

## РЕГУЛЯЦИЯ КЛЕТОЧНОЙ ПРОЛИФЕРАЦИИ В НОРМЕ И ПРИ ОПУХОЛЕВОМ РОСТЕ С УЧАСТИЕМ ЯДЕРНЫХ БЕЛКОВ c-ABL И D40 (AF15q14/CASC5)

© К. В. Богданов,<sup>1,2</sup> М. Такимото<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Отдел молекулярно-генетических технологий С.-Петербургского государственного медицинского университета им. И. П. Павлова, Россия,

и <sup>2</sup> Отдел генной регуляции рака Института медицинской генетики Университета Хоккайдо, Саппоро, Япония;  
<sup>1</sup> электронный адрес: bogdanov\_konstantin@yahoo.co.uk

Белки c-Abl и D40 локализуются преимущественно в ядре и выполняют разные функции в клетке. Белок c-Abl представляет собой тирозинкиназу, которая участвует в фосфорилировании белков по тирозину. Белок D40, недавно обнаруженный, является компонентом кинетохорного комплекса. Несмотря на различия в функциональном отношении, белки имеют некоторые сходства. Во-первых, показана высокая экспрессия обоих белков в соматических клетках при некоторых опухолях человека, а также в половых клетках яичка здорового человека (Human Testis). Повышенная экспрессия белков c-Abl и D40 в сперматоцитах и акросоме сперматид вовлекает их в процесс мейоза и сперматогенез. Во-вторых, оба белка взаимодействуют со специфическими участками хроматина и играют роль в регуляции клеточного роста и митоза. В-третьих, гены *ABL* и *D40* (*AF15q14*), вовлекаясь в хромосомные транслокации, приводят к образованию химерных онкобелков *BCR-ABL*, *TEL-ABL* и *MLL-AF15q14* при лейкозах. И наконец, оба белка взаимодействуют с опухолевым супрессором, белков ретинобластомы pRb, что может приводить к регуляции клеточной пролиферации. Пути возможной регуляции клеточной пролиферации с участием названных белков обсуждаются в этой статье.

**Ключевые слова:** c-Abl, D40, экспрессия, клеточная пролиферация, регуляция.

**Принятые сокращения:** ОЛЛ — острый лимфобластный лейкоз, ОМЛ — острый миелолейкоз, ХМЛ — хронический миелолейкоз, СТД — С-концевой домен РНК-полимеразы II.

Нерецепторная тирозинкиназа c-Abl (Abl-1) или p145 относится к Abl-семейству белков, которое также включает в себя аналог Abl-белка, Abl-2 или Arg. Существуют две формы белка c-Abl — c-Abl 1a и c-Abl 1b, которые являются продуктами альтернативного сплайсинга. Названные варианты белка c-Abl различаются только в N-концевой области благодаря постмодификации, миристилированию c-Abl 1b, но не c-Abl 1a (Resh, 1994). Основная функция c-Abl — фосфорилирование белков по тирозину. Локализация p145 была показана как в ядре, так и в цитоплазме. С-Abl обладает ДНК-связывающей активностью, которая регулируется фосфорилированием, зависящим от фазы клеточного цикла. Кроме того, c-Abl взаимодействует с большим числом белков: белками-адаптерами, киназами, фосфатазами, белками-регуляторами клеточного цикла, транскрипционными факторами и белками цитоскелета. Ген *ABL* участвует в образовании хромосомных транслокаций благодаря слиянию с генами *BCR* и *TEL* при хроническом миелолейкозе (ХМЛ), остром лимфобластном лейкозе (ОЛЛ) и остром миелолейкозе (ОМЛ) (Haisterkamp et al., 1983; Walker et al., 1987; Janssen et al., 1995; La Starza et al., 2002).

Ген *D40* локализуется на хромосоме 15q14 и является представителем семейства СТ антигенов человека (cancer/testis antigen genes), экспрессируется в яичке человека (Human Testis) в норме, в большинстве опухолевых кле-

точных линий и первичных опухолях разных органов и тканей (Wei et al., 1999; Takimoto et al., 2002; Simpson et al., 2005). При первичном раке легкого экспрессия белка D40 была значительно выше в опухолях из группы курящих по сравнению с группой некурящих больных (Takimoto et al., 2002). В яичке человека белок D40 экспрессируется в сперматоцитах, акросоме сперматид и сперматозоидах (Sasao et al., 2004). Ген *D40* идентичен гену *AF15q14*, участвует в образовании хромосомной транслокации t(11;15)(q23;q14) или варианта химерного гена *MLL-AF15q14* благодаря слиянию с *MLL* при некоторых формах лейкозов, а именно ОЛЛ (ALL-T) и ОМЛ (AML-M4) (Hayette et al., 2000; Chinwalla et al., 2003; Kuefer et al., 2003). Ген *D40* известен также под другими названиями — *KIAA1570* и *CASC5*. Больные острой лейкозом, несущие хромосомную транслокацию t(11;15) (q23;q11) и вариант химерного гена *MLL-AF15q14*, имеют плохой прогноз. Проведение адекватного курса химиотерапии не позволило достичь ремиссии ни в одном из описанных случаев (Hayette et al., 2000; Chinwalla et al., 2003; Kuefer et al., 2003).

