

НІЩЕНКО Д. О.^{1, 2✉}, АНТОНЕНКО С. В.¹, ГУР'ЯНОВ Д. С.¹, ТЕЛЕГЄЄВ Г. Д.¹¹ Інститут молекулярної біології і генетики НАН України,

Україна, 03143, м. Київ, вул. Академіка Заболотного, 150, ORCID: 0000-0003-0212-3779, 0000-0003-0594-2286, 0000-0003-0270-4397

² Київський національний університет імені Тараса Шевченка,

Україна, 01601, м. Київ, вул. Володимирська, 64/13, ORCID: 0009-0007-2617-8826

✉ nishchenkodaria@gmail.com

ОСОБЛИВОСТІ ЕКСПРЕСІЇ ТА ЛОКАЛІЗАЦІЇ USP1 ПРИ РІЗНИХ ТИПАХ ЗЛОЯКІСНИХ НОВОУТВОРЕНЬ

Мета. Злоякісні новоутворення – значна проблема медицини, вирішення якої вимагає глибокого розуміння молекулярних механізмів, що лежать в основі патогенезу. Це дослідження мало на меті вивчити профіль експресії та субклітинну локалізацію убіквітин-специфічної протеази 1 (USP1) при різних видах раку. **Методи.** Використовуючи базу даних TCGA, проведено аналіз експресії USP1 у різних типах раку. Для визначення субклітинної локалізації USP1 у хронічній мієлоїдній лейкемії (ХМЛ) і клітинах раку передміхурової залози використовувалися імунофлуоресцентний аналіз з конфокальною мікроскопією. **Результати.** Біоінформатичний аналіз показав неоднорідність експресії USP1, її збільшення при гострому мієлоїдному лейкозі, карциномі стравоходу і мультиформній гліобластомі. Імунофлуоресцентний аналіз підтвердив ядерну локалізацію USP1 у клітинах ХМЛ, а також показав, що інгібування взаємодії USP1 з UAF1 за допомогою сполуки ML323 призводить до порушення транспорту USP1 до ядра. У клітинах раку простати спостерігалася ядерна і не характерна цитоплазматична локалізація USP1, що може свідчити про зміни в його експресії, взаємодії з UAF1 та порушеннях сигнальних шляхів. **Висновки.** USP1 має багатогранну роль у ракових процесах, а порушення регуляції його експресії та локалізації пов'язані з пухлинотенезом. Націлювання на USP1 має терапевтичний потенціал для лікування раку.

Ключові слова: USP1, кофактор UAF1, ХМЛ, рак передміхурової залози, експресія USP1, субклітинна локалізація USP1, пухлинотенез.

Злоякісні новоутворення, що охоплюють різноманітний спектр ракових захворювань,

становлять серйозні проблеми в сучасній онкології. Розуміння молекулярних тонкощів, що лежать в основі їх патогенезу, має першочергове значення для розробки ефективних терапевтичних заходів. Серед безлічі факторів, пов'язаних з прогресуванням раку, убіквітин-специфічна протеаза 1 (USP1) виступає як важливий гравець, демонструючи багатогранну роль у різних злоякісних пухлинах [1–3].

Належачи до великого і різноманітного сімейства деубіквітинуючих ферментів (DUBs), USP1 відомий своїми багатогранними функціями у підтримці цілісності геному та організації клітинних процесів, вирішальних для пухлинотенезу. Локалізація USP1 у смузї р31.3-р32.1 хромосоми 1 (рис. 1 А), була визначена під час проекту «Геном людини» у 1998 році. Структурно USP1 складається з 785 амінокислотних залишків, що містять каталітичний домен, який характеризується багатьма консервативними мотивами. Вони включають і каталітичну тріаду залишків С90, Н593 і D751, які утворюють ферментативне ядро активності DUB. Варто зазначити, що каталітичний домен USP1 виділяється як один із найбільших у сімействі USP та містить додаткові вставки, які моделюють його активність і регуляцію [4]. Перша вставка (L1) в амінокислотних залишках 227-433 посилює активність USP1 шляхом зв'язування з ДНК і алостеричної активації при взаємодії з кофактором UAF1. І навпаки, друга вставка (L2), що охоплює залишки 602-744, містить сайт авторозщеплення, який регулює функцію USP1. Скоординована взаємодія між цими вставками, зокрема L1 і L3, керує автоінгібуванням і активацією USP1, при цьому мутації в цих областях впливають на ферментативну активність.

