

Генетика клеточного цикла

Электронно-лекционный курс

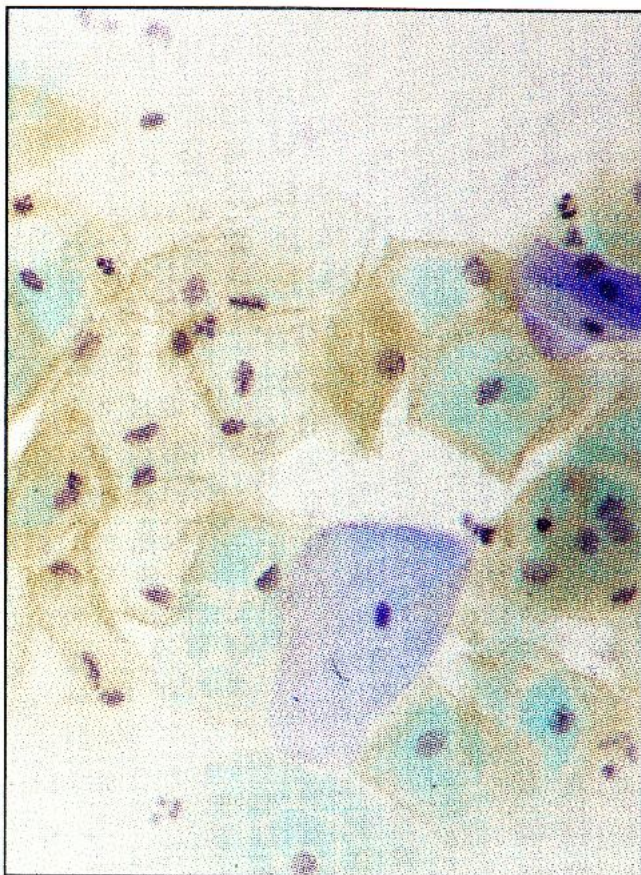
Глава 7

Гены клеточного цикла и онкогенез

Ключевые свойства, которые дают клеткам способность к канцерогенезу

- Игнорируют внешние и внутренние сигналы, регулирующие пролиферацию
- Обычно избегают апоптоза
- Остаются недифференцированными, избегают репликативного старения
- Генетически нестабильны
- Способны к инвазии - перемещаются от места возникновения
- Выживают и пролиферируют в чужеродном окружении – метастазируют в другие ткани

Фотографии препаратов эпителия шейки матки



(A)

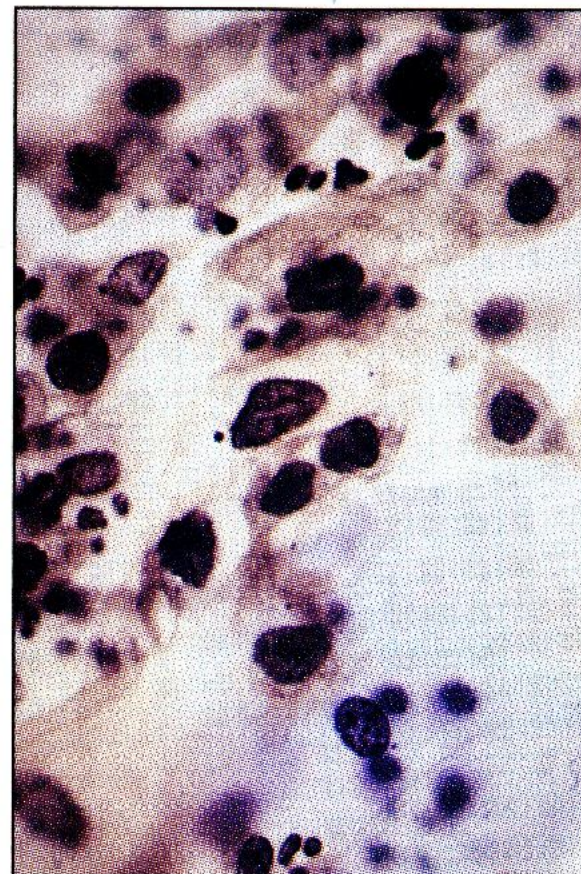
**Нормальный эпителий.
Дифференцированные
клетки с компактными
ядрами.**

Alberts et al., 2002



(B)

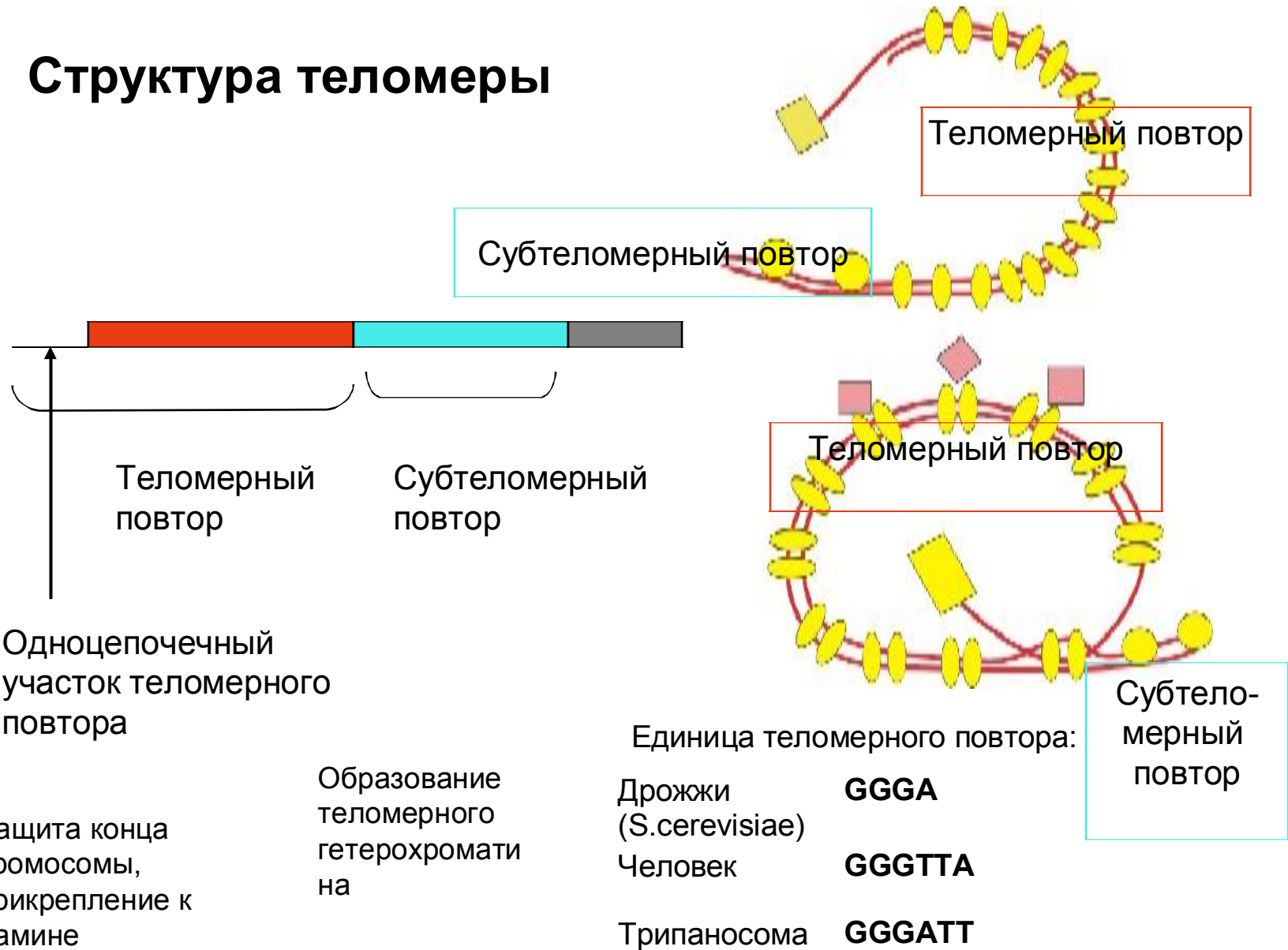
**Предраковое состояние.
Клетки на разных стадиях
дифференцировки,
хроматин диффузный.
Часть клеток нормальные**



(C)

**Инвазивная карцинома.
Клетки недифферен-
цированные, ядра
полиплоидные. Базальная
мембрана нарушена,
клетки выходят в
соединительную ткань**

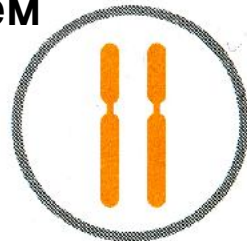
Структура теломеры



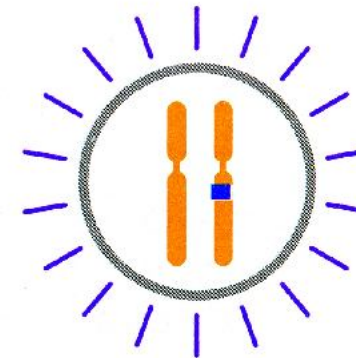
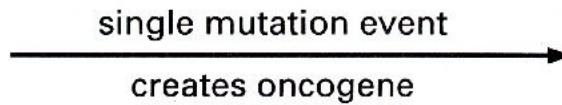
Онкогены и супрессоры опухолей

Мутация с приобретением функции

(A) **overactivity mutation** (gain of function)



normal cell



activating mutation enables **oncogene** to stimulate cell proliferation

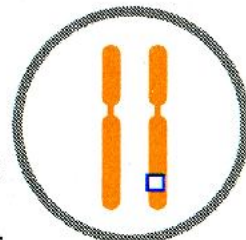
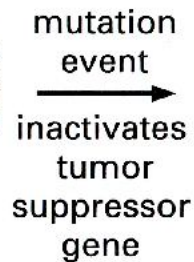
cells that proliferate abnormally

Мутация с потерей функции

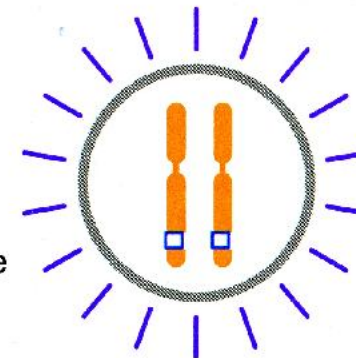
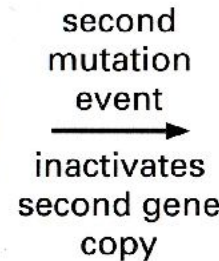
(B) **underactivity mutation** (loss of function)



normal cell



no effect of mutation in one gene copy



two inactivating mutations functionally eliminate the **tumor suppressor gene**, stimulating cell proliferation

