



УДК 577.218

## ПИОНЕР-ФАКТОРЫ ТРАНСКРИПЦИИ В НОРМАЛЬНОМ РАЗВИТИИ И В КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ

© 2015 г. А. И. Кузьмич<sup>\*,#</sup>, Д. В. Тюлькина<sup>\*</sup>, Т. В. Виноградова<sup>\*</sup>, Е. Д. Свердлов<sup>\*</sup><sup>\*</sup>ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997 ГСП-7, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Поступила в редакцию 11.04.2015 г. Принята к печати 08.06.2015 г.

Транскрипционные пионер-факторы являются гетерогенной группой регуляторных белков животных, способных, в отличие от других транскрипционных факторов, распознавать и связывать целевые последовательности в контексте закрытого хроматина. Такое связывание может изменять локальную структуру хроматина и облегчать связывание других белков, способствуя прохождению дальнейших событий, необходимых для регуляции генов. Способность связываться с молчащими генами, находящимися в закрытом окружении, делает пионер-факторы крайне важным инструментом в процессах, сопровождающихся кардинальной перестройкой клеточного фенотипа, таких как дифференцировка в ходе эмбрионального развития и репрограммирование клеток. Эти белки способны оставаться связанными с целевыми последовательностями в процессе митотического деления и, вероятно, могут участвовать в поддержании клеточной памяти. Пионер-факторы, по всей видимости, принимают активное участие в процессах канцерогенеза и поддержания фенотипа опухолевых клеток, однако их роль в этих процессах требует дополнительного изучения. Есть основания считать, что дальнейшее исследование транскрипционных факторов этой группы позволит лучше понять генетические процессы, происходящие в ходе эмбрионального развития, повысить эффективность клеточного репрограммирования, а также развить новые подходы в диагностике и терапии онкологических заболеваний.

*Ключевые слова:* пионер-факторы, регуляция транскрипции, хроматин, эмбриогенез, клеточная дифференцировка, канцерогенез.

DOI: 10.7868/S0132342315060081

### ВВЕДЕНИЕ

Гены в эукариотических клетках упакованы в хроматин, что при транскрипции генома приводит к возникновению стерических затруднений для связывания транскрипционных факторов с ДНК [1, 2–3]. Действительно, в полногеномных исследованиях локализации транскрипционных факторов обнаружено, что большинство потенциальных сайтов связывания в ДНК не занято факторами. Это может отражать недоступность большей части ядерной ДНК [4]. Вопрос, как транскрипционные факторы связываются *de novo* с целевыми сайтами, промоторами и энхансерами молчащих генов, запуская регуляторные события в хроматине, еще далек от решения. В самом общем виде полагают, что распознавание и активация таких генов происходит в результате комбинаторного действия так на-

зываемых пионер-факторов, способных узнавать нужные последовательности в закрытом хроматине, перестройки нуклеосом, связывания дополнительных факторов транскрипции, связывания коактиваторов, таких как гистонацетилтрансферазы (НАТ) р300, связывания РНК-полимеразы II и, в случае энхансеров, транскрипции энхансерной РНК (eRNA). Все это сопровождается ковалентной модификацией гистонов нуклеосом в области энхансера и деметилированием CpG-островков [5, 6].

В данном миниобзоре рассматривается роль, которую в процессе инициации селективной транскрипции играют пионер-факторы – особый класс транскрипционных факторов многоклеточных животных, способных напрямую связываться со своими целевыми сайтами ДНК в конденсированном хроматине. В этом случае связывание главным образом происходит с энхансерными участками генома.

Сокращения: иПСК – индуцированные плюрипотентные стволовые клетки.

<sup>#</sup> Автор для связи (тел.: +7 (495) 330-69-92; факс: +7 (495) 330-65-38; эл. почта: akrubik@gmail.com).

Примеры транскрипционных пионер-факторов и клеточных процессов, в которых наблюдалась их активность

Пионер-фактор	Клеточные процессы, в которых проявляется пионерная активность	Избранные работы
FOXA, FoxA	Развитие печени и передней кишки, хромосомные “закладки” в митозе, прогрессия гормон-зависимых опухолей, трансдифференцировка фибробластов в гепатоцитоподобные клетки (iHer)	[4, 8–10]
OCT4, Oct4	Репрограммирование фибробластов в iPСК	[11]
SOX2, Sox2	Репрограммирование фибробластов в iPСК, прогрессия опухоли	[11, 12]
KLF4, Klf4	Репрограммирование фибробластов в iPСК	[11]
Ascl1	Трансдифференцировка фибробластов в индуцированные нейрональные клетки (iN)	[13]
Pax7	Развитие промежуточного отдела гипофиза	[14]
PU.1	Развитие миелоидных и лимфоидных тканей	[15]
GATA4, Gata4	Развитие печени, прогрессия гормон-зависимых опухолей	[4, 16]

Сокращение: iPСК – индуцированные плюрипотентные стволовые клетки.

