

Роль трансляционно-контролируемого опухолевого белка в развитии рака

Магдалена Козиол, кафедра генетики, Йельский университет, факультет медицины
Джон Б. Гёрдон, Кембриджский университет

Введение

Трансляционно-контролируемый опухолевый белок (ТКОБ) был впервые выявлен в опухолевых клетках. Поскольку его мРНК имеет все последовательности и структурные характеристики трансляционно-контролируемой мРНК, он был так же назван «трансляционно-контролируемый опухолевый белок» [1, 2]. ТКОБ известен и под другими названиями: гистамин-релизинг фактор (ГРФ), опухолевый белок трансляционно-контролируемый (Tpt1), p23, фортилин. Белок высокоспецифичен у различных видов [3], экспрессируется повсеместно, но уровень мРНК варьируется в зависимости от типа клеток [4, 5] и стадии развития [6]. Широкий спектр внеклеточных стимулов может быстро регулировать уровень мРНК. Примеры этих стимулов различны — от цитокинов до уровня кальция [7, 8]. Трансляционное регулирование мРНК добавляет еще один уровень разнообразия ТКОБ [9].

Экспрессия ТКОБ, как предполагают, строго регулируется на разных уровнях определенными механизмами. Не удивительно, что это связано со множеством различных биологических видов деятельности, таких, как клеточный цикл [3, 10], апоптоз [11–15], цитоскелет [10, 16, 17], синтез белка [18], иммунный ответ [19], развитие [6, 20–22] и рак [11, 23, 24]. В последние годы этот белок привлекает наибольшее внимание исследователей в связи с его ролью в реверсии опухоли и ее развитии [21, 23]. В этой статье мы расскажем о том, что известно сегодня о ТКОБ в связи с развитием лежащих в его основе молекулярных событий, и обсудим то, как нарушение его регуляции может привести к раку.

ТКОБ способствует пролиферации и росту клеток

При исследовании ТКОБ у дрозофил выявили, что он вызывает летальность

личинок в поздней первой возрастной стадии и приводит к сокращению количества и размеров клеток, уменьшению размеров органа [21]. Это свидетельствует о его влиянии на пролиферацию и рост клеток, который регулируется, главным образом, путем TOR.

Путь TOR регулируется доступностью питательных веществ и энергии, а также гипоксией. Он интегрирует сигналы от многих путей, в частности, сигнализацию инсулином, факторы роста и аминокислоты. TOR не только обуславливает рост и пролиферацию клеток, но и их подвижность, выживаемость, а также синтез белка, транскрипцию. Путь TOR назван по мишени рапамицина — серинтреонинкиназе, кодируемой геном FRAP1. В присутствии сигналов, стимулирующих рост, рецепторы на клеточной мембране активируются, что приводит к активации серинтреонинкиназы Akt и в конечном итоге — TOR. У млекопитающих белок TOR либо связан с белком Raptor (комплекс TOR1), либо с белком Rictor (комплекс TOR2). Комплекс TOR1 чувствителен к бактериальному продукту — рапамицину и участвует в трансляции мРНК, биогенезе рибосом. Другой чувствительный к рапамицину комплекс — TOR2 регулирует клеточную выживаемость и цитоскелет [25], стимулируя различные белки, например, нити актина [26], фосфорилирует серинтреонинкиназу Akt, которая изначально приводит к активации TOR [27].

TOR1 активируется повышением уровня питательных веществ, факторов роста и стресса [28]. Эти внеклеточные сигналы активируют каскад белков внутри клетки, что приводит к активации ГТФ Rheb и в конечном итоге — TOR1. Затем TOR1 находит факторы, расположенные внизу от избранного участка цепи ДНК, такие, как серинтреонинкиназа S6K и белок 4EVP1 [25]. S6K способна фосфорилировать многие белки. Одна из основных целей — это S6-рибосомальный белок.

Когда питательных веществ недостаточно, S6-рибосомальный белок связывается с комплексом eIF3, который участвует в инициации трансляции, путем распознавания 5' кэп-структуры мРНК. мРНК, которые содержат 5'-полипиримидиновый путь, называют 5'-ТОР, они являются важными целями eIF3 поступательной активации [29, 30]. Обычно эти транскрипты кодируют дальнейшие рибосомальные белки и факторы элонгации трансляции. Когда доступность питательных веществ увеличивается, TOR активизируется, вызывая увеличение S6K. В конечном счете, S6 становится фосфорилированной, что приводит к комплексу eIF3 в свободное состояние, в результате чего происходит активация трансляции [31]. Различные мРНК становятся транслированными, в частности, мРНК с областью 5'-ТОР, которые кодируют белки, участвующие в трансляции. Впоследствии это приведет к продукции белков, необходимых для трансляции, что в целом усиливает трансляцию.

Другая цель TOR1–4EBP1, который является репрессором трансляции. 4EBP1 связывается с фактором эукариотического иницирования 4E (eIF4E), который присоединяет рибосомальные субъединицы 40S к концу 5'-мРНК для инициации трансляции. В результате взаимодействия 4EBP1 и eIF4E трансляция подавляется. При активации TOR1 4EBP1 фосфорилируется, в результате чего происходит диссоциация eIF4E, которая позволяет запустить трансляцию [32].

Весь каскад TOR1 и увеличенный синтез белка требуют активации Rheb. Исследования на дрозофилах показали, что мутантный Rheb приводит к уменьшению размера клеток и их количества, как это наблюдалось при отсутствии ТКОБ. Было установлено, что ТКОБ ассоциируется с Rheb. Это, вероятно, будет сохраняться между видами, так как человеческому ТКОБ удалось спасти мутантный ТКОБ дрозофил [21]. Данное наблюдение непосредственно связывает ТКОБ с путем TOR, объясняя его влияние на пролиферацию и рост клеток. В отсутствие ТКОБ Rheb становится неактивным, что обуславливает снижение активности TOR1 и в конечном итоге — уменьшение синтеза белка в ответ на внешние ростстимулирующие раздражители. Известно, что ТКОБ реагирует на

многие внешние раздражители. Это говорит о том, что взаимодействие ТКОБ с комплексом TOR1 может быть причиной того, что он способен реагировать на многие внешние сигналы [7, 8]. Было бы интересно исследовать связь ТКОБ с путем TOR2. Так как у мутантов ТКОБ клетки меньшего размера, то вполне вероятно, что путь TOR2, который также регулирует цитоскелет, вовлечен в процесс. Чтобы проверить, оказывает ли ТКОБ влияние на путь TOR2, можно проанализировать его в присутствии рапамицина. Так как рапамицин подавляет TOR1, то можно исследовать, имеет ли место воздействие на размер и рост клеток при отсутствии ТКОБ. Если это так, то было бы интересно проанализировать уровень основных компонентов TOR2 в отсутствие ТКОБ. Дальнейшие исследования, например, с мутантами на фоне обедненного ТКОБ, могли бы помочь выяснить, где на пути TOR2 действует ТКОБ (рис. 1).

