

ISSN 2218–2268

Министерство образования и науки Российской Федерации  
Российская академия образования  
Южный научный центр Российской академии наук  
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования  
“ЮЖНЫЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ”  
Южное отделение Российской академии образования  
Учебно-научно-исследовательский институт биомедицинских информационных технологий  
«Южного федерального университета»  
Ассоциация центров биомедицинских информационных технологий вузов России

# ВАЛЕОЛОГИЯ

№ 3

---

2014

УДК 579

## АКТИВАТОРНЫЙ БЕЛОК 1: СТРУКТУРА, ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ И РОЛЬ В ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТАТУСЕ ЧЕЛОВЕКА

А.А. БЕЛАНОВА, Ю.А. ЛЕБЕДЕВА, О.Н. КУЗЬМИНОВА, П.В. ЗОЛОТУХИН, В.К. ЧМЫХАЛО, С.А. КОРИНФСКАЯ, М.С. МАКАРЕНКО, А.А. АЛЕКСАНДРОВА

e-mail: anna.a.belanova@gmail.com

Южный федеральный университет, Россия, 344090, г. Ростов-на-Дону, пр-т Стачки, 194/1.

*Активаторный белок 1 (AP-1) представляет собой транскрипционный фактор, специфичный к последовательности ДНК, называемой TRE, вовлеченный в регулирование экспрессии большого числа генов. AP-1 представляет собой димерный комплекс, состоящий из белков семейства bZIP (основных лейциновых молний). Классический AP-1 состоит из белков подсемейств Jun и Fos. Активный AP-1 усиливает транскрипцию генов, содержащих TPA-респонсивный элемент (TRE), имеющий коровую последовательность TGASTCA.*

*Функционирование AP-1 или его отдельных компонентов зависит от активации сигналами разного уровня. Воздействие внешних стимулов запускает активность клеточных каскадов, часть из которых передает сигнал компонентам AP-1. После получения активаторного сигнала компонентами AP-1 происходит взаимодействие его компонентов с партнерами, не классифицируемыми как AP-1-элементы, или сборка его димеров на TRE. Последствиями этого могут быть как активация транскрипции генов-мишеней, так и ее подавление. Наличие различных форм гомо- и гетеродимеров может объяснить различную способность AP-1 к регуляции транскрипции генов. Компоненты AP-1 могут также образовывать более сложные комплексы – включающие более, чем 1 партнер.*

*AP-1 участвует в регуляции окислительного статуса выступая как в роли транскрипционного фактора, непосредственно контролирующего защитные гены через TRE, так и в роли фактора-партнера других антиоксидантных транскрипционных факторов. AP-1 может связываться с антиоксидант-респонсивным элементом (ARE), а компоненты AP-1 сегодня стали известны как модуляторы активности ключевого адаптивного транскрипционного фактора и его каскада – NFE2L2. Компоненты AP-1 способны гетеродимеризоваться и с другими Nfe2l-факторами, тем самым создавая дополнительные способы регуляции реализации адаптивных реакций систем окислительного статуса.*

**Ключевые слова:** активаторный белок 1, фактор транскрипции, сайт связывания транскрипционных факторов TRE, антиоксидант-респонсивный элемент, белки Jun, белки Fos.

## ACTIVATOR PROTEIN 1: STRUCTURE, FUNCTIONING AND ROLES IN OXIDATIVE STATUS IN HUMANS

A.A. BELANOVA, U.A. LEBEDEVA, O.N. KUZMINOVA, P.V. ZOLOTUKHIN, V.K. CHMYKHALO, S.A. KORINFSKAYA, M.S. MAKARENKO, A.A. ALEKSANDROVA

Southern federal university, 194/1 Stachki av., 344090, Rostov-on-Don, Russia

*Activator protein 1 (AP-1) is a sequence-specific transcription factor regulating numerous genes. Classic AP-1 is a dimer formed upon activation of several basic leucine zipper (bZIP) proteins belonging to Jun and Fos subfamilies.*

*Active AP-1 binds to a binding site named TPA-responsive element (TRE) having a core sequence TGASTCA.*

*Signals that activate AP-1 and its components are hierarchically versatile. AP-1 is generally controlled by several cellular signaling pathways, including those activated by extracellular stimulation. Upon the receipt of the activator signal, AP-1 components can form classic dimers binding to TRE, or heterodimerize with other nuclear proteins, thus acting on regulatory elements other than TRE. As a consequence, highly variable patterns of both transcriptional activation and inhibition take place in a signal-specific manner due to extreme diversity of complexes that AP-1 components may form. Moreover, some AP-1 components have been shown to form oligomers.*

*While being involved in regulation of a significant number of cellular systems, AP-1 is also an oxidative status controller. In this case, AP-1 acts as a direct transcription factor of several pro- and antioxidant genes, and as a partner of other transcription factors. In the latter sense, it is important that due to transcription factor binding sites sequence overlapping AP-1 can bind to antioxidant responsive element (ARE) characteristic for genes regulated by the NFE2L2 pathway, a central reactive antioxidant pathway of the cell. Moreover, AP-1 components have recently been shown to heterodimerize with Nfe2l-factors. Together, these mechanisms of AP-1 interaction with NFE2L2 pathway provide the cell with an additional mechanism of subtle regulation of oxidative status.*

**Keywords:** activator protein 1, transcription factor, TRE transcription factor binding site, antioxidant responsive element, Jun proteins, Fos proteins.

## Введение

Активаторный белок 1 (AP-1) представляет собой специфичный к последовательности ДНК транскрипционный фактор, вовлеченный в регулирование экспрессии большого числа генов, контролирующих различные клеточные процессы, такие как регуляция клеточного цикла, контроль роста, пролиферация и дифференцировка тканей, репарация ДНК, апоптоз [Schenk et al., 1994; Hirota et al., 1999; Zhang et al., 1999; Samuel et al., 2008]. AP-1 на уровне организма выполняет важную роль в функционировании иммунной системы, воспалительной реакции, клеточной адгезии [Hirota et al., 1999].

