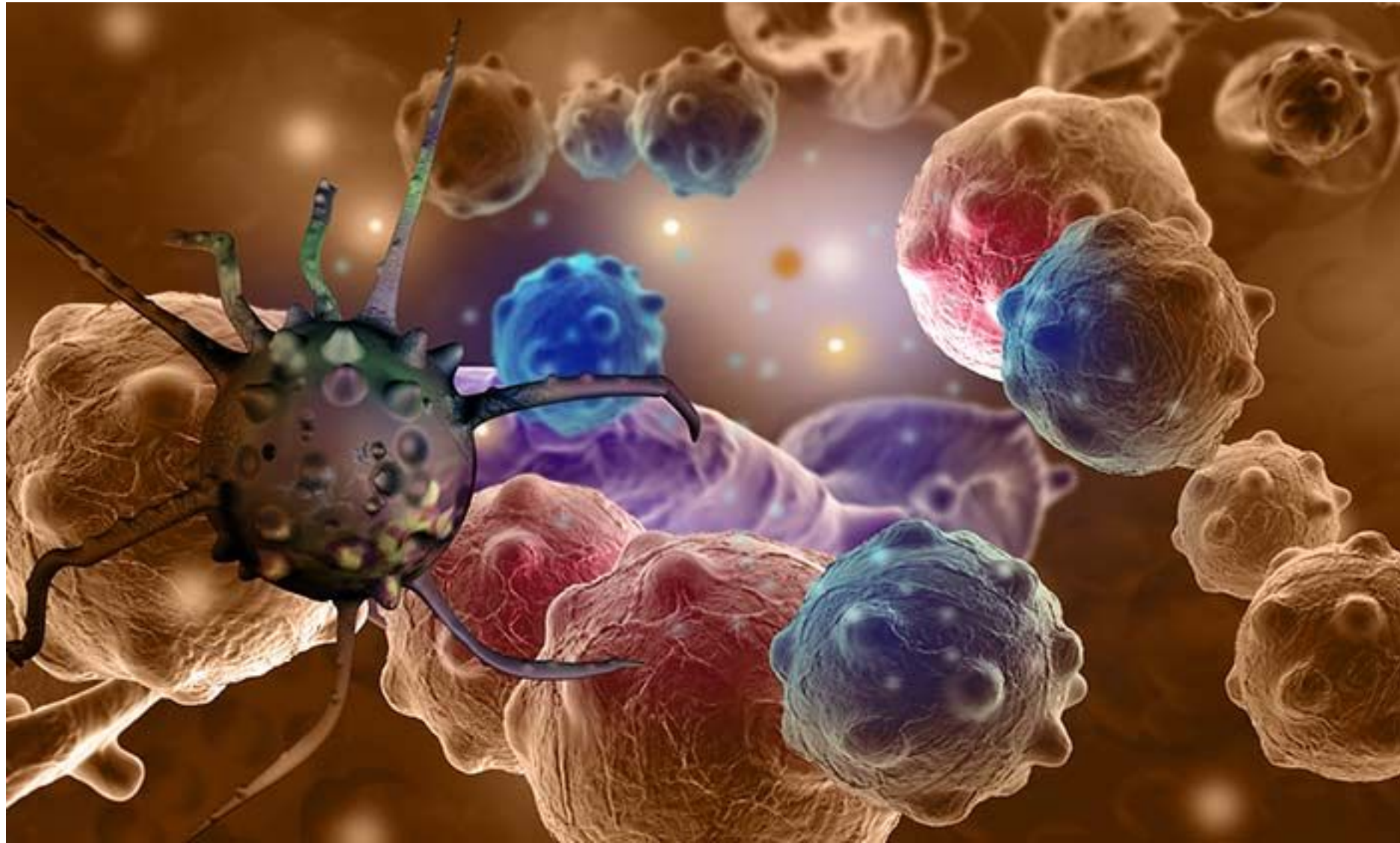


Биология рака: p53-мастер защиты



Выполнил студент 1.5.16в
Сейдинович Ален

Рисунок 9.1 Большой Т-антиген в клетках, трансформированных SV40.

Антитела, которые связывают большой Т (LT) антиген SV40, могут быть использованы для обнаружения LT в ядрах опухолевых клеток, трансформированных SV40. В данном случае такие антитела использовали для окрашивания эпителиальных клеток молочной железы человека (МЭК), трансформированных ранним введением области гена SV40 плюс двух других генов. Аналогичное изображение можно было бы увидеть, если бы такие антитела использовали для окрашивания мышинных клеток, трансформированных SV40. LT был обнаружен путем связывания этих молекул антител с ферментом пероксидазой, в результате чего образуются темно-коричневые пятна. На этом изображении ксенотрансплантата опухоли трансформированные МЭК обсе-

