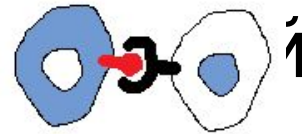


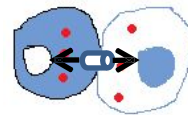
Пути передачи сигнала внутрь
клетки: внутриклеточный
сигналинг посредством
сопряжённых с G-белками и с
ферментами рецепторов

Основные способы межклеточной сигнализации

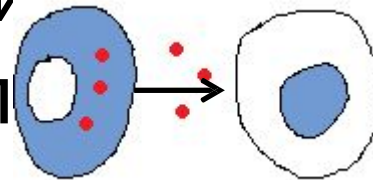
- Контактная сигнализация с помощью молекул, связанных с плазматической мембраной



- Контактная сигнализация через щелевые контакты



- Дистантная сигнализация с помощью секретируемых молекул



Способы доставки/действия сигнальных соединений

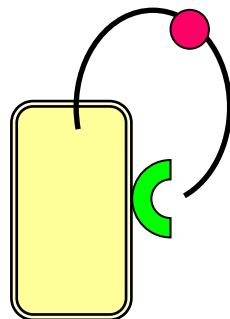


Сигнальное соединение

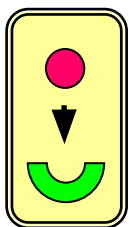


Рецептор (сенсор)

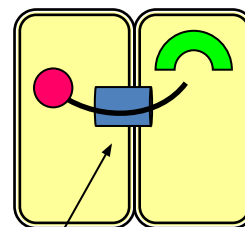
Аутокринный



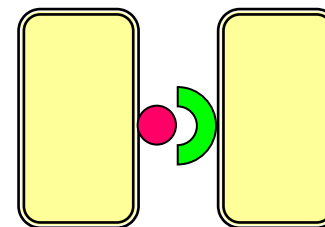
Интракринный



Юкстакринный

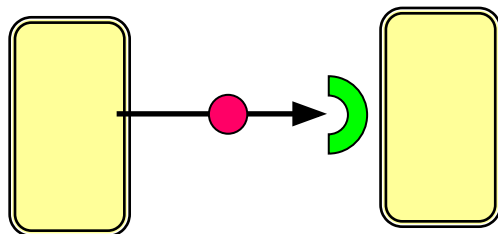


Контактный

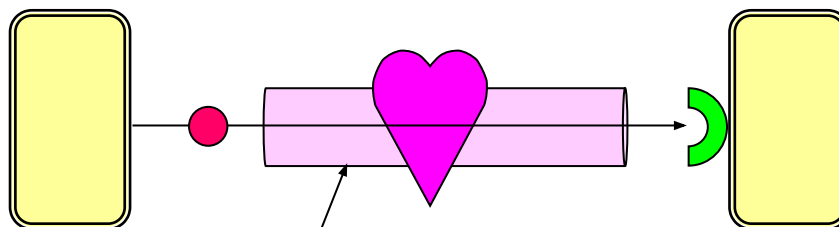


Щелевой контакт

Паракринный

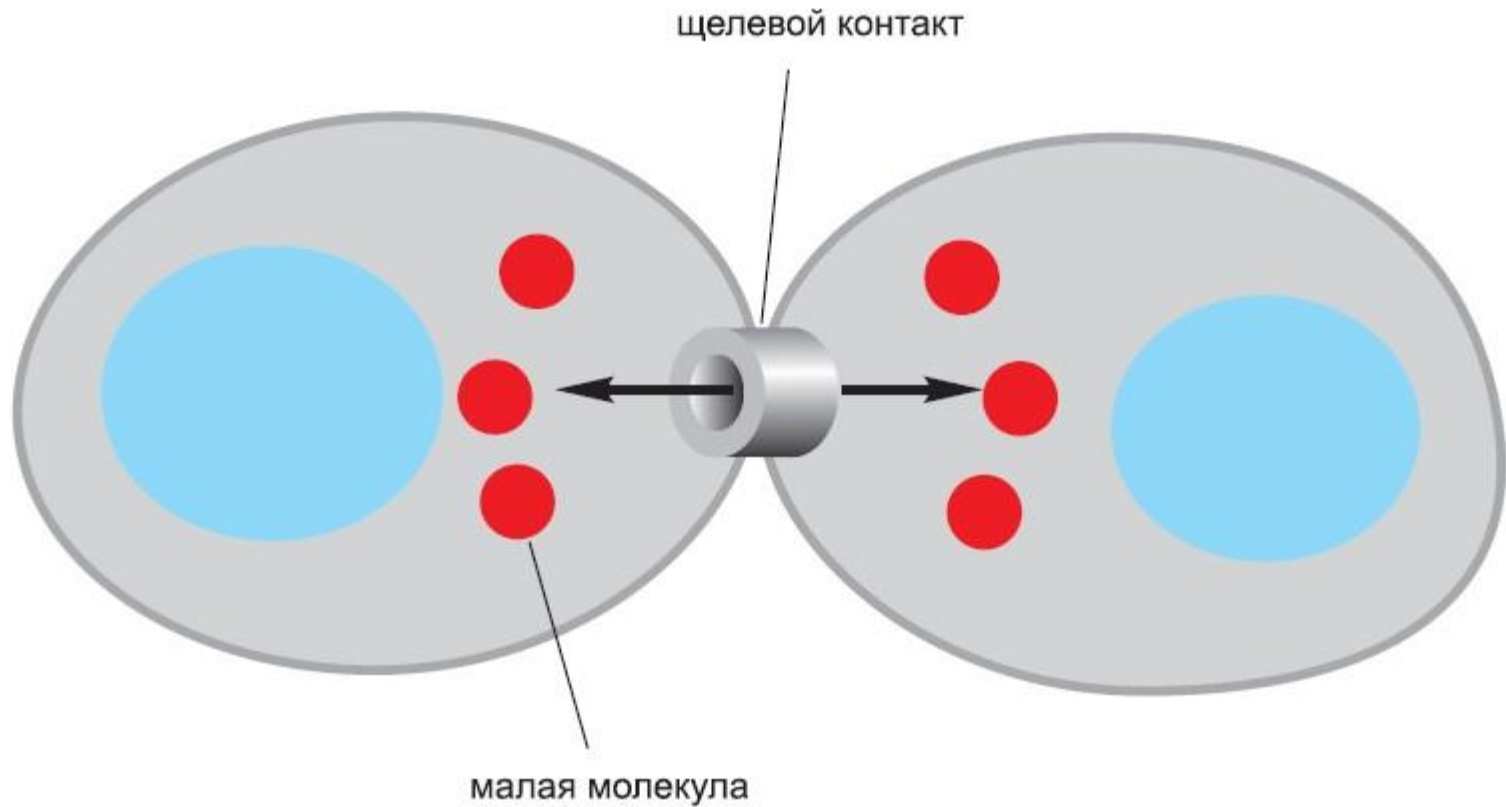


Эндокринный (гуморальный)



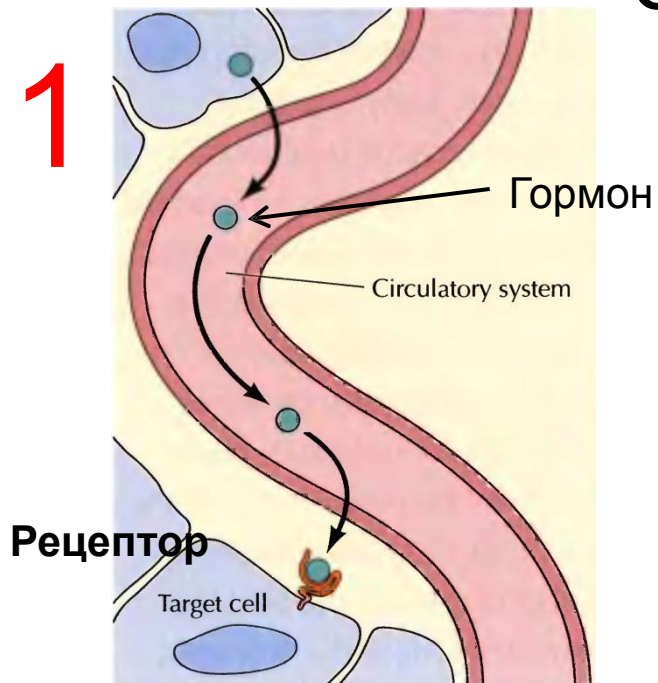
Кровеносное русло

Сигнализация посредством щелевого контакта

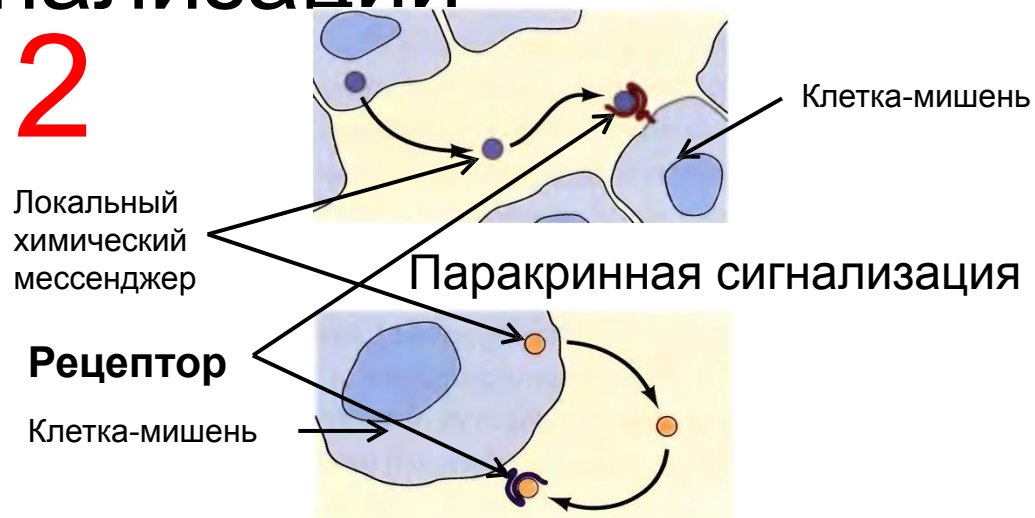


Три стратегии химической сигналикации

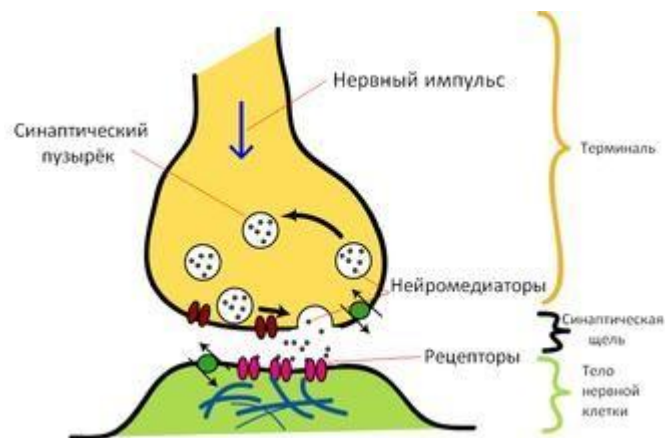
1



2



3



Особенности эндокринной и нервной сигнализации

Эндокринная

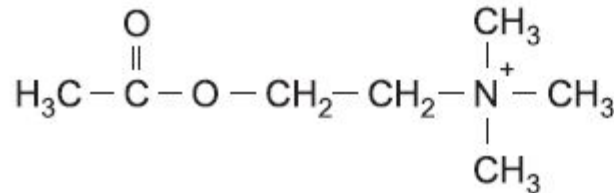
- Медленная (минуты)
- Низкая вероятность воздействия на мишень (удаленность)
- Стратегии сигналинга: эндокринная, пара (ауто)кринная
- Высокая активность ($<10^{-8}$ М)
- Мишени – все клетки, имеющие рецептор

Нервная

- Быстрая (< 1 мс)
- Высокая вероятность воздействия на мишень
- Стратегии сигналинга: пара (ауто)кринная, синаптическая
- Относительно низкая активность (10^{-4} М)
- Мишени – преимущественно постсинаптическая клетка

Характер ответа на один и тот же стимул определяется типом клетки, её состоянием, набором генов, белков и т.д.

ацетилхолин

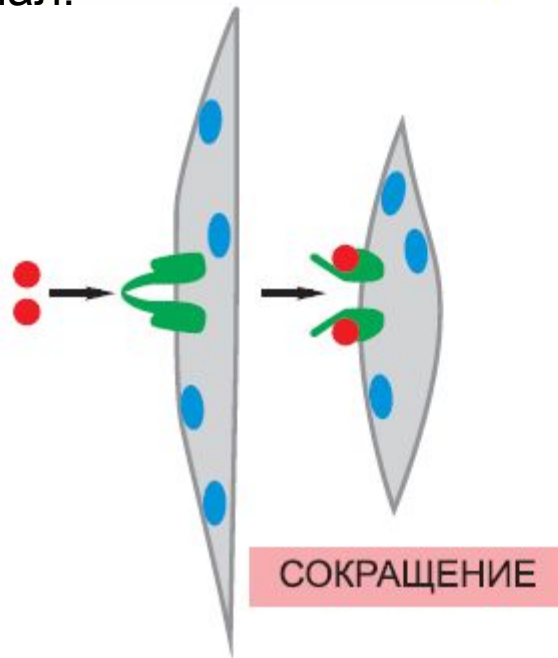


Разные клетки по-разному реагируют на один и тот же сигнал.

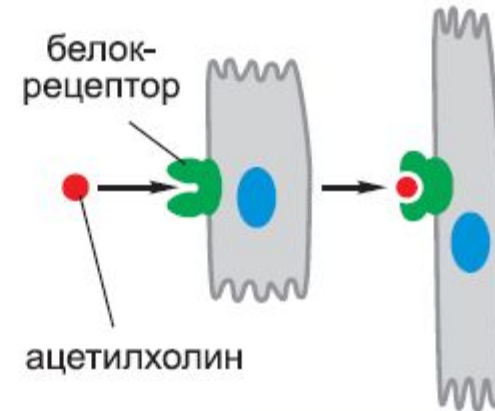
Ответ зависит от:

- 1) Типа рецепторов на мембране
- 2) Типа клетки

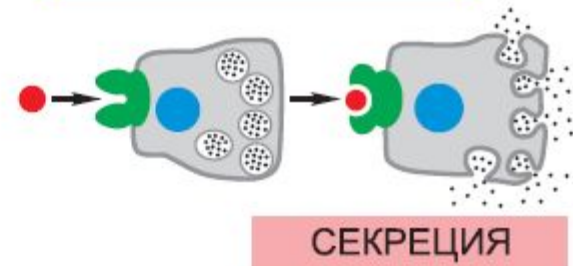
клетка скелетной мышцы



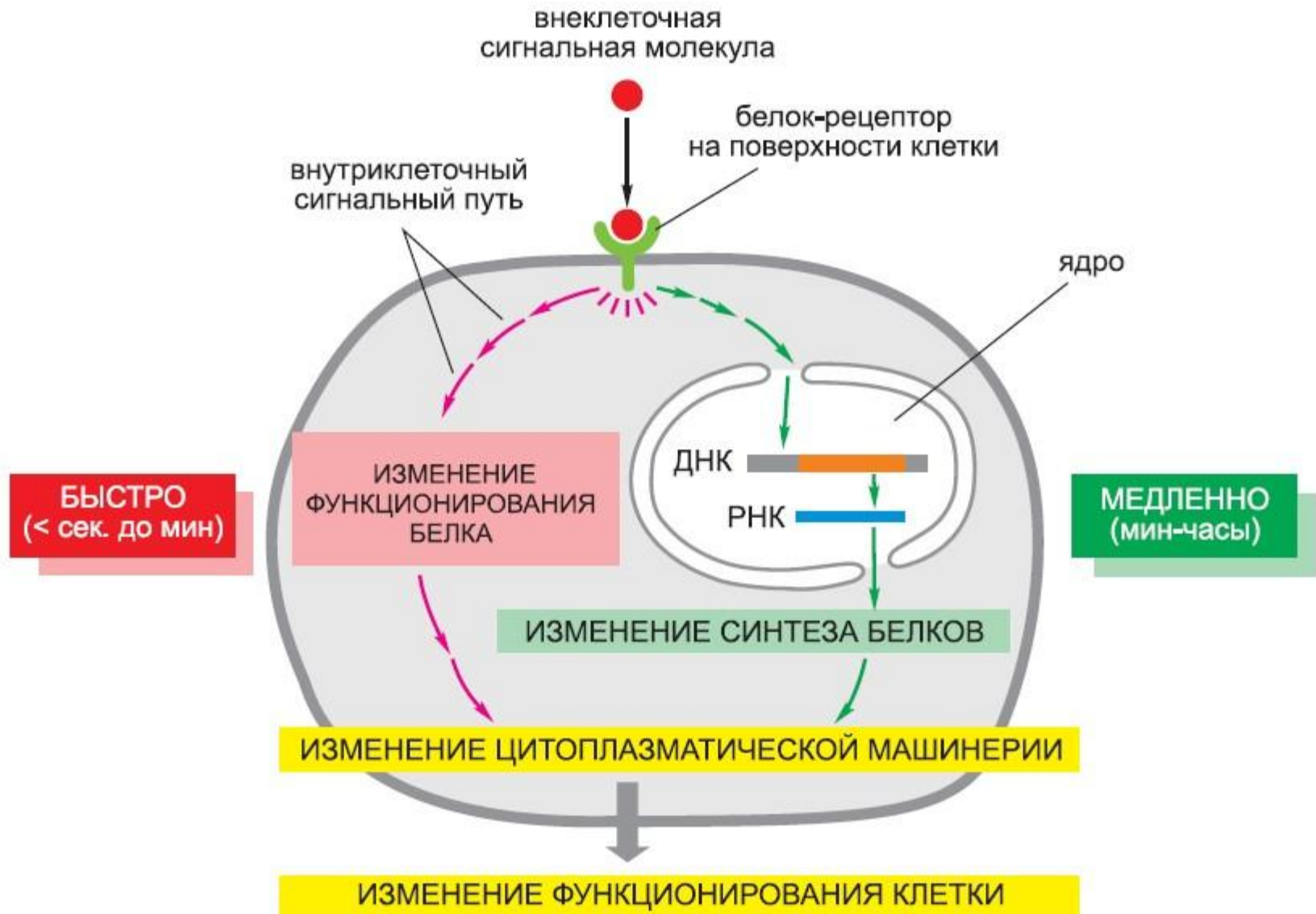
клетка сердечной мышцы



клетка слюнной железы



Быстрое и медленное изменение функционирования клетки под действием сигнала



Ответ клетки на сигнал

Глюкоза ↑



Инсулин



Транспортер глюкозы
на мышечных и жировых ↑
клетках



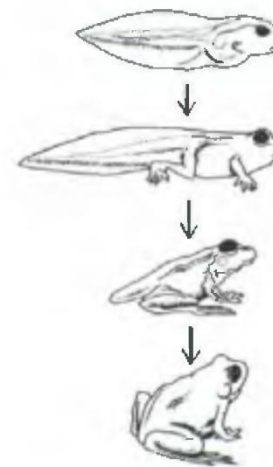
Глюкоза ↓ Инсулин ↓



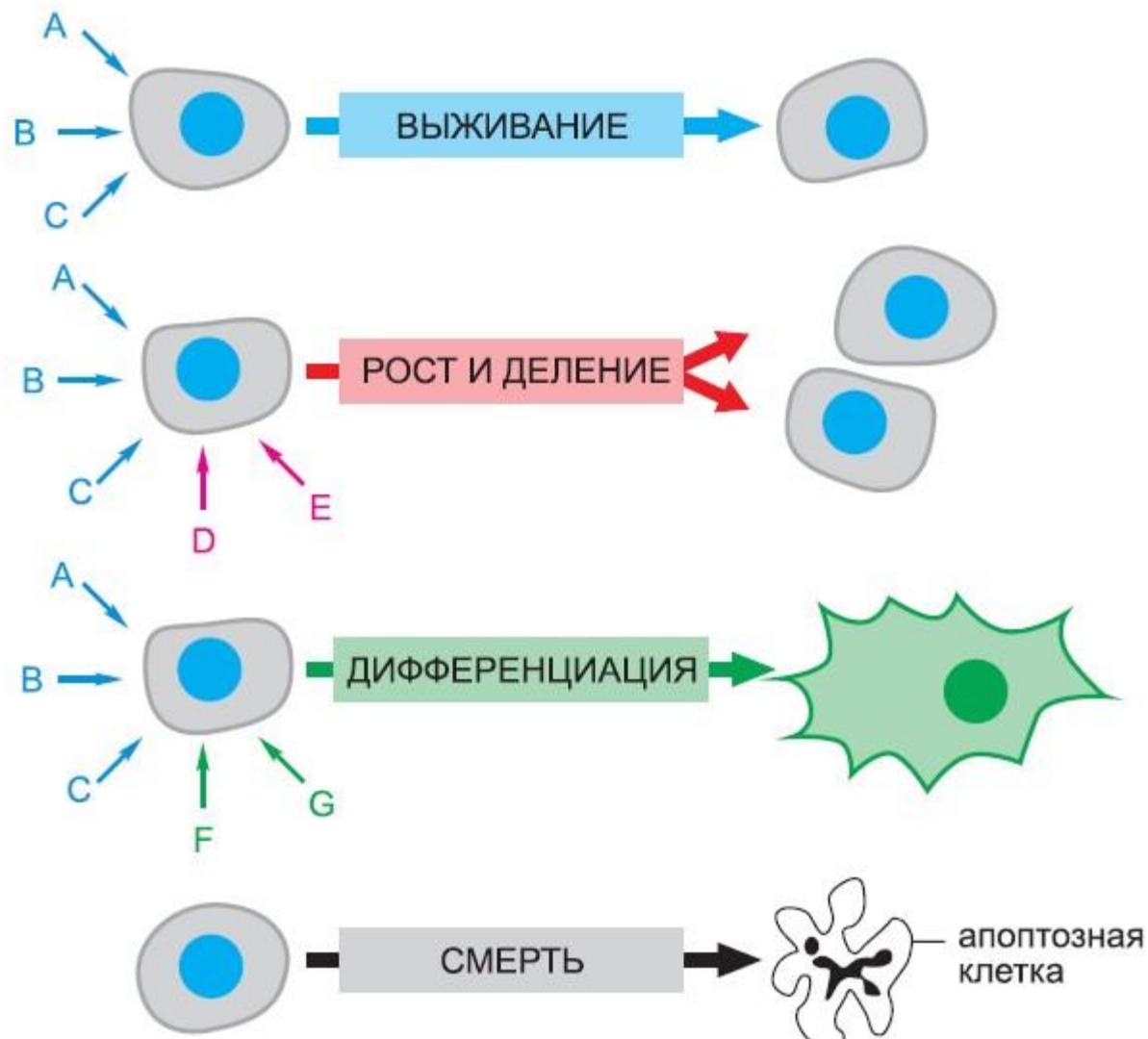
Транспортер глюкозы
на мышечных и жировых ↓
клетках

- Реакция клетки может быть
- 1) Быстрой и кратковременной (реакция на нейромедиатор)
 - 2) Медленной и продолжительной (влияние половых гормонов на половое созревание)

Превращение головастика в лягушку под действием тиреоидного гормона

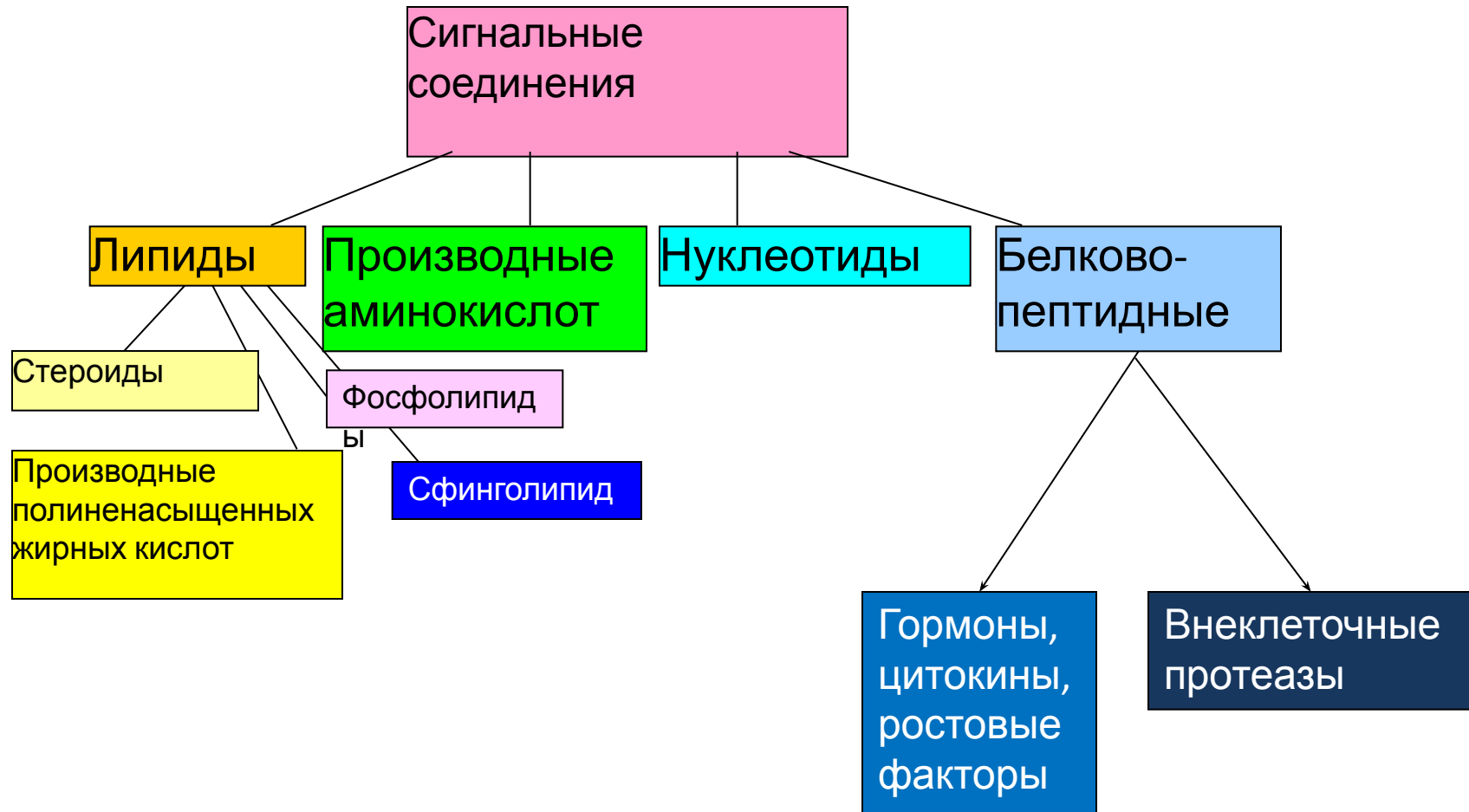


«Набор» сигналов определяет ответ клетки



Структура и биосинтез сигнальных соединений

Классификация сигнальных соединений по структуре



Ядерные рецепторы

Типы рецепторов

Арильных углеводов

Транскрипционные факторы

Активируемые лигандзависимым
Протеолизом (контактная передача)

Корегуляторы транскрипционных факторов

Электрофильных
ксенобиотиков

Репрессор транскрипционного фактора

М
е
м
б
р
а
н
н
ы
е
р
е
ц
е
п
т
о
р
ы

Гуанилатциклазы

Тирозинкиназы

Серин/треонинкиназы

Фосфатазы

Ферменты

Сопряженные с G-белками

Прогестинов и адипонектина

Сопряженные с
тирозинкиназами

Сопряженные с
адапторами

Антигенов и
антител

Прямо или опосредованно
сопряженные с ферментами

Кадгерины

Интегрины

Селектины

Иммуноглобулины

Молекулы клеточной
адгезии

Ионные каналы

Регуляторы ионной
проницаемости мембраны

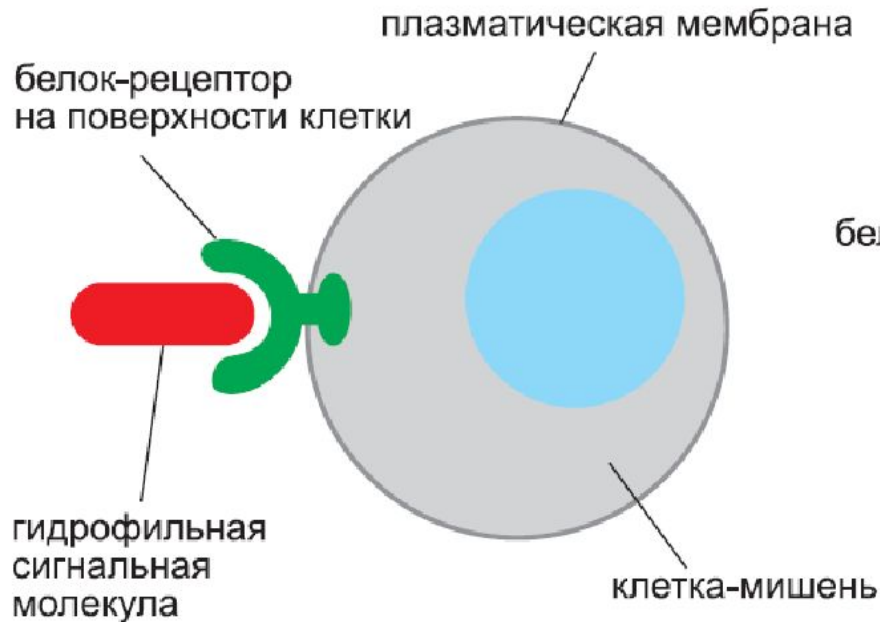
Внеклеточные сигнальные молекулы

специфически

связываются с рецепторами (б) гидрофобных (б) лигандов

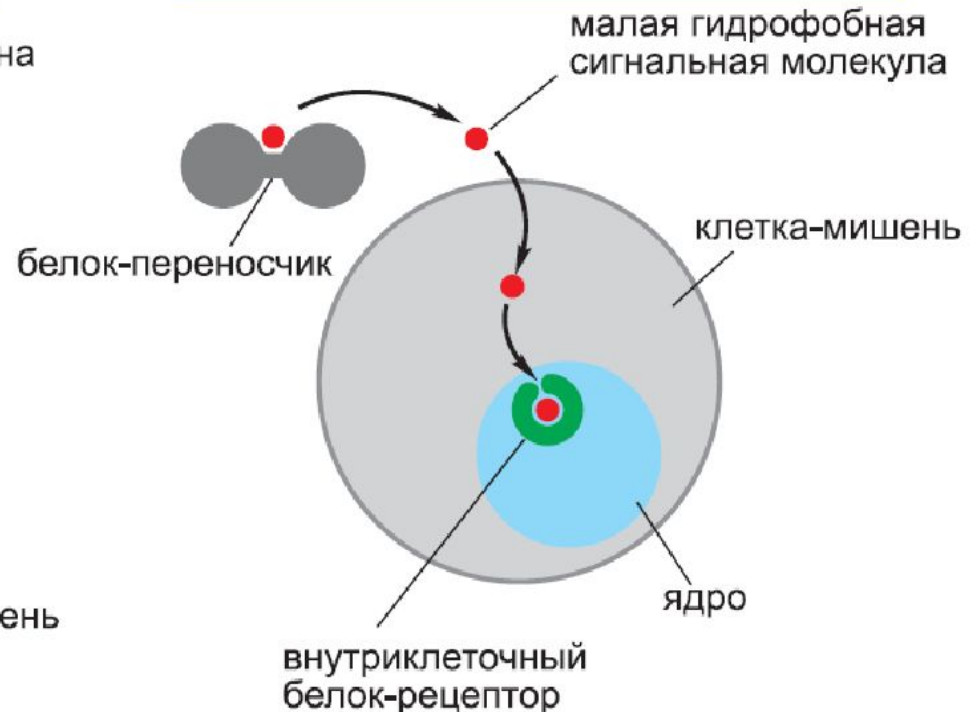
а)

РЕЦЕПТОРЫ ПОВЕРХНОСТИ КЛЕТКИ



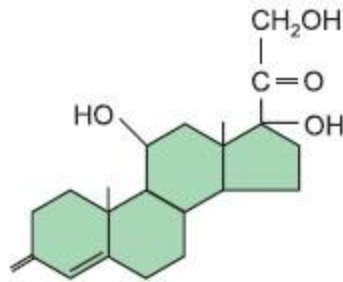
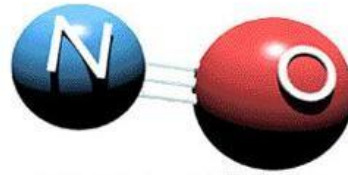
б)

ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ

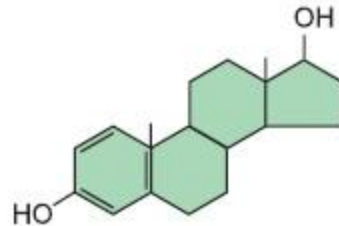




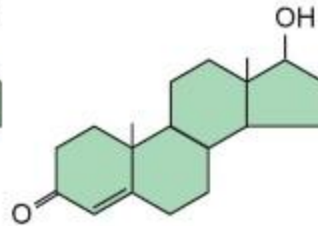
Сигнальные молекулы: малые молекулы и гидрофобные молекулы



кортизол



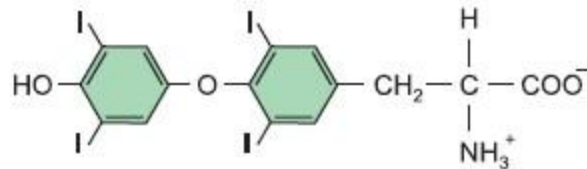
эстрадиол



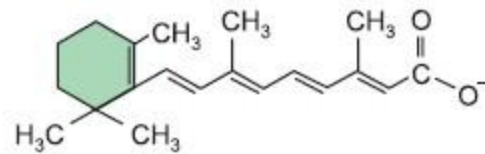
тестостерон



витамин D₃



тироксин



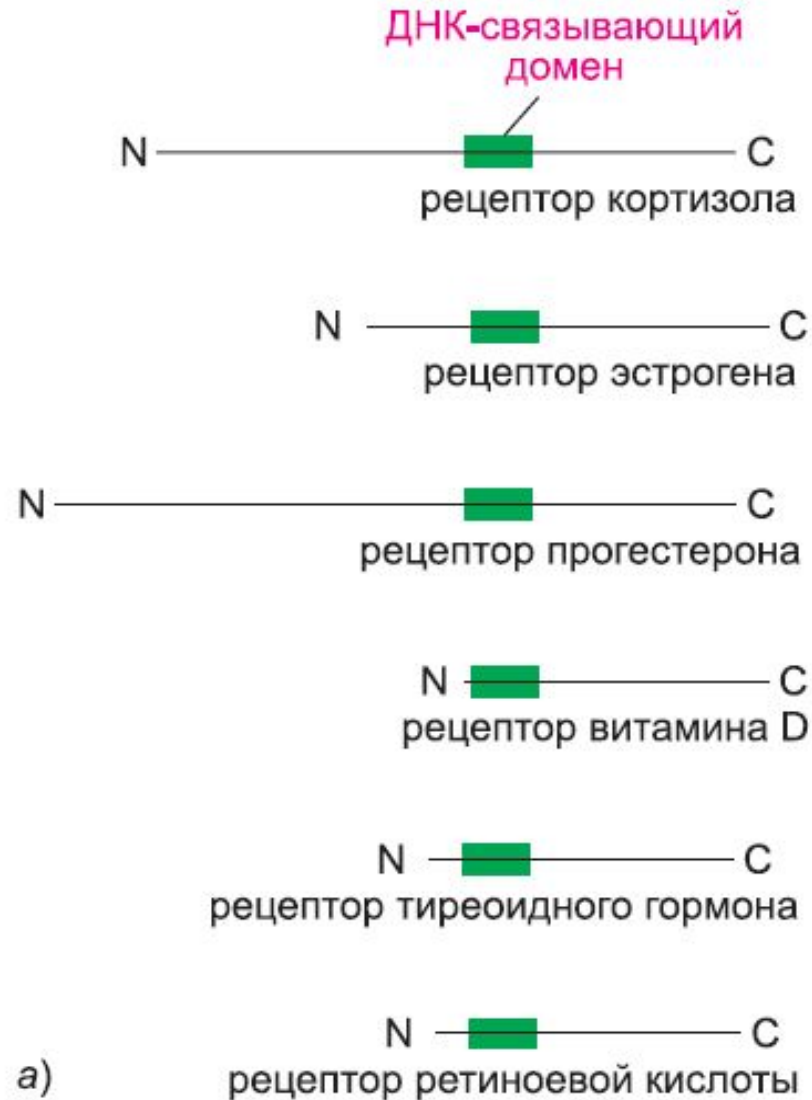
ретиновая кислота

Активируют внутриклеточные рецепторные белки и изменяют их способность регулировать транскрипцию определённых генов. **Суперсемейство ядерных рецепторов.**

Лиганды ряда таких рецепторов неизвестны – это ядерные рецепторы-сироты. К ним относятся 24 из 48 известных ядерных рецепторов генома человека. Некоторые ядерные рецепторы регулируются клеточными метаболитами – активируемые пролифераторами пероксисом рецепторы (PPARs).