© НІЩЕНКО Д. О., АНТОНЕНКО С. В., ГУР'ЯНОВ Д. С., ТЕЛЕГЄЄВ Г. Д.

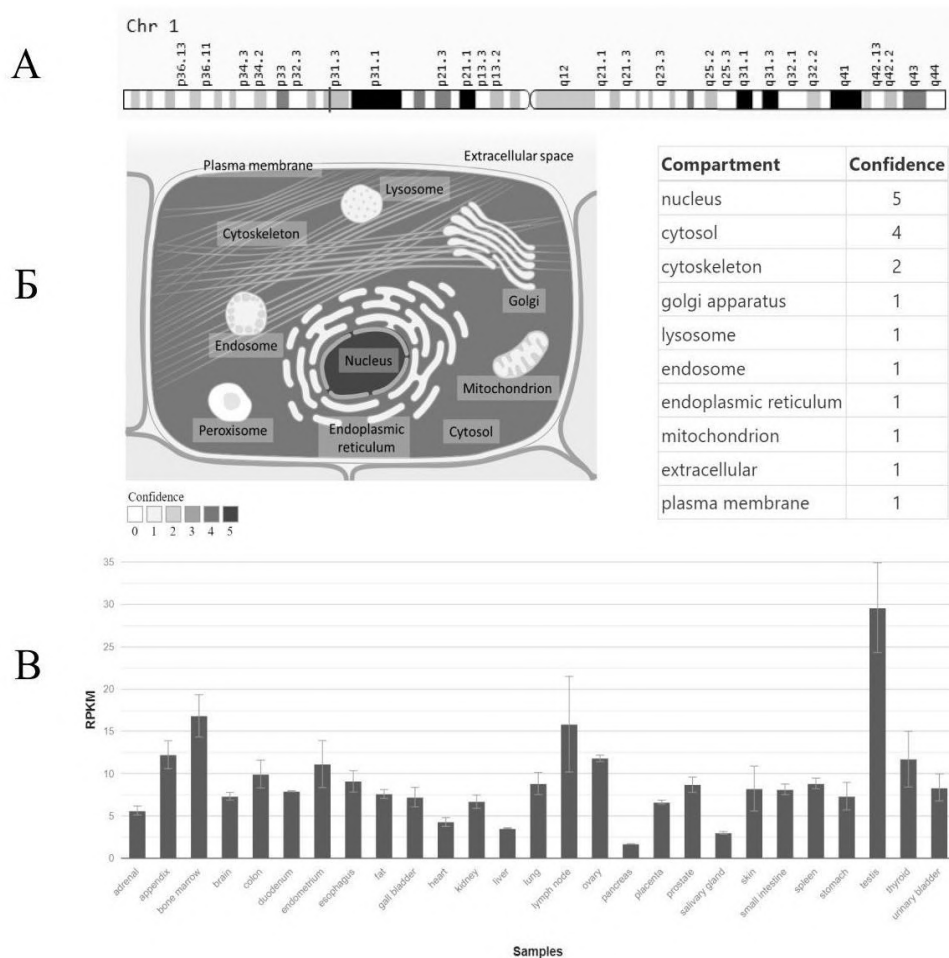


Рис. 1. Субклітинна локалізація та експресія гену *USP1* у тканинах людини. (А) Ген *USP1* розташований на хромосомі 1p31.3 згідно з онлайн-базою даних GeneCard. (Б) Експресія *USP1* найбільше зосереджена в ядрі та плазматичній мембрані за даними бази GeneCards. (В) Рівень експресії *USP1* у нормальних тканинах людини за даними з баз даних Національного Центру Біотехнологічної Інформації, США (National Center for Biotechnology Information).

