

ТРАНСГЕННЫЕ МЫШИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ КИНАЗА-НЕЗАВИСИМЫХ МЕХАНИЗМОВ ДЕЙСТВИЯ ЦИКЛИН-ЗАВИСИМЫХ КИНАЗ CDK8/19

Н. И. Ставская¹, Л. А. Ильчук²✉, Ю. Д. Окулова², М. В. Кубекина², Е. А. Варламова², Ю. Ю. Силаева¹, А. В. Брутер²

¹ Институт биологии гена Российской академии наук, Москва, Россия

² Центр высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины, Институт биологии гена Российской академии наук, Москва, Россия

Циклин-зависимая транскрипционная киназа CDK8 и ее менее изученный паралог CDK19 регулируют экспрессию зависимых генов посредством нескольких механизмов. CDK8/19 могут напрямую фосфорилировать некоторые транскрипционные факторы (ICN, STAT1), но в то же время в составе медиаторного комплекса эти киназы регулируют транскрипцию за счет взаимодействия с хроматином в области промоторов и энхансеров соответствующих генов. В последнее время появляются работы, демонстрирующие путем сравнения эффектов генетической инактивации и химического ингибирования киназной активности наличие у CDK8/19 киназа-независимых механизмов действия. Целью работы было получить трансгенных мышей, способных к индуцируемой и тканеспецифичной экспрессии киназонегативной (лишенной фосфорилирующей активности) формы CDK8 — CDK8 (D173A), которых впоследствии можно будет использовать для изучения киназа-независимых механизмов действия CDK8 *in vivo*. Методом случайного трансгенеза в результате микропункций линейной ДНК в пронуклеус нами получены четыре трансгенных особи F₀, две из которых стали родоначальниками отдельных линий. Для всех F₀ и полученных линий измерена копийность интегрировавшейся конструкции. Данная модель может быть использована для изучения киназа-независимых свойств белков CDK8/19.

Ключевые слова: трансгенез, регуляция транскрипции, Cdk8, киназа медиатора, киназа-независимые функции

Финансирование: грант РНФ#22-15-00227.

Вклад авторов: Н. И. Ставская — проведение экспериментов, работа с животными; Л. А. Ильчук — написание рукописи, разработка систем генотипирования, анализ результатов; Ю. Д. Окулова — с эмбрионами; М. В. Кубекина — подготовка генно-инженерной конструкции, проведение экспериментов; Е. А. Варламова — проведение экспериментов; Ю. Ю. Силаева — анализ литературы, планирование исследования; А. В. Брутер — анализ литературы, планирование исследования, анализ и интерпретация результатов, редактирование рукописи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом ИБГ РАН (протокол № 1 от 10 ноября 2021 г.) и проведено в строгом соответствии с положениями Директивы 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях.

✉ Для корреспонденции: Леонид Альбертович Ильчук
проспект Мира, д. 124, г. Москва, 129164, Россия; lechuk12@gmail.com

Статья получена: 22.11.2022 Статья принята к печати: 19.12.2022 Опубликована онлайн: 28.12.2022

DOI: 10.24075/vrgmu.2022.066

TRANSGENIC MICE FOR STUDY OF THE CDK8/19 CYCLIN-DEPENDENT KINASE KINASE-INDEPENDENT MECHANISMS OF ACTION

Stavskaya NI¹, Ilchuk LA²✉, Okulova YuD², Kubekina MV², Varlamova EA², Silaeva YuYu¹, Bruter AV²

¹ Institute of Gene Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

² Center for Precision Genome Editing and Genetic Technologies for Biomedicine, Institute of Gene Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

The CDK8 cyclin-dependent transcription-associated kinase and its less studied paralog, CDK19, regulate the expression of the dependant genes via several mechanisms. CDK8/19 can directly phosphorylate some transcription factors (ICN, STAT1), but at the same time these kinases being a component of the mediator complex regulate transcription via interaction with chromatin in the promoter and enhancer regions of appropriate genes. Recently the papers have appeared showing that CDK8/19 has kinase-independent mechanisms of action through comparison of the effects of the kinase activity genetic inactivation and chemical inhibition. The study was aimed to generate transgenic mice capable of the induced and tissue-specific expression of the kinase-negative (showing no phosphorylation activity) form of CDK8, CDK8 (D173A), which could be later used to study the CDK8 kinase-independent mechanisms of action *in vivo*. We obtained four F₀ transgenic animals by microinjection of linear DNA into the pronucleus, two of these animals became the ancestors of two distinct lines. The copy number of the integrated construct was measured for all F₀ and the lines generated. This model may be used to study the kinase-independent properties of the CDK8/19 proteins.

