

МЕХАНИЗМ ВЫПОЛНЕНИЯ АПОПТОТИЧЕСКОЙ ПРОГРАММЫ В КЛЕТКАХ K562 ВКЛЮЧАЕТ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ - ДЕФОСФОРИЛИРОВАНИЕ ПРОТЕАСОМЫХ СУБЪЕДИНИЦ

Апоптоз, или генетически запрограммированная гибель клеток, один из важнейших защитных механизмов, который обеспечивает контроль над клеточной популяцией в многоклеточном организме. Было обнаружено, что процесс апоптотической гибели связан с АТР- и убиквитин-зависимой системой деградации белков [1], центральной фигурой которой является протеасома [2].

Мы показали, что после индукции апоптоза доксорубицином (ДР) или диэтилмалеатом (ДЭМ) в клетках K562 наблюдается изменение субъединичного состава ядерных и цитоплазматических протеасом. Кроме того, мы наблюдали также модифицирование субъединиц протеасом ассоциированных с ферментативными активностями этих комплексов.

Нами показано, что индукторы апоптоза вызывают изменения статуса фосфорилирования протеасом из клеток K562 по тирозину, треонину и серину. Выявлены также значительные различия в статусе фосфорилирования ядерных и цитоплазматических протеасом по всем трем фосфоаминокислотам как в контрольных клетках, так и в индуцированных к апоптозу клетках K562.

При исследовании ферментативных активностей протеасом оказалось, что при апоптотической гибели клеток K562 наблюдаются специфические изменения трипсин- и химотрипсин-подобных типов пептидазной активности исследуемых комплексов, а также их эндорибонуклеазной активности.

Чтобы исследовать влияние степени фосфорилирования субъединиц протеасом на их ферментативную активность, мы проводили дефосфорилирование субъединиц с помощью щелочной фосфатазы. Было показано, что такое предварительное дефосфорилирование субъединиц протеасом вызывает специфические изменения пептидазных и РНКазной активностей исследуемых частиц.

Таким образом, наблюдаемые изменения статуса фосфорилирования и ферментативных активностей протеасом при апоптозе, свидетельствуют об исключительно тонком регуляторном клеточном процессе, в котором задействованы различные системы протеинкиназ и фосфатаз. Кроме того, статус фосфорилирования протеасом определяет функциональную активность исследуемых комплексов в клетке, и механизм выполнения программы апоптоза независимо от индуктора включает в себя фосфорилирование и дефосфорилирование протеасомных субъединиц.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Фонда Фундаментальных исследований (05-04-49606), фондов Президента РФ по поддержке ведущих научных школ (НШ-523.2006.4) и Санкт-Петербургского Научного Центра 2007 г. и с использованием оборудования ЦКП «Материаловедение и диагностика в передовых технологиях».

ЛИТЕРАТУРА:

1. Wojcik C. J.Cell.Mol.Med. 2002. v. 6. p. 25-48.
2. Абрамова Е.Б., Шарова Н.П., Карпов В.Л. Мол. Биол. 2002. т. 36. с. 761-776.