

УДК 577.21: 577.33

Е.С.Вашукова (5 курс, каф. БФ), В.А.Куличкова, к.б.н., ИНЦ РАН,
А.С.Цимоха, асп., ИНЦ РАН

СПЕЦИФИЧНОСТЬ СУБЪЕДИНИЧНОГО СОСТАВА И ЭНДОРИБОНУКЛЕАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ПРОТЕАСОМ И α -РНП ЧАСТИЦ КЛЕТОК ПЕЧЕНИ КРЫС

Протеасомы – это мультисубъединичные высококонсервативные белковые комплексы, осуществляющие АТФ- и убиквитин-зависимый протеолиз. Убиквитин-зависимый протеолитический путь играет определяющую роль в таких клеточных процессах, как онкогенез, апоптоз, транскрипция, клеточный цикл, реакция на стрессовые воздействия, в том числе воспалительный и иммунный ответ [1]. Участие в запрограммированном протеолизе не является единственной функцией протеасом: возможно, они участвуют в целенаправленном распределении мРНК в клетке, а также в регуляции экспрессии генов. Так было обнаружено, что, кроме протеиназных активностей, протеасомы способны к специфическому эндонуклеотическому расщеплению молекул РНК [2].

В клетках различной дифференцировки (тканях крыс, клетках линий человека А-431 и К-562, клеточных линиях фибробластов крыс, клетках гепатомы НТС) были выявлены прочно связанные с хроматином белковые комплексы – α -РНП частицы, обладающие сходными с протеасомами физико-химическими и ферментативными свойствами [3,4].

Исследование протеасом и α -РНП частиц открывает новые возможности в лечении и профилактике ряда болезней, т.к. нарушения в работе этих комплексов могут быть причиной таких заболеваний человека, как мышечная дистрофия, мужская стерильность, злокачественные перерождения, нейродегенеративные заболевания. Предполагается, что ингибиторы протеасом могут быть использованы в качестве терапевтических агентов при различного рода шоковых воздействиях в медицине [1].

В данной работе было показано, что субъединичный состав α -РНП комплексов, цитоплазматических и ядерных протеасом, выделенных из клеток печени крыс, имеет некоторые отличия, что, возможно, обеспечивает различия в их локализации и функциональности в клетке.

Обнаружено, что α -РНП частица содержит в своем составе белковые компоненты 26S протеасомы. Вероятно, α -РНП комплекс является протеасомо-подобной частицей, прочно связанной с хроматином.

В настоящее время известно, что некоторые субъединицы 26S протеасом фосфорилированы в клетке [5]. В литературе есть данные о влиянии дефосфорилирования белковых субъединиц α -РНП частиц и протеасом на их ферментативные активности. Предполагается, что фосфорилирование и дефосфорилирование могут регулировать различные активности протеасом и α -РНП комплексов, и служить сигналом на какие-либо клеточные изменения. В данной работе обнаружено, что дефосфорилирование субъединиц ядерных и цитоплазматических протеасом вызывает ингибирование их эндорибонуклеазной активности, причем в случае ядерных протеасом происходит практически полное подавление их РНКазы. Воздействие щелочной фосфатазой кишечника телянка (CIAP, ICN) на α -РНП комплексы тоже вызывает снижение активности их нуклеазы. Можно предположить, что дефосфорилирование (фосфорилирование) субъединиц протеасом и/или α -РНП комплексов участвует в контроле эндорибонуклеазной активности этих комплексов, что в свою очередь

позволяет допустить существование в клетке механизмов регуляции их РНКазной активности специфическими киназами и фосфатазами.

Было проведено исследование влияния ионов магния и кальция на эндорибонуклеазную активность протеасом и α -РНП частиц. Обнаружено, что 2,5-миллимолярная концентрация ионов Ca^{2+} незначительно ингибирует РНКазную активность цитоплазматических протеасом, увеличение концентрации ионов кальция от 5 мМ до 20 мМ не вызывает дальнейшего снижения эндорибонуклеазной активности этих комплексов. В присутствии же ионов Mg^{2+} и с возрастанием их концентрации в реакционной смеси нуклеазная активность цитоплазматических протеасом постепенно ингибируется. В случае α -РНП частиц показано, что увеличение концентрации ионов Ca^{2+} активизирует их РНКазу. Ионы Mg^{2+} тоже индуцируют эндорибонуклеазную активность α -РНП комплексов, причем усиление этой активности происходит пропорционально возрастанию концентрации катионов магния. Выявленная ионная зависимость эндорибонуклеазной активности протеасом и α -РНП частиц, возможно, объясняется участием кальциевых (магниевых) клеточных механизмов в регуляции ферментативных активностей этих комплексов.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Абрамова Е. Б., Шарова Н.П., Карпов В.Л. Мол. Биол. 2002, т.36, с.761-776.
2. Petit F., Jarrouse A.-S., Boissonnet G., Dadet M.-H., Buri J., Briand Y., Schmidt H.-P. Mol. Biol. Rep. 1997, v. 24, p. 113-117.
3. Константинова И. М., Петухова О. А., Куличкова В. А., Туроверова Л. В., Волкова И. В., Ермолаева Ю. Б. Мол. Биол. 1995, т. 29, с. 761-771.
4. Евтеева И. Н., Куличкова В. А., Миттенберг А. Г., Волкова И. В., Ермолаева Ю. Б., Тесленко Л. В., Обухова А. Д., Пеннийнен В. А., Гаузе Л. Н., Константинова И. М. Цитология 2000, т. 42, с. 675-680.
5. Bose S., Brooks P., Mason G. G. P., Rivett A. J. Biochem J. 2001, v. 353, p. 291-297.

УДК 577