

**Роль эпигенетических факторов в активации транскрипции генов-мишеней АНР человека: эксперименты на дрозофиле и на клеточных культурах**

**Научный руководитель – Воронцова Юлия**

**Акишина Ангелина Александровна**

*Кандидат наук*

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

*E-mail: ilitiri@bk.ru*

Арил-гидрокарбоновый рецептор (Aryl hydrocarbon receptor, АНР) является высококонсервативным лиганд-зависимым цитозольным транскрипционным фактором. Гены-мишени АНР играют ключевую роль в регуляции процессов развития, детоксикации и поддержания гомеостаза эукариот. Наиболее изученными генами-мишенями АНР являются гены, кодирующие ферменты системы цитохрома р450 (СYP), которые участвуют в метаболизме гормонов и лекарственных соединений. Активность АНР зависит от наличия экзогенных и эндогенных лигандов.

Попадая в цитоплазму клетки, лиганд взаимодействует с АНР, который далее перемещается в ядро, где вместе с ARNT (АНР Nuclear Translocator) формирует транскрипционный комплекс для активации своих генов-мишеней.

Целью нашей работы было изучить влияние эпигенетических факторов на индуцибельную экспрессию генов-мишеней АНР человека в условиях его активации в тканях глазного поля трансгенных дрозофил *GMR>АНР in vivo*. Дополнительно мы провели подобные эксперименты, используя клетки эмбриональных почек человека линии НЕК293 и опухолевые клетки глиобластомы человека Sus\fp2.

Для активации АНР применяли следующие широко известные лиганды-агонисты: индол-3-карбинол, индирубин и бета-нафтофлавоноид. Для подавления эпигенетических модификаторов, вызывающих локальную конденсацию хроматина и остановку работы гена, использовали: ингибитор гистоновой метилтрансферазы E(z) (UNC1999) и ингибитор гистоновой деацетилазы HDAC (белинонат), который не так давно начали рассматривать, как возможное терапевтическое средство для лечения различных типов глиом, в том числе и глиобластом [3,4].

Оказалось, что лиганды-агонисты по-разному влияли на экспрессию генов-мишеней АНР: ряд генов повышал свою экспрессию, были такие, кто не реагировал, у остальных экспрессия понижалась. Добавление в кормовую среду личинок *GMR>АНР* помимо лигандов АНР одного из двух ингибиторов эпигенетических супрессоров, белиноната или UNC1999, приводило к реактивации его молчащих генов-мишеней.

Мы сделали вывод, что инактивация эпигенетических факторов, ответственных за тканеспецифическую локальную конденсацию хроматина, меняет хроматиновый статус регуляторных областей молчащих генов-мишеней, делая их доступными для взаимодействия с АНР, что приводит к активации экспрессии этих генов лигандами-ксенобиотиками.

В ходе дальнейших экспериментов, мы выяснили, что в клетках опухолевого Sus\fp2 и неопухолевого НЕК293 происхождения, в которых работает путь *АНР/СYP1*, способность генов-мишеней реагировать на активацию АНР индирубином и индол-3-карбинолом также зависит от статуса хроматина их регуляторных зон и активности эпигенетических факторов, как и в экспериментах на дрозофиле *in vivo*. Кроме того, белинонат ожидаемо повышал уровень экспрессии самого АНР в клеточных культурах.

Таким образом, нами был обнаружен механизм контроля индуцибельной экспрессии генов-мишеней АНР, который заключается в том, что внешний сигнал (лиганд), активирующий транскрипционную функцию АНР, вызывает эффективный ответ его генов-

мишеней только в тех тканях и клетках и на тех стадиях развития, когда ДНК регуляторных областей этих генов находится в доступном для взаимодействия с АНР состоянии [1,2].

На данный момент не выявлен полный спектр генов, экспрессию которых белинонат может контролировать в опухолевых и неопухолевых клетках. Тем не менее известно его прямое влияние на экспрессию генов, чьи продукты ответственны за арест клеточного цикла и апоптоз, что важно для онкотерапии [4]. Белинонат также активирует экспрессию гена *AHR* и двух его генов-мишеней (*CYP1A1* и *CYP1B*), в клетках глиобластомы, усиливая действие лигандов АНР. Так как лиганды АНР и эпигенетические ингибиторы используются в противоопухолевой терапии разных видов рака, в том числе глиобластом [5], результаты нашей работы необходимо учитывать при разработке новых комбинаций терапевтических схем лечения онкологических заболеваний.

Данное исследование выполнено при финансовой поддержке раздела Государственного задания ИБР РАН № 0088-2021-0007.

### Источники и литература

- 1) Акишина А.А., Воронцова Ю.Е., Черезов Р.О. и др. Эпигенетическая модуляция транскрипции генов-мишеней арил-гидрокарбонового рецептора человека в трансгенной линии *Drosophila melanogaster* // Биомика. 2020. Т. 12. № 4. С. 504-509
- 2) Akishina A., Vorontsova J., Cherezov R. et al. Xenobiotic-induced activation of human Aryl hydrocarbon receptor target genes in *Drosophila* is mediated by the epigenetic chromatin modifiers // *Oncotarget*. 2017. V. 8. № 61. P. 102934-102947
- 3) Gurbani S.S., Yoon Y., Weinberg B.D. et al. Assessing Treatment Response of Glioblastoma to an HDAC Inhibitor Using Whole-Brain Spectroscopic MRI // *Tomography*. 2019. V. 5. № 1. P. 53-60
- 4) Kusaczuk M., Krętowski R., Stypułkowska A. et al. Molecular and cellular effects of a novel hydroxamate-based HDAC inhibitor - belinostat - in glioblastoma cell lines: a preliminary report // *Invest. New Drugs*. 2016. V. 34. № 5. P. 552-564
- 5) Sherer C., Tolaymat I., Rowther F. et al. Preliminary SAR on indole-3-carbinol and related fragments reveals a novel anticancer lead compound against resistant glioblastoma cells // *Bioorg. Med. Chem. Lett*. 2017. V. 27. № 7. P. 1561-1565