

цитах з 1,04 в інтактної групи тварин до 2,28 у сенситивізованих, що показує на активацію процесів транскрипції в Т-лімфоцитах.

Застосування тималіну й тимогену приводить до активації генетичного апарату клітин, а це у свою чергу активує метаболізм імунокомпетентних клітин, що приводить до проліферації та диференціації Т-лімфоцитів. Найбільшу активність має тимоген.

УДК 616.34+577.115

1. Свенсон К., Узбестер П. // Клетка. – М., 1980. 2. Де Робертис Е., Новинский В., Сазс Ф. // Биология клетки ядра. – М., 1974. 3. Ченцов Ю.С., Поляков В.Ю. // Ультраструктура клеточного ядра. – М., 1974. 4. Зегенбуш Г. // Молекулярная и клеточная биология. – М., 1982. – Т. 1, 2. 5. Кучеренко М.С. // Биохимия нуклеиновых кислот. – К., 1976. – С. 190–204. 6. Хесин Л.Е. Размеры ядер и функциональное состояние клеток. – М., 1967. – С. 14. 7. Zweite L., Dex.V. // Activity of bith mouse and Chinese hamster ribosomal RNA genes in somatic cell hybrids // Exptl. cell Res. – 1979. – Vol. 123. – P. 424–428.

Надійшла до редколегії 10.04.04

В.А. Ковальова, інж., Л.І. Кузьменко, асп.,
Ю.В. Степанов, канд. біол. наук, Л.І. Остапченко, д-р біол. наук

ДОСЛІДЖЕННЯ АКТИВНОСТІ ТИРОЗИНОВОЇ ПРОТЕЇНКИАЗИ В МЕМБРАНАХ КЛІТИН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА ЩУРІВ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ВИРАЗКИ

Досліджено активність тирозинової протеїнкінази в мембранах клітин слизової оболонки шлунка щурів у нормі й за дії різних ульцерогенних чинників. Показано, що у тварин з ерозивно-виразковими ушкодженнями слизової, викликаними аспірином, етанолом і стресом, активність тирозинової протеїнкінази змінюється по-різному: при аспіриновій і етаноловій виразках вона зменшується, а при стресовій підвищується.

Activity of tyrosine protein kinase in stomach mucous cell membranes in rats under different ulcerogenic factors action was investigated. It was shown that activity of tyrosine protein kinase changes in different ways in animals with erosive-ulcerous damages of mucous caused by aspirin, ethanol and stress. Under aspirin and ethanol ulcers it decreases but it increases under stress model.

Протягом останніх десятиріч у сфері інтенсивних наукових досліджень знаходиться патологія органів травлення. Виразкова хвороба шлунка – найпоширеніше захворювання органів травлення. Виразковий процес у шлунка є кінцевим етапом складного захворювання, у патогенез якого включені центральна нервова система, загальна ендокринна система, біогенні аміни та поліпептиди травної системи. Крім того, у механізмах утворення виразки беруть участь місцеві агресивні фактори й порушення механізмів захисту епітелія слизової оболонки [1].

Сьогодні виявлено суттєві зміни у функціонуванні тирозинових протеїнкіназ при патології органів травлення. Дослідження цих ферментів викликає певний інтерес, тому що тирозинові протеїнкінази залучені до здійснення важливих метаболічних процесів, зокрема ростових функцій, передачі внутрішньоклітинних сигналів, імунної відповіді тощо. Активність тирозинових протеїнкіназ дуже часто асоціюється з проліферацією пухлин.

Метою роботи було дослідити активність протеїнкіназ у мембранах клітин слизової оболонки шлунка щурів в умовах дії різних ульцерогенних чинників.

Матеріали та методи. Експерименти проводили на щурах-самцях з масою тіла 150–200 г. Тварин було поділено на 4 групи (по 10 тварин у кожній). 1 група – контроль; 2, 3, 4 групи – щури, в яких моделювали аспіринову, етанолову та стресову виразку [2]. Визначення активності тирозинових протеїнкіназ проводили за рекомендаціями [3]. Про активність тирозинових протеїнкіназ судили за включенням $^{32}\text{P}_n$ із ($\gamma\text{-}^{32}\text{P}$ -АТФ) в ангіотензин II.

Результати та їх обговорення. Тирозинові протеїнкінази – це бісубстратні ферменти, які каталізують переніс фосфатних груп від АТФ на Туг залишки білкових субстратів. Фізіологічна активність рецепторних тирозинових протеїнкіназ забезпечується компенсаторною дією системи рецепторних тирозинових фосфатаз, яка спрямована на автофосфорильовані тирозинові залишки, що входять до структури каталітичних доменів рецепторів ЕРФ. Таким чином, зв'язування рецепторних тирозинових протеїнкіназ цілком залежить від ступеня їх автофосфорильовання [4].

