

УДК 576.315.42

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ И ФУНКЦИИ p73, ПРЕДСТАВИТЕЛЯ СЕМЕЙСТВА БЕЛКОВ p53

Мини-обзор

© 2020 Дж. Мелино

*Department of Experimental Medicine, TOR, University of Rome Tor Vergata,
00133 Rome, Italy; E-mail: melino@uniroma2.it*

Поступила в редакцию 14.08.2020

После доработки 14.08.2020

Принята к публикации 19.08.2020

Спустя 20 лет после обнаружения белка p53 и определения его ключевой роли в прогрессии рака были идентифицированы еще два члена этого семейства, а именно белки p63 и p73. С тех пор был собран большой объем информации о каждом из этих генов/белков и их взаимодействиях в клетке. Биологическая роль p73 была установлена с помощью четырех различных линий нокаутированных мышей: 1) с полностью удаленным геном *TP73*; 2) с экзонами, кодирующими изоформы полноразмерного белка TAp73; 3) с экзонами, кодирующими укороченную изоформу DNp73; и совсем недавно – 4) с экзонами, кодирующими С-концевую изоформу альфа. В этой работе, а также в исследованиях экспрессии генов при раке и огромном числе исследований, проведенных на молекулярном уровне, было выяснено основное участие *TP73* в развитии рака, развитии нервной системы, образовании ресничек и в метаболизме нейронов. В настоящей работе мы обсуждаем основные результаты этих исследований.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: p53, семейство белков p53, p73, рак, образование ресничек, метаболизм, нейробиология.

DOI: 10.31857/S0320972520100085

ВВЕДЕНИЕ

С момента его обнаружения в 1979 г. [1, 2] p53 оказался в центре внимания исследователей биологии рака, так как стала понятна его роль в качестве супрессора опухолевого роста [3]. Интерес еще более возрос, когда были идентифицированы два дополнительных члена этого семейства факторов транскрипции, а именно p63 [4–6] и p73 [7–12]. Все вышеперечисленные факторы транскрипции строго контролируют процессы остановки клеточного цикла и гибели клеток [13, 14] и оказывают сильное влияние на прогрессирование рака [15–19]. Как было ранее показано во многих работах, p53 кодируется геном *TP53*, который в наибольшей степени подвергается мутациям при любых формах рака человека [20–28]. Это служит самым веским обоснованием его значительной функции в качестве опухолевого супрессора [29, 30]. Тем не менее появляется все больше свидетельств того, что p53 и даже в большей мере p73 играют важную роль в нейробиологии [31–33]. Действительно, было показана-

но, что p53 в физиологических условиях экспрессируется в развивающемся мозге [34] и в процессе нейродегенерации у животных моделей [35], что никак не связано с его ролью в гибели клеток.

Функция p73 была детально изучена при помощи четырех различных линий нокаутированных мышей, полученных для выявления различных свойств этого белка в процессе развития живого организма. Первоначальный полный нокаут характеризовался наличием серьезных инфекций [36]. Однако этот фенотип не удалось воспроизвести при последующих нокаутах, возможно, вследствие наличия более радикальных делеций, приводящих к возникновению более агрессивных вторичных инфекций и изменению микробиома, что само по себе может быть опасно для жизни [37–40]. Помимо полного нокаута [36], приводящего к полному удалению гена *TP73*, были созданы два специфических нокаута, сравнивающих роль двух различных изоформ – TAp73 [11] и DNp73 [41]. Наконец был сделан специфический нокаут С-концевого участка полноразмерной изоформы альфа [42], который приводил к физиологическому присутствию обычного белка, но при этом изоформа альфа заменялась на изоформу бета. Все 4 нокаута представлены в таблице.

Принятые сокращения: PGC-1 α – активированный пролифератором пероксисом рецепторный гамма коактиватор 1, NRF – ядерный респираторный фактор 1.

Мыши, нокаутированные по Trp73

Линия	Тяжесть	Фенотип	Ссылка
Trp73 ^{-/-}	тяжелая форма	нейроны, инфекции	[36]
TAp73 ^{-/-}	тяжелая форма	нейроны, рак, старение	[11]
DNp73 ^{-/-}	легкая форма	нейроны	[41]
Trp73d13/d13	тяжелая форма	нейроны	[42]

Здесь мы кратко изложим информацию, полученную нокаутами, о различных биологических функциях.

ТАр73 ЯВЛЯЕТСЯ ОПУХОЛЕВЫМ СУПРЕССОРОМ

На рис. 1 показано участие p73 в ответе клетки на повреждения ДНК (DDR, DNA Damage Response), т.е. в процессе, который идет параллельно и полностью независимо от активности p53. Действительно, вслед за ответом на повреждения ДНК происходит активация белка p73 в результате фосфорилирования по остатку Tyr99 белком c-Abl, и активированный p73 участвует в регуляции процесса остановки клеточного цикла и апоптоза [43]. Кроме того, удивительное сходство в структуре гена и аминокислотной последовательности между p53 и p73 указывает на то, что белок p73 аналогично p53 может обладать активностью опухолевого супрессора. Однако это предположение нельзя было проверить на полностью нокаутированных мышах [36], поскольку у этих мышей продолжительность жизни была чрезвычайно короткой. В то же время при специфическом нокауте TAp73 оказалось возможным продемонстрировать роль TAp73 в качестве опухолевого супрессора [11]. С тех пор во многих работах была установлена роль p73 и нарушение его регуляции при прогрессировании рака.

РОЛЬ БЕЛКА p73 В НЕЙРОНАХ

Первым признаком связи p73 с нейробиологией было обнаружение локализации его гена на участке хромосомы 1p36, который обычно отсутствует при нейробластоме [44]. Эта форма рака отличается специфическими изменениями в геноме [45, 46], интеграцией особых молеку-

лярных признаков [47–50] и его прогностическими факторами [51–54], также включающими белки ZNF [46–55]. p73 регулирует развитие центральной нервной системы путем регуляции процесса самообновления нервных стволовых клеток (NSC – neural stem cells) и дифференцировки нейронов. В связи с тем, что в физиологических условиях p73 экспрессируется в виде различных изоформ с использованием различных промоторов, группой Melino были созданы специфические нокауты мышей с удалением изоформы полноразмерного TAp73 и изоформы DNp73, в которой отсутствует N-концевой участок [41, 56–58]. В обоих случаях, но более выражено это в первом случае, было обнаружено нарушение развития гиппокампа с разрушением или даже утратой нижней пластинки зубчатой извилины (DG – dentate gyrus), которое наблюдалось вместе с нарушением структуры участков CA1 и CA3 [36]. TAp73 транскрибирует гены метаболизма и нервной системы, включая Sox2, Sox3, TRIM32 и Notch [59]. Кроме того, TAp73 оказывает воздействие на постмитотические нейроны, модулируя экспрессию рецептора нейротрофина p75 (p75NTR – neurotrophin receptor p75), влияющего на рост аксонов и ветвление дендритов [60], а также участвующего в экспрессии синаптических белков, таких как синаптотагмин-1 (synaptotagmin-1) и синтаксин-1А (syntaxin-1A) через микроРНК miR-34a [61, 62]. Эти данные ясно демонстрируют ключевое участие p73 в процессе развития мозга через специфические механизмы транскрипции [63].