Недавно было показано, что белок D40 является одним из компонентов кинетохорного комплекса, участвует в расхождениях сестринских хроматид и ассоциирует с микротрубочками веретена деления в процессе митоза (Cheesman et al., 2004; Obuse et al., 2004; Bogdanov et al.,

2005). D40 локализуется преимущественно в ядре и за редким исключением — в цитоплазме. Функции белка D40 и его участие в регуляции клеточной пролиферации обсуждаются ниже.

Оба белка D40 и c-Abl взаимодействуют с белком ретинобластомы pRb, специфическими областями хроматина и могут участвовать в транскрипции генов, контролирующих клеточную пролиферацию. Проведение исследований, проливающих свет на пути регуляции клеточной пролиферации в норме и при опухолевом росте с участием ядерных белков D40 и c-Abl, является одним из перспективных направлений в изучении молекулярной биологии рака.

Изучение функции белка D40 в норме и при опухолевом процессе привело нас к неожиданному заключению о том, что этот белок имеет некоторые сходства с белком c-Abl. Оба белка вовлекаются в процесс онкогенеза, участвуют в регуляции клеточной пролиферации, возможно, вступая во взаимодействие с одинаковыми белковыми мишениями, контролирующими опухолевый рост. Таким образом, задачами исследования были поиск путей, ведущих к регуляции клеточной пролиферации с участием D40 и c-Abl, и изучение экспрессии этих белков в норме и патологии.

## Материал и методика

Клетки культуры HeLa, 293T, PC-10 и MCF-7 выращивали в среде DMEM с добавлением 10 % эмбриональной сыворотки теленка. Клетки Jurkat выращивали в среде RPMI-1640 с добавлением 10 % сыворотки. Эпителиальные клетки молочной железы человека MCF-10 выращивали в среде MEGM, не содержащей сыворотки, но содержащей холерный токсин (100 нг/мл). Все клетки культивировали при 37 °C в атмосфере 5 % CO<sub>2</sub>. Собирали и отмывали клетки от культуральной среды в 100 mM PBS (150 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 1.5 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> и 8.1 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH 7.5). Экстракцию белков проводили на льду в лизирующем буфере, содержащем 50 mM Трис-HCl, 150 mM NaCl, 0.1 mM EDTA, 50 mM NaF, 1 mM Na<sub>2</sub>VO<sub>5</sub>, 1 mM Na<sub>2</sub>VO<sub>5</sub>, 1 mM фенил-метил-сульфонил-флуорида (PMSF), 0.5 % NP-40, 10 мкг/мл аптринина, леупептина и пепстатина, pH 7.5. Иммуноблотинг клеточного экстракта (10 мкг) проводили с использованием антитела anti-D40 к белку яичка человека (Sasao et al., 2004).

## Результаты и обсуждение

Экспрессия белка D40 в опухолевых клеточных линиях человека. Экспрессия белка D40 была исследована в нескольких опухолевых клеточных линиях, а также в незлокачественной клеточной линии MCF10A (эпителиальные клетки молочной железы здоровой женщины). Клеточные экстракты были проанализированы методом иммуноблотинга с использованием антитела anti-D40 к белку яичка человека. Все опухолевые клетки, за исключением незлокачественных клеток линии MCF10A, показали повышенную экспрессию белка D40 с мол. массой 300 кДа (рис. 1). В клеточной линии MCF10A была обнаружена пониженная экспрессия белка D40 с мол. массой, превышающей 300 кДа. В настоящее время неизвестно, является эта изоформа белка D40 результатом альтернативного сплайсинга или белковой модификации.

Тем не менее разница в уровнях экспрессии белка D40 в норме и при опухолевом росте позволяет говорить о роли D40 в злокачественной трансформации и клеточной пролиферации.

Две разные клеточные линии человека — HeLa (рак шейки матки) и PC-10 (рак легкого) — были использованы для изучения характера связи между клеточным ростом и уровнем экспрессии белка D40. Культивируемые клетки собирали на 2, 4 и 6-е сут после посадки, проводили экстракцию белков и иммуноблотинг с использованием антитела anti-D40 к белку яичка человека (рис. 2, a, в). Согласно полученным результатам, уровень экспрессии белка D40 снижался с увеличением числа культивируемых клеток (рис. 2, б, г). Будущие эксперименты позволят назвать основные причины изменения экспрессии белка D40 в норме и патологии.

Экспрессия белков D40 и c-Abl в норме. Ранее высокий уровень экспрессии белков D40 и c-Abl в норме был обнаружен в мужском яичке и более низкий уровень экспрессии белка D40 — в плаценте (Naz et al., 1998; Sasao et al., 2004). Повышенный уровень экспрессии c-Abl был отмечен также в половых клетках яичка грызунов (Pozuelo et al., 1989). Благодаря повышенной экспрессии (AF15q14) и c-Abl в сперматоцитах и сперматидах млекопитающих участие вышеупомянутых белков в мейозе не вызывает сомнения. Так, недавно было показано, что белок c-Abl связывается со специфическими концептуальными участками хромосом в сперматоцитах грызунов в течение пахитены мейоза (Kharbanda et al., 1998). Некоторые представители семейства СТ антигенов человека, к которому относится и компонент кинетохорного комплекса D40 (AF15q14), ассоциируют с синаптонемальным комплексом мейотических хромосом и(или) специфическими участками самих хромосом, что наводит на мысль о роли D40 в организации хроматина в мейозе (Simpson et al., 2005).