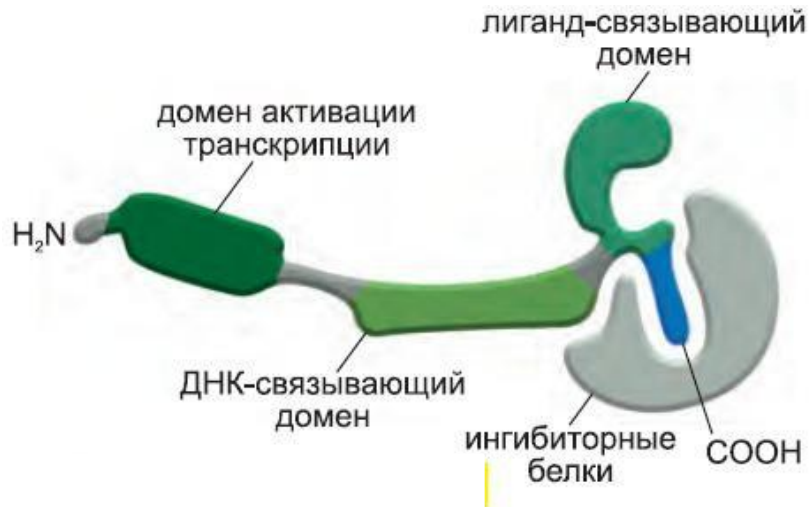
**Ядерные рецепторы — это лиганд-
зависимые белки-
регуляторы генов**

Все ядерные рецепторы имеют ДНК-связывающий домен

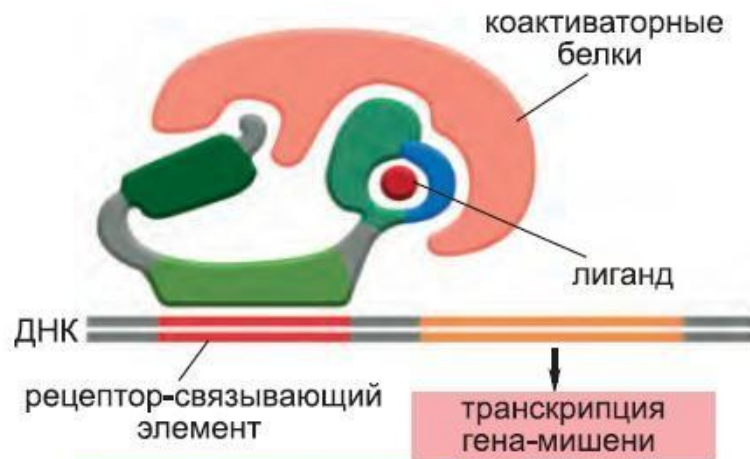


Ядерный рецептор

до активации

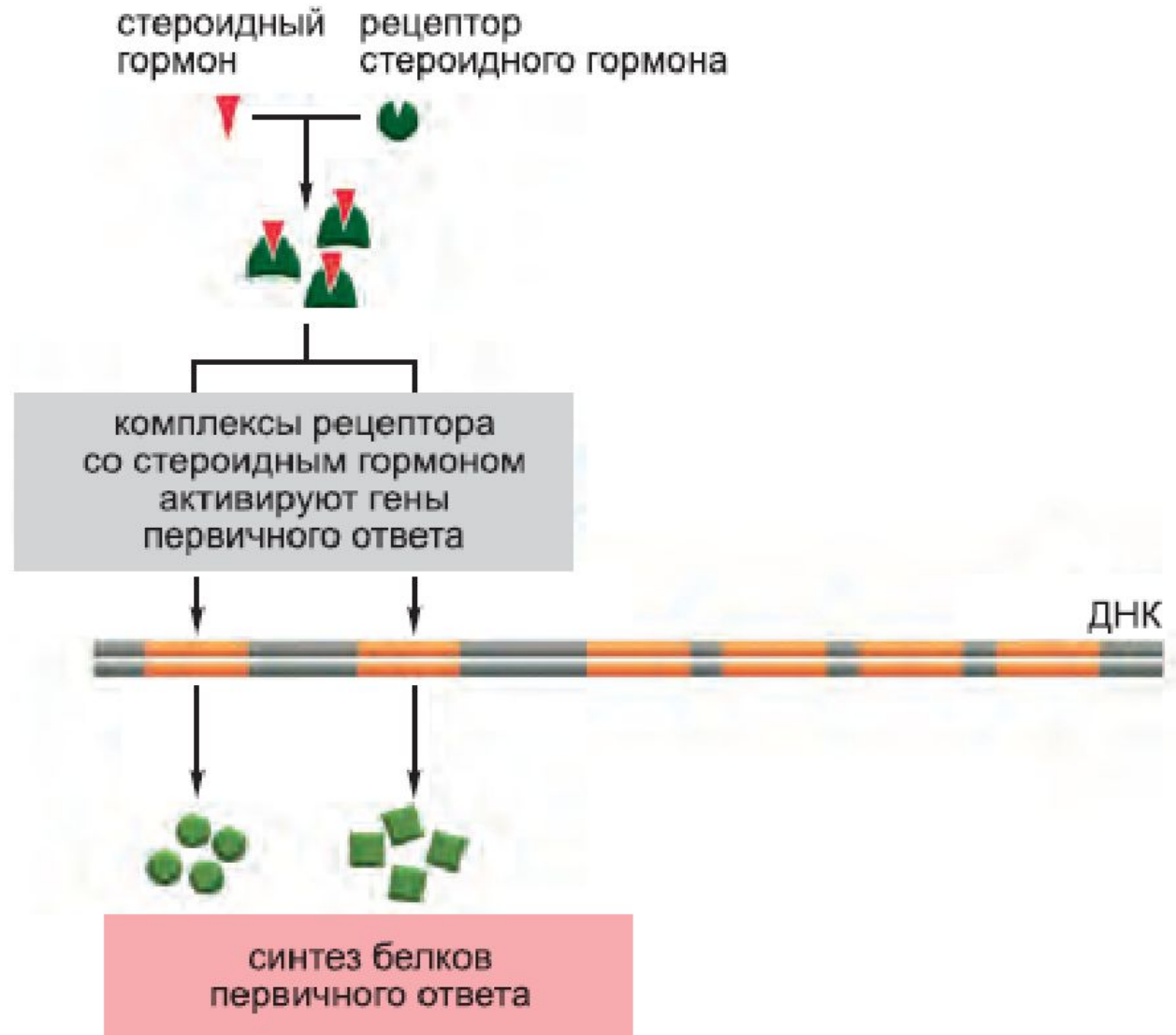


после активации

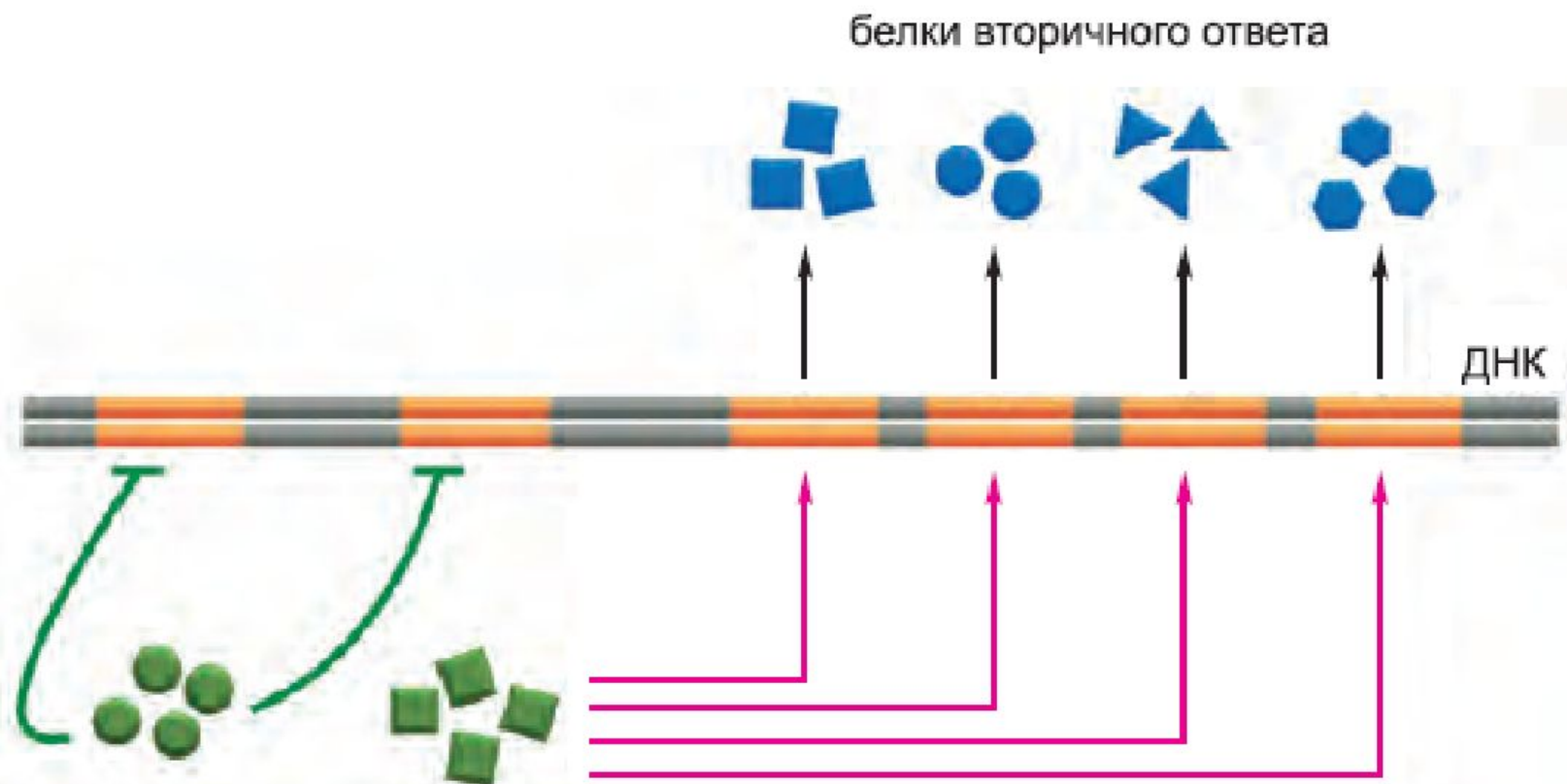


Транскрипционный ответ протекает в несколько этапов:

а) ПЕРВИЧНЫЙ (РАННИЙ) ОТВЕТ НА СТЕРОИДНЫЙ ГОРМОН



б) ВТОРИЧНЫЙ (ЗАМЕДЛЕННЫЙ) ОТВЕТ НА СТЕРОИДНЫЙ ГОРМОН



белок первичного
ответа отключает гены
первичного ответа

белок первичного
ответа включает гены
вторичного ответа

Прямая регуляция NO специфических белков клетки-мишени

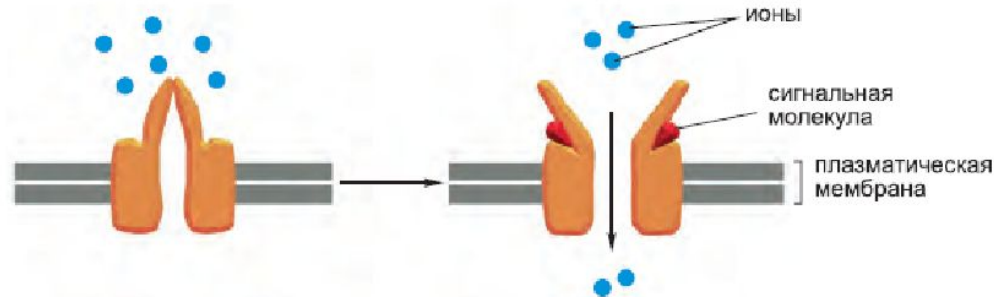
Расслабление гладкой мускулатуры сосуда под действием оксида азота



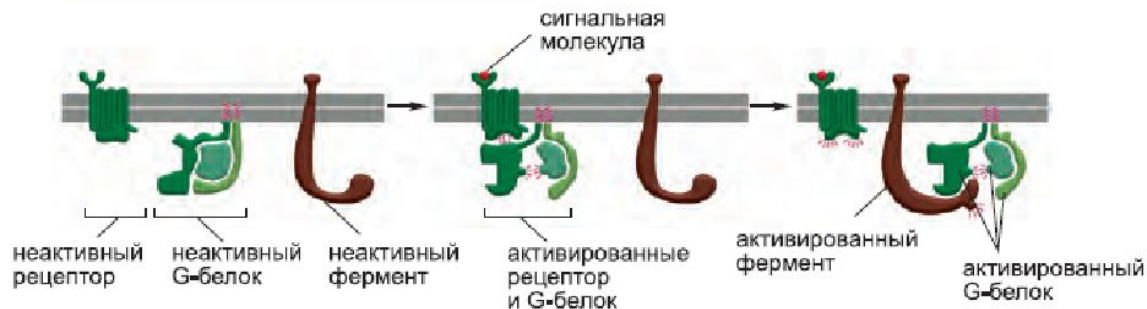
Препарат Виагра ингибирует фосфодиэстеразу cGMP, что приводит к повышению уровня cGMP за несколько секунд.

Сигнализация с участием поверхностных рецепторов (нейромедиаторы, пептидные гормоны, факторы роста)

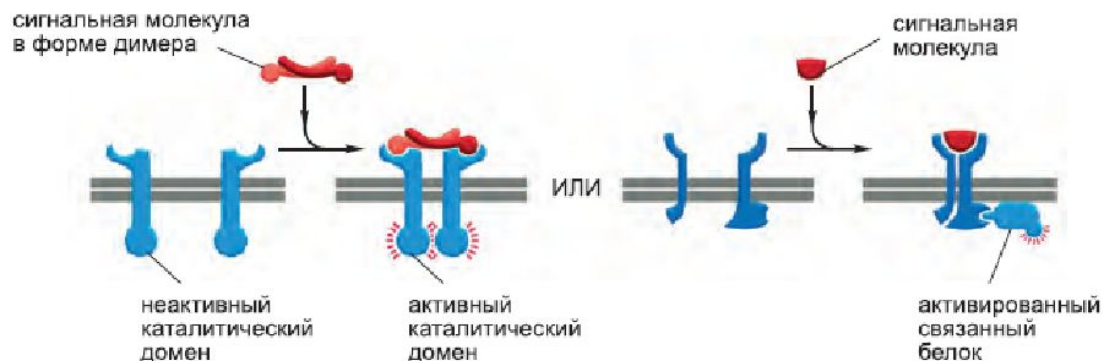
а) РЕЦЕПТОРЫ, СОПРЯЖЕННЫЕ С ИОННЫМИ КАНАЛАМИ



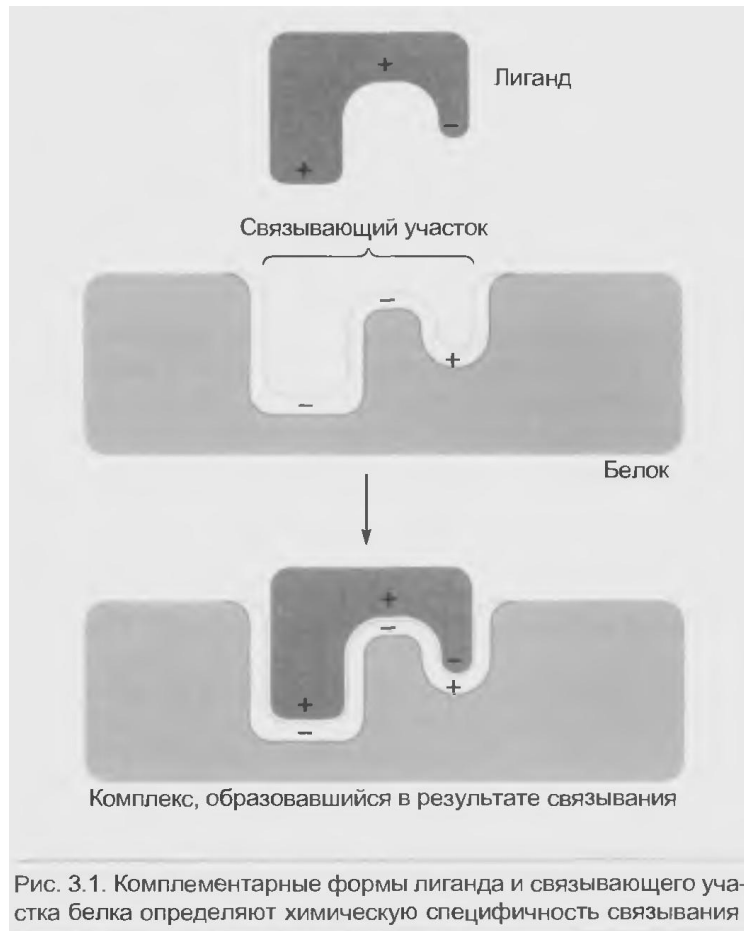
б) РЕЦЕПТОРЫ, СОПРЯЖЕННЫЕ С G-БЕЛКАМИ



в) РЕЦЕПТОРЫ, СОПРЯЖЕННЫЕ С ФЕРМЕНТАМИ



Лиганд – рецепторное взаимодействие



- **Лиганд** – химическая молекула, взаимодействующая с белками клеточной мембраны
- **Рецептор** – белок, связывающий сигнальную молекулу (лиганд) и инициирующий ответ клетки-мишени
- **Место связывания** – участок белковой молекулы (рецептора), способный связывать лиганд (электрическое или ван-дер-ваальсово взаимодействие)
- Связывание с лигандом **строго специфично**, что определяется **химической специфичностью**
- **Химическая специфичность** зависит **только от формы участка связывания**
- Другие участки способны

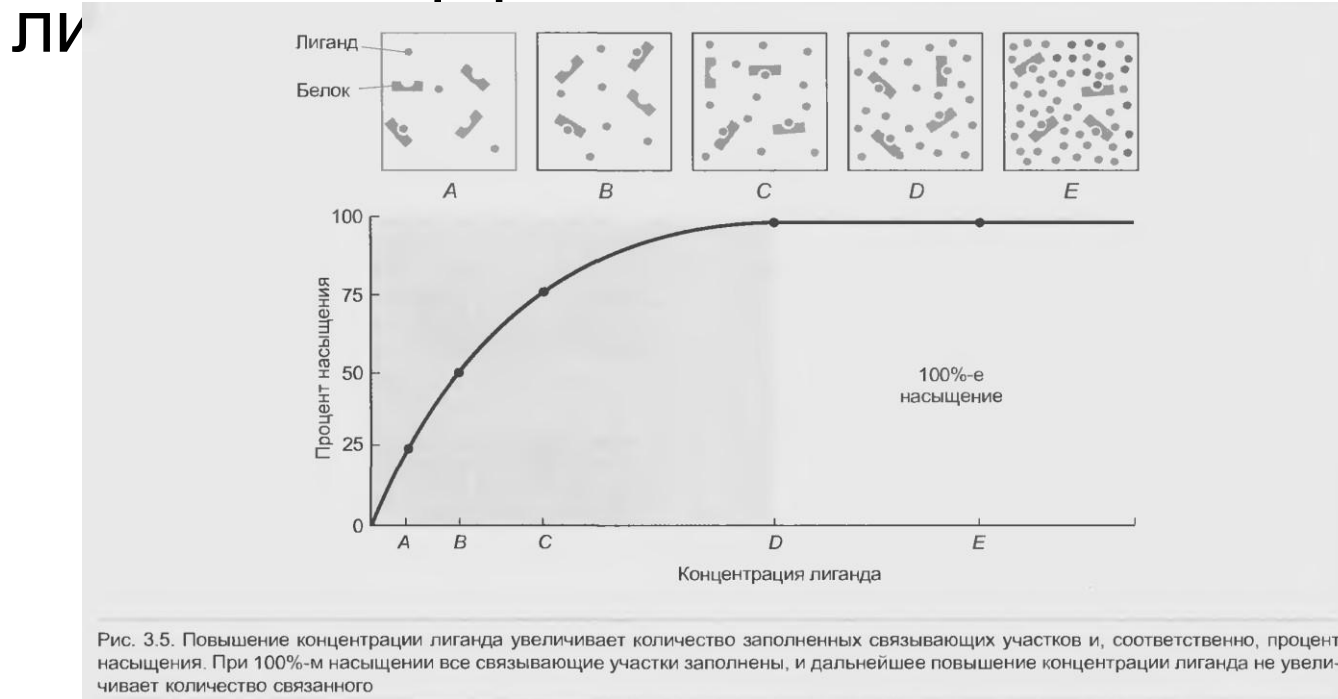
Аффинность

- **Аффинность** (сродство) – сила связывания лиганда с участком связывания (высокая или низкая)
- **Аффинность** зависит от **силы притяжения** между белком и лигандом



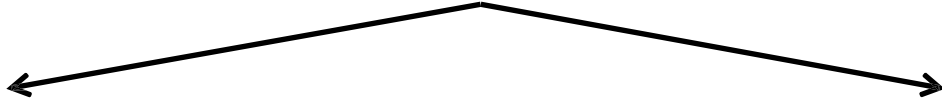
Сатурация

- **Насыщение (сатурация)** – совокупность участков связывания, занятых лигандом
- **Насыщение** зависит от концентрации ли



Агонисты и антагонисты

Лиганд



Агонист – лиганд, связывающийся с функциональным центром рецептора и вызывающий биологический ответ

Экзогенные агонисты:

- Ортостерические
- Алlostерические

Антагонист – лиганд, связывающийся с функциональным центром рецептора и предотвращающий действие агониста

Экзогенные антагонисты:

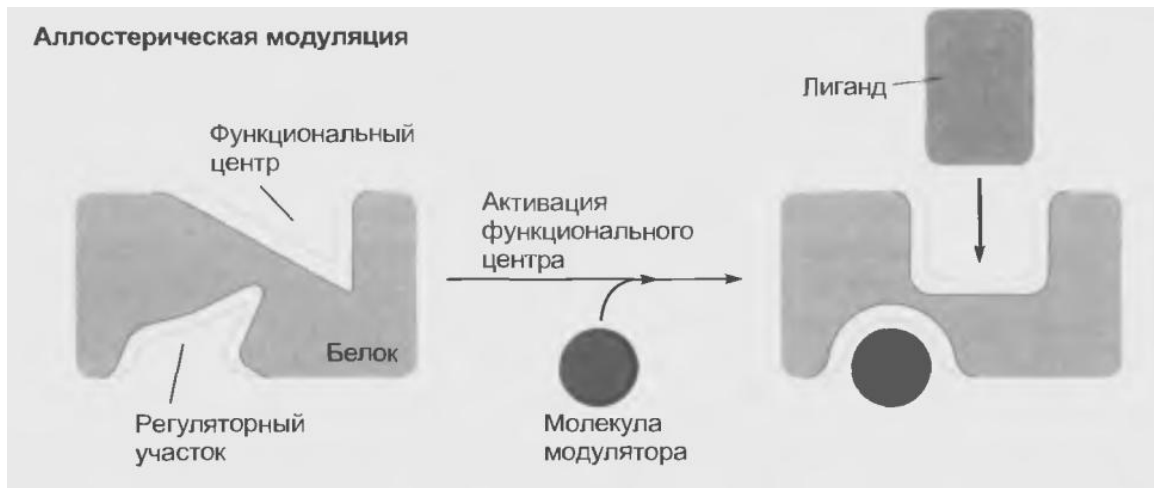
- Химический антагонизм
- Функциональный антагонизм:
 - Непрямой (конкуренция за место связывания)
 - Физиологический (через другой рецептор)

Регуляция связывания (активности белка)

- Контроль конформации белка
(форма участка связывания)
- Регуляция синтеза и деградации
белков

Регуляция связывания за счет изменения конформации белка

Аллостерическая модуляция



Модулятор – лиганд, связывающийся с регуляторным центром рецептора и аллостерически изменяющий форму молекулы рецептора и активность функционального центра

Аллостерический – связанный с другим местом

Типы аллостерических модуляторов

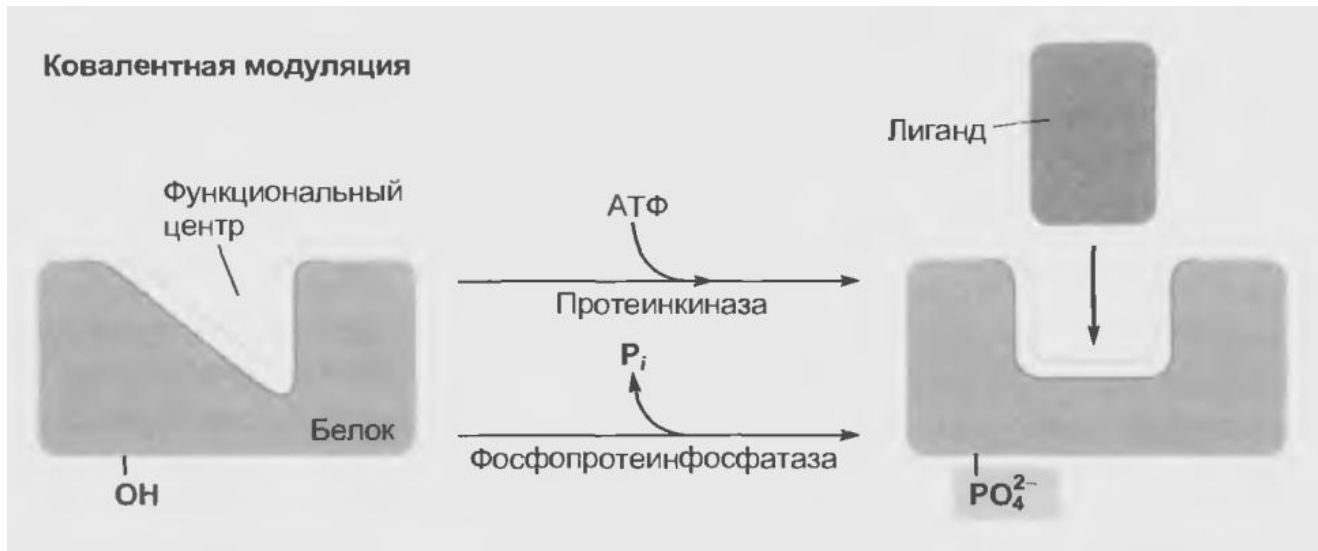
- **Аллостерические усилители** (enhancers) – модуляторы, усиливающие аффинность ортостерических лигандов и/или эффективность агониста без собственного эффекта
- **Аллостерические антагонисты** - модуляторы, уменьшающие аффинность ортостерических лигандов и/или эффективность агониста
- **Аллостерические агонисты или активаторы** - модуляторы, которые опосредуют активацию рецептора путем взаимодействия с собственным участком связывания на рецепторе, отличным от ортостерического участка связывания
- **Нейтральные аллостерические лиганды** - модуляторы, которые взаимодействуют с аллостерическим участком связывания на рецепторе, не влияют на функцию ортостерического агониста, но блокируют эффекты аллостерических модуляторов, действующих через этот же участок связывания

Типы лиганд-лигандных взаимодействий

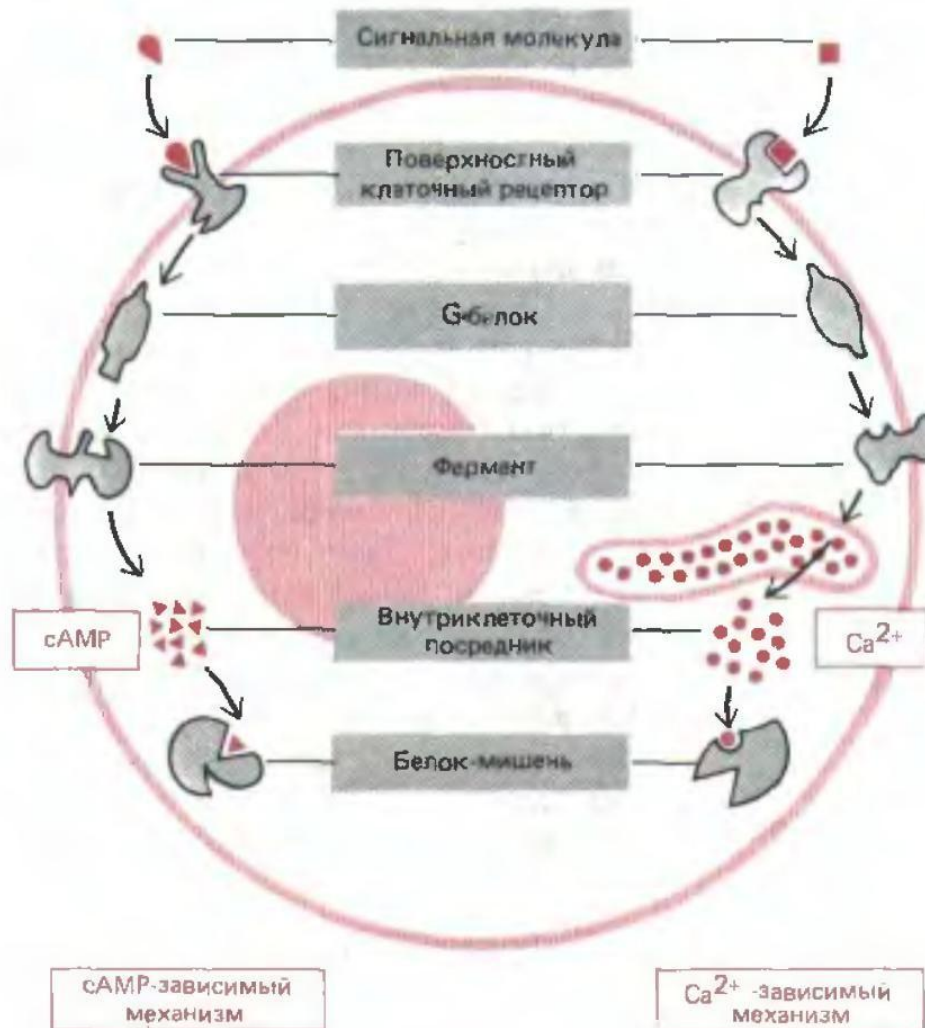
- **Синтопическое взаимодействие** – взаимодействие между лигандами, которые связываются с одним и тем же участком распознавания или перекрывающимися участками распознавания на одной рецепторной молекуле
- **Аллостерическое взаимодействие** – взаимодействие между лигандами, которые связываются с отличающимися или неперекрывающимися участками распознавания на одной рецепторной молекуле

Регуляция связывания за счет изменения конформации белка

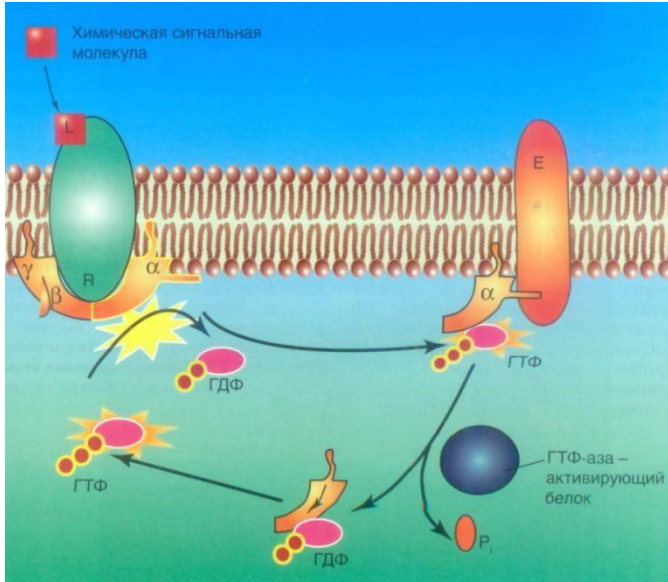
Ковалентная модификация (фосфорилирование/дефосфорилиро вание)



Сигнализация с участием поверхностных рецепторов: пути передачи



Сигнализация с участием поверхностных рецепторов: ГТФ (GTP)-связывающие белки (G- белки)



Гетеротримерные G-белки – посредники между мембранными рецепторами и более чем 100 другими регуляторными молекулами

G_s-белки – повышают активность АЦ

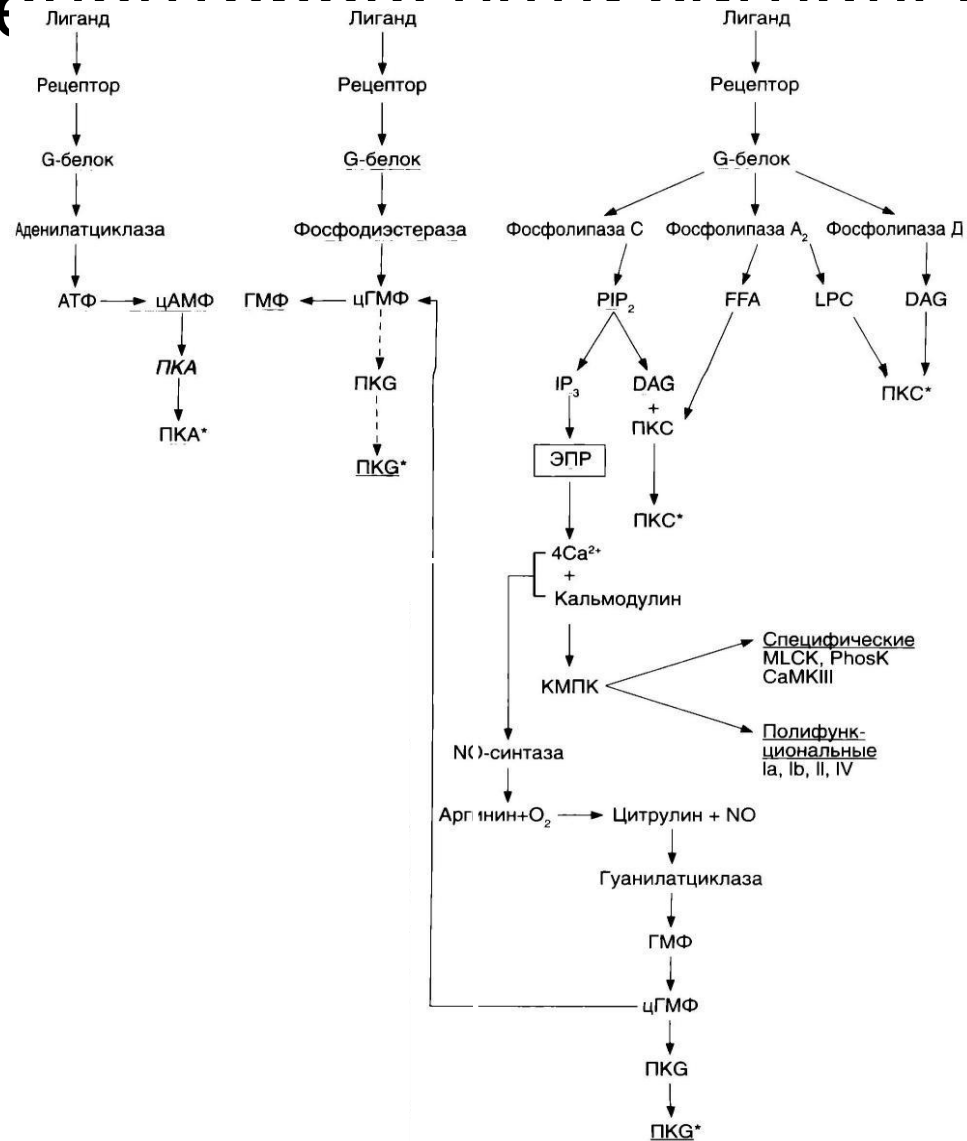
G-белки – активируют каналы

Таблица 12-3. Некоторые GTP-связывающие регуляторные белки, участвующие в передаче сигнала в клетке

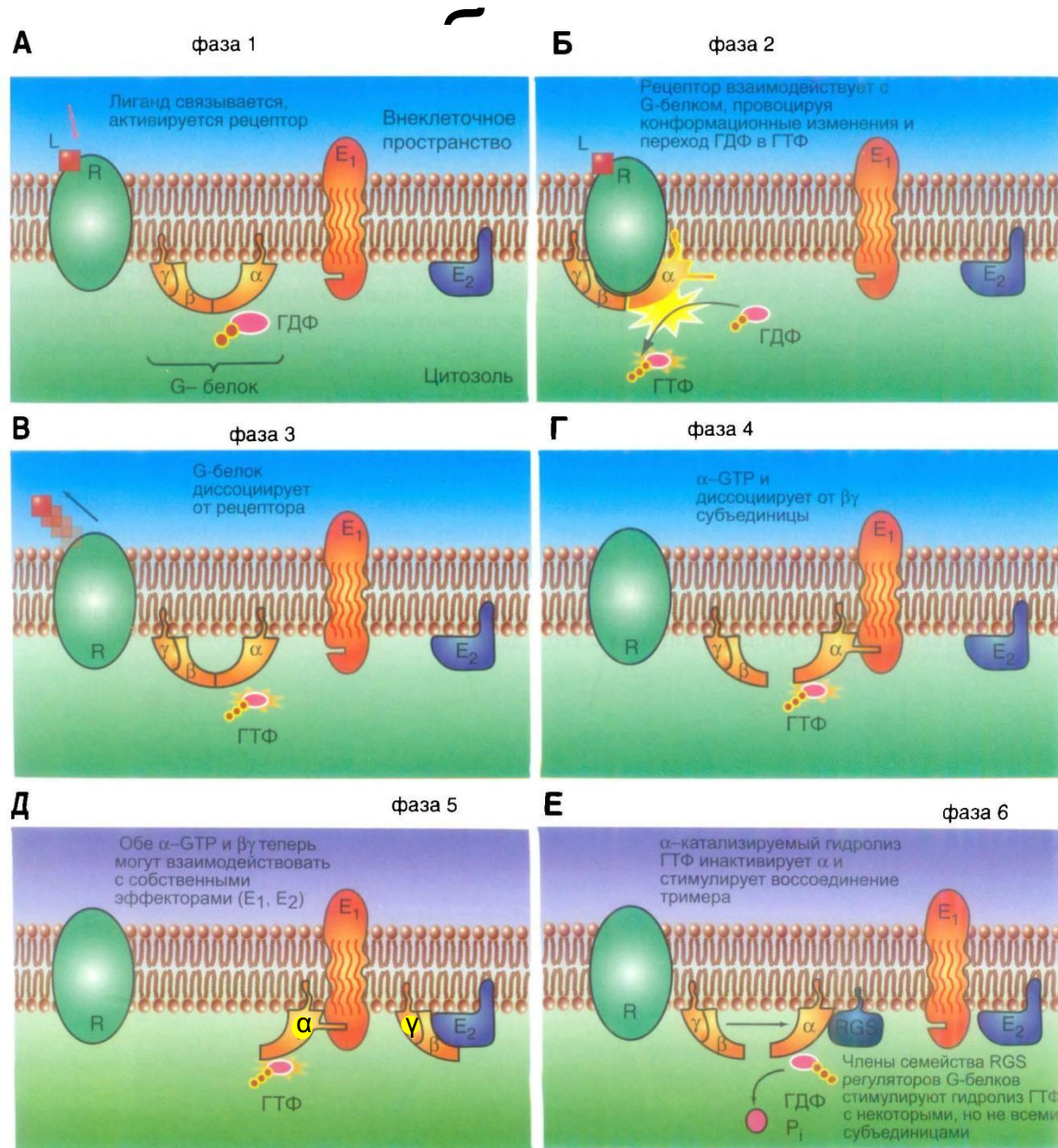
Тип G-белка	α -Субъединица ¹	Функция	Модифицирующий токсин	бактериальный
G _s	α_s	Активация аденилатциклазы	Холерный	
G _i	α_i	Инактивация аденилатциклазы	Коклюшный	
G _p	?	Активация фосфоинозитид-специфической липазы C	фосфо-Коклюшный (только в некоторых клетках)	
GO	α_0	Главный G-белок головного мозга; регулировать ионные каналы	Коклюшный	
Трансдуцин	T α	Активация сGMP-фосфо-диэстеразы в сетчатки позвоночных (см. разд. 12.3.12)	палочках Коклюшный и холерный	
ras-Белки	- ²	Участвуют в стимуляции клеточного деления факторами роста (см. разд. 12.3.11 и 13.4.5)		

