

Л. Ковалевська,
А. Матвєєва,
О. Кашуба

Інститут експериментальної
патології онкології і радіобіології
ім. Р.Є. Кавецького НАН України,
Київ, Україна

Ключові слова: протеїн RB,
взаємодіючі із RB протеїни,
стовбуровість, плюрипотентні
клітини, клітинний цикл,
транскрипційні фактори.

DOI: <https://doi.org/10.15407/oncology.2023.04.245>

РОЛЬ ПРОТЕЇНА RB У ПІДТРИМЦІ СТОВБУРОВОСТІ КЛІТИН

В огляді систематизовано дані літератури та результати власних досліджень, присвячені ролі білка ретинобластоми (RB) у життєдіяльності стовбурових плюрипотентних клітин (СК). Висвітлено питання щодо впливу протеїну RB на проходження клітинного циклу та розвиток патологічних станів, участь цього протеїну у контролі диференціювання клітин певного гістогенезу, а також існуючі дані про порушення епігенетичної регуляції експресії специфічних для СК генів за рахунок взаємодії їх продуктів з протеїном RB. Наш огляд може бути корисним для подальшого вивчення та розуміння властивостей СК, а також ефективності їх використання у медичній практиці.

Дуглас Хананан (Douglas Hanahan) та Роберт Вайнберг (Robert Weinberg) у своєму фундаментальному огляді 2000 р. щодо основних віх розвитку та прогресії злоякісних новоутворень [1] вказували, що протеїн ретинобластоми (англ. retinoblastoma, RB) є одним із головних регуляторів проліферації клітин. Саме завдяки цьому білку клітини уникають дії проліферативних сигналів, які, у іншому випадку, повинні б були призвести до неконтрольованої проліферації клітини. Тобто, основною функцією RB є інгібування проліферації клітин шляхом взаємодії із факторами транскрипції родини E2F (E2F1-6), які, в свою чергу, індукують експресію ряду генів, необхідних для переходу від фази G₁ до фази S клітинного циклу [2].

Ген ретинобластоми людини *RB1* був першим геном-супресором росту пухлин, який був ізольований шляхом позиційного клонування в 1986 р; такий протокол послужив прототипом для подальшої ідентифікації генів-супресорів росту пухлин [3]. Ретинобластома є злоякісним новоутворенням у дітей, що виникає з клітин сітківки ока, і може бути як спорадичним, так і спадковим захворюванням. У клітинах ретинобластоми ген *RB1* може містити одну або обидві мутовані алелі. Альфред Кнудсон (Alfred Knudson) запропонував гіпотезу двох ударів, або модель Кнудсона (1971), згідно якої злоякісна трансформація клітин ретини відбувається, коли обидві копії алелі *RB1* є мутованими в одній клітині [4].

Спадкова ретинобластома має аутосомний тип успадкування та 90% пенетрантності; це переважно злоякісна пухлина у дітей, яку діагностують у віці до 15 міс. [5]. Близько 40% уражених осіб мають двобічну ретинобластоми. Близько 60% хворих (із середнім віком на момент діагностики 24 міс.) мають однобічну ретинобластоми, що зазвичай є спорадичною формою захворювання. Ретинобластоми відносять до ембріональних пухлин; у частини дітей, у яких спочатку діагностовано

односторонню ретинобластоми, в подальшому розвивається пухлина контралатерального неуразеного ока.

Важливо відмітити, що мутації *RB1* також були виявлені у злоякісних новоутвореннях іншого генезу, включаючи саркому, гліобластоми, дрібноклітинний рак легені, рак сечового міхура, молочної залози, шийки матки та парашитовидної залози [6].

ГЕН *RB1* І РОДИНА ПРОТЕЇНІВ RB

Ген *RB1* складається із 27 екзонів, що охоплюють понад 180 кб геномної ДНК на хромосомі людини 13q14. Транскрипт розміром 4,7 кб кодує ядерний фосфопротеїн RB (також відомий як pRb, p105-Rb), що складається із 928 амінокислот [7].

Існують ще 2 гени, які відносять до родини RB — це *RBL1* (*PRB1*, *p107*), що складається із 23 екзонів і картований на хромосомній області людини 20q11.23, та *RBL2* (*P130*, *Rb2*), який має в своєму складі 25 екзонів і картований на хромосомі 16p12.2 [4].

Вказані 3 білки родини RB є мішенями ряду ДНК-вірусів, внаслідок чого відбувається трансформація інфікованих вірусом клітин. Відомо про загальний домен білків родини RB, який є специфічним для цього зв'язування і називається “кишенька” (pocket); тому ці 3 білки часто називають “кишеньковими” білками. Область кишеньки структурно характеризується двома збереженими функціональними субдоменами (A і B), що розділені спейсером (S), який суттєво відрізняється в усіх трьох білках родини RB.

RBL1 і *RBL2* демонструють приблизно 50% амінокислотної ідентичності, тоді як схожість із RB є нижчою — 30–35% ідентичності. Цікаво, що мутації в *RBL1* і *RBL2* надзвичайно рідко зустрічаються при онкологічних захворюваннях людини [8]. Слід відмітити, що спектр взаємодіючих протеїнів розрізняється для вищевказаних членів родини RB (рис. 1).

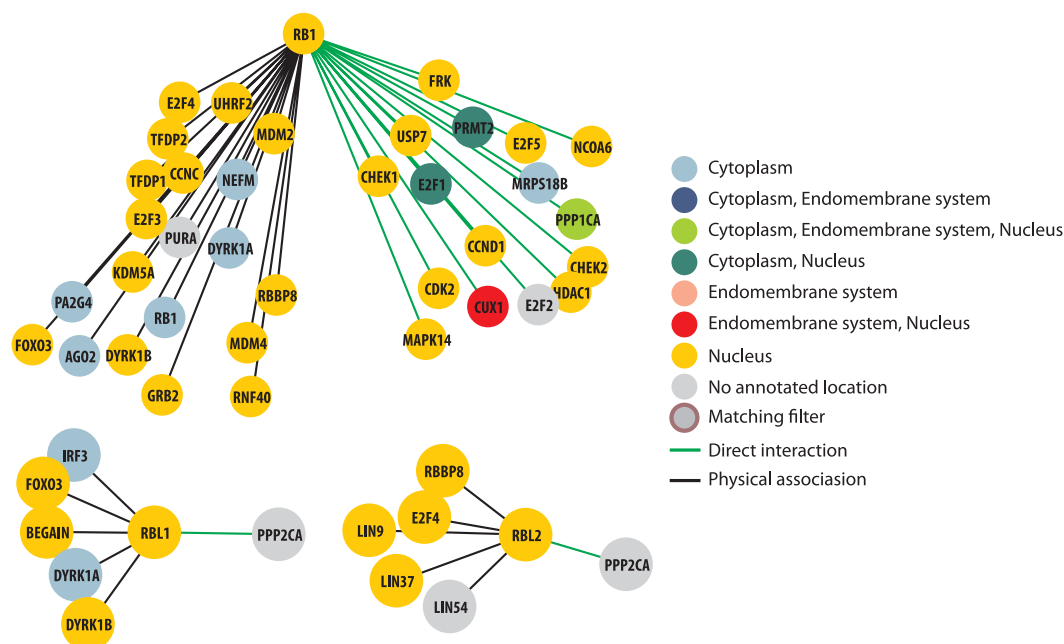


Рис. 1. Спектри взаємодіючих протеїнів для членів родини RB. Спектри є різними для всіх трьох білків родини RB — RB, RBL1 і RBL2