Высокая экспрессия белка c-Abl была обнаружена также в половых клетках и центральной нервной системе плодовой муки *Drosophila melanogaster*, включая глазные диски взрослых особей и связующие аксоны особей, находящихся на эмбриональной стадии развития (Gertler et al., 1989; Fogerty et al., 1999). Это вовлекает c-Abl в процесс аксоногенеза и эмбриогенеза.

Экспрессия c-Abl при патологии. Известно о таком явлении, как сверхэкспрессия c-Abl в норме, которая не приводит к развитию опухоли, а, напротив, супрессирует клеточный рост и вызывает апоптоз (Sawyers et al., 1994). Однако это происходит только при наличии неповрежденного домена SH2 в составе белка c-Abl. Доменная структура тирозинкиназы c-Abl и ее основные функции в клетке представлены в таблице (Witte et al., 1979; Fainstein et al., 1989; Wei et al., 1999; Bogdanov et al., 2005). Полагают, что упомянутое выше ингибирование клеточного роста с участием c-Abl функционально сходно с действием опухолевого супрессора pRb и(или) антионкогена p53. Повышение экспрессии c-Abl до уровня сверхэкспрессии в других случаях, как правило, сопряжено с наличием точечных мутаций в гене *abl* и(или) хромосомной транслокации t(9;22)(q34;q11), ведущей к экспрессии слитного белка BCR-ABL в периферической крови и костном мозге у больных лейкозами, а также в гемопоэтических клеточных линиях человека, происходящих от названной группы больных.

В настоящее время известны основные точечные мутации гена *abl* у человека. Их частота встречаемости была

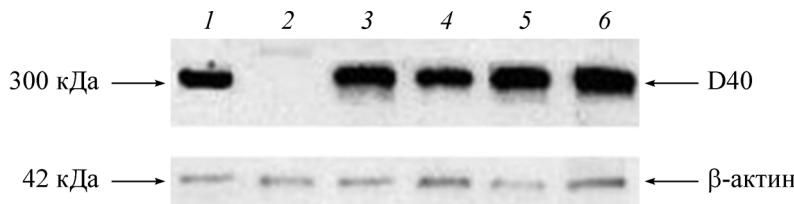


Рис. 1. Экспрессия ядерного белка D40 в клеточных линиях человека: MCF7 рака молочной железы (1), MCF-10A эпителиальных клеток молочной железы здоровой женщины (2), PC-10 рака легкого (3), 293T эмбриональной почки (4), HeLa рака шейки матки (5) и Jurkat T-клеточного лейкоза (6).

Иммуноблотинг клеточного экстракта с использованием антитела anti-D40 к белку яичка человека (и  $\beta$ -актину).

изучена в группе больных ХМЛ, получающих терапию гливеком (imatinib mesylate, STI-571) (Willis et al., 2005). Гливек, являясь одним из эффективных химических препаратов, используемых в лечебной практике, позволяет достичь цитогенетической и молекулярно-генетической ремиссии у больных лейкозами с перестройкой гена *abl* (*abl-1*) и немелкоклеточным раком легких с перестройкой гена *arg* (*abl-2*) (Schindler et al., 2000; Okuda et al., 2001). Основное преимущество гливека перед другими препаратами состоит в том, что он специфично снижает тирозинкиназную активность c-Abl и BCR-ABL, а также регулирует их экспрессию (Wu et al., 2002). Точекные мутации в тирозинкиназном домене c-Abl, несущем АТФ-связывающий пакет, состоящий из нуклеотидсвязывающей петли (P-loop), сайта активного связывания (A-site) и активной петли (A-loop), могут приводить как к задержке ответа у больных, получающих терапию гливеком, так и к его полному отсутствию. По-видимому, часть подобных мутаций связана с риском развития лейкоза или может приводить к осложнению самого заболевания, особенно при переходе хронической фазы ХМЛ в терминальную fazу развития болезни, бластный криз.

Однако другая часть мутаций, по-видимому, не приводит к развитию лейкозов. Так, замена одного нуклеотида K247R в тирозинкиназном домене c-Abl, а также экспрессия сплитной мРНК *bcr-abl* на низком молекулярном

уровне могут встречаться в редких случаях у здоровых доноров, однако их роль остается неизвестной до настоящего времени (Biernaux et al., 1995; Irving et al., 2004).

Мутации гена *abl* у плодовой мухи *Drosophila melanogaster* сопровождаются нарушениями в потомстве, в частности осложненным выходом молодой особи из куколки или появлением особей с шероховатыми глазными дисками, которым свойственны пониженная жизнеспособность и плодовитость (Henkemeyer et al., 1987). Мыши, испытывающие дефицит по гену *abl*, претерпевают нормальное зародышевое развитие. Однако эти животные рождаются недоношенными и погибают в течение нескольких недель от малоизученного синдрома нарушенного питания, описанного у мужских особей (Schwartzberg et al., 1991; Tulewicz et al., 1991).