Сигнализация с участием поверхностных

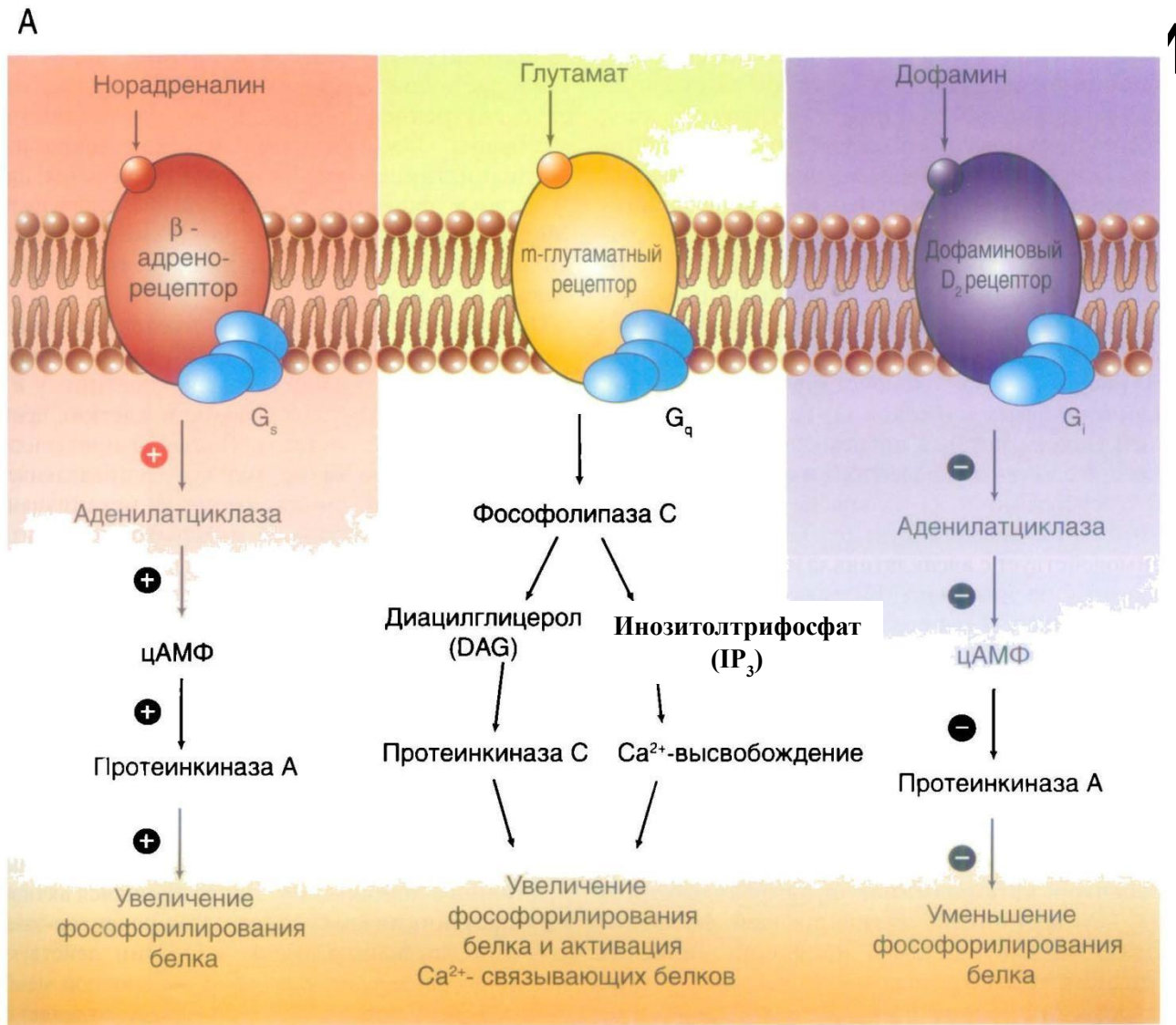
рецепторов



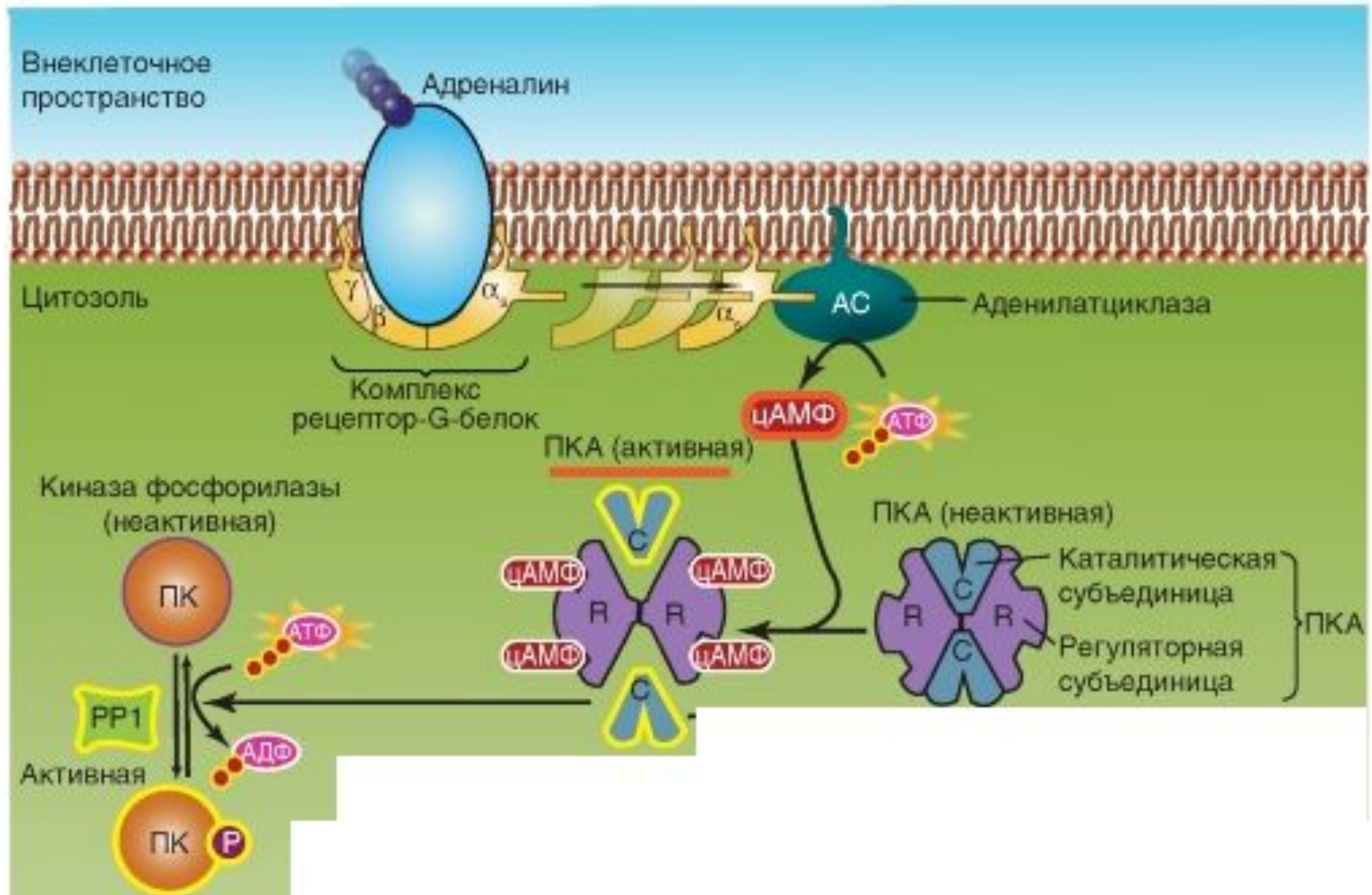
Цикл работы гетеротримерного G-



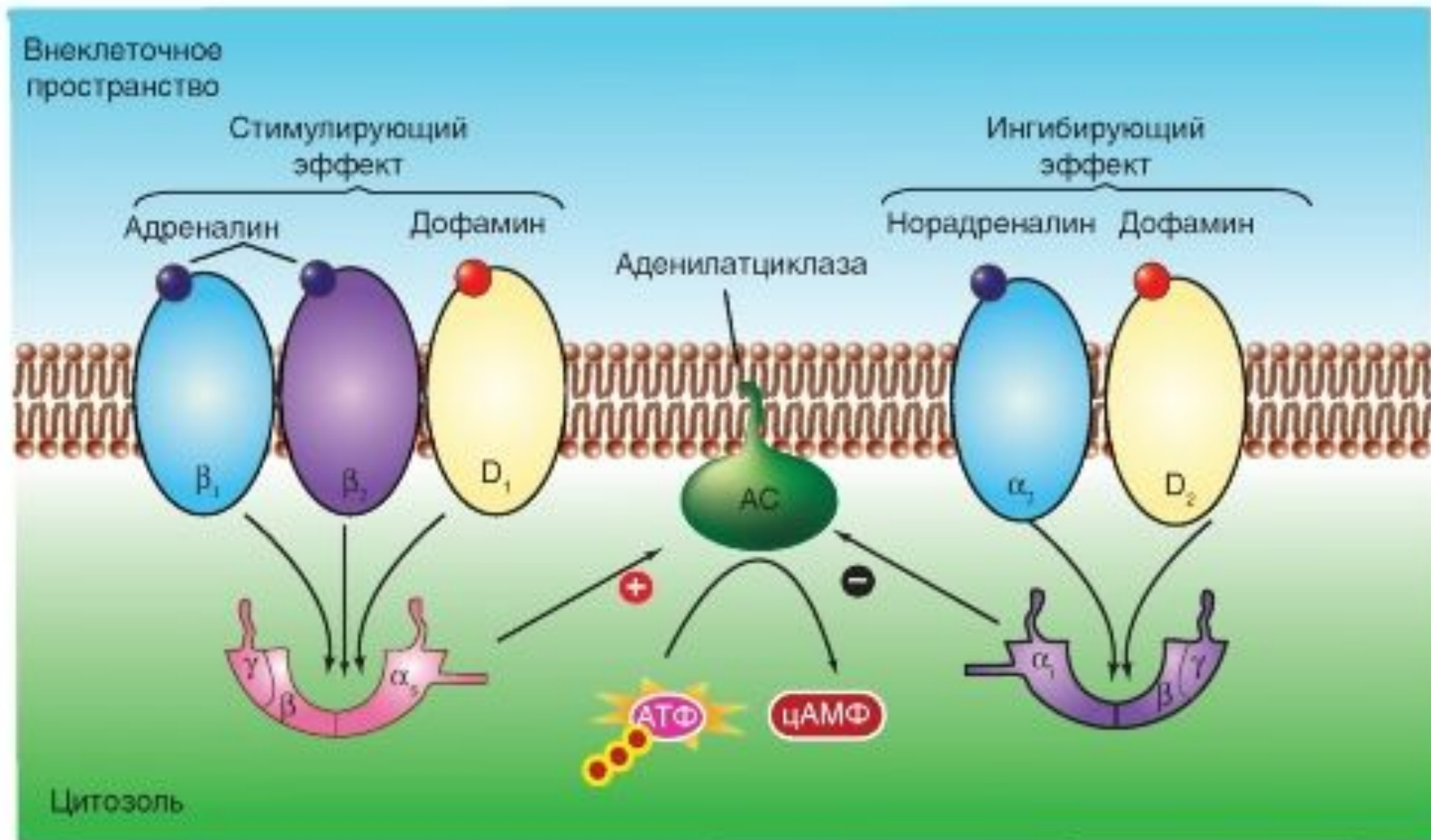
Пути сигнальной трансдукции через



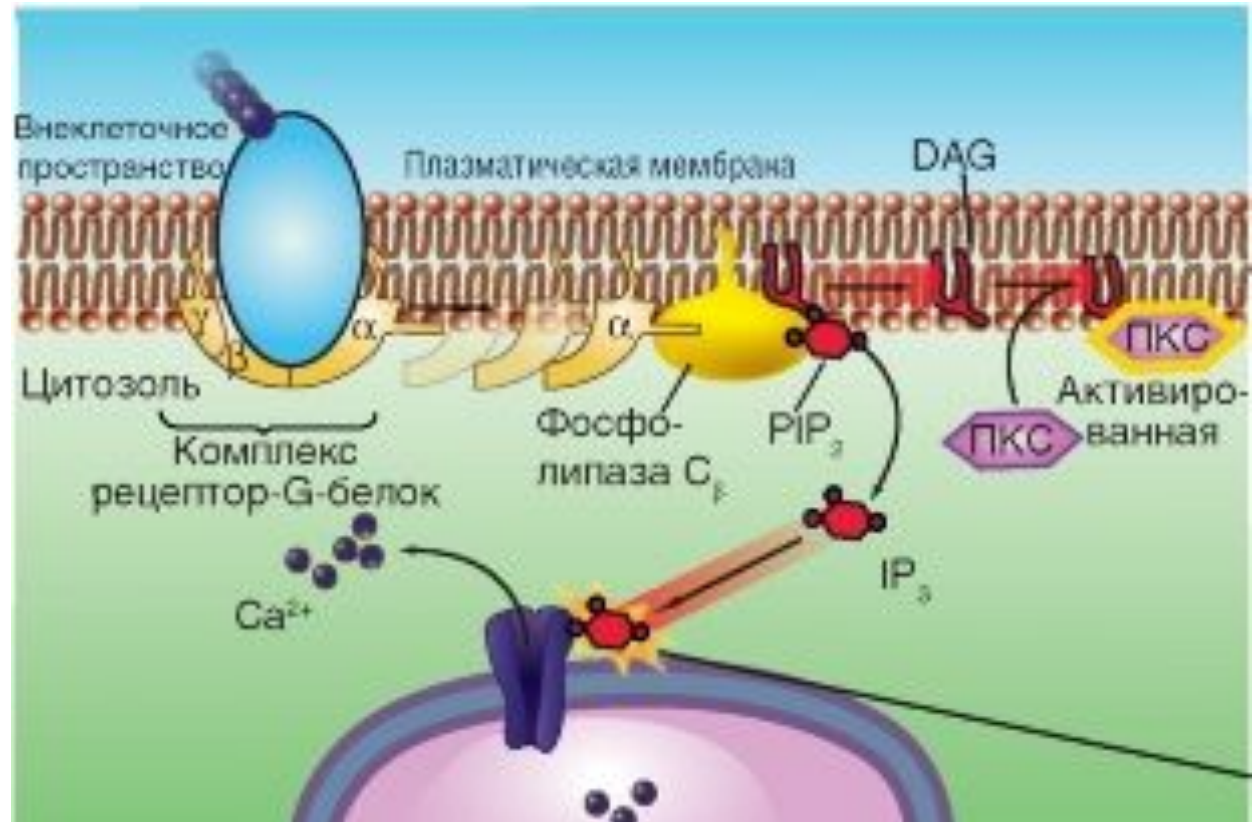
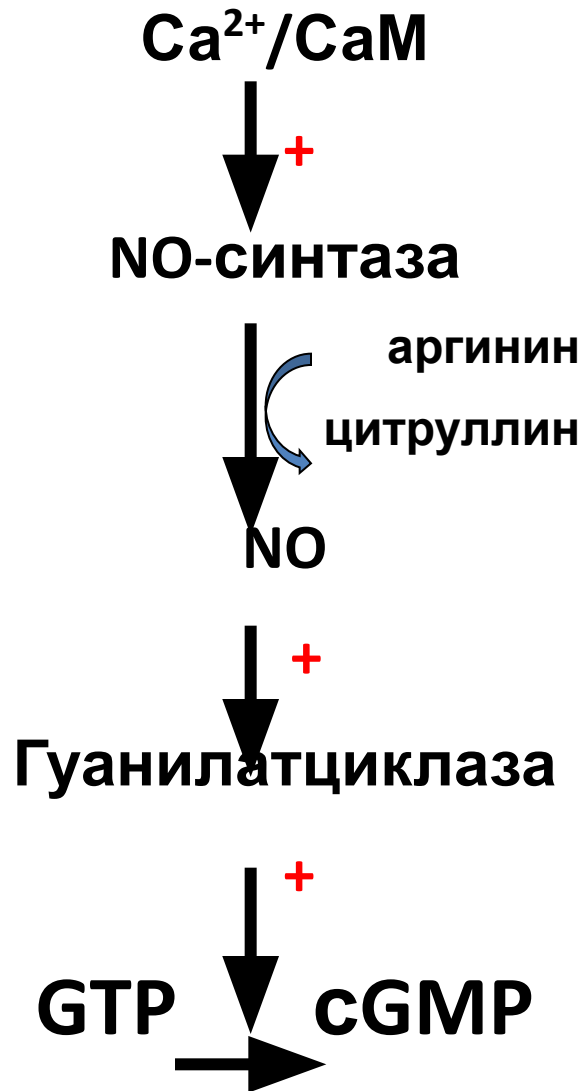
Активация аденилатциклазной системы



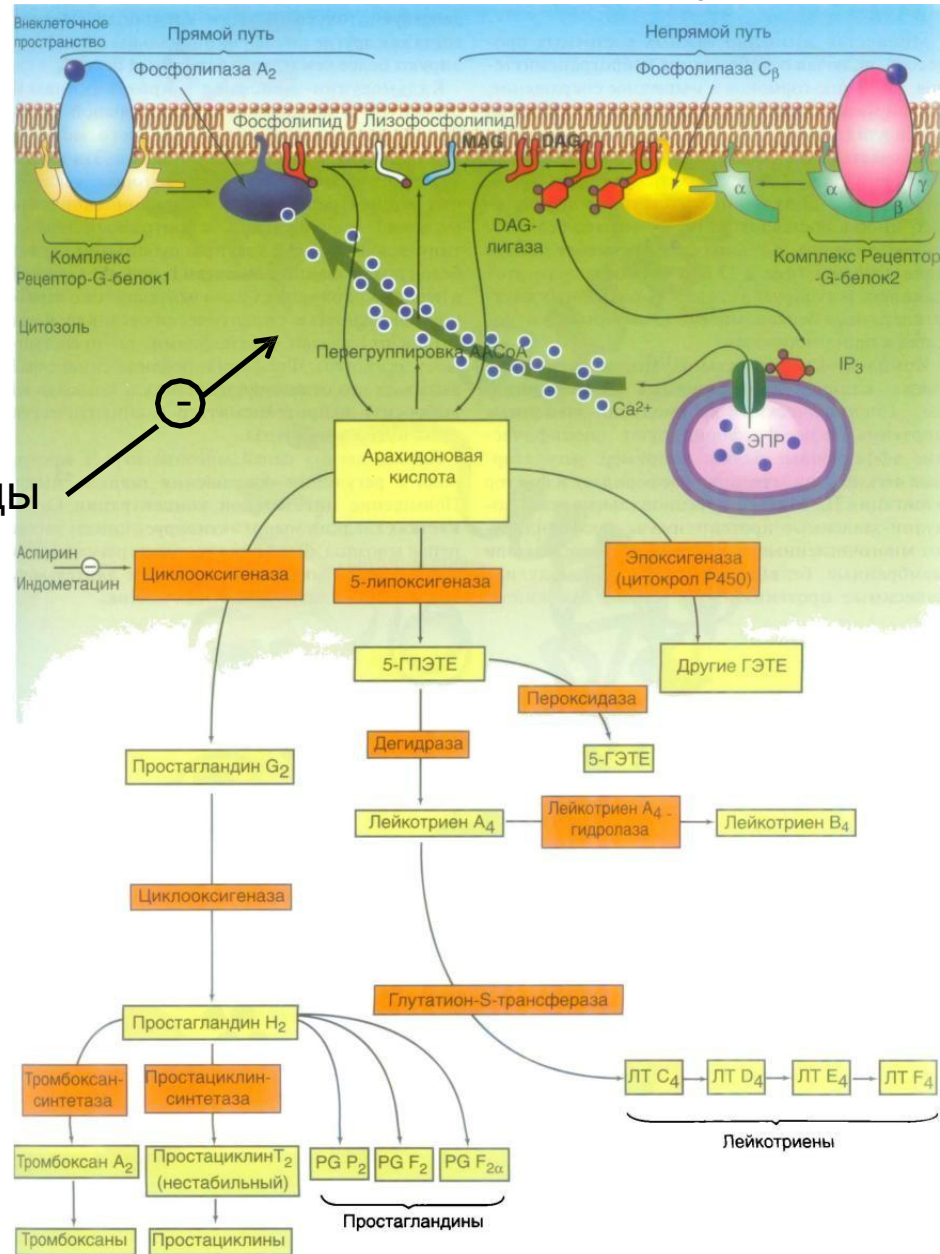
Гормональная регуляция аденилатциклазной системы



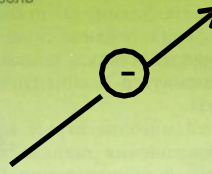
Активация фосфолипазы C_β



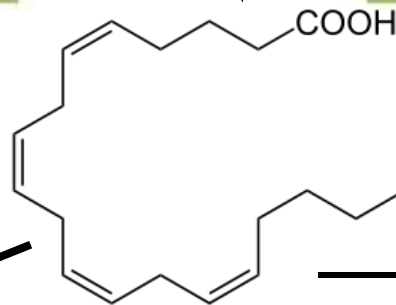
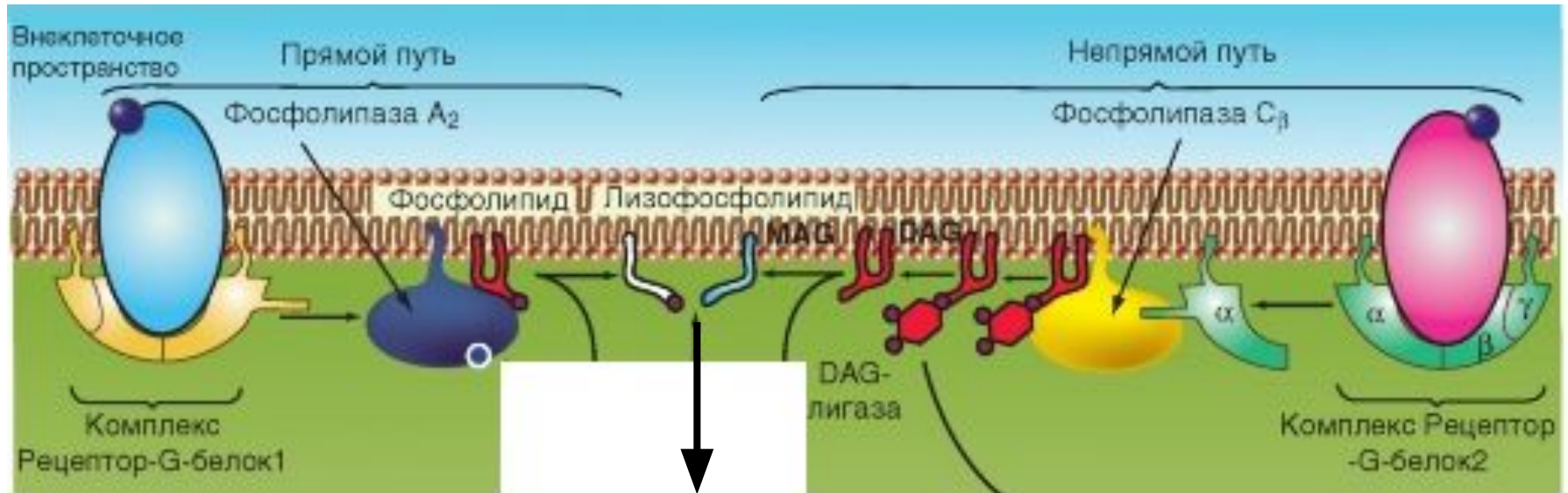
Фосфолипазы и связанные с ними сигнальные пути



Глюкокортикоиды



Сигнальные пути арахидоновой кислоты



Липоксигеназа

Циклооксигеназа

Простагландины

Простациклины

Тромбоксаны

Лейкотриены

Мономерные малые G-белки

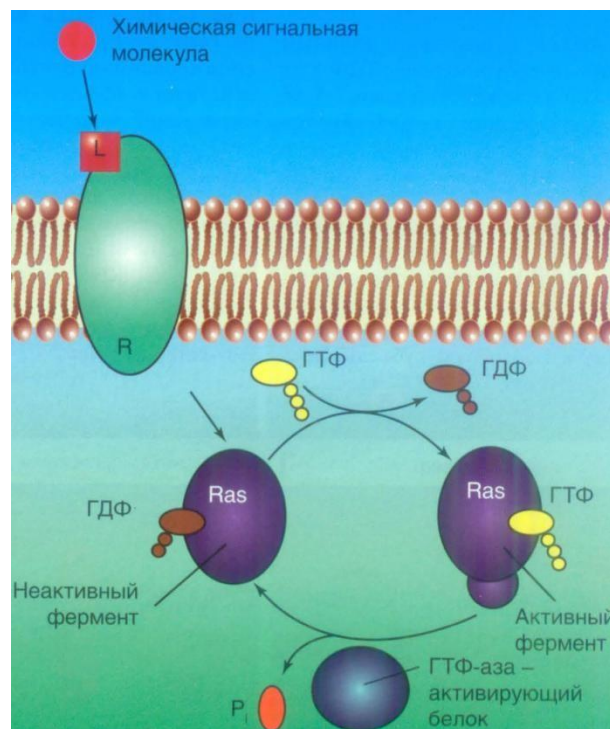


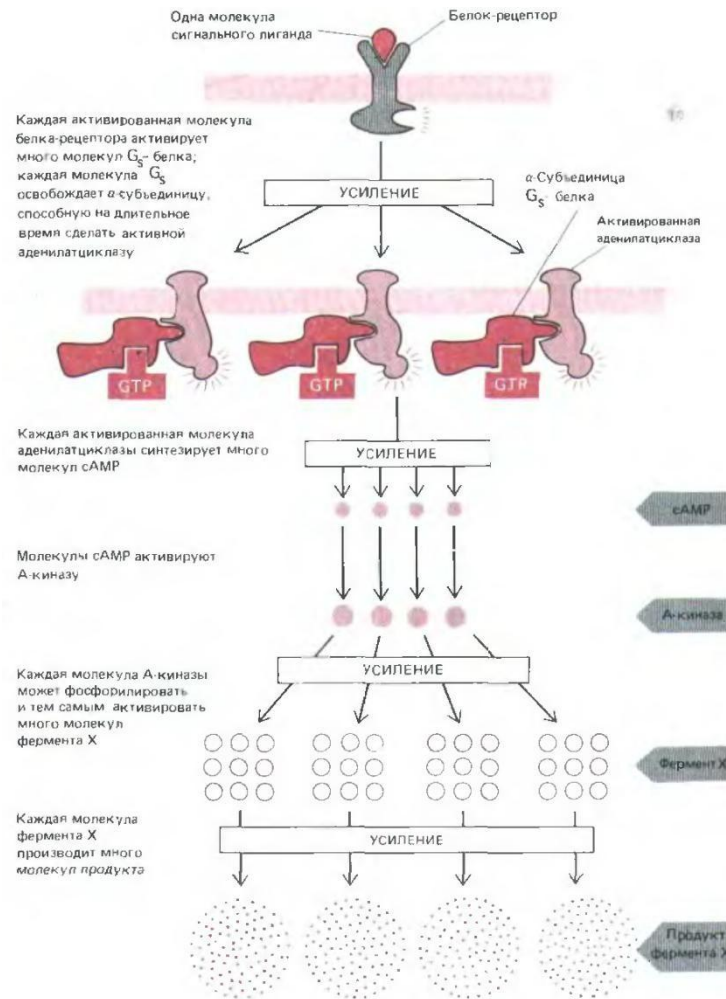
Таблица 2-2. Подсемейства мономерных ГТФ-связывающих белков и некоторые регулируемые ими внутриклеточные процессы

Подсемейство	Клеточные эффекты
Ras-подобные белки	Контроль роста и дифференцировки
Rho-подобные белки (включая Rac)	Контроль полимеризации актиновых филаментов и их сборки в специализированные структуры типа фокальной адгезии
Rab-подобные белки	Контроль везикулярного транспорта путем направления везикул к определенным мембранам
ARF-подобные белки	Регуляция сборки и разборки белков, покрывающих везикулы, и контроль везикулярного транспорта

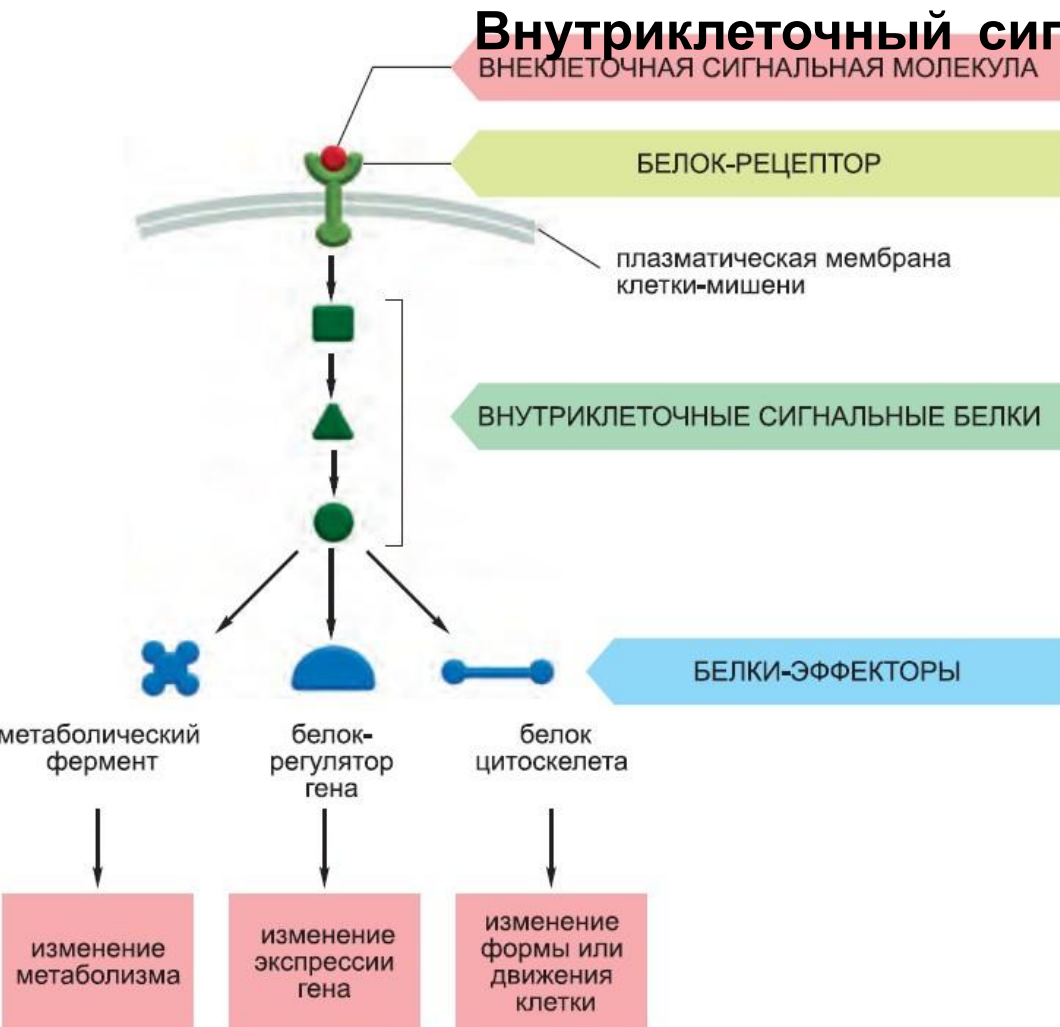
Функция вторичных посредников – многократное усиление сигнала и возможность регуляции ответа на него

10^{-9} M

10^{-6} M

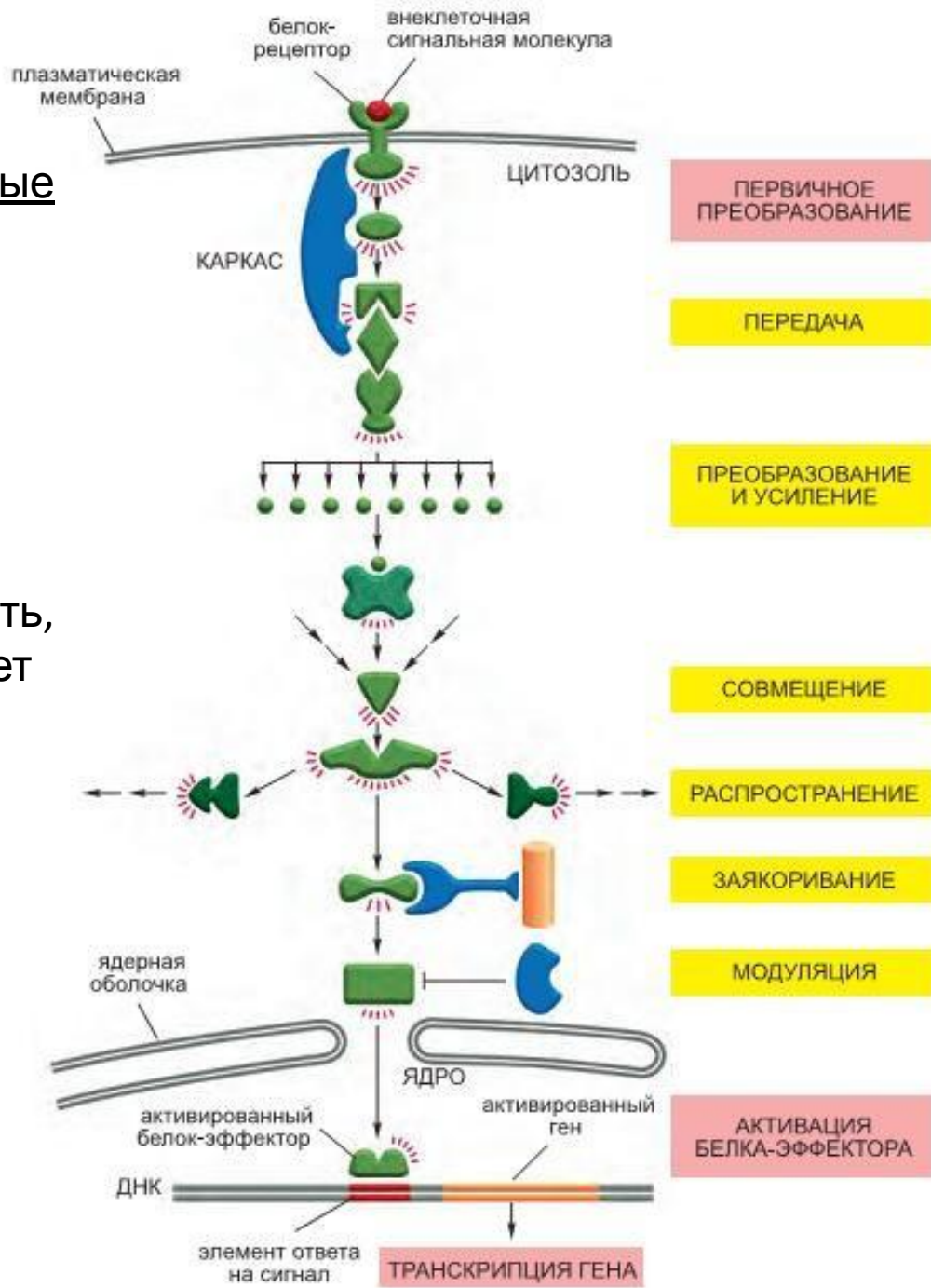


Набор малых и крупных внутриклеточных сигнальных молекул передает полученные на поверхности сигналы посредством рецепторов, сопряженных с G-белками или ферментами, внутрь клетки. Последовательность внутриклеточных сигнальных событий в конце концов изменяет белки-эффекторы, отвечающие за модификацию функционирования клетки



Малые молекулы образуются в больших количествах в ответ на активацию рецепторов и часто диффундируют от своего источника, распространяя сигнал в другие части клетки. Примеры: циклический АМР и Ca^{2+} , диацилглицерин. Они передают сигнал посредством связывания с определенными сигнальными белками или белками-эффекторами и изменения их конформации и активности.

Крупные внутриклеточные сигнальные молекулы — это внутриклеточные сигнальные белки, которые способствуют передаче сигнала в клетку за счет синтеза малых внутриклеточных медиаторов или активации следующего сигнального или эффекторного белка пути. Эти белки образуют функциональную сеть, в которой каждый белок способствует обработке сигнала одним из следующих способов по мере распространения сигнала по клетке



Многие внутриклеточные сигнальные белки играют роль

молекулярных переключателей

Два важных класса молекулярных переключателей белков, активируемых или инактивируемых путем фосфорилирования. Переключение этих белков осуществляют

протеинкиназа, которая ковалентно присоединяет одну или несколько фосфатных групп к сигнальному белку, и протеинфосфатаза, которая удаляет фосфатные группы.

Активность любого белка зависит от равновесия между активностями фосфорилирующих его киназ и дефосфорилирующих фосфатаз. Человеческий геном кодирует примерно 520 протеинкиназ и 150 протеинфосфатаз.

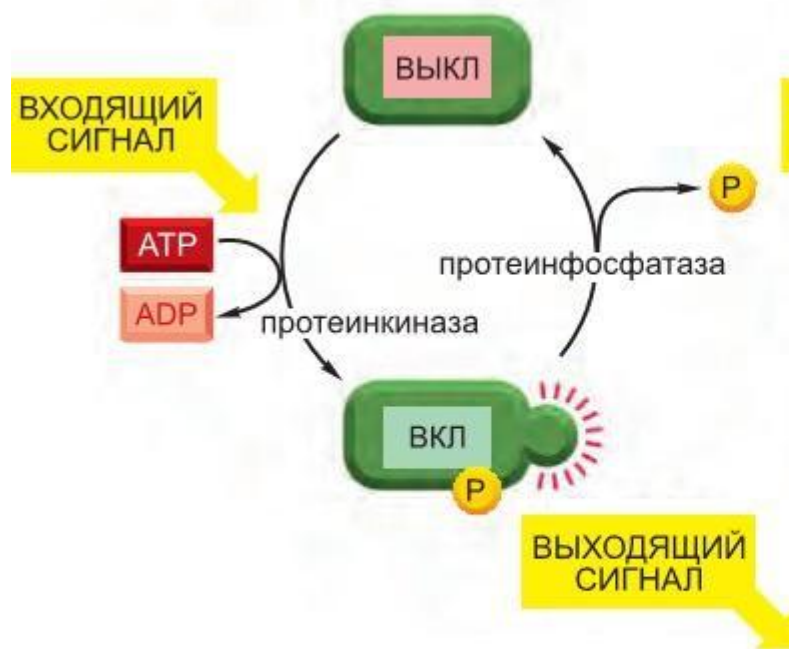
Многие сигнальные белки, регулируемые фосфорилированием, сами по себе являются протеинкиназами. Часто они образуют каскады фосфорилирования.

В качестве внутриклеточных сигнальных белков выступают два основных типа протеинкиназ.

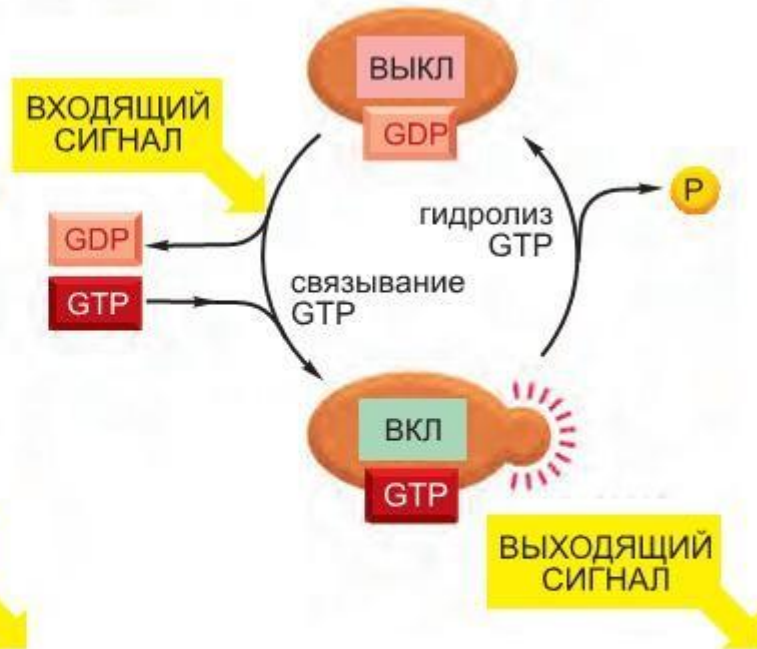
1. Это серин-треониновые киназы, фосфорилирующие белки по серинам и (значительно реже) треонинам.

2. Тирозинкиназы, фосфорилирующие белки по тирозинам.

