

## НОВЫЕ КОМПЛЕКСЫ ГЕННОЙ ЭКСПРЕССИИ И ИХ РОЛЬ В ВОЗНИКНОВЕНИИ И ЭВОЛЮЦИИ РОДА *НОМО*

© Е. К. Шематорова, Д. Г. Шпаковский, Г. В. Шпаковский<sup>1</sup>

Институт биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина  
и Ю. А. Овчинникова РАН, Москва;  
электронный адрес: gvs@ibch.ru

С помощью генетического (дрожжевой двухгибридной системы) и биохимического (соосаждения белков из клеточных лизатов) подходов осуществлен полномасштабный поиск белков-партнеров описанных нами ранее вариантов субъединицы РНК-полимеразы II человека hRPB11 — hRPB11b $\alpha$ , hRPB11c $\alpha$  и hRPB11b $\beta$ , hRPB11c $\beta$  — в протеомах эмбрионального мозга и клеток линии Jurkat *Homo sapiens*, и тем самым определен основной спектр белковых партнеров этих специфичных для человека изоформ субъединицы РНК-полимеразы II hRPB11 (POLR2J). Функциональные характеристики обнаруженных белков-партнеров изоформ hRPB11b $\alpha$  и hRPB11c $\alpha$  указывают на то, что эти изоформы, подобно основной (мажорной) субъединице РНК-полимеразы II hRPB11a, являются компонентами особых транскрипционных комплексов, причем участвуют не только в транскрипции определенных ДНК-матриц, но и вовлечены в более поздние стадии биогенеза мРНК. Среди партнеров изоформ hRPB11b $\beta$  и hRPB11c $\beta$ , помимо общей субъединицы РНК-полимераз I-III hRPB6 (POLR2F) и кóрового компонента белкового комплекса экзонных сочленений Y14 (RBM8A) обнаружен ряд белков, участвующих в биогенезе микроРНК, в том числе новый, ранее не описанный вариант иницирующей нуклеазы процессинга микроРНК DROSHA, что указывает на существование особых путей сопряжения процессов транскрипции и РНК-интерференции в ядрах клеток человека.

Ключевые слова: сегментные дубликации, семейство генов *POLR2J* человека, минорные изоформы субъединицы hRPB11 (POLR2J) РНК-полимеразы II человека, дрожжевая двухгибридная система, белки-партнеры, COMMD4d, эволюция *Homo sapiens*.

Принятые сокращения: а. о. — аминокислотный остаток, нт — нуклеотид, EJC — белковый комплекс экзонных сочленений (Exon-exon Junction Complex), siRNAs — малые интерферирующие РНК, snRNPs — малые ядерные рибонуклеопротеиды.

Важным источником эволюционных инноваций являются хромосомные перестройки. Исследования последних лет показали, что важнейшую роль в эволюции сложных, уже сложившихся высокоорганизованных геномов, играют сегментные дубликации, способствующие возникновению новых генных семейств и, как следствие, ускорению эволюционного процесса (Ohno, 1970). Среди такого рода перестроек наиболее частыми и ценными являются внутривхромосомные дубликации целых генов или их протяженных фрагментов. С позиций антропогенеза наибольший интерес представляют относительно недавние, специфичные для высших приматов дубликации (Marques-Bonet et al., 2009; Charrier et al., 2012; Dennis et al., 2012).

Ранее мы изучили молекулярную эволюцию генов *POLR2J* системы транскрипции и *PMS2* системы репарации MMR и показали, что появление и совершенствование генетической структуры обоих этих генных семейств четко коррелируют с основными этапами биологической эволюции высших приматов. Это позволяет рассматривать семейства генов *PMS2* и *POLR2J* в качестве удобных и достоверных молекулярных маркеров антропогенеза (Шематорова и др., 2010).

