

ГЕНЕТИКО-БІОХІМІЧНІ АСПЕКТИ СИНТЕЗУ КЕРАТИНІВ ВОЛОСЯНИМИ ФОЛІКУЛАМИ



Узагальнено досягнення з питань синтезу та генної регуляції кератинів вовноутворювальними структурами шкіри — волосяними фолікулами. Констатовано, що диференціація клітин матриксу волосної цибулини, як і нормальний ріст волоса, вимагають скоординованої дії багатьох генів, зокрема експресії тих, які пов'язані із синтезом структурних білків. Показано, що усі гени кератину фолікула кластеровані у родини і займають у геномі приблизно 5—10 kb. У даний час картовано окремі кластери двох родин IF генів (інтермедіальні протеїни волоса) і п'ять родин KAP-генів (кератин-асоційовані протеїни). Тісні зв'язки, які існують між ними, дають підставу стверджувати, що «глобальні» регуляторні домени здатні регулювати їх експресію.

Волос у широкому розумінні (волосся, вовна, щетина та ін.) є продуктом функціональної діяльності волосяних фолікулів — специфічних залоз мікроскопічних розмірів, цибулини яких служать секреторною ділянкою, а зовнішня коренева піхва — каналом. Морфобудові, розвитку та діяльності волосяних фолікулів присвячено чимало наукових праць — монографій, оглядів, статей [1—5, 7—8, 10—12].

Основною субстанцією волоса є твердий кератин (від грецького «керас» — ріг). Це типовий представник фібрилярних білків, характерною особливістю яких є високий вміст сірки. Окрім того, кератини відзначаються високою щільністю, погано розчиняються у воді, стійкі до дії багатьох хімічних чинників, у тому числі й ферментів [13].

Кератини характеризуються складною четвертинною структурою молекул. Субодиниці, які входять до їх складу, як це показано для найбільш вивчених кератинів волосся і вовни, відзначаються гетерогенністю як за молекулярною масою, так і амінокислотним складом [14]. Вовнове волокно — це, по суті, мультикомпонентна структура, яка складається приблизно із 170 окремих білкових молекул молекулярною масою від декількох тисяч до 100 000 кДа. Як у типовому представнику фібрилярних білків, частка спіральних частин у кератині становить приблизно 60 %, причому це в основному α -спіральна конфігурація, стабільність якої забезпечується внутрішньопептидними зв'язками.

Дослідження структури кератину вовни ґрунтується на його розчиненні, яке досягається попереднім окисленням або відновленням дисульфідних груп [13]. У результаті з овечої вовни було виділено три групи білків: з високою молекулярною масою і низьким вмістом сірки (фібрилярна структура), або інтермедіальні філаменти (IF); меншою молекулярною масою та високим вмістом сірки (глобулярна структура), або кератин-асоційовані протеїни (KAP), а також білки, які відзначаються високим вмістом тирозину та гліцину (gly/tyr KAPs).

Інтермедіальні філаменти (IF) належать до великого класу (суперродини) білків-кератинів, які у цитоплазмі багатьох епітеліальних клітин утворюють волокна розміром 8—10 нм. Вони представлені майже 30—50 індивідуальними протеїнами, які у свою чергу формують

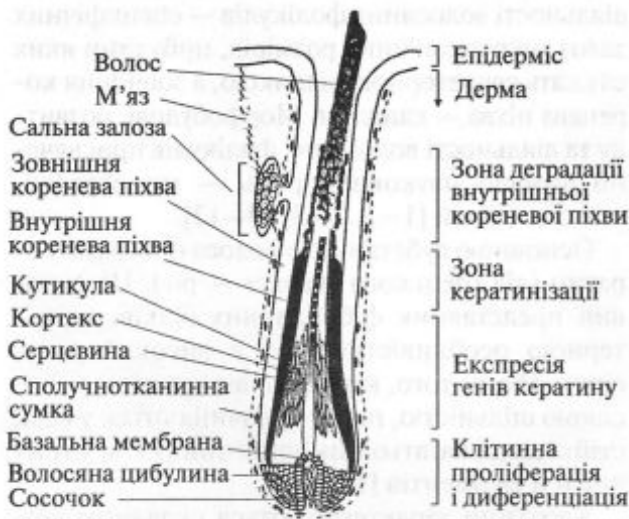


Рис.1. Схематичне зображення волосяного фолікула [13]

