Bcr-Abl REGULATES USP1 SUBCELLULAR LOCALIZATION THROUGH KINASE-DEPENDENT MECHANISMS IN CHRONIC MYELOID LEUKEMIA

S.V. ANTONENKO *, D.S. GURYANOV, M.G. TESLIUK, G.P. VOLYNETS, G.D. TELEGEEV

Institute of Molecular Biology and Genetics of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine
Zabolotnogo str., 150, 03680, Kyiv, Ukraine

E-mail: antonenkoimbg@gmail.com

Chronic myelogenous leukemia (CML) is driven by the constitutively active Bcr-Abl tyrosine kinase, which persistently remodels intracellular signaling networks through phosphorylation-dependent mechanisms. Although tyrosine kinase inhibitors have significantly improved clinical outcomes, resistance remains a major therapeutic challenge, underscoring the need to define additional regulatory layers of Bcr-Abl signaling. Ubiquitin-specific protease 1 (USP1) is a deubiquitination enzyme that has been identified as one of the Bcr-Abl partner proteins, suggesting a potential functional interaction between the deubiquitination and phosphorylation signaling axes in CML cells. In the present study, we investigated the phosphorylation status of USP1 and evaluated the contribution of Bcr-Abl kinase activity to the regulation of USP1 subcellular localization in K562 cells. Pharmacological inhibition of Bcr-Abl tyrosine kinase activity did not disrupt its colocalization with USP1, indicating that kinase activity is dispensable for complex formation. However, kinase inhibition induced a pronounced redistribution of USP1 from the nucleus to the cytoplasm, suggesting that Bcr-Abl-dependent phosphorylation signaling contributes to the maintenance of USP1 nuclear localization. We assume that activated USP1 may, in turn, facilitate the stabilization of Bcr-Abl, potentially forming a positive feedback mechanism. Importantly, activated USP1 may stabilize Bcr-Abl, supporting the existence of a positive regulatory loop. In this context, Bcr-Abl-dependent signaling maintains USP1 activity or localization, while USP1-mediated deubiquitination enhances Bcr-Abl protein stability. Such reciprocal regulation may sustain oncogenic signaling and promote leukemic progression in CML.

Key words: *chronic myeloid leukemia (CML), Bcr-Abl, USP1, phosphorylation, tyrosine kinase.*

Bcr-Abl РЕГУЛЮЄ СУБКЛІТИННУ ЛОКАЛІЗАЦІЮ USP1 ЧЕРЕЗ КІНАЗОЗАЛЕЖНІ МЕХАНІЗМИ ХРОНІЧНОЇ МІЄЛОЇДНОЇ ЛЕЙКЕМІЇ

Хронічна мієлоїдна лейкемія (ХМЛ) зумовлена постійно активною тирозинкіназою Bcr-Abl, яка наполегливо реорганізує внутрішньоклітинні сигнальні мережі за допомогою механізмів, що залежать від фосфорилювання. Хоча інгібітори тирозинкінази значно поліпшили клінічні результати, резистентність залишається серйозною терапевтичною проблемою, що підкреслює необхідність визначення додаткових рівнів регуляції сигнального шляху Bcr-Abl. Убіквітин-специфічна протеаза 1 (USP1) є ферментом деубіквітинування, який було ідентифіковано як один із партнерських білків Bcr-Abl, що вказує на потенційну функціональну взаємодію між осями сигналізації деубіквітинування та фосфорилювання в клітинах ХМЛ. У цьому дослідженні ми вивчали стан фосфорилювання USP1 та оцінювали внесок активності кінази Bcr-Abl у регуляцію субклітинної локалізації USP1 у клітинах K562. Фармакологічне інгібування активності тирозинкінази Bcr-Abl не порушувало її спільну локалізацію з USP1, що вказує на те, що активність кінази не є необхідною для утворення комплексу. Однак інгібування кінази спричинило виражений перерозподіл USP1 з ядра до цитоплазми, що свідчить про те, що Bcr-Abl-залежний сигнальний шлях фосфорилювання сприяє підтримці ядерної локалізації USP1. Ми припускаємо, що активований USP1, своєю чергою, може сприяти стабілізації Bcr-Abl, потенційно утворюючи механізм позитивного зворотного зв'язку. Важливо, що активований USP1 може стабілізувати Bcr-Abl, підтверджуючи наявність позитивного регуляторного циклу. У цьому контексті Bcr-Abl-залежна сигналізація підтримує активність або локалізацію USP1, тоді як деубіквітинування, опосередковане USP1, підвищує стабільність білка Bcr-Abl. Така взаємна регуляція може підтримувати онкогенну сигналізацію та сприяти прогресуванню лейкемії при ХМЛ.