Некоторые киназы способны действовать по обоим механизмам



а) СИГНАЛИЗАЦИЯ ПУТЕМ
ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ



б) СИГНАЛИЗАЦИЯ ПУТЕМ
СВЯЗЫВАНИЯ GTP

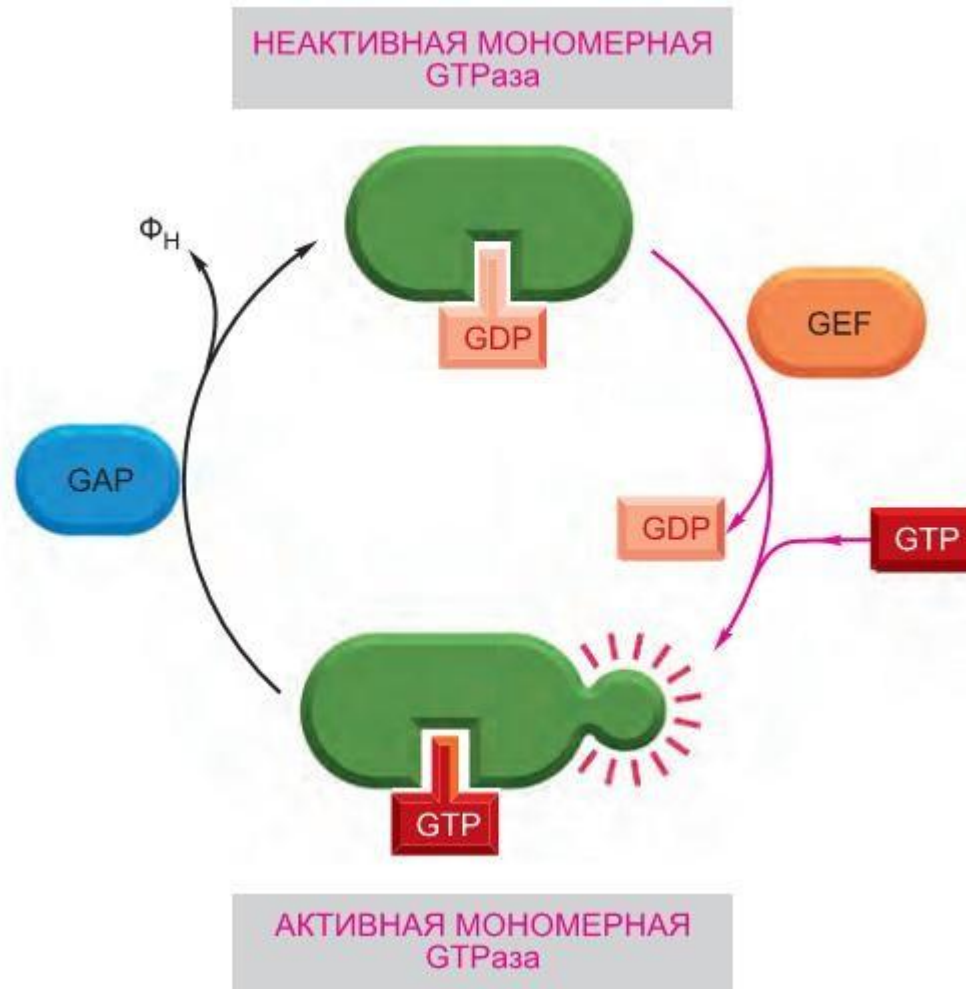
Второй важный класс молекулярных переключателей GTP- связывающие (переключаются из активного состояния белки связанным GTP в неактивное со связанным GDP)

В активном состоянии они обладают GTPазной активностью и инактивируют себя, гидролизуя связанный GTP до GDP

Два основных типа GTP-связывающих белков. **Крупные тримерные GTP-связывающие белки (также называемые G-белками)** передают сигнал от активирующих их сопряженных с G-белками рецепторов. Небольшие **мономерные GTPазы** (также называемые мономерными GTP-связывающими белками) передают сигналы от многих классов поверхностных рецепторов.

Специфические регуляторные белки контролируют оба типа GTP-связывающих белков. **GTPаза-активирующие белки** (GTPase-Activating Protein, **GAP**) переводят белки в «**выключенное**» состояние, усиливая скорость гидролиза связанного GTP; выполняющие эту функцию GAP также называют регуляторами сигнализации G- белков (Regulators of G-protein Signaling, RGS). С другой стороны, рецепторы, сопряженные с G-белками, активируют тримерные G-белки, и **факторы обмена гуаниновых нуклеотидов** (Guanine Exchange Factor, **GEF**) активируют мономерные GTPазы, вызывая высвобождение GDP в обмен на связывание GTP.

ГТРаза-активирующие белки (GTPase-Activating Protein, GAP) переводят белки в «выключенное» состояние, усиливая скорость гидролиза связанного GTP, факторы обмена гуаниновых нуклеотидов (Guanine Exchange Factor, GEF) активируют мономерные ГТРазы, вызывая высвобождение GDP в обмен на связывание GTP



**Внутриклеточные сигнальные комплексы увеличивают
скорость, эффективность и специфичность
ответа**

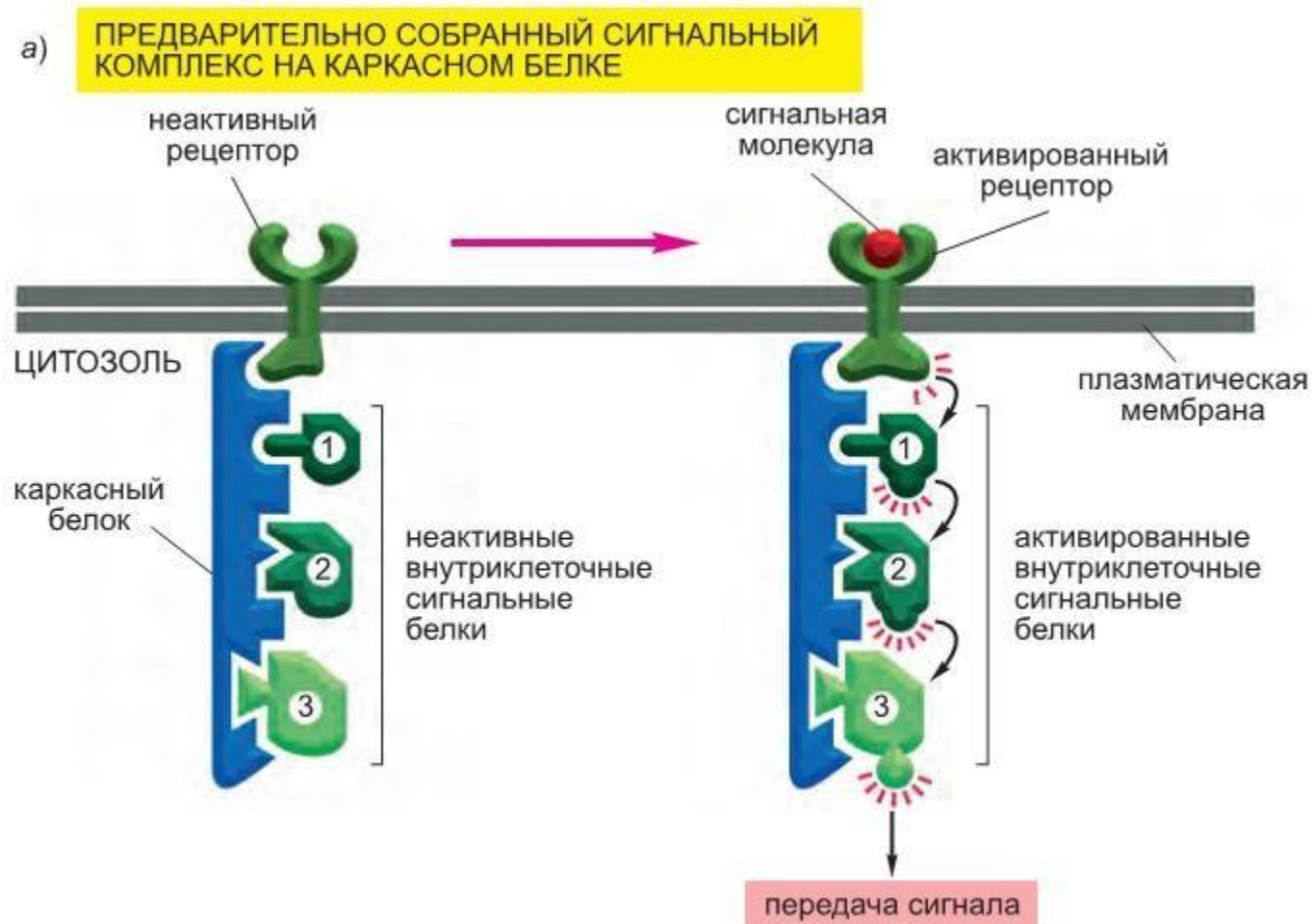
Как же тогда клетка способна специфически отвечать на разные сочетания внеклеточных сигналов?

Один и тот же тип внутриклеточных сигнальных белков может спрятать один подтип рецепторов с одним набором эффекторов, одновременно сопрягая второй подтип рецепторов с другими эффекторами.

Почему ответ специфичен и почему не возникает перекрестных помех?

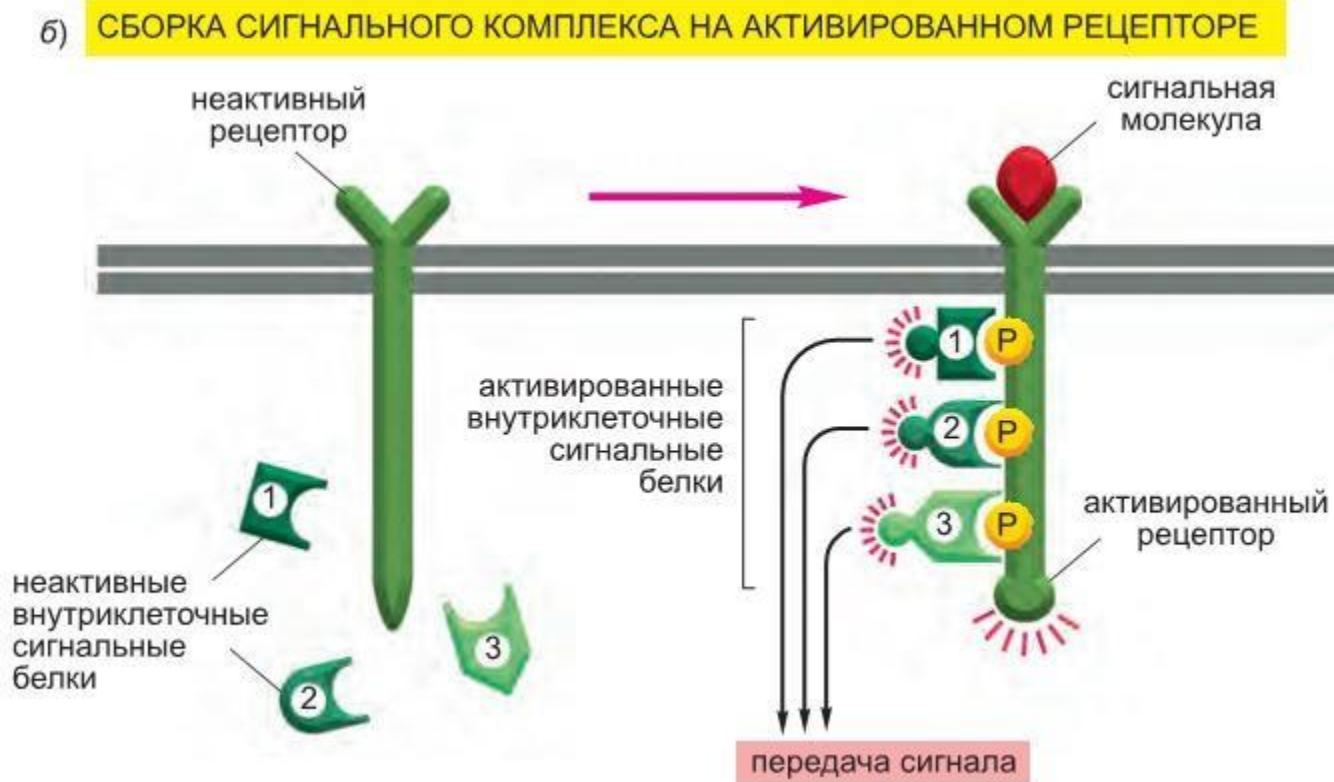
Первая стратегия — использование каркасных белков

связывают группы взаимодействующих сигнальных белков в сигнальные комплексы



Вторая стратегия — образование временных сигнальных комплексов

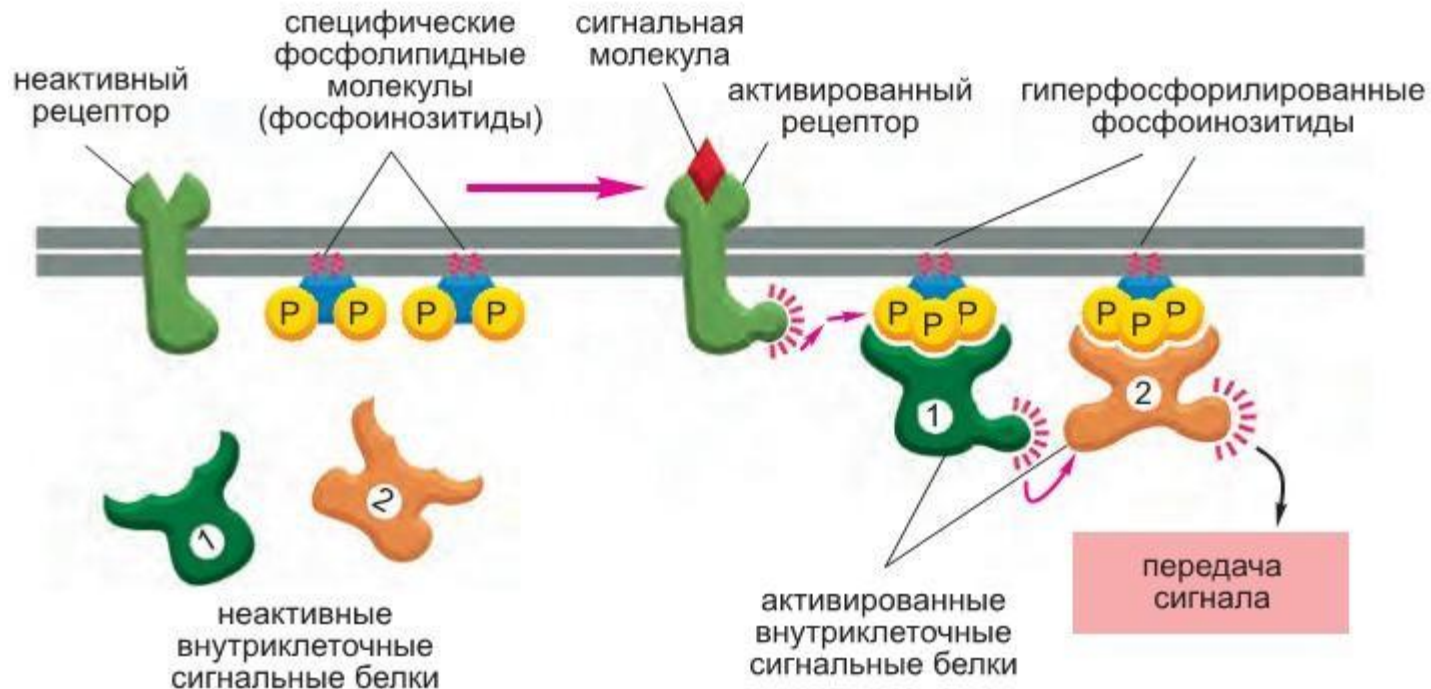
-цитоплазматическая часть активированного рецептора при активации фосфорилируется, и фосфорилированные аминокислоты служат сайтами связывания для других сигнальных белков



Третья стратегия — создание сайтов докинга в мембране

-активация рецептора приводит к образованию в прилежащей плазматической мембране модифицированных молекул фосфолипидов (фосфоинозитидов), которые затем рекрутируют специфические внутриклеточные сигнальные белки в данную область мембраны для активации

в) СБОРКА СИГНАЛЬНОГО КОМПЛЕКСА НА ФОСФОИНОЗИТИДНЫХ САЙТАХ ДОКИНГА



Модульные домены опосредуют взаимодействия между внутриклеточными сигнальными белками

Сборка сигнального комплекса зависит от различных небольших высококонсервативных доменов взаимодействия, присутствующих во многих внутриклеточных сигнальных белках.

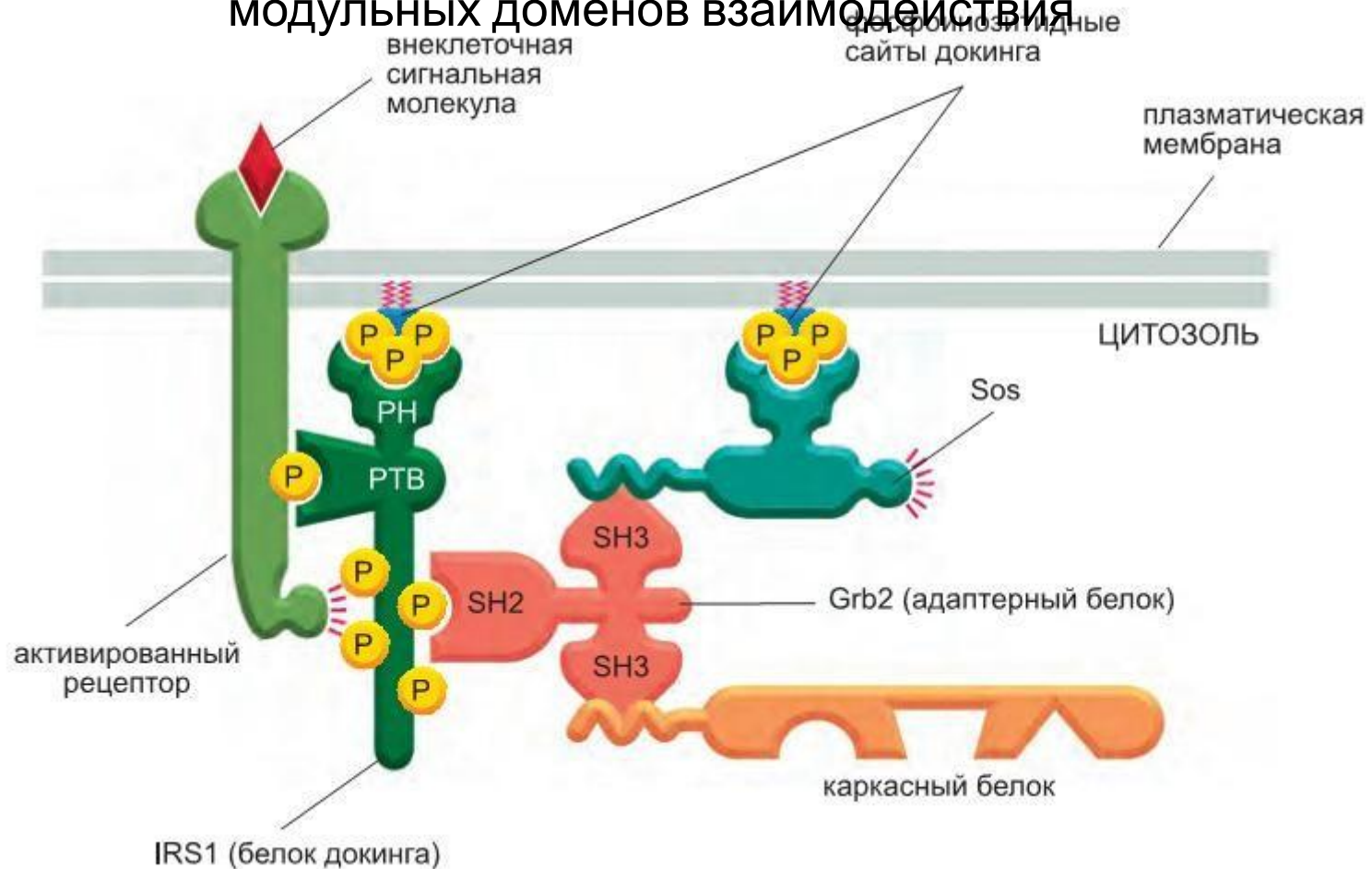
Каждый из этих компактных белковых модулей связывает определенный структурный мотив другой белковой (или липидной) молекулы. Распознаваемый мотив во взаимодействующем белке может представлять собой короткую пептидную последовательность, ковалентную модификацию (например, фосфорилированные или убиквитинированные аминокислоты) или другой белковый домен.

типы доменов взаимодействия сигнальных белков:

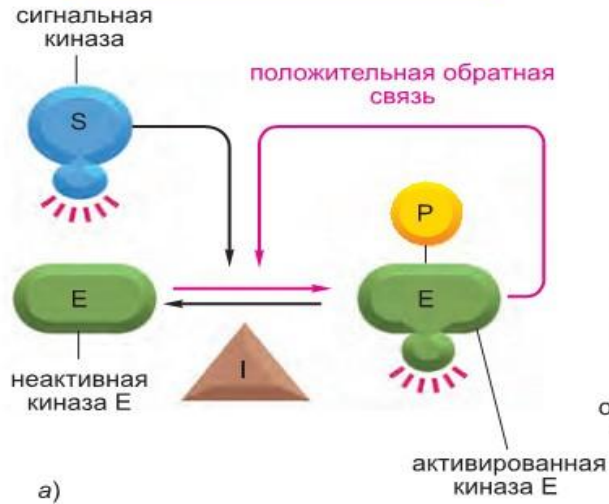
- домены Src-гомологии 2* (Src Homology 2, SH2) связывают короткие, обогащенные пролином аминокислотные последовательности
- домены связывания фосфотирозина* (Phosphotyrosine-Binding, PTB) связывают фосфорилированные тирозины в определенной пептидной последовательности активированных рецепторов или внутриклеточных сигнальных белков.
- домены гомологии к плекстрину* (Pleckstrin Homology, PH) связывают заряженные головные группы фосфоинозитидов, синтезируемых в плазматической мембране в ответ на внеклеточный сигнал; эти домены позволяют белку пристыковываться к мембране и взаимодействовать с другими рекрутированными туда сигнальными белками

Некоторые сигнальные белки состоят исключительно из двух или нескольких доменов взаимодействия и выполняют роль адаптеров

Специфический сигнальный комплекс, образованный при помощи модульных доменов взаимодействия



ПОЛОЖИТЕЛЬНАЯ ОБРАТНАЯ СВЯЗЬ



а)

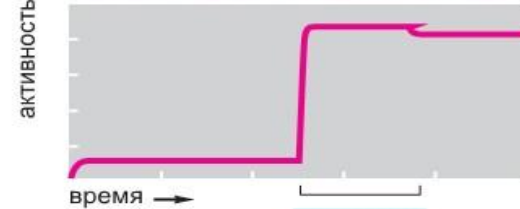
КОНТРОЛЬ: БЕЗ ОБРАТНОЙ СВЯЗИ



время →

СИГНАЛ

ПОЛОЖИТЕЛЬНАЯ ОБРАТНАЯ СВЯЗЬ



время →

СИГНАЛ

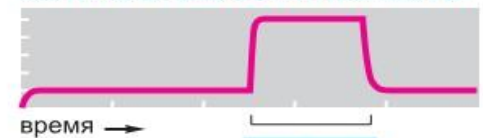
г)

ОТРИЦАТЕЛЬНАЯ ОБРАТНАЯ СВЯЗЬ



в)

КОНТРОЛЬ: БЕЗ ОБРАТНОЙ СВЯЗИ



время →

СИГНАЛ

ОТРИЦАТЕЛЬНАЯ ОБРАТНАЯ СВЯЗЬ С КОРОТКОЙ ЗАДЕРЖКОЙ



время →

СИГНАЛ

ОТРИЦАТЕЛЬНАЯ ОБРАТНАЯ СВЯЗЬ С ДЛИТЕЛЬНОЙ ЗАДЕРЖКОЙ



время →

СИГНАЛ

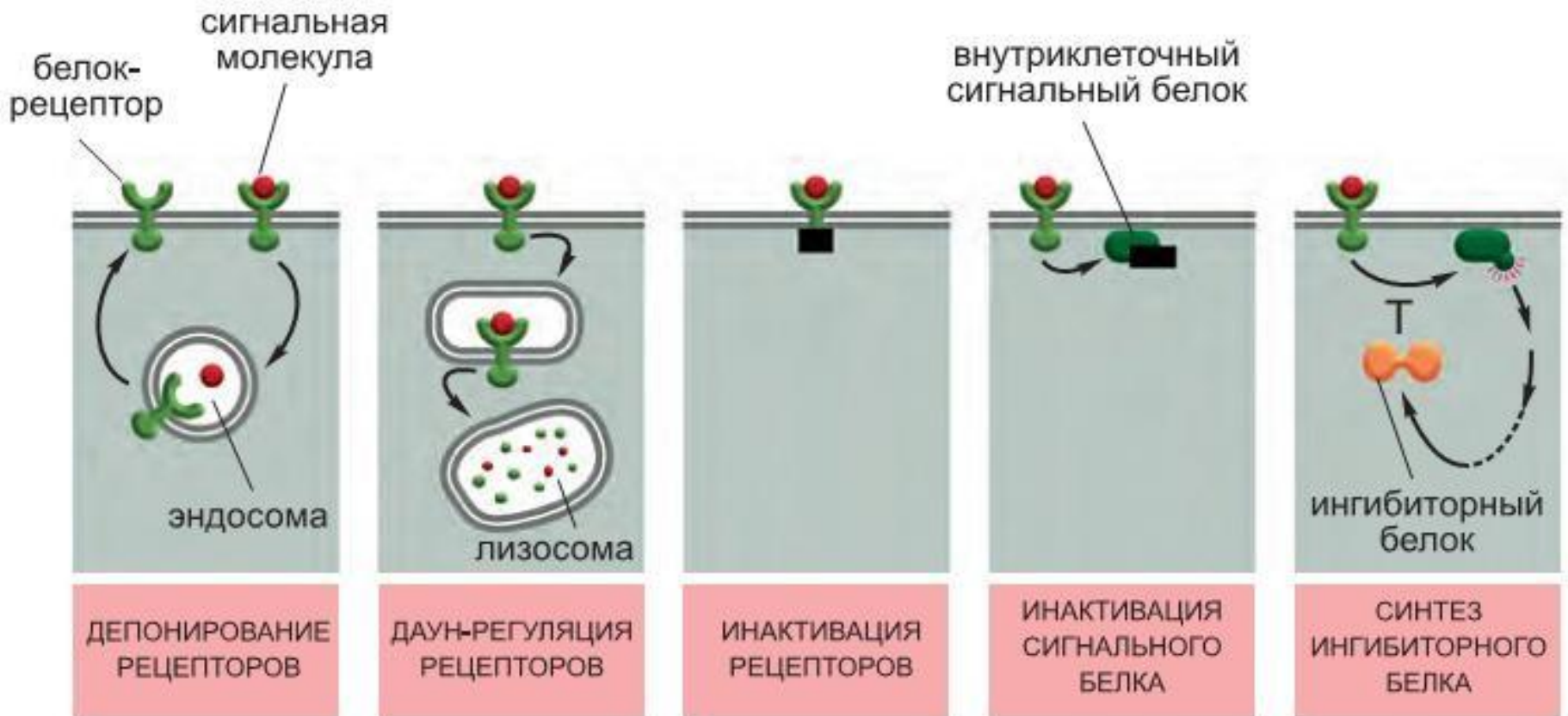
г)

Во внутриклеточных
сигнальных сетях
часто используются
обратные связи

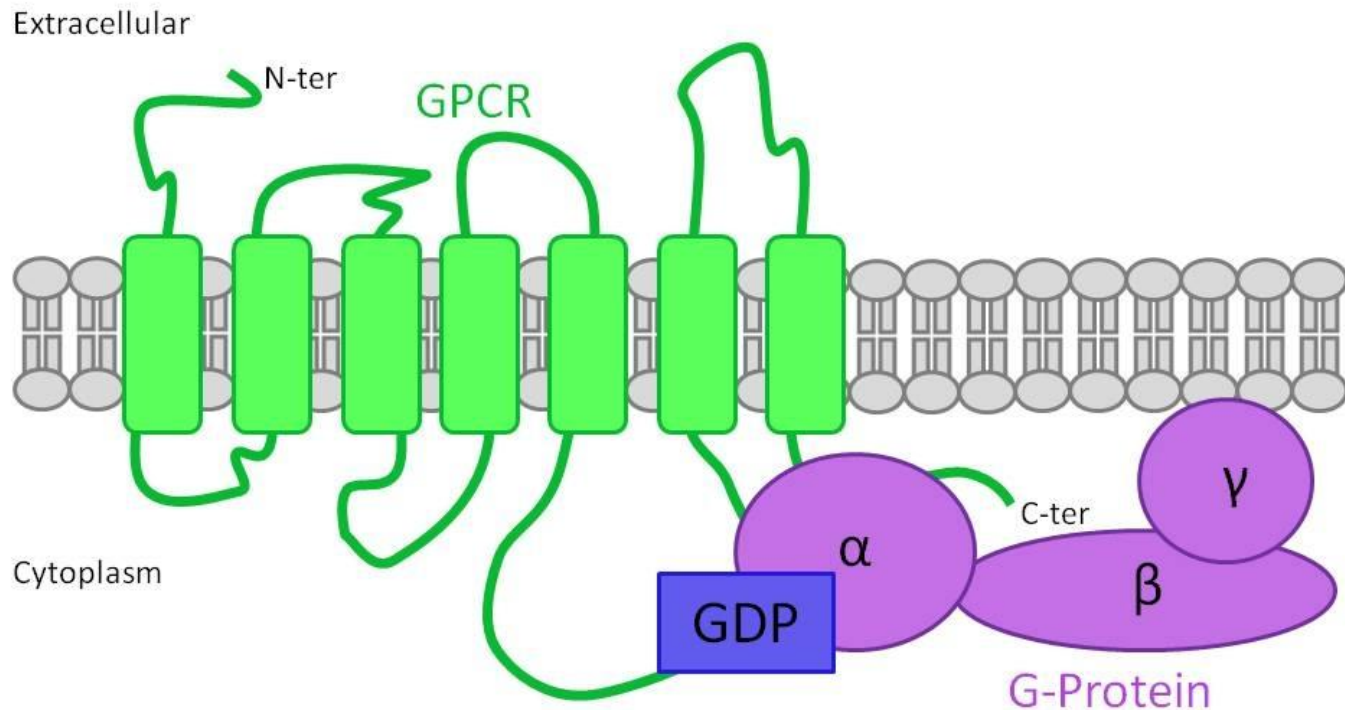
Клетки могут регулировать свою чувствительность к сигналу.

Процесс адаптации или десенсibiliзации

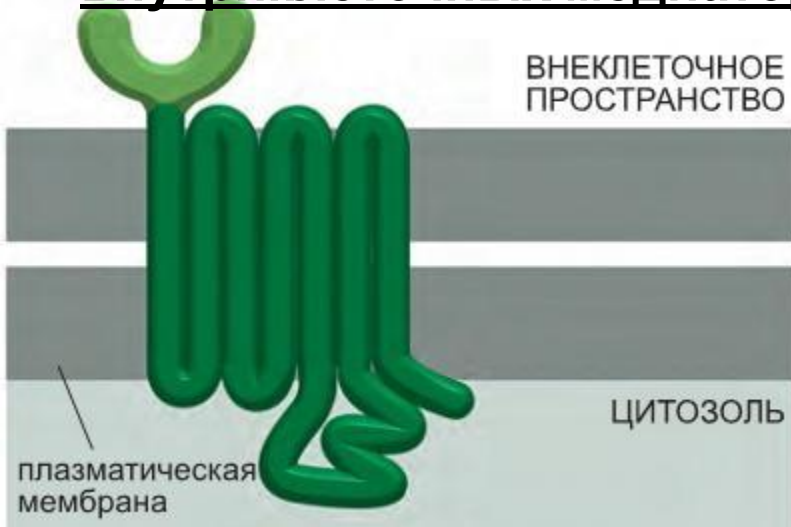
Адаптация к сигнальной молекуле может происходить по-



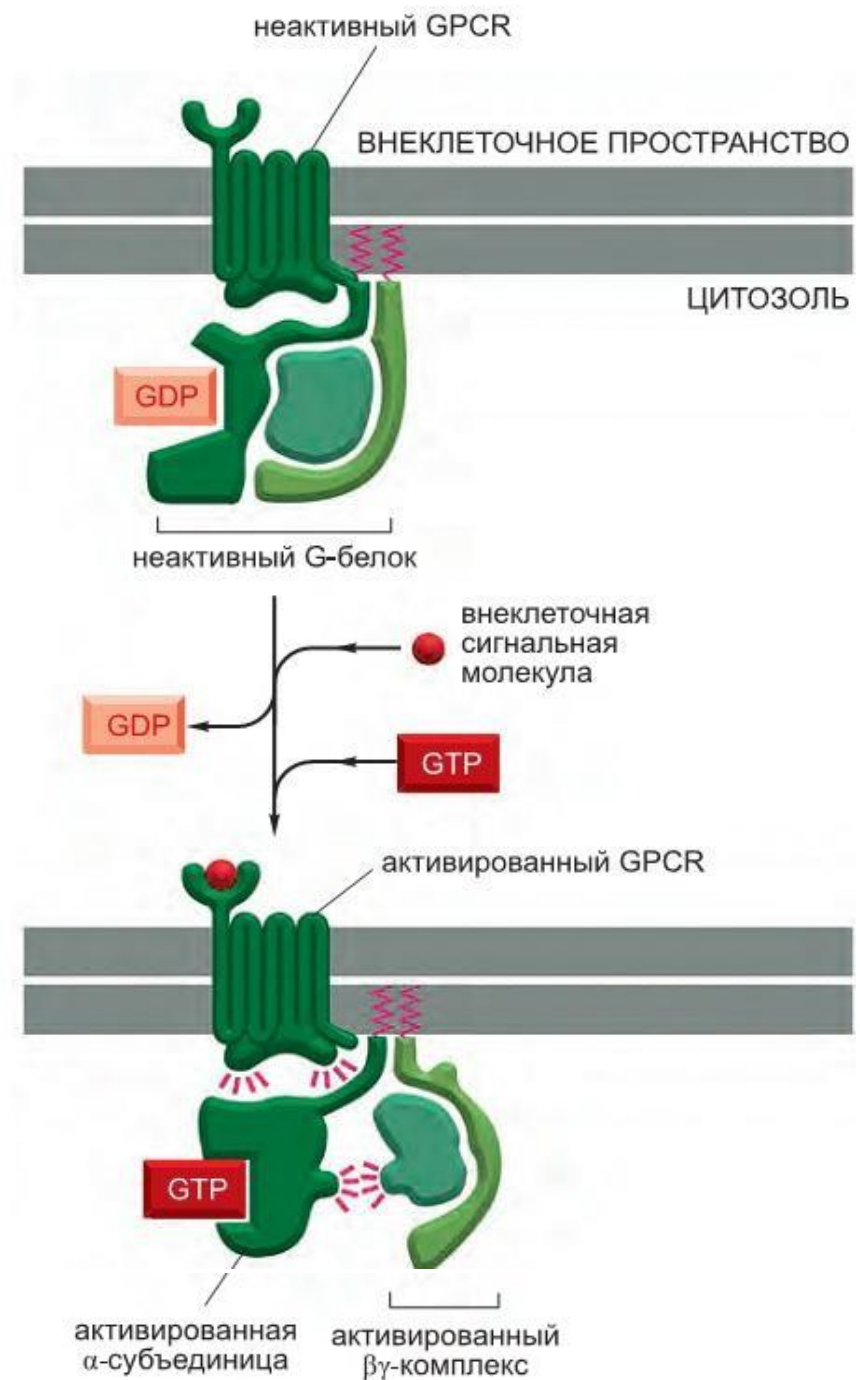
Сигнализация посредством поверхностных сопряженных с G-белками рецепторов GPCR и малых внутриклеточных медиаторов



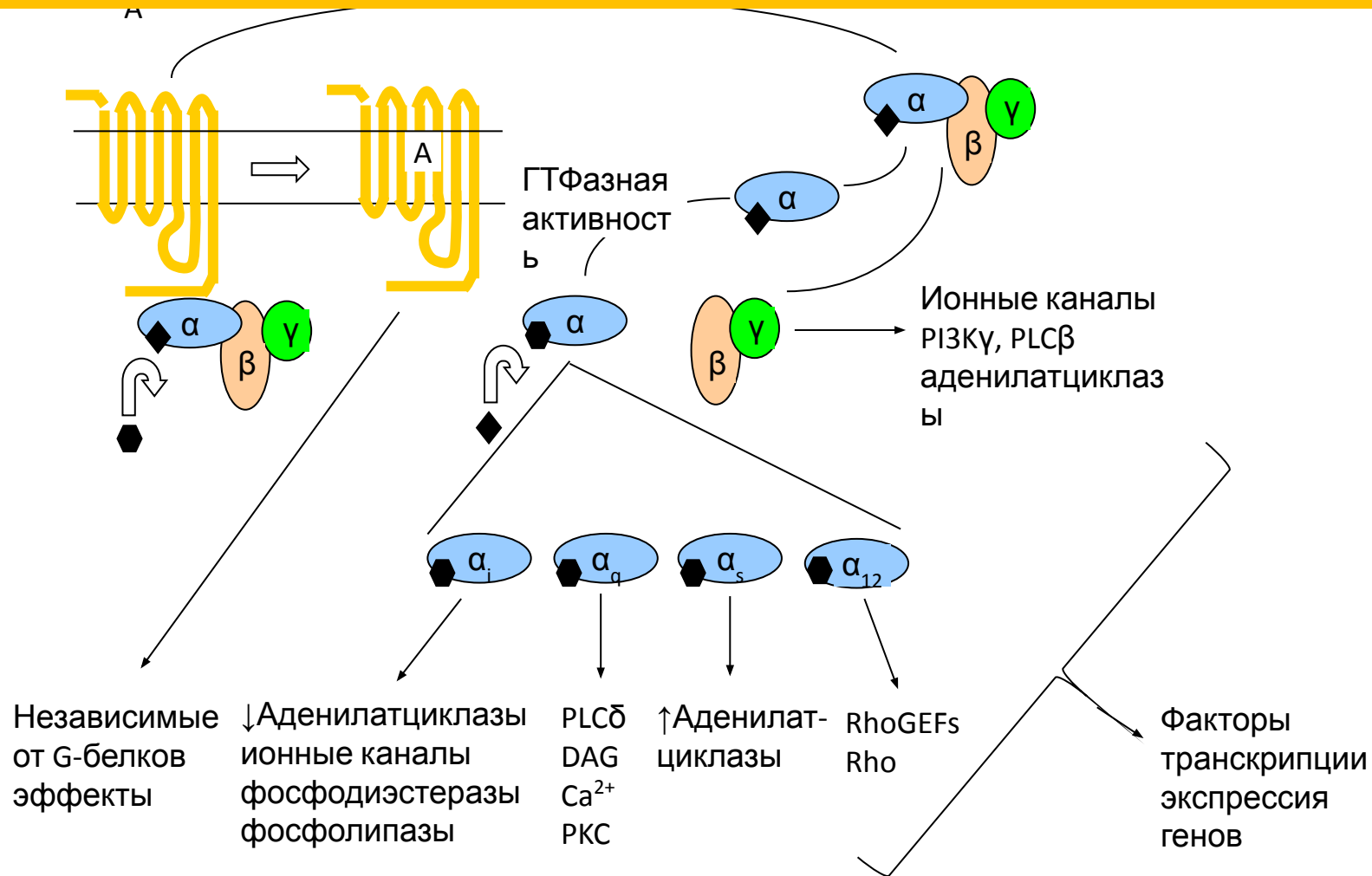
Сигнализация посредством поверхностных сопряженных с G-белками рецепторов GPCR и малых внутриклеточных медиаторов



G-белки состоят из трех субъединиц — α , β и γ . В отсутствие стимула α -субъединица несет связанный GDP и G-белок неактивен. Когда GPCR активируется, он выполняет функцию фактора обмена гуаниновых нуклеотидов (GEF) и заставляет α -субъединицу высвободить GDP и связать GTP.



