XXX Юбилейная Неделя науки СПбГТУ. Материалы межвузовской научной конференции. Ч. V: С. 19-20, 2002. © Санкт-Петербургский государственный технический университет, 2002.

УДК 577.214:616-006

И.А.Савельева (5 курс, каф. БФ),
Т.В.Поспелова, к.б.н. (ИНЦ РАН)

ХАРАКТЕРИСТИКА МАР-КИНАЗНЫХ КАСКАДОВ НОРМАЛЬНЫХ И ТРАНСФОРМИРОВАНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ КРЫСЫ В УСЛОВИЯХ СЫВОРОТОЧНОГО ГОЛОДАНИЯ И ПОСЛЕ ДЕЙСТВИЯ ОБЛУЧЕНИЯ

Митоген Активируемые Протеинкиназные (МАР-киназные) каскады отвечают за проведение разнообразных сигналов с клеточной поверхности в ядро и могут играть существенную роль в регуляции процесса продвижения клетки по циклу в ответ на внешние воздействия. Поэтому целью работы явилось изучение МАР-киназных каскадов эмбриональных фибробластов крыс и клеток-трансформантов, полученных из них путем введения комплементирующих онкогенов E1A+E1B19кДа и E1A+cHa-Ras.

Данные трансформанты различаются по способности реализовывать блок клеточного цикла в ответ на удаление факторов роста сыворотки из среды культивирования, а также после действия облучения. В качестве контроля были взяты нормальные фибробласты - REF52.

Проведен анализ трех основных ветвей МАР-киназных каскадов: ERK-, JNK-, и p38-киназных каскадов. Изучено изменение содержания ERK1,2- JNK1,2- и p38-киназ, а также их активных (фосфорилированных) форм при трансформации, а также в условиях сывороточного голодания и после воздействия на клетки рентгеновских лучей (доза 6 Гр).

Анализ проводили методом иммуноблотинга с использованием специфических антител, опознающих фосфорилированные и нефосфорилированные формы киназ. Было показано, что содержание неактивных киназ повышается при трансформации и не зависит от типа комплементирующего онкогена. Степень фосфорилирования киназ изменяется при трансформации преимущественно у ERK1,2-киназ и зависит от типа комплементирующего онкогена.

После ДНК-повреждающего действия облучения и удаления ростовых факторов сыворотки наибольшие различия обнаружены в содержании активных pERK1,2-киназ, как в нормальных фибробластах, так и в трансформированных линиях.

Существенных изменений в характере фосфорилирования стресс-киназ JNK1,2- и p38-киназ не было обнаружено во всех трех типах клеток. В нормальных фибробластах через 24 ч после удаления факторов роста из среды культивирования обнаружено повышение содержания pERK1,2-киназ, что не согласуется с данными, полученными на других клеточных линиях, о снижении уровня фосфорилирования ERK1,2-киназ в условиях сывороточного голодания.

Полученные данные показывают, что ожидаемого изменения степени фосфорилирования активных JNK- и p38-киназ, активирующихся на стресс в других типах клеток, обнаружено не было. Оказалось, что ERK-киназный каскад является наиболее регулируемым не только в условиях сывороточного голодания, но и после облучения во всех трех типах клеток. Кроме того, не было выявлено последовательного изменения уровня фосфорилирования ERK-киназ во времени после действия повреждающих агентов и удаления сыворотки, напротив, фосфорилирование киназ имеет двухфазный характер, когда вслед за временным паде-

нием следует повышение уровня фосфорилирования киназ и наоборот. Такая сложная регуляция, вероятно, связана с неизвестными нам пока функциями ERK-киназ в клетке.