

мРНК-МИШЕНИ БЕЛКА SYNCRIP КАК МЕДИАТОРЫ МЕЖКЛЕТОЧНОЙ КОММУНИКАЦИИ ПРИ РАКЕ ЯИЧНИКОВ

Солдунова А. О.¹, Иванова О. М.¹

Научный руководитель – канд. хим. наук, зав. лаб. Шендер В. О.^{1,2}

¹ ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю. М. Лопухина ФМБА России

² ФГБУН ГНЦ РФ ИБХ им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН

soldunovaanna@gmail.com

Работа поддержана грантом РФФИ № 25–75–10152 «Вклад индуцированных химиотерапией опухолевых секретомов в формирование химиорезистентности опухолей яичника».

Введение

В структуре смертности от гинекологических злокачественных новообразований эпителиальный рак яичников остается на первом месте. Ключевой нерешенной проблемой, препятствующей эффективному лечению и снижающей выживаемость пациентов, остается формирование устойчивости опухолевых клеток к терапии [1]. В последние годы накапливаются данные о том, что межклеточная коммуникация наряду с прямыми генетическими и эпигенетическими изменениями, вызванными терапией, вносит значительный вклад в формирование химиорезистентности. Так, нами было показано, что опухолевые клетки, погибающие под действием цисплатина (основного химиопрепарата при раке яичников) секретируют во внеклеточное пространство различные РНК-связывающие белки (включая компоненты сплайсосомы) и связанные с ними молекулы РНК в составе внеклеточных везикул [2, 3]. Эти внеклеточные везикулы усиливают пролиферацию, миграцию и устойчивость к терапии окружающих опухолевых клеток, хотя конкретные молекулярные медиаторы этого процесса остаются не до конца изученными.

Одним из основных РНК-связывающих белков в индуцированных терапией секретоматах является SYNCRIP. Основываясь на опубликованных данных, можно предполагать, что этот белок обладает широким спектром функций, включая сортировку мРНК во внеклеточные везикулы и их транспорт в реципиентные клетки, что потенциально обеспечивает приобретение ими химиорезистентности [4, 5]. Целью данной работы стало изучение РНК-интерактома белка SYNCRIP в опухолевых клетках и в составе внеклеточных везикул с акцентом на мРНК-мишени, переносимые в реципиентные клетки, где они транслируются и модулируют устойчивость к терапии.

Результаты могут послужить основой для разработки новых подходов к противоопухолевой терапии, направленных на повышение эффективности стандартных схем лечения. В частности, идентификация ключевых мРНК и белков из погибающих опухолевых клеток, ответственных за химиорезистентность, позволит использовать их ингибиторы в качестве дополнения к стандартным методам терапии.

Основная часть

Для идентификации мРНК-транскриптов в индуцированных терапией секретоматах нами было проведено секвенирование РНК из внеклеточных везикул, полученных от клеток аденокарциномы яичников SKOV3 после индукции в них апоптоза цисплатином. Биоинформатический анализ позволил выявить не менее 150 мРНК, представленность которых в таких апоптотических везикулах была значительно выше, чем в контрольных. Для изучения РНК-интерактома белка SYNCRIP было проведено секвенирование РНК, ковалентно-сшитой с белком SYNCRIP, выделенным из клеток SKOV3 по методу iCLIP2. В результате была получена информация о примерно 1000 мРНК-мишенях

SYNCRIP и конкретных нуклеотидных последовательностях, с которыми взаимодействует данный белок.

При пересечении списков мишеней SYNCRIP и мРНК апоптотических везикул был получен набор транскриптов-кандидатов на роль медиаторов межклеточной коммуникации. Среди них обнаружена мРНК *CDK6*, кодирующая циклин-зависимую киназу 6, ключевой регулятор клеточного цикла и пролиферации. Для подтверждения возможности переноса и трансляции этой мРНК в реципиентных клетках была создана донорная клеточная линия SKOV3, экспрессирующая гибридный конструкт *Luc-CDK6*, кодирующий люциферазу светлячка, слитую с мРНК *CDK6*. Полученные от таких донорных клеток апоптотические везикулы далее инкубировали с реципиентными клетками SKOV3 и фиксировали в них люминесцентный сигнал – результат трансляции экзогенной мРНК *Luc-CDK6*. Таким образом, подтвержден перенос функциональной мРНК *Luc-CDK6* в реципиенты и её трансляция. На основе линии SKOV3 создана *in vitro* модель для изучения SYNCRIP-опосредованной межклеточной коммуникации и тестирования ингибиторов этого процесса.

Выводы

В работе показано, что мРНК, связанные с белком SYNCRIP, включаются в состав внеклеточных везикул. На примере мРНК *CDK6* экспериментально подтвержден перенос транскрипта из донорных клеток в реципиентные в составе внеклеточных везикул и его трансляция в реципиентных клетках. Полученные данные подтверждают роль SYNCRIP в сортировке мРНК во внеклеточные везикулы и ее передаче в реципиентные клетки, что способствует формированию у них более агрессивного фенотипа. Идентификация молекулярных медиаторов процессов межклеточной коммуникации и формирования химиорезистентности открывает перспективы разработки ингибиторов (например, на основе антисмысловых олигонуклеотидов) для блокирования этих процессов.

Литература

1. Ortiz M., Wabel E., Mitchell K., Horibata S. Mechanisms of chemotherapy resistance in ovarian cancer // *Cancer Drug Resistance*. 2022. Vol. 5, no. 2. P. 304–316. <https://doi.org/10.20517/cdr.2021.147>.
2. Shender V. O., Anufrieva K. S., Shnaider P. V., Arapidi G. P., Pavlyukov M. S., Ivanova O. M., Malyants I. K., Stepanov G. A., et al. Therapy-induced secretion of spliceosomal components mediates pro-survival crosstalk between ovarian cancer cells // *Nature Communications*. 2024. Vol. 15, no. 1. P. 5237. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-49512-6>.
3. Pavlyukov M. S., Yu H., Bastola S., Minata M., Shender V. O., Lee Y., Zhang S., Wang J., Komarova S., Wang Y., et al. Apoptotic cell-derived extracellular vesicles promote malignancy of glioblastoma via intercellular transfer of splicing factors // *Cancer Cell*. 2018. Vol. 34, no. 1. P. 119–135. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2018.05.012>.
4. Santangelo L., Giurato G., Cicchini C., Montaldo C., Mancone C., Tarallo R., Battistelli C., Alonzi T., Weisz A., Tripodi M. The RNA-binding protein SYNCRIP is a component of the hepatocyte exosomal machinery controlling microRNA sorting // *Cell Reports*. 2016. Vol. 17, no. 3. P. 799–808. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.09.031>.
5. Kim D.-Y., Kim W., Lee K.-H., Kim S.-H., Lee H.-R., Kim H.-J., Jung Y., Choi J.-H., Kim K.-T. hnRNP Q regulates translation of p53 in normal and stress conditions // *Cell Death and Differentiation*. 2013. Vol. 20, no. 2. P. 226–234. <https://doi.org/10.1038/cdd.2012.109>.