Регуляция экспрессии c-Abl с участием опухолевого супрессора человека pRb в норме и патологии. Известно, что взаимодействие c-Abl и pRb в норме приводит к инактивации тирозинкиназной активности и регуляции экспрессии c-Abl (Welch, Wang, 1995). При лейкозах c-Abl и BCR-ABL также взаимодействуют с pRb благодаря АТФ-связывающему пакету тирозинкиназного домена белка Abl (205—307 аа), который ассоциирует с C-концевым доменом белка pRb (C-pocket) (Welch, Wang, 1993; Miyamura et al., 1997). Это взаимодействие приводит к фосфорилированию аминокислотно-

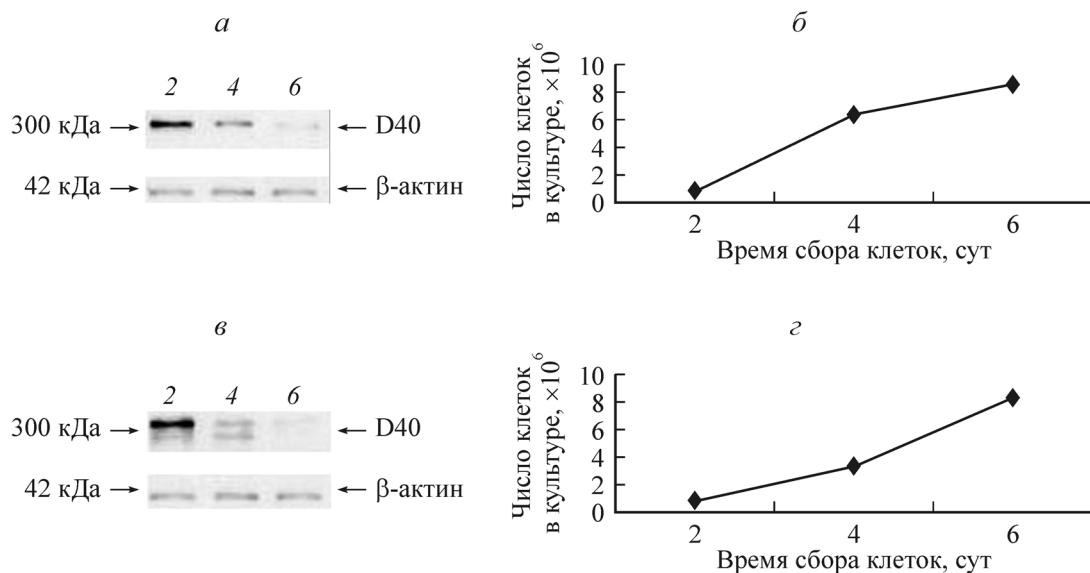


Рис. 2. Уровень экспрессии ядерного белка D40 (а, б) в культивируемых клеточных линиях человека и кривые их роста (б, г). Дорожки 2, 4, 6 — клетки HeLa (а) или PC-10 (б) после посадки на 2, 4 и 6-е сут культивирования соответственно; иммуноблотинг клеточного экстракта с использованием антитела anti-D40 к белку яичка человека (и  $\beta$ -актину). б, г: по оси абсцисс — время сбора культивируемых клеток после посадки, сут; по оси ordinat — число клеток в культуре HeLa (б) или PC-10 (г).

## Экспрессия ядерных белков с-Ab1 и D40, их доменная организация и выполняемая функция

Ген, хромосомная локализация, количество (n) экзонов	Кодируемый белок	Экспрессия белка (яичко человека, Human Testis), молекулярная масса	Доменная структура белка и выполняемые функции (N-конец → C-конец)
<i>Abl-1 (Abl)</i> , 9q34, n = 11	Abl-1	p95 (95 кДа), p145 (145 кДа)	CAP: аутоингибиование; SH3: ассоциирует с белками, фосфорилированными по тирозину; SH2: ассоциирует с пролин-богатыми участками белков; SH1: тирозинкиназный домен, участвует в фосфорилировании белков; ДНК-связывающий: несет сигнальные последовательности 3NLS и NES, которые контролируют перемещение Ab1 между ядром и цитоплазмой; актинсвязывающий: несет сайты связывания с F- и G-актином
<i>D40</i> , 15q14, n = 11	D40 (AF15q14)	p300 (300 кДа)	PFAM: функция неизвестна; С-концевой: несет сигнальную последовательность NLS, которая определяет ядерную локализацию белка

го остатка Y805 белка pRb, которое, по-видимому, изменяет специфичность связывания опухолевого супрессора pRb с белками, участвующими в регуляции клеточной пролиферации и апоптоза (Nagano et al., 2006). Названная ассоциация является необходимым условием регуляции жизнеспособности опухолевых клеток, а также экспрессии тирозинкиназы с-Ab1, включая позитивные клетки BCR-ABL больных ХМЛ.

