**Лекция 11. Нарушения функции онкобелков Ras и опухолевого супрессора р53. Механизмы онкогенного действия мутаций Ras и р53.**

Многие типы рака возникают как результат множественных событий: активаций

протоонкогенов (ПО) и инактиваций раковых супрессорных генов (РСГ). Так как нормальная клетка имеет множественные механизмы регуляции клеточного роста, необходимо несколько изменений для нарушения его контроля. Доказательством этого является обнаружение в раковых клетках генов с мутациями. На сегодняшний день найдены гены, мутация в которых строго вызывает предрасположенность к раку, то есть они предоставляют одно из необходимых событий канцерогенеза. Активация протоонкогенов с трансформационным потенциалом может не быть достаточной для появления рака, однако их изучение помогает понять природу этих событий. Редко образование раковой опухоли связано с активацией одного онкогена. Как правило, необходимо совместное действие нескольких генов. Так, например, среди трансгенных мышей несущих v-myc рак развивается лишь у 10% особей, среди трансгенных мышей несущих v-ras - у 40% особей, а у трансгенных мышей несущих оба активных гена – у всех особей.

Среди протоонкогенов довольно часто встречаются белки, регулирующие клеточную дифференцировку. Остановка дифференцировки ведет к продолжению пролиферации, что дает большие возможности для появления мутаций в онкогенах. Во многих случаях существует строгая корреляция между активацией онкогенов и ростом опухоли, но природа инициирующего события остается неизвестной. Можно надеяться, что изучение клеточных онкогенов поможет ее понять.

Ras принадлежит к большому семейству малых GTP-связывающих белков и регулирует клеточный рост и дифференцировку. В активном состоянии Ras связан с молекулой GTP, а в неактивном - с GDP. Обмен GDP на GTP стимулируется белковым фактором обмена гуанин нуклеотида (GEF, guanine nucleotide exchange factor). Гидролиз связанного с ras GTP до GDP осуществляется GTPаза активирующим белком (GAP, GTPase activating protein). Кроме того, белковый ингибитор диссоциации гуанин нуклеотида (GDI, guanine nucleotide dissociation inhibitor) способен поддерживать Ras в неактивном состоянии, ингибируя обмен гуанин нуклеотидов.

Активация Ras опосредуется рецепторной тирозин киназой. После связывания ее рецепторной экстраклеточной части тирозин киназы с фактором роста и ее димеризации происходит взаимное фосфорилирование ее внутриклеточных доменов. Фосфорилирование создает благоприятную конформацию киназы для связывания с цитозольным белком Grb2 содержащим SH2 домен. Посредством этого домена Grb2 связан с GEF. Таким образом, GEF оказывается у внутренней поверхности клеточной мембраны, с которой связан Ras посредством гидрофобного остатка фарнезила. Происходит образование активного комплекса ras-GTP. Этот комплекс взаимодействует с серин/треонин киназой raf. Интересно, что Ras-GTP не повышает каталитическую активность raf, а просто привлекает ее из цитозоля к мембране, где она фосфорилирует другие связанные с мембраной белки. Эти события вызывают активацию ERK.

При процессинге белка ras происходит его фарназилирование по аминокислотному остатку Cys-186, отщепление следующей после Cys-186 C-концевой части. Cys-186 становится C-концевым остатком ras и метилируется. Обратимое пальмитилирование других остатков цистеина ближе к С-концу ras повышает его сродство к мембране. Наиболее частыми онкогенными мутациями ras являются мутации в 12 и 61 кодонах. Мутация в 12 кодоне затрагивает GTP-связывающий сайт. 61 кодон входит в состав L4 домена, который изменяет свою конформациюпри гидролизе GTP. Белок ras фосфорилирует Raf белок, который в свою очередь активирует МЕК. Последний обладает двоякой специфичностью - фосфорилирует треонин и тирозин. Его мишень - ERK МАР киназа. Оба типа необходимы для активации МАР киназ.