

ПЕТЛЯ АТОХ1-ЦИКЛИН D1 КАК ПЕРСПЕКТИВНАЯ МИШЕНЬ ДЛЯ ТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ С ИНАКТИВИРОВАННЫМ TP53

Погодаева С.С. (Университет ИТМО), Щербакова А.В. (Университет ИТМО),

Цымбал С.А. (Университет ИТМО), Кучур О.А. (Университет ИТМО)

Научный руководитель – кандидат биологических наук, Кучур О.А. (Университет ИТМО)

Введение. Одним из наиболее часто мутированных генов в опухолях является ген *TP53*. Его продукт, белок p53 – онкосупрессор, основные функции которого заключаются в регуляции репарации и апоптоза, контроле клеточного цикла. Контрольная точка G₁/S критически важна для детекции повреждений ДНК и остановки клеточной пролиферации. Для этого p53 подавляет активность комплекса, образованного циклином D1 и циклин-зависимыми киназами 4/6 (CDK4/6), после чего происходит остановка в сверочной точке [1]. Помимо этого, согласно данным литературы, транскрипционным фактором циклина D1 служит металлошаперон Atox1. Основная функция этого белка заключается во внутриклеточном контроле уровней меди, элиминации АФК [2]. Ранее нами была установлена связь между активностью Atox1 и статусом *TP53* в клетке: последний подавляет экспрессию Atox1 [3]. При анализе выживаемости клеток с нормальным и инактивированным *TP53* и Atox1 была замечена интересная корреляция: клетки с подавленным *TP53* накапливались в G₁/S, их деление замедлялось, в то время как совместное подавление *TP53* и *АТОХ1* вызывало клеточную гибель. Учитывая схожие механизмы регуляции Atox1 и циклина D1 со стороны p53, было выдвинуто предположение о наличии связи между этими белками и её влияния на выживаемость клеток в условиях генотоксического стресса.

Основная часть. Цель работы - установить роль взаимосвязи между Atox1 и циклином D1 в клеточных линиях аденокарциномы легкого (A549) и гепатоцеллюлярной карциномой (HepG2) при фармакологическом и генетическом воздействии на транскрипционном и трансляционном уровнях.

Было замечено, что в обеих клеточных линиях воздействие препаратом палбоциклиб (ингибитор CDK4/6) проводило к снижению экспрессии Atox1, и, помимо этого, усиливало действие блеомицина (препарат-цитостатик) при их совместном использовании, не влияя на экспрессию циклина D1 (*CCND1*) на транскрипционном и трансляционном уровнях. Анализ клеточного цикла показал усиленную гибель клеток при соинкубации с двумя препаратами. Интересно, что эффекты становились более яркими при нефункциональном *TP53* в независимости от способа инактивации (A549 – CRISPR/Cas9 нокаут; HepG2 – siRNA-нокдаун). Далее, для исключения нецелевых эффектов, было осуществлено геноспецифическое воздействие (трансфекция siRNA), где также было подтверждено наличие положительной взаимосвязи между Atox1 и циклином D1 (при подавлении одного гена наблюдалось подавление другого). Активность этой связи становилась более выраженной при инактивации *TP53*. Весомый практически-значимый результат был получен при анализе распределения фаз клеточного цикла, где одиночное и двойное подавление вышеуказанных генов незначительно влияло на клеточную гибель, в то время как генетическое подавление *АТОХ1* и *CCND1* в обработанных блеомицином клетках дикого типа приводило к более чем 50% клеточной гибели, а в клетках с неактивным *TP53* наблюдался выраженный летальный исход практически для всей популяции клеток. Результаты сопоставимы для A549 и HepG2.

Вывод. Исследование позволило определить альтернативный механизм, обеспечивающий выживание опухолевых клеток при генотоксическом стрессе. Установленное антагонистическое влияние p53 на экспрессию генов *ATOX1* и *CCND1*, а также значительное усиление цитотоксичности при сочетании ингибирования указанных генов, позволяет предположить высокую эффективность мишень-направленного подавления Atox1 и комплексов CDK4/6-циклин D1 в опухолях с потерей функции TP53.

Список использованных источников:

1. Opitz O. G. et al. Cyclin D1 overexpression and p53 inactivation immortalize primary oral keratinocytes by a telomerase-independent mechanism //The Journal of clinical investigation. – 2001. – Т. 108. – №. 5. – С. 725-732.
2. Öhrvik H., Wittung-Stafshede P. Identification of new potential interaction partners for human cytoplasmic copper chaperone Atox1: roles in gene regulation? //International journal of molecular sciences. – 2015. – Т. 16. – №. 8. – С. 16728-16739.
3. Tsybal 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.