Помимо этого, при дисрегуляции, AP-1 является ключевым участником патогенеза артрита, сердечно-сосудистых и других патологических состояний [Manea et al., 2008; Samuel et al., 2008]. Было показано, что AP-1 регулирует экспрессию ряда генов, продукты которых участвуют в развитии опухолей [Cho et al., 2007; Dahlman-Wright et al., 2012; Babu et al., 2013].

Согласно экспериментальным данным, AP-1 является значимым участником систем, регулирующих окислительный статус клетки, – в том числе благодаря взаимодействию с каскадом NFE2L2, что представляет большой интерес не только в фундаментальном, но и в прикладном смысле [Zolotukhin et al., 2013; Zolotukhin et al., 2014].

AP-1 представляет собой димерный комплекс, состоящий из белков семейства bZIP (основных лейциновых молний) [Babu et al., 2013]. Классический AP-1 состоит из белков подсемейств Jun и Fos. Активный AP-1 усиливает транскрипцию генов, содержащих так называемый элемент ответа на 12-O-тетрадеканойл-форбол-13-ацетат (TRE), имеющий коровую последовательность TGASTCA [Schenk et al., 1994; Zhang et al., 1999; Samuel et al., 2008; Ishikawa et al., 2005; Sirianni et al., 2010; Lopez-Bergami et al., 2010; Babu et al., 2013].

Дифференциация специфичности регулирования AP-1-зависимых генов определяется не только образованием различных димерных комплексов активаторного белка 1, но и взаимодействием его компонентов с другими транскрипционными регуляторами [Rossi et al., 1998].

### 1. Подсемейство Jun

Подсемейство Jun состоит из белков JUN, JUNB и JUND, локализующихся в ядре. Все

представители семейства содержат 1 bZIP-домен [UniProt].

Jun-белки могут образовывать стабильные и функциональные гомодимеры, а так же гетеродимеры с белками Fos. При этом Jun/Fos-димеры более стабильны и эффективны, чем Jun/Jun-димеры [Lopez-Bergami et al., 2010; Dahlman-Wright et al., 2012; Babu et al., 2013].

Активация Jun происходит в ответ на митогенные стимулы, а также повреждения ДНК и другие стрессорные воздействия [Lopez-Bergami et al., 2010].

Уровни экспрессии JUN определяются, с одной стороны, коротким периодом полураспада мРНК благодаря наличию AU-богатого дестабилизирующего элемента в 3'-нетранслируемой области и, с другой стороны, стабильностью транслируемого белка [Lopez-Bergami et al., 2010].

Разные Jun могут трансактивироваться различными веществами. Так, NDMA повышает экспрессию JUNB и JUND [Ratajczak-Wrona et al., 2013], а перекись водорода, PDTC и E2 индуцируют экспрессию JUN [Sun, Oberley, 1996; Babu et al., 2013]. TMX понижает уровень экспрессии JUN и JUND [Babu et al., 2013]. Посттрансляционные модификации уже присутствующих в клетке в момент стимуляции компонентов AP-1 вызывают положительную авторегуляцию, которая включает в себя, например, связывание AP-1 с TRE и CRE в регуляторной области JUN, что приводит к увеличению транскрипции последнего. В основном в транскрипции в этом случае участвуют такие димеры AP-1, как JUN-FOS и JUN-ATF2 для TRE и CRE, соответственно [Lopez-Bergami et al., 2010; Zhang et al., 1999]. Транскрипция JUN также индуцируется SP1, NF-kB, тройным комплексом факторов (TCFs), MEF2 или Cebp [Lopez-Bergami et al., 2010].

Киназы внеклеточной сигнализации Erk способствуют транскрипции JUN путем активации FOS, TCFS и MEF2. Сигналы, которые вызывают транскрипцию JUN также активируют РНК-связывающие белки, которые увеличивают стабильность мРНК JUN [Lopez-Bergami et al., 2010].

Активация JUN на всех уровнях происходит очень быстро и эффективно стимулирует транскрипцию генов, важных для вступления в G1- и S-фазы клеточного цикла, таких как циклин D1, циклин A18 и циклин E. Однако, JUN так-

же контролирует антипролиферативные регуляторы клеточных циклов, такие как TP53, RPP21, CDKN2A и ARFGAP1.

Несмотря на высокую степень гомологии последовательностей Jun, они имеют различные свойства трансактивации и биологические эффекты, в основном это связано с более низкой стабильности N-концевой области этих белков. JUN и JUND имеют мощные трансактивационные свойства, а транскрипционная активность JUNB гораздо слабее. В отличие от JUN, JUNB и JUND могут репрессировать транскрипцию [Lopez-Bergami et al., 2010].

Так как JUN контролирует циклины, количество белка и статус N-концевого фосфорилирования регулируются в соответствии со стадией клеточного цикла [Lopez-Bergami et al., 2010]. Роль JUNB и JUND является более сложной, в зависимости от условий они могут являться как активаторами, так и ингибиторами пролиферативных процессов [Lopez-Bergami et al., 2010].

В отсутствие JUN, JUNB проявляет пролиферативные эффекты. Анти-пролиферативная активность JUNB требует формирования гетеродимеров JUN/JUNB. Аналогичным образом JUND может подавлять TP53-индуцированное старение и апоптоз в фибробластах, хотя он также был отмечен как опухолевый супрессор. Считается, что эта двойная роль зависит от взаимодействия с опухолевым супрессором менином (MEN1). Тем не менее большинство исследований показывает, что JUND противодействует JUN в регуляции роста клеток и трансформации.

Примечательно, что JUNB и JUND регулируются не теми протеинкиназами, которые регулируют JUN. Различные киназы могут по-разному воздействовать на Jun. Результат этого действия зависит от того, какие конкретно это были киназы и на какие белки они воздействовали [Lopez-Bergami et al., 2010].

Функционирование Jun (как и некоторых других bZIP-белков) во многом зависит от Jnk (Jun-N-концевых киназ). Различные данные указывают на дифференциальное регулирование Jun со стороны JNK1 и JNK2, что можно объяснить различным средством связывания Jun с Jnk. В зависимости от типа клеток, активность Jnk может управляться Ca<sup>2+</sup> и протеинкиназой C (PKC) [Zhang et al., 1999; Lopez-Bergami et al., 2010].