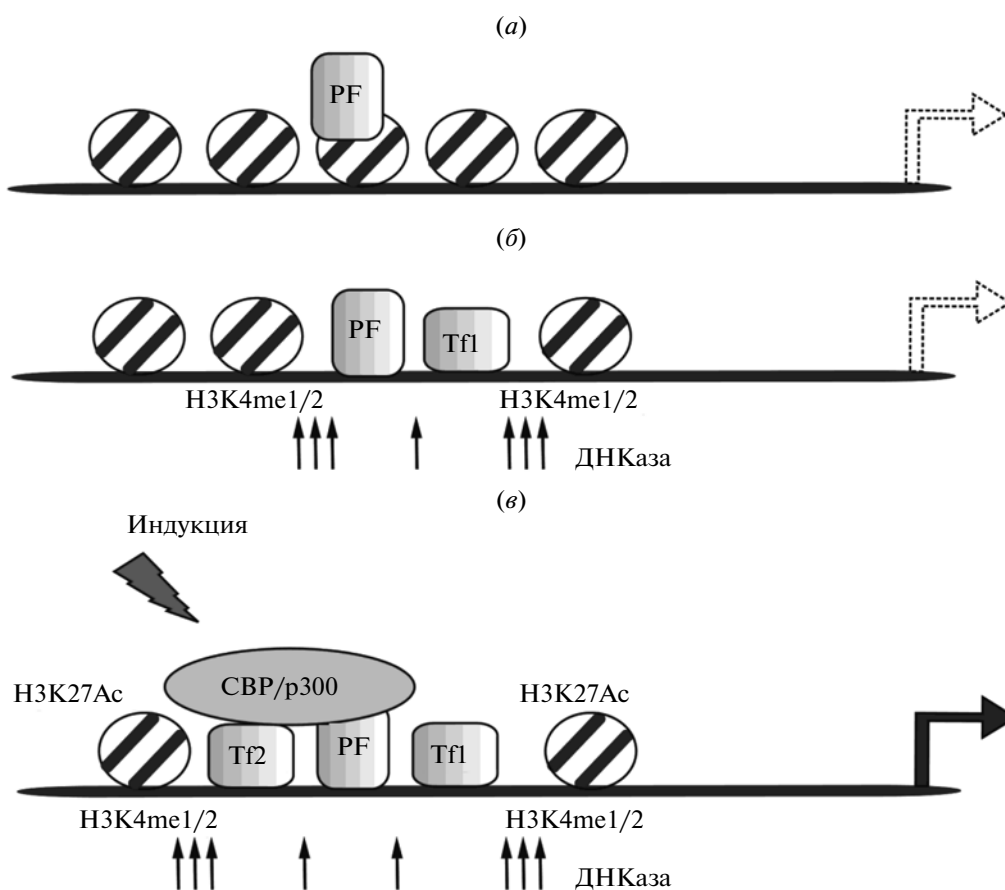
### ОТЛИЧИТЕЛЬНЫЕ ПРИЗНАКИ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ПИОНЕР-ФАКТОРОВ

Термин “пионер-факторы” впервые был предложен в 2002 г. для транскрипционных факторов Hnf3 (Foxa) и Gata4, участвующих в регуляции развития печени у мышей [7]. Эти факторы оказались способны связываться с целевыми сайтами в составе нуклеосомной ДНК в конденсированном хроматине, переводя регулируемые гены в состояние компетентное для последующей активации, происходящей в процессе гепатогенеза. Позднее были описаны другие белки, отнесенные к пионер-факторам (таблица).

Как правило, пионер-факторы вовлечены в инициацию клеточной дифференцировки и активацию генов, специфичных для клеток определенного типа. Это можно объяснить тем, что в ходе клеточной дифференцировки в процессе эмбрионального развития нередко включаются специфичные гены, которые молчат на более ранних этапах эмбриогенеза (с момента образования зиготы). Такие гены находятся в составе закрытого хроматина и активируются *de novo*, для чего могут понадобиться факторы, способные связываться с регуляторными участками в закрытом хроматине. Связывание пионер-факторов с ДНК, занятой нуклеосомами, обычно способствует последующим описанным выше комбинаторным событиям: связыванию транскрипционных факторов, кофакторов, ферментов модификации и перестройки хроматина, что в результате приводит к активации генов, определяющих новую судьбу клеток. В очень упрощенном виде последовательность событий, происходящих на хроматине при связывании пионер-фактора, приведена на рисунке.

В целом, можно выделить следующие критерии, по которым регуляторный белок может быть отнесен к транскрипционным пионер-факторам, хотя не во всех случаях эти критерии были экспериментально подтверждены для описанных пионер-факторов: (1) привлекаются к сайтам связывания, находящимся в области компактизованного молчащего хроматина, еще до активации транскрипции целевых генов; (2) связываются с хроматином раньше других факторов транскрипции; (3) индуцируют модификации и/или перестройку хроматина, что увеличивает доступность соответствующих целевых сайтов для других белков (транскрипционных факторов, комплексов белков участвующих в перестройке хроматина, гистоновых вариантов и репрессоров); (4) играют подготовительную роль в клеточной дифференцировке и перепрограммировании (cell programming and reprogramming) и устанавливают состояние компетентности для изменения судьбы клеток (cell fate).

