**p21WAF1 и образование опухолей: 20 лет спустя**

Warfel, Noel A.; El-Deiry, Wafik S.

На данный момент точка зрения в онкологии такова: Январь 2013 – книга 25 - статья 1 - с. 52-58

Бедствие биологии: Под редакцией Пьера Хайнаута и Амели Плюмот

**Реферат**

**Цель исследования.** В этой работе представлены общие сведения о структуре, регуляции и психологических функциях p21, продукт циклин-зависимых киназов ингибитора 1А (CDKN1A) гена, с акцентом на его двойную роль в содействии и подавлении биологических процессов, которые являются признаками образования новых опухолей.

**Последние исследования.** Последняя работа, позволила лучше понять принцип влияния молекулярных механизмов онкогенных сигнальных путей на выраженность p21. В ответ на клеточную стимуляцию, p21 строго регулируется на транскрипционном и посттрансляционном уровнях, с помощью вовлечения в процесс стабилизаторов RNA, фосфолитирования и убихитинилирования. В результате увеличениея числа характерных симптомов, было выявлено что несколько важных новообразовавшихся супрессоров и онкогенных сигнальных путей, изменили выраженность p21, повлияли на единичное деление и продолжительность существования клетки. Таким образом, выраженность p21 может стимулировать и угнетать процесс образования опухолей, в зависимости от клеточного состояния.

**Теоретическое обоснование.** С момента исследования становилось все больше и больше предположений что p21 может функционировать как ген подавляющий развитие раковых опухолей и также как ген вызывающий развитие раковых опухолей. Эффективное использование p21 в качестве терапевтической мишени, необходимо для выработки медицинской стратегии, которая блокирует возможность p21 провоцировать физиологическое старение, восстанавливать полость ножки эндопротеза и активировать циклин, чтобы ген подавляющий развитие опухолей оставался неповреждённым.

**ВВЕДЕНИЕ**

Потеря контроля над поведением млекопитающих приводит к клеточным трансформациям и провоцирует образование опухолей. В результате, эукариотические клетки развиваются с несколькими отделами с контрольными пунктами, которые регулируют развитие клеточного прогресса. Нарушенная выраженность и активность белка означает что промежуточное звено контрольно-пропускного пункта клеточного цикла развивается как рак и это увеличивает необходимость вмешательства противораковой терапии. Один из таких клеточных регуляторов белка, p21 [также известный как дикий тип p53 – активируемый фрагмент 1 (WAF1), CDK- воздействие белка 1 (CIP1), стареющие клетки получают растущие блокираторы 1 (SDI1), растущий антиген меланомы 6 (MDA6) и блокираторы циклин-зависимыз киназов 1A (СDKN1A)], функции циклин-зависимых киназ - блокираторов. Вследствие этого ДНК подвергается разрушению или другим клеточным стресс-факторам, p21 заметно увеличивается, результат контрольно-пропускного пункта клеточного цикла после смены места, означает что клетки могут доживать до определенного возраста и сохранять свои генетические характеристики. С момента этого открытия, число исследований, объясняющих комплексный механизм регуляции p21, его выраженности и функций, привели к осознанию роли p21 в качестве как позитивного, так и негативного регулятора образования и развития опухолей.

**СТРУКТУРА**

Дикий тип p53- активирует фрагмент гена (WAF1), который располагается на хромосоме человека – 6p21 и зашифровывает белок 21-kDa (p21) который определяется через субтрактивный скрининг гибридизации для транскрипционной цели p53 опухолевого супрессорного белка. Одновременно с этим, p21WAF1 развивается независимо от дрожжевого двух гибридного экрана как белок 21-kDa взаимодействует и ингибирует циклин – зависимый киназ 2 (p21CIP1), также, как и SDI1 и MDA6. p21 – это член Cip/Kip семьи циклин – киназовых ингибиторов (CKLs), которые включают p27 и p57. Эти члены семьи делятся важной последовательностью гомологии в их N-конечной стадии, которая демонстрирует скрытые циклин/CDK – связанные домены которые необходимы и соответствуют ингибиторам активности CDK и причину по которой G1 блокируется при избыточной экспрессии в клетках.