Совсем недавно группой Melino [42] была создана четвертая модель нокаутированной мышши с удаленным экзоном 13, который имеет значение для образования типичного структурного мотива, называемого домен SAM (Sterile alpha-motif), присутствующего в физиологических условиях в полноразмерном белке p73 (изоформа альфа). Этот C-концевой участок отсутствует в других изоформах, таких как изоформа бета. Следовательно, с помощью этой новой линии мышей оказалось возможным продемонстрировать роль C-концевого участка, который действительно отличает эти две изоформы. Мышь Trp73D13^{-/-} заменяет, по сути, изоформу альфа на изоформу бета, действительно являясь минимальной пертурбацией.

Замена изоформы альфа на изоформу бета оказывает значительное влияние на развитие мозга, вызывая нарушение развития гиппокампа, как показано на рис. 2. Интересно, что мыши с этим фенотипом оказались чрезвычайно похожи на ранее описанных мышей, нокаутированных по Trp73. Кроме того, у мышши линии

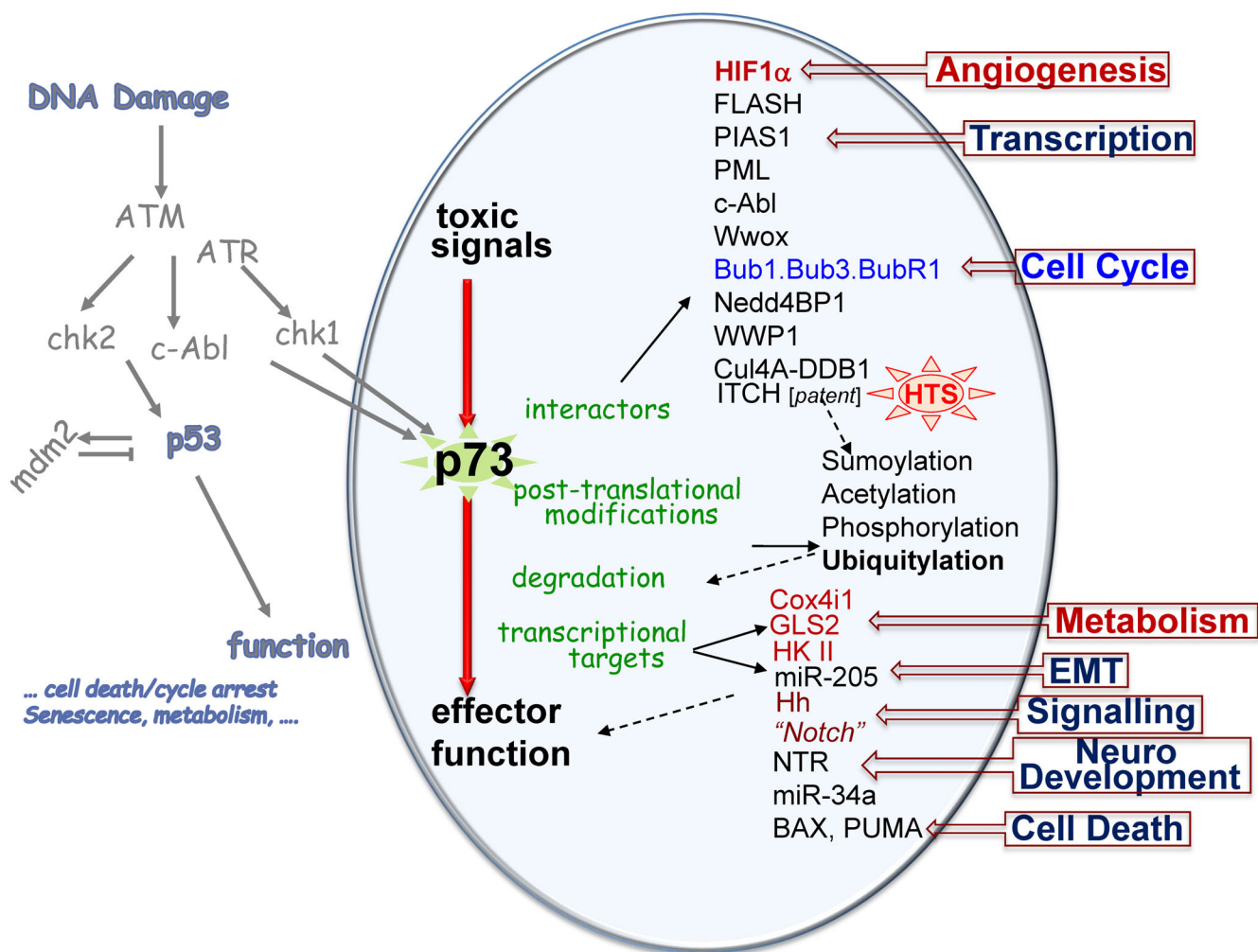


Рис. 1. Взаимодействующие партнеры и транскрипционные мишени белка p73. p73 может быть активирован при повреждении ДНК как часть общего ответа клетки на повреждения ДНК (DNA Damage Response), протекающего параллельно и независимо от белка p53 (левая часть). p73 также может быть индуцирован другими токсическими или физиологическими сигналами, которые до сих пор полностью не изучены. Белок p73 способен физически взаимодействовать с несколькими белковыми комплексами, подвергаясь последующим посттрансляционным модификациям, регулирующим его деградацию и также его транскрипционные мишени (зеленый). Его взаимодействующие партнеры, а также его транскрипционные мишени ответственны за эффекторную функцию p73, как показано на рисунке. HTS – high throughput screen, высокопроизводительный скрининг; EMT – epithelial mesenchymal transition, эпителиально-мезенхимный переход. (С цветными вариантами рис. 1–3 можно ознакомиться в электронной версии статьи на сайте: <http://sciencejournals.ru/journal/biokhsm/>)

Trp73d13/d13 в развивающемся мозге наблюдается постепенное снижение количества клеток Кахалы–Ретциуса (CR – Cajal–Retzius) [42, 64] (рис. 2, b). Следовательно, нарушение развития гиппокампа, которое наблюдалось при предыдущих нокаутах, является прямым следствием исчезновения клеток Кахалы–Ретциуса, которые в физиологических условиях управляют развитием архитектуры мозга во время эмбрионального развития (подробности см. в исходной работе Amelio et al. [42]). Специфичность действия белка p73 при развитии гиппокампа представляет огромный интерес, учитывая важное значение гиппокампа в нейропатологии [65, 66].

p73 имеет решающее значение для образования ресничек. Неожиданным образом было установлено, что p73 необходим для образования мультицилиарных клеток (MCC – multiciliate cell). Поскольку эти клетки очень важны для физиологии мозга и дыхательных путей и для обеспечения направленного движения жидкостей по поверхности их эпителия, а также для транспорта половых клеток в репродуктивном тракте, роль p73 становится чрезвычайно важной. Этот фенотип может объяснить некоторые из признаков, описанных при первом полном нокауте p73 [36], – гидроцефалию, бесплодие и хронические инфекции дыхательных путей.

