

## IRE1-ЗАЛЕЖНІ МЕХАНІЗМИ РЕГУЛЯЦІЇ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ TP53 ТА АСОЦІЙОВАНИХ ІЗ НИМ ПРОТЕЇНІВ

КРИВДЮК І.В., МІНЧЕНКО Д.О., ДАНИЛОВСЬКИЙ С.В., МІНЧЕНКО О.Г.  
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О. В. ПАЛЛАДИНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;  
e-mail: sergius03@gmail.com

Пухлинні клітини знаходяться в умовах гіпоксії та дефіциту поживних речовин, які призводять до накопичення не згорнутих протеїнів, що викликає стрес ендоплазматичного ретикулума, але для пухлин він є необхідною умовою виживання та росту. Найбільш важливою сенсорно-сигнальною системою стресу ендоплазматичного ретикулума є IRE1/ERN1 (inositol requiring enzyme 1/endoplasmic reticulum to nucleus signaling 1). Його ендорибонуклеазна активність відповідає за утворення альтернативного сплайс варіанту транскрипційного фактора ХВР1 та вибірккову деградацію мРНК, причому за умов виключення ензиму IRE1 відбувається значне зниження проліферації пухлинних клітин та росту пухлин із них. Актуальним залишається питання про роль TP53 та його активаторів в опосередкованому IRE1 пригніченні процесів проліферації клітин гліоми і механізми змін рівня їх експресії.

Метою роботи було дослідити рівень експресії генів пухлинного супресора TP53 та асоційованих із ним протеїнів (інгібіторів TP53 – NME6 (NME/NM23 Nucleoside Diphosphate Kinase 1), TOPORS (TOP1 Binding Arginine/Serine Rich Protein) і MDM2 (MDM2 Proto-Oncogene), активаторів TP53 – TP53BP1 (Tumor Protein P53 Binding Protein 1) та USP7 (Ubiquitin Specific Peptidase 7), а також його ефекторів – ZMAT3 (Zinc Finger Matrin-Type 3) і PERP (P53 Apoptosis Effector Related To PMP22), а також механізми регуляції їх експресії в клітинах гліоми лінії U87 із пригніченою функцією IRE1 за умов гіпоксії.

Дослідження проводили на сублініях клітин гліоми лінії U87, трансфікованих пустим вектором рсDNA3.1, та з домінант-негативною конструкцією IRE1 без кіназного та ендорибонуклеазного доменів на основі вектора рсDNA3.1 (dnIRE1). Рівень експресії мРНК TP53 та асоційованих із ним про-

теїнів оцінювали за даними кількісної полімеразної реакції у реальному часі і нормалізували по експресії β-актину. Рівень протеїнів визначали вестерн-блот аналізом. Умови гіпоксії: 3 % кисню, 5 % вуглекислого газу та 92 % азоту протягом 16 годин при 37 °C.

Встановлено, що пригнічення сенсорно-сигнального ензиму IRE1 збільшує рівень експресії генів TP53 та USP7, а генів MDM2, TP53BP1, PERP, TOPORS, ZMAT3 і NME6 – зменшує. Це вказує на геноспецифічний характер залежності експресії асоційованих з TP53 генів від стресу ендоплазматичного ретикулума і IRE1 сигнального шляху, зокрема. За допомогою біоінформаційного аналізу були виявлені сайти зв'язування з мікроРНК в деяких із досліджених мРНК: NME6 з miR-7, PERP з miR-190b, а TP53BP1 з miR-145, що вказує на можливу участь мікроРНК в регуляції експресії цих генів на пост-транскрипційному рівні, оскільки зниження рівня експресії генів TP53BP1, PERP і NME6 корелює зі збільшеним рівнем відповідних мікроРНК.

Показано, що гіпоксія по-різному впливає на рівень експресії TP53 та залежних від нього генів у контрольних клітинах гліоми і за умов пригнічення IRE1. Так, рівень експресії генів TP53, USP7 та ZMAT3 зменшується за умов гіпоксії тільки в контрольних клітинах гліоми, а виключення функції ензиму IRE1 робить ці гени резистентними до умов гіпоксії. В той же час, пригнічення сигнального ензиму IRE1 посилює ефект гіпоксії на експресію генів TOPORS та NME6.

Таким чином, стрес ендоплазматичного ретикулума, опосередкований сигнальним шляхом IRE1, контролює експресію TP53 та залежних від нього генів різними шляхами і модифікує ефекти гіпоксії на ці гени, що розкриває молекулярні механізми пропухлинного ефекту інгібування сигнального ензиму IRE1.

## DEVELOPMENT OF KNOCKOUT HEPARIN-BINDING EGF-LIKE GROWTH FACTOR CELL LINE BY CRISPR/CAS-MEDIATED GENOME EDITING.

KRYNINA O.I., KOLYBO D.V., KOMISARENKO S.V.  
PALLADIN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;  
e-mail: OlyaKrynina@gmail.com

Breast cancer is the most commonly occurring malignant tumor in women and the second most common cancer overall. It is proved that heparin-

binding EGF-like growth factor (HB-EGF), one of the most potent ligands of epidermal growth factor receptor (EGFR), plays a pivotal role in mammary