

Биологические свойства сплайс изоформ E3-убиквитин лигазы MDM2 при раке лёгкого и молочной железы человека in vitro

Научный руководитель – Шувалов Олег Юрьевич

Тананыкина Елизавета Константиновна

Студент (магистр)

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: liza.tananykina@gmail.com

E3-убиквитинлигаза MDM2 является основным негативным регулятором белка супрессора опухолей p53. MDM2 и p53 регулируют друг друга через петлю обратной связи: после активации p53 транскрибирует ген *mdm2*, а MDM2, в свою очередь, убиквитинилирует p53, что приводит к его деградации в 26S протеасоме. Таким образом, MDM2 действует как эффективный ингибитор активности p53, защищая нормальные клетки от p53-независимой гибели. MDM2 также обладает p53-независимыми функциями, поскольку субстратами E3-убиквитин лигазы также являются ряд белков-супрессоров опухолей (Rb, E-кадгерин и др.) и некоторые известные онкогены (hTert, Snail, Slug) [1].

Оверэкспрессия MDM2 часто детектируется при многих злокачественных новообразованиях, таких как карциномы лёгкого, груди, печени, и влияет на их устойчивость к противоопухолевой терапии [3]. В раковых клетках транскрипт гена *mdm2* часто подвергается альтернативному сплайсингу, образуя более 70 вариантов мРНК. Помимо основной изоформы MDM2, наиболее часто встречаемые в опухолях - MDM2-A, MDM2-B и MDM2-C. Эти изоформы характеризуются делецией большей части домена, взаимодействующего с p53, и центрального «кислотного» домена, который отвечает за гомодимеризацию MDM2 и большинство белок-белковых взаимодействий. При этом, у них сохраняется C-концевой участок и RING-домен, необходимые для связывания с полноразмерной формой белка. Таким образом, вышеперечисленные сплайс-изоформы не способны взаимодействовать с p53. При этом они способны взаимодействовать с полноразмерной изоформой MDM2, подавляя её активность [2]. Несмотря на то, что MDM2-A, MDM2-B и MDM2-C наиболее часто встречаемые изоформы, детектируемые в опухолях различного генезиса, их функции остаются до конца неизученными.

Для выяснения свойств и молекулярных функций сплайс-изоформ MDM2 нами были созданы клеточные линии карциномы молочной железы (SKBR-3) и немелкоклеточной аденокарциномы лёгкого (H1299) с оверэкспрессией полноразмерной формы MDM2, сплайс-изоформ (-A, -B и -C), а также «мутантного» варианта белка MDM2 с мутацией S464A, который не обладает убиквитин-лигазной каталитической активностью.

Мы использовали полученные клеточные линии для оценки влияния сплайс-изоформ MDM2 на пролиферативный потенциал раковых клеток (при помощи технологии xCelligence) и клеточный цикл. Мы также оценили влияние основных сплайс-изоформ на узнавание двухцепочечных ДНК-разрывов и устойчивость к широко используемым химиотерапевтическим препаратам - этопозиду и цисплатину. Полученные данные позволяют судить о различных молекулярно-биологических свойствах основной и сплайс-изоформ в исследованных клеточных моделях.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-75-10076.

Источники и литература

- 1) Lahav G. et al. Dynamics of the p53-Mdm2 feedback loop in individual cells // Nature Genetics. 2004. № 2 (36). С. 147–150.
- 2) Rosso M., Okoro D. E., Bargonetti J. Splice variants of MDM2 in oncogenesis // Sub-Cellular Biochemistry. 2014. (85). С. 247–261.
- 3) Senturk E., Manfredi J. J. Mdm2 and Tumorigenesis: Evolving Theories and Unsolved Mysteries // Genes and Cancer. 2012. № 3–4 (3). С. 192–198.