Необходимо отметить, что в большинстве случаев сложно однозначно установить точную хронологию связывания набора транскрипционных факторов с выбранным локусом [17]. Термин “транскрипционный пионер-фактор” не является строго детерминированным, скорее это понятие можно рассматривать как полезный дескриптор свойств, обнаруживаемых в конкретных случаях. Более того, поздний транскрипционный фактор может выступать в роли пионер-фактора для более раннего и наоборот, этот порядок сильно зависит от клеточного контекста и конкретного локуса. Таким образом, многие транскрипционные факторы, вовлеченные в подготовку к инициации цис-регуляторных элементов, могут попадать в группу пионер-факторов. Однако, как уже было отмечено, часто очень сложно однозначно установить точный хронологический порядок связывания на-



Связывание пионер-фактора с регуляторной областью гена (энхансером). (а) Целевой ген не активен (пунктирная стрелка), энхансер находится в контексте “закрытого” хроматина, пионер-фактор (PF) связывается с целевым сайтом, находящимся на нуклеосоме (нуклеосомы изображены дважды перечеркнутыми эллипсами). (б) Связывание пионер-фактора приводит к повышению доступности энхансера, увеличивается чувствительность к расщеплению ДНКазой I (места расщепления указаны вертикальной черной стрелкой), перестройкам хроматина, локальному накоплению активирующих модификаций гистона H3 по 4-му лизиновому остатку (H3K4me1/2), облегчению связывания других транскрипционных факторов (TF1); энхансер переходит в компетентное для активации состояние. (е) В результате внешнего сигнала (индукция дифференцировки) к энхансеру привлекается так называемый индуцируемый фактор транскрипции (TF2), происходит дальнейшая перестройка нуклеосом, к энхансеру привлекается комплекс ацетилтрансферазы гистонов (CBP/p300), происходит накопление активирующей модификации H3K27Ac; энхансер активируется и индуцирует транскрипцию целевого гена (черная стрелка).

бора транскрипционных факторов и внесения соответствующих эпигенетических модификаций в условиях *in vivo*. Поэтому при недостатке доказательств вместо термина “пионер-факторы” лучше говорить о кооперативном действии транскрипционных факторов в заданном локусе [17].

Для идентификации связывания с ДНК факторов транскрипции вообще и пионер-факторов в частности в настоящее время развиты высокоэффективные методы. Одним из них является иммунопреципитация расщепленного на фрагменты хроматина, в который предварительно были введены поперечные сшивки белков с геномной ДНК. Иммунопреципитацию проводят с антителами к исследуемому фактору для осаждения комплексов этого фактора транскрипции с ДНК, а затем секвенируют осажденные фрагменты ДНК и

идентифицируют их среди известных геномных последовательностей методами биоинформатики (метод известен как ChIP-seq, chromatin immunoprecipitation-sequencing, *англ.*).

Другой метод, позволяющий получить общую картину распределения открытых для связывания участков ДНК, называется DNase-seq и основан на преимущественном расщеплении хроматина в открытых участках ДНКазами и блокаде этого расщепления в области открытого хроматина связанными с ней факторами транскрипции. После секвенирования полученных фрагментов потенциальные участки связывания факторов также идентифицируют методами биоинформатики. Так как проведение DNase-seq экспериментов не зависит от конкретных транскрипционных факторов и не нуждается в использовании специфичных антител,

существует возможность по результатам одного эксперимента DNase-seq предсказывать связывание сотен различных транскрипционных факторов со своими целевыми последовательностями в геноме. Уже несколько исследовательских групп разработало алгоритмы, которые с различной степенью достоверности позволяют предсказать связывание транскрипционных факторов по данным DNase-seq (для краткого обзора см. [18] и ссылки в нем).

В целом пока не существует точной картины распределения участков связывания пионер-факторов в геноме на разных этапах развития организма и в различных опухолях. Вероятно, применение описанных и развитие новых методов в ближайшее время позволит значительно расширить список пионер-факторов, уточнить специфичность и хронологию их связывания, а также выявить их партнеров в этом процессе.

### ПАССИВНОЕ И АКТИВНОЕ УЧАСТИЕ ПИОНЕР-ФАКТОРОВ В РЕГУЛЯЦИИ ГЕНОВ

Пионер-факторы могут играть активную роль в регуляции генов, способствуя открытию и реорганизации участков хроматина, что в свою очередь позволяет связываться другим транскрипционным факторам, модификаторам и комплексам белков перестройки хроматина. Так, прямые сопоставления пионер-факторов Foxa1 и Gata4 с другими белками, связывающимися с энхансером гена *Alb*, показали в условиях *in vitro*, что эти два фактора отличаются способностью взаимодействовать с целевыми сайтами в плотно упакованном хроматине, создавая при этом локальные участки, чувствительные к расщеплению DNКазой и рестриктазами [7]. Факторы Foxe1 и Foxo1 также способны подобным образом открывать упакованный хроматин [19, 20]. Такая активность была присуща самим транскрипционным факторам и не зависела от наличия АТР или АТР-зависимых комплексов белков перестройки хроматина.

При пассивном участии в регуляции генов связывание пионер-фактора может не сопровождаться изменением структуры хроматина и/или открытием доступа для связывания других факторов, но присутствие фактора, связанного с регуляторной последовательностью может облегчать дальнейшую активацию транскрипции [4]. Примером пассивной роли может служить активация энхансера гена *Alb*, участвующего в формировании печени в процессе развития. В этом случае два пионер-фактора Foxa1 и Gata4, предварительно активно связавшиеся в области этого энхансера в энтодерме, опосредуют быстрое присоединение других факторов, необходимых для дальнейшего развития печени [4].

