

Основаы биосигнализаии:

Сигнальный путь митоген-активируемой протеинкиназы (МАПК)

Митоген-активируемая протеинкиназа (МАП-киназа, МАПК)

Mitogen-activated protein kinase pathway (МАРК-pathway)

Одним из элементов адаптации метаболизма клеток является запуск пролиферативных процессов. Быстрый переход к пролиферации актуален в физиологических процессах: иммунный ответ, регенерация и функционировании стволовых клеток. Пролиферация важна также в процессах роста и формирования тканей и органов.

Митогены (соединения, несущие пролиферативный сигнал):

- цитокины (интерлейкины, интерфероны, ФНО и др.);
- ростовые факторы;
- некоторые гормоны (инсулин);
- медиаторы воспаления;
- некоторые физические факторы.

Сигнальный путь (каскад) МАП-киназы – основной путь передачи пролиферативных сигналов. Он действует во всех известных типах клеток.

Путь МАП-киназы начинается от **рецепторов, обладающих собственной тирозинкиназной активностью**. На дистанции от рецептора до каскада из трёх протеинкиназ, фосфорилирующих и активирующих транскрипционные факторы, работают **ряд белков-посредников**, важнейшим из которых является **малый G-белок** (мономер) или **белок Ras (Rat sarcoma): Ras/МАП-киназный путь (Ras/MAPK-pathway)**.

Путь МАП-киназы «выключен» (неактивен) в полностью дифференцированных и неделящихся клетках. При необходимости репарации поврежденной ткани МАП-каскад вновь активируется. Некоторые типы опухолей возникают при нарушении регуляции каскада (при не «выключении» каскада).

Помимо МАП-киназного пути, эффекты митогенов могут быть переданы посредством **цАМФ (ПКС), JAK – STAT- сигнального пути и др.**

Этапы и механизмы формирования Ras/MAPK – сигнального пути

1. Взаимодействие **лиганда** (митогена) с **рецептором**, относящимся к классу рецепторов с собственной тирозин-киназной активностью. Рецепторы образуют гомодимер (гетеродимер), что изменяет конформацию цитозольных доменов и сближает их. В результате открывается собственная тирозин-киназная активность рецептора и происходит аутофосфорилирование остатков тирозина цитозольных доменов.

2. **Фосфотирозины** становятся **докинг-центрами**, с которыми связываются **адапторные белки**, посредством содержащихся в них **SH2-доменов (Src homology 2)**. **SH2-домены** обладают высоким сродством к аминокислотному окружению фосфо-тирозинов. Таким белком является белок **Grb2 (Growth factor receptor-bound protein 2)**. Наряду с SH2-доменами, в **Grb2** содержатся **SH3-домены (Src homology 3)**. **SH3-домены** имеют высокое сродство к последовательности аминокислот в других белках, содержащих **остатки пролина** (левозакрученная полипролиновая спираль II типа).

3. Белок **Grb2**, через свой **SH2-домен** связан с фосфотирозином цитозольного домена рецептора. С помощью своего второго домена (**SH3-домена**), белок **Grb2** связывается со следующим белком «вниз по течению»: **SOS** (от **Son of Sevenless** – название мутации белка **GEF** у дрозофил) или **GEF** (**g**uanine nucleotide **e**xchange **f**actor). Эта способность делает белок **Grb2** поливалентным белком.

SOS/GEF обменивает гуаниновые нуклеотиды в составе белка **Ras**.

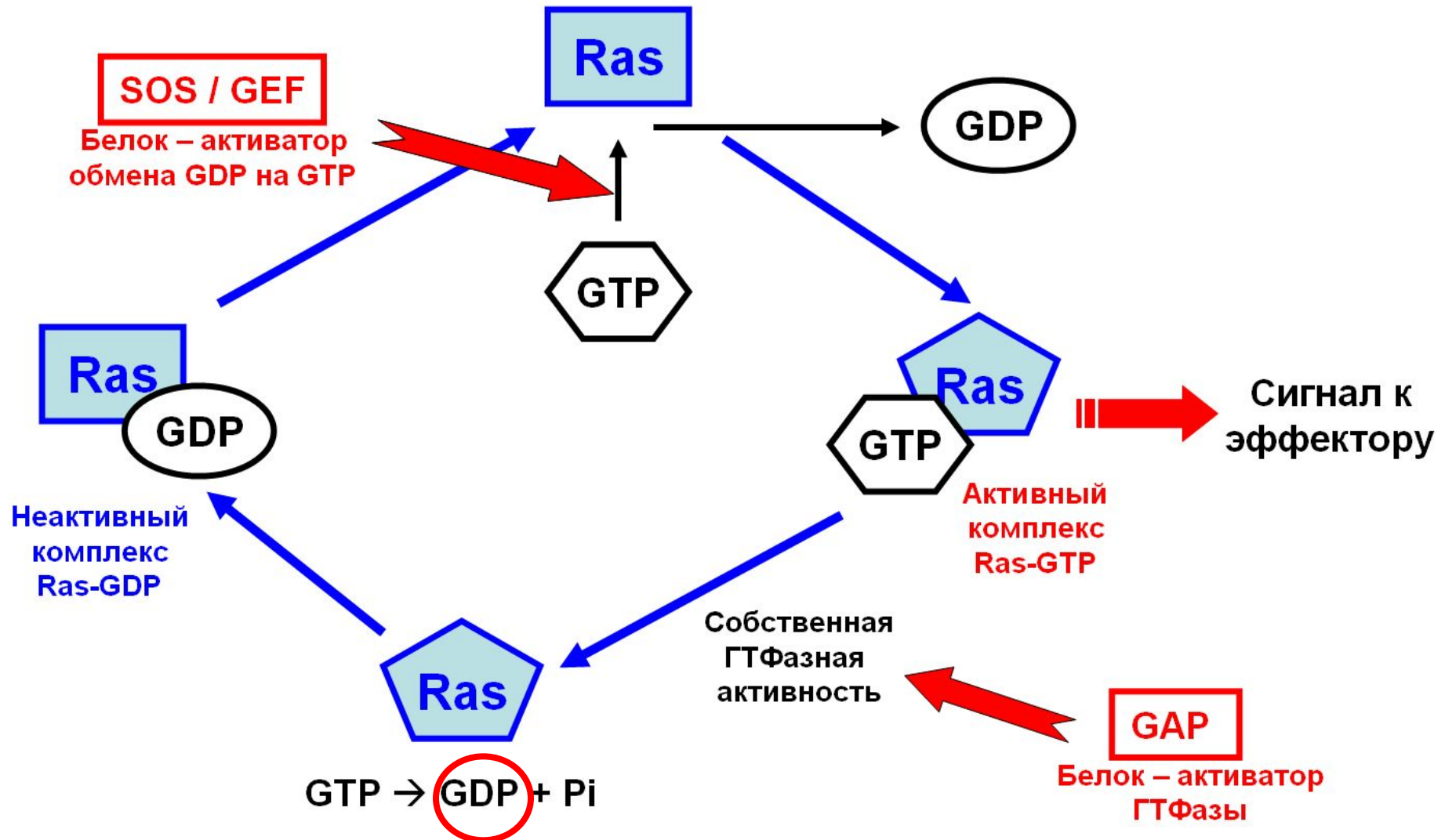
Белок **Ras** (**высокогомологичен α -субъединице гетеротримерного G-белка**) связан с внутренним слоем плазматической мембраны. В неактивной конформации **Ras** содержит в нуклеотид-связывающем центре **ГДФ** (**Ras-ГДФ**). С помощью белка **SOS/GEF** **ГДФ** заменяется на **ГТФ** и белок **Ras** переходит в активную конформацию: **Ras-ГТФ**. Активированный **Ras** взаимодействует со следующим белком «вниз по течению»: с серин-треониновой киназой **Raf** – с первой из трёх протеинкиназ МАП-киназного каскада. В результате такого взаимодействия киназа **Raf** активируется.

Инактивация мономерного белка **Ras** происходит благодаря его собственной ГТФазной активности: гидролиз **ГТФ** до **ГДФ** + **Фн** в нуклеотид-связывающем центре. Исходно ГТФ-азная активность в Ras невелика. Стимулирует ГТФазную активность специальный белок **GAP** (**G**TPase **a**ctivating **p**rotein): повышает ГТФазную активность более, чем в 100 раз.