Происхождение и активация онкогенов

I – вирус несёт онкоген (*src*, *myc*, *ras*, *erb*)

II – вирус активирует оверэкспрессию протоонкогена (вставочный онкогенез)

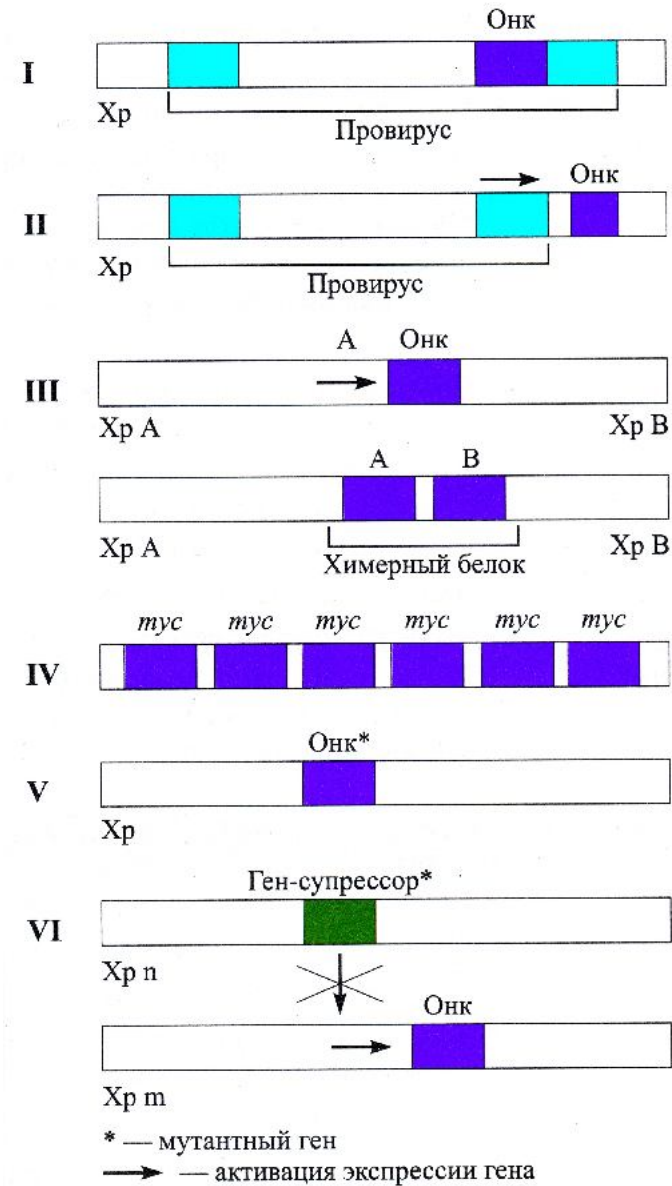
III – хромосомная перестройка усиливает экспрессию протоонкогена (ген *myc* при лимфоме Бэркитта) или создает химерный белок (филадельфийская транслокация)

IV – протоонкоген амплифицирован (*myc* при опухолях НС)

V – мутация в протоонкогене изменяет свойства белка или нарушает его регуляцию

VI – инактивация гена-супрессора опухолей способствует активации онкогена

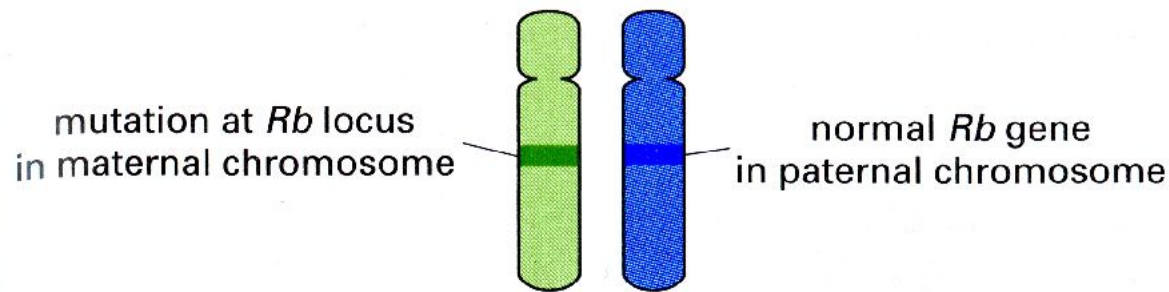
Абелев, 1997



Происхождение и активация онкогенов
[Абелев 1997]

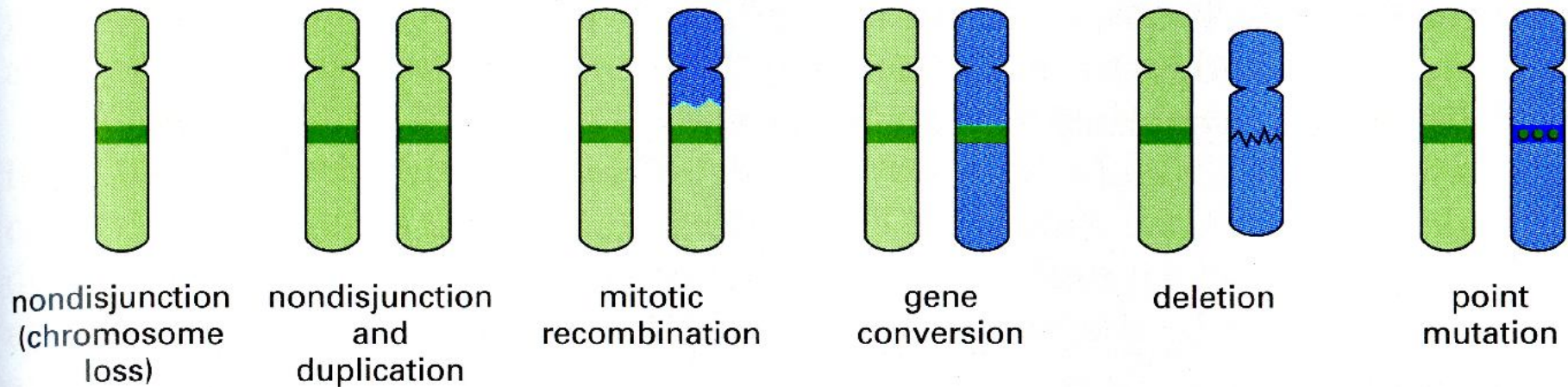
Соматические мутации, в результате которых утрачивается единственная копия нормального гена супрессора опухолей

HEALTHY CELL WITH ONLY 1 NORMAL *Rb* GENE COPY



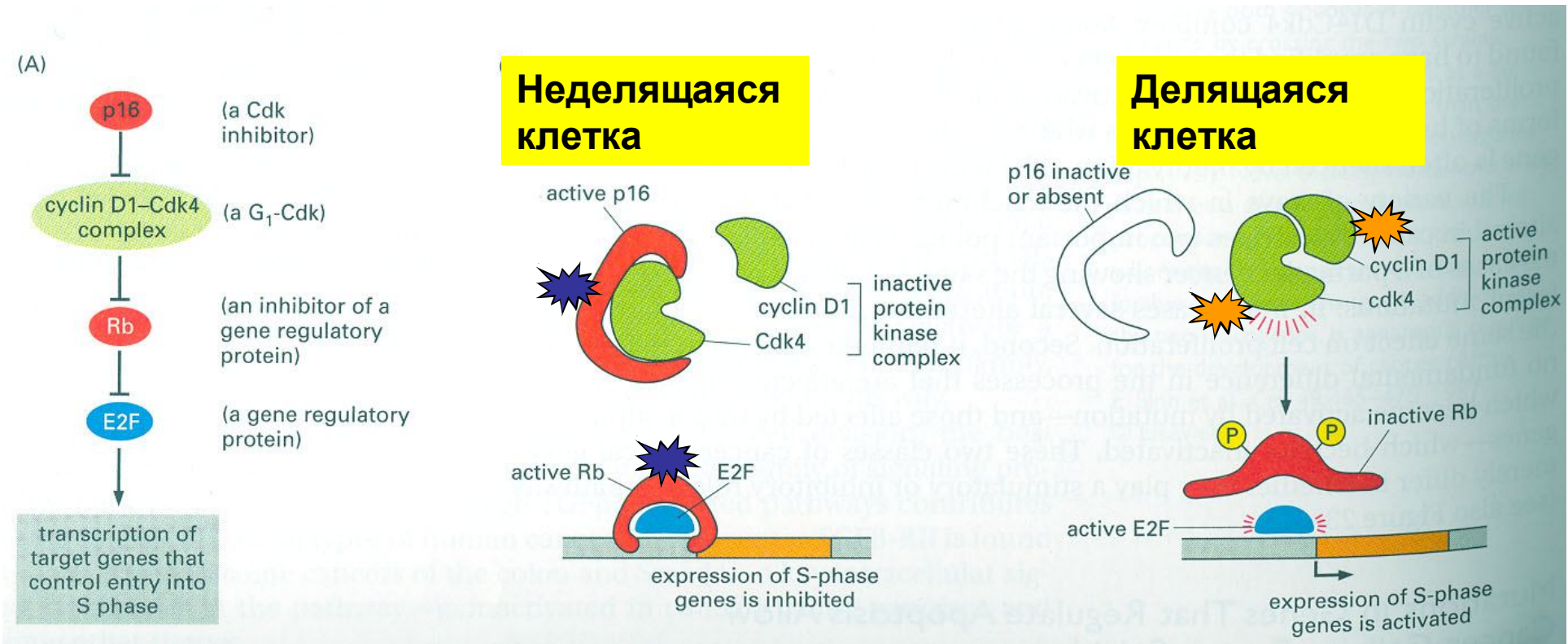
Гетерозигота, только один ген нормальный

POSSIBLE WAYS OF ELIMINATING NORMAL *Rb* GENE



Не осталось нормального гена

Регуляция клеточного цикла Rb-белком



Белок ретинобластомы Rb - ингибитор фактора транскрипции E2F генов, связанных с вступлением в S-фазу: G1/S-циклина (E), S-циклина (A), E2F, Cdk2, энзимов, необходимых для репликации (рак молочной железы и легких)

Онкогены *циклин D1* или *Cdk4* амплифицированы в некоторых глиобластомах и раке молочной железы

