

УДК 577

Е.А.Затуловский (5 курс, каф. БФ), М.В.Абрамова, к.б.н., н.с.,  
В.А.Поспелов, д.б.н., проф. (ИНЦ РАН)

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ УЧАСТИЯ БЕЛКОВ СИГНАЛЬНОГО ПУТИ WNT/ $\beta$ -КАТЕНИН/TCF В ИНДУЦИРУЕМОЙ ИНГИБИТОРОМ ДЕАЦЕТИЛАЗ ГИСТОНОВ БУТИРАТОМ НАТРИЯ ОСТАНОВКЕ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА ЗЛОКАЧЕСТВЕННО ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ КЛЕТОК

Хорошей моделью для изучения поведения злокачественных опухолей в различных условиях являются линии эмбриональных фибробластов грызунов, трансформированных определёнными онкогенами. Так, эмбриональные фибробласты мыши, трансформированные парой комплементирующих онкогенов E1A и cHa-ras (линия MERas), имеют фенотип, сходный с раковыми клетками, и, в отличие от нормальных фибробластов, не способны реализовывать блоки G1/S и G2/M клеточного цикла в условиях сывороточного голодания, при воздействии факторов стресса или ДНК-повреждающих агентов. Однако обработка ингибитором деацетилаз гистонов бутиратом натрия (NaBut) способна вызывать у них G1/S блок клеточного цикла [1]. Ранее было показано, что такая остановка пролиферации клеток может происходить за счёт изменения активности транскрипционного фактора E2F, который регулирует экспрессию большого числа генов, определяющих продвижение клеток по клеточному циклу [2].

В результате обработки клеток MERas бутиратом натрия активность промоторов, способных связываться с транскрипционным фактором E2F, в них падает. Методом люциферазного анализа экспериментально было показано, что аналогичное снижение активности E2F-регулируемых промоторов происходит в клетках MERas и в отсутствие NaBut при трансфецировании в них плазмиды, кодирующей конститутивно экспрессируемый белок  $\beta$ -катенин. Таким образом, можно предположить, что вызываемые бутиратом натрия изменения в поведении исследуемых трансформантов опосредуются действием Wnt/ $\beta$ -катенин/TCF сигнального пути.

При рассмотрении нуклеотидной последовательности промоторной области гена, кодирующего транскрипционный фактор E2F, в ней был выявлен участок, сходный с каноническим сайтом связывания белка TCF, являющегося транскрипционным фактором и участником сигнального пути Wnt/ $\beta$ -катенин/TCF. Было выдвинуто предположение, что изменение активности транскрипционного фактора E2F, ведущее к остановке клеточного цикла, может быть обусловлено изменением его экспрессии при взаимодействии промоторной области кодирующего его гена с транскрипционным фактором TCF. Для проверки этого предположения был проведён эксперимент по задержке ДНК-белковых комплексов в геле. В ходе эксперимента исследовалась конкуренция между немеченым предполагаемым олигонуклеотидом из промоторной области гена E2F и радиоактивно меченым каноническим TCF-связывающим сайтом за связывание с ядерными белками клеток MERas. В результате было доказано, что транскрипционный фактор TCF действительно способен взаимодействовать с промоторной областью гена E2F, и, следовательно, изменять его экспрессию.

Далее были проведены эксперименты по изучению действия NaBut на активность транскрипционного фактора TCF. Метод задержки ДНК-белковых комплексов в геле позволил показать, что ДНК-связывающая способность белка TCF под действием бутирата натрия увеличивается. Кроме того, с помощью люциферазного анализа [3] было установлено, что активность экспрессии генов, содержащих в своём промоторе область для связывания с транскрипционным фактором TCF, увеличивается в результате обработки

клеток бутиратом натрия. Значит, активность транскрипционного фактора E2F действительно способна модулироваться на уровне его экспрессии за счёт изменения свойств транскрипционного фактора TCF.

Таким образом, в ходе данной работы экспериментально была подтверждена возможность регуляции активности транскрипционного фактора E2F с помощью белков Wnt/ $\beta$ -катенин/TCF сигнального пути. Значит, бутират-индуцируемый блок клеточного цикла злокачественно трансформированных клеток может быть обусловлен действием этого сигнального пути.

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. Абрамова М.В., Светликова С.Б., Аксенов Н.Д., Поспелова Т.В., Поспелов В.А. Цитология. – 2003. - №11. С.1100-1108.
2. Копнин Б.П. Механизмы действия онкогенов и опухолевых супрессоров. Обзор.//РосОнкоВеб. – 2000.
3. Bordonaro M., Lazarova D.L., Augenlicht L.H. et al. Int. J. Cancer. – 2001. – V.97. – P.42 – 51