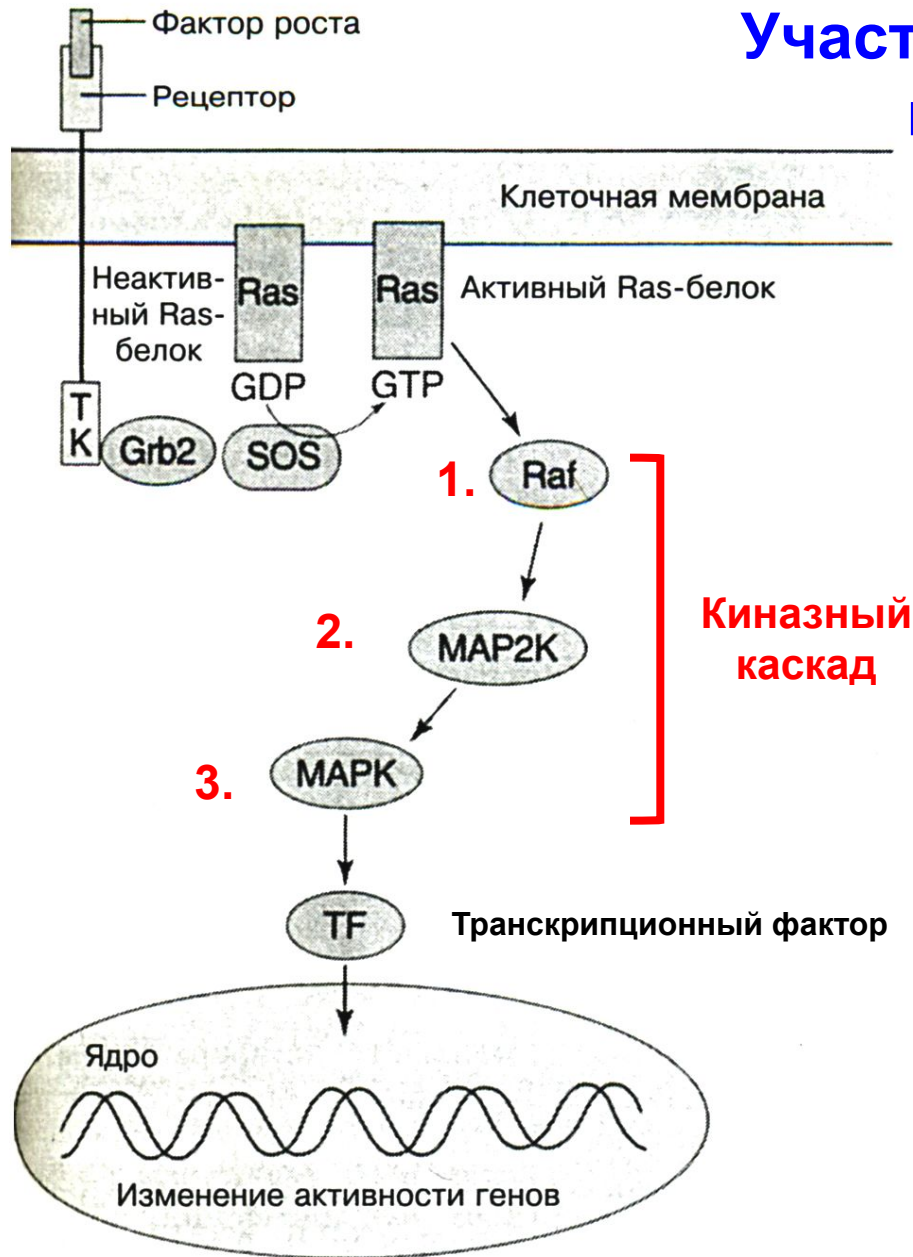
NB: Активированный белок **Ras** имеет и другие мишени:

- фосфатидилинозитол-3-киназу (PI3K);
- протеинкиназу C;
- другие белки.

Схема активации / инактивации белка Ras (ГТФазный цикл)

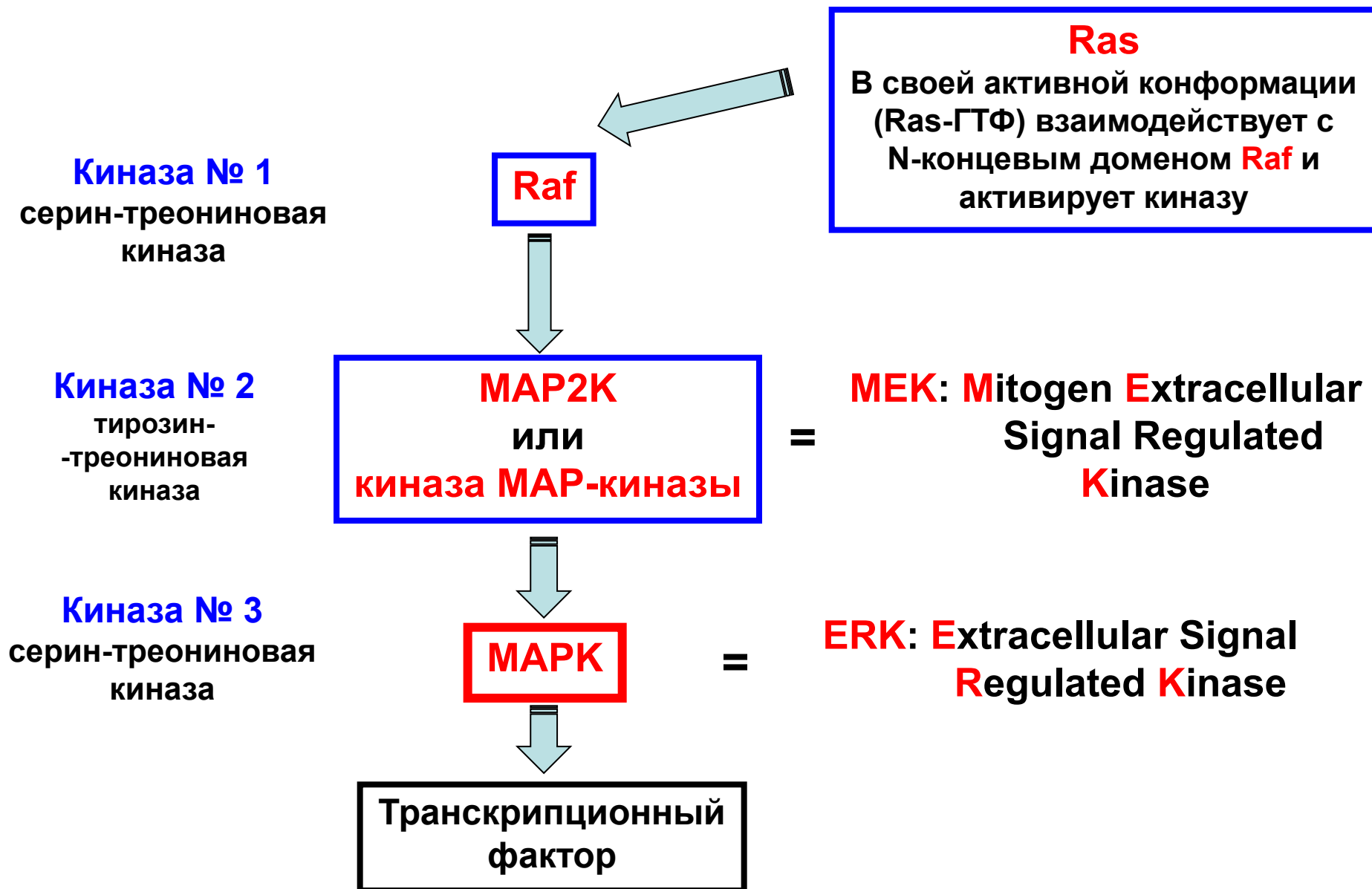


Участие белка Ras в активации каскада МАП-киназы

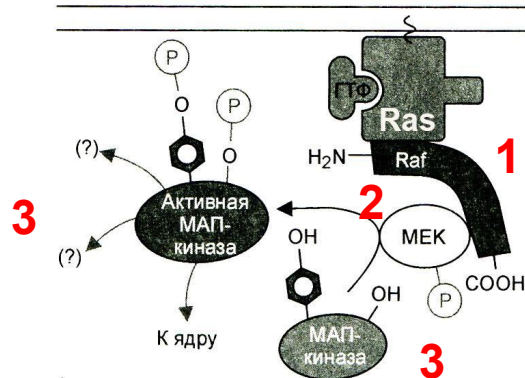
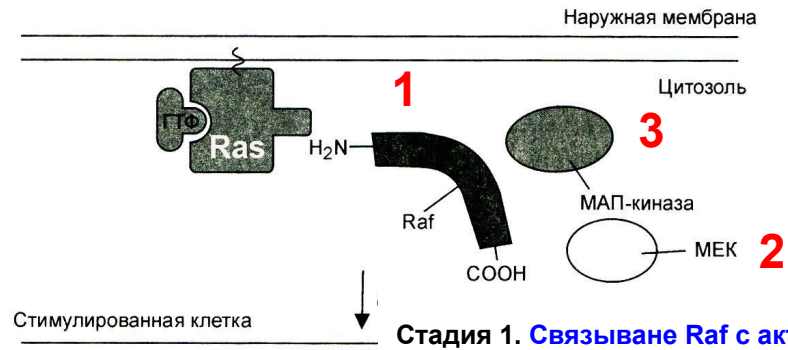


Каскад (сигнальный путь) назван по имени последней (на схеме № 3) киназы: **митоген активируемой протеин киназы (МАПК)**. **МАПК** – серин-треониновая протеинкиназа. **МАПК** активируется с участием лежащей «выше по течению» тирозин-треониновой киназы - киназы **МАР** киназы (**МАР2К**, на схеме № 2).