Keywords: transgenesis, transcription regulation, Cdk8, mediator kinase, kinase-independent functions

Funding: RSF grant, project № 22-15-00227.

Author contribution: Stavskaya NI — experimental procedure, working with animals; Ilchuk LA — manuscript writing, design of genotyping systems, data analysis; Okulova YuD — working with embryos; Kubekina MV — preparation of genetically engineered construct, experimental procedure; Varlamova EA — experimental procedure; Silaeva YuYu — literature analysis, study planning; Bruter AV — literature analysis, study planning, data analysis and interpretation, manuscript editing.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Institute of Gene Biology RAS (protocol № 1 of 10 November 2021) and conducted in full compliance with the Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes.

✉ Correspondence should be addressed: Leonid A. Ilchuk
Проспект Мира, 124, Москва, 129164, Россия; lechuk12@gmail.com

Received: 22.11.2022 Accepted: 19.12.2022 Published online: 28.12.2022

DOI: 10.24075/brsmu.2022.066

Циклин-зависимая киназа CDK8 и ее паралог CDK19 не регулируют напрямую смену фаз клеточного цикла и относятся к так называемым «транскрипционным киназам», регулирующим транскрипцию генов [1]. Механизмы такого

регулирования, однако, разнообразны. С одной стороны, CDK8/19 в составе комплекса с циклином C, MED12 и MED13 напрямую фосфорилируют некоторые транскрипционные факторы, такие как внутриклеточный домен NOTCH [2]

Таблица 1. Использованные олигонуклеотиды

	Последовательность	Назначение
P1	attaaccgtGCACCATGGACTATGACTTAAAGTGAAG	Амплификация OPC CDK8kd
P2	taatacgctTCAGTACCGATGTGTCT	Амплификация OPC CDK8kd
P3	CCATGGGCTTGCCCGATTAT	Внесение мутации A518C
P4	CAGCAATTCTACTCTCCCTCG	Внесение мутации A518C
P5	GTTAGATCTGCTGCCACCGT	Генотипирование (STOP-кассета)
P6	AGGTGGCAAGTGGTATCCG	Генотипирование (STOP-кассета)
P7	GCGAGTCCATGTCACTCAGG	Генотипирование (терминатор)
P8	GTGTTGCCCTTGAGCTTG	Генотипирование (терминатор)

или STAT1 [3]. С другой стороны, вместе эти четыре белка образуют киназный модуль комплекса Mediator, регулирующего экспрессию генов путем связывания областей промотора и энхансера [1]. И, хотя *in vitro* было показано, что CDK8/19 могут, как транскрипционные киназы CDK7 и CDK9, фосфорилировать C-концевой участок РНК-полимеразы II, что является важным событием в процессе перехода к стадии элонгации, в клетке этот механизм, по-видимому, не играет значительной роли [4]. В то же время показано, что CDK8/19 играют важную роль в экспрессии определенных генов, особенно активации экспрессии ранее инактивированных генов [5–7], а также ключевых онкогенов, например с-Мус [8, 9] и генов Wnt/β-катенинового пути [10]. В некоторых случаях обнаружена корреляция уровня экспрессии с присутствием CDK8/19 в энхансерах и супер-энхансерах соответствующих генов [11]. Однако, несмотря на важную фундаментальную роль CDK8/19, а также их потенциал как терапевтических мишений, конкретный молекулярный механизм, обуславливающий зависимость уровня экспрессии определенных генов от CDK8/19, остается неизвестным.

В последнее время появляются работы, в которых сравниваются эффекты химического ингибирования и генетической инактивации и показано, что в определенных моделях генетическая инактивация имеет намного более выраженные эффекты [7, 12, 13]. Из этого должно следовать существование у CDK8/19 киназа-независимых механизмов действия. Подобное сравнение, однако, не всегда точно даже *in vitro* ввиду ограниченной селективности и эффективности ингибиторов, и практически невозможно *in vivo* ввиду особенностей биораспределения и метаболизма химических ингибиторов, а также сложностей с проникновением веществ через гематоэнцефалический и гематотестикулярный барьеры.