JNK-обусловленное фосфорилирование может стимулировать транскрипционную актив-

ность Jun путем обеспечения их взаимодействия с базальной транскрипционной машиной (РНК-полимеразой II) или коактиваторами, или же путем обеспечения диссоциации репрессорных комплексов, содержащих гисто-деацетилазы 3 [Lopez-Bergami et al., 2010]. Таким образом, Jun может регулировать транскрипцию гена посредством управляемого взаимодействия с РНК-полимеразой II, а также коактиваторами или корепрессорами транскрипции [Lopez-Bergami et al., 2010].

В большинстве клеток JUN является лабильным белком с периодом полураспада около 2 часов, и уровень его экспрессии жестко регулируется полиубиквитинированием нескольких остатков лизина и последующей деградацией 26S-протеасомой [Lopez-Bergami et al., 2010].

Стабилизация JUN происходит после инактивации GSK3 в результате работы Erk и каскада PI3K/Akt. Полиубиквитинирование JUN и его последующая протеасомная деградация обеспечиваются FBXW7, функционирование которого, в свою очередь, зависит от фосфорилирования JUN GSK3. Пока не установлено, с активными или неактивными молекулами JUN взаимодействует FBXW7 [Lopez-Bergami et al., 2010].

Стабильность JUN также увеличивается после его фосфорилирования со стороны Jnk, что способствует деградации JUN в нестрессовых условиях.

JUN также подлежит сумоилированию, что снижает активность образования гетеродимера JUN-FOS, но сумоилирование не заканчивается полиубиквитинированием и не ведет к протеасомной деградации. SUMO-протеаза SENP1 усиливает JUN-опосредованную транскрипцию через десумоилирование домена р300 CRD1, обеспечивая альтернативный механизм регулирования трансактивационных эффектов JUN. Хотя убиквитин- и SUMO-модификации были определены и у других членов подсемейства Jun, роль этих изменений остается в значительной степени неисследованной. Например, JUNB проходит убиквитин-опосредованную протеасомную деградацию, хотя убиквитинлигазы, которые управляют этой модификацией пока неизвестны. JUNB сумоилируется в Т-клетках, что приводит к активации транскрипции его мишеней. JUND подвергается убиквитинированию, но последствия этой модификации пока не определены, так как убиквитинирование не приводит к деградации [Lopez-Bergami et al., 2010].

## 2. Подсемейство Fos, активация и деградация Fos-белков

Подсемейство Fos состоит из белков FOS, FOSB, FOSL1, FOSL2, локализующихся преимущественно в ядре. В покоящихся клетках FOS в небольших количествах присутствует в цитозоле. После индукторного воздействия в течение 7,5 мин FOS локализуется в эндоплазматическом ретикулуме и только потом (через 20 мин после индукции) переходит в ядро. Локализация в эндоплазматический ретикулум требует дефосфорилирования Tyr-10 и Tyr-30. FOS мигрирует между ядром и цитоплазмой благодаря наличию двух сигналов ядерной локализации [UniProt; Lopez-Bergami et al., 2010].

Кроме классического домена bZIP и основного ДНК-связывающего домена, как у других белков AP-1, FOS и FOSB также имеют сильные трансактивационные домены, которыми FOSL1 и FOSL2 не обладают. Члены подсемейства Fos могут гетеродимеризоваться с Jun и некоторыми членами подсемейства bZIP Atf, что приводит к образованию комплексов с различным биохимическим и транскрипционным поведением. Отрицательный заряд остатков, прилегающих к гидрофобной интерфазе лейциновых молний, электростатически дестабилизирует Fos-гомомеры и способствует образованию JUN-FOS-гетеродимеров, которые обладают повышенной стабильностью, ДНК-связывающей активностью и большим транскрипционным потенциалом [Lopez-Bergami et al., 2010].

Как и члены подсемейства Jun, FOS и FOSB реагируют на митогенные стимулы, а также повреждения ДНК и стресс. В течение нескольких минут после стимуляции факторами роста и последующей активации Erk, транскрипция обоих генов индуцируется ETS-домен содержащим белком Elk1 (ELK1), белком, связывающим цАМФ-респонсивный элемент (CREB), и сыворотка-респонсивным фактором (SRF). Хотя транскрипция FOSL1 и FOSL2 также увеличивается в результате митогенной стимуляции через TRE, SRE, MYC и Atf-сайты, они экспрессируются и вне стимуляции. Подобно Jun, транскрипция FOSL1 частично авторегулируется с помощью TRE. В настоящее время известны вещества-регуляторы экспрессии Fos. Так NDMA повышает экспрессию FOSL1 и FOSL2 [Ratajczak-Wrona et al., 2013], а перекись водорода и PDTC индуцируют экспрессию FOS [Sun, Oberley, 1996]. E2 индуцирует экспрессию FOS

и FOSL1. TMX, наоборот, подавляет транскрипцию FOS и FOSL1 [Babu et al., 2013].

Активность и деградация FOS в первую очередь регулируются с помощью фосфорилирования. Главные сайты фосфорилирования – это Thr325, Thr331 и Ser374, которые фосфорилируются Erk; Ser362, фосфорилируемый RSK1 и RSK2 (которые являются субстратами Erk); Thr232, фосфорилируемый неизвестными киназами. Кратковременная активация Erk приводит к фосфорилированию Ser374 и Ser362 и стабилизации FOS, но этого недостаточно, чтобы увеличить его транскрипционную активность. Считается, что две эти модификации выстраивают стыковочный сайт для Erk, что облегчает Erk-опосредованное фосфорилирование Thr331 и Thr325 которое стимулирует транскрипционную активность FOS. В ответ на воздействие ультрафиолетом FOS фосфорилируется киназами p38 по остаткам Thr232, Thr325, Thr331 и Ser374 [Lopez-Bergami et al., 2010].

