

İnterferon Reseptör Sistemleri ve Sinyal İletim Mekanizmaları

INTERFERON RECEPTORS SYSTEMS AND SIGNAL TRANSDUCTION

Nuray ASLAN*, Ayşegül AYYILDIZ**

* Dr.,Ankara Üniversitesi Hepatoloji Enstitüsü

** Dr.,Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD, ANKARA

Özet

İlk kez 1957'de keşfedilen interferonlar, günümüzde antiproliferatif, antiviral ve immün düzenleyici olarak tıpta kullanılmaktadır. İnterferonlar; Tip I (α/β) ve Tip II (γ) olmak üzere iki sınıfa ayrılmıştır. Her iki tipteki interferonlar vücuttaki biyolojik cevabı, hedef hücreler üzerindeki özgül reseptörlerine bağlanıp, gen transkripsiyonunda hızlı bir artışa yol açarak gerçekleştirirler. İnterferonla uyarılmış gen aktivasyonunda reseptörden hücre çekirdeğine kadar uzanan yolda, hücre içi sinyalci moleküllerden Janus aktivasyon kinazlar (JAK) ve transkripsiyon sinyal transducer ve aktivatörleri (STAT) görev almaktadır.

Bu derlemede, İnterferon I ve II ailesi, reseptöre özgü biyolojik yanıtta, JAK-STAT ve diğer sinyal moleküllerinin fizyokimyasal işleyiş mekanizmalarından bahsedilecektir.

Anahtar Kelimeler: İnterferon reseptörleri, Sinyal iletimi, JAK, STAT, Tyk-2

T Klin Tıp Bilimleri 1998, 18:351-359

Summary

Since the first discovery in 1957, interferons have been medically used for their antiproliferative, antiviral and immunoregulatory functions. Interferons are classified into type I (α/β) and type II (γ). Both types mediate the biological response by binding to their specific receptors on target cells and causing a rapid increase of gene transcription. On the way from the receptor to the cell nucleus, the intracellular signalling molecules that play role are the Janus Family Kinases (JAK) and the signal transducer activators (STAT).

This article is a review of the physicochemical reaction mechanisms related to functioning of JAK-STAT and other signalling molecules to act on the biological response to interferon type I and type II receptors.

Key Words: Interferon receptors, Signal transduction, JAK, STAT, Tyk-2

T Klin J Med Sci 1998, 18:351-359

İnterferonlar (IFN), omurgalılarda biyolojik cevabın düzenleyicileri olarak işlev gören, salgılanmış formda bulunan, önemli bir grup molekül ailesidir. İnterferonlar, viral ve diğer mikrobik enfeksiyonlara cevap olarak sentezlenir, hedef hücre üzerindeki özgül reseptörlerine bağlanarak gen transkripsiyonunda hızlı bir artışa yol açarlar. IFN'la uyarılmış genler, interferonların biyolojik etkilerini düzenlerler. IFN'la uyarılmış gen aktivasyonunun mekanizmaları üzerinde derinleşen araştırmalar, Janus ailesi kinazlar (JAK) ve transkripsiyon sinyali iletilen ve aktivatörleri (STAT= signal trans-

ducer and transcription activator) olmak üzere, iki belirgin protein ailesinin keşfine yol açmıştır. Bu sinyal molekülleri hücre içi sinyalleri interferon reseptörlerinden çekirdeğe taşıyarak, IFN'la uyarılan genlerin transkripsiyonunu aktifleştirmektedirler. İzleyen araştırmalar, interferon dışında pek çok sitokin, hormon ve büyüme faktörlerinin sinyal iletiminde JAK-STAT yollarını kullandığını düşündürmüştür. Bu yazımızda, interferon reseptörleri ve sinyal iletiminde görev alan moleküllerin yapısal etkileşim modellerini inceleyerek, biyolojik cevabın temelinde yatan kimyasal mekanizmayı açıklamak istiyoruz.

Geliş Tarihi: 11.09.1998

Yazışma Adresi: Dr.Ayşegül AYYILDIZ
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Biyokimya AD
Dekanlık-Sıhhiye-ANKARA-06100

İnterferonlar ilk defa 1957 yılında Isaacs ve Lindenmann tarafından antiviral özellikleriyle keşfedildi (1). İnterferonlar protein yapıda olup bugün için bilinen üç üyesi vardır; IFN- α , IFN- β ,

IFN- γ . IFN α/β tip I, IFN- γ tip II sınıflandırılmasına dahil edilmiştir. Üçünün de antiviral, antiproliferatif ve immün düzenleyici özellikleri vardır. Ama özellikle tip I IFN'lar antiproliferatif ve antiviral reaksiyonlarda, tip II IFN'lar ise immün düzenleyici reaksiyonlarda etkilidirler. Tip I IFN'lar (α/β) insanda kromozom 9 üzerindeki, tip II IFN (γ) ise kromozom 12 üzerindeki genler tarafından kodlanır (2).

IFN'ların hücrede etkisini gösterebilmesi için hücre yüzeyinde bulunan türe özgü reseptörlere bağlanması ve ardından da bir seri sinyal ileti sistemlerinin aktiflenmesi gerekmektedir. IFN reseptörleri de IFN'lar gibi iki sınıfa ayrılmıştır; tip I IFN reseptörleri ve tip II IFN reseptörleri.

IFN'lar reseptörlerine bağlandıktan sonra tirozin kinazlar aktiflenir ve tirozin kinazlar Janus aktivated kinaz (Jak) denen kinazlarla etkileşime girip hücredeki etkilerini birlikte çalışarak gösterirler. Jak'lar daha sonra Stat denen proteinleri fosfatlarlar. Fosfatlanan Stat proteinleri dimer yapı oluşturup çekirdeğe yönelir ve çekirdekte İnterferon tarafından uyarılan genlerin (İnterferon Stimulated Gene; ISG) enhancer bölgelerine bağlanıp bu genlerin transkripsiyonlarını sağlar. Sonuçta IFN'lara özel biyolojik yanıt oluşur.

IFN Reseptörleri

Yapılan çalışmalar sonunda tip I IFN'lar (α/β) ve tip II IFN (γ) için iki değişik reseptör yapısı tanımlanmıştır. IFN reseptörleri, genel yapılarıyla sınıf II sitokin reseptör ailesinin birer üyesidirler (3-5). Sınıf I ve II sitokin reseptörlerinin spesifik özelliği dört adet çok iyi korunmuş sistin motifi taşımasıdır. Sınıf II sitokin ailesinin üyelerinde ise iki sistin ve birkaç tiriptofanla birlikte prolin kalıntısı da belirleyici korunmuş yapılarıdır (6-8).

