ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНОВ, УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ КОТОРЫХ ИЗМЕНЯЕТСЯ В ПРОЦЕССЕ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ КЛЕТОК ЛИНИИ HL-60 ПОД ДЕЙСТВИЕМ ПЕПТИДА HLDF-6.

Гарковенко А.В., Смирнова Е.В., Гибанова Н.В., Костанян И.А., Липкин В.М.
Институт биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН

В настоящее время в связи с резким ростом числа онкологических заболеваний и ограниченностью эффективных терапевтических средств лечения особую значимость приобретают исследования, направленные на поиск новых эндогенных белков, останавливающих рост и метастазирование раковых опухолей и вызывающих их дифференцировку.

Одним из таких белков является фактор дифференцировки с молекулярной массой 8.2 кДа, выделенный ранее в нашей лаборатории из среды культивирования клеток линии HL-60 промиелоцитарного лейкоза человека и названный HLDF (Human Leukemia Differentiation Factor). Было показано, что HLDF вызывает дифференцировку исходной клеточной линии по гранулоцитарному пути, а также обладает ДНК/РНК-гидролизующей активностью. В процессе изучения HLDF был идентифицирован шестичленный фрагмент TGENHR (HLDF-6), сохраняющий способность полноразмерного фактора вызывать дифференцировку и останавливать пролиферацию исходных клеток [1].

В рамках комплексного исследования пептида HLDF-6, проводимого в нашей лаборатории, и для попытки выяснения механизма его действия был использован метод дифференциального дисплея.

В результате проведенного анализа были идентифицированы 3 гена у которых наблюдалось повышение уровня экспрессии :
-RACK1. Для данного белка есть литературные данные о его способности ингибировать активность Src-киназы, а так же взаимодействовать с Raf-1 киназой (ключевым ферментом MAPK-сигнального пути). [2, 3].
-SENP3 (sentrin/SUMO-specific protease 3), для которой была показана важнейшая роль в биогенезе рибосом и созревании 28S рРНК [4]. В свою очередь, белок SUMO модулирует многие пути передачи сигнала (Wnt, цитокины, ростовые факторы, стероидные гормоны) [5].
-RPL41, который взаимодействует с казеинкиназой 2 (фермент из WNT-сигнального пути [6]) и модулирует ее активность [7].
Единственным геном уровень экспрессии которого снижалась оказался ген пируваткиназы (PKM2), что косвенно свидетельствует о снижении степени злокачественности клетки, так как известно что раковые клетки более устойчивы к условиям с пониженным содержанием кислорода [8].

Полученные данные позволяют нам выдвинуть гипотезу о том, что дифференцировка клеток HL-60 под действием пептида HLDF-6 происходит с участием классического MAPK и Wnt сигнальных путей.

[1] 1.Костанян И.А., Астапова М.В., Наволоцкая Е.В., Лепихова Т.Н., Драницина С.М., Телегин Г.Б., Родионов И.Л., Байдакова Л.К., Золотарев Ю.А., Молотковская И.М., Липкин В.М. Биологически активный фрагмент фактора дифференцировки клеток линии HL-60. Идентификация и свойства. Биоорганическая химия, 2000, Т 26, С.505-511.
[2] Chang, B.Y., Harte, R.A., & Cartwright, C.A., 2002. RACK1: a novel substrate for the Src protein-tyrosine kinase. Oncogene, 21(50), p.7619-29.
[3] Pumiglia, K.M. и др., 1995. A direct interaction between G-protein beta gamma subunits and the Raf-1 protein kinase. The Journal of biological chemistry, 270(24), p.14251-4.
[4] Haindl, M. и др., 2008. The nucleolar SUMO-specific protease SENP3 reverses SUMO modification of nucleophosmin and is required for rRNA processing. EMBO reports, 9(3), p.273-9.
[5] Muller, S., Ledl, A., Schmidt, D., 2004. Oncogene. Mar 15;23(11):1998-2008. SUMO: a regulator of gene expression and genome integrity.
[6] Zhang, Y. и др., 2002. Casein kinase I and casein kinase II differentially regulate axin function in Wnt and JNK pathways. The Journal of biological chemistry, 277(20), p.17706-12.
[7] Lee, J.H. и др., 1997. The highly basic ribosomal protein L41 interacts with the beta subunit of protein kinase CKII and stimulates phosphorylation of DNA topoisomerase IIalpha by CKII. Biochemical and biophysical research communications, 238(2), p.462-7.
[8] Mazurek, S. и др., 2002. Pyruvate kinase type M2: a crossroad in the tumor metabolome. The British journal of nutrition, 87 Suppl 1, p.S23-9.