

# Ген RB и его враги: поиск потенциальных мишней для опухолевых клеток с инактивацией генов RB или TSC2

## RB and its enemies: search for the potential targets of tumor cells with RB or TSC2 inactivation

Sofia Bezuglaia\*, Elizaveta Chernova\*, Elizaveta Korshikova\*, Adeliia Salimova\*, Kseniia Selifanova\*, Stepan Shapiguzov\*, Alisa Yakupova\*, Kseniia Zaitseva\*, Liliya Fakhranurova, Ekaterina Maksimova, Karen Sarkisyan, Andrey Parkhitko

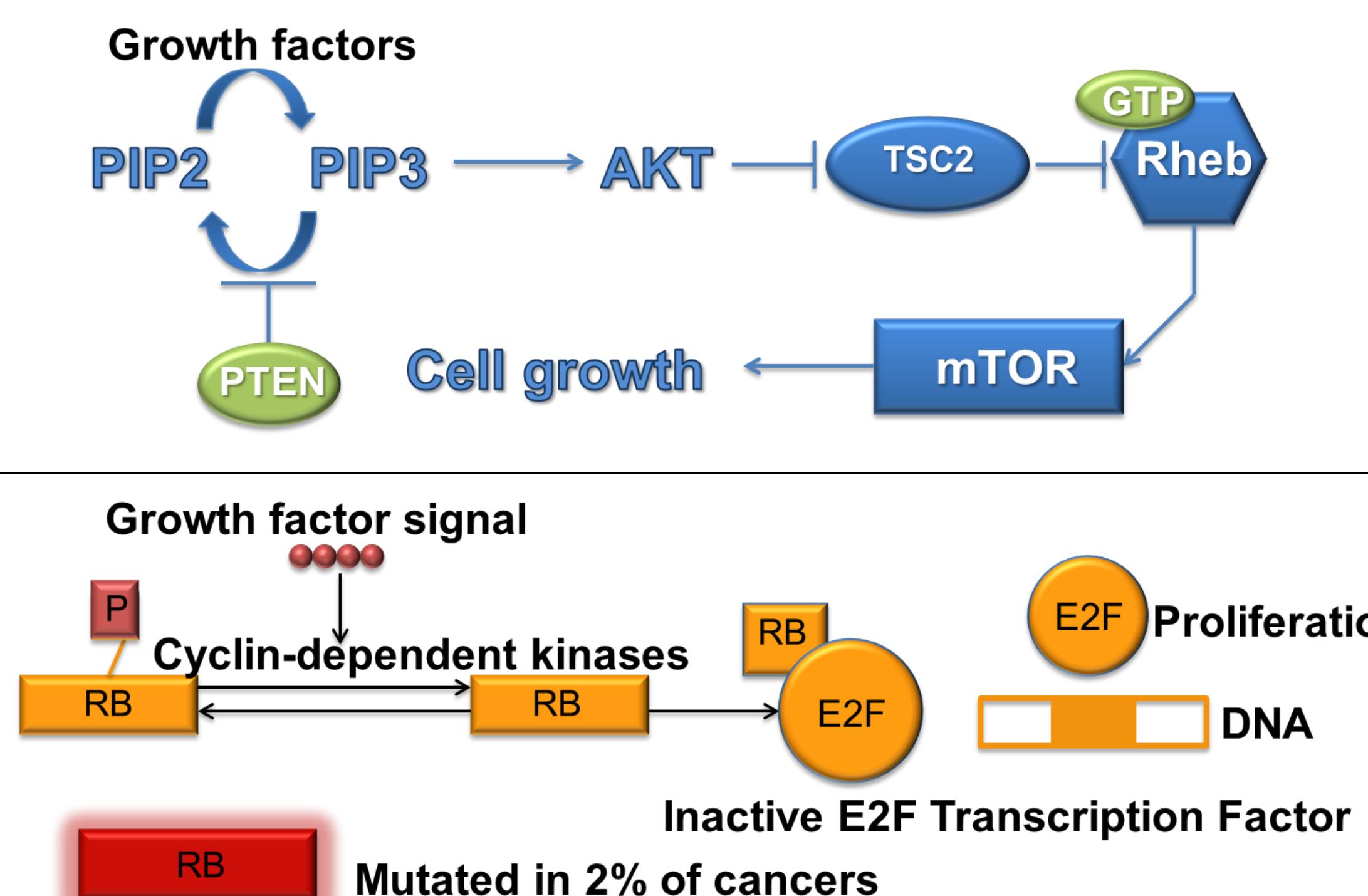
School of Molecular and Theoretical Biology 2016, Barcelona, Spain , \* equal contribution

