

ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ЭМБРИОНАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК МЫШИ С НОКАУТОМ ПО ГЕНУ *Pcbp1*

© 2020 г. Е. И. Бахмет^{1, *}, С. В. Пономарцев¹, П. А. Дыбан², И. Б. Назаров¹, А. А. Кузьмин¹, Н. Д. Аксёнов¹, Е. В. Потапенко¹, М. Н. Гордеев¹, А. Н. Томили^{1, 3, **}

¹Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064 Россия

²Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, 197376 Россия

³Институт трансляционной биомедицины, Санкт-Петербургский Университет, Санкт-Петербург, 199034 Россия

*E-mail: e.bakhmet@incras.ru

**E-mail: a.tomilin@incras.ru

Поступила в редакцию 19.02.2020 г.

После доработки 27.02.2020 г.

Принята к публикации 27.02.2020 г.

КН-доменные PolyC-связывающие белки выполняют множество функций: от регуляции транскрипции до альтернативного сплайсинга. Существуют свидетельства важной роли этих белков в эмбриогенезе и в эмбриональных стволовых клетках (ЭСК). ЭСК являются культивируемыми аналогами клеток эпибласта до имплантации и находятся в состоянии так называемой наивной плюрипотентности. Ранее нами было показано, что представители этого семейства белков – hnRNP-K, Pcbp1 и Pcbp2 – способны связываться с PolyC-сайтами регуляторных элементов гена *Pou5f1*, кодирующего ключевой для плюрипотентности фактор Oct4. Кроме того, в литературе представлены данные о раннем летальном фенотипе *Pcbp1*^{-/-} эмбрионов мыши. Для исследования роли Pcbp1 в ЭСК нами были получены ЭСК с нокаутом по гену *Pcbp1*. В отличие от показанного нами ранее летального фенотипа *hnRNP-K*-дефицитных ЭСК, *Pcbp1*^{-/-} ЭСК оказались жизнеспособны, продолжали экспрессировать фактор Oct4 и, в целом, сохраняли плюрипотентные свойства. Полученные результаты говорят о том, что Pcbp1 не нужен ни для регуляции экспрессии Oct4, ни для поддержания состояния наивной плюрипотентности. В последующих исследованиях будет проанализирована роль Pcbp1 в процессах перехода клеток в состояние праймированной плюрипотентности, а также дальнейшего выхода из него путем дифференцировки в клетки трех зародышевых листков.

Ключевые слова: Pcbp1, Oct4, hnRNP-K, эмбриональные стволовые клетки, плюрипотентность

DOI: 10.31857/S0041377120060024

Эмбриональные стволовые клетки (ЭСК) впервые были успешно выделены в 1981 г двумя независимыми группами ученых (Evans, Kaufman, 1981; Martin, 1981). С тех пор ЭСК активно изучаются, накоплено множество новых фактов о фундаментальных принципах, которые лежат в основе их функционирования. Существует довольно много работ, посвященных их прикладному значению для регенеративной медицины. Этот уникальный по своим свойствам тип клеток характеризуется способностью к самообновлению и к дифференцировке во все типы соматических клеток. Огромный прорыв в теме ЭСК и в биологии в целом произошёл в 2006 г в связи открытием индуцированной плюрипотентности (Takahashi, Yamanaka, 2006). Эта работа наглядно продемонстрировала возможность с помощью определенных факторов вернуть дифференцированную клетку обратно в плюрипотентное состояние. Oct4 является ключевым транскрипционным фактором ЭСК. Как повышение, так и понижение его экспрессии ведет к диф-

ференцировке (Niwa et al., 2000). Кодирующий Oct4 ген *Pou5f1* имеет три регуляторных участка – промотор, проксимальный энхансер и дистальный энхансер. В нашей лаборатории было показано, что белки, способные связываться *in vitro* с PolyC-последовательностью сайта 2A дистального энхансера присутствуют в различных тканях мыши (Назаров и др., 2013), и они являются представителями семейства КН-доменных PolyC-связывающих белков – hnRNP-K, Pcbp1 и Pcbp2. Эти белки принимают участие во множестве различных процессов, включая транскрипцию, процессинг мРНК, сплайсинг, регуляцию трансляции и т.д. (Wang et al., 1995; Michelotti et al., 1996; Ritchie et al., 2003; Lynch et al., 2005; Mikula et al., 2006; Choi et al., 2008; Hwang et al., 2017). Среди биологических функций показана их роль в эмбриогенезе, дифференцировке; также показаны их онко-супрессорные и онкогенные свойства, зависящие от типа опухоли (Chia et al., 2010; Ghanem et al., 2015; Thompson et al., 2015; Zhang et al., 2016). Ранее нами