFN- $\beta$  gene regulatory elements // EMBO J.—1988.—7.—P. 3397—3405.
10. Fujita T., Reis L. F. L., Watanabe N., Kimura Y., Taniguchi T., Vilcek J. Induction of the transcription factor IRF-1 and interferon- $\beta$  mRNAs by cytokines and activators of second messenger pathways // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1989.—86.—P. 9936—9940.
11. Harada H., Fujita T., Miyamoto M., Kimura Y., Maruyama M., Furia A., Miyata T., Taniguchi T. Structurally similar but functionally distinct factors, IRF-1 and IRF-2, bind to the same regulatory elements of IFN and IFN-inducible genes // Cell.—1989.—58.—P. 729—739.
12. Lin R., Mustafa R., Nguyen H., Hiscott J. Mutation analysis of interferon (IFN) regulatory factors 1 and 2. Effects on the induction of IFN- $\beta$  gene expression // J. Biol. Chem.—1994.—269.—P. 17542—17549.
13. LeBlanc J.-F., Cohen L., Rodrigues M., Hiscott J. Synergism between distinct enhancer domains in viral induction of human beta interferon gene // Mol. Cell. Biol.—1990.—10.—P. 3987—3993.
14. MacDonald N. J., Kuhl D., Maguire D., Naf D., Gallant P., Goswamy A., Hug H., Bueler H., Chaturvedi M., de la Fuente J., Ruffner H., Meyer F., Weissmann C. Different pathways mediate virus inducibility of the human IFN- $\alpha$ 1 and IFN- $\beta$  genes // Cell.—1990.—60.—P. 767—779.
15. Keller A., Maniatis T. Identification of an inducible factor that binds to a positive regulatory element of the human  $\beta$ -interferon gene // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1988.—85.—P. 3309—3313.
16. Palombella V., Maniatis T. Inducible processing of interferon regulatory factor-2 // Mol. Cell. Biol.—1992.—12.—P. 3325—3336.
17. Fujita T., Kimura Y., Miyamoto M., Barsoumian E.L., Taniguchi T. Induction of endogenous IFN- $\alpha$  and IFN- $\beta$  genes by a regulatory transcription factor, IRF-1 // Nature.—1989.—337.—P. 270—272.
18. Harada H., Willison K., Sakakibara J., Miyamoto M., Fujita T., Taniguchi T. Absence of type I IFN system in EC cells: transcriptional activator (IRF-1) and repressor (IRF-2) genes are developmentally regulated // Cell.—1990.—63.—P. 303—312.
19. Whiteside S. T., King P., Goodbourn S. A truncated form of the IRF-2 transcription factor has the properties of a postinduction repressor of interferon- $\beta$  gene expression // J. Biol. Chem.—1994.—269.—P. 27059—27065.
20. Cha Y., Deisseroth A. B. Human interferon regulatory factor 2 gene. Intron-exon organization and functional analysis of 5'-flanking region // J. Biol. Chem.—1994.—269.—P. 5279—5287.
21. Matsuyama T., Kimura T., Kitagawa M., Pfeiffer K., Kawakami T., Watanabe N., Kundig T., Amakawa R., Kishihara K. Targeted disruption of IRF-1 or IRF-2 results in abnormal type I IFN gene induction and aberrant lymphocyte development // Cell.—1993.—75.—P. 83—97.
22. Ruffner H., Reis L. F. L., Nef D., Weissmann C. Induction of type I interferon genes and interferon-inducible genes in embryonal stem cells devoid of interferon regulatory factor 1 // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1993.—90.—P. 11503—11507.
23. Reis L. F. L., Ruffner H., Stark G., Aguetand M., Weissmann C. Mice devoid of interferon regulatory factor 1 (IRF-1) show normal expression of type I interferon genes // EMBO J.—1994.—13.—P. 4798—4806.
24. Harada H., Kitagawa M., Tanaka N., Yamamoto H., Harada K., Ishihara M., Taniguchi T. Anti-oncogenic and oncogenic potentials of interferon regulatory factors-1 and -2 // Science.—1993.—259.—P. 971—974.
