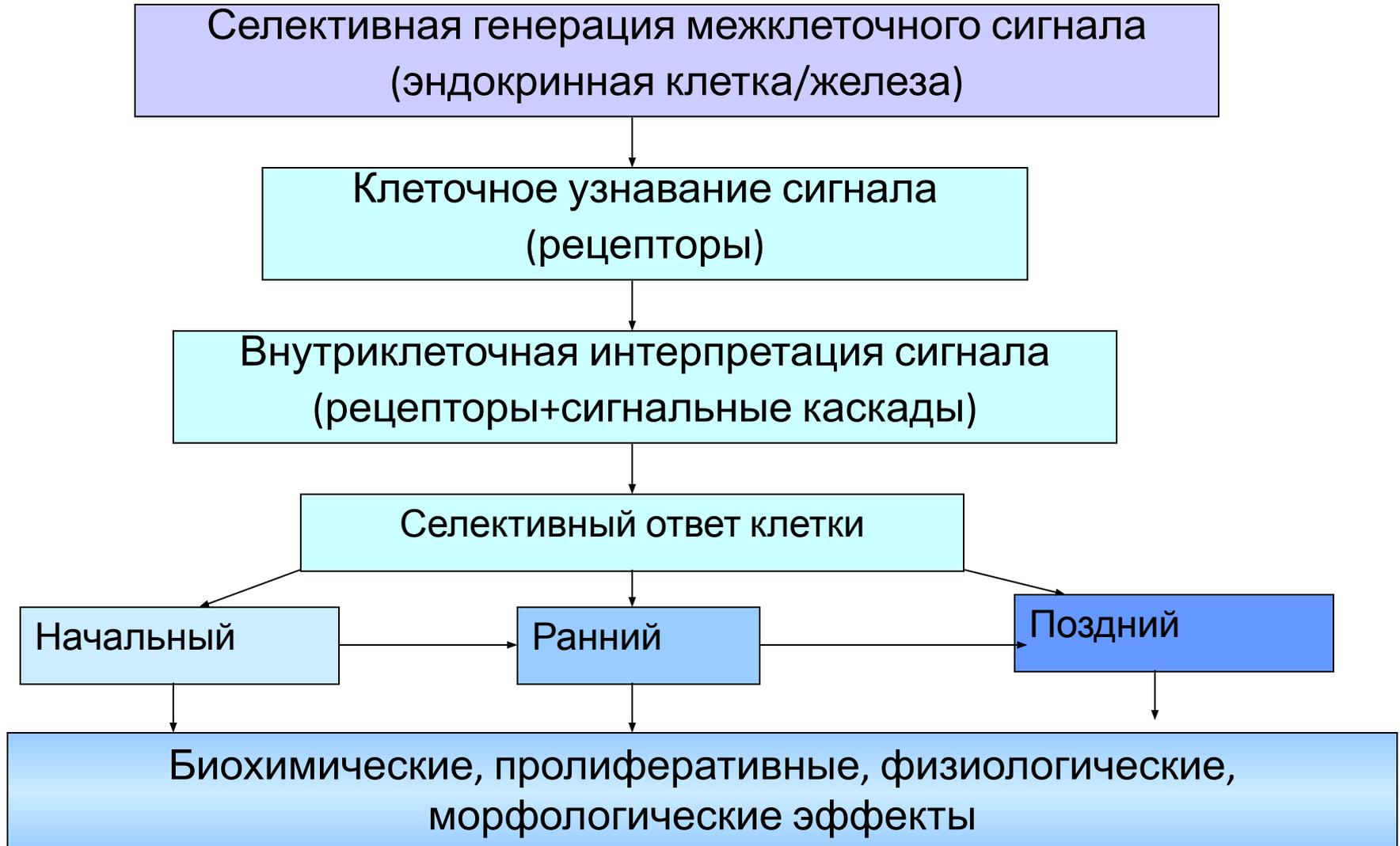
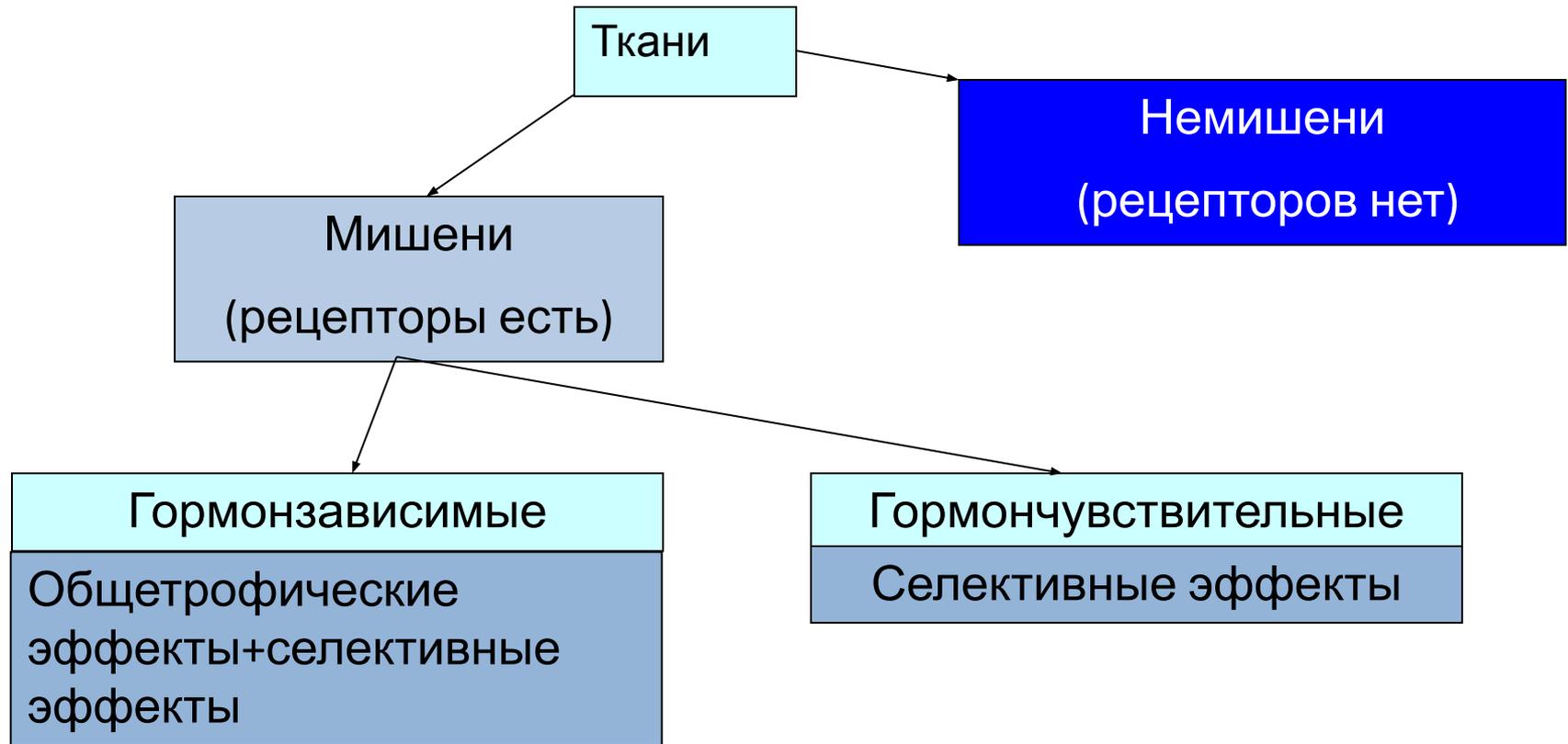


# Механизмы действия сигнальных соединений

# Этапы инициации эффектов сигнальных соединений



# Классификация гормонкомпетентных тканей



# Ядерные рецепторы

# Типы рецепторов

Арильных

Транскрипционные факторы

Углеводородов  
Активируемые лигандзависимым  
Протеолизом (контактная

Корегуляторы транскрипционных факторов  
(рецепторы Notch)

Электрофильных  
ксенобиотиков

Репрессор/дерепрессор транскрипционного фактора

Гуанилатциклазы Nrf2

Ферменты

Тирозинкиназы

Серин/треонинкиназы

Фосфатазы

Сиротские (орфанные) рецепторы = белки, сходные с рецепторами, лиганды которых неизвестны

Сопряженные с G-

Прогестинов и адипонектина

Сопряженные с тирозинкиназами

Прямо или опосредованно сопряженные с ферментами

Сопряженные с адапторами

Антигенов и антител

Кадгерины

Интегрины

Молекулы клеточной адгезии

Селектины

Иммуноглобулины

Ионные каналы

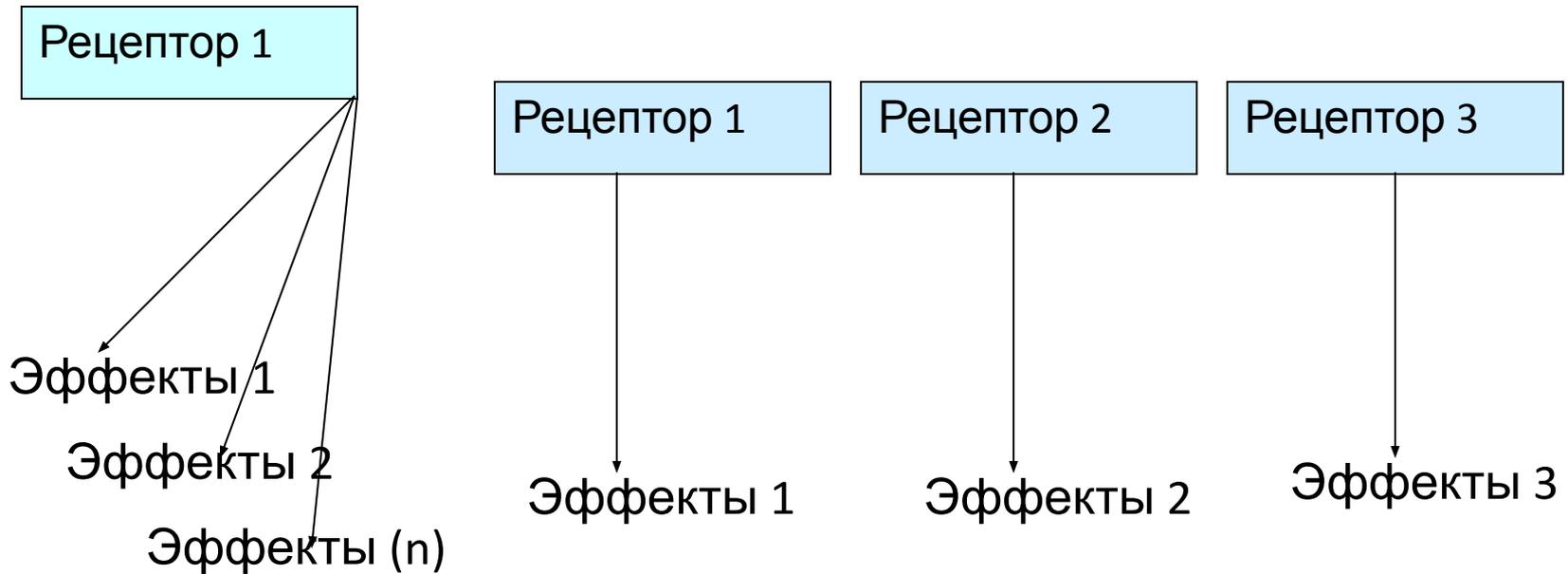
Регуляторы ионной проницаемости мембраны