Функціональна значущість *USP1* виходить за рамки його каталітичної активності, з'являються нові докази, які вказують на його роль у різних клітинних процесах, критичних для пухлиногенезу [1, 5–6]. Спочатку охарактеризована в анемії Фанконі як ключовий регулятор цілісності геному через деубіквітування *FANCD2*, участь *USP1* у прогресії вилки реплікації ДНК підкреслює його значення для підтримки геномної стабільності. ДНК-залежна металопротеаза *Spartan* опосередковує видалення *USP1* з ДНК, підкреслюючи складні регуляторні механізми, що керують функцією *USP1*. Крім того, участь *USP1* у дуплікації центросом підкреслює його ключову роль у забезпеченні точної сегрегації хромосом і стабільності геному [2]. Порушення регуляції активності *USP1* завершується утворенням аберантного мітотич-

ного веретена та хромосомною нестабільністю, сприяючи анеуплоїдії і створюючи сприятливе середовище для онкогенної трансформації.

Окрім своїх канонічних ролей у відновленні ДНК і регуляції клітинного циклу, *USP1* широко представлений у клітинах більшості тканин (рис. 1 Б, В) та бере участь у різноманітних клітинних процесах, включаючи деградацію білка, локалізацію й модуляцію сигнальних шляхів, важливих для клітинного гомеостазу [3]. Динамічна взаємодія між *USP1* і його клітинними субстратами підкреслює його значення в біології раку, пропонуючи потенційні шляхи для терапевтичного втручання.

Матеріали і методи

Клітинні лінії. Іморталізована лінія мієлоїдних клітин людини K562 отримана з банку

клітин Інституту експериментальної патології, онкології та радіобіології імені Кавецького Р. Е. НАН України. Ці клітини були отримані від пацієнта з хронічним мієлоїдним лейкозом (ХМЛ) під час стадії бластної кризи. K562 характеризуються наявністю філадельфійської хромосоми (Ph+) і додаткової перебудови t(15;17). У цьому дослідженні також використовували клітини DU145, лінію клітин раку простати людини. Ці клітини були люб'язно надані проф. Дубровською А. М., OncoRay Національного центру радіаційних досліджень в онкології (м. Дрезден, Німеччина).

Культура клітин. Клітини K562 і DU145 культивували в середовищі RPMI 1640 (Sigma, США) з додаванням 10 % ембріональної сироватки великої рогатої худоби (Sigma, США), пеніциліну (50 од/мл) і стрептоміцину (100 мкг/мл). Культури витримували у зволоженій атмосфері з 5 % CO₂ при температурі +37°C. При досягненні клітинами 70–80 % конфлюентності їх переспівали у розведенні 1/10.

Імунофлуоресцентний аналіз та отримання мікропрепаратів. Клітини K562 відбирали шляхом центрифугування 1,5–2 хв при 2000 об./хв. Надосад видалляли, а клітини промивали буфером PBS (140 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 10 mM Na₂HPO₄, 1,8 mM KH₂PO₄). Клітини DU145 вирощували на попередньо підготовленому покривному склі, поживне середовище відбирали та промивали буфером PBS. Клітини K562 і DU145 фіксували за допомогою 4 % розчину формальдегіду з 0,2 % Triton X-100 в буфері при кімнатній температурі протягом 15–20 хв. Від залишків формальдегіду клітини три рази відмивали PBS і протягом 1 год блокували клітини від неспецифічного зв'язування антитіл за допомогою розчину BSA. Після цього клітини протягом 1 год інкубували з первинними антитілами anti-USP1 (PA5-55852, ThermoFisher Scientific, США), а потім 1 год інкубували із вторинними антитілами anti-rabbit, DyLight550 (SB245608, ThermoFisher Scientific, США). Ядра клітин фарбували за допомогою DAPI (ThermoFisher Scientific, США) впродовж 2 хв. Препарат на скельцях полімеризували з використанням CitiFluor™ AF1, Mounting Medium (Science Services, Німеччина).

Конфокальна мікроскопія. Мікропрепарати вивчали за допомогою лазерного скануючого конфокального мікроскопу Zeiss LSM 510 Meta (Німеччина), з масляним об'єктивом 100 x 1.25 N.A і програмою «LSM Browser».

Біоінформатичний аналіз. Визначення відмінностей експресії генів між пухлиною і нормою (TIMER; <http://timer.comp-genomics.org/timer/#>). Експресію USP1 аналізували за допомогою бази даних TIMER, комплексного ресурсу для систематичного аналізу імунних інфільтратів у різних типах раку. Він надає дані про кількість імунних інфільтратів, оцінені кількома методами деконволюції імунної системи, що дозволяє користувачам всебічно досліджувати імунологічні, клінічні й геномні особливості пухлини.