Цель данной работы — получение трансгенных мышей с возможностью тканеспецифичной индуцируемой экспрессии мутантной киназонегативной формы CDK8(D173A) для последующего выявления возможных киназа-независимых механизмов действия CDK8/19.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Конструкция

Для проведения трансгенеза использовали вектор pKB2, отличающийся от использованного ранее вектора pKB1 [14, 15] отсутствием репортерного гена. Открытую рамку

Таблица 2. Результаты работ по получению первичных трансгенных животных

Использовано реципиентов	Пересажено клеток	Число родивших мышей	Число родившихся мышат	Число родившихся трансгенных особей
41	487	7	14	6

считывания амплифицировали с помощью полимеразы KapaHiFi (Kapa Biosystems; США) и праймеров P1 и P2 (здесь и далее все олигонуклеотиды, последовательности которых приведены в табл. 1, синтезированы компанией «Евроген», Россия) с кДНК. кДНК получали путем обратной транскрипции с использованием ревертазы RevertAid (Thermo Scientific; США) на основе РНК, выделенной из головного мозга мыши с помощью ExtractRNA («Евроген»; Россия). При амплификации в открытой рамке считывания были добавлены рестриктные сайты AgeI на 5'-конце и MluI на 3'-конце для последующего переноса в финальный вектор, а также консенсусная последовательность Козак. Амплифицированную рамку считывания клонировали в вектор CloneJet (Thermo Scientific; США) и отсеквирировали. Мутацию с.A518C внесли методом сайт-направленного мутагенеза в процессе полимеразной цепной реакции с предварительно фосфорилированными праймерами P3 и P4. Наличие целевой мутации и отсутствие дополнительных были подтверждены с помощью секвенирования. Затем OPC полученного варианта гена mCdk8kd (*kinase-dead*) переклонировали по сайтам AgeI и MluI (все эндонуклеазы рестрикции производства Thermo Scientific, США) в вектор pKB2. Конструкцию линеаризовали по сайтам Sall и NotI, разделили на электрофорезе, выделили из геля набором Cleanup Mini («Евроген»; Россия), дополнительно очистили на спин-колонке с нейлоновым фильтром 0,22 мкм Corning Costar Spin-X (Corning; США) и развели в буфере для микроинъекций (10 мМ Трис, 1 мМ ЭДТА) до концентрации ДНК 2 нг/мкл.

Содержание мышей

Эмбрионы получали от 30 неполовозрелых (12–13 г веса) самок (F1 гибриды СВА × C57BL/6) и аналогичных самцов возрастом 6–8 недель (питомник «Столбовая»; Россия). В качестве реципиентов и кормильц использовали аутбредных мышей CD1 (питомник «Столбовая»; Россия). Мышей содержали в виварии ЦКП ИБГ РАН в условиях постоянного доступа к воде и корму. Температуру воздуха поддерживали в диапазоне 22–24 °C, световой цикл (день/ночь) — 14/10 ч.

Микроинъекции, пересадка эмбрионов

Микроинъекции и пересадку эмбрионов производили как описано ранее [16]. На 19-й день после пересадки эмбрионов реципиентам проводили операцию кесарева

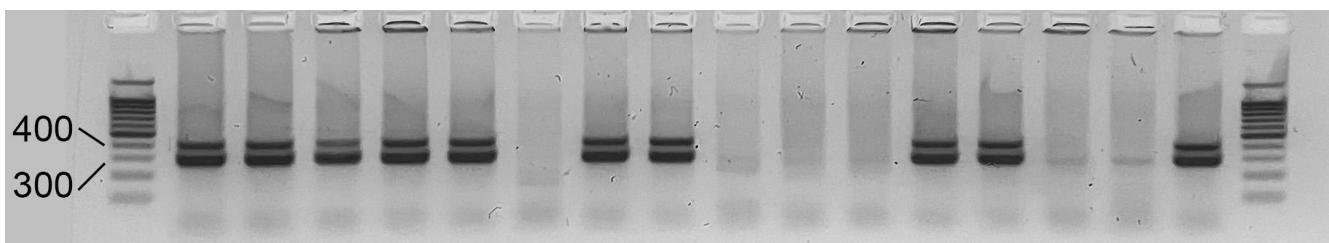


Рис. 1. Гель-электрофорез генотипирования мышей поколения F₁. Дорожки с полосами продуктов ПЦР длины около 300 п.н. (фрагмент стоп-кассеты) и около 400 п.н. (фрагмент терминатора) соответствуют трансгенным мышам. Дорожки с отсутствием полос — мышам дикого типа. Первая и последняя дорожки содержат маркер длины

сечения, а новорожденных мышат подсаживали кормилицам.

