

УДК 577.218

СТРОЕНИЕ СИГНАЛЬНОГО ПУТИ JAK/STAT И ЕГО ВЗАИМОСВЯЗЬ С АППАРАТОМ ТРАНСКРИПЦИИ

© 2013 г. А. В. Шапошников*, И. Ф. Комарьков, Л. А. Лебедева, Ю. В. Шидловский

Институт биологии гена Российской академии наук, Москва, 119334

Поступила в редакцию 26.12.2012 г.

Принята к печати 18.01.2013 г.

Сигнальный путь JAK/STAT – один из консервативных путей регуляции у высших эукариот – играет важную роль в различных процессах онтогенеза. В работе рассмотрена его организация на молекулярном уровне, главным образом, на примере модельного организма – дрозофилы. Основное внимание уделено взаимосвязи между этим сигнальным путем и транскрипционным аппаратом высших эукариот.

Ключевые слова: сигнальные пути, сигнальный путь JAK/STAT, факторы транскрипции, эукариоты.

MOLECULAR COMPONENTS OF JAK/STAT SIGNALING PATHWAY AND ITS CONNECTION WITH TRANSCRIPTION MACHINERY, by A. V. Shaposhnikov*, I. F. Komarkov, L. A. Lebedeva, Y. V. Shidlovskii (Institute of Gene Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119334 Russia; *e-mail: shaldr23@mail.ru). JAK/STAT is one of the conservative signaling pathways in higher eukaryotes which plays a critical role in different ontogenesis processes. This article gives a review of the pathway structure at the molecular level, mainly in a model organism *Drosophila*. There are data about relationship of the signaling pathway and transcription machinery of higher eukaryotes.

Keywords: signaling pathways, JAK/STAT, transcription factors, eukaryotes.

DOI: 10.7868/S0026898413030130

Сигнальные пути многоклеточных животных обеспечивают правильное течение онтогенеза и способность клеток реагировать на внешние сигналы. Они активируются при воздействии сигнальных молекул – лигандов, которые связываются с рецепторами. Это взаимодействие запускает каскад событий, что, в итоге, ведет к активации определенных генов под действием ген-специфических факторов транскрипции. Таким образом, в клетке существует тесная связь между транскрипционным аппаратом и сигнальными путями.

Распознавание сигнальных молекул, чаще всего, начинается на мембране клетки при участии специальных высокоизбирательных белков-рецепторов, содержащих три типичных домена. Это N-концевой внешний, ответственный за связывание сигнальной молекулы, затем трансмембранный домен, представляющий собой один или несколько α -спиральных участков, и третий, C-концевой внутренний домен, передающий сигнал далее. Кроме клеточной мембраны, рецепторы могут локализоваться также в цитоплазме и в ядре клетки [1, 2].

Принятые сокращения: BRG1 (Brahma-Related Gene Protein 1) – гомолог хроматин-ремоделирующего фактора Brahma у млекопитающих; CBP/p300 (CREB Binding Protein and p300) – семейство гистонацетилтрансфераз, вовлеченных в ремоделирование хроматина; CNTFR (Ciliary Neurotrophic Factor Receptor) – рецептор цилиарного нейротрофного фактора; DOME (Domeless) – рецептор сигнального пути JAK/STAT у дрозофилы; gp130 (glycoprotein 130) – гликопротеин 130, цитокиновый рецептор; HOP (Hopscotch) – представитель JAK-киназы у дрозофилы; IFN (Interferon) – интерферон; IL (Interleukin) – интерлейкин; JAK (Janus Kinase) – семейство ассоциированных с рецепторами киназ; LIFR (Leukemia Inhibitory Factor Receptor) – субъединица рецептора интерлейкина LIF, ингибирующего клеточную дифференцировку; NF- κ B (Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) – семейство факторов транскрипции, контролирующих экспрессию генов иммунного ответа, апоптоза и клеточного цикла; PIAS (Protein Inhibitors of Activated Stats) – белки-ингибиторы активированных молекул STAT; PTPs (Protein Tyrosine Phosphatases) – тирозиновые фосфатазы; SOCS (Suppressors of Cytokine Signaling) – супрессоры передачи сигнала цитокинами; STAT (Signal Transducer and Activator of Transcription) – активатор транскрипции, участвующий в передаче сигнала; TFIIID (Transcription Factor IID) – общий фактор транскрипции; Тук-2 (Tyrosine protein kinase-2) – нерепрезентивная тирозиновая протеинкиназа-2; UPD (Unpaired) – семейство лигандов, активирующих сигнальный путь JAK/STAT у дрозофилы.

* Эл. почта: shaldr23@mail.ru

Важную роль при передаче сигнала внутри клетки играют модификации белков, например, фосфорилирование, осуществляемое протеинкиназами. Донором фосфата во всех таких реакциях является γ -фосфат АТФ. Принято различать киназы, присоединяющие фосфат или к тирозину (тирозиновые киназы), или к серину и треонину (серин-треониновые киназы) [2, 3].

СИГНАЛЬНЫЙ ПУТЬ JAK/STAT

JAK/STAT-путь представляет собой относительно простой и консервативный каскад реакций, осуществляющих передачу сигнала у многоклеточных животных (рис. 1). После связывания лиганда рецепторы димеризуются и активируют ассоциированные с ними молекулы JAK-киназы. В некоторых рецепторах (инсулиновый рецептор, рецептор эпидермального фактора роста) цитоплазматический участок сам обладает тирозинкиназной активностью [2, 3]. После связывания лиганда происходит автофосфорилирование связанных с рецептором JAK-киназ, что повышает их каталитическую активность. JAK-киназы также фосфорилируют субъединицы рецептора по остаткам тирозина. Далее комплекс “JAK–рецептор” фосфорилирует основную мишень – транскрипционные факторы STAT. Фосфорилированные молекулы STAT димеризуются и транспортируются в ядро, где связываются с соответствующими регуляторными последовательностями генов и запускают их транскрипцию [4].

Эта схема отражает так называемый канонический путь. В последнее время появляются новые данные о роли компонентов JAK/STAT-пути, отличной от описанной. Так, обнаружено, что JAK2-киназа непосредственно участвует в фосфорилировании гистонов в ядре [5]. Показана роль нефосфорилированных молекул STAT в поддержании структуры гетерохроматина ядра, а также в активации транскрипции с помощью механизмов, отличных от тех, которые “используют” фосфорилированные формы STAT [6].

