

## ВЫЯВЛЕНИЕ НОВЫХ DRE В РЕГУЛЯТОРНОЙ ОБЛАСТИ ГЕНОВ ЧЕЛОВЕКА, КОДИРУЮЩИХ КОМПОНЕНТЫ ЦИТОЗОЛЬНОГО КОМПЛЕКСА АРИЛ-ГИДРОКАРБОНОВОГО РЕЦЕПТОРА

Д.Ю. Ощепков<sup>1</sup>, Д.П. Фурман<sup>1,2</sup>, Е.А. Ощепкова<sup>1</sup>, А.В. Катохин<sup>1</sup>,  
М.Ю. Шаманина<sup>1</sup>, В.А. Мордвинов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Учреждение Российской академии наук Институт цитологии и генетики  
Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Россия;

<sup>2</sup> Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

Арил-гидрокарбонный рецептор (AhR) – активируемый лигандом транскрипционный фактор, который участвует в ответе на ксенобиотики или эндогенные сигналы, модулируя экспрессию многих генов в различных тканях у разных видов. В отсутствие лиганда AhR находится в цитоплазме клетки в составе гетеротетрамерного корового цитоплазматического комплекса. В составе этого же комплекса он взаимодействует с лигандом и транслоцируется в ядро. В ядре связанный с лигандом AhR образует с белком Arnt транскрипционно активный комплекс, который обладает высоким сродством к DRE (dioxin response elements). В работе представлены результаты поиска DRE в генах, кодирующих белки цитозольного комплекса арил-гидрокарбонного рецептора. С использованием программы SITECON идентифицировано 27 новых потенциальных DRE в пяти последовательностях из регуляторных областей соответствующих генов человека. Вновь выявленные DRE позиционируются в промоторных районах генов, что позволяет предположить функциональную значимость выявленных DRE. Полученные данные могут использоваться для разработки моделей AhR-зависимой регуляции экспрессии генов, кодирующих белки цитозольного комплекса.

**Ключевые слова:** арил-гидрокарбонный рецептор, DRE, диоксин, коровый цитозольный комплекс, авторегуляторная петля.

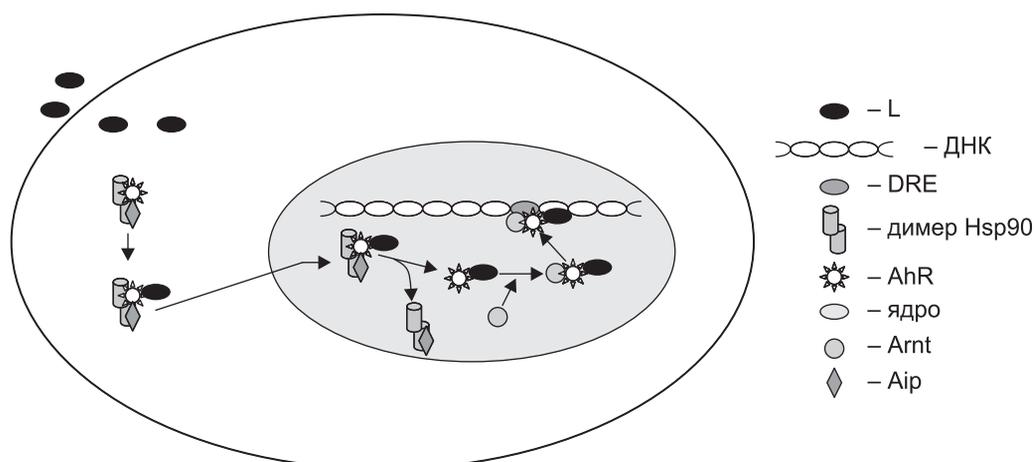
### Введение

Несмотря на повышенный интерес исследователей к эффектам действия диоксина и его производных на организм млекопитающих и человека, механизмы его участия в регуляции экспрессии генов эукариот изучены недостаточно. В частности до сих пор неполны данные о наличии в составе регуляторных районов генов, кодирующих компоненты цитозольного комплекса арил-гидрокарбонного рецептора, «диоксин-чувствительных элементов» (dioxin response elements, DRE), ответственных за инициацию их транскрипции.