Надмірна чи невідповідна продукція гормонів, лігандів (ростових факторів), рецепторів, тирозинових протеїнкіназ або їхніх субстратів може призводити до надлишкового росту клітини. Будь-яке помилкове збільшення активності тирозинових протеїнкіназ у рамках сигнальної трансдукції

викликає дисбаланс системи контролю росту нормальних клітин, що спричиняє клітинну трансформацію [5].

Відомо, що активація ЕРФ-рецепторних тирозинових протеїнкіназ відбувається за міжмолекулярним механізмом шляхом взаємодії з цитокінами родини ЕРФ. ЕРФ регулює регенерацію епітеліоцитів слизової оболонки шлунка. Зниження секреції ЕРФ веде до підвищення секреції HCl.

Визначення активності указаної кінази показало, що за умов розвитку різних експериментальних моделей виразок шлунка, його активність змінюється по-різному: при аспіриновій і етаноловій моделях виразки шлунка спостерігалось зниження активності тирозинової кінази, а при стресовій активність ферменту зростає (рис. 1).

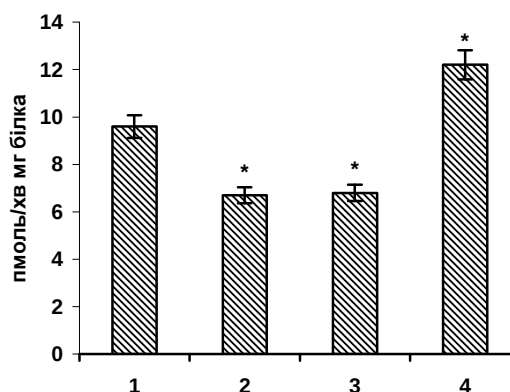


Рис. 1. Активність тирозинової протеїнкінази в мембранах клітин слизової оболонки шлунка щурів при різних експериментальних моделях виразки (1–контроль; 2–аспірин; 3–етанол; 4–стрес)

Підвищення активності ЕРФ-рецепторних тирозинових протеїнкіназ при стресовій виразці може свідчити про виникнення порушень у взаємодії ЕРФ з його мембранними рецепторами. Крім того, виявлений ефект може бути пов'язаним із залученням інших механізмів, які викликають гіперактивацію ЕРФ-рецепторних тирозинових кіназ за умов розвитку даної патології. Серед таких механізмів, перш за все, можуть бути конформаційні перебудови структури ферменту, які можуть привести до порушення його взаємодії з субстратами фосфотрансферної реакції та з регуляторами його активності.

Порушення функціональної активності ЕРФ-рецепторних тирозинових протеїнкіназ, які виникають у результаті виразкоутворення, надають підстави очікувати дисбаланс тригерних внутрішньоклітинних сигнальних послідовностей, які мають місце при трансдукції сигналу від ЕРФ і його рецепторів. Відомо, що в процес передачі сигналу від ЕРФ і його рецептора є залученою ще одна регуляторна система – аденілатциклазна. Нами показана участь вищезгаданої системи в біохімічних механізмах розвитку різних за походженням виразок. Зміни цАМФ-залежної протеїнкіназної активності в мембранах клітин слизової оболонки шлунка щурів цілком співпадають з порушеннями в функціонуванні мембранної тирозинкінази.

Можливою причиною зміни активності тирозинової кінази може бути посилення синтезу інтерлейкінів викликане утворенням виразки шлунка [6], які відіграють суттєву роль у регуляції активності саме цього ферменту. Іншим фактором, здатним впливати на активність даної кінази, може бути збільшення кількості амінокислот, зокрема ти-

розинових, у зв'язку з посиленням процесу деструкції білків за умов утворення виразки шлунка [7].

На підставі отриманих результатів можна зробити висновок, що досліджувані протеїнкінази є чутливим ланцюгом ув каскаді біохімічних реакцій, що є залученими до метаболічних шляхів які беруть участь у розвитку даного патологічного процесу.

1. Nardone G., d'Armiento F., Corso G. et al. // Gastroenterology. – 1994. – Vol. 107 (2). – P. 362–368.
2. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації / За ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова. – К., 2001.
3. Boutin J.C. Tyrosine protein kinase assays // J. of Chromatogr. – 1996. – Vol. 684 – P. 179–199.
4. Роль фосфорилирования в регуляции клеточной активности // Под ред. С.Е. Северина, М.Н. Кочетковой. – М., 1985. – С. 287.
5. Dariach J., Bara M., Guet Betra A. Magnesiura et cancer // Med. et nutr. – 1993. – Vol. 29, № 2. – P. 75–79.
6. Nishisaki H., Sakamoto C., Konda Y. et al. Effect of antiulcer drugs on phosphatidylcholine synthesis in isolated guinea pig gastric glands // Dig Dis Sci. – 1992. – P. 1593–1698.
7. Nishisaki H., Sakamoto C., Konda Y. et al. Effect of teprenone and H2-receptor antagonists on phosphatidylcholine synthesis in the isolated guinea pig gastric glands // Nippon Shokakibyo Gakkai Zasshi. – 1990. – Oct. – P. 2352–2357.