два типи — IF-1 і IF-2 [14, 15]. У межах кожного типу гомологічність між білками коливається від 50 до 90 %. Вони містять менше залишків гліцину і натомість більше цистеїну, що дає їм можливість утворювати поперечні дисульфідні зв'язки з матриксом, багатим цією амінокислотою.

Протеїни, які формують кератин-асоційовані сполуки, тобто *cysKAPs*, характеризуються високим та ультрависоким вмістом сірки (цистеїну), як, наприклад, UHS.

Гліцин-тирозинова група (*gly/tyr KAPs*), про яку згадувалось вище, характеризується високим вмістом тирозину та гліцину. Це пептиди малого розміру, молекулярна маса яких не перевищує 10 кДа. Відомо, що вони мають відношення до пластичності вовни.

Кератин-асоційовані сполуки, тобто *cysKAPs* білки, є надзвичайно гетерогенними. Принаймні зараз однозначно доведено, що кожна із 11 існуючих підгруп включає по декілька відмінних між собою представників.

За сучасним уявленням синтез кератину в мігруючих кератиноцитах волосяної цибулини починається відразу після останнього мітотичного поділу клітини і попадання її в зону над шийкою самого фолікула, тобто в так звану ділянку видовження (рис. 1). Тут клітини з хаотичного скупчення починають групуватися симетрично осі фолікула, а отже і майбутнього стержня волоса, і, відповідно, диференціюють-

ся в різні структури [2, 15,16]. Зокрема, матричні клітини, які розташовані навколо вершини сосочка, дають початок серцевині волоса, а ті, що біля основи сосочка — шару Генгле (зовнішньому шару внутрішньої кореневої піхви). Як згадувалось, синтез кератину не починається до того часу, доти клітини не втраять здатності до поділу і синтезу ДНК. Синтез ДНК відбувається виключно в зоні активного мітотичного поділу клітини, тобто в матриксі волоссяної цибулини.

Диференціація клітин матриксу волоссяної цибулини, як і нормальний ріст волоса в цілому, вимагають скоординованої дії багатьох генів волосяного фолікула, зокрема експресії тих, які пов'язані із синтезом структурних білків [17—20].

Загальна картина організації генів кератину була з'ясована протягом останнього десятиріччя, коли було встановлено, що всі вони згруповані (кластеровані) у родини і займають у геномі приблизно 5—10 т.п.н. У даний час картовано окремі кластери двох родин IF генів кератину і п'ять родин KAP-генів. Тісні зв'язки між ними дають підставу стверджувати, що «глобальні» регуляторні домени здатні регулювати їх експресію.

Що стосується інтермедіальних протеїнів (IF), то з'ясувалось, вони є першими диференційно-специфічними білками, які утворюються і, відповідно, акумулюються в кортикальних клітинах кортексу. У ході проліферативного циклу фолікула вони просуваються з волоссяної цибулини в напрямі стержня волоса [21]. Прийнято вважати, що структурна організація генів IF-кератинів є подібною до структури епідермальних генів. При цьому виявилось, що гени кератину типу IF I містять 6 інтронів, розміром по 4—5 т.п.н. кожний, тоді як гени кератину типу IF II містять 8 інтронів, а їх розміри становлять 7—9 т.п.н. [22, 23]. Дослідження з використанням *cRNA* зондів генів, рівно як і антитіл, показали, що гени кератину типу II частково експресуються під час диференціації кортикальних клітин, але в різні за часом стадії [24]. Зокрема, експресія гена K 2.12 наступає всередині циклу волосяного фолікула, причому в овець він кодує протеїн типу II [25].

Оскільки для формування IF-кератину необхідні як I, так і II типи протеїнів, то стає оче-

видним, що для цього необхідною є експресія генів обох типів. А ось для формування IF-кератину типу I необхідна узгоджена активація одного або декількох генів також типу II [23].