Для того чтобы понять роль новых генов РНК-полимеразного хозяйства *POLR2J2* и *POLR2J3* в дивергенции систем регуляции генной экспрессии у человека, мы с помощью генетического (дрожжевой двухгибридной системы) и биохимического (соосаждения белков из клеточных лизатов и в ряде случаев — иммунопреципитации) подходов провели поиск белков-партнеров целого ряда специфичных для человека белков (hRPB11b $\alpha$ , hRPB11b $\beta$  и hRPB11c $\alpha$ , hRPB11c $\beta$ ), продуцируемых в результате экспрессии этих эволюционно молодых генов в нервной (эмбриональном мозге) и иммунной (клеточной линии Jurkat) тканях *Homo sapiens*. Поскольку ряд обнаруженных нами среди партнеров минорных субъединиц РНК-полимеразы II человека белков, например eIF3m $\beta$  (Прошкин и др., 2011), DROSHA, L1-ORF1p(N-109) и COMMD4d, оказались новыми, ранее не описанными компонентами протеома человека, мы провели поиск партнеров и этих полипептидов — сведения о первых белках-партнерах COMMD4d среди компонентов протеома эмбрионального мозга человека также приводятся в данном сообщении.

Т а б л и ц а 1

**Белки-партнеры специфичных для *Homo sapiens* изоформ hRPB11 $\alpha$  и hRPB11 $\alpha$  субъединицы РНК-полимеразы II hRPB11 (POLR2J), обнаруженные в нервной (эмбриональном мозге) и иммунной (клеточной линии Jurkat) тканях человека**

Белок	Функция	Число клонов	Установленная минимальная область (зона) взаимодействия
hRPB3 (POLR2C)	Транскрипция (1 из 12 субъединиц РНК-полимеразы II)	40 клонов (6 различных вариантов)	Аминокислотные остатки (а. о.) 204—275 из 275
eIF3m (две разные изоформы)	Трансляция (1 из 13 субъединиц фактора инициации трансляции hEIF3, который связывается с мРНК)	36 [33+3] клонов (4+2 варианта); один из вариантов — новый белок: eIF3m $\beta$	eIF3m $\alpha$ : все 374 а. о. (полный белок); eIF3m $\beta$ : а. о. 8—242 из 242
Изоформа COMMD4	Передача сигнала (регуляция активности фактора транскрипции РНК-полимеразы II NF- $\kappa$ B)	12 клонов (1 вариант); новый белок — COMMD4d	Все 148 а. о. (полный белок)
ATF4	Фактор транскрипции РНК-полимеразы II (из семейства bZIP)	3 клона (3 варианта)	А.о. 223—351 из 351
Вариант белка L1-ORF1p (L1-p40; Transposase22)	Белок р40 ретротранспозона L1; связывается с мРНК L1; точная функция неизвестна	6 клонов (1 вариант; только из клеточной линии Jurkat)	А.о. 4—109 из 338
AARS	Трансляция (аланиловая аминоацил тРНК-синтетаза)	5 клонов (1 вариант)	А. о. 815—968 из 968
hRPB6 (POLR2F)	Транскрипция (1 из 5 общих субъединиц РНК-полимераз I—III)	3 клона (2 варианта)	А. о. 12—127 из 127
hRPC40 (POLR1C)	Транскрипция (1 из 2 субъединиц, общих только для РНК-полимераз I и III; имеет структурное сходство с hRPB3)	3 клона (2 варианта)	А. о. 241—346 из 346
eIF3a	Трансляция (1 из 13 субъединиц фактора инициации трансляции hEIF3, который связывается с мРНК)	2 клона (1 вариант)	А. о. 484—680 из 1382
POLA1	Каталитическая субъединица ДНК-полимеразы $\alpha$ [Pol $\alpha$ ] в комплексе с праймазой [Pol $\alpha$ -Primase]; также участвует в репарации, эпигенетике хроматина, обеспечении длины теломера	То же	А. о. 269—556 из 1462
Cullin 4a (CUL4A)	Компонент комплекса убиквитин-лигазы E3, влияет на состояние хроматина, участвует в активации онкогена p16	1 клон (№ 22)	А. о. 64—183 из 659
H2A1 (гистон H2AFY)	Специфический H2A-гистон с добавочным «макро»-доменом; замещение им H2A в субпопуляции нуклеосом приводит к репрессии транскрипции; участвует в инактивации X-хромосомы	1 клон (№ 107)	А. о. 109—371 из 371
PRP3	Фактор 3 сплайсинга пре-мРНК, ассоциирован с комплексом U4/U6 snRNPs	1 клон (№ 160)	А. о. 509—683 из 683
SnRNP25	Ядерный рибонуклеопротеид, компонент минорного сплайсеосомного комплекса U11/U12	1 клон (№ 161)	Все 132 а. о. (полный белок)
eIF3i	Трансляция (1 из 13 субъединиц фактора инициации трансляции hEIF3, который связывается с мРНК)	1 клон (№ 162)	А. о. 112—325 из 325
BTF3	Связан с РНК-полимеразой II (основной транскрипционный фактор 3), взаимодействует с транскрипционным комплексом CCR4-NOT	1 клон (№ 179)	Все 162 а. о. (полный белок)
ART27 (UXT)	Транскрипционный коактиватор андрогенного рецептора, кофактор NF- $\kappa$ B	1 клон (№ 181)	Все 157 а. о. (полный белок)

