



МЕЖДУНАРОДНЫЙ СИМПОЗИУМ «БЕЛКИ В РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ПЕЧЕНИ»

В период с 15 по 17 октября 1989 г. в Швейцарии (Базель) проходил международный симпозиум на тему «Белки в регуляции экспрессии генов печени». Научные сообщения, представленные в виде обзорных докладов (27) и стендовых сообщений (96), были высокоинформативными, прекрасно иллюстрированными и отражали новейшие достижения и направления исследований в молекулярной гепатологии.

Преобладающая часть сообщений симпозиума была посвящена проблеме регуляции экспрессии эукариотического генома на претрансляционном уровне. Новые представления относительно регуляции экспрессии на уровне матрицы ДНК изложил проф. Д. Виттиг (D. Wittig, Институт молекулярной биологии и биохимии, ФРГ). Существенную роль в поддержании дифференциальной активности генома в ряду клеточных поколений ученый приписывает специальным коротким РНК, программирующим образование нуклеосом (nrg-РНК). Эти РНК образуют гибриды с кодирующей нитью ДНК и, вытесняя вторую нить ДНК, формируют R-петлю. Последняя повышает регулярность расположения нуклеосом в соседних участках ДНК и сохраняет в свободном от нуклеосом состоянии цис-регуляторные участки инициации транскрипции.

В большом количестве докладов и стендовых сообщений рассматривались вопросы регуляции транскрипции. В докладе Дж. Шютца (G. Schutz, Онкоцентр, ФРГ) изложены сведения о регуляции экспрессии тканеспецифического гена печени тирозинаминотрансферазы. Этот ген активируется глюкокортикоидами и глюкагоном. Ответ со стороны ДНК опосредуется двумя энхансерами. Первичная структура энхансера, стимулируемого глюкокортикоидами, не отличается от первичной последовательности энхансера, стимулированного другими стероидными гормонами. Стероид-специфическая экспрессия гена осуществляется путем дифференциальной экспрессии рецепторов к разным гормонам. Действие глюкагона опосредуется вторым энхансером в результате

взаимодействия последнего с сАМР. Обнаружен тканеспецифический фактор TseI, «тканеспецифический гаситель», который конкурирует с сАМР за связь с энхансером. В геноме обнаружены два трансдействующих локуса, которые осуществляют позитивную и негативную регуляцию экспрессии гена тирозинаминотрансферазы.

В исследованиях, проведенных под руководством проф. М. Ялива (M. Yaniv, Институт Пастера, Франция), охарактеризованы цис-регуляторные элементы инициации транскрипции и соответствующие им транскрипционные факторы для альбуминового гена. Свойства одного из факторов, HNF (APF), который связывается также с промоторами генов фибриногена, альбумина, α_1 -антитрипсина, альфафетопротейна и ряда других, обсуждались также в докладах Дж. Крэбтри (G. Crabtree, Стэнфордский университет, США) и Р. Кортезе (R. Cortese, Европейская лаборатория молекулярной биологии, ФРГ). Фактор выделен в чистом виде. Он представлен гликозилированным белком с молекулярной массой 88 000, содержит гомеодомен и два мотива, сходных с районами транскрипционных факторов семейства ROU. Получена кДНК фактора. В частично дедифференцированных гепатоцитах фактор имеет меньшую молекулярную массу и не обладает активирующей способностью.

Проф Г. Фэй (G. Fey, ИИИ Скрипс-клиники, США) сообщил о цис-регуляторных элементах инициации транскрипции тканеспецифического гена печени α_2 -макроглобулина, кодирующего у крыс основной белок острой фазы. Охарактеризованы транс-факторы, опосредующие действие основного индуктора синтеза белков острой фазы, интерлейкина 6 (ИЛ6). Обнаружено сходство между цис-регуляторными элементами ответа на ИЛ6 у генов, кодирующих различные белки острой фазы. Клонирована к ДНК к рецептору ИЛ6. В дедифференцированных клетках печени обнаруживается синтез мРНК ИЛ6 наряду с мРНК других факторов (HSF), избирательно стимулиру-

ющих экспрессию генома в печени. Эти синтезы не происходят в дифференцированных гепатоцитах. Таким образом, при дедифференцировке инициация транскрипции генов белков острой фазы ауторегулируется. Инициация транскрипции тканеспецифического гена транскриптин регулируется двумя клеточеспецифическими цис-регуляторными элементами и пятью транскрипционными факторами — четырьмя тканеспецифическими (HNF₁₋₄) и одним общеклеточным (AP1) (R. Costa, Иллинойский университет, США).