МОЛЕКУЛЯРНІ ФУНКЦІЇ RB

Протеїн RB широко досліджують завдяки його здатності регулювати клітинний цикл при взаємодії із білком E2F1 (належить до сімейства факторів транскрипції E2F) і пригніченні транскрипційної активності останнього. Взаємодія RB та білку E2F1 контролюється шляхом фосфорилування RB циклін-залежними кінзазами (*англ.* cyclin-dependent kinases, CDK) [9]. RB у нефосфорильованій формі взаємодіє із E2F1, внаслідок чого останній інактивується; фосфорильований протеїн RB не зв'язується із E2F1. Залежні від факторів росту CDKs (CDK4 і CDK6) працюють протягом перших 80–90% фази G1; незалежні від сигналів зростання CDKs (CDK1, CDK2 і CDK3) активні решту часу клітинного циклу [2, 10]. В різних стадіях клітинного циклу CDK потребують молекул цикліну (а саме циклінів D, E та A), як орієнтирів для фосфорилування RB [11]. Окрім циклінів, клітини продукують інгібітори CDK, які зв'язуються з ними і інгібують фосфорилування RB [12]. Інгібітори CDK класифікують на дві категорії: (I) інгібітори CK4/6 — CDKN2A, CDKN2B, CDKN2C і CDKN2D; та (II) інгібітори CDK1, 2 і 3 — CDKN1A, CDKN1B і CDKN1C [13]. Інактивація RB призводить до неконтрольованого поділу клітин, що є важливим для розвитку раку.

Канцерогенез — це еволюційний процес, в якому задіяні різні механізми інактивації гена *RB1* та/або його продукту, у т.ч. мутації, делеції, епігенетичний сайлесінг промотору *RB1*, інактивація інгібіторів CDK, мутація в генах CDK і залучення певних протеїнів, які взаємодіють з RB та запобігають його асоціації із E2F1 [2].

Було висунуто гіпотезу, що невеликий пул активного протеїну RB необхідний для підтримання стовбурових клітин (СК). У ембріональних стовбурових клітинах людини (ЕСК) RB присутній в основному в гіпофосфорильованому і гіперфосфорильованому станах. Підвищена активність тригерів RB викликає диференціювання, зупинку клітинного циклу та загибель клітини. З іншого боку, інактивація всього сімейства RB (RB1, RBL1 і RBL2) в ЕСК людини індукує зупинку G₂/M і загибель клітин через функціональну активацію шляху TP53, тобто індукцію CDKN1A [14]. Спрощена схема сигнального шляху RB-E2F наведена на *рис. 2*.

Ці спостереження показують, що як втрата, так і надмірна активність RB можуть бути летальними для СК. Виникає питання, чому для виживання СК необхідний неактивний RB? Щоб відповісти на це запитання, було проаналізовано протеїни, що взаємодіють із RB. В даному огляді зроблено акцент на таких взаємодіючих протеїнах, які можуть мати потенційну роль у різних аспектах біології СК. Усі білки, розглянуті в цій роботі, наведено у *таблиці*.

ІНГІБУЮЧИЙ ВПЛИВ ВЗАЄМОДІЇ RB ТА E2F1 НА РЕГУЛЯЦІЮ КЛІТИННОГО ЦИКЛУ ОБМЕЖЕНО У СК

СК мають скорочений клітинний цикл, порівняно із диференційованими клітинами, із дуже короткою фазою G1 (2–3 год проти 12–15 год) [15, 16]. Було показано, що RB взаємодіє з кінзазою DYRK1A [17]. Під час проліферації нащадків нервових стовбурових клітин DYRK1A бере участь у

регуляції сигналіngu рецептору епідермального фактора росту EGFR (англ. epidermal growth factor receptor). Коли DYRK1A експресується на нормальному рівні, опосередкована ендцитозом деградація EGFR блокується. Такий механізм деградації EGFR вимагає наявності іншого модулятора сигналіngu EGFR — фосфорильованого білка SPRY2. Виявлено, що видалення DYRK1A призводить до дефектного самовідновлення клітин, залежних від EGF та довгострокового виживання *in vivo* [18].

У попередніх дослідженнях нами було показано, що взаємодія між протеїнами RB і E2F1 інгібується мітохондріальним рибосомальним білком S18-2 (MRPS18-2), який конкурує із протеїном E2F1 за взаємодію з RB. Важливо, що MRPS18-2 може зв'язувати обидві форми протеїна RB, фосфорильовану та нефосфорильовану [19, 20]. Крім того, ектопічна експресія MRPS18-2 у ембріональних фібробластах щурів порушує розподіл клітинного циклу, що призводить до їх іморталізації та набуття фенотипу СК [20]. Гіперекспресія протеїну MRPS18-2, асоціювалась з високими рівнями вільного E2F1 в ядрі, що сприяло прогресії від фази G1 до S фази клітинного циклу [19, 21].

Відомо, що протеїн LIN9 також взаємодіє із RB [22]. LIN9 є субодиницею комплексу DREAM, який необхідний для підтримки внутрішньої клітинної маси та раннього розвитку в ембріонах. Функція комплексу DREAM полягає в регулюванні клітинного циклу шляхом інгібування експресії генів під час спокою (G0). Одним із цільових генів DREAM є *CMYC*. Нокаут гену *LIN9* руйнує клітинний цикл в ЕСК і призводить до накопичення клітин у фазах G₂ та М, в результаті чого збільшується кількість поліплоїдних клітин. При зниженні експресії гену *LIN9* на рівні мРНК спостерігається зменшення експресії мітотичних генів і підвищення рівня експресії генів, пов'язаних з диференціюванням. За допомогою ChIP-on-chip експериментів виявлено, що мітотичні гени є прямими мішенями LIN9. Важливо, що дефіцит протеїну LIN9 не впливає на рівень експресії маркерів плюрипотентності, таких, як *SOX2* (SRY-Box 2), *POU5F1* і *NANOG*. Крім того, ЕСК із низькою експресією LIN9 зберігали активність лужної фосфатази. Ці дослідження вказують на те, що протеїн LIN9 має важливе значення для проліферації та стабільності геному ЕСК за рахунок активації мітозу та ключових генів, пов'язаних з цитокінезом [23].

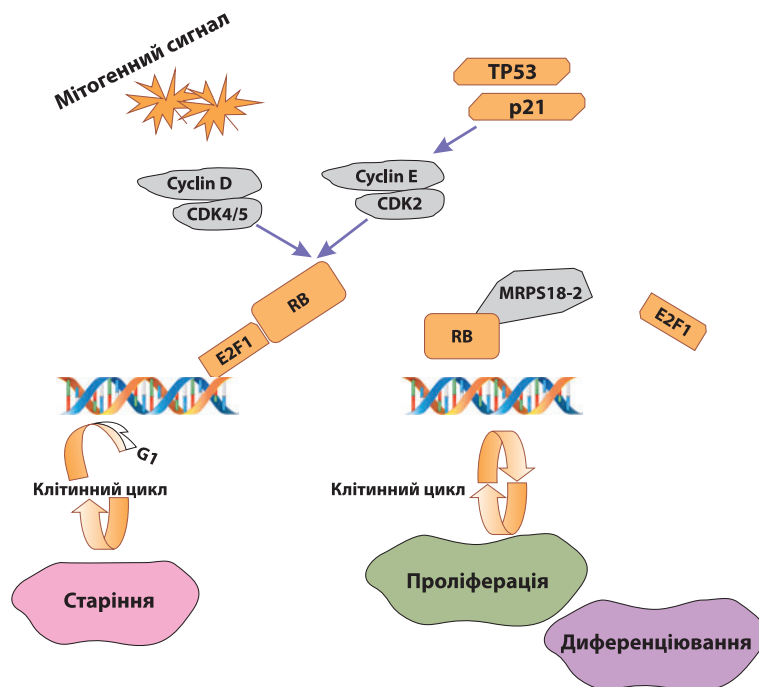


Рис. 2. Спрощена схема сигнального шляху RB-E2F. Взаємодія RB і E2F1 контролюється шляхом фосфорильовання RB циклін-залежними кінзазами. RB у нефосфорильованій формі взаємодіє із E2F1, внаслідок чого останній інактивується; фосфорильований протеїн RB не взаємодіє з E2F1. Протеїн MRPS18-2 конкурує із E2F1 за утворення комплексу із RB, регулюючи функцію останнього