Генотипирование, измерение копийности

Генотипирование животных производили по протоколу, использованному нами ранее [14]. У трансгенных животных методом мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР) одновременно детектировали наличие STOP-кассеты (праймеры P5 и P6) и терминатора (праймеры P7 и P8), входящих в состав вектора pKB2. Копийность встраивания конструкции определяли путем сравнения с генами с известной различной копийностью (HPRT, HbA, Н3C7) по результатам ПЦР в реальном времени [14].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для получения трансгенных мышей с возможностью индуцируемой и тканеспецифичной экспрессии киназонегативного варианта CDK8 нами была создана на основе вектора pKB2 генетическая конструкция, содержащая открытую рамку считывания гена *mCdk8* с заменой с.A518C в ДНК (соответственно в белке — D173A) [17]. Помимо инсулятора и терминаторов, предназначенных для защиты от эффекта положения при встраивании, использованный вектор содержит CAG-промотор и STOP-кассету, flankированную LoxP-сайтами, разделяющую промотор и ОРС. Встроенная таким образом STOP-кассета значительно снижает уровень транскрипции трансгена и делает невозможным дальнейшую трансляцию транскрипта [14].

Линеаризованная конструкция была микроинъецирована в зиготы, из которых 487 выжило и было пересажено реципиентам. В результате родилось 14 мышат, шесть из которых оказались трансгенными. Наличие трансгена подтверждалось у всех рожденных животных ПЦР (рис. 1). Численное описание результатов работ по получению трансгенных животных представлено в табл. 2.

Из шести первичных трансгенных животных два умерли, не достигнув половозрелости, а четыре дали потомство в результате скрещивания с мышами линии C57BL/6J. В настоящий момент получено четыре независимых сублиний: 369, 372, 375, 376. При случайном встраивании в геном возможно образование и последующее включение в хромосомы мультимеров конструкции, а от количества мономеров, в свою очередь, может зависеть уровень экспрессии. Более того, поскольку встраивание может происходить независимо в отдельных бластомерах, животные F₀ могут быть мозаичными, неся различное число копий конструкции в разных клетках. Мы определили среднюю копийность встраивания для F₀ и копийность для полученных сублиний (рис. 2). Полученные значения могут быть нецелочисленными ввиду использования экспоненциальной аппроксимации при определении копийности и усреднении их между клетками, однако в действительности это связано с погрешностью измерений и, начиная с поколения F₁, копийность принимает постоянные целые значения. Для дальнейшего размножения на уровне F₁ были выбраны две сублинии с копийностью, приблизительно равной 2, что соответствует копийности большинства генов в геноме с диплоидным набором хромосом.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Нами получена линия мышей, способная к индуцируемой и тканеспецифичной экспрессии киназонегативной формы mCDK8: шесть животных F₀, четыре из которых оставили потомство, а два к настоящему моменту стали основателями сублиний. Эффективность получения трансгенов составила при этом 50% (6 из 12), и в полученных животных F₁ обнаружены дальнейшее расщепление по сравнению с F₀, связанный с мозаичностью F₀, и большой разброс копийности встраивания конструкции от 1 до 17. Это позволило нам выбрать для дальнейших исследований линии с копийностью, наиболее приближенной к естественной.