Результати та обговорення

Біоінформатичний аналіз. Щоб отримати уявлення про профіль експресії USP1 у різних видах раку, ми провели аналіз, використовуючи дані з бази даних The Cancer Genome Atlas (TCGA). Наше дослідження мало на меті з'ясувати потенційну роль USP1 у пухлиногенезі та його зв'язок із різними типами раку.

Результати нашого аналізу показали неоднорідні моделі експресії USP1 у різних типах раку. У більшості видів раку USP1 продемонстрував значну активацію порівняно з нормальними тканинами. До них належать аденокарцинома сечового міхура, інвазивна карцинома молочної залози, плоскоклітинний рак шийки матки та ендодерміальна аденокарцинома, холангіокарцинома, аденокарцинома товстої кишки, карцинома стравоходу, мультиформна гліобластома, плоскоклітинна карцинома голови та шиї, гострий мієлоїдний лейкоз, гліома головного мозку низького ступеня злоякісності, гепатоцелюлярна карцинома, аденокарцинома легенів, плоскоклітинний рак легенів, аденокарцинома підшлункової залози, феохромоцитома і парагангліома й аденокарцинома шлунка. Ці висновки узгоджуються з нашими попередніми дослідженнями, які свідчать про потенційну онкогенну роль USP1 у стимулюванні клітинної проліферації та пухлиноутворення.

Хоча ми також спостерігали зниження експресії USP1 у деяких видах раку, включаючи хромофобну карциному нирки, карциному щитовидної залози і карциному ендометрія. Це парадоксальне зниження регуляції свідчить про потенційну пухлино-супресивну роль USP1 у цих типах раку. Диференціальна експресія USP1 у різних видах раку підкреслює його контекстно-залежну функцію і складність його ролі в біології раку.

Крім того, при деяких видах раку, таких як аденокарцинома прямої кишки, експресія USP1 залишалася незмінною порівняно з нормальними тканинами. Це свідчить про те, що роль USP1 у прогресуванні раку може залежати від специфічного мікрооточення і молекулярного контексту кожного типу раку.

Наші висновки свідчать про те, що хоча USP1 може проявляти онкогенні функції переважно серед більшості видів раку, його роль як онкогену або фактора пригнічення пухлини залежить від багатьох факторів, включаючи мікрооточення раку і молекулярні взаємодії. Таким чином, необхідне подальше дослідження специфічних молекулярних механізмів і подальших мішеней USP1 при різних типах раку,

щоб з'ясувати його точну роль у прогресуванні раку.

Особливості локалізації білка USP1 у клітинах ХМЛ. Ключовим фактором при оцінці функцій білків є їх субклітинна локалізація, яка забезпечує виконання цілого комплексу складно пов'язаних процесів, білок-білкових взаємодій, функціонування компартментів та їх взаємозв'язків, дозволяє ефективно реагувати на зміни внутрішніх і зовнішніх умов. Порушення локалізації білка впливає на його каталітичну активність, функціонування, низхідні сигнальні шляхи, що створює передумови для розвитку запальних і нейродегенеративних захворювань, а також злоякісних новоутворень.