В отличие от Jun, Fos деградирует в протеасоме через убиквитин-независимые механизмы. Деградация FOS регулируется автономными регионами - дегронами его N- и C-концевых участков. Влияние C-концевого дегрона уменьшается при фосфорилировании Ser362 и Ser374. Аналогичным образом, стабилизация FOSL1 зависит от ингибирования C-концевого дегрона Erk-опосредованным фосфорилированием Ser252 и Ser265 [Lopez-Bergami et al., 2010].

Димеризация с Jun-белками ингибирует ядерный экспорт FOS, тем самым предотвращая деградацию мономерного FOS в цитоплазме [Lopez-Bergami et al., 2010].

## 3. Функционирование компонентов AP-1 и его димеров

Функционирование AP-1 или его отдельных компонентов зависит от активации сигналами разного уровня.

Внеклеточными стимулами, активирующими AP-1, являются: ангиотензин II [Sirianni et al., 2010], ионизирующее излучение, УФ-излучение [Zhang et al., 1999], контакт с ксенобиотиками (особенно с TPA) и этанолом [Zhong et al., 2013], воздействие цитокинами (фактор некроза опухоли (TNF) и интерлейкин 1-альфа (IL1A)) [Cho et al., 2007], онкобелками [Smith, Cai, 2012] и гормонами [Samuel et al., 2005].

Воздействие внешних стимулов запускает активность клеточных каскадов, часть из которых передает сигнал компонентам AP-1. Так, ангиотензиновая активация AP-1 опосредована ки-

назами Erk и протеинкиназой С (PKC) [Sirianni et al., 2010; Cho et al., 2007]. Мощными индукторами PKC также являются фторболовые эфиры [Zhang et al., 1999]. Несколько каскадов регуляции активности AP-1 зависимы от киназ p38 [Oh et al., 2013; Ratajczak-Wrona et al., 2013]. Зависимость активации AP-1 от p38 установлена для его активации NMDA [Ratajczak-Wrona et al., 2013]. Ионизирующее излучение вызывает быстрый ядерный импорт тиоредоксина 1, который способствует связыванию AP-1 с генами-мишенями [Sun, Oberley, 1996]. IL1B с помощью MAP-киназ регулирует активность AP-1 [Persichini et al., 2010]. MAP-киназы также участвуют в регуляции AP-1 через ZNF445 [Luo et al., 2006]. Кальфостин С является мощным ингибитором PKC, и с помощью этого соединения была установлена зависимость активации AP-1 от протеинкиназы С [Zhang et al., 1999]. Трансактивация TRE под контролем AP-1 может осуществляться окислением одного консервативного остатка цистеина в ДНК-связывающих доменах одного из компонентов AP-1 [Ishikawa et al., 2005].

Некоторые высшие клеточные каскады подавляют активность AP-1. Например, ERK5 блокирует активацию JUNB на уровне ингибирования его транскрипции [Ratajczak-Wrona et al., 2013]. Лютеин ингибирует активацию AP-1, подавляя активацию p38 и Jnk [Oh et al., 2013].

Одним из промежуточных активаторов AP-1 являются эстрагеновые рецепторы (ER). Активность AP-1 в этом случае может запускаться двумя способами. Во-первых – через взаимодействие с коактиватором MYBBP1A (p160). Во-вторых, при этом оказываются задействованы неизвестные пока белок-белковые взаимодействия, повышающие активность гетероструктурных транскрипционных факторов [Webb et al., 1999; Dahlman-Wright et al., 2012]. В последние годы установлено, что FOS является основополагающим фактором для ER-опосредованной транскрипции. Нокдаун FOS ослабляет экспрессию 37% всех эстроген-регулируемых генов. Важно отметить, что FOS и ER регулируют экспрессию гена E2F1 путем связывания с его регуляторным элементом [Dahlman-Wright et al., 2012].

В отличие от эстрогеновых рецепторов, рецептор глюкокортикоидов действует как негативный регулятор AP-1 [Rozé-Heusse et al., 1996].

После получения активаторного сигнала компонентами AP-1 (фосфорилирование, сумоилирование, тиольное восстановление и т.д.), происходит взаимодействие его компонентов с партнерами, не классифицируемыми как AP-1-элементы, или сборка его димеров на TRE. Последствиями этого могут быть как активация транскрипции генов-мишеней, так и ее подавление.

Например, гиперактивация FOS приводит к его связыванию с SF-1, что обеспечивает супрессию гена CYP17 (Sirianni et al., 2010).

AP-1 контролирует индуцированную оксидативной кислотой экспрессию гена пролактина (PRL). Caccavelli и коллеги (1998) показали, что AP-1 в этом случае представлен гетеродимером JUND/FOS [Caccavelli et al., 1998].

Регуляторная область некоторых Mmp (матричных металлопротеиназ) содержит TRE, и их активность регулируется AP-1 и другими TRE-зависимыми факторами. Так AP-1 контролирует экспрессию MMP9 [Samuel et al., 2008; Cho et al., 2007; Mittelstadt et al., 2012]; нуклеолин, взаимодействуя с TRE в пределах промоторной последовательности гена металлопротеиназы-13 (MMP13) подавляет AP-1-зависимую транскрипцию [Samuel et al., 2008].

В настоящий момент известно, что AP-1 контролирует транскрипцию микроРНК. Так, например, транскрипция MIR21 и MIR144 регулируется AP-1 [Zhang et al., 2013; Cheng et al., 2013].

AP-1, взаимодействуя с соответствующими сайтами в регуляторных областях таких генов, как INV [Welter et al., 1995; Saika et al., 1999; Adhikary et al., 2005], IL3, IL8, IL9 [Nordberg, Arnér, 2001; Ochoa et al., 2011; Khanjani et al., 2012], MSH2 [Humbert et al., 2003], PPAR [Jiang et al., 2013], HSS [Dong et al., 2007], CYBA [Manea et al., 2008], VEGF [Shih, Claffey, 2001] регулирует их экспрессию.

AP-1, CREB и NF-kB образуют интегрированную транскрипционную сеть, которая участвует в поддержании репрессии генов-мишеней, расположенных ниже GSK3-зависимой сигнализации и играют важную роль в GSK3-обусловленной репрессии генов-мишеней в покоящихся клетках [Tullai et al., 2011]. Взаимодействие AP-1 и NF-kappaB важно также для регуляции экспрессии мРНК CCR7 [Mburu et al., 2012].