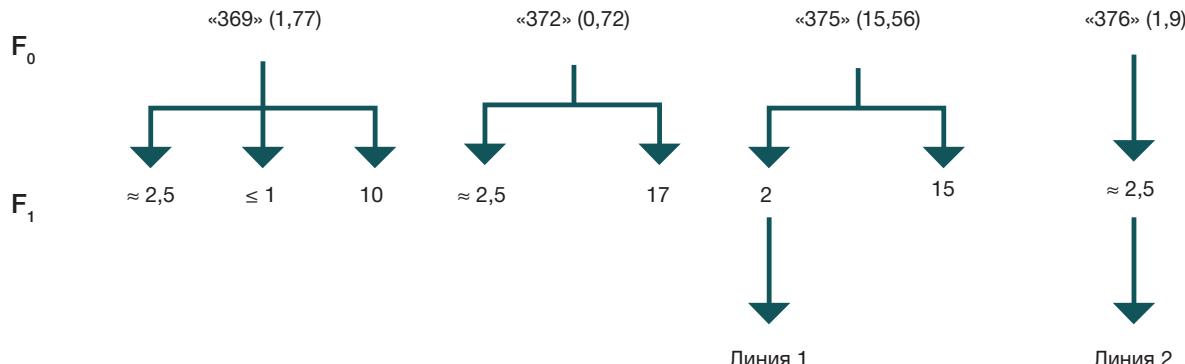


Рис. 2. Схема полученных сублиний и копийность их представителей. В кавычках даны названия сублиний. В скобках — усредненные копийности родоначальников F₀. Для F₁ указаны только копийности

Ряд исследований рассматривают последствия генетического нокаута CDK8 и/или CDK19 [18–20], однако используемые в них модели не позволяют сделать окончательный вывод о том, какую роль в наблюдаемых фенотипах играет отсутствие белков CDK8/19 и невозможность сборки киназного модуля комплекса Mediator, а какую прекращение соответствующего фосфорилирования. Более того, применение ингибиторов CDK8/19 у животных привело к эффектам, отличающимся от описанных у нокаутных животных [21]. Полученная нами линия животных — подходящий инструмент для разделения киназа-зависимых и киназа-независимых функций CDK8/19.