М  
е  
м  
б  
р  
а  
н  
н  
ы  
е  
р  
е  
ц  
е  
п  
т  
о  
р  
ы

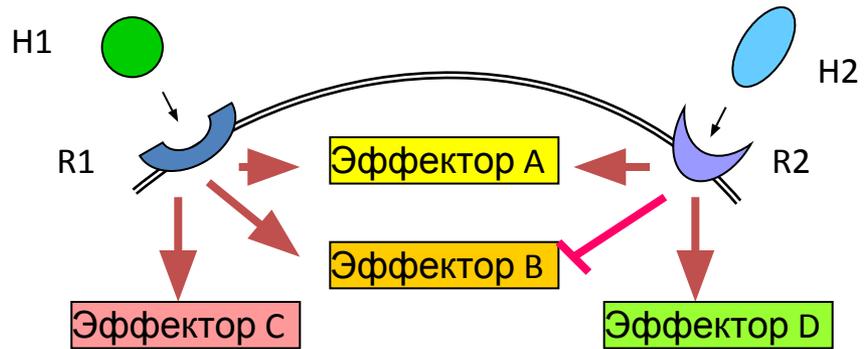
# Модель структурно-функциональной организации рецептора

Гормонсвязывающий домен	Сопрягающий домен	Эффекторный домен
-------------------------	-------------------	-------------------

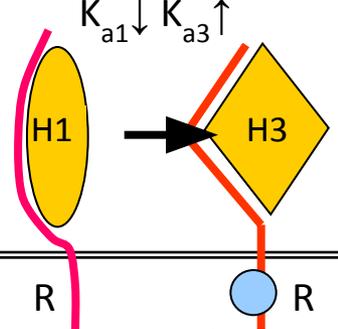
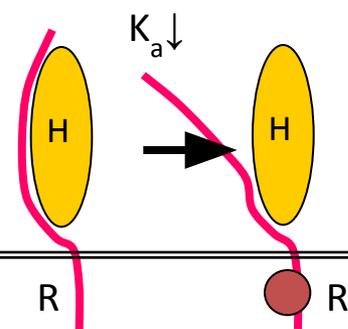
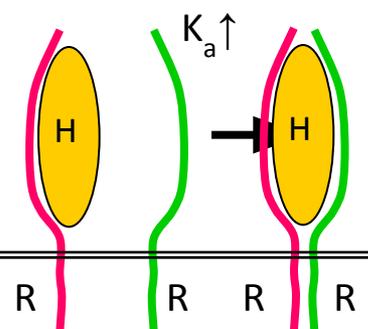
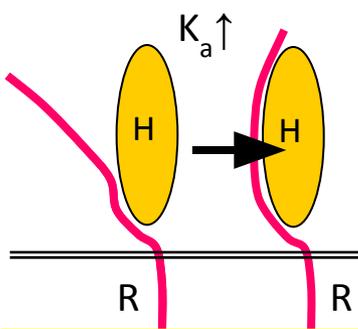
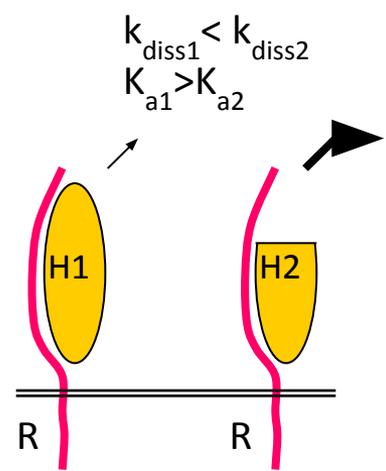
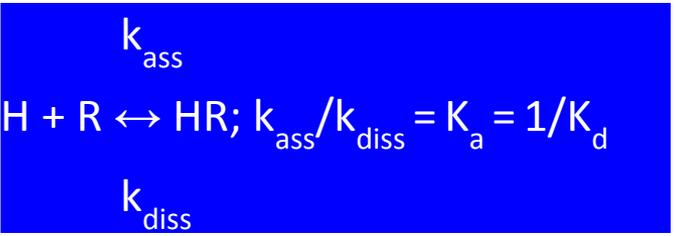
# Уни- и мультирецепторные модели действия рецепторов



Сигнальные соединения могут усиливать или ослаблять действие друг друга или действовать независимо



Сродство (аффинность) рецептора (R) к сигнальному соединению (лиганду) (H) характеризуется равновесной константой ассоциации ( $K_a$ ), которая может быть функцией времени и модуляции



Функция времени

модулято

модулято

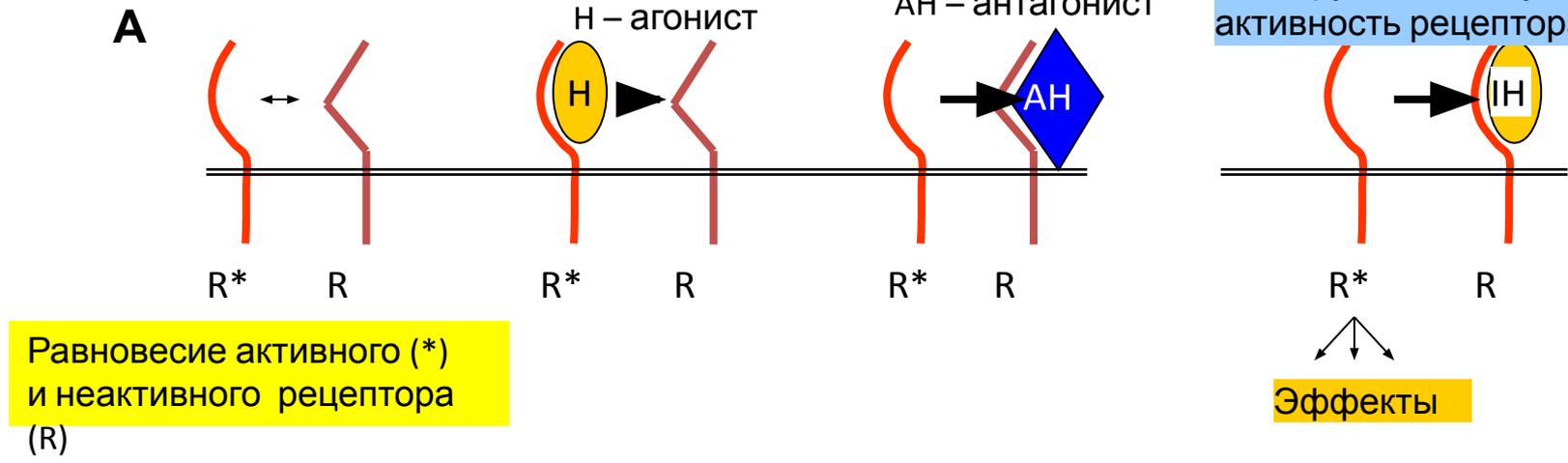
**Модуляция взаимодействия лиганд-рецептор:**

- Димеризацией
- Фосфорилированием
- Взаимодействием с адапторным белком

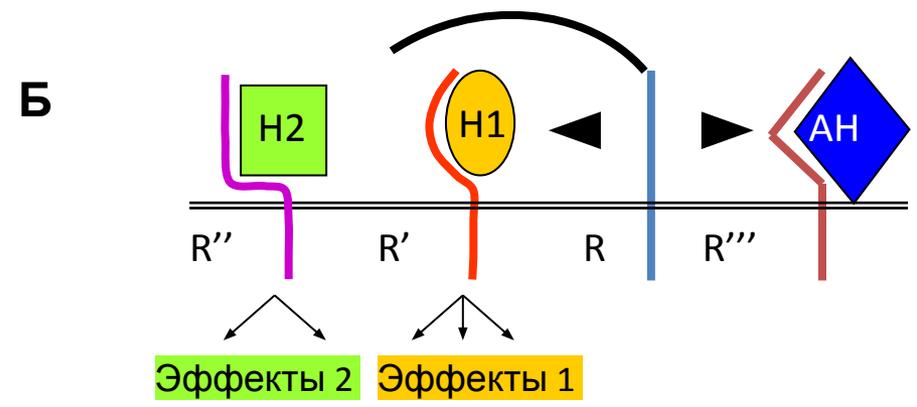
# Концепции индуцированного лигандом конформационного перехода

А: Связывание лиганда смещает равновесие между активной ( $R^*$ ) и неактивной ( $R$ ) конформациями рецептора

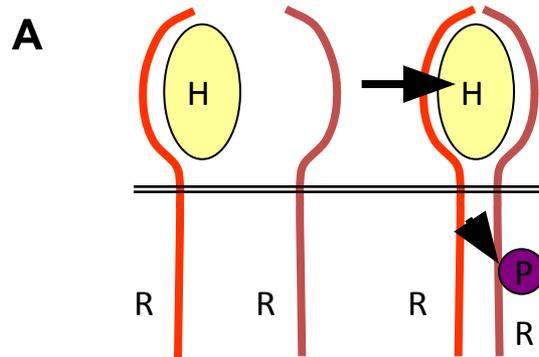
Обратный (inverse) агонист (IH) блокирует конститутивную активность рецептора



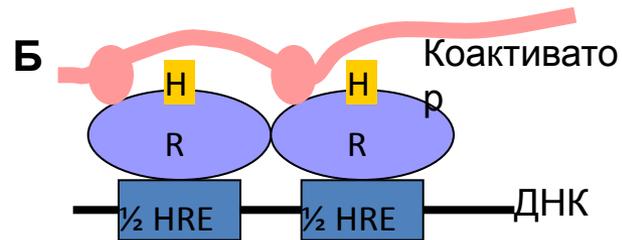
Б: Лиганд активно индуцирует индивидуальную конформацию рецептора ( $R'$ - $R'''$ )



# Значение индуцированной лигандом (H) олигомеризации рецепторов (R)

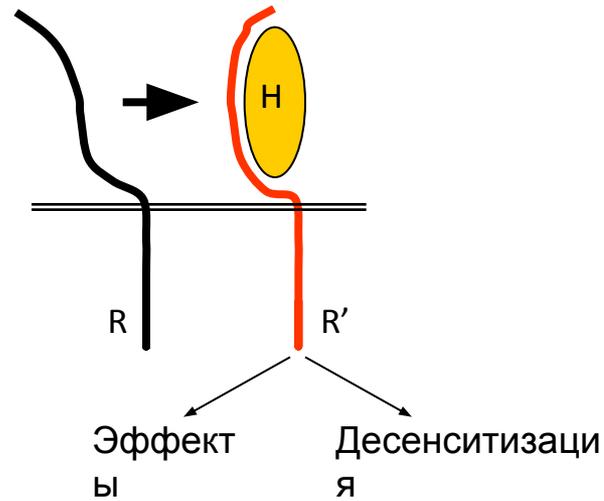


А: сближение субъединиц рецепторов-протеинкиназ обеспечивает их взаимное фосфорилирование (P) и активацию



Б: димеры ядерных рецепторов прочнее связывают гормончувствительные элементы (HRE) ДНК и коактиваторы