В промоторе гена TBP (кодирующего один из белков ТАТА-зависимой РНК-полимеразы)

сайт AP-1 перекрывается с сайтом Elk1. В присутствии этанола AP-1 активируется и запускает транскрипцию TBP, который усиливает транскрипционную деятельность PolIII [Zhong et al., 2013].

AP-1 конкурирует с „хранителем генома“ p53 за возможность трансактивации TFF2 [Tu et al., 2009].

Наличие различных форм гомо- и гетеродимеров может объяснить различную способность AP-1 к регуляции транскрипции генов и влиянию на состояние клетки [Rozé-Heusse et al., 1996; Smith, Cai, 2012]. Так, в регуляции транскрипции гена *INV* участвуют димеры из компонентов FOSL1, JUNB и JUND [Adhikary et al., 2005], гетеродимер JUN/FOS участвует в экспрессии *CYBA* [Manea et al., 2008]. IFNG является прямой транскрипционной мишенью JUNB [Thomsen et al., 2013]. Компоненты AP-1, такие как JUN, FOS и FOSL1 могут быть ключевыми в контроле пролиферации и трансформации клеток MCF-7 [Babu et al., 2013].

Несколькими группами получены важные количественные данные о регуляции компонентов AP-1. Sirianni и соавторы (2010) показали, что ангиотензин II вызывает увеличение экспрессии FOS в 300 раз, FOSB в 500 раз, FOSL1 в 2 раза, FOSL2 в 2 раза, JUN в 4,2 раза, JUNB в 14 раз, JUND в 2 раза. Этой же группой было продемонстрировано, что обработка клеток классическим индуктором AP-1, TPA, вызывает увеличение экспрессии FOS в 194 раза, FOSB в 65 раз, FOSL1 в 2 раза, JUN в 2 раза, JUNB в 9 раз, JUND в 2 раза [Sirianni et al., 2010].

После воздействия форболовым эфиром или УФ-излучением AP-1 быстро связывается (от 30 мин до 2 ч) с TRE и увеличивает активность транскрипции генов-мишеней без увеличения синтеза Jun или Fos. Это является результатом посттрансляционных модификаций, связанных со специфическим фосфорилированием, которое наделяет белки повышенной транскрипционной активностью [Zhang et al., 1999].

#### 4. Тиоредоксин 1 – обязательный фактор активации AP-1

Тиоредоксин представляет собой плейотропный клеточный фактор, который имеет окислительно-восстановительную активность, опосредованную способностью участвовать в дитиол-дисульфидном обмене. Тиоредоксин 1 играет важную роль в регуляции пролиферации, апоптоза и экспрессии генов [Hirota et al., 1997].

Тиоредоксин способствует повышению активности AP-1 [Hirota et al., 1997]. Индуцированное тиоредоксином повышение активации AP-1 основано на антиоксидантном действии и не зависит от активации РКС [Schenk et al., 1994]. При этом AP-1 не является прямым субстратом тиоредоксина – активность AP-1 регулируется через донорно-акцепторное взаимодействие тиоредоксина 1 и APEX1 [Hirota et al., 1997].

Молекулярный каскад окислительно-восстановительного регулирования AP-1 опосредованного TXN выглядит следующим образом. TXN, локализуемый преимущественно в цитоплазме, быстро перемещается в ядро в ответ на воздействие индукторов (TPA, перекись водорода, УФ-излучение) [Schenk et al., 1994; Thomsen et al., 2013]. Основным медиатором TXN-зависимых эффектов в ядре является APEX1 [Xanthoudakis et al., 1992]. Окислительно-восстановительная и ДНК-репарационная деятельность APEX1 кодируется N-концевыми и C-концевыми участками соответственно. Именно APEX1 был идентифицирован как фактор, непосредственно участвующий в восстановлении компонентов AP-1, и сегодня установлено, что для этого необходима именно окислительно-восстановительная его активность [Sun, Oberley, 1996]. Нормализуя структуру AP-1 с помощью дитиол-дисульфидного обмена, APEX1 увеличивает связывание AP-1 с ДНК [Nordberg, Arnér, 2001].

В то же время TXN является ARE-зависимым геном (как будет показано ниже, ARE может быть связан AP-1), что позволяет ему быть регулируемым компонентами AP-1 (по крайней мере, JUND), зависящими от TXN, и таким образом в системе клеточной защиты замыкается один из контуров положительных обратных связей [Hirota et al., 1997; Zolotukhin et al., 2013; Dovzhik et al., 2014].

#### 5. Димеризация и олигомеризация компонентов AP-1 с Atf-белками и другими транскрипционными факторами

Jun-белки могут гетеродимеризоваться с членами подсемейств Creb и Atf, и эти гетеродимеры могут трансактивировать гены-мишени на TRE-сайтах [Zhang et al., 1999].

Точно установлено связывание JUN с BAtf. Так как BAtf не имеют домена активации транскрипции, связывание с ДНК димера BAtf-Jun не активирует транскрипцию, а вызывает репрессию AP-1-зависимых генов [Wang et al., 1996].

Известно, что JUND димеризуется с NFE2L2, в результате чего образуются димеры с высокой транскрипционной активностью [Tsuji, 2005; Iwasaki et al., 2006].

Компоненты AP-1 могут также образовывать более сложные комплексы – включающие более чем 1 партнер [Mo et al., 2001].

#### 6. Пересекающиеся функции AP-1 и NFE2L2

Несмотря на то что AP-1 связывается с антиоксидантным респонсивным элементом (ARE), родственным TRE, AP-1 не является основным активирующим фактором ARE-зависимых генов, потому что, связываясь с ARE, AP-1 не обязательно запускает экспрессию гена-мишени. BHQ является классическим прооксидантом, вызывающим активацию и связывание NFE2L2 с ARE. По некоторым данным, BHQ индуцирует экспрессию JUN, JUNB, FOSL1, FOSL2, но не индуцирует экспрессию FOS и FOSB. Одновременно BHQ ингибирует эффекты TPA. В связи с этим повышается вероятность того, что произойдет димеризация тех компонентов AP-1, которые дадут более слабый вариант фактора активации транскрипции, который не сможет конкурировать с NFE2L2, в то время как димеры Jun/FOS и Jun/FOSB могут препятствовать связыванию NFE2L2 с ARE [Yoshioka et al., 1995; Sun, Oberley, 1996; Kim et al., 2003].