сече-

нии), которые окружены нормальными

стромальными клетками (голубые ядра

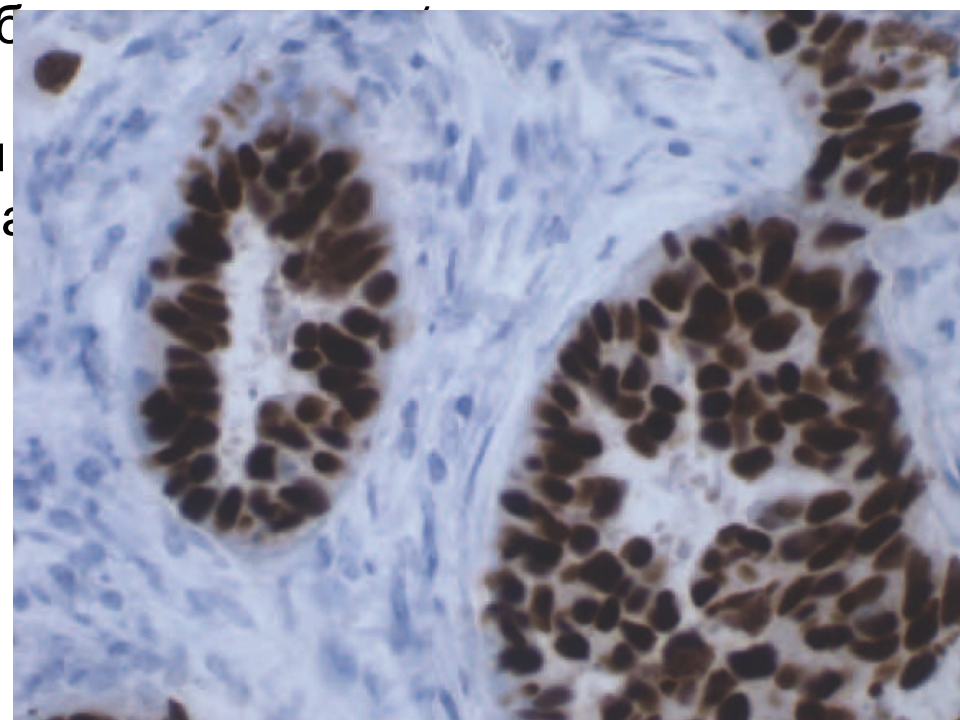
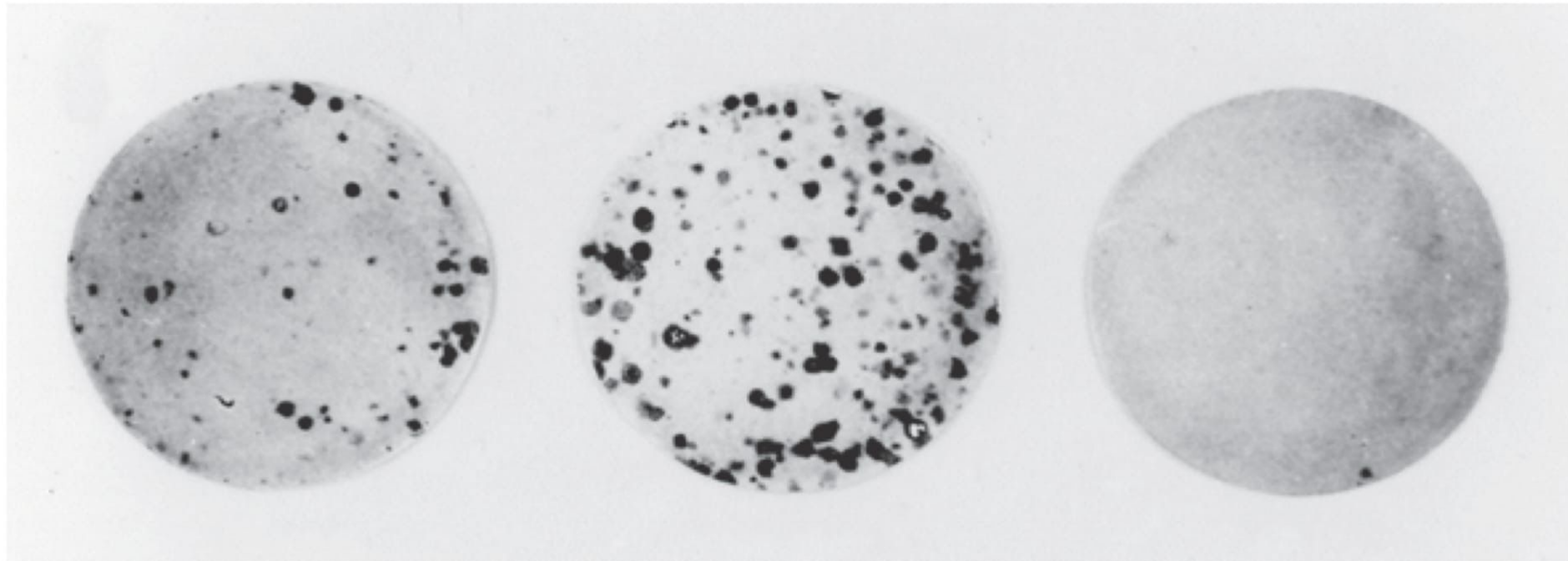


Рисунок 9.3 Влияние p53 на трансформацию клеток

кДНК, кодирующая онкоген *ras* была ко-трансфицирована несколькими альтернативными формами кДНК p53 в фибробласты эмбрионов крысы. В присутствии мутантного вектора p53 dl, который содержит практически полную делецию рамки считывания p53 (слева), образовывалось небольшое количество очагов. В присутствии точечной мутации p53 (в центре) образовывалось большое количество устойчивых очагов. Однако в присутствии клона кДНК p53 дикого типа (справа) почти не образовывалось



ras + p53
deletion mutant

ras + p53 val-135
point mutant

ras + p53
wild type

Рис. 9.4. Частота мутантных аллелей p53 в геномах опухолевых клеток человека

Как показано на этой гистограмме, мутантные аллели p53 часто встречаются при часто выявляющихся опухолях человека. Этот набор данных включает 26 597 соматических мутаций p53 и 535 мутаций зародышевой линии. Столбики показывают процент обнаруженных опухолей каждого типа, несущих мутантный аллель p53. Более поздние (119/123) карциномы

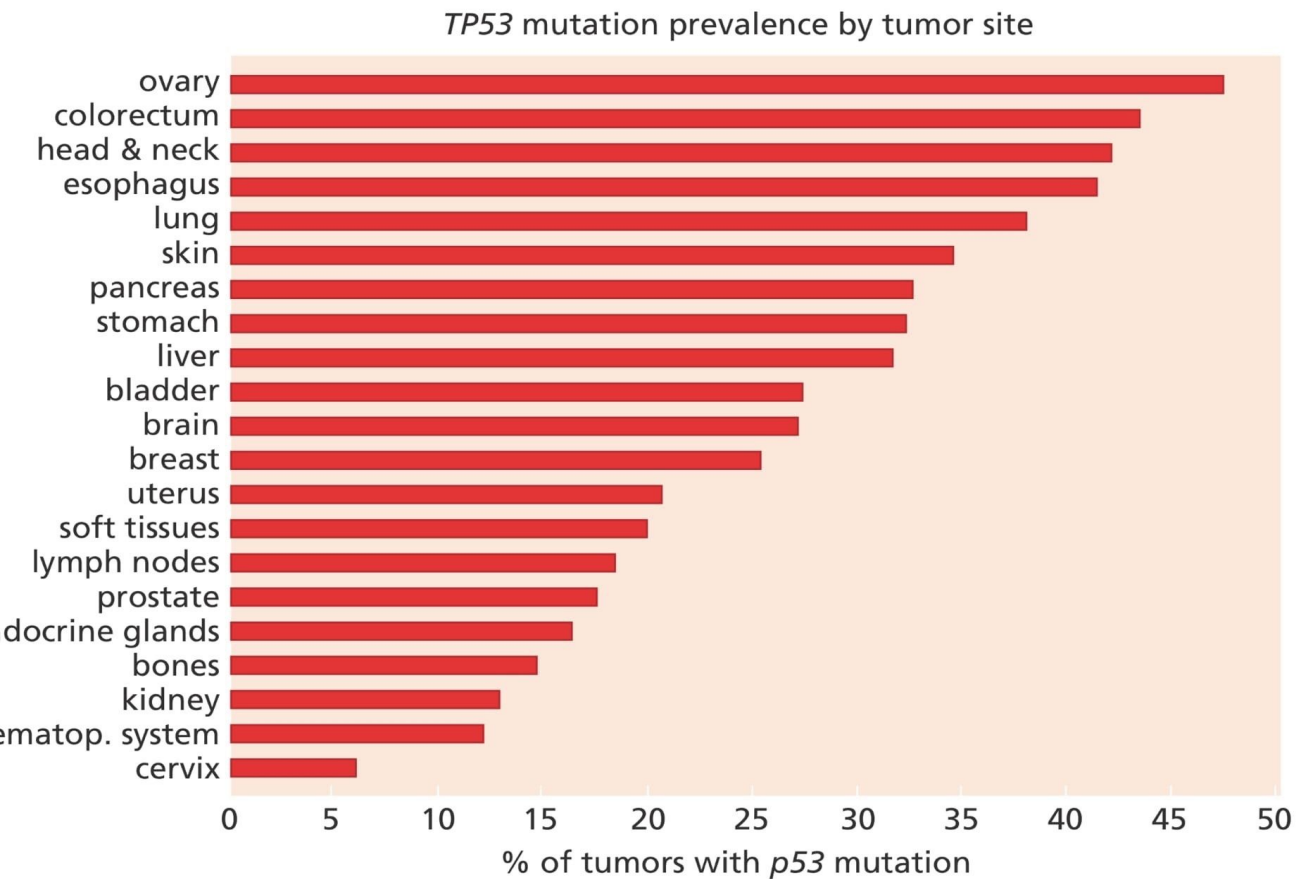


Рисунок 9.5. Влияние мутантных аллелей p53 на зародышевую линию мыши.