Термин “пассивное участие”, возможно, излишен и в какой-то степени вводит в заблуждение, поскольку, чтобы играть пассивную роль пионер-

фактор должен на каких-то предшествующих стадиях развития активно реорганизовать хроматин. Поэтому более адекватным нам представляется использованное в последующих работах представление об иерархическом связывании факторов, участвующих в развитии организма и в определении судьбы клеток [6, 18]. В рамках этого представления, при связывании с целевой последовательностью пионер-факторы активно реорганизуют хроматин, а последующее связывание дополнительных (не пионерских) факторов происходит “пассивно”, когда они просто занимают участки ДНК рядом с пионер-факторами. Такими дополнительными белками могут быть, например, сигнал-зависимые или вспомогательные транскрипционные факторы [6]. При этом следует иметь в виду, что в данном случае “пассивность” проявляется только в отношении перестройки хроматина, поскольку вспомогательные факторы могут взаимодействовать с пионер-фактором и друг с другом, создавая синергетические эффекты, ускоряющие процесс инициации транскрипции.

Молекулярные механизмы действия пионер-факторов изучены недостаточно [17]. В этом вопросе много противоречий. Наиболее изучен механизм в случае фактора Foxa1. С-Концевой домен Foxa1 способен связываться с коровыми гистонами независимо от центрального ДНК-связывающего домена. Такое связывание необходимо для открытия хроматина в условиях *in vitro* [7]. Возможно, что при одновременном связывании с ДНК и коровыми гистонами Foxa1 локально разрушает межнуклеосомные взаимодействия, которые стабилизируют высокоупорядоченную структуру хроматина [21]. Интересно, что ДНК-связывающий домен белка Foxa1 относится к типу “winged-helix”, обнаруженному также и у линкерного гистона H1. ДНК-связывающие домены такого типа способны взаимодействовать с одной поверхностью молекулы ДНК [4]. Вероятно, такая особенность белка Foxa1 определяет его способность связываться с целевой последовательностью, находящейся в составе нуклеосомы. В недавно опубликованной работе [22] исследователи, используя так называемые факторы репрограммирования OCT4, SOX2, KLF4 и MYC (с-Мyc), подтвердили высказывавшуюся ранее гипотезу о том, что пионер-факторы осуществляют первичное взаимодействие с хроматином, узнавая экспонированные на поверхности нуклеосомы свои целевые последовательности [4]. Однако, в заключение они признают, что для понимания вторичных событий, которые ведут к последующему изменению локальной структуры хроматина и формированию больших комплексов на регуляторных последовательностях гена, требуются дальнейшие исследования. В рамках мини-обзора не представляется возможным детально рассмотреть многочисленные аспекты взаимодействия пионер-факторов с целевыми последовательностями в закрытом хроматине и следующих за этим событий. Читатель может ознакомиться с известными

на сегодня данными в недавно опубликованных работах [22, 23].

### УЧАСТИЕ ПИОНЕР-ФАКТОРОВ В ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ КЛЕТОК ПРИ ЭМБРИОНАЛЬНОМ РАЗВИТИИ

Пионер-факторы играют одну из ключевых ролей в ходе эмбрионального развития. Так, хорошо изучено участие этих факторов в эмбриональном развитии печени. Белки Foxa1 и Foxa2 экспрессируются в энтодерме передней кишки (foregut endoderm), где они участвуют в создании состояния компетенции для развития печени [24]. Белки Gata4 и Gata6 также экспрессируются в энтодерме передней кишки и необходимы на ранних этапах развития печени у позвоночных [16, 25]. Печеньспецифичный энхансер гена альбумина (*Alb*) содержит шесть сайтов связывания транскрипционных факторов Foxa и Gata заняты в начале развития энтодермы прямой кишки, когда сам ген *Alb* еще не активен [27]. В ходе печеночной специализации все сайты энхансера оказываются заняты факторами и ген альбумина активируется. Таким образом, в данном случае Foxa и Gata совместно действуют как классические пионер-факторы: они привлекаются к молчащему хроматину в мультипотентных прогениторных клетках и способствуют созданию компетенции для дифференцировки в гепатоциты. В экспериментах *in vitro* по дифференцировке эмбриональных стволовых клеток в клетки энтодермы было обнаружено, что некоторые сайты связывания фактора Foxa2 исходно заняты гистонем H2afz (H2A.Z). При индукции дифференцировки белок Foxa2 связывается с этими сайтами, что сопровождается удалением нуклеосом и активацией гена [28].

Такое иерархическое связывание, когда пионер-факторы вначале связываются с регуляторными последовательностями, наблюдается и в других известных случаях. При развитии меланотропных клеток промежуточной доли гипофиза экспрессия фактора Pax7 предшествует экспрессии других специфичных для этой ткани транскрипционных факторов [14]. Фактор Pax7 за счет связывания со своими мотивами открывает хроматин и обеспечивает состояние компетенции для развития промежуточной доли гипофиза [29].

