

ТРАНСКРИПЦИОННЫЙ ФАКТОР HIF1 НЕГАТИВНО РЕГУЛИРУЕТ СОДЕРЖАНИЕ ГЛЮКОЗО-6-ФОСФАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В КЛЕТКАХ НЕК293Т

© 2020 г. О. В. Ветровой^{1,2, *}, П. П. Нимирицкий³, Е. И. Тюлькова¹, Е. А. Рыбникова¹

¹Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, 199034 Россия

²Кафедра биохимии, Биологический факультет, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, 199034 Россия

³Институт регенеративной медицины, Медицинский научно-образовательный центр, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, 119192 Россия

*E-mail: vov210292@yandex.ru

Поступила в редакцию 18.05.2020 г.

После доработки 29.05.2020 г.

Принята к публикации 01.06.2020 г.

Выявление новых мишеней регуляции индуцируемого гипоксией транскрипционного фактора HIF1 является актуальной задачей клеточной и молекулярной биологии. С использованием индуктора накопления HIF1 хлорида кобальта (CoCl₂) и блокатора его трансляции топотекана проверяли ранее описанный на мозге крысы феномен супрессии ключевого фермента пентозофосфатного пути глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ) транскрипционным фактором HIF1. На первичной культуре фибробластов кожи крысы были определены нетоксические дозы CoCl₂ (50 и 100 мкМ) и топотекана (0.2 и 1 мкМ). На линии клеток эмбриональной почки человека НЕК293Т (Human Embryonic Kidney 293Т) исследовали взаимосвязь между накоплением HIF1α и содержанием Г6ФДГ методами вестерн блоттинг и дот-иммуноферментного анализа. Для проверки взаимосвязи между зависящим от дозы CoCl₂ и топотекана изменением содержания HIF1α и HIF1-зависимой экспрессии клетки НЕК293Т трансфицировали вектором, содержащим ген люциферазы под контролем HIF1-зависимого промотора (HRE), и определяли ее активность хемилюминесцентным методом. Было установлено, что CoCl₂ дозозависимо повышает содержание HIF1α и увеличивает люциферазную активность, способствуя уменьшению количества Г6ФДГ. Топотекан, напротив, снижает накопление HIF1α, что сопровождается уменьшением активности люциферазы и нормализацией содержания Г6ФДГ. Результаты подтверждают наличие супрессирующего действия транскрипционного фактора HIF1 на содержание первого фермента пентозофосфатного пути в клетках человека.

Ключевые слова: НЕК293Т, HIF1, CoCl₂, топотекан, пентозофосфатный путь, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа

DOI: 10.31857/S0041377120090084

Индуктируемый гипоксией фактор-1 (HIF1) является одним из ключевых регуляторов адаптации к гипоксическим условиям. HIF1 — транскрипционный фактор, представляющий собой гетеродимер белков HIF1α и HIF1β, имеющих ДНК связывающий домен, центральный PAS (Per-ARNT-Sim) домен, обеспечивающий гетеродимеризацию, а также N- и C-терминальные трансактиваторные домены, опосредующие запуск транскрипции (Semenza, 2001; Dengler et al., 2014). HIF1α накапливается в условиях гипоксии, тогда как HIF1β экспрессируется конститутивно. В присутствии кислорода HIF1α гидроксилируется пролилгидроксилазой, убиквитинилируется и подвергается протеасомной деградации (Смирнова и др., 2012). В условиях гипоксии в связи с отсутствием окислителя пролилгидроксилаза не функционирует, вследствие чего убиквитинили-

газа VHL (Von Hippel—Lindau) не распознает HIF1α, что приводит к его накоплению, димеризации с HIF1β и транслокации в ядро. В ядре гетеродимер HIF1 связывается с гипоксия-респонсивными элементами (HRE) промоторов, активируя транскрипцию генов-мишеней, в том числе фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), транспортера глюкозы-1 (GLUT1), ферментов гликолиза, лактатдегидрогеназы, цитокина эритропоэтина и многих других генов, необходимых для обеспечения комплексной программы адаптации к хронической гипоксии (Chavez et al., 2000; Semenza, 2001; Kim et al., 2006; Guo et al., 2008; Dengler et al., 2014; Sheldon et al., 2014; Lukyanova, Kirova, 2015). В настоящее время очевидно, что пути регуляции работы HIF1 намного сложнее и разнообразней. В частности, помимо пролилгидроксилазного есть еще аспарагингидроксилазный путь