

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

УДК 615.591.466:577.158.5

Э. С. Геворкян, Э. Г. Саркисян, Г. А. Паносян

**О возможности трансформации эстрадиол-рецепторного
комплекса индуцируемым эстрадиолом белком**

(Представлено академиком НАН Армении М.А.Давтяном 29/1 1997)

Известно, что основной механизм воздействия стероидов на клетки-мишени включает активацию биосинтетических процессов путем непосредственного взаимодействия гормон-рецепторных комплексов с акцепторными участками ядра. Для такого взаимодействия внутриклеточный гормон-рецепторный комплекс предварительно трансформируется, т.е. становится способным высокоаффинно и специфически связываться с ядром (1). Трансформация комплекса нередко осуществляется посредством его связывания с неким белковым фактором, существенно повышающим его сродство к ядру. В литературе имеются некоторые сведения о таких белковых факторах, приводятся их характеристики (2,3). Однако несравнимо мало известно о регуляции синтеза таких факторов, выяснение которой во многом будет способствовать пониманию интимных механизмов действия стероидных гормонов. При этом не исключается возможность стероидного контроля синтеза таких факторов.

В настоящем сообщении приводятся данные о повышении связываемости эстрадиол-рецепторного комплекса с ДНК пробами щелочной фракции цитозоля матки кролика, содержащими белковый фактор, индуцируемый на первичном этапе его воздействия.

Исследования проводились на неполовозрелых кроликах-самках армянской породы Мардер массой соответственно 500-800 г и 2-3 кг. Неполовозрелым животным вводили внутрибрюшинно препарат 17- β эстрадиола ("Sigma", США) в концентрации 20 мкг/100 г массы. Животных декапитировали через 1 ч после введения гормона. Мечение белков матки ^{14}C -лейцином ("Chemapol", Чехословакия) и ^3H -лейцином ("Amersham", Великобритания), получение

цитозольной фракции, отделение щелочной фракции цитозоля, ультрафильтрация на мембранах PM-10 и UM-10 описаны ранее (4). В качестве показателя биосинтетической активности использовали отношение $^3\text{H}/^{14}\text{C}$ (4). Образцы просчитывали в жидкостном сцинтилляционном спектрометре SL-4221 ("ROCHE bioelectronique", Франция), в сцинтилляторе Брея. Молекулярную массу белка с высоким отношением $^3\text{H}/^{14}\text{C}$ определяли по Веберу и Осборну, изoeлектрическую точку — по методу О'Фарелла, ^3H -эстрадиол ("Amersham", Великобритания) с пробами растворимой фракции клеток матки половозрелых кроликов — по методу Спелсберга. ДНК из печени кролика выделяли по методу Баттерворда. Количество ДНК определяли по методу Бартонa, белок — по Лоури, используя БСА в качестве стандарта.

Ранее проводимые нами исследования с использованием метода двойной изотопной метки выявили повышение биосинтетической активности в пуле щелочных белков цитозоля клеток матки кроликов уже на первом часу после воздействия эстрадиола (4). Стимуляция биосинтеза белка в цитозоле клеток матки, происходящая задолго до индукции маркерных белков-ферментов (таких как пероксидаза, орнитиндекарбоксилаза и др.), индукция которых проявляется через 2-4 ч после введения гормона, может свидетельствовать о важности явления "ранней индукции" для дальнейшего развертывания механизма действия гормона. Определение молекулярной массы и изoeлектрической точки индуцированного белка (с высоким отношением $^3\text{H}/^{14}\text{C}$) показало, что он имеет массу, равную примерно 25 кД, и pI, равную 8,3.