**ЧТО НУЖНО ПОМНИТЬ**

* Ингибитор циклин – зависимых киназов, p21WAF1, оказывает критический эффект, который реагирует на разные внутриклеточные и внешнеклеточные стрессовые сигналы.
* Кроме того, их роль в качестве медиатора блокировки клеточного цикла, p21 может провоцировать разрастание клеток и онкогенетического фенотипа.
* Различные сигнальные молекулы регулируют влияние p21 на транскрипционных и пост транслатионнальных уровнях.
* P21 зачастую ослабевает в раковой опухоли человека, но зависит от клеточного контекста и его выраженность может в равной степени провоцировать и ингибировать образование опухолей.

**Блок 1**

Члены семейства циназных ингибиторных белков, сохраняют высокую диффузную эволюцию. Однако, такие структурные различия между членами семейства, поддерживают идею о том, что каждый из этих ингибиторов выполняет разные функции в клетке. Интересно, что в Дрософиле, дап-белок может быть идентифицирован как гомология p27, который выступает в роли ключевого регулятора выхода из клеточного цикла. Однако, также дап - это самый низкий уровень чередования гомологии в эукариотичексих членах семейства ингибиторных белков, эти поражения сохраняются в ДНК – взаимодействующих доменах и в ядерных антигенах пролиферирующих клеток, которые специфичны для p21, и они означают что Дап может быть более тесно связан с p21 в некоторых из их регуляторных функций. Недавнее изучение роли Дап в качестве регулятора премитотической S фазы и геномной стабильности показывает, что дап -/- мухи входят в меотический цикл с высоким уровнем циклина E/CDK2 и приводит в действие ДНК опасность в кисте яичника, независимо от двухниточного разрыва, который стимулирует меотическое восстановление. Эти данные предполагают, что CKLs, такие как p21, могут играть одну из главных и не дублирующих ролей в меотическом клеточном распределение.

**РЕГУЛИРОВАНИЕ УРОВНЕЙ ВЫРАЖЕННОСТИ p21**

С момента его открытия в качестве транскрипциональных молекулярных мишеней p53, был достигнут значительный прогресс, в раскрытии механизмов, которые управляют выраженностью p21 и на транскрипционном и на белковом уровне.

*Транскрипция.*

Транскрипционная регуляция p21 может быть тщательно изучена. Было первоначально установлено что выраженность p21, вызвана тем что в белке - супрессоре p53, было окончательно показано, что он является центральным медиатором p53 индуцированной остановки G1. Ген WAF1 скрывает несколько элементов с ответной реакцией в обоих его пяти концах и в теле гена. По этой причине, в ответ на угрозу ДНК, активация p53 вызывает выражение белка p21 и причины блокировки G1 в p21 зависимых способах. Кроме того, их регуляция проходит по классическому метаболическому пути p53, выраженность p21 также модулируется на транскрипциональном уровне за счет массива онкогенов и белок – супрессор опухолей, который индуцирует выраженность p21 посредством связывания разных транскрипционных факторов специфичных элементов, действующих в цис-положении и расположенных в провокаторе p21. Например, трансформирующий рост фактора β (TGF-β), фактор роста нервов и белок-супрессор опухолей, раковый ген молочных желез 1 , индуцирует транскрипцию p21 через Sp1-3 органы и ткани в провокатор p21. В другом случае, онкобелок, c-Myc, показывает приостановку транскрипции p21 через их взаимосвязь и последующее подавление со сложной структурой транскрипционных факторов. К этому можно добавить, что c-Myc показывает приостановку с карбоксильным концом p21, который разрушает их взаимосвязь с PCNA и снижает промежуточное звено p21 – ингибирования синтеза ДНК. Из-за важности с-MYC при раке, это выход имеет широкий спектр последствий на психологическом результате клеток, в ответ на повреждение ДНК. Скажем так, в опухолевых клетках выраженность высокого уровня c-Myc, p53 зависимая индукция p21 должна быть притуплена, с учетом преобладания преопатической руки p53. По этой причине, регуляция транскрипции p21 это комплекс, и кроме того p53 и сыворотка крови, и множество других факторов транскрипции, таких как активатор белка 2, транскрипционный фактор E2 (E2F), сигнальный трансдуцер и активатор транскрипции (STATs), и CCAATген-усилитель связывает белковую альфу, и может индуцировать транскрипцию p21 по причине различных сигналов.

