

Опухолевый супрессор p53 как регулятор металлошаперона Atox1 в условиях генотоксического стресса

Научный руководитель – Кучур Олег Александрович

Рефельд А.Г.¹, Цымбал С.А.², Кучур О.А.³

1 - Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: refeld@scamt-itmo.ru*; 2 - Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: stsimbal3@gmail.com*; 3 - Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: kuchur@scamt-itmo.ru*

Супрессор опухолей p53 регулирует системы репарации и выживания опухолевых клеток при повреждениях ДНК [1]. Металлошаперон Atox1 также может способствовать этому процессу в качестве ядерного фактора, запускающего экспрессию циклина D1 [2], что приводит к выживанию опухолей после генотоксических воздействий. Тем не менее, природа их взаимной регуляции не ясна. Исследование путей корегуляции этих белков необходимо для разработки подходов к комбинированному лечению опухолей.

Нами использованы линии колоректального рака (HCT116) и легочной аденокарциномы (A549) человека и их аналоги с CRISPR/Cas9 нокаутом гена TP53. Для оценки экспрессии генов и их продуктов использованы методы qPCR, иммуноблоттинга и флуоресцентной микроскопии. Анализ клеточного цикла проводился методом проточной цитофлуориметрии. Трансфекция малыми интерферирующими РНК (siRNA) использована для исследования ответов клеток на инактивацию генов TP53 и ATOX1 в условиях генотоксического стресса.

В линиях с инактивированным TP53 уровень экспрессии и индукции Atox1 и циклина D1 в ответ на цитостатические препараты (цисплатин, доксорубин, блеомицин), а также на перекись водорода был в 2-3 раза выше в сравнении с клетками, в которых p53 функционален. Доксорубин и форболовый эфир вызвали заметную индукцию Atox1 в линиях с активным и нефункциональным TP53 на флуоресцентной микроскопии, однако транслокации белка в ядро выявлено не было. Анализ клеточного цикла показал отсутствие изменений в клетках с нокаутом TP53, ATOX1 и одновременной инактивацией этих генов в интактных условиях. Добавление блеомицина на сутки увеличило апоптотическую (SubG1) фазу клеточного цикла в 5-10 раз. Однако нокаут ATOX1 в присутствии блеомицина вдвое сократил фракцию SubG1 и пропорционально увеличил долю клеток в контрольной точке G2/M.

Нами показано, что повышенная экспрессия Atox1 в p53-негативных линиях опровергает первоначальную гипотезу и свидетельствует о том, что p53 подавляет активность Atox1. Это может быть связано с противоположными регуляторными свойствами белков: в то время как p53 отвечает за остановку клеточного цикла, Atox1 функционирует как транскрипционный фактор циклина D1, способствуя процессу клеточного деления. Планируется проведение экспериментов по оценке выживаемости клеток и экспрессии CCND1 после нокаута TP53 и ATOX1 в условиях генотоксического стресса. При подтверждении новых выводов будет установлена фундаментальная взаимосвязь между p53 и Atox1, что позволит как точнее прогнозировать исход терапии, так и подбирать наиболее эффективные стратегии лечения. Работа выполнена при поддержке Российского Научного Фонда (грант № 22-24-00588).

Источники и литература

- 1) Beaino W. et al. Roles of Atox1 and p53 in the trafficking of copper-64 to tumor cell nuclei: implications for cancer therapy // JBIC. – 2014. – Т. 19. – №3. – С. 427-438
- 2) Itoh S. et al. Novel role of antioxidant-1 (Atox1) as a copper-dependent transcription factor involved in cell proliferation // JBC. – 2008. – Т. 283. – №14. – С. 9157-9167