Арил-гидрокарбонный рецептор (AhR) – активируемый лигандом (L) транскрипционный фактор, который участвует в ряде критических клеточных событий в ответ на ксенобиотики или эндогенные сигналы (Harper *et al.*, 2006), моду-

лируя экспрессию многих генов в различных тканях у разных видов (Sogawa, Fujii-Kuriyama, 1997). В отсутствие лиганда AhR находится в составе гетеротетрамерного корового цитоплазматического комплекса (КЦК), состоящего из AhR (собственно лиганд-связывающая субъединица), иммунофилин-подобного белка Air и димера Hsp90, с которым менее тесно ассоциирован ряд других белков (Petruilis, Perdew, 2002) (рис. 1).

При связывании лиганда, примером которого может служить 2,3,7,8-тетрахлородibenзо-п-диоксин (2,3,7,8-ТХДД) – наиболее токсичный из известных до настоящего времени ксенобиотиков, AhR/L в составе комплекса транслоцируется в ядро. В ядре КЦК диссоциирует, и AhR/L образует транскрипционно-активный комплекс с Arnt (aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator) (AhR/L-Arnt), который способен с высоким сродством связываться со специфи-



**Рис. 1.** Роль КЦК в AhR-опосредованном пути активации экспрессии генов, содержащих в своей регуляторной области DRE.

ческими последовательностями (DRE – dioxin response elements) в регуляторной области генов-мишеней, инициируя их транскрипцию (Whitlock, 1999; Ma, 2001).

Механизмы регуляции транскрипции генов, кодирующих собственно белки КЦК, в связи с воздействием диоксина до конца неясны. Существуют экспериментальные данные, демонстрирующие наличие AhR-опосредованной регуляции экспрессии гена *AhR* у крыс. Показано, в частности, что связывание лиганда с AhR в печени крыс повышало уровень транскрипции мРНК самого *AhR* зависимым от типа лиганда образом: так, при введении 2,3,7,8-ТХДД уровень мРНК AhR возрастал в 3 раза (Franc *et al.*, 2001; Brauze *et al.*, 2006). Ряд результатов указывает на возможное существование такой регуляции и у человека (Hayashi *et al.*, 1994; Jana *et al.*, 1998; Pitt *et al.*, 2001; Wu *et al.*, 2003). В связи с этим представляется интересным исследовать регуляторные районы генов человека, кодирующих компоненты КЦК, с целью получения более полного представления об их организации и данных для построения в дальнейшем моделей, отражающих механизмы регуляции экспрессии этих генов и динамику биосинтеза/распада комплекса.

### Материалы и методы

Поиск DRE в регуляторных районах генов проводился с помощью подхода SITECON

(<http://www.mgs.bionet.nsc.ru/mgs/programs/sitecon/>) (Oshchepkov *et al.*, 2004). Его эффективность была ранее подтверждена экспериментально при распознавании сайтов связывания транскрипционных факторов SF-1 и SREBP (Kolchanov *et al.*, 2007).

В качестве обучающей выборки использовалось 13 экспериментально выявленных DRE длиной 19 п.н. (Sun *et al.*, 2004). Все эти сайты содержат инвариантную последовательность 5'-GCGTG-3' и вариабельные фланговые последовательности. На основе выборки был определен набор консервативных конформационных и физико-химических свойств DRE, который использовался для создания правил распознавания и последующего определения уровня конформационного сходства тестируемой последовательности с обучающей выборкой. Ошибка 1-го рода (недопредсказание) рассчитывалась с помощью подхода «складного ножа» (jack-knife) (Efron, Gong, 1983). Эта процедура включала в себя распознавание одного из сайтов из выборки DRE на основе обучения по неполной выборке, не включающей распознаваемый сайт, и проводилась последовательно для всех сайтов из обучающей выборки. Для расчета ошибки 2-го рода (перепредсказание) использовалась случайная последовательность длиной 500 000 п.о., сгенерированная путем многократного случайного перемешивания нуклеотидов из последовательностей обучающей выборки. Критерием принадлежности

тестируемой последовательности к потенциальным DRE было значение уровня сходства, превышающее пороговое значение  $P = 0,95$ , при котором ошибка 1-го рода равна нулю (табл. 1), все сайты обучающей выборки безошибочно распознаются на контроле.