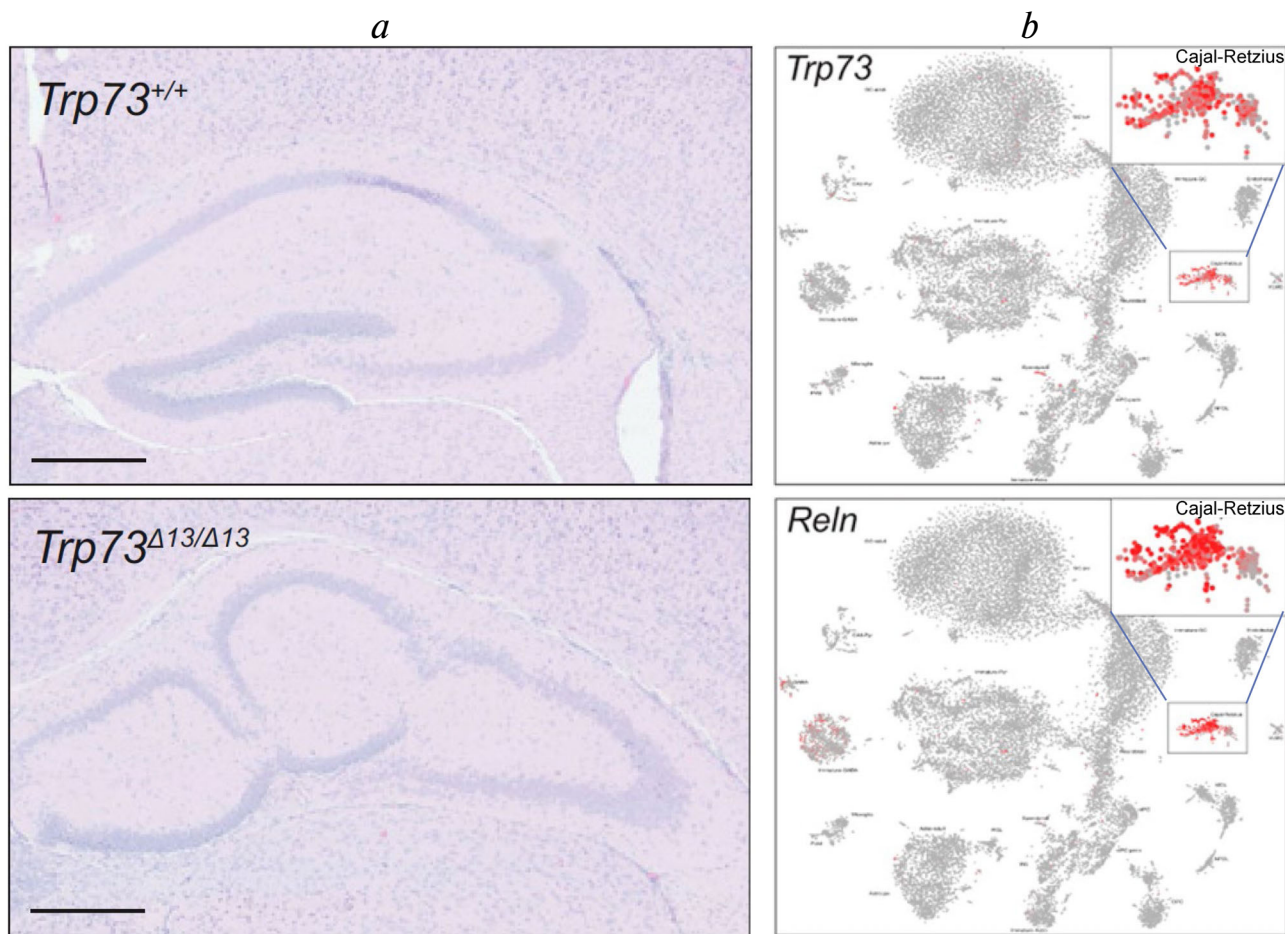


Рис. 2. Нарушение развития гиппокампа у мышей, дефицитных по Trp73. Удаление целого белка p73 (мыши Trp73^{-/-}), TAp73 (мыши TAp73^{-/-}) или его C-концевого участка (мыши Trp73d13/d13; показано на рисунке) приводит к возникновению очень сходного фенотипа, характеризующегося недостаточным развитием нижней лопатки зубчатой пластинки. *a* – Искривленный гиппокамп новорожденных мышей Trp73d13/d13, окрашенный гематоксилином и эозином (единица деления шкалы – 500 μm). *b* – Результаты секвенирования РНК единичной клетки из зубчатой пластинки мышей. Красным показана экспрессия или p73, или рилина, которая, по-видимому, строго ограничена клетками Кахаля–Ретциуса. С подробностями можно ознакомиться в статье Amelio et al. [42], а также в статье Hochgerner et al. [64]

Впервые роль TAp73, как главного транскрипционного интегратора процесса образования ресничек, функция которого располагается в цепи событий ранее любого уже известного гена, была установлена в лаборатории Ute Moll [32, 67]. TAp73 контролирует на уровне транскрипции образование ресничек (цилий) (Kif27, Intu, NPHP4, Traf3ip1, Dzip11 и др.) и их подвижность (Dnah3, Dnahc11, Drcl и др.). Кроме того, описанная позднее метаболическая функция TAp73 также ассоциирована с физиологией ресничек. Интересно, что если изоформа альфа необходима для нейрогенеза гиппокампа [42], то для цилиогенеза она не требуется [68], что подтверждают лежащие в их основе различные молекулярные механизмы.

Метаболическая функция p73. Изучение нокаутированных мышей TAp73 [11] привело к

выявлению необычных и неожиданных функций p73. Эти мыши подвергались преждевременному старению уже в возрасте 10–12 мес. У них наблюдались такие классические внешние проявления старения, как деминерализация костей, кифоз, катаракта и истончение кожи, высокий уровень карбонилированных белков, указывающий на повышение количества активных форм кислорода (ROS – reactive oxygen species), которые очень актуальны в онкологии и нейробиологии [69–71]. В отдельных органах были также обнаружены повышенные уровни маркеров старения (beta-gal, p19, p16). По-видимому, молекулярный механизм, лежащий в основе этих изменений, состоит в том, что белок p73 прямо регулирует на уровне транскрипции белок-мишень, а именно Sox41 [72].

Некоторые типы клеток, в том числе нейроны, удовлетворяют свои потребности в энергии с помощью окислительного фосфорилирования (OXPHOS – oxidative phosphorylation). В ходе этого процесса одна молекула глюкозы метаболизируется с образованием 30–32 молекул АТФ, что отличает этот путь от менее эффективного процесса гликолиза, в ходе которого образуются лишь 2 молекулы АТФ. Следовательно, окислительное фосфорилирование, протекающее в митохондриях в присутствии O_2 , играет важную роль в нескольких процессах, от барьера на пути развития рака до нейрогенеза, ремоделирования цитоскелета, разрастания аксонов, дендритов и регуляции синаптической активности [73]. Важнейшим регулятором биогенеза митохондрий является белок NRF1 (ядерный респираторный фактор 1, nuclear respiratory factor 1), который, в свою очередь, активируется под действием белка PGC-1 α (активированный пролифератором пероксисом рецепторный гамма коактиватор 1, peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1). Нижележащий каскад метаболических реакций белка NRF1 включает в себя экспрессию митохондриальных белков, таких как митохондриальный фактор транскрипции А (TFAM – mitochondrial transcription factor A) и цитохром *c*. При этом PGC-1 α регулирует развитие и гомеостаз синапса как в клетках развивающегося гиппокампа, так и в гиппокампе взрослых особей [74].

