
ФІЗІОЛОГІЯ ТА БІОХІМІЯ РИБ

УДК 597–115:597.554.3

ПЕРЕВАГИ ВИКОРИСТАННЯ *Danio rerio* ЯК МОДЕЛЬНОЇ СИСТЕМИ У ДОСЛІДЖЕННЯХ БІЛКА p53

О.В. Залоїло

Інститут рибного господарства НААН України

*Наведено короткий літературний огляд переваг використання риби *Danio rerio* як модельної системи у дослідженнях білка p53. Описано структуру та функції p53 у *Danio rerio*, взаємодію p53 із злаякісними пухлинами, процеси регуляції p53, а також розглянуто участь p53 у онтогенезі та канцерогенезі.*

Розвиток сучасної генетики, відкриття нових генів та їх продуктів, встановлення їх ролі у життєвому циклі клітини та проходженні різноманітних патологій, зокрема канцерогенезу, призводить до постійних змін в уявленнях про механізми життєдіяльності клітини та розвиток онкологічних захворювань.

Одним із найбільш вагомих транскрипційних факторів, здатних до регуляції самодовільного поділу клітин та клітинного життєвого циклу в цілому, є білок p53. У людини цей білок кодується геном TP53, який міститься у 17-й хромосомі. В немутованому стані p53 виступає як супресор виникнення злаякісних пухлин. З іншого боку, приблизно в половині досліджуваних онкопухлин спостерігались мутовані похідні p53, що свідчить про його протоонкогенні властивості.

Уперше білок p53 ідентифіковано у 1979 р. у комплексі з великим Т-антигеном SV40 [1–5]. Виявлення цього комплексу в клітинах, які були трансформовані SV40, стало першим прикладом взаємодії клітинних і вірусних білків. Пізніше встановили, що мутації, які виникають на різних стадіях функціонування гена p53, мають регуляторний потенціал. Це стало доказом супресорних властивостей білка. [6]. Назву білок отримав від своєї молекулярної маси, визначеної за допомогою електрофорезу у поліакриламідному гелі (53 кДа). Пізніше цей по-

казник був суттєво уточнений: сьогодні вважається, що молекулярна маса p53 становить 43,7 кДа.

Структура p53. У людини білок p53 має 5-доменну структуру з 393 амінокислотних залишків. Кожен із доменів має свої функціональні особливості, обумовлені просторовою конфігурацією:

- N-кінцевий домен, активатор транскрипції;
- ДНК-зв'язуючий домен, саме він зазнає більшості рецесивних мутацій під час ракової трансформації. Результатом таких процесів є нездатність білка p53 зв'язуватись з ДНК, тобто його інактивация;
- C-кінцевий домен, виступає як “від'єднувач” ДНК-кінцевого домену від ДНК;
- проліновий домен, відіграє провідну роль в активації апоптичних властивостей p53;
- полімеризуючий домен, бере участь в олігомеризації білка. Результатом цього процесу є утворення тетрамеру p53: саме така його форма здатна до нативного функціонування. Полімеризуючий домен може зазнавати впливу домінантних мутацій, унаслідок яких утворюються димери з мутованого p53 і дикого білка. Така структура призводить до повної втрати функціональних властивостей.

Функції p53. За відсутності порушень у генетичному апараті білок p53 пере-

буває у неактивному стані. Активація білка здійснюється при накопиченні певної кількості пошкоджень ДНК, появі стимулів, що можуть призвести до руйнування генетичного апарату, або при переході клітини у стресовий стан. Активація p53 виникає як здатність до зв'язування з ДНК, запуск транскрипції генів, зупинення реплікації ДНК і клітинного циклу та стимуляція апоптозу клітини (у критичних випадках). Кінцевим результатом діяльності p53 є виведення з реплікативного пулу потенційно онкогенних клітин. У процесі функціонування білок p53 зазнає численних мутацій та інших модифікаційних змін, що служать регуляторним фактором його активності.

Білок p53 є основним продуктом однопічного гена-супресора і здатний до експресії в будь-яких клітинах організму [7]. Неактивний білок p53 накопичується в цитоплазмі, активний міститься, як правило, у клітинному ядрі. Після зникнення відповідних ушкоджень білок p53 зазнає напіврозпаду, який здійснюється впродовж 5–20 хв.

Стабільність p53 регулюється білком Mdm2, який вперше ідентифіковано у клітинах мишей [8]. Цей показник є основним фактором активності білка p53: зростання ступеня стабільності призводить до активації. Регуляція стабільності здійснюється шляхом зв'язування N-кінцевих доменів p53 і Mdm2, при цьому активність p53 значно знижується. Крім того, такий комплекс виявляє інгібуючу дію на процеси транскрипції.