Индукцируемые лигандом конформационные изменения рецептора обеспечивают параллельно проведение сигнала и десенситизацию рецептора



# Ядерные рецепторы и системы передачи сигнала

# Специфические факторы транскрипции

- **Конститутивные факторы транскрипции** = факторы транскрипции базального транскрипционного комплекса:
  - Обеспечение **инициации** транскрипции
  - Обеспечение **базального уровня** транскрипции
  - Обеспечение тканеспецифичности транскрипции (**тканеспецифические конститутивные факторы транскрипции**)
- **Адаптивные факторы транскрипции:**  
Регуляция скорости транскрипции гена в зависимости от условий внешней и внутренней среды  
**в результате взаимодействия с:**
  - коактиваторами (семейство SRC-1, SRA, HATs, TIF1, p68, CBP/p200 и т.д.)
  - конститутивными факторами транскрипции (TAFs, TBP, TFIIB, SAGA, HATs и т.д.)
  - Регуляция транскрипции в результате взаимодействия с ДНК очень редко

# Адаптивные факторы транскрипции

## Способ передачи:

### на входе:

- Взаимодействие с гормоном
- Взаимодействие с другим сигнальным соединением
- Фосфорилирование

### На выходе:

- Изменение скорости транскрипции гена
- Перестройка (деконденсация или гиперконденсация) хроматина – изменение доступности для РНК-полимераз
- Изменение конформации ДНК, оптимизирующее ее для действия других транскрипционных факторов

# Передача сигнала на базальный транскрипционный комплекс

## Корегуляторы ядерных рецепторов:

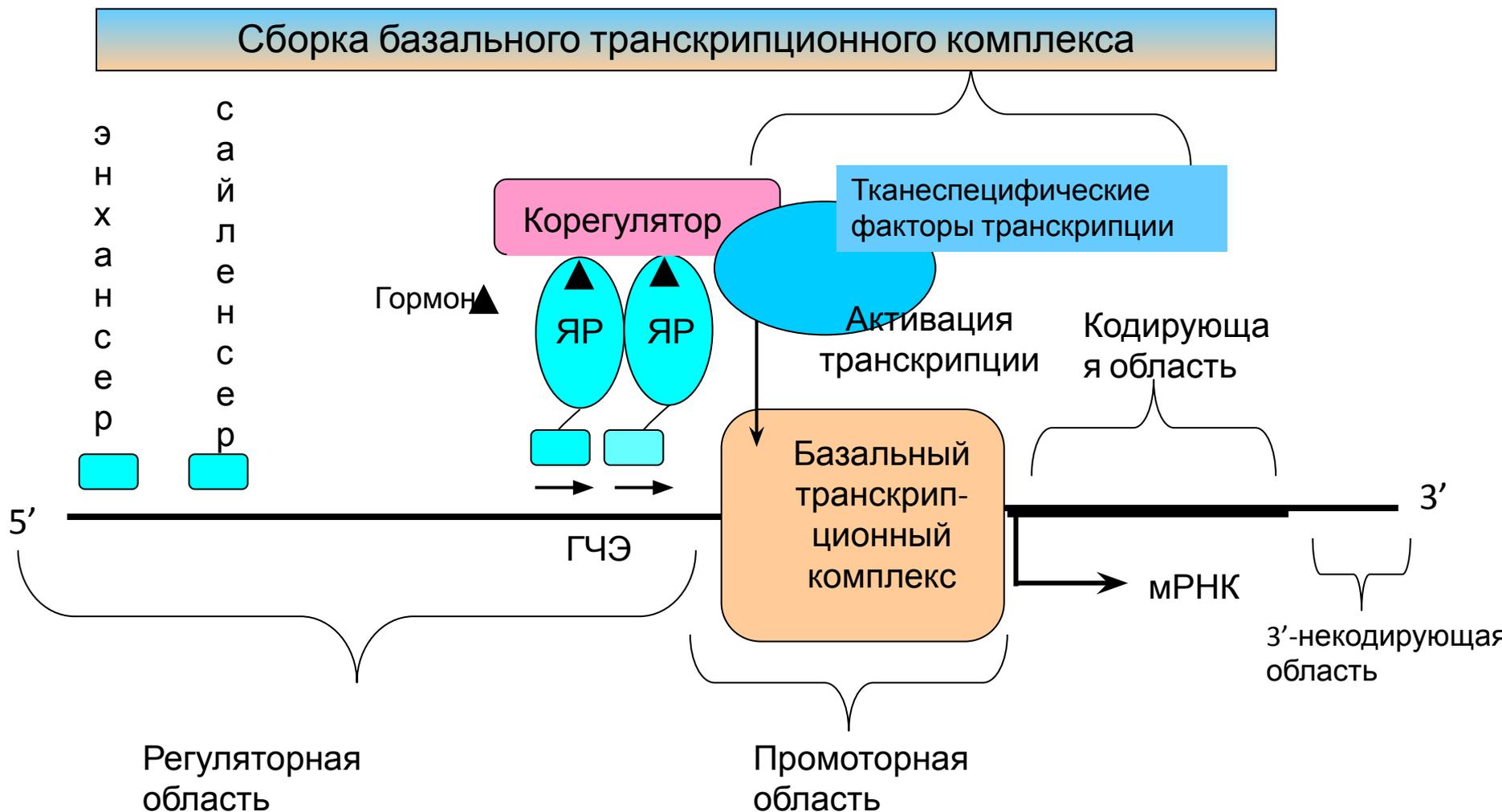
### 1. Корепрессоры

- Помогают подавлять действие рецептора без лиганда
- Связывание лиганда ведет к диссоциации комплекса рецептор-корепрессор и дает возможность рецептору связаться с коактиватором

### 2. Коактиваторы

- Связывание ГРК с основными транскрипционными факторами
- Связывание ГРК с РНК-полимеразой 2

# Регуляция экспрессии гормонзависимого гена млекопитающих



# Лиганды ядерных рецепторов

- Гормоны (стероидные, тиреоидные)
- Гормональные формы жирорастворимых витаминов (Д и А)
- *Сиротские*:
  - Сенсоры липидов
  - Сенсоры ксенобиотиков
  - Оставшиеся сиротскими

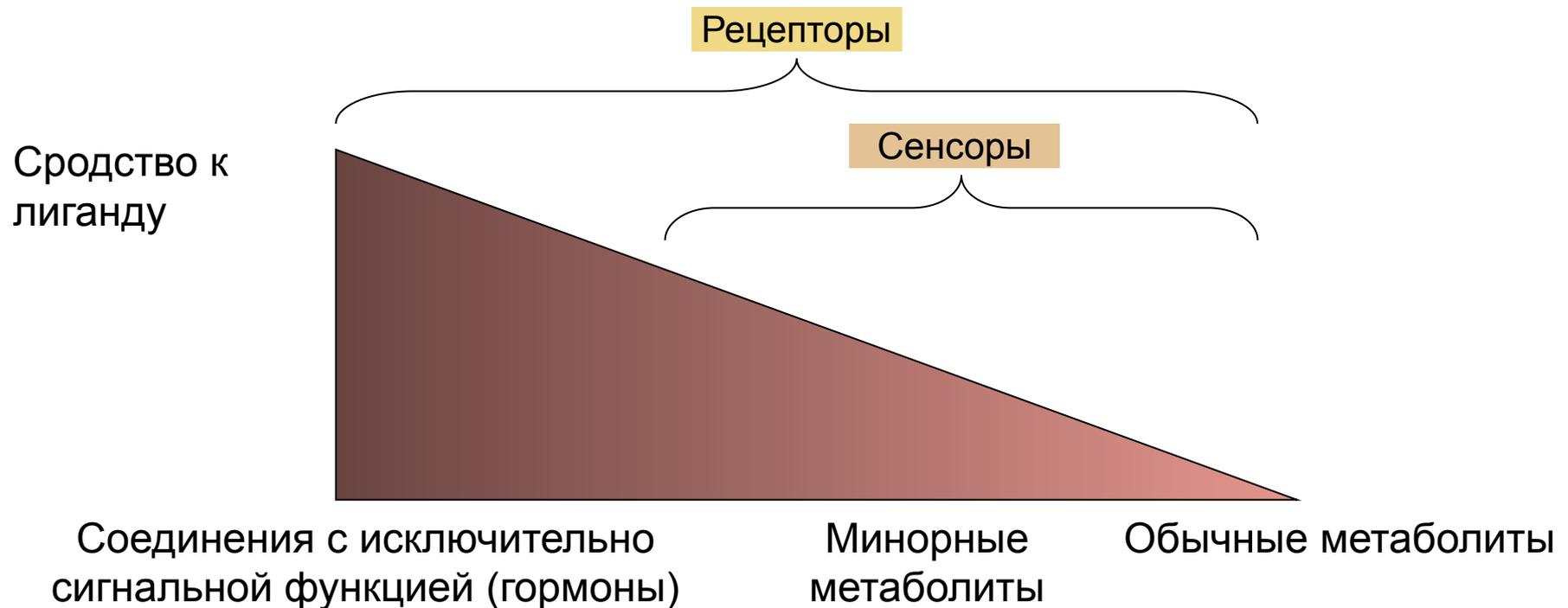


## Рецепторы –

все белки, относящиеся к известным классам рецепторов гормонов

## Сенсоры –

рецепторы или аллостерические белки для неспециализированных на сигнальной функции соединений



Сенсоры	Эндогенные лиганды	Основные физиологические эффекты
PPAR $\alpha$	Жирные кислоты	Окисление жирных кислот, синтез кетоновых тел, воспалительная реакция
PPAR $\gamma$	Окисленные жирные кислоты	Липосинтез, чувствительность к инсулину, противовоспалительное действие
Rev-Erba $\beta$	Гем (NO/CO-модуляция)	Транскрипционные репрессоры, биоритмы
ROR $\alpha$	Стерины (?)	Развитие мозжечка, поддержание костной ткани, противовоспалительное действие, биоритмы
ROR $\beta$	Стеариновая к-та (?), Ретиноиды (обратные агонисты) (?)	Развитие сетчатки
ROR $\gamma$	Ретиноиды (обратные агонисты) (?), стерины, окистеролы, 20альфа-ггдроксихолестерин, 25-гидроксихолестерни	Развитие лимфатических узлов, тимопоэз, воспалительная реакция
LXRs	Оксистерины	Гомеостаз холестерина, синтез желчных кислот
FXR	Желчные кислоты	Энтерогепатическая циркуляция желчных кислот
PXR	Литохолевая к-та	Элиминация вторичных желчных кислот
CAR	17-дезоксандростаны (обратные агонисты)	Индукция ферментов детоксикации
HNF4 $\alpha$	Линолевая кислота (эффект не определен)	Индукция ферментов детоксикации, гликолиз, транспорт жирных кислот
TR4	Окисленные жирные кислоты	Захват модифицированных липопротеидов
COUP-TFI/II	Ретиноиды (?)	Органогенез, обмен веществ, биоритмы
ERR $\alpha\beta\gamma$	Не известны	Стимуляция энергообмена
SF-1	Фосфатидилхолин (?)	Развитие надпочечников и гонад, стероидогенез
LRH-1	Фосфатидилинозитиды (?)	Эмбриональное развитие, биосинтез желчных кислот
DAX-1	Не известны	Развитие надпочечников и гонад, ингибирование стероидогенеза
SHP	Не известны	Транскрипционный репрессор