Как было упомянуто выше, гливеk, используемый при лечении ХМЛ, снижает тирозинкиназную активность с-Ab1 и BCR-ABL, а также уровень их экспрессии. По-видимому, взаимодействуя с АТФ-связывающим пакетом тирозинкиназы, гливеk восстанавливает специфичность связывания белка ретинобластомы pRb с белковыми мишениями-регуляторами клеточной пролиферации и апоптоза. В норме pRb может связываться одновременно с с-Ab1 и транскрипционным фактором E2F. Белок ретинобластомы pRb, опосредующий взаимодействие E2F—с-Ab1, может вовлекать с-Ab1 в транскрипционную регуляцию промоторов генов, несущих в своем составе сайты E2F, что приводит к ингибиции клеточной пролиферации (Welch, Wang, 1995). Как правило, уровень экспрессии с-Ab1 в опухолевых клеточных линиях зависит от статуса фосфорилирования белка pRb по тирозину и типа ткани, в которой обнаруживается (Nagano et al., 2006). Так, в эритроидной клеточной линии больного хроническим миелолейкозом K562 и опухолевых клетках цервикального канала HeLa S3 белок pRb фосфорилирован по тирозину и уровень экспрессии с-Ab1 повышен. Однако в клеточной линии почки эмбриона человека 293T и клетках рака молочной железы MCF-7 белок pRb не фосфорилирован по тирозину и уровень экспрессии с-Ab1 понижен.

Взаимодействие белка D40 с опухолевым супрессором pRb. Коиммунопреципитация клеточных экстрактов (иммунопреципитация и последующий иммуноблотинг) показала наличие белкового комплекса D40—Rb *in vivo* в клетках линии 293T (Bogdanov et al.,

2005). Известно, что транскрипционный фактор E2F1 в своем составе содержит особый мотив LxCxE, который опосредует взаимодействия типа pRb—X. Такой мотив был обнаружен в аминокислотной последовательности белка D40 и включает в себя последовательности 807—811 и 1363—1367 (Bogdanov et al., 2005). Так как E2F вовлечен в регуляцию митоза (Ishida et al., 2001; Ren et al., 2002; Cam et al., 2005) и была показана экспрессия белка D40 во время митоза, по-видимому, D40 оказывает влияние на взаимодействие Rb—E2F, которое могло бы приводить к ингибиции митотической функции E2F.

Взаимодействие белков с-Ab1 и D40 с хроматином. Другой возможный способ регуляции клеточной пролиферации включает в себя ассоциацию с-Ab1 или D40 со специфическими участками хроматина. Известно, что pRb участвует в образовании сложного белкового комплекса благодаря A—B—C-доменной структуре. Это может повышать взаимодействие белкового комплекса pRb—X с хроматином (Brehm, Kouzarides, 1999; Kennedy et al., 2000). Такой тип ассоциации вовлекается не только в регуляцию транскрипции генов, но и в репликацию хроматина.

Недавно было показано, что тирозинкиназа с-Ab1 взаимодействует с большой субъединицей РНК-полимеразы II в клетках линии 293T, фосфорилирует ее С-концевой домен (CTD) и благодаря ассоциации с хроматином изменяет спектр транскрибуемых генов, контролирующих клеточную пролиферацию и апоптоз, в частности гена *c-fos* (Baskaran et al., 1993; Jing et al., 2005). Было показано также, что D40 (AF15q14) связывается с С-концевым доменом белка Spt16, компонентом белкового комплекса FACT (повышающего транскрипцию хроматина и репликацию) (Bogdanov et al., 2005). Это может свидетельствовать о вовлечении D40 в регуляцию клеточной пролиферации через РНК-полимеразу II. Известно, что субъединица FACT, Spt16, повышает реакцию элонгации транскрипции с участием РНК-полимеразы II благодаря

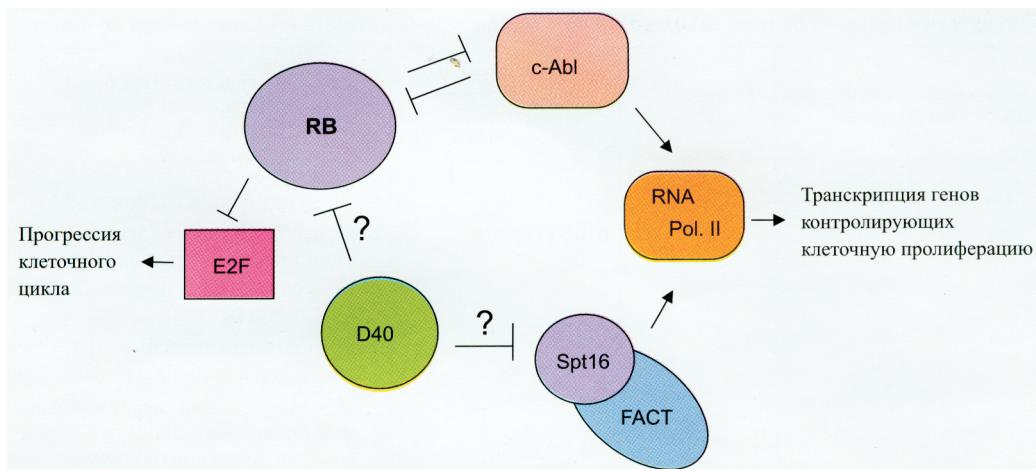


Рис. 3. Схема путей возможной регуляции клеточной пролиферации с участием ядерных белков c-Abl и D40.

c-Abl — нерецепторная тирозинкиназа, участвует в фосфорилировании белков по тирозину; D40 — белок яичка человека, компонент кинетохорного комплекса, представитель семейства CT антигенов человека (human cancer/testis antigen genes); RB — белок ретинобластомы, опухолевый супрессор человека; E2F — фактор транскрипции; RNA Pol.II — РНК-полимераза II; Spt16 — компонент белкового комплекса FACT, участвует в усилении процессов транскрипции и репликации.