Более того, многие ARE пересекаются или соседствуют с TRE. Так, например, ARE гена NQO1 содержит TRE в положении от –470 до –445 [Ross et al., 2000]. Кроме двойного активаторного варианта (NFE2L2 или AP-1) регуляции для этого гена характерен необычный тип взаимоотношений между NFE2L2 и AP-1 – ингибирование по типу переполнения (overflow-inhibition) [Venugopal, Jaiswal, 1996]. При индукции AP-1, связанной с повышенной активностью FOS и FOSL1, происходит подавление экспрессии NQO1 благодаря интерференции связывания NFE2L2 и FOS/FOSL1 с ARE [Venugopal, Jaiswal, 1996; Ross et al., 2000].

Сложный ARE гена человеческого ферритина H (FTH) содержит две копии двунаправленных сайтов AP-1. Обработка H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> или BHQ активирует связывание JUND с FTH и повышает экспрессию последнего. JUND участвует в активации транскрипции гена человеческого ферритина H через ARE в дополнение к NFE2L2: было показано, что димеры JUND/NFE2L2 активируют ферритин H лучше, чем по отдельности [Iwasaki et al., 2006].

## Заключение

Один из регуляторов окислительного статуса, AP-1, задействован в контроле большого количества клеточных процессов и является сенсором широкого спектра средовых и эндогенных сигналов. AP-1, изначально описанный как относительно простой транскрипционный фактор, сегодня охарактеризован как многовариантный димерный комплекс, способный к самостоятельному взаимодействию с дополнительными транскрипционными кофакторами и коактиваторами. Компоненты AP-1 также участвуют как самостоятельные факторы в контроле экспрессии генов, независимо от основных механизмов работы AP-1.

С точки зрения окислительного статуса, компоненты AP-1 сегодня стали известны как модуляторы активности ключевого адаптивного транскрипционного фактора и его каскада – NFE2L2. В различных условиях и для разных генов белки подсемейств Jun и Fos могут проявлять как индукторную, так и репрессивную транскрипционную активность; согласно новейшим литературным данным они способны гетеродимеризоваться с Nfe2l-факторами, тем самым создавая дополнительные способы регуляции реализации адаптивных реакций систем окислительного статуса.

## Литература

Adhikary G, Crish JF, Bone F, Gopalakrishnan R, Lass J, Eckert RL. An involucrin promoter AP1 transcription factor binding site is required for expression of involucrin in the corneal epithelium in vivo. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2005;46(4):1219–27. PMID: 15790882.

Babu RL, Naveen Kumar M, Patil RH, Devaraju KS, Ramesh GT, Sharma SC. Effect of estrogen and tamoxifen on the expression pattern of AP-1 factors in MCF-7 cells: role of c-Jun, c-Fos, and Fra-1 in cell cycle regulation. Mol Cell Biochem. 2013 ;380(1–2):143–51. PMID: 23625206.

Caccavelli L, Manfroid I, Martial JA, Muller M. Transcription factor AP1 is involved in basal and okadaic acid-stimulated activity of the human PRL promoter. Mol Endocrinol. 1998;12(8):1215–27. PMID: 9717847.

Cheng C, Li W, Zhang Z, Yoshimura S, Hao Q, Zhang C, Wang Z. MicroRNA-144 is regulated by activator protein-1 (AP-1) and decreases expression of Alzheimer disease-related a disintegrin and metalloprotease 10 (ADAM10). J Biol Chem. 2013 ;288(19):13748–61. PMID: 23546882.

Cho HJ, Kang JH, Kwak JY, Lee TS, Lee IS, Park NG, Nakajima H, Magae J, Chang YC. Ascofuranone sup-



presses PMA-mediated matrix metalloproteinase-9 gene activation through the Ras/Raf/MEK/ERK- and AP1-dependent mechanisms. *Carcinogenesis*. 2007;28(5):1104–10. PMID: 17114644.

Dahlman-Wright K, Qiao Y, Jonsson P, Gustafsson JÅ, Williams C, Zhao C. Interplay between AP-1 and estrogen receptor  $\alpha$  in regulating gene expression and proliferation networks in breast cancer cells. *Carcinogenesis*. 2012;33(9):1684–91. PMID: 22791811.

Dhakshinamoorthy S, Jain AK, Bloom DA, Jaiswal AK, Bach1 competes with Nrf2 leading to negative regulation of the antioxidant response element (ARE)-mediated NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 gene expression and induction in response to antioxidants. *J Biol Chem*. 2005;280(17):16891–900. PMID: 15734732.

Dong LY, Wang XN, Song ZG, Guo D, Zhao YY, An W. Identification of human hepatic stimulator substance gene promoter and demonstration of dual regulation of AP1/AP4 cis-acting element in different cell lines. *Int J Biochem Cell Biol*. 2007;39(1):181–96. PMID: 16978907.

Dovzhik AD, Zolotukhin PV, Mayboroda EA, Mashkina EV, Aleksandrova AA. Assessing the regulation dependencies of thioredoxin 1 transcript variants by means of interactomic dynamic-with-induction profiling approach. *Zhivye i biokosnye sistemy* [«Живые и биокосные системы»]. 2014; (6):URL: <http://www.jbks.ru/archive/issue-6/article-8>.

Hirota K, Matsui M, Iwata S, Nishiyama A, Mori K, Yodoi J. AP-1 transcriptional activity is regulated by a direct association between thioredoxin and Ref-1. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94(8):3633–8. PMID: 9108029.

Hirota K, Murata M, Sachi Y, Nakamura H, Takeuchi J, Mori K, Yodoi J. Distinct roles of thioredoxin in the cytoplasm and in the nucleus. A two-step mechanism of redox regulation of transcription factor NF- $\kappa$ B. *J Biol Chem*. 1999;274(39):27891–7. PMID: 10488136.