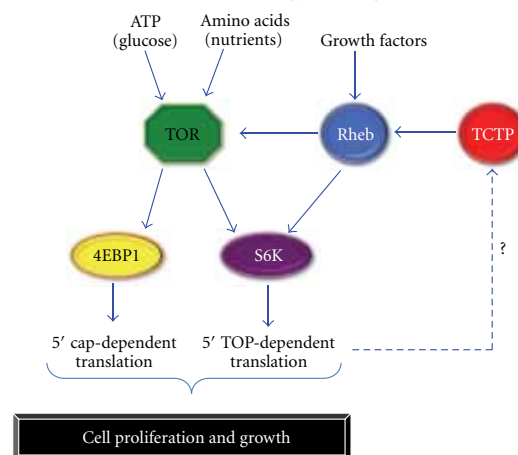


Рис. 1. ТКОБ может активировать путь TOR и стимулировать клеточный рост и пролиферацию

Как было отмечено, TOR1 активизирует киназу S6K, которая активирует S6 и приводит к трансляции мРНК, в частности, мРНК, содержащей участок 5'-ТОР [29, 30]. ТКОБ мРНК сам содержит области 5'-ТОР [9]. Это говорит о том, что TOR1 может активировать трансляцию ТКОБ через S6K и S6. Так как ТКОБ активизирует TOR1 путем связывания с Rheb активатора TOR1, то вполне возможно, что ТКОБ не только активизирует TOR1, но также обеспечивает механизм положительной обратной связи. Мутируя область 5'-ТОР, ТКОБ может помочь определить, действительно ли он активирован по этому пути. Если это так, избыточная

экспрессия S6K должна повысить уровень ТКОБ, который, в свою очередь, будет способствовать еще большей активности TOR1. S6K может действовать в качестве основного регулятора TOR1, поскольку он также инактивирует репрессор TOR1 с помощью фосфорилирования, предлагая механизм положительной обратной связи [33]. ТКОБ может действовать и таким образом, обеспечивая механизм положительной обратной связи, чтобы дорегулировать TOR. Когда ТКОБ высокий, он активирует TOR1, который, в свою очередь, приводит к фосфорилированию S6 с помощью S6K и увеличению трансляций. Это может снова содействовать повышению уровня ТКОБ, который увеличивает активацию TOR1.

Даже если аномальную пролиферацию и рост клеток можно объяснить взаимодействием ТКОБ и пути TOR, это не в полной мере объясняет, почему развитие в конечном счете подавляется. Значит, ТКОБ имеет также основную функцию, которая выполняется за пределами пути TOR.

ТКОБ ингибирует апоптоз

На раннем этапе развития мышей уровни мРНК ТКОБ и белка значительно повышены с E3 по E5 день эмбрионального развития, когда они достигают максимального значения. Избирательное истощение ТКОБ в матке на E3 день привело к уменьшению количества имплантированных эмбрионов по сравнению с эмбрионами дикого типа [34]. У генетически модифицированных мышей, гетерозиготных мутантов ТКОБ не имел очевидных последствий для развития, но гомозиготные мутанты оказались мертвыми с E9.5 по E10.5 дни [22]. Самые тяжелые нарушения наблюдались в день E5.5, когда уровень ТКОБ, как правило, наиболее высок. Мало того, что эмбрионы мышей оказались меньше, но еще и эпибласт, который в конечном итоге развивается в зародыш, также содержал значительно меньшее число клеток. Установлено, что причиной этого была неправильная регуляция апоптоза [22].

Апоптоз является важной частью жизни многоклеточного организма. Это регулируемый процесс, завершающий этап в запрограммированной смерти клетки. Недостаточный апоптоз может привести к накоплению мутаций и неконтролируемой пролиферации клеток, в частно-

сти, к раку. Апоптоз может быть вызван вне- или внутриклеточными сигналами и включает активацию различных регуляторных белков, которые активируют его путь. Этот процесс строго регулируется, так что апоптоз не индуцируется без необходимости и даже может быть остановлен, если необходимости в нем больше нет. Внутриклеточный путь апоптоза в основном регулируется с помощью митохондрий, которые обеспечивают клетку энергией. Изменение проницаемости митохондриальной мембраны может привести к тому, что апоптотические белки попадут в клетку. Поры проницаемости наружной митохондриальной мембраны (ППНММ) регулируют проницаемость мембраны митохондрий для апоптотических белков. Эти ППНММ могут регулировать белки, принадлежащие к семейству Bcl-2 [35]. Белок Вах, когда активирован, димеризуется в митохондриальной мембране, что способствует образованию ППНММ, заставляя апоптотические белки войти в клетку. В противоположность этому белки Bcl-2 и Mcl-1 ингибируют образование ППНММ, предотвращая приток апоптотических белков в клетку [36]. Апоптотические белки, которые могут быть освобождены через ППНММ в клетку, как правило, называют мелкими, полученными из митохондрий активаторами каспаз (МПМАК). Они могут связываться в клетке с ингибиторами апоптотических белков (ИАБ), которые, как правило, связаны с цистеиновыми протеазами, называемыми каспазы [37]. Эти каспазы — ферменты, которые могут деградировать во внутриклеточные белки, которые в конце концов приводят к деградации всей клетки. Часто каспазы необходимо протеолитически расщеплять, чтобы они стали активными. В дополнение к МПМАК, ППНММ также освобождают цитохром С, который затем может образовывать комплекс под названием «апоптосома» путем связывания с АТФ, фактором активации апоптотической протеазы 1 (Araf1) и прокаспазой-9. В результате протеолитического расщепления прокаспазы-9 в ферментативно активную форму каспазы 9 активируется клеточная деградация [38].

В нормальной клетке митохондриальная мембрана непроницаема для МПМАК, в результате в клетке нет цитохрома С для активации каспазы 9. Другой класс

ингибиторов – ИАБ, которые связаны с каспазой. По апоптоз-индуцирующему сигналу митохондриальная мембрана становится проницаемой, пропуская МПМАК и цитохром С в клетку. МПМАК связывают ИАБ, которые освобождают каспазы, а цитохром С преобразует каспазу 9 в активную форму [36]. Это приводит к внутриклеточному перевариванию и гибели клетки. Необходимость экспорта различных факторов митохондрией показывает высокий уровень регулирования. Неудивительно, что сбой в работе системы будут иметь пагубные последствия для клетки.

Предполагают, что ТКОб также играет важную роль в управлении потенциально суицидальным путем. Было установлено подавление проапоптотического белка Вах, что способствует формированию ППНММ путем димеризации в митохондриальной мембране. ТКОб внедряется в митохондриальную мембрану, защищая Вах от димеризации [22]. Это предотвращает образование ППНММ и подавляет любой поток апоптоз-способствующих факторов в клетку [15]. Другое исследование показало, что ППНММ также связывается с Mcl-1. Как уже говорилось, Mcl-1 ингибирует образование ППНММ. Поскольку связывание ТКОб стабилизирует Mcl-1, белок увеличивает блокирование формирования ППНММ и в конечном итоге предотвращает апоптоз [13, 14].

Еще предстоит исследовать, что происходит с ТКОб, когда инициируется апоптоз. Вполне возможно, что ТКОб активно деградирует, он либо изолирован от системы, либо уровень его мРНК снижается. Вполне вероятно, что в обоих случаях для инактивации ТКОб необходим фактор. Исследования и анализ индуцирования апоптоза могли бы помочь найти важные регуляторы ТКОб.

ТКОБ в плюрипотентности и ядерном перепрограммировании

Во время своего развития клетки становятся коммитированными и дифференцируются из одной клетки во многие различные типы клеток. Эмбриональные стволовые (ЭС) клетки являются плюрипотентными, образуются из внутренней клеточной массы бластоцисты раннего эмбриона. В отличие от комми-

тированных, или дифференцированных, клеток, плюрипотентные могут дифференцироваться в любой тип клеток плода или взрослого, способны к самообновлению и неограниченной пролиферации [39]. Они имеют огромный потенциал применения в медицине, как ЭС-клетки могут быть дифференцированы в любой тип клеток или даже ткани тела и использоваться для терапии потенциальной замены клеток.

