

механизм гибели клеток с различным статусом Set7/9 при обработке генотоксическими агентами различного типа действия — этопозидом и цисплатином. В данном эксперименте мы использовали этопозид как альтернативный ингибитор топоизомеразы II, также применяющийся в составе схем противоопухолевой терапии по причине того, что данный препарат не характеризуется флуоресценцией в отличие от доxorубина. Доксорубин в свою очередь характеризуется сходными характеристиками поглощения и испускания света с 7-амино-актиномицином D (7ААМД), применяемым в данной методике в качестве маркера проницаемости клеточной мембраны.

В результате мы показали, что нокаут Set7/9 способствует повышению уровня апоптоза в клетках A549 при обработке этопозидом и цисплатином (рис. 2, б). При этом при обработке клеток 50 и 150 мкМ этопозидом в течение 24 ч клетки в основном находились на стадии раннего апоптоза, а при обработке цисплатином в концентрациях 100 и 150 мкМ в течение того же времени наблюдалось преобладание клеток в состоянии позднего апоптоза (рис. 2, б).

Таким образом, мы показали, что чувствительность клеток A549 с нокаутом Set7/9 к ДНК-повреждающим агентам различного механизма действия обусловлена повышением уровня апоптоза. Возможно, данное действие обеспечивается влиянием Set7/9 на транскрипционную активность проапоптотического фактора p53, что, однако, требует дальнейшего более подробного изучения.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект 17-75-10198).

Список литературы

- Gu Y., Wang Y., Wang X., Gao L., Yu W., Dong W.-F. 2017. Opposite effects of SET7/9 on apoptosis of human acute myeloid leukemia cells and lung cancer cells. *J. Cancer*. 8 : 2069.
- Kassner I., Andersson A., Fey M., Tomas M., Ferrando-May E., Hottiger M. O. 2013. SET7/9-dependent methylation of ARTD1 at K508 stimulates poly-ADP-ribose formation after oxidative stress. *Open Biol.* 3 : 120173.
- Lezina L., Aksenova V., Fedorova O., Malikova D., Shuvalov O., Antonov A. V., Tentler D., Garabadiu A. V., Melino G., Barlev N. A. 2015. KMT Set7/9 affects genotoxic stress response via the Mdm2 axis. *Oncotarget*. 6 : 25843.
- Lezina L., Aksenova V., Ivanova T., Purmessur N., Antonov A., Tentler D., Fedorova O., Garabadiu A., Talianidis I., Melino G. 2014. KMTase Set7/9 is a critical regulator of E2F1 activity upon genotoxic stress. *Cell Death and Differentiation*. 21 : 1889.
- Pradhan S., Chin H. G., Estève P.-O., Jacobsen S. E. 2009. SET7/9 mediated methylation of non-histone proteins in mammalian cells. *Epigenetics*. 4 : 383—387.
- Riely G. J., Kris M. G., Rosenbaum D., Marks J., Li A., Chitale D. A., Nafa K., Riedel E. R., Hsu M., Pao W. 2008. Frequency and distinctive spectrum of KRAS mutations in never smokers with lung adenocarcinoma. *Clin. Cancer Res.* 14 : 5731—5734.
- Sanjana N. E., Shalem O., Zhang F. 2014. Improved vectors and genome-wide libraries for CRISPR screening. *Nature Methods*. 11 : 783.
- Ting A. H., McGarvey K. M., Baylin S. B. 2006. The cancer epigenome — components and functional correlates. *Genes Development*. 20 : 3215—3231.
- Torre L. A., Siegel R. L., Jemal A. 2016. Lung cancer statistics. In: *Lung cancer and personalized medicine*. New York: Springer. 1—19.
- Wang H., Cao R., Xia L., Erdjument-Bromage H., Borchers C., Tempst P., Zhang Y. 2001. Purification and functional characterization of a histone H3-lysine 4-specific methyltransferase. *Mol. Cell*. 8 : 1207—1217.

Поступила 16 VII 2018

Set7/9 METHYLTRANSFERASE KNOCK OUT INCREASES THE SENSITIVITY OF LUNG CANCER CELLS TO GENOTOXIC DRUGS

V. A. Mamontova,¹ A. V. Petukhov,^{1,2} O. A. Fedorova,¹ O. Yu. Shuvalov,¹ N. A. Barlev,¹ A. A. Daks^{1,*}

¹ Institute of Cytology RAS, St. Petersburg, 194064, and ² V. A. Almazov National Medical Research Centre Ministry of Health of Russian Federation, St. Petersburg, 197341;

* e-mail: alexandra.daks@gmail.com

Lysine-specific methyltransferase Set7/9 was initially described as enzyme methylating the 4 lysine of the canonical histone H3. It was later shown that Set7/9 is able to methylate up to 30 non-histone targets involved in such cellular processes as gene expression regulation, cell differentiation, DNA damage response, and others. We assumed that the susceptibility of cells to genotoxic agents may depend on the status of Set7/9. Using the CRISPR/Cas9 genomic editing tool, we created the A549 human lung cancer cell line with knockout of Set7/9. Using the obtained cellular model, we showed that knockout of Set7/9 increases the sensitivity of lung cancer cells to genotoxic agents — doxorubicin and cisplatin, which is achieved by increasing the level of apoptosis.

Key words: Set7/9, CRISPR/Cas9, knockout, doxorubicin, cisplatin, etoposide