

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 577.122
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2026-71-2-132-143>

Поступила в редакцию 15.09.2025
Received 15.09.2025

Е. Г. Веремеенко¹, Сянпу Ли¹, А. А. Жизневская¹, Е. С. Покрова¹, А. Г. Зинкевич¹,
М. А. Шапиро², Н. П. Максимова¹

¹Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

²Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПРОТЕОМА В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК HeLa И HepG2 ДО И ПОСЛЕ ОБРАБОТКИ ФЕНАЗИНАМИ

Аннотация. Действие феназиновых соединений в отношении прокариотических организмов изучено достаточно неплохо. Однако в отношении эукариотических клеток существует значительный пробел в этом вопросе.

Целью исследования является протеомный анализ культур клеток HeLa и HepG2 до и после обработки очищенными комплексами феназиновых соединений бактерий *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* и идентификация мишеней для феназинов в эукариотических клетках.

В ходе исследования было установлено, что основная масса белков, обнаруженных нами в протеоме культур клеток HeLa и HepG2, задействована в регуляции мембранного потенциала клеток, сигнальных каскадах, вовлеченных в процессы онкогенеза, регуляции кальция в сердечной мышце, функционировании нервной системы и ответе на ксенобиотики. Также было зарегистрировано накопление гистоновых белков и белков-модификаторов хроматина, способствующих его переводу в гетерохроматин в культурах HeLa и HepG2 после обработки феназинами. В то же время содержание ферментов декомпактизации хроматина снижается в обеих культурах. Концентрация некоторых рибосомных белков существенно меняется в культуре клеток HeLa, тогда как в культуре клеток HepG2 регистрируется массовое увеличение их содержания.

Ключевые слова: феназины, протеом, малигнизированные культуры клеток, Metascape-анализ

Для цитирования: Сравнительный анализ протеома в культуре клеток HeLa и HepG2 до и после обработки феназинами / Е. Г. Веремеенко, Сянпу Ли, А. А. Жизневская [и др.] // Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя біялагічных навук. – 2026. – Т. 71, № 2. – С. 132–143. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2026-71-2-132-143>

Katsiaryna G. Verameyenka¹, Xiangpu Li¹, Anastasia A. Zhiznevskaya¹, Ekaterina S. Pokrova¹, Alina G. Zinkevich¹,
Mikhail A. Shapiro², Natalia P. Maximova¹

¹Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

²Institute of Bioorganic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

COMPARATIVE ANALYSIS OF PROTEOME IN HeLa AND HepG2 CELL CULTURES BEFORE AND AFTER TREATMENT WITH PHENAZINES

Abstract. The effect of phenazine compounds on prokaryotic organisms has been well studied. However, there is a large gap with regard to eukaryotic cells.

The aim of this study is the proteomic analysis of HeLa and HepG2 cell cultures before and after treatment with purified complexes of phenazine compounds from the bacterium *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* and the identification of targets for phenazines in eukaryotic cells.

In the course of this study, most proteins found in the proteome of HeLa and HepG2 cell cultures were found to be involved in the regulation of cell membrane potential, signalling cascades involved in oncogenesis, calcium regulation in cardiac muscle, nervous system function and response to xenobiotics. In addition, an accumulation of histone proteins and chromatin modifiers that promote conversion to heterochromatin was detected in HeLa and HepG2 cultures after phenazine treatment. At the same time, the content of chromatin decompaction enzymes decreases in both cultures. The concentration of some ribosomal proteins changes significantly in the HeLa cell culture, while in the HepG2 cell culture there is a massive increase in their content.

Keywords: phenazines, proteome, malignant cell cultures, Metascape analysis

For citation: Verameyenka K. G., Xiangpu Li, Zhiznevskaya A. A., Pokrova E. S., Zinkevich A. G., Shapiro M. A., Maximova N. P. Comparative analysis of proteome in HeLa and HepG2 cell cultures before and after treatment with phenazines. *Vesti Natsyonal'noi akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2026, vol. 71, no. 2, pp. 132–143 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2026-71-2-132-143>

Введение. Протеомный анализ стал достаточно популярным методом в исследовании процессов, лежащих в основе малигнизации. Протеомика открыла дополнительные возможности по идентификации потенциальных белков-онкомаркеров и паттернов экспрессии определенных белоксинтезирующих генов, которые могут быть ассоциированы с онкогенезом. Достаточно хорошо известно, что развитие опухолей связано с масштабными изменениями экспрессии генов, формирующими новый эпигенетический ландшафт. Появление или изменение содержания определенных белков в рамках этого ландшафта может дать ценную информацию о типе опухоли, стадии ее развития, дальнейшем прогнозе и лекарственных препаратах, которые наиболее целесообразно использовать для ее терапии [1–3]. Большие надежды возлагаются на то, что протеомика позволит идентифицировать ранние прогностические маркеры, ассоциированные с малигнизацией. Однако еще более важным является то, что протеомный анализ дает возможность установить сигнальные каскады, изменения в которых задействованы в инициации процесса онкогенеза. Это позволяет лучше понять биологию опухолеобразования и использовать знания для разработки новых подходов в терапии онкологических заболеваний [4, 5].

На сегодняшний день созданы базы данных протеомов малигнизированных клеток различных типов, а также получены огромные массивы данных клинической информации, которые интегрированы с данными молекулярной биологии рака [6]. Используя информацию из таких баз, а также результаты, полученные в ходе собственных экспериментальных исследований, ученые всего мира пытаются разработать новые эффективные подходы терапии онкологических заболеваний. И здесь первостепенное значение имеет масштабный анализ реакции культур опухолевых клеток на молекулярном уровне на применение того или иного синтезированного или природного биологически активного соединения.

В качестве источников таких природных соединений с новыми свойствами наибольший интерес представляют растения и микроорганизмы. Представители последней группы более удобны для различного рода генно-инженерных манипуляций, в связи с чем в клетки культивируемых видов микроорганизмов могут быть относительно легко перенесены гены (опероны), ответственные за синтез перспективных соединений, из вновь обнаруженных некультивируемых видов. Однако и потенциал широко известных видов и родов бактерий исчерпан не до конца. Применение новых подходов в метаболомике позволило обнаружить ряд потенциально перспективных соединений, продуцируемых в небольших количествах. Большинство таких соединений относятся ко вторичным метаболитам, имеют в своей структуре ароматические кольца и обладают огромным потенциалом применения в медицине [7, 8]. К таковым можно отнести и феназиновые соединения [8]. Механизмы антимикробной активности данных соединений достаточно неплохо изучены, тогда как их действие на эукариотические клетки остается неизвестным.

Цель исследования – протеомный анализ культур клеток HeLa и HepG2 до и после обработки очищенными комплексами феназиновых соединений бактерий *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* и идентификация возможных мишеней для феназинов в эукариотических клетках.

Материалы и методы исследования. В работе использовали комплексы феназиновых соединений штаммов дикого типа B-162 и мутантного штамма B-162/255 бактерий *P. chlororaphis* subsp. *aurantiaca*. Культивирование бактерий проводили в питательном бульоне в течение 16–18 ч при температуре 28 °С. Выделение феназинов осуществляли согласно методике, описанной в статье [9].