Sınıf II sitokin reseptörlerinin pek çok özel alt ünitesi vardır; bu üniteler transmembran sinyalizasyonda önemlidir. Ligand -reseptör bağlanmasından sonra bu altüniteler oligomerizasyona uğrar ve reseptörün aktiflenmesinde önemli rol oynarlar. Jak'lar reseptör zincirinin sitoplazmik bölgesine bağlanıp sinyalizasyon mekanizmasındaki katalitik aktiviteyi sağlar (9-10).

Tip I IFN'lar hücrede etkisini gösterirken aynı reseptör kompleksini kullanır. Buna karşın tip II

IFN diğer IFN'lardan ayrı bir reseptöre bağlanarak aktivitesini gösterir (11-13).

Tip II IFN (IFN γ) Reseptör Yapısı

IFN γ reseptörünün iki adet transmembran polipeptid zincir yapısı vardır; IFN - γ R1 ve IFN - γ R2; reseptörün aktivasyonu ve hücrede biyolojik yanıtın oluşması için her iki zincirin birarada bulunması gereklidir.

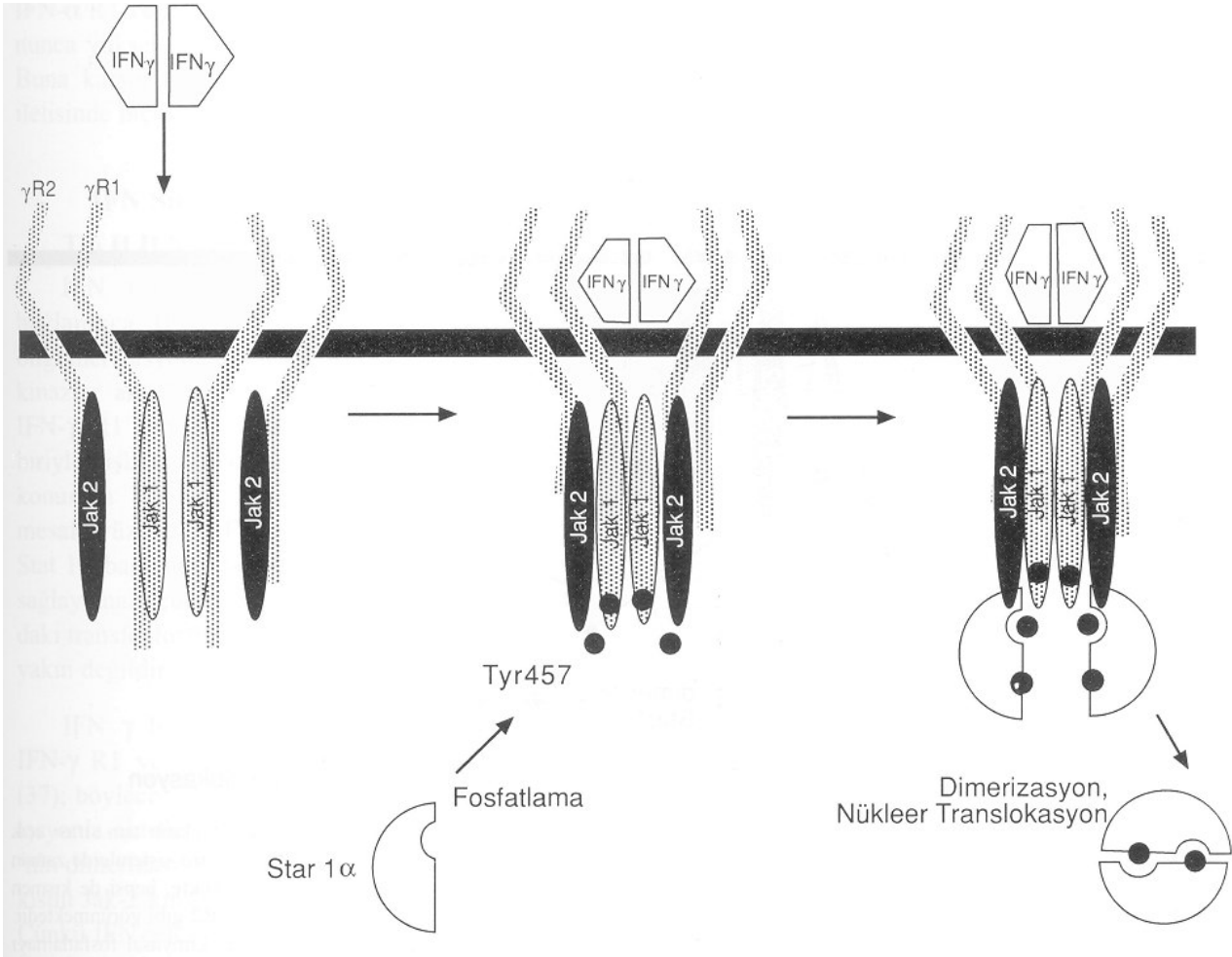
IFN- γ R1 Zinciri: Reseptörün ligand bağlanma zinciridir. Somatik hücrelerle yapılan araştırmalar sonunda bu zincirin kromozom 10 ve 16 üzerinde kodlandığı ortaya çıkarılmıştır (14-15). Fonksiyonel olarak zincirin yapısına bakıldığında membrandan uzak ve membrana yakın bölge olmak üzere hücre içi iki özel bölgesinin olduğu belirlenmiştir (16,18).

Membrandan Uzak Bölge: Y⁴⁵⁷ DKPH⁶⁴¹ motifinin sinyal ileti için gerekli ortak bir motif olduğu gözlenmiştir. Ligand bağlandıktan sonra Y⁴⁵⁷ fosfatlanır ve Stat 1 α için bağlanma yeri görevini görür (19). Ortak motif içindeki diğer kalıntıların fonksiyonları tam olarak bilinmese de, D⁴⁵⁸ ve H⁴⁶¹ in reseptörün aktivasyonu için kesinlikle gerektiği belirlenmiştir.

Membrana Yakın Bölge: Burada da L²⁶⁶ PKS²⁶⁹ yapısı özel bir motiftir ve bu motif yapı, reseptör aktivasyonu ve Jak-1 bağlanması için gereklidir (20).