Основные участники пути регуляции у многоклеточных высокогомлогичны. У высших эукариот на каждой стадии функционирует, обычно, целое семейство факторов: у млекопитающих известно четыре JAK-киназы и семь различных молекул STAT. У дрозофилы основные участники пути уникальны, поэтому этот организм представляет собой удобный объект для исследований. В этом случае рецептор (белок *Domeless*) обозначается как *DOME*, JAK-киназа (*Hopscotch*) – как *HOP*, транскрипционный фактор – как *STAT92E*. Сигнальный путь активируют три лиганда: *Unpaired* (UPD), *Unpaired 2* (UPD2) и *Unpaired 3* (UPD3) [7].

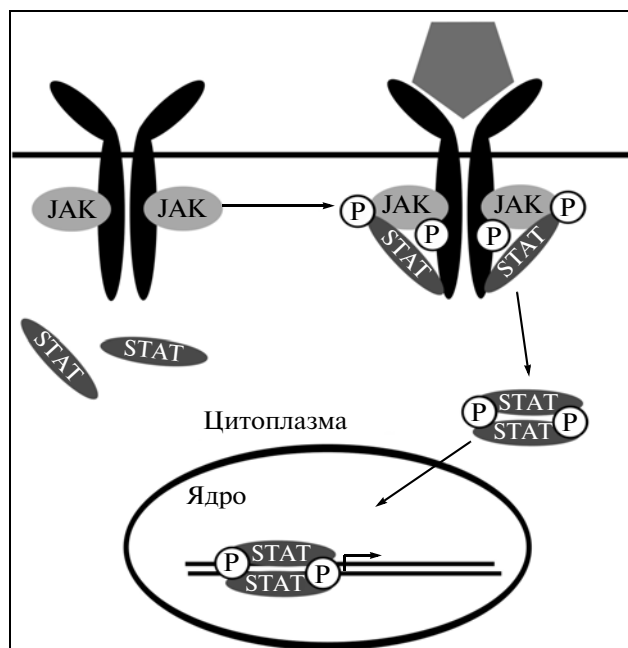


Рис. 1. Схема JAK/STAT-пути (объяснения в тексте, модифицировано из [4]).

Кроме упомянутых участников пути, известны также молекулы-регуляторы, среди которых основными являются белки семейства *SOCS* и группы *PIAS*. Белки-регуляторы у разных многоклеточных также высокогомлогичны

Вначале, при изучении данного пути регуляции у дрозофилы, был обнаружен лиганд *Unpaired* (UPD). При его нарушении наблюдаются дефекты сегментации, сходные с дефектами, характерными для мутаций *hop* и *stat92E*. UPD представляет собой секретируемый гликопротеин (7 кДа), ассоциированный с внеклеточным матриксом. При экспрессии в культуре клеток дрозофил он приводит к стимуляции киназы *HOP*. Показано генетическое взаимодействие генов *upd* и *hop* в развитии дрозофилы [8]. UPD, будучи лигандом, не похож ни на один известный цитокин или фактор роста у млекопитающих. Интересно, что у дрозофилы не найдено ни одного белка, похожего на какой-либо известный цитокин [9]. Позже обнаружены два других гомолога UPD – UPD2 и UPD3, также участвующие в активации JAK/STAT-пути [7, 10].

РЕЦЕПТОРЫ СИГНАЛЬНОГО ПУТИ JAK/STAT

Рецептором сигнального пути в организме дрозофилы является родственный цитокиновым рецепторам млекопитающих белок *Domeless* (*Dome*; также известный под названием *Master of Marelle*, *Mom*). Транскрипт гена *dome* имеет длину

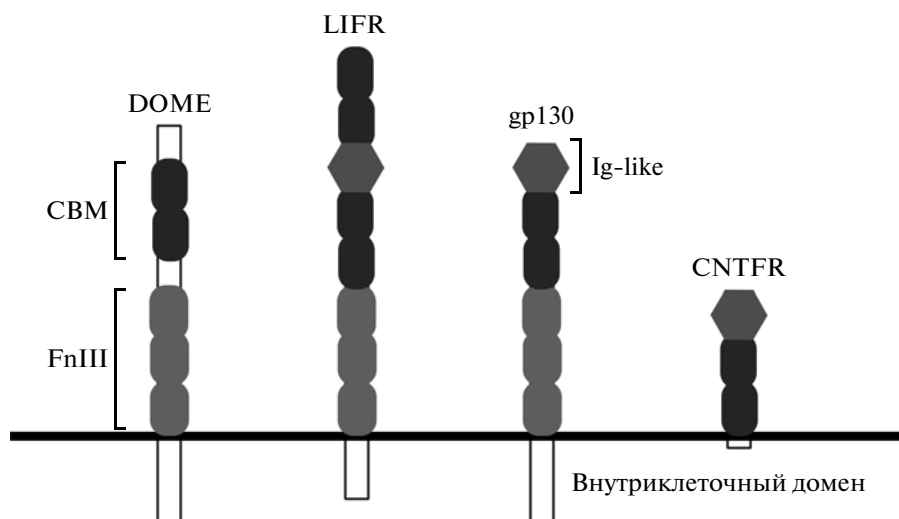


Рис. 2. Схематическое сравнение доменной структуры белка DOME со структурой рецепторов интерлейкина 6-го типа позвоночных. CBM – участок рецептора, связывающий цитокины; FnIII – фрагменты, имеющие способ укладки фибронектина III-го типа. Для рецепторов позвоночных характерны участки, имеющие иммуноглобулиноподобный мотив (шестиугольники), однако в белке DOME он отсутствует [11].

4800 п.н. и кодирует белок, состоящий из 1282 аминокислот, первые 23 из которых представляют собой сигнальный пептид. В составе белка имеются внутриклеточный и внеклеточный домены; последний содержит пять фибронектиновых доменов III-его типа, два из которых практически идентичны цитокин-связывающему участку (Cytokine Binding Module, CBM) семейства цитокиновых рецепторов класса I позвоночных (рис. 2). Степень сходства белка DOME с белком LIFR составляет 18%, а с белком CNTFR – 26% [11].

