

МЕХАНИЗМЫ ЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ МОЛЕКУЛЯРНОГО ШАПЕРОНА БТШ70  
В КЛЕТОЧНОЙ МОДЕЛИ ХОРЕИ ГЕНТИНГТОНА.

В настоящее время нейродегенеративные заболевания являются объектами активного исследования. Причиной большинства нейродегенеративных заболеваний является нарушение конформации белков, что приводит к накоплению нерастворимых белковых агрегатов и, как следствие, к гибели нейронов головного мозга. К таким заболеваниям относится хорея Гентингтона, которая вызывается мутацией гена, кодирующего белок хантингтин, что приводит к удлинению полиглутаминового повтора в N-концевой части белка. Основой развития данного заболевания является формирование и накопление нерастворимых внутриклеточных белковых агрегатов в нейронах стриатума и коры головного мозга [1]. Эти агрегаты, вероятно, образуются под действием фермента тканевая транскляминаза (TG), которая катализирует  $Ca^{2+}$ -зависимое перекрестное сшивание  $\gamma$ -карбоксамидной группы остатков глутаминов главной цепи мутантного хантингтина и  $\epsilon$ -аминогрупп остатков лизина других белков. На роль донора лизина был предложен глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (ГАФДГ) [2].

Задачей данной работы было исследовать защитное действие молекулярного шаперона БТШ70 в клеточной модели хореи Гентингтона.

В наших экспериментах было показано, что применение ингибиторов ГАФДГ приводит к понижению образования агрегатов в клетках, трансфицированных плазмидой, содержащей 1-й экзон белка хантингтина, кодирующей 103 остатка глутамина. Более того, примерно у 30% трансфицированных клеток при применении ингибиторов агрегаты совсем не образуются. Таким образом, мы подтвердили предположение, высказанное в литературе о том, что ГАФДГ важен для формирования нерастворимых белковых агрегатов.

Для того, чтобы исследовать механизмы защитного действия БТШ70, ранее показанного в работах нашей лаборатории и литературных источниках, была получена клеточная линия нейробластомы SK-N-SH с индуцируемым БТШ70 [3]. При увеличении уровня БТШ70 в трансфицированных клетках происходило понижение формирования агрегатов и одновременное повышение содержания ГАФДГ в растворимой фракции. Кроме того, с помощью метода ко-иммунопреципитации было показано, что фермент в растворимой фракции связан с БТШ70, и чем выше был уровень БТШ70 в трансфицированных клетках, тем больше ГАФДГ было связано с шапероном. Эти данные были подтверждены в опытах с использованием внеклеточной системы. Трансфицированные клетки лизировали через 6 часов после трансфекции (когда уровень мутантного белка был уже высок, но агрегаты еще не начали формироваться), и лизат инкубировали при 37°C в течение 36 часов. Через определенные промежутки времени к лизату добавляли БТШ70 в разной концентрации. Формирование агрегатов оценивали с помощью метода «Filter trap assay». Внесенный во внеклеточную систему БТШ70 предотвращал формирование агрегатов доза-зависимым образом. Более того, чем раньше был внесен БТШ70, тем значительнее был выражен его защитный эффект.

Таким образом, мы показали, что БТШ70 способен связываться с ГАФДГ, и, по-видимому, делать недоступными для TG соответствующие остатки лизинов, что приводит к понижению формирования агрегатов мутантного хантингтина и спасает нервные клетки от гибели. Предположительно препарат БТШ70 можно рассматривать в качестве потенциального лекарства для лечения болезни Гентингтона.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Hoffner G., Djian P. Biochimie, 2002, V.84. P.273-278.
2. Muchowski PJ, Wacker JL. Nat Rev Neurosci. 2005. 6(1):11-22.
3. Маргулис Б.А., Гужова И.В. Цитология, 2000, Т.42. N.4. С.323-338.