Культуры клеток HeLa и HepG2 выращивали в стандартной среде DMEM с L-глутамином, феноловым красным, с концентрацией глюкозы 4,5 г/л (Lonza, США), 10%-й эмбриональной сывороткой и смесью антибиотиков в концентрации 10 мкг/мл. Культуры поддерживали во влажной атмосфере (5 % CO₂, 37 °С) в CO₂-инкубаторе (Binder, Германия) в культуральных флаконах объемом 25 см³. Пересев культур проводили при достижении ими плотности клеток 10⁶ кл/мл в стерильных условиях в ламинар-боксе HERA Safe (Heraeus, Германия). Микроскопический контроль проводили с помощью инвертированного микроскопа Axiostar Plus (ZEISS, Германия), объектив A-Plan 10x/0.25 Ph 1 Var1 (ZEISS).

Для обработки культур феназинами выбирали сублетальные концентрации данных соединений, равные 200 мкг/мл [10].

Белковое профилирование проводили на базе Национальной антидопинговой лаборатории. Клетки открепляли трипсином, затем к полученной суспензии добавляли калий-фосфатный буфер (рН 7,4), а после этого – Тритон X-100 до конечной концентрации 0,5 %. Смесь выдерживали на шейкере 1–1,5 ч, после этого центрифугировали 15 мин при максимальных оборотах. К полученному осадку добавляли 400 мкл метанола и 200 мкл хлороформа, тщательно перемешивали, а затем центрифугировали 15 мин при максимальных оборотах. После этого верхнюю фазу убрали, к оставшейся фазе добавляли 600 мкл метанола, тщательно перемешивали и центрифугировали 10 мин при 10 000 об/мин. Супернатант сливали, осадок высушивали при комнатной температуре. К образцам добавляли по 30 мкл 50 Ммоль дитиотреитола, инкубировали 30–60 мин при 50 °С, затем добавляли 30 мкл 150 Ммоль йодацетамида. Инкубировали 1 ч при комнатной температуре в темноте. После этого добавляли 300 мкл аммоний бикарбонатного буфера (рН 8,5), хорошо перемешивали. Далее к образцам добавляли 10 мкл раствора трипсина (концентрация – 1 мг/мл) в 100 мМоль аммоний бикарбонатного буфера и инкубировали 16 ч при 37 °С, постоянно перемешивая. Гидролиз останавливали внесением 5 мкл 6 М HCl до рН 1–2, затем центрифугировали 30 мин при максимальных оборотах. Полученные образцы переносили во флаконы и анализировали методом масс-спектрометрии. Масс-спектрометрию проводили на жидкостном хроматографе Dionex Ultimate 3000, оснащенный квадрупольным масс-селективным и многоволновым спектрофотометрическим детектором Q Exactive Plus (Thermo Scientific, США). Обработка данных проводилась с использованием программного обеспечения Spectrum Mills и пакета анализа данных Panther. Каждый образец анализировали в 3 биологических и 3 технических повторах. Белок идентифицировали как найденный, если в каждом биологическом повторе и не менее чем в 2 из 3 технических повторах было найдено не менее 2 пептидов длиной более 7 аминокислотных остатков. В качестве меры, характеризующей количество интенсивности обнаруженного белка, использовали среднеарифметическое совокупности интенсивности сигналов найденных пептидов, принадлежащих белку. Интенсивность белка считалась приемлемой, если дисперсия интенсивностей во всех совокупных повторах составляла не более половины от абсолютного значения [11].

Относительное содержание белков оценивали с помощью нормирования общего количества белка, использованного в пробоподготовке. Его количество определяли с помощью метода Лоури после осаждения белка из раствора методом метанол-хлороформной преципитации [12]. Также в качестве дополнительного инструмента нормирования использовалась нормализация к белкам домашнего хозяйства. Количество последних было усреднено путем вычисления среднего арифметического совокупности интенсивности пептидов, относящихся к одному белку [13].

Результаты и их обсуждение. В ходе проведения протеомного анализа в высоком качестве, позволяющем сравнивать обработанные и необработанные образцы, было получено 6 835 белков. Проведенные Metascape-анализ и анализ обогащения KEGG позволили определить, что обнаруженные белки в основном относились к регуляторам мембранного потенциала, белкам-компонентам сигнальных каскадов (в том числе сигнальных каскадов, задействованных в канцерогенезе, сигнальных каскадов, запускаемых активацией рецепторных тирозиновых киназ и (или) фермент-ассоциированными рецепторами), белкам, принимающим участие в ответе и (или) регулирующим содержание ионов в цитозоле, а также к белкам, задействованным в ответах на ксенобиотики (рис. 1).

На следующем этапе работы для генов, кодирующих белки, обнаруженные в культурах HeLa и HepG2, для каждой из культур был проведен анализ обогащения путей и процессов с использованием следующих источников онтологии: KEGG Pathway, GO Biological Processes, Reactome Gene Sets, Canonical Pathways, CORUM, WikiPathways и PANTHER Pathway. Все гены в геноме были использованы в качестве фона обогащения. Термины со значением $p < 0,01$, минимальным количеством 3 и фактором обогащения $>1,5$ собирались и группировались в кластеры на основе их сходства. Значения p рассчитывали на основе кумулятивного гипергеометрического распределения, а значения q – с использованием метода Бенджамини – Хохберга для учета множественных тестирований. Каппа-оценки использовали в качестве метрики сходства при выполнении иерархической кластеризации обогащенных терминов. Поддержка со сходством $>0,3$

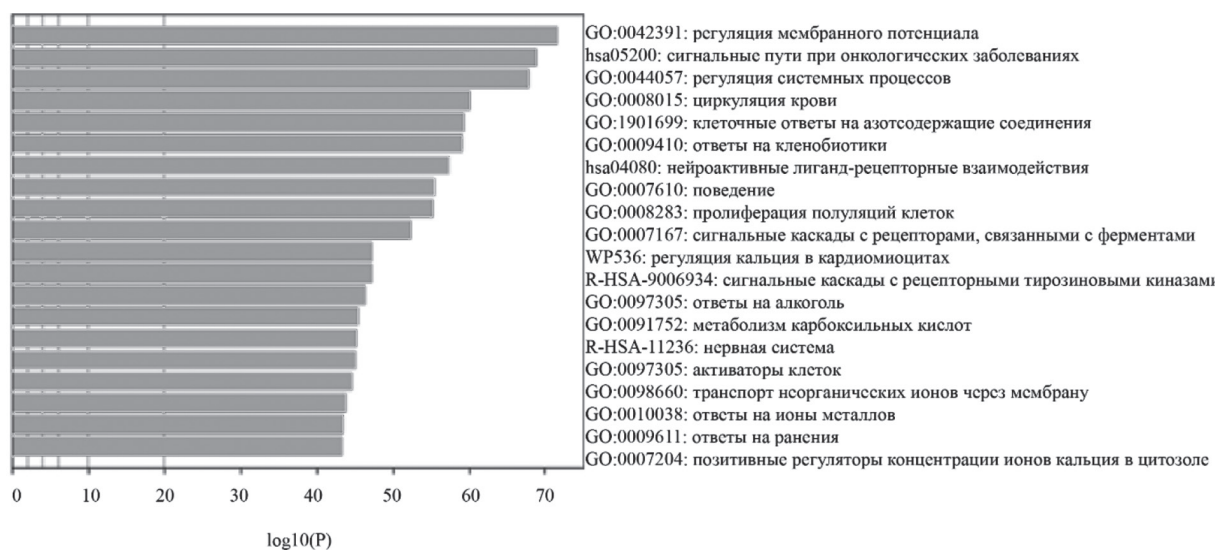


Рис. 1. Столбчатая диаграмма обогащенных терминов (значимые термины были иерархически кластеризованы в дерево на основе Каппа-статистического сходства между их членством в группах кодирующих их генов. В качестве порогового значения для разделения дерева на кластеры терминов использовалось значение Каппа 0,3)