ЭС-клетки характеризуются определенной схемой экспрессии генов. Например, различные гены усиливают свою активность в ЭС-клетках и часто используются в качестве маркеров плюрипотентности. Предполагают, что Oct4 — важный регулятор плюрипотентности и дифференциации [40]. Он подавляет или активирует экспрессию различных генов, что происходит либо непосредственно путем связывания с промоторными областями, либо косвенным путем нейтрализацией активаторов транскрипции [41]. Oct4, известный также как Oct3, является членом транскрипционного семейства POU [42]. Эти факторы транскрипции связываются через октамерную последовательность с AGTCAAAT консенсусной последовательности [41]. Ген экспрессируется у ранних эмбрионов млекопитающих в ходе гаметогенеза в ЭС-клетках [43], а иногда и в опухолях [44]. После гаструляции Oct4 «затихает» в мышечных и человеческих соматических клетках [45]. В ооцитах мышей Oct4 мРНК присутствует в виде материнского транскрипта [46] и подавляется в процессе развития [47]. Это необходимо, но недостаточно для поддержания клеток в недифференцированном состоянии [48]. Во время эмбрионального развития Oct4 экспрессирует у ранних бластомеров. Тогда он становится ограниченным для внутренней клеточной массы и подавляется в трофэктодерме и примитивной энтодерме [47]. Oct4 высокоспецифичен. Гомологи существуют даже в раннем развитии амфибий, где они также действуют как супрессоры клеточной унипотентности. Хотя до сих пор ЭС-клетки не были получены от амфибий, версия Oct4 из *Xenopus laevis* — Pou91 была в состоянии полностью поддерживать самообновление ЭС-клеток мыши [49]. Это предполагает аналогичную функцию у Pou91 в плюрипотентности.

Плюрипотентность также требует других факторов, например, фактор, ингибирующий лейкемию (ФИЛ). ФИЛ является ключевой молекулой, необходимой для самообновления и плюрипотентности в ЭС-клетках мыши [50, 51], но не для обезьяны или ЭС-клетки человека [52]. Он, как известно, связывается с рецепторами гетеродимера ФИЛ — gp130 и активирует транскрипционный фактор STAT3 с помощью фосфорилирования [53]. Интересно, что при избыточной экспрессии гена *Nanog* требование к ФИЛ в мышечных ЭС-клетках может быть исключено [54]. *Nanog* также необходим для поддержания недифференцированного состояния ранних постимплантационных эмбрионов и ЭС-клеток [54, 55], что делает его важным регулятором плюрипотентности. Есть и другие необходимые компоненты, например, морфогенные белки кости (МБК), которые активируют ингибитор дифференцировки (ИД), который подавляет дифференциацию [56]. Другим важным регулятором является *Sox2*, который связывает белок *Oct4* и активирует гены, стимулирующие плюрипотентность [57], но подавляет ее ингибиторов [58].

Несмотря на получение ЭС-клетки из бластоцистов, ЭС или клетки, подобные ЭС, могут появиться путем ядерного перепрограммирования (термин, введенный для описания восстановления эмбриональной структуры экспрессии генов) [59]. Ядерное перепрограммирование было впервые продемонстрировано в экспериментах ядерной передачи. Ядра *Xenopus laevis* дифференцированных клеток были пересажены в энуклеированные яйца лягушки. Развитие нормальных плодородных взрослых лягушек показывает, что дифференцированные клетки могут быть перепрограммированными, приводят к развитию совершенно нового организма [60, 61]. Еще один способ перепрограммирования ядра — слияние клеток друг с другом [62, 63]. Клеточное слияние возможно с обновленными соматическими ЭС-клетками, которые могут дифференцироваться в различные типы клеток. У этих гибридов восстанавливался «молчащий» ген *Oct4* [64]. Эксперименты по слиянию с повышенной экспрессией генов плюрипотентности *Nanog* повысили эффективность ядерного перепрограммирования 200-кратно [65].

В настоящее время наиболее распространен способ перепрограммирования соматической клетки в эмбрионподобную структуру генной экспрессии путем избыточной экспрессии различных факторов, таких, как *Oct4*, *Sox2*, *c-Myc* и *Klf4* в условиях культивирования ЭС-клеток [66]. Удивительно, что *Nanog* не требуется, хотя, казалось, он стимулирует ядерное перепрограммирование в экспериментах по слиянию клеток [65]. Эти ЭС-подобные клетки имели нормальную морфологию ЭС-клеток, структуру экспрессии генов — типичную для нормальных ЭС-клеток и могут дифференцироваться во все три зародышевых листка. Они были названы индуцированными плюрипотентными стволовыми клетками (ИПСТ) [66]. Даже, несмотря на то, что поколение ИПСТ-клеток является очень удобным способом для создания ЭС-клеток, этот подход не раскрывает механизм, предшествующий ядерному перепрограммированию. Кроме того, он не определяет новые факторы, которые участвуют в этом процессе.

Чтобы лучше понять процесс ядерного перепрограммирования, проводились эксперименты по ядерному перемещению соматических клеток в ооциты *Xenopus laevis*. Было обнаружено, что даже ядра человека или мыши могут быть перепрограммированы ооцитами лягушки и индуцировать ЭС-клетки или клетки, подобные ЭС-структуре генной экспрессии [67]. Например, гены *Oct4*, *Nanog* и *Sox2* стали транскрипционно активными при пересадке ядра [67]. С помощью этой системы были выделены новые молекулы, которые взаимодействуют с промоторной областью *Oct4*. Одна из этих молекул была ТКОБ. Позже функциональные анализы показали, что это ТКОБ на самом деле изменил уровень транскрипции генов *Oct4* и даже *Nanog* в человеческих ядрах, гены необходимы для успешного ядерного перепрограммирования [68]. Аналогичный эффект ТКОБ был установлен в ооцитах коров, предполагают консервативную функцию ТКОБ в активации плюрипотентности [69]. У мышей с генномодифицированным ТКОБ установлено ненормальное количество клеток в эпибласте [22]. Эпибласт образован из внутренней клеточной массы бластоцисты, из которой получают ЭС-клетки. Поскольку ТКОБ активирует гены плюрипотентности *Oct4* и *Nanog*,

вполне возможно, что у мышей с генномодифицированным ТКОБ эпибласт не развивается нормально в связи с неправильной регуляцией генов плюрипотентности, таких, как Oct4 и Nanog.

Было бы интересно определить, активирует ли ТКОБ другие гены плюрипотентности, например Sox2 и Klf4. ТКОБ может способствовать плюрипотентности двумя различными способами, а именно: 1) активацией генов плюрипотентности и 2) ингибированием генов соматической экспрессии. Широкое изучение генома в отсутствие ТКОБ может помочь установить, какие другие гены регулируют этот белок. Другой важный вопрос: достаточно ли ТКОБ для ядерного перепрограммирования, если его избыточная экспрессия в соматических клетках может заменить четыре фактора перепрограммирования, используемых для ИПСТ клеток? Даже если он не заменит эти четыре фактора, то может увеличить выработку ИПСТ клеток, что в настоящее время очень неэффективный процесс.