Некоторые онкогены и опухолевые супрессоры способны тонко регулировать активность митохондриальных белков. Вероятно, p73 также вносит свой вклад в эту регуляцию независимо от рецептора эстрогенов ER α (oestrogen-related receptor alfa), ядерных респираторных факторов NRF1 и NRF2 и фактора транскрипции YY1 (yin yang 1). Удаление NRF2 вызывает ингибирование образования NSC из SGZ, а также ингибирование дифференцировки нейронов и гена предрасположенности к психическим заболеваниям *Cacna1c* (psychiatric susceptibility gene). Его отсутствие также способствует устойчивости митохондрий нейронов к окислительному стрессу [75, 76]. Собственно говоря, TAp73 прямо регулирует транскрипцию субъединицы 4 цитохром *c*-оксидазы (cox4i1), митохондриального белка, входящего в комплекс IV, имеющего важное значение для снабжения энергией как опухолевых клеток, так и нейронов [72].

Для развития нейронов и их дифференцировки необходимы значительные изменения метаболизма клеток [77, 78]: переключение аэробного гликолиза на окислительное фосфори-

рование [79]. Этот процесс, идущий при прогрессировании рака в обратном направлении, включает в себя снижение экспрессии гексокиназы (HK2 – hexokinase) и лактатдегидрогеназы (LDHA – lactate dehydrogenase), а также переключение с процесса сплайсинга пируваткиназы 2 (PKM2 – pyruvate kinase 2) на сплайсинг PKM1, которое означает процесс переключения с NPC к нейрону. Более того, дифференцировка нейронов ассоциируется с повышенным биогенезом митохондрий, включая TFAM, ERR γ и PGC-1 α . По мере увеличения массы нейронов также увеличивается масса митохондрий. Следовательно, усиленный биогенез митохондрий способствует пролиферации клеток, включая рост аксонов и образование отростков нейронов [79]. Глутамин является альтернативной аминокислотой, которая необходима для регуляции клеточного метаболизма. Он превращается в глутаминовую кислоту, далее в α -кетоглутаровую кислоту и затем окисляется в цикле трикарбоновых кислот (TCA – tricarboxylic acid) с конечным образованием АТФ. Конечная дифференцировка нейронов также ассоциируется с повышенным обменом глутамина, приводя к повышенной продукции нейромедиаторов, таких как глутаминовая кислота и гамма-аминомасляная кислота, и к повышению активности цикла трикарбоновых кислот [79]. Кроме того, по крайней мере в опухолевых клетках p73 контролирует метаболизм серина [80], а также глутаминолиз [81] и метаболизм ROS на уровне трансляции [82]. На рис. 3 суммированы данные о влиянии p73 на метаболизм клеток. Активность этих метаболических путей строго регулируется, чтобы гарантировать оптимальное снабжение клетки ресурсами, соответствующими функционированию клеток как при раке, так и при дифференцировке нейронов.

ВЫВОДЫ

Очевидно, что четыре модели нокаута сыграли решающую роль в выяснении физиологической роли p73 и молекулярных механизмов его действия. Результаты этих исследований способствуют включению данного белка в и без того сложную белковую сеть при прогрессировании рака [83–85]. В другой биохимической работе, не описанной нами здесь, была идентифицирована убиквитинлигаза E3, ответственная за деградацию белка p73 [86], которая была охарактеризована с помощью высокопроизводительного скрининга [87] и установлены её ингибиторы [88]. Данные, полученные *in vivo*,

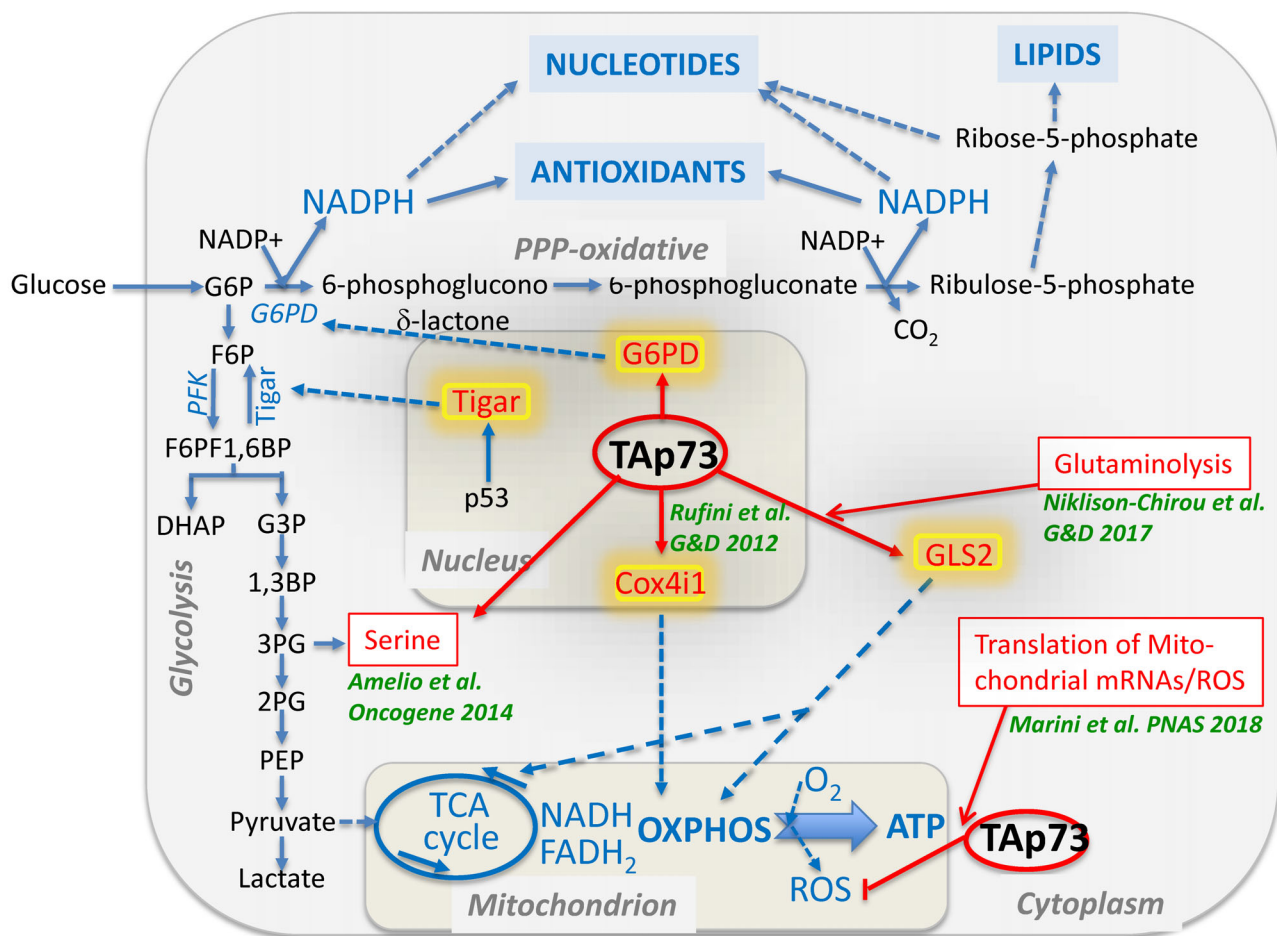


Рис. 3. Влияние p73 на метаболизм клетки. Упрощенная схема основных транскрипционных мишеней белка p73, ассоциированных с регуляцией метаболизма. Показаны основные мишени (Cox4i1, G6PD, GLS2, биосинтез серина; см. текст настоящей статьи)

подтверждают важное значение гена, кодирующего p73, не только в процессе прогрессирования рака, но также в регуляции метаболизма, развитии ресничек и нейронов.

