

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., Костянян 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] I.Костянян 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.