

Sanaz Hassani

**Rola genów zawierających elementy ISRE oraz GAS
w długoterminowej odpowiedzi na IFN-I i INF-II**

Streszczenie

Interferony to grupa cytokin o aktywności przeciwwirusowej. Pełnią one również kluczową rolę w różnicowaniu komórek i procesach fizjologicznych. IFN-I, IFN-II i IFN-III to trzy główne kategorie interferonów, które działają poprzez wiązanie się z receptorami na powierzchni komórek. Po interakcji z receptorami na powierzchni komórek uruchamiają kaskadę aktywacji kinaz, co prowadzi do dimeryzacji specyficznej grupy białek, znanych jako przekaźniki sygnału i aktywatory transkrypcji (STAT), w tym STAT1 i STAT2. Następnie GAF (homodimer STAT1) i kompleks GAF-podobny (heterodimer STAT1/STAT2) są w stanie indukować ISG zawierające GAS (geny stymulowane przez interferon), podczas gdy ISGF3 (STAT1/STAT2/IRF9) i IRF1 aktywują ISG zawierające ISRE. Warto wspomnieć, że IFN-I aktywuje GAF, kompleks GAF-podobny, ISGF3 i IRF1, podczas gdy IFN-II promuje aktywację GAF i IRF1. Oprócz ISG zawierających ISRE lub GAS, trzecia grupa genów: ISG zawierające oba elementy, ISRE oraz GAS, odgrywa krytyczną rolę w adaptacji układu odpornościowego w odpowiedzi na infekcje wirusowe.

W tej pracy zbadaliśmy regulację transkrypcyjną genów zawierających ISRE+GAS w odpowiedzi na IFN α i IFN γ . Korzystając z technologii wysokoprzepustowych, takich jak RNA-seq i CHIP-seq, wykonanych na komórkach Huh7.5, zidentyfikowaliśmy listę 89 genów kompozytowych ISRE+GAS indukowanych przez IFN α lub IFN γ . Dostarczyliśmy również listę 30 genów ISRE+GAS indukowanych wspólnie przez IFN α i IFN γ , w których geny zostały pogrupowane według odległości ISRE/GAS.

Ponadto, na podstawie wiązania pSTAT1, pSTAT2, IRF9 i IRF1 oraz profiliekspresji tych 30 genów kompozytowych ISRE+GAS, udowodniliśmy, że nie ma korelacji między odległościami ISRE/GAS ani ich organizacją a ich regulacją transkrypcyjną.

Dodatkowo, nasza analiza danych RNA-seq, CHIP-seq i qPCR z komórek STAT1KO Huh7.5 potwierdziła, że kompleks STAT2/IRF9 jest czynnikiem transkrypcyjnym

odpowiedzialnym za regulację ekspresji genów ISRE+GAS w odpowiedzi na IFN α . Podobnie, zgodnie z profilami wiązania w komórkach WT oraz profilami ekspresji 13 wybranych genów ISRE+GAS w komórkach WT, STAT1, STAT2, IRF9, IRF1 i IRF1.9dKO, byliśmy w stanie zidentyfikować różne mechanizmy rządzące regulacją transkrypcyjną genów zawierających ISRE+GAS i udowodnić zdolność przełączania się między ISRE a GAS.

Mutagenesa ukierunkowana na określone miejsce (SDM), w połączeniu z analizą ekspresji lucyferazy promotora, przeprowadzona w komórkach WT oraz KO Huh7.5 dostarczyła dowodów, że ISRE jest najpotężniejszym elementem w promotorze genów ISRE+GAS, szczególnie w odpowiedzi na IFN α , a kompleksy GAF, GAF-podobny, ISGF3, STAT1/IRF9 i IRF1 ściśle ze sobą współpracują, nawet w przypadku braku bezpośrednich interakcji.

Wyniki testów przeciwwirusowych dostarczyły dodatkowego potwierdzenia, że ISG zawierające tylko ISRE oraz zawierające ISRE+GAS są skuteczniejsze w wywoływaniu odpowiedzi przeciwwirusowych, w porównaniu do genów zawierających tylko GAS, i przyczyniają się do silniejszej i efektywniejszej obrony przed infekcjami wirusowymi.