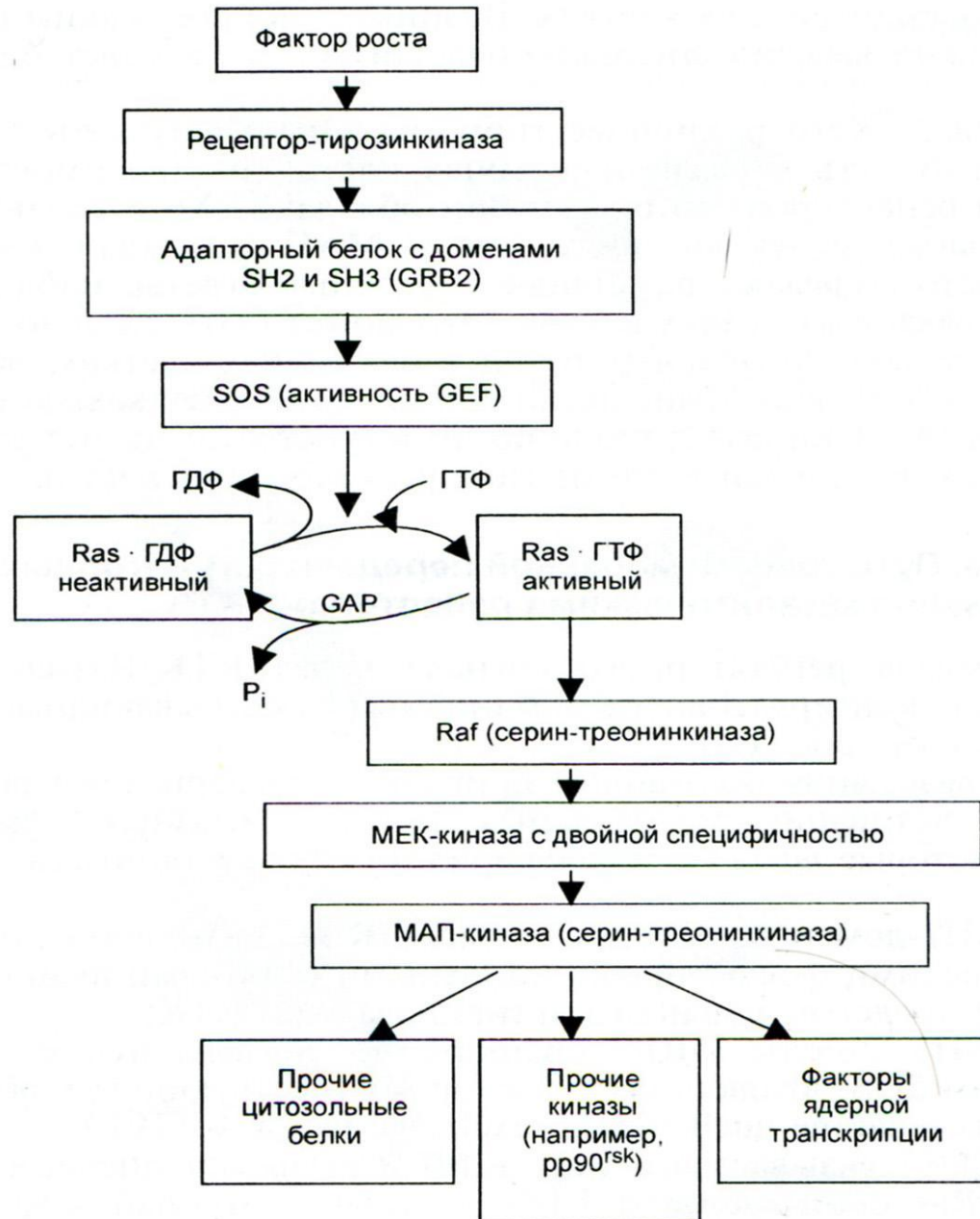
Терминология названий протеинкиназ, составляющих МАРК-сигнальный путь



Этап протеинкиназного каскада передачи внешнего регуляторного сигнала, следующего за активацией белка Ras.



СИГНАЛЬНЫЙ ПУТЬ МАП-киназы



Активация **МАРК** приводит к её транслокации в ядро и последующему фосфорилированию транскрипционных факторов, которые отвечают за активность генов митоза, т.н. онкогенов (**c-fos**, **c-mys** и др.). Запускается процесс бласттрансформации, т.е. начнется серия митотических делений. Стимулируется рост, дифференцировка клеток и изменяется профиль экспрессии генов.

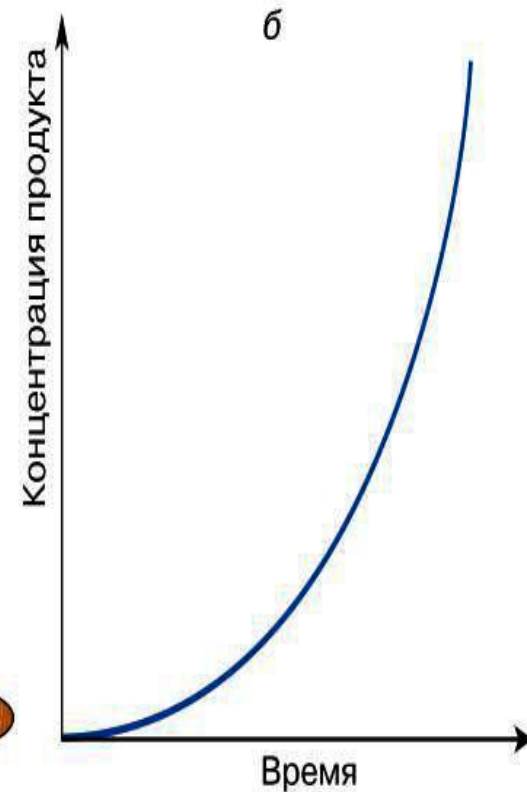
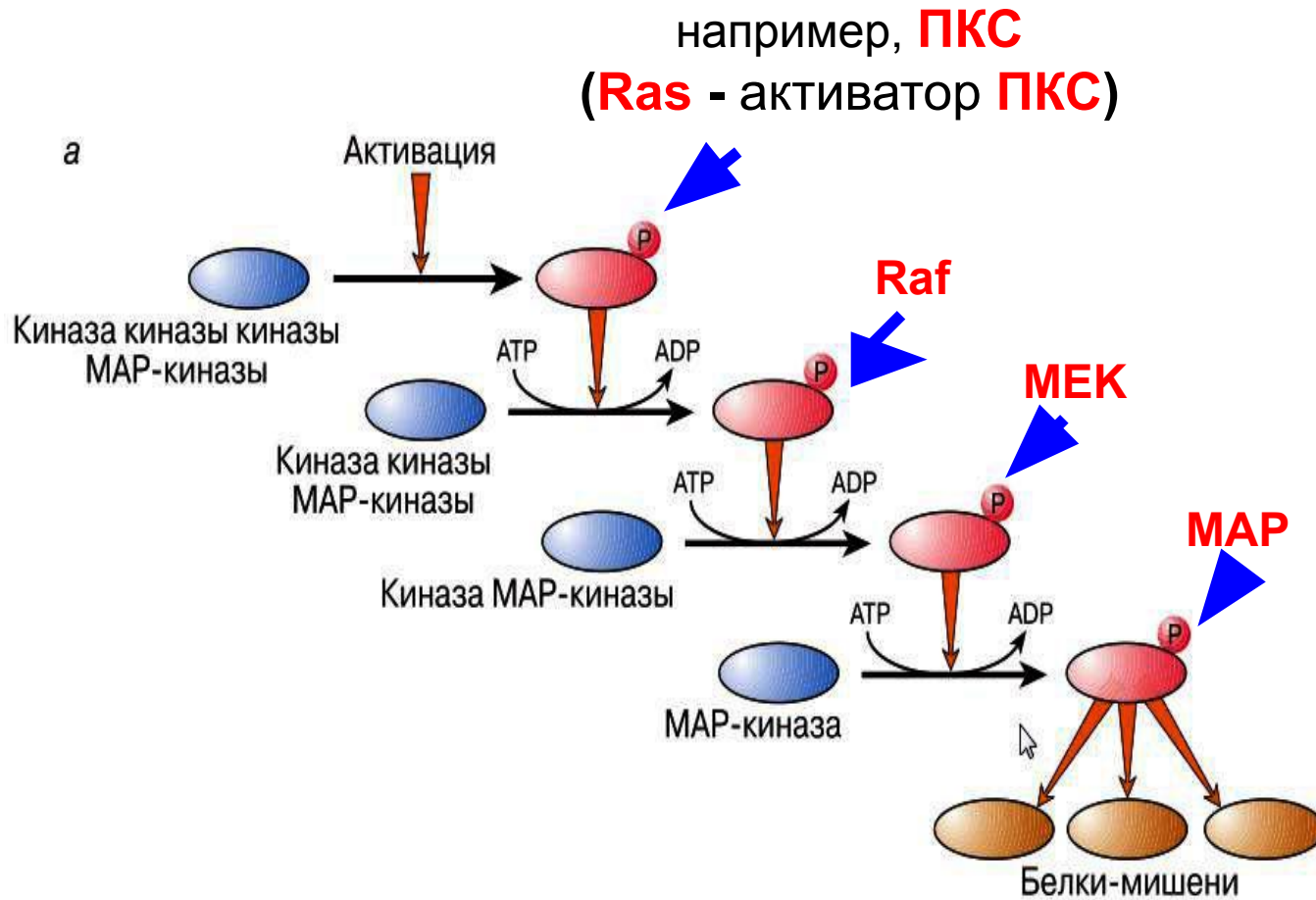
Разные гормоны запускают МАР-киназные каскады в разных типах клеток, которые отличаются набором поверхностных рецепторов.