Сообщалось, что ядерная полимеризация актина необходима для активации Oct4 в ооцитах *Xenopus laevis* [70]. Поскольку было установлено, что ТКОБ содержит актинсвязывающий участок [17], возможно, что она может мешать регуляции плюрипотентности генов, интерферируя с актином. Тестирование полимеризации актина в отсутствие и в присутствии ТКОБ, а также влияние на Oct4 помогут понять любое возможное взаимодействие, необходимое для стимулирования плюрипотентности. Эти эксперименты также могут быть проанализированы полногеномно, что будет в значительной степени способствовать выяснению сети, необходимой для создания плюрипотентности. Использование ТКОБ как «приманки», чтобы ослабить взаимодействие партнеров, вместе с полногеномным хроматинным иммунопреципитационным анализом ТКОБ и его взаимодействующим партнером будет также способствовать пониманию того, как плюрипотентность установлена.

Другой белок, который взаимодействует с ТКОБ в ооцитах *Xenopus*, — нуклеоплазмин NPM1 [71]. Как и у ТКОБ генномодифицированных мышей, у мышей с дефицитом NPM1 наблюдается эмбриональная летальность, и они имеют меньшие размеры эмбриона [72]. NPM1

является очень распространенным белком. У оплодотворенных яиц *Xenopus* он участвует в деконденсации, и, следовательно, транскрипционная активация отцовского генома предоставляется после нормального оплодотворения спермой [73]. Вполне возможно, что ТКОБ не только активирует гены плюрипотентности, но также играет важную роль в отцовской активации генов, взаимодействуя с NPM1. Нарушение взаимодействия ТКОБ и NPM1 может показать, участвует ли ТКОБ в этом процессе. Но вполне возможно, что активация плюрипотентности и отцовского, и материнского генома на самом деле не столь различна. В конце концов, когда геном становится транскрипционно активным, он устанавливается таким образом, что может размножаться и дифференцироваться в целый организм. Таким образом, активация зиготического генома может рассматриваться как ядерное перепрограммирование, что происходит естественно в природе, без необходимости ядерной трансплантации, экспериментов слияния клеток или избыточной экспрессии нескольких транскрипционных факторов.

Регуляция клеточного цикла ТКОБ

Клеточный цикл состоит из этапов, которые клетка должна пройти, чтобы разделить и удвоить свой геном. У эукариот клеточный цикл складывается из четырех фаз: 1) G1 фаза, в которой клетка растет и готовится к репликации ДНК; 2) S, или фаза синтеза, в которой ДНК удваивается; 3) G2 фаза, в которой клетка готова к митозу; 4) фаза M, в которой рост клетки прекращается, делятся ее ДНК и другие компоненты, что приводит к появлению двух клеток. Существует также дополнительная фаза G0, которая не является частью клеточного цикла, в ней клетка выходит из клеточного цикла и прекращает делиться [74]. Так как клеточный цикл имеет решающее значение для выживания клеток и генерации многоклеточного организма, процесс строго контролируется. Есть много белков, которые контролируют каждую фазу, обнаруживая и устраняя генетические повреждения, а также помогают избежать распространения мутаций [74]. Любое неправильное регулирование

может привести к неконтролируемой клеточной пролиферации и в конечном итоге — раку. Ключевые ферменты, регулирующие переход из одной фазы в другую, называются циклинами и циклинзависимыми киназами. Существует также много других белков, в частности, серинтреонин протеинкиназа polo-подобная киназа 1 (PLK1) и белок контрольной точки с доменами forkhead и RING finger (CHFR).

Белок CHFR является E3-убиквитинлигазой, которая может обнаружить нарушения микротрубочек. Он задерживает G2 в транзицию митоза, когда она подвергается воздействию измененных микротрубочек. Микротрубочки являются частью цитоскелета и участвуют в митозе, перемещают удвоенные геномы в формирующиеся дочерние клетки. CHFR обычно присутствует в неактивной форме, поэтому не может выполнять убиквитинирование. Когда микротрубочки повреждены, CHFR активируется [75], затем убиквитинирует PLK1, что приводит к деградации PLK1 [76]. PLK1 киназа необходима в поздней G2 и в начальной митотической фазах. Она регулирует сборку веретена, являющегося центром организации микротрубочек, и созревание центросомы. PLK1 фосфорилирует и активирует Cdc25C, который дефосфатирует и активизирует циклины, необходимые для митоза, — комплекс циклинB/cdc2 [77, 78]. Любая потеря PLK1 может вызвать блокирование клеточного цикла и привести к апоптозу. Гиперэкспрессия PLK1 часто наблюдается вместе с нарушением центросомы, неправильной сегрегацией хромосом и опухолевыми клетками.

Хотя путь TOR может косвенно участвовать в регуляции клеточного цикла, реагируя на факторы роста и уровни энергии и пролиферации клеток, ТКОБ, как предполагают, более непосредственно вовлечен в клеточный цикл. Например, экспрессия ТКОБ усиливает активность после вступления в клеточный цикл, но, когда происходит чрезмерная экспрессия, прогрессия клеточного цикла замедляется [10]. ТКОБ также имеет тубулинсвязывающее место, которое позволяет ему связываться с микротрубочками по типу клеточно-циклической зависимости. В результате он подключается к митотическому веретену во время метафазы,

но высвобождается во время транзиции M/G1 [10]. Кроме того, ТКОБ взаимодействует с CHFR, который, в свою очередь, взаимодействует с микротрубочками [79]. При деполимеризации микротрубочек взаимодействие CHFR и ТКОБ уменьшается. Было высказано предположение, что это могло бы обеспечить механизм, с помощью которого CHFR обнаруживает нарушения микротрубочек, что приводит к активации CHFR, деградации PLK1 и в конечном итоге — прекращению клеточного цикла [79]. Было бы интересно определить, может ли CHFR связываться с тем же средством к микротрубочкам в отсутствие ТКОБ, если он уже не чувствителен к нарушениям микротрубочек в отсутствие ТКОБ, подтверждая предлагаемую модель? В дополнение к связыванию с CHFR ТКОБ может быть фосфорилирован субстратом CHFR — PLK1 [80]. Это предположительно приводит к уменьшению сродства ТКОБ для микротрубочек или CHFR. Когда участки фосфорилирования PLK1 на ТКОБ заблокированы, наблюдается резкое увеличение многоядерных клеток, и можно думать, что завершение митоза угнетено [81]. Это говорит о том, что ТКОБ имеет решающее значение в регуляции клеточного цикла и что его фосфорилирование с помощью PLK1 необходимо для аккуратного выхода из митоза. В ТКОБ мутантов, которые не могут фосфорилировать, наблюдается увеличение апоптоза [81]. Учитывая, что ТКОБ участвует в апоптозе, вполне возможно, что PLK1 участвует через ТКОБ в его подавлении. Фосфорилирование ТКОБ с помощью PLK1 вызывает прогрессию клеточного цикла. Вполне вероятно, что измененный ТКОБ может оказывать тормозящее действие на апоптоз. Таким образом, когда клеточный цикл прогрессирует, апоптоз не индуцируется. Если он не изменен PLK1 во время митоза, индуцировать апоптоз возможно с помощью различных путей, описанных ранее. Представляет интерес и роль модифицированных ТКОБ в апоптозе.