Рецепторы интерлейкина (IL) у шести таксонов позвоночных функционируют, в основном, как гетеродимеры, в то время как некоторые рецепторы, например, CNTFR, не имеющие внутриклеточного домена, не способны димеризоваться и привлекают вспомогательные белки для передачи сигнала. Интересно, что, несмотря на очень короткий внутриклеточный домен CNTFR, который не участвует в передаче сигнала, белок DOME наиболее сходен именно с ним. Белок DOME способен формировать гомодимеры, которые могут и связывать лиганд, и передавать его JAK-киназе при непосредственном взаимодействии с ней [11].

ЖАК-КИНАЗЫ

Ген дрозофилы *hop* обнаружен в ходе генетического анализа при поисках генов, важных для процесса сегментации эмбриона. ЖАК-киназа дрозофилы – *hopscotch* (НОР) – кислый белок, обладающий всеми характеристиками нерецепторных тирозиновых киназ семейства ЖАК млекопитающих. Белок НОР наиболее сходен с ЖАК2-киназой человека (27% гомологии), при-

чем процент сходства в их киназном и псевдокиназном доменах наиболее высок [12]. Характерная черта ЖАК-киназ – тандем киназного (ЖН1) и псевдокиназного (ЖН2) доменов. Оба сходны по структуре, но в псевдокиназном домене отсутствуют остатки, отвечающие за фосфотрансферную активность. Возможно, основная роль псевдокиназного домена – участие в регуляции каталитической активности всего фермента. У млекопитающих найдено четыре фермента из семейства ЖАК-киназ, а именно ЖАК1, ЖАК2, ЖАК3 и Тук2. Для дрозофилы же характерен только один представитель ЖАК-киназ – НОР [13].

Помимо С-концевых киназного (ЖН1) и псевдокиназного домена (ЖН2), еще пять доменов (ЖН3-ЖН7) располагаются в N-концевой области ЖАК-киназ (рис. 3). Особенно интересно, что даже одна аминокислотная замена в высококонсервативном участке может привести к потере функции НОР. Такие мутации наиболее эффективны при подавлении киназной активности. Одиночно экспрессированный домен ЖН1 проявляет киназную активность и в клетках дрожжей, и в клетках млекопитающих. Мутации в АТР-связывающем домене приводят к потере ЖАК-киназной активности [15].

Домен ЖН2 играет роль в регуляции активности ЖАК, его делеция приводит к утрате нормальной функции НОР. Интересно, что одна аминокислотная замена в ЖН2-домене в киназах Тук2 и ЖАК3 млекопитающих инактивирует весь фермент и приводит к развитию тяжелых иммунодефицитов, в то время как такая же делеция в ЖАК2 приводит к повышению тирозинкиназной активности. Это означает, что роль домена меняется в за-

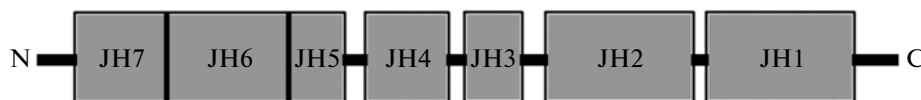


Рис. 3. Доменная структура JAK-киназ (модифицировано из [14]).



Рис. 4. Доменная структура белков STAT. ND – N-концевой домен, ответствен за взаимодействие между димерами. Домен Coiled coil обеспечивает белковые взаимодействия. DNA – ДНК-связывающий домен. LD – линкерный домен, участвует в транскрипции. SH2-домен ответствен за связь с рецептором и димеризацию. Y – функциональный остаток тирозина. Некоторые белки STAT могут быть фосфорилированы по остатку серина (S) в активационном домене (TAD) [22].

висимости от окружения. При мутации по данному домену гена *hop^{T42}* мух синтезируется фермент с гиперкиназной активностью, при этом наблюдаются гемопоэтические нарушения, напоминающие лейкоз [15, 16]. Исследования N-концевых участков JAK-киназ млекопитающих путем делеционного анализа показали, что домены JH-7 и, возможно, JH-6 вовлечены в связывание JAK-2, JAK-3, Tyk2 с собственными рецепторами. Замены в домене JH-7 у млекопитающих приводят к иммунодефицитам [17].

БЕЛКИ STAT

Белки STAT – транскрипционные факторы, находящиеся в цитоплазме в неактивном состоянии. Они активируются при фосфорилировании консервативного остатка тирозина JAK-киназами, после чего фосфорилированный STAT димеризуется посредством SH2-доменов, распознающих фосфорилированный тирозин. Фосфорилированный STAT импортируется в ядро, где он – в виде димера – связывается со специфическими регуляторными последовательностями и активирует транскрипцию генов-мишеней. Так обеспечивается транскрипционный ответ на сигналы, опосредуемые JAK/STAT-путем [18].

К семейству STAT позвоночных относится семь белков: STAT1-STAT4, STAT5a, STAT5b, STAT6. У человека кодирующие их гены расположены на трех хромосомах, причем *stat1*, *stat4* находятся на хромосоме 2, *stat2* и *stat6* – на хромосоме 12, а *stat3*, *stat5a*, *stat5b* – на хромосоме 17 [19].

Ген дрозофилы *stat92E* расположен в локусе 92E третьей хромосомы. Фактор STAT92E представляет собой белок, состоящий из 761 аминокислоты. Наибольшую степень гомологии он имеет с молекулой STAT5 млекопитающих (37%), с остальными белками семейства STAT – не более

25–30%. Все домены, характерные для белков семейства STAT, найдены и в STAT92E. Это ДНК-связывающий домен в центральной части, SH2-домен и остаток тирозина в положении 711, который фосфорилируется киназой HOP [18, 20]. В течение эмбрионального развития дрозофилы активность STAT92E проявляется в различных тканях и на различных стадиях развития. Мутантные по STAT92E мухи имеют дефекты развития трахеи, пищеварительной и нервной систем [21].

STAT-белки (мол. вес в пределах 90–115 кДа) состоят в среднем примерно из 850 аминокислот. Несмотря на функциональные различия между некоторыми молекулами STAT, все они имеют несколько консервативных доменов [22] (рис. 4).

ДНК-связывающий домен семейства расположен между 320 и 490 остатками аминокислот и имеет несколько β-складчатых структур, похожих на ДНК-связывающие домены транскрипционных факторов NF-κB и p53 [23]. Этот участок обеспечивает ДНК-связывающую специфичность для каждого отдельного представителя семейства [22].

