

## ИЗМЕНЕНИЯ УРОВНЯ ДЕУБИКВИТИНАЗЫ Usp28 В КЛЕТОЧНОМ ЦИКЛЕ КЛЕТОК АДЕНОКАРЦИНОМЫ КИШЕЧНИКА НСТ116 СВИДЕТЕЛЬСТВУЮТ О ЕЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РОЛИ В РЕГУЛЯЦИИ ПЕРЕХОДА G<sub>1</sub>/S

© 2020 г. В. М. Рябов<sup>1</sup>, Е. Н. Петрова<sup>1</sup>, Б. В. Попов<sup>1</sup> \*

<sup>1</sup>Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064 Россия

\*E-mail: borisvp478@gmail.com

Поступила в редакцию 19.11.2019 г.

После доработки 02.12.2019 г.

Принята к публикации 05.12.2019 г.

Usp28 является деубиквитирующим ферментом, удаляющим убиквитин из его конъюгатов с субстратами, что предотвращает их деградацию в протеасомах. Современные публикации показывают, что Usp28 и убиквитиновая лигаза Fbw7 создают функциональную пару белков, которая контролирует опосредованную убиквитином деградацию ключевых регуляторов клеточных функций, включая Muc, Jun, Ncd, Hif1. В этой паре белков Usp28 противодействует деструктивной активности Fbw7 и играет роль фактора, способствующего опухолевому росту. Поскольку установленными мишенями Usp28 являются белки Muc и Jun, связанные с клеточным циклом, мы предположили, что Usp28 регулирует деление клеток, и ее уровень может изменяться в ходе клеточного цикла. Целью настоящей работы была оценка изменений уровня Usp28 в ходе клеточного цикла в клетках карциномы кишечника человека НСТ116. Клетки НСТ116 синхронизировали путем 72-часового культивирования в ростовой среде с низким содержанием сыворотки. В асинхронно делящихся клетках уровень Usp28 был невысоким и его локализация выявлялась как ядерно-цитоплазматическая. Общий уровень Usp28 и степень его ядерной локализации возрастали в клетках от состояния асинхронного роста к поздней фазе G<sub>1</sub> с последующим снижением и обратным перераспределением белка из ядра в цитоплазму после завершения фазы G<sub>1</sub>. По данным иммуноблотинга колебания уровней Usp28 и фосфатазы Cdc25A в синхронизированных клетках НСТ116 в клеточном цикле совпадали. Данные иммунофлюоресценции прямо соответствовали результатам иммуноблотинга. Полученные результаты дают возможность предположить, что Usp28 может регулировать уровень и функциональную активность белка Cdc25A, контролирующего вход клетки в фазу репликации ДНК.

**Ключевые слова:** аденокарцинома кишечника, деубиквитиназа Usp28, клеточный цикл, регуляция перехода G<sub>1</sub>/S

DOI: 10.31857/S0041377120030050

Usp28 является белком с мол. массой 140 кДа, который принадлежит к семейству деубиквитирующих ферментов, удаляющих убиквитин с субстратов и отменяющих активность убиквитиновой лигазы и последующую деградацию субстратов в протеасомах (Amerik et al., 2004). Современные исследования показывают, что Usp28 и убиквитиновая лигаза Fbw7 формируют функциональную пару белков, которая контролирует опосредованную убиквитином деградацию нескольких ключевых регуляторов клеточных функций, включая Muc, Jun, Ncd, Hif1. Деградация этих субстратов с помощью Fbw7 предотвращается деубиквитиной Usp28 (Popov et al., 2007; Flugel et al., 2012; Diefenbacher et al., 2014). В нормальных

условиях Usp28 формирует комплекс с Fbw7 и препятствует убиквитинованию субстратов. В этой паре Usp28 противодействует деструктивной активности Fbw7 и играет роль фактора, способствующего росту опухоли (Popov et al., 2007; Diefenbacher et al., 2014, 2015).

Белковая протеаза Usp28 была открыта при анализе состава комплексов, формирующихся путем физического взаимодействия с p53-связывающим белком (53BP) в ходе ответа на повреждение, вызванного двойными разрывами ДНК (Zhang et al., 2006). Usp28 опосредует стабилизацию Chk2, 53BP и индукцию апоптоза в клетках карциномы человека линии H-460 и мышечных В-клетках с индуцированным ответом на повреждение ДНК. Потеря Usp28 повышает устойчивость клеток к апоптозу, вызванному ультрафиолетовым или рентгеновским облучением, и делает их похожими на мышечные клетки, которые не экспрессируют Chk2 и p53 (Zhang et al.,

**Принятые сокращения:** Fbw7 – убиквитиновая лигаза 7 (F-box/WD repeat-containing protein 7); Hif1 $\alpha$  – фактор, чувствительный к гипоксии 1-альфа; Usp28 – убиквитин-специфическая протеаза.