

УДК 591

Т.В. Свиридова (6 курс, каф. БФ), Л.В.Пучкова, д.б.н. (НИИЭМ РАМН)

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ЦЕРУЛОПЛАЗМИНА, БОЛЕЗНИ МЕНКЕСА И БОЛЕЗНИ ВИЛЬСОНА В КЛЕТКАХ ЖЕЛТОЧНОГО МЕШКА КРЫС В ТЕЧЕНИЕ ЭМБРИОГЕНЕЗА

Врожденные ошибки метаболизма меди (Cu) являются причиной многих нейродегенеративных заболеваний человека. Безопасный перенос (поглощение, распределение и выведение) ионов (Cu) в организме у млекопитающих осуществляет специальная система метаболизма меди (СММ). Универсальным транспортером (Cu) является церулоплазмин (ЦП) - донор (Cu) для клеток не печеночных органов и транспортер их в желчь. Известно, что освобождение (Cu) в секреторные пути клетки осуществляет медь-транспортная АТРаза типа P1 (АТР7А-продукт локуса болезни Менкеса). Другая медь-транспортная АТРаза типа P1 (АТР7В-продукт локуса болезни Вильсона), метаболически включает (Cu) в (ЦП). Удобной моделью для изучения работы (СММ) может стать желточный мешок (ЖМ) млекопитающих, так как через него осуществляется двунаправленный перенос ионов (Cu) зародыш \leftrightarrow мать. В экспериментах типа пульс-чейз показано, что в течение постимплантационного периода, как до, так и после формирования эмбриональной печени в клетках (ЖМ) синтезируется две молекулярные формы (^{14}C ЦП). Одна из них секретируется в амниотическую жидкость примерно через 90 мин после начала пульс-чейз эксперимента и поглощается тканями зародыша, освобождается ими, а затем вновь поглощается клетками (ЖМ). Другая молекулярная форма (ЦП) секретируется к децидуальной оболочке примерно через 60 мин. после начала пульс-чейз эксперимента и не поглощается клетками (ЖМ). Уровень экспрессии гена (ЦП) в течение эмбриогенеза меняется незначительно, но соотношение между «быстрой» и «медленной» формами (ЦП) в течение развития меняется в пользу быстро секретируемой. Для идентификации АТР7А и АТР7В в клетках (ЖМ) были получены антитела, синтезированные твердофазным методом с использованием ВОС/BzI-стратегии и очищенные методом обратного-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографией - гексадекапептид (P16), соответствующий $^{968}\text{EYFPGYNRSISRTE}^{983}$ АТР7А и тридекапептид (P13), соответствующий $^{951}\text{QKYFPNPNKHISQ}^{963}$ АТР7В. Полученные пептиды конъюгировали с гемоглобином из гемолимфы камчатских крабов и этим конъюгатом иммунизировали кроликов. Из сыворотки иммунизированных животных получали фракцию гамма-глобулинов, которые лиофилизировали. Методом иммуноблоттинга показано, что фракция клеток (ЖМ), обогащенная мембранами, содержит полноразмерные иммунореактивные полипептиды АТР7А и АТР7В; экспрессия генов этих АТРаз происходит в течение постимплантационного периода.

Результаты показывают, что в клетках (ЖМ) экспрессируются гены (СММ), характерные для взрослой печени, но, в отличие от нее, использующей (ЦП) в качестве источника ионов (Cu). Данные позволяют считать, что (ЖМ) является центральным органом, осуществляющим поддержание гомеостаза (Cu) в тканях эмбриона в постимплантационный период развития, который может быть экспериментальной удобной моделью для изучения регуляции экспрессии генов (СММ).

Работа поддержана федеральной целевой программой "Интеграция" № 783/89 (Развитие и поддержка учебно-научного центра "Молекулярно-биологические проблемы современной медицины")