Fig. 1. Bar graph of enriched terms (significant terms were hierarchically clustered into a tree based on Kappa-statistical similarities among their gene groups memberships. The 0.3 Kappa score was applied as the threshold to cast the tree into term clusters)

считали кластером. Для представления кластера выбирается наиболее статистически значимый термин в кластере. Для более точного понимания взаимосвязей между терминами было выбрано подмножество обогащенных терминов, которое было отображено в виде сетевого графика, где термины со степенью сходства $>0,3$ соединены ребрами. Мы отбирали термины с наилучшими p -значениями из каждого из 20 кластеров со следующим ограничением: не более 15 терминов в кластере и не более 250 терминов в целом. Сеть визуализировали с помощью Cytoscape, где каждый узел представляет обогащенный термин и сначала раскрашивается идентификатором кластера (рис. 2, а; 3, а), а затем – его p -значением (рис. 2, б; 3, б). В последнем случае чем темнее цвет, тем статистически более значим узел.

Таким образом, среди идентифицированных нами белков основная масса была задействована в регуляции мембранного потенциала клеток, сигнальных каскадах, вовлеченных в процессы онкогенеза, регуляции кальция в сердечной мышце, функционировании нервной системы и ответе на ксенобиотики.

На следующем этапе работы был проведен анализ и сравнение наличия и содержания белков в культурах до и после обработки феназиновыми соединениями, в результате чего были обнаружены некоторые интересные тенденции.

Так, нами было установлено, что обработка феназиновыми соединениями приводит к появлению гистонов или увеличению их содержания в исследуемых клеточных линиях. Причем данная закономерность была актуальна не только для канонических гистонов, но и для неканонических вариантов, таких как H3.3, H2A.Z и H2A.X. Особенно интересным фактом стало появление в культурах эмбриональной изоформы гистона H3 и H3э. Полученные данные представлены на рис. 4 и для лучшей наглядности дополнительно продублированы в табл. 1.

Увеличение концентрации гистонов приводит к снижению транскрипционных процессов в клетках, в том числе к подавлению активности генов, задействованных в прохождении клеточного цикла. Это, в свою очередь, ведет к снижению уровня пролиферации клеточных культур. Последний параметр, как известно, отличает малигнизированные клетки от нормальных: высокие темпы пролиферации клеток, вступивших на путь малигнизации, ассоциируются с быстрым ростом опухолей и их метастазированием. Накопление гистонов, регистрируемое при обработке феназинами, будет эффективно подавлять эти процессы, что, вероятно, и является одной из причин

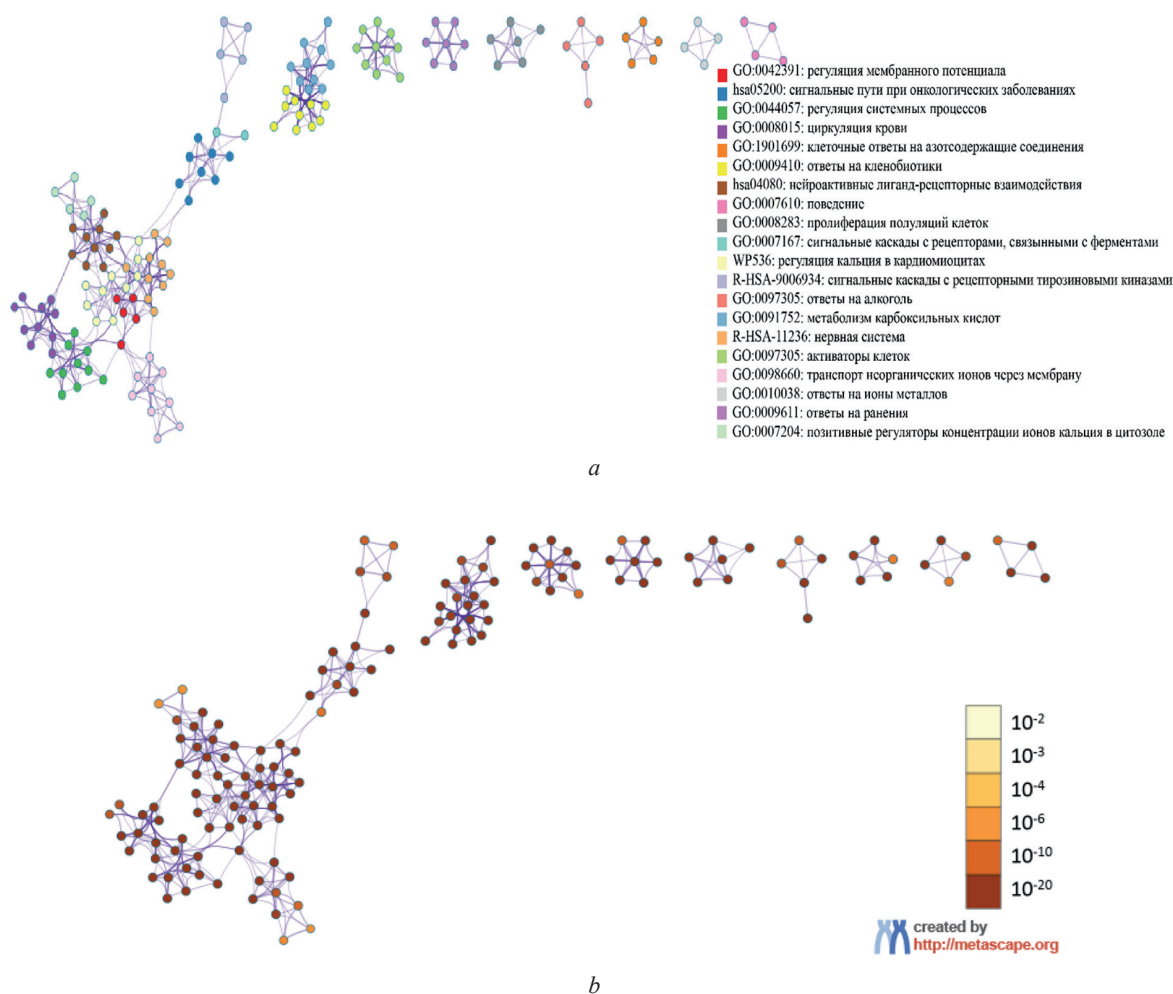


Рис. 2. Сеть обогащенных терминов для генов, кодирующих белки, обнаруженные в культуре клеток HeLa (*a* – окрашено по идентификатору кластера; *b* – окрашено по *p*-значению)

Fig. 2. Network of enriched terms for genes coding proteins found in HeLa cell culture (*a* – colored by cluster ID; *b* – colored by *p*-value)

описанной ранее цитостатической активности феназинов. Появление в культурах клеток неканонических изоформ гистонов, ассоциированных с репарационными процессами, а также с глобальными изменениями таких ключевых молекулярных событий в клетках, как изменение границ TAD-доменов, регуляция транскрипции, взаимодействие хроматид и хромосом, указывает на то, что феназины способны индуцировать масштабные эпигенетические изменения в культурах малигнизированных клеток, блокирующие их дальнейшее размножение и биохимические процессы.