Финансирование. Эта работа была поддержана Associazione Italiana per la Ricerca contro il Cancro (AIRC) (грант IG#20473; 2018-2022), совместной программой сотрудничества Министерства здравоохранения Италии и МАЕСИ и Министерства науки и технологий КНР

(грант № #PGR00961) to GM & Eleonora Candi. Работа также была поддержана Regione Lazio through LazioInnova Progetto Gruppo di Ricerca (грант № 85-2017-14986).

Благодарности. Я благодарен доктору Карло Джанини за его конструктивные предложения.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания выполненных автором исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Linzer, D. I. H., and Levine, A. J. (1979) Characterization of a 54K dalton cellular SV40 tumor antigen present in SV40 transformed cells and uninfected embryonal carcinoma cells, *Cell*, **17**, 43-52, doi: 10.1016/0092-8674(79)90293-9.
- Lane, D. P., and Crawford, L. V. (1979) T antigen is bound to a host protein in SV40-transformed cells, *Nature*, **278**, 261-263, doi: 10.1038/278261a0.
- Finlay, C. A., Hinds, P. W., and Levine, A. J. (1989) The p53 proto-oncogene can act as a suppressor of transformation, *Cell*, **57**, 1083-1093, doi: 10.1016/0092-8674(89)90045-7.
- Candi, E., Cipollone, R., Rivetti di Val Cervo, P., Gonfloni, S., Melino, G., and Knight, R. (2008) p63 in epithelial development, *Cell. Mol. Life Sci.*, **65**, 3126-3133, doi: 10.1007/s00018-008-8119-x.

5. Candi, E., Terrinoni, A., Rufini, A., Chikh, A., Lena, A. M., Suzuki, Y., Sayan, B. S., Knight, R. A., and Melino, G. (2006) p63 is upstream of IKK alpha in epidermal development, *J. Cell Sci.*, **119**, 4617-4622, doi: 10.1242/jcs.03265.
6. Shalom-Feuerstein, R., Lena, A. M., Zhou, H., de La Forest Divonne, S., van Bokhoven, H., Candi, E., Melino, G., and Aberdam, D. (2011) Δ Np63 is an ectodermal gatekeeper of epidermal morphogenesis, *Cell Death Differ.*, **18**, 887-896, doi: 10.1038/cdd.2010.159.
7. Sullivan, K. D., Galbraith, M. D., Andrysik, Z., and Espinosa, J. M. (2018) Mechanisms of transcriptional regulation by p53, *Cell Death Differ.*, **25**, 133-143, doi: 10.1038/cdd.2017.174.
8. Levrero, M., de Laurenzi, V., Costanzo, A., Gong, J., Melino, G., and Wang, J. Y. (1999) Structure, function and regulation of p63 and p73, *Cell Death Differ.*, **6**, doi: 10.1038/SJ.CDD.4400624.
9. De Laurenzi, V., and Melino, G. (2000) Evolution of functions within the p53/p63/p73 family, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **926**, 90-100, doi: 10.1111/j.1749-6632.2000.tb05602.x.
10. Candi, E., Agostini, M., Melino, G., and Bernassola, F. (2014) How the TP53 family proteins TP63 and TP73 contribute to tumorigenesis: regulators and effectors, *Hum. Mut.*, **35**, 702-714, doi: 10.1002/humu.22523.
11. Tomasini, R., Tsuchihara, K., Wilhelm, M., Fujitani, M., Rufini, A., Cheung, C. C., Khan, F., Itie-Youten, A., Wakeham, A., Tsao, M.-S., Iovanna, J. L., Squire, J., Jurisica, I., Kaplan, D., Melino, G., Jurisicova, A., and Mak, T. W. (2008) TAp73 knockout shows genomic instability with infertility and tumor suppressor functions, *Genes Dev.*, **22**, 2677-2691, doi: 10.1101/gad.1695308.
12. Tomasini, R., Tsuchihara, K., Tsuda, C., Lau, S. K., Wilhelm, M., Rufini, A., Tsao, M., Iovanna, J. L., Jurisicova, A., Melino, G., and Mak, T. W. (2009) TAp73 regulates the spindle assembly checkpoint by modulating BubR1 activity, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 797-802, doi: 10.1073/pnas.0812096106.
13. Galluzzi, L., Vitale, I., Aaronson, S. A., Abrams, J. M., Adam, D., et al. (2018) Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the nomenclature committee on cell death, *Cell Death Differ.*, **25**, 486-541, doi: 10.1038/s41418-017-0012-4.
14. Melino, G., Knight, R. A., and Nicotera, P. (2005) How many ways to die? How many different models of cell death? *Cell Death Differ.*, **12 Suppl. 2**, 1457-1462, doi: 10.1038/sj.cdd.4401781.
15. Engeland, K. (2018) Cell cycle arrest through indirect transcriptional repression by P53: I have a DREAM, *Cell Death Differ.*, **25**, 114-132, doi: 10.1038/cdd.2017.172.