Обнаружены два новых цис-регуляторных элемента инициации транскрипции гена альфафетопротеина. Один из них обладает энхансерной активностью и прилегает с 5'-стороны к стартовой точке транскрипции, другой же — его антагонист — находится внутри кодирующей части гена (C. Szrieger et al., Брюссельский университет, Бельгия). Для *c-fos*-гена идентифицированы составные элементы четырехмерного комплекса, формирующегося в области ответа на действие сыворотки (SRE). В интактной (A. Nordheim, Молекулярно-биологический центр, ФРГ), регенерирующей печени и в гепатоме (Jan de Belle, Лаборатория джеления, Канада) взаимодействие комплекса с ДНК наблюдается независимо от действия эпидермального фактора роста. Полагают, что постоянство связи транс-факторов с цис-регуляторными элементами характерно для генов быстрого ответа. В гепатоме обнаружен дополнительный белок комплекса с молекулярной массой 120 000.

Регуляция активности общеклеточного транскрипционного фактора AP1 детально изучена под руководством проф. М. Карина (M. Karin, Калифорнийский университет, США). AP1 представляет собой гетеродимер *Jun:Fos*. Активность комплекса определяется процессами его образования, посттранскрипционной модификацией *Jun* путем фосфорилирования — дефосфорилирования, аутокаталитической индукцией гена *c-Jun* собственным продуктом и негативной регуляцией его неактивным белком *JunB*, конкурирующим с AP1. Модульная организация белка *Jun*, а также сравнительная онкогенность белков *v*-и *c-Jun* и молекулярные причины различий были представлены в докладе проф. П. Фогта (P. Vogt, Южнокалифорнийский университет, США).

В нескольких сообщениях симпозиума продемонстрированы достоинства сочетанного использования применительно к высшим эукариотам традиционных методов молекулярной биологии и генетики. Благодаря такому подходу открыто несколько регуляторных локусов и генов. Доктор

С. Глюксон-Вельш (S. Gluecksohn-Waelsch, Медицинский колледж Эйнштейна, США) сообщила о последовательности *hsdrl* в VII хромосоме мыши, которая регулирует экспрессию тканеспецифических генов печени в процессе развития. Продукт этого гена, вероятнее всего белок, действует на связывающийся с энхансерами типичный для печени транскрипционный фактор C/EBP и синергично с ним активирует кластер тканеспецифических генов.

Несколько исследовательских групп сообщили о регуляции экспрессии генома на посттранскрипционном уровне. Проф. В. Келлер (W. Keller, Биоцентр Базельского университета, Швейцария) представил данные о порядке сборки сплайсома, комплекса полиаденилирования и о механизмах копирования РНК. Помимо РНК на стадии посттранскрипционных изменений в состав комплексов входят РНК типа U, а также белковые факторы, среди которых находятся поли(A) полимеразы и два идентифицированных расщепляющих фактора. Обнаружен новый тип низкомолекулярной РНК И11. Посттранскрипционные изменения альбуминовой мРНК исследованы на альбуминовых крысах под руководством проф. Ф. Шалаби (F. Shalaby, Медицинский колледж Эйнштейна, США). Впервые *in vivo* обнаружены нарушения сплайсинга, констатируется возможность сплайсинга в 3'→5'-направлении. Последовательность в IX интроне регулирует переход мРНК из ядра в цитоплазму.

Мутации в кодирующей области α_1 -анти трипсинового гена человека нарушают экспрессию белка на этапе перехода его из эндоплазматического ретикулума (R. Sifers, Институт молекулярной генетики, США).

Группа сообщений посвящена анализу действия ростовых факторов и кининов на клетки печени. Закономерности биосинтеза ИЛ6 в различных клетках, взаимодействие его с рецепторами клеток печени, регуляция биосинтеза рецептора и, наконец, индукция гена α_2 -макроглобулина рассмотрены в докладе и в ряде стендовых сообщений, представленных проф. П. Гейнрихом и его сотрудниками (P. Heinrich, Институт биохимии, ФРГ). ИЛ6 продуцируется стимулированными моноцитами, фибробластами и эндотелиальными клетками с разным типом гликозилирования. Единичный гепатоцит содержит до 150 рецепторов к ИЛ6. Уровень ИЛ6 мРНК повышается под действием дексаметазона. Потенциальным индуктором ИЛ6 может быть ИЛ1, который вызывает образование арахидоновой кислоты, действует синергично с другими цитокинами, особенно с некротическим фактором и

ИЛ6. Действием двух регуляторных цепей, аутокринной и паракринной, определяется рост печени в динамике регенерационного процесса, по мнению проф. Н. Фаусто (N. Fausto, Браун-университет, США). Трансформирующий фактор роста TGF α является эффектором аутокринной цепи и физиологическим индуктором синтеза ДНК в гепатоцитах, коммитированных к пролиферации. Трансформирующий фактор TGF β ингибирует клеточную пролиферацию через паракринные механизмы. Вызываемые им изменения в организме носят защитный характер. Несвоевременное прекращение действия ИЛ1 может привести к гибели организма (Ch. Dipagello, Тафтс-университет, США).