Об эстрадиоловой индукции щелочных белков в клетках матки в литературе имеются единичные данные (5,6). Вместе с тем более чем десять лет назад Тампаном и Кларком (3) был выявлен белковый фактор щелочной природы во фракции цитозоля матки половозрелых крыс, который сам не связывался с гормоном, однако заметно повышал степень связываемости эстрадиол-рецепторного комплекса с ДНК и ядром. Последнее привело авторов к предположению, что этот белковый фактор может играть важную роль в процессе трансформации гормон-рецепторного комплекса из формы 4S в форму 5S, т.е. в форму, способную взаимодействовать с акцепторными участками ядра (3). Примечательно, что этот "рецептор-трансформирующий фактор" находится в той же щелочной фракции тотальных белков цитозоля клеток матки половозрелых животных, не адсорбируемой на ДЭАЭ-целлюлозе, что и обнаруженный нами индуцированный белок, и имеет сходные с ним пара-

метры. Это побудило нас изучить возможную роль обнаруженного нами индуцированного щелочного белка в процессе связывания эстрадиол-рецепторного комплекса с ДНК. С этой целью изучалось связывание 3H -эстрадиол-рецепторного комплекса (ЭРК) с ДНК в присутствии и отсутствии щелочной фракции цитозоля (т.е. фракции, содержащей данный щелочной белок) матки контрольных (Φ_1) и обработанных $17-\beta$ эстрадиолом неполовозрелых животных (Φ_2) (таблица).

Связывание разных количеств цитозоля матки половозрелых кроликов, содержащих 3H -ЭРК с ДНК, в присутствии щелочной фракция белков из цитозоля контрольных (Φ_1) и обработанных эстрадиолом животных (Φ_2)

Варианты проб (1×10^{-3} DPM)	Количество белка, мкг		
	100	500	1000
ДНК + ЭРК	0,262	0,428	0,586
ДНК + ЭРК + Φ_1	0,504	0,578	0,800
ДНК + ЭРК + Φ_2	0,676	0,634	0,1097

Примечание. Приведены средние значения пяти серий экспериментов.

Эти результаты свидетельствуют о важной роли белков щелочной фракции цитозоля в процессах, приводящих к повышению связываемости гормон-рецепторного комплекса с ДНК, причем, по всей вероятности, в контрольной фракции клеток матки половозрелых животных имеется какое-то изначальное количество такого "трансформирующего фактора", количество которого заметно повышается на самых ранних стадиях воздействия эстрадиола.

Таким образом, можно заключить, что для эстрадиол-зависимой активации биосинтетических процессов (основного пула индуцируемых белков) в клетках матки необходима так называемая "ранняя эстрадиоловая индукция" белкового фактора, способствующего трансформации гормон-рецепторного комплекса, т.е. белковый фактор, способствующий трансформации эстрадиол-рецепторного комплекса, находится под контролем самого эстрадиола.

Ереванский государственный университет

Էստրադիոլով ինդուկցվող սպիտակուցի միջոցով էստրադիոլ-ռեցեպտորային
կոմպլեքսի փոխադրման հնարավորության մասին

Ուսումնասիրվել են էստրադիոլի ազդեցության վաղ փուլում հագարի արգանդում
էստրադիոլ-ռեցեպտորային կոմպլեքսի փոխադրման պրոցեսները: Ցույց է տրված, որ
էստրադիոլ-ռեցեպտորի կոմպլեքսի կապվածությունը ԴՆԹ-ի հետ ավելանում է էստրա-
դիոլի ազդեցության վաղ փուլում ինդուկցվող սպիտակուցային գործոն պարունակող ճա-
գարի արգանդի ցիտոզոլի հիմնային ֆրակցիայի նմուշների առկայության դեպքում:

Արվել է եզրակացություն, որ էստրադիոլ-ռեցեպտորային կոմպլեքսի փոխադրումը
խթանող սպիտակուցային գործոնը գտնվում է էստրադիոլի ազդեցության ներքո:

ЛИТЕРАТУРА – ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

- ¹ K.R.Yamamoto, B.M.Alberts, Ann.Rev.Biochem., v.45, p.721-746 (1976).
- ² A.Muroyama, Fukai, T.Hazato e.a., J.Biochem., v.88, №4, p.969-976 (1980).
- ³ T.N.R.V.Thampan, J.H.Clark, Nature, v.290, №5802, p.152-154 (1981). ⁴ Э.Г.Саркисян, Э.С.Геворкян, Г.А.Паносян, Биол.науки, №11, с.24-27, 1984. ⁵ R.J.B.King, D.Somjen, A.M.Kaye e.a., Mol.Cell.Endocrin., v.1, №1, p.21-36 (1974). ⁶ J.W.Pollard, L.Martin, Mol.Cell.Endocrin., v.6, №3, p.223-229 (1977).