### INTRODUCTION

Опухолевые заболевания – одна из ведущих причин смертности в мире. Разработка лекарств и методов лечения злокачественных новообразований является важной и не до конца решенной научной задачей. Одной из основных причин развития опухолей являются мутации в генах супрессорах опухолевого роста. Для селективного удаления раковых клеток с инактивацией опухолевого супрессора (в нашем случае: RB и TSC2) мы использовали принцип синтетической летальности. Синтетическая летальность возникает в клетках с комбинацией двух мутаций, в результате чего клетки умирают, в то время как одиночная мутация никак себя не проявляет. В нашей работе мы моделировали опухолевые клетки с инактивацией супрессоров опухолевого роста RB и TSC2. С помощью этой модели мы оценивали влияние различных генов (в частности метилтрансферазы DOT1L и ее ингибитора EPZ 004777) на рост опухолевых клеток по сравнению с нормальными клетками. На основании полученных результатов мы выбрали потенциальные мишени для дальнейшей разработки противоопухолевых препаратов.

Cancer is one of the leading causes of mortality in the world. Mutations of tumor suppressor genes are one of the major mechanisms of tumor development and growth. To selectively target tumor cells with inactivation of specific tumor suppressor gene (in our case: RB and TSC2) we utilized principle of synthetic lethality. Synthetic lethality arises when a combination of mutations in two genes leads to cell death, whereas a mutation in only one of these genes does not have any phenotype. In our project we created models of tumor cells with inactivation tumor suppressor genes RB and TSC2. Using this model we evaluated effects of different genes (particularly effect of methyltransferase DOT1L and its inhibitor EPZ 004777) on growth of tumor cells comparing to normal cells. Based on our results, we selected potential targets for further investigation and anti-cancer therapeutics development.

Figure 1. Scheme of RB1 and TSC2 tumor suppressors



Mutated in 2% of cancers

### MATERIALS AND METHODS

**Drugs** (химические препараты): EPZ 004777 (DOT1L inhibitor) and DMSO

**Cell culture and transfections:** HEK293T cells were grown in DMEM supplemented with 10% FBS, L-glutamine and Penicillin/Streptomycin. Cells were transfected using Lipofectamine2000 according to manufacturer instructions.

**Proliferation assays** (измерение пролиферации): Cell proliferation was measured using ATPlite and Crystal Violet.

**ATPlite:**



**Crystal Violet:**



### RESULTS

Figure 2. DOT1L inhibitor (EPZ 004777) selectively suppresses proliferation of TSC2-deficient cells