Домен SH2, находящийся между аминокислотными остатками 600 и 700, важен для привлечения STAT к фосфорилированному рецептору, а также для связи с фосфотирозинами мономерных STAT и образования димеров. Различия в этом домене обеспечивают избирательность связывания STAT с разными цитокиновыми рецепторами [24]. α-Спиральный линкерный домен (а.о. 490–580) отделяет ДНК-связывающий домен от SH2-домена и необходим для транскрипции [22, 23]. Активационный домен на C-конце, имеющий длину от 38 до 200 аминокислот у разных белков STAT, вовлечен в связывание с транскрипционными комплексами. Консервативный остаток серина в этом

участке может фосфорилироваться и влиять на активность STAT [23].

N-концевой домен STAT высококонсервативен и обеспечивает белок-белковые взаимодействия молекул STAT на хроматине. При этом образуются тетрамеры и олигомеры STAT, что обеспечивает более прочные связи STAT с ДНК. Участок между остатками 130 и 315 содержит мотив, состоящий из четырех спиралей. Этот домен предназначен для взаимодействия с важными регуляторами, такими как IRF-9 (Interferon Regulatory Factor 9) и StIP1 [22, 25].

Согласно канонической схеме пути, фактор STAT фосфорилируется по остатку тирозина и импортируется в ядро, где связывается с генами-мишенями. Консенсусные участки связывания STAT92E (TTCNNNGAA) и белков STAT млекопитающих сходны. Однако взаимодействие STAT с хроматином может происходить через сайты как содержащие, так и не содержащие указанный консенсус [18, 22].

Помимо фосфорилирования консервативного тирозина, некоторые STAT могут фосфорилироваться по серину в С-концевом активационном домене белка. Фосфорилирование серина 727 STAT1 необходимо для проявления полной активности фактора при активации транскрипции [26].

ФАКТОРЫ-РЕГУЛЯТОРЫ СИГНАЛЬНОГО ПУТИ

Среди факторов, влияющих на функционирование пути, можно выделить положительные и отрицательные. К негативным регуляторам JAK/STAT-пути относят три главные группы: SOCS, PIAS и PTPs [27].

Наиболее просты по действию тирозиновые фосфатазы, которые могут дефосфорилировать компоненты JAK/STAT-пути. Хорошо изучена фосфатаза SHP-1, которая имеет два SH-2-домена и может присоединяться к любому фосфорилированному рецептору или фосфорилированной JAK-киназе и способствовать их дефосфорилированию и инактивации. Обнаружена также фосфатаза PTP61F, гомолог фосфотирозиновой фосфатазы B1 (PTPB1) человека, которая, как предполагают, может дефосфорилировать STAT92E [4, 28].

У дрозофилы найдено три гена семейства SOCS (*socs36E*, *socs16D* and *socs44A*) [29], у млекопитающих имеется восемь. Для этих белков характерны SH-2 домен и SOCS-бокс на С-конце [30]. Наибольшую гомологию имеют белки SOCS36E дрозофилы и SOCS5 человека [31]. Регуляция JAK/STAT-пути при помощи SOCS – пример простой обратной связи. Активированный фактор STAT стимулирует транскрипцию генов *socs*, а белки SOCS блокируют активацию сигнального пути. Изучено три механизма действия белков

SOCS. В первом случае они связываются с фосфотирозиновыми остатками рецепторов и блокируют присоединение STAT к рецептору. Второй механизм – прямая блокировка JAK-киназы или рецептора с последующим специфическим подавлением киназной активности. Третий – SOCS стимулирует убиквитинилирование JAK-киназы, что приводит к их деградации [32].

Третий класс негативных регуляторов – PIAS-белки. У млекопитающих их найдено несколько (PIAS1, PIAS3, PIASx, PIASy). Эти белки имеют специальный RING-finger-домен в средней части белка, высококонсервативный домен SAP на N-конце и менее консервативный С-концевой домен. Два последних участвуют в связывании целевых белков. PIAS-белки связывают активированные димеры STAT и препятствуют их связыванию с ДНК. Еще одним вариантом выключения STAT является его сумоилирование, при котором PIAS-белок действует как SUMO-лигаза [33].

Единственный представитель PIAS-белков у дрозофилы – белок ZIMP. Он также связывает STAT92E, показано его участие в подавлении развития гемопоэтических опухолей [34].

К регуляторным факторам также относят фактор KEN (Kena.Barbie). Это белок дрозофилы, гомолог белка BCL6 (B-cell lymphoma 6; белок В-клеточной лимфомы 6) человека, который относится к семейству транскрипционных репрессоров, содержащих домен VTB/POZ. Показано *in vitro*, что Ken узнает последовательность ДНК, которая частично перекрывается с белком STAT92E. В опытах *in vivo* показано, что фактор Ken влияет на регуляцию экспрессии множества STAT92E-зависимых генов. У человека мутация BCL6 вызывает развитие неходжкинских В-клеточных лимфом [4].

Среди активирующих регуляторов данного пути можно выделить следующие группы молекул. Первая – группа передающих сигнал адаптерных молекул, STAMs (Signal-Transducing Adapter Molecules). Это молекулы, содержащие консервативные домены VHS и SH3; они фосфорилируются JAK-киназами и способствуют активации различных генов [35]. Другая группа – белки, взаимодействующие со STAT–StIPs (STAT-Interacting Proteins). Они взаимодействуют с JAK-киназой и нефосфорилированным белком STAT, что способствует их сближению и фосфорилированию последнего [32].