Ключові слова: хронічна мієлоїдна лейкемія (ХМЛ), Bcr-Abl, USP1, фосфорилювання, тирозинкіназа.

REFERENCES

Antonenko, S., Gurianov, D., and Telegeev, G., Colocalization of USP1 and PH domain of Bcr-Abl oncoprotein in terms of chronic myeloid leukemia cell rearrangements, *Cytol. Genet.*, 2016, vol. 50, pp. 352–356. https://doi.org/10.3103/S0095452716050029

Antonenko, S., Kravchuk, I., and Telegeev, G., Interaction of Bcr-Abl oncoprotein with the GlG1 protein in K562 cells: Its role in the pathogenesis of chronic myeloid leukemia, *Cytol. Genet.*, 2020, vol. 54, no. 1, pp. 48–54. https://doi.org/10.3103/s0095452720010028

© ІНСТИТУТ КЛІТИННОЇ БІОЛОГІЇ ТА ГЕНЕТИЧНОЇ ІНЖЕНЕРІЇ НАН УКРАЇНИ, 2026

Antonenko, S. and Telegeev, G., Inhibition of USP1, a new partner of Bcr-Abl, results in decrease of Bcr-Abl level in K562 cells, *Exp. Oncol.*, 2020, vol. 42, pp. 109–114. https://doi.org/10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-42-no-2.14533

Antonenko, S.V., Gurianov, D.S., Kravchuk, I.V., et al., Role of BCR and FNBP1 proteins in phagocytosis as a model of membrane rearrangements with chronic myelogenous leukemia, *Cytol. Genet.*, 2023, vol. 57, pp. 291–297. https://doi.org/10.3103/S0095452723040023

Arkinson, C., Chaugule, V., Toth, R., and Walden, H., Specificity for deubiquitination of monoubiquitinated FANCD2 is driven by the N-terminus of USP1, *Life Sci. Alliance*, 2018, vol. 1, no. 5, pp. e201800162. https://doi.org/10.26508/lsa.201800162

Bansal, M., and Verma, M., Potential therapeutic targets in chronic myeloid leukemia, *Med. Oncol.*, 2025, vol. 42, pp. 344. https://doi.org/10.1007/s12032-025-02895-y

Bian, S., Ni, W., Zhou, L., et al., Ubiquitin-specific protease 1 facilitates hepatocellular carcinoma progression by modulating mitochondrial fission and metabolic reprogramming via cyclin-dependent kinase 5 stabilization, *Cell Death Differ.*, 2024, vol. 31, pp. 1202–1218. https://doi.org/10.1038/s41418-024-01342-1

Caba, C., Mohammadzadeh, A., and Tong, Y., On the study of deubiquitinases: Using the right tools for the job, *Biomolecules*, 2022, vol. 12, no. 5, pp. 703. https://doi.org/10.3390/biom12050703

Cataldo, F., Peche, L.Y., Klaric, E., et al., CAPNS1 regulates USP1 stability and maintenance of genome integrity, *Mol. Cell. Biol.*, 2013, vol. 33, no. 12, pp. 2485–2496