16. Wu, D., and Prives, C. (2018) Relevance of the p53-MDM2 axis to aging, *Cell Death Differ.*, **25**, 169-179, doi: 10.1038/cdd.2017.187.
17. Xu, R., Garcia-Barros, M., Wen, S., Li, F., Lin, C.-L., Hannun, Y. A., Obeid, L. M., and Mao, C. (2018) Tumor suppressor p53 links ceramide metabolism to DNA damage response through alkaline ceramidase 2, *Cell Death Differ.*, **25**, 841-856, doi: 10.1038/s41418-017-0018-y.
18. Min, S., Kim, K., Kim, S.-G., Cho, H., and Lee, Y. (2018) Chromatin-remodeling factor, RSF1, controls p53-mediated transcription in apoptosis upon DNA strand breaks, *Cell Death Dis.*, **9**, 1079, doi: 10.1038/s41419-018-1128-2.
19. Contadini, C., Monteonofrio, L., Virdia, I., Prodosmo, A., Valente, D., Chessa, L., Musio, A., Fava, L. L., Rinaldo, C., di Rocco, G., and Soddu, S. (2019) p53 mitotic centrosome localization preserves centrosome integrity and works as sensor for the mitotic surveillance pathway, *Cell Death Dis.*, **10**, 850, doi: 10.1038/s41419-019-2076-1.
20. Mantovani, F., Collavin, L., and del Sal, G. (2019) Mutant p53 as a guardian of the cancer cell, *Cell Death Differ.*, **26**, 199-212, doi: 10.1038/s41418-018-0246-9.
21. Parrales, A., Thoenen, E., Iwakuma, T. (2018) The interplay between mutant p53 and the mevalonate pathway, *Cell Death Differ.*, **25**, 460-470, doi: 10.1038/s41418-017-0026-y.
22. Sorrentino, G., Mantovani, F., and del Sal, G. (2018) The stiff RhoAd from mevalonate to mutant p53, *Cell Death Differ.*, **25**, 645-647, doi: 10.1038/s41418-018-0091-x.
23. Kim, M. P., and Lozano, G. (2018) Mutant p53 partners in crime, *Cell Death Differ.*, **25**, 161-168, doi: 10.1038/cdd.2017.185.
24. Bailey, J. M., Hendley, A. M., Lafaro, K. J., Pruski, M. A., Jones, N. C., et al. (2016) p53 mutations cooperate with oncogenic Kras to promote adenocarcinoma from pancreatic ductal cells, *Oncogene*, **35**, 4282-4288, doi: 10.1038/onc.2015.441.
25. Pitolli, C., Wang, Y., Mancini, M., Shi, Y., Melino, G., and Amelio, I. (2019) Do mutations turn p53 into an oncogene? *Int. J. Mol. Sci.*, **20**, doi: 10.3390/ijms20246241.
26. Amelio, I., and Melino, G. (2015) The p53 family and the hypoxia-inducible factors (HIFs): determinants of cancer progression, *Trends Biochem. Sci.*, **40**, 425-434, doi: 10.1016/j.tibs.2015.04.007.
27. Amelio, I., Mancini, M., Petrova, V., Cairns, R. A., Vikhrev, P., et al. (2018) p53 mutants cooperate with HIF-1 in transcriptional regulation of extracellular matrix components to promote tumor progression, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **115**, E10869-E10878, doi: 10.1073/pnas.1808314115.
28. Amelio, I. (2019) How mutant p53 empowers Foxh1 fostering leukaemogenesis? *Cell Death Dis.*, **5**, 108, doi: 10.1038/s41420-019-0191-5.
29. Kaiser, A. M., and Attardi, L. D. (2018) Deconstructing networks of p53-mediated tumor suppression *in vivo*, *Cell Death Differ.*, **25**, 93-103, doi: 10.1038/cdd.2017.171.
30. Amelio, I., Inoue, S., Markert, E. K., Levine, A. J., Knight, R. A., Mak, T. W., and Melino, G. (2015) TAp73 opposes tumor angiogenesis by promoting hypoxia-inducible factor 1 α degradation, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **112**, 226-231, doi: 10.1073/pnas.1410609111.
31. Jacobs, W. B., Kaplan, D. R., and Miller, F. D. (2006) The p53 family in nervous system development and disease, *J. Neurochem.*, **97**, 1571-1584, doi: 10.1111/j.1471-4159.2006.03980.x.
32. Nemajerova, A., Amelio, I., Gebel, J., Dötsch, V., Melino, G., and Moll, U. M. (2018) Non-oncogenic roles of TAp73: from multiciliogenesis to metabolism, *Cell Death Differ.*, **25**, 144-153, doi: 10.1038/cdd.2017.178.
33. Billon, N., Terrinoni, A., Jolicoeur, C., McCarthy, A., Richardson, W. D., Melino, G., and Raff, M. (2004) Roles for p53 and p73 during oligodendrocyte development, *Development*, **131**, 1211-1220, doi: 10.1242/dev.01035.
34. Rogel, A., Popliker, M., Webb, C. G., and Oren, M. (1985) p53 cellular tumor antigen: analysis of mRNA lev-