Ацетилирование гистон-ацетилтрансферазами влияет на активность белков STAT неоднозначно. Паттерны ацетилирования STAT существенно зависят от типа клеток и воздействующих стимулов. В ответ на интерферон (IFN) происходит ацетилирование STAT1 и STAT2 по остаткам лизина в ДНК-связывающем домене, что приводит к понижению их транскрипционной актив-

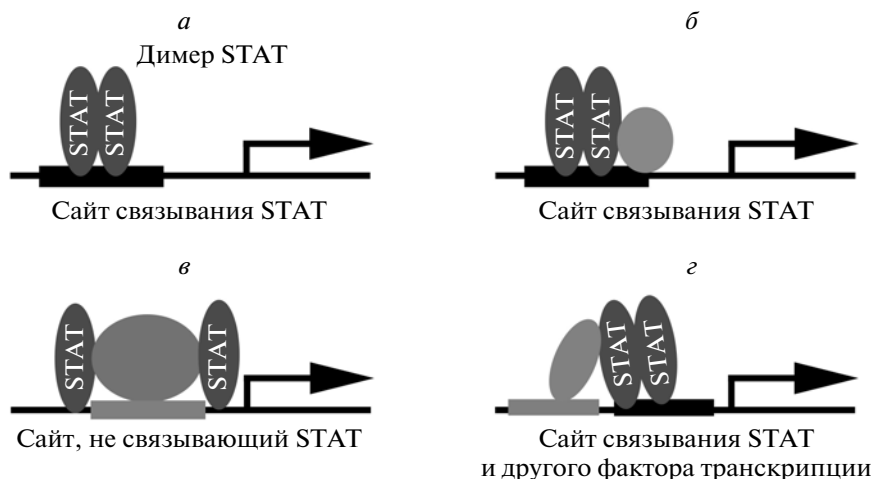


Рис. 5. Различные механизмы активации транскрипции белками STAT (объяснения в тексте, модифицировано из [37]).

ности. При воздействии некоторых цитокинов наблюдается ацетилирование лизинов белка STAT3, находящихся в N-концевом и активационном доменах, что, в большинстве случаев, усиливает его транскрипционную активность [36].

КОАКТИВАТОРЫ БЕЛКА STAT

Белки STAT являются специфическим активаторами, но они функционируют в тесной связи с другими факторами транскрипции. Сейчас известно четыре различных механизма участия белков STAT в транскрипции (рис. 5).

1) STAT-белок может непосредственно присоединиться к своим собственным целевым последовательностям ДНК, напрямую запуская транскрипцию; 2) STAT может формировать транскрипционный комплекс вместе с другими белками, и транскрипция запускается через взаимодействие ДНК-сайта со STAT, либо 3) через взаимодействие ДНК с другим белком; 4) белок STAT и другой транскрипционный фактор могут совместно активировать транскрипцию, связываясь с соседними сайтами ДНК [37].

Активация транскрипции генов млекопитающих обычно требует совместного действия многих факторов транскрипции. При исследовании ряда генов показано, что независимые, но близко расположенные ДНК-сайты связывания белка STAT и других транскрипционных факторов необходимы для максимального активирования транскрипции. Ген *ICAM-1* (Intercellular Adhesion Molecule-1) индуцируется γ -IFN. В промоторе этого гена имеются близко расположенные ДНК-сайты связывания STAT1 и фактора Sp1 (Specificity protein 1), которые требуются для полной активации транскрипции в ответ на γ -IFN. Показано также,

что белки STAT1 и Sp1 ассоциируют друг с другом. Сходным образом действуют факторы STAT3 и c-Jun на промоторах многих генов при различных индукторах [38, 39]. Белок STAT1 взаимодействует кооперативно с NF- κ B [40] при активации некоторых генов.

Белок STAT взаимодействует с хроматином по локусам как содержащим, так и не содержащим консенсус его связывания. Найдено большое число факторов, которые кооперируются с белком STAT в связывании [37]. ДНК-связывающий белок p48 участвует в привлечении белков STAT1 и STAT2 [41]. Белок STAT6 взаимодействует с коактиватором CoaSt6 (Collaborator of STAT6; белок, действующий совместно со STAT6) [42], а STAT3 – с Crif1 (CR6-interacting factor 1) [43].

Одними из наиболее известных коактиваторов семейства STAT являются CBP/p300-гистон-ацетилтрансферазы, вовлеченные в модифицирование хроматина [44–46]. Белок STAT может взаимодействовать с гистидин-богатым доменом CH1 белка p300. Регион, взаимодействующий с p300/CBP, находится в C-концевой части белка STAT2 и функционирует как активаторный домен. STAT1 также взаимодействует с p300/CBP с помощью двух разных доменов: N-концевая часть взаимодействует с CREB-связывающим доменом p300/CBP, а C-концевая часть – с CH3-доменом p300/CBP, который также может связывать аденовирусный белок E1A. Предполагается, что вирусный белок E1A подавляет действие IFN, конкурируя со STAT1 за связывание с p300/CBP [37].

Фактор STAT6, важнейший регулятор генов, активируемых интерлейкином 4 (IL4), взаимодействует с белком CBP не напрямую, а через белок p100. Белок p100 обеспечивает привлечение гистонацетилазы *in vivo*, что приводит к временному ацетилированию гистонов [47]. Показано также,

что фактор Nmi (N-Myc interactor; фактор, взаимодействующий с N-Мус) оказывает положительное влияние на взаимодействие коактиватора CBP/p300 с белками STAT1 и STAT5 в системах, активируемых IL2 и γ -IFN [48]. Белки STAT1 и STAT2 привлекают GCN5-содержащий ацетилтрансферазный комплекс [49].

На промоторах многих генов, индуцируемых IFN α , обнаружена консервативная последовательность, названная ISRE (Interferon- α Stimulated Response Element), которая опосредует ответ на IFN α . Факторы STAT1 и STAT2 впервые описаны как белки, входящие в состав транскрипционного комплекса ISGF-3 (Interferon-Stimulated Gene Factor 3), который связывается с белком ISRE. ISGF-3 состоит из гетеродимера STAT1: STAT2 и белка p48, члена семейства IRF (Interferon Regulated Factor; фактор, регулируемый интерфероном). В одиночку p48 может связываться с ISRE, но связь эта слабая. Хотя белки STAT1 и STAT2 сами не способны связывать белок ISRE, комплекс ISGF-3 имеет сильное родство к этой последовательности [50, 51].

Исследования взаимодействия на гене β -казеина показали, что белок STAT5 может ассоциировать с глюкокортикоидным рецептором, GR (Glucocorticoid Receptor). Взаимодействуя со своим лигандом, GR связывает специфичную ДНК-последовательность, GRE (Glucocorticoid Response Element), для активации транскрипции. Оптимальная экспрессия гена β -казеина достигается при совместной стимуляции глюкокортикоидами и пролактином — гормоном роста, который активирует белок STAT5. Сайты связывания STAT5 и GRE расположены в промоторе гена β -казеина. Мутация сайта связывания STAT5 в промоторе этого гена полностью блокирует транскрипцию при индукции как глюкокортикоидами, так и пролактином. Показано, что STAT5 физически взаимодействует с GR. Белок GR присутствует также в ДНК-связывающем комплексе, индуцируемом пролактином, вместе со STAT5, и может усиливать транскрипцию, опосредованную этим белком. Предполагается, что белок GR может действовать как транскрипционный коактиватор белка STAT5 [52].