Активированная МАРК также способна фосфорилировать:

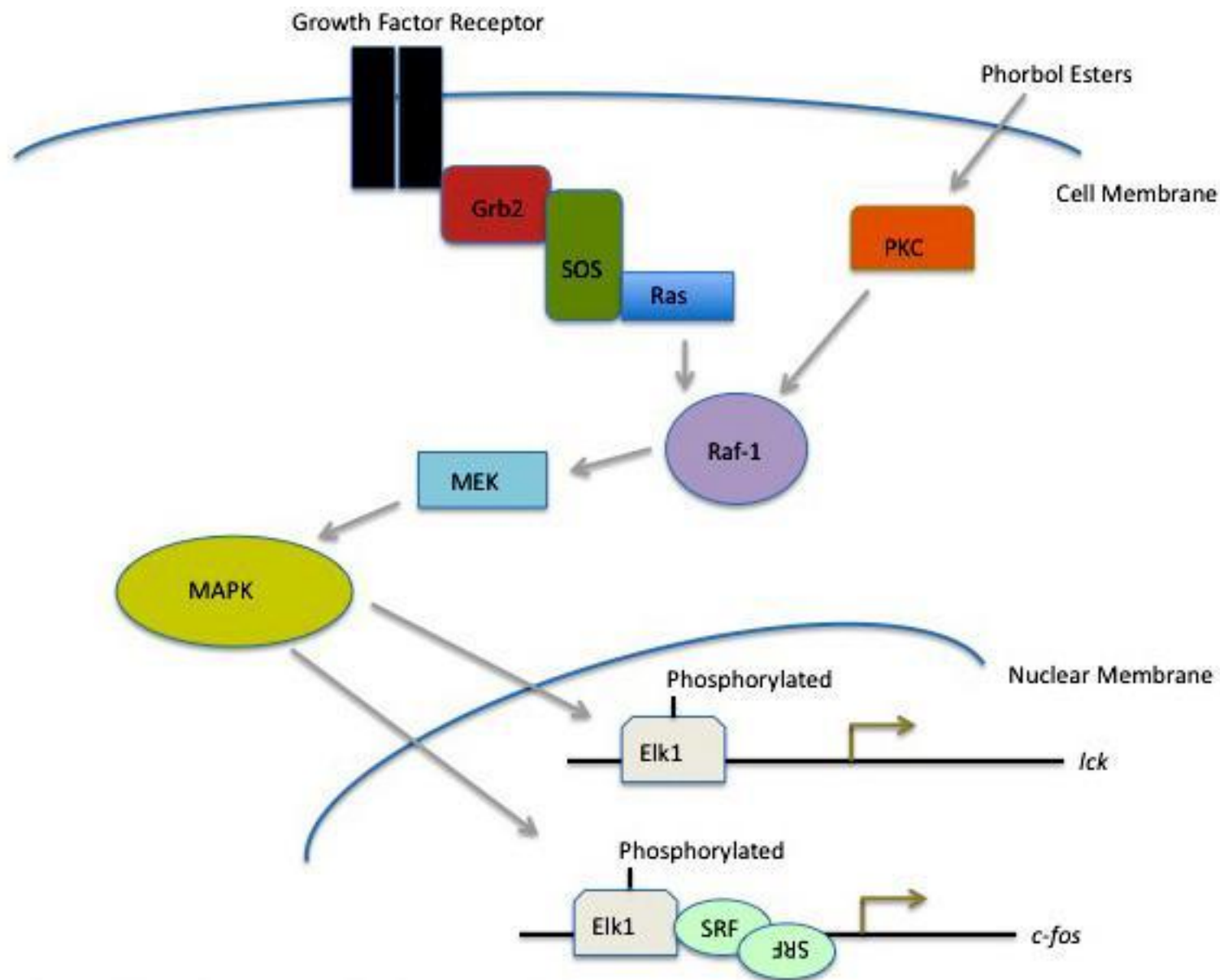
- другие внутриклеточные белки (цитоскелет и др.);
- другие протеинкиназы, влияя на их активность.

Каскад киназ, в котором каждая из киназ, лежащих «ниже по течению», активируется фосфорилированием с участием киназ, лежащих «выше по течению» – представляет собой **ещё один способ усиления сигнала**.

ПРИНЦИП УСИЛЕНИЯ РЕГУЛЯТОРНОГО СИГНАЛА В КАСКАДЕ ПРОТЕИНКИНАЗ



АКТИВАЦИЯ КАСКАДА МАРК РАЗЛИЧНЫМИ ПУТЯМИ



«Выключение» митогенной сигнализации:

- диссоциация комплекса лиганд – рецептор;
- дефосфорилирование цитозольных доменов рецептора клеточными фосфатазами;
- фосфорилирование цитозольных доменов **по остаткам серина и треонина** (с участием **ПКА** и **ПКС**);
- другие специфические фосфо(тирозин-серин-треонин) фосфатазы удаляют остаток фосфорной кислоты из внутриклеточных белков (адаптерных и промежуточных протеинкиназ), снимая этим эффекты их фосфорилирования (активации).

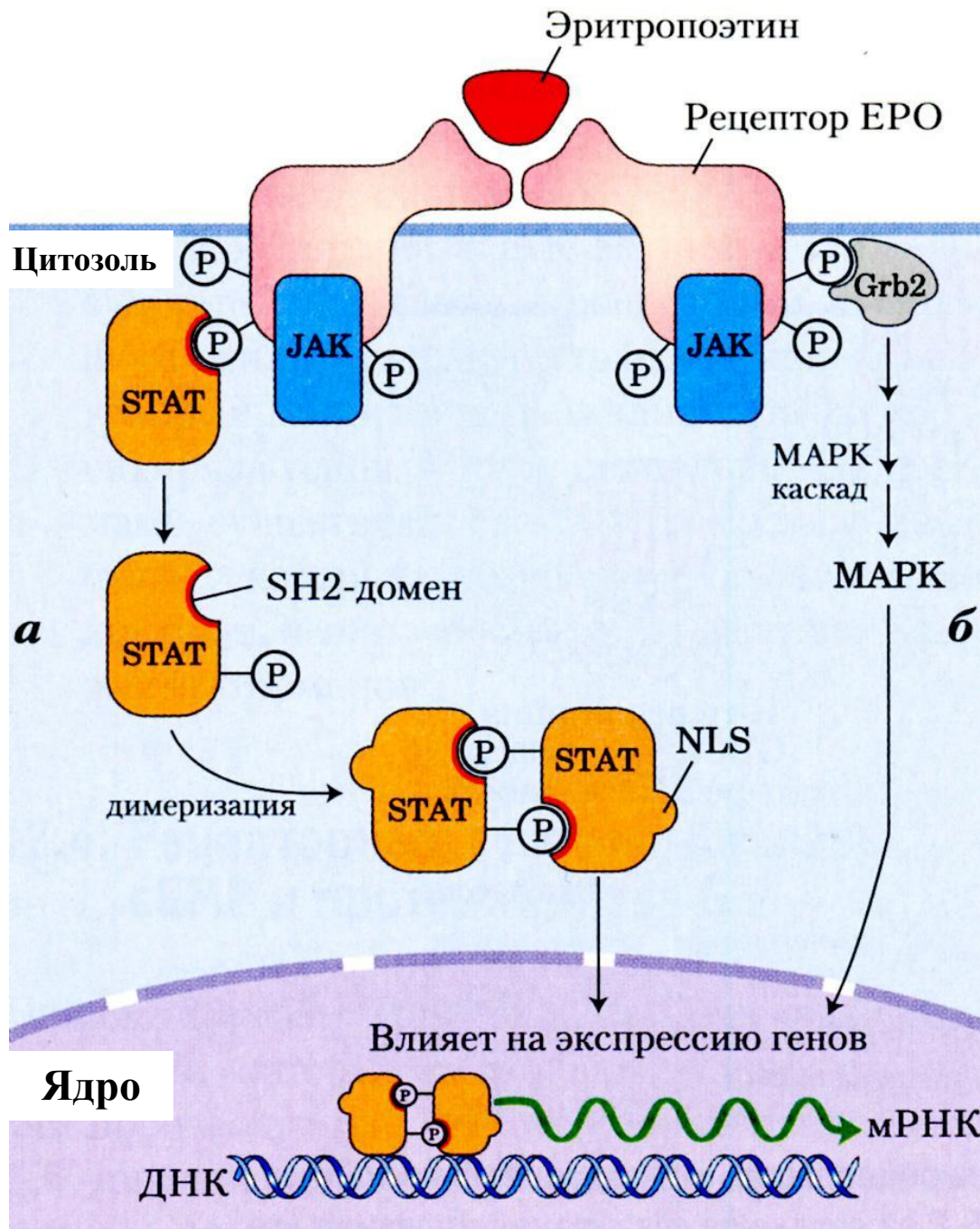
Некоторые типы опухолей возникают при нарушении регуляции МАРК-сигнального каскада.