Литература

1. Dannappel MV, Sooraj D, Loh JJ, Firestein R. Molecular and in vivo Functions of the CDK8 and CDK19 Kinase Modules. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2019; 6. DOI: 10.3389/fcell.2018.00171.
2. Li N, Fassl A, Chick J, Inuzuka H, Li X, Mansour MR, et al. Cyclin C is a haploinsufficient tumour suppressor. *Nature cell biology*. 2014; 16 (11): 1080–91. Epub 2014/10/27. DOI: 10.1038/ncb3046. PubMed PMID: 25344755; PubMed Central PMCID: PMCPMC4235773.
3. Bancerek J, Poss ZC, Steinparzer I, Sedlyarov V, Pfaffenwimmer T, Mikulic I, et al. CDK8 kinase phosphorylates transcription factor STAT1 to selectively regulate the interferon response. *Immunity*. 2013; 38 (2): 250–62. Epub 2013/01/29. DOI: 10.1016/j.immuni.2012.10.017. PubMed PMID: 23352233; PubMed Central PMCID: PMCPMC3580287.
4. Galbraith MD, Donner AJ, Espinosa JM. CDK8: a positive regulator of transcription. *Transcription*. 2010; 1 (1): 4–12. Epub 2011/02/18. DOI: 10.4161/trns.1.1.12373. PubMed PMID: 21327159; PubMed Central PMCID: PMCPMC3035184.
5. Chen M, Liang J, Ji H, Yang Z, Altilia S, Hu B, et al. CDK8/19 Mediator kinases potentiate induction of transcription by NF κ B. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2017; 114 (38): 10208–13. DOI: 10.1073/pnas.1710467114.
6. Galbraith Matthew D, Allen Mary A, Bensard Claire L, Wang X, Schwinn Marie K, Qin B, et al. HIF1A Employs CDK8-Mediator to Stimulate RNAPII Elongation in Response to Hypoxia. *Cell*. 2013; 153 (6): 1327–39. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.04.048>.
7. Steinparzer I, Sedlyarov V, Rubin JD, Eislmayr K, Galbraith MD, Levandowski CB, et al. Transcriptional Responses to IFN- γ Require Mediator Kinase-Dependent Pause Release and Mechanistically Distinct CDK8 and CDK19 Functions. *Molecular Cell*. 2019; 76 (3): 485–99. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.07.034>.
8. Adler AS, McCleland ML, Truong T, Lau S, Modrusan Z, Soukup TM, et al. CDK8 Maintains Tumor Dedifferentiation and Embryonic Stem Cell Pluripotency. *Cancer Research*. 2012; 72 (8): 2129–39. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-3886.
9. Fukasawa K, Kadota T, Horie T, Tokumura K, Terada R, Kitaguchi Y, et al. CDK8 maintains stemness and tumorigenicity of glioma stem cells by regulating the c-MYC pathway. *Oncogene*. 2021; 40 (15): 2803–15. DOI: 10.1038/s41388-021-01745-1.
10. Firestein R, Bass AJ, Kim SY, Dunn IF, Silver SJ, Guney I, et al. CDK8 is a colorectal cancer oncogene that regulates beta-catenin activity. *Nature*. 2008; 455 (7212): 547–51. Epub 2008/09/17. DOI: 10.1038/nature07179. PubMed PMID: 18794900; PubMed Central PMCID: PMCPMC2587138.
11. Bruter AV, Rodionova MD, Varlamova EA, Shtil AA. Super-Enhancers in the Regulation of Gene Transcription: General Aspects and Antitumor Targets. *Acta naturae*. 2021; 13 (1): 4–15. Epub 2021/05/08. DOI: 10.32607/actanaturae.11067. PubMed PMID: 33959383; PubMed Central PMCID: PMCPMC8084300.
12. Audetat KA, Galbraith Matthew D, Odell Aaron T, Lee T, Pandey A, Espinosa Joaquin M, et al. A Kinase-Independent Role for Cyclin-Dependent Kinase 19 in p53 Response. *Molecular and Cellular Biology*. 2017; 37 (13): e00626–16. DOI: 10.1128/MCB.00626-16.
13. Menzl I, Zhang T, Berger-Becvar A, Grausenburger R, Heller G, Prchal-Murphy M, et al. A kinase-independent role for CDK8 in BCR-ABL1(+) leukemia. *Nature communications*. 2019; 10 (1): 4741. Epub 2019/10/20. DOI: 10.1038/s41467-019-12656-x. PubMed PMID: 31628323.
14. Bruter AV, Korshunova DS, Kubekina MV, Sergiev PV, Kalinina AA, Ilchuk LA, et al. Novel transgenic mice with Cre-dependent co-expression of GFP and human ACE2: a safe tool for study of COVID-19 pathogenesis. *Transgenic research*. 2021; 30 (3): 289–301. Epub 2021/04/16. DOI: 10.1007/s11248-021-00249-8. PubMed PMID: 33855640; PubMed Central PMCID: PMCPMC8045570.
15. Kubekina MV, Silaeva YY, Bruter AV, Korshunova DS, Ilchuk LA, Okulova YD, et al. Transgenic mice Cre-dependently expressing mutant polymerase-gamma: novel test-system for pharmacological study of mitoprotective drugs. *Research Results in Pharmacology*. 2021; 7 (3): 33–9.
16. Silaeva YY, Kirikovich YK, Skuratovskaya LN, Deikin AV. Optimal Number of Embryos for Transplantation in Obtaining Genetic-Modified Mice and Goats. *Russian Journal of Developmental Biology*. 2018; 49 (6): 356–61. DOI: 10.1134/S106236041806005X.
17. Akoulitchev S, Chuikov S, Reinberg D. TFIIH is negatively regulated by cdk8-containing mediator complexes. *Nature*. 2000; 407 (6800): 102–6. DOI: 10.1038/35024111. PMID: 10993082.
18. McCleland ML, Soukup TM, Liu SD, Esensten JH, de Sousa e Melo F, Yaylaoglu M, et al. Cdk8 deletion in the Apc(Min) murine tumour model represses EZH2 activity and accelerates tumourigenesis. *The Journal of pathology*. 2015; 237 (4): 508–19. Epub 2015/08/04. DOI: 10.1002/path.4596. PubMed PMID: 26235356.
19. Dannappel MV, Zhu D, Sun X, Chua HK, Poppelaars M, Suehiro M, et al. CDK8 and CDK19 regulate intestinal differentiation and homeostasis via the chromatin remodeling complex SWI/SNF. *The Journal of clinical investigation*. 2022; 132 (20). Epub 2022/08/26. DOI: 10.1172/jci158593. PubMed PMID: 36006697; PubMed Central PMCID: PMCPMC9566890.
20. Prieto S, Dubra G, Camasses A, Aznar AB, Begon-Pescia C, Simboeck E, et al. CDK8 and CDK19 act redundantly to control the CFTR pathway in the intestinal epithelium. *EMBO reports*. n/a (n/a): e54261. DOI: <https://doi.org/10.15252/embr.202154261>.
21. Clarke PA, Ortiz-Ruiz MJ, TePoole R, Adeniji-Popoola O, Box G, Court W, et al. Assessing the mechanism and therapeutic potential of modulators of the human Mediator complex-associated protein kinases. *eLife*. 2016; 5. Epub 2016/12/10. DOI: 10.7554/eLife.20722. PubMed PMID: 27935476; PubMed Central PMCID: PMCPMC5224920.

