

Podstata přenosu signálů

A. Kozubík

Biofyzikální ústav AVČR, v.v.i., (*Oddělení cytokinetiky*)
Ústav experimentální biologie, PŘF MU
(*Oddělení fyziologie a imunologie živočichů*)
Brno

Transdukce (přenos) signálů

- Představuje zákonitě koordinovanou souslednost reakcí (odvíjející se od specifické chemické struktury, podstatou je změna konformace) vedoucích od vnější plasmatické membrány (návázání regulátoru na tuto membránu anebo průchod regulátoru touto membránou) přes cytosol k jádru (**expresi genetické informace**).
- Tohoto procesu se účastní řada regulátorů různé chemické povahy.
- **Výsledkem je** zapezpečení všech fyziologických funkcí buněk a organismu včetně regulace cytokinetiky.
- Jeden z **principiálních rozdílů** spočívá zejména v tom, zda má daný regulátor povahu **hydrofilní (lipofóbní)** anebo **Hydrofóbní (lipofilní)**

Některé energie důležité pro buňky

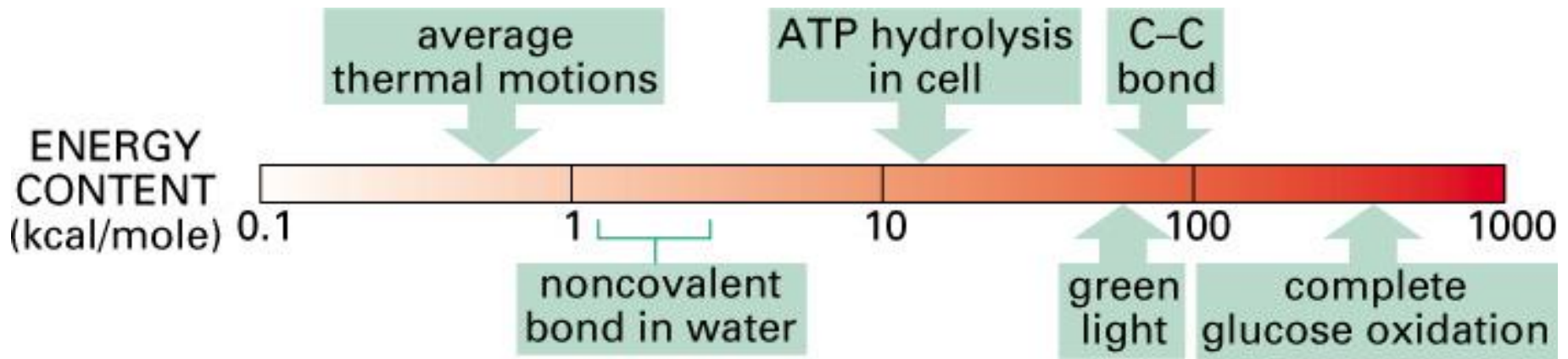
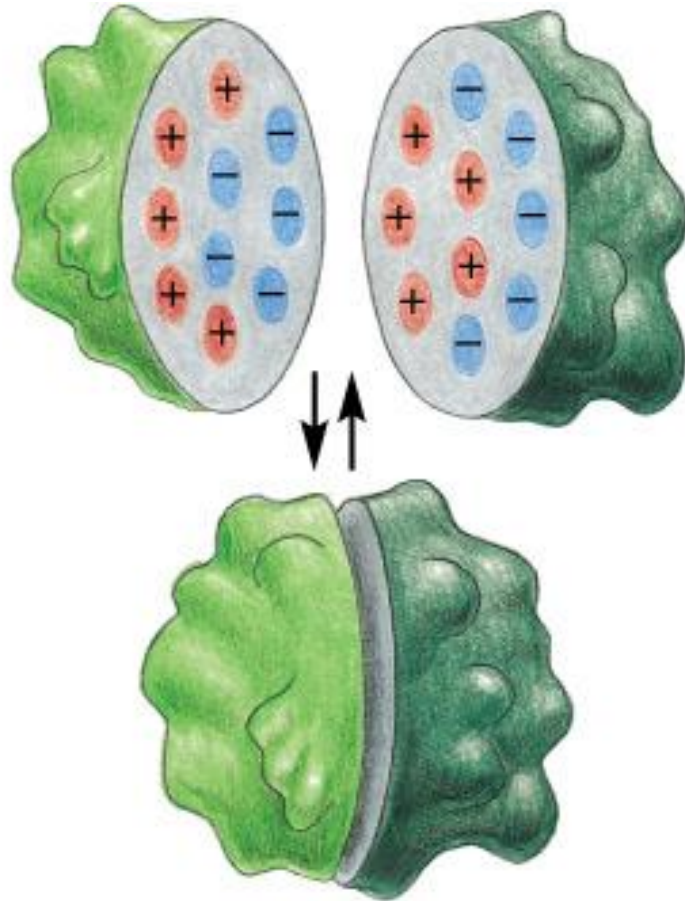