Danio rerio як модельна система. Спочатку фундаментальні дослідження p53 було проведено на клітинах людини та миші, а пізніше опубліковані результати експериментів із використанням клітин щура, собаки та свині [9]. Однак останніми роками виявлено, що ген-супресор p53 акваріумної риби *Danio rerio* (*zebrafish*) є аналогічним людському, тому його часто використовують у генетиці та вірусології як модельний організм для дослідження генетичного апарату хребетних [10].

Популярність використання *Danio rerio* у дослідженнях з експериментальної біології пояснюється також стійкістю її молекулярної, генетичної та ембріологічної систем. Так, було проведено успішний

аналіз раннього ембріонального розвитку хребетних на окремих клітинах та тканинах *Danio rerio* [11]. Крім того, використання *Danio rerio* є перспективним при вивченні генетики розвитку та фізіології. Застосування *Danio rerio* у генетичних та ембріологічних дослідженнях є цілком обґрунтованим: ембріони риби оптично прозорі та розвиваються окремо від материнського організму, що дозволяє візуально спостерігати за різними стадіями раннього розвитку. Встановлено також аналогічність багатьох геномних ділянок *Danio rerio* та людини, тому результати досліджень цього об'єкта можна проєкціювати на організм людини.

На сьогодні методом аналізу подвійних фенотипів у *Danio rerio* ідентифіковано дві основні великі послідовності (генетичні екрани), які складаються більш як із 600 генів, характерних для раннього ембріогенезу, і значну кількість невеликих послідовностей [12]. У великих послідовностях, в свою чергу, продовжують відкривати окремі ділянки, які відповідають за здійснення різних фізіологічних процесів. Очевидно, що така широка інформаційна база генетичного апарату сприяє зручності використання *Danio rerio* у біологічних дослідженнях.

За допомогою генетичних методик можна одержати гаплоїдні ембріони *Danio rerio*, що дозволяє усувати одне або декілька поколінь з перехрестних схем [13]. Це приводить до значної економії часу. Подібні дослідження дали можливість успішно ідентифікувати гени, як відіграють важливу роль в ембріогенезі.

Таким чином, *Danio rerio* — це ефективна модельна система, яка дозволяє здійснити класичні генетичні дослідження з метою ідентифікації генів, що інтенсивно функціонують протягом ембріонального розвитку хребетних, а також проаналізувати одержані фенотипи за допомогою новітніх ембріологічних методик.

Окрім можливості ідентифікації генів та оцінки їх функціональних особливостей, *Danio rerio* активно використовують у трансгенних технологіях. Наприклад, саме для цього об'єкта одержано трансгенні лінії, що призводять до експресії репортерних генів. А в природному стані експресія таких генів перебуває під конт-

ролем специфічних речовин-стимуляторів, які характерні лише для певного типу тканини [14, 15]. Крім того, нещодавно було продемонстровано успішну роботу системи GAL4-UAS у *Danio rerio* [16]. Як відомо, ця система була відкрита вперше у дрозофіл і довгий час використовувалась як надзвичайно ефективний аналітичний інструмент [17]. Можливість керувати просторовими і часовими конструкціями експресії гена або структурами репортерних систем у природних умовах є потужним засобом для аналізу функцій гена й узагальнення його ролі для інших систем. Швидкий розвиток таких методів, які стають суттєвим додатком до вже існуючих, висуває на перший план значну кількість генетичних методик, можливих у експериментах із *Danio rerio* [18].

Незважаючи на всі згадані переваги *Danio rerio* як модельної системи у наукових дослідженнях, цей об'єкт має суттєвий недолік, а саме нездатність певних генів до мутації після відповідних рекомбінацій. Крім *Danio rerio* та мишей, дана технологія спрацьовує для всіх основних модельних систем генетики. Такий недолік не є критичним, однак досить суттєвий, адже саме з допомогою описаної методики найбільш ефективно визначають функцію гена після відповідного клонування.

Використання *Danio rerio* як модельної системи значно сприяло вирішенню багатьох проблем розвитку хребетних. Нещодавно *Danio rerio* почали застосовувати при дослідженні механізмів перебігу хвороб людини. У результаті численних експериментів із використанням *Danio rerio* ідентифіковано низку генів, дія яких проявляється на різних етапах розвитку організму та при патологіях [19].

На особливу увагу заслуговують дослідження *Danio rerio*, що дозволили визначити роль гена-супресора p53 у формуванні різних типів пухлин. Крім того, було виявлено, що продукти p53 та споріднені з ним гени відіграють суттєву роль у процесі ембріогенезу організму. Використання *Danio rerio* також дало змогу визначити нові механізми регуляції p53 та дослідити функціональні особливості цих механізмів у природних умовах.