HU-IFN- γ R2 Zinciri: Reseptörün sinyal iletisinden sorumlu kısmıdır; önceleri yardımcı faktör (AF-1) diye belirtilirdi. Kromozom 21 üzerinde (21 q) kodlandığı Jung ve arkadaşları (21) tarafından yapılan çalışmalar sonucunda bulunmuştur. Zincirin hücre içi bölgesinin sinyal iletiğinde önemli bir rolü olduğunu Kotenko ve arkadaşları (22) göstermişlerdir. Yine de zincirin tek başına liganda bağlanmada veya ligand ile ilişki kurmada bir etkisi olmadığını unutmamak gerekmektedir.

Aktif bir reseptör yapısı için IFN- γ R1 ve IFN- γ R2 zincirlerinin birarada ve uygun bir uzaklıkta bulunması gerekmektedir. Yapılan çalışmalardan çıkan sonuçlara göre Jak-2, IFN- γ R2'nin hücre içi bölgesine bağlanır (22) ve zincir üzerindeki 263-267 ve 270-274 numaralı bakiyeler Jak-2 için bağlanma bölgesi görevini görür (23). IFN- γ reseptörünün aktiflenmesi için Jak-1 bağlanmış IFN- γ



Şekil 1. IFN γ ve reseptör kompleksinin sinyal iletisinde görev alan moleküller ve sinyal iletisinin ilerleyen aşamalarındaki yerleşimlerinin modeli.

R1 ve Jak-2 bağlanmış IFN- γ R2 zincirlerinin beraber çalışması gerekmektedir (24-25).

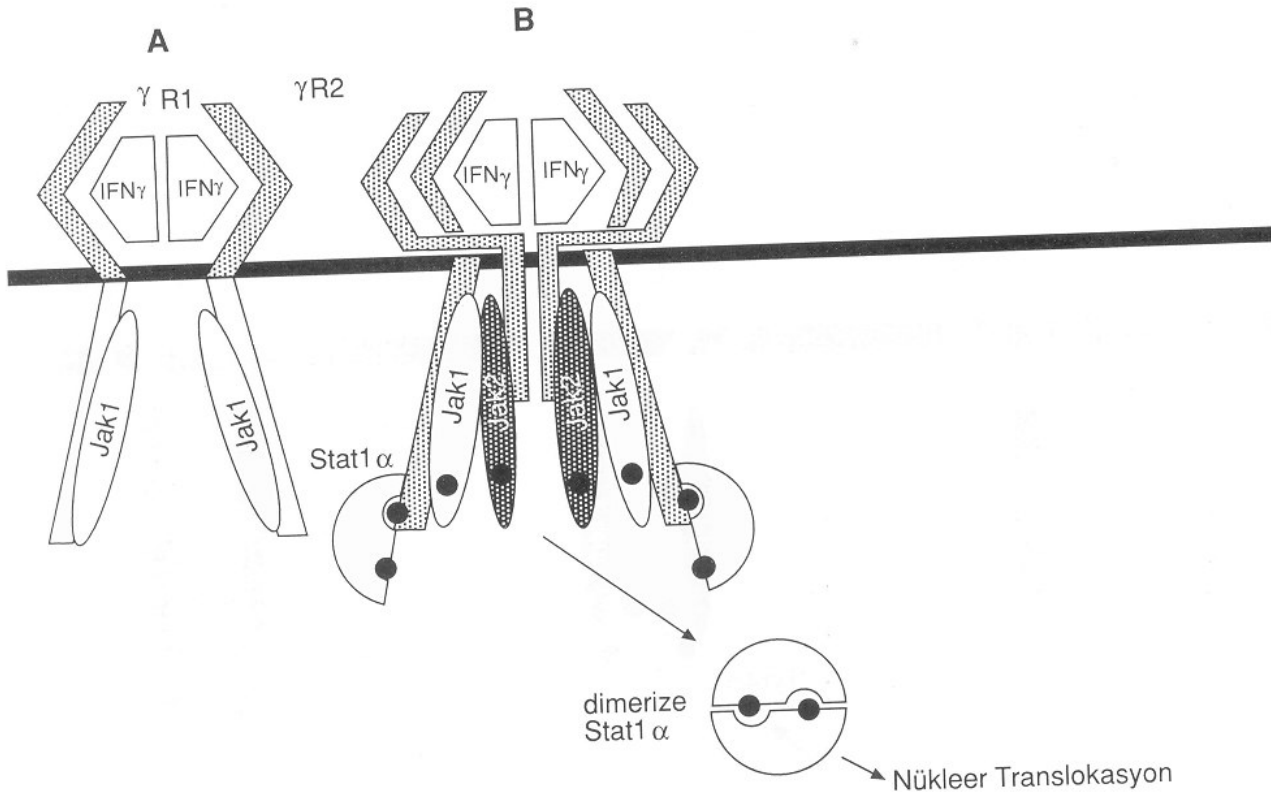
İşlevsel IFN- γ Reseptör Kompleksi

İşlevsel IFN- γ R modeli Şekil 1’de verilmiştir. IFN- γ R1 zinciri liganda bağlanır. IFN- γ R2 zinciri ise işlevsel reseptör yapısı ve sinyal iletisinin sağlanması için tamamlayıcı rol oynar.

Ligand Bağlanma Özgüllüğü: Türe has özgüllüğü sağlayan, ligandın IFN- γ R1 zincirine bağlanması ve ligandan bağımsız olarak IFN- γ R1 ve IFN- γ R2 zincirlerinin birbirleriyle etkileşime girmesidir. IFN- γ R2, ligandın reseptöre olan afinitesini çok az da olsa artırır (26) ama bu genelde çok önemli boyutta değildir. Buradaki en önemli nokta , sinyal iletisi için reseptörün iki zinciri arasındaki etkileşimin kurulmasıdır.

Reseptörün İki Zincirinin Etkileşiminin Özgüllüğü: Fare ve insandaki IFN- γ R1 zincirleri ile şimerik reseptör kompleksleri oluşturulmuş (27-29) ve yapılan deneyler sonunda reseptörlerin hücre dışı bölgelerinin sinyal iletisini başlatmak için birbirleriyle uyumluluğunun gerektiği ortaya çıkmıştır.