Humbert O, Achour I, Lautier D, Laurent G, Salles B. hMSH2 expression is driven by AP1-dependent regulation through phorbol-ester exposure. *Nucleic Acids Res*. 2003;31(19):5627–34. PMID: 14500826.

Ishikawa M., Numazawa S., Yoshida T. Redox regulation of the transcriptional repressor Bach1. *Free Radic Biol Med*. 2005;38(10):1344–52. PMID: 15855052.

Iwasaki K, Mackenzie EL, Hailemariam K, Sakamoto K, Tsuji Y. Hemin-mediated regulation of an antioxidant-responsive element of the human ferritin H gene and role of Ref-1 during erythroid differentiation of K562 cells. *Mol Cell Biol*. 2006;26(7):2845–56. PMID: 16537925.

Jiang X, Yang X, Han Y, Lu S. Transcription factor AP1 binds the functional region of the promoter and regulates gene expression of human PPARdelta in LoVo cell. *Tumour Biol*. 2013;34(6):3619–25. PMID: 23832539.

Khanjani S, Terzidou V, Johnson MR, Bennett PR. NF $\kappa$ B and AP-1 drive human myometrial IL8 expression. *Mediators Inflamm*. 2012;2012:504952. PMID: 22685373.

Kim YC, Yamaguchi Y, Kondo N, Masutani H, Yodoi J. Thioredoxin-dependent redox regulation of the antioxidant responsive element (ARE) in electrophile response. *Oncogene*. 2003;22(12):1860–5. PMID: 12660821.

Lopez-Bergami P, Lau E., Ronai Z. Emerging roles of ATF2 and the dynamic AP1 network in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2010;10(1):65–76. PMID: 20029425.

Luo K, Yuan J, Shan Y, Li J, Xu M, Cui Y, Tang W, Wan B, Zhang N, Wu Y, Yu L. Activation of transcriptional activities of AP1 and SRE by a novel zinc finger protein ZNF445. *Gene*. 2006;367:89–100. PMID: 16368201.

Manea A, Manea SA, Gafencu AV, Raicu M, Simionescu M. AP-1-dependent transcriptional regulation of NADPH oxidase in human aortic smooth muscle cells: role of p22phox subunit. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008;28(5):878–85. PMID: 18309110.

Mburu YK, Egloff AM, Walker WH, Wang L, Seethala RR, van Waes C, Ferris RL. Chemokine receptor 7 (CCR7) gene expression is regulated by NF- $\kappa$ B and activator protein 1 (AP1) in metastatic squamous cell carcinoma of head and neck (SCCHN). *J Biol Chem*. 2012;287(5):3581–90. PMID: 22158872.

Mittelstadt ML., Patel RC. AP-1 mediated transcriptional repression of matrix metalloproteinase-9 by recruitment of histone deacetylase 1 in response to interferon  $\beta$ . *PLoS One*. 2012;7(8):e42152. PMID: 22879913.

Mo Y, Ho W, Johnston K, Marmorstein R. Crystal structure of a ternary SAP-1/SRF/c-fos SRE DNA complex. *J Mol Biol*. 2001;314(3):495–506. PMID: 11846562.

Nordberg J., Arnér E.S. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radic Biol Med*. 2001;31(11):1287–312. PMID: 11728801.

Ochoa C, Garg H, Hales C, Quinn D. Low molecular weight hyaluronan, via AP-1 and NF- $\kappa$ B signalling, induces IL-8 in transformed bronchial epithelial cells. *Swiss Med Wkly*. 2011;141:w13255. PMID: 21989944.

Oh J, Kim JH, Park JG, Yi YS, Park KW, Rho HS, Lee MS, Yoo JW, Kang SH, Hong YD, Shin SS, Cho JY. Radical scavenging activity-based and AP-1-targeted anti-inflammatory effects of lutein in macrophage-like and skin keratinocytic cells. *Mediators Inflamm*. 2013;2013:787042. PMID: 23533312.

Persichini T, Maio N, di Patti MC, Rizzo G, Toscano S, Colasanti M, Musci G. Interleukin-1 $\beta$  induces ceruloplasmin and ferroportin-1 gene expression via MAP kinases and C/EBP $\beta$ , AP-1, and NF- $\kappa$ B activation. *Neurosci Lett*. 2010 Oct 29;484(2):133–8. PMID: 20727382.