Структура та функції p53 у Danio rerio. Ген p53 *Danio rerio* та ссавців ду-

же подібні як за структурою, так і за функціями. У *Danio rerio* амінокислотна послідовність, що утворює цей ген, на 48% ідентична гену p53 людини [20]. Функціонування p53 в організмі *Danio rerio* починається на дуже ранніх стадіях розвитку — вже через 1 годину після запліднення [21]. Приблизно такі самі процеси спостерігаються і в ембріонах мишей [22].

Функції p53 *Danio rerio* уперше описані у 2002 р. [10]. Ембріонам робили ін'єкцію антисенсорного морфоліну, що призводило до зменшення кількості p53. Такі ембріони за розвитком та функціями не відрізнялись від контрольних зразків, однак демонстрували значно знижену індукцію апоптозу у відповідь на фізичні (ультрафіолетове опромінення) та хімічні (інгібітор тропоізомерази камптотекін) пошкодження ДНК.

Подібні результати спостерігались і при штучних мутаціях ДНК-зв'язуючого домену p53 [23]. Наприклад, у зовні нормально розвинених ембріонах із мутованим p53 практично не спостерігалось апоптозів у відповідь на дію радіації. Деякі дані свідчать про те, що p53 регулює апоптичні процеси у відповідь на величезну кількість стимулів, які спрямовані на руйнування ДНК [10, 23–25]. Таким чином було встановлено, що і у *Danio rerio* і в ссавців основною функцією p53 є медіація апоптозу.

Інші функції p53 у *Danio rerio* також є аналогічними до ссавців. Зокрема було показано, що взаємодія домену p53 з геном Mdm 2 призводить до зниження активності p53 [21]. Ембріони зі зниженим вмістом Mdm 2 повільно розвивались та демонстрували високий рівень апоптозу клітин. На основі таких результатів зроблено висновок, що Mdm2 у *Danio rerio* виступає як інгібітор функціональності p53. Такі самі закономірності були показані раніше в організмі мишей [26]. Однак останнім часом з'явилися гіпотези про те, що високий рівень апоптозів у ембріонах із недостатньою кількістю Mdm2 є результатом його нецільових ефектів, а не підвищеної активності p53 [24]. Таким чином, питання про роль взаємодії p53 і Mdm2 залишається відкритим.

Відомо, що p53 у *Danio rerio* виступає також як регулятор транскрипції. При

цьому домену p53 здатні зв'язуватись, крім Mdm2, ще й з генами p21 та bax. Залежно від того, з яким геном зв'язується p53, змінюються його функціональні особливості [25]. Крім зазначених можливостей, останніми роками було також описано і нові функції p53 у *Danio rerio*, що відіграють важливу роль в онтогенезі вищих хребетних.

Взаємодія p53 *Danio rerio* з раковими пухлинами. Сьогодні не піддається сумніву важливість ролі p53 у процесах розвитку ракових пухлин. Це — ген-супресор пухлини, який найчастіше видозмінюється в результаті взаємодії з нею. Більш як у половини твердих пухлин було знайдено мутовані форми p53, тимчасом як у інших пухлинах інактивація цього гена здійснювалась не за рахунок мутації, а опосередкованим чином, наприклад шляхом зв'язування з Mdm2 [27]. У літературі є дані про те, що при підвищенні кількості мутацій p53 людина має значний ризик захворіти на рак [28, 29]. Подібна тенденція спостерігалась й у гомозиготних мишей [30]. У *Danio rerio* p53 також є супресором пухлин. Згідно із дослідженнями, у 28% гомозиготних особин розвиваються пухлини, причому у гетерозиготних та диких форм *Danio rerio* такий розвиток відбувається досить рідко [31].

Пухлини *Danio rerio* гістологічно є дуже подібними до злоякісних пухлин периферійної нервової оболонки людини. Різниця у структурі була показана на основі даних електронної мікроскопії [32]. Слід зазначити, що пухлини периферичної нервової оболонки у ссавців утворюються досить рідко, а у *Danio rerio* будь-які пухлини мають саме таку структуру. Відмінності у будові пухлин *Danio rerio* та людини вчені пояснюють високою специфічністю тканин у різних класів тварин [23].

