Влияние полиаминов в клетке на уровень экспрессии p53.

Ковалёв Роман Александрович*, Штам Татьяна Александровна**,
Варфаламеева Елена Юрьевна**
Студент*, научный сотрудник**
Санкт-Петербургский Государственный Политехнический Университет*, Санкт-Петербург, Россия, Петербургский институт ядерной физики РАН**, г.Гатчина, Ленинградская область, Россия
Romazan85@inbox.ru

Введение и постановка задачи: Белок p53 - наиболее известный регулятор программируемой клеточной гибели и/или блоков клеточного цикла. Увеличение экспрессии гена p53 или посттрансляционные модификации, активирующие белок p53 происходят в ответ на чрезвычайно широкий круг воздействий, таких как ионизирующее излучение, ДНК повреждающие химические агенты, избыток свободных радикалов, интенсивная инсоляция, повреждения веретена деления и др. Вопрос о влиянии уровня полиаминов в клетке на активность и количество белка p53 пока остается дискуссионным. Кроме того, такая взаимосвязь, к настоящему времени описана лишь для некоторых тканей. В ранее опубликованных работах для некоторых культур клеток было показано: полиамины конкурируют с белком HuR, уменьшая время жизни матричной РНК белка p53, тем самым, снижая количество синтезируемого белка p53, и, наоборот, при блоке синтеза полиаминов происходит стабилизация мРНК белка p53 и его количество возрастает. В тканях организма путресцин — исходное соединение для синтеза двух физиологически активных полиаминов — спермидина и спермина. Эти вещества наряду с путресцином, кадаверином и другими диаминами входят в состав рибосом, участвуя в поддержании их структуры, а также участвуют в регуляции пролиферации клеток различной тканевой этиологии. Появившиеся в последнее время данные литературы указывают на то, что подавление синтеза полиаминов в клетках некоторых тканей приводит к уменьшению скорости пролиферации таких клеток и в конечном итоге к их гибели. Ряд авторов связывают подобные наблюдения с увеличением количества онкосупрессорного белка p53. Таким образом, целью представленной работы стало изучение влияния концентрации полиаминов в клетке на уровень экспрессии гена p53 на примере клеточной линии опухоли молочной железы.

Материалы и методы: Исследования проводились на культуре клеток рака молочной железы MCF-7, эксрессирующей белок p53 дикого типа. Полиамины (спермидин) в концентрации 0.1-0.5 мкг|мл добавляли к культивируемым при стандартных условиях клеткам через различные промежутки времени. Уровень белка p53 определяли иммунофлуорисцентным окрашиванием с помощью моноклональных антител к p53 (Clone BP53-12, Sigma) и FITC-меченых вторичных антител против иммуноглобулинов мыши (Sigma). Визуализировали меченый белок в клетках методом флуорисцентной микроскопии. Количественный анализ уровня экспрессии белка p53 проводили с помощью техники проточной цитофлуорометрии.

Результаты: Проведя ряд исследований, мы подтвердили ранее полученные данные о влиянии полиаминов на кол-во белка p53.В частности, нами впервые показано, что при добавлении полиаминов (спермидин) к культуре клеток MCF-7 через 72 часа после добавления уровень исследуемого белка снижается на 30 %.

Литература: 1) Carson DA, Lois A. Cancer progression and p53. Lancet 1995;346:1009-11

2) Vogelstein B, Lane D, Levine AJ. Surfing the p53 network.// Nature. 2001;408:307–310.

3) Li L, Rao J et al. Polyamine depletion stabilizes p53 resulting in inhibition of normal intestinal epithelial cell proliferation // Am J Physiol Cell Physiol. 2001, 281:941-953

4) Zou T, Mazan-Mamczarz et al. Polyamine depletion increases cytoplasmic levels of RNA-binding Protein HuR leading to Stabilization of nucleophosmin and p53 mRNAs// Journal of biological chemistry. 2006, 281,28:19387-19394.

5) http://www.cbio.ru