РОЛЬ RB-ВЗАЄМОДІЮЮЧИХ БІЛКІВ У ПІДТРИМАННІ ПЛЮРИПОТЕНТНОСТІ ТА САМОВІДНОВЛЕННЯ СК

Плюрипотентні СК мають потенціал для диференціювання клітин організму будь-якого гістогенезу. У ембріонів, що розвиваються, приблизно через 96 год після запліднення тотипотентні клітини починають утворювати кластер клітин, відомий як бластоциста. У бластоцисті частина клітин (відома як внутрішня клітинна маса) представляє собою плюрипотентні СК, які будуть диференціюватися для створення клітин і тканин організму. Усі “дорослі тканини” мають певну популяцію мультипотентних СК, які будуть диференціюватися у разі виснаження клітин певного органу. Тому, баланс між самовідновленням і диференціацією СК жорстко контролюється [24].

Окрім контролю за специфічною диференціацією СК, RB взаємодіє із декількома білками, які важливі для підтримки плюрипотентності СК. Так, протеїн EID1 (інгібіторний білок 1 CREBBP/EP300) взаємодіє із класичним сайтом зв'язування протеїна RB, LXCXE [25]. Протеїн EID1 функціонує як активатор транскрипції в асоціації з СВР (CREB-зв'язуючий білок). У білковому комплексі з NANOG гетеродимер СВР/EID1 рекрутується до NANOG-зв'язуючих локусів ДНК. Це полегшує утворення довготривалих петлевих структур

Протеїни, які взаємодіють із RB та беруть участь у контролі проліферації і диференціації СК

№	Акронім протеїна	Назва протеїна	Номер протеїна у базі NCBI	Синоніми
1	CEBPA	CCAAT/enhancer-binding protein, alpha	NP_001272758	C/EBP-ALPHA, CEBP
2	CEBPB	CCAAT/enhancer-binding protein, beta	NP_001272807	IL6DBP, LAP, NFIL6, TCF5
3	CENPF	Centromeric protein F	NP_057427	LEK1
4	DNMT1	DNA methyltransferase 1	NP_001124295	MCMT, CXXC9, DNMT
5	DYRK1A	Dual-specificity tyrosine phosphorylation-regulated kinase 1A	NP_001387	DYRK, MNBH
6	EID1	CREBBP/EP300 inhibitory protein 1	NP_055150	CR11, C15ORF3
7	HBP1	HMG box-containing protein 1	NP_001231191	FLJ16340
8	HDAC1	Histone deacetylase 1	NP_004955	—
9	KDM5A	Lysine-specific demethylase 5A	NP_001036068	JARID1A, RBBP2
10	LDB1	LIM domain-binding 1	NP_001106878	CLIM2, NL1
11	LIN9	C. elegans, homolog of Lin9	NP_001257338	LIN9
12	LMO2	LIM domain only 2	NP_001135787	RBTN2, RHOM2, TTG2
13	MRPS18B	Mitochondrial ribosomal protein S18B	NP_054765	MRPS18-2
14	MYOD1	Myogenic differentiation antigen 1	NP_002469	MYOD, MYF3
15	PELP1	Proline-, glutamic acid-, and leucine-rich protein 1	NP_001265170	MNAR
16	PHB	Prohibitin	NP_002625	—
17	PSMD10	Proteasome 26S subunit, non-ATPase, 10	NP_002805	p28, Gankyrin
18	RING1	Ring finger protein 1	NP_002922	RING1A, RNF1
19	SIN3A	SIN3 transcription regulator family member A	NP_001138829	—
20	SIRT1	Sirtuin 1	NP_001135970	SIR2L1, SIR2-ALPHA
21	SKI	V-Ski avian sarcoma viral oncogene homolog	NP_003027	SK
22	SMARCA4	SWI/SNF-related, matrix-associated, actin-dependent regulator of chromatin, subfamily A, member 4	NP_001122316	BRG1
23	TAL1	T-cell acute lymphocytic leukemia 1	NP_001274276	SCL, TCL5
24	TCF3	Transcription factor 3	NP_001129611	E2A, ITF1, VDIR
25	TRAP1	Tumor necrosis factor receptor-associated protein 1	NP_001258978	HSP75, HSP90L
26	UHRF2	Ubiquitin-like protein containing PHD and ring finger domains 2	NP_690856	NIRF, E3 ubiquitin protein ligase
27	ZBTB7A	Zinc finger- and BTB domain-containing protein 7A	NP_001304919	FBI1, LRF, POKEMON

хроматину, які є важливими для підтримки специфічного для ЕСК патерну експресії генів. Подальші функціональні дослідження показали, що петлеві структури, які утворюються в результаті зв'язування EID1/CBP мають енансерну активність. Ймовірно, це необхідно для агрегації факторів транскрипції генів, що беруть участь у плюрипотентності та самооновленні ЕСК [26].

Нами було показано, що експресія маркерів стовбурових клітин *SOX2*, *OCT4*, *FUT4* і *KLF4* індукуються в ембріональних стовбурових клітинах, які імуорталізуються за рахунок гіперекспресії протеїна MRPS18-2. Імуорталізовані клітини відрізнялися підвищеною експресією цитохром-

С-оксидаз, НАДН-дегідрогеназ, супероксиддисмутази, АТФ-синтаз, глутатіонпероксидаз, які є характерними для швидкопроліферуючих клітин [20, 21].

Цікаво, що протеїн RB утворює пентамерний комплекс з білком LDB1 разом із трьома іншими білками — TCF3, LMO2 і TAL1 [27]. Білок LDB1 бере участь у підтримці гемопоетичних СК (ГСК) [28] та взаємодіє із адаптерними білками, що не зв'язуються з ДНК. LMO2 і фактори транскрипції TCF3, TAL1 і GATA-1 гіперекспресовані у клітинах гемопоетичної лінії [29]. TCF3 відіграє важливу роль у самовідновленні ЕСК миші, при цьому білковий комплекс, що містить TCF3, OCT4, SOX2

і NANOG, утворюється на хроматині. Обидва білкові комплекси, TCF3- β -катенін і TCF1- β -катенін сприяють індукції патерну генів, пов'язаних із фенотипом та самооновленням СК. Було показано, що комбінації TCF3 і TCF1 рекрутують β -катенін, стабілізований WNT, до сайтів зв'язування OCT4 з хроматином в EСК [30].

Білок LMO2 складається з двох доменів LIM, кожен з яких представляє собою тандемну структуру, подібну до “zink-finger”. Домен LIM функціонує як платформа для утворення комплексів протеїнів. Кожен із доменів LIM протеїна LMO2 взаємодіє із протеїном TAL1. Відомо, що протеїни GATA1, LDB1 і TCF3 входять у білковий комплекс, що зв'язується із ДНК. Зазвичай зв'язування з ДНК іде через мотив “zink-finger” протеїну GATA1, а також через мотив bHLH білків TAL1 і TCF3 [31]. Важливо відмітити, що у мишей з гомозиготними мутаціями у гені *LMO2* спостерігали збій еритропоезу (в жовтковому мішку), що призводило до ембріональної летальності, близько E10.5 [32]. Крім того, диференціювання еритроїдів *in vitro* пригнічувалося в тканині жовткового мішка, отриманих від *LMO2* нуль-мутантних мишей, а також у подвійних мутантних EСК з послідовно мутованим *LMO2*. Подібні ефекти спостерігалися у *Xenopus* і ембріонах рибки *Danio rerio*. Протеїн LMO2 відіграє синергетичну роль в еритропоезі, утворюючи комплекс з TAL1 і GATA1 [33, 34]. Як описано вище, LMO2 сприяє плюрипотентності СК також через взаємодію із білком LDB1 [29].