Cotto-Rios, X.M., Jones, M.J., and Huang, T.T., Insights into phosphorylation-dependent mechanisms regulating USP1 protein stability during the cell cycle, *Cell Cycle*, 2011, vol. 10, no. 23, pp. 4009–4016. https://doi.org/10.4161/cc.10.23.18501

Flis, S. and Chojnacki, T., Chronic myelogenous leukemia, a still unsolved problem: Pitfalls and new therapeutic possibilities, *Drug Des. Dev. Ther.*, 2019, vol. 13, pp. 825–843. https://doi.org/10.2147/DDDT.S191303

Garapati, H.S., Male, G., and Mishra, K., Predicting subcellular localization of proteins using protein–protein interaction data, *Genomics*, 2020, vol. 112, no. 3, pp. 2361–2368. https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2020.01.007

13. García-Santisteban, I., Peters, G.J., Giovannetti, E., and Rodríguez, J., USP1 deubiquitinase: Cellular functions, regulatory mechanisms and emerging potential as target in cancer therapy, *Mol. Cancer*, 2013, vol. 12, pp. 91. https://doi.org/10.1186/1476-4598-12-91

Gong, H., Liu, L., Cui, L., Ma, H., and Shen, L., ALKBH5-mediated m6A-demethylation of USP1 regulated T-cell acute lymphoblastic leukemia cell glucocorticoid resistance by Aurora B, *Mol. Carcinog.*, 2021, vol. 60, no. 9, pp. 644–657. https://doi.org/10.1002/mc.23330

Gurianov, D., Antonenko, S., and Telegeev, G., Colocalization of cortactin and PH domain of BCR in HEK293T cells and its potential role in cell signaling, *Biopolym. Cell*, 2016, vol. 32, no. 1, pp. 26–33. https://doi.org/10.7124/bc.000909

Hu, X., Wu, Y., Yao, M., Chen, Z., and Li, Q., The other side of the coin: Protein deubiquitination by ubiquitin-specific protease 1 in cancer progression and therapy, *Future Med. Chem.*, 2025, vol. 17, no. 3, pp. 329–345. https://doi.org/10.1080/17568919.2025.2453414

Jiang, S., Tang, Y., Ma, F., Niu, Y., and Sun, L., Ubiquitin-specific protease 1 facilitates tumor immune escape from natural killer cells and predicts the prognosis in small cell lung cancer, *Oncol. Res.*, 2024, vol. 33, no. 1, pp. 213–224. https://doi.org/10.32604/or.2024.046895

Jayavel, S., Subramanian, M., Kesavan, P.K., et al., Current and future of targeted therapies against BCR::ABL kinases, *J. Egypt. Natl. Canc. Inst.*, 2025, vol. 37, pp. 12. https://doi.org/10.1186/s43046-025-00263-5

Kantarjian, H., Breccia, M., Haddad, F.G., et al., Management of chronic myeloid leukemia in 2025, *Cancer*, 2025, vol. 131, no. 14, pp. e35953. https://doi.org/10.1002/cncr.35953

Lenoir, M., Kufareva, I., Abagyan, R., and Overduin, M., Membrane and protein interactions of the pleckstrin homology domain superfamily, *Membranes (Basel)*, 2015, vol. 5, no. 4, pp. 646–663. https://doi.org/10.3390/membranes5040646

Li, R., Wang, J., Xie, Z., et al., CircUSP1 as a novel marker promotes gastric cancer progression via stabilizing HuR to upregulate USP1 and vimentin, *Oncogene*, 2024, vol. 43, pp. 1033–1049. https://doi.org/10.1038/s41388-024-02968-8

Lu, Z., Zhang, Z., Yang, M., and Xiao, M., Ubiquitin-specific protease 1 inhibition sensitizes hepatocellular carcinoma cells to doxorubicin by ubiquitinated proliferating cell nuclear antigen-mediated attenuation of stemness, *Anti-Cancer Drugs*, 2022, vol. 33, no. 7, pp. 622–631. https://doi.org/10.1097/CAD.0000000000001311