# Активность ядерных рецепторов в отсутствие лиганда

1. Транскрипционно **НЕ**активные без лиганда :  
**некоторые рецепторы стероидов**
2. Оказывающие **репрессорное** действие без лиганда: **рецепторы тиреоидных гормонов, рецепторы гормональной формы витамина Д**
3. Оказывающие **стимулирующее** действие без лиганда : **CAR (рецепторы 5альфа-андростанов, фенобарбитураты – конкурентные антагонисты; андростановые производные - обратные агонисты)**

## Репрессорное действие на ген белка Hairless без лиганда

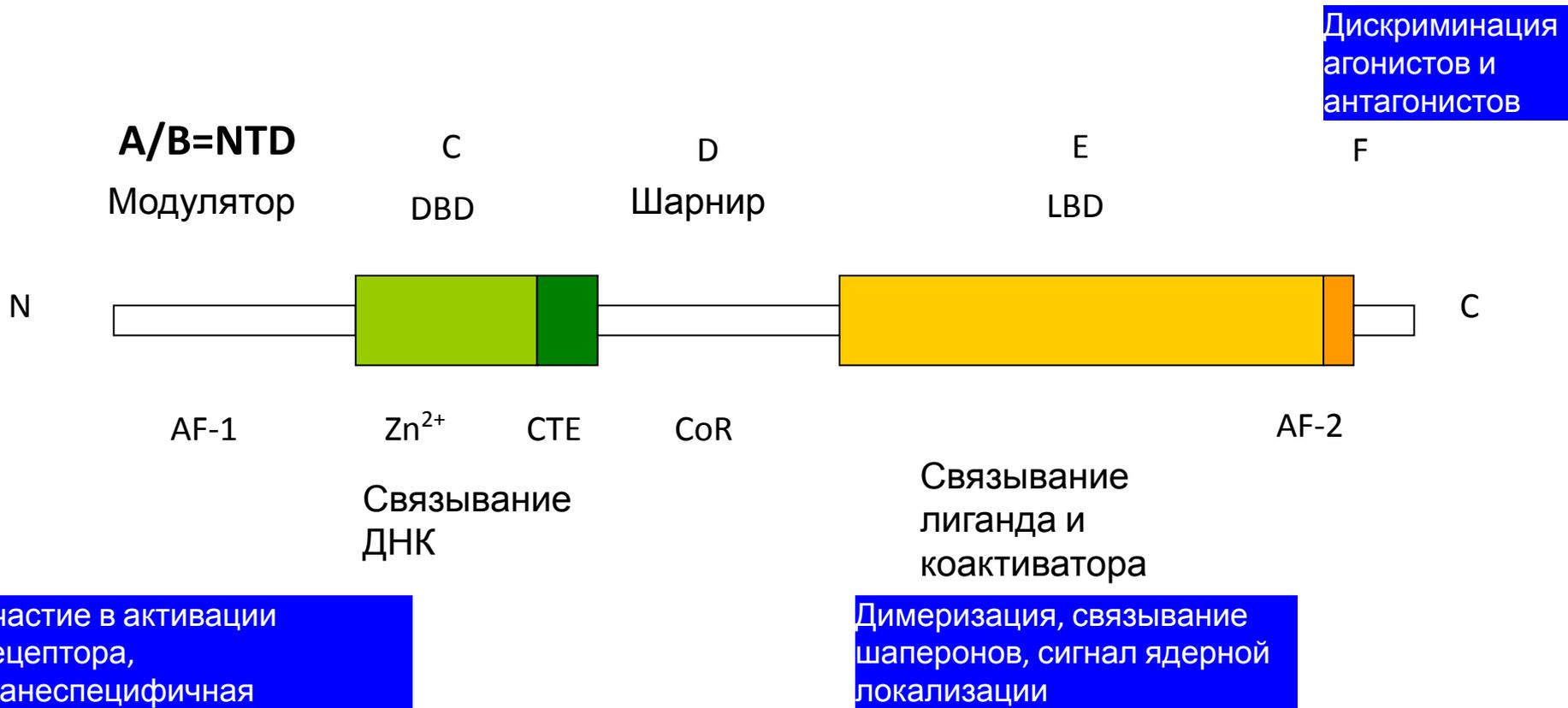


Снятие репрессорного действия на ген белка Hairless при инактивирующей мутации рецептора гормональной формы витамина D

**Fig. 2.** Phenotype of VDR knockout mouse (KO) compared to wildtype littermate (WT; NMRI background strain) at the age of 4.5 (top) and 8.5 (bottom) months.

Инактивирующая мутация рецептора гормональной формы витамина Д





Доменная организация ядерных рецепторов.

AF – активационная функция; DBD – ДНК-связывающий домен;

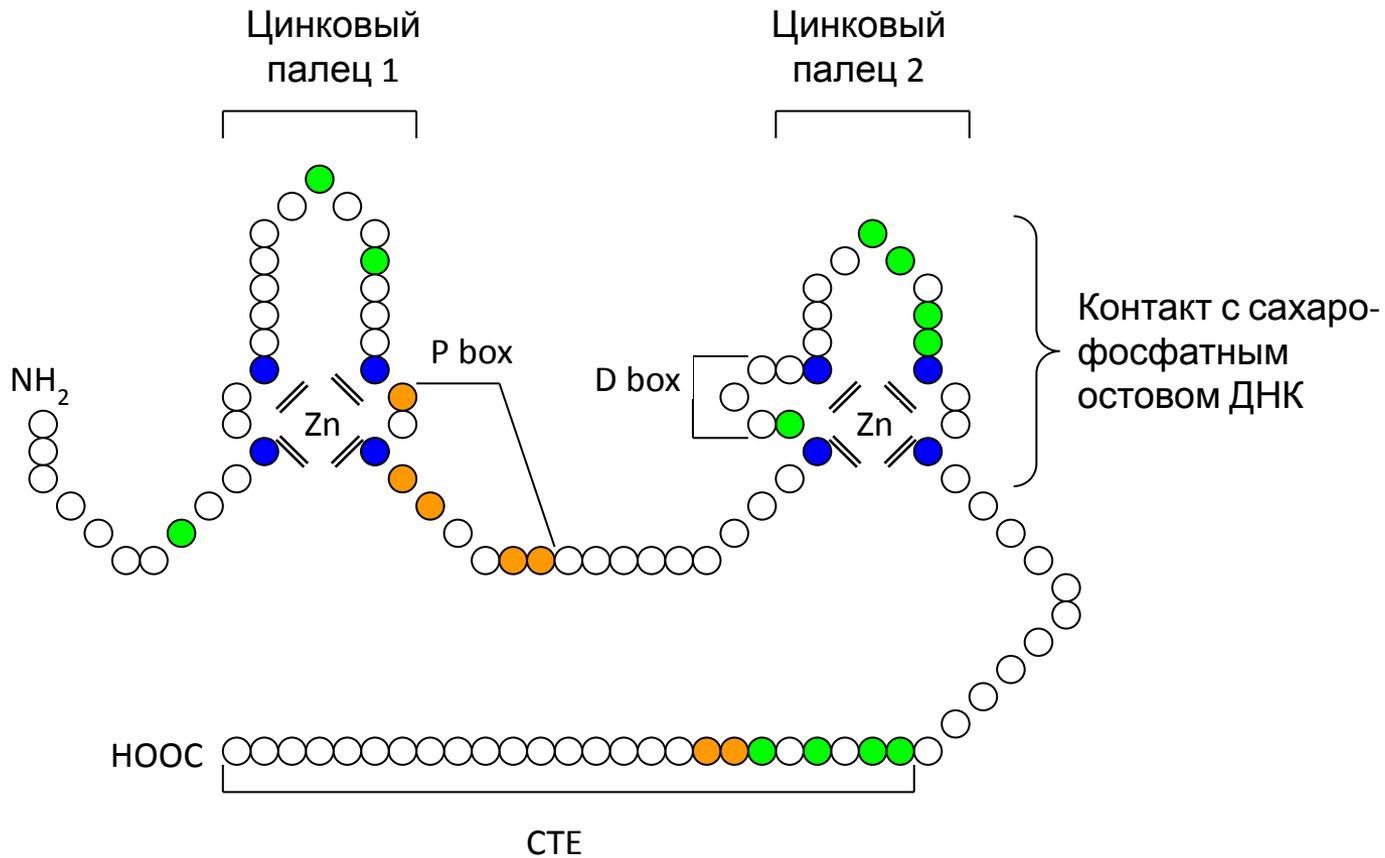
LBD – лигандсвязывающий домен; Zn<sup>2+</sup> - цинковые пальцы;

СТЕ – С-концевое расширение ДНК-связывающего домена;

CoR – область связывания корепрессора

# Домен NTD (A/B) (модуляторный):

- Наиболее вариабельный по длине и послед-ти а/к
- Сайты фосфорилирования MAP-киназами и другими протеинкиназами
- Гормон**НЕ**зависимая активаторная функция AF-1 (*взаимодействие с тканеспецифическими корегуляторами (коактиваторами)*)
- *Участствует в гормонзависимой активации рецепторов стероидов*



- Остатки Cys, образующие координационные связи с Zn
- Аминокислотные остатки, непосредственно контактирующие с
- Аминокислотные остатки, участвующие в димеризации рецепторов

Структура ДНК-связывающего домена ядерных рецепторов

# Гормончувствительные элементы (ГЧЭ) ДНК

**Особенности взаимодействия ГЧЭ с ядерными рецепторами (ЯР):**

Полусайты – связывание мономера ЯР

Сдвоенные полусайты – связывание гомо- и гетеродимеров ЯР

**Варианты сдвоенных полусайтов:**

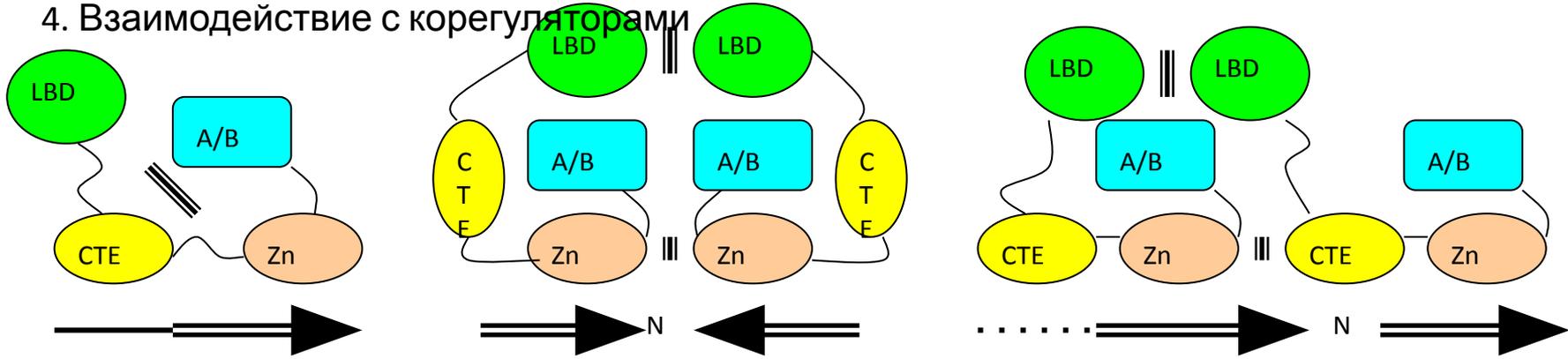
- Палиндромы
- Прямые повторы
- Обратные повторы
- Содержат спейсеры