*Стабильность РНК*

Долгое время было известно, что воспалительный процесс и клеточный стресс могут вызвать повышение p21, и один механизм несущий ответственность за эту реакцию был недавно объяснен. ZO01 – связывающий нуклеиновую кислоту, связывающий белок (ZONAB)/DbpA это Y- box транскрипционный фактор регулируемый с помощью компонентов межклеточного контакта, которые воздействуют с помощью цитокина и поврежденной ткани. В реакции нескольких видов клеточного стресса, ZONAB связан с особыми местами в 3’-UTR p21mRNA, результатом в mRNA становится стабилизация и увеличение трансформации. Кроме того, Rho – стимуляция вызывает присоединение ZONAB к p21 mRNA и влияет на Ras – индуцированную выраженность p21. Эти наглядные демонстрации стабилизации RNA в качестве уникального механизма, который связывает клеточный стрессовый ответ с выраженностью р21 и выживанием клеток.

*Протеасомная деградация*

При нормальных условиях роста, p21 это неустойчивый белок с относительно коротким периодом полураспада. Во время синтеза, белок теплового шока 90 (HSP90) участвует в p21 через адаптерный белок WAF1/CIP1 стабилизирующий белок 39 (WISp39) и защищает p21 от протеасомной деградации. Важность HSP90 для стабильности p21, подтверждает терапия с гельданамицином, ингибитор HSP90, уменьшает период полураспада и установившиеся уровни p21.

На сегодняшний день большинство исследований оборота p21 предполагает, что в первую очередь деградация происходит через убиквитин-протеасомный путь. Несколько явных лигазивных комплексов E3, включающие SCF, кулин4A-RING E3 убиквитивные лигазы, мышечные двойные минуты 2 (MDM2) и MDMX, CPL2 и анафазно-стимулирующий комплекс/циклосома (APC/C), которые должны показать опосредование оборота p21. Интересно что, каждый лигазный комплекс E3 оказывается преимущественно связанным с p21 на разных этапах клеточного цикла или в разных местах внутри клетки, чтобы регулировать специфические пулы p21. Например, CRL4 вызывает убиквитинирование и деградацию p21 в прометофазе, из которой следует полная активация циклина/CDK1 через митотическое деление. Из-за цитоплазматической локализации субъединицы E3 – лигазы, богатый лейцином повторный белок 1 (LRR1), CRL2 специфичные объект цитоплазматические пулы p21 для протеасомной деградации. Интересно что, твердо установившиеся безымянные E3 лигазы, являются целью деградации p53, MDM2 и MDMX, также провоцирует оборот ядерной p21, путем присоединения p21 непосредственно к протеасоме, независимо убиквитина, пуетм связывания MDM2/p21/14–3–3τ непосредственно к субъединице С8 протеасомы 20S.

*Пост-трансляторные модификации*

Есть много доказательств важности пост-трансляторной модификации в контролирующих уровнях выраженности p21, клеточной локализации и активности. Идентификация пост-трансляторной модификации, которая изменяет локализацию p21 и может иметь особое значение, учитывая, что накопление p21 в ядре связано с ингибированием роста, ввиду того, что онкогенетическая активность в первую очередь связаны с цитоплазматической локализацией. Что особенно важно, способствующие выживанию киназы, фосфорилирует p21 в Thr145, Akt, который разрушают соединения p21 с PCNA, уменьшает его ингибирующий эффект на комплекс циклин ДНК и приводит к цитоплазматическому накоплению p21. В результате, в опухолях происходит устанавливающаяся активация Akt через увеличение рецепторных тирозинкиназов, среди других механизмов, фосфорилированная цитоплазматическая форма p21 больше не может инициировать свои функции, ингибирующие рост.

Недавний доклад группы исследователей Брайана Хэминга, доказывает, что новая линия между p21 и сигнальным путем супрессивной опухоли 20-like kinase (MST) посредством активации нижестоящих ядерных киназ, связанных с Dbf2-related (NDR). Особенно, NDR киназы контролируют стабильность белка p21 через прямое фосфорилирование по Ser146, который дестабилизировал p21. Поэтому, ингибирование или генетическое истощение MST3 или NDR стабилизация p21 и привело к накоплению клеток в G1. Эти данные являются первичными, которые описывают существование новой оси MST3-NDR-p21 в качестве важного регулятора прогрессии G1 / S в клетках млекопитающих и дают новое понимание потенциальной регуляции p21 в развитии органов и опухоли.