

ЗАМЕДЛЕНИЕ РОСТА АГРЕССИВНОЙ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ ГЛИОБЛАСТОМЫ В РЕЗУЛЬТАТЕ ПОДАВЛЕНИЯ ЭНХАНСЕРНОЙ РНК ЗАВИСИТ ОТ СПОСОБА НОКДАУНА

Стасевич Е. М. ^{1,3},
Симонова А. В. ²,
Потеряхина А. В. ²,
Бери У. Р. ²,
Богомолова Э. А. ²,
Уварова А. Н. ¹,
Мурашко М. М. ²,
Жеремян Э. А. ¹,
Корнеев К. В. ¹,
Купраш Д. В. ¹,
Демин Д. Э. ¹

¹ Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Центр высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины, Москва, Россия.

² Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия.

³ Московский физико-технический институт, Московская область, г. Долгопрудный, Россия.

SLOWING THE GROWTH OF AN AGGRESSIVE GLIOBLASTOMA CELL LINE BY ENHANCER RNA SILENCING DEPENDS ON THE KNOCKDOWN METHOD

Stasevich E. M. ^{a, c},
Simonova A. V. ^b,
Poteryakhina A. V. ^b,
Beri U. R. ^b,
Bogomolova E. A. ^b,
Uvarova A. N. ^a,
Murashko M. M. ^b,
Zheremyan E. A. ^a,
Korneev K. V. ^a,
Kuprash D. V. ^a,
Demin D. E. ^a

^a Center for Precision Genome Editing and Genetic Technologies for Biomedicine, Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia.

^b Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia.

^c Moscow Center for Advanced Studies, Moscow, Russia.

Резюме

Глиобластома является наиболее частой и агрессивной опухолью головного мозга, характеризующейся низкой выживаемостью пациентов. Одной из сложностей в лечении глиобластомы является устойчивость клеток к темозоломиду - основному химиотерапевтическому агенту, применяемому для борьбы с данным заболеванием. Известно, что фактор транскрипции STAT3 играет важную роль в росте и метастазировании опухолевых клеток. Ингибирование STAT3 или подавление экспрессии гена STAT3 снижает устойчивость клеток глиобластомы к темозоломиду. Энхансерные РНК (эРНК) — это некодирующие РНК, которые транскрибируются с энхансерных областей генома. эРНК могут влиять на экспрессию ключевых генов, задействованных в различных биологических процессах, в том числе онкогенов. Ранее нами был произведен поиск эРНК, потенциально влияющих на устойчивость клеток глиобластомы к темозоломиду. Нокдаун энхансерной РНК TMZR1-eRNA (ENSG00000289579) в клеточной линии DBTRG-05MG приводил к снижению экспрессии гена STAT3 и увеличивал чувствительность клеток к темозоломиду. Было показано влияние нокдауна энхансерной РНК на активность промотора гена STAT3 как отдельно, так и в совместной системе с энхансером, с которого происходит транскрипция этой эРНК. В данной работе была исследована активность TMZR1-eRNA в клеточной линии глиобластомы U-251. По сравнению с ранее изученной клеточной линией DBTRG-05MG, линия U-251 является более агрессивной, имеет большую скорость пролиферации и была получена из ткани пациента на более поздней стадии заболевания. Нокдаун TMZR1-eRNA с помощью малых интерферирующих РНК привел к снижению экспрессии гена STAT3, при этом не было обнаружено влияния подавления эРНК на клеточный рост как при добавлении темозоломида, так и в контрольных условиях культуральной среды с ДМСО. Для изучения влияния конститутивного (длительного) подавления эРНК была создана клеточная культура U-251, экспрессирующая короткие шпилечные РНК (shRNA), нацеленные на TMZR1-eRNA. В полученной клеточной линии наблюдалось значимое повышение экспрессии мРНК гена STAT3 относительно контроля. При этом анализ жизнеспособности продемонстрировал значимое замедление скорости роста клеточной линии, экспрессирующей короткие шпилечные РНК к TMZR1-eRNA, по сравнению с контрольной. Значимый эффект наблюдался как при добавлении темозоломида, так и в культуральной среде с ДМСО.

Ключевые слова: энхансерная РНК, эРНК, глиобластома, РНК-интерференция, некодирующая РНК.