Другим примером участия пионер-факторов в клеточной дифференцировке может служить фактор PU.1 (SPI1), который играет важную роль в гематопоезе. В клетках общего предшественника в одинаковом состоянии находятся два энхансера, которые в дальнейшем будут активированы – один в лимфоидной, другой в миелоидной линиях. В энхансере, активируемом в миелоидной линии, один из сайтов связывания пионер-факторов занят специальным белком, что обеспечивает поддержание плюрипотентного состояния клетки-предшественника. При дифференцировке в миелоид-

ную линию фактор, связанный миелоидным энхансером в предшественнике, замещается фактором PU.1. При дальнейшей дифференцировке по миелоидному пути, если к PU.1 присоединяется другой пионер фактор – GATA1, то дифференцировка направляется по пути эритроидных клеток. Если же присоединяется фактор SEBP $\alpha$  (ССААТ/enhancer-binding protein alpha, *англ.*), то развитие направляется в сторону гранулоцит-макрофаговой линии [30].

Энхансер, активирующийся в лимфоидных клетках, исходно занят нуклеосомами. При дифференцировке по лимфоидному пути фактор, присутствующий в плюрипотентном предшественнике на миелоидном энхансере, диссоциирует от энхансера и его участок связывания занимает нуклеосомами, а в лимфоидном энхансере происходит перестройка хроматина и два фактора, PU.1 и GATA3, связываются совместно и при дальнейшей дифференцировке привлекают комплексы белков перестройки и модификации хроматина [30]. В обоих случаях экспрессия PU.1 предшествует экспрессии других транскрипционных факторов, определяющих направление дифференцировки (lineage-determining transcription factors) [31]. Связывание этого белка индуцирует локальную перестройку нуклеосом, за которой следует локальное метилирование гистона H3K4me1 (активирующая модификация) [32]. PU.1 также участвует в привлечении других транскрипционных факторов, определяющих направление дифференцировки [32] и стимулирует удаление нуклеосом из активируемых участков [15]. Экзогенная экспрессия данного фактора в фибробластах приводит к повышению доступности хроматина в *de novo* PU.1-связывающих сайтах, находящихся в активируемых этим фактором энхансерах [33]. По совокупности этих данных предполагается, что при формировании миелоидных и лимфоидных тканей PU.1 может действовать как пионер-фактор, обеспечивающий доступность специфичных для этих тканей энхансеров [22].

В целом, указанные работы демонстрируют, что в процессе эмбрионального развития пионер-факторы связываются с целевыми последовательностями еще до детерминации клеточной специализации (lineage commitment), при этом они могут запускать декомпактизацию участков хроматина, чтобы обеспечить состояние компетенции для последующей активации целевых генов.

### ПИОНЕР-ФАКТОРЫ В РЕПРОГРАММИРОВАНИИ КЛЕТОК

Репрограммирование соматических клеток, то есть возврат их в менее дифференцированное состояние, в норме у млекопитающих не происходит за исключением процессов регенерации печени и репарации мышечных клеток. Однако, такое репрограммирование, сопровождающееся “сти-

ранием” эпигенетических модификаций, можно провести искусственно.

Впервые такая дедифференцировка была проведена с помощью “коктейля” транскрипционных факторов, которые при экспрессии в соматических клетках были способны запускать эндогенную экспрессию плюрипотентных факторов и конверсию фибробластов в плюрипотентные стволовые клетки (иПСК) [34]. Первоначально “коктейль” состоял из четырех транскрипционных факторов Oct4, Sox2, Klf4 и Myc (OSKM). Позднее были найдены альтернативные наборы факторов, способные индуцировать репрограммирование в плюрипотентное состояние, при этом большинство из них содержали факторы Oct4 и/или Sox2 [22].

Полногеномное изучение первичных актов связывания “коктейля” факторов OSKM в фибробластах человека показало предпочтительное связывание с целевыми сайтами, находящимися в дистальных от промоторов участках генома (например, энхансерах) [11]. Оказалось, что факторы OCT4, SOX2 и KLF4 проявляют свойства пионер-факторов — они могли вместе или по отдельности связываться с участками закрытого хроматина, при этом многие из участков совпадали с энхансерами генов, способствующих репрограммированию. Фактор MYC сам по себе связывался преимущественно с сайтами в открытом хроматине, однако совместно с другими факторами он мог связываться и с сайтами в закрытом хроматине. В недавнем исследовании, проведенном в режиме реального времени на живых клетках мыши, было изучено связывание отдельных молекул факторов при репрограммировании в иПСК [5]. В частности, было показано, что Sox2 первым связывается с целевой последовательностью ДНК, после чего с ней связывается Oct4 и стабилизирует образующийся тройной комплекс. Как это часто бывает, эти данные расходятся с результатами, полученными с помощью ChIP-seq в упомянутой работе [11], поэтому первичность связывания фактора Sox2 требует дополнительного подтверждения.

В любом случае, при инициации репрограммирования фибробластов в иПСК предположительные пионер-факторы Oct4, Sox2 и Klf4 не только могут связываться с участками закрытого хроматина, но также могут облегчать привлечение к ним других транскрипционных факторов.