Очевидно, що мутації p53 суттєво впливають на процес утворення пухлин як у ссавців, так і в *Danio rerio*. Після серії досліджень злоякісних пухлин у мишей для *Danio rerio* було одержано подібні результати, які свідчили, що пухлина починає розвиватись після дисрегуляції p53 і під час подальших мутацій цього гена. Таким чином, *Danio rerio* є зручною модельною системою для встановлен-

ня причин регуляторних розладів p53, факторів та механізмів мутацій цього гена та вивчення альтернативних шляхів онкопатогенезу в хребетних. Зокрема, показано, що мутації гена p53 у *Danio rerio* відіграють суттєву роль при утворенні меланом [33–35] та рабдоміосарком [36]. Вплив p53 на розвиток пухлин неракового характеру є окремою темою, яку ми не ставили за мету детально розглядати у даній роботі.

Регуляція p53 *Danio rerio*. Важливу роль p53 відіграє у контролі клітинного циклу та апоптозу, сформованому як реакція на стресовий стан клітини, тому вивчення складних регуляторних принципів активності p53 є актуальною проблемою для профілактики утворення пухлин. Звичайно, найбільша увага приділяється сьогодні дослідженню механізмів інактивації p53 у розвитку ракових пухлин. Для ссавців не існує єдиної теорії, що пояснювала б регуляторний механізм p53, оскільки сама регуляція часто здійснюється різними модифікаціями речовин [37]. Однак для *Danio rerio* детально описано регуляторні процеси у мРНК та зміна вмісту білків у відповідь на різні стресові стани клітини [38]. Це є ще однією перевагою *Danio rerio* для використання у дослідженні канцерогенних механізмів. Проте слід сказати, що спектр уявлень про нові шляхи регуляції p53 при нормальному розвитку та канцерогенезі постійно розширюється.

У клітинах людини знайдено багато ізоформ, яких може набувати p53 [39], серед них окреме місце посідає ізоформа $\Delta 133$ p53 та її ортолог $\Delta 113$ p53 у *Danio rerio*. Ці білки, що мають спільного еволюційного предка, транскрибуються за допомогою альтернативного катализатора, який міститься у четвертому інтроні p53. Для обох ізоформ характерна відсутність трансактиваційного домену, однак і $\Delta 113$ p53, і $\Delta 133$ p53 мають цілком інтактний ДНК-зв'язуючий домен. Отже, обидва білки відіграють роль регуляторів p53, знижуючи його активну здатність до транскрипції. Зокрема, результати практичних експериментів уперше показали, що $\Delta 133$ p53 здатний уповільнювати апоптози, зумовлені p53 [40]. Подальші дослідження регуляторної ролі ізоформ проведено на *Danio rerio* [41].

Встановлено, що у білка $\Delta 113p53$ є низка взаємозв'язаних локусів, які відповідають за активність транскрипції і постають безпосередніми регуляторами p53. Ці автори займались також вивченням впливу $\Delta 113p53$ на розвиток апоптозу при руйнуванні ДНК ембріонів *Danio rerio*. Було показано, що значна експресія $\Delta 113p53$ призводила до різкого зниження кількості апоптозів під впливом p53 в ембріонах риби, що збігалось з результатами аналогічних експериментів на людських клітинах. З іншого боку, при введенні значної концентрації Морфоліно (синтетичного олігонуклеотида, який інгібує ступінь експресії p53), кількість апоптозів у відповідь на радіаційне руйнування ДНК значно зростала. Було висунуто гіпотезу, що експресія $\Delta 113p53$ є захисним механізмом проти апоптозів за участі p53.

Окрім своєї основної ролі, $\Delta 113p53$ *Danio rerio* впливає на інші гени, які регулюються p53. Зокрема, показано, що ця ізоформа здатна підвищувати активність таких генів, як p21 та Mdm 2, однак уповільнює дію проапоптичного гена bax. Цікаво, що антиапоптичний ген bcl2L, дія якого пригнічується експресованим p53, активується ізоформою $\Delta 113p53$, тобто знову дія цього білка призводить до вповільнення апоптозу. Таким чином, не варто розглядати функцію $\Delta 113p53$ як хаотичного вповільнювача дії p53: скоріше цей білок є модулятором транскрипції із участю p53. Крім того, деякі автори демонструють важливу роль $\Delta 113p53$ в апоптозах, спричинених мутаціями [42]. Таким чином, ця ізоформа може суттєво впливати на загальний розвиток хребетних.

Крім регуляції ізоформою $\Delta 113p53$, суттєву роль у зміні активності p53 відіграють рибосомні білки. На сьогодні в організмі *Danio rerio* визначено майже 300 генів, серед яких — 28 рибосомально-білкових генів, необхідних для процесів первинного розвитку [43–45]. Гомозиготні мутанти за цими генами гинуть, як правило, ще на ембріональних стадіях, однак гетерозиготні особини є цілком життєздатними. Такі гетерозиготи-мутанти майже в 100% випадків є носіями злоякісних пухлин оболонки периферійного нерва [46], причому у

28% цих особин пухлини з'являються на 16,5 місяця життя [23].