Abstract

Glioblastoma is the most frequent and aggressive brain tumor, with a low survival rate. One of the challenges in treating glioblastoma is the resistance of cells to temozolomide, the main chemical agent used to fight the disease. The STAT3 gene is known to play a significant role in the growth and metastasis of tumor cells. Inhibition of STAT3 or suppression of its expression reduces the resistance of glioblastoma cells to temozolomide. Enhancer RNAs (eRNAs) are non-coding RNAs that are transcribed from enhancer regions. eRNAs can affect the expression of key genes of various biological processes, including oncogenes. Previously, we conducted a search for an eRNAs that may potentially affect glioblastoma cell resistance to temozolomide. Knockdown of TMZR1-eRNA (ENSG00000289579) in DBTRG-05MG cell line resulted in decreased STAT3 gene expression and increased cell sensitivity to temozolomide. The effect of enhancer RNA knockdown on STAT3 gene promoter activity has been shown both alone and together with the enhancer from which this eRNA is transcribed. The current study was designed to investigate the potency of TMZR1-eRNA in a glioblastoma cell line U-251. Compared to the previously studied cell line DBTRG-05MG, the U-251 cell line is more aggressive, has a higher proliferation rate and was derived from patient tissue at a later stage of the disease. Knockdown of TMZR1-eRNA by small interfering RNAs resulted in a decrease in STAT3 gene expression. No effect on cell growth was observed both when temozolomide was added and in control conditions of culture medium with DMSO. To study the effect of constitutive suppression of eRNAs, U-251 cell cultures expressing short hairpin RNA (shRNA) targeting TMZR1-eRNA and control vector were transduced. A significant increase in STAT3 mRNA expression was observed in the obtained cell lines relative to the control. At the same time, viability analysis demonstrated a significant slowdown in the growth rate of the cell line expressing short hairpin RNAs to TMZR1-eRNA compared to the control. A significant effect was observed both when temozolomide was added and in culture medium with DMSO.

Keywords: enhancer RNA, eRNA, glioblastoma, RNA interference, non-coding RNA.

1 Введение

Глиобластома является одной из самых агрессивных и злокачественных форм рака мозга с низкой пятилетней выживаемостью. В качестве стандартной химиотерапии при диагностированной глиобластоме широко используется темозоломид (TMZ). Однако развитие резистентности к TMZ часто становится фактором, ограничивающим эффективность лечения [8].

STAT3 - член семейства белков STAT, который может активироваться рядом цитокиновых рецепторов и воздействовать на различные биологические процессы, в частности, запускать патогенез злокачественных опухолей, в том числе глиобластомы. Было показано, что экспрессия STAT3 в тканях глиобластомы значительно выше, чем в нормальных клетках мозга, а ингибирование STAT3 может эффективно подавлять рост и метастазирование [4].

Длинные некодирующие РНК играют важную роль в развитии и прогрессии рака, регулируя различные биологические процессы, включая клеточную пролиферацию и апоптоз, а также влияя на экспрессию онкогенов [9] и контролируя реакцию на повреждения ДНК [7]. Энхансерными РНК (эРНК) называют длинные некодирующие РНК, которые транскрибируются с энхансерных областей генома. Известно, что РНК с регуляторных областей задействованы в многих клеточных механизмах [10], в том числе способны специфично контролировать экспрессию онкогенов и влиять на химиорезистентность [12].

В нашей предыдущей работе был произведен поиск эРНК, потенциально влияющих на химиорезистентность клеток глиобластомы к TMZ [11]. В результате поиска была отобрана эРНК TMZR1-eRNA (ENSG00000289579), экспрессия которой коррелирует с экспрессией гена STAT3. Данная эРНК расположена в энхансерной области GH17J042405 (по базе GeneHancer [3]), на расстоянии около 23 kb от старта транскрипции STAT3 в интроне гена CAVIN1. Было показано, что нокдаун эРНК TMZR1-eRNA в клеточной линии глиобластомы DBTRG-05MG приводит к снижению экспрессии гена STAT3 и влияет на устойчивость клеток к TMZ [11].

Гетерогенность опухолей мозга является большой проблемой для подбора эффективного лечения. Так, например, ранее нами изученная клеточная линия DBTRG-05MG была получена из клеток анапластической астроцитомы III стадии [6]. В данной работе мы сосредоточились на изучении влияния РНК TMZR1-eRNA на рост клеточной линии U-251. Линия U-251 была получена из ткани глиобластомы IV стадии и является более агрессивной по сравнению с DBTRG-05MG, которая растет с умеренной скоростью, но отличается большей устойчивостью к темозоломиду. Отчетливые различия между DBTRG-05MG и U-251, влияющие на реакцию клеток на противораковые препараты, обнаруживаются и на уровне транскриптома [5].

