

МАКРОМОЛЕКУЛЫ И ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ КЛЕТКИ (Республиканская конференция)

Научно-технический прогресс основывается на развитии тех направлений фундаментальных исследований, которые более всего соответствуют темпам развития общества и результаты которых с большей эффективностью внедряются в практику народного хозяйства. К таким направлениям фундаментальных исследований относятся физико-химическая биология и биотехнология. В последние годы в республике стали проводиться интенсивные исследования в области молекулярно-клеточной биологии. Периодическое обобщение и анализ результатов этих исследований являются необходимым этапом их развития.

В Ереване с 15 по 17 апреля 1986 года на базе Института экспериментальной биологии АН АрмССР проходила республиканская конференция, посвященная проблеме объединения под общим названием «Макромолекулы и функционирование клетки», с участием ряда ведущих зарубежных и отечественных специалистов.

Всего было обсуждено около 40 сообщений, представленных специалистами научно-исследовательских учреждений республики (ИЭБ АН АрмССР, ИХ АН АрмССР, НИПА, ЕГУ, Ереванский медицинский институт, Ереванский филиал ВНИИ АМН СССР, Институты кардиологии и проктологии МЗ АрмССР, Республиканская детская клиническая больница), всесоюзных центров (Институт молекулярной биологии, Институт биоорганической химии, Институт биологии развития и Институт цитологии АН СССР, Новосибирский институт биоорганической химии СО АН СССР, НИИ фармакологии, Институт экспериментальной медицины и Всесоюзный онкологический центр АМН СССР и Институт молекулярной биологии и генетики АН УССР) и академий социалистических стран (Институт молекулярной биологии Болгарской АН, Институт физиологии Венгерской АН, Институт по изучению лекарственных соединений АН ГДР и Институт экспериментальной биологии Польской АН).

В соответствии с тематикой представленных для обсуждения докладов, последние были сгруппированы по секциям, посвященным структуре и функции генома, транспорту генов и генетической инженерии, структуре и функции белков и ферментов, молекулярно-клеточным аспектам цитодифференцировки и иммунологии.

К наиболее «горячим точкам» современной биологии относятся проблемы, связанные с выявлением молекулярной структуры, свойств и взаимодействия макромолекул в функционировании генетического аппарата клеток, а также установлением тонкой структуры генов, раскрытием механизмов их переноса из одного участка генома в другой или из одной клетки в другую с целью внесения чужеродной информации для получения новых комбинаций генов или корректуры имеющихся поврежденных генов.

В докладе акад. Цанева (Болгария), посвященном взаимодействию между хромосомами белками и ДНК в процессе репликации хроматина, были обсуждены вопросы сохранения старых гистонов в течение репликации, определения участков ДНК, к которым прикрепляются новые гистоны, последовательности присоединения старых и новых гистонов ДНК, возникновения свободных от нуклеосом гиперчувствительных к нуклеазам участков ДНК, содержащих регуляторные последовательности. В докладе были представлены убедительные данные о том, что гистоны в пролиферирующих клетках сохраняются в течение многих генераций; вновь синтезированные гистоны располагаются на новой реплицированной цепочке ДНК и в виде преэушествующего комплекса тетрамера H3—H4, к которому затем присоединяются H2a—H2b димер и позже всего H1 гистон. В процессе репликации взаимодействие между гистонами и ДНК ослабевает и появляются относительно протяженные свободные от нуклеосом участки ДНК либо в результате скольжения нуклеосом, либо вследствие частичного раскручивания

стерхспирали ДНК, что способствует взаимодействию с ДНК ряда регуляторных белков.