ВЫВОДЫ

В исследовании были получены трансгенные мыши, предоставляющие возможность тканеспецифичной и индуцируемой экспрессии киназонегативной формы циклин-зависимой киназы CDK8. Впоследствии, после скрещивания с мышами CDK19^{-/-}, CDK8^{f/f}, а также различными активаторами, будут получены животные, в которых CDK8 и CDK19 дикого типа можно будет убиквитарно или тканеспецифично заменить на киназонегативный вариант. В экспериментах с такими животными могут быть обнаружены киназа-независимые механизмы действия CDK8/19.

References

1. Dannappel MV, Sooraj D, Loh JJ, Firestein R. Molecular and in vivo Functions of the CDK8 and CDK19 Kinase Modules. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2019; 6. DOI: 10.3389/fcell.2018.00171.
2. Li N, Fassl A, Chick J, Inuzuka H, Li X, Mansour MR, et al. Cyclin C is a haploinsufficient tumour suppressor. *Nature cell biology*. 2014; 16 (11): 1080–91. Epub 2014/10/27. DOI: 10.1038/ncb3046. PubMed PMID: 25344755; PubMed Central PMCID: PMC4235773.
3. Bancerek J, Poss ZC, Steinparzer I, Sedlyarov V, Pfaffenwimmer T, Mikulic I, et al. CDK8 kinase phosphorylates transcription factor STAT1 to selectively regulate the interferon response. *Immunity*. 2013; 38 (2): 250–62. Epub 2013/01/29. DOI: 10.1016/j.immuni.2012.10.017. PubMed PMID: 23352233; PubMed Central PMCID: PMCPMC3580287.
4. Galbraith MD, Donner AJ, Espinosa JM. CDK8: a positive regulator of transcription. *Transcription*. 2010; 1 (1): 4–12. Epub 2011/02/18. DOI: 10.4161/trns.1.1.12373. PubMed PMID: 21327159; PubMed Central PMCID: PMCPMC3035184.
5. Chen M, Liang J, Ji H, Yang Z, Altilia S, Hu B, et al. CDK8/19 Mediator kinases potentiate induction of transcription by NF κ B. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2017; 114 (38): 10208–13. DOI: 10.1073/pnas.1710467114.
6. Galbraith Matthew D, Allen Mary A, Bensard Claire L, Wang X, Schwinn Marie K, Qin B, et al. HIF1A Employs CDK8-Mediator to Stimulate RNAPII Elongation in Response to Hypoxia. *Cell*. 2013; 153 (6): 1327–39. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.04.048>.
7. Steinparzer I, Sedlyarov V, Rubin JD, Eismayr K, Galbraith MD, Levandowski CB, et al. Transcriptional Responses to IFN- γ Require Mediator Kinase-Dependent Pause Release and Mechanistically Distinct CDK8 and CDK19 Functions. *Molecular Cell*. 2019; 76 (3): 485–99. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.07.034>.
8. Adler AS, McCleland ML, Truong T, Lau S, Modrusan Z, Soukup TM, et al. CDK8 Maintains Tumor Dedifferentiation and Embryonic Stem Cell Pluripotency. *Cancer Research*. 2012; 72 (8): 2129–39. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-3886.
9. Fukasawa K, Kadota T, Horie T, Tokumura K, Terada R, Kitaguchi Y, et al. CDK8 maintains stemness and tumorigenicity of glioma stem cells by regulating the c-MYC pathway. *Oncogene*. 2021; 40 (15): 2803–15. DOI: 10.1038/s41388-021-01745-1.
10. Firestein R, Bass AJ, Kim SY, Dunn IF, Silver SJ, Guney I, et al. CDK8 is a colorectal cancer oncogene that regulates beta-catenin activity. *Nature*. 2008; 455 (7212): 547–51. Epub 2008/09/17. DOI: 10.1038/nature07179. PubMed PMID: 18794900; PubMed Central PMCID: PMCPMC2587138.