**Таблица 1**  
Ошибки распознавания DRE  
методом SITECON для разных уровней  
конформационного сходства

Пороговое значение уровня сходства	Ошибка 1-го рода (недопредсказание)	Ошибка 2-го рода (перепредсказание)
0,95	0,0000	1,11e-003 (1/901)
0,96	0,0769	9,10e-004 (1/1099)
0,97	0,2308	6,70e-004 (1/1492)
0,98	0,3077	1,50e-004 (1/6665)

Эффективность подхода SITECON для поиска DRE тестировалась на последовательностях генов *CYP1A1*, *CYP1B1* человека и гена эпирегулина крысы. При сравнении полученных результатов с экспериментальными данными (Kress *et al.*, 1998; Tsuchiya *et al.*, 2003; Patel *et al.*, 2006) оказалось, что с помощью SITECON выявляются все белок-связывающие и функционально-активные DRE. Следует отметить, что значение уровня сходства составило не менее 0,974 для всех этих элементов, включая и функционально активный сайт в гене эпирегулина крысы, который не был выявлен другими методами распознавания (Sun *et al.*, 2004).

### Результаты

Проанализировано 5 последовательностей из регуляторных областей генов человека, кодирующих компоненты цитозольного комплекса арил-гидрокарбонowego рецептора: *AhR*, *AIP*, *HSP90AA1*, *HSP90AB1*. Для генов *AIP*, *HSP90AA1* и *HSP90AB1* в анализ были взяты участки промоторных районов от -5000 до +600 нуклеотидов относительно старта транскрипции. Для *AhR* район поиска был расширен до -15000/+600. В результате обнаружено 30 потенциальных DRE, 27 из которых выявлены впервые: 1 в *AhR*, 5 в *AIP*, 5 в *HSP90AB1* и по 8

в регуляторной зоне гена *HSP90AA1* для двух альтернативных транскриптов. Все DRE распознаны программой SITECON с существенным превышением выбранного порога, равного 0,95. Полученные результаты суммированы в табл. 2.

Проведенный анализ промотора гена *AhR* человека показал наличие 3 потенциальных DRE (позиции +8, +406 и +696), лишь один из которых (в позиции +406) был уже выявлен (Sun *et al.*, 2004). Кроме того, потенциальный DRE был найден в позиции от -7398 до -7385, в районе, где ранее поиск DRE не проводился или проводился, но соответствующий сайт не был идентифицирован.

Поскольку установлен факт AhR-опосредованной регуляции экспрессии гена *AhR* крысы (Franc *et al.*, 2001; Brauze *et al.*, 2006), нами был проведен анализ его промоторной зоны в районе -15000/+600. В результате выявлено три потенциальных DRE с высоким уровнем конформационного сходства (0,97-0,98, табл. 2), причем позиция одного совпадает с позицией DRE, выявленного ранее (Sun *et al.*, 2004).

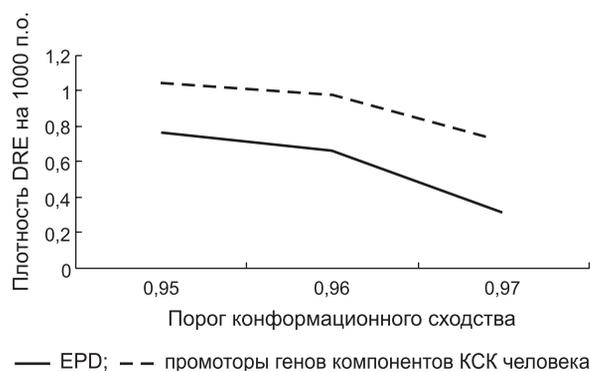
Для верификации полученных результатов было проведено сравнение плотности распознаваемых DRE (число DRE на 1000 п.о.) в выборке промоторов генов человека (1867 последовательностей) из базы данных Eukaryotic Promoter Database (Schmid *et al.*, 2006) и в промоторах перечисленных выше генов – компонентов КСК человека (5 последовательностей). Следует отметить, что анализируемая выборка из EPD включала как нецелевые для воздействия ксенобиотиков гены, так и заведомо содержащие DRE, поскольку априорную классификацию по признаку наличия/отсутствия DRE в имеющихся последовательностях провести не представляется возможным по причине недостаточной изученности степени участия соответствующих генов в ответе на действие ксенобиотиков. Распознавание в обоих случаях проводилось для участка -5000/+600 относительно старта транскрипции. Результаты представлены на рис. 2. Видно, что для порогов 0,95, 0,96 и 0,97 плотность DRE в промоторах генов компонентов КСК человека превышает их плотность в промоторах из базы данных EPD, причем для порога 0,97 более чем в 2 раза. Установленное различие позволяет с высокой степенью веро-

