

Убиквитинирование каспазы-2 как механизм регуляции её функции в опухолевых клетках.

Научный руководитель – Копейна Гелина Сергеевна

Капуста А.А.¹, Первушин Н.В.²

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра молекулярной биологии, Москва, Россия, *E-mail: nastyakapusta@gmail.com;*

2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Москва, Россия, *E-mail: rhododendron.nick@mail.ru*

Апоптоз - генетически регулируемый тип программируемой гибели клеток, играющий важную роль в ходе эмбриогенеза и поддержании тканевого гомеостаза организма [1]. Запуск и протекание апоптоза во многом определяются функциональной активностью каспаз, цистеиновых протеаз, расщепляющих белки после остатка аспарагиновой кислоты. Каспаза-2 является одним из самых консервативных белков семейства каспаз, который участвует как в запуске, так и в усилении апоптоза при повреждениях ДНК и воздействии других стрессовых стимулов. Известно, что каспаза-2 активируется в составе высокомолекулярного комплекса PIDDосома [2], в то же время имеются данные о том, что каспаза-2 может активироваться по PIDDосома-независимому пути [3]. Однако молекулярный механизм альтернативной активации каспазы-2 до сих пор неясен. На основе данных протеомного анализа было выдвинуто предположение, что каспаза-2 может подвергаться убиквитинированию и взаимодействию с белком-рецептором аутофагии - р62, что регулирует ее активацию.

Гибель клеток карциномы яичника Саov-4 была индуцирована ДНК-повреждающими агентами цисплатином и доксорубицином. С помощью метода Вестерн-блота было детектировано накопление ферментативно-активных форм каспазы-2. Сочетание цисплатина или доксорубицина с протеасомным ингибитором MG-132 приводило к дополнительной аккумуляции активных форм каспазы-2 без существенного падения уровня проформы, что коррелировало с усилением активации каспазы-3 и расщеплением субстрата каспаз - белка ПАРП.

При обработке эмбриональных клеток почек НЕК293Т доксорубицином с помощью метода ко-иммунопреципитации было показано, что каспаза-2 подвергается убиквитинированию, которое усиливалось при комбинаторной обработке препаратом MG-132. Вероятно, такое убиквитинирование приводит к р62-опосредованной деградации каспазы-2, поскольку при гиперэкспрессии р62 в клетках Саov-4 и U1810 (аденокарцинома легкого) наблюдалось уменьшение количества проформы данного фермента. Однако было показано, что уменьшение уровня проформы каспазы-2 при гиперэкспрессии р62 наблюдалось и в клетках U1810 нокатуных по гену аутофагии *ATG13*, и потому неспособных к аутофагии. Более того, при гиперэкспрессии р62 наблюдалась активация каспазы-2 и увеличение клеточной гибели. Полученные данные свидетельствуют о том, что генотоксический стресс вызывает убиквитинирование каспазы-2, что стимулирует ее протеасомную деградацию и активацию по р62-зависимому пути.

Работа выполнена за счет гранта РФФ № 17-75-20-102.

Источники и литература

- 1) Jin Z., and El-Deiry WS. (2005) Overview of cell death signaling pathways. *Cancer Biol. Ther.*, 4, 139–163.

- 2) Tinel A. The PIDDosome, a protein complex implicated in activation of caspase-2 in response to genotoxic stress. / A. Tinel, J. Tschopp // *Science*. - 2004. - Vol. 304. - P. 843–846.
- 3) Vakifahmetoglu H. Functional connection between p53 and caspase-2 is essential for apoptosis induced by DNA damage. / H. Vakifahmetoglu, M. Olsson, S. Orrenius, B. Zhivotovsky // *Oncogene*. - 2006. - Vol. 25. - P. 5683–5692.