На то, что феназины индуцируют процессы компактизации хроматина, дополнительно указывают обнаруженные нами изменения в содержании ферментов модификации гистонов. Так, например, показано, что в культуре клеток HeLa значительно увеличивается содержание деацетилаз гистонов, способствующих превращению хроматина в гетерохроматин. В культуре клеток HerG2, по-видимому, реализуется несколько иная стратегия: здесь наблюдается снижение концентрации или полное исчезновение ферментов ацетилтрансфераз гистонов. Активность этих ферментов направлена на ацетилирование гистонов и снижение степени компактизации хроматина. Блокировка ацетилтрансфераз гистонов также приводит к формированию гетерохроматина и блокировке транскрипционных процессов.

Еще одной клеточной мишенью для феназинов, судя по всему, являются некоторые рибосомные белки. На рис. 5, *a* представлены данные, полученные для культуры клеток HeLa. Как мы видим, обработка феназиновыми соединениями не оказывала значительного эффекта на относительное содержание большинства белков в культуре HeLa.

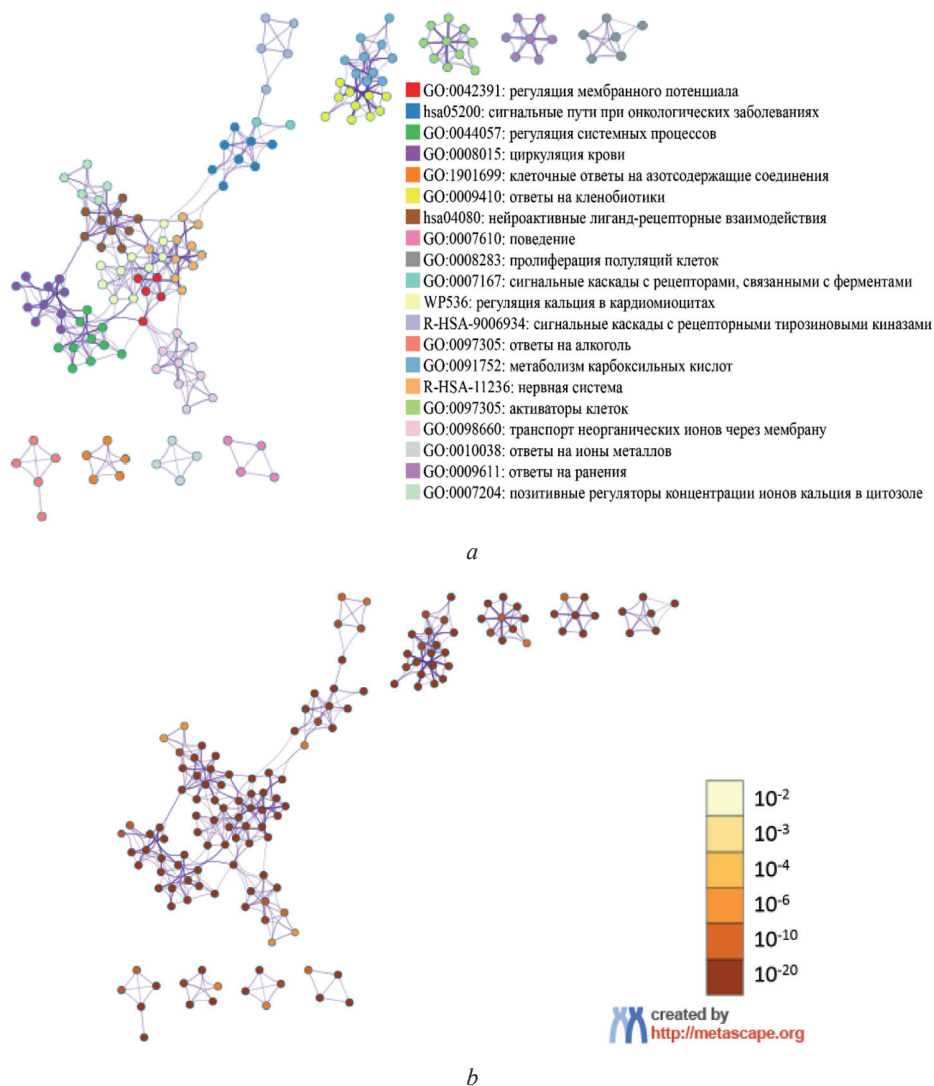


Рис. 3. Сеть обогащенных терминов для генов, кодирующих белки, обнаруженные в культуре клеток HepG2 (a – окрашено по идентификатору кластера; b – окрашено по *p*-значению)

Fig. 3. Network of enriched terms for genes coding proteins found in HepG2 cell culture (a – colored by cluster ID; b – colored by *p*-value)

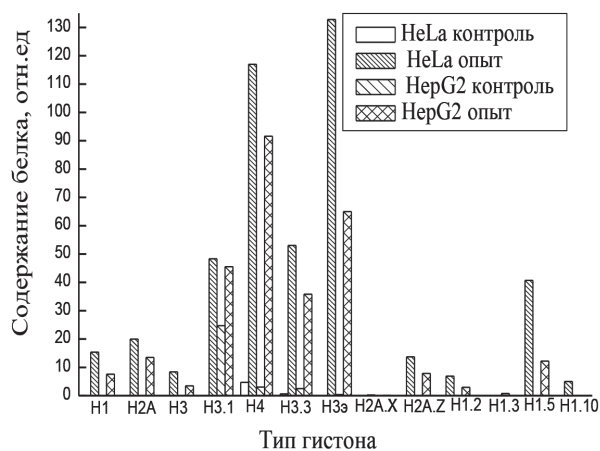


Рис. 4. Относительное содержание гистонов в контрольных и опытных образцах культур HeLa и HepG2

Fig. 4. Relative content of histones in control and experimental samples of HeLa and HepG2 cultures

Таблица 1. Типы гистонов и их относительное содержание в контрольных и опытных образцах культур HeLa и HepG2

Table 1. Types of histones and their relative content in control and experimental samples of HeLa and HepG2 cultures

Тип гистона	Содержание белка, отн. ед. · 10 ⁶			
	HeLa (K)	HeLa (O)	HepG2 (K)	HepG2 (O)
H1	0	15,4	0	7,61
H2A	0	20	0	13,5
H3	0	8,4	0	3,48
H3.1	0	48,3	24,7	45,5
H4	4,68	117	3,03	91,6
H3.3	0,581	53	2,5	35,8
H3 э.	0	132,8	0,4	65
H2A.X	0	0,238	0	0,14
H2A.Z	0	13,7	0	7,91
H1.2	0	6,92	0	2,98
H1.3	0	0	0	0,721
H1.5	0	40,7	0	12,2
H1.10	0	4,99	0	0

Примечание. К – контроль, О – опыт.