Sinyal İletisinin Özgüllüğü: Jak-Stat ileti yolunu kullanan herbir sitokin değişik Jak-Stat moleküllerini veya bunların değişik kombinasyonlarını aktifler. Jak veya Stat molekülleri tek başlarına veya her ikisi birden, ligandın etkisini göstermesi açısından özgüllüğü oluşturabilir. Şimerik reseptör molekülleri oluşturulmuş ve Kotenko et al. (30) yaptıkları çalışmalarla IFN- γ sinyalizasyonu için Jak 2 aktivasyonunun kesin şart olmadığını; Jak 2 yerine Jak ailesinden herhangi bir üyenin de Jak



Şekil 2. IFN γ reseptörlerinden hücre içine sinyal iletilmesinde rol alan moleküller bilinmekle birlikte, olayların tam sırası açık değildir. Bu sırayı açıklayabilmek amacıyla yapılan araştırmalar, kimerik moleküllerin klonlanması ve in vitro sistemlerde zaman dizili deneylerle sinyal olaylarının sırasını araştırılması yolundadır. Önerilen çeşitli modeller olmakla birlikte, hepsi de kısmen hipotetiktir. Bu modelde dimerize Stat oluşabilmesi için gerekli Stat fostorilasyonundan sorumlu molekül γ R2 gibi görünmektedir. Gerçekte yapılan ölçümlerdeyse, üç boyutlu kompleks yapıda, kinaz aktivitesine sahip Jak1 ve Jak 2'de kimyasal fosfatlamayı gerçekleştirebilecek fiziksel yakınlıkta bulunmaktadır.

2'nin görevini yerine getirebileceğini göstermiştir. Değişik Jak üyeleri veya tirozin kinazlar Stat proteinlerini fosfatlayabilir. Buradan çıkan sonuç ise, Jak'ların Statlar gibi Jak-Stat yoluna özel olmayabilecekleridir (Şekil 2).

Tip I IFN (α/β) Reseptörleri

İnsanda 21. kromozom üzerinde bulunan genler, tip I IFN (α/β) reseptörlerini kodlar (31,32). Bu reseptörlerin de tip II IFN reseptörü gibi transmembran iki zincir yapısı vardır; IFN- α R1 ve IFN- α R2 zincirleri.

IFN- α R1 Zinciri: IFN- α R1 zinciri IFN- α R1a (tam zincir), IFN- α R1s (splice) formda (tam zincirden farklı olarak exon IV ve exon V'den yoksun bir halde) bulunabilir (33).

IFN- α R1 zinciri ligandın bağlanması ve sinyal iletilmesinin sağlanmasında etkilidir. IFN- α R1

zincirinin bu etkisi hücre içi tirozin kinaz Tyk- 2 ile olan ilişkisine bağlı olabilir; çünkü Tyk- 2, IFN- α ligandına cevap için gerekli bir kinazdır (34). IFN- α R1 zincirinin tip I IFN reseptör aktivitesi için gerekli olduğunun doğrudan kanıtı transgenik farelerle yapılan çalışmalarla ortaya çıkarılmıştır. Deneylerde IFN- α R1 geni hasara uğratılmış; homozigot delesyonlar yapılmış ve sonuçta farelerin pek çok virüse karşı hassas hale geldiği ve tip I IFN'ların (α/β) antiproliferatif etkilerinin yok olduğu gözlenmiştir (52,53).

IFN- α R2 Zinciri: IFN- α R2 zincirinin çözünür (IFN- α R2a), kısa (IFN- α R2b), uzun (IFN- α R2c) alt üniteleri vardır. Bu üç altünite de IFN- α R2 geni tarafından kromozom 21'de kodlanır. IFN- α R2b altünitesinin yapı olarak IFN- α R2c'ye oranla daha kısa bir hücre içi bölgesi vardır ve tek başına intrinsik aktivitede etkin değildir (6).

IFN- α R1 ve IFN- α R2c altüniteleri birarada bulununca yüksek afiniteli reseptör yapısını oluşturur. Buna karşın tek başlarına bu iki yapı da sinyal iletilisinde hiçbir etki gösteremez (35-36).

IFN Sinyal İleti Mekanizmaları

Tip II IFN (γ) Sinyal İleti Mekanizması

IFN (γ) homodimeri IFN γ reseptörüne bağlanınca IFN- γ R1 ve IFN- γ R2 zincirleri oligomerizasyona uğrar ve bu arada Jak-1 ve Jak-2 kinazlar aktiflenir (Şekil 3). IFN γ homodimeri IFN- γ R1'e bağlanınca reseptör altüniteleri birbiriyle ilişki kuramaz. İki altünite arasında en yakın konumda bile 27 Å'lık bir mesafe kalır. Bu mesafe yüzünden IFN- γ R1 zinciri bir Jak-1 bir de Stat 1 α bağlanma bölgesi içerse de sinyal iletilisini sağlayamaz; çünkü iki Jak-1 kinazı birbiri arasındaki transfosforilasyonu sağlayacak kadar birbirine yakın değildir.

IFN γ homodimerinin her bir monomeri bir IFN- γ R1 ve bir IFN- γ R2 altünitesine bağlanır (37); böylece Jak-2 ve Jak-1 birbirini transfosforilasyonla aktifler; bunu seri fosfatlama ve Stat 1 α 'nın dimerizasyonu izler. IFN- γ R2'nin sitoplazmik kısmı Jak-2 kinazı sinyal ileti sistemine dahil eder. Çünkü IFN- γ R1 zinciri, tek başına, Jak-1'i, sinyal iletilisini başlatmak için diğer zincire yakın konuma getiremez. IFN- γ R yapısı yardımcı bir altünitedir ve üzerinde Jak-2 ile ilişki kuracak bir bölgesi vardır. Transfosforilasyon Jak -2 ve Jak-1 arasında oluşur. Jak-2 Jak-1'i fosfatlar ve sonrasında IFN- γ R1 zinciri üzerindeki Y⁴⁵⁷ bölgesinden fosfatlanır ve bu bölgeye Stat 1 α proteinleri bağlanır. Jak-2 veya Jak-1 Stat 1 α 'yı fosfatlar ve sonrasında Stat 1 α molekülü buradan ayrılıp dimer bir yapı oluşturur. Dimer yapı çekirdeğe yönelir ve DNA'ya bağlanır. Dimerize olmuş Stat 1 α proteini DNA'ya bağlanan protein yapıdadır ve çekirdekte gamma aktiflenmiş bölgeye (GAS= gamma activated sequence) bağlanır ve sonrasında IFN' yanıt veren genin transkripsiyonunu başlatır.

