

УДК 577.218

Ю.Я.Ватажок (4 курс, каф. ФХОМ), А.С.Цимоха, В.А.Куличкова, к.б.н., с.н.с. ИЦ РАН

СТАТУС ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ ПРОТЕАСОМ И α -РНП КЛЕТОК ПЕЧЕНИ КРЫС

Протеасомы – это основной мультикаталитический компонент нелизосомального клеточного протеолиза. Осуществляя АТФ-зависимый избирательный гидролиз убиквитинированных (и некоторых неубиквитинированных) регуляторных, поврежденных, короткоживущих и аномальных белков в клетке, протеасомы участвуют в следующих клеточных процессах: продвижение по клеточному циклу, регуляции экспрессии генов (на уровне транскрипции и посттрансляционных этапах), апоптоз, иммунный ответ, проведение сигнала, канцерогенез. Протеасомы были обнаружены как в цитоплазме, так и в ядре клеток [1].

Из различных тканей крыс (печень, почки, селезенка, тимус) и некоторых клеточных линий (A431 и K562 человека и мышинных фибробластов) был выделен и охарактеризован прочно связанный с хроматином α -РНП (рибонуклеопротеиновый) комплекс, который по физико-химическим свойствам сходен с протеасомами [2]. Однако, субъединичный состав α -РНП комплекса имеет некоторые отличия от такового протеасом. Были проведены исследования белкового состава ядерных протеасом и α -РНП комплекса, а также протеасом, выделенных из цитоплазмы клеток печени крыс. Оказалось, что α -РНП комплексы содержат субъединицы коровой 20S протеасомы и высокомолекулярные белковые компоненты 26S протеасомы, т.е. субъединицы 19S субчастиц протеасом. Можно сделать вывод, что α -РНП комплекс является протеасомо-подобной частицей, прочно связанной с хроматином.

В отличие от протеасом α -РНП комплексы устойчивы к воздействию некоторых детергентов, солей и кислот. В модифицированном (без кипячения) буфере Лэммли очищенные протеасомы диссоциируют на составляющие их белковые субъединицы, в то время как целостность α -РНП комплексов сохраняется даже в стандартной (денатурирующей) системе Лэммли. И только после предварительного дефосфорилирования белковых субъединиц α -РНП щелочной фосфатазой происходит его диссоциация на отдельные субъединицы. Наличие большого количества фосфорилированных аминокислот, по-видимому, и объясняет такую структурную компактность α -РНП комплекса, которая обуславливает его устойчивость к воздействию различных агентов.

Известно, что некоторые субъединицы 26S протеасомы фосфорилированы в клетке [3]. Предполагается, что такое фосфорилирование вызывает изменение их конформационного состояния и, таким образом, может, как регулировать ферментативные активности протеасом, так и служить сигналом на какие либо клеточные изменения. Полученные к настоящему времени результаты относятся к фосфорилированию цитоплазматических протеасом, однако вопрос о ядерных протеасомах в этом аспекте не исследован. В настоящей работе с целью сравнительного анализа α -РНП комплексов и протеасом исследовано их фосфорилирование по тирозину и треонину. Согласно результатам проведённой работы субъединицы α -РНП комплексов и ядерных протеасом гиперфосфорилированы по треонину, что может определять их локализацию и/или их возможную функциональность в ядре. Однако наблюдаются отличия α -РНП комплексов от ядерных протеасом в спектре субъединиц, фосфорилированных по треонину, что может быть связано с локализацией и

функциями α -РНП комплексов на хроматине. Фосфорилирование протеасом и α -РНП комплексов по тирозину также различается. Субъединицы α -РНП комплексов, фосфорилированные по треонину, также фосфорилированы и по тирозину. Функциональность этого явления еще предстоит исследовать. Полученные данные свидетельствуют в пользу существования в клетке систем специфических протеинкиназ и фосфатаз, регулирующих внутриклеточное распределение и функции разных популяций протеасом и α -РНП комплексов.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Абрамова Е. Б., Шарова Н.П., Карпов В.Л. Протеасома: разрушать, чтобы жить // Мол. Биол. 2002, т.36, с.761-776.
2. Константинова И. М., Петухова О. А., Куличкова В. А., Туроверова Л. В., Волкова И. В., Ермолаева Ю. Б. Новый класс РНП-частиц, содержащих малые РНК, гомологичные коротким диспергированным повторяющимся последовательностям ДНК // Мол. Биол. 1995, т. 29, с. 761-771.
3. Bose S., Mason G.G., Rivett A.J. Phosphorylation of proteasomes in mammalian cells. Mol. Biol. Rep. 1999, v. 26 (1-2), p. 11-14.