25. Willman C. L., Sever C. E., Pallavicini M. G., Harada H., Tanaka N., Slovak M. L., Yamamoto H., Harada K., Meeker T. C., List A. F., Taniguchi T. Deletion of IRF-1, mapping to chromosome 5q31.1, in human leukemia and preleukemic myelodysplasia // Science.—1993.—259.—P. 968—971.
26. Vaughan P. S., Aziz F., Wijnen A. J. Activation of a cell-cycle regulated histone gene by the oncogenic transcription factor IRF-2 // Nature.—1995.—377.—P. 362—365.
27. Horiuchi M., Yamada T., Hayashida W., Dzum V. J. Interferon regulatory factor-1 up-regulates angiotensin II type 2 receptor and induces apoptosis // J. Biol. Chem.—1997.—272.—P. 11952—11958.
28. Lenardo M. J., Baltimore D. NF- $\kappa$ B: a pleiotropic mediator of inducible and tissue-specific gene control // Cell.—1989.—58.—P. 227—229.
29. Baeyerle P. A. The inducible transcription activator NF- $\kappa$ B:

- regulation by distinct protein subunits // *Biochim. et biophys. acta.*—1991.—1072—P. 63—80.
30. Sen R., Baltimore D. Multiple nuclear factors interact with the immunoglobulin enhancer sequences // *Cell.*—1986.—46.—P. 705—716.
  31. Sen R., Baltimore D. Inducibility of  $\kappa$  immunoglobulin enhancer-binding protein NF- $\kappa$ B by a post-translational mechanism // *Cell.*—1986.—47.—P. 921—928.
  32. Baeuerle P. A., Baltimore D. I $\kappa$ B: A specific inhibitor of the NF- $\kappa$ B transcription factor // *Science.*—1988.—242.—P. 540.
  33. Zabel U., Baeuerle P. A. Purified human I kappa B can rapidly dissociate the complex of the NF kappa B transcription factor with its cognate DNA // *Cell.*—1990.—61.—P. 255—265.
  34. Bohnelein E., Lowenthal J. W., Siekevitz M., Ballard D. W., Franza B. R., Greene W. C. The same inducible nuclear proteins regulates mitogen activation of both the interleukin-2 receptor-alpha gene and type 1 HIV // *Cell.*—1988.—53.—P. 827—836.
  35. Osborn L., Kunkel S., Nabel G. J. Tumor necrosis factor  $\alpha$  and interleukin-1 stimulate the human immunodeficiency virus enhancer by activation of the nuclear factor  $\kappa$ B // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1989.—86.—P. 2336—2340.
  36. Baeuerle P. A., Baltimore D. A 65 kD subunit of active NF- $\kappa$ B is required for inhibition of NF- $\kappa$ B by I $\kappa$ B // *Genes Dev.*—1989.—3.—P. 1689—1698.
  37. Beg A., Baldwin A. S. The I $\kappa$ B proteins: regulators of Rel/NF- $\kappa$ B transcription factors // *Genes Dev.*—1993.—7.—P. 2064—2070.
  38. Liou H. C., Baltimore D. Regulation of NF- $\kappa$ B/rel transcriptional factor and I $\kappa$ B inhibitor system // *Curr. Opin. Cell Biol.*—1993.—5.—P. 477—487.
  39. Hiscott J., Alper D., Cohen L., Leblanc J. F., Sportza L., Wong L., Xanthoudakis S. Induction of human interferon gene expression is associated with a nuclear factor that interacts with the NF- $\kappa$ B site of the human immunodeficiency virus enhancer // *J. Virol.*—1989.—63.—P. 2557—2566.
  40. Lenardo M. J., Fan C.-M., Maniatis T., Baltimore D. The involvement of NF- $\kappa$ B in  $\beta$ -interferon gene regulation reveals its role as a widely inducible mediator of signal transduction // *Cell.*—1989.—57.—P. 287—294.
  41. Visvanathan K. V., Goodbourn S. Double-stranded RNA activates binding of NF- $\kappa$ B to an inducible element in the human  $\beta$ -interferon promoter // *EMBO J.*—1989.—8.—P. 1129—1138.