Надійшла до редколегії 30.09.04

УДК 595.773.4

О.В. Жук, інж., І.А. Козерецька, канд. біол. наук

АНАЛІЗ НОВОЇ *miniature* (m^{42})-ПОДІБНОЇ ЛІНІЇ У *DROSOPHILA VIRILIS* ЗА ПЕРЕРОЗПОДІЛОМ КОПІЙ РЕТРОТРАНСПОЗОНУ *PENELOPE* ТА ДИСГЕННИМИ ВЛАСТИВОСТЯМИ

Описано нову крилова *miniature*-подібну мутацію, яку було виділено серед нащадків схрещувань ліній 9 і 160 *Drosophila virilis* унаслідок гібридного дисгенезу, який виникає при схрещуванні цих ліній за рахунок активації ретротранспозону *Penelope*. У новій лінії визначено розташування сайтів *Penelope* з метою порівняння їх з розподілом у лінії 160, що є батьківською. Установлено цитотип лінії, передбачено причино виникнення мутації та ймовірну локалізацію локусу *miniature* на цитологічній карті хромосом.

New miniature-like mutant m^{42} was observed in *Drosophila virilis*. It was received by hybrid dysgenesis process, which is induced by mobilization of *Penelope* retrotransposon in dysgenic traits of strains 9 and 160. We have compared the distribution of *Penelope* sites in 160 and m^{42} chromosomes by *in situ* hybridization and have tested strain m^{42} for ability to induce hybrid dysgenesis in dysgenic traits. It was suggested cause of mutation appearance and most probable localization of miniature locus in *Drosophila virilis*.

Порушення функції генів, що відповідальні за ріст, диференціацію та розвиток клітин призводить до появи особин з різноманітними порушеннями, дослідження яких дозволяє встановити роль того чи іншого локусу в процесах формування організму. Існують загальнови-знані методи отримання мутантів у *Drosophila*, кожний з яких має свої переваги та недоліки. Явище гібридного дисгенезу є ефективним методом, який активно використовують для виділення широкого спектра мутацій. Закономірності переміщення, активації та розмноження Р-елемента *Drosophila melanogaster* вивчаються з 1977 року і є сьогодні найкраще вивченими на генетичному та молекулярному рівнях. Відомо, що основними ознаками гібридного дисгенезу, викликаного Р-М системою нестабільності, є збільшення частоти мутацій у нащадків, рекомбінація у самців та високий рівень стерильності особин обох статей унаслідок редукції клітин зародкового шляху [1]. У *Drosophila virilis* було описано декілька родин мобільних генетичних елементів, але ключовим елементом, що здатний викликати класичну картину гібридного дисгенезу та мобілізувати інших під час своєї активації є ретротранспозон *Penelope* [2]. Нині вивчено його структуру, визначено спосіб розмноження, але невідомо, яким чином відбувається регуляція його активності та вплив на копії мобільних елементів інших родин. Отримання мутацій у даній системі гібридного дисгенезу дозволяє дослідити закономірності їх виникнення та прослідкувати подальшу поведінку мобільних елементів в новоутворених лініях.

За допомогою системи нестабільності, пов'язаної з функціонуванням *Penelope*, нами отримано низку мутацій. Одна з них характеризується ознаками, що загалом відповідають відомій у *Drosophila melanogaster* мутації гену *miniature* (m), але також має свої, описані вперше, особливості. Відомо, що *miniature* *Drosophila melanogaster* входить до m - dy генного комплексу, продуктами якого є трансмембранні білки кутикули, що забезпечують формування кутикули й необхідні для диференціації епітеліальних клітин крила [3]. У даній роботі розглянуто характеристики мутантного алелю m^{42} , розподіл копій ретротранспозону *Penelope* та особливості ефектів, що виникають у дисгенних схрещуваннях отриманої лінії.

Матеріали та методи. Лінії *Drosophila virilis*. У роботі використані лабораторні лінії *Drosophila virilis*: 9 – лінія дикого типу з М-подібним цитотипом (популяція м. Батумі); 160 (маркована рецесивними мутаціями генів *broken* (b : 2–188,0), *gap* L2 (gp L2: 3–118,5), *cardinal* (cd : 4–32,2), *peach* (pe : 5–203,0) та *glossy* (gl : 6–1,0) по всіх аутосомах) є лінією з сильним Р-подібним цитотипом; лінія m^{42} , що містить *miniature*-подібний мутантний алель. Лінії підтримували шляхом масових схрещувань при температурі 25 °C на стандартному середовищі [4].

Наявність гонадного дисгенезу (gonadal dysgenesis – GD – assay). Для встановлення цитотипу лінії використовували схрещування двох типів: А-тест – схрещування самок лінії з М-подібним цитотипом (9) із самцями досліджуваної, та А*-тест – схрещування самок лінії, що тестується, із самцями лінії з сильним Р-подібним цитотипом (160). Отже, М-цитотип відповідає високому рівню редукції

© О.В. Жук, І.А. Козерецька, 2005