Этот график Каплана-Мейера показывает процент выживших мышей указанного генотипа (ордината) в зависимости от срока жизни в днях (абсцисса). В то время как отсутствие функции p53 у мышей $p53^{-/-}$ (несущих два нулевых аллеля p53) оказало относительно небольшое влияние на их эмбриональное развитие и жизнеспособность при рождении, это привело к значительному увеличению смертности на относительно ранних этапах жизни, главным образом из-за лейкемии. Все гомозиготы $p53^{-/-}$ умирают примерно к 250-дневному возрасту (красная линия), и даже у гетерозигот $p53^{+/-}$ (синяя линия) начали развиваться опухоли в это время, в то время как мыши дикого типа ($p53^{+/+}$) (зеленые line) до 500-дневного возраста.

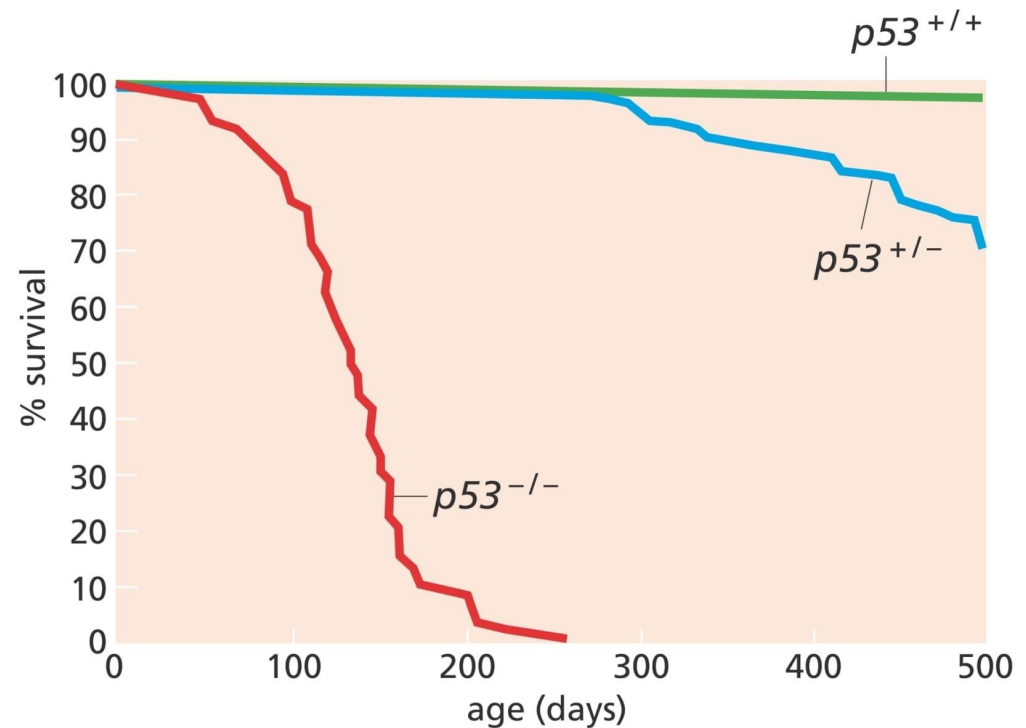
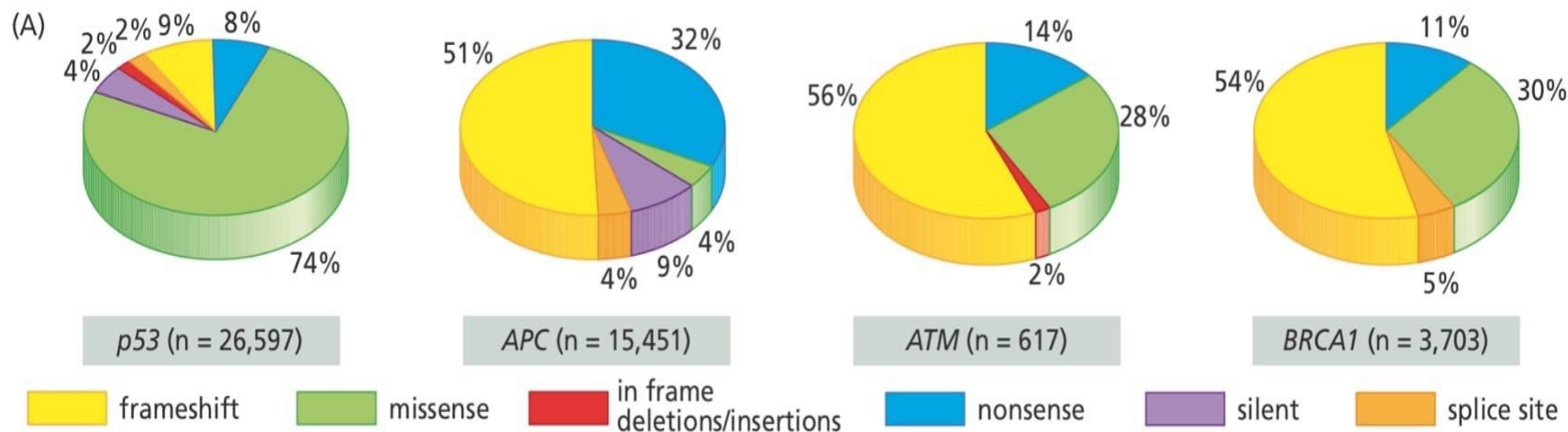