Роль G-белков и основные пути проведения сигналов рецепторами, сопряженными с G-белками



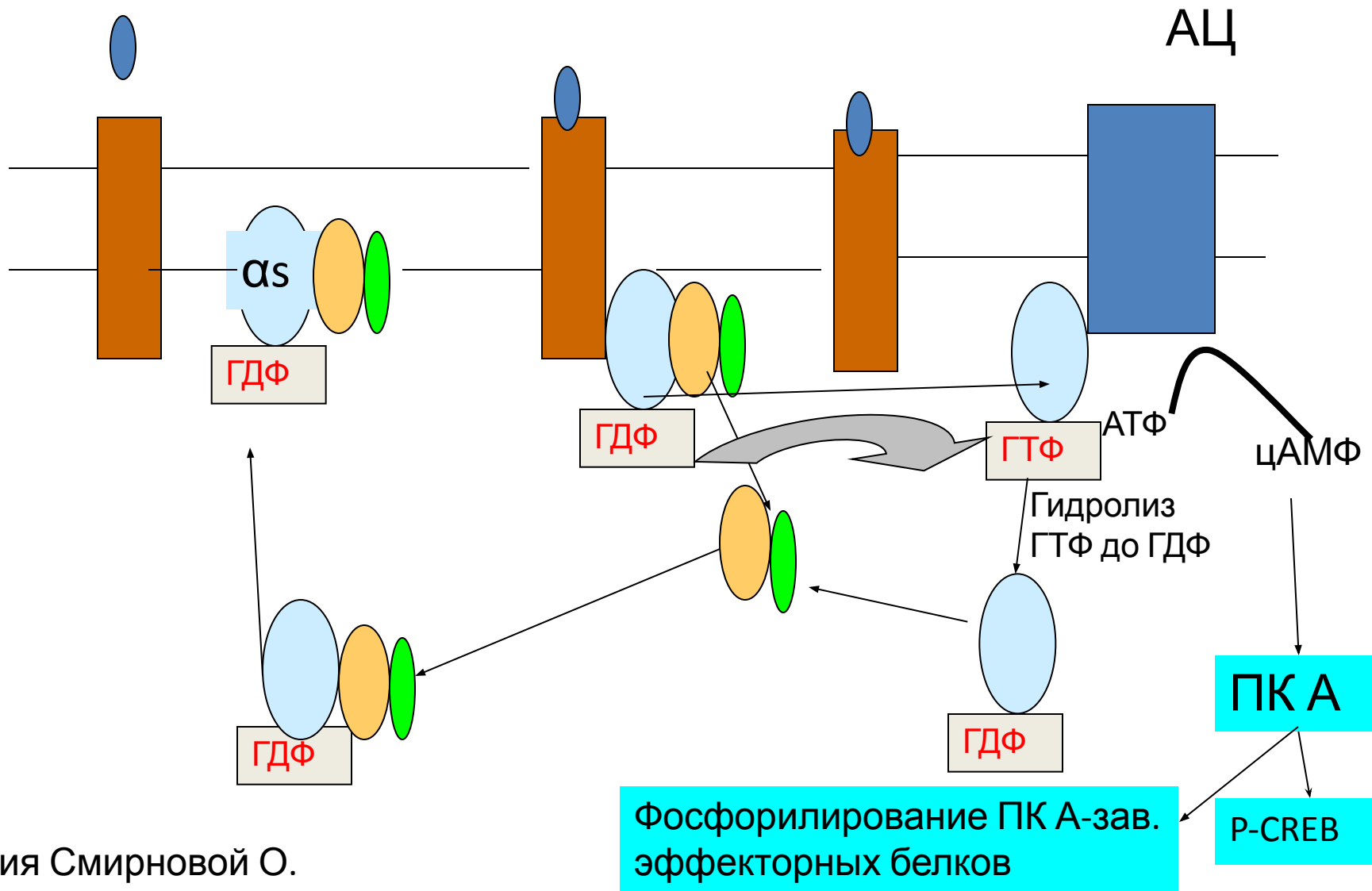
А – агонист; ромб – ГДФ; шестиугольник – ГТФ; PLC – фосфолипаза C; DAG – диацилглицерол; PKC – протеинкиназа C; PI3K – фосфоинозитид-3-киназа; GEF – гуаниннуклеотид-обменивающий фактор; Rho – ГТФаза семейства Rho

Лекция Смирновой О.

В

GTPазная активность усиливается связыванием α -субъединицы со вторым белком – белком-мишенью или специфическим регулятором сигнальных путей G-белков (Regulator of G protein Signaling, RGS).

Аденилатциклазный путь



Некоторые G-белки регулируют образование циклического АМР

Концентрация сАМР в цитозоле составляет 10^{-7} М, но внеклеточный сигнал способен за секунды увеличить ее более чем в двадцать раз. Циклический АМР синтезируется из АТР связанным с плазматической мембраной ферментом аденилилциклазой, и он непрерывно быстро разрушается сАМР-фосфодиэстеразами, гидролизующими циклический АМР до аденозин-5'-монофосфата (5'-АМР).

У млекопитающих встречается по крайней мере восемь изоформ фермента аденилатциклазы, большая часть которых регулируется одновременно G-белками и Ca^{2+} . GPCR, увеличивающие концентрацию циклического AMP, сопряжены со стимулирующим **G-белком (Gs)**, активирующим аденилилциклазу. Другой G- белок, носящий название ингибирующего **G-белка (Gi)**, ингибирует аденилилциклазу, но его действие основано

на прямой регуляции ионных каналов Белки Gs и Gi служат мишенями нескольких важных для медицины бактериальных токсинов.

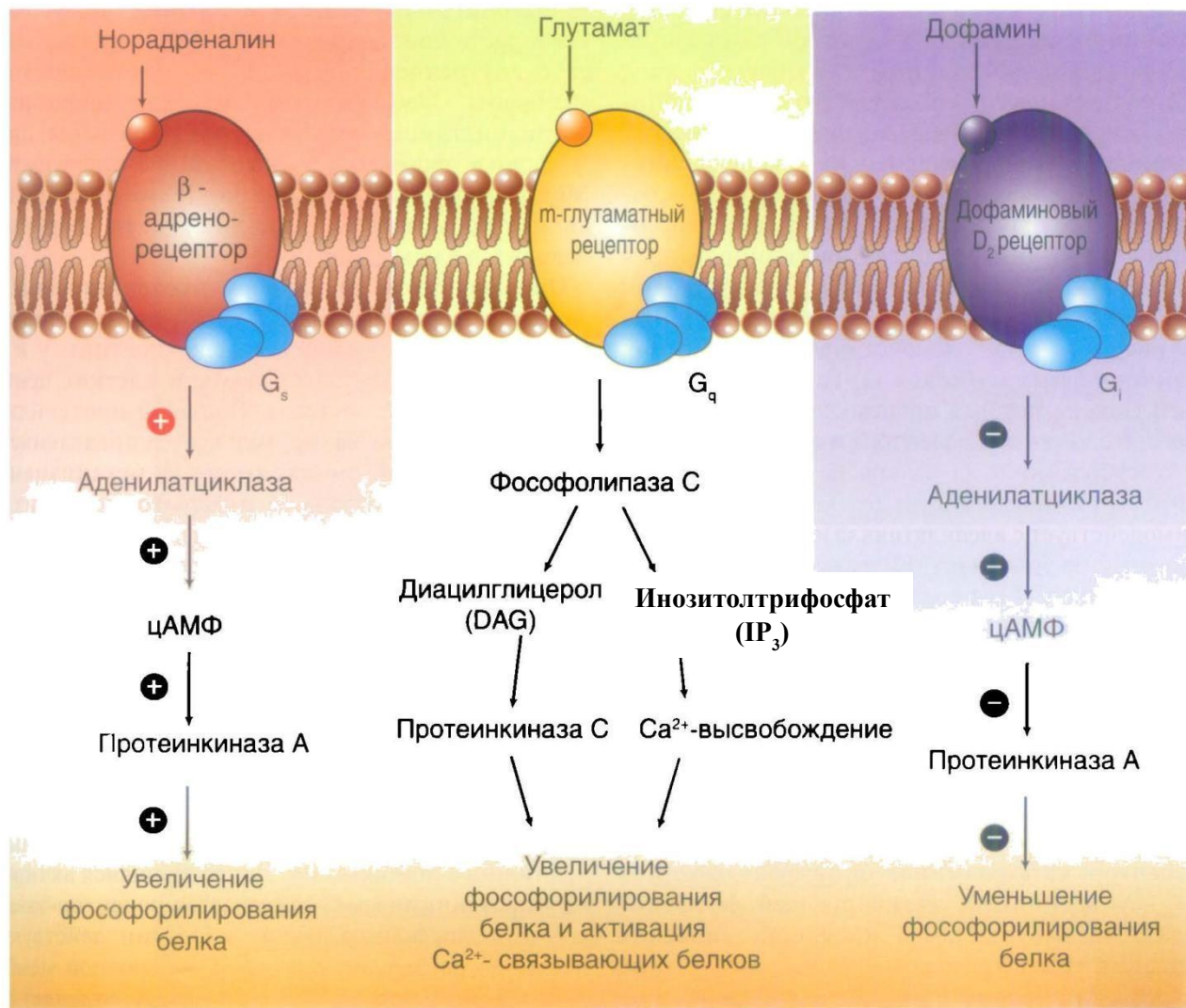
Холерный токсин, вызывая ADP-рибозилирование изменяет α -субъединицу,

в результате чего она перестает быть способной гидролизовать связанный GTP и остается в активном состоянии, бесконечно стимулирующем аденилилциклазу.

Коклюшный токсин катализирует ADP-рибозилирование α -субъединицы Gi, что препятствует взаимодействию белка с его рецепторами; в результате G- белок удерживает GDP и оказывается неспособным регулировать свои белки-мишени.

Пути сигнальной трансдукции через гетеротримерные G-белки

А



Некоторые клеточные ответы на гормоны, опосредуемые циклическим АМР

Ткань-мишень	Гормон	Основной ответ
Щитовидная железа	Тиреотропный гормон (ТТГ)	синтез и секреция тироксина
Кора надпочечников	адренокортикотропный гормон (АКТГ)	секреция кортизола
Яичники	лютеинизирующий гормон	секреция прогестерона
Мышцы	адреналин	расщепление гликогена
Кости	паратиреоидный гормон	резорбция костей
Сердце	адреналин	увеличение частоты и силы сердечных сокращений
Печень	глюкагон	расщепление гликогена
Почки	вазопрессин	обратное всасывание воды
Жировая ткань	адреналин, АКТГ, глюкагон, ТТГ	расщепление триглицеридов

Действие циклического АМР в основном опосредуется циклический АМР-зависимой протеинкиназой (РКА)

Протеинкиназа А фосфорилирует определенные серины или треонины на белках- мишенях, включая внутриклеточные сигнальные белки и белки-эффекторы, регулируя их активность.

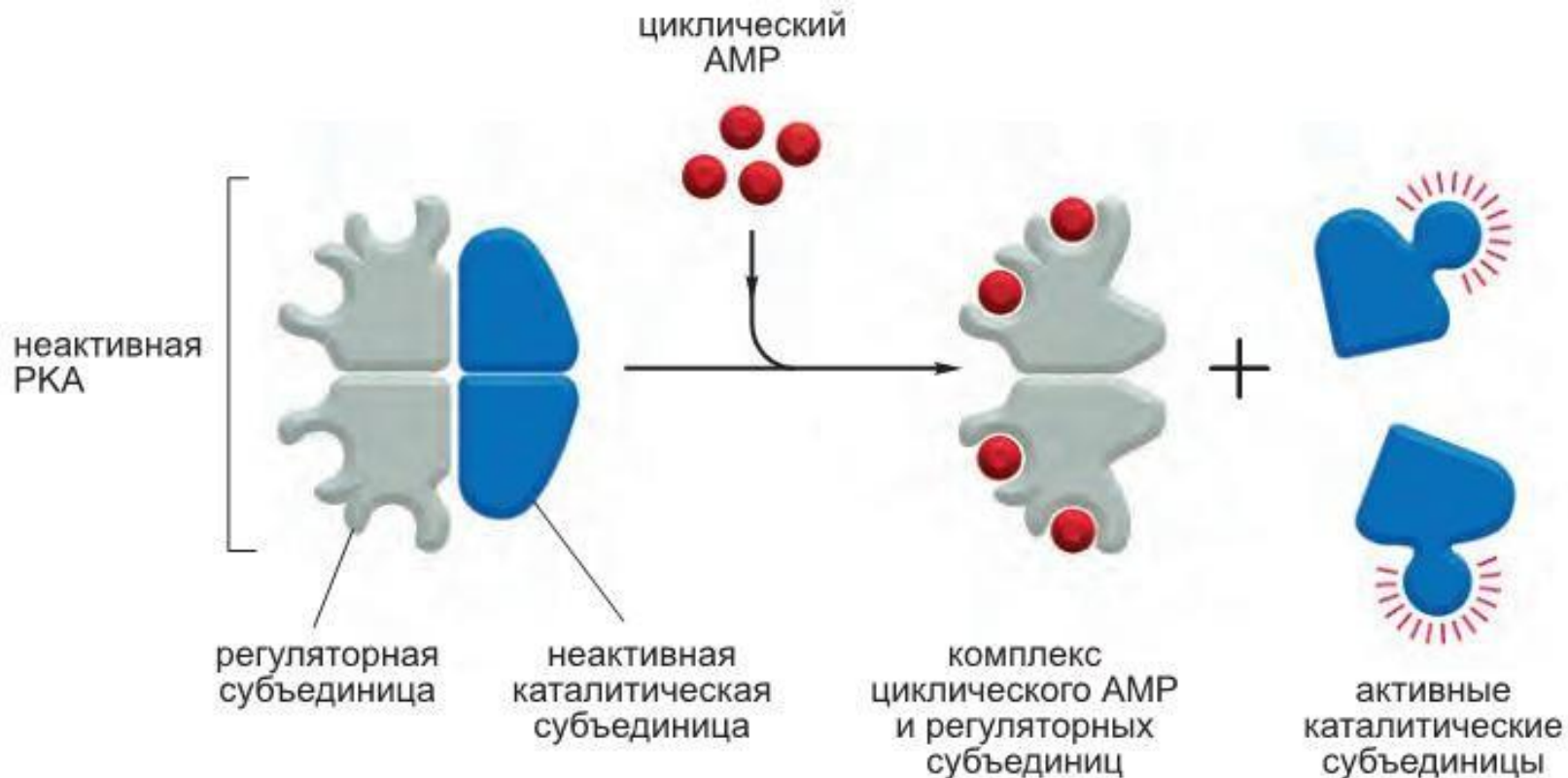
В неактивном состоянии РКА состоит из комплекса двух каталитических субъединиц и двух регуляторных субъединиц.

Связывание циклического АМР с регуляторными субъединицами изменяет их конформацию, и они диссоциируют из комплекса.

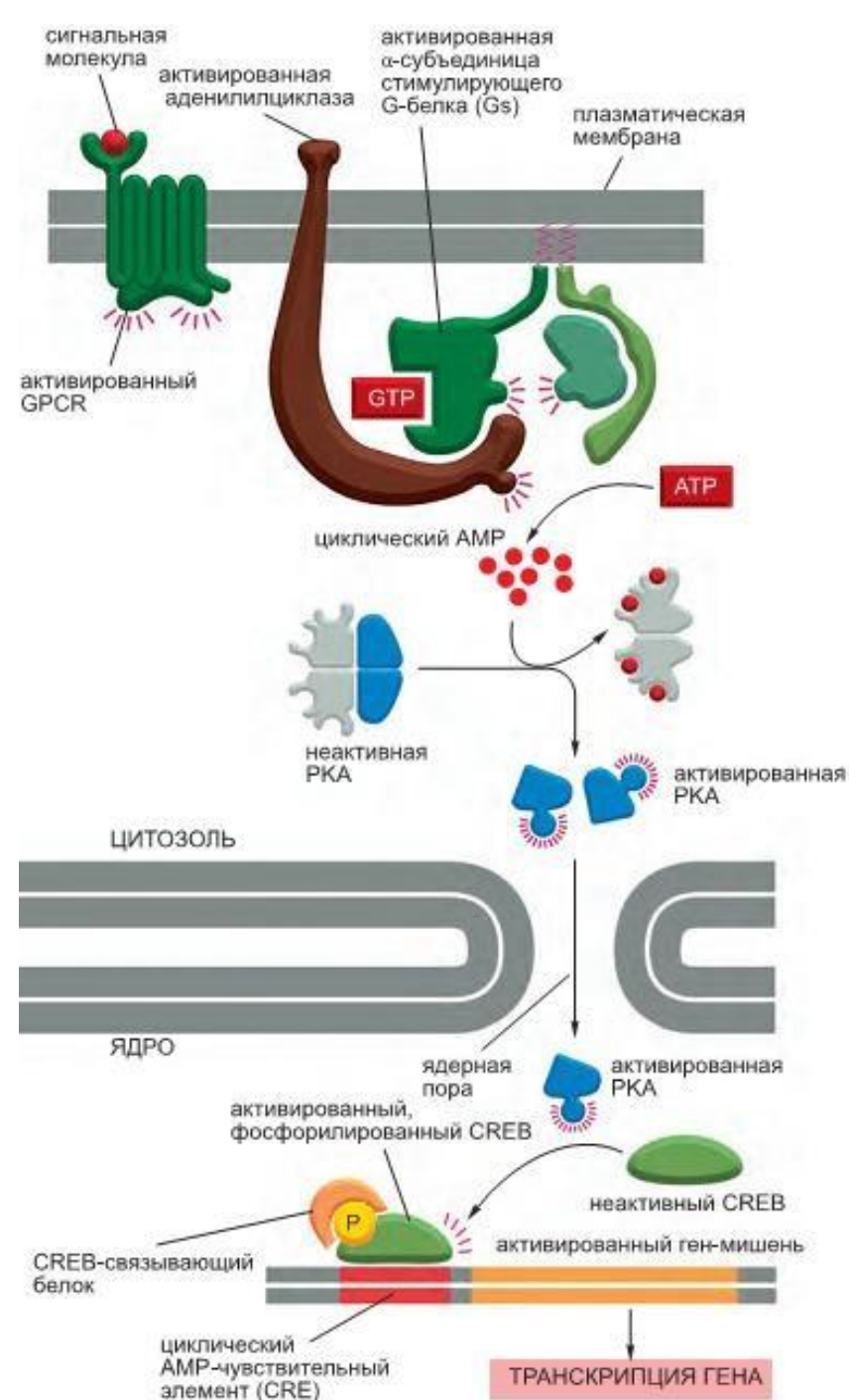
Высвобожденные каталитические субъединицы активируются и фосфорилируют специфические белки-мишени.

Регуляторные субъединицы РКА (также называемые А-киназой) играют важную роль в локализации киназы внутри клетки: специальные якорные белки А- киназы (A-Kinase Anchoring Proteins, AKAP) связывают регуляторные субъединицы и участок цитоскелета или мембраны органеллы

Активация сАМР-зависимой протеинкиназы (РКА)

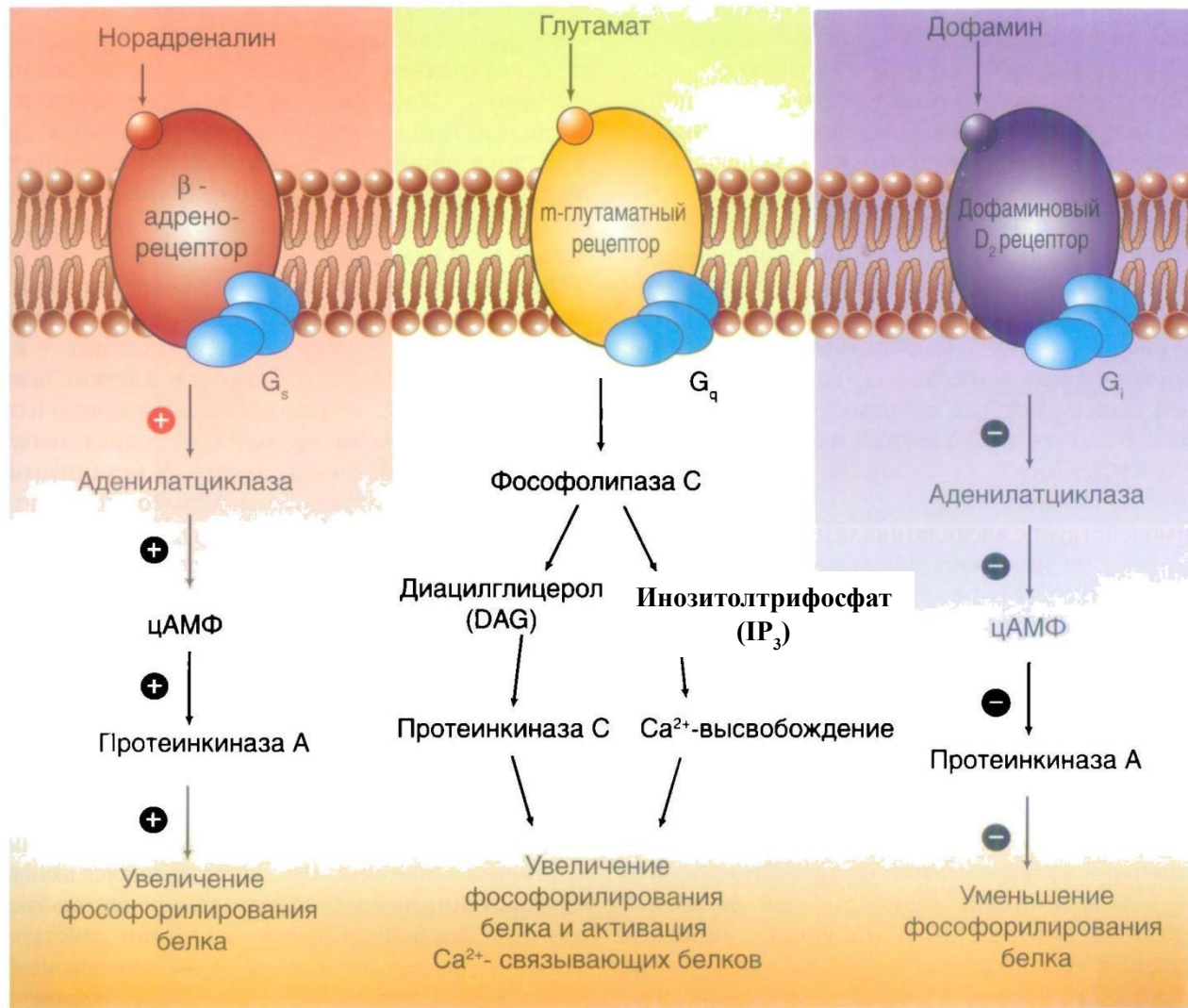


Некоторые ответы, опосредованные цАМР не зависят от изменения в транскрипции генов, а другие требуют изменения транскрипции. В клетках, секретирующих соматостатин, цАМР активирует ген, кодирующий этот гормон. Регуляторный участок гена соматостатина содержит короткую последовательность ДНК, носящую название *циклический AMP-чувствительный элемент (Cyclic AMP Response Element, CRE)*. Специфический белок-регулятор гена, носящий название CRE-связывающего (CRE-Binding, CREB) белка, узнает эту последовательность. Когда PKA активируется сАМР, она фосфорилирует CREB по одному серину; фосфорилированный CREB затем рекрутирует коактиватор транскрипции CREB-связывающий белок (CRE-Binding Protein, CBP), стимулирующий транскрипцию генов.

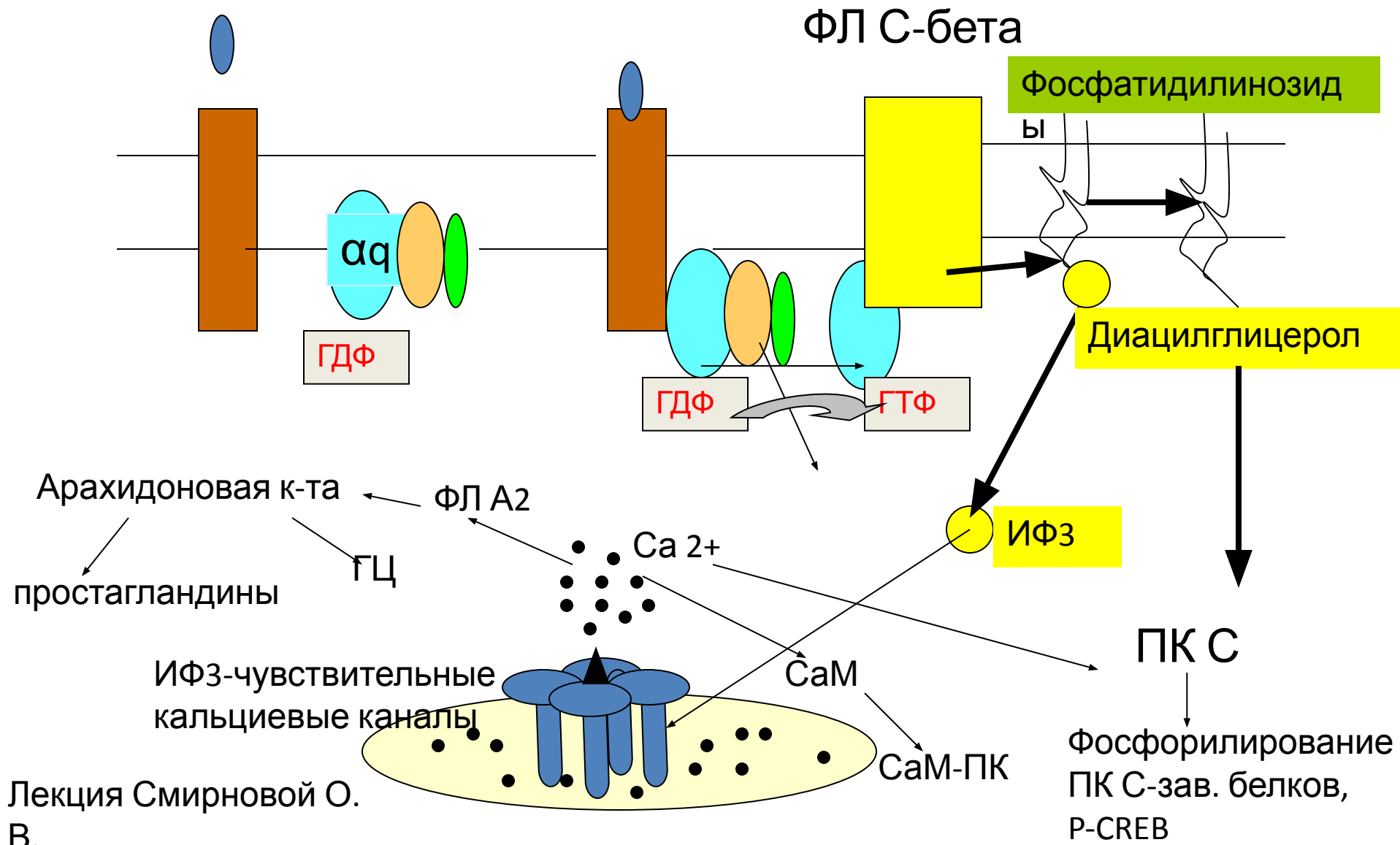


Пути сигнальной трансдукции через гетеротримерные G-белки

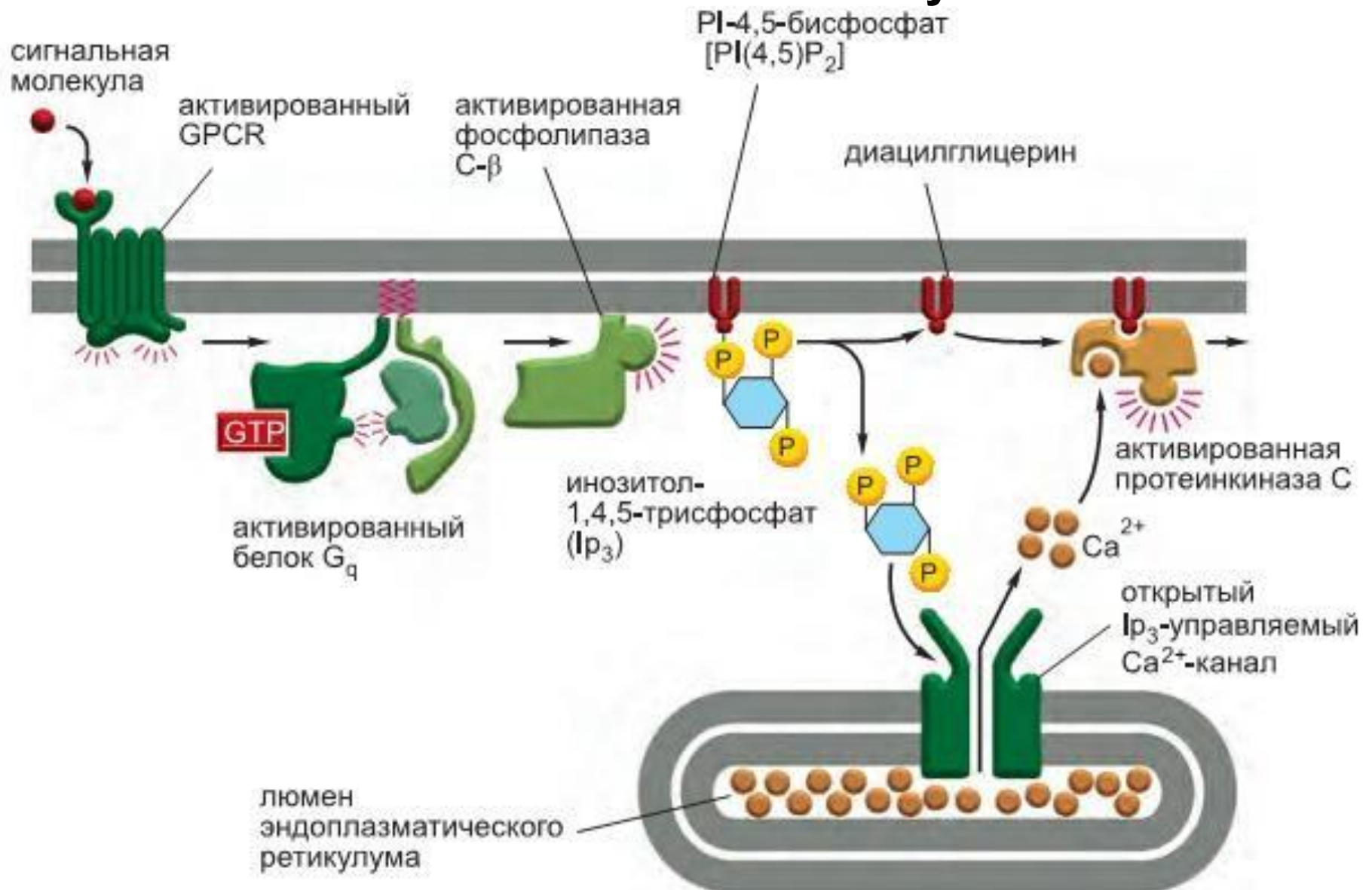
A



Фосфоинозитольный путь проведения сигнала



G-белки за счет активации фосфолипазы C активируют инозитолфосфолипидный сигнальный путь



Некоторые ответы клеток, при которых GPCR активирует PLC β

Ткань-мишень **Сигнальная молекула** **Основной**

ответ

Печень	вазопрессин	расщепление гликогена
Поджелудочная железа	ацетилхолин	секреция амилазы
Гладкие мышцы	ацетилхолин	сокращение мышц
Тромбоциты	тромбин	агрегация тромбоцитов

Связанный с плазматической мембраной фермент **фосфолипаза C-β** (Phospholipase C-β, PLCβ) воздействует на фосфорилированный **инозитолфосфолипид (фосфоинозитид) - фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат** *PI(4,5)P₂, или PIP₂+. Рецепторы, активирующие инозитолфосфолипидный сигнальный путь, обычно действуют посредством G- белка G_q. Активированная фосфолипаза затем расщепляет PIP₂ с образованием двух продуктов: **инозитол-1,4,5-трисфосфата (IP₃) и диацилглицерина**.

На этом этапе сигнальный путь расщепляется на две ветви. Инозитол-1,4,5-трисфосфат (IP₃) — это водорастворимая молекула, играющая роль малого внутриклеточного медиатора. Она покидает плазматическую мембрану и быстро диффундирует по цитозолю. Она достигает эндоплазматического ретикулума (ЭР) и связывается с расположенными в его мембране IP₃-управляемыми Ca²⁺-каналами (также называемыми IP₃-рецепторами), открывая их. Депонированный в ЭР Ca²⁺ высвобождается через открытые каналы, что приводит к быстрому увеличению концентрации Ca²⁺ в цитозоле

Диацилглицерин остается в плазматической мембране, где может быть расщеплен с высвобождением **арахидоновой кислоты** - сигнальной молекулы, которая может быть использована для синтеза эйкозаноидов. К **эйкозаноидам** относятся простагландины, участвующие в болевом и воспалительном ответах, и действие большинства противовоспалительных лекарств (например, аспирин, ибупрофен и кортизон) основывается, по крайней мере частично, на ингибировании их синтеза.

Второй функцией диацилглицерина является активация серин-треониновой, зависимой от Ca^{2+} , **протеинкиназы C** (Protein Kinase C, PKC). Начальное вызванное IP_3 повышение концентрации Ca^{2+} в цитозоле влияет на PKC. Она переносится из цитозоля на цитоплазматическую поверхность плазматической мембраны. Там она активируется сочетанием Ca^{2+} , диацилглицерина и отрицательно заряженного мембранного фосфолипида фосфатидилсерина. Активированная PKC фосфорилирует белки-мишени.

Существует несколько классов PKC, только некоторые из которых (носящие название традиционных PKC) активируются кальцием и диацилглицерином; другие классы носят название нестандартных PKC.

Различные PKC фосфорилируют разные субстраты, что, как правило, объясняется тем, что якорные или каркасные белки удерживают их вблизи

Примеры мутаций различных компонентов передачи сигнала с
рецепторов, сопряженных с G-белками,
 ведущих к **активации сигнальных каскадов** в отсутствие гормона

Компонент сигнального каскада с активирующей мутацией	Провоцируемые заболевания, Опухоли, несущие мутации
Рецептор тиреотропного гормона	Соматическая мутация тиреоцитов: Гиперфункциональная неиммунная аденома щитовидной железы Наследуемая мутация: Семейный неиммунный гипертиреоз
Рецептор лютеинизирующего гормона	Врожденная мутация: Преждевременное половое ослзревание
α -субъединица G_s белка	Соматические мутации тиреоцитов: Узелковая токсическая аденома щитовидной железы Дифференцированная аденосаркома щитовидной железы Соматические мутации надпочечников: Феохромоцитома Альдостеронома Соматические мутации клеток гипофиза: Аденома соматотрофов (акромегалия) Аденома кортикотрофов (гиперкортицизм)

Лекция Смирновой О.

В

Примеры соматических мутаций G-белков, ведущих к активации сигнальных каскадов в отсутствие гормона

Мутантный ген G-белков	Опухоли, несущие мутации, провоцируемые заболевания
Gsa	Акромегалия (Аденома соматотрофов гипофиза)
	Аденома щитовидной железы
	Опухоли клеток Лейдига семенников
	Синдром МакКуна-Олбрайта * (токсический зоб щитовидной железы, аденома соматотрофов гипофиза, множественная фиброзная остеодисплазия, гиперпигментация, гиперплазия надпочечников)
Gi2a	Аденома гипофиза
	Опухоли коры надпочечников
	Опухоли яичников

*соматическая мутация на ранней стадии развития

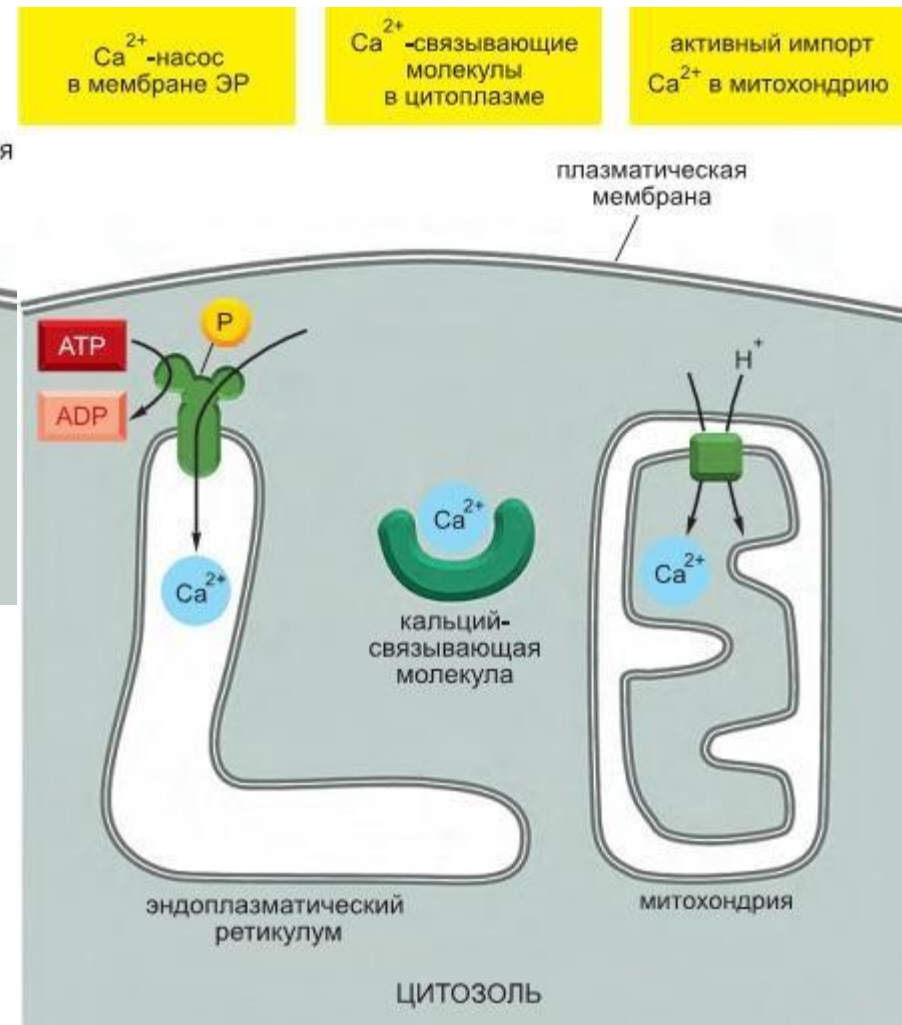
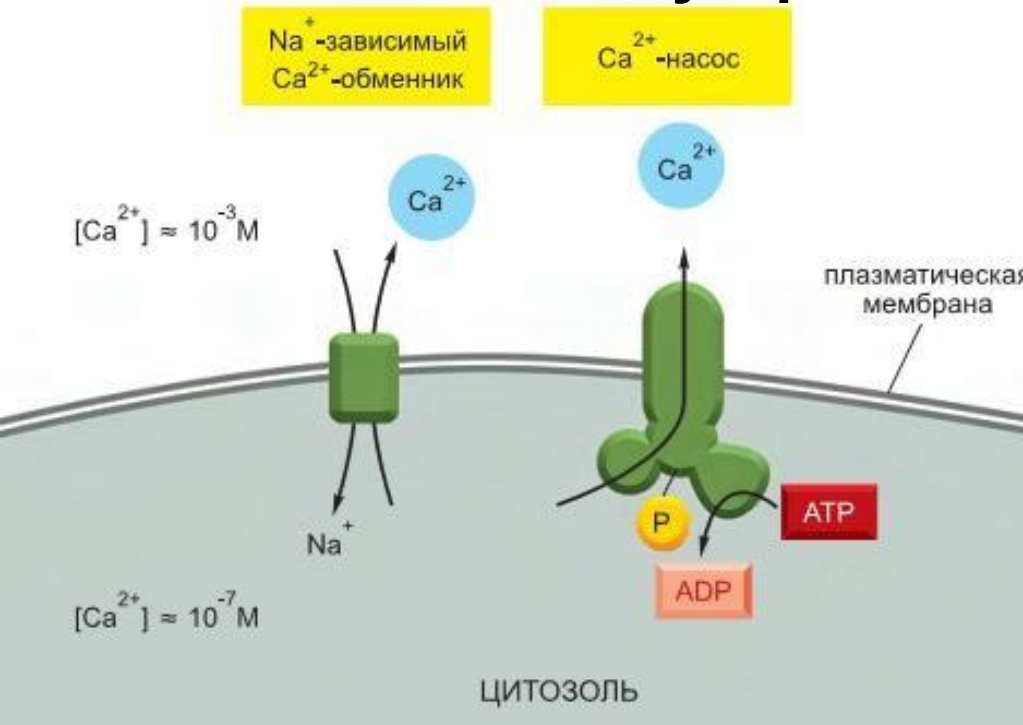
Ca²⁺ функционирует как универсальный внутриклеточный медиатор

Сигнал, открывающий Ca²⁺-каналы мембран ЭР, увеличивает локальную концентрацию иона в цитозоле в 10–20 раз и активирует Ca²⁺-чувствительные белки клетки.