RB може зв'язуватися безпосередньо з протеїном SKI [35], ко-репресором транскрипції, який пригнічує активацію цільових генів суперродини TGF- β (трансформуючий фактор росту- β) [36]. Ця родина білків включає TGF- β , BMP та інгібін β -A. SKI не має здатності безпосередньо взаємодіяти з ДНК [37], цей протеїн зв'язується з активною формою внутрішньоклітинних білків комплексів SMAD, пригнічуючи їх здатність ініціювати експресію генів [24]. SKI може відігравати у роль у регуляції кровотворення [38, 39]. Однак, функція протеїну SKI частково залежить від сигнального шляху, індукованого фактором росту гепатоцитів у мієлоїдних клітинах-попередниках [39].

Білок ZBTB7A взаємодіє із SP1-зв'язуючим сайтом, розташованим в області промотора *RB1* [40]. ZBTB7A може стабілізувати плюрипотентність EСК, діючи як еритроїд-специфічний репресор білка DLL4. Делеція ZBTB7A в еритробластах спричиняє активацію *DLL4*, сенсibilізуючи EСК до сигналів Т-клітин у кістковому мозку (41). *DLL4* є як ліганд для рецептора NOTCH; NOTCH сигналінг регулює життєздатність лімфоїдних клітин [42].

Протеїн PSMD10 взаємодіє із RB за допомогою п'ятого анкіринового повтору [43]. Цікаво, що експресія промініну 1 — маркера пухлин-

них клітин корелює з рівнем експресії *PSMD10* у тканині колоректальної карциноми. Нокаут гена *PSMD10* призводить до зниження експресії протеїна VEGFA (фактора росту ендотелію судин А) і маркерів СК, а саме NANOG і OCT4. Експресія генів *PSMD10*, *NANOG* і *OCT4* була значно вищою у тканині доброякісних новоутворень, ніж в умовно нормальній тканині кишечника. Виявлено існування прямої кореляційної залежності між експресією *PSMD10*, *VEGFA* та *NANOG* і стадією раку прямої кишки [44].

УЧАСТЬ RB У КОНТРОЛІ ДИФЕРЕНЦІЮВАННЯ КЛІТИН ПЕВНОГО ГІСТОГЕНЕЗУ

Відомо, що білок RB бере участь у регуляції міогенезу, кардіогенезу, адипогенезу та інших процесів. Так, протеїн RB задіяний у контролі диференціювання адипоцитів; також RB визначає пластичність білих і коричневих клітин жирової тканини. Поряд з цим, шлях RB також модулює диференціювання гемопоетичних клітин-попередників [45]. Відомо, що протеїн СЕВРА (який є фактором транскрипції що приймає участь в диференціюванні деяких клітин крові) взаємодіє із гіпофосфорильованою формою RB [46]. Клітини 3Т3, виділені з *R BL1/RBL2* нокаутних мишей експресували ендогенний СЕВРА; після стимуляції вони диференціювалися в адипоцити. Навпаки, клітини 3Т3, виділені з нокаутних мишей *RB1*, не експресували ендогенний протеїн СЕВРА; вони не диференціювалися *in vitro* в адипоцити. Крім того, ектопічна експресія RB в 3Т3 дикого типу сприяла диференціації, тоді як гіперекспресія *RBL1* не індукувала адипогенез [47].

RB також задіяний у формуванні та дозріванні гемопоетичних клітин через взаємодію з декількома гемопоетичними факторами транскрипції, наприклад СЕВРВ, SPI1 і ELF1. RB може визначити вибір між моноцитарною і нейтрофільною активністю плюрипотентних клітин CD34⁺. Дозрівання моноцитів корелює з підвищеним рівнем гіпофосфорильованого RB. Диференціація у моноцити змінюється на нейтрофільну у випадку нокаутуваного *RB1* у клітинах-попередниках кісткового мозку після обробки цитокінами, які зазвичай сприяють моноцитарній диференціації. Тобто, ген *RB1* і його продукт можуть відігравати подвійну роль у специфікації клітин: при взаємодії RB із СЕВРВ індукується диференціювання моноцитів, одночасно пригнічується активація факторів транскрипції, специфічних для нейтрофілів [48].

Протеїн RB взаємодіє із мотивом bHLH білка MYOD1 (білок детермінації міобластів 1), який відіграє важливу роль в регуляції диференціювання м'язів [49]. Внаслідок цієї взаємодії активується експресія м'язо-специфічних генів [50].

RB впливає на ранні фази міогенезу в сателітних міобластах та у пулі СК в постнатальних скелетних м'язах. *RB1*-нокаутні клітини характеризуються затримкою в експресії серцево-специфічних факторів транскрипції і, отже, у всьому процесі диференціювання серця. Фенотипові зміни кардіоміоцитів були відновлені шляхом повторного введення *RB1* у клітини-попередники, при ектопічній експресії білка Nkx2.5 або шляхом стимуляції BMP-залежного кардіогенного шляху. Протеїн CENPF (центромерний білок F) може взаємодіяти з усіма трьома білками — RBL1, RBL2 і RB [51]. Зниження експресії CENPF або специфічне інгібування взаємодії RB—CENPF в ядрі призводить до затримки серцевого диференціювання у *RB1*-нокаутних ЕСК.

Протеїн RB також може взаємодіяти із білком HBP1, що функціонує як репресор транскрипції [52]. HBP1 є важливим регулятором нейрогенезу, оскільки він активується під час нейрогенних стадій (E13.5—E15.5) ембріогенезу миші. Білок HBP1 діє як інгібітор клітинного циклу шляхом пригнічення експресії генів *c-jun*, цикліну D1, *CDKN1A* та *N-MYC* [53].

Іншим білком, що зв'язує RB, є PELP1, який тимчасово експресується під час проліферації та остеогенної диференціації мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку щурів (СККМЩ) [54]. В культурах остеогенних клітин експресія *PELP1* на рівні мРНК була подібна до остеогенного маркера *BGLAP*. *PELP1* запобігав проліферації недиференційованих СККМЩ. Рівень експресії маркерів остеобластів *BGP* і *ALPL* знижувався у СККМЩ, які було культивовано у звичайному середовищі і середовищі для остеогенного диференціювання [55].

УЧАСТЬ RB-ЗВ'ЯЗУЮЧИХ ПРОТЕЇНІВ В ЕПІГЕНЕТИЧНІЙ РЕГУЛЯЦІЇ ЕКСПРЕСІЇ СПЕЦИФІЧНИХ ДЛЯ СК ГЕНІВ

Відомо, що під час ембріонального розвитку ссавців і диференціації ЕСК, геном зазнає суттєвих епігенетичних змін. Наприклад, у СК спостерігається перехід від окислення жирних кислот до гліколізу, від стану спокою до активної проліферації. Таке перепрограмування клітинного метаболізму сприяє зниженню рівня внутрішньоклітинного NAD^+ та активності гістондеацетилази SIRT1 (сиртуїн 1). Результати експериментальних досліджень на моделях клітинних ліній мишей дозволили встановити, що білок E2F1 опосередковує взаємодію між SIRT1 і RB [56]. Зниження активності SIRT1 призводить до збільшення ацетилювання лізіна H4K16 і активації транскрипції м'язово-специфічних генів. Селективне генетичне видалення домену деацетилази SIRT1 у скелетних м'язах призводить до посилення ацетилювання H4K16 і дерегуляції активності міогенезу СК.