Також було продемонстровано подібність експресії рибосомно-білкових генів та p53 *Danio rerio*. Спостереження за переміщенням p53 у процесі виникнення пухлини показали, що недостатні концентрації рибосомних білків значною мірою послаблюють синтез p53 у пухлинах [47]. Цей ефект підтверджено на 17 гомологічних генах. Автори висувають припущення про наявність єдиного механізму регуляції активності p53 рибосомними білками. Вивчення цього процесу дозволить вирішити багато актуальних завдань, наприклад, проблему дози рибосомних білків у канцерогенезі. Однак слід наголосити, що регулююча функція рибосомних білків для p53 не є універсальною: принцип регуляції здійснюється лише в межах пухлинних тканин [48]. З іншого боку, визначено, що регуляція p53 виявляється лише за певного рівня експресії рибосомних білків; під час повної експресії спостерігався апоптоз, спровокований геном p53 [49]. Також було показано, що активація p53 може залежати від ступеня рибосомної функції [50, 51]. Очевидно, що визначення таких альтернативних шляхів регуляції p53 належить до провідних наукових завдань.

Окрему позицію у регуляції p53 *Danio rerio* займають численні невеликі незакодовані РНК (мікроРНК), які контролюють ступінь експресії цього гена. При цьому спостерігається дроблення таких РНК, поступова репресія p53, що здійснюється шляхом зв'язування гена з локусами мікроРНК [52]. Показано, що одна з таких мікроРНК — miR-125b є безпосереднім регулятором p53 як у *Danio rerio*, так і у людини. Крім того, miR-125b здатна пригнічувати й ендогенні білкові продукти p53, а відповідно, і процеси апоптозу в пухлинах. Було встановлено, що miR-125b відіграє важливу роль у процесі онтогенезу: пригнічення експресії цієї РНК спричиняє неавральну смерть ембріона. Оскільки miR-125b виділяється в усіх ділянках ембріона, його регуляторна роль має розсіюючий характер [53].

Безумовно, відкриття альтернативних шляхів регуляції p53 у разі утворення пухлини відіграє важливу роль у формуванні уявлень про механізми канцерогенезу,

що може стати основою для створення ефективних засобів боротьби із раком.

Отже, зважаючи на значну кількість сучасних літературних даних, які свідчать про можливість екстраполяції генетичних досліджень *Danio rerio* на проблеми генетики людини, *Danio rerio* є перспективною модельною системою у дослідженні як нормальних онтогенетичних процесів, так і патологій, зокрема канцерогенезу. Як і будь-яка модельна система, *Danio rerio* має ряд суттєвих недоліків, які необхідно враховувати при плануванні експерименту. Суттєвою перевагою використання *Danio rerio* є можливість всебічних досліджень гена p53, функціональні особливості якого обумовлюють

апоптичні процеси у клітинах, що зазнають раптових структурних змін, як, наприклад, на початкових стадіях виникнення ракової пухлини. Безумовно, цікавим аспектом даного спрямування є дослідження найбільш характерних мутацій p53, які відіграють провідну роль у формуванні меланом та рабдіоміосарком. Нарешті, ще одним важливим завданням, яке успішно вирішується за допомогою використання модельної системи *Danio rerio*, є встановлення основних механізмів та принципів регуляції p53. Результати подібних досліджень дозволять у майбутньому сформувати основні методи керування апоптичними процесами за посередництвом гена p53.