- Ratajczak-Wrona W, Jablonska E, Garley M, Jablonski J, Radziwon P, Iwaniuk A. Role of AP-1 family proteins in regulation of inducible nitric oxide synthase (iNOS) in human neutrophils. *J Immunotoxicol.* 2013;10(1):32–9. PMID: 22734893.
- Ross D, Kepa JK, Winski SL, Beall HD, Anwar A, Siegel D. NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 (NQO1): chemoprotection, bioactivation, gene regulation and genetic polymorphisms. *Chem Biol Interact.* 2000 Dec 1;129(1–2):77–97. PMID: 11154736.
- Rossi A, Jang SI, Ceci R, Steinert PM, Markova NG. Effect of AP1 transcription factors on the regulation of transcription in normal human epidermal keratinocytes. *J Invest Dermatol.* 1998 Jan;110(1):34–40. PMID: 9424084.
- Rozé-Heusse A, Houbiguan ML, Debacker C, Zakin MM, Duchange N. Melanotransferrin gene expression in melanoma cells is correlated with high levels of Jun/Fos family transcripts and with the presence of a specific AP1-dependent ternary complex. *Biochem J.* 1996;318 (Pt 3):883–8. PMID: 8836133.
- Saika S, Kawashima Y, Miyamoto T, Okada Y, Kato T, Shirai K, Yamanaka O, Ohnishi Y, Oshima A, Kao WW. Immunolocalization of transcription factor AP1 in human ocular surface epithelia. *Curr Eye Res.* 1999;18(6):477–89. PMID: 10435835.
- Samuel S, Twizere JC, Beifuss KK, Bernstein LR. Nucleolin binds specifically to an AP-1 DNA sequence and represses AP1-dependent transactivation of the matrix metalloproteinase-13 gene. *Mol Carcinog.* 2008 Jan; 47(1): 34–46. PMID: 17626252.
- Samuel S., Twizere J.C., Bernstein L.R. YB-1 represses AP1-dependent gene transactivation and interacts with an AP-1 DNA sequence. *Biochem J.* 2005; 388(Pt 3): 921–8. PMID: 15702969.
- Schenk H, Klein M, Erdbrügger W, Dröge W, Schulze-Osthoff K. Distinct effects of thioredoxin and antioxidants on the activation of transcription factors NF-kappa B and AP-1. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994;91(5):1672–6. PMID: 8127864.
- Shih SC., Claffey KP. Role of AP-1 and HIF-1 transcription factors in TGF-beta activation of VEGF expression. *Growth Factors.* 2001; 19(1):19–34. PMID: 11678207.
- Sirianni R, Nogueira E, Bassett MH, Carr BR, Suzuki T, Pezzi V, Andò S, Rainey WE. The AP-1 family member FOS blocks transcriptional activity of the nuclear receptor steroidogenic factor 1. *J Cell Sci.* 2010; 123(Pt 22): 3956–65. PMID: 20980388.
- Smith SM, Cai L. Cell specific CD44 expression in breast cancer requires the interaction of AP-1 and NFkB with a novel cis-element. *PLoS One.* 2012; 7(11): e50867. PMID: 23226410.
- Sun Y, Oberley LW. Redox regulation of transcriptional activators. *Free Radic Biol Med.* 1996; 21(3): 335–48. PMID: 8855444.
- Thomsen MK, Bakiri L, Hasenfuss SC, Hamacher R, Martinez L, Wagner EF. JUNB/AP-1 controls IFN-γ during inflammatory liver disease. *J Clin Invest.* 2013; 123(12): 5258–68. PMID: 24200694.
- Tsuji Y. JunD activates transcription of the human ferritin H gene through an antioxidant response element during oxidative stress. *Oncogene.* 2005; 24(51): 7567–78. PMID: 16007120.
- Tu SP, Chi AL, Ai W, Takaishi S, Dubeykovskaya Z, Quante M, Fox JG, Wang TC. p53 inhibition of AP1-dependent TFF2 expression induces apoptosis and inhibits cell migration in gastric cancer cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2009;297(2):G385–96. PMID: 19541923.
- Tullai JW, Tacheva S, Owens LJ, Graham JR, Cooper GM. AP-1 is a component of the transcriptional network regulated by GSK-3 in quiescent cells. *PLoS One.* 2011;6(5):e20150. PMID: 21647439.
- UniProt: [www.uniprot.org](http://www.uniprot.org). Retrieved 2 april 2014.
- Venugopal R, Jaiswal AK. Nrf1 and Nrf2 positively and c-Fos and Fra1 negatively regulate the human antioxidant response element-mediated expression of NAD(P)H:quinone oxidoreductase1 gene. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996;93(25):14960–5. PMID: 8962164.
- Wang X, Johansen LM, Tae HJ, Taparowsky EJ. IFP35 forms complexes with B-ATF, a member of the AP1 family of transcription factors. *Biochem Biophys Res Commun.* 1996; 229(1): 316–22. PMID: 8954125.
- Webb P, Nguyen P, Valentine C, Lopez GN, Kwok GR, McInerney E, Katzenellenbogen BS, Enmark E, Gustafsson JA, Nilsson S, Kushner PJ. The estrogen receptor enhances AP-1 activity by two distinct mechanisms with different requirements for receptor transactivation functions. *Mol Endocrinol.* 1999; 13(10): 1672–85. PMID: 10517669.
- Welter JF, Crish JF, Agarwal C, Eckert RL. Fos-related antigen (Fra-1), junB, and junD activate human involucrin promoter transcription by binding to proximal and distal AP1 sites to mediate phorbol ester effects on promoter activity. *J Biol Chem.* 1995; 270(21): 12614–22. PMID: 7759510.
- Xanthoudakis S, Miao G, Wang F, Pan YC, Curran T. Redox activation of Fos-Jun DNA binding activity is mediated by a DNA repair enzyme. *EMBO J.* 1992; 11(9): 3323–35. PMID: 1380454
- Yoshioka K, Deng T, Cavigelli M, Karin M. Antitumor promotion by phenolic antioxidants: inhibition of AP-1 activity through induction of Fra expression. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995; 92(11): 4972–6. PMID: 7761434.
- Zhang M, Miller C, He Y, Martel-Pelletier J, Pelletier JP, Di Battista JA. Calphostin C induces AP1 synthesis and AP1-dependent c-jun transactivation in normal hu-

man chondrocytes independent of protein kinase C- $\alpha$  inhibition: possible role for c-jun N-terminal kinase. *J Cell Biochem.* 1999; 76(2): 290–302. PMID: 10618645.

Zhang Z, Zha Y, Hu W, Huang Z, Gao Z, Zang Y, Chen J, Dong L, Zhang J. The autoregulatory feedback loop of microRNA-21/programmed cell death protein 4/activation protein-1 (MiR-21/PDCD4/AP-1) as a driving force for hepatic fibrosis development. *J Biol Chem.* 2013;288(52):37082–93. PMID: 24196965.

Zhong Q, Shi G, Zhang Y, Levy D, Zhong S. Elk1 and AP-1 sites in the TBP promoter mediate alcohol-induced deregulation of Pol III-dependent genes. *Gene.* 2013; 526(1): 54–60. PMID: 23454483.

Zolotukhin P, Kozlova Y, Dovzhik A, Kovalenko K, Kutsyn K, Aleksandrova A, Shkurat T. Oxidative status interactome map: towards novel approaches in experiment planning, data analysis, diagnostics and therapy. *Mol Biosyst.* 2013; 9(8): 2085–96. PMID: 23698602.

Zolotukhin PV, Dovzhik AD, Lebedeva UA, Kuzminova ON, Mashkina EV, Aleksandrova AA, Shkurat TP. Testing the concept of the interatomic status of the NFE2L2/AP1 pathway as a systemic biomarker for examination stress. *Mol Diagn Ther.* 2014; 18(3): 355–69. PMID: 24504888.