

УДК 577

А.В.Пешехонов (6 курс, каф. БФ), А.Г.Миттенберг, к.б.н., с.н.с. (ИНЦ РАН)

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ЭНДОРИБОНУКЛЕАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ПРОТЕАСОМ И a-РНП ЧАСТИЦ ПРИ ДЕЙСТВИИ ИНДУКТОРОВ АПОПТОЗА НА КЛЕТКИ ЛИНИИ K562

В последние годы множество исследовательских групп во всем мире уделяют пристальное внимание такой проблеме как программируемая клеточная гибель. Немаловажную роль в этом процессе играют протеасомы. Известно, что на начальных этапах программируемой клеточной гибели многократно увеличивается и синтез убиквитина, и деградация клеточных белков убиквитин зависимым путем, которая осуществляется протеасомами. Помимо широко известных и хорошо изученных множеством исследовательских групп пептидазных активностей, протеасомы способны также проявлять эндорибонуклеазную активность по отношению к различным РНК.

Апоптоз, как и любое другое изменение физиологического состояния клетки, сопряжен с изменением экспрессии тех или иных генов. Регуляция уровня экспрессии может происходить как на уровне белковых продуктов, так и на посттранскрипционных этапах. Протеасомы могут принимать участие в регуляции практически на любом этапе, как путем убиквитин-зависимого протеолиза белков, так и на уровне регуляции времени жизни определенных мРНК.

Данная работа посвящена изучению РНКазной активности протеасом и a-РНП и ее регуляции при программируемой клеточной гибели.

В работе получены следующие основные результаты.

1. Протеасомы и a-РНП проявляют эндорибонуклеазную активность в клетках линии K562 при индукции в них апоптоза.

2. Рибонуклеазная активность клеточных субпопуляций протеасом (ядра, цитоплазмы, кондиционированной клетками среды) в значительной степени варьирует. Ядерные протеасомы более активны, чем цитоплазматические и в контрольных, и в индуцированных к апоптозу клетках. Активность субпопуляции внеклеточных протеасом резко отличается от активности протеасом из других субпопуляций клетки.

3. При воздействии индукторов апоптоза эндонуклеазная активность протеасом ингибируется, тогда как активность a-РНП частиц в этих условиях возрастает.

4. Ранее обнаруженная зависимость РНКазной активности разных субпопуляций протеасом и a-РНП от концентрации бивалентных катионов (Mg^{2+} Ca^{2+}) сохраняется и при индукции в клетках K562 апоптоза, но имеет несколько иной характер.

5. Дефосфорилирование белковых субъединиц не влияет на активность протеасом, полученных из индуцированных клеток, в то время как аналогичное воздействие на a-РНП приводит к понижению активности этих комплексов и в контрольных, и в индуцированных клетках.

6. Протеасомы и a-РНП проявляют различия в специфической деградации по отношению к различным индивидуальным м-РНК.

Выводы.

1. Протеасомы и a-РНП из клеток линии K562 проявляют эндорибонуклеазную активность по отношению к различным группам РНК при индукции апоптоза в этих клетках.

2. Проявление протеасомами и a-РНП эндонуклеазной активности отличается в зависимости от клеточных субпопуляций (ядро, цитоплазма, кондиционированная клетками

среда), а также физиологического состояния клетки (контроль или индукция программируемой клеточной гибели).

3. РНКазная активность комплексов изменяется в зависимости от присутствия бивалентных катионов (Mg^{2+} , Ca^{2+}) и от дефосфорилирования белковых субъединиц протеасом и а-РНП.

4. Протеасомы и а-РНП проявляют различия в специфичности деградации индивидуальных мРНК (*p53*, *c-myc* человека, люциферазы *Renilla reniformis*).