  42. Beg A., Ruben S. M., Schneiman R. I., Haskill S., Rossen C. A., Baldwin A. S. I $\kappa$ B interacts with the nuclear localization sequences of the subunits of NF- $\kappa$ B: a mechanism for cytoplasmic retention // *Genes Dev.*—1992.—6.—P. 1899—1913.
  43. Duckett C. S., Perkins N. D., Kowalik T. F., Schmid R. M., Huang E. S., Baldwin A. S. Jr., Nabel G. J. Dimerization of NF- $\kappa$ B2 with RelA(p65) regulates DNA binding, transcriptional activation, and inhibition by an I $\kappa$ B- $\alpha$ (MAD-3) // *Mol. Cell. Biol.*—1993.—13.—P. 1315—1322.
  44. Kieren M., Blank V., Logeat F., Vandekerckhove J., Lottspeich F., LeBail O., Urban M. B., Kourilsky P., Baeuerle P., Israel A. The DNA binding subunit of NF- $\kappa$ B is identical to factor KBF-1 and homologous to the rel oncogene products // *Cell.*—1990.—62.—P. 1007—1018.
  45. Thanos D., Maniatis T. Identification of the rel family members required for virus induction of the human beta interferon gene // *Mol. Cell. Biol.*—1995.—15.—P. 152—164.
  46. Bours V., Villalobos J., Bard P. R., Kelly K., Siebenlist U. Cloning of a mitogen-inducible gene encoding a  $\kappa$ B DNA-binding protein with homology to the rel oncogene and to cell-cycle motifs // *Nature.*—1990.—348.—P. 76—80.
  47. Ghosh S., Gifford A. M., Riviere L. R., Tempst P., Nolan G. P., Baltimore D. Cloning of p50 DNA bonding subunit of NF- $\kappa$ B: Homology to rel and dorsal // *Cell.*—1990.—62.—P. 1019—1029.
  48. Mercurio F., DiDonato J. A., Rosette C., Karin M. p105 and p98 precursor proteins play an active role in NF- $\kappa$ B-mediated signal transduction // *Genes Dev.*—1993.—7.—P. 705—718.
  49. Ruben S. M., Klement J. F., Coleman T. A., Maher M., Chen C. H., Rosen C. A. I-Rel: a novel rel-related protein that inhibits NF- $\kappa$ B transcriptional activity // *Genes Dev.*—1992.—6.—P. 745—760.
  50. Rybeck R. P., Bull P., Takamiya M., Bours V., Siebenlist U., Dobrzanski P. RelB, a new rel family transcription activator that can interact with p50-NF- $\kappa$ B // *Mol. Cell. Biol.*—1992.—12.—P. 674—684.
  51. Ip Y. T., Reach M., Engstrom Y., Kadalayil L., Cui H., Gonzales-Crespo S., Tatei K., Levine M. Dif, a dorsal related gene that mediates an immune response in *Drosophila* // *Cell.*—1993.—75.—P. 753—763.
  52. Moore P. A., Ruben S. M., Rosen C. A. Conservation of transcriptional activation functions of the NF- $\kappa$ B p50 and p65 subunits in mammalian cells and *Saccharomyces cerevisiae* // *Mol. Cell. Biol.*—1993.—13.—P. 1666—1674.
  53. Lin R., Gewert D., Hiscott J. Differential transcriptional activation *in vitro* by NF- $\kappa$ B/rel proteins // *J. Biol. Chem.*—1995.—270.—P. 3123—3133.
  54. Haskill S., Berg A. A., Tompkins S. M., Morris J. S., Yurochko A. D., Sampson-Johannes A., Mondal K., Ralph P., Baldwin A. S. Characterization of an immediate early gene induced in adherent monocytes that encodes I $\kappa$ B like activity // *Cell.*—1991.—65.—P. 1281—1289.
  55. Kerr L. D., Duckett C. S., Wamsley P., Zhang Q., Chiao P., Nabel G., McKeithan T. W., Baeuerle P. A., Verma I. M. The proto-oncogene BCL-3 encodes an I $\kappa$ B protein // *Genes Dev.*—1992.—6(12A)—P. 2352—2363.
