

Участие каспазы-2 в регуляции ответа клеток на повреждение ДНК

Научный руководитель – Копейна Гелина Сергеевна

Егоршина Александра Юрьевна

Аспирант

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Кафедра биологической и медицинской химии, Москва, Россия

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

Каспазы - цистеиновые протеазы, регулирующие процесс апоптоза, наиболее подробно изученного механизма программируемой гибели клетки (ПГК). Повреждения ДНК инициируют серию последовательных биохимических реакций, в развитии которых одну из главных ролей играет инициаторная каспаза-2. Помимо этого, каспаза-2 выполняет функции онкосупрессора, поддерживающего генетическую стабильность тканей путем элиминации анеуплоидных клеток, которые могут претерпеть злокачественное перерождение. Некоторые типы опухолей (в том числе и аденокарцинома яичников) характеризуются пониженной экспрессией каспазы-2 [1; 2; 3]. Более того, снижение уровня этого белка коррелирует с плохим прогнозом и возникновением лекарственной устойчивости опухолевых клеток у пациентов с лимфобластным острым миелоидным лейкозом [2; 4]. Таким образом, на сегодня накоплено большое количество данных о значимости этого белка для подавления злокачественных образований у человека.

Для изучения функций каспазы-2 в клетках карциномы яичника Саov-4 их гибель была индуцирована химиотерапевтическим препаратом доксорубицином, вызывающим повреждение ДНК. Эксперименты показали, что в G1/S фазе клеточного цикла, дефицитные по каспазе-2 клетки, демонстрируют устойчивость к индукции гибели, и более того, маркер повреждения ДНК - pSer139-H2AX (γ H2AX) - накапливается в значительно меньшей степени по сравнению с диким типом. Анализ методом ДНК-комет не выявил различий в уровне повреждений ДНК в клетках Саov-4 с нормальным уровнем каспазы-2 и дефицитных по ней. Таким образом, отсутствие каспазы-2 не влияло на уровень повреждения ДНК, однако снижало уровень маркера этих повреждений, что вело к устойчивости клеток Саov-4 к доксорубицину. Для определения молекулярных механизмов данного феномена были исследованы процессы активации киназ, участвующих в фосфорилировании H2AX, а именно, ATM, ATR, JNK. Методом Вестерн-блота показано, что при повышенной экспрессии гена каспазы-2 в клетках HEK293T при обработке доксорубицином отсутствует увеличение фосфорилирования JNK по остаткам Thr183/Tyr185, что приводило к более существенному накоплению γ H2AX, в то время как разница в накоплении фосфорилированных форм ATM и ATR не детектировалась. Согласно данным аффинного выделения каспазы-2, при обработке клеток HEK293T доксорубицином каспаза-2 взаимодействует с SAPK/JNK. Вероятно, за счет этого белок-белкового взаимодействия каспаза-2 может регулировать активацию JNK и, таким образом, влиять на фосфорилирование H2AX.

Таким образом, нами установлено, что каспаза-2 является важным регуляторным элементом сигнального пути, обеспечивающего детекцию повреждений ДНК и ответ клеток на генотоксический стресс.

Источники и литература

- 1) Yoo N.J., Lee J.W., Kim Y.J., Soung Y.H., Kim S.Y., Nam S.W., Park W.S., Lee J.Y., Lee S.H. (2004) Loss of caspase-2, -6 and -7 expression in gastric cancers. APMIS. 112, 330–5.

- 2) Holleman A., Den Boer M.L., Kazemier K.M., Beverloo H.B., von Bergh A.R., Janka-Schaub G.E., Pieters R. (2005) Decreased PARP and procaspase-2 protein levels are associated with cellular drug resistance in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 106(5), 1817-23.
- 3) Miles M.A., Kitevska-Ilioski T., Hawkins C.J. (2017) Old and Novel Functions of Caspase-2. *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* 332, 155-212.
- 4) Zamaraev A.V., Kopeina G.S., Prokhorova E.A., Zhivotovsky B., Lavrik I.N. (2017) Post-translational Modification of Caspases: The Other Side of Apoptosis Regulation. *Trends Cell Biol.* 27, 322–339.