Мутации генов, кодирующих цитоплазматический домен рецепторов с собственной тирозинкиназной активностью, нарушает:

- тирозин-киназную активность цитозольных доменов рецептора;
- формирование на этом домене докинг-центров.

Эти нарушения вызывает аномальный клеточный ответ и приводят к неконтрольному росту мутантных клеток.

Многие онкогены вызывают мутацию генов, кодирующих рецепторы факторов роста.



Два пути передачи митогенного сигнала посредством:

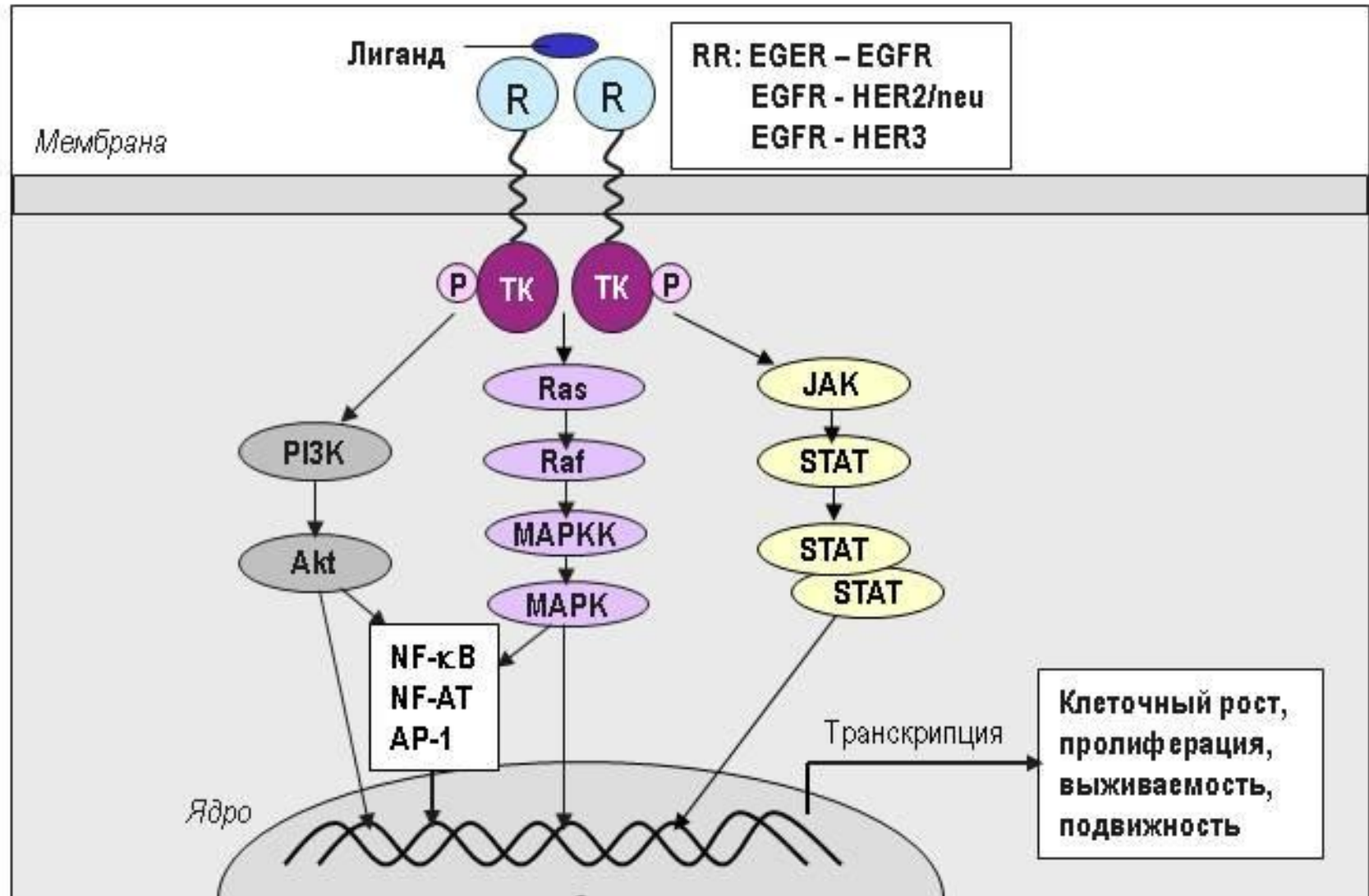
1). **ЖАК-СТАТ-сигнального пути** (ветвь а).

В молекуле STAT также присутствуют **SH2-домены**, распознающие фосфотирозины и связывающиеся с ними.

2). **МАРК-каскада** (ветвь б).

В разных типах клеток каскад может быть сопряжен с дополнительными сигнальными путями и активировать различные транскрипционные факторы.

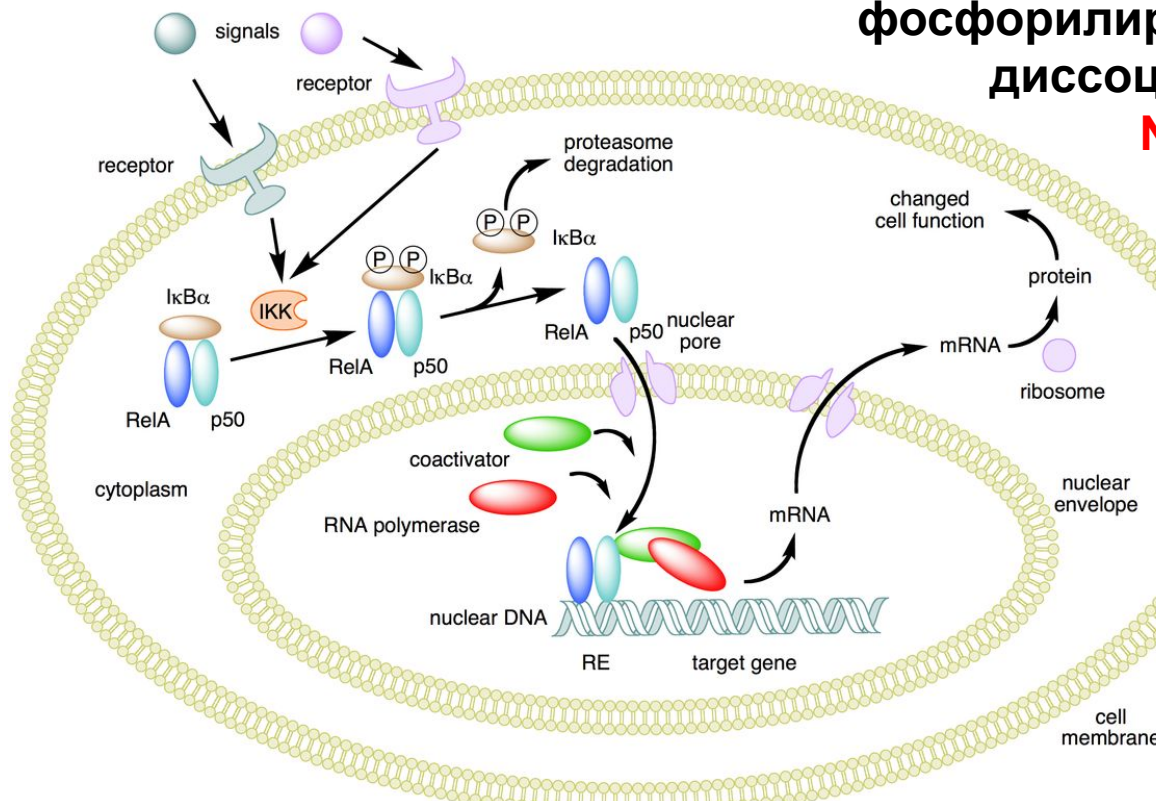
Процессы, регулируемые эпидермальным фактором роста



Третий путь передачи митогенного сигнала посредством ядерного транскрипционного фактора κB (nuclear factor kappa B = NF κ B)

Неактивный **NF κ B** (гетеродимер: **p105+p50**) существует в цитоплазме в комплексе с белком – ингибитором (**I κ B**). Активация **рецепторов факторов роста** и/или **цитокинов** (посредством активации ПКВ или MAPK) фосфорилирует киназу **I κ B** (**IKK**). Активированная **IKK**

фосфорилирует ингибитор (**I κ B**), который диссоциирует из комплекса, а **NF κ B** переходит в активное состояние.