ЛІТЕРАТУРА

1. De Leo A.B., Jay G., Appella E., Dubois G.C., Law L., Old L.J. Detection of a transformation-related antigen in chemically induced sarcomas and other transformed cells of the mouse // Proc Natl Acad Sci USA. — 1979. — Vol. 76. — P. 2420–2424.
2. Kress M., May E., Cassingena R., May P. Simian Virus 40-transformed cells express new species of proteins precipitable by anti-simian virus 40 serum // J. Virol. — 1979. — Vol. 31. — P. 472–483.
3. Lane D.P., Crawford L.V. T antigen is bound to a host protein in SV40-transformed cells // Nature. — 1979. — Vol. 278. — P. 261–263.
4. Linzer D.H., Levine A.J. Characterization of a 54 K dalton cellular SV40 tumor antigen resect in SV40-transformed cells and in infected embryonal carcinoma cells // Cell. — 1979. — Vol. 1. — P. 43–52.
5. Melero J.A., Stitt D.T., Mangel W.F., Carroll R.B. Identification of new polypeptide species (48–55K) immunoprecipitable by antiserum to purified large T antigen and present in simian virus 40-infected and transformed cells // J. Virol. — 1979. — Vol. 93. — P. 466–480.
6. Levine A.J. The p53 tumour suppressor gene and product // Cancer Surv. — 1992. — Vol. 2. — P. 59–79.
7. Levine A.J., Momand J., Finlay C.A. The p53 tumour suppressor gene // Nature. — 1991. — Vol. 351. — P. 453–456.
8. Fakharzadeh S.S., Trusko S.P., George D.L. Tumorigenic potential associated with enhanced expression of a gene that is amplified in a mouse tumor cell line // EMBO J 10. — 1991. — Vol. 6. — P. 1565–1569.
9. Lyapustin V.N., Svitkin Yu.V., Lashkevich V.A. Synthesis of virus-specific proteins in tick-borne encephalitis virus-infected pig embryo kidney cells // Acta Virol. 24. — 1980. — Vol 5. — P. 305–310.
10. Langheinrich U., Hennen E., Stott G., Vacun G. Zebrafish as a model organism for the identification and characterization of drugs and genes affecting p53 signaling // Curr Biol. — 2002. — Vol. 12. — P. 2023–2028.
11. Lee H., Kimelman D. A dominant-negative form of p53 is required for epidermal proliferation in zebrafish // Dev Cell. — 2002. — Vol. 2. — P. 607–616.
12. Driever W., Solnica-Krezel L., Schier A.F., Neuhauss S.C., Malicki J., Stemple D.L., Stainier D.Y., Zwartkruis F., Abdelilah S., Rangini Z., Belak J., Boggs C. A genetic screen for mutations affecting embryogenesis in zebrafish // Development. — 1996. — Vol. 123. — P. 37–46.
13. Melancon, E., Liu D.W., Westerfield M., Eisen J.S. Pathfinding by identified zebrafish motoneurons in the absence of muscle pioneers // J. Neurosci. — 1997. — Vol. 17. — P. 7796–7804.
14. Higashijima S., Okamoto H., Ueno N., Hotta Y., Eguchi G. High-frequency generation of transgenic zebrafish which reliably express GFP in whole muscles or the whole body by using promoters of zebrafish origin // Dev. Biol. — 1997. — Vol. 192. — P. 289–299.
15. Long Q., Meng A., Wang H., Jessen J.R., Farrell M.J., Lin S. GATA-1 expression pattern can be recapitulated in living transgenic zebrafish using GFP reporter gene // Development. — 1997. — Vol. 124. — P. 4105–4111.
16. Scheer N., Campos-Ortega A. Use of the Gal4-UAS technique for targeted gene expression in the zebrafish // Mech. Dev. — 1999. — Vol. 80. — P. 153–158.

