



УДК 577.113.5:578.828

## НОВЫЙ ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ ГЕН ИЗ РЕТРОВИРУССОДЕРЖАЩЕГО ЛОКУСА 19-Й ХРОМОСОМЫ ЧЕЛОВЕКА

© 1998 г. П. П. Хиль, Ю. Б. Лебедев, Е. Д. Свердлов<sup>#</sup>*Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,  
117871, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10*

Поступило в редакцию 08.08.97 г. Принято к печати 15.09.97 г.

Путем кДНК-селекции на области хромосомы 19 человека, содержащие длинные концевые повторы (LTR) эндогенного ретровируса человека HERV-K, изолирован фрагмент кДНК, соответствующий вероятному новому гену человека. Показано, что идентифицированный потенциальный ген находится на хромосоме 19 человека в области 19q12, в локусе, содержащем LTR эндогенного ретровируса человека HERV-K. Расстояние между фрагментом кДНК и LTR составляет около 20 т. п. о. Методом ПЦР-амплификации препаратов, полученных путем обратной транскрипции тотальной РНК, показано, что соответствующий ген экспрессируется преимущественно в мозгу.

*Ключевые слова:* LTR, HERV-K, кДНК-селекция, картирование генов, хромосома 19, мозгоспецифическая экспрессия.

Эндогенные человеческие ретровирусы широко представлены в геноме человека и, возможно, играют существенную роль в регуляции его функционирования и в эволюции [1]. В рамках исследования их возможной роли в регуляции экспрессии близлежащих генов мы картировали недавно 72 полноразмерных длинных концевых повтора (LTR) эндогенных ретровирусов семейства HERV-K на хромосоме 19 [2] и показали, что концевые повторы часто располагаются рядом с генами. В данной работе нами идентифицирован потенциальный ген, который, находясь рядом с одним из LTR, картированных в области 19q12, специфически экспрессируется в мозге человека. Фрагмент кДНК, соответствующий этому гену, был выделен из кДНК-библиотеки методом прямой кДНК-селекции [3, 4] с использованием ДНК космиды R28711 в качестве геномной мишени. Эта космида, как мы показали ранее [2], содержит один из полноразмерных LTR HERV-K. Она картирована в области 19q12 хромосомы 19 человека. После двух раундов кДНК-селекции из кДНК-библиотек мозга и трахеи (CLONTECH) нами была получена обогащенная кДНК-библиотека, из которой был выделен фрагмент кДНК длиной 344 п. о., специфически гибридизующийся с ДНК космиды R28711, расположенной на расстоянии 32.8 млн. п. о. от теломеры короткого плеча хромосомы. Последовательность кДНК (рис. 1) была определена по двум цепям цикличе-

ским секвенированием с флуоресцентно мечеными дидезоксирибонуклеотидными терминаторами в соответствии с рекомендациями производителя (PE Applied Biosystems).

Сравнение этой последовательности с известными последовательностями, доступными в международных базах данных, показало, что эта кДНК не имеет аналогов и, следовательно, представляет собой фрагмент нового потенциального гена. Более точное взаиморасположение соответствующей этой кДНК геномной последовательности и LTR на космиде R28711 было определено методом саузерн-блот-гибридизации рестриктных фрагментов космиды с  $\alpha$ -<sup>32</sup>P-мечеными пробами, полученными ПЦР-амплификацией кДНК и LTR. Составленная в результате рестриктная карта космиды и положение рестриктных фрагментов, содержащих LTR и кДНК, показаны на рис. 2. Видно, что расстояние между LTR и кДНК составляет около 20 т. п. о., что сравнимо со средним размером гена человека. Таким образом, LTR может быть вовлечен в регуляцию экспрессии данного потенциального гена.

Этот LTR относится к подсемейству LTR-II [5, 6], представители которого появились в геноме человека примерно 15–20 млн. лет назад и, следовательно, могут находиться в геномах человека и шимпанзе. Возможно, что появление этого LTR в геноме сыграло определенную роль в эволюции.

Первым шагом на пути к ответу на вопрос о вовлеченности LTR в регуляцию близлежащих генов является анализ тканеспецифичности экспрессии соответствующих генов. Методом ПЦР-амплификации мы провели анализ продуктов, полученных путем обратной транскрипции с использованием

Сокращения: LTR – длинный концевой повтор, HERV-K – эндогенный ретровирус человека (семейство K).

<sup>#</sup>Автор для переписки (тел.: (095)330-65-29, факс: (095)330-65-38, e-mail: eds@glasnet.ru, sverd@humgen.siobc.ras.ru).

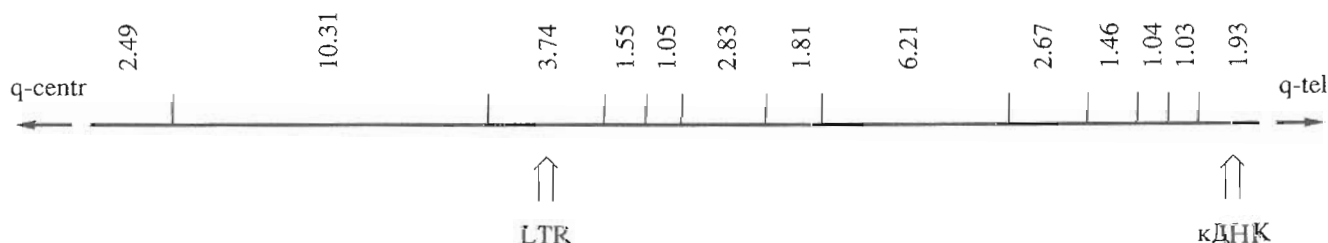
pX1-f  
→

1 TTCCCTAGGA TAAAATAGC CCTCTTGCAG TGCTCAACAT TAAAGTCTTC CGCATTTGCA  
61 AAATTGCAAA CAGATGCAAC TCAAGTACCT GCAAATAATC TGCCAAGAC AATTTCAAAA