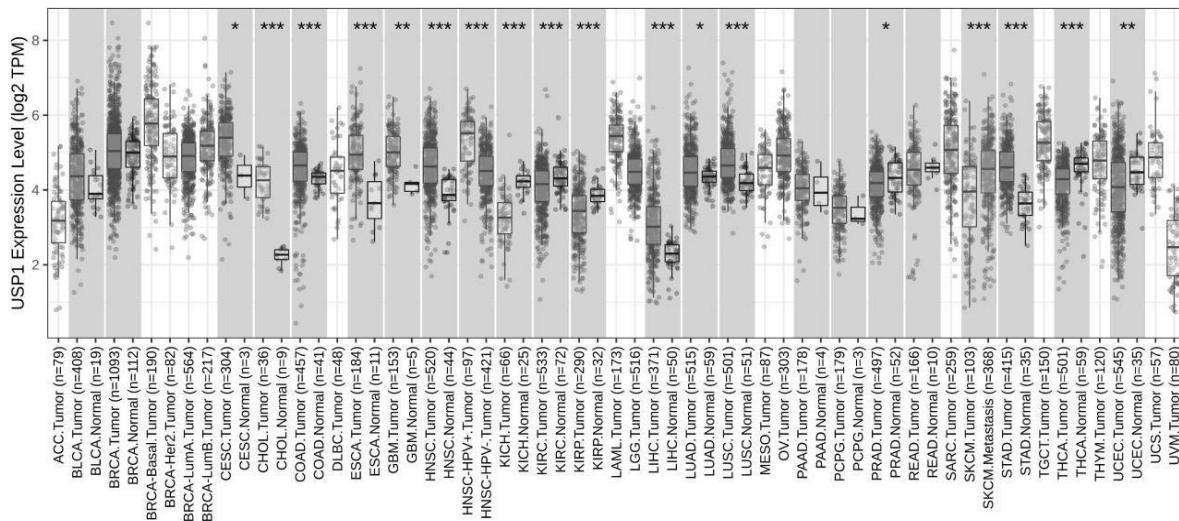


Рис. 2. Експресія USP1 у різних видах раку з TCGA: діаграми, що відображають кількість стенограм \log_2 на мільйон, експресія \log_2 (TPM) USP1 у різних видах раку. Червоні, сині та фіолетові смуги вказують на експресію USP1 у нормальних, пухлинних і метастатичних тканинах відповідно. Значна різниця між експресією USP1 між пухлиною та нормальними тканинами або між підтипами пухлини розраховується за допомогою критерію Вілкоксона, а рівень значущості позначається кількістю зірочок у верхній частині прямокутних графіків (*: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$). Пухлини без відповідних нормальних тканин відображаються білими стовпцями. До аналізу включені аденокортикальна карцинома (ACC), уротеліальна карцинома сечового міхура (BLCA), інвазивна карцинома молочної залози (BRCA), плоскоклітинний рак шийки матки та ендокервікальна аденокарцинома (CESC), холангіокарцинома (CHOL), аденокарцинома товстої кишки (COAD), дифузна лімфоїдна неоплазма великоклітинна В-клітинна лімфома (DLBCL), карцинома стравоходу (ESCA), мультиформна гліобластома (GBM), плоскоклітинна карцинома голови й шиї (HNSC), хромофобна клітинна карцинома нирки (KICH), світлоклітинна карцинома нирки (KIRC), ниркова папілярно-клітинна карцинома (KIRP), гостра мієлоїдна лейкемія (LAML), гліома мозку нижчого ступеня злоякісності (LGG), гепатоцелюлярна карцинома печінки (LIHC), аденокарцинома легенів (LUAD), плоскоклітинний рак легенів (LUSC), мезотеліома (MESO), серозна цистаденокарцинома яєчників (OV), аденокарцинома підшлункової залози (PAAD), феохромоцитома та парагангліома (PCPG), аденокарцинома простати (PRAD), аденокарцинома прямої кишки (READ), саркома (SARC), меланома шкіри (SKCM), аденокарцинома шлунка (STAD), герміногенні пухлини яєчка (TGCT), рак щитоподібної залози (THCA), тимома (THYM), рак ендометрія (UCEC), карциносаркома матки (UCS) і меланома сітківки ока (UVM).

За допомогою імунофлуоресцентного аналізу з подальшою конфокальною мікроскопією ми показали, що у клітинах ХМЛ білок USP1 має характерну для нього ядерну локалізацію (рис. 3). Вважається, що ядерна локалізація USP1 забезпечується шляхом наявності трьох сигналів ядерної локалізації (NLS), які характерні для цього білка.