42 2 Материалы и методы

43 Ведение клеточных линий и нокдаун

44 Клеточная линия U-251 велась на среде DMEM с содержанием глюкозы 4,5 г/л
45 (Панэко), с добавлением смеси антибиотиков из пенициллина (100 Ед./мл) и
46 стрептомицина (100 мкг/мл) (Панэко), 1% раствора заменимых аминокислот
47 (Панэко) и 10% эмбриональной бычьей сывороткой (FBS, Biosera).

48 Подавление эРНК TMZR1-eRNA [11] производилось с помощью метода РНК-
49 интерференции. Для этого с помощью программы Invivogen siRNA Wizard
50 v3.1 tool (<https://www.invivogen.com/sirnawizard/>) были подобраны
51 последовательности малых интерферирующих РНК (siRNA)::
52 GCCAGAUCTCGAGUUUAGACAdTdT;
53 UGUCUAAACUCGAGAUCUGGCdTdT (ДНК-Синтез). В качестве контроля
54 были использованы рандомизированные РНК
55 GGUGUACCAACGACUCA AUGTdTdT;
56 ACAUUGAGUCGUUGGUACACCTdTdT (ДНК-Синтез). Доставка siRNA
57 производилась с помощью реагента GenJect-40 (Молекта, Россия), который
58 обладает некоторой токсичностью для клеток, замедляющей их рост.

59 Стабильные клеточные линии с нокдауном эРНК и контрольная клеточная
60 линия были получены путем лентивирусной трансдукции с помощью вектора
61 pLSL-puro [2]. Клетки селектировались на пуромицине при концентрации 5
62 мкг/мл. Нокдаун эРНК обеспечивался постоянной экспрессией в клетках
63 коротких шпилечных РНК (shRNA), нацеленных на ту же последовательность
64 в составе TMZR1-eRNA, что и siRNA. В качестве контроля использовалась
65 стабильная клеточная линия с пустым вектором.

66 Анализ клеточной пролиферации в реальном времени

67 Оценка уровня клеточной пролиферации осуществлялась с помощью
68 клеточного анализатора xCelligence DP (Agilent, США). Клеточная линия
69 дикого типа или со стабильным нокдауном эРНК или с контрольной шпилькой
70 высаживалась в количестве 10^4 клеток на лунку. К клеткам добавляли
71 свежую питательную среду до финального объема 200 мкл на лунку. При
72 подавлении экспрессии эРНК с помощью siRNA доставка молекул
73 осуществлялась описанным ранее методом. Спустя 1 час после посадки клеток
74 в культуральную среду добавляли раствор темозоломида (Baxter Oncology
75 GmbH, Германия) в DMSO в концентрации 20 мкг/мл или только DMSO в
76 качестве контроля. Измерения производились каждые 15 минут в течении 96
77 часов с момента посадки. Результаты измерений отображались в виде графика
78 функции зависимости клеточного индекса (отражающего изменения значений
79 сопротивления электрода вследствие изменения количества клеток в лунке) от
80 времени.

81 Выделение РНК и полимеразная цепная реакция в реальном времени.

Выделение тотальной РНК из клеток производилось через 24 часа после трансфекции с помощью реагента ExtractRNA (Евроген) по протоколу, рекомендованному в наборе. Далее РНК была обработана ДНКазой (Thermo Scientific, США). кДНК из тотальной РНК получали с помощью набора реагентов MMLV RT kit (Евроген) с использованием олиго-дТ праймеров и случайных нуклеотидных праймеров в соотношении 1 к 1, согласно инструкции. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) проводилась с помощью реагентов qPCRmix-HS SYBR (Евроген) и специфичных праймеров: TMZR1-eRNA - GAGAGCCTCCTACCCAGACC; CCAAGCACACATAGCTCCTCA, STAT3 - ATGGAGATTGCCCGGATTGTG; GCTGCTGTGGGGTGGTTG. Нормировка производилась на ген домашнего хозяйства GAPDH [11].

3 Результаты исследований и обсуждение результатов

В клеточной линии U-251 был проведен нокдаун эРНК TMZR1-eRNA [11] с помощью транзientной трансфекции специфичных малых интерферирующих РНК (siRNA), который привел к значимому снижению экспрессии TMZR1-eRNA примерно в 2 раза (Рисунок 1А). При снижении уровня экспрессии эРНК было обнаружено значимое снижение экспрессии гена STAT3 (Рисунок 1В). С помощью клеточного анализатора xCELLigence были получены кривые роста U-251 с транзientным нокдауном TMZR1-eRNA (Рисунок 1Б, Г). Мы не обнаружили значимых различий в пролиферации клеток с нокдауном по сравнению с контрольными как при добавлении TMZ, так и в контрольной среде с ДМСО.