17. *Ceol C.J., Houvras Y., White R.M., Zon L.I.* Melanoma biology and the promise of zebrafish // *Zebrafish*. — 2008. — Vol. 5. — P. 247–255.
18. *Kutok J.L., Fletcher C.D., Morris J.P., Liu T.X., Schulte-Merker S., Kanki J.P.* p53 mutant zebrafish develop malignant peripheral nerve sheath tumors // *Proc Natl Acad Sci*. — 2005. — Vol. 102. — P. 407–412.
19. *Milner J.* A conformation hypothesis for the suppressor and promoter functions of p53 in cell growth control and in cancer // *Proc R Soc Lond [Biol.]*. — 1991. — Vol. 245. — P. 139–145.
20. *Cheng R., Ford B.L., O'Neal P.E., Mathews C.Z., Bradford C.S., Thongtan T., Barnes D.W., Hendricks J.D., Bailey G.S.* Zebrafish (*Danio rerio*) p53 tumor suppressor gene: cDNA sequence and expression during embryogenesis // *Mol Mar Biol Biotechnol*. — 1997. — Vol. 6. — P. 88–97.
21. *Thisse C., Neel H., Thisse B., Daujat S., Piette J.* The Mdm2 gene of zebrafish (*Danio rerio*): preferential expression during development of neural and muscular tissues, and absence of tumor formation after overexpression of its cDNA during early embryogenesis // *Differentiation*. — 2000. — Vol. 66. — P. 61–70.
22. *Schmid P., Lorenz A., Hameister H., Montenarh M.* Expression of p53 during mouse embryogenesis // *Development*. — 1991. — Vol. 113. — P. 857–865.
23. *Berghmans S., Murphey R.D., Wienholds E., Neuberg D., Kutok J.L., Christopher D., Fletcher M., Morris J.P., Liu Ting Xi, Schulte-Merker S., Kanki J.P., Plasterk R., Zon Leonard I., Thomas A.* tp53 mutant zebrafish develop malignant peripheral nerve sheath tumors // *LookPNAS | January 11, 2005*. — Vol. 102. — № 2. — P. 407–412.
24. *Robu M.E., Larson J.D., Nasevicius A., Beiraghi S., Brenner C., Farber S.A., Ekker S.C.* p53 activation by knockdown technologies // *PLoS Genet*. — 2007. — Vol. 3. — P. 78–82.
25. *Lee K.C., Goh W.L., Xu M., Kua N., Lunny D., Wong J.S., Coomber D., Vojtesek B., Lane E.B., Lane D.P.* Detection of the p53 response in zebrafish embryos using new monoclonal antibodies // *Oncogene*. — 2008. — Vol. 27. — P. 629–640.
26. *Jones S.N., Roe A.E., Donehower L.A., Bradley A.* Rescue of embryonic lethality in Mdm2-deficient mice by absence of p53 // *Nature*. — 1995. — Vol. 378. — P. 206–208.
27. *Miller C.W., Aslo A., Won A., Tan M., Lampkin B., Koeffler H.P.* Alterations of the p53, Rb and MDM2 genes in osteosarcoma // *J Cancer Res Clin Oncology*. — 1996. — Vol. 122, № 9. — P. 559–565.
28. *Ygal Haupt, Ruth Maya, Anat Kazaz, Moshe Oren.* Mdm2 promotes the rapid degradation of p53 // *Nature*. — 1997. — Vol. 387. — P. 296–299.
29. *Sah V.P., Attardi L.D., Mulligan G.J., Williams B.O., Bronson R.T., Jacks T.* A subset of p53-deficient embryos exhibit exencephaly // *Nat Genet*. — 1995. — Vol. 10. — P. 175–180.
30. *Vogel K.S., Klesse L.J., Velasco-Miguel S., Meyers K., Rushing E.J., Parada L.F.* Mouse tumor model for neurofibromatosis type 1 // *Science*. — 1999. — Vol. 286. — P. 2176–2179.
31. *Montes de Oca Luna R., Wagner D.S., Lozano G.* Rescue of early embryonic lethality in mdm2-deficient mice by deletion of p53 // *Nature*. — 1995. — Vol. 378. — P. 203–206.
32. *So Yeon Kim, Wonhee Hur, Jung-Eun Choi, Daniel Kim, Jin Sang Wang, Hye-Yeon Yoon, Lian-Shu Piao, Seung Kew Yoon.* Functional characterization of human oncoprotein gankyrin in Zebrafish // *Korean Society of Medical Biochemistry and Molecular Biology*. — 2009. — Vol. 41, № 1. — P. 8–16.
33. *Brose M.S., Volpe P., Feldman M., Kumar M., Rishi I., Gerrero R., Einhorn E., Herlyn M., Minna J., Nicholson A.* BRAF and RAS mutations in human lung cancer and melanoma // *Cancer Res*. — 2002. — Vol. 62. — P. 6997–7000.
34. *Davies H., Bignell G.R., Cox C., Stephens P., Edkins S., Clegg S., Teague J., Woffendin H., Garnett M.J., Bottomley W.* Mutations of the BRAF gene in human cancer // *Nature*. — 2002. — Vol. 417. — P. 949–954.
35. *Tuveson D.A., Weber B.L., Herlyn M.* BRAF as a potential therapeutic target in melanoma and other malignancies // *Cancer Cell*. — 2003. — Vol. 4. — P. 95–98.
36. *Langenau D.M., Keefe M.D., Storer N.Y., Guyon J.R., Kutok J.L., Le X., Goessling W., Neuberg D.S., Kunkel L.M., Zon L.I.* Effects of RAS on the genesis of embryonal rhabdomyosarcoma // *Genes Dev*. — 2007. — Vol. 21. — P. 1382–1395.
37. *Brooks C.L., Gu W.* Ubiquitination, phosphorylation and acetylation: the molecular basis for p53 regulation // *Curr Opin Cell Biol*. — 2003. — Vol. 15. — P. 164–171.
38. *Kaufmann W.K., Nevis K.R., Qu P., Ibrahim J.G., Zhou T., Zhou Y., Simpson D.A., Helms-Deaton J., Cordeiro-Stone M., Moore D.T.* Defective cell cycle checkpoint functions in melanoma are associated with altered patterns of gene expression // *J Invest Dermatol*. — 2008. — Vol. 128. — P. 175–187.
39. *Bourdon J.C., Fernandes K., Murray-Zmijewski F., Liu G., Diot A., Xirodimas D.P., Saville M.K., Lane D.P.* p53 isoforms can regulate p53 transcriptional activity // *Genes Dev*. — 2005. — Vol. 19. — P. 2122–2137.