ТКОБ и рак

ТКОБ был связан с онкогенезом и раком с момента его открытия в опухолевых клетках [1, 2]. Этого не было до определения активности реверсивности опухоли, когда ТКОБ привлек внимание как ключевой игрок в развитии рака (рис. 2)

[11, 23]. Реверсия опухоли представляет собой процесс, в результате которого некоторые раковые клетки теряют злокачественный фенотип. Изучение этого процесса поможет понять, как рак можно сдержать и в конечном итоге излечить. Чтобы понять этот процесс на молекулярном уровне, опухолевые клетки выращивали в присутствии парвовируса N1 [23]. Этот вирус избирательно убивает опухолевые клетки, что позволяет произвести селекцию клеток, которые возвращаются к нормальному, доброкачественному, фенотипу [82, 83]. Чтобы определить, какие гены наиболее вероятно будут вовлечены в этот процесс, уровень экспрессии гена сравнивали со злокачественными клетками и, теми, что вернулись к нормальному состоянию. Уровень генной экспрессии ТКОБ показал наибольшую разницу между злокачественными и клетками, вернувшимися к исходному состоянию. Высокий уровень связывается с онкогенезом, а низкий – с нормальным ростом клеток (у опухолевых клеток уровень ТКОБ в 124 раза выше по сравнению с ревертантами). Это было подтверждено в нескольких различных опухолевых клеточных линиях, предположительно, с универсальным геном, который участвует в опухолевой реверсии [23]. Кроме того, участие ТКОБ в различных клеточных линиях злокачественных опухолей увеличивало реверсивность примерно на 30 % [11] (рис. 2).

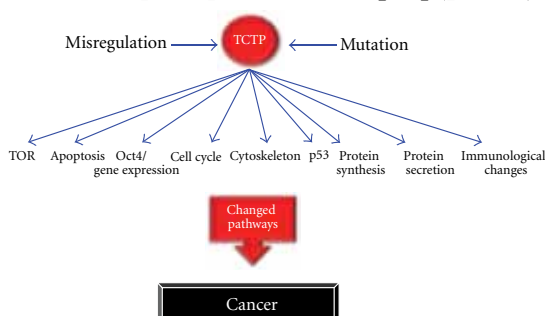


Рис. 2. Пути, в которых нарушение регулирования или мутация ТКОБ приводят к развитию рака

Белок p53 является одним из самых известных супрессоров опухоли и часто упоминается как «опекун» рака. Он — фактор транскрипции, регулирует транскрипцию различных генов. Может активировать транскрипцию генов репарации ДНК, когда ДНК повреждена, через гены, участвующие в клеточном цикле, и инициировать апоптоз путем

регулирующих генов Bax и Bcl-2 [84]. В ответ на стресс, например, повреждение ДНК, он либо вызывает репаративные гены, чтобы восстановить повреждение, либо останавливает клеточный цикл, чтобы предотвратить репликацию поврежденной ДНК, либо вызывает апоптоз для устранения потенциально злокачественных клеток. Различные сигналы несут ответственность за то, что либо p53 индуцирует восстановление, остановку клеточного цикла, либо апоптоз [85].

Чтобы лучше понять, как уровни ТКОБ контролируют развитие рака, взаимодействие между ТКОБ и p53 было изучено более подробно. Установлено, что избыточная экспрессия ТКОБ может привести к деградации p53. Об этом свидетельствовало то, что p53 был уже не в состоянии индуцировать апоптоз [24]. Отсюда можно предположить, что ТКОБ является важным регулятором в пути p53 и так же связывает p53 с апоптозом.

MDM2 представляет собой транскрипционную цель p53. Когда MDM2 сверхэкспрессированный, он убиквитинирует и ухудшает p53, обеспечивая механизм отрицательной обратной связи. ТКОБ подавляет самоубиквитинацию MDM2 и содействует MDM2-опосредованному убиквитинированию p53, что в конечном итоге приводит к деградации p53 [86]. Кроме того, было установлено, что p53 подавляет уровни ТКОБ [23] и стимулирует секрецию экзосом ТКОБ [87, 88]. Это показывает, что p53 и ТКОБ противодействуют друг другу. Похожие данные получены в различных наблюдениях. Двухспиральная РНК-зависимая протеинкиназа (PKR) увеличивает транскрипционную функцию p53 [89]. Мыши с истощенным PKR имели измененные уровни ТКОБ. Дальнейший анализ показал, что PKR непосредственно взаимодействует с мРНК ТКОБ, что необходимо для активации PKR [9]. Таким образом, присутствие PKR может поглощать мРНК ТКОБ и удалять свободные мРНК ТКОБ из пула РНК, которые иначе были бы доступны для трансляции. Таким образом, более высокий уровень PKR может быть связан с более низким уровнем ТКОБ. Когда PKR активирует p53 и противодействует ТКОБ, он добавляет еще один уровень антагонистического управления между ТКОБ и p53. По уровню p53 и ТКОБ

можно определить, какой путь выбрать — клеточный цикл или апоптоз.

Как отмечалось, нарушение регуляции ТКОБ оказывает влияние на путь TOR, апоптоз, перепрограммирование и клеточный цикл. Все эти пути могут приводить к раку, когда они не функционируют правильно. В пути TOR избыточная экспрессия или мутации повышающие активность ТКОБ, могут привести к повышению активации TOR, что способствует усиленному росту клеток и в конечном счете — формированию опухоли. Кроме того, изменения в уровне ТКОБ могут изменить его способность подавлять апоптоз. Любые нарушения регуляции ТКОБ могут устранить поврежденные клетки с помощью апоптоза и таким образом способствовать выживанию клеток, которые могут превратиться в раковые. Ядерные эксперименты передачи показали, что ТКОБ индуцирует транскрипцию генов плюрипотентности Oct4 и Nanog. Повышенный уровень ТКОБ в нормальных клетках может способствовать образованию плюрипотентноподобной экспрессии генов. Это может частично перепрограммировать дифференцированные клетки, находящиеся в покое, в плюрипотентно-подобные пролиферирующие клетки. Если к тому же мутации накапливаются в этих клетках, повышенный уровень ТКОБ может усилить распространение этих мутировавших клеток. Чем выше уровень плюрипотентности транскрипта, тем выше злокачественный потенциал клетки [90]. Это же верно и для более высокого уровня ТКОБ. В конечном счете это может привести к раку. Нарушение регуляции ТКОБ может также повлиять на прогрессию клеточного цикла, взаимодействуя с PLK1. PLK1 избыточно экспрессируется в различных опухолях человека, и гиперэкспрессия PLK1 связана с плохим прогнозом рака [91]. Поскольку PLK1 фосфорилирует ТКОБ, необходимые для клеточного цикла от митоза, вполне возможно, что избыточная экспрессия PLK1 вызывает более быстрое фосфорилирование ТКОБ и прогрессию клеточного цикла. Эта более быстрая прогрессия клеточного цикла может привести к прогрессии клеточного цикла, даже когда митоз не завершен. В результате дочерние клетки могут, таким образом, наследовать не в полной

мере реплицированные геномы. Это может вызвать огромное количество мутаций, которые приводят к раку. Кроме того, ТКОБ может стать мутированным, будучи невосприимчивым к PLK1, и иметь тот же эффект.

Наконец, известно, что ТКОБ участвует в синтезе белка, действуя как гуанин нуклеотидный ингибитор диссоциации для фактора элонгации EF1A [18]. Любые изменения в уровне ТКОБ могут сразу повлиять на многие гены и существенно изменить состояние клетки. Кроме того, изменения в ТКОБ также будут влиять на иммунный ответ и в конечном результате способствовать развитию рака [19].