**Активность ГЧЭ:**

- Позитивные – усиление экспрессии
- Негативные – подавление экспрессии
- Кол-во ГЧЭ – усиление эффекта

# Функции С-концевого расширения ДНК-связывающего домена (СТЕ) во взаимодействии ядерных рецепторов с гормончувствительными элементами:

1. Повышение прочности и специфичности взаимодействия с ДНК мономерных рецепторов
2. Обеспечение правильной ориентации гетеродимерных рецепторов на ДНК
3. Узнавание размера спейсера
4. Взаимодействие с корегуляторами



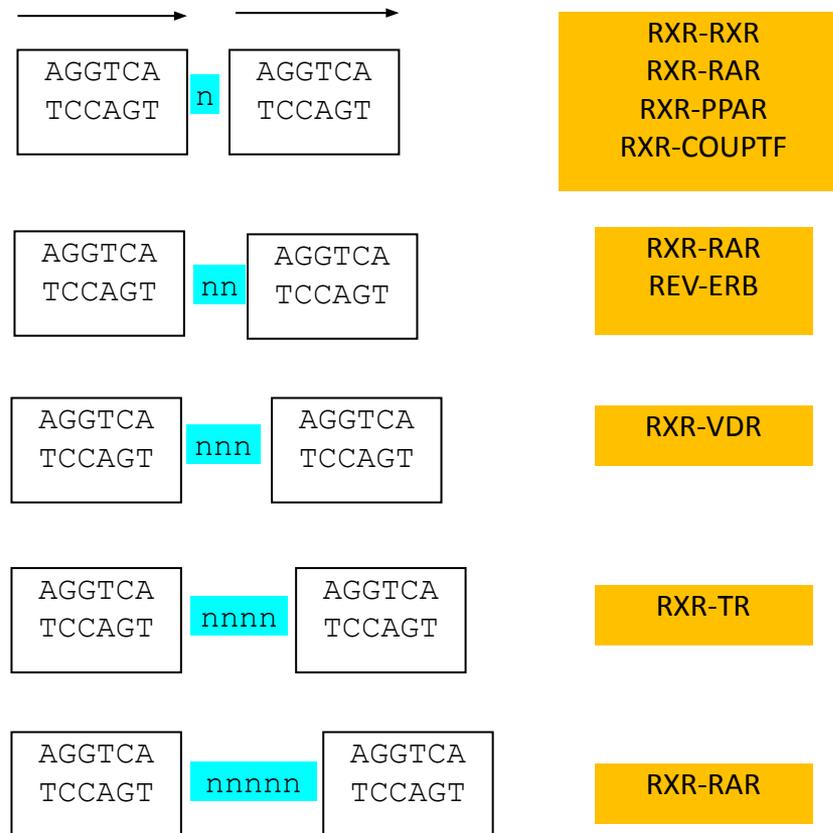
Полусайт с 5' расширением

Инвертированный повтор, палиндром

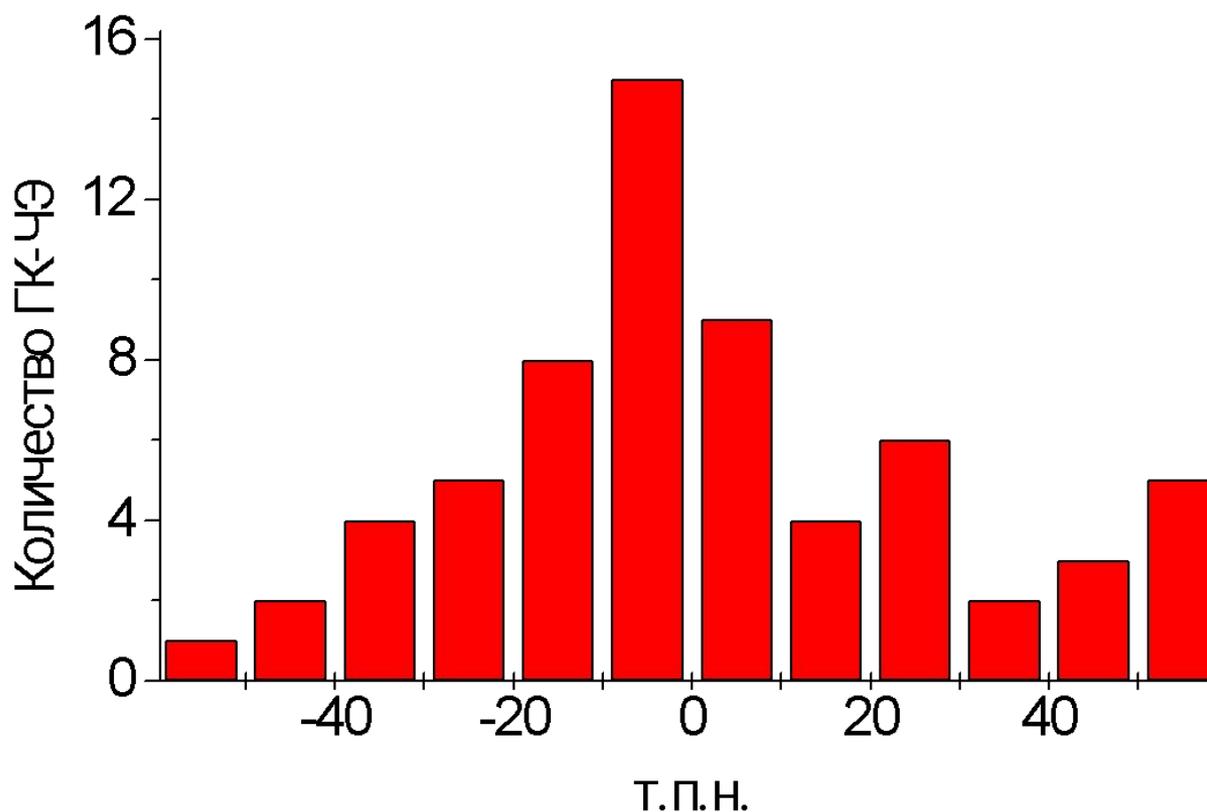
Прямой повтор

Мономеры	Гомодимеры	RXR гетеродимеры	Гомодимеры
RVR	ERR	PPAR	Rev-Erb
ROR	ER	LXR	HNF4
TLX	AR	FXR	RXR
ERR	PR	PXR	TR2
NGFI-B	GR	CAR	TLX
FTZ-F1	MR	NGFI-B	COUP-TF
			GCNF

Размер спейсера между полусайтами гормончувствительных элементов дискриминирует взаимодействие с ДНК димерных ядерных рецепторов. Размер спейсера узнается СТЕ рецептора.



Количество глюкокортикоидчувствительных элементов (ГК-ЧЭ) в зависимости от их локализации относительно старта транскрипции регулируемых гормоном генов

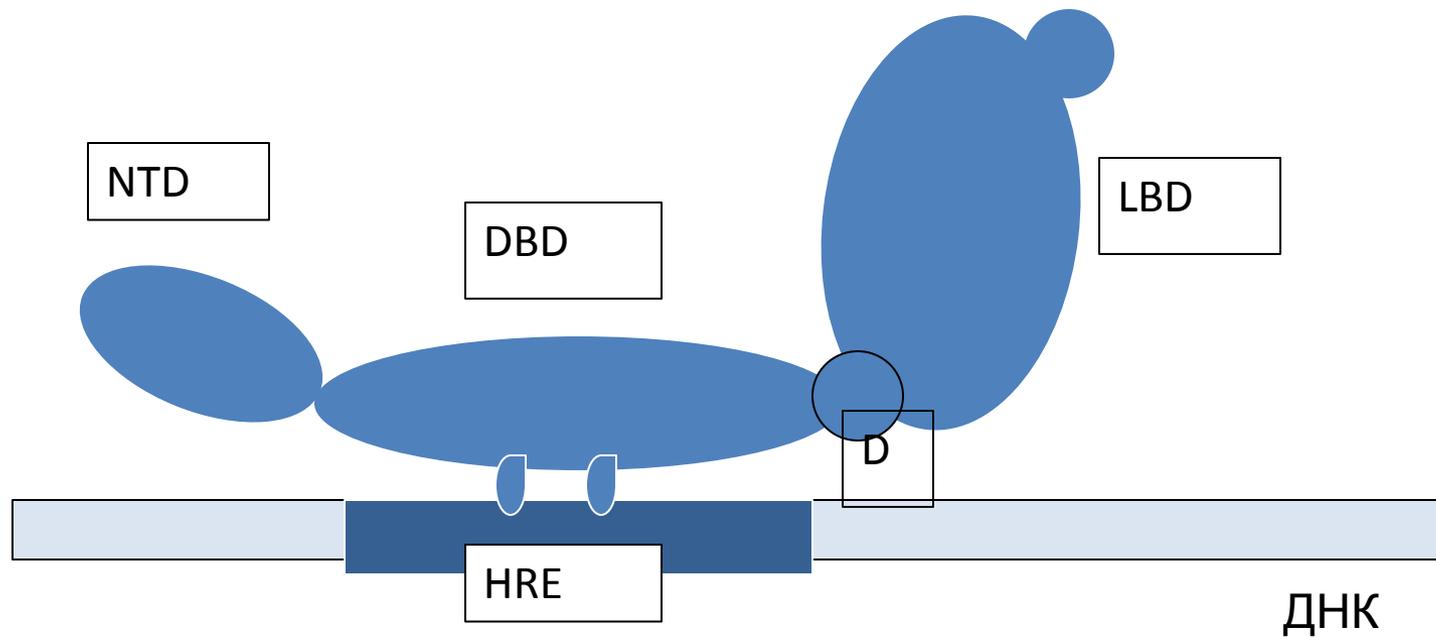


# Шарнирный домен D

- Вариабелен по размеру и последовательности а/к
- Гибкий (поворот на  $180^\circ$  по отношению к домену E и возможность совмещения связывания с ДНК и димеризации)
- Поверхность взаимодействия ЯР с корепрессорами

# Шарнирный домен D

обеспечивает поворот лигандсвязывающего домена относительно ДНК-связывающего домена



# Лигандсвязывающий домен E:

Умеренно консервативен

**Лигандсвязывающий карман:**

- Связывание лиганда
- Участие в димеризации
- Взаимодействие с белками теплового шока
- Сигнал ядерной транслокации