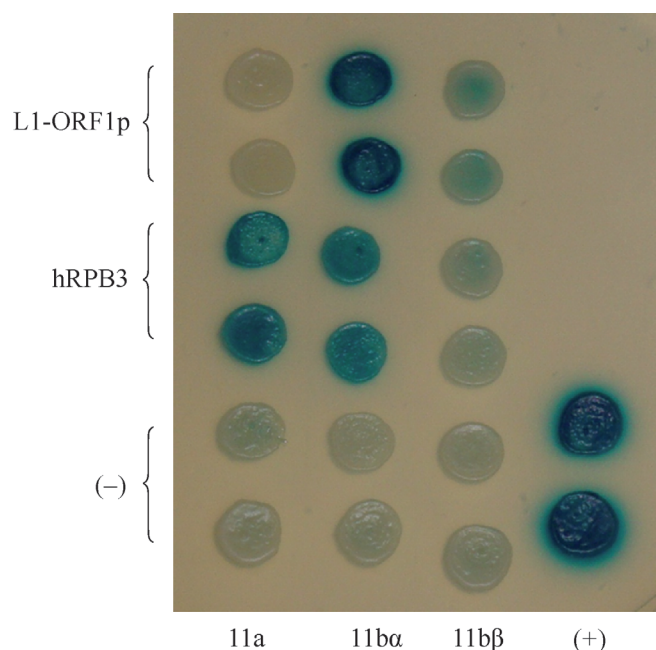


Рис. 1. Взаимодействие изоформ hRPB11b $\alpha$ , hRPB11b $\beta$  и hRPB11a с субъединицей РНК-полимеразы II hRPB3 и белком L1-ORF1p(N-109) по данным дрожжевой двухгибридной системы.

Дрожжевой штамм SKY191 (Serebriiskii et al., 2001), содержащий плазмиды pDR8 и pMW103-11b $\alpha$  (11b $\alpha$ ), pMW103-11b $\beta$  (11b $\beta$ ) или pMW103-11a (11a), был трансформирован вектором pJG4-5 (-), плазмидой pJG4-5 со вставкой кДНК hRPB3 либо плазмидой с изолированной нами из кДНК-клонотеки лимфоидной клеточной линии Jurkat кДНК укороченного ретротранспозона L1 (L1-ORF1p). Изменение окраски колоний на среде с X-Gal происходит в случае взаимодействия тестируемых белков. В качестве положительного контроля (+) приведены данные для взаимодействующих белков Ras и Raf (Serebriiskii et al., 2001).