Таблица 2

Потенциальные DRE, выявленные с использованием метода SITECON  
в генах *AhR*, *HSP90*, *AIP* человека (Nedosekina *et al.*, 2007) и в гене *AhR* крысы.  
Сравнение с результатами Sun *et al.* (2004) и Boutros *et al.* (2004)

Гены человека	Последовательность DRE	SITECON		Sun <i>et al.</i> , 2004	Boutros <i>et al.</i> , 2004
		Позиция	Сходство	Позиция	Позиция
<i>Hs:AhR</i> (NM_001621)	CGAGAGCGTGCCCC	+8	0,975	НН	НН
	AGCCTGCGTGAGCC	+406	0,984	+467**	НН
	CACCCGCGTGCCCTG	+696	0,984	НН	НН
	GAATCGCGTGAACC	-7392	0,971	НА	НН
<i>Rn:AhR*</i> (NM_013149)	CCCACGCGTGACAGC	+112	0,974	НН	НН
	TTTTTGCGTGAAAA	-4933	0,984	-4904**	НН
	CCCATGCGTGCTAT	-9119	0,987	НН	НН
<i>Hs:HSP90AA1</i> (NM_001017963)	TTCCTGCGTGTGAT	+550	0,959	НА	НА
	ACCCCGCGTGCTGG	+256	0,973	НА	НА
	ACCTGGCGTGCTCC	-39	0,972	НА	НА
	CGCAGGCGTGCTCA	-52	0,970	НА	НА
	GGTGGGCGTGATCC	-197	0,968	НА	НА
	GCCCTGCGTGCCGA	-993	0,988	НА	НА
	CGGTGGCGTGCTCA	-2830	0,972	НА	НА
	TACAGGCGTGAGCC	-4138	0,968	НА	НА
<i>Hs:HSP90AA1</i> (NM_005348)	TGTTGCGTGCGGC	+306	0,973	НА	НН
	CGGGGGCGTGCGAG	-241	0,970	НА	-234
	CCCGGGCGTGCCCT	-364	0,971	НА	НН
	GTCGTGCGTGGACG	-465	0,955	НА	НН
	CGGGCGCGTGAGAC	-491	0,970	НА	-484
	TACAGGCGTGAGCC	-2157	0,968	НА	НН
	GAATGGCGTGAACC	-3506	0,968	НА	НН
	TAGAGGCGTGAGCC	-3687	0,968	НА	НН
<i>Hs:HSP90AB1</i> (NM_007355)	CTACTGCGTGCCCC	-22	0,985	НН	НН
	AGGCCGCGTGACGA	-1132	0,971	НН	НН
	TGGGAGCGTGATCC	-1701	0,973	НН	НН
	CAGTGGCGTGATCT	-2618	0,970	НН	НН
	TACAGGCGTGAGCC	-3175	0,968	НН	НН
<i>Hs:AIP</i> (NM_003977)	GAATGGCGTGAACC	-858	0,968	НН	НН
	TACAGGCGTGAGCC	-1037	0,968	НН	НН
	CACAGGCGTGACCC	-1293	0,971	НН	НН
	TACAGGCGTGAGCC	-2092	0,968	НН	НН
	TACAGGCGTGAGCC	-2404	0,968	НН	НН

Обозначения: НН – не найдено; НА – не анализировалось. \* Отсчет позиции DRE проводился относительно крайней 5'-позиции соответствующей кДНК. \*\* Наблюдаемое расхождение в позициях первого нуклеотида, выявленного DRE, связано с разницей при определении позиции старта транскрипции.



**Рис. 2.** Сравнение плотности выявляемых методом SITECON DRE в промоторах из базы данных EPD и в промоторах генов компонентов КСК человека (AhR, AIP, HSP90AB1, и два транскрипта HSP90AA1) в зависимости от порогового значения уровня конформационного сходства.

ятности говорить о регуляции экспрессии генов КЦК через взаимодействие комплекса AhR/Arnt с DRE в их промоторных районах.