NF κ B передаёт внешний сигнал в ядро очень быстро. Это обусловлено тем, что неактивный фактор (в комплексе с ингибитором) постоянно присутствует в цитоплазме. Для активации NF κ B не требуется синтезировать

новые белки, достаточно вызвать диссоциацию комплекса NF κ B-ингибитор.

СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ ИНСУЛИНА

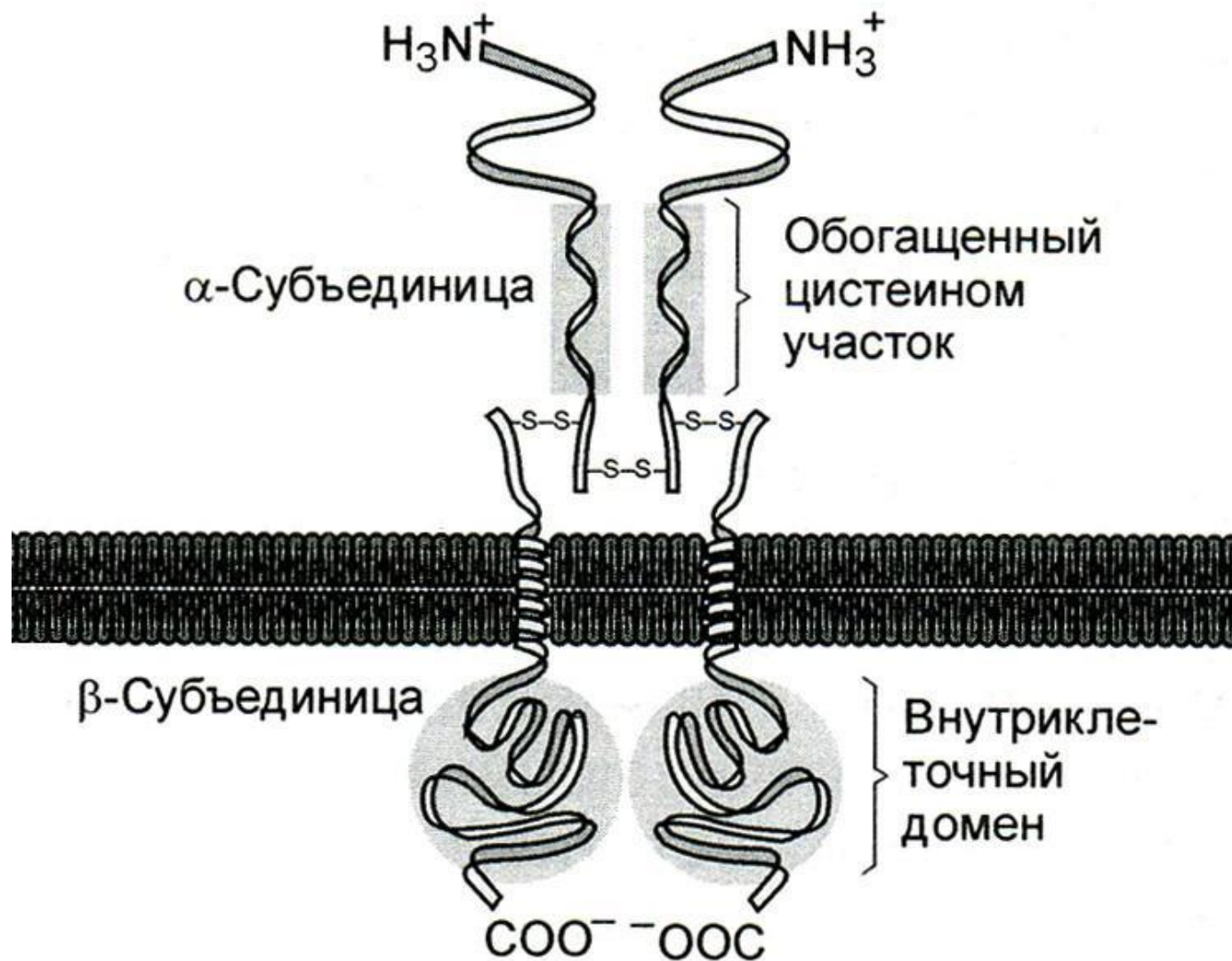
Строение рецептора инсулина и механизм его активации

Рецептор инсулина **изначально является димером**: состоит из **2 α -** и **2 β -субъединиц**. (Рецепторы факторов роста, в отличие от рецептора инсулина, димеризуются только после связывания с лигандом).

Две внеклеточные **α -субъединицы** рецептора содержат гормон-связывающий домен. В результате связывания инсулина с ними рецептор активируется, что приводит к появлению тирозинкиназной активности в его цитозольных **β -субъединицах**. Это происходит благодаря запуску перекрестного аутофосфорилирования: одна β -субъединица фосфорилирует вторую β -субъединицу (и наоборот) по трем остаткам тирозина.

В результате аутофосфорилирования обеих **β -субъединиц**, в них происходят конформационные изменения: участок цепи цитозольного домена изменяет своё положение и **открывает активный центр тирозинкиназы**.

Рецептор инсулина

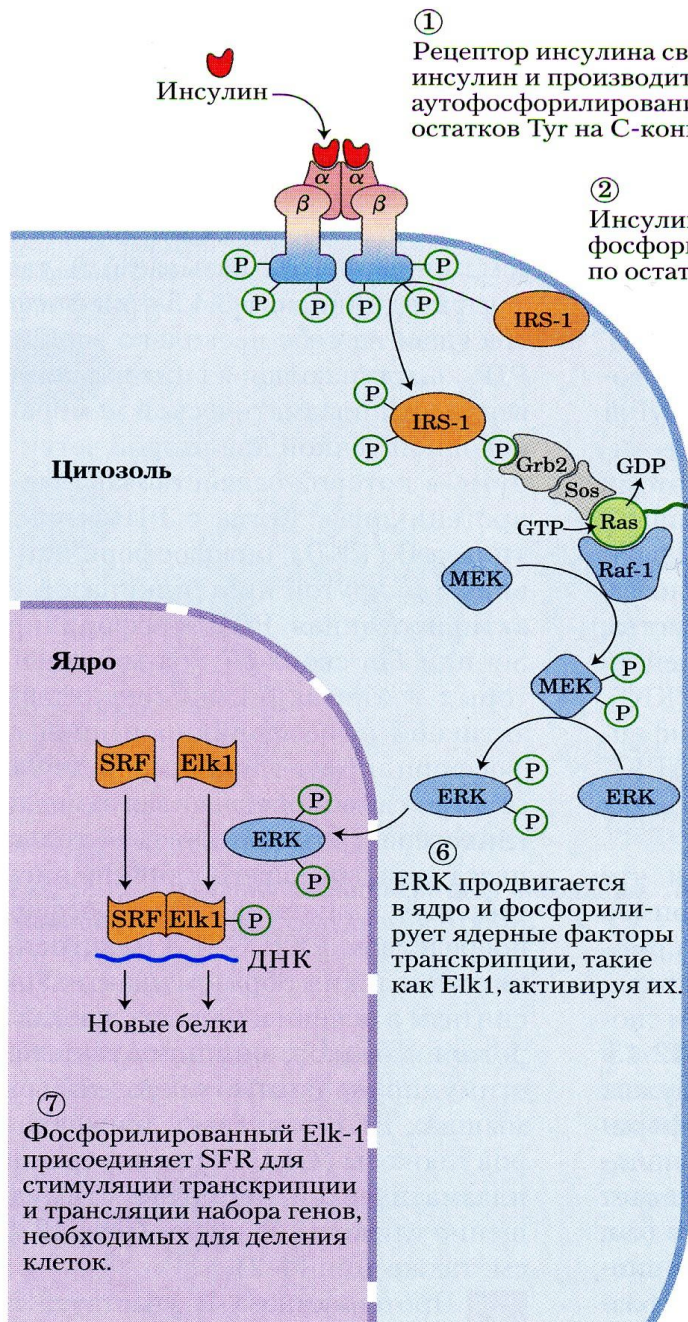


РЕГУЛЯЦИЯ ИНСУЛИНОМ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ

Активированный рецептор инсулина фосфорилирует по тирозину молекулу **субстрат рецептора инсулина-1** (**IRS-1** – insulin receptor substrate-1). **IRS-1** посредством своих фосфотирозинов связывается с SH2-доменом белка **Grb2**. Белок **Grb2** содержит второй тип домена - **SH3-домен** с высоким сродством к областям других белков, богатых пролином. С помощью этого домена белок **Grb2** связывается с белком **SOS/GEF**. Комплекс **Grb2-SOS/GEF** переводит белок **Ras** в активную конформацию (**Ras-ГТФ**). Белок **Ras** активирует **МАП-киназный каскад**.