Белки STAT могут взаимодействовать с фактором ремоделирования хроматина BRG1 — белком семейства SWI/SNF (SWItch/Sucrose Non Fermentable). Довольно хорошо изучено взаимодействие транскрипционного фактора STAT2 с BRG1, которое приводит к избирательной активации множества генов, индуцируемых IFN α . Интересно, что образование комплекса BRG1 • STAT2 происходит в клетках независимо от стимуляции IFN α . Количество белка STAT2 в ядре растет в ответ на стимуляцию интерфероном IFN α . Сам белок BRG1 локализуется в ядре [53].

Белок STAT3 не только инициирует транскрипцию, но и регулирует также ремоделирование хроматина и элонгацию транскрипции путем взаимодействия с белками BRG1 и cdk9 (cyclin-dependent kinase 9; циклин-зависимой киназой 9). STAT3 привлекает cdk9-киназу, которая фосфорилирует С-концевой участок РНК-полимеразы II по второму серину. Иммунопреципитация хроматина показала, что присоединение белка STAT3 к ДНК приводит к ацетилрованию гистона H3 и привлечению BRG1 [54]. Взаимодействие с белком BRG1 показано также в случае белков STAT1 [55, 56], STAT4 [57, 58], STAT5 [59], STAT6 [60].

При дифференцировке Т-хелперов 1-го типа в ответ на активацию Т-клеточных рецепторов (TCR, T-Cell Receptors) происходит гиперацетилирование гистонов, привлечение фактора BRG1 на регуляторные элементы гена *IL-12R β 2*. Данные указывают на совместную роль TCR-индуцированного ремоделирования хроматина и активированного цитокинами STAT4 в экспрессии *IL-12R β 2* [57].

Во многих таксонах — от дрожжей до человека — имеется высококонсервативное семейство белков-регуляторов MCM (Mini Chromosome Maintenance) (MCM2-MCM7). Основная их роль заключается в поддержании репликации ДНК. Субъединицы MCM связываются со STAT1-зависимыми промоторами при обработке IFN- γ , а прямое взаимодействие MCM5 со STAT1 необходимо для активации транскрипции [61]. Обнаружены также другие факторы транскрипции, которые необходимы для действия белка STAT, и среди них — компоненты важнейших комплексов Brahma и TFIID [28, 62].

Недавно показано, что белок STAT дрозофилы использует в качестве коактиватора для транскрипции своих генов-мишеней суперкомплекс BTFly (Brahma and TFIID in one assembly; комплекс, содержащий Brahma и TFIID), состоящий из коактиваторного белка SAYP (Supporter of Activation of Yellow Protein), фактора ремоделирования хроматина Brahma и фактора транскрипции TFIID [63]. BTFly взаимодействует с промоторами генов и активирует их транскрипцию путем привлечения РНК-полимеразы II. Способность белка SAYP активировать транскрипцию зависит от содержания TFIID и Brahma в клетке [64]. Белки SAYP и STAT взаимодействуют непосредственно и привлекают BTFly на STAT-активируемые гены [63].

Помимо рассмотренного канонического пути, существует неканонический путь функционирования STAT в ядре, связанный с участием фактора в сборке гетерохроматина. Гиперактивация JAK либо потеря нормального аллеля *stat* нарушает структуру гетерохроматина у дрозофилы приводит к депрессии локализованных в нем генов.

