

Секция «Биоинженерия и биоинформатика»

Общая реакция ядрышка на окислительный стресс в опухолевых клетках человека

Братцева Анна Леонидовна

Студент

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

E-mail: anabellabr@mail.ru

Ядрышко — наиболее крупный домен клеточного ядра, присутствующий в подавляющем большинстве клеток эукариот [3]. Его основной и универсальной функцией является синтез рибосом. Кроме того, согласно данным последних лет, ядрышковые белки принимают участие в регуляции клеточного цикла, апоптоза и старения. Одна из наиболее интересных, обнаруженных функций ядрышка – восприятие сигналов клеточного стресса и их передача к системе стабилизации опухолевого супрессора p53 [2, 5]. Известно, что в условиях окислительного стресса, индуцируемого как внутренними, так и внешними факторами, уровень активных форм кислорода (АФК) значительно повышается, что может приводить к повреждениям антиоксидантной защиты клетки и вызывать цитопатические эффекты. Патофизиология многих серьезных заболеваний, включая раки, ишемии, нейродегенеративные заболевания связана с окислительным стрессом. Нарушение окислительно-восстановительного баланса клетки приводит к повреждению молекулярных компонентов клетки, включая нуклеиновые кислоты, белки, липиды. Однако, сведения о функциональном состоянии ядрышка и о конкретных ядрышковых белках, вовлеченных в этот процесс, остаются крайне ограниченными.

В настоящей работе были изучены общие морфологические изменения ядрышка, его функциональная активность и поведение белков ядрышка фибрилларина и нуклеофозмина (N23), участвующих в процессинге рРНК и сборке рибосом, в условиях окислительного стресса, индуцированного пероксидом водорода в клетках человека HeLa [1, 4]. Функциональную активность ядрышка оценивали методом визуализации транскрипции с помощью 5-флуороуридина. Поведение белков ядрышка в условиях окислительного стресса изучали методами непрямой иммуноцитохимии, иммуноблоттинга и методом FRAP (Fluorescence Recovery After Photobleaching, восстановление флуоресценции после фотообесцвечивания) в сочетании с EGFP-маркированием белков и конфокальной лазерной микроскопией.

Результаты настоящего исследования показали, что воздействие H₂O₂ приводит к значительным изменениям морфологии ядрышка, блокирует транспорт рРНК из ядрышка в цитоплазму, а также транскрипцию рДНК. Кроме того, полученные результаты показали, что белки ядрышка фибрилларин и нуклеофозмин быстро и, более того – специфичным образом - реагируют на окислительный стресс. Это проявляется, в частности, в изменении характера локализации исследуемых белков, и снижении электрофоретической подвижности фибрилларина с ~34 кДа до 37-38 кДа после длительного воздействия окислителя. Методом FRAP нами выявлены изменения динамических свойств фибрилларина после инкубации живых клеток с H₂O₂, начиная с 1 мин после начала воздействия. Полученные результаты позволили заключить, что метод FRAP относится к одним из наиболее «чувствительных» методов анализа свойств белков ядрышка в жи-

вых клетках, а белок фибрилларин является ранним сенсором окислительного стресса в клетках HeLa.

Помимо фундаментального значения, работа представляет также практический интерес для исследования эффективности и механизмов действия антиоксидантов.

Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (соглашение № 14.132.21.1765, соглашение № 8484).

Литература

1. Avitabile, D. Nucleolar Stress Is an Early Response to Myocardial Damage Involving Nucleolar Proteins Nucleostemin and Nucleophosmin // PNAS. 2011, №108(15). p. 6145–6150.
2. Boulon, S. The Nucleolus Under Stress // Mol Cell. 2010, № 40(2). p. 216–227.
3. Hernandez-Verdun, D. Nucleolus: the Fascinating Nuclear Body // Histochem Cell Biol. 2008, №129. p. 13–31.
4. Lam, Y.W. Proteomics Analysis of the Nucleolus in Adenovirus-Infected Cells // Mol. Cell. Proteomics. 2010, № 9(1). p. 117-30.
5. Suzuki, A. A New PICTure of Nucleolar Stress // Cancer Sci. 2012, №103. p. 632–637.