### Материал и методика

Взаимодействия исследуемых изоформ субъединицы hRPB11 РНК-полимеразы II с различными белками протеома человека *in vivo* были изучены с помощью современного варианта дрожжевой двухгибридной системы Interaction Trap (Gyuris et al., 1993; Golemis et al., 2009). Эта система позволяет обнаружить взаимодействие двух тестируемых белков, один из которых синтезируется в виде химерного белка, содержащего в N-концевой части в качестве ДНК-связывающего домена полную аминокислотную последовательность бактериального белка LexA. К другому исследуемому белку присоединяется активирующий домен какого-нибудь регулятора транскрипции. Активация транскрипции репортерных генов *LEU2* и *lacZ*, перед промоторами которых встроено по несколько операторов LexA-белка, происходит только при пространственном сближении ДНК-связывающего и активирующего доменов, что возможно лишь в случае взаимодействия двух исследуемых белков. Мы использовали пригодные для двухгибридного скрининга в дрожжах представительные кДНК-клонотеки, приготовленные из двух разных тканей *Homo sapiens*: эмбрионального мозга ( $3.5 \cdot 10^6$  независимых клонов, средний размер вставок кДНК — 1.0 Kb; Invitrogen, США) и лимфоидной клеточной линии Jurkat ( $3.0 \cdot 10^6$  независимых клонов, средний размер вставок кДНК — 0.6 Kb; Clontech, США). При экспрессии кДНК этих клонов в дрожжах синтезируются фрагменты разнообразных белков протеомов нервной и

иммунной систем человека в виде слитных белков с синтетическим кислотным активирующим доменом В42 длиной 88 а. о. (Ruden et al., 1991).

Для гетерологической экспрессии кДНК, кодирующих различные изоформы субъединицы hRPB11 ядерной РНК-полимеразы II, в бактериальной системе и подтверждения обнаруженных с помощью двухгибридной системы белок-белковых взаимодействий в опытах *in vitro*, мы использовали апробированную нами ранее систему векторов (pEXPR1 и различные плазмиды серии pET фирмы QIAGEN, Германия) с совместимыми репликационными, позволяющую поддерживать сразу две плазмиды в одной бактериальной клетке и проводить эффективную коэкспрессию различных кДНК, кодирующих предположительно взаимодействующие между собой белки (Прошкин и др., 2011). Эта разработанная нами векторная система позволяет также осуществить индуцированный синтез одного или сразу двух целевых белков в *E. coli* и их быструю очистку с помощью металлоаффинной хроматографии на Ni-агарозе и (или) соответствующем иммунном сорбенте. Для подтверждения некоторых белок-белковых взаимодействий *in vitro* с помощью иммунопреципитации использовали поликлональные антитела ab86146 и ab40745 фирмы Abcam (Великобритания).

Все другие использованные в работе биохимические и молекулярно-биологические методики (выделение геномной и плазмидной ДНК, электрофорез нуклеиновых кислот и белков, ПЦР, выделение фрагментов ДНК из геля и их клонирование в плазмидных векторах, экстракция плазмидной ДНК из дрожжей, Вестерн-блоттинг и др.) использовали в соответствии с протоколами и рекомендациями двух ставших уже классическими сборников лабораторных протоколов (Sambrook et al., 1989; Ausubel et al., 1990). Для энзиматических манипуляций с нуклеиновыми кислотами использовали ферменты фирм New England Biolabs (США) и Fermentas (Литва).

### Результаты и обсуждение

Ранее мы выяснили специфичную для высших приматов эволюционную историю формирования генных семейств *POLR2J* и *PMS2*, кодирующих базовые компоненты жизненно важных систем транскрипции и репарации ДНК (Шпаковский и др., 2004, 2006). Оказалось, что эволюция этих генных семейств (увеличение числа генов и их диверсификация) специфична только для высших приматов и строго коррелирует с усложнением этих живых существ (Шематорова и др., 2010). В настоящей работе с помощью дрожжевой двухгибридной системы и биохимических подходов (соосаждения белков из клеточных лизатов с помощью металлоаффинной хроматографии на Ni-агарозе или антител, специфичных к одному из белков) нами найдены основные белки-партнеры новых изоформ субъединицы hRPB11 РНК-полимеразы II — продуктов экспрессии эволюционно молодых, специфичных для человека генов *POLR2J2* и *POLR2J3* (Шпаковский и др., 2004).