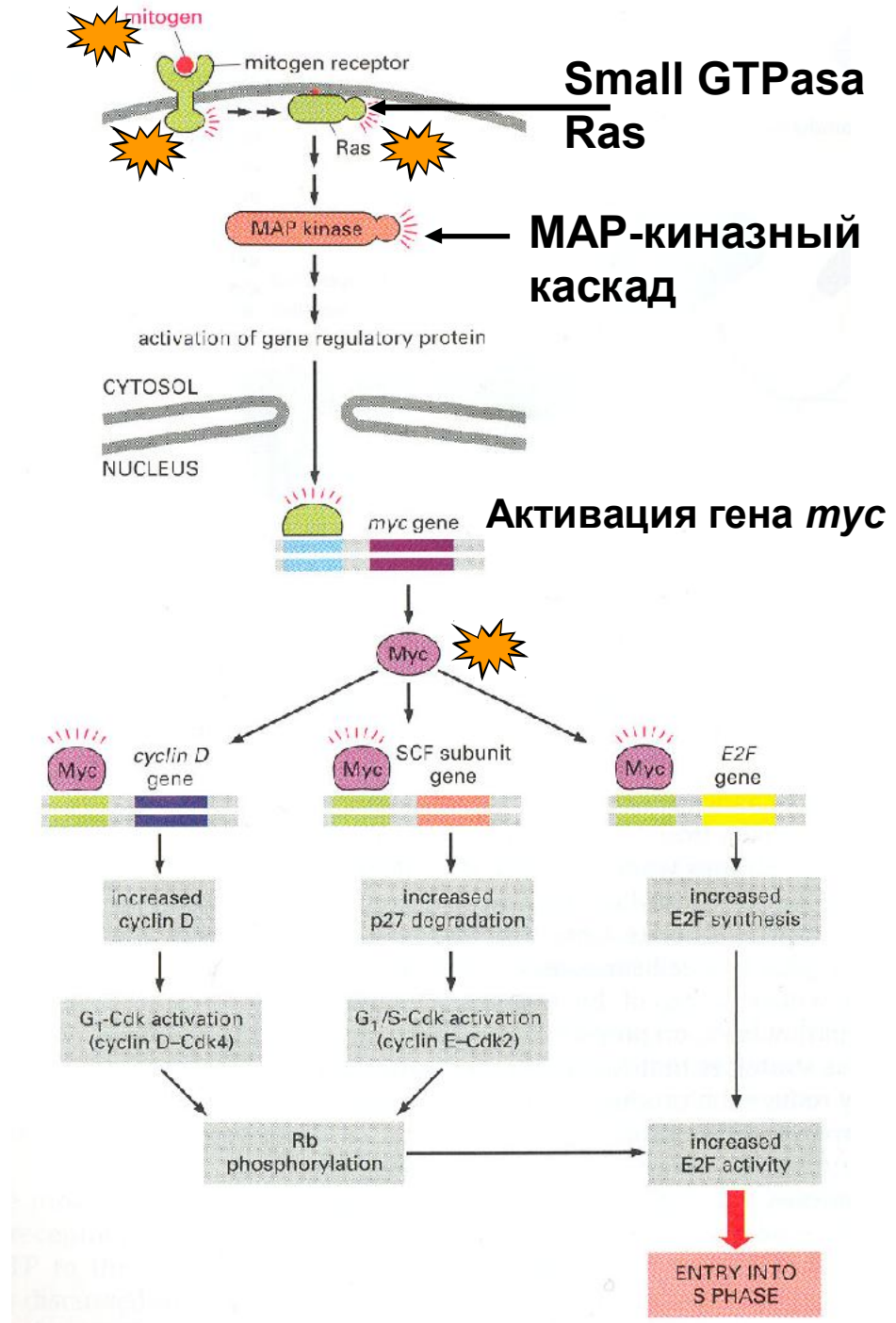
Ген ингибитора Cdk *p16* (туморсупрессор) делетирован или инактивирован во многих формах рака у человека (или метилирован и молчит).

Участники сигнального пути Ras и мус в онкогенезе

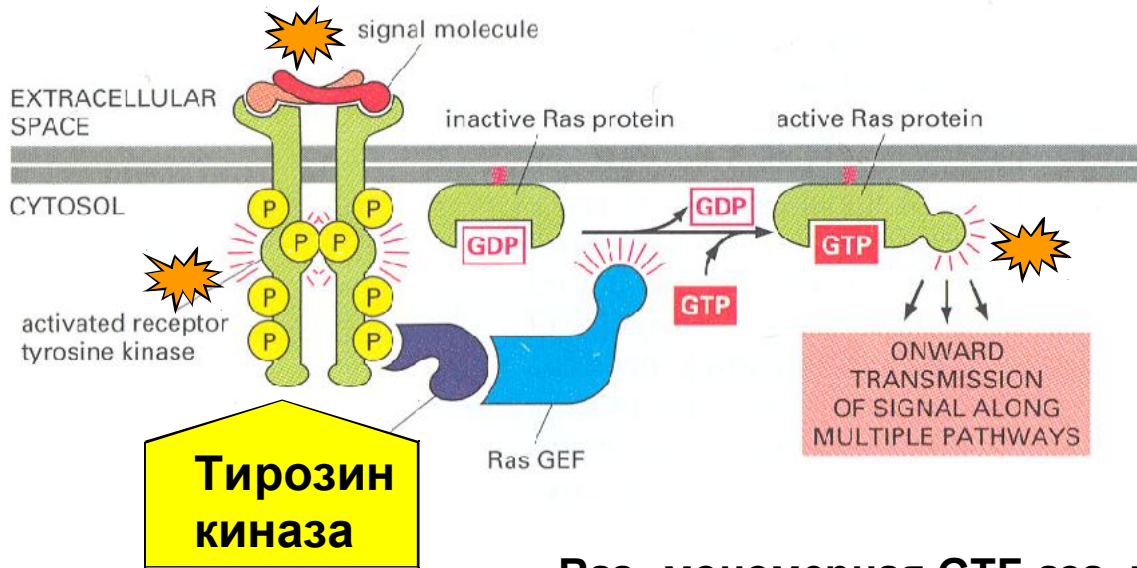
Гиперактивный Ras- продукт мутантного гена *ras* часто вызывает рак (рак толстой кишки, мочевого пузыря, поджелудочной железы, лёгкого -30% всех случаев)

Мутация 1 ак в Ras –перманентная активность, постоянная стимуляция сигнального пути

Гиперактивация гена *мус* – мелкоклеточный рак лёгкого, рак толстой кишки, лимфома



Участники сигнального пути Ras и тус в онкогенезе



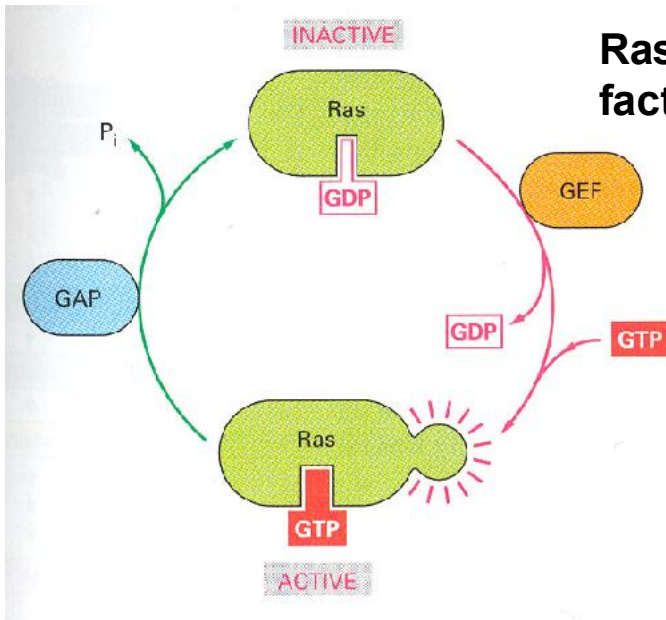
Фактор роста тромбоцитов
(вирус саркомы обезьян)

Рецептор фактора роста
эпидермиса (глиобластома,
вирус эритробластога птиц)

Рецептор
колониестимулирующего
фактора M-CSF (саркома
КОШКИ)

Ras- мономерная GTF-аза, имеет
пренильную группу.

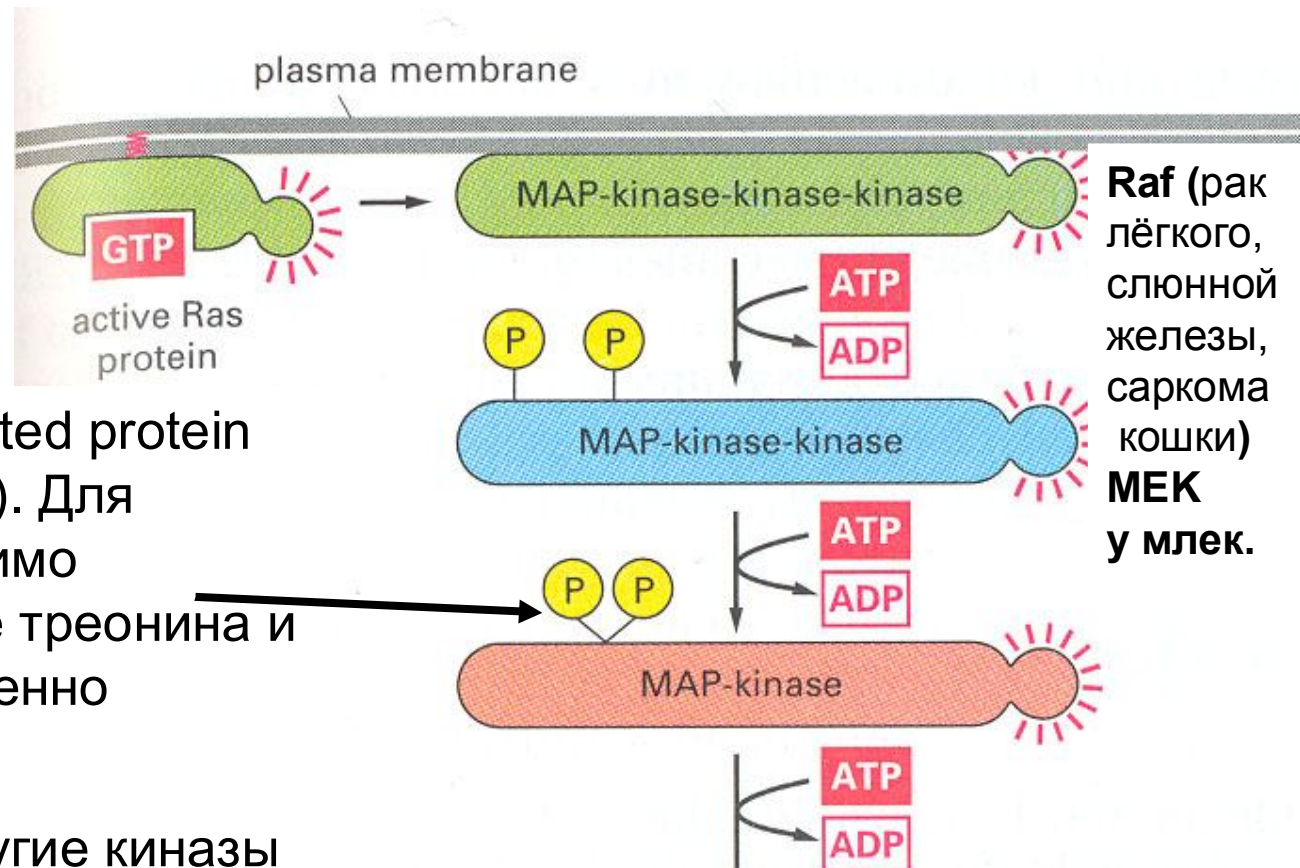
Ras-GEF- guanine nucleotide exchange
factors



