

**Новые химические соединения для новых противоопухолевых мишеней:
необычные эффекты ингибирования протеинкиназ DYRK и Clk**

Научный руководитель – Татарский Виктор Вячеславович

Демина Ксения Андреевна

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра клеточной биологии и гистологии, Москва, Россия

E-mail: ksenush@yandex.ru

Протеинкиназы семейств DYRK (тирозин-регулируемые киназы двойной специфичности) и Clk (CDC-подобные киназы) регулируют множество сигнальных каскадов, что делает эти белки перспективными мишенями противоопухолевых лекарств. Мы исследовали механизмы цитотоксичности пиридо[3,4-*g*] хиназолин-2,10-диамина (соединение **1**) - нового ингибитора DYRK1A и Clk1 (в бесклеточной системе IC₅₀ = 28 нМ и 41 нМ, соответственно). Соединение **1** также подавляло митотическую протеинкиназу Haspin (IC₅₀ = 50 нМ). Соединение **1** индуцировало гибель клеток карциномы толстой кишки НСТ116, сублинии НСТ116p53КО с нефункционирующим p53 и опухолевых клеток иного тканевого происхождения (IC₅₀ ~0.7-4 мкМ). Через 24 ч инкубирования с 5-10 мкМ **1** клетки НСТ116 и НСТ116p53КО задерживались в фазе G2, одновременно повышался процент гиподиплоидных ядер (фрагментация ДНК). В линии НСТ116 накопление в G2 сопровождалось активацией p53-p21^{Waf1}; в сублинии НСТ116p53КО задержка в G2 достигалась независимо от p53 и p21^{Waf1}. Премитотическая остановка подтверждена ингибированием фосфорилирования гистона 3 по Ser10 и Thr3, исключая роль Haspin-опосредованного механизма. Этим эффектам предшествовало раннее (1 ч) выявление признаков повреждения ДНК - фосфорилирование гистона 2AX по Ser139 и протеинкиназ Chk1 (Ser345) и Chk2 (Thr68). Фосфорилирование этих маркеров прекращалось при ингибировании протеинкиназы ATM, но не ATR, указывая на участие ATM в ответе клеток на повреждение ДНК, вызванное соединением **1**. Соединение **1** (5 мкМ, 1 ч) вызывало внутриклеточное накопление активных форм кислорода, однако этот эффект не являлся причиной повреждения ДНК, т.к. антиоксидант N-ацетилцистеин отменял вызванный **1** кислородный “взрыв”, но не фосфорилирование гистона 2AX. Таким образом, эффекты **1** разнообразны, что обуславливает ценность этого химического класса для создания противоопухолевых препаратов. Быстрое повреждение ДНК - нетривиальное свойство нового ингибитора DYRK и Clk.