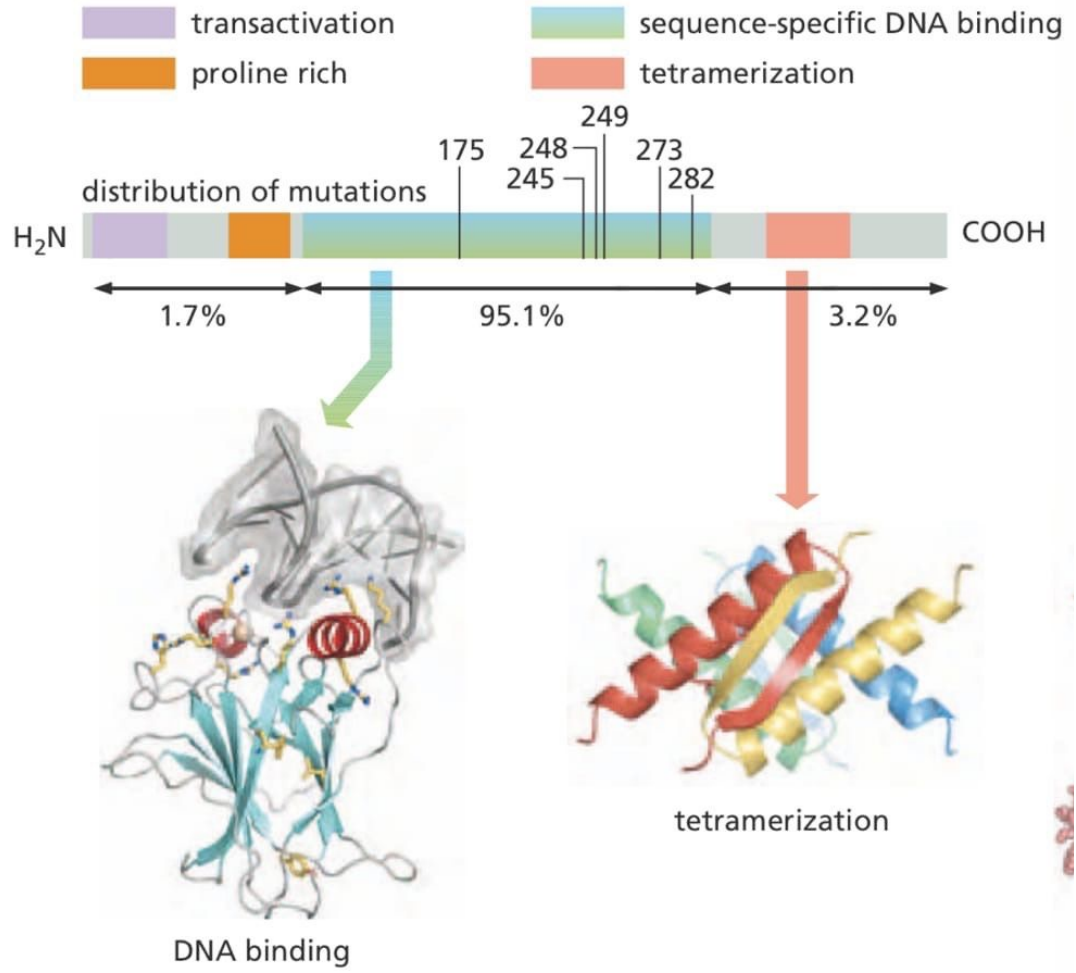
Рисунок 9.6 Природа мутаций p53

(A) Как указано на этих круговых диаграммах, точечно-мутированные аллели p53, приводящие к аминокислотной замене (зеленый) представляют подавляющее большинство мутантных аллелей p53, обнаруженных в опухолях человека, в то время как другие типы мутаций обнаруживаются относительно нечасто. Напротив, мутации, поражающие другие гены-супрессоры опухолей (APC) или гены-«смотрители», участвующие в поддержании генома (ATM, BRCA1) представляют собой сдвиги рамки считывания (желтый) или стоп-кодоны (синий) в большинстве случаев; оба этих типа мутаций нарушают структуру белка, обычно за счет создания усеченных версий белков, которые часто быстро разрушаются в клетках.



(B) Места в рамке считывания p53 точечных мутаций, вызывающих аминокислотные замены отмечены здесь (вверху). Очевидно, что подавляющее большинство мутаций p53 (95,1%) затрагивают ДНК-связывающий домен белка p53. Цифры над рисунком указывают номера остатков аминокислот, которые часто подвергаются замене в опухолях

(B)



(C) Общая структура тетрамера p53, связанного с ДНК, показана здесь. Четыре ДНК-связывающих домена показаны зеленым и синим цветом, в то время как четыре домена тетрамеризации показаны красным (вверху). Двойная спираль ДНК показана желтым цветом. Каждый из четырех трансактивирующих доменов (темно-розовый) показан взаимодействующим с доменом Taz2 ко-активатора p300 (светло-фиолетовый), который стимулирует транскрипцию за счет своей способности ацетилировать гистоны и сам p53. С-концевой домен (желтый) играет важную роль в регуляции транскрипции (C)

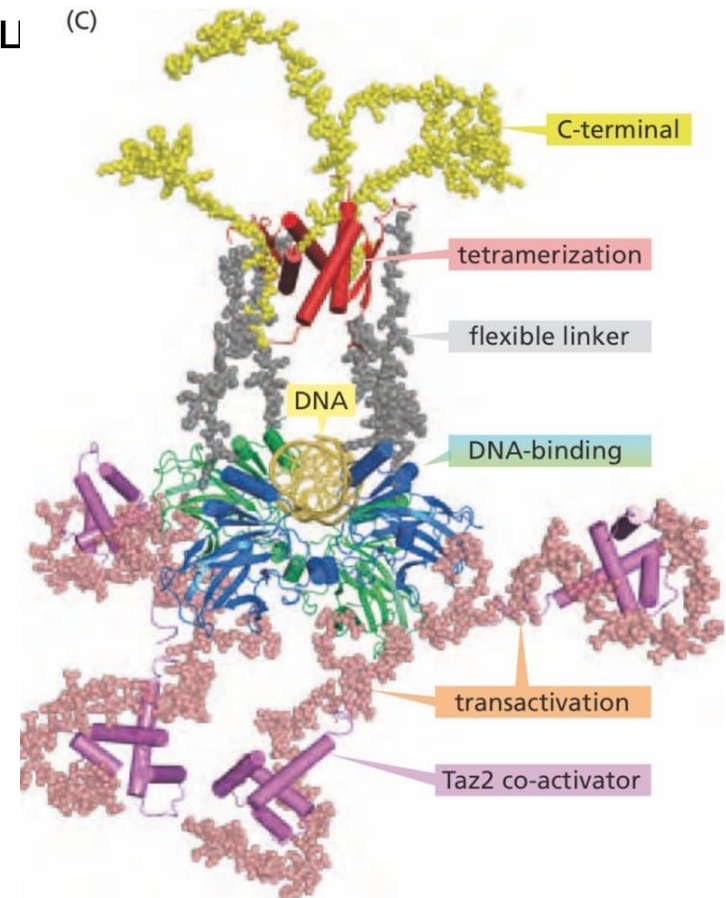
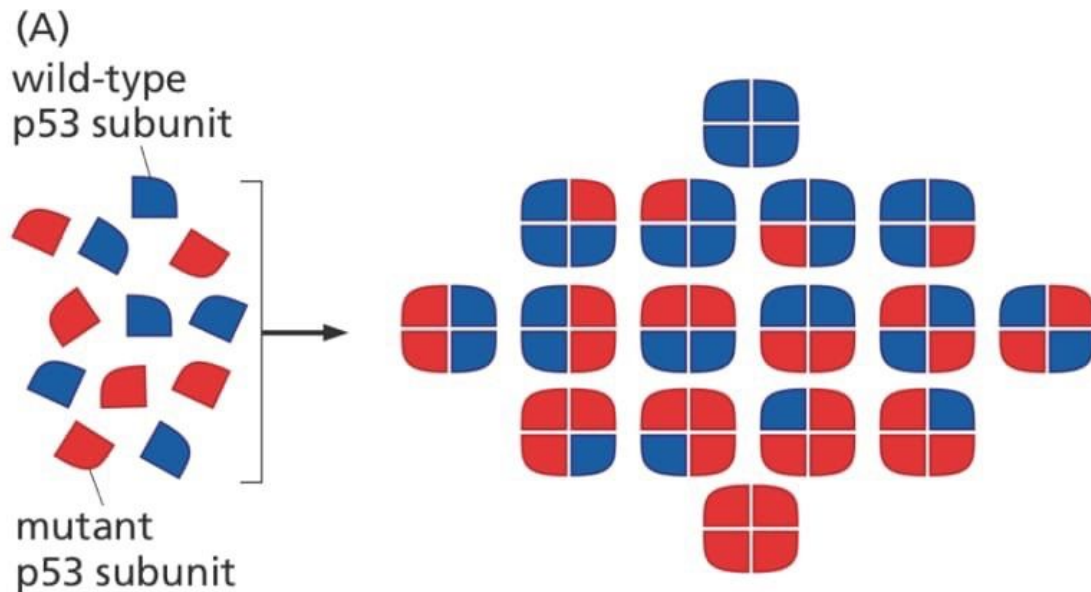


Рисунок 9.7. Структура и функция p53

(A) В клетках, несущих единственный мутантный аллель p53, мутантный белок обычно сохраняет свою способность образовывать тетрамеры, но теряет свою способность нормально функционировать из-за дефектного ДНК-связывающего домена. Следовательно, могут образовываться смешанные тетрамеры, состоящие из различных пропорций субъединиц p53 дикого типа (синий) и мутантного (красный), и присутствие даже одной субъединицы мутантного белка может поставить под угрозу функционирование весь тетрамер. Следовательно, в клетке, которая является гетерозиготной по локусу p53, пятнадцать из шестнадцати тетрамеров p53 могут не иметь полностью нормальной функции.