### ПИОНЕР-ФАКТОРЫ КАК ХРОМОСОМНЫЕ “ЗАКЛАДКИ” В МИТОЗЕ

По всей видимости, пионер-факторы играют важную роль в поддержании клеточной памяти при делении. В ходе митоза происходит конденсация хромосом: трехмерная укладка доменов хроматина почти полностью разрушается [35], а РНК-полимеразы и большинство транскрипционных факторов диссоциируют от хромосом. После завершения митоза укладка хроматина восстанав-

ливается, РНК-полимеразы снова привлекаются к своим домитотическим сайтам в хроматине, в геноме восстанавливается спектр транскрипционной активности, который точно повторяет предрепликативное состояние клетки [36]. При изучении митоза была выявлена подгруппа транскрипционных факторов, сохраняющихся на митотических хромосомах, исходно эти белки получили название “закладки” (“bookmarking” factors) [37]. Позднее стало ясно, что многие из этих белков относятся к транскрипционным пионер-факторам, например, GATA1 и FOXA1. Как показали полногеномные исследования связывания GATA1 и FOXA1 в митотических хромосомах, только меньшая часть связанных в интерфазе сайтов сохраняется в митотическом хроматине [9, 38]. При этом гены, ассоциированные с этими факторами в процессе митоза, оказались среди первых генов, реактивирующихся после завершения митоза. С помощью изящного эксперимента, в котором фактор GATA1 селективно разрушался при митозе, было показано, что сохранение пионер-фактора на митотическом хроматине необходимо для быстрой реактивации целевых генов после митоза [38].

Все известные пионер-факторы с такой активностью участвуют в клеточной дифференцировке при эмбриональном развитии. Поэтому возникло предположение, что механизм постмитотической реактивации генов может частично воспроизводить иерархические процессы, с помощью которых уже на ранних этапах развития происходит специализация различных типов клеток [39].

### РОЛЬ ПИОНЕР-ФАКТОРОВ В РАЗВИТИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Рак часто описывают как проблему биологии развития. Существует определенное сходство между раковыми и эмбриональными клетками [40]. Неоднократно отмечалось, что гены, которые работают в эмбриональных клетках и затем выключаются в клетках зрелых тканей, включаются в раковых клетках этих тканей и наоборот. В частности, мы в наших работах отмечали этот эффект при сравнении профилей экспрессии генов в опухолях легкого человека с профилями экспрессии генов в эмбриональных легких человека [41] и позже подтвердили это наблюдение для случая рака пищевода человека [42]. Таким образом, злокачественную трансформацию клеток взрослого организма можно в некотором приближении рассматривать как процесс репрограммирования дифференцированных клеток в более раннее эмбриональное состояние. Рассматривая явление канцерогенеза в таком ключе, можно предположить, что в данном процессе пионер-факторы могут принимать активное участие. Они могут действовать как на ранних этапах канцерогенеза при инициации генетических программ, характерных скорее для менее дифференцированных

клеток, так и на более поздних этапах, участвуя в поддержании “эмбрионального” фенотипа клеток. Существуют определенные экспериментальные свидетельства в пользу такой гипотезы.

Ген пионер-фактора *SOX2* не экспрессируется в нормальных клетках эпидермиса, но сверхактивируется в мышинных и человеческих клетках плоскоклеточного рака кожи [12]. При этом он вовлечен и в начальные стадии формирования опухоли, и в ее поддержание. Хромосомный сегмент, несущий ген *SOX2*, часто амплифицирован при человеческом раке пищевода и плоскоклеточном раке легких [43]. По-видимому, эктопическая экспрессия или сверхэкспрессия *SOX2* может активировать ранее молчащие программы, запускающие состояние компетенции для канцерогенеза.

Пионер-факторы GATA и FOXA, по-видимому, вовлечены в развитие множества гормон-зависимых опухолей, таких как эстроген-положительный рак молочной железы и андроген-положительный рак простаты [22]. Так, для рака молочной железы опухолевая экспрессия FOXA1 может быть значимым предиктором выживаемости пациентов [44, 45]. Избирательное подавление экспрессии гена FOXA1 ингибировало пролиферацию тамоксифен-устойчивых клеток рака молочной железы MCF-7 [46]. На той же линии клеток MCF-7 было показано, что подавление экспрессии FOXA1 приводит к метилированию промоторов и снижению экспрессии генов опухолевых супрессоров (DAPK, MGMT, RASSF1A, p53), тогда как сверхэкспрессия этого фактора приводит к обратным эффектам [47]. У пациенток с раком эндометрия матки низкий уровень экспрессии FOXA1 в опухоли коррелировал с плохой выживаемостью и отсутствием экспрессии гормональных рецепторов ERα и PR, в то же время усиление экспрессии FOXA1 наблюдалось при прогрессировании первичной опухоли к метастазам [48]. Детальные обзоры роли FOXA1 и других членов семейства FOX в различных видах рака были недавно опубликованы [49, 50]. В этих обзорах также обсуждаются способы использования знаний об участии пионер-факторов в канцерогенезе для диагностики и терапии раковых заболеваний.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Пионер-факторы представляют собой функциональную группу различных транскрипционных факторов, отличающихся способностью распознавать целевые последовательности в закрытом хроматине. Их связывание с целевой последовательностью является подготовительным этапом при активации молчащих генов. Благодаря способности связываться с молчащими генами, находящимися в закрытом окружении, пионер-факторы принимают важное участие в процессах, сопровождающихся кардинальной перестройкой клеточного фенотипа,