удалению гистоновых димеров H2A—H2B из нуклеосомы во время транскрипции участка хроматина. После завершения транскрипции Spt16 восстанавливает целостность нуклеосомы (Belotserkovskaya et al., 2003).

Таким образом, представленные результаты и данные обзора литературы позволяют нам предложить схему возможной регуляции клеточной пролиферации с участием ядерных белков c-Abl и D40 (рис. 3).

Авторы выражают искреннюю благодарность заведующей кафедрой гистологии и цитологии С.-Петербургского государственного университета проф. А. Д. Харазовой и ее сотрудникам, а также всем сотрудникам Отделения генной регуляции рака и проф. Н. Кузумаки (N. Kuzumaki, Division of Cancer Gene Regulation, Institute for Genetic Medicine, Hokkaido University, Sapporo, Japan) за ценные замечания и полезные рекомендации к тексту рукописи статьи.

#### Список литературы

- Baskaran R., Dahmus M. E., Wang Y. J. 1993. Tyrosine phosphorylation of mammalian RNA polymerase II carboxyl-terminal domain. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 90 : 11 167—11 171.
- Belotserkovskaya R., Oh S., Bondarenko V. A., Orphanides G., Studitsky V. M., Reinberg D. 2003. FACT facilitates transcription-dependent nucleoside alteration. Science. 301 : 1090—1093.
- Biernaux C., Loos M., Sels A., Huez G., Stryckmans P. 1995. Detection of major *bcr-abl* gene expression at a very low level in blood cells of some healthy individuals. Blood. 86 : 3118—3122.
- Brehm A., Kouzarides T. 1999. Retinoblastoma protein meets chromatin. Trends Biochem. Sci. 24 : 142—145.
- Bogdanov K. V., Urata Y. N., Kuzumaki N., Takimoto M. 2005. Study of human gene D40 that is predominantly expressed in normal testis and cancer. In: Proceedings of COE postdoctoral studies. Hokkaido University. 21 century COE. 28—29.
- Cam H., Balciunaitė E., Blais A., Spektor A., Scarpulla R. C., Young R., Kluger Y., Dynlacht B. D. 2004. A common set of gene regulatory networks links metabolism and growth inhibition. Mol. Cell. 16 : 399—411.
- Cheeseman I. M., Niessen S., Anderson S., Hyndman F., Yates J. R., Oegema K., Desai A. 2004. A conserved protein network control assembly of the outer kinetochore and its ability to sustain tension. Genes Develop. 18 : 2255—2268.
- Chinwalla V., Chien A., Odero M., Neilly M. B., Zeleznik-Le N. J., Rowley J. D. 2003. A t(11;15) fuses *MLL* to two different genes, *AF15q14* and a novel gene *MPFYVE* on chromosome 15. Oncogene. 22 : 1400—1410.
- Fainstain E., Einat M., Gokkel E., Marcelle C., Croce C. M., Gale C. M., Canaan E. 1989. Nucleotide sequence analysis of human *abl* and *bcr-abl* cDNAs. Mol. Cell. Biol. 9 : 1477—1481.
- Fogerty F. J., Juang J.-L., Petersen J., Clark M. J., Hoffmann F. M., Mosher D. F. 1999. Dominant effects of the *bcr-abl* oncogene on *Drosophila* morphogenesis. Oncogene. 18 : 219—232.
- Gertler F. B., Bennett R. L., Clark M. J., Hoffmann F. M. 1989. *Drosophila abl* tyrosine kinase in embryonic CNS axons: a role in axonogenesis is revealed through dosage-sensitive interactions with disabled. Cell. 58 : 103—113.
- Hayette S., Tigaud I., Vanier A., Martel S., Corbo L., Charrin C., Beillard E., Deleage G., Magaud J. P., Rimokh R. 2000. *AF15q14*, a novel partner gene fused to the *MLL* gene in an acute myeloid leukaemia with a t(11;15)(q23;q14). Oncogene. 19 : 4446—4450.
- Heisterkamp N., Stephenson J. R., Groffen J., Hansen P. F., de Klein A., Bartram C. R., Grosfeld G. 1983. Localization of the *bcr-abl* oncogene adjacent to a translocation break point in chronic myelocytic leukaemia. Nature. 306 : 239—242.
- Henkemeyer M., Gertler F. B., Goodman W., Hoffman F. M. 1987. The *Drosophila* Abelson homolog: identification of mutant alleles that have pleiotropic effects late in development. Cell. 51 : 821—828.
- Irving J. A., O'Brien S., Lennard A. L., Minto L., Lin F., Hall A. G. 2004. Use of denaturing HPLC for detection of mutations in the *bcr-abl* kinase domain in patients resistant to Imatinib. Clin. Chem. 50 : 1233—1237.
- Ishida S., Huang E., Zuzn H., Spang R., Leone G., West M., Nevin J. R. 2001. Role of E2F in control of both DNA replication and mitotic functions as revealed from DNA microarray analysis. Mol. Cell. Biol. 21 : 4684—4699.
- Janssen J. W., Ridge S. A., Papadopoulos P., Cotter F., Ludwig W. D., Fonatsch C., Reider H., Ostertag W., Bartram C. R., Wiedemann L. M. 1995. The function of TEL and ABL in human acute lymphoblastic leukaemia is a rare event. Br. J. Haematol. 90 : 222—224.
- Jing Y., Song Z., Wang Z., Wang M., Tang W., Hao S., Zeng X. 2005. c-Abl tyrosine kinase regulates *c-fos* gene expression via