  56. Nolan G. P., Fujita T., Bhatia K., Huppi C., Liou H. C., Scott M. L., Baltimore D. The bcl-3 proto-oncogene encodes a nuclear I $\kappa$ B-like molecule that preferentially interacts with NF- $\kappa$ B p50 and p52 in a phosphorylation-dependent manner // *Mol. Cell. Biol.*—1993.—13.—P. 3557—3566.
  57. Inoue J.-I., Kerr L., Kakizuka A., Verma I. M. I $\kappa$ By: a 70 kD protein identical to the C-terminal half of p110 NF- $\kappa$ B: a new member of the I $\kappa$ B family // *Cell.*—1992.—68.—P. 1109—1120.
  58. Nolan G. P., Baltimore D. The inhibitory ankyrin and activator Rel proteins // *Curr. Opin. Genet. Dev.*—1992.—2.—P. 211—220.
  59. Kumar A., Haque J., Lacoste J., Hiscott J., Williams B. R. G. The dsRNA dependent protein kinase PKR activates transcription factor NF- $\kappa$ B by phosphorylating I $\kappa$ B // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1994.—91.—P. 6288—6292.
  60. Ghosh S., Baltimore D. Activation *in vitro* of NF- $\kappa$ B by phosphorylation of its inhibitor I $\kappa$ B // *Nature.*—1990.—344.—P. 678—682.
  61. Beg A. A., Finco T. S., Nantermet P. V., Baldwin A. S. Tumor necrosis factor and interleukin 1 lead to phosphorylation and loss of I $\kappa$ B $\alpha$ : a mechanism for NF- $\kappa$ B activation // *Mol. Cell. Biol.*—1993.—13.—P. 3301—3310.
  62. Brown K., Park S., Kanno T., Franzoso G., Siebenlist U. Mutual regulation of the transcriptional activator NF- $\kappa$ B and its inhibitor, I $\kappa$ B- $\alpha$  // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1993.—90.—P. 2532—2536.
  63. Scott M. L., Fujita T., Liou H. C., Nolan G. P., Baltimore D. The p65 subunit of NF- $\kappa$ B regulates I $\kappa$ B by two distinct mechanisms // *Genes Dev.*—1993.—7(7A)—P. 1266—1276.

64. Sun S.-C., Ganchi P. A., Ballard D. W., Green W. C. NF- $\kappa$ B controls expression of inhibitor I $\kappa$ B $\alpha$ : evidence for an inducible autoregulatory pathway // *Science*.—1993.—259.—P. 1912—1915.
65. Garoufalidis E., Kwan I., Lin R., Mustafa A., Pepin N., Roulston A., Lacoste J., Hiscott J. Viral induction of the human beta interferon promoter: modulation of transcription by the NF- $\kappa$ B/*rel* proteins and interferon regulatory factors // *J. Virol.*—1994.—68.—P. 4707—4715.
66. Maniatis T., Whittemore L. A., Du W., Fan C. M., Keller A. D., Palombella V., Thanos D. Positive and negative control of the human interferon- $\beta$  gene expression // *Transcriptional regulation* / Eds S. L. McKnight, K. R. Yamamoto.—New York: Cold Spring Harbor Lab. press, 1992.—P. 1193—1220.
67. Bustin M., Lehn D. A., Landsman D. Structural features of the HMG chromosomal proteins and their genes // *Biochim. et biophys. acta.*—1990.—1049.—P. 231—243.
68. Johnson K. R., Lehn D. A., Elton T. S., Barr P. J., Reeves R. Complete murine cDNA sequence, genomic structure, and tissue expression of the high mobility group protein HMG-1(Y) // *J. Biol. Chem.*—1988.—263.—P. 18338—18342.
69. Eckner R., Birnstein M. L. Cloning of cDNA coding for human HMG I and HMG Y proteins: Both are capable of binding to the octamer sequence motif // *Nucl. Acids Res.*—1989.—17.—P. 5947—5959.
70. Du W., Thanos D., Maniatis T. Mechanisms of transcriptional synergism between distinct virus-inducible enhancer elements // *Cell*.—1993.—74.—P. 887—898.