40. *Bakkers J., Hild M., Kramer C., Furutani-Seiki M., Hammerschmidt M.* Zebrafish Delta Np53 is a direct target of Bmp signaling and encodes a transcriptional repressor blocking neural specification in the ventral ectoderm // *Dev Cell.* — 2002. — Vol. 2. — P. 617–627.
41. *Chen J., Ng S.M., Chang C., Zhang Z., Bourdon J.C., Lane D.P., Peng J.* p53 isoform delta113p53 is a p53 target gene that antagonizes p53 apoptotic activity via BclxL activation in zebrafish // *Genes Dev.* — 2009. — Vol. 23. — P. 278–290.
42. *Chen J., Ruan H., Ng S.M., Gao C., Soo H.M., Wu W., Zhang Z., Wen Z., Lane D.P., Peng J.* Loss of function of def selectively up-regulates Delta113p53 expression to arrest expansion growth of digestive organs in zebrafish // *Genes Dev.* — 2005. — Vol. 19. — P. 2900–2911.
43. *Amsterdam A., Sadler K.C., Lai K., Farrington S., Bronson R.T., Lees J.A., Hopkins N.* Many ribosomal protein genes are cancer genes in zebrafish // *PLoS Biol.* — 2004. — P. 139.
44. *Golling G., Amsterdam A., Sun Z., Antonelli M., Maldonado E., Chen W., Burgess S., Haldi M., Artzt K., Farrington S.* Insertional mutagenesis in zebrafish rapidly identifies genes essential for early vertebrate development // *Nat Genet.* — 2002. — Vol. 31. — P. 135–140.
45. *Armstrong J.F., Kaufman M.H., Harrison D.J., Clarke A.R.* High-frequency developmental abnormalities in p53-deficient mice // *Curr. Biol.* — 1995. — Vol. 5. — P. 931–936.
46. *Lai K., Amsterdam A., Farrington S., Bronson R.T., Hopkins N., Lees J.A.* Many ribosomal protein mutations are associated with growth impairment and tumor predisposition in zebrafish // *Dev. Dyn.* — 2009. — Vol. 238. — P. 76–85.
47. *Macinnes A.W., Amsterdam A., Whittaker C.A., Hopkins N., Lees J.A.* Loss of p53 synthesis in zebrafish tumors with ribosomal protein gene mutations // *Proc Natl Acad Sci.* — 2008. — Vol. 105. — P. 10408–10413.
48. *Danilova N., Sakamoto K.M., Lin S.* Ribosomal protein S19 deficiency in zebrafish leads to developmental abnormalities and defective erythropoiesis through activation of p53 protein family // *Blood.* — 2008. — Vol. 112. — P. 5228–5237.
49. *Chakraborty A., Uechi T., Higa S., Torihara H., Kenmochi N.* Loss of ribosomal protein L11 affects zebrafish embryonic development through a p53-dependent apoptotic response // *PLoS One.* — 2009. — Vol. 4. — P. 4152–4159.
50. *Azuma M., Toyama R., Laver E., Dawid I.B.* Perturbation of rRNA synthesis in the *bap28* mutation leads to apoptosis mediated by p53 in the zebrafish central nervous system // *J Biol Chem.* — 2006. — Vol. 281. — P. 13309–13316.
51. *Skarie J.M., Link B.A.* The primary open-angle glaucoma gene *WDR36* functions in ribosomal RNA processing and interacts with the p53 stress-response pathway // *Hum. Mol. Genet.* — 2008. — Vol. 17. — P. 2474–2485.
52. *Bartel D.P.* MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function // *Cell.* — 2004. — Vol. 116. — P. 281–297.
53. *Sinha A.U., Kaimal V., Chen J., Jegga A.G.* Dissecting microregulation of a master regulatory network // *BMC Genomics.* — 2008. Vol. 9. — P. 88–94.

ПРЕИМУЩЕСТВА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ *DANIO RERIO* КАК МОДЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ИССЛЕДОВАНИЯХ БЕЛКА p53

О.В. Залоило

Приведен краткий литературный обзор преимуществ использования рыбы *Danio rerio* как модельной системы при исследовании белка p53. Описаны структура и функции p53 у *Danio rerio*, взаимодействие p53 с раковыми опухолями, процессы регуляции p53, а также рассмотрено участие p53 в онтогенезе и канцерогенезе.

ADVANTAGES OF USING *DANIO RERIO* AS A MODEL SYSTEM FOR STUDY p53

O. Zaloilo

It has been presented short literature review of advantages use of the *Danio rerio* as a model system for investigation p53. The structure and function p53 of *Danio rerio*, interaction p53 with cancers, the processes of regulation p53 have been described. The involvement of p53 in the ontogenesis and carcinogenesis has been considered.