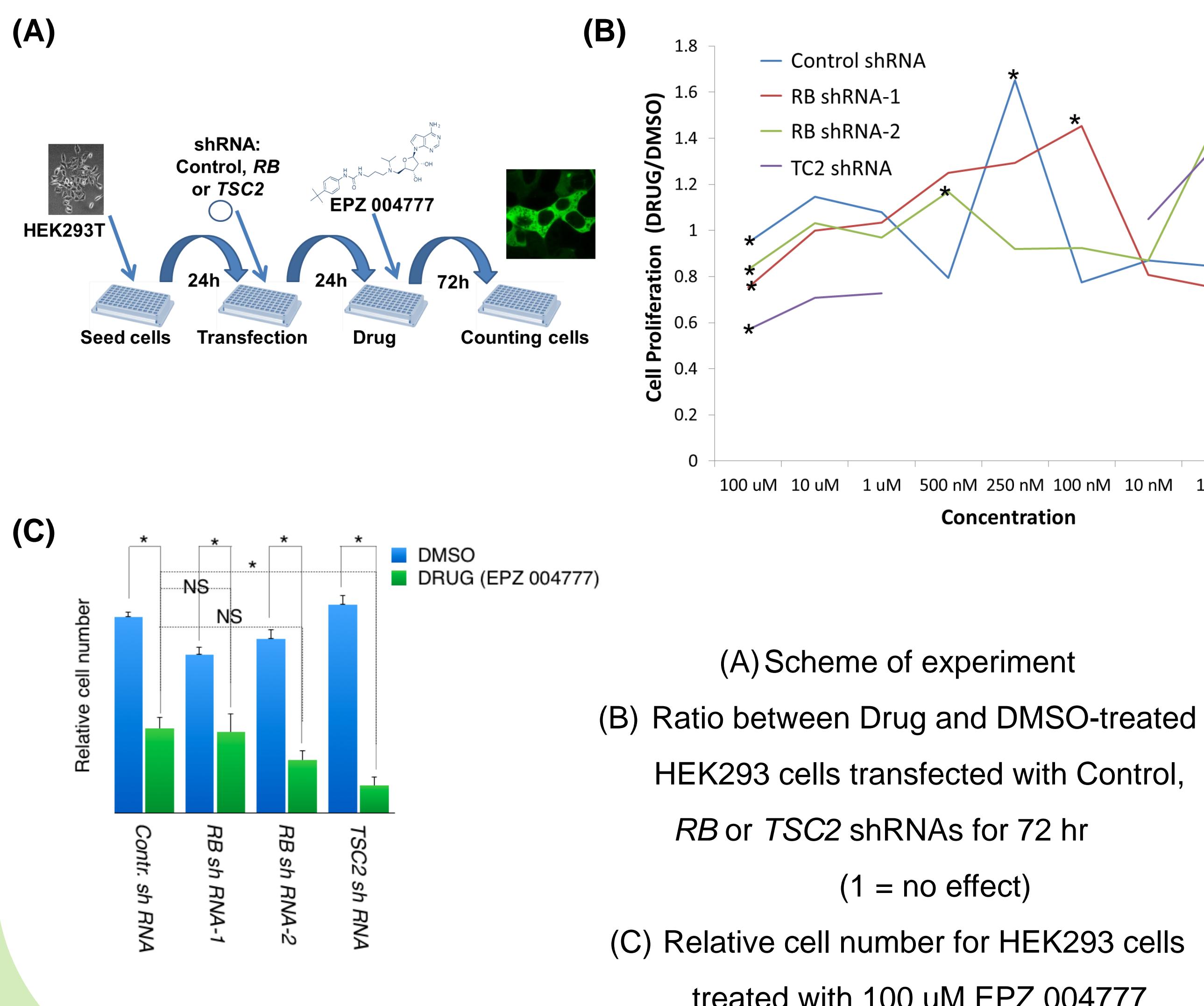


Figure 3 . Cell proliferation measured with ATPlite

HEK293 cells transfected with control, RB or TSC2 sh RNAs and 2 different DOT1L shRNAs for 72 hr.

(A) Scheme of experiment (B) HEK293 cells were transfected with control, RB or TSC2 shRNAs and Control or DOT1L shRNAs *Pten* and *Rb1* shRNAs for 72 hr.

