

ТРАНСКРИПТОМНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В КЛЕТКАХ РАКА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ siRNA ПОДАВЛЕНИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА SOX9

Л.Г. Кондратьева, Е.П. Копанцев, И.П. Чернов

ФГБУН ИБХ им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

Транскрипционный фактор SOX9 являются одним из главных участников ген-регуляторной сети эмбриогенеза поджелудочной железы (ПЖ) и процессов развития предраковых состояний ПЖ и злокачественной трансформации. Известно, что функция SOX9 связана с несколькими протонкогенными свойствами, включающими способность стимулировать пролиферацию, ингибировать старение клеток и взаимодействовать с другими онкогенами в трансформации опухоли. В данной работе были исследованы транскриптомные изменения, происходящие в клетках линий рака ПЖ при siRNA деплеции гена SOX9.

Для подавления экспрессии белка SOX9 в клетках линий рака ПЖ PANC1 и Colo357 использовали siРНК дуплексы и трансфекцию с помощью RNAiMAX. Для определения уровня подавления белкового синтеза SOX9 в лизатах клеток использовали вестерн блот анализ, уровни экспрессии генов оценивали с помощью RNA-seq и qRT-PCR. Были обнаружены дифференциально экспрессируемые гены в клетках линий PANC1 и Colo357 при siRNA деплеции гена SOX9. С помощью биоинформатического анализа были определены функциональные категории, обогащённые генами с изменённым уровнем экспрессии.

Для клеток линий PANC1 и Colo357 были обнаружены значительные отличия в профилях экспрессии множества генов, в частности, относящихся к таким клеточным процессам как пролиферация, адгезия, программируемая клеточная гибель, подвижность и к межклеточным взаимодействиям. Выявлены значительные отличия по количеству транскриптов генов – маркеров эпителиальной и мезенхимальной дифференцировки. Данные RNA-seq показали большее содержание транскриптов мезенхимальных генов в линии PANC1, чем в линии Colo357. Результаты вестерн блот анализа подтвердили «более эпителиальный» статус клеток линии Colo357 и «более мезенхимальный» – PANC1.

Деплеция гена SOX9 в клетках линии PANC1 привела к изменению более чем в 2 раза экспрессии 1049 генов (DESeq2, $p\text{-adj}<0,05$), при этом содержание транскриптов 653 генов оказалось сниженным, а 396 – повышенным. Нокдаун гена SOX9 в клетках линии Colo357 привел к изменению более чем в 1,5 раза экспрессии 397 генов (DESeq2, $p\text{-adj}<0,05$), с повышением содержания транскриптов 111 генов и снижением – 286 генов. Таким образом, можно отметить, что транскриптомные изменения клеток линии Colo357 в ответ на нокдаун гена SOX9 были менее выражены, чем в линии PANC1. При этом, как среди генов с повышенной, так и с пониженной экспрессией были обнаружены общие для двух линий гены. Большая часть общих, изменивших уровень экспрессии генов, принадлежит к функциональной категории генов, вовлеченных в клеточный метаболизм фосфата в. В обеих исследованных клеточных линиях нокдаун гена SOX9 приводил к изменениям экспрессии генов связанных с клеточной адгезией, организацией внеклеточного матрикса, а также генов, вовлеченных в сигнальные каскады от рецепторов на поверхности клетки.

Были выявлены изменения в уровнях транскрипции генов, вовлеченных в процессы регуляции клеточного цикла. При этом, в клеточной линии PANC1 при нокдауне гена SOX9 преимущественно происходит подавление экспрессии множества генов данной категории. Полученные данные согласуются с экспериментами *in vitro*: было выявлено повышение уровня экспрессии белков ингибиторов митотической прогрессии p21 и p27, снижение скорости роста клеток линии, а также уменьшение доли клеток, находящихся в S и G2 фазах клеточного цикла. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о снижении способности клеток линии PANC1 с подавленным уровнем синтеза белка SOX9 вступать в митоз и понижении их пролиферативной активности.

Исследование выполнено за счёт гранта Российского Фонда Фундаментальных Исследований (проект № 20–015–00447).