Крім того, трансгенні миші, у яких інактивовано м'язово-специфічний домен деацетилази SIRT1, демонструють дефектну регенерацію м'язів, зменшення розміру міоволокон та зниження експресії генів, необхідних їх розвитку [57].

Протеїн RB також взаємодіє з DNMT1 (ДНК-метилтрансфераза 1) і модулює її активність [58]. DNMT1 підтримує патерн метилювання батьківських клітин на ДНК дочірніх клітин під час мітозу, однак, остаточно роль цього протеїну у регуляції поділу СК ще не відома. ГСК із зниженим рівнем *DNMT1* демонстрували нижче самовідновлення тазміну характерної ніші; більше того, ГСК втрачали здатність диференціюватися в інші гемопоетичні клітини. Протеїн DNMT1 регулює метилювання і експресію дискретних родин генів у ГСК, мультипотентних, а також тканино-специфічних клітинах-попередниках, що вказує на те, що DNMT1 по-різному контролює ці популяції клітин [59].

Протеїн KMD5A (лізин-специфічна деметилаза 5A) взаємодіє із білками RB, RBL1 і RBL2 [60]. KMD5A функціонує як деметилаза H3K4 [61]. Протеїн KMD5A інгібує експресію декількох генів, залучених до диференціювання СК. Слід зазначити, що RB взаємодіє з KMD5A, при цьому репресовані гени, необхідні для диференціації, активуються. KMD5A та RB ко-локалізуються в ядрі, а комплекси RB-RBP2 було виявлено на хроматині, виділеному з клітин, що знаходяться у стані диференціювання [62].

Убіквітин-лігаза UHRF2 індукуює зупинку клітинного циклу у фазі G1 шляхом взаємодії з численними білками, асоційованими з клітинним циклом, включаючи цикліни (A2, B1, D1, E1), TP53 і RB [63]. UHRF2, подібно до UHRF1, є важливим кофактором для підтримки метилювання ДНК. UHRF1 експресується переважно в плюрипотентних СК, тоді як рівень *UHRF2* підвищується під час диференціювання та експресується на високому рівні в диференційованих тканинах. Гіперекспресія *UHRF2* в *UHRF1*-нокаутних ЕСК не відновлювала метилювання ДНК у основних сателітах, що вказує на функціональні відмінності між ними. Було висунуто припущення, що спільна взаємодія доменів UHRF2 призводить до чіткого епігенетичного контролю за експресією генів у диференційованих клітинах [34].

RB фізично взаємодіє з білками HDAC “pocket” домен [64]. Відомо, що гістони кодують 18 генів деацетилаз в геномах ссавців, утворюючи чотири групи. Попри схожість у їх ферментативній діяльності, кожен окремий член родин білків HDAC виконує високоспецифічну функцію під час розвитку та диференціації. Інгібітори HDAC представляють інтерес, тому що за певних умов вони можуть сприяти або самовідновленню, або диференціації ЕСК. Крім того, інгібітори HDAC можуть

індукувати спрямоване диференціювання ембріональних СК [65].

Протеїни RING1 і RNF2 є важливими членами полікомбного репресивного комплексу 1 (PRC1). RB взаємодіє із RING1 і діє як модулятор активності E3 убіквітин-лігази RNF2 для гістону H2A. RING1/RNF2 зберігає ідентичність ECK, пригнічуючи транскрипцію регуляторів розвитку на епігенетичному рівні (для мишей). Цільовим геном PRC1 є репресований *OCT4* [66]. Дефіцит протеїна RNF2 викликає зупинку гастрულляції та інгібування клітинного циклу [67]. Втрата RNF2 призводить до аномальної експресії ключових генів розвитку та порушення регуляції шляхів, пов'язаних із диференціюванням, включаючи TGF- β сигналінг, регуляцію клітинного циклу і комунікацію між клітинами. Крім того, рівень експресії маркерів ECK, в тому числі *ZFP42* (білок цинкового пальця 42) і *SOX2* також було зниженим при нокаутному *RNF2* [68].

УЧАСТЬ RB-АСОЦІЙОВАНИХ БІЛКІВ У ТКАНИННОМУ ГОМЕОСТАЗІ, ЗАЛЕЖНОМУ ВІД СК

У живих організмах тканинне середовище жорстко регулюється; кількість клітин контролюється різними фізіологічними процесами. Апоптоз, проліферація, диференціація СК, підтримка плюрипотентності та стану спокою клітинного циклу є прикладами механізмів, що задіяні для стабілізації тканинного гомеостазу. Дерегуляція будь-якого з гомеостатичних механізмів призводить до виникнення важких патологічних станів. СК сприяють гомеостазу тканин протягом всієї тривалості життя еукаріотичних організмів. В принципі, СК повинні застосовувати молекулярні механізми, що запобігають старінню, тобто пригнічувати основні шляхи, пов'язані зі старінням, наприклад, CDKN2A-RB, шлях p14ARF-TP53, а також регуляція довжини теломерів.

РНВ (прогібітин) фізично взаємодіє з усіма трьома білками родини RB [69]. РНВ є ядерним білком-супресором пухлин, який регулює експресію TP53 за дії апоптотичних стимулів. У відповідь на стрес РНВ транслокується з ядра в цитоплазму і далі до мітохондрій. РНВ експресується на високому рівні в недиференційованих ECK, але під час диференціювання його експресія знижується. При знижених рівнях експресії РНВ в плюрипотентних ECK індукується апоптоз, тоді як внаслідок високої ектопічної експресії протеїна РНВ посилюється проліферація ECK. Однак, гіперекспресія РНВ блокує диференціювання ECK в ентодермальні та нейрональні клітини. Підвищена експресія РНВ посилює процесінг протеїна OPA1 (динаміноподібний мітохондріальний білок 120 кДа), що функціонує як ГТФаза, яка контролює ремоделювання крист і злиття мітохондрій [70].

Протеїн RB взаємодіє із білком SMARCA4, що асоційований з матриксом і належить до комплексу SWI/SNF, який регулює структуру хроматину. Внаслідок такої взаємодії індукується зупинка клітинного циклу [71]. SMARCA4 є фактором ремоделювання хроматину, критичним для підтримки популяції специфічних для тканин певного гістогенезу СК [72]. Так, наприклад, делеція *SMARCA4* у епітеліальних клітинах тонкого кишківника призводить до абляції крипт, тоді як внаслідок часткового дефіциту *SMARCA4* спостерігається поступове накопичення клітин дикого типу у слизовій оболонці. З іншого боку, дефіцит *SMARCA4* в епітелії товстого кишківника компенсується підвищенням експресії *SMARCA2*. Тобто, *SMARCA4* необхідний для виживання та функціонування клітин-попередників і диференційованих клітин епітелію кишківника [73].

Нами було показано, що підвищена експресія MRPS18-2 підвищує активність теломерази. Гіперекспресія MRPS18-2 викликала хромосомну нестабільність у ембріональних фібробластах щура, а також у термінально диференційованих фібробластах шкіри щура [74].

Протеїн RB утворює комплекс з білком амфіпатичної спіралі SIN3A (член родини А регулятора транскрипції SIN3), разом із SKI та HDAC [35]. SIN3A контролює гомеостаз, регулюючи експресію *C-MYC*. SIN3A взаємодіє із *C-MYC* і викликає деацетилювання *C-MYC*, що викликає деградацію останнього [75]. При відсутності SIN3A, *C-MYC* рекрутується до комплексу епідермальної диференціації, а реактивація цільових генів *C-MYC* призводить до аномальної епідермальної диференціювання та проліферації. Однак, одночасна інактивація як *C-MYC*, так і *SIN3A* здатна повернути аномальний фенотип шкіри до нормального. SIN3A також інгібує онкогенну активність *C-MYC* шляхом взаємодії з MXI1 (максимально взаємодіючий білок 1) і пригнічення експресії *C-MYC* залежних генів [76]. SIN3A також є інгібітором HDAC1 і HDAC2, що є ключовими протеїнами для гомеостазу ГСК [77].