- phosphorylating RNA polymerase II. *Arch. Biochem. Biophys.* 437 : 199—204.
- Kennedy B. K., Barbie D. A., Classon M., Dyson N., Harlow E. 2000. Nuclear organization of DNA replication in primary mammalian cells. *Genes Develop.* 14 : 2855—2868.
- Kharbanda S., Pandey P., Morris P. L., Whang Y., Xu Y., Sawyers C., Zhu L.-J., Kumar N., Yuan Z.-M., Weichselbaum R., Sawyers C. L., Pandita T. K., Kufe D. 1998. Functional role for c-Abl tyrosine kinase in meiosis I. *Oncogene.* 16 : 1773—1777.
- Kipreos E. T., Wang J. Y. 1992. Cell cycle-regulated binding of c-Abl tyrosine kinase to DNA. *Science.* 256 : 382—385.
- Kuefer M. U., Chinwalla V., Zeleznik-Le N. J., Behm F. G., Naeve C. W., Rakestrat K. M., Mukatira S. T., Raimondi S. C., Morris S. W. 2003. Characterization of the *MLL* partner gene *AF15q14* involved in t(11;15)(q23;q14). *Oncogene.* 22 : 1418—1424.
- La Starza R., Trubia M., Testoni N., Ottaviani E., Crescenzi B., Martelli M., Flandrin G., Pellicci P. G., Mecucci C. 2002. Clonal eosinophils are a morphologic hallmark of ETV6/ABL1-positive acute myeloid leukaemia. *Haematologica.* 87 : 789—794.
- Miyamura T., Nishimura J., Yufu Y., Navata H. 1997. Interaction of bcr-abl with retinoblastoma protein in Philadelphia chromosome-positive cell lines. *Int. J. Hematol.* 65 : 115—121.
- Nagano K., Itagaki C., Izumi T., Nunomura K., Soda Y., Tani K., Takahashi N., Takenawa T., Isobe T. 2006. Rb plays a role in survival of Abl-dependent human tumor cells as a downstream effector of Abl tyrosine kinase. *Oncogene.* 25 : 493—502.
- Naz R. K. 1998. C-Abl proto-oncogene is expressed and tyrosine phosphorylated in human sperm cell. *Mol. Reprod. Develop.* 51 : 210—217.
- Obuse C., Iwasaki O., Kiyomitsu T., Goshima G., Toyoda Y., Yanagida M. 2004. A conserved Mis12 centromere complex is linked to heterochromatic HP1 and outer kinetochore protein Zwint-1. *Nat. Cell Biol.* 6 : 1135—1141.
- Okuda K., Weisberg E., Gilliland D. G., Griffin J. D. 2001. ARG tyrosine kinase activity is inhibited by ST1571. *Blood.* 97 : 2440—2448.
- Ponzello C., Wadewitz A. G., Pendegast A. M., Witte O. N., Wolgemuth D. J. 1989. P150 c-Abl is detected in mouse male germ cells by an in kinase assay and is associated with stage-specific phosphoproteins in haploid cells. *Oncogene.* 4 : 685—690.
- Ren B., Cam H., Takahashi Y., Volker T., Terrabgri J., Young R. A., Dynlacht B. D. 2002. E2F integrates cell cycle progression with DNA repair, replication and G<sub>2</sub>M checkpoints. *Genes Develop.* 16 : 245—256.
- Resh M. D. 1994. Myristylation and palmitylation of Src family members: the fats of the matter. *Cell.* 76 : 411—413.
- Sasao T., Itoh N., Takano H., Watanabe S., Wei G., Tsukamoto T., Kuzumaki N., Takimoto M. 2004. The protein encoded by cancer/testis gene D40/AF15q14 is localized in spermatocytes, acrosomes of spermatids and ejaculated spermatozoa. *Reproduction.* 128 : 709—716.
- Sawyers C. L., McLaughlin J., Goga A., Havlik M., Witte O. 1994. The nuclear tyrosine kinase c-Abl negatively regulates cell growth. *Cell.* 77 : 121—131.
- Schindler T., Bornmann W., Pellicena P., Miller W. T., Clarkson B., Kuriyan J. 2000. Structural mechanism for STI-571 inhibition of abelson tyrosine kinase. *Science.* 289 : 1938—1942.
- Schwartzberg P. L., Stall A. M., Hardin J. D., Bowdish K. S., Humarani T., Boast S., Harbison M. L., Robertson E. J., Goff S. P. 1991. Mice homozygous for the *abl* mutation show poor viability and depletion of selected B and T cell populations. *Cell.* 65 : 1165—1175.
- Simpson A. J. G., Caballero O. L., Jungbluth A., Chen Y., Old L. J. 2005. Cancer/testis antigens, gametogenesis and cancer. *Nat. Rev. Cancer.* 5 : 615—625.
- Takimoto M., Wei G., Dosaka-Akita H., Mao P., Kondo S., Sakuragi N., Chiba N., Miura T., Itoh N., Sasao T., Koya R. C., Tsukamoto T., Fujimoto S., Katoh H., Kuzumaki N. 2002. Frequent expression of new cancer/testis gene D40/AF15q14 in lung cancer of smoker. *Br. J. Cancer.* 86 : 1757—1762.
- Tybulewicz V. L. J., Crawford C. E., Jackson P. K., Bronson R. T., Mulligan R. C. 1991. Neonatal lethality and lymphopenia in mice a homozygous disruption of the *c-abl* proto-oncogene. *Cell.* 65 : 1153—1163.
- Walker L. C., Ganesan T. S., Dhut S., Gibbons B., Lister T. A., Rothbard J., Young B. D. 1987. Novel chimaeric protein expressed in Philadelphia positive acute lymphoblastic leukaemia. *Nature.* 329 : 851—853.
- Wei G., Takimoto M., Yoshida I., Mao P., Koya C. R., Miura T., Kuzumaki N. 1999. Chromosomal assignment of a novel gene D40. *Nucl. Acid Symp. Ser.* 42 : 71—72.
- Welch P. J., Wang J. Y. J. 1993. A C-terminal protein-binding domain in the retinoblastoma protein regulates nuclear c-abl tyrosine kinase in the cell cycle. *Cell.* 75 : 779—790.
- Welch P. J., Wang J. Y. J. 1995. Abrogation of retinoblastoma protein function by c-Abl through tyrosine kinase-dependent and -independent mechanisms. *Mol. Cell. Biol.* 15 : 5542—5551.
- Whitaker L. L., Su H., Baskaran R., Knudsen E. S., Wang J. Y. 1998. Growth suppression by an E2F-binding-defective retinoblastoma protein (RB): contribution from the RB C pocket. *Mol. Cell. Biol.* 18 : 4032—4042.
- Willis S. G., Lange T., Demehri S., Otto S., Crossman L., Niedzwieser D., Stoffregen E. P., McWeeney S., Kovacs I., Park B., Druker B. J., Deininger M. W. 2005. High-sensitivity detection of BCR-ABL kinase domain mutations in imatinibnaive patients: correlation with clonal cytogenetic evolution but not response to therapy. *Blood.* 106 : 2128—2137.
- Witte O. N., Rosenberg N. E., Baltimore D. 1979. A normal cell protein cross-reactive to the Abelson murine leukaemia virus gene product. *Nature.* 281 : 396—398.
- Wu C. J., Neuberg D., Chillemi A., McLaughlin S., Hochberg E. P., Galinsky I., DeAngelo D., Soiffer R. J., Alyea E. P., Capdeville R., Stone R. M., Ritz K. 2002. Quantitative monitoring of BCR/ABL transcript during STI-571 therapy. *Leuk. Lymphoma.* 43 : 2281—2289.