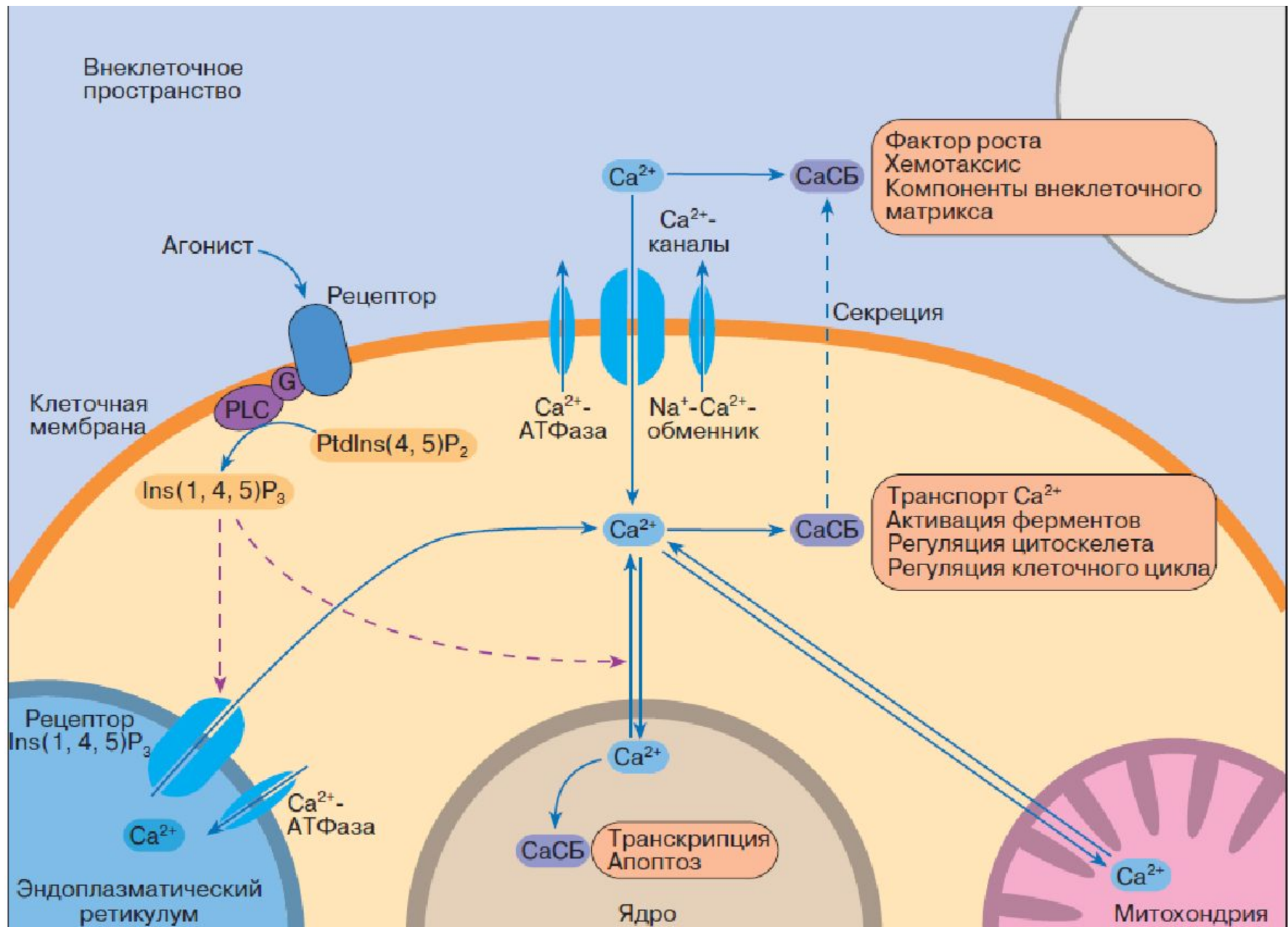
Ca²⁺ ЭР входит в цитозоль через IP₃-рецепторы или рианодиновые рецепторы (они чувствительны к растительному алкалоиду рианодину).

Рианодиновые рецепторы в норме активируются связыванием Ca²⁺ и, таким образом, усиливают сигнал. Ca²⁺ также активирует IP₃-рецепторы, но только в присутствии IP₃; очень высокие концентрации Ca²⁺ эти рецепторы инактивируют.

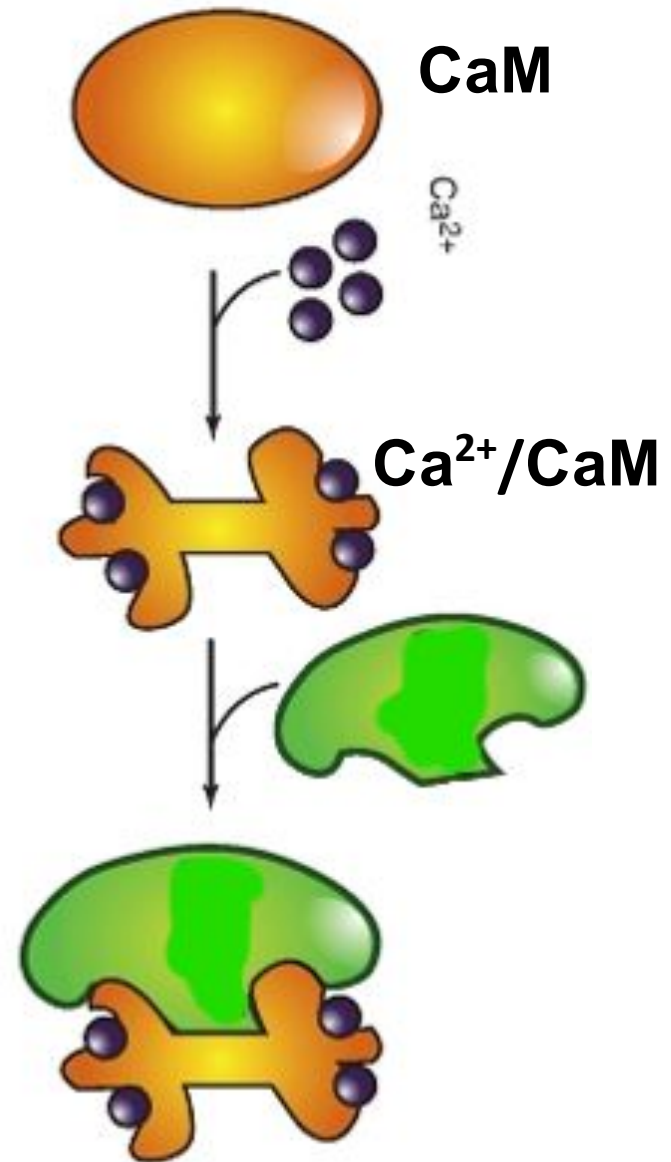
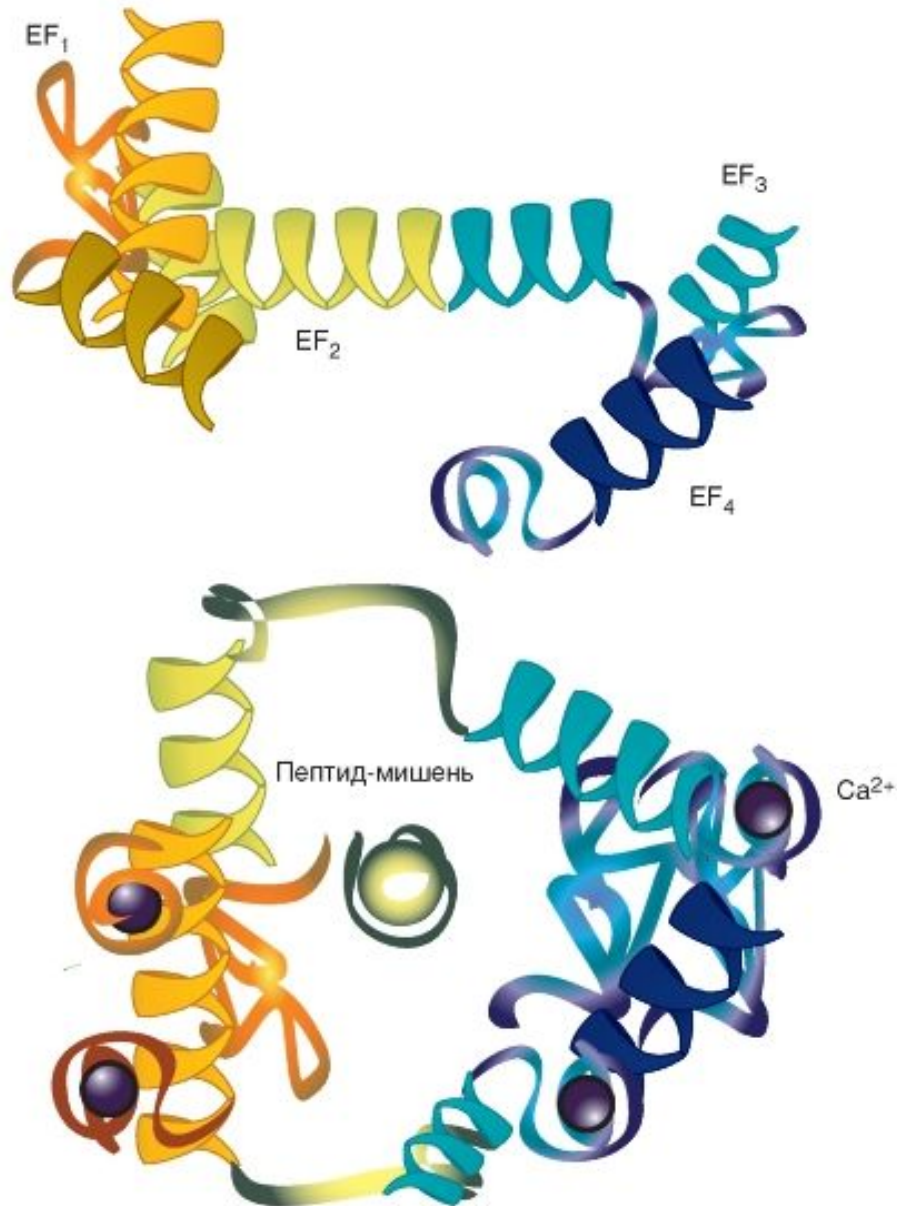
Основные пути поддержания низкой концентрации свободного Ca^{2+} в цитозоле эукариотических клеток.



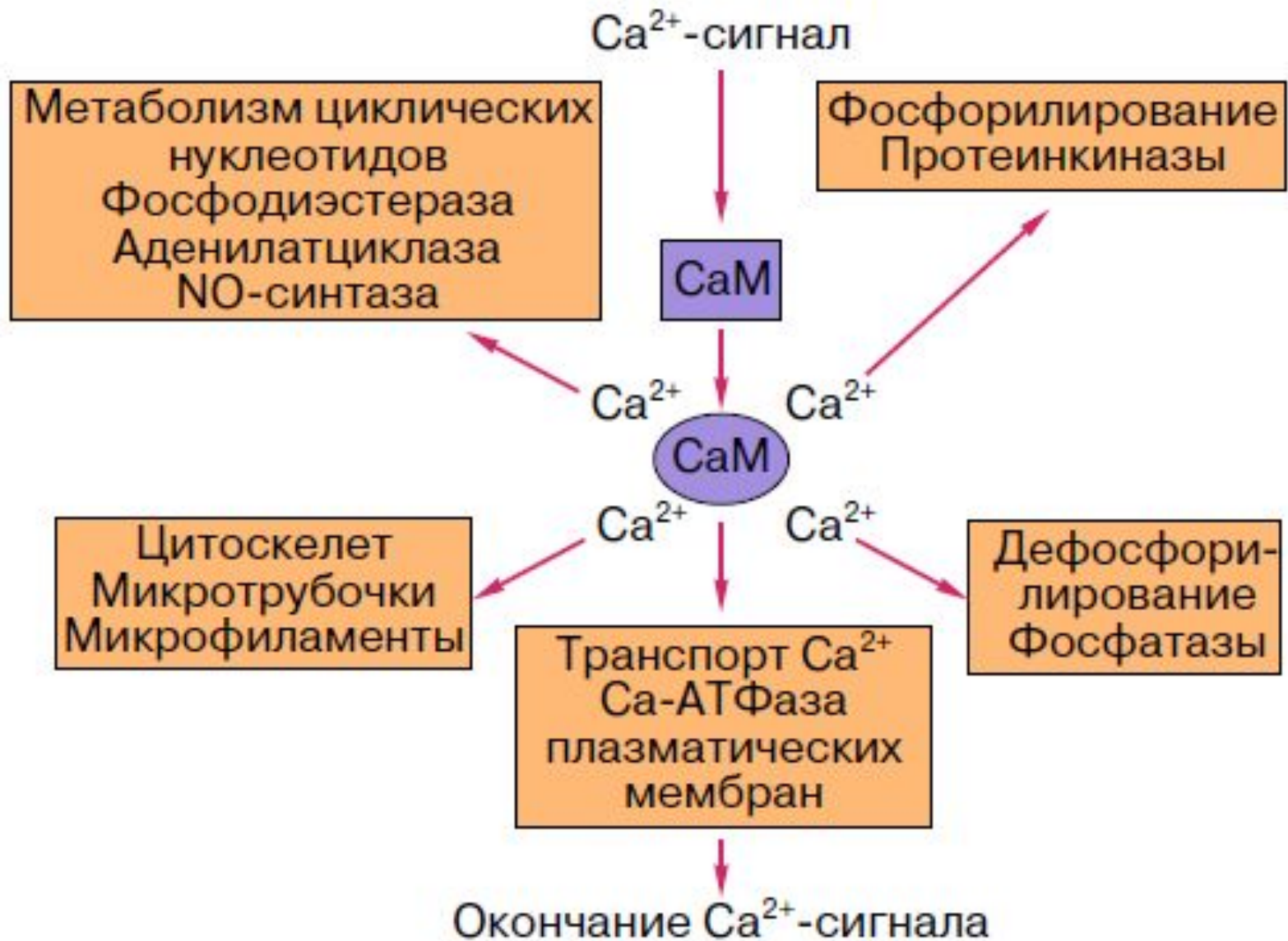
Обмен Ca^{2+} в клетке



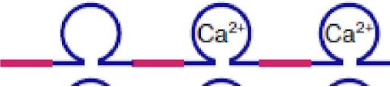
Ca²⁺ как мессенджер. Кальмодулин



Комплекс Ca^{2+} /кальмодулин.



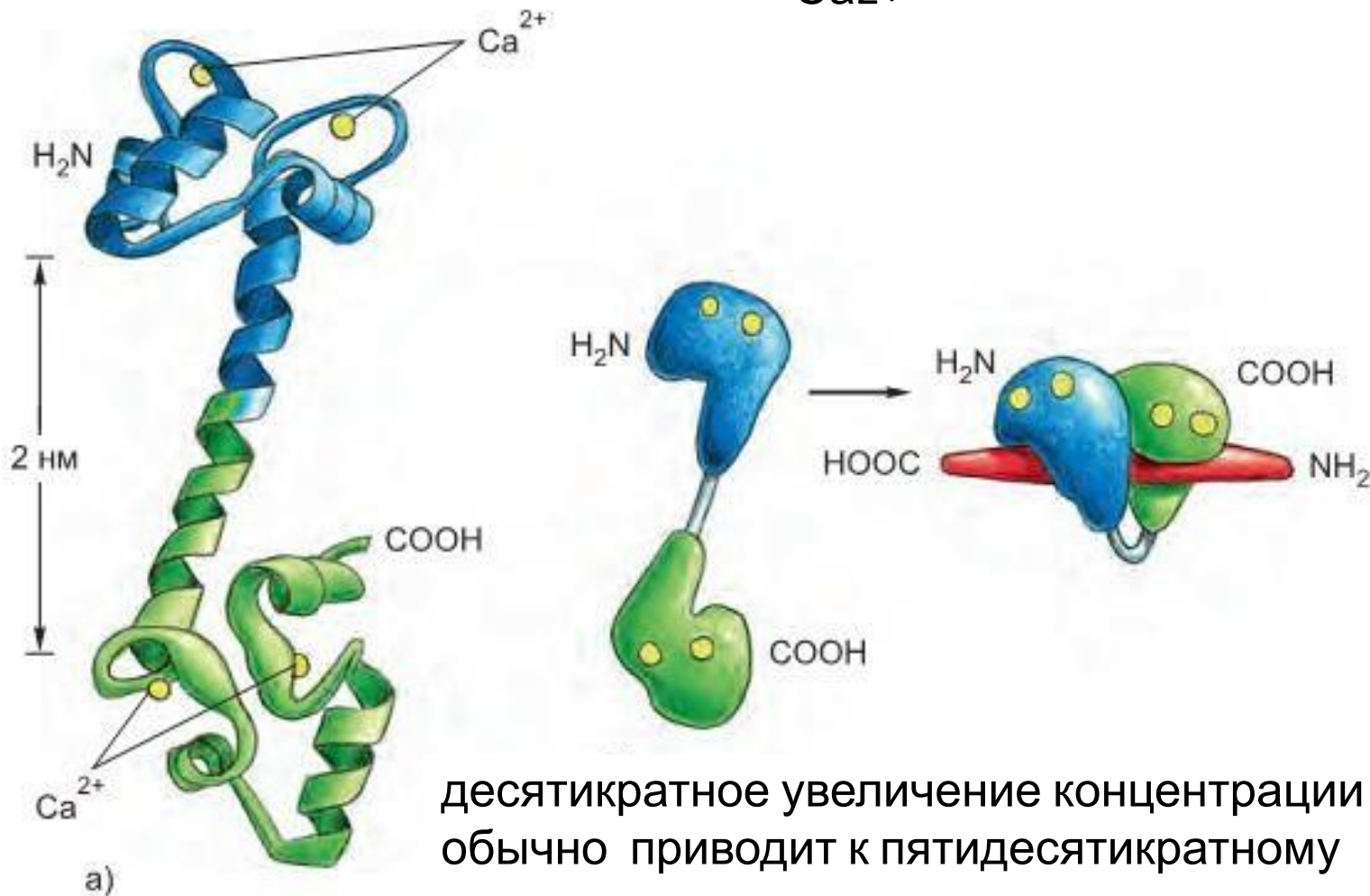
Основные Ca²⁺-связывающие белки

Название	Локализация	Функции	Строение
Белки с двумя EF-центрами			
Кальбиндин (S-100D)	Кишечник	Сорбция Ca ²⁺	
Семейство S-100, S-100A1	Мозг	Связь с цитоскелетом	
Белки с тремя EF-центрами			
Парвальбумины	Мышцы	Регуляция сокращения	
Онкомодулин	Плацента, опухоли	(?)	
Белки с четырьмя EF-центрами			
Кальмодулин	Повсеместно	Многообразные	
Тропонин С	Сердечные и скелетные мышцы	Регуляция сокращения	
Регуляторные легкие цепи миозина	Мышцы	Регуляция сокращения	
Щелочные легкие цепи миозина	Мышцы	Регуляция сокращения	
Рековерин/визинин	Палочки и колбочки сетчатки	Фоторецепция	

Ca²⁺/кальмодулин-зависимые протеинкиназы (CaM-киназы)

опосредуют многие ответы животных клеток на

Четыре активных сайта кальмодулина с высоким сродством связывают Ca²⁺

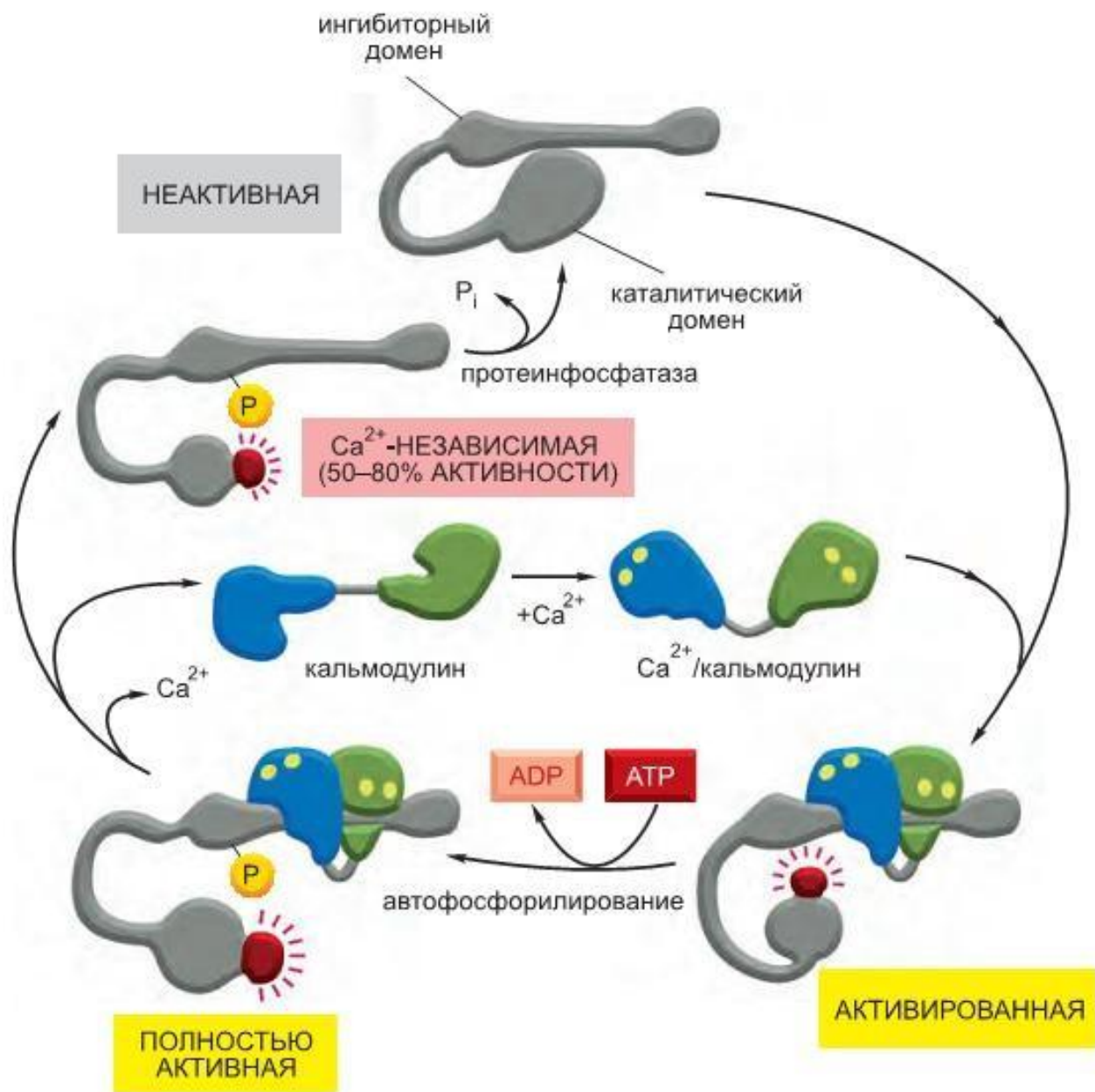


десятикратное увеличение концентрации Ca²⁺ обычно приводит к пятидесятикратному увеличению активности кальмодулина.

Механизмы действия кальмодулина:

- сам по себе он не обладает ферментативной активностью, действует за счет связывания и активации других белков.
- может опосредоваться фосфорилированием белков, катализируемым семейством серин-треониновых протеинкиназ, носящих название Ca^{2+} /кальмодулин-зависимых киназ (CaM-киназ).
Некоторые CaM-киназы фосфорилируют белки-регуляторы генов, например белок CREB , и активируют или ингибируют транскрипцию определенных генов.

Ступенчатая активация CaM-



Некоторые G-белки напрямую регулируют ионные каналы

один из типов G-белков- *G12 активировает фактор обмена гуаниновых нуклеотидов (GEF)*, который активирован регулирующую актиновый цитоскелет мономерную GTPазу семейства Rho.

G-белки напрямую активируют или инактивируют ионные каналы

плазматической мембраны клетки-мишени (ацетилхолиновые рецепторы, активирующие Gi-белок, после активации α -субъединица Gi ингибирует аденилилциклазу, а $\beta\gamma$ -комплекс связывает и открывает K⁺- каналы в плазматической мембране клеток сердечной мышцы).

Другие G-белки *регулируют активность ионных каналов косвенно за счет стимуляции фосфорилирования каналов* (ферментами PKA, PKC и CaM-киназой, например) или за счет активации синтеза или разрушения циклических нуклеотидов, напрямую активирующих или инактивирующих ионные каналы.

Четыре основных семейства тримерных G-белков

Семейство	Представители семейства	Субъединицы, опосредующие активность	Некоторые функции
I	G_s	α	активирует аденилилциклазу; активирует Ca^{2+} -каналы
	G_{olf}	α	активирует аденилилциклазу в обонятельных сенсорных нейронах
II	G_i	α	ингибирует аденилилциклазу
	G_o	$\beta\gamma$	активирует K^+ -каналы
		$\beta\gamma$	активирует K^+ -каналы; инактивирует Ca^{2+} -каналы
	G_t (трансдуцин)	α и $\beta\gamma$	активирует фосфолипазу C- β
III	G_q	α	активирует сАМР-фосфодиэстеразу в фоторецепторах палочках позвоночных
IV	$G_{12/13}$	α	активирует семейство Rho мономерных GTPаз (посредством Rho-GEF) для регуляции актинового цитоскелета

Десенсibiliзация

основывается на их фосфорилировании ферментами PKA, PKC или

представителями семейства GPCR-киназ (GPCR Kinase, GRK)

- (1) При инактивации рецепторы изменяются таким образом, что больше не могут взаимодействовать с G-белками.
- (2) При депонировании рецепторы временно перемещаются внутрь клетки (интернализуются) и становятся недоступными для лиганда.
- (3) При даун-регуляции рецепторы разрушаются в лизосомах после интернализации.

Роль GPCR-киназ (GRK) и аррестинов в десенсибилизации GPCR.



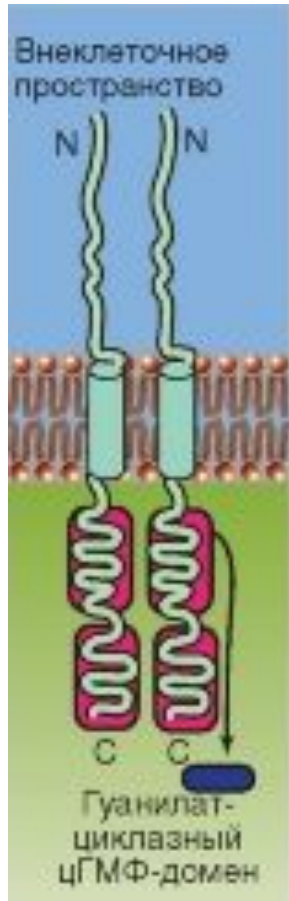
Рецепторы связанные с ферментами

Основные классы сопряженных с ферментами рецепторов

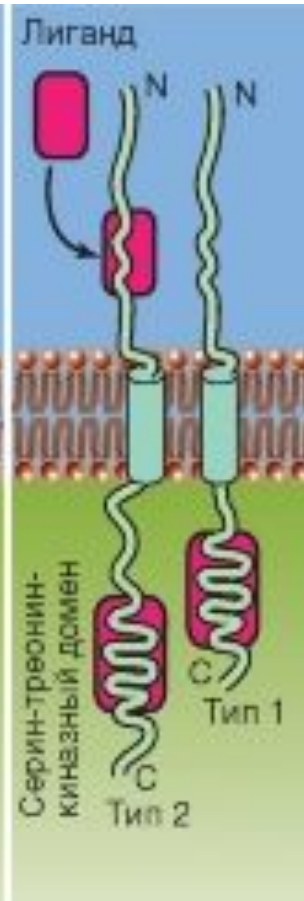
1. Тирозинкиназные рецепторы напрямую фосфорилируют определенные тирозины на самих себе и небольшом наборе внутриклеточных сигнальных белков.
2. Связанные с тирозинкиназами рецепторы рекрутируют цитоплазматические тирозинкиназы для передачи сигнала.
3. Рецепторные серин-треониновые киназы напрямую фосфорилируют определенные серины или треонины на самих себе и на неактивных белках- регуляторах генов, с которыми они связаны.
4. Связанные с гистидинкиназами рецепторы активируют двухкомпонентный сигнальный путь, в котором киназа фосфорилирует саму себя по гистидину
5. Гуанилилциклазные рецепторы напрямую катализируют в цитозоле синтез циклического GMP
6. Рецептор-подобные тирозинфосфатазы удаляют фосфатные группы с тирозинов специфических сигнальных белков.

Рецепторы с собственной ферментативной активностью

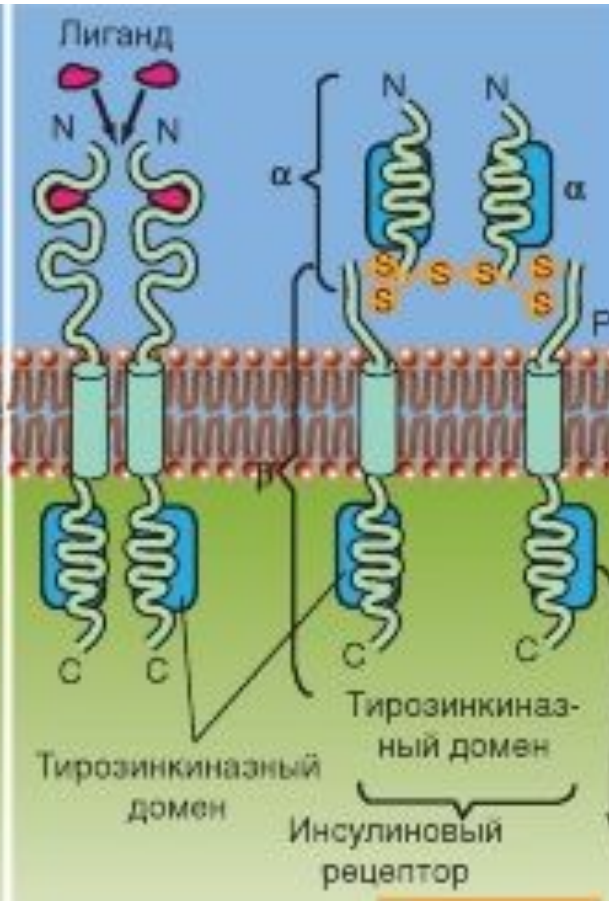
Рецептор
предсердного
натрий-
уретического
пептида



Рецепторы
цитокинов

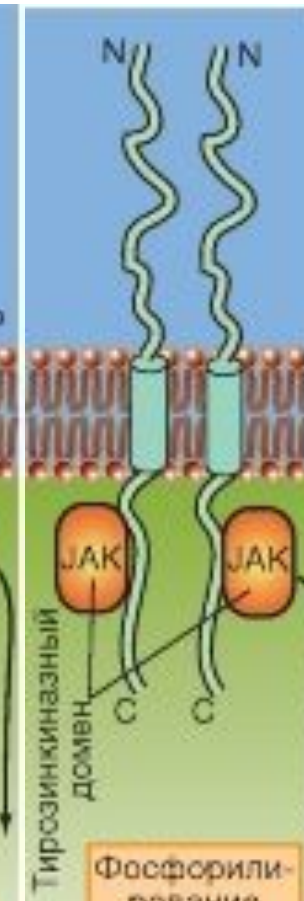


Рецептор
фактора
роста нервов

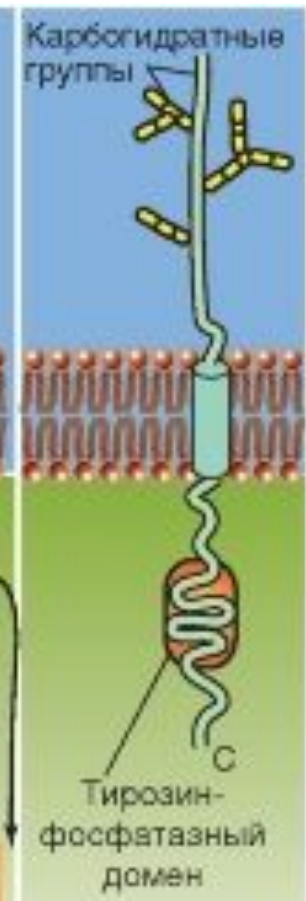


Рецептор
инсулина

Рецептор
интерферона

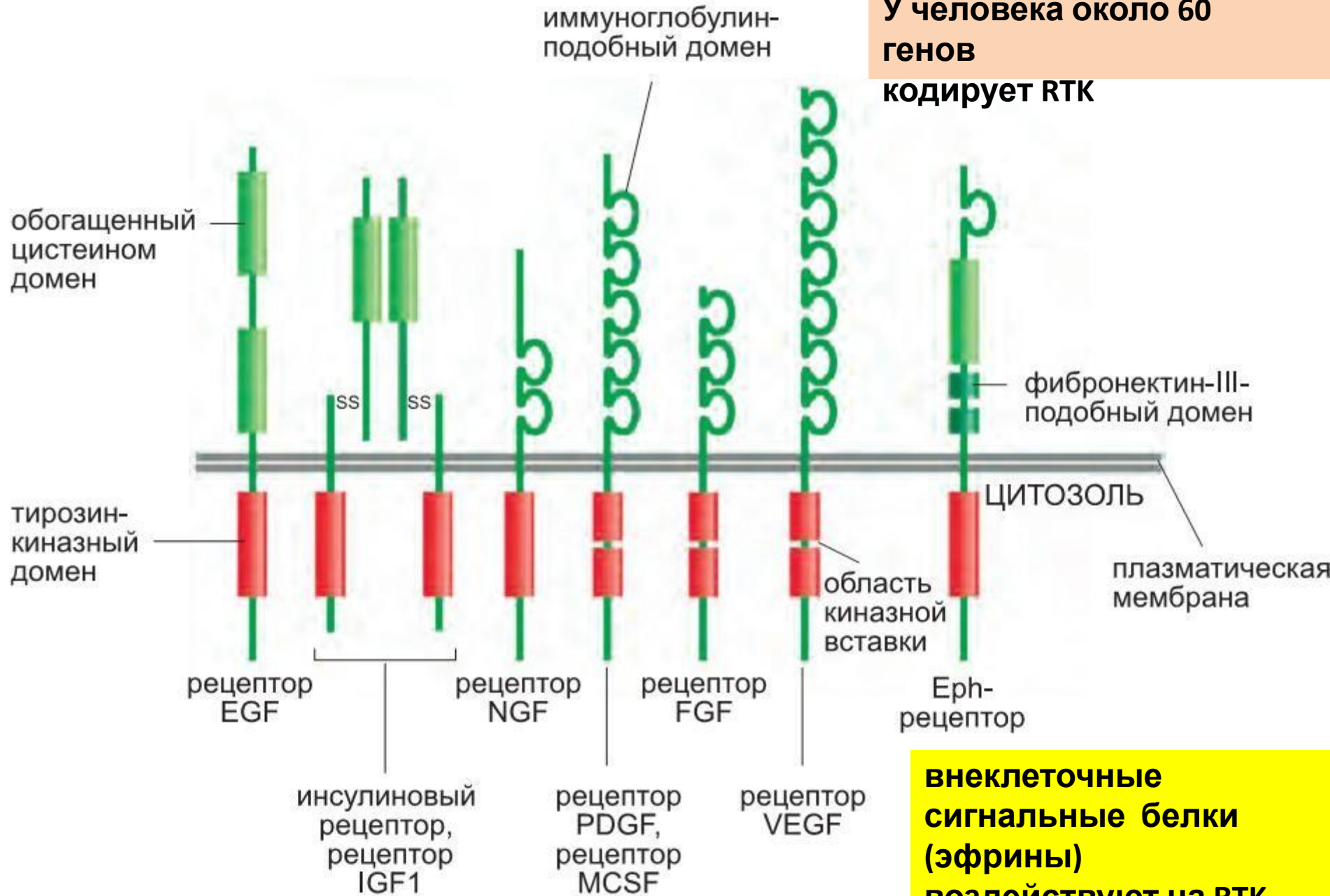


CD45-рецептор



Тирозинкиназные рецепторы (RTK)

У человека около 60
генов
кодирует RTK



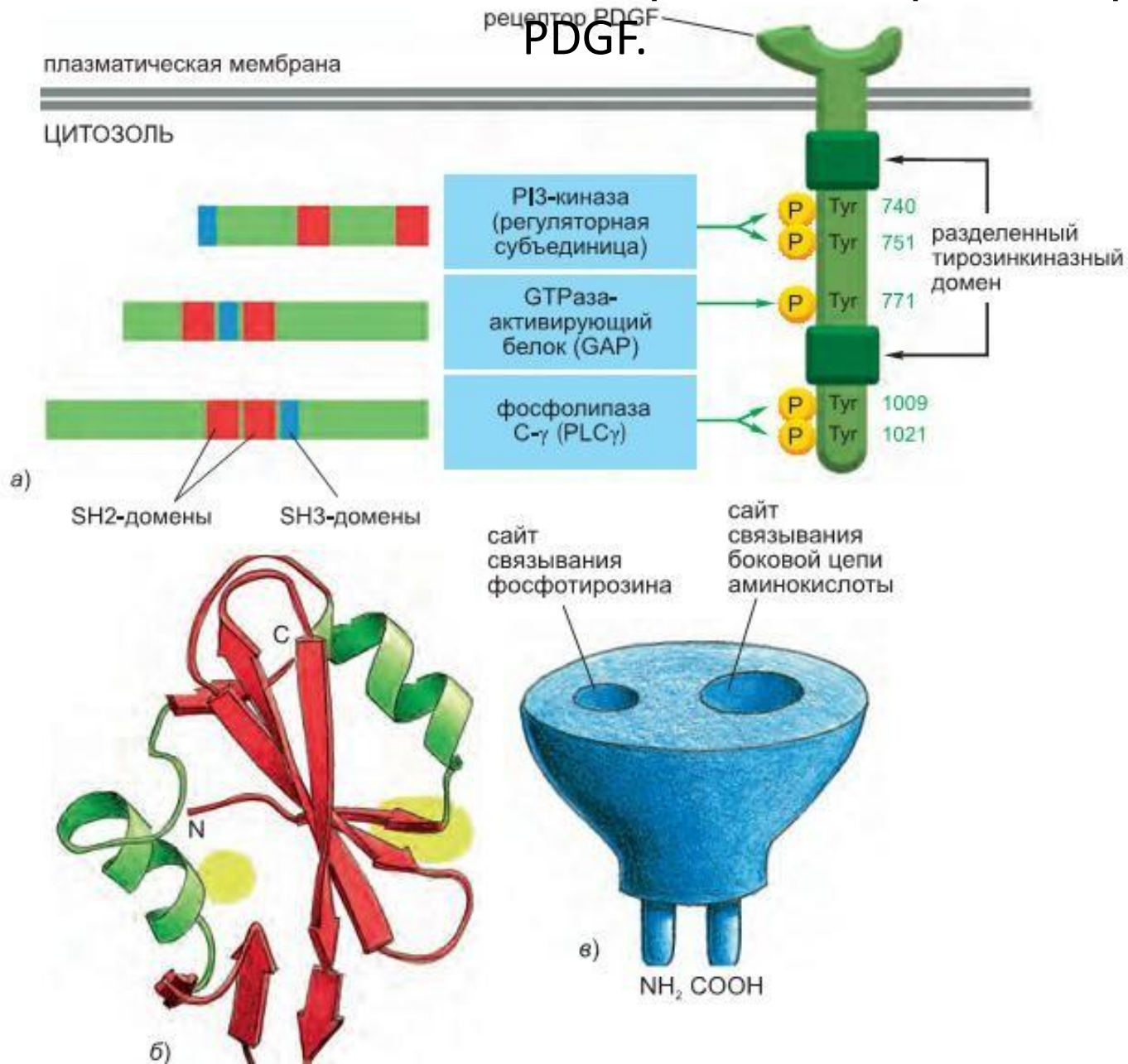
Некоторые сигнальные белки, действующие посредством RTK