TRAP1 (білок 1, пов'язаний з рецептором фактора некрозу пухлини) взаємодіє із гіпофосфорильованим RB, за рахунок мотиву LXCXE (78) [2]. Гіперекспресія TRAP1 запобігає апоптозу у нейрональних СК і зберігає потенціал мітохондріальної мембрани [79].

Таким чином, здатність СК до самовідновлення та диференціації обумовлює їх важливість при лікуванні хворих на рак, оскільки із СК виникають різні за гістогенезом клітини і тканини організму. З іншого боку, наразі ідентифікована можливість індукції плюрипотентних СК із соматичних клітин, що відкриває перспективу генерації клітин певного типу і тканин для трансплантації. СК можуть бути корисними у дослідженні ліків, тому що

останні можна тестувати на індукованих СК до використання тваринних моделей. Незважаючи на велику кількість досліджень, присвячених СК, на сьогодні все ще бракує знання молекулярних механізмів біології СК. Протеїн RB є важливим для нормальної фізіології та виживання всіх типів клітин в організмі. Взаємодіючи із RB білки беруть участь у різних процесах, включаючи поділ СК, їх диференціювання та гомеостаз. Наш огляд може бути корисним для подальшого вивчення та розуміння властивостей СК, а також ефективності їх використання у медичній практиці.

Дану роботу було підтримано відомчою програмою Національної Академії наук України, номер державної реєстрації 0123U100099.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; **100** (1): 57–70.
2. Weinberg RA. The Biology of Cancer. Jeffcock E (eds). USA: Garland Science, Taylor and Francis Group; 2007: 255–300.
3. Zhu L. Tumour suppressor retinoblastoma protein Rb: a transcriptional regulator. *Eur J Cancer* 2005; **41** (16): 2415–27. doi: 10.1016/j.ejca.2005.08.009.
4. Giacinti C, Giordano A. RB and cell cycle progression. *Oncogene* 2006; **25** (38): 5220–7. doi: 10.1038/sj.onc.1209615.
5. Rodriguez A, Kelley C, Patel A, Ramasubramanian A. Prenatal diagnosis of retinoblastomas: a scoping review. *Int J Gen Med* 2023; **16**: 1101–10. doi: 10.2147/IJGM.S380634.
6. Figueiredo D, Marques IA, Pires AS, *et al.* Risk of second tumors in retinoblastoma survivors after ionizing radiation: a review. *Cancers (Basel)* 2023; **15** (22): 5336. doi: 10.3390/cancers15225336.
7. Toguchida J, McGee TL, Paterson JC, *et al.* Complete genomic sequence of the human retinoblastoma susceptibility gene. *Genomics* 1993; **17** (3): 535–43. doi: 10.1006/geno.1993.1368.
8. Goodrich DW. The retinoblastoma tumor-suppressor gene, the exception that proves the rule. *Oncogene* 2006; **25** (38): 5233–43. doi: 10.1038/sj.onc.1209616.
9. Sherr CJ. Mammalian G1 cyclins. *Cell* 1993; **73** (6): 1059–65. doi: 10.1016/0092-8674(93)90636-5.
10. Hunter T, Pines J. Cyclins and cancer. II: Cyclin D and CDK inhibitors come of age. *Cell* 1994; **79** (4): 573–82. doi: 10.1016/0092-8674(94)90543-6.
11. Morgan DO. Principles of CDK regulation. *Nature* 1995; **374** (6518): 131–4. doi: 10.1038/374131a0.
12. Hirama T, Koeffler HP. Role of the cyclin-dependent kinase inhibitors in the development of cancer. *Blood* 1995; **86** (3): 841–54.
13. Schwaller J, Pabst T, Koeffler HP, *et al.* Expression and regulation of G1 cell-cycle inhibitors (p16INK4A, p15INK4B, p18INK4C, p19INK4D) in human acute myeloid leukemia and normal myeloid cells. *Leukemia* 1997; **11** (1): 54–63. doi: 10.1038/sj.leu.2400522.
14. Conklin JF, Baker J, Sage J. The RB family is required for the self-renewal and survival of human embryonic stem cells. *Nature communications* 2012; **3** (1244): 1–12. doi: 10.1038/ncomms2254.
15. Girardi RR, Shehata M, Gallardo M, *et al.* Stem and progenitor cell division kinetics during postnatal mouse mammary gland development. *Nature communications* 2015; **6**: 8487. doi: 10.1038/ncomms9487.
16. Becker KA, Ghule PN, Therrien JA, *et al.* Self-renewal of human embryonic stem cells is supported by a shortened G1 cell cycle phase. *Journal of cellular physiology* 2006; **209** (3): 883–93. doi: 10.1002/jcp.20776.
17. Varjosalo M, Keskitalo S, Van Drogen A, *et al.* The protein interaction landscape of the human CMGC kinase group. *Cell reports* 2013; **3** (4): 1306–20. doi: 10.1016/j.celrep.2013.03.027.
18. Ferron SR, Pozo N, Laguna A, *et al.* Regulated segregation of kinase Dyrk1A during asymmetric neural stem cell division is critical for EGFR-mediated biased signaling. *Cell Stem Cell* 2010; **7** (3): 367–79. doi: 10.1016/j.stem.2010.06.021.
19. Kashuba E, Yurchenko M, Yenamandra SP, *et al.* EBV-encoded EBNA-6 binds and targets MRS18-2 to the nucleus, resulting in the disruption of pRb-E2F1 complexes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; **105** (14): 5489–94. doi: 10.1073/pnas.0801053105.
20. Kashuba E, Yenamandra PS, Darekar SD, *et al.* MRPS18-2 protein immortalizes primary rat embryonic fibroblasts and endows them with stem cell-like properties. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; **106** (47): 19866–71. doi: 10.1073/pnas.0911545106.
21. Yenamandra SP, Darekar SD, Kashuba V, *et al.* Stem cell gene expression in MRPS18-2-immortalized rat embryonic fibroblasts. *Cell Death Dis* 2012; **19** (3): 138. doi: 10.1038/cddis.2011.138.
22. Gargic S, Hauser S, Kolfshoten I, *et al.* Inhibition of oncogenic transformation by mammalian Lin-9, a pRB-associated protein. *The EMBO journal* 2004; **23** (23): 4627–38. doi: 10.1038/sj.emboj.7600470.
23. Esterlechner J, Reichert N, Iltzsche F, *et al.* LIN9, a subunit of the DREAM complex, regulates mitotic gene expression and proliferation of embryonic stem cells. *PLoS One* 2013; **8** (5): e62882. doi: 10.1371/journal.pone.0062882.
24. Mushtaq M, Gaza HV, Kashuba EV. Role of the RB-Interacting Proteins in Stem Cell Biology. *Adv Cancer Res* 2016; **131**: 133–57. doi: 10.1016/bs.acr.2016.04.002.
25. MacLellan WR, Xiao G, Abdellatif M, *et al.* A novel Rb- and p300-binding protein inhibits transactivation by MyoD. *Molecular and cellular biology* 2000; **20** (23): 8903–15. doi: 10.1128/MCB.20.23.8903-8915.2000.
26. Fang F, Xu Y, Chew KK, *et al.* Coactivators p300 and CBP maintain the identity of mouse embryonic stem cells by mediating long-range chromatin structure. *Stem Cells* 2014; **32** (7): 1805–16. doi: 10.1002/stem.1705.
27. Vitelli L, Condorelli G, Lulli V, *et al.* A pentamer transcriptional complex including tal-1 and retinoblastoma protein downmodulates c-kit expression in normal erythroblasts. *Molecular and cellular biology* 2000; **20** (14): 5330–42. doi: 10.1128/MCB.20.14.5330-5342.2000.
28. Welinder E, Murre C. Ldb1, a new guardian of hematopoietic stem cell maintenance. *Nat Immunol* 2011; **12** (2): 113–4. doi: 10.1038/ni0211-113.
29. Li L, Jothi R, Cui K, *et al.* Nuclear adaptor Ldb1 regulates a transcriptional program essential for the maintenance of hematopoietic stem cells. *Nat Immunol* 2011; **12** (2): 129–36. doi: 10.1038/ni.1978.
30. Yi F, Pereira L, Hoffman JA, *et al.* Opposing effects of Tcf3 and Tcf1 control Wnt stimulation of embryonic stem cell self-renewal. *Nature cell biology* 2011; **13** (7): 762–70. doi: 10.1038/ncb2283.
31. Nam CH, Rabbitts TH. The role of LMO2 in development and in T cell leukemia after chromosomal translocation or retroviral insertion. *Mol Ther* 2006; **13** (1): 15–25. doi: 10.1016/j.ymthe.2005.09.010.
32. Warren AJ, Colledge WH, Carlton MB, *et al.* The oncogenic cysteine-rich LIM domain protein rbtn2 is essential