Наличие среди партнеров близкородственных, различающихся только двумя аминокислотными заменами белков hRPB11b $\alpha$  и hRPB11c $\alpha$  (115 а. о., см.: Шпаковский и др., 2004) ряда субъединиц ядерных РНК-полимераз (hRPB3, hRPB6 и hRPC40), общих и специализированных факторов транскрипции (ATF4, ART-27, VTF3 и COMMD4d), а также белков, связанных с хроматином и

Белки-партнеры специфичных для *Homo sapiens* изоформ hRPB11b $\beta$  и hRPB11c $\beta$  субъединицы РНК-полимеразы II hRPB11 (POLR2J), обнаруженные в нервной ткани (эмбриональный мозг) человека

Белок	Функция	Число клонов	Установленная минимальная область (зона) взаимодействия
Изоформа RNASEN (DROSHA) hRPB6 (POLR2F)	Биогенез микроРНК (начальная стадия, в ядре клетки)	3 клон (1 вариант) Новый белок — DROSHPA <sup>a</sup>	Аминокислотные остатки (а. о.) 1157—1351 из 1351
EIF6	Транскрипция (1 из 5 общих субъединиц РНК-полимераз I—III; возможно участие и в синтезе микроРНК)	2 клон (1 вариант)	А. о. 81—127 из 127
EIF6	Трансляция (фактор инициации трансляции; участвует также в регуляции микроРНК)	То же	Все 245 а. о. (полный белок)
RBM8A (Y14)	Сплайсинг (белок комплекса EJC; возможно участие и в регуляции синтеза «интронных» микроРНК)	1 клон (1 вариант)	А. о. 1—126 из 174
DCAF	Роль в генерировании siRNAs и модификации хроматина (фактор, ассоциированный с белками DDB1 и CUL4)	То же	А. о. 100—342 из 342
RPS3A <sup>b</sup>	Трансляция (один из белков малой субчастицы рибосомы, участвует и в регуляции микроРНК)	4 клон (1 вариант)	Все 264 а. о. (полный белок)

<sup>a</sup> Изолированная нами кДНК DROSHPA содержит новый, дополнительный экзон длиной 42 нт; <sup>b</sup> относительно слабое взаимодействие (по сравнению с другими белками, приведенными выше).

РНК (Cullin 4a, POLA1, SnRNP25, PRP3, гистон с «макро»-доменом H2A1, L1-ORF1p(N-109)), указывает на то, что эти ядерные белки являются минорными изоформами субъединицы РНК-полимеразы II hRPB11 и входят в состав специфических РНК-полимеразных комплексов (табл. 1). Впервые обнаружены взаимодействия hRPB11b $\alpha$  и hRPB11c $\alpha$  сразу с несколькими субъединицами фактора инициации трансляции hEIF3 (eIF3a, eIF3i, eIF3m $\beta$  и eIF3m $\beta$ ), что указывает на существование у *H. sapiens* нового типа координации транскрипции с последующими этапами генной экспрессии (транспорт мРНК из ядра в цитоплазму к транслирующим рибосомам) и на возможное существование ядерных субкомплексов hEIF3 (Прошкин и др., 2011). Такие субкомплексы, вероятно, могут участвовать в защите и транспортировке из ядра в цитоплазму тех мРНК, которые транскрибируются РНК-полимеразой II, содержащей минорные изоформы hRPB11b $\alpha$  или hRPB11c $\alpha$  в своем составе. Хотя большинство из обнаруженных белков-партнеров hRPB11b $\alpha$  и hRPB11c $\alpha$  может взаимодействовать (пусть с разной интенсивностью — см., например: Прошкин, Шпаковский, 2005) еще и с мажорной изоформой hRPB11a, такие белки, как eIF3m $\alpha$  (Прошкин и др., 2011), POLA1 и L1-ORF1p(N-109), взаимодействуют только с упомянутыми выше минорными изоформами hRPB11 (рис. 1).

