ЦИТОЛОГИЯ, 2019, том 61, № 3, с. 208–217

УДК 57.085:57.043:616-006.6

РЕГУЛЯЦИЯ ФУНКЦИЙ БЕЛКА p53 В ОТВЕТ НА ТЕПЛОВОЙ СТРЕСС

© 2019 г. С. Е. Парфеньев[1], А. Н. Смотрова[1], М. А. Шкляева[1], Н. А. Барлев[1, *]

[1]Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064, Россия

*****E-mail: nick.a.barlev@gmail.com*

Поступила в редакцию 06.10.2018 г.
После доработки 10.12.2018 г.
Принята к публикации 11.12.2018 г.

В процессе супрессии опухолей человека одну из важнейших функций выполняет белок p53, кодируемый геном *TP53*. Мутации в ДНК-связывающем домене p53 приводят к изменению его конформации, способствуя образованию аберрантных внутриклеточных белковых комплексов, включающих в себя белки теплового шока (Hsp70). Это может провоцировать возникновение агрессивных типов опухолей, включая рак молочной железы. В связи с этим, изучение механизмов регуляции мутантных форм p53 в составе таких стабильных комплексов представляется крайне актуальным. Целью настоящей работы являлось изучение регуляции мутантного по R175H белка p53 (mutp53-R175H) при тепловом стрессе в клетках MDA-MB-231 рака молочной железы *in vitro*. Было установлено, что тепловой стресс вызывает резкое снижение уровня белков wtp53 (p53 дикого типа) и mutp53-R175H, который постепенно восстанавливается после снятия стресса. Также мы обнаружили, что mutp53-R175H повышает внутриклеточный уровень Hsp70 в норме и снижает его уровень после теплового стресса. При этом сам белок mutp53-R175H меняет свою внутриклеточную локализацию, как в нормальных условиях, так и в ответ на тепловой шок, находясь в составе Hsp70-содержащих белковых комплексов. Таким образом, поведение wtp53 и mutp53-R175H в ответ на тепловой шок отличаются друг от друга, по-видимому, за счет различного взаимодействия с белковыми комплексами, которые регулируют их стабильность и внутриклеточную локализацию.

Ключевые слова: p53 R175H, мутантный p53, белок теплового шока, Hsp70, Hsp90, Mdm2

DOI: 10.1134/S0041377119030076

Белок p53 является транскрипционным фактором, который способен активировать или подавлять работу большого числа генов, ответственных за остановку клеточного цикла, старение и апоптоз (Reinhardt, Schumacher, 2012). Помимо кодирующих генов, p53 также регулирует транскрипцию генов, не кодирующих РНК, которые в свою очередь контролируют репрессию сотен других генов (Barlev et al., 2010). При раковых заболеваниях человека очень часто выявляются мутации гена *TP53*, отвечающего за синтез белка p53 (Petitjean et al., 2007).

Известно, что более 80% мутаций *TP53*, встречающихся в опухолях человека, локализовано в ДНК-связывающем домене (Olivier et al., 2010). Мутации в ДНК-связывающем домене p53, так называемые мутации приобретения функции (gain-of-function mutation; GOF), вызывают локальную денатурацию его трехмерной структуры таким образом, что меняется спектр белков-партнеров белка p53 и сила взаимодействия с ними, приводя к усилению ракового потенциала клеток. Ярким примером является мутация R175H (замена аргинина на гистидин в 175 положении) – одна из наиболее часто встречающихся мутаций при карциноме молочной железы (Olivier et al., 2006). Было показано, что мутантный по R175H белок p53 (mutp53-R175H) способен образовывать стабильные комплексы с шаперонными белками теплового шока (БТШ) Hsp40, Hsp70, Hop и Hsp90 (King et al., 2001; Zylicz et al., 2001). Важно отметить, что повышение уровня экспрессии БТШ наблюдается во многих типах опухолей (Calderwood et al., 2006). Например, при раке груди повышение уровня Hsp70 коррелирует с неблагоприятным прогнозом для больного (Steiner et al., 2006). Поэтому изучение характера взаимодействия mutp53-R175H с БТШ является важной задачей, решение которой позволит глубже понять механизмы образования раковых клеток при мутациях белка p53 в ДНК-связывающем домене, в целом, и при мутации R175H, в частности, а также разработать новые подходы для борьбы с онкологическими заболеваниями, обусловленными данной мутацией.

В норме p53 имеет короткий период полураспада благодаря существованию ряда убиквитин-лигаз (Pirh2, COP-1, WWP1 и др.), которые присоединяют молекулы убиквитина к белку p53, что приводит к его дальнейшему узнаванию 19S-субъединичным

Принятые сокращения: БТШ – белок теплового шока, mutp53 – мутантный белок p53, mutp53-R175H – мутантный по сайту R175H белок p53.