- els in normal adult tissues, embryos, and tumors, *Mol. Cell. Boil.*, **5**, 2851-2855, doi: 10.1128/mcb.5.10.2851.
35. Hooper, C., Meimaridou, E., Tavassoli, M., Melino, G., Lovestone, S., and Killick, R. (2007) p53 is upregulated in Alzheimer's disease and induces tau phosphorylation in HEK293a cells, *Neurosci. Lett.*, **418**, 34-37, doi: 10.1016/j.neulet.2007.03.026.
 36. Yang, A., Walker, N., Bronson, R., Kaghad, M., Oosterwegel, M., Bonnin, J., Vagner, C., Bonnet, H., Dikkes, P., Sharpe, A., McKeon, F., and Caput, D. (2000) p73-deficient mice have neurological, pheromonal and inflammatory defects but lack spontaneous tumours, *Nature*, **404**, 99-103, doi: 10.1038/35003607.
 37. Kawulok, J., Kawulok, M., and Deorovicz, S. (2019) Environmental metagenome classification for constructing a microbiome fingerprint, *Biol. Direct*, **14**, 20, doi: 10.1186/S13062-019-0251-Z.
 38. Ryan, F. J. (2019) Application of machine learning techniques for creating urban microbial fingerprints, *Biol. Direct*, **14**, 13, doi: 10.1186/s13062-019-0245-x.
 39. Zhu, C., Miller, M., Lusskin, N., Mahlich, Y., Wang, Y., Zeng, Z., and Bromberg, Y. (2019) Fingerprinting cities: differentiating subway microbiome functionality, *Biol. Direct*, **14**, 19, doi: 10.1186/s13062-019-0252-y.
 40. Walker, A. R., Grimes, T. L., Datta, S., and Datta, S. (2018) Unraveling bacterial fingerprints of city subways from microbiome 16S gene profiles, *Biol. Direct*, **13**, 10, doi: 10.1186/s13062-018-0215-8.
 41. Wilhelm, M. T., Rufini, A., Wetzler, M. K., Tsuchihara, K., Inoue, S., et al. (2010) Isoform-specific p73 knockout mice reveal a novel role for delta Np73 in the DNA damage response pathway, *Genes Dev.*, **24**, 549-560, doi: 10.1101/gad.1873910.
 42. Amelio, I., Panatta, E., Niklison-Chirou, M. V., Steinert, J. R., Agostini, M., Morone, N., Knight, R. A., and Melino, G. (2020) The C terminus of p73 is essential for hippocampal development, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **117**, 15694-15701, doi: 10.1073/pnas.2000917117.
 43. Gong, J. G., Costanzo, A., Yang, H. Q., Melino, G., Kaelin, W. G., Levvero, M., and Wang, J. Y. (1999) The tyrosine kinase C-Abl regulates p73 in apoptotic response to cisplatin-induced DNA damage, *Nature*, **399**, 806-809, doi: 10.1038/21690.
 44. Kaghad, M., Bonnet, H., Yang, A., Creancier, L., Biscan, J. C., et al. (1997) Monoallelically expressed gene related to p53 at 1p36, a region frequently deleted in neuroblastoma and other human cancers, *Cell*, **90**, 809-819, doi: 10.1016/s0092-8674(00)80540-1.
 45. Suo, C., Deng, W., Vu, T. N., Li, M., Shi, L., and Pawitan, Y. (2018) Accumulation of potential driver genes with genomic alterations predicts survival of high-risk neuroblastoma patients, *Biol. Direct*, **13**, 14, doi: 10.1186/s13062-018-0218-5.
 46. Pieraccioli, M., Nicolai, S., Pitolli, C., Agostini, M., Antonov, A., Malewicz, M., Knight, R. A., Raschella, G., and Melino, G. (2018) ZNF281 inhibits neuronal differentiation and is a prognostic marker for neuroblastoma, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **115**, 7356-7361, doi: 10.1073/pnas.1801435115.
 47. Han, Y., Ye, X., Wang, C., Liu, Y., Zhang, S., Feng, W., Huang, K., and Zhang, J. (2019) Integration of molecular features with clinical information for predicting outcomes for neuroblastoma patients, *Biol. Direct*, **14**, 16, doi: 10.1186/s13062-019-0244-y.
 48. Polewko-Klim, A., Lesiński, W., Mnich, K., Piliszek, R., and Rudnicki, W. R. (2018) Integration of multiple types of genetic markers for neuroblastoma may contribute to improved prediction of the overall survival, *Biol. Direct*, **13**, 17, doi: 10.1186/s13062-018-0222-9.
 49. Han, Y., Ye, X., Cheng, J., Zhang, S., Feng, W., Han, Z., Zhang, J., and Huang, K. (2019) Integrative analysis based on survival associated co-expression gene modules for predicting neuroblastoma patients' survival time, *Biol. Direct*, **14**, 4, doi: 10.1186/S13062-018-0229-2.
 50. Francescato, M., Chierici, M., Rezvan Dezfouli, S., Zandonà, A., Jurman, G., and Furlanello, C. (2018) Multi-omics integration for neuroblastoma clinical endpoint prediction, *Biol. Direct*, **13**, 5, doi: 10.1186/s13062-018-0207-8.
 51. Hidalgo, M. R., Amadoz, A., Çubuk, C., Carbonell-Caballero, J., and Dopazo, J. (2018) Models of cell signaling uncover molecular mechanisms of high-risk neuroblastoma and predict disease outcome, *Biol. Direct*, **13**, 16, doi: 10.1186/s13062-018-0219-4.
 52. Baali, I., Acar, D. A. E., Aderinwale, T. W., HafezQorani, S., and Kazan, H. (2018) Predicting clinical outcomes in neuroblastoma with genomic data integration, *Biol. Direct*, **13**, 20, doi: 10.1186/s13062-018-0223-8.
 53. Tranchevent, L.-C., Nazarov, P. V., Kaoma, T., Schmartz, G. P., Muller, A., Kim, S.-Y., Rajapakse, J. C., and Azuaje, F. (2018) Predicting clinical outcome of neuroblastoma patients using an integrative network-based approach, *Biol. Direct*, **13**, 12, doi: 10.1186/s13062-018-0214-9.
 54. Grimes, T., Walker, A. R., Datta, S., and Datta, S. (2018) Predicting survival times for neuroblastoma patients using RNA-seq expression profiles, *Biol. Direct*, **13**, 11, doi: 10.1186/s13062-018-0213-x.
 55. Cassandri, M., Smirnov, A., Novelli, F., Pitolli, C., Agostini, M., Malewicz, M., Melino, G., and Raschella, G. (2017) Zinc-finger proteins in health and disease, *Cell Death Discov.*, **3**, 17071, doi: 10.1038/cddiscovery.2017.71.
 56. Niklison-Chirou, M. V., Killick, R., Knight, R. A., Nicotera, P., Melino, G., and Agostini, M. (2016) How does p73 cause neuronal defects? *Mol. Neurobiol.*, **53**, 4509-4520, doi: 10.1007/s12035-015-9381-1.
 57. Killick, R., Niklison-Chirou, M., Tomasini, R., Bano, D., Rufini, A., et al. (2011) p73: a multifunctional protein in neurobiology, *Mol. Neurobiol.*, **43**, 139-146, doi: 10.1007/s12035-011-8172-6.
 58. Sayan, B. S., Yang, A. L., Conforti, F., Tucci, P., Piro, M. C., Browne, G. J., Agostini, M., Bernardini, S., Knight, R. A., Mak, T. W., and Melino, G. (2010) Differential control of TAp73 and DeltaNp73 protein stability by the ring finger ubiquitin ligase PIR2, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 12877-12882, doi: 10.1073/pnas.0911828107.
 59. Amelio, I., Cutruzzolà, F., Antonov, A., Agostini, M., and Melino, G. (2014) Serine and glycine metabolism in cancer, *Trends Biochem. Sci.*, **39**, 191-198, doi: 10.1016/j.tibs.2014.02.004.
 60. Niklison-Chirou, M. V., Steinert, J. R., Agostini, M., Knight, R. A., Dinsdale, D., Cattaneo, A., Mak, T. W., and Melino, G. (2013) TAp73 knockout mice show morphological and functional nervous system defects associated with loss of p75 neurotrophin receptor, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, 18952-18957, doi: 10.1073/pnas.1221172110.
 61. Agostini, M., Tucci, P., Steinert, J. R., Shalom-Feuerstein, R., Rouleau, M., et al. (2011) MicroRNA-34a