Заключение

Таким образом, ТКОБ очень специфичен и многообразен. Он участвует во многих ключевых биологических путях, таких, как TOR, апоптоз, ядерное перепрограммирование и клеточный цикл. Он высоко регулируется на транскрипционном, трансляционном и белковом уровнях. Поскольку ТКОБ вовлечен в широкий спектр биологических функций, не удивительно, что любые изменения в нем могут привести к множеству аномальных фенотипов. Кроме того, нарушения клеточной пролиферации, роста и выживания, вероятно, являются наиболее важными характеристиками рака, каждый из которых регулируется ТКОБ. В связи с этим его присутствие во многих других путях может стать решающим для лечения рака. О некоторых успехах в этой связи уже сообщалось [11]. Учитывая, что ТКОБ также гистаминрилизинг-фактор, ингибиторы этого пути были исследованы на предмет их способности снижать количество опухолевых клеток путем ингибирования ТКОБ. В самом деле, было обнаружено, что многие из таких ингибиторов способны убить опухоль [11]. Тем не менее необходимы дальнейшие исследования, чтобы лучше понять функции ТКОБ в путях, описанных ранее, и, возможно, выявить его дополнительные функции. В целом, это внесет большой вклад в понимание основных молекулярных путей и обеспечит выявление других мишеней для лечения рака.

Список литературы

1. G. Thomas, G. Thomas, and H. Luther, "Transcriptional and translational control of cytoplasmic proteins after serum stimulation of quiescent Swiss 3T3 cells," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 78, no. 9, pp. 5712–5716, 1981.
2. R. Yenofski, I. Bergmann, and G. Brawerman, "Messenger RNA species partially in a repressed state in mouse sarcoma ascites cell," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 79, no. 19, pp. 5876–5880, 1982.
3. F. Brioudes, A. M. Thierry, P. Chambrier, B. Mollereau, and M. Bendahmane, "Translationally controlled tumor protein is a conserved mitotic growth integrator in animals and plants," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 107, no. 37, pp. 16384–16389, 2010.
4. H. Thiele, M. Berger, A. Skalweit, and B. J. Thiele, "Expression of the gene and processed pseudogenes encoding the human and rabbit translationally controlled turnout protein (TCTP)," *European Journal of Biochemistry*, vol. 267, no. 17, pp. 5473–5481, 2000.
5. E. Guillaume, C. Pineau, B. Evrard et al., "Cellular distribution of translationally controlled tumor protein in rat and human testes," *Proteomics*, vol. 1, no. 7, pp. 880–889, 2001.
6. Z. Chen, H. Zhang, H. Yang, X. Huang, X. Zhang, and P. Zhang, "The expression of AmphiTCTP, a TCTP orthologous gene in amphioxus related to the development of notochord and somites," *Comparative Biochemistry and Physiology*, vol. 147, no. 3, pp. 460–465, 2007.
7. S. Teshima, K. Rokutan, T. Nikawa, and K. Kishi, "Macrophage colony-stimulating factor stimulates synthesis and secretion of a mouse homolog of a human IgE-dependent histaminereleasing factor by macrophages in vitro and in vivo," *Journal of Immunology*, vol. 161, no. 11, pp. 6356–6366, 1998.
8. A. Xu, A. R. Bellamy, and J. A. Taylor, "Expression of translationally controlled tumour protein is regulated by calcium at both the transcriptional and post-transcriptional level," *Biochemical Journal*, vol. 342, no. 3, pp. 683–689, 1999.
9. U. A. Bommer, A. V. Borovjagin, M. A. Greagg et al., "The mRNA of the translationally controlled tumor protein P23/TCTP is a highly structured RNA, which activates the dsRNA-dependent protein kinase PKR," *RNA*, vol. 8, no. 4, pp. 478–496, 2002.
10. Y. Gachet, S. Tournier, M. Lee, A. Lazaris-Karatzas, T. Poulton, and U. A. Bommer, "The growth-related, translationally controlled protein P23 has properties of a tubulin binding protein and associates transiently with microtubules during the cell cycle," *Journal of Cell Science*, vol. 112, no. 8, pp. 1257–1271, 1999.
11. M. Tuynder, G. Fiucci, S. Prieur et al., "Translationally controlled tumor protein is a target of tumor reversion," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 101, no. 43, pp. 15364–15369, 2004.
12. F. Li, D. Zhang, and K. Fujise, "Characterization of fortilin, a novel antiapoptotic protein," *Journal of Biological Chemistry*, vol. 276, no. 50, pp. 47542–47549, 2001.
13. H. Liu, H. W. Peng, Y. S. Cheng, H. S. Yuan, and H. F. Yang-Yen, "Stabilization and enhancement of the antiapoptotic activity of Mcl-1 by TCTP," *Molecular and Cellular Biology*, vol. 25, no. 8, pp. 3117–3126, 2005.
14. Y. Yang, F. Yang, Z. Xiong et al., "An N-terminal region of translationally controlled tumor protein is required for its antiapoptotic activity," *Oncogene*, vol. 24, no. 30, pp. 4778–4788, 2005.
15. L. Susini, S. Besse, D. Duflaut et al., "TCTP protects from apoptotic cell death by antagonizing bax function," *Cell Death and Differentiation*, vol. 15, no. 8, pp. 1211–1220, 2008.
16. A. Burgess, J. C. Labbé, S. Vigneron et al., "Chfr interacts and colocalizes with TCTP to the mitotic spindle," *Oncogene*, vol. 27, no. 42, pp. 5554–5566, 2008.
17. K. Tsarova, E. G. Yarmola, and M. R. Bubb, "Identification of a cofilin-like actin-binding site on translationally controlled tumor protein (TCTP)," *FEBS Letters*, vol. 584, no. 23, pp. 4756–4760, 2010.
18. C. Cans, B. J. Passer, V. Shalak et al., "Translationally controlled tumor protein acts as a guanine nucleotide dissociation inhibitor on the translation elongation factor eEF1A," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 100, no. 2, pp. 13892–13897, 2003.
19. S. M. MacDonald, T. Rafnar, J. Langdon, and L. M. Lichtenstein, "Molecular identification of an IgE-Dependent histamine-releasing factor," *Science*, vol. 269, no. 5224, pp. 688–690, 1995.
20. J. Z. Kubiak, F. Bazile, A. Pascal et al., "Temporal regulation of embryonic M-phases," *Folia Histochemica et Cytobiologica*, vol. 46, no. 1, pp. 5–9, 2008.
21. Y. C. Hsu, J. J. Chern, Y. Cai, M. Liu, and K. W. Choi, "Drosophila TCTP is essential for growth and proliferation through regulation of dRheb GTPase," *Nature*, vol. 445, no. 7129, pp. 785–788, 2007.
22. S. H. Chen, P. S. Wu, C. H. Chou et al., "A knockout mouse approach reveals that TCTP functions as an essential factor for cell proliferation and survival in a tissue- or cell type-specific manner," *Molecular Biology of the Cell*, vol. 18, no. 7, pp. 2525–2532, 2007.
23. M. Tuynder, L. Susini, S. Prieur et al., "Biological models and genes of tumor reversion: cellular reprogramming through tpt1/TCTP and SIAH-1," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 99, no. 23, pp. 14976–14981, 2002.
24. S. B. Rho, J. H. Lee, M. S. Park et al., "Anti-apoptotic protein TCTP controls the stability of the tumor suppressor p53," *FEBS Letters*, vol. 585, no. 1, pp. 29–35, 2011.
25. N. Hay and N. Sonenberg, "Upstream and downstream of mTOR," *Genes and Development*, vol. 18, no. 16, pp. 1926–1945, 2004.
26. D. S. Dos, S. M. Ali, D. H. Kim et al., "Rictor, a novel binding partner of mTOR, defines a rapamycin-insensitive and raptorindependent pathway that regulates the cytoskeleton," *Current Biology*, vol. 14, no. 14, pp. 1296–1302, 2004.