Перша NLS послідовність знаходиться у межах 14–37 амінокислотних залишків та забезпечує слабкий рівномірний розподіл USP1 в ядрі та цитоплазмі. Друга NLS послідовність в межах 266–287 амінокислотних залишків і третя у межах 298–321 амінокислотних залишків забезпечують переміщення до ядра, проте третя послідовність має дещо слабший сигнал [7–8]. Крім того відомо, що в межах 141–159 амінокислотних залишків на білкові знаходиться сигнал ядерного експорту (NES), який можливо спрямовує USP1 з клітинного ядра до цитоплазми через комплекс ядерних пор [9]. Функціональна активність USP1 різко збільшується за участі кофактора USP1-асоційованого білка 1 (UAF1), також відомого як білок 48, або WDR48. Утворення білкового комплексу передбачає спільну субклітинну локалізацію білків партнерів, проте, USP1 належить до ядерних білків, у той час як UAF1 локалізується переважно в цитоплазмі. Припускається, що комплекс USP1/UAF1 утворюється у цитоплазмі й згодом імпортується до ядра за рахунок NLS ділянки USP1 білка [10]. У своїй роботі ми використали високоспецифічний інгібітор ML323, який порушує утворення білкового комплексу USP1/UAF1. Показано, що

під впливом інгібітора ML323 білок USP1 має виключно цитоплазматичну локалізацію. Таким чином, у клітинах ХМЛ до ядра експортується лише активна форма USP1 у комплексі із кофактором UAF1.

Локалізації білка USP1 у клітинах раку передміхурової залози. Для аналізу локалізації білка USP1 у клітинах раку передміхурової залози було обрано клітинні лінії DU145. За результатами імунофлуоресцентного аналізу з подальшою конфокальною мікроскопією встановлено, що у клітинах DU145 локалізація USP1 не обмежується винятково ядерною. Показано, що для деяких клітин DU145 характерним є як ядерна, так і цитоплазматична локалізація білка USP1 (рис. 4). Незважаючи на те що ядерна локалізація залишається переважаючою, виявлені сигнали цитоплазматичного розташування можуть свідчити про гіперекспресію USP1, зміну сигнальних шляхів, зокрема взаємодію з кофактором UAF1, мутаційними змінами у сигналах ядерної локалізації чи сигнал ядерного експорту тощо. Таким чином, зміни у локалізації білка USP1 можуть супроводжуватися зміною білок-білкових взаємодій, порушенням низхідних шляхів, фізіологічного функціонування компартментів та їх взаємозв'язків, гомеостазу клітини та сприяти розвитку злоякісних новоутворень. Детальне вивчення причин змін субклітинної локалізації USP1 при раку передміхурової залози може допомогти краще зрозуміти молекулярно-генетичні механізми розвитку захворювання та наблизити до розробки нових ефективних підходів до терапії.

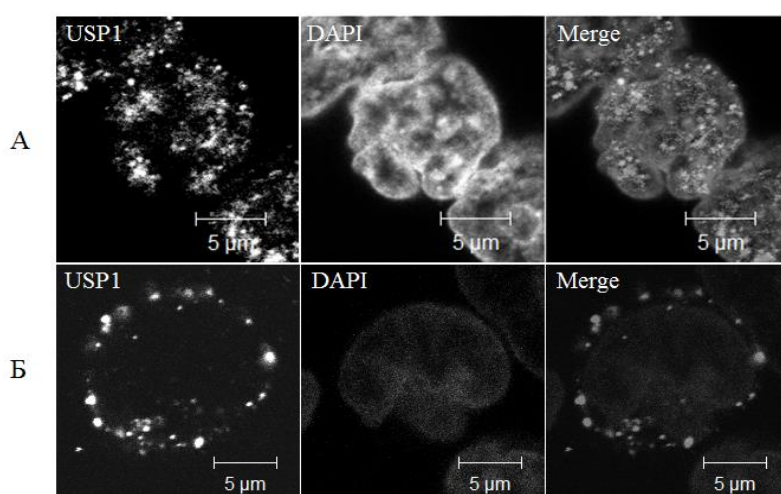


Рис. 3. Імунофлуоресцентний аналіз, субклітинна локалізація USP1 до (А) та після дії інгібітора ML323 (Б) у клітинах K562. Підтверджено характерну для білка USP1 ядерну локалізацію та показано зміну ядерної локалізації на цитоплазматичну під впливом інгібітора ML323, який порушує утворення білкового комплексу USP1/UAF1.