Поступила 16 X 2007

## THE INVOLVEMENT OF c-Abl AND D40 (AF15q14/CASC5) PROTEINS IN THE REGULATION OF CELL PROLIFERATION AND CANCER

K. V. Bogdanov,<sup>1,2</sup> M. Takimoto<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Division of Molecular-Genetic Technologies, I. P. Pavlov State Medical University, St. Petersburg, Russia,  
and <sup>2</sup> Division of Cancer Gene Regulation, Institute for Genetic Medicine, Hokkaido University, Sapporo, Japan;

<sup>1</sup> e-mail: bogdanov\_konstantin@yahoo.co.uk

Although c-Abl and D40 proteins are localized predominantly in nucleus, they are involved in different cellular processes. c-Abl is a tyrosine-kinase that takes part in protein phosphorylation on tyrosine. Recently D40 has been identified as a component of outer kinetochore complex. Despite of functional differences between

c-Abl and D40 proteins, they have some similarities. First, high expression levels of c-Abl and D40 were observed not only in proliferating somatic cells, such as tumors, but also in healthy human testis. The increased expression levels of c-Abl and D40 protein in spermatocytes and acrosome of spermatids indicate their role in meiosis and spermatogenesis. Second, both proteins interact with specific regions of chromatin and are involved in the regulation of cell growth and division. Third, *ABL* and *D40 (AF15q14)* genes are involved in chromosomal translocations that subsequently form chimeric oncoproteins BCR-ABL, TEL-ABL and MLL-AF15q14 in human leukaemia. Finally, both proteins interact with the tumor suppressor pRb protein and subsequently can lead to regulation of the cell proliferation. The possible regulatory pathways that are controlled by c-Abl and D40 proteins are described here in details.

Key words: c-Abl, D40, expression, cell proliferation, regulation.

---