Tip I IFN (α/β) Sinyal İleti Mekanizması

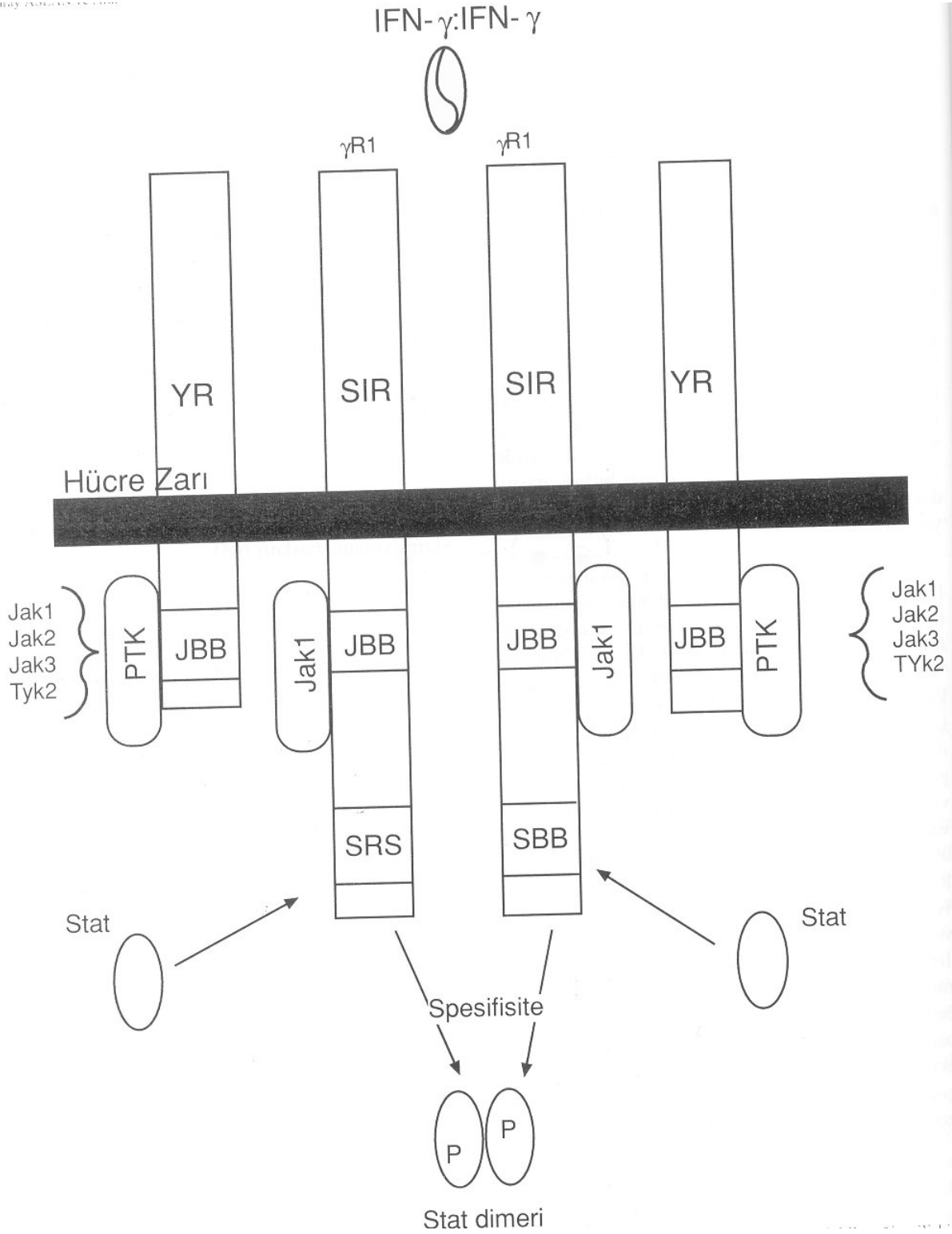
Tip I IFN reseptörleri üzerinden devam eden sinyal iletilisinde ligand bağlanmasında IFN- α R1 ve IFN- α R2c zincirlerinin önemli bir rolü olduğu görülmektedir. Tyk-2 ve Jak-1 kinaz aileleri de

sinyal iletilisinde gereklidir (38-41). Tip I IFN ligandları hücreye bağlanınca Tyk-2'yi aktifler ve bu kinaz etkisini IFN- α R1 zincirinin hücre içi bölgesine bağlanarak gösterir (42). Jak-1 kinaz da IFN- α R2 zincirine bağlanır ve fosforilasyonu sağlar (7,4).

Tip I IFN'lar reseptörlerine bağlanınca Stat 1 (p 84/ 91), Stat 2 (p113) proteinleri fosfatlanır ve aktif hale geçerler (61,62,63). Fosfatlanmış Stat proteinleri heterodimer yapı oluşturur ve bu halde çekirdeğe yönelirler. Çekirdeğin membranında 48 kilodaltonluk DNA-bağlanma özelliği gösteren "Interferon Stimulated Gene Factor 3" (ISGF 3) proteini ile birleşip trimerik bir yapı oluştururlar. Bu trimerik yapı çekirdekte tip I IFN' lara cevap oluşturacak genlerin 5'UTR bölgesindeki enhancer bölümüne (ISRE=Interferon stimulated response element), bağlanıp bu genlerin (2'5' oligoadenilat sentetaz, HLA sınıf I, protein kinaz gibi) transkripsiyonunu başlatır (65).

JAK'lar: IFN- α sinyal ileti sistemleri genetik analizlerle incelenirken Tyk 2'nin IFN α/β sinyal iletilisinde önemli rol oynayan bir kinaz olduğu, Jak 1'in ise hem IFN α/β hem de IFN- γ sinyal iletilisinde kullanıldığı belirlendi (43,44). Jak ailesi, Jak 1, 2, 3 diye adlandırılan üç üyeden oluşan bir kinaz ailesidir; moleküler ağırlıkları 115-135 kD arasında değişmektedir. Jak -3 dışında bütün Jak kinazlar tüm hücre tiplerinde üretilir; Jak-3 ise çoğunlukla hematopoietik orijinli hücrelerde üretilir. Jak kinazlar epidermal büyüme faktörü, platelet kökenli büyüme faktörü reseptörleri gibi diğer reseptör kinazlarla benzerlik göstermekle birlikte, onlar gibi SH2 veya SH3 domainleri yoktur (45). Jak kinazların karboksi terminal kinaz bölgeleri diğer protein tirozin kinazların katalitik bölgeleri ile ortak, korunmuş bir amino asit dizi homolojisi gösterir. Kinaz domainin hemen yan bölgesinde bir pseudokinaz domaini bulunur; ama bu bölgenin görevi tam olarak bilinmemektedir. Jak kinazların amino terminal bölgelerinin yarı kısmında beşe ayrılmış Jak homoloji (JH 3-JH-7) diye adlandırılan bölgenin varlığı kabul edilir ve bu bölgeler diğer kinaz üyeleriyle amino asit dizi homolojisi gösterir. Tyk 2'yi kodlayan genlerin kromozom 19'da bulunduğu gösterilmiştir Jak-1 ve Jak-2'nin ise sırasıyla kromozom 1 ve 9'da kodlandığı ortaya çıkartılmıştır (44).

