

## Взаимосвязь регуляции p53, Циклина D1 и Atox1 в ответе опухолевых клеток на цитотоксический стресс

Научный руководитель – Кучур Олег Александрович

Щербакова А.В.<sup>1</sup>, Погодаева С.С.<sup>2</sup>, Кучур О.А.<sup>3</sup>, Цымбал С.А.<sup>4</sup>

1 - Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Saint Petersburg, Россия, E-mail: [anna.shcherbakova0203@gmail.com](mailto:anna.shcherbakova0203@gmail.com); 2 - Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Saint Petersburg, Россия, E-mail: [pogodaeva@scamt-itmo.ru](mailto:pogodaeva@scamt-itmo.ru); 3 - , E-mail: [kuchur@scamt-itmo.ru](mailto:kuchur@scamt-itmo.ru); 4 - , E-mail: [stsimbal3@gmail.com](mailto:stsimbal3@gmail.com)

Онкосупрессор p53 - важный компонент процессов, связанных с восстановлением поврежденной ДНК, что существенно для подавления онкогенеза, поэтому мутации в этом белке часто ассоциированы с развитием опухолей [1]. Активация p53 ведет к остановке клеточного цикла в G<sub>1</sub>/S фазе за счет подавления циклина D1 – белка, ассоциированного с комплексом киназ CDK4/6. Основываясь на предыдущих исследованиях, p53 подавляет металлошAPERон Atox1, ингибируя его функции регулятора окислительно-восстановительного баланса клетки. Также известно о роли Atox1 как трансаKTиватора циклина D1 [2, 3]. Описанная петля p53-Atox1-циклин D1 - многообещающий объект исследования механизмов выживания опухолей.

Нами были использованы клеточные линии альвеолярной карциномы (A549) дикого типа и с инаKTивированным геном *TP53*, а также гепатоцеллюлярной карциномы человека (HepG2). Исследование проводилось в генотерапевтическом (siРНК-трансфекция) и химиотерапевтическом (препараты блеомицин и палбоциклиб) направлениях. Анализ изменения экспрессии генов производился с помощью количественной ПЦР, индукция белка оценивалась методом иммуноблоттинга, распределение фаз клеточного цикла и определение механизма клеточной смерти проводились с помощью проточной цитофлуориметрии.

Была обнаружена взаиморегуляция между Atox1 и циклином D1, которая контролируется активностью p53. В отсутствие p53 уровни Atox1 и циклина D1 значительно возрастали на транскрипционном уровне и на уровне белка. Кроме того, подавление одного гена из пары (*ATOX1* либо *CCND1*) в случае нокаутов по *TP53* приводило к снижению другого. Схожий паттерн наблюдался и при использовании палбоциклиба – разобщителя комплекса циклин D1-CDK4/6. Его использование приводило к значительному снижению уровня Atox1, что подтверждает его связь с циклином D1. Изменения наблюдались и в жизнеспособности клеток: совместное отключение *ATOX1* и *CCND1* приводило к увеличению фракции subG1 (клеточная гибель) при отключенном *TP53*, добавление блеомицина усиливало эффект. Двойное окрашивание оксазоловым желтым и йодидом пропидия позволило установить преимущественно апоптотический характер гибели.

Полученные результаты позволяют по-новому взглянуть на роль белков p53, циклин D1 и Atox1 в контексте выживания опухолей. Обнаружено, что отсутствие *TP53* ведет к активности Atox1 и циклина D1. супрессия этих белков значительно сокращает популяцию живых клеток путем запуска запрограммированной клеточной гибели. Это открывает новые горизонты для лечения опухолей с потерей функций *TP53*.

### 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) Tsymbal S. et al. The p53 Protein is a Suppressor of Atox1 Copper Chaperon in Tumor Cells Under Genotoxic Effects // PLOS One. – 2023. – Т. 18. – №12. – С. e0295944
- 3) 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