

Анализ автофосфорилирования мутантных форм рецептора IR

Научный руководитель – Серова Оксана Викторовна

Гавриленкова Алина Александровна

Студент (магистр)

Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
Москва, Россия

E-mail: alycat1008@gmail.com

А. А. Гавриленкова, И. Е. Деев, Е. А. Ганцова, Э. В. Бочаров, О. В. Серова.

Рецептор инсулина, принадлежит семейству рецепторных тирозинкиназ (RTKs), которые участвуют в контроле клеточного цикла, дифференцировке, выживании, метаболизме и миграции клеток. RTKs состоят из внеклеточной части, которая отвечает за связь с лигандом, трансмембранного домена (ТМ), и внутриклеточной части, участвующей в фосфорилировании субстратов. Предполагается, что в неактивном состоянии ТМ-домены рецептора инсулина находятся в конформации, препятствующей взаимодействию цитоплазматических частей молекулы. При связывании лиганда, конформация рецептора меняется, в результате внутриклеточные тирозинкиназные домены сближаются и фосфорилируют друг друга, вызывая клеточный ответ.

Нами получены конструкции, кодирующие IR с двойными аминокислотными заменами в трансмембранном домене: I951E-F952R; F956E-S957R; I960E-G961R. Клетки HEK293, экспрессирующие мутантные формы IR, обрабатывали инсулином, клеточные лизаты анализировали методом вестерн-блота с антителами к фосфорилированной и общей форме рецептора. Мутации F956E-S957R; I960E-G961R не влияли на активацию инсулинового рецептора. А замена I951E-F952R приводила к автофосфорилированию рецептора даже при отсутствии лиганда, в отличие от рецептора дикого типа. Предполагается, что двойная замена I951E-F952R приводит к стабилизации трансмембранного домена в активной конформации за счет образования солевых мостиков между глутаминовой кислотой и аргинином. Далее мы провели анализ влияния одиночных замен I951E и F952R на автофосфорилирование рецептора. Одиночные мутации I951E и F952R также приводили к активации рецептора в отсутствие лиганда. Нами было установлено, что автофосфорилирование рецептора IR как с двойной заменой I951E-F952R, так и с одинарными заменами I951E и F952R в отсутствие инсулина приводит к активации внутриклеточных сигнальных белков IRS-1 и ERK. Это свидетельствует о том, что данные замены в трансмембранном домене IR видимо приводят к образованию функционально-активного димера рецептора в отсутствие лиганда.

Мы можем сделать вывод о том, что трансмембранный домен играет важную роль в активации IR, и даже точечные замены в его аминокислотной последовательности, могут приводить к изменению характера активации рецептора.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ) грант № 20-04-00880.