таких как дифференцировка в ходе эмбрионального развития и репрограммирование клеток. В будущем ожидается значительное расширение списка белков, проявляющих свойства пионер-факторов, а также детальный анализ молекулярного механизма взаимодействия этих белков со своими сайтами в закрытом хроматине. Имеющиеся данные свидетельствуют, что пионер-факторы, по всей видимости, принимают активное участие в процессах канцерогенеза и поддержании фенотипа опухолевых клеток. Дальнейшее исследование позволит глубже понять механизмы участия этих важных факторов развития в процессе опухолеобразования и, возможно, выявить новые пути их использования в качестве терапевтических мишеней.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 14-50-00131).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kornberg R.D., Lorch Y. // Cell. 1999. V. 98. P. 285–294.
2. Тейф В.Б., Шкробков А.В., Егорова В.П., Кром В.И. // Молекулярная биология. 2011. Т. 45. P. 1–11.
3. Разин С.В. // Молекулярная биология. 2007. Т. 41. С. 387–394.
4. Zaret K.S., Carroll J.S. // Genes Dev. 2011. V. 25. P. 2227–2241.
5. Chen J., Zhang Z., Li L., Chen B.C., Revyakin A., Hajj B., Legant W., Dahan M., Lionnet T., Betzig E., Tjian R., Liu Z. // Cell. 2014. V. 156. P. 1274–1285.
6. Heinz S., Romanoski C.E., Benner C., Glass C.K. // Nat Rev Mol Cell Biol. 2015. V. 16. P. 144–154.
7. Cirillo L.A., Lin F.R., Cuesta I., Friedman D., Jarnik M., Zaret K.S. // Mol. Cell. 2002. V. 9. P. 279–289.
8. Updike D.L., Mango S.E. // PLoS Genet. 2006. V. 2. P. e161.
9. Caravaca J.M., Donahue G., Becker J.S., He X., Vinson C., Zaret K.S. // Genes Dev. 2013. V. 27. P. 251–260.
10. Sekiya S., Suzuki A. // Nature. 2011. V. 475. P. 390–393.
11. Soufi A., Donahue G., Zaret K.S. // Cell. 2012. V. 151. P. 994–1004.
12. Boumahdi S., Driessens G., Lapouge G., Rorive S., Nassar D., Le Mercier M., Delatte B., Caauwe A., Lenglez S., Nkusi E. et al. // Nature. 2014. V. 511. P. 246–250.
13. Vierbuchen T., Ostermeier A., Pang Z.P., Kokubu Y., Sudhof T.C., Wernig M. // Nature. 2010. V. 463. P. 1035–1041.
14. Budry L., Balsalobre A., Gauthier Y., Khetchoumian K., L'Honore A., Vallette S., Brue T., Figarella-Branger D., Meij B., Drouin J. // Genes Dev. 2012. V. 26. P. 2299–2310.
15. Barozzi I., Simonatto M., Bonifacio S., Yang L., Rohs R., Ghisletti S., Natoli G. // Mol Cell. 2014. V. 54. P. 844–857.
16. Watt A.J., Zhao R., Li J., Duncan S.A. // BMC Dev. Biol. 2007. V. 7. P. 37.
17. Choukrallah M.A., Matthias P. // Front Immunol. 2014. V. 5. P. 156.
18. Sherwood R.I., Hashimoto T., O'Donnell C.W., Lewis S., Barkal A.A., van Hoff J.P., Karun V., Jaakkola T., Gifford D.K. // Nat. Biotechnol. 2014. V. 32. P. 171–178.