Изменению структуры и состава хроматина при активации генетического аппарата был посвящен доклад Паносяна Г. А. с соавторами, являющийся обобщенным экпериментом, в которых в качестве модельной системы были использовано прорастающее семя высших растений. Показано, что усиление метаболизма при прорастании сопровождается структурными перестройками как нативного, так и реконструированного хроматина, что выражается в смещении кривой плавления в низкотемпературную область и возрастании положительной эллиптичности спектров кругового дихроизма. При прорастании наблюдаются изменения в фракционном составе гистонов и негистоновых белков хроматина зародышей пшеницы и увеличивается выход нуклеазочувствительной и активной фракции хроматина. Появляются фракции негистоновых белков, вызывающих дестабилизацию ДНК, в самой же ДНК увеличивается количество блоков, плавающих при более высокой температуре. Отмеченные изменения усиливаются при обработке изолированных зародышей гиббереллином, действующим также на систему синтеза и секреции α -амилазы из клеток алейронового слоя. Это действие зависит от процесса полиплондизации ядерной ДНК, наблюдаемого на первых этапах прорастания. В докладе Габриелян А. Г. и Захаряна Р. А. была доказана правомочность использования метода прецизионного плавления при изучении особенностей первичной структуры ДНК и взаимодействия ДНК с белками. Изменение липидного состава ядерных структур печени крыс при гидрокортизоновой активации генома (Паносян Г. А. и др.), выражающееся в повышении содержания фосфолипидов и снижении количества нейтральных липидов, а также в характерном изменении активности ряда эндогенных ферментов их метаболизма в ядерных мембранах, хроматине и ядерном матриксе, указывает на важную роль липидного компонента ядерных структур в процессе активации генома стероидными гормонами.

Большой интерес вызвал доклад Томина Н. В. и Акресисовой О. Н. (Ленинград), в котором были представлены данные о ренарации урацила и урацил-ДНК-гликозилазы в клетках млекопитающих, а

также доклад Гржеловска-Штаберт Б. (Польша) о клеточной устойчивости к антифолатным соединениям и ген-транспорту в эукариотических клетках. Результаты исследований, представленные во втором докладе, имеют большое практическое значение, так как антифолаты являются канцеролитиками, и устойчивость к ним различных опухолей затрудняет лечение ряда онкологических заболеваний. Антифолаты являются ингибиторами дигидрофолатредуктазы и тимидинсинтетазы, крайне необходимых для нормального функционирования клеток, в том числе опухолевых. Выяснению механизмов ингибирующего действия антифолатов, изменению генов-мишеней, их переносу в условиях экспрессии в новом окружении, а также связи этой экспрессии с резистентностью к антифолатам, был посвящен этот интересный доклад.

Сообщение Вазова В. В. и Зартовой Ф. В. касалось вопроса комплементарной адресованной модификации нуклеиновых кислот. Было показано, что модификация реакционноспособными производными олигонуклеотидов и полинуклеотидов, распознающими комплементарные им нуклеотидные последовательности, может быть применена для повреждения определенных видов нуклеиновых кислот, блокирования экспрессии определенных генов и сайт-специфического мутагенеза. В опытах по модификации элицирующими олигонуклеотидными производными иммуноглобулиновой мРНК клеток мыеломы мышей показана возможность блокирования экспрессии определенного гена, а в экспериментах на клетках, инфицированных вирусом — возможность подавления развития вирусов реакционноспособными олигонуклеотидными производными.

Г. Г. Оганесян и др. использовали мутации как модель для изучения механизмов некоторых радиобиологических эффектов на примере Iop^{r} -мутаций, а Ж. А. Кюоя и др. также с использованием радиобиологического теста, исследовали множественную лекарственную устойчивость и ДНК-полимеразирующую активность клеток сальмонелл.

Целый ряд докладов был посвящен проблемам, которые решаются с использованием генно-инженерных методов исследования, и самым методом генной инженерии.