В предыдущей статье нами был показан эффект на рост клеточной линии DBTRG-05MG при нокдауне TMZR1-eRNA. Так как клеточные линии DBTRG-05MG и U-251 обладают разной степенью агрессивности и скоростью пролиферации, можно предположить, что для наблюдения изменений жизнеспособности клеток требуется различное по времени воздействие на экспрессию эРНК. Для оценки длительного эффекта от подавления эРНК на рост клеток с помощью лентивирусной трансдукции была получена клеточная линия U-251, экспрессирующая shRNA, нацеленную на TMZR1-eRNA. В сравнении с контрольной клеточной линией, трансдуцированной пустым вектором, экспрессия эРНК в линии, экспрессирующей shRNA, снизилась в 3-4 раза (Рисунок 2А), что является более сильным эффектом по сравнению с использованием siRNA (Рисунок 1А). При этом наблюдалось повышение экспрессии гена STAT3 у клеточной линии с нокдауном эРНК по сравнению с контрольной линией (Рисунок 2Б). Одним из возможных объяснений может быть компенсаторный эффект гена STAT3, возникающий в ответ на первоначальное снижение STAT3 в клетках при длительном нокдауне эРНК [1].

Были получены кривые роста клеточных линий с нокдауном и контрольной при добавлении в среду темозоломида и ДМСО. (Рисунок 2Г, Д). Полученные кривые были аппроксимированы линейной функцией на участке с 24 часов до

72 часов. Сравнение углов наклона в линейной регрессии показало значимое отличие при подавлении эРНК как в контроле, так и при добавлении темозоломида (Рисунок 2В), что отражает скорость клеточного роста в данной клеточной модели.