Що стосується генів кератин-асоційованих протеїнів (КАР-генів), то їх експресія відбувається у нижній ділянці волосяного фолікула і, що важливо, настає відразу після синтезу інтермедіальних філаментів, тобто IF-протеїнів.

Варто наголосити, що лише зовсім недавно стало можливим дати характеристику генів цієї великої групи, які кодуєть синтез білків у матриці волосяної цибулини. Кожен з цих генів має розмір 0,6—1,5 т.п.н., і важливо зауважити, що найхарактернішою особливістю їх є відсутність інтронів, що, по суті, вважається рідкісним явищем. У даний час описано експресію кортикальних КАР 4, 6, 9 і 11 генів [26]. Усі вони тією чи іншою мірою активуються в кортикальних клітинах різних ділянок фолікула, починаючи з найнижчої і включаючи зону формування стержня волоса. При цьому слід відзначити, що в першу чергу експресуються ті гени, які кодуєть синтез КАР-білків, багатих гліцином та тирозином, зокрема КАР 6, КАР 7, КАР 8. І ще один дуже важливий момент, про який не можна не згадати. Йдеться про те, що у мериносових овець фолікули, як відомо, продукують волокна з яскраво вираженою білатеральною структурою, тобто наявністю у них ортокорткальних та паракорткальних клітин. Експресія згаданих генів обмежується тільки клітинами ортокорткального походження.

Як згадувалось, кератин-асоційовані протеїни відзначаються високим вмістом сірки, а отже цистину. З'ясувалось, що експресія генів, які кодуєть синтез цих кератинів, фіксується виключно в ділянці кортексу. Як правило, спочатку з'являються транскрипти КАР 1, 2, 3, які фактично є комплементарними до ділянки, в якій експресуються гени КАР 6, 7, 8. А ось гени родини КАР 4 експресуються дещо пізніше і виключно у паракорткальних клітинах [27].

Тепер щодо генів кутикули волосяного фолікула. Як відомо, у кутикулі експресуються гени кератин-асоційованих протеїнів типу КАР 5. Кожен представник цієї родини може містити приблизно 10 генів, розташованих у двох ділянках хромосоми [22].

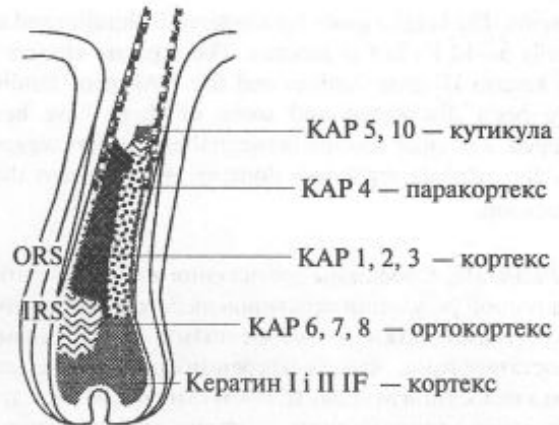


Рис. 2. Експресія генів інтермедіальних кератинів (IF) і кератин-асоційованих протеїнів (КАР) у волосяному фолікулі під час його диференціації [9]. Схема експресії генів кератину у різних типах клітин протягом диференціації волосяного фолікула. ORS — зовнішня коренева піхва; IRS — внутрішня коренева піхва

У кутикулярному шарі ідентифіковано кератин типу I [28]. Показано також, що у цьому шарі експресується ген К 1.4, а mRNA вперше з'являється у кератиноцитах, розташованих на верхівці ділянки волосяної цибулини, тобто у гермінативній зоні (матриці). Саме цей ген є одним з перших диференційовано-специфічних генів, які експресуються у кутикулі, до того ж він тотожний із геном К 2.12 - геном кератину типу II кортикального шару.

Не так давно [29, 30] була відкрита ще одна нова родина кутикулярно-специфічних генів КАР 10. Ці гени експресуються дещо згодом під час диференціації клітин цього шару.

