

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-272

**ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРОВ ZMPSTE24 НА РЕПАРАЦИЮ
ПО ПУТИ НЕГОМОЛОГИЧНОГО СОЕДИНЕНИЯ КОНЦОВ ИНДУЦИРОВАННЫХ
ДВУНИТЕВЫХ РАЗРЫВОВ ДНК В КЛЕТКАХ ФИБРОСАРКОМЫ HT1080**

**THE EFFECT OF ZMPSTE24 INHIBITORS ON THE REPAIR OF INDUCED DNA DOUBLE-STRAND
BREAKS IN HT1080 FIBROSARCOMA CELLS**

В. Р. Осипова^{1,2}, С. В. Лаврушкина², И. И. Киреев²

¹Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова

²НИИ физико-химической биологии им. А. Н. Белозерского,
Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова

V. R. Osipova^{1,2}, S. V. Lavrushkina², I. I. Kireev²

¹Lomonosov Moscow State University

²Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University

✉ osipova1910v@gmail.com

Аннотация

Ингибирование ZMPSTE24 лопинавиром и фозиноприлом приводит к изменениям в работе репарации путем нехомологического соединения концов, мешая нормальному восстановлению двухцепочечных повреждений ДНК, индуцированных этопозидом.

Abstract

Inhibition of ZMPSTE24 by lopinavir and fosinopril leads to changes in the repair process by non-homologous end joining, interfering with the normal repair of double-stranded DNA damage induced by etoposide.

Метастазирование опухолевых клеток является одной из ключевых проблем современной онкологии. Возможным вариантом борьбы с этим явлением может быть изменение механических свойств клеток с целью препятствия их миграции через плотный межклеточный матрикс. Для этого может быть применен подход изменения состава ядерной ламины с целью влияния на вязкоупругие свойства ядра, которое является лимитирующим фактором для мигрирующей клетки [1, 2]. Отношение преламина к зрелому ламину А меняет баланс между пластичностью и жесткостью ядра. Применение ингибиторов металлопротеазы ZMPSTE24, участвующей в посттрансляционных модификациях ламинов, приводит к увеличению прочности ядра, что мешает проникновению клеток через меньшие поры [3, 4]. Однако это может сопровождаться разрывами ядерной мембраны и, как следствие, механическим повреждением ДНК, в худшем случае приводя к двухцепочечным разрывам. Репарация данного вида повреждений может быть затруднена в связи с тем, что в условиях ингибирования ZMPSTE24 и, как следствие, накопления преламина, возможно, оказывается эффект на состояние хроматина и систем репарации, в частности на путь нехомологического соединения концов, белки которого в норме связаны с ламинами [5, 6]. Поэтому для понимания перспектив применения ингибиторов ZMPSTE24, лопинавира и фозиноприла необходимо не только оценить их прямую эффективность, но и понять характер оказываемого влияния на системы репарации ДНК, в особенности двухцепочечных разрывов, что и стало целью работы.

В настоящей работе были выбраны белки-маркеры репарации двухцепочечных разрывов — 53bp1 и уН2АХ — для оценки динамики образования фокусов в условиях химической индукции повреждений этопозидом ингибиторов топоизомеразы II на клетках фибросаркомы человека HT1080.

Иммуноцитохимический анализ с непрямым мечением антителами обоих фокусов в фиксированных клетках показал, что при воздействии как лопинавира, так и фозиноприла начальный уровень двухцепочечных повреждений повышен, а после химической индукции разрывов число и площадь фокусов не возвращается к исходному столь же быстро, как в контрольных клетках.

Прижизненный анализ на клетках HT1080 с транзientной трансфекцией для экспрессии меченного GFP белка 53bp1 позволил установить более сложный процесс изменения числа фокусов белка-маркера двухцепочечных разрывов. Во всех группах прослеживалось несколько разных паттернов изменения числа фокусов в ответ на повреждения, но в клетках, инкубированных с ингибиторами, менялось соотношение представителей каждого

паттерна фокусообразования, шло более активное накопление неразрешенных фокусов 53bp1, что свидетельствует о замедлении работы системы репарации по пути нехомологичного соединения концов.

Для дальнейшего понимания влияния, оказываемого ингибиторами ZMPSTE24 на клетки, необходимо рассмотреть путь гомологичной рекомбинации, которая, возможно, позволит построить полную модель изменения динамики репарации двухцепочечных разрывов при этом виде терапии метастазирования.

Литература

1. Kalukula Y. et al. Mechanics and functional consequences of nuclear deformations // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2022. Vol. 23, No. 9. P. 583–602.
2. Yamada K.M., Sixt M. Mechanisms of 3D cell migration // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2019. Vol. 20, No. 12. P. 738–752.
3. Mehmood S. et al. Mass spectrometry captures off-target drug binding and provides mechanistic insights into the human metalloprotease ZMPSTE24 // *Nat. Chem.* 2016. Vol. 8, No. 12. P. 1152–1158.
4. Evangelisti C. et al. Lamin A and prelamin A counteract migration of osteosarcoma cells // *Cells.* 2020. Vol. 9, No. 3. P. 774.
5. Gonzalo S. DNA damage and lamins // *Cancer biology and the nuclear envelope: recent advances may elucidate past paradoxes.* 2014. P. 377–399.
6. Matralis A.N. et al. Molecular tools that block maturation of the nuclear lamin A and decelerate cancer cell migration // *Bioorg. Med. Chem.* 2018. Vol. 26, No. 20. P. 5547–5554.