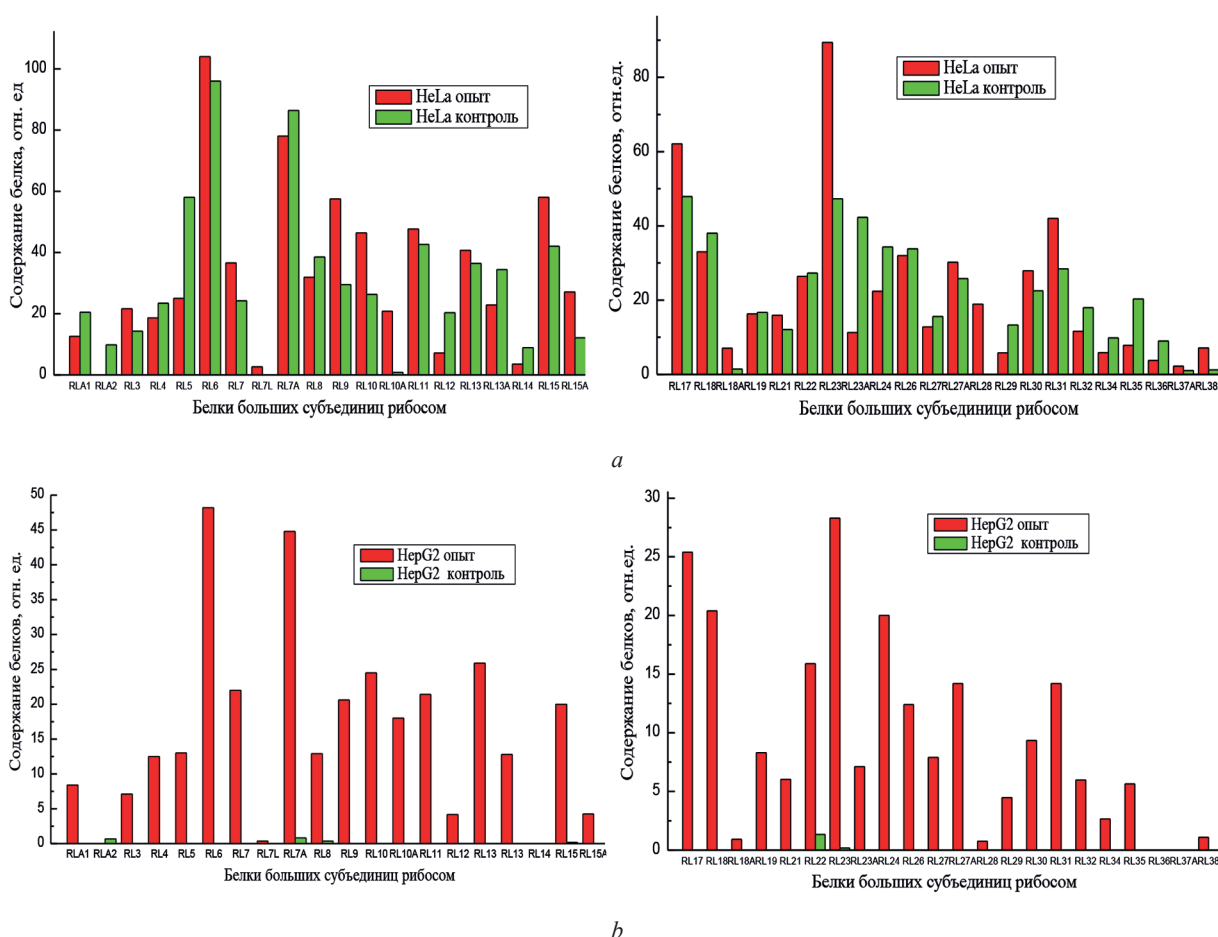


Рис. 5. Относительное содержание белков больших субъединиц рибосом в контрольных и опытных образцах культур HeLa (a) и HepG2 (b) (все числовые значение необходимо умножить на 10⁶)

Fig. 5. The relative content of large ribosomal subunit proteins in control and experimental samples of HeLa (a) and HepG2 (b) cultures (all numerical values must be multiplied by 10⁶)

Однако были обнаружены и достаточно интересные исключения. Так, показано, что в присутствии феназинов полностью подавляется образование RLA2, а содержание RLA1 снижается в 1,6 раза. Оба белка, в отличие от большинства других рибосомных белков, являются кислыми и играют важную роль на этапе элонгации при синтезе полипептидных цепей. Помимо этого, для обоих белков характерны внерибосомные функции. В частности, в период эмбрионального развития они принимают участие в процессах формирования нервной системы как регуляторные белки. Повышенные уровни белка RLA2 (RPLP2) служат негативным прогностическим маркером при гепатоцеллюлярной карциноме за счет ингибирования ферроптоза и усиления гликолиза в аэробных условиях [14, 15]. Увеличенное содержание этого же белка, наряду с RLA1, регистрируется и при карциноме эндометрия матки и ассоциировано с негативным прогнозом выживаемости пациентов [16]. Таким образом, способность феназинов снижать содержание данных белков или полностью блокировать их образование является крайне интересной в практическом плане. Можно также отметить снижение в 2,32 раза уровня рибосомного белка RL5, гиперпродукция которого регистрируется при различных типах опухолей эпителиальных тканей и стимулирует их прогрессию за счет активации MAPK/ERK-сигнального каскада [17]. Известным исключением из списка эпителиальных опухолей, стимулируемых RL5, является гепатоцеллюлярная карцинома. В случае этого типа рака повышение уровня RL5 обладает протективным эффектом за счет блокировки деградации p53 при участии E3-убиквитинлигазы HDM2 (рис. 5, *b*) [18]. Аналогичным эффектом обладают белки RL11 и RL23. В наших исследованиях их концентрации возрастают как в культуре HeLa, так и в культуре HepG2 (рис. 5, *a, b*). Если в культуре клеток HepG2 увеличение содержания RL23 имеет положительное значение, то его рост в HeLa может быть ассоциирован с увеличением резистентности клеток к лекарственным препаратам [19].

Примечательно, что в культуре клеток HepG2 эффект феназинов существенно отличается от такового, наблюдаемого нами в культуре HeLa (рис. 5, *b*). Следует отметить, что уровни рибосомных белков в HepG2 в контроле были значительно ниже, чем в аналогичных условиях в HeLa. Обработка феназинами существенно увеличивала содержание всех исследованных в этом отношении белков в культуре HepG2, за исключением RLA2 (RPLP2), образование которого было подавлено. Наибольший рост был зафиксирован для белков RL6, RL17, RL17A, RL23. В современной научной литературе роль данных белков в онкогенезе двойственна: конкретный описанный эффект зависит от типа опухоли и стадии ее развития. В целом, данные белки, помимо участия в трансляции, могут стимулировать выживание и пролиферацию клеток.

Анализ изменения содержания белков малых субъединиц рибосом продемонстрировал ту же закономерность: в культуре клеток HeLa существенные изменения зафиксированы лишь для отдельных белков, тогда как в культуре клеток HepG2 содержание всех исследованных белков значительно увеличивалось (рис. 6, *a, b*).

Более или менее значительный рост содержания белков после обработки феназинами в HeLa был зарегистрирован для RS2, RS15A, RS17 и RS24. Если последние два белка (RS17 и RS24), помимо участия в процессе трансляции, могут выступать как активаторами, так и ингибиторами малигнизации в зависимости от типа клеток, то первые два белка (RS2 и RS15A) преимущественно активируют деление клеток, и повышение их концентрации ассоциируется с неблагоприятным прогнозом течения заболевания.