І ще раз про гени, які кодуєть синтез білків, багатих тирозином і гліцином. Як з'ясувалось, принаймні дев'ять генів цієї родини білків (КАР 6) у геномі вівці розташовані в середині сегменту ДНК (1 м.п.н.), причому три з них всередині 40 т.п.н. [26]. Проведені дослідження показали, що локус гена КАР 1 цих протеїнів тісно пов'язаний з відповідним локусом гена інтермедіального кератину типу I, тобто KRT 1 на 11-й хромосомі вівці (рис. 2).

SUMMARY. In this review article the data about synthesis and gene regulation of keratin by hair follicles have been summarized. It has been shown that both differentiation of hair follicle matrix cells and normal growth of hair require the coordinated activities of the genes encoding structural

proteins. The keratin genes are clustered in families and are usually 5–10 kb in the genome. The separate clusters of two keratin IF gene families and five KAP gene families have been discovered and some of them have been mapped. The close relation between these clusters suggests that the «global» regulatory domains might govern their expression.

РЕЗЮМЕ. Обобщены достижения в области синтеза и генной регуляции кератинов шерстеобразующими структурами кожи — волосными фолликулами. Констатировано, что дифференциация клеток матрикса волосной луковицы, как и сам рост волоса, требует скоординированного действия многих генов и прежде всего экспрессии тех, которые связаны с синтезом структурных белков. Показано, что все гены кератина фолликула сгруппированы в семейства и в геноме занимают приблизительно 5–10 кб. В настоящее время картированы отдельные кластеры двух семейств IF-генов (интермедиальные протеины волоса) и пять семейств KAP-генов (кератин-ассоциированные протеины). Тесные взаимосвязи между ними дают основание утверждать, что «глобальные» регуляторные домены способны регулировать их экспрессию.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бабкина Е.М. Размножение клеток волосных фолликулов у овец. — Фрунзе : ИЛИМ, 1973. — С. 24.
2. Всеволодов Э.Б. Волосные фолликулы. — Алмата, 1979. — 190 с.
3. Birbeck M.S.C., Mercer E.H. The electron microscopy of the human hair follicle. Introduction and the hair cortex // J. Biophys. Biochem. Cytol. — 1957. — № 3. — P. 203–214.
4. Гуменюк В.В., Макар И.А., Швец С.Ф., Гуменюк А.Ю., Король В.И. Электронно-микроскопические и цитологические исследования морфогенеза волоса : Метод. рекомендации. — Львов, 1985. — 31 с.
5. Макар И.А. Пути улучшения качества шерсти. — К.: Изд-во УСХА, 1992. — 118 с.
6. Gillespie J.M. Molecular and cellular biology of keratins // Physiology, Biochemistry and Molecular Biology of the Skin / Ed. L.A. Goldsmith. — Oxford : Univ. press, 1991. — V. 1 — P. 669–710.
7. Marshall R.C., Orwin D.F.G., Gillespie J.M. Structure and biochemistry of mammalian hard keratin // Elec. Microsc. Rev. — 1991. — 4. — P. 47–83.
8. Rogers G.E., Harding H.W.J. Molecular mechanisms in the formation of hair // Biology and Disease of the Hair / Eds T. Kobori and W. Montagna. — Tokyo : Univ. press, 1976. — P. 411–438.
9. Powell B.C., Rogers G.E. Hair keratin : Composition, structure and biogenesis // Biology of the Integument / Eds J. Bereiter Hahn, A.G. Matoltsy, K.S. Richards. — Berlin : Springer-Verlag, 1986. — V. 2. — P. 696–721.
10. Седіло Г.М. Субстратно-гормональна регуляція процесів вовноутворення // Вісн. Аграрн. науки. — 2003. — № 9. — С. 34–37.
11. Hund P.I. The nutritional biochemistry of wool and hair follicles // Anim. Sci. — 2000. — 70. — P. 181–195.
12. Макар И.А., Станай П.В., Параняк Н.М., Гавриляк В.В., Лико І.Я., Седіло Г.М., Грабовська О.С. Морфобіологічні аспекти формування та росту вовни овець // Біологія тварин. — 2001. — Т.3 (1). — С. 53–63.
13. Powell B.C., Rogers G.E. Formation and Structure of human hair / Eds P. Jolles, H. Zahn, H. Hocker. — Basel : Birkhauser Verlag, 1997. — P. 108.
14. Fraser R.D.B., MacRae T.P., Rogers G.E. Keratins. Their Composition, Structure and Biosynthesis / Ed. C.C. Thomas. — Illinois : Springfield, 1972. — P. 310.
15. Steinert P.M., Marekov L.N., Fraser R.D.B., Parry D.A.D. Keratin intermediate filament structure: cross-linking studies yield quantitative information on molecular dimensions and mechanism of assembly // J. Mol. Biol. — 1993. — 230. — P. 43–452.
16. Steinert P.M., Freedberg I.M. Molecular and cellular biology of keratins // Physiology, Biochemistry and Molecular Biology of the Skin / Ed. L.A. Goldsmith. — Oxford : Univ. press, 1991. — V.I. — P. 113–147
17. Макар И.А. Биохимические основы повышения шерстной продуктивности овец. — М.: Колос, 1977. — 191 с.
18. Chapman R.E., Downes A.M., Wilson P.A. Migration and keratinization of cells in wool follicles // Austr. J. Biol. Sci. — 1980. — 33, № 5. — P. 587–603.
19. Casatorres J., Navarro J.M., Blessing M., Jorcano J.L. Analysis of the control of expression and tissue specificity of the keratin 5 gene characteristic of basal keratinocytes // J. Biol. Chem. — 1994. — 269. — P. 20489–20496.
20. Compton J.G., Ferrera D.M., Yu D.W. et al. Chromosomal localization of mouse hair keratin genes // Ann. N.Y. Acad. Sci. — 1991. — 642. — P. 32–43.
21. Jenkins B.J., Powell B.C. Differential expression of gene encoding a cysteine-rich keratin family in the hair cuticle // J. Invest. Dermatol. — 1994. — 103. — P. 310–317.
22. Powell B.C., Nesci A., Rogers G.E. Regulation of keratin gene expression in hair follicle differentiation // Ann. N.Y. Acad. Sci. — 1991. — 642. — P. 1–20.
23. Bertolino A.P., Checkla D.M., Heitner S. et al. Differential expression of type I hair keratins // J. Invest. Dermatol. — 1990. — 94. — P. 297–303.
24. Wilson B.W., Edwards K.J., Sleigh M.J. et al. Complete