Н. С. Амбарцумян и др., следуя биологическую активность клонированных фрагментов генома вируса саркомы Рауса, показали транскрипцию вирусспецифи-

ческих исследований в клетках кишечной палочки, содержащих соответствующую плазмиду. Они обнаружили, что онкоген вируса Рауса, находящийся в составе рекомбинантных плазмид, экспрессируется как в эукариотических, так и в прокариотических клетках и что в образовании имплантированными трансформантами опухолей у бестимусных мышей определенную роль играет последовательность длинных концевых повторов данного вируса. Большой интерес вызвали доклады, в которых рассматривались новые подходы к клонированию и экспрессии генов пептидных гормонов в бактериях на примере соматотропина, (А. Ш. Парсадзян и др.) и генетическая трансформация клеток дрожжей и костного мозга грызунов с помощью плазмидных и митохондриальных векторов (Т. Б. Казакова и др.). Р. К. Хечумян и др. проведено молекулярное клонирование гена эстеразы из генома дрозофилы, определена его локализация в геноме и исследована регулируемость его экспрессии рядом генов-модификаторов и гормонами; построена рестриктивная карта клонированного участка, проведено подробное транскрипционное картирование гена, определена первичная структура фланкирующих участков и показана консервативность гена в пределах одного вида и его дивергенция в других видах дрозофилы. Группой исследователей НИИГА (В. А. Сахьян и др.) проведено молекулярное клонирование и анализ промоторов грамположительных бактерий; результаты этих исследований имеют большое значение для практических работ по получению аминокислот микробиологическим способом. Характеристике клонированных генов, кодирующих гамма-кристаллины, был посвящен доклад Арутюнян К. Г. и др.

Совместными работами ИЭБ АН АрмССР и НИИГА (Ш. М. Кочарян и др.) была исследована регуляция второй пуриноклеозидфосфорилазы. Получены мутанты по данному ферменту, изучен его структурный ген и осуществлено молекулярное клонирование этого гена в составе плазмиды с целью сравнения степени гомологии нуклеотидных последовательностей генов и оценки степени эволюционного родства двух пуриноклеозидфосфорилаз (I и II). А. Т. Лачатрян и др. сообщили о клеточной специфичности тотального хроматина.

Большое значение имеют работы, посвященные генетическим и мутационным эф-

фектам экзогенных нуклеиновых кислот, проведенные в ИЭБ АН АрмССР и представленные в докладе Р. А. Захаряна. Показано, что одним из генетических последствий переноса генов в составе искусственных вирусоподобных частиц является ДНК-опосредованная трансформация со стабильной или транзиторной экспрессией экзогенного генетического материала в реципиентной клетке. Для повышения эффективности трансформации возможно использование транспозонподобных генов, интегрированных с трансформирующей ДНК. Показано также, что некоторые нормы полимерных молекул РНК стимулируют синтез ДНК, обладают модулирующим действием на мембранную активность, эффективны как индукторы интерферона, стимулируют перенос генов, трансформацию клеток и терминальную дифференцировку нормобластов.

Другая большая группа докладов касалась вопросов молекулярной энзимологии. Г. Келлетти (Венгрия) сделал обстоятельный доклад, посвященный современным представлениям о регуляции метаболизма, основанным на последовательности действия ферментов, их сопряженности, организации комплексов фермент-фермент и их взаимодействии со структурными элементами клетки. М. Я. Карнейский (ИМБ АН СССР) доложил о структурных основах субстратной специфичности и каталитической селективности ферментов.

Доклад С. С. Оганесяна с соавторами был посвящен молекулярно-клеточным механизмам адаптации миокарда и мышц к экстремальным условиям. Обнаруженные ими адаптивные изменения указывают на целостное репродуцирование клетки от аппарата генетического контроля синтеза изоформ белков миофибрилл до показателей механической деятельности мышечного волокна. Наблюдаемые изменения в макромолекулярной структуре актомиозина, в частности, объясняются активированием мышечных протеолитических ферментов, вызывающих посттрансляционную модификацию миофибриллярных белков. В период реадaptации к нормальным условиям восстановление биомеханических параметров, констант скоростей сокращения и расслабления, а также Ca^{2+} -чувствительности актомиозинового комплекса происходит гетерохронно и в неодинаковой степени. В докладе Б. А. Казаряна и А. Х. Товмаски приводятся новые данные о влиянии ГАМК и некоторых ее аналогов на активность опи-

щенной тирозингидроксилазы гипоталамуса мозга, а в сообщении К. Б. Назаряна и др. — о молекулярных механизмах обратимой инактивации илоферментов синапса.