С другой стороны, в присутствии феназинов наблюдалось значительное снижение или полное отсутствие других проонкогенных белков малых субъединиц рибосом. Наиболее значительное падение содержания в присутствии феназинов отмечалось для белков RS12, RS15, RS21, RS19, RS28, RS30. Особенно актуальным подавление активности этих белков является для успешной терапии рака простаты, молочных желез, яичников и остеосаркомы, при которых уровни данных белков существенно повышены и способствуют прогрессированию опухолей. Все эти белки рассматриваются в качестве перспективных терапевтических мишеней для лечения перечисленных типов опухолей. Необходимо отметить, что снижение содержания RS12, RS15, RS21, RS19, RS28, RS30 в культуре HeLa блокирует развитие и тех типов эпителиальных опухолей, которые индуцируются при гиперактивации RS2 и RS15A, что является достаточно важным фактором при рассмотрении терапевтического потенциала феназинов.

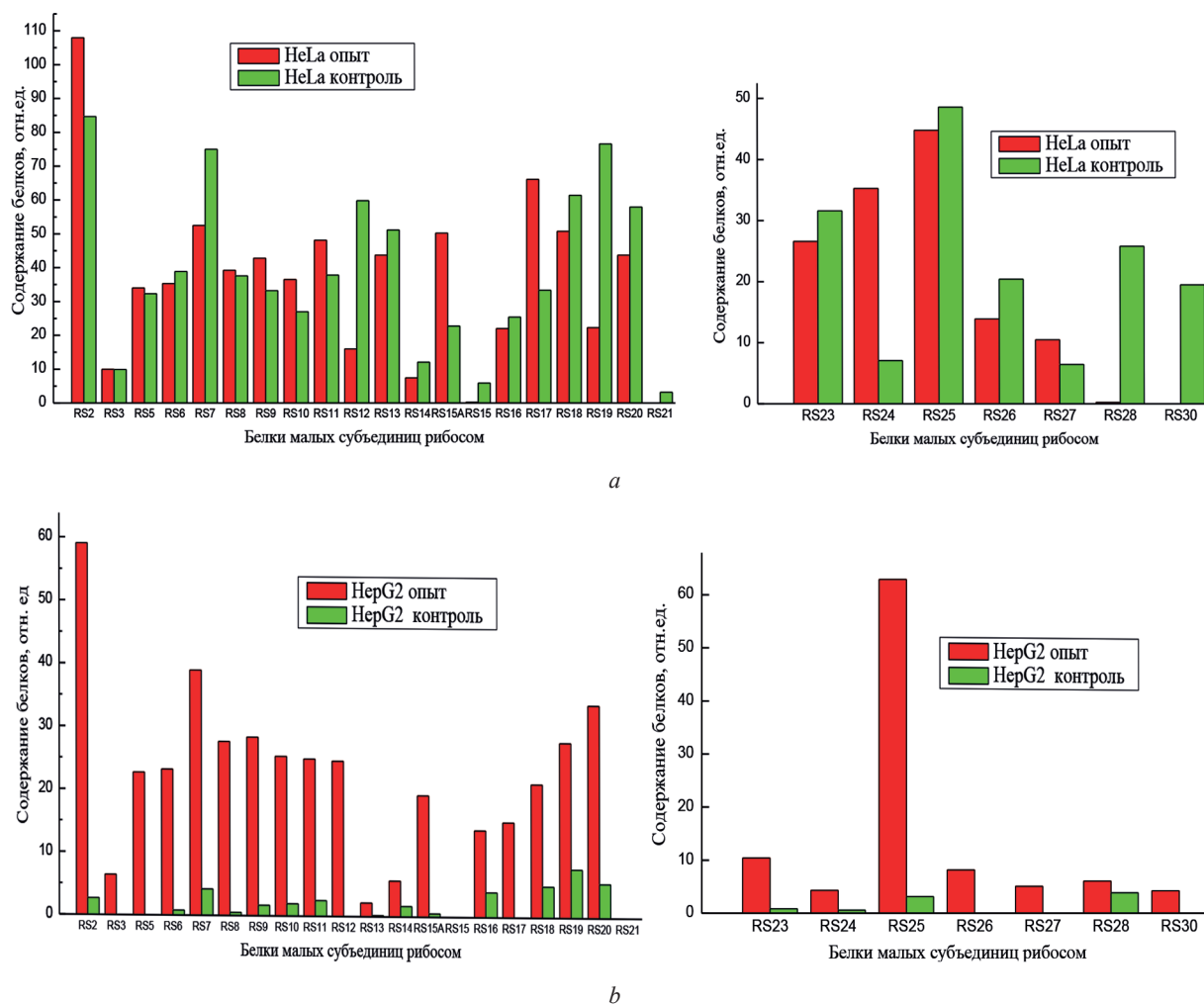


Рис. 6. Относительное содержание белков малых субъединиц рибосом в контрольных и опытных образцах культур HeLa (a) и HepG2 (b) (все числовые значения необходимо умножить на 10⁶)

Fig. 6. The relative content of small ribosomal subunit proteins in control and experimental samples of HeLa (a) and HepG2 (b) cultures (all numerical values must be multiplied by 10⁶)

Заключение. Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что феназиновые соединения в клетках эукариотических организмов способны вызывать комплексные изменения и затрагивать иные мишени в отличие от тех, которые являются уязвимыми у микроорганизмов.

Клетки чувствительных к феназинам микроорганизмов чаще всего испытывают сильный окислительный стресс [20], тогда как, согласно нашим данным, у эукариотических организмов наблюдается накопление гистоновых белков и белков-модификаторов хроматина, способствующих его переводу в более плотно упакованное состояние. В то же время ферменты, способствующие образованию эухроматина, подавлены. Это свидетельствует о масштабных эпигенетических изменениях в клетках, что, вероятно, отражается на экспрессии большого числа генов. Еще одной новой мишенью, обнаруженной в ходе данного исследования, стали рибосомные белки. Концентрация некоторых из них существенно меняется в культуре клеток HeLa, тогда как в культуре клеток HepG2 регистрируется массовое увеличение их содержания. Вероятными причинами наблюдаемого эффекта могут быть стимуляция процессов трансляции мРНК белков, принимающих участие в детоксикации ксенобиотиков, которыми для клеток являются феназины, либо формирование рибонуклеопротеидных гранул для защиты мРНК и регуляторных РНК, однако для окончательного ответа на этот вопрос данный феномен требует дополнительных исследований.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Исследование выполнено в рамках Государственной программы «Биотехнологии-2» подпрограммы «Геномика, эпигеномика и биоинформационный анализ» (№ гранта 20241244) при финансовой поддержке Министерства образования Республики Беларусь.

Выражаем благодарность В. Э. Сяховичу, канд. биол. наук, доценту, заведующему научно-исследовательской лабораторией УЗ «Национальная антидопинговая лаборатория», Ю. С. Бабакиной, канд. биол. наук, вед. науч. сотруднику этой же лаборатории, за возможность проведения протеомного анализа на базе лаборатории.

Acknowledgements. The study was carried out within the framework of the State Program “Biotechnology-2”, sub-program “Genomics, epigenomics and bioinformation analysis” (grant No. 20241244) with the financial support of the Ministry of Education of the Republic of Belarus.