Нефосфорилированный белок STAT найден в ядре, где он непосредственно взаимодействует с белком HP1 (Heterochromatin Protein 1), концентрируется в гетерохроматине и необходим для поддержания стабильности последнего. Активация белка STAT путем его фосфорилирования приводит к дестабилизации хроматина [6].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Многие компоненты сигнального пути JAK/STAT высших эукариот консервативны. Значительной гомологией обладают рецепторы, JAK-киназы, белки STAT, а также регуляторы сигнального пути. Несмотря на то, что основной сигнальный каскад JAK/STAT относительно прост, возможна существенная модуляция активности сигнального пути на различных уровнях. Большое число возможных коактиваторов STAT обеспечивает высокую специфичность активации генов, а также дополнительный уровень для контроля активности сигнального пути. При этом факторы STAT способны активировать транскрипцию с использованием различных механизмов. Помимо обеспечения канонического действия сигнального пути, компоненты JAK/STAT оказывают также влияние на структуру хроматина.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pires-daSilva A., Sommer R.J. 2003. The evolution of signalling pathways in animal development. *Nat. Rev. Genet.* **4**, 39–49.
2. Lodish H., Berk A., Matsudaira P., Kaiser C.A., Krieger M., Scott M.P., Zipursky L., Darnell J.E., Jr. 2003. In: *Molecular Cell Biology*. Ed. Freeman W.H.
3. Li E., Hristova K. 2006. Role of receptor tyrosine kinase transmembrane domains in cell signaling and human pathologies. *Biochemistry*. **45**, 6241–6251.
4. Arbouzova N.I., Zeidler M.P. 2006. JAK/STAT signalling in Drosophila: insights into conserved regulatory and cellular functions. *Development*. **133**, 2605–2616.
5. Dawson M.A., Bannister A.J., Gottgens B., Foster S.D., Bartke T., Green A.R., Kouzarides T. 2009. JAK2 phosphorylates histone H3Y41 and excludes HP1alpha from chromatin. *Nature*. **461**, 819–822.
6. Shi S., Larson K., Guo D., Lim S.J., Dutta P., Yan S.J., Li W.X. 2008. Drosophila STAT is required for directly maintaining HP1 localization and heterochromatin stability. *Nat. Cell Biol.* **10**, 489–496.
7. Wright V.M., Vogt K.L., Smythe E., Zeidler M.P. 2011. Differential activities of the Drosophila JAK/STAT pathway ligands Upd, Upd2 and Upd3. *Cell Signal.* **23**, 920–927.
8. Harrison D.A., McCoon P.E., Binari R., Gilman M., Perrimon N. 1998. Drosophila unpaired encodes a secreted protein that activates the JAK signaling pathway. *Genes Dev.* **12**, 3252–3263.
9. Wang Y.H., Huang M.L. 2010. Organogenesis and tumorigenesis: insight from the JAK/STAT pathway in the Drosophila eye. *Dev. Dyn.* **239**, 2522–2533.
10. Gilbert M.M., Weaver B.K., Gergen J.P., Reich N.C. 2005. A novel functional activator of the Drosophila JAK/STAT pathway, unpaired2, is revealed by an in vivo reporter of pathway activation. *Mech. Dev.* **122**, 939–948.
11. Brown S., Hu N., Hombria J.C. 2001. Identification of the first invertebrate interleukin JAK/STAT receptor, the Drosophila gene domeless. *Curr. Biol.* **11**, 1700–1705.
12. Binari R., Perrimon N. 1994. Stripe-specific regulation of pair-rule genes by hopscotch, a putative Jak family tyrosine kinase in Drosophila. *Genes Dev.* **8**, 300–312.
13. Luo H., Dearolf C.R. 2001. The JAK/STAT pathway and Drosophila development. *Bioessays*. **23**, 1138–1147.
14. Hombria J.C., Brown S. 2002. The fertile field of Drosophila Jak/STAT signalling. *Curr. Biol.* **12**, R569–575.
15. Zeidler M.P., Bach E.A., Perrimon N. 2000. The roles of the Drosophila JAK/STAT pathway. *Oncogene*. **19**, 2598–2606.
16. Yamaoka K., Saharinen P., Pesu M., Holt V.E., Silvenoinen O., O'Shea J.J. 2004. The Janus kinases (Jaks). *Genome Biol.* **5**, 253.
17. Usacheva A., Kotenko S., Witte M.M., Colamonici O.R. 2002. Two distinct domains within the N-terminal region of Janus kinase 1 interact with cytokine receptors. *J. Immunol.* **169**, 1302–1308.
18. Ekas L.A., Cardozo T.J., Flaherty M.S., McMillan E.A., Gonsalves F.C., Bach E.A. 2010. Characterization of a dominant-active STAT that promotes tumorigenesis in Drosophila. *Dev. Biol.* **344**, 621–636.
19. Ihle J.N. 2001. The Stat family in cytokine signaling. *Curr. Opin. Cell Biol.* **13**, 211–217.
20. Calo V., Migliavacca M., Bazan V., Macaluso M., Buscemi M., Gebbia N., Russo A. 2003. STAT proteins: from normal control of cellular events to tumorigenesis. *J. Cell Physiol.* **197**, 157–168.
21. Li B., Zhang G.S., Dai C.W., Pei M.F. 2005. The activation of JAK/STAT signal pathway in hypereosinophilic syndrome and the patients therapeutic response to imatinib. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* **85**, 448–452.
22. Horvath C.M. 2000. STAT proteins and transcriptional responses to extracellular signals. *Trends Biochem. Sci.* **25**, 496–502.
23. Levy D.E., Darnell J.E., Jr. 2002. Stats: transcriptional control and biological impact. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **3**, 651–662.
24. Shuai K. 1999. The STAT family of proteins in cytokine signaling. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **71**, 405–422.
25. Collum R.G., Brutsaert S., Lee G., Schindler C. 2000. A Stat3-interacting protein (StIP1) regulates cytokine signal transduction. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **97**, 10120–10125.
26. Sadzak I., Schiff M., Gattermeier I., Glinitzer R., Sauer I., Saalmuller A., Yang E., Schaljo B., Kovarik P. 2008. Recruitment of Stat1 to chromatin is required for interferon-induced serine phosphoryla-