- for erythroid development. *Cell* 1994; **78** (1): 45–57. doi: 10.1016/0092-8674(94)90571-1.
33. **Gering M, Yamada Y, Rabbitts TH, et al.** Lmo2 and Scf/Tal1 convert non-axial mesoderm into haemangioblasts which differentiate into endothelial cells in the absence of Gata1. *Development* 2003; **130** (25): 6187–99. doi: 10.1242/dev.00875.
 34. **Pichler G, Wolf P, Schmidt CS, et al.** Cooperative DNA and histone binding by Uhrf2 links the two major repressive epigenetic pathways. *J Cell Biochem* 2011; **112** (9): 2585–93. doi: 10.1002/jcb.23185.
 35. **Tokitou F, Nomura T, Khan MM, et al.** Viral ski inhibits retinoblastoma protein (Rb)-mediated transcriptional repression in a dominant negative fashion. *The Journal of biological chemistry* 1999; **274** (8): 4485–8. doi: 10.1074/jbc.274.8.4485.
 36. **Deheuninck J, Luo K.** Ski and—57. doi: 10.1038/cr.2008.324.
 37. **Nicol R, Stavnezer E.** Transcriptional repression by v-Ski and c-Ski mediated by a specific DNA binding site. *The Journal of biological chemistry* 1998; **273** (6): 3588–97. doi: 10.1074/jbc.273.6.3588.
 38. **Blank U, Karlsson G, Moody JL, et al.** Smad7 promotes self-renewal of hematopoietic stem cells. *Blood* 2006; **108** (13): 4246–54. doi: 10.1182/blood-2006-02-005611.
 39. **Singbrant S, Wall M, Moody J, et al.** The SKI proto-oncogene enhances the *in vivo* repopulation of hematopoietic stem cells and causes myeloproliferative disease. *Haematologica* 2014; **99** (4): 647–55. doi: 10.3324/haematol.2013.093971.
 40. **Jeon BN, Yoo JY, Choi WI, et al.** Proto-oncogene FBI-1 (Pokemon/ZBTB7A) represses transcription of the tumor suppressor Rb gene via binding competition with Sp1 and recruitment of co-repressors. *The Journal of biological chemistry* 2008; **283** (48): 33199–210. doi: 10.1074/jbc.M802935200.
 41. **Lee SU, Maeda M, Ishikawa Y, et al.** LRF-mediated Dll4 repression in erythroblasts is necessary for hematopoietic stem cell maintenance. *Blood* 2013; **121** (6): 918–29.
 42. **Yan XQ, Sarmiento U, Sun Y, et al.** A novel Notch ligand, Dll4, induces T-cell leukemia/lymphoma when overexpressed in mice by retroviral-mediated gene transfer. *Blood* 2001; **98** (13): 3793–9. doi: 10.1182/blood.v98.13.3793.
 43. **Li J, Tsai MD.** Novel insights into the INK4-CDK4/6-Rb pathway: counter action of gankyrin against INK4 proteins regulates the CDK4-mediated phosphorylation of Rb. *Biochemistry* 2002; **41** (12): 3977–83. doi: 10.1021/bi011550s.
 44. **Mine H, Sakurai T, Kashida H, et al.** Association of gankyrin and stemness factor expression in human colorectal cancer. *Digestive diseases and sciences* 2013; **58** (8): 2337–44. doi: 10.1007/s10620-013-2627-8.
 45. **Galderisi U, Cipollaro M, Giordano A.** The retinoblastoma gene is involved in multiple aspects of stem cell biology. *Oncogene* 2006; **25** (38): 5250–6. doi: 10.1038/sj.onc.1209736.
 46. **Chen PL, Riley DJ, Chen-Kiang S, et al.** Retinoblastoma protein directly interacts with and activates the transcription factor NF-IL6. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; **93** (1): 465–9. doi: 10.1073/pnas.93.1.465.
 47. **Classon M, Kennedy BK, Mulloy R, et al.** Opposing roles of pRB and p107 in adipocyte differentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; **97** (20): 10826–31. doi: 10.1073/pnas.190343597.
 48. **Bergh G, Ehinger M, Olsson I, et al.** Involvement of the retinoblastoma protein in monocytic and neutrophilic lineage commitment of human bone marrow progenitor cells. *Blood* 1999; **94** (6): 1971–8.
 49. **Gu W, Schneider JW, Condorelli G, et al.** Interaction of myogenic factors and the retinoblastoma protein mediates muscle cell commitment and differentiation. *Cell* 1993; **72** (3): 309–24. doi: 10.1016/0092-8674(93)90110-c.
 50. **Novitch BG, Mulligan GJ, Jacks T, et al.** Skeletal muscle cells lacking the retinoblastoma protein display defects in muscle gene expression and accumulate in S and G2 phases of the cell cycle. *The Journal of cell biology* 1996; **135** (2): 441–56. doi: 10.1083/jcb.135.2.441.
 51. **Ashe M, Pabon-Pena L, Dees E, et al.** LEK1 is a potential inhibitor of pocket protein-mediated cellular processes. *The Journal of biological chemistry* 2004; **279** (1): 664–76. doi: 10.1074/jbc.M308810200.
 52. **Lavender P, Vandel L, Bannister AJ, et al.** The HMG-box transcription factor HBP1 is targeted by the pocket proteins and E1A. *Oncogene* 1997; **14** (22): 2721–8. doi: 10.1038/sj.onc.1201243.
 53. **Watanabe N, Kageyama R, Ohtsuka T.** Hbp1 regulates the timing of neuronal differentiation during cortical development by controlling cell cycle progression. *Development* 2015; **142** (13): 2278–90. doi: 10.1242/dev.120477.
 54. **Balasesenthil S, Vadlamudi RK.** Functional interactions between the estrogen receptor coactivator PELP1/MNAR and retinoblastoma protein. *The Journal of biological chemistry* 2003; **278** (24): 22119–27. doi: 10.1074/jbc.M212822200.
 55. **Wang J, Qiang Z, Song S, et al.** Temporal expression of Pelp1 during proliferation and osteogenic differentiation of rat bone marrow mesenchymal stem cells. *PLoS One* 2013; **8** (10): e75477. doi: 10.1371/journal.pone.0075477.
 56. **Wang C, Chen L, Hou X, et al.** Interactions between E2F1 and SirT1 regulate apoptotic response to DNA damage. *Nature cell biology* 2006; **8** (9): 1025–31. doi: 10.1038/ncb1468.
 57. **Ryall JG, Dell'Orso S, Derfoul A.** The NAD(+)-dependent SIRT1 deacetylase translates a metabolic switch into regulatory epigenetics in skeletal muscle stem cells. *Cell Stem Cell* 2015; **16** (2): 171–83. doi: 10.1016/j.stem.2014.12.004.
 58. **Pradhan S, Kim GD.** The retinoblastoma gene product interacts with maintenance human DNA (cytosine-5) methyltransferase and modulates its activity. *The EMBO journal* 2002; **21** (4): 779–88. doi: 10.1093/emboj/21.4.779.
 59. **Trowbridge JJ, Snow JW, Kim J, et al.** DNA methyltransferase 1 is essential for and uniquely regulates hematopoietic stem and progenitor cells. *Cell Stem Cell* 2009; **5** (4): 442–9. doi: 10.1016/j.stem.2009.08.016.
 60. **Kim YW, Otterson GA, Kratzke RA, et al.** Differential specificity for binding of retinoblastoma binding protein 2 to RB, p107, and TATA-binding protein. *Molecular and cellular biology*. 1994; **14** (11): 7256–64. doi: 10.1128/mcb.14.11.7256-7264.1994.
 61. **Klose RJ, Yan Q, Tothova Z, et al.** The Retinoblastoma Binding Protein RBP2 Is an H3K4 Demethylase. *Cell* 2007; **128** (5): 889–900. doi: 10.1016/j.cell.2007.02.013.
 62. **Benevolenskaya EV, Murray HL, Branton P, et al.** Binding of pRB to the PHD protein RBP2 promotes cellular differentiation. *Molecular cell* 2005; **18** (6): 623–35. doi: 10.1016/j.molcel.2005.05.012.
 63. **Mori T, Ikeda DD, Fukushima T, et al.** NIFR constitutes a nodal point in the cell cycle network and is a candidate tumor suppressor. *Cell cycle* 2011; **10** (19): 3284–99. doi: 10.4161/cc.10.19.17176.
 64. **Brehm A, Miska EA, McCance DJ.** Retinoblastoma protein recruits histone deacetylase to repress transcription. *Nature* 1998; **391** (6667): 597–601. doi: 10.1038/35404.
 65. **Kretsovali A, Hadjimichael C, Charnpilas N.** Histone deacetylase inhibitors in cell pluripotency, differentiation, and