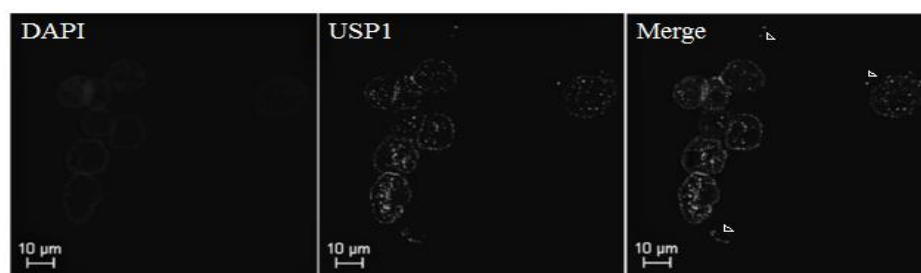


Рис. 4. Імунофлуоресцентний аналіз, субклітинна локалізація USP1 у клітинах DU145. Виявлено ядерну та цитоплазматичну локалізацію USP1.

Висновки

Білок USP1 має широкий спектр білкових субстратів, бере участь у забезпеченні генетичної стабільності, гомеостазу клітини, є компонентом репараційної системи ДНК, а дерегуляція його експресії та деубіквітинуючої активності пов'язані із розвитком злоякісних новоутворень. Біоінформатичний аналіз експресії USP1 за допомогою бази даних TIMER показав значну активацію порівняно з нормальними тканинами при гострому мієлоїдному лейкозі, ендцервікальній аденокарциномі, холангіокарциномі, інвазивній карциномі молочної залози та плоскоклітинному раку шийки матки. Хоча також було виявлено зниження експресії USP1 у зразках пухлин хромофобної карциноми нирки, карциноми щитоподібної залози й раку ендометрія.

Підтверджено ядерну локалізацію для білка USP1 у клітинах ХМЛ. Встановлено, що під впливом інгібітора ML323 білок USP1 змінює ядерну локалізацію на цитоплазматичну у клітинах ХМЛ. Отримані дані свідчать, що утворення білкового комплексу USP1/UAF1 є критичною подією для ядерного транспорту USP1.

Таким чином, ми припускаємо, що до ядра може потрапити лише активована форма білка USP1, зокрема за рахунок кофактора UAF1. Показано, що у клітинах раку передміхурової залози, USP1 попри найпоширенішу ядерну локалізацію зустрічається також і у цитоплазмі клітини, що є не характерним для цього білка. Ми вважаємо, що зміни у локалізації USP1 можуть свідчити про його гіперекспресію, мутаційну мінливість зокрема у сигналах ядерної локалізації чи сигнал ядерного експорту, зміну сигнальних шляхів у клітині тощо. І як наслідок порушення генетичної стабільності, протеосомної системи деградації, гомеостазу клітини та сприяти та розвитку злоякісних новоутворень. Більш глибоке вивчення сигнальних шляхів за участю білка USP1, механізмів протеосомної деградації його білків субстратів та його участь у забезпеченні генетичної стабільності клітини, може сприяти розумінню молекулярних механізмів розвитку злоякісних новоутворень, а інгібітори USP1 представляють клас сполук з потенційним терапевтичним застосуванням при ХМЛ і раку передміхурової залози.

References

1. Simoneau A., Engel J. L., Bandi M., Lazarides K., Liu S., Meier S. R., Choi A. H., Zhang H., Shen B., Martires L., Gotur D., Pham T. V., Li F., Gu L., Gong S., Zhang M., Wilker E., Pan X., Whittington D. A., Throner S., Maxwell J. P., Chen Y., Yu Y., Huang A., Andersen J. N., Feng T. Ubiquitinated PCNA Drives USP1 Synthetic Lethality in Cancer. *Mol. Cancer Ther.* 2023. Vol. 22 (2). P. 215–226. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-22-0409.
2. Coleman K. E., Yin Y., Lui S. K. L., Keegan S., Fenyó D., Smith D. J., Rothenberg E., Huang T. T. USP1-trapping lesions as a source of DNA replication stress and genomic instability. *Nat. Commun.* 2022. Vol. 13 (1). doi: 10.1038/s41467-022-29369-3.
3. Omilusik K. D., Nadjombati M. S., Yoshida T. M., Shaw L. A., Goulding J., Goldrath A. W. Ubiquitin Specific Protease 1 Expression and Function in T Cell Immunity. *J. Immunol.* 2021. Vol. 207 (5). P. 1377–1387. doi: 10.4049/jimmunol.2100303.
4. Antonenko S. V. Modeling the level of Bcr-Abl oncoprotein in K562 cells by inhibiting USP1 deubiquitinase. *Eur. J. Clin. Oncol.* 2022. Vol. 4 (1). Retrieved from: <https://www.iomcworld.org/articles/modeling-the-level-of-bcrabl-oncoprotein-in-k562-cells-by-inhibiting-usp1-deubiquitinase.pdf>.
5. Antonenko S. V., Gurianov D. S., Kravchuk I. V., Dybkov M. V., Shvachko L. P., Telegeev G. D. Role of BCR and FNBP1 Proteins in Phagocytosis as a Model of Membrane Rearrangements with Chronic Myelogenous Leukemia. *Cytol. Genet.* 2023. Vol. 57. P. 291–297. doi: 10.3103/S0095452723040023.
6. Antonenko S. V., Telegeev G. D. Inhibition of USP1, a new partner of Bcr-Abl, results in decrease of Bcr-Abl level in K562 cells. *Exp. Oncol.* 2020. Vol. 42 (2). P. 109–114. doi: 10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-42-no-2.14533.
7. Antonenko S. V., Gurianov D. S., Telegeev G. D. Colocalization of USP1 and PH domain of Bcr-Abl oncoprotein in terms of chronic myeloid leukemia cell rearrangements. *Cytol. Genet.* 2016. Vol. 50 (4). P. 11–15. doi: 10.3103/S0095452716050029.