- tion of Stat1 transactivation domain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **105**, 8944–8949.
27. Greenhalgh C.J., Hilton D.J. 2001. Negative regulation of cytokine signaling. *J. Leukoc. Biol.* **70**, 348–356.
 28. Baeg G.H., Zhou R., Perrimon N. 2005. Genome-wide RNAi analysis of JAK/STAT signaling components in *Drosophila*. *Genes Dev.* **19**, 1861–1870.
 29. Stec W.J., Zeidler M.P. 2011. *Drosophila* SOCS Proteins. *J. Signal. Transduct.* **2011**, 894510.
 30. Alexander W.S. 2002. Suppressors of cytokine signaling (SOCS) in the immune system. *Nat. Rev. Immunol.* **2**, 410–416.
 31. Callus B.A., Mathey-Prevot B. 2002. SOCS36E, a novel *Drosophila* SOCS protein, suppresses JAK/STAT and EGF-R signalling in the imaginal wing disc. *Oncogene*. **21**, 4812–4821.
 32. Rawlings J.S., Rosler K.M., Harrison D.A. 2004. The JAK/STAT signaling pathway. *J. Cell. Sci.* **117**, 1281–1283.
 33. Rogers R.S., Horvath C.M., Matunis M.J. 2003. SUMO modification of STAT1 and its role in PIAS-mediated inhibition of gene activation. *J. Biol. Chem.* **278**, 30091–30097.
 34. Betz A., Lampen N., Martinek S., Young M.W., Darnell J.E., Jr. 2001. A *Drosophila* PIAS homologue negatively regulates stat92E. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **98**, 9563–9568.
 35. Lohi O., Lehto V.P. 2001. STAM/EAST/Hbp adapter proteins—integrators of signalling pathways. *FEBS Lett.* **508**, 287–290.
 36. Icardi L., De Bosscher K., Tavernier J. 2012. The HAT/HDAC interplay: Multilevel control of STAT signaling. *Cytokine Growth Factor Rev.* **23**, 283–291.
 37. Shuai K. 2000. Modulation of STAT signaling by STAT-interacting proteins. *Oncogene*. **19**, 2638–2644.
 38. Cantwell C.A., Sterneck E., Johnson P.F. 1998. Interleukin-6-specific activation of the C/EBPdelta gene in hepatocytes is mediated by Stat3 and Sp1. *Mol. Cell. Biol.* **18**, 2108–2117.
 39. Zhang X., Wrzeszczynska M.H., Horvath C.M., Darnell J.E., Jr. 1999. Interacting regions in Stat3 and c-Jun that participate in cooperative transcriptional activation. *Mol. Cell. Biol.* **19**, 7138–7146.
 40. Ohmori Y., Schreiber R.D., Hamilton T.A. 1997. Synergy between interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha in transcriptional activation is mediated by cooperation between signal transducer and activator of transcription 1 and nuclear factor kappaB. *J. Biol. Chem.* **272**, 14899–14907.
 41. Qureshi S.A., Salditt-Georgieff M., Darnell J.E., Jr. 1995. Tyrosine-phosphorylated Stat1 and Stat2 plus a 48-kDa protein all contact DNA in forming interferon-stimulated-gene factor 3. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **92**, 3829–3833.
 42. Goenka S., Boothby M. 2006. Selective potentiation of Stat-dependent gene expression by collaborator of Stat6 (CoaSt6), a transcriptional cofactor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **103**, 4210–4215.
 43. Kwon M.C., Koo B.K., Moon J.S., et al. 2008. Crif1 is a novel transcriptional coactivator of STAT3. *EMBO J.* **27**, 642–653.
 44. Bhattacharya S., Eckner R., Grossman S., Oldread E., Arany Z., D'Andrea A., Livingston D.M. 1996. Cooperation of Stat2 and p300/CBP in signalling induced by interferon-alpha. *Nature*. **383**, 344–347.
 45. Pfitzner E., Jahne R., Wissler M., Stoecklin E., Groner B. 1998. p300/CREB-binding protein enhances the prolactin-mediated transcriptional induction through direct interaction with the transactivation domain of Stat5, but does not participate in the Stat5-mediated suppression of the glucocorticoid response. *Mol. Endocrinol.* **12**, 1582–1593.
 46. Zhang J.J., Vinkemeier U., Gu W., Chakravarti D., Horvath C.M., Darnell J.E., Jr. 1996. Two contact regions between Stat1 and CBP/p300 in interferon gamma signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **93**, 15092–15096.
 47. Valineva T., Yang J., Palovuori R., Silvennoinen O. 2005. The transcriptional co-activator protein p100 recruits histone acetyltransferase activity to STAT6 and mediates interaction between the CREB-binding protein and STAT6. *J. Biol. Chem.* **280**, 14989–14996.
 48. Zhu M., John S., Berg M., Leonard W.J. 1999. Functional association of Nmi with Stat5 and Stat1 in IL-2- and IFNgamma-mediated signaling. *Cell*. **96**, 121–130.
 49. Paulson M., Press C., Smith E., Tanese N., Levy D.E. 2002. IFN-Stimulated transcription through a TBP-free acetyltransferase complex escapes viral shutoff. *Nat. Cell. Biol.* **4**, 140–147.
 50. Horvath C.M., Stark G.R., Kerr I.M., Darnell J.E., Jr. 1996. Interactions between STAT and non-STAT proteins in the interferon-stimulated gene factor 3 transcription complex. *Mol. Cell Biol.* **16**, 6957–6964.
 51. Martinez-Moczygemba M., Gutch M.J., French D.L., Reich N.C. 1997. Distinct STAT structure promotes interaction of STAT2 with the p48 subunit of the interferon-alpha-stimulated transcription factor ISGF3. *J. Biol. Chem.* **272**, 20070–20076.
 52. Stocklin E., Wissler M., Gouilleux F., Groner B. 1996. Functional interactions between Stat5 and the glucocorticoid receptor. *Nature*. **383**, 726–728.
 53. Huang M., Qian F., Hu Y., Ang C., Li Z., Wen Z. 2002. Chromatin-remodelling factor BRG1 selectively activates a subset of interferon-alpha-inducible genes. *Nat. Cell. Biol.* **4**, 774–781.
 54. Giraud S., Hurlstone A., Avril S., Coqueret O. 2004. Implication of BRG1 and cdk9 in the STAT3-mediated activation of the p21waf1 gene. *Oncogene*. **23**, 7391–7398.
 55. Ni Z., Karaskov E., Yu T., Callaghan S.M., Der S., Park D.S., Xu Z., Pattenden S.G., Bremner R. 2005. Apical role for BRG1 in cytokine-induced promoter assembly. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **102**, 14611–14616.
 56. Zhang Y., Cheng M.B., Zhang Y.J., Zhong X., Dai H., Ya L., Wu N.H., Shen Y.F. 2010. A switch from hBrm to

- Brg1 at IFN gamma-activated sequences mediates the activation of human genes. *Cell Res.* **20**, 1345–1360.
57. Letimier F.A., Passin N., Gasparian S., Bianchi E., Rogge L. 2007. Chromatin remodeling by the SWI/SNF-like BAF complex and STAT4 activation synergistically induce IL-12Rbeta2 expression during human Th1 cell differentiation. *EMBO J.* **26**, 1292–1302.
58. Zhang F., Boothby M. 2006. T helper type 1-specific Brg1 recruitment and remodeling of nucleosomes positioned at the IFN-gamma promoter are Stat4 dependent. *J. Exp. Med.* **203**, 1493–1505.
59. Xu R., Spencer V.A., Bissell M.J. 2007. Extracellular matrix-regulated gene expression requires cooperation of SWI/SNF and transcription factors. *J. Biol. Chem.* **282**, 14992–14999.
60. Wurster A.L., Pazin M.J. 2008. BRG1-mediated chromatin remodeling regulates differentiation and gene expression of T helper cells. *Mol. Cell. Biol.* **28**, 7274–7285.
61. Snyder M., He W., Zhang J.J. 2005. The DNA replication factor MCM5 is essential for Stat1-mediated transcriptional activation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **102**, 14539–14544.
62. Muller P., Kuttenukeuler D., Gesellchen V., Zeidler M.P., Boutros M. 2005. Identification of JAK/STAT signalling components by genome-wide RNA interference. *Nature.* **436**, 871–875.
63. Panov V.V., Kuzmina J.L., Doronin S.A., Kopantseva M.R., Nabirochkina E.N., Georgieva S.G., Vorobyeva N.E., Shidlovskii Y.V. 2012. Transcription co-activator SAYP mediates the action of STAT activator. *Nuc. Acids Res.* **40**, 2445–2453.
64. Vorobyeva N.E., Soshnikova N.V., Nikolenko J.V., Kuzmina J.L., Nabirochkina E.N., Georgieva S.G., Shidlovskii Y.V. 2009. Transcription coactivator SAYP combines chromatin remodeler Brahma and transcription initiation factor TFIID into a single supercomplex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **106**, 11049–11054.