- reprogramming. *Stem Cells Int* 2012; **184154** (10): 8. doi: 10.1155/2012/184154.
66. Endoh M, Endo TA, Endoh T, *et al.* Polycomb group proteins Ring1A/B are functionally linked to the core transcriptional regulatory circuitry to maintain ES cell identity. *Development* 2008; **135** (8): 1513–24. doi: 10.1242/dev.014340.
 67. Voncken JW, Roelen BA, Roefs M, *et al.* Rnf2 (Ring1b) deficiency causes gastrulation arrest and cell cycle inhibition. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; **100** (5): 2468–73. doi: 10.1073/pnas.0434312100.
 68. Van der Stoep P, Boutsma EA, Hulsman D, *et al.* Ubiquitin E3 ligase Ring1b/Rnf2 of polycomb repressive complex 1 contributes to stable maintenance of mouse embryonic stem cells. *PLoS One* 2008; **3** (5): e2235. doi: 10.1371/journal.pone.0002235.
 69. Wang S, Nath N, Adlam M, *et al.* Prohibitin, a potential tumor suppressor, interacts with RB and regulates E2F function. *Oncogene* 1999; **18** (23): 3501–10. doi: 10.1038/sj.onc.1202684.
 70. Kowno M, Watanabe-Susaki K, Ishimine H, *et al.* Prohibitin 2 regulates the proliferation and lineage-specific differentiation of mouse embryonic stem cells in mitochondria. *PLoS One* 2014; **9** (4): e81552. doi: 10.1371/journal.pone.0081552.
 71. Dunaief JL, Strober BE, Guha S, *et al.* The retinoblastoma protein and BRG1 form a complex and cooperate to induce cell cycle arrest. *Cell* 1994; **79** (1): 119–30. doi: 10.1016/0092-8674(94)90405-7.
 72. Corsini NS, Sancho-Martinez I, Laudenklos S, *et al.* The death receptor CD95 activates adult neural stem cells for working memory formation and brain repair. *Cell Stem Cell* 2009; **5** (2): 178–90. doi: 10.1016/j.stem.2009.05.004.
 73. Holik AZ, Krzystyniak J, Young M, *et al.* Brg1 is required for stem cell maintenance in the murine intestinal epithelium in a tissue-specific manner. *Stem Cells* 2013; **31** (11): 2457–66. doi: 10.1002/stem.1498.
 74. Darekar SD, Mushtaq M, Gurrapu S, *et al.* Mitochondrial ribosomal protein S18-2 evokes chromosomal instability and transforms primary rat skin fibroblasts. *Oncotarget* 2015; **6** (25): 21016–28. doi: 10.18632/oncotarget.4123.
 75. Nascimento EM, Cox CL, MacArthur S, *et al.* The opposing transcriptional functions of Sin3A and c-Myc are required to maintain tissue homeostasis. *Nature cell biology* 2011; **13** (12): 1395–405. doi: 10.1038/ncb2385.
 76. Rao G, Alland L, Guida P, *et al.* Mouse Sin3A interacts with and can functionally substitute for the amino-terminal repression of the Myc antagonist Mxi1. *Oncogene* 1996; **12** (5): 1165–72.
 77. Heideman MR, Lancini C, Proost N, *et al.* Sin3a-associated Hdac1 and Hdac2 are essential for hematopoietic stem cell homeostasis and contribute differentially to hematopoiesis. *Haematologica* 2014; **99** (8): 1292–303. doi: 10.3324/haematol.2013.092643.
 78. Chen CF, Chen Y, Dai K, *et al.* A new member of the hsp90 family of molecular chaperones interacts with the retinoblastoma protein during mitosis and after heat shock. *Molecular and cellular biology* 1996; **16** (9): 4691–9. doi: 10.1128/MCB.16.9.4691.
 79. Wang Y, Lin J, Chen QZ, *et al.* Overexpression of mitochondrial Hsp75 protects neural stem cells against microglia-derived soluble factor-induced neurotoxicity by regulating mitochondrial permeability transition pore opening *in vitro*. *Int J Mol Med* 2015; **36** (6): 1487–96. doi: 10.3892/ijmm.2015.2380.

A ROLE OF THE RB PROTEIN IN THE SUPPORT OF CELL STEMNESS

L. Kovalevska, A. Matveeva, O. Kashuba

RE Kavetsky Institute of Experimental Pathology,
Oncology and Radiobiology
of National Academy of Sciences of Ukraine

Summary. The present paper is a review on the literature data and our research, concerning a role of the retinoblastoma (RB) protein in pluripotent stem cells (SCs) proliferation and differentiation. The role of RB in the cell cycle, in development of pathological conditions, in the control on cell differentiation, and in epigenetic regulation of expression of the SC-specific genes is discussed, in the light of protein-protein interactions. The present review

might be useful for the further studies and understanding of SC properties, as well as the effectiveness of use of SCs in medical practice.

Keywords: RB protein, RB-binding proteins, stemness, pluripotent cells, cell cycle, transcription factors.

Адреса для листування:

Ковалевська Л.М.
03022, Київ, вул. Васильківська, 45
Інститут експериментальної патології, онкології
і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України
E-mail: krey1@yahoo.com

Одержано: 16.11.2023