We would like to express our gratitude to V. E. Syakhovich, Ph. D. (Biol.), Associate Professor, Head of the Research Laboratory of the National Anti-Doping Laboratory, and Yu. S. Babakina, Ph. D. (Biol.), Leading Researcher of the same Laboratory, for the opportunity to conduct proteomic analysis at the laboratory.

Список использованных источников

1. A Pan-cancer molecular subtypes revealed by mass-spectrometry-based proteomic characterization of more than 500 human cancers / F. Chen, D. S. Chandrashekar, S. Varambally, C. J. Creighton // *Nature Communications*. – 2019. – Vol. 10. – Art. 5679. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13528-0>
2. High throughput proteomics identifies a high-accuracy 11 plasma protein biomarker signature for ovarian cancer / S. Enroth, M. Berggrund, M. Lycke [et al.] // *Communications Biology*. – 2019. – Vol. 2. – Art. 221. <https://doi.org/10.1038/s42003-019-0464-9>
3. Application of Proteomics in Cancer: Recent Trends and Approaches for Biomarkers Discovery / Y. W. Kwon, H. S. Jo, S. Bae [et al.] // *Frontiers in Medicine*. – 2021. – Vol. 8. – P. 747–760. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.747333>
4. Proteomics in decoding cancer: A review / E. Gheybi, P. Hosseinzadeh, V. Tayebi-Khorrami [et al.] // *Clinica Chimica Acta*. – 2025. – Vol. 574. – Art. 120132. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2025.120302>
5. Proteomic approaches in the study of cancers / K. U. Nisa, N. Tarfeen, S. Wani [et al.] // *Proteomics. A Promising Approach for Cancer Research* / eds.: S. Ali, S. Majid, M. U. Rehman. – San Diego, 2023. – Ch. 8. – P. 205–217. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-95072-5.00002-x>
6. CancerProteome: a resource to functionally decipher the proteome landscape in cancer / D. Lv, D. Li, Y. Cai [et al.] // *Nucleic Acids Research*. – 2024. – Vol. 52, N D1. – P. D1155–D1162. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad824>
7. Giurini, E. F. Redefining bioactive small molecules from microbial metabolites as revolutionary anticancer agents / E. F. Giurini, A. Godla, K. H. Gupta // *Cancer Gene Therapy*. – 2024. – Vol. 31, N 2. – P. 187–206. <https://doi.org/10.1038/s41417-023-00715-x>
8. Antimicrobial, anti-inflammatory, anticancer and antiviral activity of bioactive compounds from *Pseudomonas aeruginosa* isolated from Mediterranean Sea, Alexandria, Egypt / A. N. Mohamed, A. K. S. H. Mohamed, A. M. Zahran [et al.] // *Microbial Biosystems*. – 2025. – Vol. 10, N 1. – P. 123–134. <https://doi.org/10.21608/mb.2025.322359.1173>
9. Novel approach of phenazine derivatives isolation from *Pseudomonas* culture medium / M. A. Shapira, K. G. Verameyenko, K. V. Liavonchik [et al.] // *Process Biochemistry*. – 2021. – Vol. 111, N 2. – P. 325–331. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2021.11.004>
10. The Cytotoxic Activity of Phenazine Compounds from *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* against the HeLa Cell Line / A. A. Zhyzneyskaya, A. A. Lukashevich, N. P. Maksimova, E. G. Veremeenko // *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*. – 2023. – Vol. 38, N 4. – P. 215–221. <https://doi.org/10.3103/S0891416823040079>
11. Statistical Approach to Protein Quantification / S. Gerster, T. Kwon, C. Ludwig [et al.] // *Molecular and Cellular Proteomics*. – 2014. – Vol. 13, N 2. – P. 666–677. <https://doi.org/10.1074/mcp.m112.025445>
12. Protein measurement with the folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, R. J. Randall // *Journal of Biological Chemistry*. – 1951. – Vol. 193, N 1. – P. 265–275. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)52451-6)
13. Expression stability of 13 housekeeping genes during carbon starvation of *Pseudomonas aeruginosa* / B. Alqarni, B. Colley, J. Klebensberger [et al.] // *Journal of Microbiological Methods*. – 2016. – Vol. 127. – P. 182–187. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2016.06.008>
14. Highly expressed RPLP2 inhibits ferroptosis to promote hepatocellular carcinoma progression and predicts poor prognosis / J. Guo, M. Huang, S. Deng [et al.] // *Cancer Cell International*. – 2023. – Vol. 23, N 1. – Art. 278. <https://doi.org/10.1186/s12935-023-03140-0>
15. RPLP2 activates TLR4 in an autocrine manner and promotes HIF-1 α -induced metabolic reprogramming in hepatocellular carcinoma / Q. Yang, X. Meng, J. Chen [et al.] // *Cell Death Discovery*. – 2023. – Vol. 9, N 1. – Art. 440. <https://doi.org/10.1038/s41420-023-01719-0>
16. Expression of the ribosomal proteins Rplp0, Rplp1, and Rplp2 in gynecologic tumors / A. Artero-Castro, J. Castellvi, A. García [et al.] // *Human Pathology*. – 2011. – Vol. 42, N 2. – P. 194–203. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2010.04.020>
17. Ribosomal protein RPL5 regulates colon cancer cell proliferation and migration through MAPK/ERK signaling pathway / H. Zhang, J. Liu, Q. Dang [et al.] // *BMC Molecular and Cell Biology*. – 2022. – Vol. 23, N 1. – Art. 48. <https://doi.org/10.1186/s12860-022-00448-z>
18. Ribosomal proteins in hepatocellular carcinoma: mysterious but promising / Q. Su, H. Sun, L. Mei [et al.] // *Cell and Bioscience*. – 2024. – Vol. 14. – Art. 133. <https://doi.org/10.1186/s13578-024-01316-3>
19. Targeting RPL23 restores chemosensitivity of cisplatin-resistant ovarian carcinoma by inhibiting EMT / Y. Liu, S. Lai, J. He [et al.] // *Cytotechnology*. – 2022. – Vol. 74, N 3. – P. 421–432. <https://doi.org/10.1007/s10616-022-00535-1>

20. Price-Whelan, A. Rethinking ‘secondary’ metabolism: physiological roles for phenazine antibiotics / A. Price-Whelan, L. E. Dietrich, D. K. Newman // *Nature Chemical Biology*. – 2006. – Vol. 2. – P. 71–78. <https://doi.org/10.1038/nchembio764>