NURAY ASLAN ET AL. 2007



Şekil 3. IFN γ ile sinyal iletiminde JAK ailesinden gelen çeşitli kinazların fosfatlama işlevinde birbirlerinin yerini alabileceğine ilişkin model gösterim. IFN γ homodimeri γ R1 (γ reseptör 1) ile bağlanınca γ R1, γ R2 ile etkileşir. JAK ailesinden bir protein tirozin kinaz (Jak1, Jak2, Jak3 ya da Tyk2) γ R2 üzerindeki JBB (JAK bağlayıcı bölge)'ye bağlandığında, sinyal iletici reseptör STAT molekülünü fosfatlayarak dimerizasyona yol açar.

Stat Proteinleri

Stat ailesinin ilk iki üyesi Stat 1 ve Stat 2 öncelikle DNA-protein kompleks yapısı içinde (ISGF-3) keşfedildi. Bu kompleks yapı IFN ile muamele edilmiş HeLa hücrelerinden izole edilmiştir (46). Stat 1'in α ve β olmak üzere iki ayrı izoformu vardır ve bu iki izoform aynı primer transkript üzerinden spliced mRNA tarafından kodlanır (47-48). İnsanda Stat 1 α proteini 750 aminoasitten oluşmuştur ama Stat 1 β proteini ise Stat 1 α proteininin karboksi terminalindeki 39 aminoasitten yoksundur. Stat 2 molekülü 851 amino asit büyüklüğündedir ve Stat 1 ile önemli derecede amino asit dizi homolojisi gösterir. Benzer homolojileri kendi ailelerindeki Stat 3'den Stat 6'ya kadar olan diğer üyelerle de gösterirler (49). Stat ailesine özel bir yapı olan DNA'ya bağlanabilen kısım molekülün merkezi bölgesinde yer alır. DNA'ya bağlanma bölgesi ve karboksi terminal aktivasyon bölgeleri arasında Stat proteinlerinin SH2 ve SH3 bölgeleri bulunur (50). SH2 bölgesi Stat proteinlerinin sitokin reseptörleri üzerindeki fosfatlanmış tirozin bölgelerinde toplanmasını sağlar (19) ve ayrıca SH2 domaini Stat dimerizasyonunu aktifler. Bu dimerizasyon, ilgili DNA dizi bölgesine Stat molekülünün bağlanması için gereklidir (51). Stat proteinlerindeki SH3 bölgesi daha az korunmuş bir bölgedir ve görevinin ne olduğu tam olarak bilinmemektedir; ama üzerlerindeki prolin zengin bölgelerle protein-protein tanıma özelliği gösterdiği düşünülmektedir (52). Stat proteinlerinin karboksi terminal bölgesinde özel bir tirozin bakiyesi vardır (Y⁷⁰¹ Stat 1'de, Y⁶⁹⁰ Stat 2'de, Y⁷⁰⁵ Stat 3'de bulunur) ve bu kalıntı sitokinlere cevapta Jak'lar tarafından tanınır ve fosfatlanır (38).

Mutant hücre dizilerinde (U3 ve U6) yapılan çalışmalar sonunda Stat1 proteininin IFN α/β ve IFN- γ sinyal iletisi için önemli olduğu ortaya çıkmıştır; buna rağmen Stat 2 proteini sadece IFN α/β sinyal iletisine özel bir yapıdır (53-54). Stat 1'den yoksun farelerde hiçbir gelişme anormalliği izlenmemiş ancak IFN'lara cevap da görülmemiştir (55-56). Bu da göstermektedir ki Stat 1 IFN sinyal iletisi sisteminde önemli bir moleküldür.

Regülatör DNA Elementleri

IFN'lar normalde düşük seviyede üretilen veya sessiz bir şekilde bekleyen genlerin transkripsiyonunun hızlanmasına neden olur. IFN α etkisinde transkripsiyon bir güçlendirici DNA bölgesi (enhancer) aracılığıyla gerçekleşir; bu güçlendirici bölge IFN'la uyarılan cevap bölgesi diye adlandırılır (ISRE= interferon stimulated response element) (57-59). IFN α 'ya cevap olarak ISRE bölgesinde üç tane DNA - protein kompleksi oluşturulur (ISGF-1, 2, 3= Interferon stimulated growth factor). ISGF 3 sadece tip I IFN tarafından uyarılır ve de novo protein sentezine ihtiyaç duymaz. ISGF 2'nin IFN indüksiyonu de novo protein sentezine bağlıdır (60-61). ISGF-3 kompleksi üç protein yapıdan oluşur: p 48 / ISGF-3 γ (kompleksin DNA bağlı yapısıdır), Stat 1 α/β (p91/p 84) ve Stat 2 (p 113). p 48 yapısı transkripsiyon faktörlerinden IRF (=Interferon response factor) ailesinin bir üyesidir ve IFN γ ile indüklenir (62,64).

IFN γ aktıvated bölge (GAS= gamma activated sequence), IFN γ 'ya cevapta rol alan güçlendirici bölge özelliği gösterir (63).

IFN'ların ilk keşfinden günümüze değin geçen süre 40 yılı aşmıştır. Rekombinan IFN- α -2a ve 2b nin hairy cell lösemi tedavisinde kullanımının önerilmesi ise bundan 11 yıl öncedir (66). Günümüzde, interferonlar çeşitli malignensi ve viral hastalıkların tedavisinde dünyada yaygın olarak kullanılmaktadır. IFN'ların etki mekanizmasının tam olarak aydınlatıldığını söylemek yanlış olmakla birlikte, bu yazımızda da belirtildiği şekliyle fiziko-kimyasal özellikler hakkında pek çok şey bilinmektedir. Sinyal iletisindeki mekanizmaların daha iyi anlaşılması yan etkiler gibi kliniği ilgilendiren durumların da aydınlatılmasında bir adım olacaktır.