В докладе Т. В. Карбашиана с соавторами были приведены результаты исследования роли структурной организации гексамера глутаматдегидрогеназы и его функционирования и аллостерической регуляции. Показано, что отрицательная кинетическая кооперативность фермента и аллостерический характер регуляции его активности обусловлены межсубъединичным взаимодействием в рамках гексамерной формы фермента, причем межсубъединичные взаимодействия, реализующиеся посредством одного из типов контактов, ответственны за аллостерическую регуляцию фермента, а взаимодействия, реализующиеся посредством другого типа контактов — за отрицательный кооперативный характер функционирования фермента. Предложена модель структурной организации каталитически активного гексамера.

В молекулярной физиологии специфическая биодеградация белков в последнее время привлекает все большее внимание. Специфическому протеолизу был посвящен доклад Х. Бергера (ГДР), в котором были приведены экспериментальные данные о расщеплении лютеинизирующего релизинг-гормона. Г. И. Аюбян с соавторами сделали интересный доклад о получении и свойствах фосфопиридоксальных производных некоторых нейротенгидов. Они показали, что пиридоксаль-5'-фосфатные производные вещества Р, С-концевого пептипта вещества Р, нейротензина и каллидина проявляют повышенную резистентность к действию ферментов плазмы крови и синцитосомальных плазматических мембран, что создает новые возможности для применения полученных аналогов в изучении пептид-рецепторных взаимодействий.

Большой интерес вызвал доклад В. К. Антонова и др. (Институт биоорганической химии АН СССР) об аминокетидазах мозга — важнейших ферментах, участвующих в деградации нейротенгидов, и частности, энкефалинов. Выделены и очищены мембрано-связанная и растворимая формы аминокетидаз мозга быка, изучена субстратная специфичность и обсуждена их роль в регуляции функционирования нервной системы.

Обсуждены также сообщения об аллостерической регуляции тирозингидроксила-

зы тирозинком и ее роль в пресинаптической регуляции активности фермента (М. Ф. Минсва), о выделении и физико-химических свойствах тирозин-тРНК-синтетазы из печени быка (А. И. Корнелюк и др.), механизмах взаимодействия ДНК-зависимых ДНК-полимераз с матрицами и праймерами (Г. А. Певневский и др.).

Из работ, посвященных молекулярно-клеточным аспектам клеточной дифференцировки, особого внимания заслуживают исследования, проводимые в ИЭБ под руководством Ю. А. Магакина. В них выдвинута концепция, согласно которой гиперрепликация ДНК является резервным механизмом обеспечения жизнедеятельности клеток и клеточных популяций в развитии при необходимости ускорения цитодифференцировки и интенсификации тканеспецифического синтеза. Показано важное значение блока в G₂-фазе как фактора ускорения процесса интодифференцировки; обоснована роль несбалансированной репликации отдельных участков генома в период терминальной специализации как способа интенсификации тканеспецифического синтеза.

Молекулярно-клеточной иммунологии были посвящены доклады Ю. Т. Александина и др. об иммунологических аспектах изучения возможности подавления опухолевого роста и индукции противоопухолевой резистентности, Н. П. Месроbian и др. — об индукции противоопухолевой резистентности с помощью опухолевых клеток, обработанных ксеногенной иммунной РНК, С. С. Гамбарова и др. — об эффектах контрсупрессии и их моделировании В-активном.

Итоги конференции показывают, что в республике намечается явная тенденция к развитию молекулярно-биологических и молекулярно-клеточных исследований в области генетики, цитологии, иммунологии, биохимии и биофизики. Появились очаги гено-инженерных исследований (ИЭБ АН АрмССР, НИИНА и ИБХ АН АрмССР), которые должны явиться основой для развертывания биотехнологических работ в республике. Намечались пути кооперации между различными научно-исследовательскими организациями республики, всесоюзных центров и исследовательских центров социалистических стран в области молекулярно-клеточной биологии.

Г. А. ПАНОСЯН