(B) Возможно, наиболее прямая демонстрация доминантно-негативного режима действия p53 произошла от «вбивания» мутантных аллелей p53 в геноме эмбриональных стволовых (ES) клеток мыши. В клетках, в которых произошла точечная мутация в ДНК-связывающем домене была «вбита» одна копия гена p53, почти вся функция p53 была потеряна. Напротив, когда одна копия гена p53 была полностью инактивирована (давая нулевой аллель), функция p53 была почти нормальной.

(B)

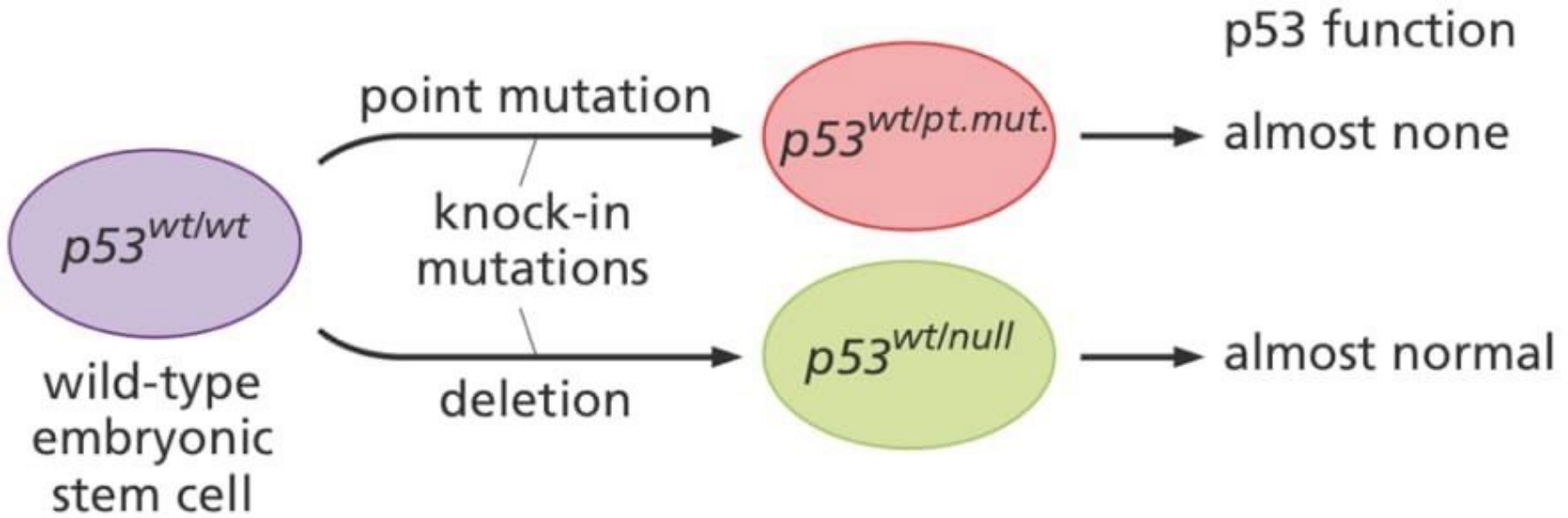


Рисунок 9.8. Сигналы, активирующие p53, и последующие эффекты p53.

Исследования функции p53 показали, что различные физиологические стрессы клетки могут вызывать быстрое повышение уровня p53. Полученный в результате накопленный белок p53 затем претерпевает посттрансляционные модификации и продолжает индуцировать ряд ответов. Цитостатический ответ («остановка клеточного цикла», часто называемая «остановкой роста») может быть либо необратимым («старение»), либо обратимым.

репарации ДНК могут быть мобилизованы, а также белки, которые противодействуют образованию кровеносных сосудов («блокирование ангиогенеза»).

В качестве альтернативы при определенных обстоятельствах p53 может вызвать апоптоз.

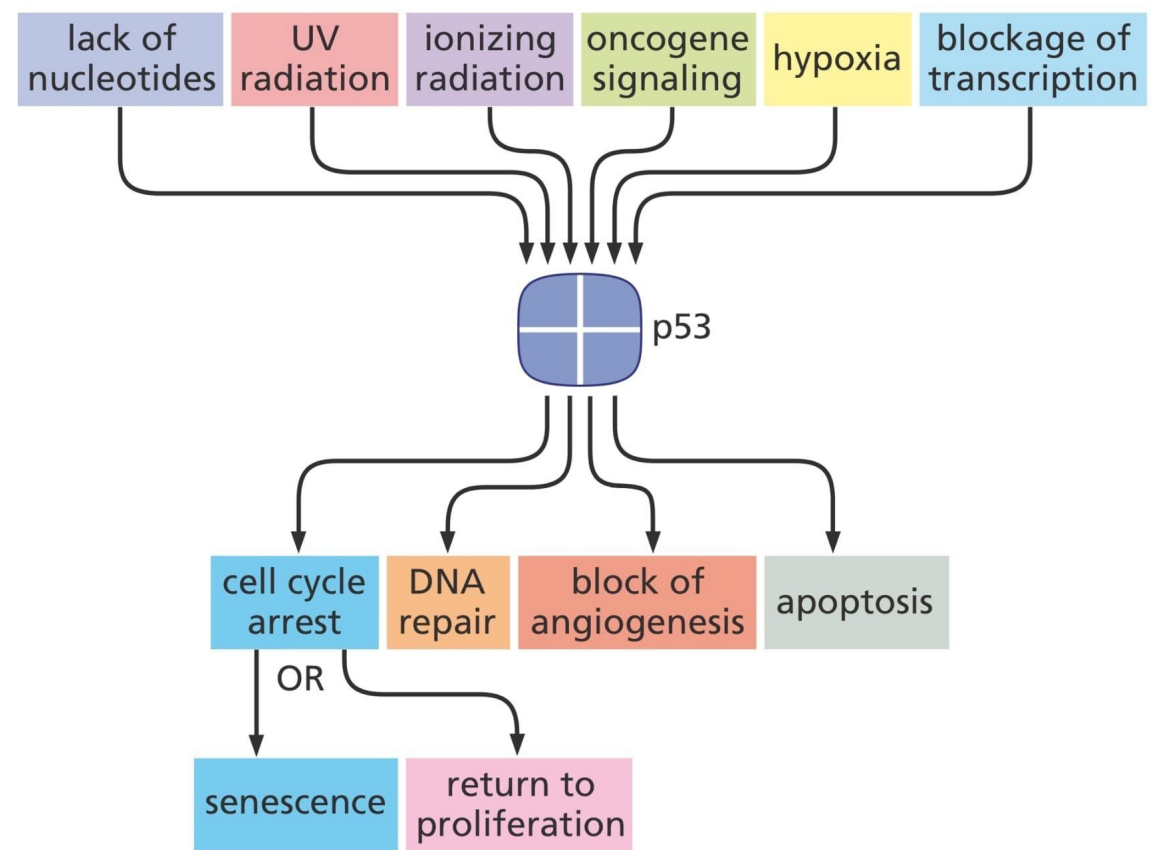


Рисунок 9.10. Контроль уровней p53 с помощью Mdm2.