4 Заключение

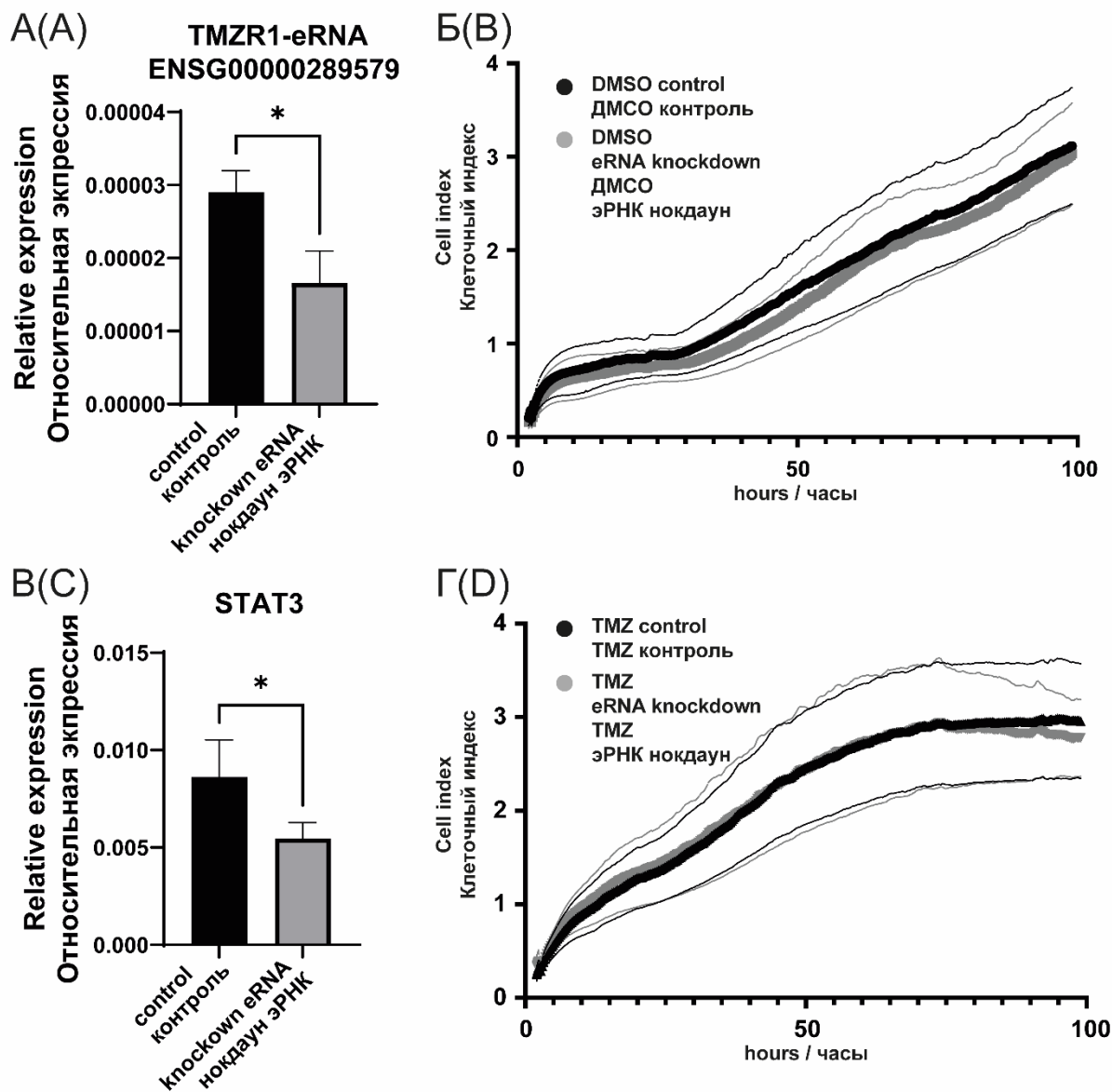
Транзиентное подавление экспрессии эРНК TMZR1-eRNA [11] с помощью малых интерферирующих РНК снизило экспрессию гена STAT3 в клеточной линии глиобластомы U-251 без заметных изменений в клеточной жизнеспособности. Конститутивный нокдаун эРНК при помощи лентивирусной трансдукции клеточной линии U-251 шпилечными РНК с той же целевой последовательностью замедлил клеточный рост как при добавлении темозоломида, так и в контроле. Таким образом, наблюдалась зависимость эффекта на рост клеточной линии U-251 от способа нокдауна. Кроме того, при конститутивном нокдауне эРНК уровень экспрессии STAT3 увеличился, а не еще сильнее уменьшился, как можно было ожидать. Для понимания механизма наблюдаемых эффектов необходимы дополнительные исследования. Помимо прочего, остается открытым вопрос о влиянии эРНК TMZR1-eRNA на чувствительность к химиотерапии в других клеточных линиях глиобластомы и в первичных тканях. Кроме того, ген STAT3 является важным онкогеном и во многих других типах рака [13]. Таким образом, роль эРНК TMZR1-eRNA в других тканях и возможность регулирования ею экспрессии STAT3 является интересной темой для дальнейшего изучения.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда: грант No 24-24-00130 (эффекты транзиентного нокдауна, рисунок 1) и Министерства науки и высшего образования Российской Федерации: грант No 075-15-2019-1660 (эффекты продолжительного нокдауна, рисунок 2).