71. Hai T., Fang L., Alegretto A., Karin M., Green M. R. A family of immunologically related transcription factors that includes multiple forms of ATF and AP-1 // *Genes Dev.*—1988.—2.—P. 1216—1226.
72. Hai T., Fang L., Coukas W. J., Green M. R. Transcription factor ATF cDNA clones: An extensive family of leucine zipper proteins able to selectively form DNA-binding heterodimers // *Genes Dev.*—1989.—3.—P. 2083—2090.
73. Lin Y.-S., Green M. R. Interaction of a common cellular transcription factor, ATF, with regulatory elements in both E1 $\alpha$ - and cyclic AMP-inducible promoters // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1989.—85.—P. 3396—3400.
74. Muckawa T., Sakura H., Kanei-Ishii C., Sudo T., Yoshimura T., Fujisawa J.-I., Yoshida M., Ishii S. Leucine zipper structure of the protein CRE-BP1 binding to the cyclic AMP response element in brain // *EMBO J.*—1989.—8.—P. 2023—2029.
75. Livingstone C., Patel G., Jones N. ATF-2 contains a phosphorylating-dependent transcriptional activation domain // *EMBO J.*—1995.—14.—P. 1785—1797.
76. Rehfuess R. P., Walton K. M., Loriaux M. M., Goodman R. H. The cAMP-regulated enhancer-binding protein ATF-1 activates transcription in response to cAMP-dependent protein kinase A // *J. Biol. Chem.*—1991.—266.—P. 18431—18434.
77. Liu F., Green M. R. A specific member of the ATF transcription factor family can mediate transcription activating by the adenovirus E1 $\alpha$  protein // *Cell*.—1990.—61.—P. 1217—1224.
78. Hai T., Curran T. Cross-family dimerization of transcription factors Fos/Jun and ATF/CREB alters DNA-binding specificity // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1991.—88.—P. 3720—3724.
79. Hoefler W. K., Levinson A., Bauer E. A. Activation of *c-Jun* transcription factor by substitution of a charged residue in its N-terminal domain // *Nucl. Acids Res.*—1994.—22.—P. 1305—1312.
80. Du W., Maniatis T. An ATF/CREB element is required for virus induction of the human interferon- $\beta$  gene // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1992.—89.—P. 2150—2154.
81. Yoneyama M., Sahara W., Fukuhara Y., Sato M., Ozato K., Fujita T. Autocrine amplification of type I interferon gene expression regulated by interferon stimulated gene factor 3 (ISGF3) // *J. Biochem.*—1996.—128.—P. 160—169.
82. Ананько Е. А., Бажан С. И., Белова О. Е., Кель А. Э. Механизмы регуляции транскрипции интерферон-индуцируемых генов: описание в информационной системе HG-TTRD // *Молекуляр. биология.*—1997.—31, № 4.—С. 701—713.
83. Solomon M. J., Strauss F., Varshavsky A. A mammalian high mobility group protein recognizes any stretch of six A T base pairs in duplex DNA // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1986.—83.—P. 1276—1280.
84. Thanos D., Maniatis T. The high mobility group protein HMG 1(Y) is required for NF- $\kappa$ B-dependent induction of the human IFN- $\beta$  gene // *Cell*.—1992.—71.—P. 777—789.
85. Kaszubska W., van Huijsdijnen R. H., Ghersa P., DeRaemy Schenk A. M., Chen B. P., Hai T., DeLamarter J. F., Whelan J. Cyclic AMP-independent ATF family members interact with NF- $\kappa$ B and function in the activation of the E-selectin promoter in response of cytokines // *Mol. Cell. Biol.*—1993.—13.—P. 7180—7190.
86. Reeves R., Wolffe A. P. Substrate structure influences binding of the non-histone protein HMG 1(Y) to free and nucleosomal DNA // *Biochemistry.*—1996.—35.—P. 5063—5074.
87. Nissen M. S., Reeves R. Changes in superhelicity are introduced into closed circular DNA by binding of high mobility group protein 1(Y) // *J. Biol. Chem.*—1995.—270.—P. 4355.
