

УДК 577.214

Савельева И.А. (4 курс, каф. БФ), Т.В.Поспелова, к.б.н. (ИнЦ РАН)

ВЛИЯНИЕ E1B И RAS ОНКОГЕНОВ НА СОБЫТИЯ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА В E1A+E1B И E1A+RAS ТРАНСФОРМАНТАХ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ КРЫС

В клетках существует система поддержания генетической стабильности, регулятором которой является опухолевый супрессор ген p53. Белок p53 регулирует ответ клетки на повреждающие воздействия таким образом, что клетка, либо останавливает ростовой цикл в точках контроля, либо подвергается апоптозу. При апоптозе мишенью p53 является белок Bax, который совместно с dATP является кофактором для Araf-1 зависимой активации каспаз (цистеиновых протеаз). Таким образом клеточные субстраты подвергаются расщеплению и клетка погибает. Другой транскрипционной мишенью p53 является ингибитор циклин-зависимых киназ (cdk) p21^{cip1/waf1}. Комплексы циклин-cdk (G1 фазы клеточного цикла) способны фосфорилировать покет-белки типа Rb, регулирующие вступление клетки в S фазу. Ингибирование таких комплексов приводит к остановке ростового цикла в точках контроля (check points). Во многих опухолевых клетках, в результате мутаций в p53 (точечных и делеций), строгий контроль клеточного цикла и апоптоза нарушен.

Было обнаружено, что введение некоторых онкогенов (ядерный онкоген E1A аденовируса 5 типа, HPV E7) способны индуцировать апоптоз в p53 экспрессирующих клетках. Таким образом для получения трансформированных клеток необходимо введение комплементирующего онкогена. В нашей лаборатории были получены два вида трансформантов. Один - путем комплементации E1A и E1B онкогенов аденовируса 5 типа, последний из которых способен ингибировать E1A-зависимый апоптоз, другой - с помощью комплементации E1A и ras онкогена. Белок Ras, участвующий в передаче митотических сигналов, посредством активации MAP-киназных каскадов. Мутации в гене ras вызывают образование конститутивно активированной формы Ras белка, что вызывает трансформацию клетки. Выяснено, что E1A+E1B трансформанты останавливаются в ростовом цикле в точках контроля, E1A+ras таких остановок не имеют. Причины данных клеточных событий и являются предметом дальнейшего изучения.

Цель работы: выяснить, каким образом E1B и ras модулируют влияние E1A на события клеточного цикла трансформантов E1A+E1B и E1A+ras путем проведения анализа MAP-киназных каскадов (содержание JNK/SAP, ERK1,2, p38/HOG белков, их фосфорилированных форм и анализ их активности) трансформантов в логарифмической фазе роста и в условиях голодания, и при действии на клетки повреждающих агентов.

Работа поддержана федеральной целевой программой "Интеграция" № 354 ("Фундаментальные проблемы молекулярной биологии и медицинской физики")