Фосфотирозины рецептора служат
докинг-сайтом для различных белков,
имеющих домены SH2 (src homology
region), SH3, в т.ч. Src-тирозинкиназы
(вирус саркомы Рауса)

Активация пути *тус*,

Участники сигнального пути Ras и *тус* в онкогенезе



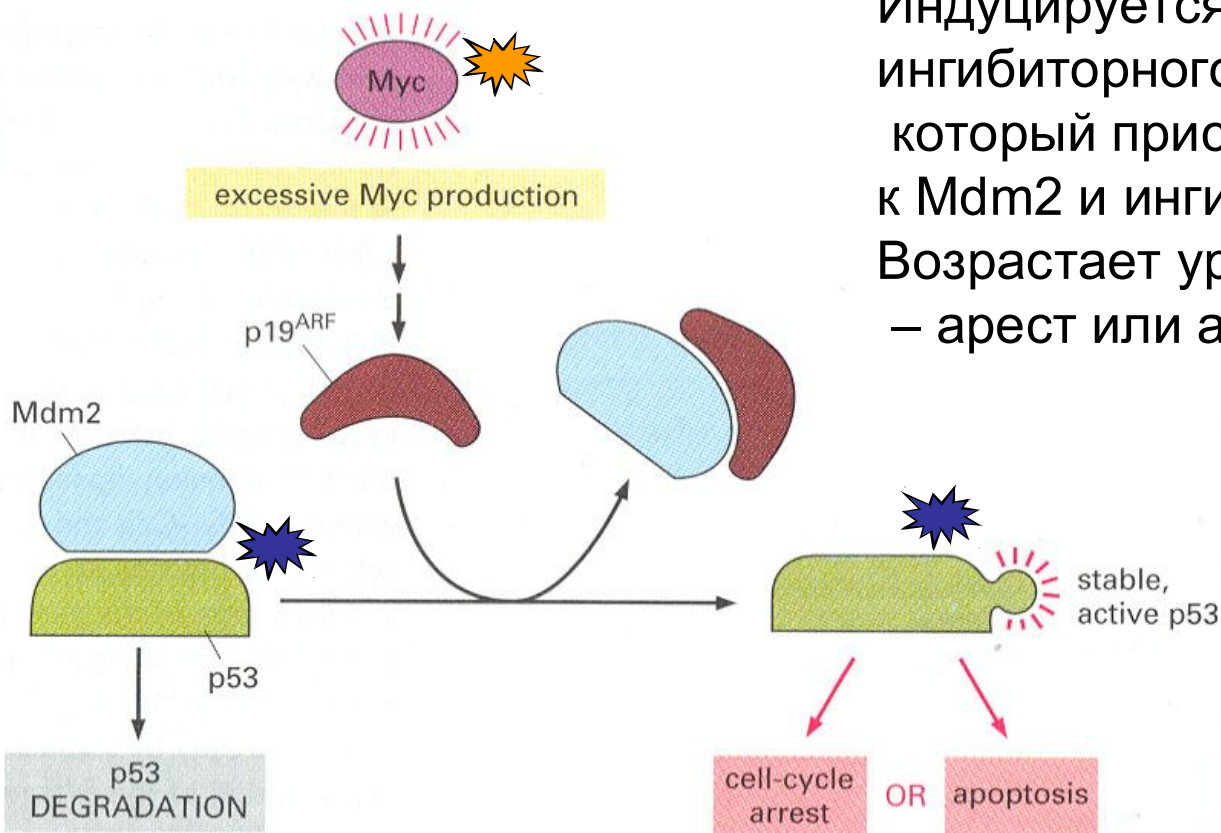
MAP- mitogen-activated protein kinase (MAP-киназа). Для активации необходимо фосфорилирование треонина и тирозина одновременно

Входит в ядро и фосфорилирует другие киназы и гено-регуляторный комплекс, активируя транскрипцию «непосредственно ранних генов» через минуты после сигнала – это *тус*-ген

Гиперактивация гена *тус* – мелкоклеточный рак лёгкого, рак толстой кишки, лимфома

Повышенная стимуляция митогенного пути индуцирует арест клеточного цикла или апоптоз

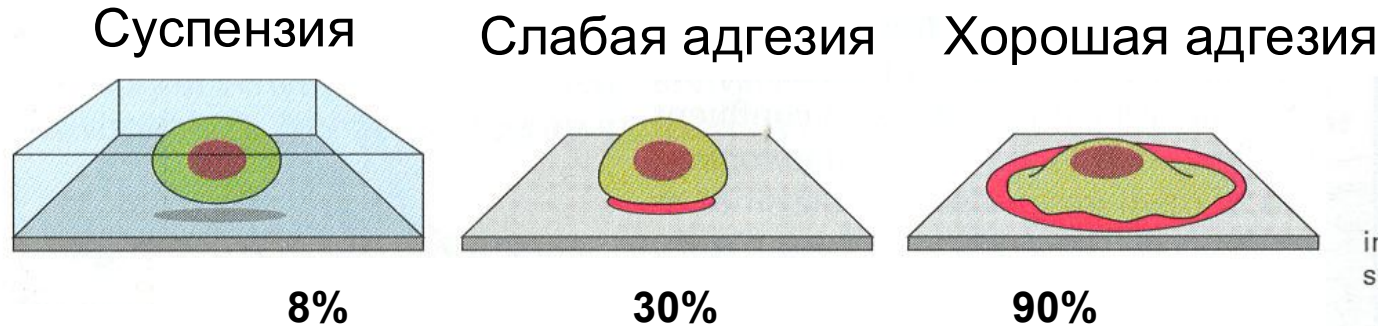
В большинстве нормальных клеток гиперактивация Ras и Myc приводит к активации точки контроля. Нормальная клетка в состоянии различить аномальную стимуляцию.



Индуктируется синтез ингибиторного белка p19ARF, который присоединяется к Mdm2 и ингибирует его. Возрастает уровень p53 – арест или апоптоз

В раковых клетках эта система часто инактивируется мутациями в компонентах точки контроля

Способность к делению зависит от формы и прикрепления клеток

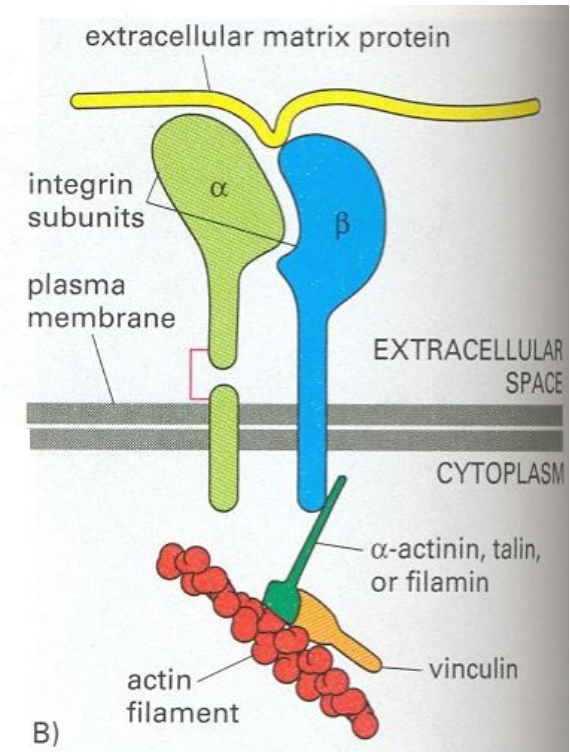


Ростовые факторы доступны.
Возможность вступления в S фазу
в зависимости от адгезии

Фокальная адгезия – места контактов: актин – интегрин -
фибронектин. В местах кластеризации интегринов -
фокальный контакт - активация тирозин киназы FAK
(фокальной адгезии), прикрепление к цитоплазматическим
хвостам интегринов, кроссфосфорилирование
друг друга.