О новом пути внутриклеточной передачи сигнала к геному сообщил проф. Кантли (L. Cantley, Тафтс-университет, США). Под его руководством исследовали механизм влияния инсулина на гепатоциты. После воздействия на клетку гормона находящаяся в цитозоле фосфатидилинозитол-3-киназа связывается с рецептором инсулина. Эта киназа фосфорилирует фосфатидилинозитол-4-фосфат и фосфатидилинозитол-4, 5-бифосфат, образуя путь передачи сигнала, отличный от пути с участием ипозитол-1, 4, 5-трифосфата.

Амплификации генов как наиболее часто встречающейся форме изменчивости генома был посвящен доклад проф. Р. Шимке (R. Schimke, Стэнфордский университет, США). Дополнительные цепи ДНК образуются в результате избыточной репликации, которая может быть спровоцирована различными факторами, вызывающими кратковременную остановку синтеза ДНК—ингибиторами синтеза, индукторами появления сшивок (УФ-лучи, псоралены, канцерогены). Подверженность или устойчивость к амплификации зависит от совершенства регуляции переходных моментов клеточного цикла G₁/S и G₂/M. По мнению проф. П. Херлиха (P. Herlich, Институт генетики и токсикологии, ФРГ), амплификация индуцируется специфическим белком, который активируется на посттрансляционном уровне поврежденной ДНК.

Устойчивость печени к действию естественных и искусственных цитотоксических факторов связана с экспрессией *MDRI*-гена, кодирующего Р-гликопротеин, который транспортирует цитотоксические вещества через плазматическую мембрану. Исследования на трансгенных мышах (M. Gottesman, Национальный институт здоровья, США) позволили определить минимальную дозу гена, необходимую для защиты клеток от цитотоксических химиотерапевтических ве-

ществ *in vivo*. Повышенная экспрессия *MDRI*-гена при злокачественных новообразованиях у человека определяет, по-видимому, нечувствительность опухолевых клеток к химиотерапии.

Многие сообщения отразили результаты изучения неэпителиальных клеток печени. Как, например, фибробластов синусоидов печени, в которых депонируются жиры (G. Ramadori, Университет в Майнце, ФРГ; M. Rojkind, Медицинский колледж Эйнштейна, США). Фенотип этой клеточной популяции у каждого индивидуума определяет восприимчивость к циррозу после хронического поражения печени.

В ряде сообщений рассматривались результаты использования достижений молекулярной гепатологии в экспериментальной и практической медицине. Проф. Г. Вебер (G. Weber, Медицинская школа Университета штата Индиана, США) сообщил о стойкой ремиссии у больных лейкозом при блокировании ключевых ферментов синтеза GTP-ипозинмонофосфатдегидрогеназы и гуанинфосфорибозилтрансферазы. В аналогичных исследованных *in vitro* снижается экспрессия протоонкогена *gas*.

Выраженный тропизм вируса гепатита В (HBV) к печени связан, по мнению проф. Г. Акса (G. Acs, Школа медицины г. Синай, США), с конститутивным синтезом в печени белка, способного связываться с онкопротеином HBV. Обработка линии клеток, свежей или хронически индуцированных двумя разными типами печеночных специфических вирусов, с помощью аналога дезоксигуанозина 2CDG приводит к почти полному прекращению репликации вируса. Поскольку 2CDG элиминирует и эписомную ДНК HBV, то тем самым препятствует интеграции ее в геном и последующему злокачественному перерождению печени.

Разработки для тканеспецифической генотерапии представили проф. Г. Ву (G. Wu, Центр здоровья Университета штата Коннектикут, США) и проф. Р. Муллиган (R. Mulligan, Институт биомедицинских исследований, США). В качестве тканеспецифического вектора использовали азиалогликопротеин, ковалентно сшитый с поликатионом. Система тестировалась на маркерном гене CAT.

В заключительном слове президент Международной ассоциации гепатологов проф. И. Ариас (I. Arias, Тафтс-университет, США) проанализировал достижения в области молекулярной гепатологии и очертил направления для будущих исследований.

Материалы симпозиума находятся в библиотеке ИМБиг АН УССР.

© М. Ю. ОБОЛЕНСКАЯ, 1990