REFERANSLAR

1. Isaacs A, Lindenmann J. Virus interference. I. The interferon. Proc Soc London (Series B), 1957; 259.
2. Weissmann C, Weber H. The interferon genes. Proc Nucl Acid Res Mol Biol 1986; 33:251-300.
3. Ho ASY, Liu Y, Khan TA, et al. A receptor for interleukin 10 is related to interferon receptors. Proc Natl Acad Sci USA 1993; 90:11267-271.
4. Novick D, Cohen B, Rubinstein M. The human interferon α/β receptor characterization and molecular cloning. Cell 1994; 77:391-400.
5. Aguet M, Dembic Z, Merlin G. Molecular cloning and expression of the human interferon- γ receptor. Cell 1988; 55:273-80.

6. Domanski P, Witte M, Kellum M, et al. Cloning and expression of a long form of the β subunit of the interferon α/β receptor that is required for signaling. *J Biol Chem* 1995; 270:21606-611.
7. Soh J, Donnelly RJ, Kotenko S, et al. Identification and sequence of an accessory factor required for activation of the human interferon- γ receptor. *Cell* 1994; 76:793-802.
8. Hemmi S, Bohni R, Stark G, et al. A novel member of the interferon receptor family complements functionality of the murine interferon- γ receptor in human cells. *Cell* 1994; 76:803-10.
9. Schindler C, Darnell JE, Jr. Transcriptional responses to polypeptide ligands: The JAK-STAT pathway. *Annu Rev Biochem* 1995; 64:621-51.
10. Ihle JN. Cytokine receptor signalling. *Nature* 1995; 377:591-4.
11. Pestka S, Langer JA, Zoon KC, et al. Interferons and their actions. *Annu Rev Biochem* 1987; 56:727-77.
12. Langer JA, Pestka S. Interferon receptors. *Immunol Today* 1988; 9:393-400.
13. Branca AA, Baglioni C. Evidence that types I and II interferons have different receptors. *Nature* 1981; 294:459-61.
14. Marino TM, Kozak CA, Langer JA et al. The mouse immune interferon receptor gene is located on chromosome 10. *J Biol Chem* 1987; 262:5812-14.
15. Mariano TM, Muthukumar G, Donnelly RJ, et al. Genetic mapping of the gene for the mouse interferon- γ receptor signalling subunit to the distal end of chromosome 16. *Mamm Genome* 1996; 7:321-2.
16. Cook JR, Jung V, Schwartz B, et al. Structural analysis of the human interferon- γ receptor: A small segment of the intracellular domain is specifically required for class I major histocompatibility complex antigen induction and antiviral activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89:11317-321.
17. Farrar MA, Campbell JD, Schreiber RD. Identification of a functionally important sequence in the C terminus of the interferon- γ receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89:11710.
18. Farrar MA, Fernandez-Luna J, Schreiber RD. Identification of two regions within the cytoplasmic domain of the human interferon- γ receptor for function. *J Biol Chem* 1991; 266:19626-635.
19. Greenlund AC, Farrar MA, Viviano BL, et al. Ligand induced IFN- γ receptor tyrosine phosphorylation couples the receptor to its signal transduction system (p91). *EMBO J* 1994; 13:1591-1600.
20. Kaplan DH, Greenlund AC, Tanner JW, et al. Identification of an interferon- γ receptor α chain sequence required for JAK-1 binding. *J Biol Chem* 1996; 271:9-12.
21. Jung V, Rashidbaigi A, Jones C, et al. Human chromosomes 6 and 21 are required for sensitivity to human interferon gamma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84:4151-55.
22. Kotenko SV, Izotova LS, Pollack BP, et al. Interaction between the components of the interferon gamma receptor complex. *J Biol Chem* 1995; 270:20915-921.
23. Bach EA, Tanner JW, Marsters S, ET AL. Ligand -induced assembly and activation of the gamma interferon receptor in intact cells. *Mol Cell Biol* 1996; 16:3214-21.
24. Schreiber RD, Auget M. The interferon g receptor. In: Nicola NA ed. *Guidebook to Cytokines and Their Receptors*. New York: NY, Oxford University Press, 1994: 120-3.
25. Greenlund AC, Morales MO, Viviano BL et al. Stat recruitment by tyrosine -phosphorylated cytokine receptors: An ordered reversible affinity-driven process. *Immunity* 1995; 2:677-87.
26. Marsters SA, Pennica D, Bach E et al. Interferon- γ signals via a high -affinity multisubunit receptor complex that contains two types of polypeptide chain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92:5401-05.
27. Hibino Y, Kumar CS, Marino TM et al. Chimeric interferon- γ receptors demonstrate that an accessory factor required for activity interacts with the extracellular domain. *J Biol Chem* 1992; 267:3741-49.
28. Gibbs VC, Williams SR, Gray PW, et al. The extracellular domain of the human interferon gamma receptor interacts with a species-specific signal transducer. *Mol Cell Biol* 1991; 11:5860-66.
29. Hemmi S, Merlin G, Auget M. Functional characterization of a hybrid human-mouse interferon-g receptor: Evidence for species-specific interaction of the extracellular receptor domain with a putative signal transducer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89:2737-3741.
30. Kotenko SV, Izotova LS, Pollack BP, et al. Other kinases can substitute for Jak 2 in signal transduction by interferon- γ . *J Biol Chem* 1996; 271:17174-82.
31. Slate DL, Shulman L, Lawrence JB, et al. Presence of human chromosome 21 alone is sufficient for hybrid cell sensitivity to human interferon. *J Virol* 1978; 25:319-25.
32. Epstein CJ, McManus NH, Epstein LB. Direct evidence that the gene product of the human chromosome 21 locus, IFRC, is the interferon- α receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 1982; 107:10060-1066.
33. Raziuddin A, Gupta SL. Receptors for human interferon-alpha: Two forms of interferon-receptor complexes identified by chemical cross-linking, in Williams, BRG, Silverman RH eds. *The 2-5A System: Molecular and Clinical Aspects of the Interferon-Regulated Pathway*. New York: Liss, 1985: 219-26.
34. Barbieri G, Velazquez L, Scrobogna M, et al. Activation of the protein tyrosine kinase tyk2 by interferon α/β . *Eur J Biochem* 1994; 223:427-35.
35. Soh J, Marino TM, Lim J-K, et al. Expression of a functional human type I interferon receptor in hamster cells: Application of functional yeast artificial chromosome (YAC) screening. *J Biol Chem* 1994; 269:18102-10.
36. Cleary CM, Donnelly RJ, Soh J, et al. Knockout and reconstitution of a functional human type I interferon receptor complex. *J Biol Chem* 1994; 269:18747-49.
37. Walter MR, Windsor WT, Nagabhushan TL, et al. Crystal structure of a complex between interferon- γ and its soluble high-affinity receptor. *Nature* 1995; 376:230-5.