Сигнальный белок	Рецепторы	Некоторые ответы
Эпидермальный фактор роста (EGF)	рецепторы EGF	стимулирует выживание, рост, пролиферацию или дифференциацию различных типов клеток; служит индуктивными сигналами при развитии
Инсулин	инсулиновый рецептор	стимулирует расщепление углеводов и синтез белков
Инсулиноподобные факторы роста (IGF1 и IGF2)	IGF-рецептор-1	стимулируют выживание и рост многих типов клеток
Фактор роста нервов (NGF)	Trk A	стимулирует выживание и рост некоторых нейронов
Тромбоцитарные факторы роста (PDGF AA, BB, AB)	рецепторы PDGF (α и β)	стимулируют выживание, рост, пролиферацию и миграцию различных типов клеток
Колонiestимулирующий фактор макрофагов (MCSF)	рецептор MCSF	стимулирует пролиферацию и дифференциацию моноцитов/макрофагов
Факторы роста фибробластов (от FGF1 до FGF24)	рецепторы FGF (FGFR1–FGFR4 и их многочисленные изоформы)	стимулируют пролиферацию различных типов клеток; ингибируют дифференциацию некоторых клеток-предшественников; служат индуктивными сигналами при развитии
Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF)	рецепторы VEGF	стимулируют ангиогенез
Эфрины (A и B типов)	Eph-рецепторы (A и B типов)	стимулируют ангиогенез; направляют миграцию клеток и аксонов

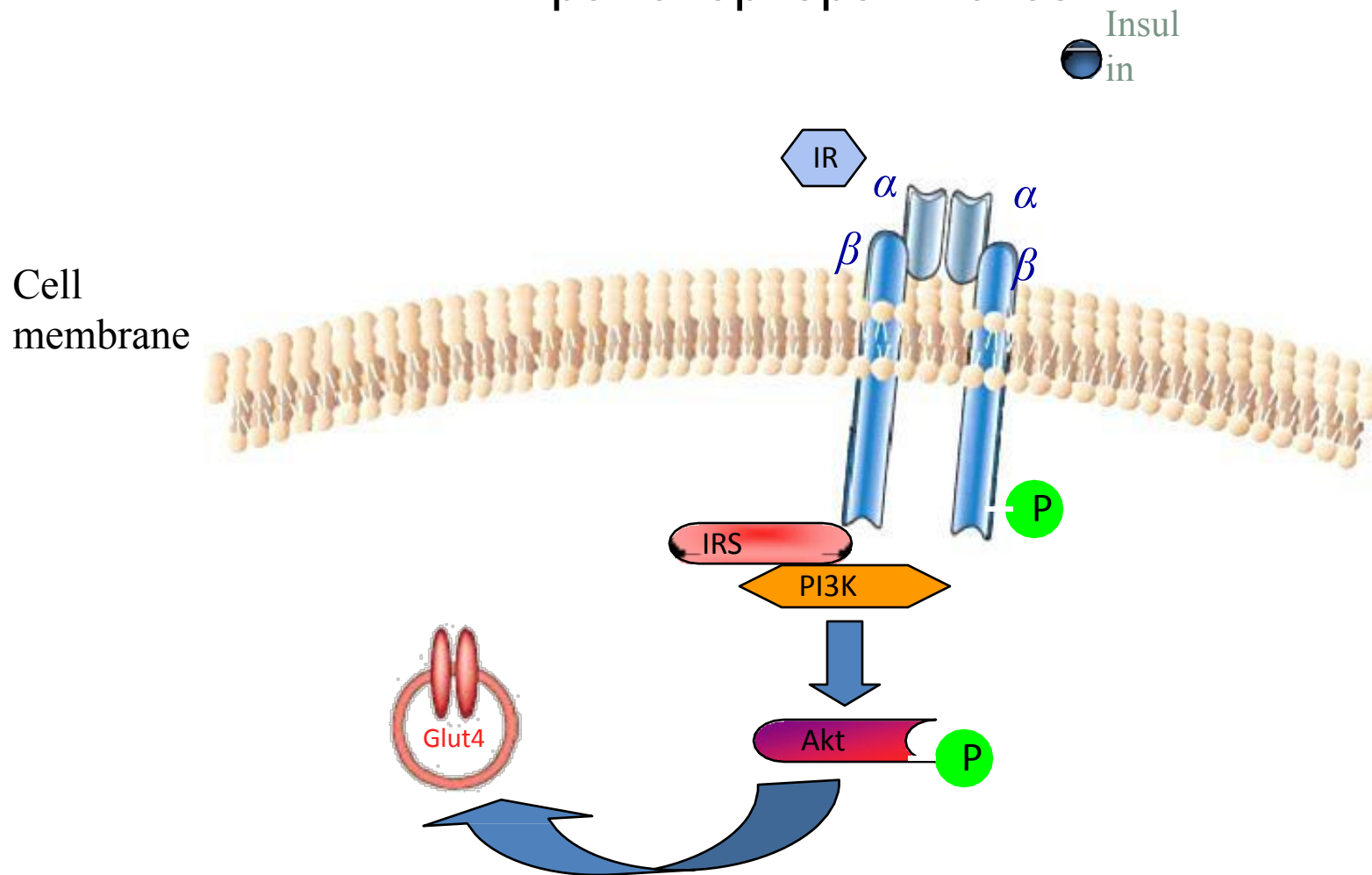
Этапы активации RTK

1. Активация киназного домена
2. Фосфорилирование тирозиновых остатков в цитоплазматическом домене (путём димеризации (олигомеризации) –перекрёстное фосфорилирование или аутофосфорилирование)
3. Формирование участков связывания для субстратов
4. Фосфорилирование, связывающихся с рецепторов белков
5. Индукция передачи или выключение сигнала

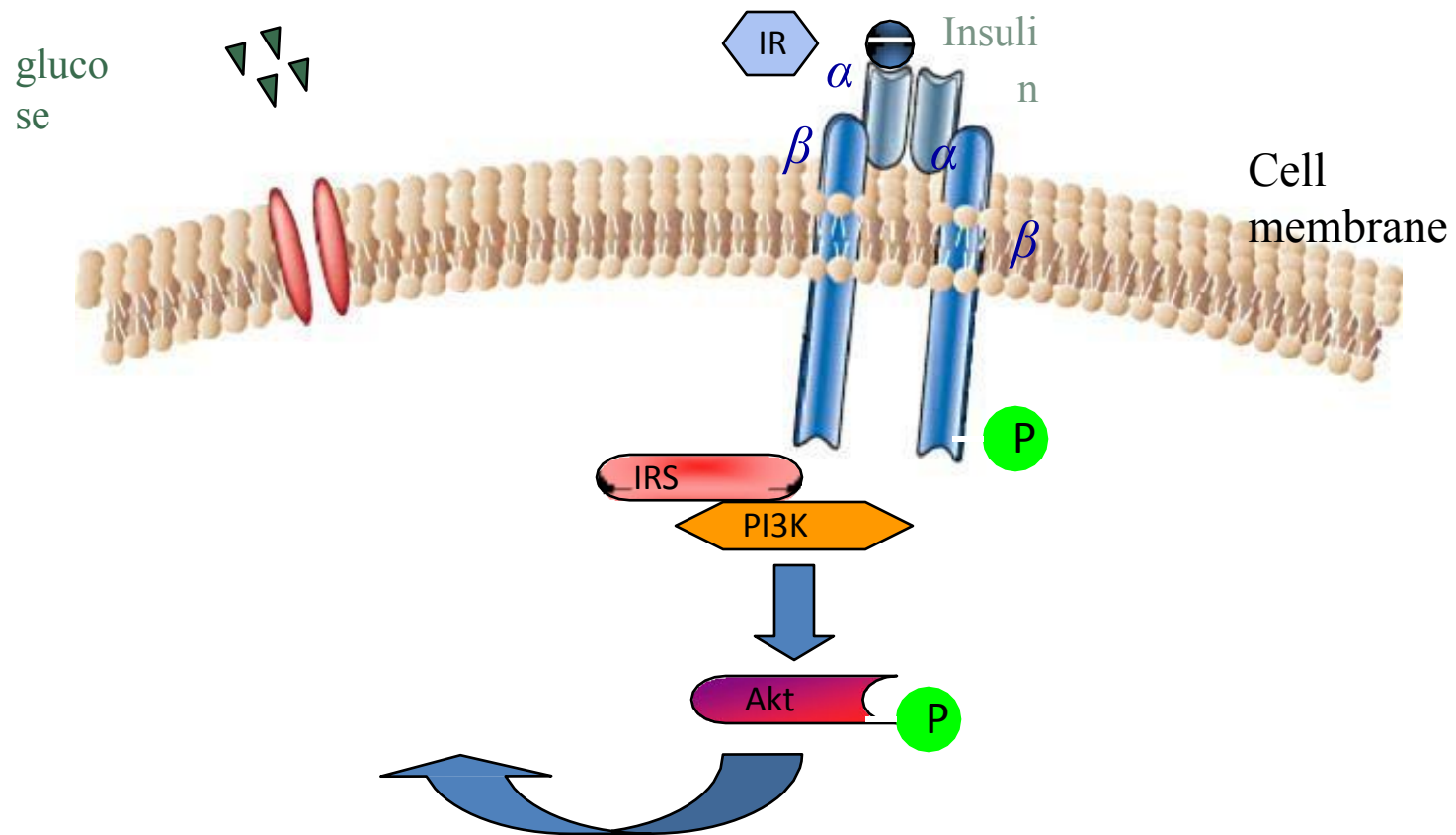
Связывание содержащих SH2-доменов внутриклеточных сигнальных белков с активированным рецептором PDGF.



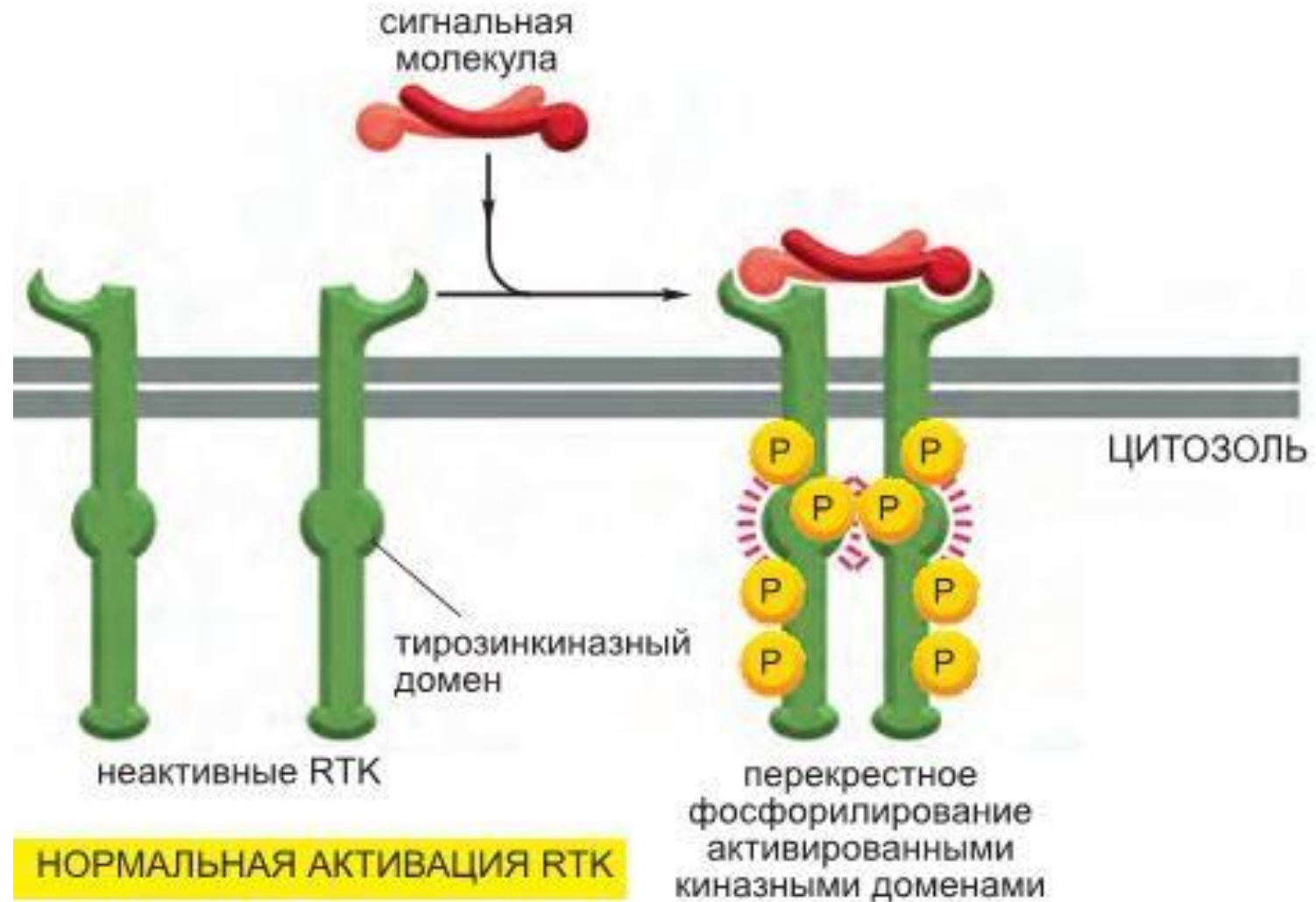
Индукцированный инсулином сигнальный путь транспортера глюкозы



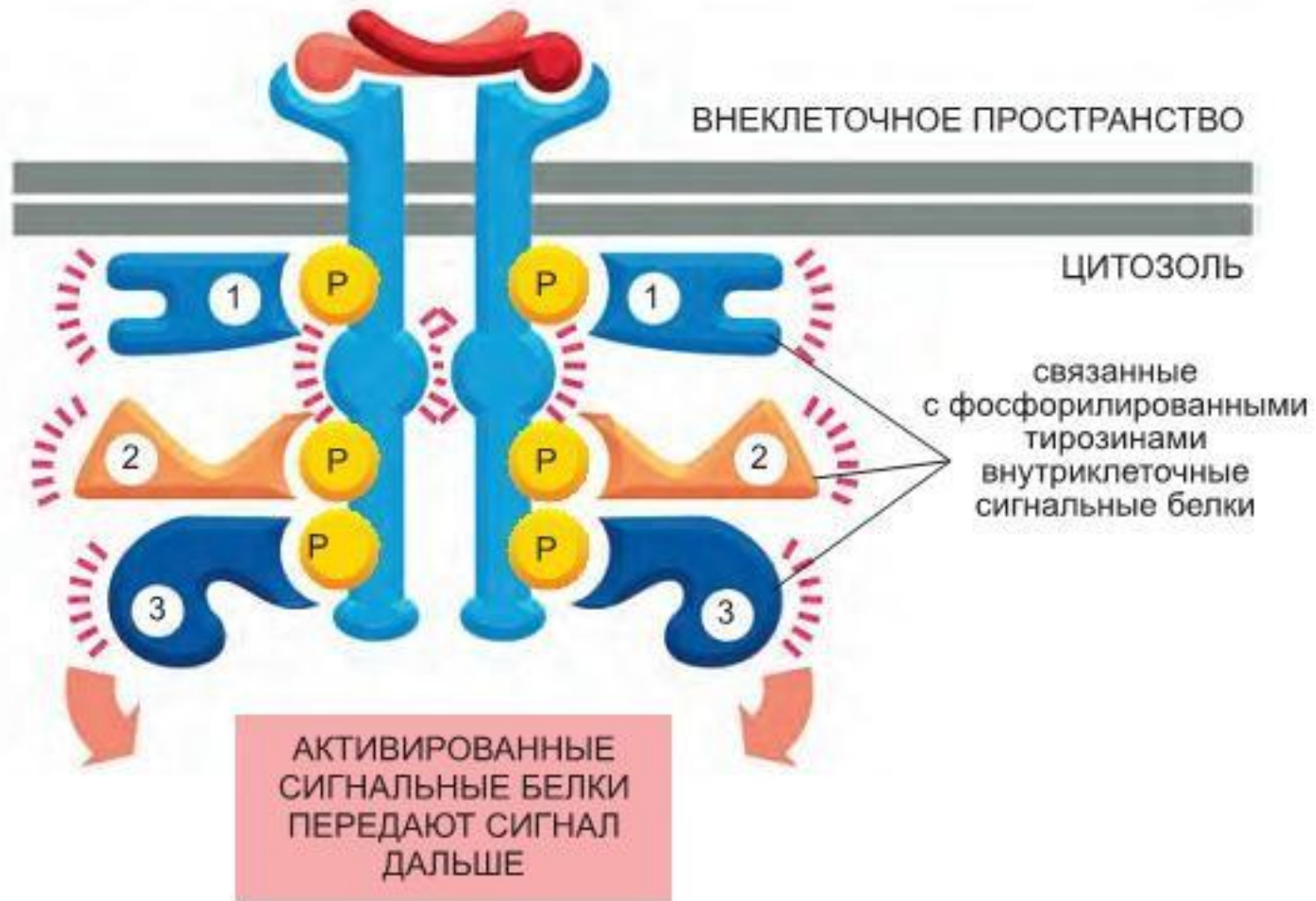
Индукированный инсулином сигнальный путь транспортера глюкозы



Активация и инактивация RTK посредством димеризации.

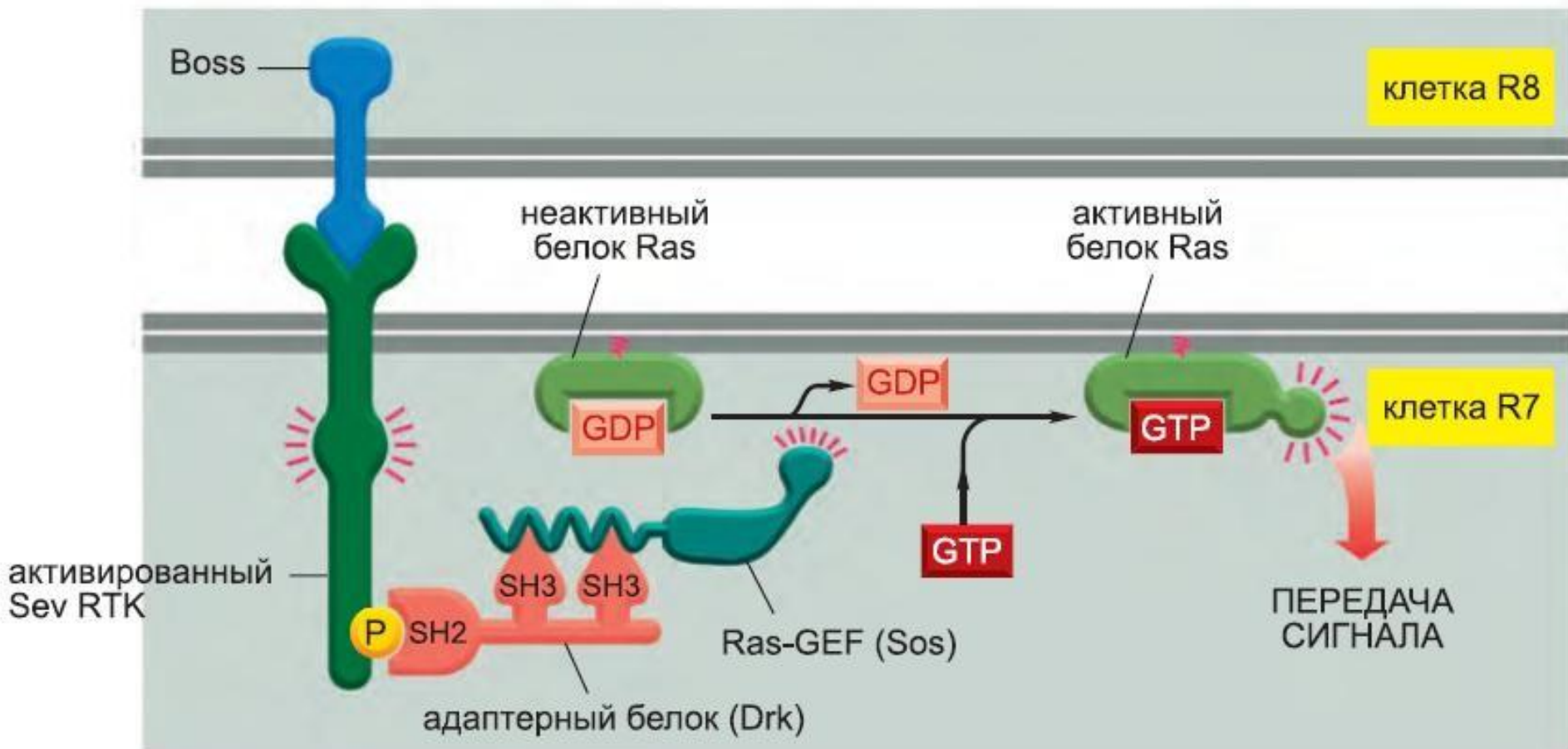


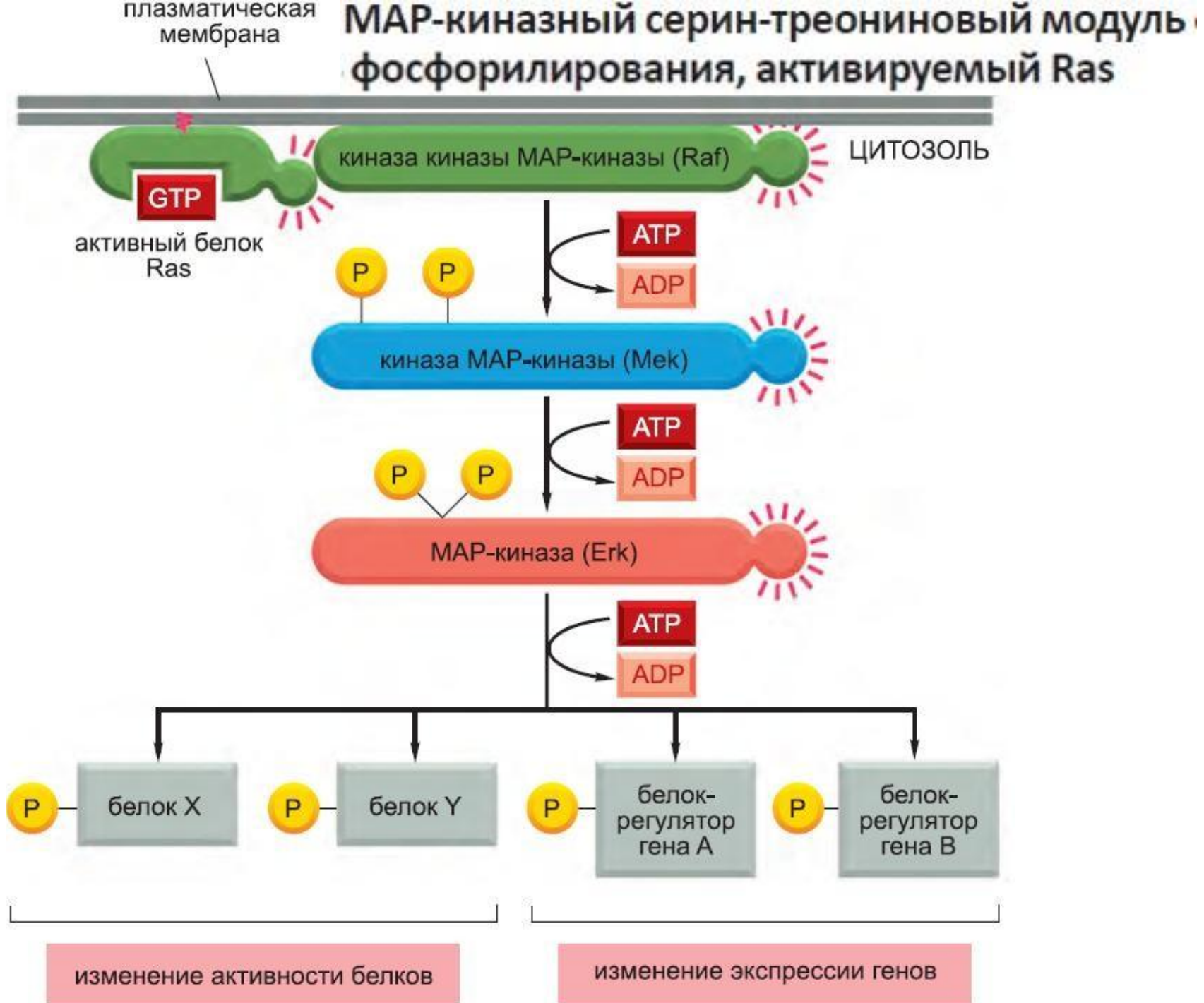
. Связывание внутриклеточных сигнальных белков с фосфотирозинами на активированных RTK.



Суперсемейство Ras мономерных GTPаз

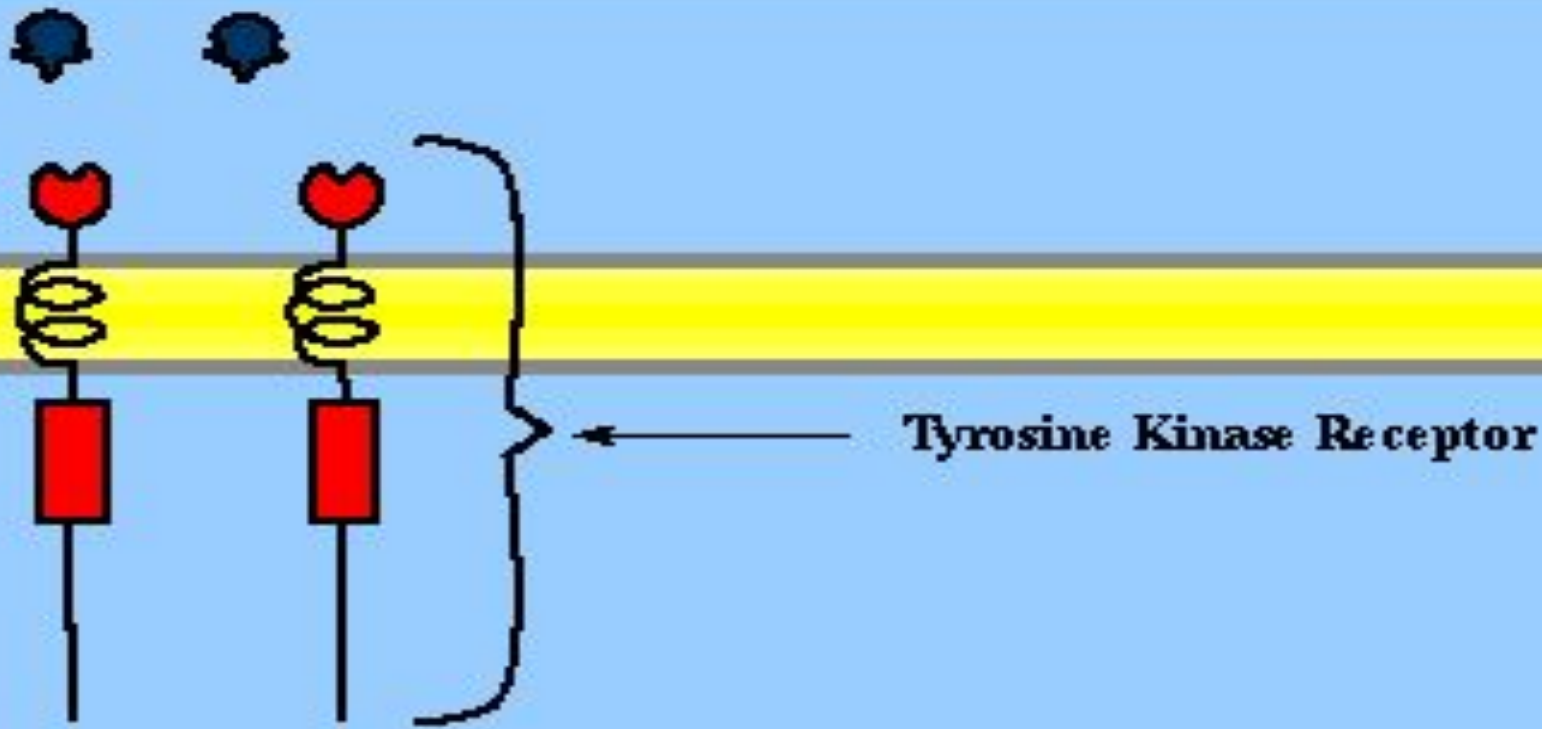
Семейство	Представители	Функции
Ras	H-Ras, K-Ras, N-Ras	передача сигналов от RTK
	Rheb	активирует mTOR для стимуляции клеточного роста
	Rep1	активирует cAMP-зависимый GEF; влияет на адгезию клеток за счет активации интегринов
Rho*	Rho, Rac, Cdc42	передают сигналы от поверхностных рецепторов на цитоскелет и другие органеллы
ARF*	ARF1–ARF6	регулируют сборку белковой каймы на внутриклеточных пузырьках
Rab*	Rab1-60	регулирует внутриклеточный везикулярный транспорт
Ran*	Ran	регулирует сборку митотического веретена деления и ядерный транспорт РНК и белков



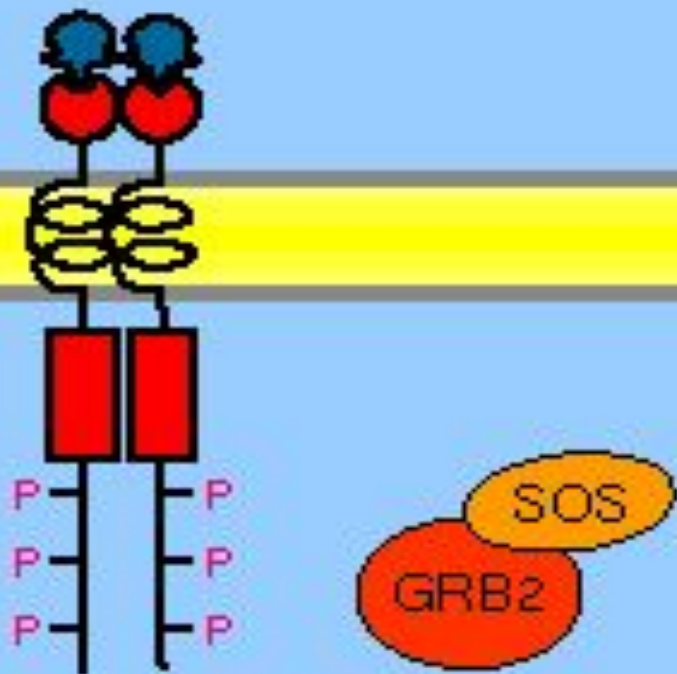




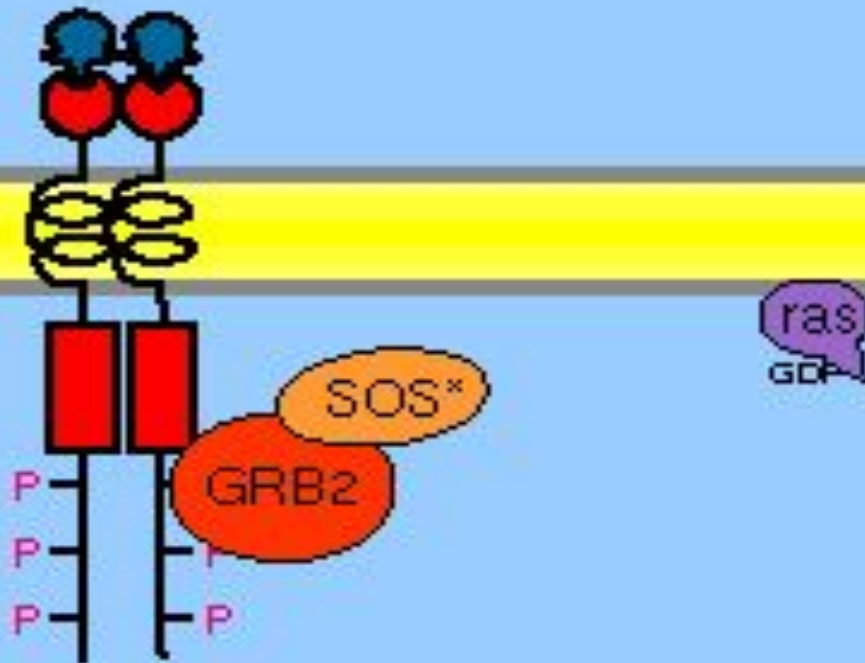
После агрегации тирозинкиназный домен фосфорилирует тирозиновые остатки С-терминального сегмента.



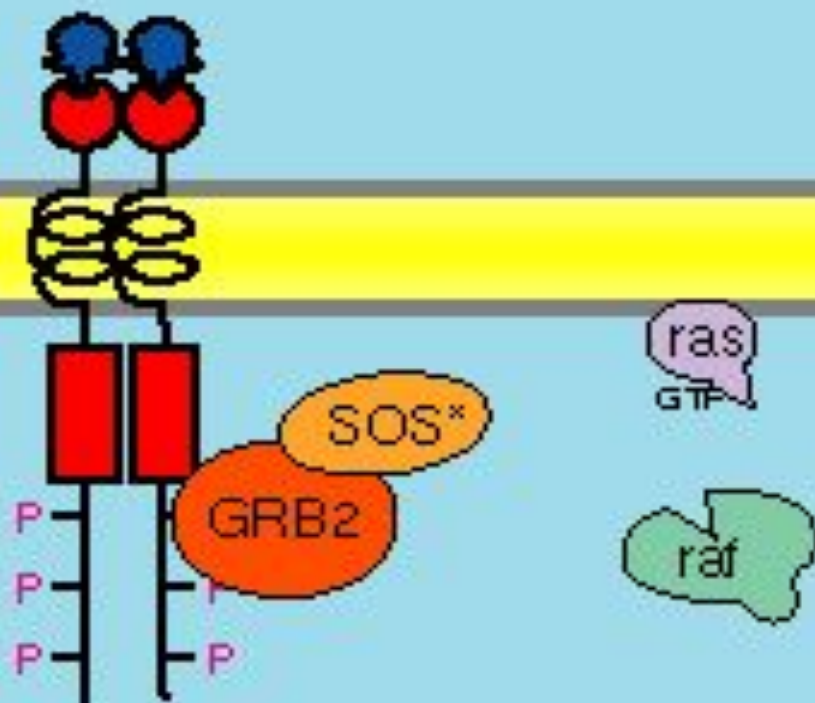
Тирозинкиназные рецепторы – семейство рецепторов сходной структуры. Они имеют тирозинкиназный домен (фосфорилирует белки по остатку тирозина), гормон-связывающий домен, карбокситерминальный сегмент с большим числом остатков тирозина для аутофосфорилирования. Когда гормон связывается с экстраклеточным доменом, рецептор агрегирует.



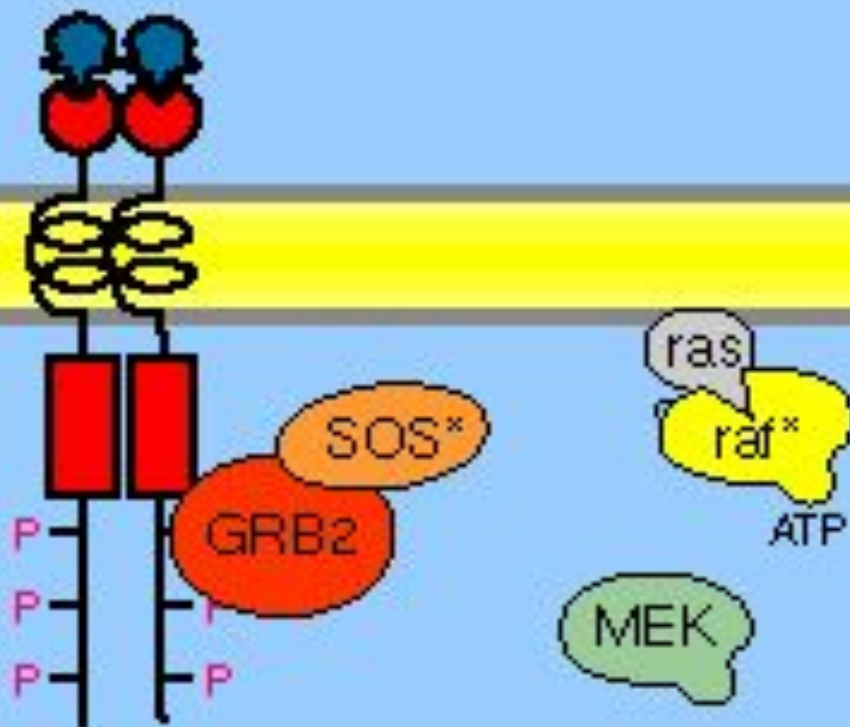
Фосфорилирование вызывает образование мест связывания для белков с SH2 доменами. GRB2 – один из таких адапторных белков. GRB2 с прикрепленным белком SOS связывается с рецепторным комплексом. Это активирует



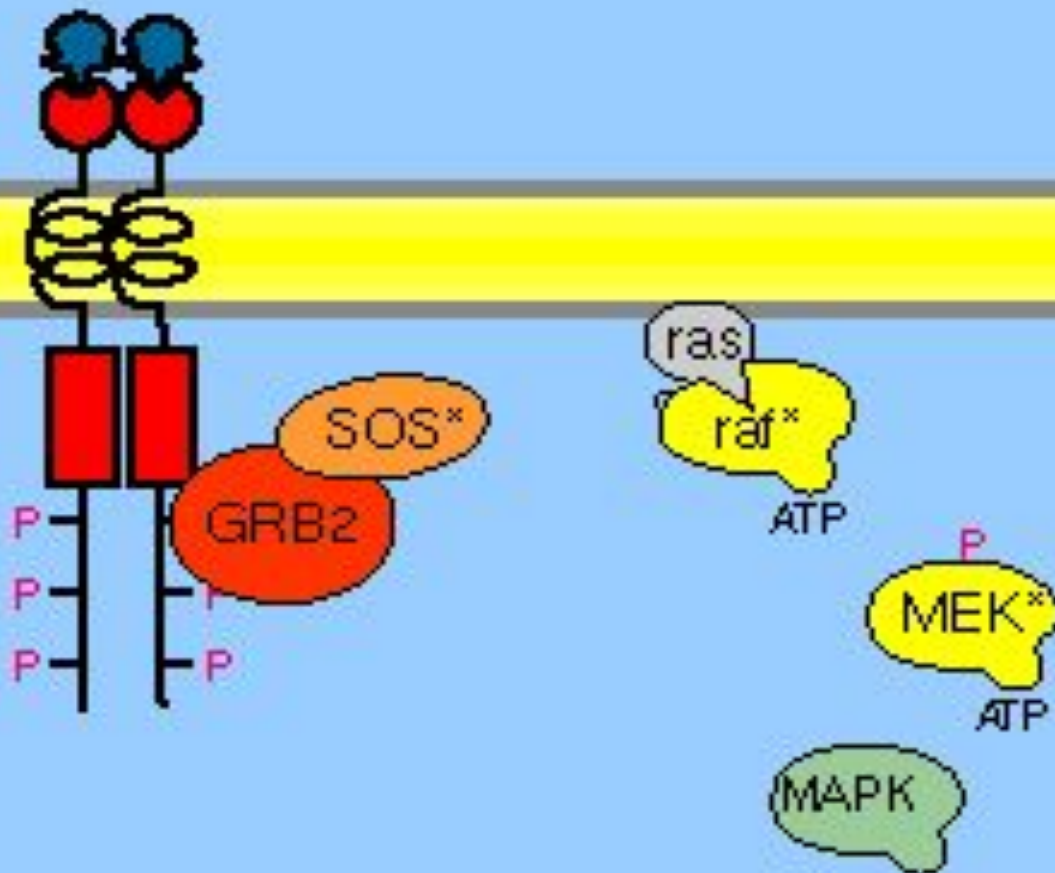
SOS – белок, высвобождающий гуаниловый нуклеотид (GNRP). Его активация способствует изменению сродства некоторых G-белков к ГТФ. Ras – один из этих белков. Связывание ГТФ с ras активирует этот белок.