Сайты SH, присоединение киназы Src. Две киназы
продуцируют сигналы о прикреплении: активируют
внутриклеточный сигнал, разрешающий выживание, рост и
деление клетки

. Повышенная активность FAK способствует разборке
фокальных контактов и увеличению подвижности клетки,
наблюдается во многих разновидностях рака



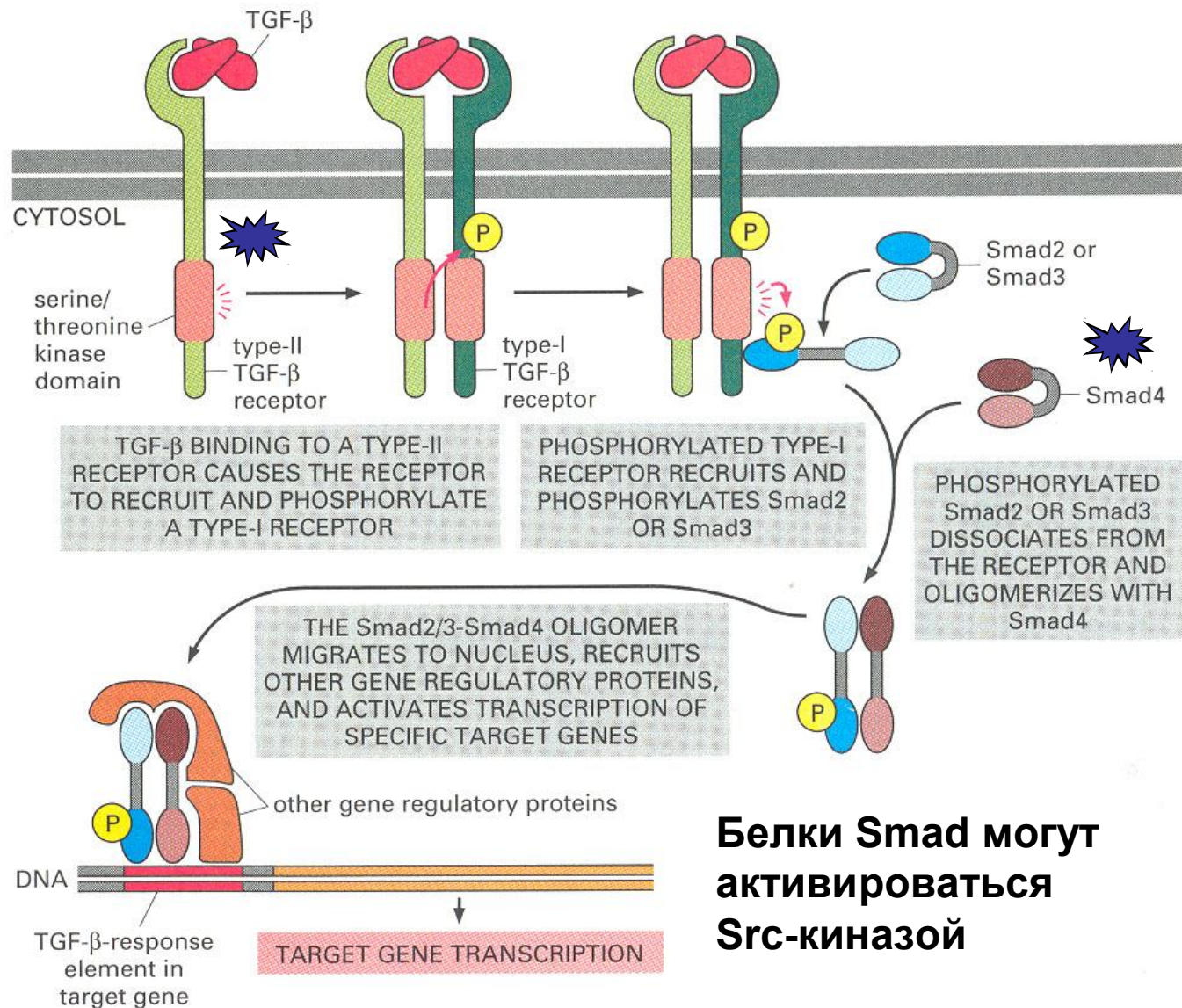
Участники пути TGF-β – Smad в онкогенезе

TGF-β ингибирует пролиферацию нескольких типов клеток, блокируя клеточный цикл в G1 или стимулируя апоптоз. Градуирующие морфогены в эмбриогенезе

Туморсупрессор Рецептор TGF-β II (30% при раке прямой кишки)

Туморсупрессор Smad4 (рак поджелудочной и др.)

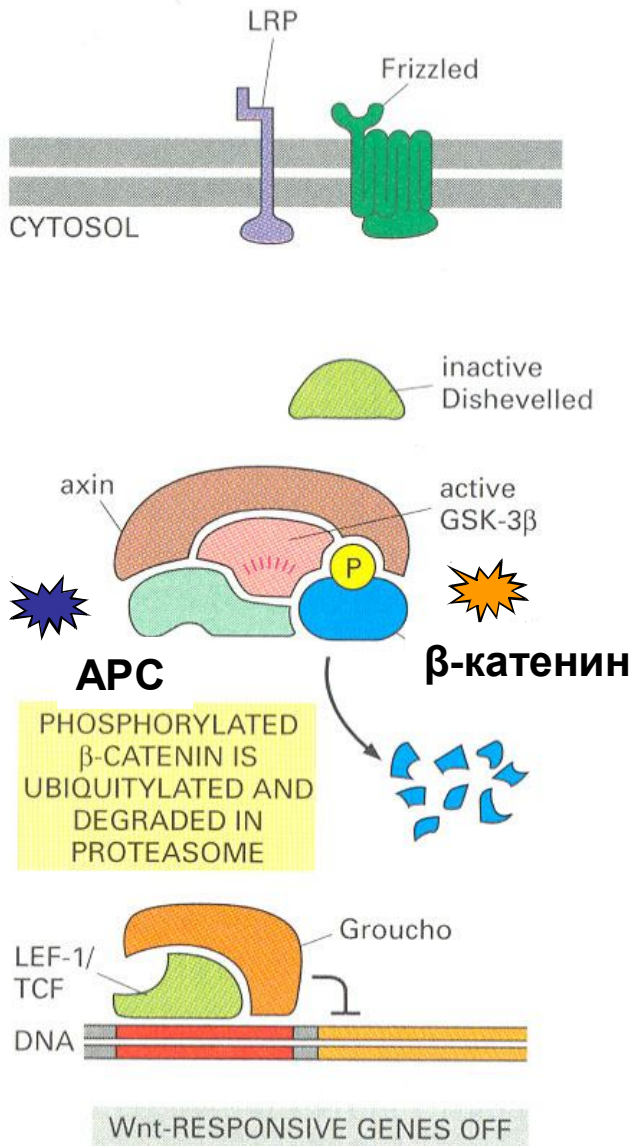
Рецепторы TGF-β - серин-треонин киназы.



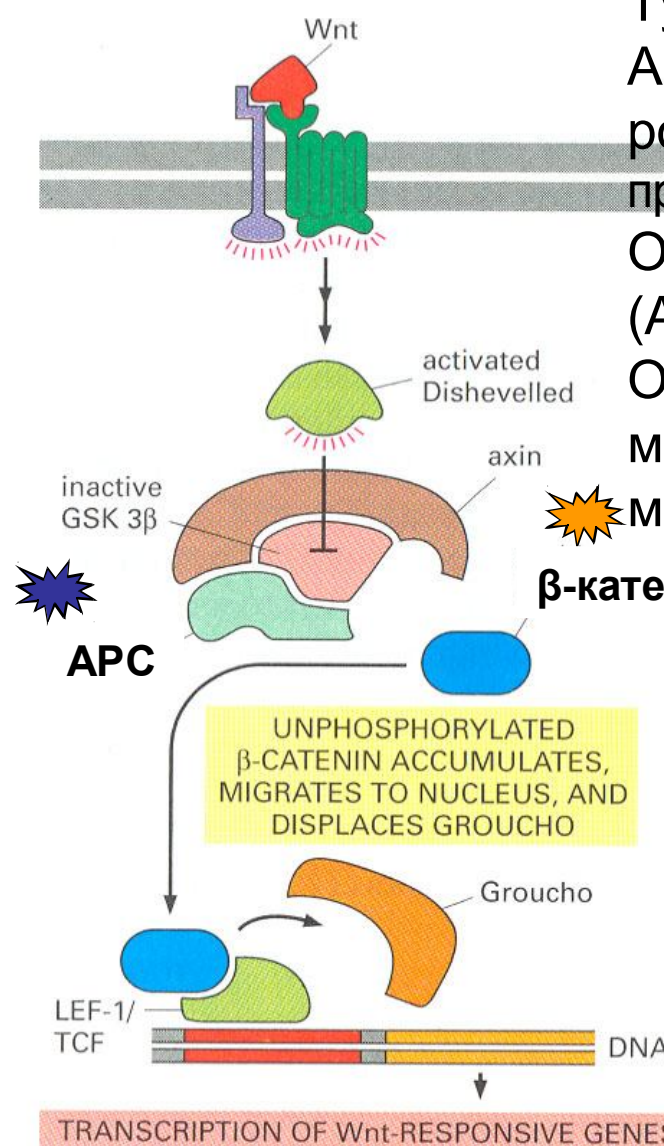
Белки Smad могут активироваться Src-киназой