### Обсуждение

Ранее функциональность КЦК и влияние AhR на экспрессию соответствующих генов-мишеней рассматривались в основном в связи с ролью белок-белковых взаимодействий между партнерами, формирующими комплекс (Carver *et al.*, 1998). Установлено, что внутри КЦК AhR взаимодействует с обоими белками в составе димера Hsp90 (Perdew, Bradfield, 1996). В свою очередь димер Hsp90 поддерживает AhR в конформации, необходимой для связывания лиганда (Whitelaw *et al.*, 1995). Aip образует комплекс с Hsp90 и AhR, но способен также к независимому связыванию как Hsp90, так и AhR (Meyer *et al.*, 2000).

В настоящей работе внимание сосредоточено на компьютерном анализе регуляторных областей генов, кодирующих белки КЦК человека, на предмет наличия DRE, обеспечивающих возможность AhR-опосредованной регуляции их экспрессии.

Полученные результаты говорят в пользу существования такого типа регуляции. Действительно, в структуре всех генов КЦК обнаружены DRE – обязательные составляющие регуляторного пути с участием AhR. Авторегуляция

экспрессии гена *AhR* крыс, в структуре которого нами выявлены DRE, показана экспериментально (Brauze *et al.*, 2006).

При сравнении организации промоторов генов *AhR* крысы и человека оказалось, что характер расположения потенциальных DRE в них сходен: в обеих последовательностях имеются DRE ниже старта транскрипции (1 в гене крысы в позиции +112 и 3 в гене человека в позициях +8, +406 и +696). Кроме того, в промоторах обоих генов есть по одному DRE в дистальной области на значительном расстоянии от старта транскрипции (в гене крысы в позиции –4932 и в гене человека в позиции –7392). Никаких подтверждений функциональности DRE, локализованных ниже старта транскрипции, пока не найдено, однако в модельных экспериментах показана функциональная активность DRE, расположенных выше старта транскрипции на расстоянии вплоть до –7000 от него (Kawajiri *et al.*, 1986; Kress *et al.*, 1998; Lakhman *et al.*, 2007). Эти данные могут служить аргументом в пользу предположения о функциональности DRE, выявленного в дистальной области промотора гена *AhR* человека.

Известно, что цитозольный белок HSP90, важный компонент КЦК, продуцируется двумя паралогичными генами – *HSP90AA1* и *HSP90AB1*. Считается, что HSP90AA1 частично индуцибелен, тогда как HSP90AB1 экспрессируется по большей части конститутивно (Chen *et al.*, 2005). В промоторах двух известных изоформ *HSP90AA1*, отличающихся по положению старта транскрипции, нами обнаружено по 8 потенциальных DRE. Пять потенциальных DRE обнаружены и в промоторе важнейшего компонента КЦК – белка AIP. Известно, что AhR-опосредованная экспрессия гена-мишени при воздействии 2,3,7,8-ТХДД или диоксиноподобных соединений зависит от числа DRE, расположенных в энхансерной области (Kim *et al.*, 2006; Tsyglov, 2006). Поэтому гены, имеющие 5 или более потенциальных DRE в своей регуляторной зоне, – *HSP90AA1* (8 DRE), *AIP* (5 DRE) и *HSP90AB1* (5 DRE) – могут являться первоочередными генами-мишенями для воздействия ксенобиотиков.

Для подтверждения функциональности выявленных потенциальных DRE *in vivo* безусловно необходимы дальнейшие эксперименты,

однако уже сейчас можно сделать несколько умозаключений. Детектирование потенциальных DRE в регуляторной области гена *AhR* и других генов, кодирующих белки КЦК человека, позволяет рассматривать их как структурную основу для AhR-опосредованных путей регуляции транскрипционной активности и говорить о наличии авторегуляторной петли для гена *AhR* в процессах ответа на ксенобиотик. Данные, полученные ранее для ряда генов человека и крысы (Hayashi *et al.*, 1994; Jana *et al.*, 1998; Pitt *et al.*, 2001; Wu *et al.*, 2003; Brauze *et al.*, 2006), свидетельствуют в пользу существования такого типа регуляции в поддержании собственной экспрессии AhR. В свою очередь, если принять во внимание множественные (5 и более) потенциальные DRE, обнаруженные в регуляторной области генов, кодирующих остальные белки КЦК, увеличение экспрессии белка AhR при воздействии ксенобиотика, вероятнее всего, модулирует и экспрессию генов, кодирующих белки корового цитозольного комплекса.