РИСУНКИ

Рисунок 1. Транзиентный нокдаун TMZR1-eRNA в клеточной линии U-251.
Figure 1. Knockdown of TMZR1-eRNA in the U-251 cell line.



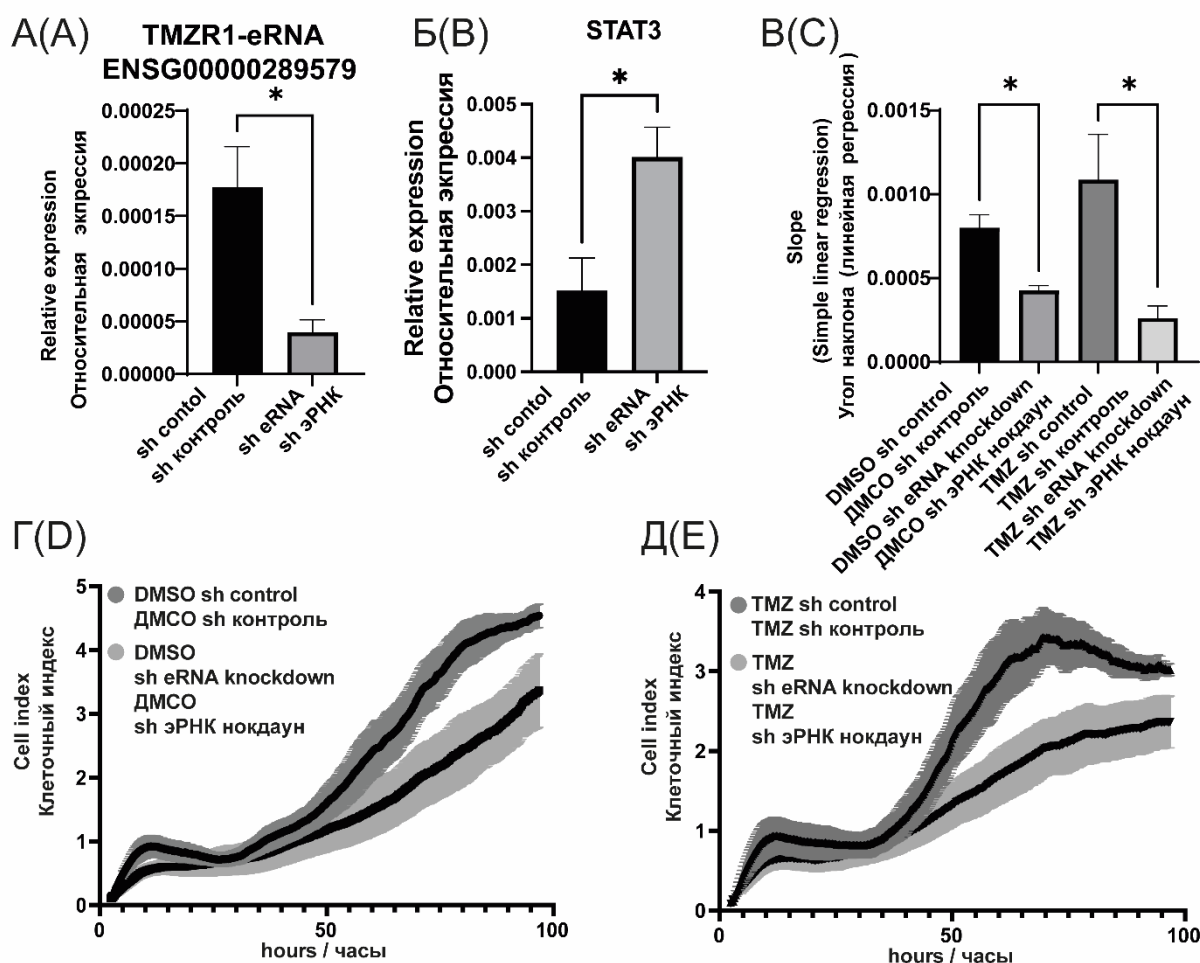
На рисунке отображена относительная экспрессия эРНК TMZR1-eRNA (A) и STAT3 (B) при кондауне TMZR1-eRNA. Нормировка производилась на ген домашнего хозяйства GAPDH. График роста клеток в течение 96 часов после их посадки на клеточный анализатор xCelligence DP при добавлении ДМСО (Б) и TMZ (Г). * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$ (Т-критерий Вилкоксона). Данные представлены в виде среднего значения и стандартной ошибки среднего (N=6).

The figure shows the relative expression of TMZR1-eRNA(A) and STAT3 (C) eRNAs upon TMZR1-eRNA knockdown. Expression was normalized to the housekeeping gene GAPDH. Graph of cell growth during 96 hours obtained with Medical Immunology (Russia)

the xCelligence DP cell analyzer by adding DMSO (B) and TMZ (D). * - $p < 0.05$, ** - $p < 0.01$ (Wilcoxon's T-test). Data are presented as mean value and standard error of the mean (N=6).

Рисунок 2. Эффекты длительного нокдауна эРНК TMZR1-eRNA в клеточной линии U-251.

Figure 2. Effects of prolonged knockdown of TMZR1-eRNA eRNA in the U-251 cell line.



Экспрессия эРНК TMZR1-eRNA (А) и STAT3 (Б) в клеточной линии U-251, экспрессирующей shRNA к эРНК, и в контроле. Нормировка производилась на ген домашнего хозяйства GAPDH. (В) Угол наклона при линейной регрессии кривой клеточного роста при подавлении эРНК и в контрольных образцах в случае добавление темозоломида и ДМСО. (Г) График роста клеток в течение 96 часов после их посадки на клеточный анализатор xCelligence DP при добавлении ДМСО. (Д) График роста клеток в течение 96 часов после их посадки на клеточный анализатор xCelligence DP при добавлении

темозоломида. * - $p < 0.05$ (Т-критерий). Данные представлены в виде среднего значения и стандартной ошибки среднего (N=3).

Expression of ENSG0000028289579 eRNA (A) and STAT3 (B) in U-251 cell line expressing shRNA to the eRNA and in control. Normalization was performed on the housekeeping gene GAPDH. (C) Slope angle in linear regression of cell growth curve in eRNA suppression and in control samples when temozolomide and DMSO were added. (D) Graph of cell growth at 96 hours after seeding on xCelligence DP cell analyzer when DMSO was added. (E) Graph of cell growth at 96 hours after seeding on the xCelligence DP cell analyzer when temozolomide was added. * - $p < 0.05$ (T-test). Data are presented as mean value and standard error of the mean (N=3).