88. Giese K., Kingsley C., Kirshner J. R., Grosschedl R. Assembly and function of a TCR $\alpha$  enhancer complex is dependent on LEF-1-induced DNA bending and multiple protein-protein interactions // *Genes Dev.*—1995.—9.—P. 995—1008.
89. Stein B., Cogswell P. C., Baldwin A. S. Functional and physical association between NF- $\kappa$ B and C/EBP family members: a *rel* domain-bZIP interaction // *Mol. Cell. Biol.*—1993.—13.—P. 3984—3989.
90. Falvo J. V., Thanos D., Maniatis T. Reversal of intrinsic DNA bends in the IFN $\beta$  gene enhancer by transcription factors and the architectural protein HMG 1(Y) // *Cell*.—1995.—83.—P. 1101—1111.
91. MacDonald N. J., Kuhl D., Maguire D., Naf D., Gallant P., Goswamy A., Hug H., Bueler H., Chaturvedi M., de la Fuente J., Ruffner H., Meyer F., Weissmann C. Different pathway mediate virus inducibility of the human IFN- $\alpha$ 1 and IFN  $\beta$  genes // *Cell*.—1990.—60.—P. 767—779.
92. Braganca J., Genin P., Bandu M.-T., Darracq N., Vignal M., Cussa C., Doly J., Civas A. Synergism between multiple virus-induced factor-binding elements involved in the differential expression of interferon A gene // *J. Biol. Chem.*—1997.—272.—P. 22154—22162.
93. Raj N. B. K., Au W.-C., Pitha P. M. Identification of a novel virus-responsive sequence in the promoter of murine interferon- $\alpha$  genes // *J. Biol. Chem.*—1991.—266.—P. 11360—11365.
94. Au W.-C., Raj N. B. K., Pine R., Pitha P. M. Distinct activation of murine interferon- $\alpha$  promoter region by IRF-1/ISGF-2 and virus infection // *Nucl. Acids Res.*—1992.—20.—P. 2877—2884.
95. Au W.-C., Su Y., Raj N. B. K., Pitha P. M. Virus-mediated induction of IFN $\alpha$  gene requires cooperation between multiple binding factors in the IFN $\alpha$  promoter region // *J. Biol. Chem.*—1993.—268.—P. 24032—24040.
96. Yoneyama M., Sahara W., Fukuhara Y., Fukuda M., Nishida E., Fujita T. Direct triggering of the type I interferon system by virus infection: activation of a transcription factor complex containing IRF-3 and CBP/p300 // *EMBO J.*—1998.—17.—P. 1087—1095.

97. Eisenbeis C. F., Singh H., Storb U. Pip, a novel IRF family member, is a lymphoid-specific, PU.1-dependent transcriptional activator // *Genes Dev.*—1995.—9.—P. 1377—1387.
98. Yamagata T., Nishida J., Tanaka T., Sakai R., Mitani K., Yoshida M., Taniguchi T., Yazaki Y., Hirai H. A novel interferon regulatory factor family transcription factor, ICSAT/Pip/LSIRF, that negatively regulates the activity of interferon-regulated genes // *Mol. Cell. Biol.*—1996.—16.—P. 1283—1294.
99. Zhang L., Pagano J. H. IRF-7, a new interferon regulatory factor associated with Epstein-Barr virus latency // *Mol. Cell. Biol.*—1997.—17.—P. 5748—5757.
100. Au W.-C., Moore P. A., Lowther W., Juang Y.-T., Pitha P. M. Identification of a member of the interferon regulatory factor family that binds to the interferon-stimulated response element and activates expression of interferon-induced genes // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1995.—92.—P. 11657—11661.
101. Naf D., Hardin S. E., Weissmann C. Multimerization of AAGTGA and GAAAGT generates sequences that mediate virus inducibility by mimicking an interferon promoter element // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1991.—88.—P. 1369—1373.
102. Genin P., Braganca J., Durracq N., Doly J., Civas A. A novel PRDI and TG binding activity involved in virus-induced transcription of IFN- $\alpha$  genes // *Nucl. Acids Res.*—1995.—23.—P. 5055—5063.