- sequence of a type I microfibrillar keratin gene // *Gene*. — 1988. — 73. — P. 21—31.
25. Powell B.C., Beltrame J.S. Characterisation of a hair (wool) keratin intermediate filament gene domain // *J. Invest. Dermatol.* — 1994. — 102. — P. 171—177.
26. Powell B.C., Crocker L.A., Rogers G.E. Complete sequence of a hair like intermediate filament type II keratin gene // *DNA Sequence*. — 1993. — 3. — P. 401—405.
27. Sparrow L.G., Robinson C.P., Caine J. et al. Type II intermediate filament proteins from wool. The amino acid sequence of component 5 and comparison with component 7c // *Biochem. J.* — 1992. — 282. — P. 291—297.
28. Winter H., Siry P., Tobiasch E., Schweizer J. Sequence and expression of murine type I hair keratins mHa2 and mHa3 // *Exp. Cell Res.* — 1994. — 212. — P. 190—200.
29. Fratini A., Powell B.C., Rogers G.E. Sequence, expression and evolutionary conservation of a gene encoding a glycine/tyrosine-rich keratin-associated protein of hair // *J. Biol. Chem.* — 1993. — 268. — P. 4511—4518.
30. Fratini A., Powell B.C., Hund P.J. et al. Dietary cysteine regulates the levels of mRNAs encoding a family of cysteine-rich proteins of hair // *J. Invest. Dermatol.* — 1994. — 102. — P. 178—185.

Надійшла 11.01.06