38. Colamonici OR, Uyttendaele H, Domanski P, et al. p135^{Tyk2}, An interferon- α -activated tyrosine kinase is physically associated with an interferon- α receptor. *J Biol Chem* 1994; 269:3518-22.
39. Darnell JE, Jr, Kerr IM, Stark GR. Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signalling proteins. *Science* 1994; 264:1415-21.
40. Scindler C, Shuai K, Prezioso VR, et al. Interferon-dependent tyrosine phosphorylation of a latent cytoplasmic transcription factor. *Science* 1992; 257:809-13.
41. Watling D, Guschin D, Muller M, et al. Complementation by protein tyrosine kinase JAK2 of a mutant cell line defective in interferon- γ signal transduction pathway. *Nature* 1993; 366:166-70.
42. Sadowski HB, Shuai K, Darnell JE, Jr, et al. A common nuclear signal transduction pathway activated by growth factor and cytokine receptors. *Science* 1993; 261:1739-44.
43. Krolewski JJ. Interferon α regulated PTK (vertebrates) (p135^{Tyk2}). In: Hardie G, Hanks S eds. *The Protein Kinase Facts Book, Protein-Tyrosine Kinase*. San Diego, CA, Academic, 1995: 117-9.
44. Wilks A. Janus kinases 1 and 2 (vertebrates) (Just another kinase 1 and). In: Hardie G, Hanks S eds. *The Protein Kinase Facts Book, Protein-Tyrosine Kinases*. San Diego, CA, Academic, 1995: 117-9.
45. Hanks SK, Quinn AM, Hunter T. The protein kinase family: Conserved features and deduced phylogeny of the catalytic domains. *Science* 1998; 241:42-52.
46. Sen GC. Transcriptional regulation of interferon inducible genes. In: Cohen P, Foulkes JK eds. *The Hormonal Control of Gene Transcription*. Amsterdam, The Netherlands, Elsevier Science, 1991: 349-76.
47. Schindler C, Fu X-Y, Improta T, et al. Proteins of transcriptional factor ISGF3: One gene encodes the 91- and 84-kDa ISGF3 proteins that are activated by interferon alpha. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89:7836-39.
48. Fu X-Y, Schindler C, Improta T, et al. The proteins of ISGF3, the interferon alpha-induced transcriptional activator, define a gene family involved in signal transduction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89:7840-43.
49. Zhong Z, Wen Z, Darnell JE, Jr. Stat3 and Stat4: Members of the family of the signal transducers and activators of transcription. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91:4806-10.
50. Fu X-Y. A transcriptional factor with SH2 and SH3 domains is directly inactivated by an interferon alpha, induced cytoplasmic protein tyrosine kinase(s). *Cell* 1992; 70:323-35.
51. Shuai K, Horvath CM, Huang LHT, et al. Interferon activation of the transcription factor Stat91 involves dimerization through SH2-phosphotyrosyl peptide interactions. *Cell* 1994; 76:821-8.
52. Cohen GB, Ren R, Baltimore D. Modular binding domains in signal transduction proteins. *Cell* 1995; 80:237-48.
53. Müller M, Laxton C, Briscoe J, et al. Complementation of a mutant cell line: Central role of the 91kDa polypeptide of ISGF3 in the interferon α - and γ signal transduction pathways. *EMBO J* 1993; 12:4221-28.
54. Leung S, Qureshi SA, Kerr IM, et al. Role of the STAT2 in the alpha interferon signalling pathway. *Mol Cell Biol* 1995; 15:1312-17.
55. Meraz MA, White JM, Sheehan KCF, et al. Targeted disruption of the Stat1 gene in mice reveals unexpected physiologic specificity in the JAK-STAT signaling pathway. *Cell* 1996; 84:431-42.
56. Durbin JE, Hackenmiller R, Simon MC, et al. Targeted disruption of the mouse Stat1 gene results in compromised innate immunity to viral disease. *Cell* 1996; 84:443-50.
57. Williams BRG. Transcriptional regulation of interferon stimulated genes. *Eur J Biochem* 1991; 200: 1-11.
58. Levy DE, Larner AC, Chadhuri A, et al. Interferon-stimulated transcription: Isolation of an inducible gene and identification of its regulatory region. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 8929-33.
59. Rutherford MN, Hannigan GE, Williams BRG. Interferon-induced binding of nuclear factors to promoter elements of the 2-5A synthetase gene. *EMBO J* 1988; 7:751-9.
60. Levy DE, Kessler DS, Pine R, et al. Interferon-induced nuclear factors that bind a shared promoter element correlate with positive and negative transcriptional control. *Genes Dev* 1988; 2:383-93.
61. Pine R, Decker T, Kessler DS, et al. Purification and cloning of interferon-stimulated gene factor 2 (ISGF2): ISGF-2 (IRF-1) can bind to the promoters of both beta interferon and interferon-stimulated genes but is not a primary transcriptional activator of either. *Mol Cell Biol* 1990; 10:2448-57.
62. Levy DE. Interferon induction of gene expression through the Jak-Stat pathway. *Semin Virol* 1995; 6:181-9.
63. Sims SH, Cha Y, Romine MF, et al. A novel interferon-inducible domain: Structural and functional analysis of the human interferon regulatory factor 1 gene promoter. *Mol Cell Biol* 1993; 13:690-702.
64. Ihle JN. Stats-Signal transducers and activators of transcription. *Cell* 1996; 84:331-4.
65. Haque SJ, Williams BR. Signal transduction in the interferon system. *Semin Oncol* 1998; 25:14-22.
66. Pfeffer LM, Dinarello CA, Herberman RB, Williams BR, Borden EC, Borden R, Walter MR, Nagabhushan TL, Trotta PP, Pestka S. Biological properties of recombinant alpha-interferons: 40th anniversary of the discovery of interferons. *Cancer Res* 1998; 58:2489-99.