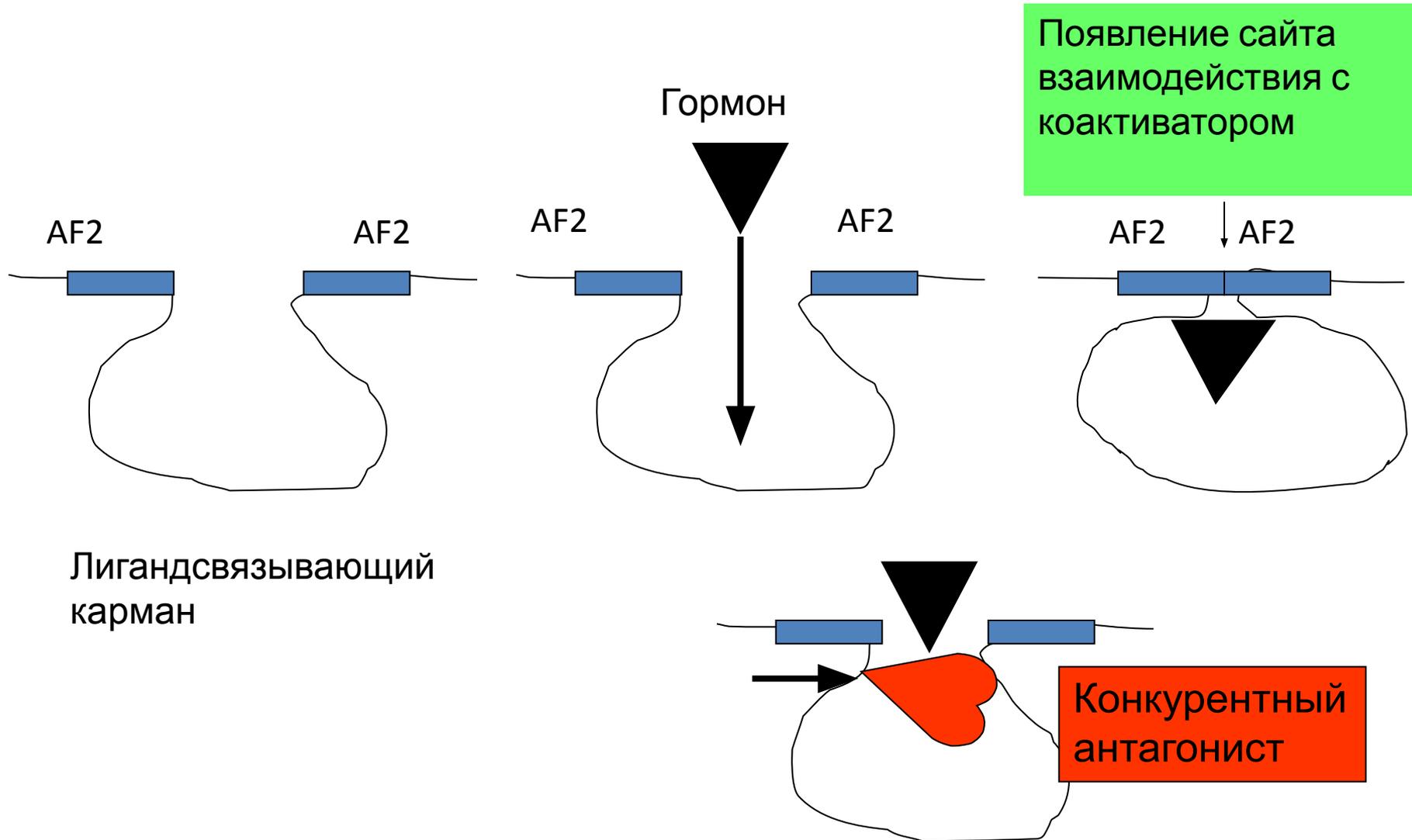
**Лигандзависимая активаторная функция AF2:**

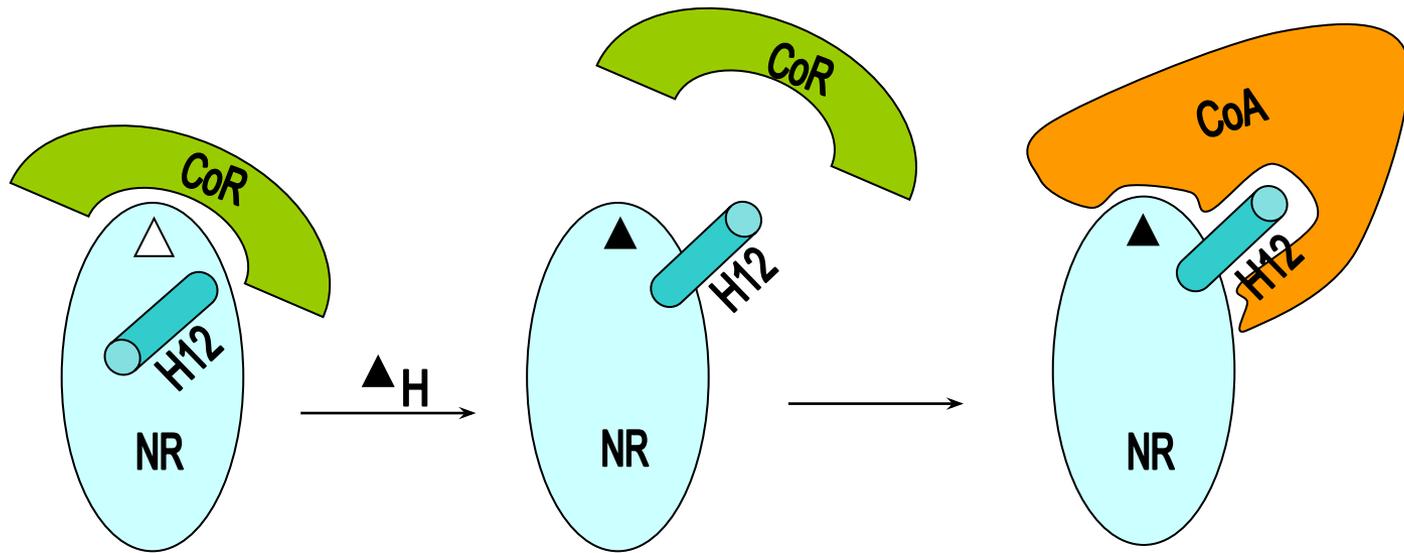
- Поверхность взаимодействия с коактиваторами
- Работа по типу мышеловки
- Сайт димеризации

**Домен F:**

Дополнительная дискриминация агонистов и антагонистов,  
Связь с корепрессорами

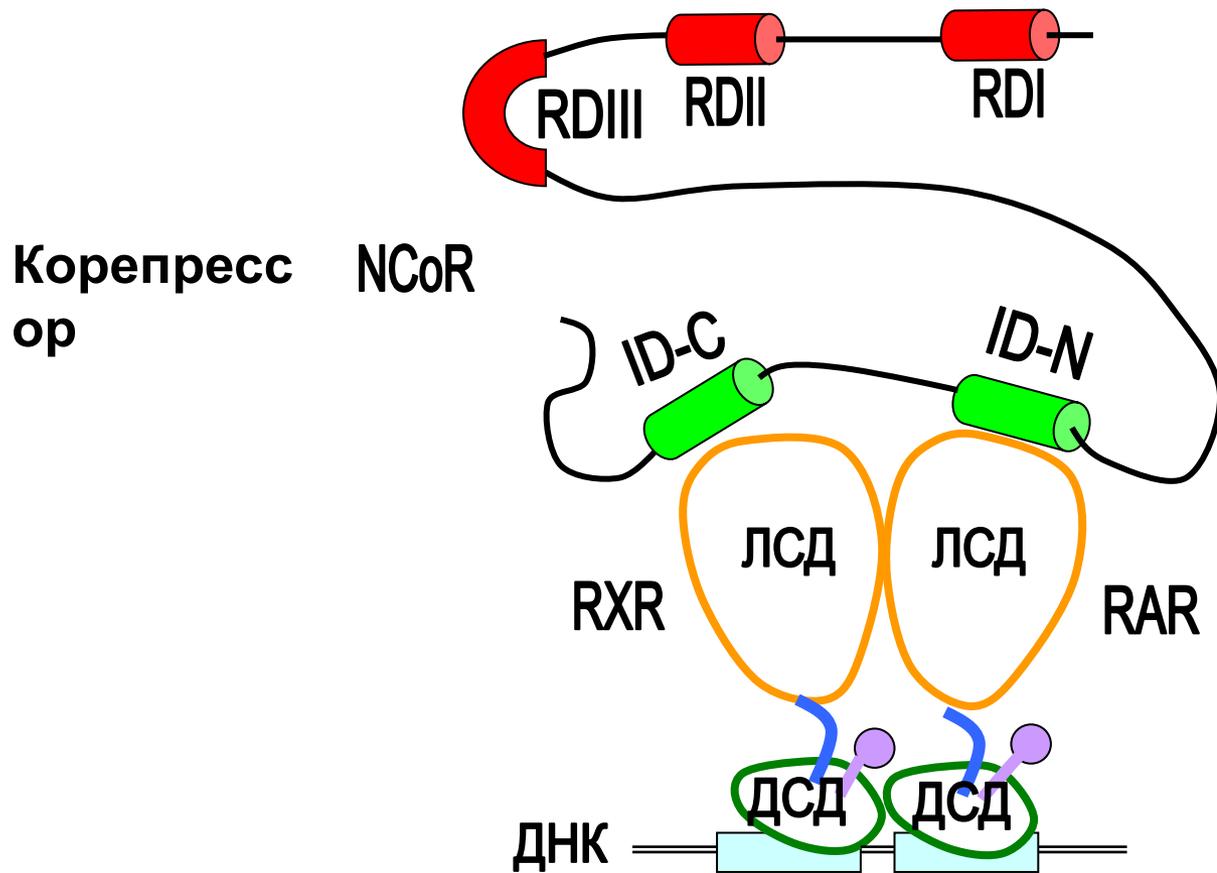
# Работа гормонзависимой активаторной функции AF2





Связывание лиганда-агониста (H) меняет ориентацию  $\alpha$ -спирали H12, что препятствует взаимодействию ядерного рецептора (NR) с корепрессором (CoR) и способствует взаимодействию с коактиватором (CoA)

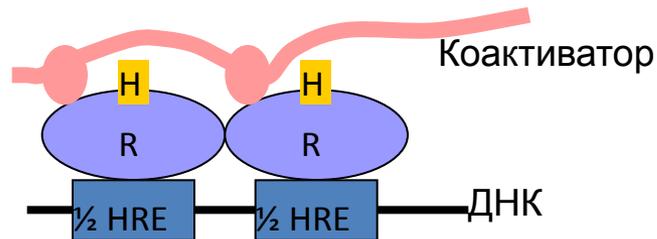
# Роль димеризации



Два домена взаимодействия с ядерными рецепторами (ID-N и ID-C) корепрессора NCoR обеспечивают его связывание одновременно с обеими молекулами димерного рецептора

# Значение индуцированной лигандом (Н) олигомеризации рецепторов (R):

Димеры ядерных рецепторов прочнее связывают гормончувствительные элементы (HRE) ДНК и коактиваторы



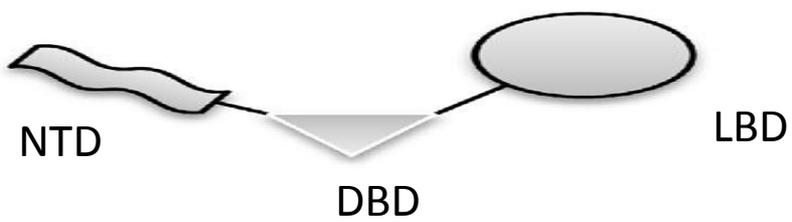
# Роль N/C взаимодействия и димеризации в активации рецептора