11. Bruter AV, Rodionova MD, Varlamova EA, Shtil AA. Super-Enhancers in the Regulation of Gene Transcription: General Aspects and Antitumor Targets. *Acta naturae*. 2021; 13 (1): 4–15. Epub 2021/05/08. DOI: 10.32607/actanaturae.11067. PubMed PMID: 33959383; PubMed Central PMCID: PMCPMC8084300.
12. Audet KA, Galbraith Matthew D, Odell Aaron T, Lee T, Pandey A, Espinosa Joaquin M, et al. A Kinase-Independent Role for Cyclin-Dependent Kinase 19 in p53 Response. *Molecular and Cellular Biology*. 2017; 37 (13): e00626–16. DOI: 10.1128/MCB.00626-16.
13. Menzl I, Zhang T, Berger-Becvar A, Grausenburger R, Heller G, Prchal-Murphy M, et al. A kinase-independent role for CDK8 in BCR-ABL1(+) leukemia. *Nature communications*. 2019; 10 (1): 4741. Epub 2019/10/20. DOI: 10.1038/s41467-019-12656-x. PubMed PMID: 31628323.
14. Bruter AV, Korshunova DS, Kubekina MV, Sergiev PV, Kalinina AA, Ilchuk LA, et al. Novel transgenic mice with Cre-dependent co-expression of GFP and human ACE2: a safe tool for study of COVID-19 pathogenesis. *Transgenic research*. 2021; 30 (3): 289–301. Epub 2021/04/16. DOI: 10.1007/s11248-021-00249-8. PubMed PMID: 33855640; PubMed Central PMCID: PMCPMC8045570.
15. Kubekina MV, Silaeva YY, Bruter AV, Korshunova DS, Ilchuk LA, Okulova YD, et al. Transgenic mice Cre-dependently expressing mutant polymerase-gamma: novel test-system for pharmacological study of mitoprotective drugs. *Research Results in Pharmacology*. 2021; 7 (3): 33–9.
16. Silaeva YY, Kirikovich YK, Skuratovskaya LN, Deikin AV. Optimal Number of Embryos for Transplantation in Obtaining Genetic-Modified Mice and Goats. *Russian Journal of Developmental Biology*. 2018; 49 (6): 356–61. DOI: 10.1134/S106236041806005X.
17. Akoulitchev S, Chuikov S, Reinberg D. TFIIH is negatively regulated by cdk8-containing mediator complexes. *Nature*. 2000; 407 (6800): 102–6. DOI: 10.1038/35024111. PMID: 10993082.
18. McCleland ML, Soukup TM, Liu SD, Esensten JH, de Sousa e Melo F, Yaylaoglu M, et al. Cdk8 deletion in the Apc(Min) murine tumour model represses EZH2 activity and accelerates tumourigenesis. *The Journal of pathology*. 2015; 237 (4): 508–19. Epub 2015/08/04. DOI: 10.1002/path.4596. PubMed PMID: 26235356.
19. Dannappel MV, Zhu D, Sun X, Chua HK, Poppelaars M, Suehiro M, et al. CDK8 and CDK19 regulate intestinal differentiation and homeostasis via the chromatin remodeling complex SWI/SNF. *The Journal of clinical investigation*. 2022; 132 (20). Epub 2022/08/26. DOI: 10.1172/jci158593. PubMed PMID: 36006697; PubMed Central PMCID: PMCPMC9566890.
20. Prieto S, Dubra G, Camasses A, Aznar AB, Begon-Pescia C, Simboeck E, et al. CDK8 and CDK19 act redundantly to control the CFTR pathway in the intestinal epithelium. *EMBO reports*. n/a (n/a): e54261. DOI: <https://doi.org/10.15252/embr.202154261>.
21. Clarke PA, Ortiz-Ruiz MJ, TePoele R, Adeniji-Popoola O, Box G, Court W, et al. Assessing the mechanism and therapeutic potential of modulators of the human Mediator complex-associated protein kinases. *eLife*. 2016; 5. Epub 2016/12/10. DOI: 10.7554/eLife.20722. PubMed PMID: 27935476; PubMed Central PMCID: PMCPMC5224920.