

УДК 577.214:616-006

В.С.Романов (5 курс, каф. БФ), Т.В.Поспелова, к.б.н., в.н.с. (ИНЦ РАН)

## ИЗУЧЕНИЕ СОБЫТИЙ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА В ОПУХОЛЕВЫХ ЛИНИЯХ ГРЫЗУНОВ, ПОЛУЧЕННЫХ С ПОМОЩЬЮ ДЕЛЕЦИОННЫХ ВАРИАНТОВ *E1Aad5* ОНКОГЕНА

К числу главных отличий опухолевых клеток от нормальных относится способность к автономной пролиферации. Одним из механизмов, лежащих в основе трансформации клеток является потеря способности останавливать клеточную пролиферацию в контрольных точках клеточного цикла после повреждении ДНК и в отсутствие митогенов. Введение в нормальные клетки грызунов раннего района аденовируса пятого типа человека, включающего в себя два онкогена: *E1A* и *E1B-19кДа*, способно приводить к трансформации этих клеток.

Целью работы являлся анализ событий клеточного цикла в трансформантах, полученных с помощью полного *E1A* района и делеционных мутантов онкобелка *E1A*. Для этого из эмбриональных фибробластов крысы (REF) были получены клеточные линии, экспрессирующие полноразмерные белки *E1A* района (линия *E1A+E1B-19кДа*) и белки *E1A* с делециями в N-концевом районе: клеточная линия 1101 имеет делецию по положениям 4-25 а.о., линия 1102 – по положениям 26-35 а.о. Методом проточной цитометрии обнаружено, что эти районы онкобелка *E1A* влияют на способность *E1A*-экспрессирующих трансформантов осуществлять блоки клеточного цикла после повреждения ДНК облучением и в условиях сывороточного голодания. Трансформанты *E1A+E1B-19кДа* способны осуществлять кратковременный блок G1/S, тогда как трансформанты 1102 образуют гораздо более “прочный” блок, сравнимый с таковым у нормальных клеток, а клетки линии 1101 вообще не останавливаются в контрольных точках клеточного цикла после облучения и сывороточного голодания.

Методом иммуноблотинга было обнаружено накопление на белковом уровне ингибитора циклин-киназных комплексов G1-фазы белка p21/Waf1 после повреждения ДНК облучением, как в нормальных клетках REF, так и в трансформантах *E1A+E1B-19кДа*. Также было показано, что трансформанты *E1A+E1B-19кДа* и 1101 экспрессируют сравнимые количества онкопродуктов *E1A*, позволяющие использовать эти клеточные линии для анализа роли разных районов *E1A* в трансформации. Анализ содержания белков клеточного цикла, ответственных за реализацию блока G1/S - циклинов E и A (CyclE, CyclA) и циклин зависимой киназы 2 (Cdk2), не выявил принципиальных отличий в их поведении у трансформантов *E1A+E1B-19кДа*, способных останавливаться в цикле, и делеционных мутантов 1101, с полным отсутствием блоков клеточного цикла после действия повреждающих агентов. Предположительно, за отсутствие блоков клеточного цикла у трансформантов линии 1101 после действия повреждающих агентов ответственны коактиваторы транскрипции p300/CBP (CREB-binding protein), которые, благодаря делеции на N-конце онкобелка *E1A*, возможно, не связываются с ним и остаются активными, запуская транскрипцию генов, ответственных за пролиферацию.

### ЛИТЕРАТУРА:

1. Булавин Д.В., Тарарова Н.Д., Бричкина А.И., Аксенов Н.Д., Поспелов В.А., Поспелова Т.В. Перенос онкогенов *E1A* и *E1A-19кДа* в эмбриональные фибробласты крысы не отменяет способности клеток останавливаться в клеточном цикле после  $\gamma$ -облучения. Молекулярная биология. 2002; 36(1): с.58-65.
2. Dotto G.P. p21(WAF1/Cip1): more than a break to the cell cycle? Biochim Biophys Acta. 2000 Jul 31;1471(1):M43-56. Review.
3. Frich S.M., Mymryk J.S. Adenovirus-5 *E1A*: paradox and paradigm. Nat Rev Mol Cell Biol. 2002 Jun;3(6):441-52. Review.