рецептора

N / C взаимодействие

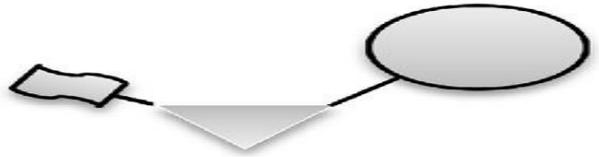
Димеризация LBD

AR, GR, MR, PR

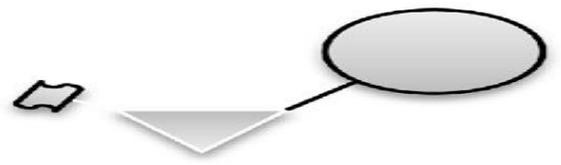


N/C взаимодействие может быть внутри- и межмолекулярным

ER, PPAR



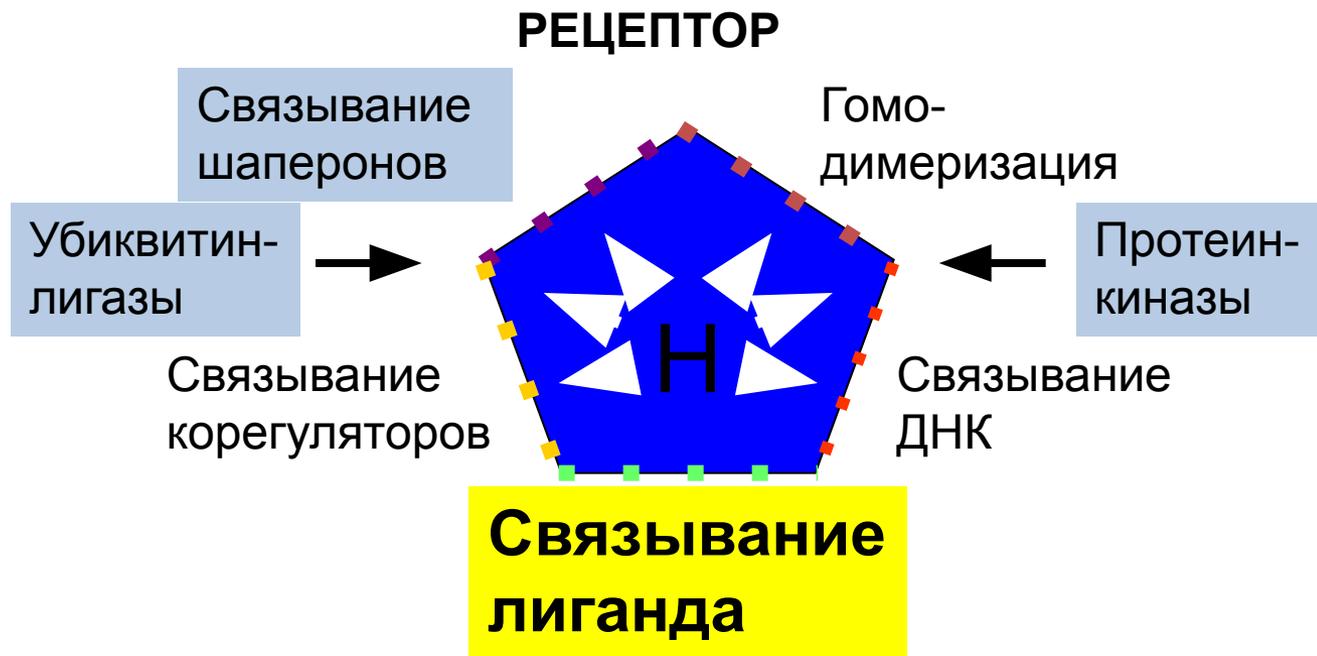
RAR, VDR, RXR, TR



# Партнеры по димеризации

- В зависимости от партнера по димеризации чаще узнаются разные типы ГЧЭ
- Способствуют удержанию ЯР в ядре
  - **Одинаковый для разных ЯР партнер RXR:**
    - Помогает поиску сайта с максимальным сродством, т.к. количество ГЧЭ для RXR больше, чем для других ЯР
    - Пермиссивный эффект: 9-цисРА – RXR – пермиссирует взаимодействие лиганда с рецептором
    - Непермиссивный эффект:
- кооперативное усиление эффекта

**Лиганд влияет на взаимодействия рецептора с другими молекулами, участвующими в проведении сигнала, его модуляции и терминации**



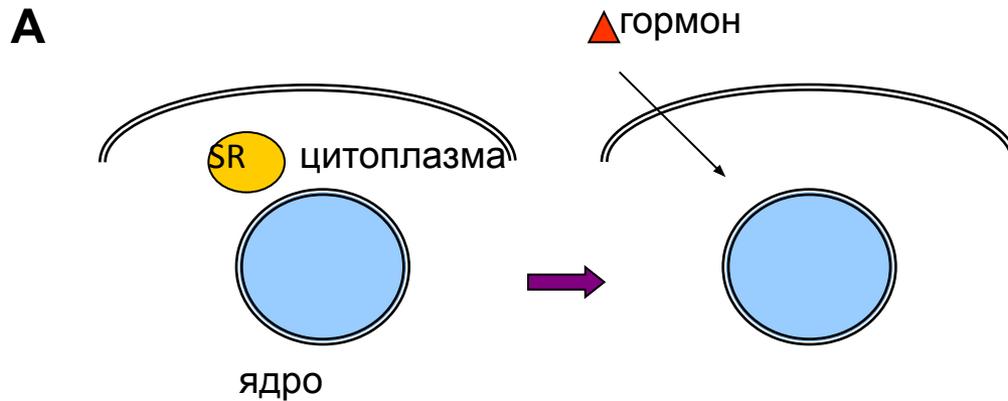
# Роль комплексов рецепторов стероидов с белками теплового шока (hsp90)

В цитоплазме гетеродимеры:  
1 молекула ЯР+2 молекулы hsp90

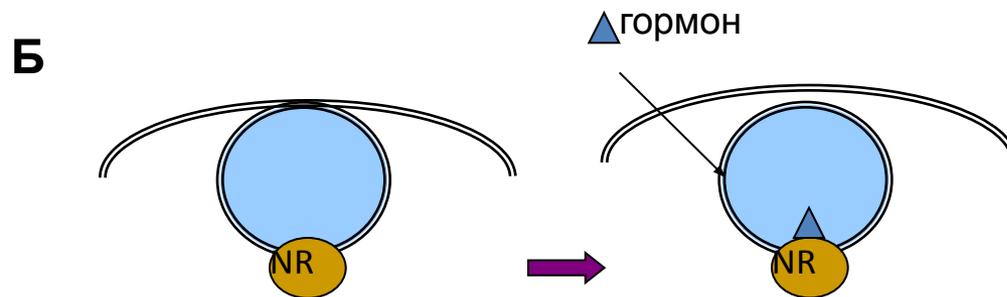
Роль hsp90:

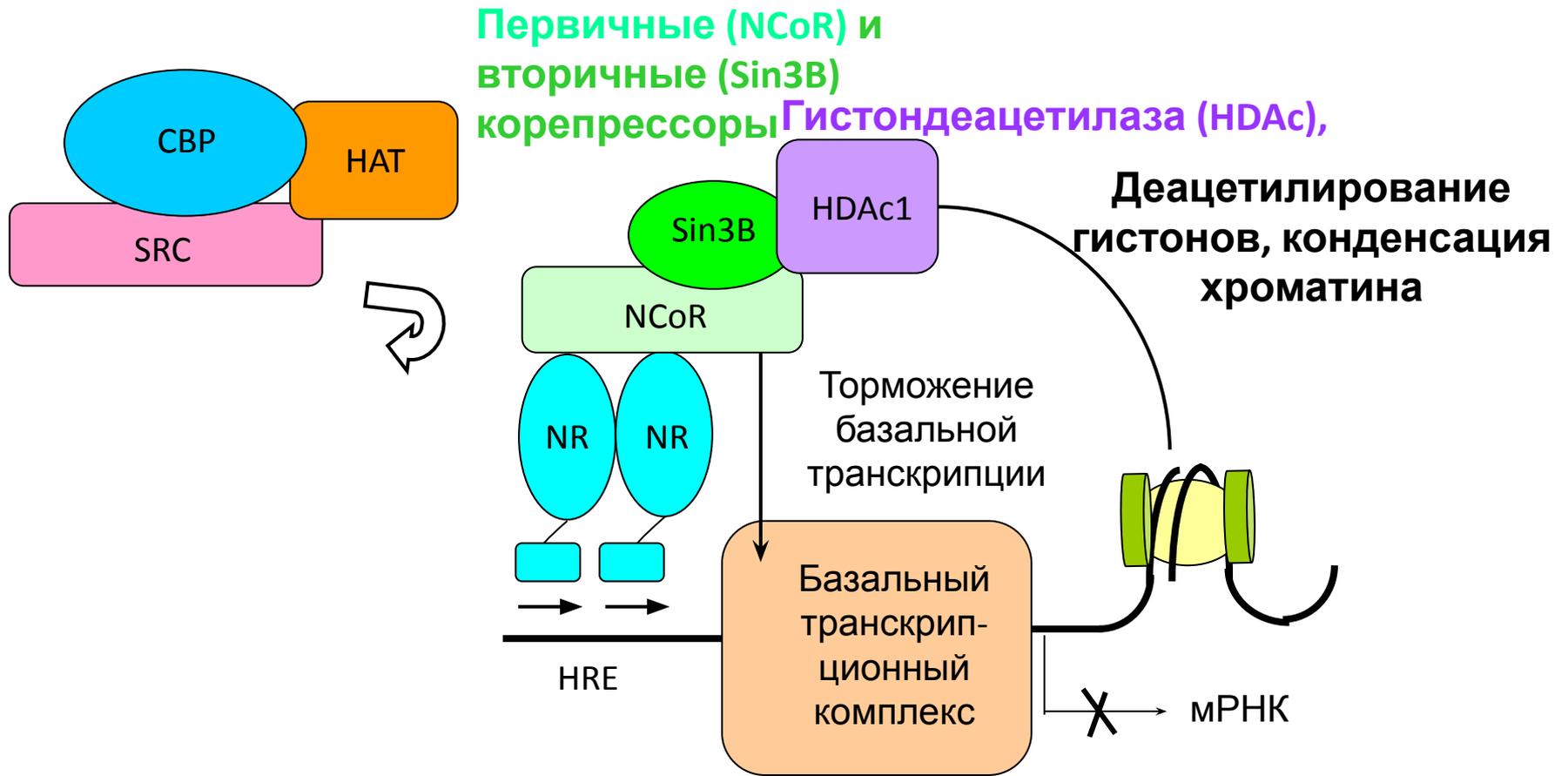
- Комплексование с гормонсвязывающим доменом
- Поддержание и усиление аффинности гормонсвязывающего центра к гормону
- Блокирование ДНК-связывающего домена в отсутствие гормона
- Транспорт вновь синтезированных рецепторов к ядру