27. D. D. Sarbassov, D. A. Guertin, S. M. Ali, and D. M. Sabatini, "Phosphorylation and regulation of Akt/PKB by the rictorTOR complex," *Science*, vol. 307, no. 5712, pp. 1098–1101, 2005.
28. D. H. Kim, D. D. Sarbassov, S. M. Ali et al., "mTOR interacts with raptor to form a nutrient-sensitive complex that signals to the cell growth machinery," *Cell*, vol. 110, no. 2, pp. 163–175, 2002.
29. A. Dufner and G. Thomas, "Ribosomal S6 kinase signaling and the control of translation," *Experimental Cell Research*, vol. 253, no. 1, pp. 100–109, 1999.
30. H. B. J. Jefferies, S. Fumagalli, P. B. Dennis, C. Reinhard, R. B. Pearson, and G. Thomas, "Rapamycin suppresses 5'TOP mRNA translation through inhibition of p70s6k," *EMBO Journal*, vol. 16, no. 12, pp. 3693–3704, 1997.
31. R. T. Peterson and S. L. Schreiber, "Translation control: connecting mitogens and the ribosome," *Current Biology*, vol. 8, no. 7, pp. R248–R250, 1998.
32. A. Pause, G. J. Belsham, A. C. Gingras et al., "Insulin-dependent stimulation of protein synthesis by phosphorylation of a regulator of 5'-cap function," *Nature*, vol. 371, no. 6500, pp. 762–767, 1994.
33. A. C. Gingras, S. P. Gygi, B. Raught et al., "Regulation of 4EBP1 phosphorylation: a novel two-step mechanism," *Genes & Development*, vol. 13, pp. 1422–1437, 1999.
34. S. Li, X. Chen, X. Liu, Y. Wang, and J. He, "Expression of translationally controlled tumor protein (TCTP) in the uterus of mice of early pregnancy and its possible significance during embryo implantation," *Human Reproduction*, vol. 26, no. 11, pp. 2972–2980, 2011.
35. L. M. Dejean, S. Martinez-Caballero, S. Manon, and K. W. Kinnally, "Regulation of the mitochondrial apoptosis-induced channel, MAC, by BCL-2 family proteins," *Biochimica et Biophysica Acta*, vol. 1762, no. 2, pp. 191–201, 2006.
36. S. W. G. Tait and D. R. Green, "Mitochondria and cell death: outer membrane permeabilization and beyond," *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, vol. 11, no. 9, pp. 621–632, 2010.
37. S. W. Fesik and Y. Shi, "Controlling the caspases," *Science*, vol. 294, no. 5546, pp. 1477–1478, 2001.
38. S. B. Bratton and G. S. Salvesen, "Regulation of the Apaf-1-caspase-9 apoptosome," *Journal of Cell Science*, vol. 123, no. 19, pp. 3209–3214, 2010.
39. P. J. Donovan and J. Gearhart, "The end of the beginning for pluripotent stem cells," *Nature*, vol. 414, no. 6859, pp. 92–97, 2001.
40. M. Pesce and H. R. Schöler, "Oct-4: gatekeeper in the beginnings of mammalian development," *Stem Cells*, vol. 19, no. 4, pp. 271–278, 2001.
41. G. J. Pan, Z. Y. I. Chang, H. R. Schöler, and D. Pei, "Stem cell pluripotency and transcription factor Oct4," *Cell Research*, vol. 12, no. 5-6, pp. 321–329, 2002.
42. H. R. Schöler, S. Ruppert, N. Suzuki, K. Chowdhury, and P. Gruss, "New type of POU domain in germ line-specific protein Oct-4," *Nature*, vol. 344, no. 6265, pp. 435–439, 1990.
43. H. R. Schöler, A. K. Hatzopoulos, R. Balling, N. Suzuki, and P. Gruss, "A family of octamer-specific proteins present during mouse embryogenesis: evidence for germline-specific expression of an Oct factor," *EMBO Journal*, vol. 8, no. 9, pp. 2543–2550, 1989.
44. M. Monk and C. Holding, "Human embryonic genes reexpressed in cancer cells," *Oncogene*, vol. 20, no. 56, pp. 8085–8091, 2001.
45. N. Kirchhof, J. W. Carnwath, E. Lemme, K. Anastassiadis, H. Schöler, and H. Niemann, "Expression pattern of Oct-4 in preimplantation embryos of different species," *Biology of Reproduction*, vol. 63, no. 6, pp. 1698–1705, 2000.
46. H. R. Schöler, G. R. Dressler, R. Balling, H. Rohdewold, and P. Gruss, "Oct-4: a germline-specific transcription factor mapping to the mouse t-complex," *EMBO Journal*, vol. 9, no. 7, pp. 2185–2195, 1990.
47. S. L. Palmieri, W. Peter, H. Hess, and H. R. Schöler, "Oct-4 transcription factor is differentially expressed in the mouse embryo during establishment of the first two extraembryonic cell lineages involved in implantation," *Developmental Biology*, vol. 166, no. 1, pp. 259–267, 1994.
48. J. Nichols, B. Zevnik, K. Anastassiadis et al., "Formation of pluripotent stem cells in the mammalian embryo depends on the POU transcription factor Oct4," *Cell*, vol. 95, no. 3, pp. 379–391, 1998.
49. G. M. Morrison and J. M. Brickman, "Conserved roles for Oct4 homologues in maintaining multipotency during early vertebrate development," *Development*, vol. 133, no. 10, pp. 2011–2022, 2006.
50. A. G. Smith, J. K. Heath, D. D. Donaldson et al., "Inhibition of pluripotential embryonic stem cell differentiation by purified polypeptides," *Nature*, vol. 336, no. 6200, pp. 688–690, 1988.
51. R. L. Williams, D. J. Hilton, S. Pease et al., "Myeloid leukaemia inhibitory factor maintains the developmental potential of embryonic stem cells," *Nature*, vol. 336, no. 6200, pp. 684–687, 1988.
52. J. A. Thomson, J. Itskovitz-Eldor, S. S. Shapiro et al., "Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts," *Science*, vol. 282, pp. 1145–1147, 1998.
53. S. Davis, T. H. Aldrich, N. Stahl et al., "LIFR! and gp130 as heterodimerizing signal transducers of the tripartite CNTF receptor," *Science*, vol. 260, no. 5115, pp. 1805–1808, 1993.
54. I. Chambers, D. Colby, M. Robertson et al., "Functional expression cloning of Nanog, a pluripotency sustaining factor in embryonic stem cells," *Cell*, vol. 113, no. 5, pp. 643–655, 2003.
55. K. Mitsui, Y. Tokuzawa, H. Itoh et al., "The homeoprotein nanog is required for maintenance of pluripotency in mouse epiblast and ES cells," *Cell*, vol. 113, no. 5, pp. 631–642, 2003.
56. Q. L. Ying, J. Nichols, I. Chambers, and A. Smith, "BMP induction of Id proteins suppresses differentiation and sustains embryonic stem cell self-renewal in collaboration with STAT3," *Cell*, vol. 115, no. 3, pp. 281–292, 2003.
57. M. Nishimoto, A. Fukushima, A. Okuda, and M. Muramatsu, "The gene for the embryonic stem cell coactivator UTF1 carries a regulatory element which selectively interacts with a complex composed of Oct-3/4 and Sox-2," *Molecular and Cellular Biology*, vol. 19, no. 8, pp. 5453–5465, 1999.
58. H. Niwa, J. I. Miyazaki, and A. G. Smith, "Quantitative expression of Oct-3/4 defines differentiation, dedifferen-