103. Roffet P., Lopez S., Navarro S., Bandu M. T., Coulombel C., Vignal M., Doly J., Vodjdani G. Identification of distal silencing elements in the murine interferon- $\alpha$ 11 gene promoter // *Biochem. J.*—1996.—317.—P. 697—706.
104. Der S. D., Lau A. S. Involvement of the double-stranded-RNA-dependent kinase PKR in interferon expression and interferon-mediated antiviral activity // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1995.—92.—P. 8841—8845.
105. Staeheli P. Interferon-induced proteins and the antiviral state // *Adv. Virus. Res.*—1990.—38.—P. 147—200.
106. Tanaka H., Samuel C. E. Mechanism of interferon action: structure of the mouse PKR gene encoding the interferon-inducible RNA-dependent protein kinase // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1994.—91.—P. 7995—7999.
107. Schumacher B., Bernasconi D., Schultz U., Staeheli P. The chicken Mx promoter contains an ISRE motif and confers interferon inducibility to a reporter gene in chick and monkey cells // *Virology.*—1994.—203.—P. 144—148.
108. Wathelet M. G., Clauss I. M., Paillard F. C., Huez G. A. 2-Aminopurine selectively blocks the transcriptional activation of cellular genes by virus, double-stranded RNA, and interferons in human cells // *Eur. J. Biochem.*—1989.—184.—P. 503—509.
109. Levy D. E., Kessler D. S., Pine R., Darnell J. E. Cytoplasmic activation of ISGF3, the positive regulator of interferon- $\alpha$ -stimulated transcription, reconstituted *in vitro* // *Genes Dev.*—1989.—3.—P. 1362—1371.
110. Loh J. E., Chang C., Fodor W. L., Flavell R. A. Dissection of the interferon  $\gamma$ -MHC class II signal transduction pathway reveals that type I and type II interferon systems share common signalling component(s) // *EMBO J.*—1992.—11.—P. 1351—1363.
111. Hassanian H. H., Chon S. Y., Gupta S. L. Differential regulation of human indoleamine 2,3-dioxygenase gene expression by interferons- $\gamma$  and - $\alpha$  // *J. Biol. Chem.*—1993.—268.—P. 5077—5084.
112. Briken V., Ruffner H., Schultz U., Schwartz A., Reis L. F., Strehlow I., Decker T., Staeheli P. Interferon regulatory factor 1 is required for mouse Gbp gene activation by gamma interferon // *Mol. Cell. Biol.*—1995.—15.—P. 975—982.
113. Martin E., Nathan C., Xie Q. Role of interferon regulatory factor 1 in induction of nitric oxide synthase // *J. Exp. Biol.*—1994.—180.—P. 977—984.
114. Lew D. J., Decker T., Strehlow I., Darnell J. E. Overlapping elements in the guanylate-binding protein gene promoter mediate transcriptional induction by alpha and gamma interferons // *Mol. Cell. Biol.*—1991.—11.—P. 182—191.
115. Levy D. E., Kessler D. S., Pine R., Reich N., Darnell J. E. Interferon-induced nuclear factors that bind a shared promoter element correlate with positive and negative transcriptional control // *Genes Dev.*—1988.—2.—P. 383—393.
116. Gilmour K. C., Reich N. C. Signal transduction and activation of gene transcription by interferon // *Gene Expression.*—1995.—5.—P. 1—18.
117. Pine R., Levy D. E., Reich N., Darnell J. E. Purification and cloning of interferon-stimulated gene factor 2 (ISGF2): ISGF2 (IRF-1) can bind to the promoters of both beta interferon and interferon-stimulated genes but not a primary transcriptional activator of either // *Mol. Cell. Biol.*—1990.—10.—P. 2448—2457.
118. Fu X.-Y., Schindler C., Improta T., Aebersold R., Darnell J. E. The proteins of ISGF-3, the interferon- $\alpha$ -induced transcription activator, define a gene family involved in signal transduction // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1992.—89.—P. 7840—7843.
119. Muller M., Laxton C., Briscoe J., Schindler C., Improta J. E., Darnell J. E., Stark G. R., Kerr I. M. Complementation of a mutant cell line: central of the 91 kDa polypeptide of ISGF3 in the interferon- $\alpha$  and - $\beta$  signal transduction pathways // *EMBO J.*—1994.—12.—P. 4221—4228.