# Стероидные гормоны индуцируют транслокацию своих рецепторов (SR) из цитоплазмы в ядро (А)

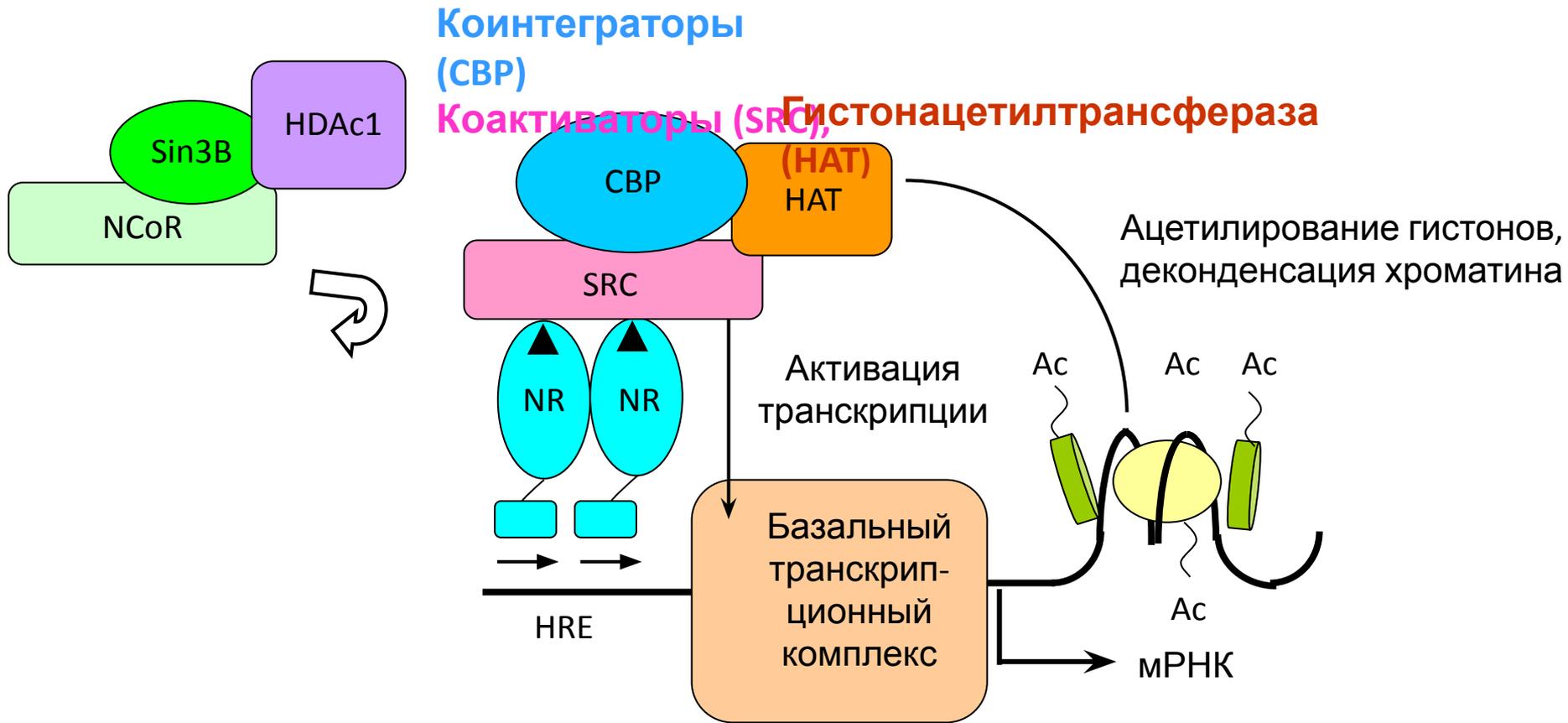


# Ядерная локализация других ядерных рецепторов (NR) не зависит от лиганда (Б)





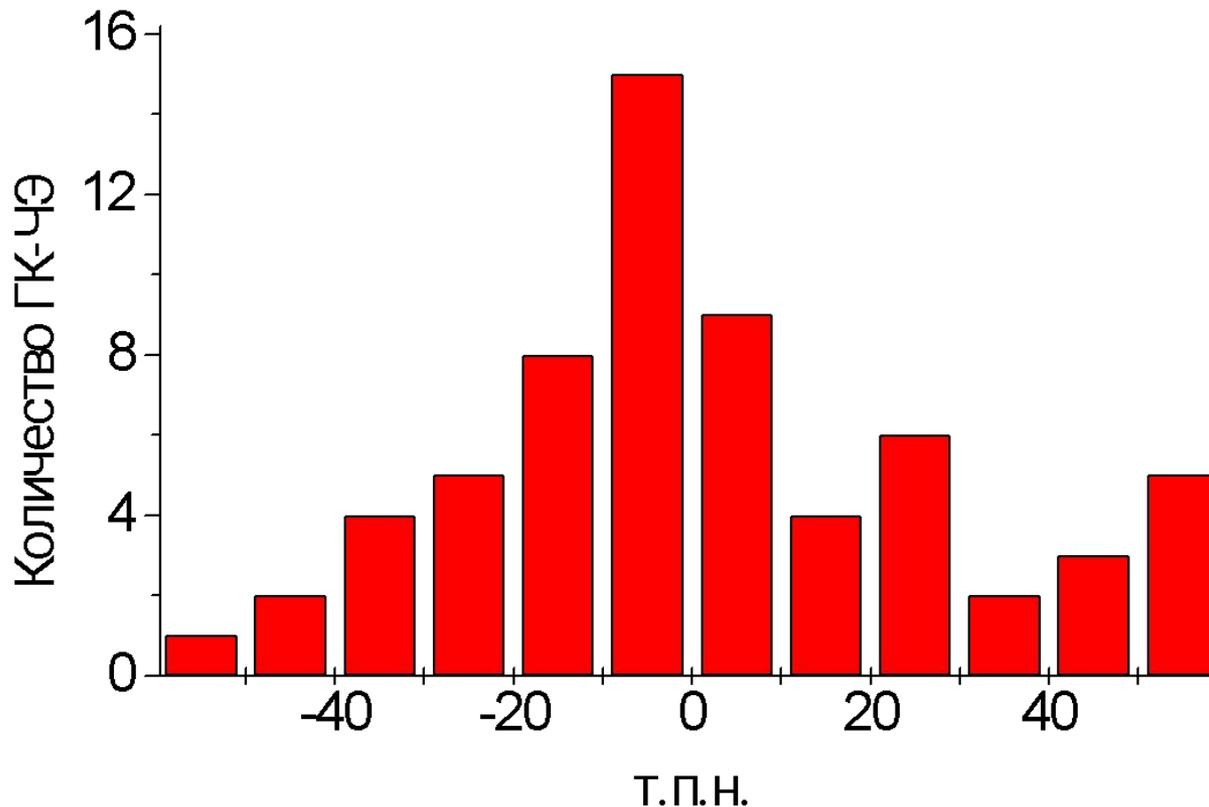
В отсутствие лиганда-агониста ядерные рецепторы (NR) рекрутируют многокомпонентный комплекс, включающий **первичные (NCoR) и вторичные (Sin3B) корепрессоры** и **гистондеацетилазы (HDAc)**, обеспечивающий конденсацию хроматина и ингибирование транскрипции

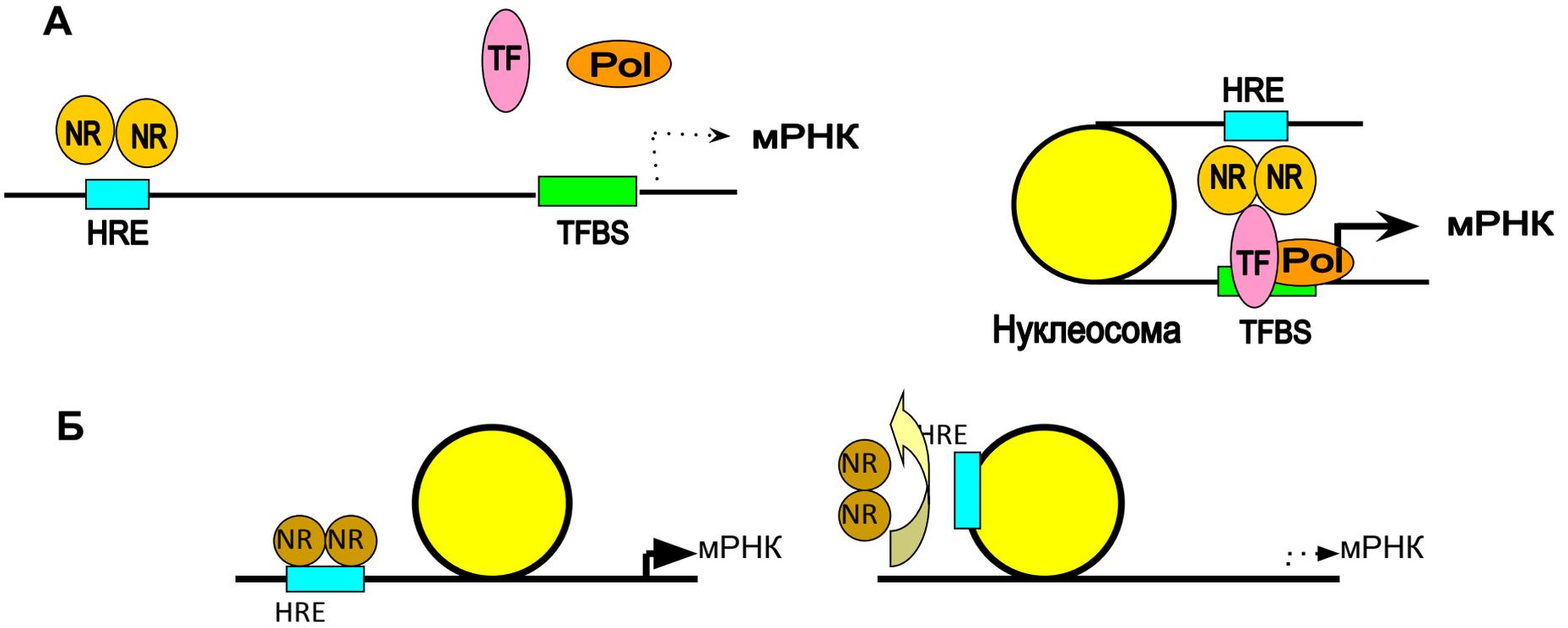


Рекрутируемые ядерными рецепторами (NR) в присутствии лиганда-агониста (черные треугольники) многокомпонентные комплексы **коактиваторов (SRC), коинтеграторов (CBP)** и **гистонацетилтрансфераз (HAT)** обеспечивают релаксацию хроматина и инициацию транскрипции

# Роль нуклеосом

Количество глюкокортикоидчувствительных элементов (ГК-ЧЭ) в зависимости от их локализации относительно старта транскрипции регулируемых гормоном генов





Позиционирование нуклеосомы может **усиливать стимулирующее действие ядерных рецепторов на транскрипцию (А)** и **Придавать тканеспецифичность эффектам гормонов (Б)**

NR – ядерные рецепторы; HRE – гормончувствительный элемент; TF – базовые факторы транскрипции; TFBS – участок связывания факторов транскрипции; Pol – РНК-полимераза II

# Варианты активирующего первичного геномного действия половых стероидов

Транскрипционные факторы SP1 и AP-1 могут опосредовать взаимодействие ядерных рецепторов с ГЧЭ ДНК