References

1. Chen F., Chandrashekar D. S., Varambally S., Creighton C. J. A Pan-cancer molecular subtypes revealed by mass-spectrometry-based proteomic characterization of more than 500 human cancers. *Nature Communications*, 2019, vol. 10, art. 5679. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13528-0>
2. Enroth S., Berggrund M., Lycke M., Broberg J., Lundberg M., Assarsson E., Olovsson M., Stålborg K., Sundfeldt K., Gyllensten U. High throughput proteomics identifies a high-accuracy 11 plasma protein biomarker signature for ovarian cancer. *Communications Biology*, 2019, vol. 2, art. 221. <https://doi.org/10.1038/s42003-019-0464-9>
3. Kwon Y. W., Jo H. S., Bae S., Seo Y., Song P., Song M., Yoon J. H. Application of Proteomics in Cancer: Recent Trends and Approaches for Biomarkers Discovery. *Frontiers in Medicine*, 2021, vol. 8, pp. 747–760. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.747333>
4. Gheybi E., Hosseinzadeh P., Tayebi-Khorrami V., Rostami M., Soukhtanloo M. Proteomics in decoding cancer: A review. *Clinica Chimica Acta*, 2025, vol. 574, art. 120132. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2025.120302>
5. Nisa K. U., Tarfeen N., Wani S., Nisa Q., Ali Sh., Wali A. F. Proteomic approaches in the study of cancers. *Proteomics. A Promising Approach for Cancer Research*. San Diego, 2023, ch. 8, pp. 205–217. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-95072-5.00002-x>
6. Lv D., Li D., Cai Y., Guo J., Chu S., Yu J., Liu K., Jiang T., Ding N., Jin X., Li Y., Xu J. CancerProteome: a resource to functionally decipher the proteome landscape in cancer. *Nucleic Acids Research*, 2024, vol. 52, no. D1. pp. D1155–D1162. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad824>
7. Giurini E. F., Godla A., Gupta K. H. Redefining bioactive small molecules from microbial metabolites as revolutionary anticancer agents. *Cancer Gene Therapy*, 2024, vol. 31, no. 2, pp. 187–206. <https://doi.org/10.1038/s41417-023-00715-x>
8. Mohamed A. N., Mohamed A. K. S. H., Zahran A. M., Gad A. M., Mekky A. E. Antimicrobial, anti-inflammatory, anticancer and antiviral activity of bioactive compounds from *Pseudomonas aeruginosa* isolated from Mediterranean Sea, Alexandria, Egypt. *Microbial Biosystems*, 2025, vol. 10, no. 1, pp. 123–134. <https://doi.org/10.21608/mb.2025.322359.1173>
9. Shapira M. A., Verameyenka K. G., Liavonchyk K. V., Dobysh A. A., Yantsevich A. V., Maksimova N. P. Novel approach of phenazine derivatives isolation from *Pseudomonas* culture medium. *Process Biochemistry*, 2021, vol. 111, no. 2, pp. 325–331. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2021.11.004>
10. Zhyzneyskaya A. A., Lukashovich A. A., Maksimova N. P., Veremeenko E. G. The Cytotoxic Activity of Phenazine Compounds from *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* against the HeLa Cell Line. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*, 2023, vol. 38, no. 4, pp. 215–221. <https://doi.org/10.3103/S0891416823040079>
11. Gerster S., Kwon T., Ludwig C., Matondo M., Vogel C., Marcotte E. M., Aebersold R., Bühlmann P. Statistical Approach to Protein Quantification. *Molecular and Cellular Proteomics*, 2014, vol. 13, no. 2, pp. 666–677. <https://doi.org/10.1074/mcp.m112.025445>
12. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 1951, vol. 193, no. 1, pp. 265–275. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)52451-6)
13. Alqarni B., Colley B., Klebensberger J., McDougald D., Rice S. A. Expression stability of 13 housekeeping genes during carbon starvation of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Microbiological Methods*, 2016, vol. 127, pp. 182–187. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2016.06.008>
14. Guo J., Huang M., Deng S., Wang H., Wang Z., Yan B. Highly expressed RPLP2 inhibits ferroptosis to promote hepatocellular carcinoma progression and predicts poor prognosis. *Cancer Cell International*, 2023, vol. 23, no. 1, art. 278. <https://doi.org/10.1186/s12935-023-03140-0>
15. Yang Q., Meng X., Chen J., Li X., Huang Y., Xiao X., Li R., Wu X. RPLP2 activates TLR4 in an autocrine manner and promotes HIF-1 α -induced metabolic reprogramming in hepatocellular carcinoma. *Cell Death Discovery*, 2023, vol. 9, no. 1, art. 440. <https://doi.org/10.1038/s41420-023-01719-0>
16. Artero-Castro A., Castellvi J., García A., Hernández J., Ramón y Cajal S., LLeonart M. E. Expression of the ribosomal proteins Rplp0, Rplp1, and Rplp2 in gynecologic tumors. *Human Pathology*, 2011, vol. 42, no. 2, pp. 194–203. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2010.04.020>
17. Zhang H., Liu J., Dang Q., Wang X., Chen J., Lin X., Yang N., Du J., Shi H., Liu Y., Han J. Ribosomal protein RPL5 regulates colon cancer cell proliferation and migration through MAPK/ERK signaling pathway. *BMC Molecular and Cell Biology*, 2022, vol. 23, no. 1, art. 48. <https://doi.org/10.1186/s12860-022-00448-z>
18. Su Q., Sun H., Mei L., Yan Y., Ji H., Chang L., Wang L. Ribosomal proteins in hepatocellular carcinoma: mysterious but promising. *Cell and Bioscience*, 2024, vol. 14, art. 133. <https://doi.org/10.1186/s13578-024-01316-3>
19. Liu Y., Lai S., He J., Wan J., Fu F., Jinlong Y. Targeting RPL23 restores chemosensitivity of cisplatin-resistant ovarian carcinoma by inhibiting EMT. *Cytotechnology*, 2022, vol. 74, no. 3, pp. 421–432. <https://doi.org/10.1007/s10616-022-00535-1>
20. Price-Whelan A., Dietrich L. E., Newman D. K. Rethinking ‘secondary’ metabolism: physiological roles for phenazine antibiotics. *Nature Chemical Biology*, 2006, vol. 2, pp. 71–78. <https://doi.org/10.1038/nchembio764>

Информация об авторах

Веремеенко Екатерина Геннадьевна – канд. биол. наук, доцент. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: veremeenkoKatya@yandex.ru

Сяну Ли – аспирант. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: lixiangpu3@gmail.com

Жизневская Анастасия Анатольевна – выпускник кафедры генетики. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: anastasia.zhyzneyskaya@gmail.com

Покрова Екатерина Сергеевна – выпускник кафедры генетики. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: ekaterinapokrova01@gmail.com

Зинкевич Алина Геннадьевна – выпускник кафедры генетики. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: zinkevicalina02@gmail.com

Шапиро Михаил Анатольевич – науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Академика Купревича, 5/2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: shapiromihailanatolevich@gmail.com

Максимова Наталья Павловна – д-р биол. наук, профессор, профессор кафедры генетики. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: nataliamaximova@yahoo.com

Information about the authors

Katsiaryna G. Verameyenka – Ph. D. (Biol.), Associate Professor. Belarusian State University (4, Nezavisimosty Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: veremeenkoKatya@yandex.ru

Xiangpu Li – Postgraduate Student. Belarusian State University (4, Nezavisimosty Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: lixiangpu3@gmail.com

Anastasia A. Zhiznevskaya – Graduate of the Department of Genetics. Belarusian State University (4, Nezavisimosty Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: anastasia.zhyzneyskaya@gmail.com

Ekaterina S. Pokrova – Graduate of the Department of Genetics. Belarusian State University (4, Nezavisimosty Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ekaterinapokrova01@gmail.com

Alina G. Zinkevich – Graduate of the Department of Genetics. Belarusian State University (4, Nezavisimosty Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: zinkevicalina02@gmail.com

Mikhail A. Shapiro – Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Academician Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: shapiromihailanatolevich@gmail.com

Natalia P. Maximova – D. Sc. (Biol.), Professor, Professor of the Department of Genetics, Belarusian State University (4, Nezavisimosty Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: nataliamaximova@yahoo.com