Сигнальный путь Wnt – локальный медиатор развития

(A) WITHOUT Wnt SIGNAL



(B) WITH Wnt SIGNAL



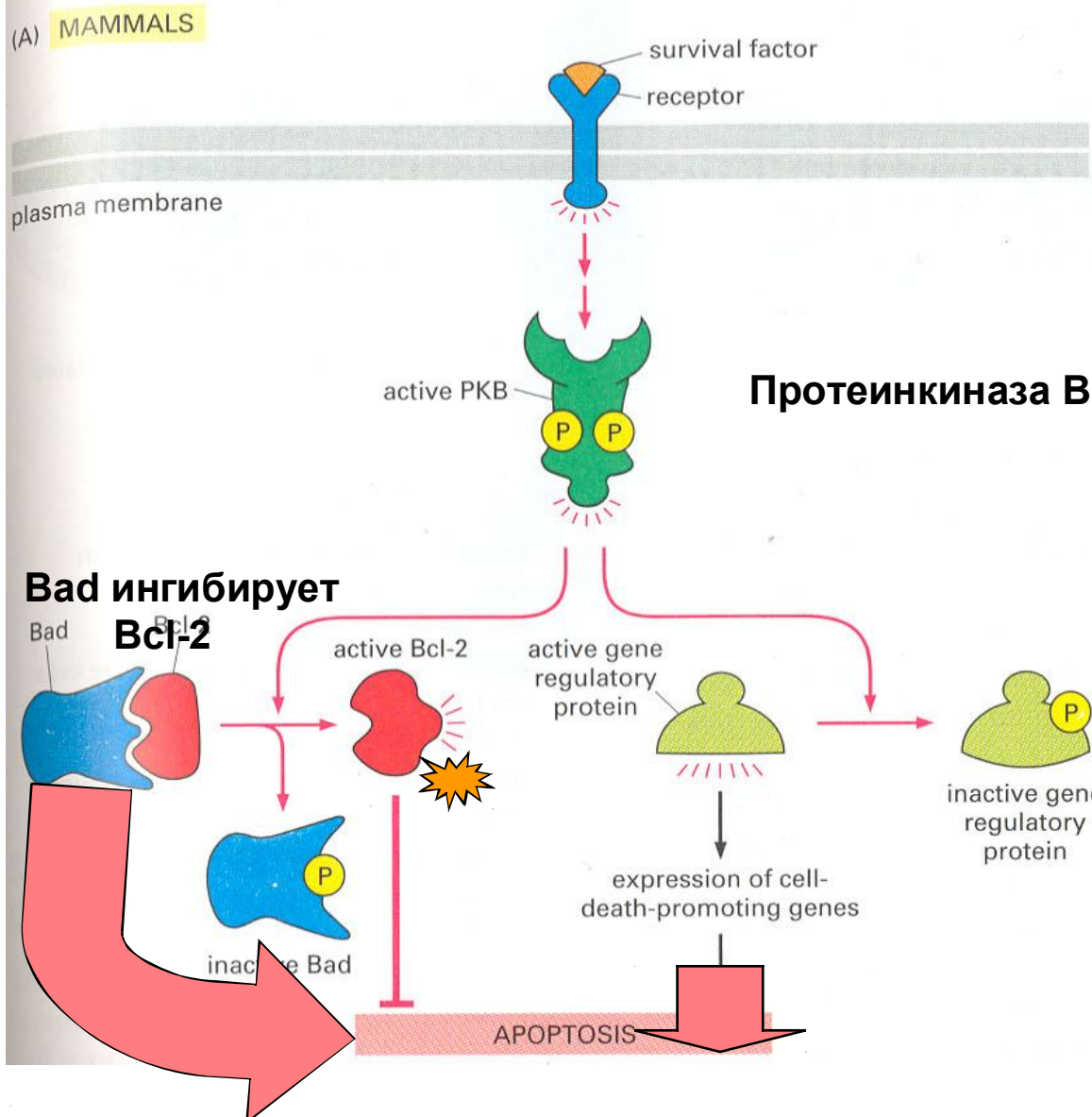
Туморсупрессор APC- adenomatous polyposis coli (60% при раке прямой кишки)
 Онкоген – β-катенин (Armadillo у мух)
 Онкоген Wnt=Int-1 у мышей – рак

★ молочной железы
 β-катенин

При раке прямой кишки обычно дефектен один из генов

Транскрипция *c-тус*, стимуляция роста стволовых клеток эпителия

Фактор выживания супрессирует апоптоз у млекопитающих



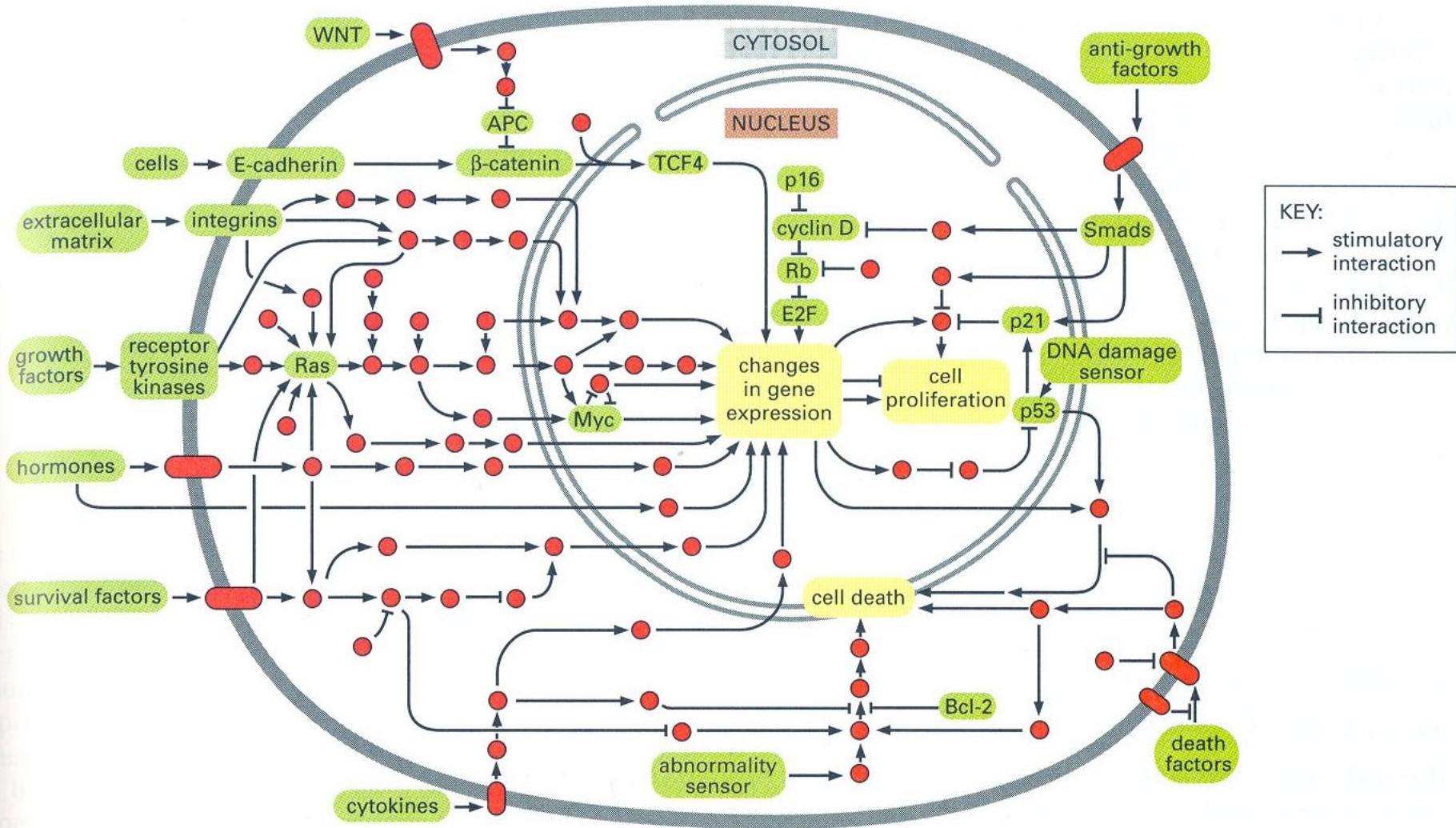
Рецептор фактора выживания активирует протеинкиназы, в т.ч. PKB.

PKB:

1. Активирует ингибитор апоптоза Bcl-2. Этим способом должны погибать ненужные В-лимфоциты после иммунного ответа (B-cell lymphoma).