120. Sahara W., Yoneyama M., Yonekawa H., Fujita T. Structure of mouse interferon stimulated gene factor 3 $\gamma$  (ISGF3 $\gamma$ /p48) cDNA and chromosomal localization of the gene // *J. Biochem.*—1996.—119.—P. 321—324.
121. Darnell J. E., Kerr I. M., Stark G. R. Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signalling proteins // *Science.*—1994.—264.—P. 1415—1421.
122. David M., Lerner A. C. Activation of transcription factors by interferon alpha in a cell free system // *Science.*—1992.—257.—P. 813—815.
123. David M., Romern G., Zhang Z. Y., Dixon J. E., Lerner A. C. *In vitro* activation of the transcription factor ISGF3 by IFN- $\alpha$  involved a membrane associated tyrosine phosphatase and tyrosine kinase // *J. Biol. Chem.*—1993.—268.—P. 6593—6599.
124. Velazquez L., Fellous M., Stark G. R., Pellegrini S. A protein tyrosine kinase in the interferon  $\alpha/\beta$  signalling pathway // *Cell.*—1992.—70.—P. 313—322.
125. Igarachi K.-I., David M., Lerner A. C., Finbloom D. S. *In vitro* activation of a transcription factor by gamma interferon requires a membrane-associated tyrosine kinase and is mimicked by vanadate // *Mol. Cell. Biol.*—1993.—13.—P. 3984.
126. Qureshi S. A., Saldin-Georgieff M., Darnell J. E. Tyrosine-phosphorylated Stat 1 and Stat 2 plus a 48 kDa protein all contact DNA in forming interferon-stimulated-gene factor 3 // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1995.—92.—P. 3829—3833.
127. Veals S. A., Schindler C., Leonard D., Fu X.-Y., Aebersold R., Darnell J. E. Subunit of an alpha-interferon-responsive transcription factor is related to interferon regulatory factor and Myb families of DNA-binding proteins // *Mol. Cell. Biol.*—1992.—12.—P. 3315—3324.
128. Pine R., Canova A., Schindler C. Tyrosine phosphorylated p91 binds to a single element in the ISGF2/IRF-1 promoter to mediate induction by IFN alpha and IFN gamma, and is likely to autoregulate the p91 gene // *EMBO J.*—1994.—13.—P. 158—167.

129. Kessler D. S., Veals S. A., Fu X.-Y., Levy D. E. Interferon- $\alpha$  regulates nuclear translocation and DNA-binding affinity of ISGF3, a multimeric transcriptional activator // *Genes Dev.*—1990.—4.—P. 1753—1765.
130. Bhattacharya S., Eckner R., Grossman S., Oldread E., Arany Z., D'Andrea A., Livingston D. M. Cooperation of Stat2 and p300/cbp in signalling induced by interferon- $\alpha$  // *Nature.*—1996.—383.—P. 344—347.
131. Kamijo R., Harada H., Matsuyama T., Bosland M., Gerecitano J., Shapiro D., Le J., Koh S. J., Kimura T., Green S. J., Mak T. W., Taniguchi T., Vilcek J. Requirement for transcription factor IRF-1 in NO synthetase induction in macrophages // *Science.*—1994.—263.—P. 1612—1615.
132. Haque S. J., Williams B. R. G. Identification and characterization of an interferon (IFN)-stimulated response element-IFN-stimulated gene factor 3-independent signalling pathway for IFN- $\alpha$  // *J. Biol. Chem.*—1994.—269.—P. 19523—19529.
133. Bandyopadhyay S. K., Leonard G. T., Bandyopadhyay T., Stark G. R., Sen G. C. Transcriptional induction by double-stranded RNA is mediated by interferon-stimulated response elements without activation of interferon-stimulated gene factor 3. // *J. Biol. Chem.*—1995.—270.—P. 19624—19629.
134. Calkhoven F., Geert A. B. Multiple steps in the regulation of transcription factor level and activity // *Biochem. J.*—1996.—317.—P. 329—342.

УДК 245:577.214.625:577.218  
Надійшла до редакції 11.06.98