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Стасевич Екатерина Михайловна - младший научный сотрудник Центра высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины ФГБУН «Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта» Российской академии наук, Москва, Россия; аспирант Московского физико-технического института, 141700 Московская область, г. Долгопрудный, Россия;

адрес: 119991, г. Москва, ул. Вавилова, д. 32. ИМБ РАН;

телефон: 8(499)135-14-05;

e-mail: ogstasevich@gmail.com

Stasevich Ekaterina Mikhailovna - Junior Research Associate, Center for Precision Genome Editing and Genetic Technologies for Biomedicine, Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation; PhD student, Moscow Institute of Physics and Technology, 141700 Moscow region, Dolgoprudny, Russia;

address: Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, 119991 Moscow;

telephone: 8(499)135-14-05;

e-mail: ogstasevich@gmail.com

Блок 2. Информация об авторах

Симонова А. В. - старший лаборант лаборатории передачи внутриклеточных сигналов в норме и патологии «Института молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта» Российской академии наук, Москва, Россия

Simonova A. V. - Senior Laboratory Assistant, Laboratories for the Transmission of Intracellular Signals in Normal and Pathological Conditions, Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

Потеряхина А. В. - к.б.н., старший научный сотрудник, Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской Академии наук, Москва, Россия.

Poteryakhina A. V. - PhD, Senior Research Associate, Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

Бери У. Р. – студент лаборатории передачи внутриклеточных сигналов в норме и патологии «Института молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта» Российской академии наук, Москва, Россия

Beri U.R. – student, Laboratories for the Transmission of Intracellular Signals in Normal and Pathological Conditions, Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

Богомолова Э. А. - старший лаборант лаборатории передачи внутриклеточных сигналов в норме и патологии «Института молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта» Российской академии наук, Москва, Россия

Bogomolova E. A. - Senior Laboratory Assistant, Laboratories for the Transmission of Intracellular Signals in Normal and Pathological Conditions, Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

Уварова А. Н. – к.б.н., научный сотрудник центра высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины ФГБУН «Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта» Российской академии наук, Москва, Россия

Uvarova A. N. - PhD, Research Associate, Center for Precision Genome Editing and Genetic Technologies for Biomedicine. Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

Мурашко М. М. - младший научный сотрудник лаборатории передачи внутриклеточных сигналов в норме и патологии «Института молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта» Российской академии наук, Москва, Россия

Murashko M. M. - Junior Research Associate, Laboratories for the Transmission of Intracellular Signals in Normal and Pathological Conditions, Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

Жеремян Э.А. – младший научный сотрудник центра высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины ФГБУН «Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта» Российской академии наук, Москва, Россия

Zheremyan E.A. - Junior Research Associate, Center for Precision Genome Editing and Genetic Technologies for Biomedicine. Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

Корнеев К. В. – к.б.н., научный сотрудник центра высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины ФГБУН «Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта» Российской академии наук, Москва, Россия

Korneev K. V. - PhD, Senior Research Associate, Center for Precision Genome Editing and Genetic Technologies for Biomedicine. Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

Купраш Д. В. - д.б.н., главный научный сотрудник, руководитель Центра высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины ФГБУН «Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта» Российской академии наук, Москва, Россия

Kuprash D. V. - PhD, MD (Biology), Chief Research Associate and Head of the Center for Precision Genome Editing and Genetic Technologies for Biomedicine, Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

Демин Д. Э. - к.б.н., младший научный сотрудник Центра высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины ФГБУН «Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта» Российской академии наук, Москва, Россия

Demin D. E. - Ph.D., Junior Research Associate, Center for Precision Genome Editing and Genetic Technologies for Biomedicine, Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

Блок 3. Метаданные статьи

ЗАМЕДЛЕНИЕ РОСТА АГРЕССИВНОЙ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ ГЛИОБЛАСТОМЫ В РЕЗУЛЬТАТЕ ПОДАВЛЕНИЯ ЭНХАНСЕРНОЙ РНК ЗАВИСИТ ОТ СПОСОБА НОКДАУНА

SLOWING THE GROWTH OF AN AGGRESSIVE GLIOBLASTOMA CELL LINE BY ENHANCER RNA SILENCING DEPENDS ON THE KNOCKDOWN METHOD

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

МЕТОД НОКДАУНА ЭРНК ВЛИЯЕТ НА РОСТ ГБМ

ERNA KD METHOD AFFECTS GBM GROWTH

Ключевые слова: энхансерная РНК, эРНК, глиобластома, РНК-интерференция, некодирующая РНК.

Keywords: enhancer RNA, eRNA, glioblastoma, RNA interference, non-coding RNA.

Краткие сообщения.

Количество страниц текста – 4,

Количество таблиц – 0,

Количество рисунков – 2.