Активированная **ERK** (**МАПК**) проникает в ядро, где фосфорилирует и активирует транскрипционный фактор **Elk1**. Последний далее присоединяет белок **SRF** – (serum response factor – **сывороточный фактор ответа**) и этот комплекс (**Elk1/SRF**) активирует гены, необходимые для деления клетки.

Схема регуляции экспрессии генов инсулином



①
Рецептор инсулина связывает
инсулин и производит
аутофосфорилирование своих
остатков Туг на С-концах.

②
Инсулиновый рецептор
фосфорилирует IRS-1
по остаткам Туг.

③
SH2-домен в Grb2 связывается
с (P) -Туг в IRS-1. Sos связывается
с Grb2, затем с Ras, вызывая
высвобождение GDP и
присоединение GTP к Ras.

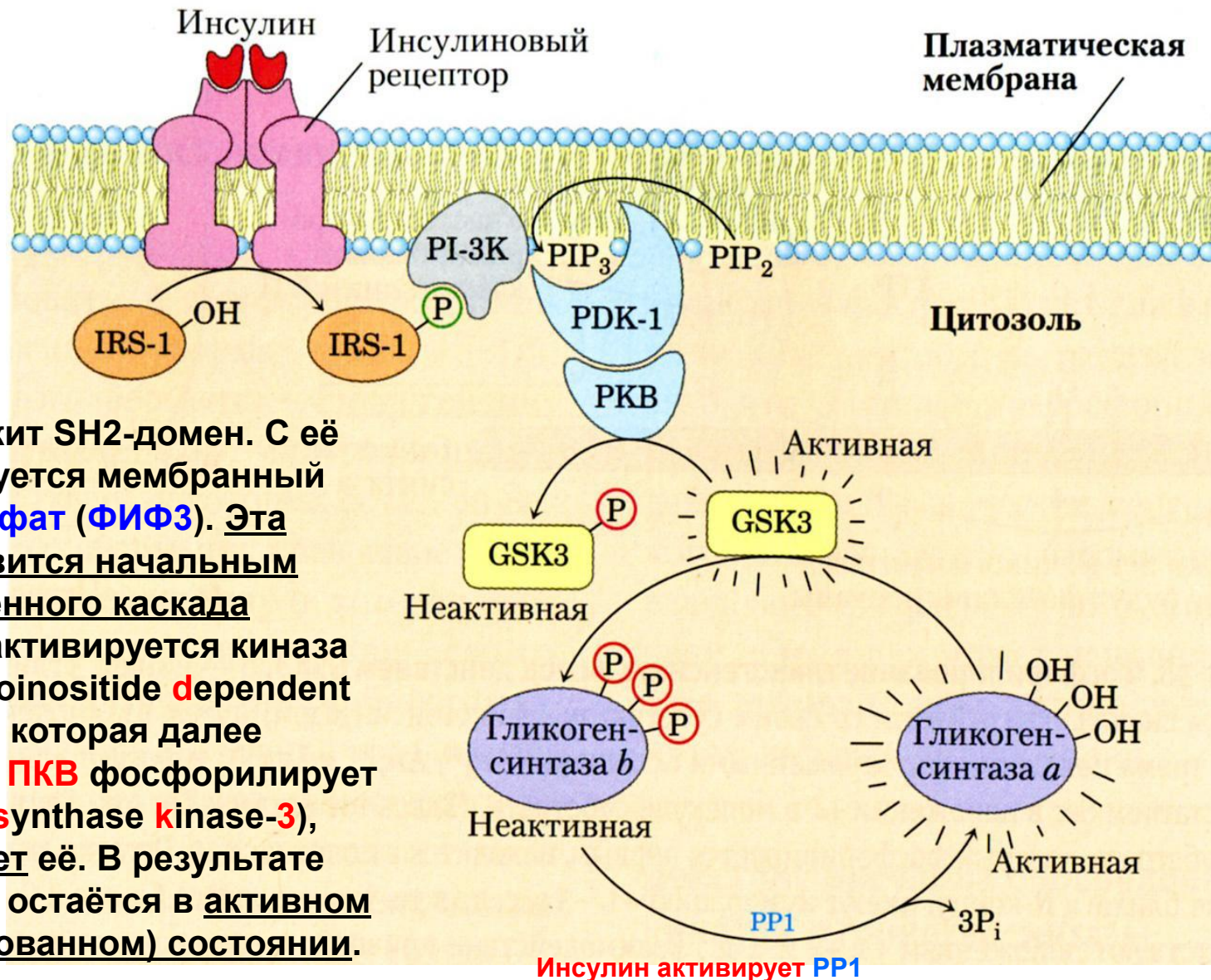
④
Активированный Ras
присоединяет и
активирует Raf-1.

⑤
Raf-1 фосфорилирует MEK
по двум остаткам Ser,
активируя ее. MEK фосфорилирует
ERK по остаткам Thr и Tyr,
производя ее активацию.

⑥
ERK продвигается
в ядро и фосфорили-
рует ядерные факто-
ры транскрипции, такие
как Elk1, активируя их.

⑦
Фосфорилированный Elk-1
присоединяет SFR для
стимуляции транскрипции
и трансляции набора генов,
необходимых для деления
клеток.

активации гликогенсинтетазы инсулином



ФИ-3К содержит SH2-домен. С её помощью образуется мембранный **ФИ-3,4,5-трифосфат (ФИФ3)**. Эта молекула становится начальным пунктом собственного каскада киназ. Сначала активируется киназа **PDK-1** (3-phosphoinositide dependent protein kinase-1), которая далее активирует **ПКВ**. **ПКВ** фосфорилирует **GSK3** (glycogen synthase kinase-3), Чем инактивирует её. В результате **гликогенсинтаза** остаётся в активном (нефосфорилированном) состоянии.

Схема активации инсулином движения везикул, содержащих ГЛЮТ4, в плазматическую мембрану (посредством активации ПКВ)