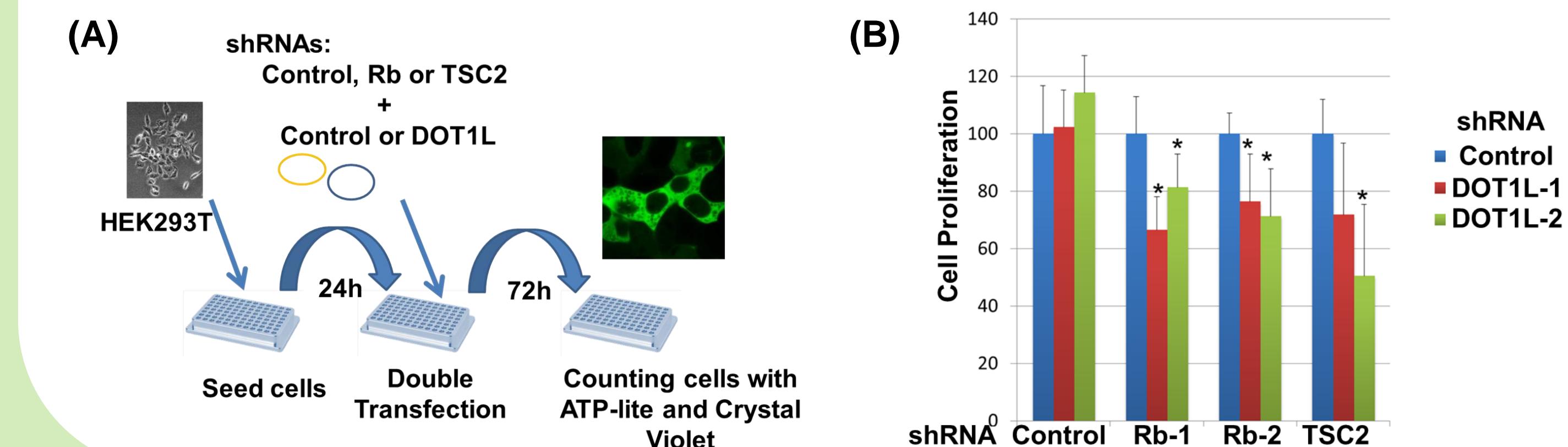
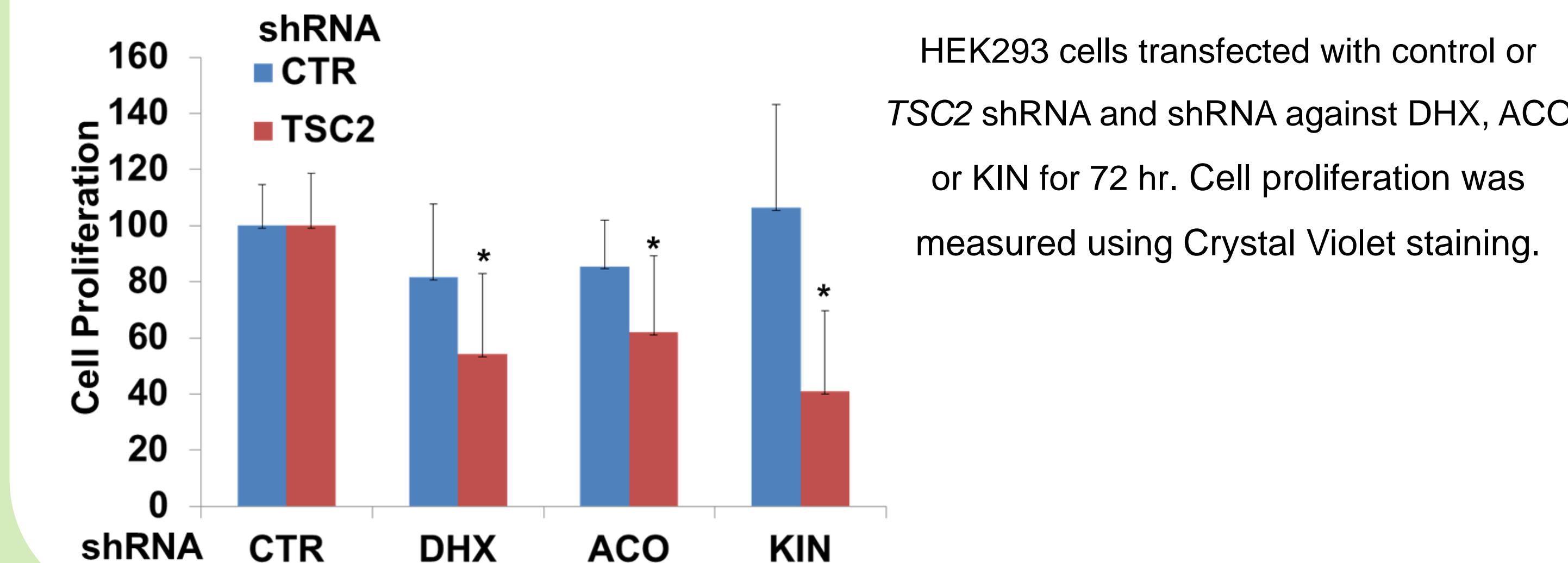


Figure 4. Downregulation of DHX, ACO and KIN suppresses growth of TSC2-deficient cells



### CONCLUSIONS

1. DOT1L ингибитор (EPZ 004777) селективно замедляет пролиферацию клеток с инактивацией гена TSC2 при концентрации 100  $\mu$ M  
DOT1L inhibitor (EPZ 004777) selectively suppresses proliferation of TSC2-deficient cells at the concentration 100  $\mu$ M
2. Инактивация гена DOT1L селективно ингибирует пролиферацию клеток с инактивацией гена TSC2  
DOT1L downregulation selectively suppresses proliferation of TSC2 -deficient cells
3. Инактивация генов DHX, ACO и KIN ингибирует пролиферацию клеток с инактивацией гена TSC2  
Downregulation of DHX, ACO and K/N suppresses growth of TSC2-deficient cells

### ACKNOWLEDGEMENTS