19. Cuesta I., Zaret K.S., Santisteban P. // *Mol. Cell. Biol.* 2007. V. 27. P. 7302–7314.
20. Hatta M., Cirillo L.A. // *J. Biol. Chem.* 2007. V. 282. P. 35583–35593.
21. Schalch T., Duda S., Sargent D.F., Richmond T.J. // *Nature.* 2005. V. 436. P. 138–141.
22. Soufi A., Garcia M.F., Jaroszewicz A., Osman N., Pellegrini M., Zaret K.S. // *Cell.* 2015. V. 161. P. 555–568.
23. Iwafuchi-Doi M., Zaret K.S. // *Genes Dev.* 2014. V. 28. P. 2679–2692.
24. Lee C.S., Friedman J.R., Fulmer J.T., Kaestner K.H. // *Nature.* 2005. V. 435. P. 944–947.
25. Holtzinger A., Evans T. // *Development.* 2005. V. 132. P. 4005–4014.
26. McPherson C.E., Shim E.Y., Friedman D.S., Zaret K.S. // *Cell.* 1993. V. 75. P. 387–398.
27. Xu C., Lu X., Chen E.Z., He Z., Uyunbilig B., Li G., Ma Y., Hui L., Xie B., Gao Y., et al. // *J. Mol. Cell. Biol.* 2012. V. 4. P. 420–422.
28. Li Z., Gadue P., Chen K., Jiao Y., Tuteja G., Schug J., Li W., Kaestner K.H. // *Cell.* 2012. V. 151. P. 1608–1616.
29. Drouin J. // *Mol. Endocrinol.* 2014. V. 28. P. 989–998.
30. Winter D.R., Amit I. // *Immunol Rev.* 2014. V. 261. P. 9–22.
31. Carotta S., Dakic A., D'Amico A., Pang S.H., Greig K.T., Nutt S.L., Wu L. // *Immunity.* 2010. V. 32. P. 628–641.
32. Heinz S., Benner C., Spann N., Bertolino E., Lin Y.C., Laslo P., Cheng J.X., Murre C., Singh H., Glass C.K. // *Mol. Cell.* 2010. V. 38. P. 576–589.
33. Ghisletti S., Barozzi I., Mietton F., Polletti S., De Santa F., Venturini E., Gregory L., Lonie L., Chew A., Wei C.L., Ragoussis J., Natoli G. // *Immunity.* 2010. V. 32. P. 317–328.
34. Takahashi K., Yamanaka S. // *Cell.* 2006. V. 126. P. 663–676.
35. Naumova N., Imakaev M., Fudenberg G., Zhan Y., Lajoie B.R., Mirny L.A., Dekker J. // *Science.* 2013. V. 342. P. 948–953.
36. Egli D., Birkhoff G., Eggan K. // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2008. V. 9. P. 505–516.
37. Zaidi S.K., Young D.W., Montecino M.A., Lian J.B., van Wijnen A.J., Stein J.L., Stein G.S. // *Nat. Rev. Genet.* 2010. V. 11. P. 583–589.
38. Kadauke S., Blobel G.A. // *Cell Cycle.* 2012. V. 11. P. 3911–3912.
39. Zaret K.S. // *Dev Cell.* 2014. V. 29. P. 132–134.
40. Shah M., Allegrucci C. // *Subcell Biochem.* 2013. V. 61. P. 545–565.
41. Kopantzev E.P., Monastyrskaya G.S., Vinogradova T.V., Zinovyeva M.V., Kostina M.B., Filyukova O.B., Tonevitsky A.G., Sukhikh G.T., Sverdlov E.D. // *Lung Cancer.* 2008. V. 62. P. 23–34.
42. Zinovyeva M.V., Monastyrskaya G.S., Kopantzev E.P., Vinogradova T.V., Kostina M.B., Sass A.V., Filyukova O.B., Uspenskaya N.Y., Sukhikh G.T., Sverdlov E.D. // *Dis Esophagus.* 2010. V. 23. P. 260–270.
43. Bass A.J., Watanabe H., Mermel C.H., Yu S., Perner S., Verhaak R.G., Kim S.Y., Wardwell L., Tamayo P., Gatviks I., R.A., Tsao M.S., Rubin M.A., Wong K.K., Regev A., Hahn W.C., Beer D.G., Rustgi A.K., Meyerson M et al. // *Nat Genet.* 2009. V. 41. P. 1238–1242.
44. Badve S., Turbin D., Thorat M.A., Morimiya A., Nielsen T.O., Perou C.M., Dunn S., Huntsman D.G., Nakshatri H. // *Clin Cancer Res.* 2007. V. 13. P. 4415–4421.
45. Horimoto Y., Arakawa A., Harada-Shoji N., Sonoue H., Yoshida Y., Himuro T., Igari F., Tokuda E., Mamat O., Tanabe M., Hino O., Saito M. // *Br. J. Cancer.* 2015. V. 112. P. 345–351.
46. Hurtado A., Holmes K.A., Ross-Innes C.S., Schmidt D., Carroll J.S. // *Nat Genet.* 2011. V. 43. P. 27–33.
47. Zheng L., Qian B., Tian D., Tang T., Wan S., Wang L., Zhu L., Geng X. // *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2015. V. 8. P. 96–106.
48. Tangen I.L., Krakstad C., Halle M.K., Werner H.M., Oyan A.M., Kusonmano K., Petersen K., Kalland K.H., Aksten L.A., Trovik J., Hurtado A., Salvesen H.B. // *PLoS One.* 2014. V. 9. P. e98069.
49. Katoh M., Igarashi M., Fukuda H., Nakagama H., Katoh M. // *Cancer Lett.* 2013. V. 328. P. 198–206.
50. Lam E.W., Brosens J.J., Gomes A.R., Koo C.Y. // *Nat. Rev. Cancer.* 2013. V. 13. P. 482–495.

## Pioneer Transcription Factors in Normal Development and in Carcinogenesis

A. I. Kuzmich\*, #, D. V. Tyulkina\*, T. V. Vinogradova\*, E. D. Sverdlov\*

#Phone: +7 (495) 330-69-92; fax: +7 (495)330-65-38; e-mail: akрубik@gmail.com

\*Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Russia, 117997, Moscow, GSP-7, ul. Miklukho-Maklaya, 16/10

Pioneer transcription factors constitute a heterogeneous group of regulatory proteins of animals, which, unlike other transcription factors, are able to recognize and bind target DNA sequences within closed chromatin. This binding can change the local chromatin structure and facilitate binding of other proteins, thus establishing competence for gene expression. The ability to bind silent genes in the closed environment makes the pioneer factors very useful in the processes leading to cardinal alteration of cell phenotype, such as differentiation in embryonic development or cell reprogramming. These proteins can remain bound to target sequences during mitotic division, and due to this probably take part in the maintenance of cellular memory. Apparently, pioneer transcription factors are active participants in carcinogenesis and maintenance of tumor cell phenotype, although their role in these processes needs additional research. It is reasonable to suppose that a further study will help to shed more light on the genetic processes in embryonic development, increase the efficiency of cell reprogramming and also develop new approaches to diagnostics and therapy of cancer diseases.

*Keywords: pioneer factors, transcription regulation, chromatin, embryogenesis, cellular differentiation, carcinogenesis*