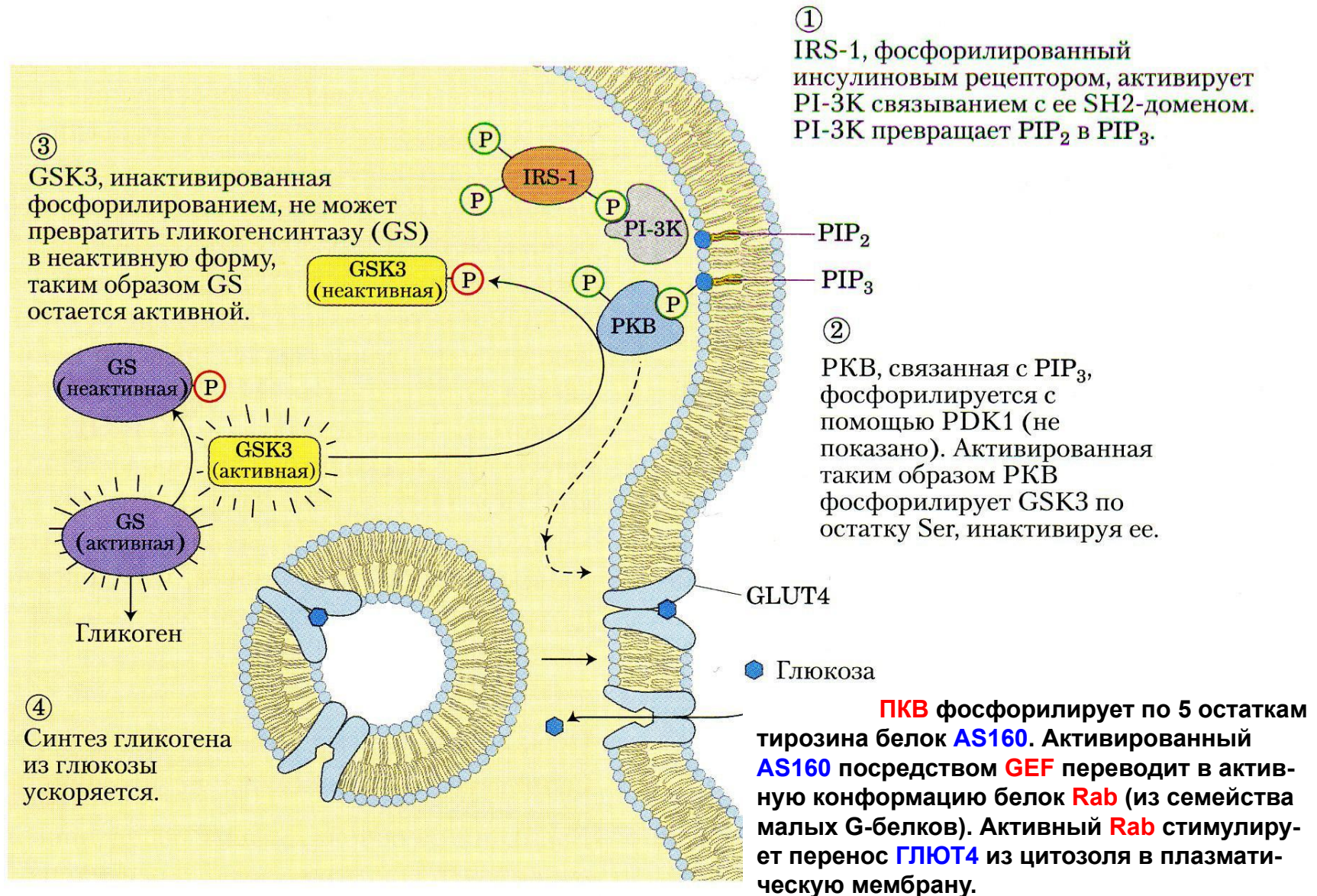
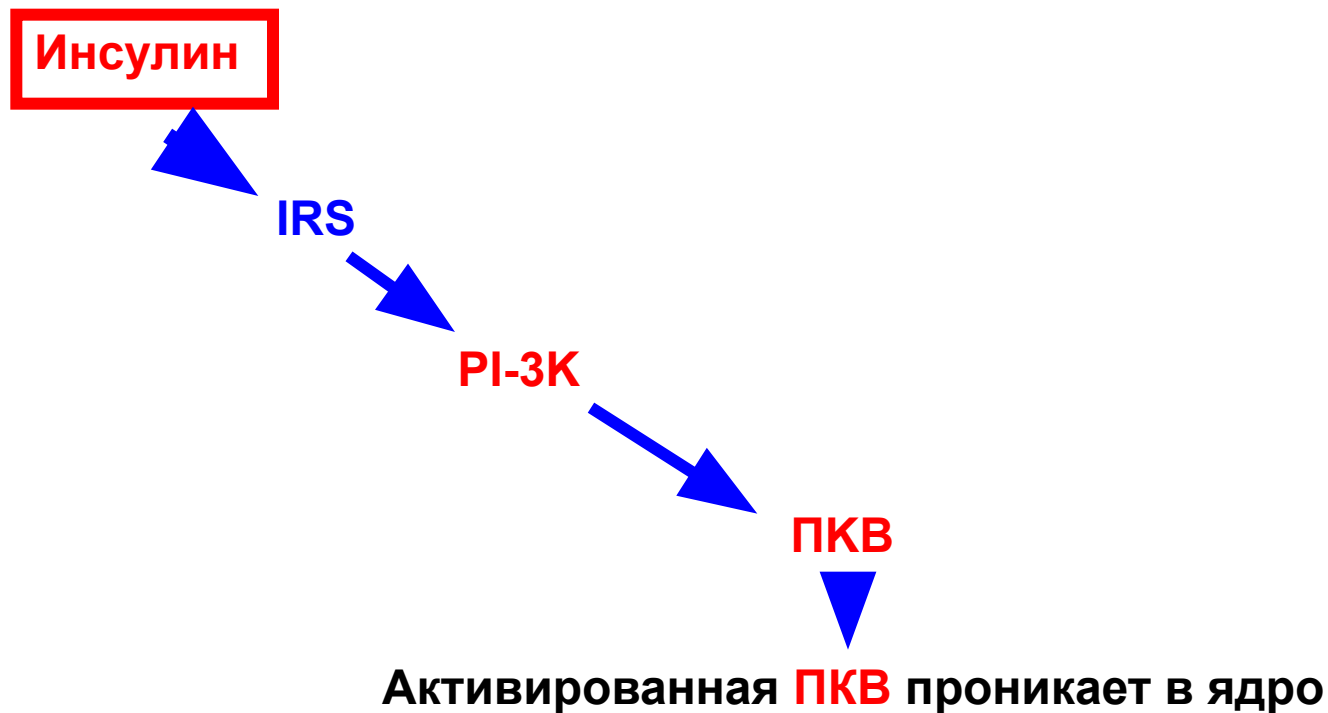


Схема подавления инсулином активности глюконеогенеза

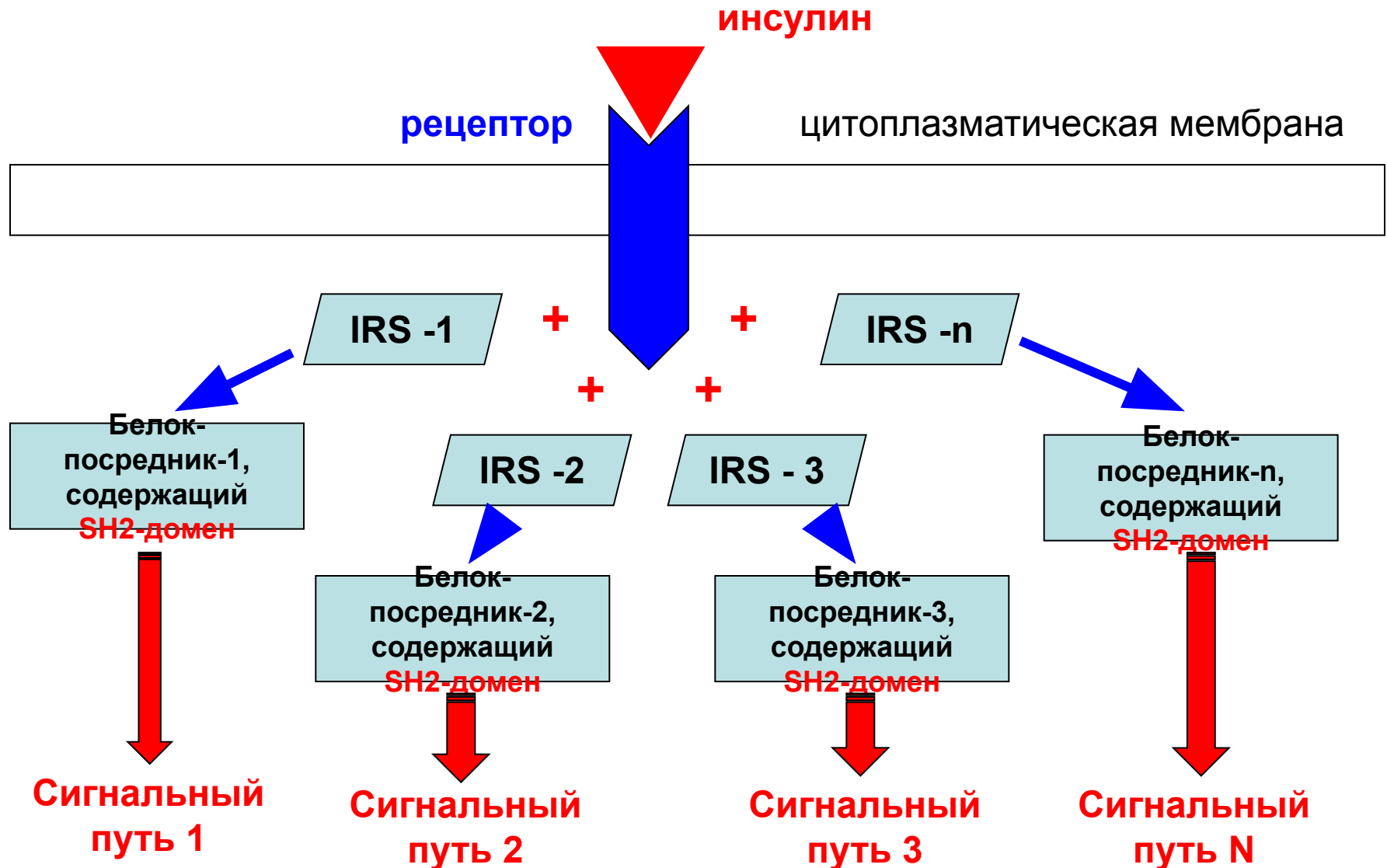


В ядре **ПКВ** фосфорилирует инсулин-респонсивный **транскрипционный фактор FOXO1** (forkhead box protein **O1**) по остаткам **серина/треонина**.

В результате этого **FOXO1** диссоциирует с инсулин-респонсивных участков генов, кодирующих **ключевые ферменты глюконеогенеза** (**ФЕП-карбоксикиназа** и **глюкозо-6-фосфатаза**).

Покинувший ядро фосфорилированный **FOXO1** в цитоплазме подвергается протеолитической деградации.

Единичный рецептор, действуя через разные представители семейства IRS, способен «включить» несколько разных сигнальных путей.



Благодарю за внимание