- tiation or self-renewal of ES cells," *Nature Genetics*, vol. 24, no. 4, pp. 372–376, 2000.
59. E. M. De Robertis and J. B. Gurdon, "Gene activation in somatic nuclei after injection into amphibian oocytes," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 74, no. 6, pp. 2470–2474, 1977.
 60. J. B. Gurdon, T. R. Elsdale, and M. Fischberg, "Sexually mature individuals of *Xenopus laevis* from the transplantation of single somatic nuclei," *Nature*, vol. 182, no. 4627, pp. 64–65, 1958.
 61. J. B. Gurdon, "Adult frogs derived from the nuclei of single somatic cells," *Developmental Biology*, vol. 4, no. 2, pp. 256–273, 1962.
 62. H. Harris, O. J. Miller, G. Klein, P. Worst, and T. Tachibana, "Suppression of malignancy by cell fusion," *Nature*, vol. 223, no. 5204, pp. 363–368, 1969.
 63. N. Ringertz and R. E. Savage, *Cell Hybrids*, Academic Press, New York, NY, USA, 1976.
 64. M. Tada, Y. Takahama, K. Abe, N. Nakatsuji, and T. Tada, "Nuclear reprogramming of somatic cells by in vitro hybridization with ES cells," *Current Biology*, vol. 11, no. 19, pp. 1553–1558, 2001.
 65. J. Silva, I. Chambers, S. Pollard, and A. Smith, "Nanog promotes transfer of pluripotency after cell fusion," *Nature*, vol. 441, no. 7096, pp. 997–1001, 2006.
 66. K. Takahashi and S. Yamanaka, "Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors," *Cell*, vol. 126, no. 4, pp. 663–676, 2006.
 67. J. A. Byrne, S. Simonsson, P. S. Western, and J. B. Gurdon, "Nuclei of adult mammalian somatic cells are directly reprogrammed to oct-4 stem cell gene expression by amphibian oocytes," *Current Biology*, vol. 13, no. 14, pp. 1206–1213, 2003.
 68. M. J. Koziol, N. Garrett, and J. B. Gurdon, "Tpt1 activates transcription of oct4 and nanog in transplanted somatic nuclei," *Current Biology*, vol. 17, no. 9, pp. 801–807, 2007.
 69. T. Tani, H. Shimada, Y. Kato, and Y. Tsunoda, "Bovine oocytes with the potential to reprogram somatic cell nuclei have a unique 23-kDa protein, phosphorylated Transcriptionally Controlled Tumor Protein (TCTP)," *Cloning and Stem Cells*, vol. 9, no. 2, pp. 267–280, 2007.
 70. K. Miyamoto, V. Pasque, J. Jullien, and J. B. Gurdon, "Nuclear actin polymerization is required for transcriptional reprogramming of Oct4 by oocytes," *Genes and Development*, vol. 25, no. 9, pp. 946–958, 2011.
 71. H. Johansson, D. Vizlin-Hodzic, T. Simonsson, and S. Simonsson, "Translationally controlled tumor protein interacts with nucleophosmin during mitosis in ES cells," *Cell Cycle*, vol. 9, no. 11, pp. 2160–2169, 2010.
 72. S. Grisendi, R. Bernardi, M. Rossi et al., "Role of nucleophosmin in embryonic development and tumorigenesis," *Nature*, vol. 437, no. 7055, pp. 147–153, 2005.
 73. M. S. Lindström, "NPM1/B23: a multifunctional chaperone in ribosome biogenesis and chromatin remodeling," *Biochemistry Research International*, vol. 2011, Article ID 195209, 2011.
 74. G. M. Cooper, "Chapter 14: the eukaryotic cell cycle," in *The Cell: A Molecular Approach*, ASM Press, Washington, DC, USA, 2nd edition, 2000.
 75. D. M. Scolnick and T. D. Halazonetis, "Chfr defines a mitotic stress checkpoint that delays entry into metaphase," *Nature*, vol. 406, no. 6794, pp. 430–435, 2000.
 76. D. Kang, J. Chen, J. Wong, and G. Fang, "The checkpoint protein Chfr is a ligase that ubiquitinates Plk1 and inhibits Cdc2 at the G2 to M transition," *Journal of Cell Biology*, vol. 156, no. 2, pp. 249–259, 2002.
 77. B. C. M. VanDeWeerd and R. H. Medema, "Polo-like kinases: a team in control of the division," *Cell Cycle*, vol. 5, no. 8, pp. 853–864, 2006.
 78. N. K. Soung, J. E. Park, L. R. Yu et al., "Plk1-dependent and -independent roles of an ODF2 splice variant, hCenexin1, at the centrosome of somatic cells," *Developmental Cell*, vol. 16, no. 4, pp. 539–550, 2009.
 79. A. Burgess, J. C. Labbé, S. Vigneron et al., "Chfr interacts and colocalizes with TCTP to the mitotic spindle," *Oncogene*, vol. 27, no. 42, pp. 5554–5566, 2008.
 80. U. Cucchi, L. M. Gianellini, A. De Ponti et al., "Phosphorylation of TCTP as a marker for polo-like kinase-1 activity in vivo," *Anticancer Research*, vol. 30, no. 12, pp. 4973–4985, 2010.
 81. F. R. Yarm, "Plk phosphorylation regulates the microtubule stabilizing protein TCTP," *Molecular and Cellular Biology*, vol. 22, no. 17, pp. 6209–6221, 2002.
 82. H. W. Toolan, "Lack of oncogenic effect of the H-viruses for hamsters," *Nature*, vol. 214, no. 92, p. 1036, 1967.
 83. S. Mousset and J. Rommelaere, "Minute virus of mice inhibits cell transformation by simian virus 40," *Nature*, vol. 300, no. 5892, pp. 537–539, 1982.
 84. T. Riley, E. Sontag, P. Chen, and A. Levine, "Transcriptional control of human p53-regulated genes," *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, vol. 9, no. 5, pp. 402–412, 2008.
 85. R. Vogt Sionov and Y. Haupt, "The cellular response to p53: the decision between life and death," *Oncogene*, vol. 18, no. 45, pp. 6145–6157, 1999.
 86. R. Amson, S. Pece, A. Lespagnol et al., "Reciprocal repression between p53 and TCTP," *Nature Medicine*, vol. 18, pp. 91–99, 2011.
 87. N. Amzallag, B. J. Passer, D. Allanic et al., "TSAP6 facilitates the secretion of translationally controlled tumor protein/histamine-releasing factor via a nonclassical pathway," *Journal of Biological Chemistry*, vol. 279, no. 44, pp. 46104–46112, 2004.
 88. A. Lespagnol, D. Duffaut, C. Beekman et al., "Exosome secretion, including the DNA damage-induced p53-dependent secretory pathway, is severely compromised in TSAP6/Steap3-null mice," *Cell Death and Differentiation*, vol. 15, no. 11, pp. 1723–1733, 2008.
 89. A. R. Cuddihy, S. Li, N. W. N. Tam et al., "Double-stranded-RNA-activated protein kinase PKR enhances transcriptional activation by tumor suppressor p53," *Molecular and Cellular Biology*, vol. 19, no. 4, pp. 2475–2484, 1999.
 90. S. Gidekel, G. Pizov, Y. Bergman, and E. Pikarsky, "Oct-3/4 is a dose-dependent oncogenic fate determinant," *Cancer Cell*, vol. 4, no. 5, pp. 361–370, 2003.
 91. M. A. T. M. Van Vugt and R. H. Medema, "Getting in and out of mitosis with Polo-like kinase-1," *Oncogene*, vol. 24, no. 17, pp. 2844–2859, 2005.