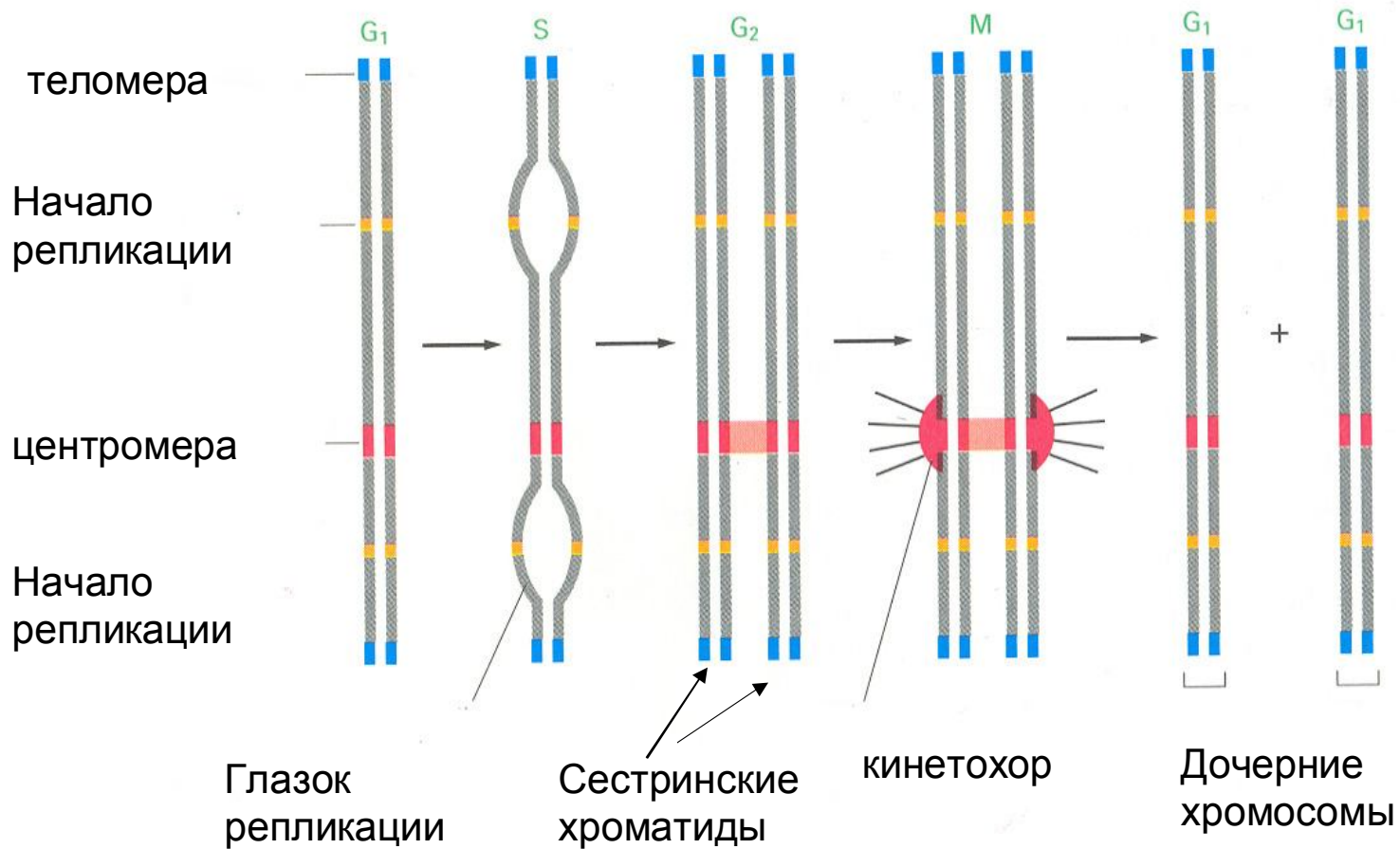
2. Ингибирует гены, вызывающие апоптоз

Белки и сигнальные пути, играющие роль в онкогенезе

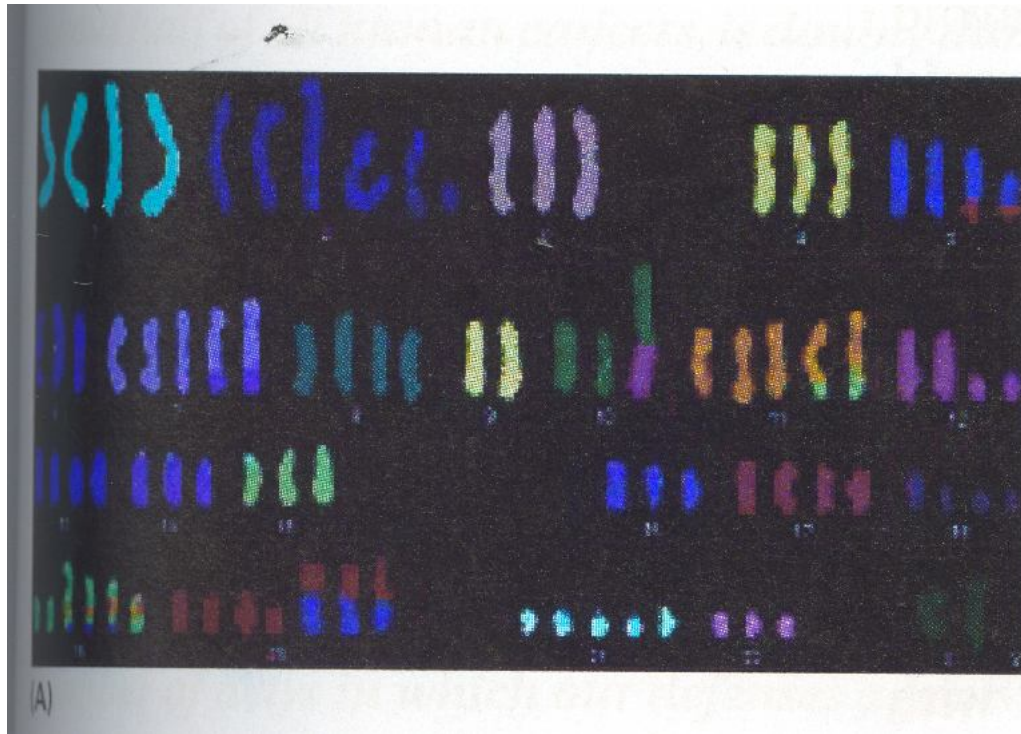


Хромосома в клеточном цикле

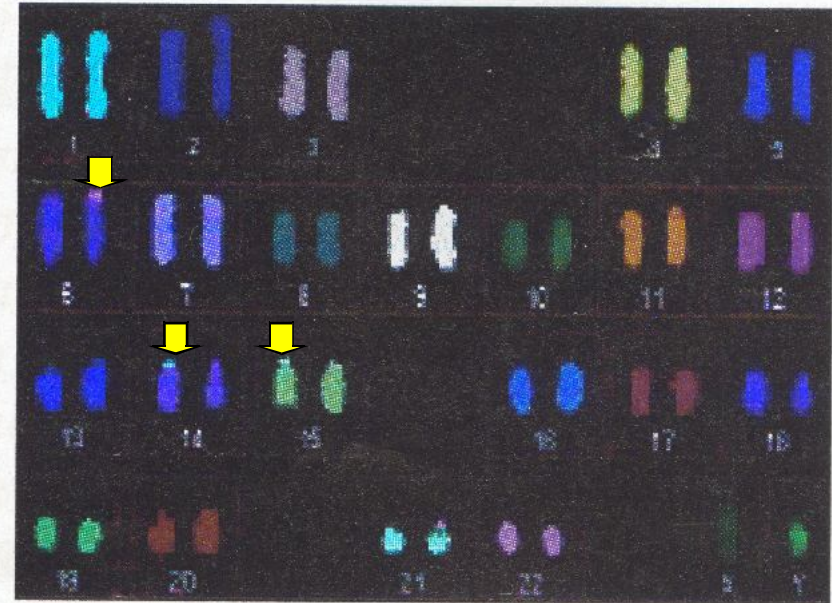
Районы хромосом, необходимые для их передачи дочерним клеткам



Две формы наследственного рака прямой кишки – полипозная (FAP) и неполипозная (HNPCC)



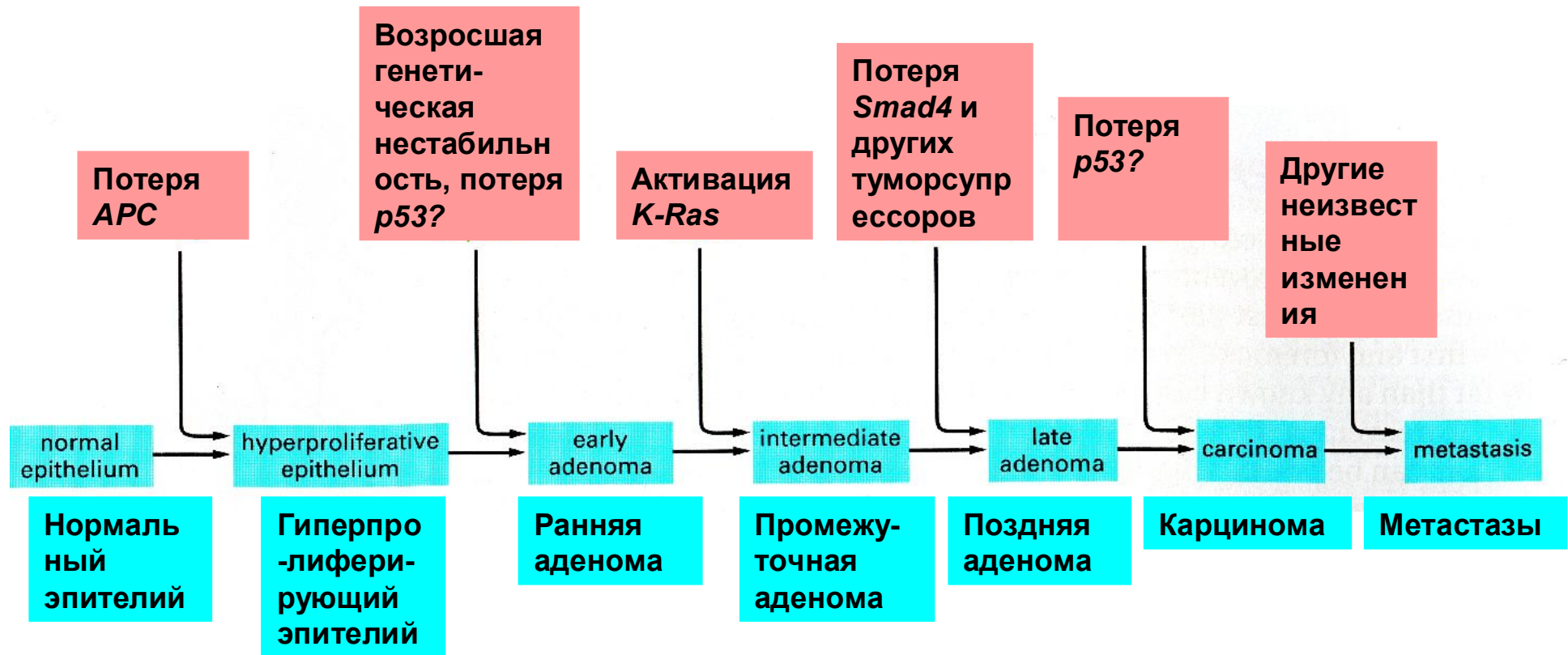
Типичный кариотип раковой клетки (FAP)



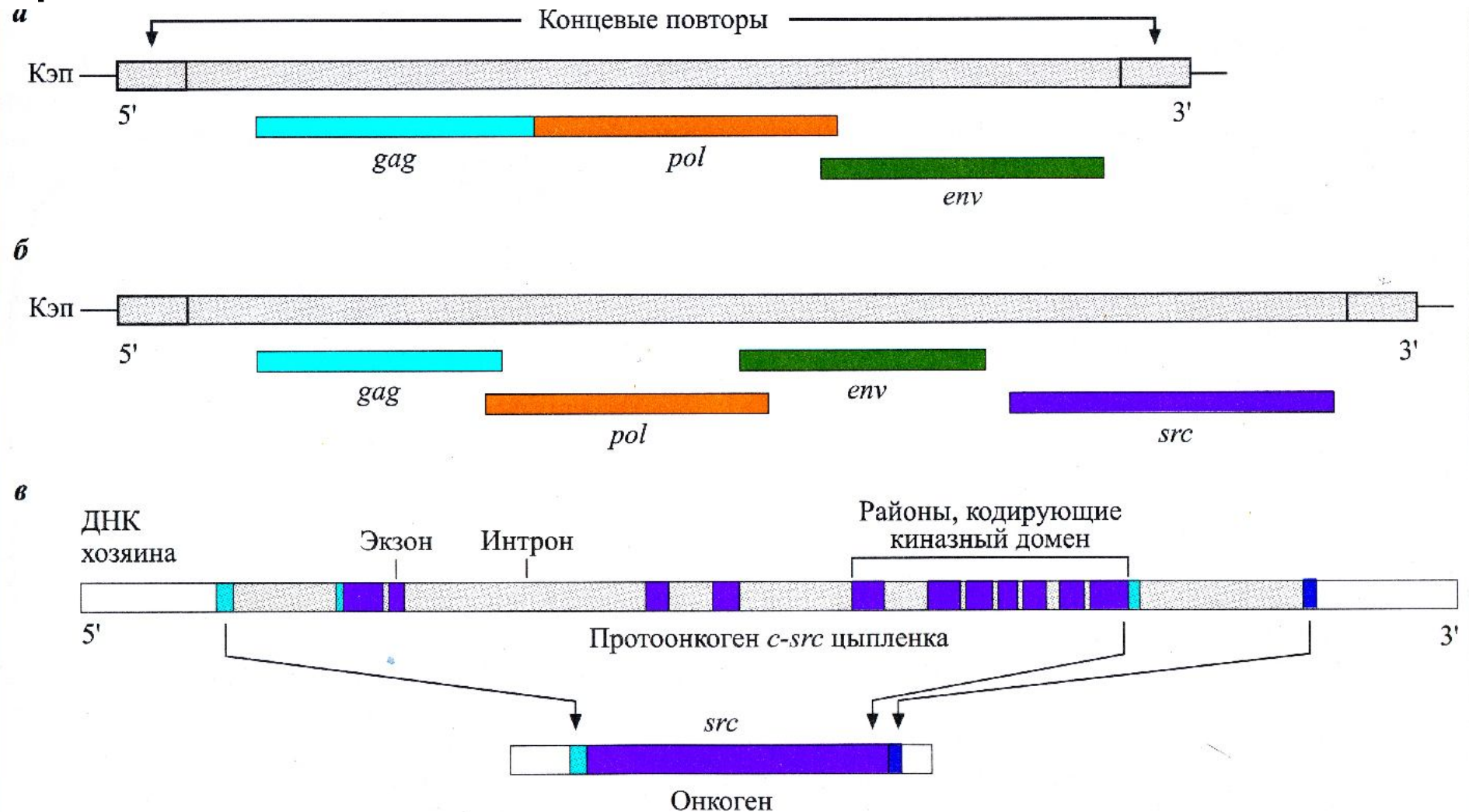
Кариотип клетки наследственного неполипозного рака прямой кишки (HNPCC) – 46 хромосом с небольшими перестройками