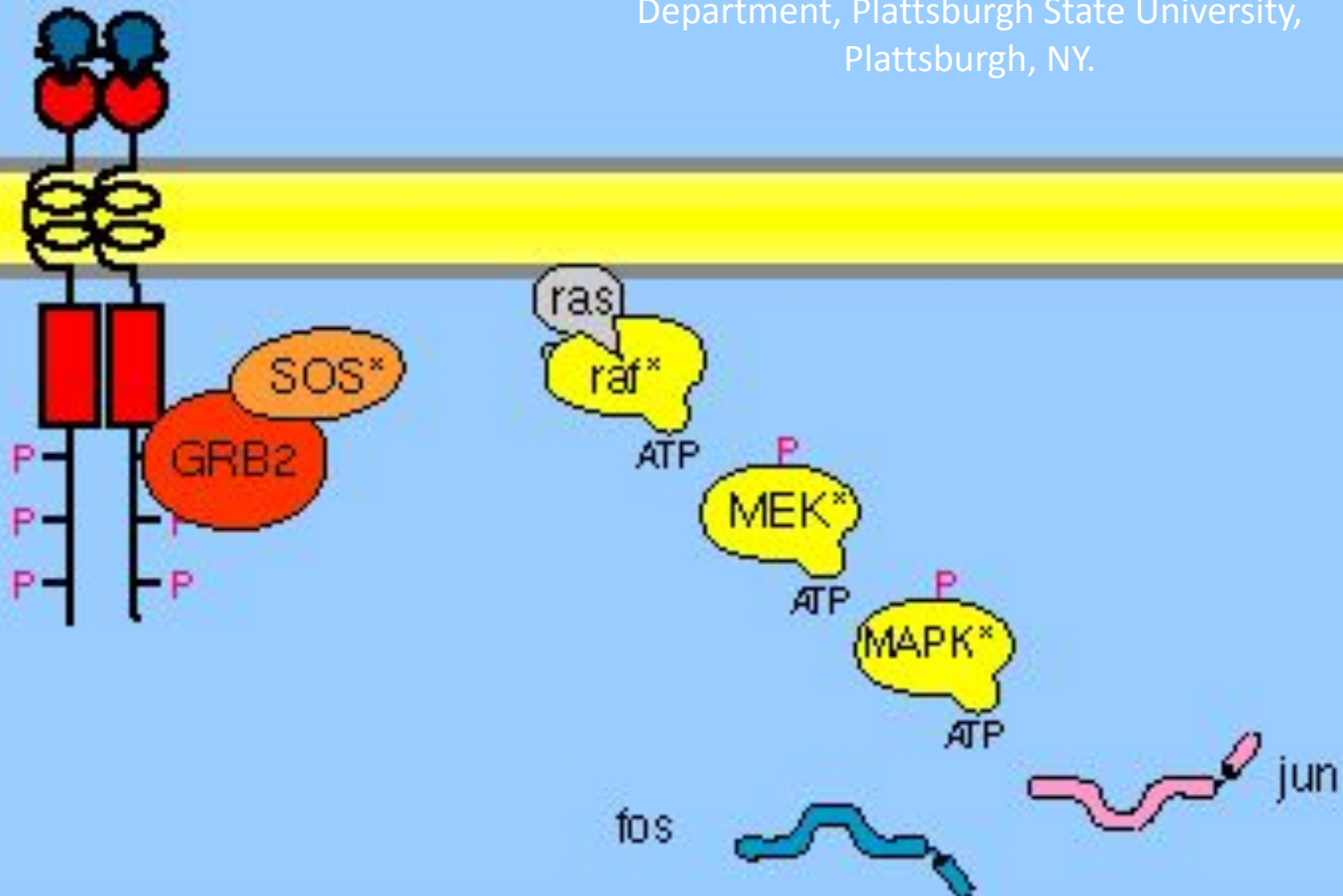
Активация ras вызывает активацию киназного каскада raf-1.



Raf-1 киназа фосфорилирует другую протеинкиназу MEK и активирует ее.



Активная MEK фосфорилирует другую протеинкиназу MAPK и активирует ее. Фосфорилирование киназ в каскаде существенно усиливает сигнал.

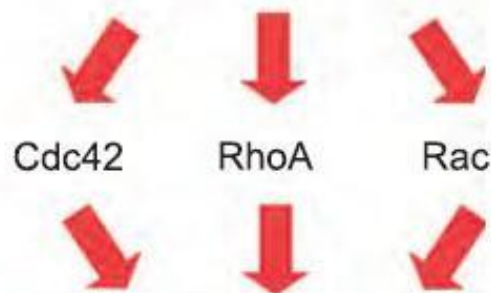
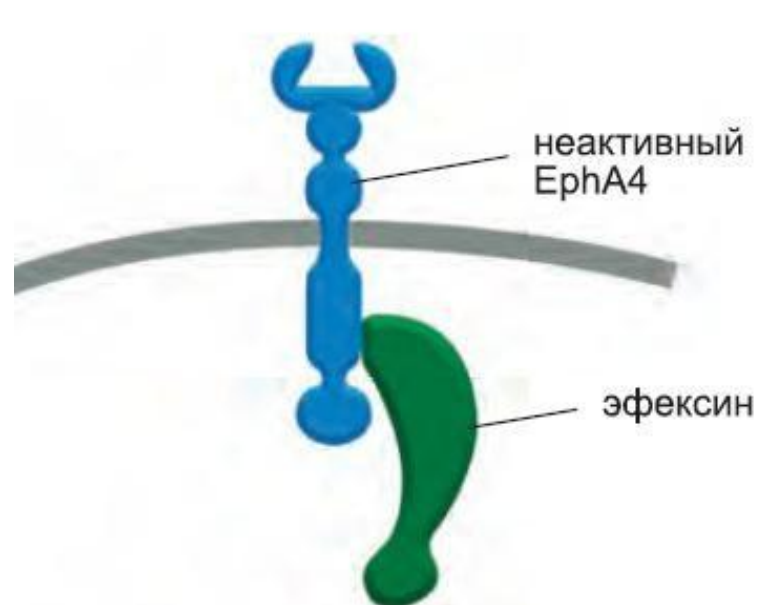


Мишенями этого киназного каскада являются транскрипционные факторы, например *fos* и *jun*. Фосфорилирование этих белков активирует их и способствует их связыванию с ДНК, следствием чего является активация транскрипции.

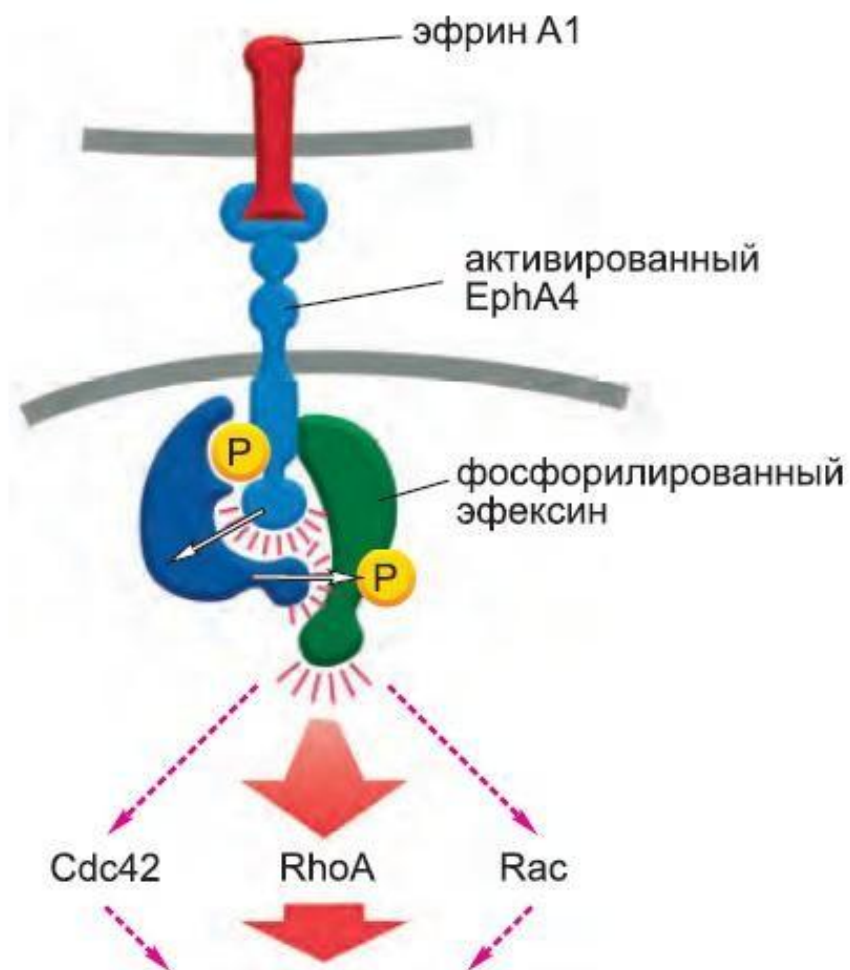
Коллапс конуса роста, опосредованный GTPазами семейства Rho.



Коллапс конуса роста, опосредованный GTPазами семейства Rho.

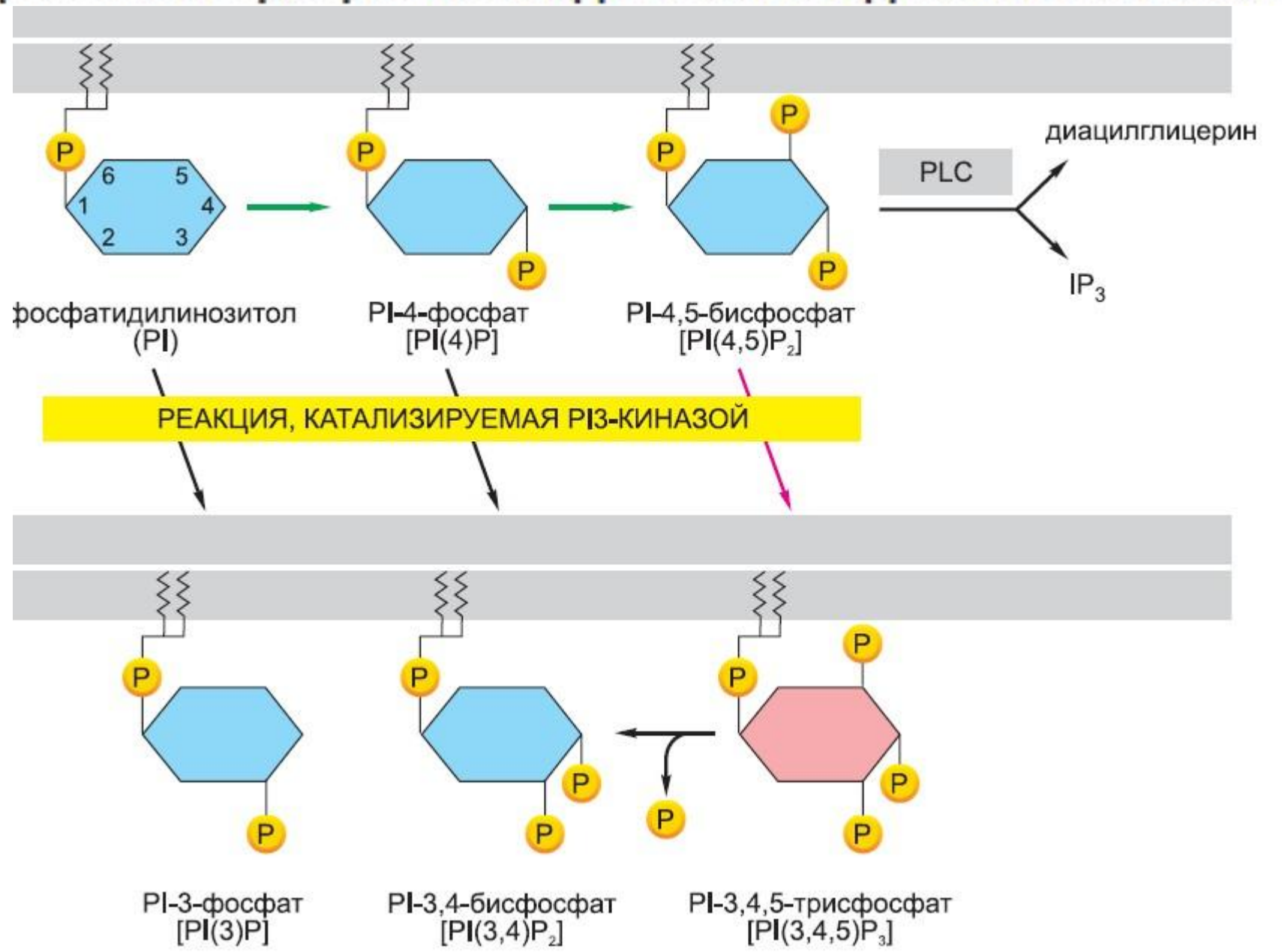


УДЛИНЕНИЕ КОНУСА РОСТА

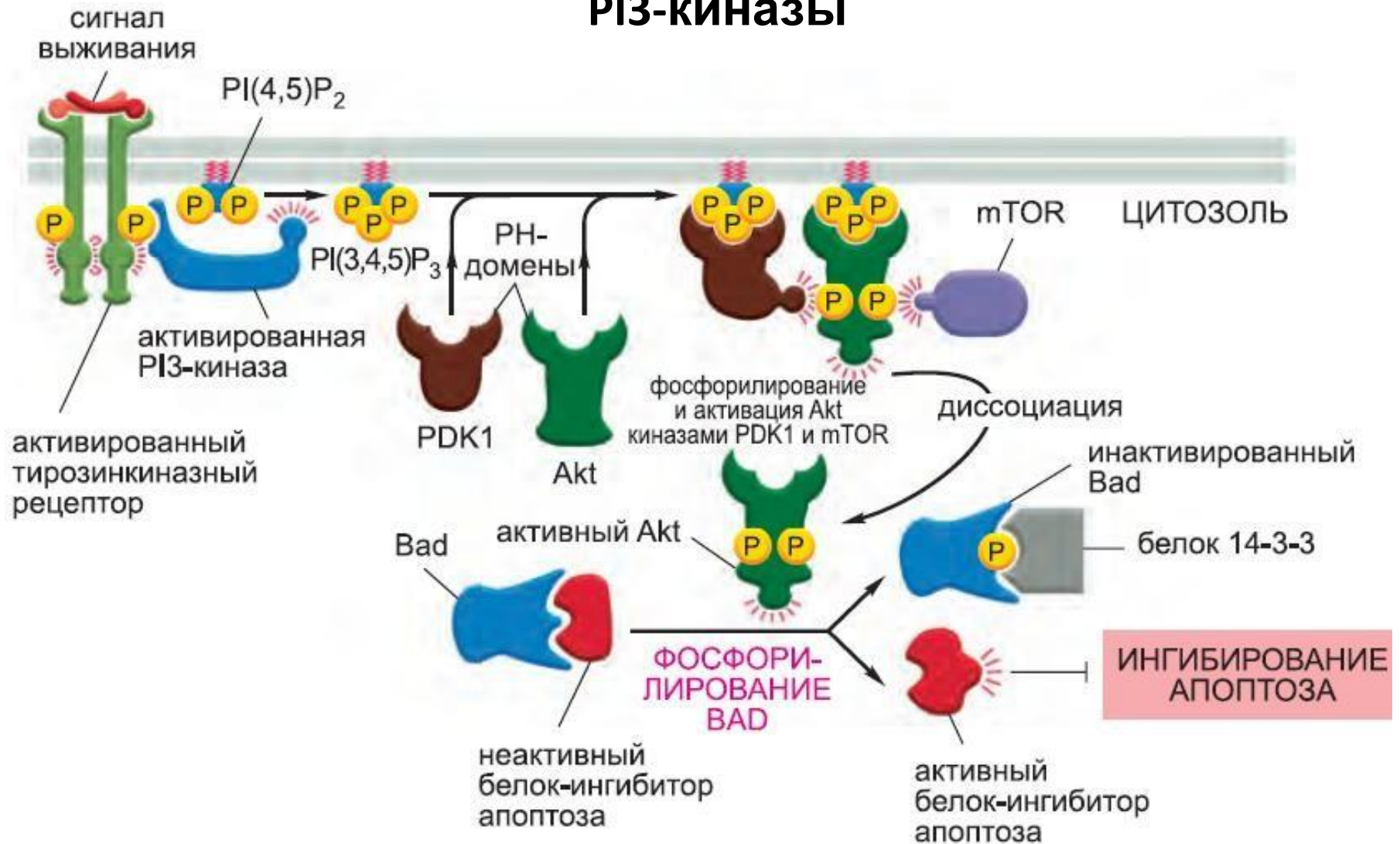


КОЛЛАПС КОНУСА РОСТА

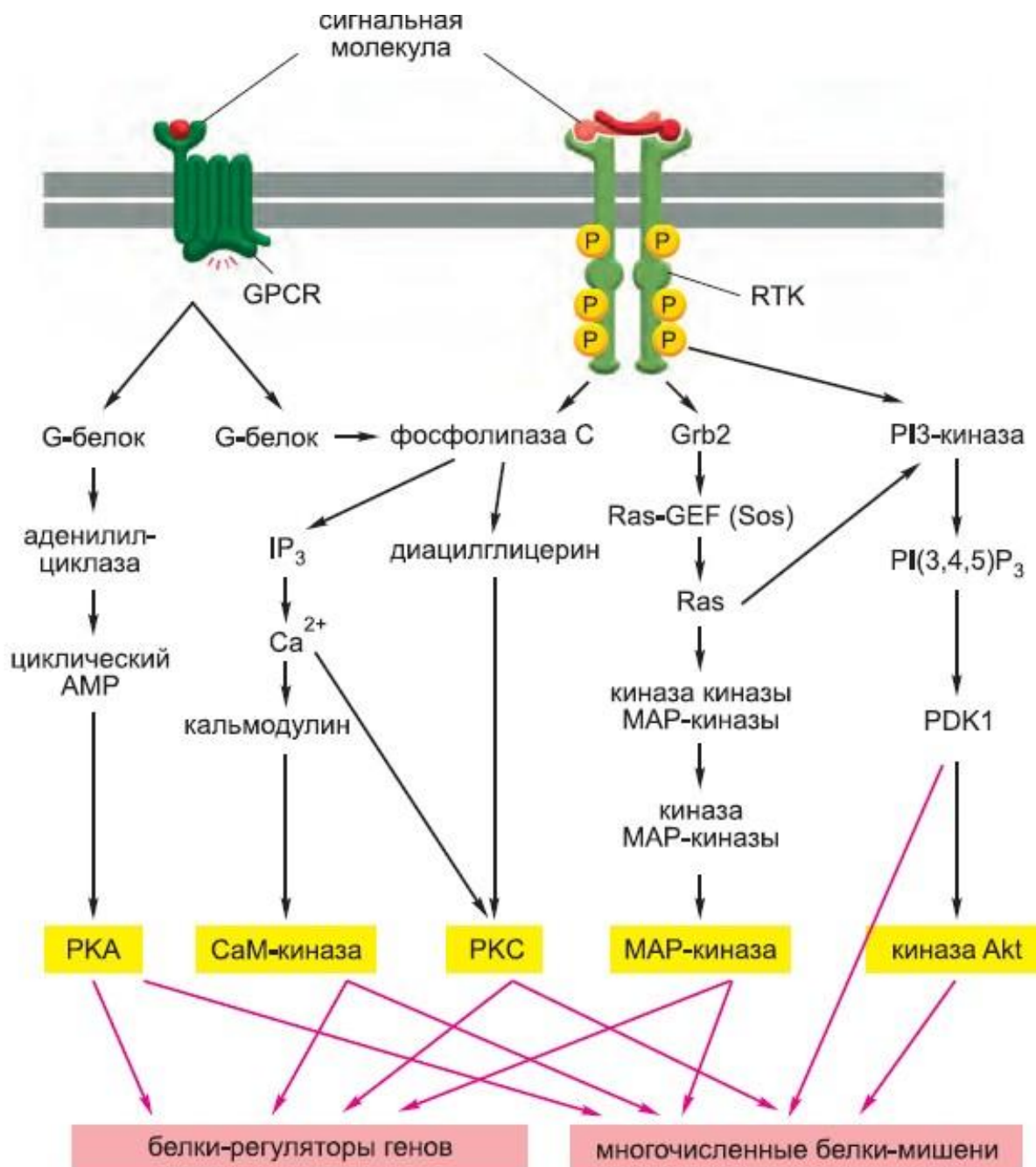
Образование фосфоинозитидных сайтов докинга Р13-киназой.



Стимуляция выживания клеток через активацию PI3-киназы



Пять параллельных внутриклеточных сигнальных путей, активируемых RTK и GPCR.



Рецепторы,
сопряженные с
тирозинкиназами
класса Janus

Семейства рецепторов, сопряженных с JAK-киназами

Семейство 1:

рецепторы гормонов семейства СТГ, лептина, эритропоэтина, интерлейкинов (кроме ИЛ-10)

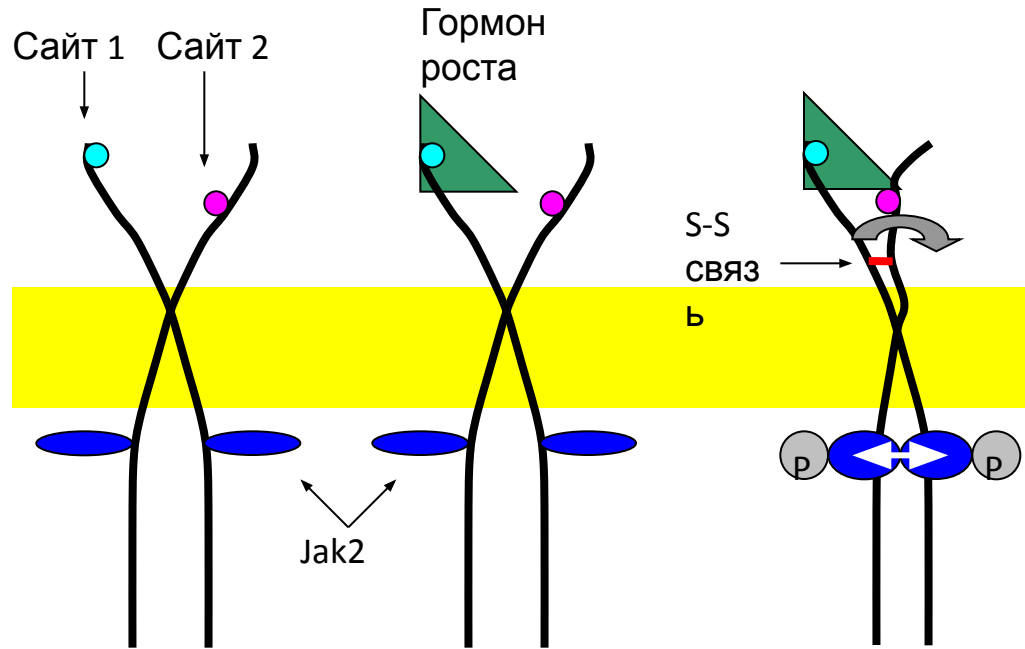
Семейство 2:

рецепторы интерферонов и ИЛ-10

Семейство 3:

рецепторы антигенов Т и В лимфоцитов

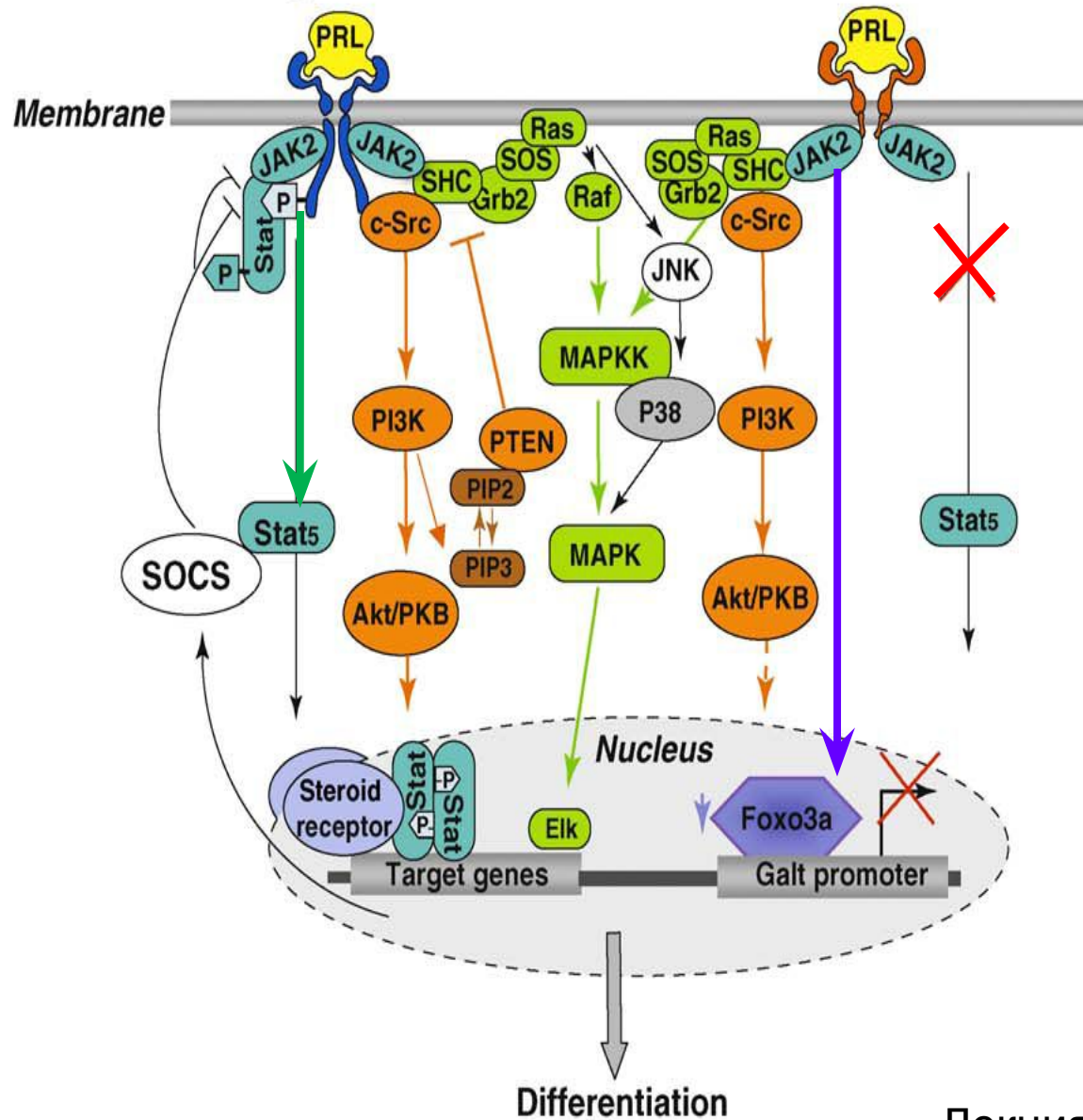
Гипотетический механизм активации рецептора гормона роста



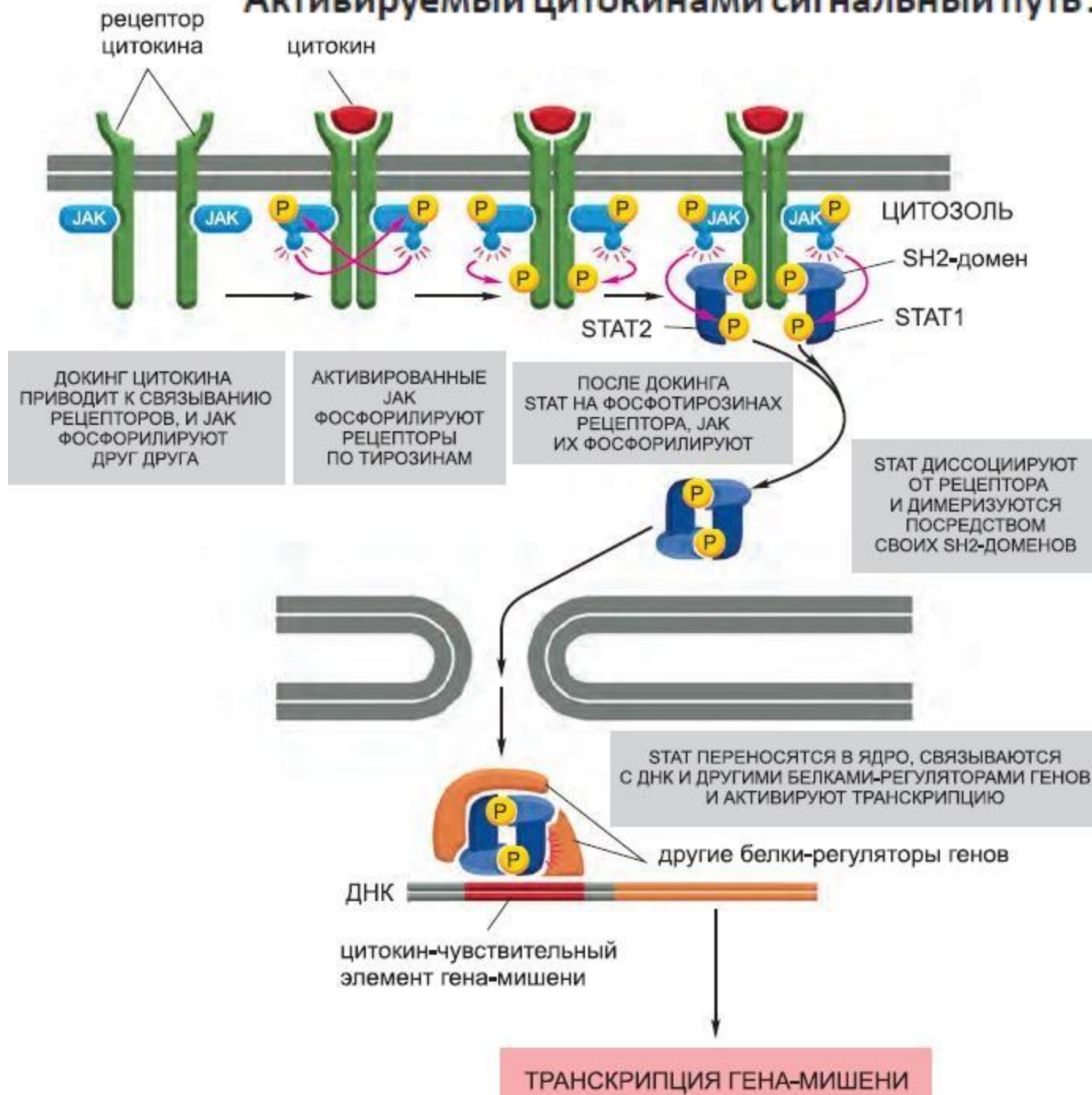
Гомодимерные рецепторы:

Гормона роста,
Пролактина,
Эритропоэтина,
Тромбопоэтина,
Колонистимулирующего фактора гранулоцитов,
Лептина

Пути проведения сигнала гомодимерами длинных и коротких изоформ рецептора пролактина



Активируемый цитокинами сигнальный путь JAK-STAT.

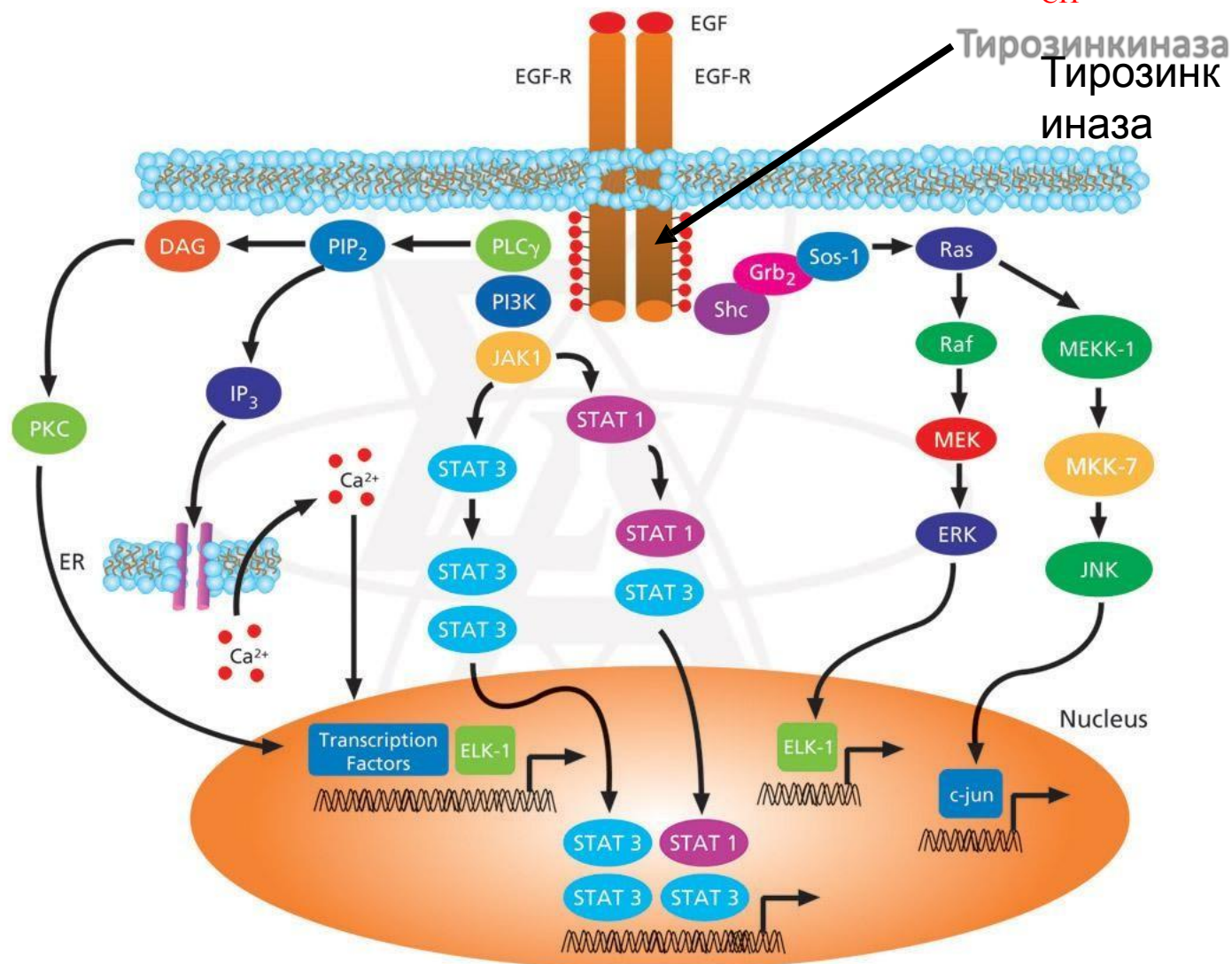


Сигнальные белки, действующие через JAK-STAT путь

Сигнальный белок	Связанный с рецептором JAK	Активируемые STAT	Некоторые ответы
γ-интерферон	JAK1 и JAK2	STAT1	активация макрофагов
α-интерферон	Tyk2 и JAK2	STAT1 и STAT2	повышение устойчивости клеток к вирусной инфекции
Эритропоэтин	JAK2	STAT5	стимуляция образования эритроцитов
Пролактин	JAK1 и JAK2	STAT5	стимуляция образования молока
Гормон роста	JAK2	STAT1 и STAT5	стимуляция роста за счет инициации синтеза IGF1
GM-CSF	JAK2	STAT5	стимуляция образования гранулоцитов и макрофагов

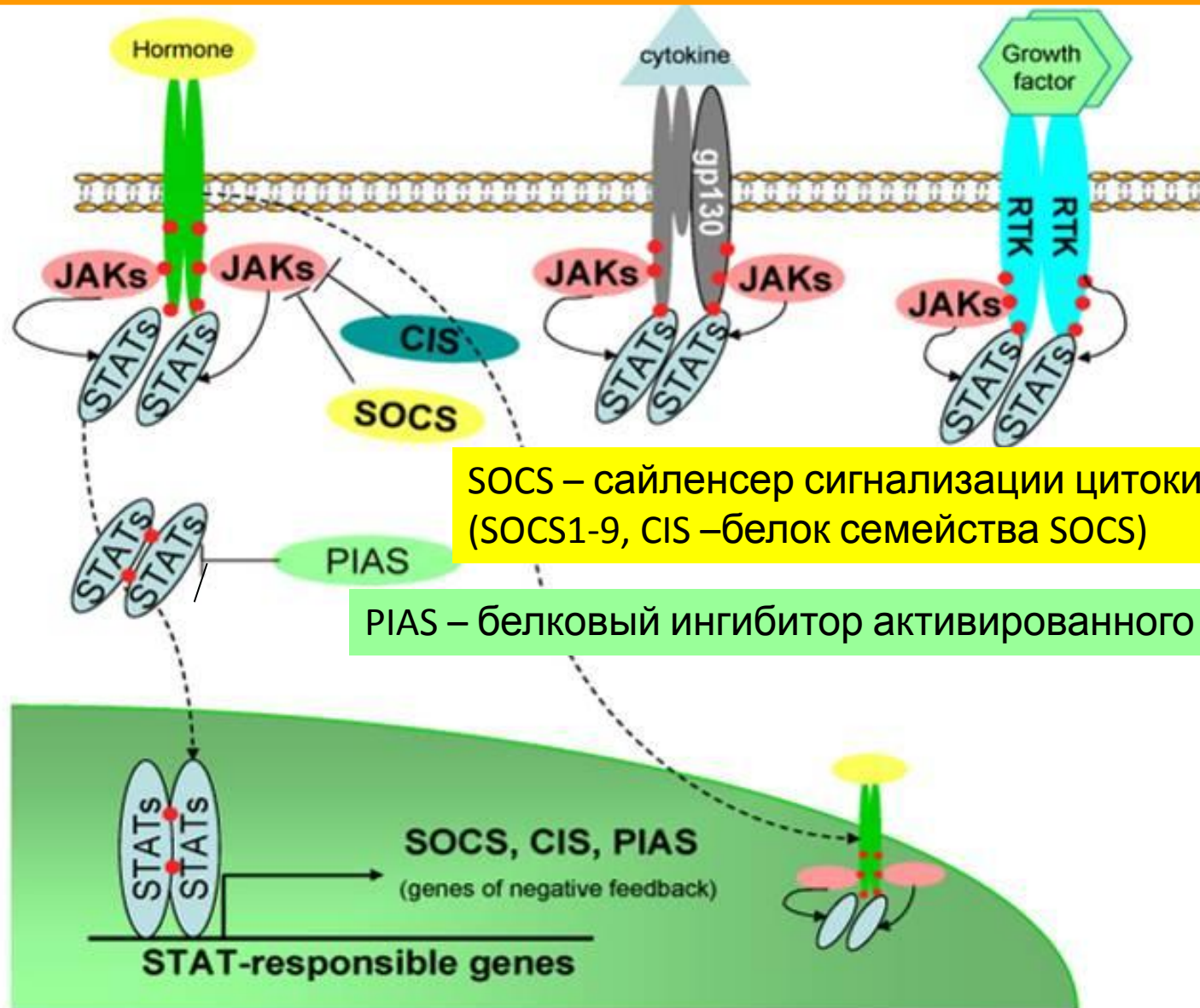
Пути сигнальной трансдукции EGF рецептора

SIGMA-ALDRICH



Проллиферация клетки

Негативная обратная связь и терминация рецепторного цикла



SOCS – сайленсер сигнализации цитокинов (SOCS1-9, CIS – белок семейства SOCS)

PIAS – белковый ингибитор активированного STAT