Среди белков-партнеров сходных между собой изоформ hRPB11b $\beta$  и hRPB11c $\beta$  (116 а. о.: Шпаковский и др., 2004) нами обнаружены общая субъединица РНК-полимераз I-III hRPB6, новый, ранее не описанный вариант ядерной рибонуклеазы III DROSHA (RNASEN), коровый компонент белкового комплекса экзонных сочленений EJC (exon-exon junction complex) Y14 (RBM8A), а также белки DCAF, EIF6 и RPS3A (табл. 2).

Наличие в этом списке особого варианта иницирующей нуклеазы процессинга микроРНК (miRNAs) DROSHA и участвующих в биогенезе и регуляции функционирования микроРНК и siRNAs белков EIF6, RPS3A и DCAF указывает на новый тип сопряжения процессов транскрипции и РНК-интерференции у *H. sapiens*.

Поскольку ряд обнаруженных нами среди партнеров минорных субъединиц РНК-полимеразы II человека белков, например eIF3m $\beta$ , COMMD4d, L1-ORF1p(N-109) и DROSHPA (см. табл. 1 и 2), оказались новыми, ранее не описанными компонентами протеома человека, мы провели поиск партнеров и этих белков. Наши эксперименты показывают, что самыми важными (и по числу изолированных независимых клонов, и по силе взаимодействия *in vivo* и *in vitro*) партнерами COMMD4d (148 а. о.) являются мощный ингибитор роста клеток, супрессор рака II типа ING5 (рис. 2), один из центральных регуляторов клеточного цикла белок 14-3-3 (рис. 2), участвующий в регуляции ряда рецепторов адапторный белок CIN85, а также ряд белков шапероновых комплексов, прежде всего CCT4 (SRB) из комплекса TRiC (TCP1 ring complex) (рис. 2).

Кроме того, мы установили, что шаперонин CCT4 (SRB) взаимодействует не только с COMMD4d, но и с eIF3m $\beta$  (данные не показаны). Обнаруженное перекрытие спектров взаимодействий у этих впервые обнаруженных компонентов протеома человека (COMMD4d и eIF3m $\beta$ ), которые являются белками-партнерами изучаемых нами минорных изоформ РНК-полимеразы II *H. sapiens*, служит добавочным аргументом в пользу существования у представителей нашего рода особых, сформированных в ходе эволюции транскрипционных комплексов с новыми свойствами. В настоящее время нами проводится поиск генов *H. sapiens*, которые