Таким образом, представляется вероятным, что при наличии авторегуляторной петли для *AhR* экспрессия всех генов, кодирующих белки КЦК человека, может регулироваться AhR-зависимым образом и интегрально влиять на реакцию клетки на ксенобиотики.

### Литература

- Boutros P.C., Moffat I.D., Franc M.A. *et al.* Dioxin-responsive AHRE-II gene battery: identification by phylogenetic footprinting // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004. V. 321. № 3. P. 707–715.
- Brauze D., Widerak M., Cwykiel J. *et al.* The effect of aryl hydrocarbon receptor ligands on the expression of AhR, AhRR, ARNT, Hif1alpha, CYP1A1 and NQO1 genes in rat liver // *Toxicol. Lett.* 2006. V. 167. № 3. P. 212–220.
- Carver L.A., LaPres J.J., Jain S. *et al.* Characterization of the Ah receptor-associated protein, ARA9 // *J. Biol. Chem.* 1998. V. 273. № 50. P. 33580–33587.
- Chen B., Piel W.H., Gui L. *et al.* The HSP90 family of genes in the human genome: Insights into their divergence and evolution // *Genomics.* 2005. V. 86. № 6. P. 627–637.
- Efron B., Gong G. A leisure look at the bootstrap, the jackknife and cross-validation // *Am. Stat.* 1983. V. 37. P. 36–48.
- Franc M.A., Pohjanvirta R., Tuomisto J., Okey A.B. *In vivo* up-regulation of aryl hydrocarbon receptor expression by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in a dioxin-resistant rat model // *Biochem. Pharmacol.* 2001. V. 62. P. 1565–1578.
- Harper P.A., Riddick D.S., Okey A.B. Regulating the regulator: Factors that control levels and activity of the aryl hydrocarbon receptor // *Biochem. Pharmacol.* 2006. V. 72. № 3. P. 267–279.
- Hayashi S.-I., Watanabe J., Nakachi K. *et al.* Interindividual difference in expression of human Ah receptor and related P450 genes // *Carcinogenesis.* 1994. V. 15. 5. P. 801–806.
- Jana N.R., Sarkar S., Yonemoto J. *et al.* Strain differences in cytochrome P4501A1 gene expression caused by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in the rat liver: role of the aryl hydrocarbon receptor and its nuclear translocator // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1998. V. 248. № 3. P. 554–558.
- Kawajiri K., Watanabe J., Gotoh O. *et al.* Structure and drug inducibility of the human cytochrome P-450c gene // *Eur. J. Biochem.* 1986. 159(2). P. 219–225.
- Kim W.K., In Y.-J., Kim J.-H. *et al.* Quantitative relationship of dioxin-responsive gene expression to dioxin response element in Hep3B and HepG2 human hepatocarcinoma cell lines // *Toxicol. Lett.* 2006. V. 165. 2. P. 174–181.
- Kolchanov N.A., Merkulova T.I., Ignatieva E.V. *et al.* Combined experimental and computational approaches to study the regulatory elements in eukaryotic genes // *Brief Bioinform.* 2007. 8(4). P. 266–274.
- Kress S., Reichert J., Schwarz M. Functional analysis of the human cytochrome P4501A1 (CYP1A1) gene enhancer // *Eur. J. Biochem.* 1998. V. 258. P. 803–812.
- Lakhman S.S., Chen X., Gonzalez-Covarrubias V. *et al.* Functional characterization of the promoter of human carbonyl reductase 1 (CBR1). Role of XRE elements in mediating induction of CBR1 by ligands of the aryl hydrocarbon receptor // *Mol. Pharmacol.* 2007. V. 72. № 3. P. 734–743.
- Ma Q. Induction of *CYP1A1*. The AhR/DRE paradigm: transcription, receptor regulation, and expanding biological roles // *Curr. Drug Metab.* 2001. V. 377. P. 205–213.
- Meyer B.K., Petrusis J.R., Perdew G.H. Aryl hydrocarbon (Ah) receptor levels are selectively modulated by hsp90-associated immunophilin homolog XAP2 // *Cell Stress Chaperones.* 2000. V. 5. N 3. P. 243–254.
- Nedosekina E.A., Oshchepkov D.Y., Katokhin A.V. *et al.* Detection of new potentially active DRE sites in regulatory region of human genes encoding components of Ah receptor cytosolic complex // *Organohalogen Compounds.* 2007. V. 69. P. 1889–1892.
- Oshchepkov D.Y., Vityaev E.E., Grigorovich D.A. *et al.* SITECON: a tool for detecting conservative con-