После того, как концентрации p53 увеличиваются в ответ на определенные физиологические сигналы (не показаны), тетрамеры p53 связываются с промоторами большой группы генов-мишеней, транскрипция которых они индуцируют, включая ген, кодирующий Mdm2; это приводит к значительному увеличению мРНК mdm2 и белка Mdm2 (справа). Затем молекулы Mdm2 связываются с субъединицами белка p53 и инициируют их убиквитилирование, что приводит к экспорту дальнейшего убиквитилирования (не показано), приводит к деградации в протеасомах. Эта петля отрицательной обратной связи гарантирует, что уровни p53 в конечном итоге опустятся до низкого уровня, а в ненарушенных клетках помогает поддерживать уровни p53 на очень низком уровне.

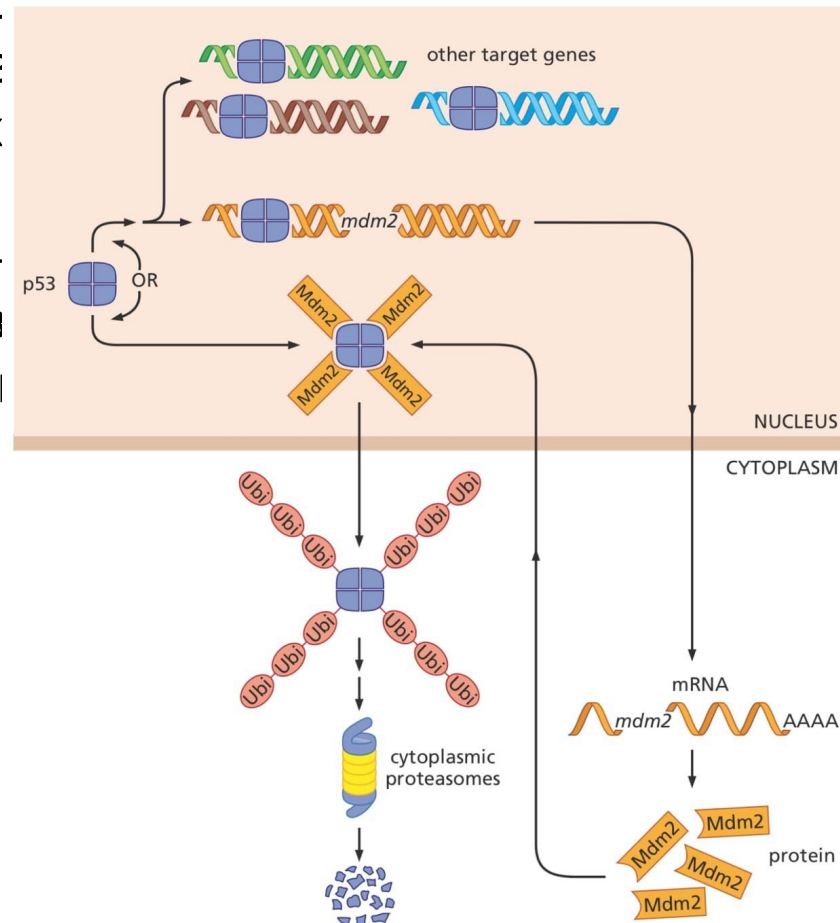
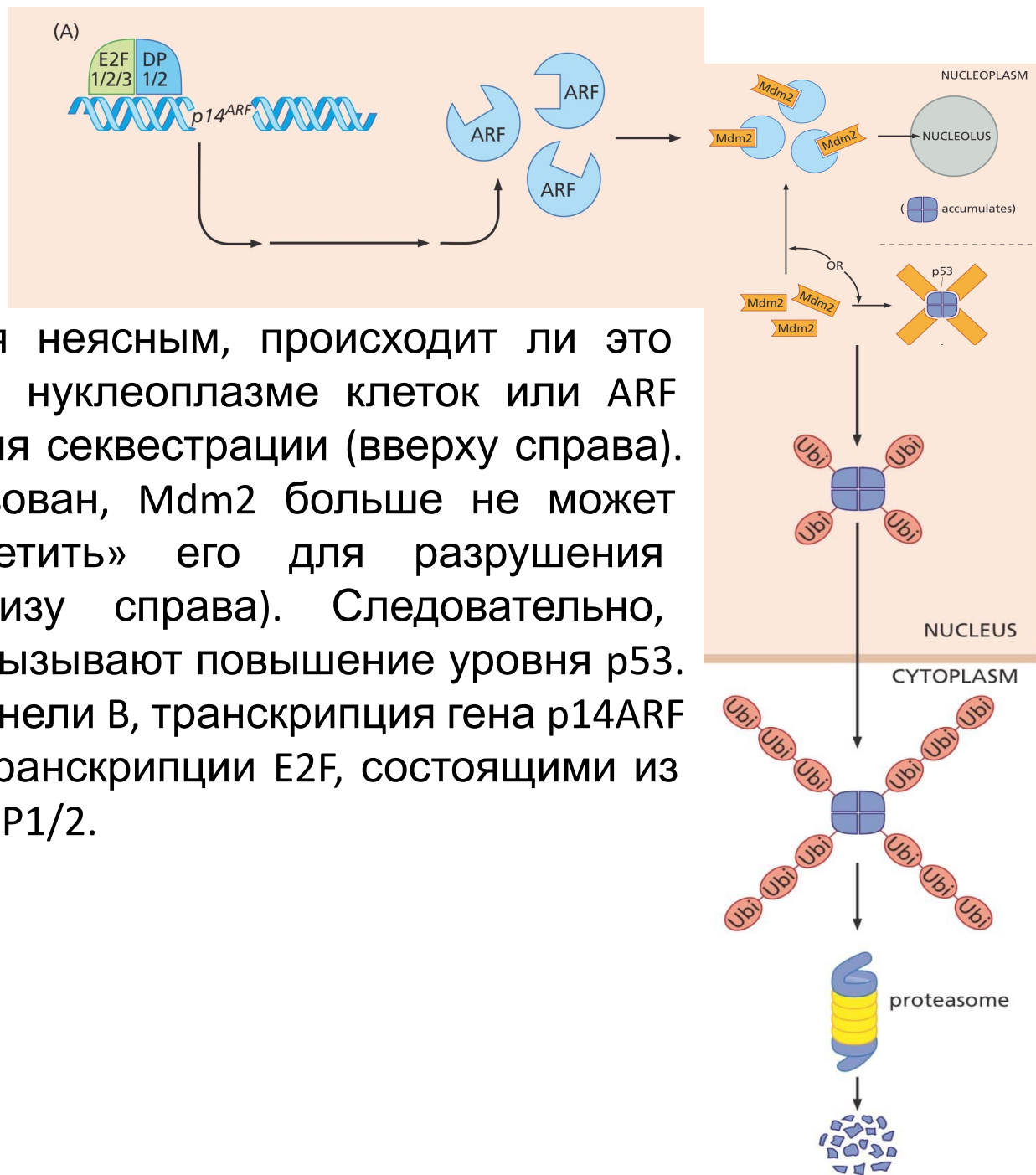
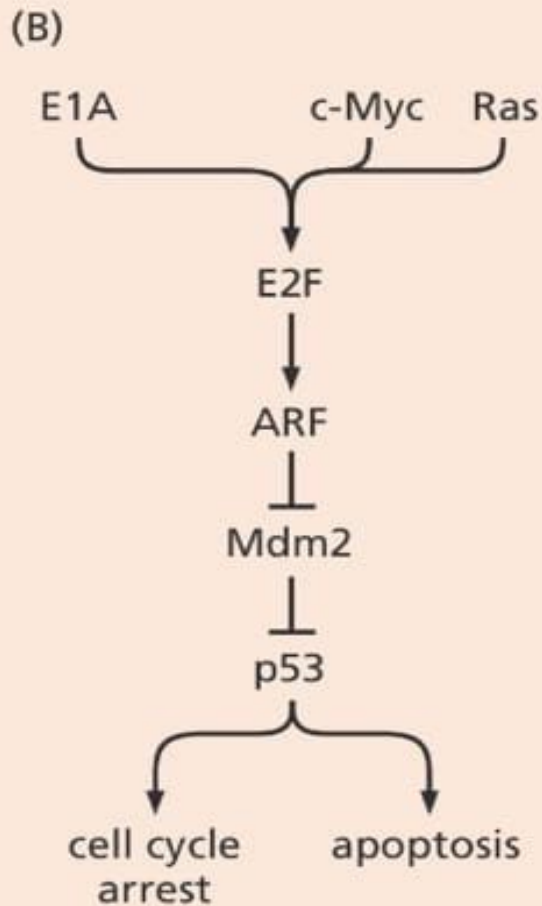