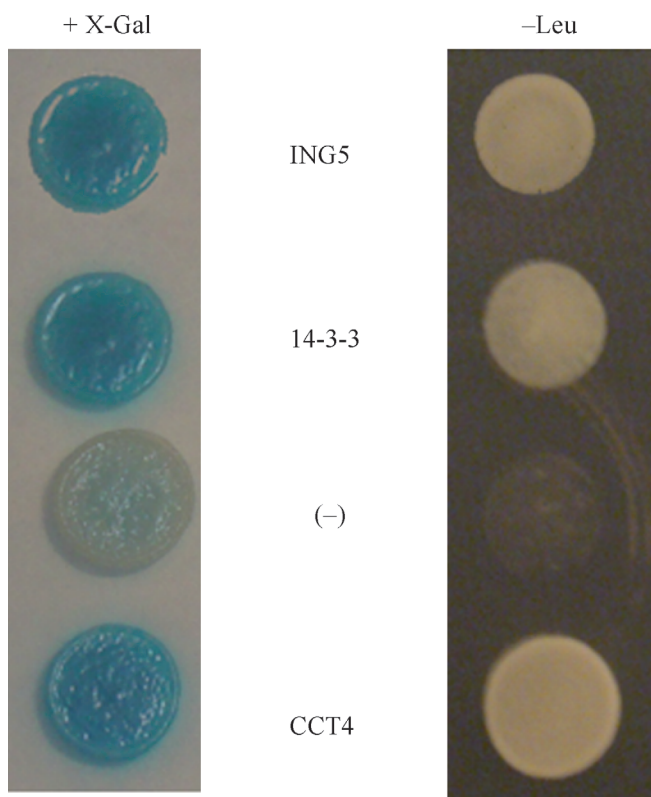


Рис. 2. Взаимодействие нового, обнаруженного нами белка протеома человека COMMD4d (148 а. о.) с белками ING5, 14-3-3 и CCT4 (SRB) по данным дрожжевой двухгибридной системы.

Штамм SKY191, содержащий плазмиды pDR8 и pMW103-COMMD4d, котрансформирован конструкциями с кДНК указанных белков в составе плазмиды pJG4-5. Рост на среде без лейцина (-Leu) и изменение окраски колоний на среде с X-Gal происходят в случае взаимодействия тестируемых белков.

транскрибируются РНК-полимеразой II, содержащей минорную изоформу hRPB11 $\alpha$  или hRPB11 $\beta$  в своем составе.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке программы РАН «Молекулярная и клеточная биология» (направление «Функциональная геномика») и Российского фонда фундаментальных исследований (проекты 10-04-01100 и 13-04-00908).

#### Список литературы

Прошкин С. А., Шематорова Е. К., Сулова Е. А., Прошкина Г. М., Шпаковский Г. В. 2011. Минорная изоформа субъединицы РНК-полимеразы II человека hRPB11 (POLR2J) взаимо-

действует с несколькими субъединицами фактора инициации трансляции eIF3. Биохимия. 76 (8) : 1195—1200.

Прошкин С. А., Шпаковский Г. В. 2005. Обнаружение белков-партнеров одной из минорных изоформ специфической субъединицы РНК-полимеразы II человека hRPB11. Цитология. 47 (9) : 828—829.

Шематорова Е. К., Шпаковский Д. Г., Шпаковский Г. В. 2010. Семейства генов PMS2 и POLR2J как молекулярные маркеры эволюции высших приматов. Генетика. 46 (9) : 1254—1257.

Шпаковский Д. Г., Шематорова Е. К., Шпаковский Г. В. 2004. Новые гены на хромосоме 7 человека: биоинформационный анализ кластера генов из семейства POLR2J. Биоорганическая химия. 30 (6) : 621—625.

Шпаковский Д. Г., Шематорова Е. К., Шпаковский Г. В. 2006. Семейство генов PMS2 человека: происхождение, молекулярная эволюция и биологический смысл. Докл. РАН. 408 (5) : 699—703.

Ausubel F. M., Brent R., Kingston R. E., Moore D. D., Seidman J. G., Smith J. A., Struhl K. (eds). 1990. Current protocols in molecular biology. New York: John Wiley & Sons. Vol. 1 & 2. units 2, 3, 10, 13, 15, 16.

Charrier C., Joshi K., Coutinho-Budd J., Kim J. E., Lambert N., de Marchena J., Jin W. L., Vanderhaeghen P., Ghosh A., Sassa T., Polleux F. 2012. Inhibition of SRGAP2 function by its human-specific paralogs induces neoteny during spine maturation. Cell. 149 : 923—935.

Dennis M. Y., Nuttle X., Sudmant P. H., Antonacci F., Graves T. A., Nefedov M., Rosenfeld J. A., Sajjadian S., Malig M., Kotkiewicz H., Curry C. J., Shafer S., Shaffer L. G., de Jong P. J., Wilson R. K., Eichler E. E. 2012. Evolution of human-specific neural SRGAP2 genes by incomplete segmental duplication. Cell. 149 : 912—922.

