

УДК 576.348

М.А.Берестовой (4 курс, каф. ФХОМ), Н.Д.Медведева, д.б.н., вед.н.с. (ИнЦ РАН)

## ТРАНСАКТИВАЦИЯ РЕЦЕПТОРА ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА ПРИ ГИПЕРТЕРМИИ В НОРМАЛЬНЫХ И ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ КЕРАТИНОЦИТАХ

Одной из наиболее актуальных проблем современной клеточной биологии является проблема проведения внутриклеточного сигнала. Под проведением внутриклеточного сигнала понимают события, которые происходят в клетке после действия на нее внешнего фактора, которые приводят к ответу клетки. Внешние факторы, вызывающие проведение внутриклеточного сигнала, разнообразны, чаще всего это биологически активные полипептиды: гормоны, цитокины, факторы роста, нейромедиаторы, в случае, когда речь идет о проведении сигнала, их называют лигандами или агонистами. Ответы клеток на действие лигандов также многочисленны – это пролиферация, дифференцировка, апоптоз, клеточная подвижность, проведение нервного импульса, сокращение мышечных клеток и т.п. Активация сигнальных систем клетки происходит в результате связывания агонистов со специфическими трансмембранными белками клетки – клеточными рецепторами и активации последних. Связывание агониста с рецептором представляет собой ключевой этап проведения сигнала, поскольку именно за счет этого процесса происходит преобразование внеклеточной информации (которую несет агонист) во внутриклеточную (которую определяет активированный рецептор). До недавнего времени считалось, что клеточные рецепторы активируются только в результате действия соответствующего лиганда, однако в последние годы в литературе накапливаются данные о том, что активация рецепторов может происходить и без участия специфического агониста. Этот тип активации клеточных рецепторов был назван лиганд-независимой активацией или трансактивацией клеточных рецепторов (Nackel et al., 1999). Трансактивацию рецептора ЭФР вызывают многие повреждающие агенты (осмотический шок, действие перекиси водорода, тяжелых металлов).

Действие повышенной температуры – гипертермия является одним из наиболее изученных стрессовых воздействий на клетку. Ответ клеток на тепловой шок, в особенности синтез белков теплового шока, подробно изучены. Основное внимание исследователей приковано к событиям, происходящим спустя многие часы после нагревания клеток. Данные, касающиеся начальных этапов ответа клеток на тепловой шок отрывочны и противоречивы. Так, в фибробластах мышцы NIH3T3 рецептор ЭФР фосфорилируется по тирозину при тепловом шоке и при этом происходит активация ERK1/2 (Lin et al., 1997), а в эмбриональных фибробластах мышцы при тех же условиях фосфорилирование рецептора ЭФР не обнаружено (Kataoka, Miura, 2004). Задача настоящей работы заключалась в исследовании активации рецептора ЭФР при гипертермии.

Для выяснения вопроса о состоянии рецептора ЭФР при тепловом шоке высокотрансформированные кератиноциты линии A431 инкубировали при 42 °С в течение 15 или 40 мин, лизировали, белки лизатов разделяли в денатурирующем электрофорезе и на иммуноблоте выявляли фосфорилированный по тирозину рецептор ЭФР. В контрольных клетках уровень фосфорилирования по тирозину рецептора ЭФР очень низок. Обнаружено, что при тепловом шоке фосфорилирование рецептора ЭФР по тирозину резко возрастает. Когда клетки после теплового шока (42 °С в течение 40 мин) помещали в нормальную температуру (37 °С, в течение 1 и 3 час), то обнаруживалось снижение фосфорилирования по тирозину рецептора ЭФР. Таким образом, тепловой шок вызывает трансактивацию рецептора ЭФР в клетках A431.

Следующая задача работы заключалась в выяснении вопроса о том, происходит ли трансактивация рецептора ЭФР при гипертермии только в высокотрансформированных клеточных линиях или это общее свойство кератиноцитов. Для решения этой задачи использовали минимально трансформированные кератиноциты линии HaCaT. Поскольку в клетках HaCaT количество молекул рецептора ЭФР на клетку значительно ниже, чем в клетках A431, то для выяснения вопроса о фосфорилировании по тирозину рецептора ЭФР его иммунопреципитировали из лизатов контрольных клеток и клеток, подвергшихся нагреванию при 42<sup>0</sup> С в течение 15 мин. Иммунопреципитаты разделяли с помощью денатурирующего электрофореза и на иммуноблоте выявляли фосфорилированный по тирозину рецептор ЭФР. Оказалось, что тепловой шок вызывает фосфорилирование по тирозину рецептора ЭФР и в этих клетках. Таким образом, трансактивация рецептора ЭФР происходит при гипертермии кератиноцитов независимо от уровня их трансформации. Полученные результаты согласуются с данными литературы, которые свидетельствуют о том, что действие на клетки повреждающих факторов приводит к трансактивации рецептора ЭФР.

Работа была выполнена при содействии научного сотрудника отдела внутриклеточной сигнализации и транспорта Института цитологии РАН А.Л.Евдонина.