← pX1-r

121 GGGAGATTTT AAAATATGTG GAAGTCATTA GGACATGTAT TATTTTTTGCA ATGAATAGGC  
181 GCCAGGAGTG TCTCAAGGAG CAGATGGGTG СТАCTTTGTT TATAAAAGAT CAACAGAATA  
241 TTCGGCTGTA AATGAAGACA TATAAGCTAT ATGAAACAAT TATGGTAAAA TGGCGAACAT  
301 TTCAAAGCTA ATTGTAATGG TCTCTTAAGA TCTGATCTGG TCCG

**Рис. 1.** Нуклеотидная последовательность нового мозгового транскрипта человека. Приведена полная первичная структура клона, выделенного из мозговой кДНК-библиотеки. Стрелками указаны участки, соответствующие праймерам pX1-f и pX1-r, использованным в работе. Слева показана нумерация нуклеотидов в последовательности.



**Рис. 2.** Фрагмент метрической карты хромосомы 19 человека, соответствующий вставке ДНК в рекомбинантной космиде R28711. Вертикальными штрихами обозначено положение участков узнавания рестриктазы *EcoRI*, указаны размеры соответствующих рестриктных фрагментов (т. п. о.). Светлые стрелки с подписями "LTR" и "кДНК" указывают на рестриктные фрагменты, в составе которых находятся LTR HERV-K и фрагмент кДНК соответственно. Ориентация приведенного фрагмента относительно центромеры (q-centr) и теломеры длинного плеча (q-tel) 19-й хромосомы обозначена стрелками с соответствующими подписями.

oligo(dT) и статистической затравки препаратов тотальной РНК из различных тканей человека, с праймерами 5'GCTCAACATTTAAAGTCTTCCGC, 22 нт (pX1-f) и 5'ССТGGCGCСТАТТСАТТG, 18 нт (pX1-r), соответствующими последовательности кДНК (рис. 1). Были исследованы следующие ткани: нормальное легкое, мышца, мозг, аорта, рак легкого, лимфоциты, сердце, почка, кишечник, желудок. Амплифицированные специфические фрагменты ДНК были обнаружены только при анализе препарата, полученного из мозга человека. По-видимому, последовательность консервативна в процессе эволюции, поскольку данная пара праймеров позволяет амплифицировать уникальный фрагмент длиной около 150 п. о. как в геноме человека, так и в геноме китайского хомячка. Дальнейший анализ вовлеченности LTR в качестве одного из регуляторных элементов, определяющих эту тканеспецифичность, производится в настоящее время.

Последовательность рассматриваемого в работе фрагмента кДНК депонирована в GenBank под номером AF000269.

Авторы признательны В.К. Потапову и Н.В. Скапцовой (ИБХ РАН) за синтез олигонуклеотидных праймеров.

Работа выполнена при частичной поддержке ННМИ 75195-544201 и ГНПГ "Геном человека" (договор № 58к/96).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lower R., Lower J., Kurth R. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1996. V. 93. P. 5177–5184.
2. Vinogradova T., Volik S., Lebedev Yu., Shevchenko Yu., Lavrentyeva I., Khil P., Grzeschik K.-H., Ashworth L.K., Sverdlov E.D. // Gene. 1997. In press.
3. Parimoo S., Patanjali S.R., Kolluri R., Xu H., Wei H., Weissman S.M. // Anal. Biochem. 1995. V. 228. P. 1–17.
4. Morgan J.G., Dolganov G.M., Robbins S.E., Hinton L.M., Lovett M. // Nucl. Acids Res. 1992. V. 20. P. 5173–5179.
5. Хиль П.П., Костина М.Б., Ажикина Т.Л., Колесник Т.Б., Лебедев Ю.Б., Сverdlov E.D. // Биоорганическая химия. 1997. Т. 23. С. 434–440.
6. Хиль П.П., Лебедев Ю.Б., Сverdlov E.D. // Докл. РАН. 1997. Т. 356. С. 1–5.

# A New Putative Gene Preferentially Expressed in the Human Brain Located on Chromosome 19q12 near the Human Endogenous Virus HERV-K LTR

P. P. Khil, Yu. B. Lebedev, and E. D. Sverdlov

*Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences,  
ul. Miklukho-Maklaya 16/10, GSP-7 Moscow, 117871 Russia*

**Abstract**—By means of cDNA selection, a cDNA clone corresponding to a putative gene was isolated. The identified gene was mapped to human chromosome 19 (region 19q12) to the locus containing the human endogenous retrovirus HERV-K LTR. The distance between the LTR and the cDNA fragment is about 20 kb. RT-PCR analysis of the total RNA revealed that the corresponding gene is preferentially expressed in the brain.

*Key words: LTR, HERV-K, cDNA selection, gene mapping, chromosome 19, brain-specific expression.*