Golemis E. A., Serebriiskii I., Finley R. L., jr., Kolonin M. G., Gyuris J., Brent R. 2009. Interaction trap/two-hybrid system to identify interacting proteins. In: Current protocols in protein science. New York: John Wiley & Sons, Inc. Suppl. 57 : 19.2.1—19.2.35.

Gyuris J., Golemis E. A., Chertkov H., Brent R. 1993. Cdi1, a human G<sub>1</sub>- and S-phase protein phosphatase that associates with Cdk2. Cell. 75 : 791—803.

Marques-Bonet T., Kidd J. M., Ventura M., Graves T. A., Cheng Z., Hillier L. W., Jiang Z., Baker C., Malfavon-Borja R., Fulton L. A., Alkan C., Aksay G., Girirajan S., Siswara P., Chen L., Cardone M. F., Navarro A., Mardis E. R., Wilson R. K., Eichler E. E. 2009. A burst of segmental duplications in the genome of the African great ape ancestor. Nature. 457 : 877—881.

Ohno S. 1970. Evolution by gene duplication. Berlin; New York: Springer-Verlag. 160 p.

Ruden D. M., Ma J., Li Y., Wood K., Ptashne M. 1991. Generating yeast transcriptional activators containing no yeast protein sequences. Nature. 350 : 426—430.

Sambrook J., Fritsch E. F., Maniatis T. 1989. Molecular cloning: a laboratory Manual. Second edition. New York: Cold Spring Harbor: CSHL Press. 1, 2, 3 (three volume set, spiral-bound).

Serebriiskii I. G., Toby G. G., Finley R. L., jr., Golemis E. A. 2001. Genomic analysis utilizing the yeast two-hybrid system. Methods Mol. Biol. 175 : 415—454.

Поступила 26 XI 2012

NOVEL COMPLEXES OF GENE EXPRESSION AND THEIR ROLE IN THE APPEARANCE  
AND EVOLUTION OF THE GENUS *HOMO**E. K. Shematorova, D. G. Shpakovski, G. V. Shpakovski*<sup>1</sup>M. M. Shemyakin—Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Moscow;  
e-mail: gvs@ibch.ru

Using genetic (yeast two-hybrid system) and biochemical (co-precipitation of proteins from cellular lysates) approaches, we have performed a whole-genome wide search for interacting partners of the previously described by us variants of hRPB11 subunit of human RNA polymerase II — hRPB11b $\alpha$ , hRPB11c $\alpha$  and hRPB11b $\beta$ , hRPB11c $\beta$  — in fetal brain and Jurkat cell line libraries. In consequence, the main spectrum of the protein partners of these human specific isoforms of the RNA polymerase II subunit hRPB11 (POLR2J) has been established. Functional characteristics of the uncovered protein partners of hRPB11b $\alpha$  and hRPB11c $\alpha$  isoforms clearly indicate that these isoforms, similarly to the main (major) subunit hRPB11a, are components of the distinct transcription complexes participating not only in the transcription of the specific DNA matrices, but involving also in the later stages of mRNA biogenesis. The RNA polymerase I-III common subunit hRPB6 (POLR2F) and basal component of the exon-exon junction complex Y14 (RBM8A) have been found among the protein partners of the isoforms hRPB11b $\beta$  and hRPB11c $\beta$  together with a number of proteins involved in the biogenesis of microRNAs, including a novel, not previously described variant of the microRNA processing nuclease DROSHA, which indicates the existence of a special coordination between processes of transcription and RNA interference in the nuclei of human cells.

Key words: segmental duplications, human *POLR2J* gene family, minor isoforms of human RNA polymerase II subunit hRPB11 (POLR2J), yeast two-hybrid system, protein partners, COMMD4d, evolution of *Homo sapiens*.

---