06.11.2024

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи или ее doi.
1	Bravo-Estupiñan D.M., Aguilar-Guerrero K., Quirós S., Acón MS, Marín-Müller C., Ibáñez-Hernández M., Mora-Rodríguez R.A. Gene dosage compensation: Origins, criteria to identify compensated genes, and mechanisms including sensor loops as an emerging systems-level property in cancer. Cancer Med. 2023, 12(24):22130-22155.	-	[10.1002/cam4.6719]
2	Chumakov S.P., Kravchenko J.E., Prassolov V.S., Frolova E.I., Chumakov P.M. Efficient downregulation of multiple mRNA targets with a single shRNA-expressing lentiviral vector. Plasmid. 2010, 63(3):143-9.	-	[10.1016/j.plasmid.2009.12.003]

3	Fishilevich S., Nudel R., Rappaport N., Hadar R., Plaschkes I., Iny Stein T., Rosen N., Kohn A., Twik M., Safran M., Lancet D., Cohen D. GeneHancer: genome-wide integration of enhancers and target genes in GeneCards. Database (Oxford). 2017, 2017:bax028.	-	[10.1093/database/bax028]
4	Fu W., Hou X., Dong L., Hou W. Roles of STAT3 in the pathogenesis and treatment of glioblastoma. Front Cell Dev Biol. 2023, 11:1098482.	-	[10.3389/fcell.2023.1098482]
5	Kałużińska-Kołat Ź., Kołat D., Kośła K., Płuciennik E., Bednarek A.K. Molecular landscapes of glioblastoma cell lines revealed a group of patients that do not benefit from WWOX tumor suppressor expression. Front Neurosci. 2023, 17:1260409.	-	[10.3389/fnins.2023.1260409]
6	Kruse C.A., Mitchell D.H., Kleinschmidt-DeMasters B.K., Franklin W.A., Morse H.G., Spector	-	[10.1007/BF02631035]

	E.B., Lillehei K.O. Characterization of a continuous human glioma cell line DBTRG-05MG: growth kinetics, karyotype, receptor expression, and tumor suppressor gene analyses. In Vitro Cell Dev Biol. 1992, 28A(9-10):609-14.		
7	Murashko M.M., Stasevich E.M., Schwartz A.M., Kuprash D.V., Uvarova A.N., Demin D.E. The Role of RNA in DNA Breaks, Repair and Chromosomal Rearrangements. Biomolecules. 2021, 11(4):550.	-	[10.3390/biom11040550]
8	Singh N., Miner A., Hennis L., Mittal S. Mechanisms of temozolomide resistance in glioblastoma - a comprehensive review. Cancer Drug Resist. 2021, 4(1):17-43.	-	[10.20517/cdr.2020.79]
9	Stasevich E.M., Murashko M.M., Zinevich L.S., Demin D.E., Schwartz A.M. The Role of Non-Coding RNAs in the Regulation of the Proto-	-	[10.3390/biomedicines9080921]

	Oncogene MYC in Different Types of Cancer. Biomedicines. 2021, 9(8):921.		
10	Stasevich E.M., Simonova A.V., Bogomolova E.A., Murashko M.M., Uvarova A.N., Zheremyan E.A., Korneev K.V., Schwartz A.M., Kuprash D.V., Demin D.E. Cut from the same cloth: RNAs transcribed from regulatory elements. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Regulatory Mechanisms, 2024, 195049.	-	[10.1016/j.bbagr.2024.195049]
11	Stasevich E.M., Simonova A.V., Poteryakhina A.V., Bogomolova E. A., Uvarova A.N., Zheremyan E.A., Korneev K.V., Schwartz A.M. Kuprash D.V., Demin D.E. Enhancer Rna from Stat3 Locus Affects Temozolomide Chemoresistance of Glioblastoma Cells. 2024.	-	[10.2139/ssrn.4965644]

12	Stasevich E.M., Uvarova A.N, Murashko M.M., Khabusheva E.R., Sheetikov S.A., Prassolov V.S., Kuprash D.V., Demin D.E., Schwartz A.M. Enhancer RNA AL928768.3 from the IGH Locus Regulates MYC Expression and Controls the Proliferation and Chemoresistance of Burkitt Lymphoma Cells with IGH/MYC Translocation. Int J Mol Sci. 2022, 23(9):4624.	-	[10.3390/ijms23094624]
13	Tolomeo M., Cascio A. The Multifaced Role of STAT3 in Cancer and Its Implication for Anticancer Therapy. Int J Mol Sci. 2021, 22(2):603.	-	[10.3390/ijms22020603]