- regulates neurite outgrowth, spinal morphology, and function, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 21099-21104, doi: 10.1073/pnas.1112063108.
62. Agostini, M., Tucci, P., Killick, R., Candi, E., Sayan, B. S., et al. (2011) Neuronal differentiation by TAp73 is mediated by microRNA-34a regulation of synaptic protein targets, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 21093-21098, doi: 10.1073/pnas.1112061109.
 63. Fuertes-Alvarez, S., Maeso-Alonso, L., Villoch-Fernandez, J., Wildung, M., Martin-Lopez, M., et al. (2018) p73 regulates ependymal planar cell polarity by modulating actin and microtubule cytoskeleton, *Cell Death Dis.*, **9**, 1183, doi: 10.1038/s41419-018-1205-6.
 64. Hochgerner, H., Zeisel, A., Lönnerberg, P., and Linnarsson, S. (2018) Conserved properties of dentate gyrus neurogenesis across postnatal development revealed by single-cell RNA sequencing, *Nat. Neurosci.*, **21**, 290-299, doi: 10.1038/s41593-017-0056-2.
 65. Gulyaeva, N. V. (2019) Biochemical mechanisms and translational relevance of Hippocampal vulnerability to distant focal brain injury: the price of stress response, *Biochemistry (Moscow)*, **84**, 1306-1328, doi: 10.1134/S0006297919110087.
 66. Rogaev, E. I. (2018) Different pathways to neurodegeneration, *Biochemistry (Moscow)*, **83**, 1007-1008, doi: 10.1134/S0006297918090018.
 67. Nemaierova, A., Kramer, D., Siller, S. S., Herr, C., Shomroni, O., et al. (2016) TAp73 is a central transcriptional regulator of airway multiciliogenesis, *Genes Dev.*, **30**, 1300-1312, doi: 10.1101/gad.279836.116.
 68. Buckley, N., Panatta, E., Morone, N., Noguchi, M., Scorrano, L., Knight, R. A., Amelio, I., and Melino, G. (2020) p73 C-terminus is dispensable for multiciliogenesis, *Cell Cycle*, **19**, 1833-1845, doi: 10.1080/15384101.2020.1783055.
 69. Kalinina, E. V., Ivanova-Radkevich, V. I., and Chernov, N. N. (2019) Role of microRNAs in the regulation of redox-dependent processes, *Biochemistry (Moscow)*, **84**, 1233-1246, doi: 10.1134/S0006297919110026.
 70. Korshunov, D. A., Kondakova, I. V., and Shashova, E. E. (2019) Modern perspective on metabolic reprogramming in malignant neoplasms, *Biochemistry (Moscow)*, **84**, 1129-1142, doi: 10.1134/S000629791910002X.
 71. Kobliakov, V. A. (2019) The mechanisms of regulation of aerobic glycolysis (Warburg effect) by oncoproteins in carcinogenesis, *Biochemistry (Moscow)*, **84**, 1117-1128, doi: 10.1134/S0006297919100018.
 72. Rufini, A., Niklison-Chirou, M. V., Inoue, S., Tomasini, R., Harris, I. S., et al. (2012) TAp73 depletion accelerates aging through metabolic dysregulation, *Genes Dev.*, **26**, 2009-2014, doi: 10.1101/gad.197640.112.
 73. Garrido-Maraver, J., Celardo, I., Costa, A. C., Lehamann, S., Loh, S. H. Y., and Martins, L. M. (2019) Enhancing folic acid metabolism suppresses defects associated with loss of *Drosophila* mitofusin, *Cell Death Dis.*, **10**, doi: 10.1038/s41419-019-1496-2.
 74. Cheng, A., Wan, R., Yang, J.-L., Kamimura, N., Son, T. G., Ouyang, X., Luo, Y., Okun, E., and Mattson, M. P. (2012) Involvement of PGC-1 α in the formation and maintenance of neuronal dendritic spines, *Nat. Commun.*, **3**, 1250, doi: 10.1038/ncomms2238.
 75. Michels, S., Ganjam, G. K., Martins, H., Schrott, G. M., Wöhr, M., Schwarting, R. K. W., and Culmsee, C. (2018) Downregulation of the psychiatric susceptibility gene *Cacna1c* promotes mitochondrial resilience to oxidative stress in neuronal cells, *Cell Death Discov.*, **4**, 54, doi: 10.1038/s41420-018-0061-6.
 76. Galkin, A. (2019) Brain ischemia/reperfusion injury and mitochondrial complex I damage, *Biochemistry (Moscow)*, **84**, 1411-1423, doi: 10.1134/S0006297919110154.
 77. Wanet, A., Arnould, T., Najimi, M., and Renard, P. (2015) Connecting mitochondria, metabolism, and stem cell fate, *Stem Cells Dev.*, **24**, 1957-1971, doi: 10.1089/scd.2015.0117.
 78. Khacho, M., and Slack, R. S. (2017) Mitochondrial activity in the regulation of stem cell self-renewal and differentiation, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **49**, 1-8, doi: 10.1016/j.ccb.2017.11.003.
 79. Agostini, M., Romeo, F., Inoue, S., Niklison-Chirou, M. V., Elia, A. J., Dinsdale, D., Morone, N., Knight, R. A., Mak, T. W., and Melino, G. (2016) Metabolic reprogramming during neuronal differentiation, *Cell Death Differ.*, **23**, 1502-1514, doi: 10.1038/cdd.2016.36.
 80. Amelio, I., Markert, E. K., Rufini, A., Antonov, A. V., Sayan, B. S., Tucci, P., Agostini, M., Mineo, T. C., Levine, A. J., and Melino, G. (2014) p73 regulates serine biosynthesis in cancer, *Oncogene*, **33**, 5039-5046, doi: 10.1038/onc.2013.456.
 81. Niklison-Chirou, M. V., Erngren, I., Engskog, M., Haglöf, J., Picard, D., Remke, M., et al. (2017) TAp73 is a marker of glutamine addiction in medulloblastoma, *Genes Dev.*, **31**, 1738-1753, doi: 10.1101/gad.302349.117.
 82. Marini, A., Rotblat, B., Sbarrato, T., Niklison-Chirou, M. V., Knight, J. R. P., et al. (2018) TAp73 contributes to the oxidative stress response by regulating protein synthesis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **115**, 6219-6224, doi: 10.1073/pnas.1718531115.
 83. Zavyalova, M. V., Denisov, E. V., Tashireva, L. A., Savelieva, O. E., Kaigorodova, E. V., Krakhmal, N. V., and Perelmuter, V. M. (2019) Intravasation as a key step in cancer metastasis, *Biochemistry (Moscow)*, **84**, 762-772, doi: 10.1134/S0006297919070071.
 84. Zamyatnin, A. A. (2019) Thematic issue: immuno-oncology and immunotherapy, *Biochemistry (Moscow)*, **84**, 693-694, doi: 10.1134/S0006297919070010.
 85. Sverdlov, E. D., and Chernov, I. P. (2019) Cancer stem complex, not a cancer stem cell, is the driver of cancer evolution, *Biochemistry (Moscow)*, **84**, 1028-1039, doi: 10.1134/S0006297919090050.
 86. Rossi, M., de Laurenzi, V., Munarriz, E., Green, D. R., Liu, Y.-C., Vousden, K. H., Cesareni, G., and Melino, G. (2005) The ubiquitin-protein ligase itch regulates p73 stability, *EMBO J.*, **24**, 836-848, doi: 10.1038/sj.emboj.7600444.
 87. Rossi, M., Rotblat, B., Ansell, K., Amelio, I., Caraglia, M., Misso, G., Bernassola, F., Cavasotto, C. N., Knight, R. A., Ciechanover, A., and Melino, G. (2014) High throughput screening for inhibitors of the HECT ubiquitin E3 ligase ITCH identifies antidepressant drugs as regulators of autophagy, *Cell Death Dis.*, **5**, e1203-e1203, doi: 10.1038/cddis.2014.113.
 88. Rossi, M., Munarriz, E. R., Bartesaghi, S., Milanese, M., Dinsdale, D., et al. (2009) Desmethylclomipramine induces the accumulation of autophagy markers by blocking autophagic flux, *J. Cell Sci.*, **122**, 3330-3339, doi: 10.1242/jcs.048181.

MOLECULAR MECHANISMS AND FUNCTION OF THE p53 FAMILY MEMBER p73

Mini-review

G. Melino

*Department of Experimental Medicine, TOR, University of Rome Tor Vergata,
00133 Rome, Italy; E-mail: melino@uniroma2.it*

Received August 14, 2020

Revised August 14, 2020

Accepted August 19, 2020

Over 20 years after identification of p53 and its crucial function in cancer progression, two members of the same protein family were identified, namely p63 and p73. Since then, a body of information has been accumulated on each of these genes and their interrelations. Biological role of p73 has been elucidated thanks to four distinct knockout mice models: (i) with deletion of the entire *TP73* gene, (ii) with deletion of exons encoding the full length TAp73 isoforms, (iii) with deletions of exons encoding the shorter DNp73 isoform, and (iv) with deletion of exons encoding C-terminal of the alpha isoform. This work, as well as expression studies in cancer and overwhelming body of molecular studies, allowed establishing major role of *TP73* both in cancer and in neuro-development, as well as ciliogenesis, and metabolism. Here, we recapitulate the major milestones of this endeavor.

Keywords: p53, p53 family, p73, cancer, ciliogenesis, metabolism, neurobiology