8. Garcia-Santisteban I., Zorroza K., Rodriguez J. A. Two nuclear localization signals in USP1 mediate nuclear import of the USP1/UAF1 complex. *PLoS One*. 2012. Vol. 7 (6). doi: 10.1371/journal.pone.0038570.
9. Garcia-Santisteban I., Peters G. J., Giovannetti E., Rodriguez J. A. USP1 deubiquitinase: cellular functions, regulatory mechanisms and emerging potential as target in cancer therapy. *Mol. Cancer*. 2013. Vol. 10. doi: 10.1186/1476-4598-12-91.
10. Yu Z., Song H., Jia M., Zhang J., Wang W., Li Q., Zhang L., Zhao W. USP1-UAF1 deubiquitinase complex stabilizes TBK1 and enhances antiviral responses. *J. Exp. Med.* 2017. Vol. 214 (12). P. 3553–3563. doi: 10.1084/jem.20170180.

NISHCHENKO D. O.^{1,2}, ANTONENKO S. V.¹, GURIANOV D. S.¹, TELEGEEV G. D.¹

¹ *Institute of Molecular Biology and Genetics of the NAS of Ukraine, Ukraine, 03143, Kyiv, Zabolotny str., 150*

² *Taras Shevchenko National University of Kyiv, Ukraine, 01601, Kyiv, Volodymyrska str., 64/13*

FEATURES OF USP1 EXPRESSION AND LOCALIZATION IN DIFFERENT TYPES OF MALIGNANT NEOPLASMS

Aim. Malignant neoplasms pose a significant challenge in medicine, requiring a deep understanding of the molecular mechanisms underlying their pathogenesis. This study aimed to investigate the expression profile and subcellular localization of ubiquitin-specific protease 1 (USP1) in various types of cancer. **Methods.** Using the TCGA database, an analysis of USP1 expression was conducted across different cancer types. Immunofluorescence analysis with confocal microscopy was utilized to determine the subcellular localization of USP1 in chronic myeloid leukemia (CML) and prostate cancer cells. **Results.** Bioinformatic analysis revealed heterogeneous USP1 expression, with increased levels observed in acute myeloid leukemia, esophageal carcinoma, and glioblastoma multiforme. Immunofluorescence analysis confirmed nuclear localization of USP1 in CML cells and showed that inhibiting USP1 interaction with UAF1 using ML323 disrupts its transport to the nucleus. Prostate cancer cells exhibited both nuclear and atypical cytoplasmic USP1 localization, suggesting alterations in its expression, interaction with UAF1, and disruption of signaling pathways. **Conclusions.** USP1 plays a multifaceted role in cancer processes, with dysregulation of its expression and localization associated with tumorigenesis. Targeting USP1 holds therapeutic potential for cancer treatment.

Keywords: USP1, UAF1 cofactor, CML, prostate cancer, USP1 expression, USP1 subcellular localization, tumorigenesis.