Рисунок 9.15. Контроль апоптоза с помощью ARF

(A) Белок p14ARF человека, называемый ARF на рисунке (голубой вверху), связывает и инактивирует Mdm2 (золотой); остается неясным, происходит ли это взаимодействие только в нуклеоплазме клеток или ARF тянет Mdm2 в ядрышко для секвестрации (вверху справа). Как только он нейтрализован, Mdm2 больше не может атаковать p53 и «пометить» его для разрушения убиквитилированием (внизу справа). Следовательно, повышенные уровни ARF вызывают повышение уровня p53. Как показано здесь и на панели B, транскрипция гена p14ARF управляется факторами транскрипции E2F, состоящими из E2F1/2/3 и их партнеров DP1/2.



(B) Различные онкогенные сигналы способствуют апоптозу благодаря их способности индуцировать активность E2F, что, в свою очередь, приводит к увеличению экспрессии ARF. К ним относятся аденовирус E1A, Мус (= c-Мус) и онкобелки Ras. Это указывает на то, что этот сигнальный путь эволюционировал для устранения клеток с чрезмерно активной передачей сигналов E2F.



(C) Одна копия гена, кодирующего p19ARF, была инактивирована в зародышевой линии мыши путем замены ее последовательностью, кодирующей GFP (зеленый флюоресцентный белок). Этим мышам (ARF + / GFP) и мышам дикого типа (ARF+/+) спаривали с другими, несущими трансген-Еμ-тум, который, как известно, вызывает В-клеточные лимфомы. У мышам ARF+/GFP Еμ-тум (красная линия) фатальные опухоли развивались намного быстрее, чем у мышам, несущих только трансген-Еμ-тум (зеленая линия), и клетки этих опухолей теряли оставшийся аллель ARF дикого типа. Следовательно, в отсутствие функции ARF прозаплаточные эффекты онкогена тум (B) в значительной степени теряются, что позволяет его пролиферативным эффектам доминировать опухоли.

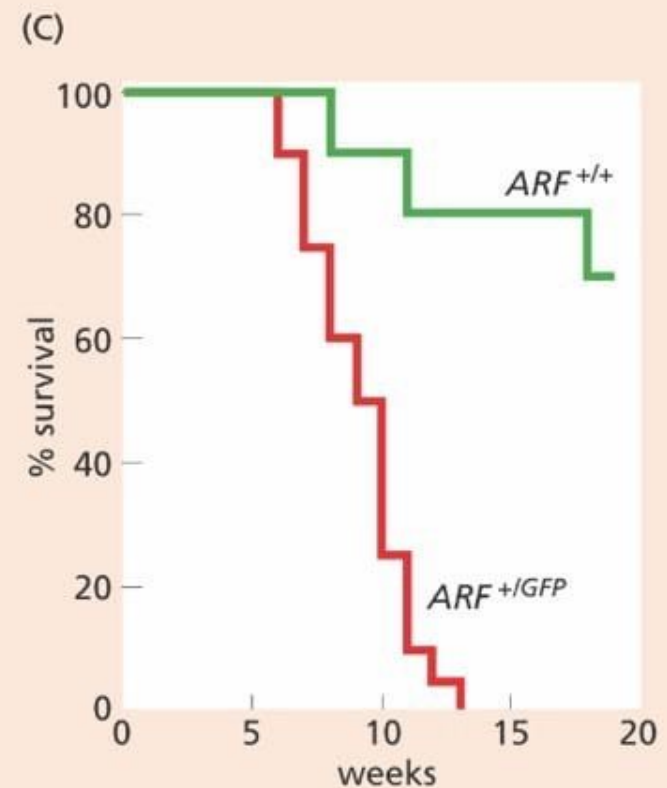


Рис. 9.21. Семейная предрасположенность к раку, обусловленная мутантными аллелями зародышевой линии р53.

Эта родословная семьи, страдающей синдромом Ли-Фраумени, выявляет множество видов рака, возникающих с повышенным уровнем заболеваемости. Такое разнообразие типов рака контрастирует с большинством семейных онкологических синдромов, при которых один тип рака обычно встречается с повышенной частотой. У членов семьи развились следующие злокачественные новообразования: рак груди (зеленый), глиобластома (желтый), лейкемия (фиолетовый), рак легких (синий), карцинома поджелудочной железы (оранжевый), саркома