К такому типу генетической нестабильности приводят дефекты mismatch-репарации, например, в гене *MLH1*

Типичная последовательность генетических изменений, сопровождающих развитие карциномы прямой кишки



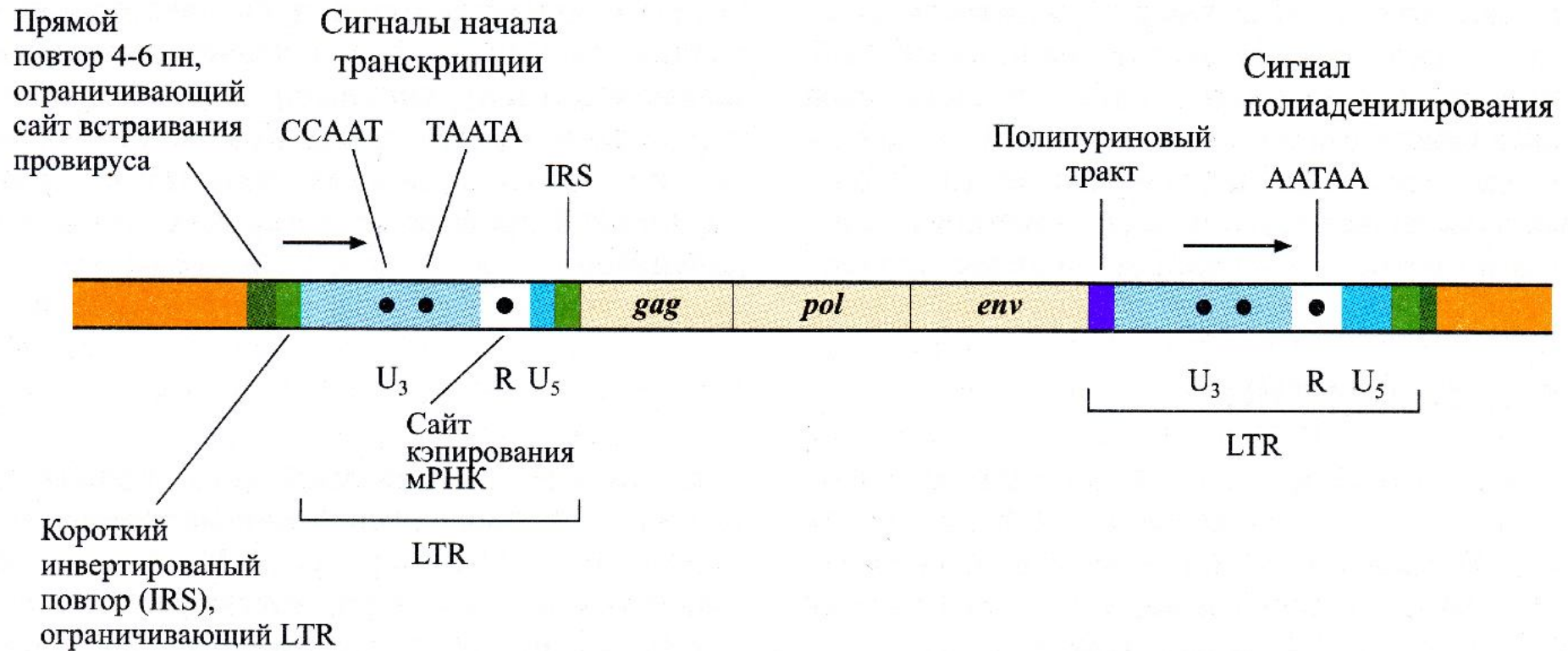
Структура вируса лейкемии мыши и саркомы Рауса, протоонкогена и онкогена *src*



Структура вирусов лейкемии мыши (а) и саркомы Рауса (б), а также онкогена *src* и протоонкогена *c-src* (в) [Alberts et al., 1994. P. 1276].

gag — ген, кодирующий белок капсиды вируса, *pol* — обратную транскриптазу, *env* — гликопротеиновую оболочку вируса

Организация длинных концевых повторов (LTR) в ДНК у ретровирусов



Особенности организации длинных концевых повторов (LTR) в ДНК у ретровирусов [Russell, 1998. P. 593].

U₃, R и U₅ — элементы вирусных геномов

Папилломавирус несёт гены, инактивирующие p53 и Rb-белок. Вызывает бородавки и рак шейки матки

Группы генов, критических в отношении канцерогенеза

- Ключевые регуляторы клеточного цикла
- Участники внутриклеточных путей точек контроля и апоптоза
- Участники сигнальных путей о прикреплении клетки к субстрату
- Участники сигнальных путей от организма к клетке
 - Стимулирующих деления клеток
 - Стимулирующих гибель клеток

Белок p53

Активируется при стрессе:

- γ и UV облучение
- Гипоксия
- Повреждение ДНК
- Репликативное старение
- Вирусная инфекция
- Аномальная стимуляция митогенного пути

Вызывает остановку клеточного цикла

Активирует репаративную систему клетки

Вызывает апоптоз

Точки контроля клеточного цикла:

Повреждения ДНК

- Болезнь «атаксия телангиэктазия»- синдром Луи-Бара – дефект одной из протеинкиназ, фосфорилирующих p53 в ответ на облучение - ATR-киназа – лейкемия, лимфома
- Белок RPA взаимодействует с однонитевыми разрывами ДНК, привлекает ATR-киназу и белок ATRIP (ATR-interacting protein)
- Активируют серин-треонин-киназу точки контроля Chk1
- Специфические фосфатазы точек контроля

- **Использованные источники:**
- Жимулев И.Ф. *Общая и молекулярная генетика*. – Новосибирск, Сибирское университетское издательство, 2003.
- Омелянчук Л.В., Федорова С.А. *Основные события клеточного цикла: их регуляция и организация*. Новосибирск: НГУ, 2010.
- Alberts B. et al. *Molecular biology of the cell*. N. Y.: Garland Science, 1994, 2003, 2010.
- б) дополнительная литература:
- Abraham R.T. Cell cycle checkpoint signalling through the ATM and ATR kinases // *Genes Dev.* 2001, 15: 2177-2196.
- Araki M., R.P. Wharton, Z. Tang, H. Yu, M. Asano Degradation of origin recognition complex large subunit by the anaphase-promoting complex in *Drosophila* // *EMBO Journal*. 2003. V. 22. N. 22. P. 6115-6126.
- Basi G., Draetta G. The cdc2 kinase: structure, activation and its role at mitosis in vertebrate // in “Cell Cycle Control”. Eds by Hutchison C., Glover D. New York: Oxford Univ. Press, 1995. P.106-143.
- Chen Ch.T., Doxey S. A last minute rescue of trapped chromatin // *Cell*. 2009. V. 136. P. 397-399.
- Elledge J.S. Mitotic arrest: Mad2 prevents sleepy from waking up the APC // *Science*. 1998. V. 279. P. 999-1000.
- Jones L., Richardson H., Saint R. Tissue-specific regulation of *cyclin E* transcription during *Drosophila* embryogenesis // *Development*. 2000. V.127. P.4619-4630.
- Joyce E.F., McKim K.S. *Drosophila* PCH2 is required for a pachytene checkpoint that monitors double-strand-break-independent events leading to meiotic crossover formation // *Genetics*. 2009. V.181. P. 39–51
- Hartwell L.H., Weinert T.A Checkpoints: Control that ensure the order of cell cycle events // *Science*. 1989. V. 246(4930). P. 629-634.
- Karaiskou A., Leprêtre A.C., Pahlavan G., Pasquier D.D., Ozon R., Jesus C. Polo-like kinase confers MPF autoamplification competence to growing *Xenopus* oocytes // *Development*. 2004. V.131 (7). P.1543-1552
- Lee O.H., Davidson J.M., Duronio R.J. Endoreplication: polyploidy with purpose // *Genes & Development*. 2009, 23: 2461-2477.
- Lehman D.A., Patterson B., Johnson L.A., et al. Cis-regulatory elements of the mitotic regulator, string/ Cdc25 // *Development*. 1999. V.126. P.1793-1803
- Murray A., Hunt T. *The cell cycle an introduction* // New York, Oxford. Oxford University Press. 1993. 251 P.
- Murray A.W. Creative blocks: cell-cycle checkpoints and feedback controls // *Nature*. 1992. V. 359. P. 599-604.
- Nurse P., Thuriaux P., Nasmyth K. Genetic control of the cell division cycle in fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. // *Mol. Gen. Genet.* 1976. V.146(2). P.167-178.
- Olivier N., Luengo-Oroz M.A., Duloquin L., Faure E., Savy T., Veilleux I., Solinas X., Débarre D., Bourguin P., Santos A., Peyriéras N., Beaurepaire E. Cell Lineage Reconstruction of Early Zebrafish Embryos Using Label-Free Nonlinear Microscopy // *Science*. 2010. V. 329. P. 967-971.
- Park S.Y., M. Asano The origin recognition complex is dispensable for endoreplication in *Drosophila* // *PNAS*. 2008. V. 105. N. 34. P. 12343–12348.
- Rao P.N., Johnson R.T. Mammalian cell fusion: Studies on the regulation of DNA synthesis and mitosis // *Nature*. 1970. V. 225. P. 159-169.
- Vagnarelli P., Earnshaw W.C. Chromosomal passengers: the four-dimensional regulation of mitotic events // *Chromosoma*. 2004. V.113. P. 211–222.