- formational and physicochemical properties in transcription factor binding site alignments and for site recognition // *Nucl. Acids Res.* 2004. V. 32. W208–212.
- Patel R.D., Kim D.J., Peters J.M., Perdew G.H. The Aryl Hydrocarbon Receptor Directly Regulates Expression of the Potent Mitogen Epiregulin // *Toxicological Sci.* 2006. V. 89(1). P. 75–82.
- Perdew G.H., Bradfield C.A. Mapping the 90 kDa heat shock protein binding region of the Ah receptor // *Biochem. Mol. Biol. Int.* 1996. V. 39. № 3. P. 589–593.
- Petrulis J.R., Perdew G.H. The role of chaperone proteins in the aryl hydrocarbon receptor core complex // *Chem. Biol. Interact.* 2002. V. 141. № 1/2. P. 25–40.
- Pitt J.A., Feng L., Abbott B.D. *et al.* Expression of AhR and ARNT mRNA in cultured human endometrial explants exposed to TCDD // *Toxicol. Sci.* 2001. V. 62. P. 289–298.
- Schmid C.D., Perier R., Praz V., Bucher P. EPD in its twentieth year: towards complete promoter coverage of selected model organisms // *Nucl. Acids Res.* 2006. V. 34. P. 82–85.
- Sogawa K., Fujii-Kuriyama Y. Ah receptor, a novel ligand-activated transcription factor // *J. Biochem. (Tokyo)*. 1997. V. 122. № 6. P. 1075–1079.
- Sun Y.V., Boverhof D.R., Burgoon L.D. *et al.* Comparative analysis of dioxin response elements in human, mouse and rat genomic sequences // *Nucl. Acids Res.* 2004. V. 32. № 15. P. 4512–4523.
- Tsuchiya Y., Nakajima M., Yokoi T. Critical enhancer region to which AhR/ARNT and Sp1 bind in the human CYP1B1 gene // *J. Biochem. (Tokyo)*. 2003. V. 133. P. 583–592.
- Tsyrllov I.B. The role of body burden 2,3,7,8-TCDD in triggering malignancy-associated human viruses: from early data to mechanistic concept // *Organohalogen Comp.* 2006. V. 68. P. 552.
- Whitelaw M., McGuire J., Picard D. *et al.* Heat shock protein hsp90 regulates dioxin receptor function *in vivo* // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1995. V. 92. № 10. P. 4437–4441.
- Whitlock J.P. Induction of cytochrome P4501A1 // *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1999. V. 39. P. 103–125.
- Wu J., Ramesh A., Nayyar T., Hood D.B. Assessment of metabolites and AhR and CYP1A1 mRNA expression subsequent to prenatal exposure to inhaled benzo(a)pyrene // *Int. J. of Dev. Neuroscience*. 2003. V. 21. 6. P. 333–346.

## DETECTION OF NEW DRE SITES IN REGULATORY REGION OF HUMAN GENES ENCODING COMPONENTS OF AH RECEPTOR CYTOSOLIC COMPLEX

**D.Y. Oshchepkov<sup>1</sup>, D.P. Furman<sup>1,2</sup>, E.A. Oshchepkova<sup>1</sup>, A.V. Katokhin<sup>1</sup>,  
M.Y. Shamanina<sup>1</sup>, V.A. Mordvinov<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia;

<sup>2</sup> Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

### Summary

Aryl hydrocarbon receptor (AhR) is a ligand-activated transcription factor involved in response to xenobiotics and endogenous signals. AhR modulates expression of many target genes and acts in various tissues of different species. Without a ligand AhR exists as heterotetrameric cytoplasmic core complex. AhR binds a ligand and then the AhR/ligand/core complex is translocated to the nucleus. After that the complex forms heterodimer with nuclear protein Arnt, binds to DRE (dioxin response element) and acts as a transcription factor. The results of DRE search in the genes encoding proteins of heterotetrameric cytoplasmic complex are presented in this paper. Twenty seven new potential DREs located in regulatory regions of five target human genes were found using the computer program SITECON. These DREs are promoter elements and may have functional activity. Obtained data can be used for modeling of AhR-dependent regulation of genes encoding cytoplasmic complex proteins.