Meng, D. and Li, D., Ubiquitin-specific protease 1 overexpression indicates poor prognosis and promotes proliferation, migration, and invasion of gastric cancer cells, *Tissue Cell*, 2022, vol. 74, pp. 101723. https://doi.org/10.1016/j.tice.2021.101723

Murai, J., Yang, K., Dejsuphong, D., Hirota, K., Takeda, S., and D'Andrea, A.D., The USP1/UAF1 complex promotes double-strand break repair through homologous recombination, *Mol. Cell Biol.*, 2011, vol. 31, no. 12, pp. 2462–2469. https://doi.org/10.1128/MCB.05058-11

Olazabal-Herrero, A., García-Santisteban, I., and Rodríguez, J., Structure-function analysis of USP1: Insights into the role of Ser313 phosphorylation site and the effect of cancer-associated mutations on autocleavage, *Mol. Cancer*, 2015, vol. 14, pp. 33. https://doi.org/10.1186/s12943-015-0311-7

Pang, K., Wang, W., Qin, J.-X., Shi, Z.-D., Hao, L., Ma, Y.-Y., Xu, H., Wu, Z.-X., Pan, D., Chen, Z.-S., and Han, C.-H., Role of protein phosphorylation in cell signaling, disease, and the intervention therapy, *MedComm.*, 2022, vol. 3, pp. e175. https://doi.org/10.1002/mco2.175

Shammas, T., Peiris, M.N., Meyer, A.N., and Donoghue, D.J., BCR-ABL: The molecular mastermind behind chronic myeloid leukemia, *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2025, vol. 83, pp. 45–58. https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2025.05.001

Singh, V., Ram, M., Kumar, R., Prasad, R., Roy, B.K., and Singh, K.K., Phosphorylation: Implications in cancer, *Protein J.*, 2017, vol. 36, no. 1, pp. 1–6. https://doi.org/10.1007/s10930-017-9696-z

Sonego, M., Pellarin, I., Costa, A., Vinciguerra, G.L.R., Coan, M., Kraut, A., D'Andrea, S., Dall'Acqua, A., Castillo-Tong, D.C., Califano, D., Losito, S., Spizzo, R., Couté, Y., Vecchione, A., Belletti, B., Schiappacassi, M., and Baldassarre, G., USP1 links platinum resistance to cancer cell dissemination by regulating Snail stability, *Sci. Adv.*, 2019, vol. 5, no. 5, pp. eaav3235. https://doi.org/10.1126/sciadv.aav3235

Villamil, M.A., Liang, Q., Chen, J., Choi, Y.S., Hou, S., Lee, K.H., and Zhuang, Z., Serine phosphorylation is critical for the activation of ubiquitin-specific protease 1 and its interaction with WD40-repeat protein UAF1, *Biochemistry*, 2012, vol. 51, no. 45, pp. 9112–9123. https://doi.org/10.1021/bi300845s

Wang, Y. and Wang, F., Post-translational modifications of deubiquitinating enzymes: expanding the ubiquitin code, *Front. Pharmacol.*, 2021, vol. 12, pp. 685011. https://doi.org/10.3389/fphar.2021.685011

Yu, Z., Song, H., Jia, M., Zhang, J., Wang, W., Li, Q., Zhang, L., and Zhao, W., USP1–UAF1 deubiquitinase complex stabilizes TBK1 and enhances antiviral responses, *J. Exp. Med.*, 2017, vol. 214, no. 12, pp. 3553–3563. https://doi.org/10.1084/jem.20170180

Zubova, G., Melnyk, H., Zaets, I., Sergeyeva, T., Havryliuk, O., Rogalsky, S., Khirunenko, L., Zaika, L., Ruban, T., Antonenko, S., and Kozyrovska, N., Halochromic bacterial cellulose/anthocyanins hybrid polymer film with wound-healing potential, *Polymers*, 2024, vol. 16, no. 16, pp. 2327. https://doi.org/10.3390/polym16162327

Received March 05, 2026
Received April 01, 2026
Accepted July 18, 2026