

**Роль каспазы-2 в гибели клеток карциномы яичника при генотоксическом стрессе**

**Научный руководитель – Копейна Гелина Сергеевна**

**Егоршина Александра Юрьевна**

*Студент (магистр)*

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра молекулярной биологии, Москва, Россия

*E-mail: egorshina.aleksandra.2012@post.bio.msu.ru*

Программируемая гибель клеток - совокупность генетически регулируемых процессов, существенно отличающихся на молекулярном уровне и необходимых на всех этапах жизни многоклеточного организма. Апоптоз, один из наиболее изученных типов программируемой гибели. Каспаза-2, как член семейства главных ферментов апоптоза - цистеиновых протеаз, обладает как проапоптотическими, так и онкосупрессорными функциями, а также функциями поддержания генетической стабильности, и играет одну из ключевых ролей в запуске апоптотической гибели клеток в ответ на повреждение ДНК. Было показано, что нарушение процесса митоза в условиях генотоксического стресса и последующее развитие митотической катастрофы приводит к активации каспазы-2, запуску каспазного каскада и клеточной смерти [1]. Дефицитные по каспазе-2 клетки устойчивы к митотическим ядам - винкристину, паклитакселю или колхицину [2]. Дефицит каспазы-2 в мышинных эмбриональных фибробластах усиливал их геномную нестабильность и увеличивал процент анеуплоидных клеток после облучения [3]. Однако, молекулярный механизм регуляции каспазой-2 клеточной гибели по пути митотической катастрофы до конца неясен.

Для изучения таких механизмов в клетках карциномы яичника Саov-4 была индуцирована гибель ДНК-повреждающим химиотерапевтическим препаратом доксорубицином в концентрации, вызывающей митотическую катастрофу. Цитометрический анализ с помощью метода Sub-G 1 показал снижение уровня клеточной гибели в клетках, нокаутных по каспазе-2 в сравнении с диким типом. Полученные данные были подтверждены методом Вестерн-блота, который продемонстрировал в клетках нокаутных по каспазе-2 снижение уровня активных фрагментов p19 и p17 каспазы-3 и, соответственно, уменьшение расщепления субстрата каспазы-3 - белка ПАРП (Поли (АДФ-рибоза)-полимераза). Согласно данным, полученным с помощью методов флуоресцентной конфокальной микроскопии и Вестерн-блота, в нокаутных по каспазе-2 клетках даже через 6 часов после обработки доксорубицином не наблюдалось фосфорилированной формы гистона H2AX по остатку Ser139, который является молекулярным маркером повреждений ДНК. При этом, в клетках Саov-4 с нормальным уровнем каспазы-2 накопление фосфо-H2AX наблюдалось уже через 2 часа после добавления ДНК-повреждающего агента. Таким образом, в условиях данной экспериментальной модели отсутствие каспазы-2 в клетке приводит не только к ослаблению клеточной гибели, но и влияет на механизмы детекции повреждений ДНК.

**Источники и литература**

- 1) Castedo M, Perfettini J-L, Roumier T, et al. 2004. Mitotic catastrophe constitutes a special case of apoptosis whose suppression entails aneuploidy. *Oncogene*. 23:4362–4370.
- 2) Ho, L.H., Read, S.H., Dorstyn, L., Lambrusco, L., Kumar, S., 2008. Caspase-2 is required for cell death induced by cytoskeletal disruption. *Oncogene* 27, 3393–3404.

- 3) Dorstyn, L., Puccini, J., Wilson, C.H., Shalini, S., Nicola, M., Moore, S., Kumar, S., 2012. Caspase-2 deficiency promotes aberrant DNA-damage response and genetic instability. *Cell Death Differ.* 19, 1288–1298.