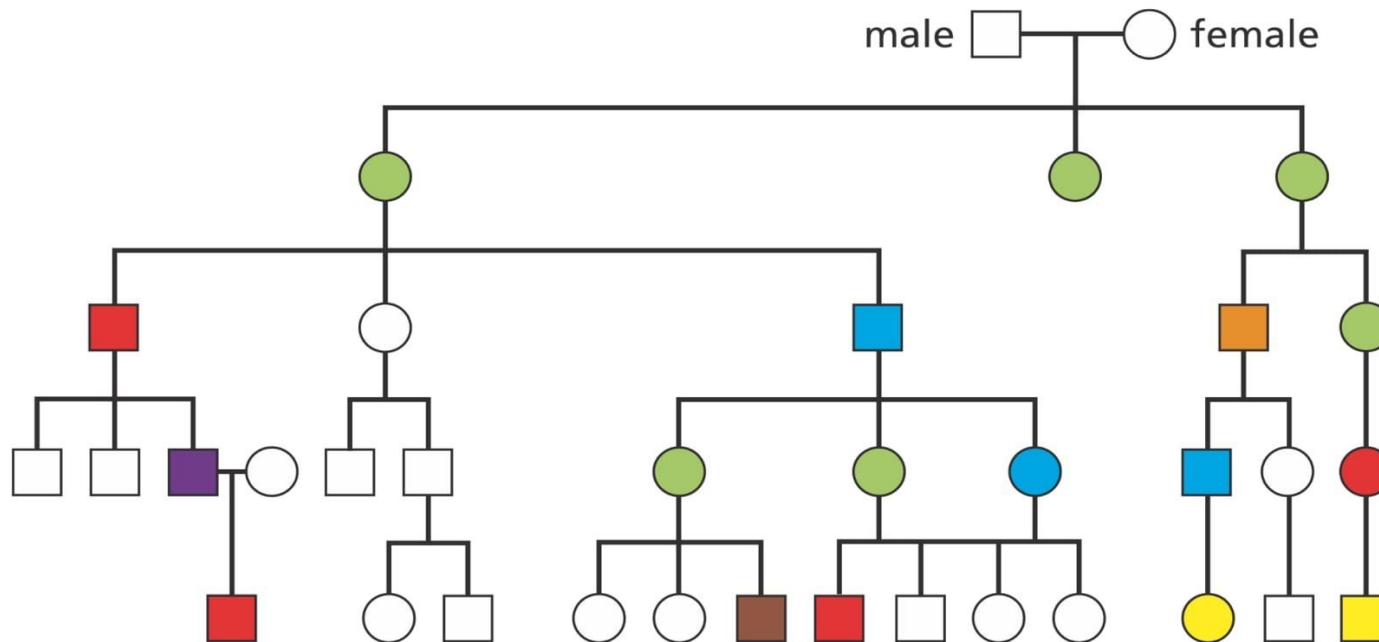
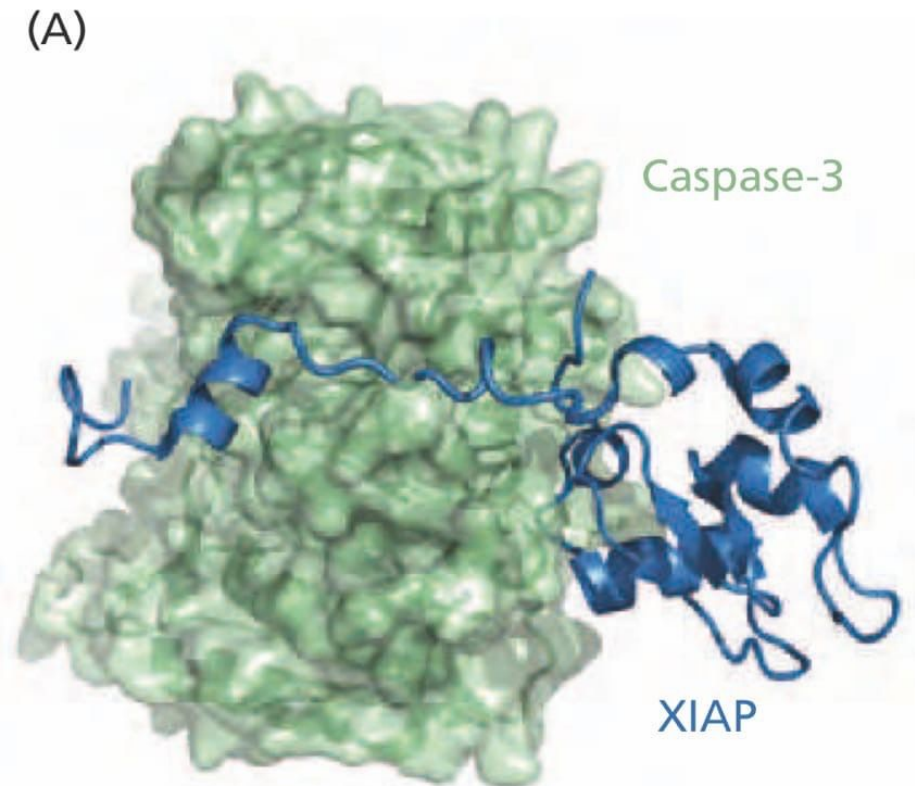
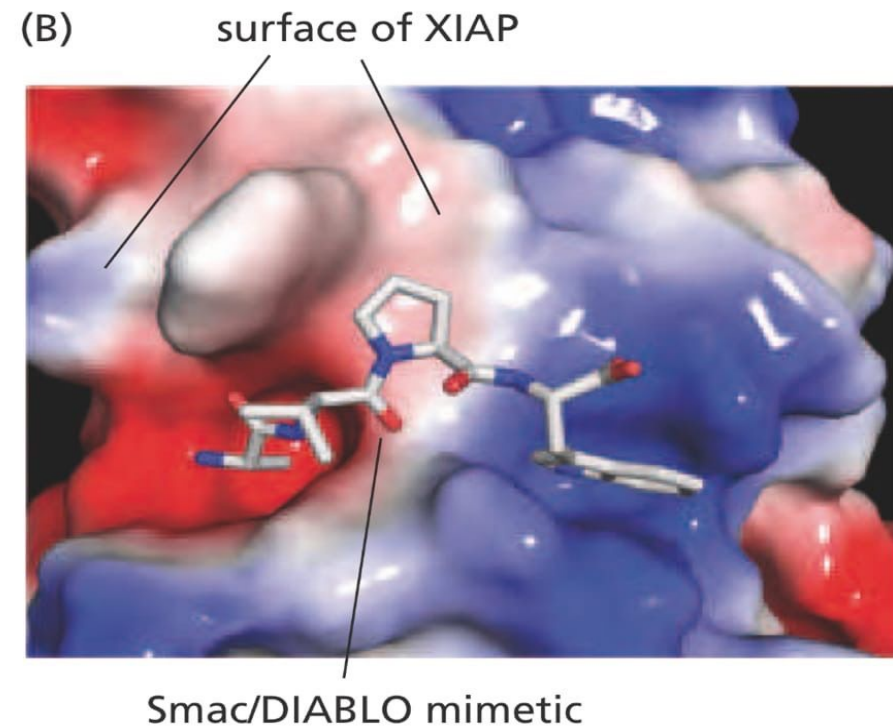


Рисунок 9.31 Структура и функции ингибитора апоптоза IAP (ингибиторы апоптоза) путем связывания и ингибирования различных молекул каспазы, тем самым предотвращая непреднамеренную активацию каскада каспаз и запуск апоптоза.

(A) Здесь показана молекулярная структура комплекса, образованного доменом BIR3 молекулы IAP, называемой XIAP, с каспазой 3. Домен BIR3 XIAP связывается с «карманом» для связывания субстрата каспазы, тем самым блокируя ее функцию.



(B) Молекула Smac/DIABLO предотвращает блокировку действия каспазы несколькими молекулами IAP, тем самым освобождая каспазы для запуска апоптоза. Химически синтезированные миметики Smac/DIABLO могут действовать аналогичным образом, способствуя апоптозу, что может оказаться полезным для уничтожения раковых клеток. Здесь показано, что тетрапептид, который имитирует действие Smac/DIABLO, связывается с «карманом» на поверхности XIAP, которая обычно связывает Smac/DIABLO. Были разработаны химические производные этого тетрапептида, которые действуют как сильнодействующие лекарственные средства, вызывающие апоптоз. Отрицательно заряженная поверхность (красная); положительно заряженная поверхность (синяя)



Библиография

1. «The Biology of CANCER» Robert A. Weinberg SECOND EDITION