Figure 2-7. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

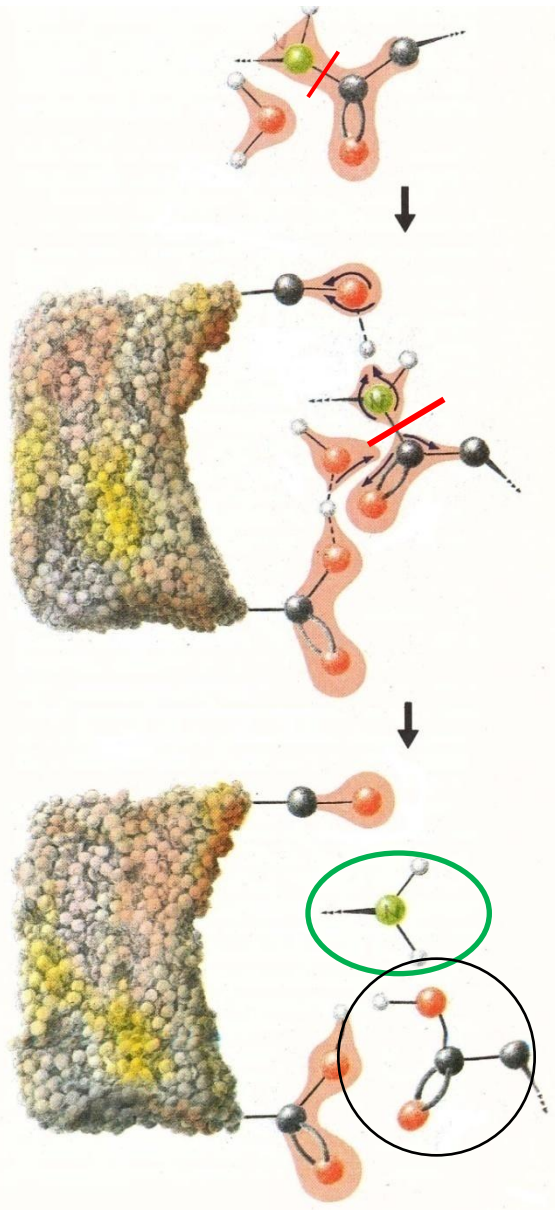
Nekovalentní pevné interakce mezi dvěma makromolekulami s komplementárními povrchy



- Nejjednodušší způsob reakce
- Může však spolupůsobit celá škála chemických vazeb silné i slabé povahy a jejich kombinace

Figure 2–16. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Četné molekuly se štěpí, vstoupí-li do jejich struktury molekula vody při hydrolýze.



Jako příklad uvádíme **hydrolýzu bílkoviny**, kdy mezi atom **dusíku (zelený)** a **uhlíku** s vázaným **kyslíkem** vstoupí molekula vody. Vzniká tak **aminoskupina** a **karboxyl**. Chemicky takovou reakci zaznamenáváme:



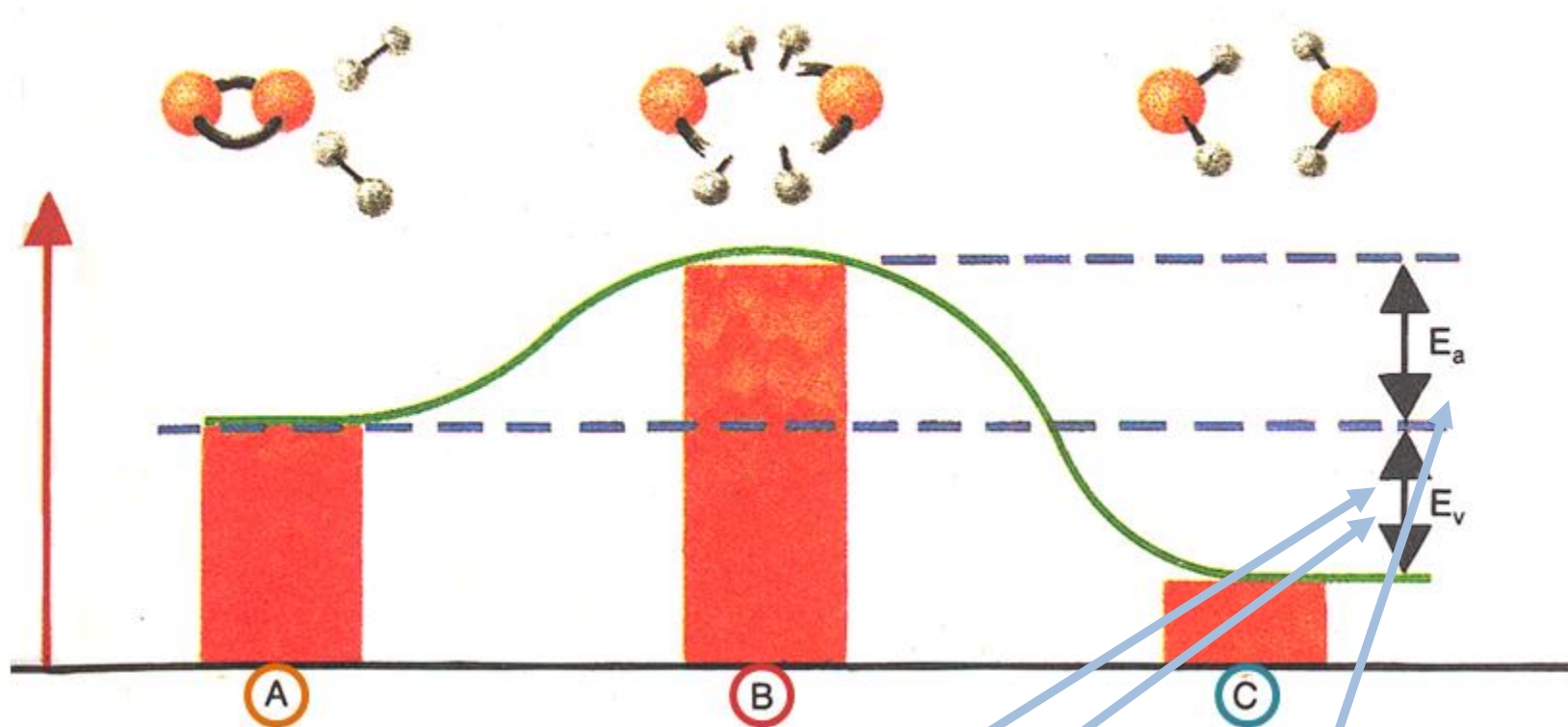
Samovolná reakce by probíhala velmi pomalu. **Katalyzátor** ji urychluje působením na elektronové oblaky (**oranžová**).

Elektrony se vzájemně odpuzují, zatímco kladně nabitě atomy (protony) je přitahují.

Šipky naznačují, jak katalyzátor svými dvěma funkčními skupinami vyvolá pohyb elektronů, čímž se oslabí vazby mezi atomem dusíku a uhlíku, takže se přerouší.

Vlastní tělo katalyzátoru udržuje funkční skupiny v přesné poloze, nezbytné k vyvolání naznačených změn v elektronových oblacích štěpené vazby. „Umí“ však i leccos jiného, zejména „připoutat“ látku, která má být štěpena.

Chemické reakce, syntézy a štěpení, nahodilost a zákonitost dějů

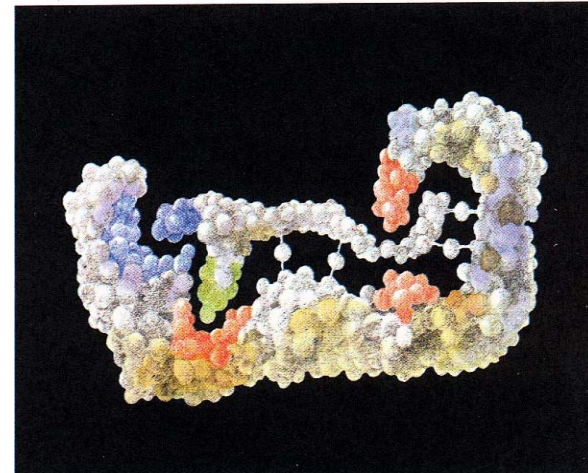
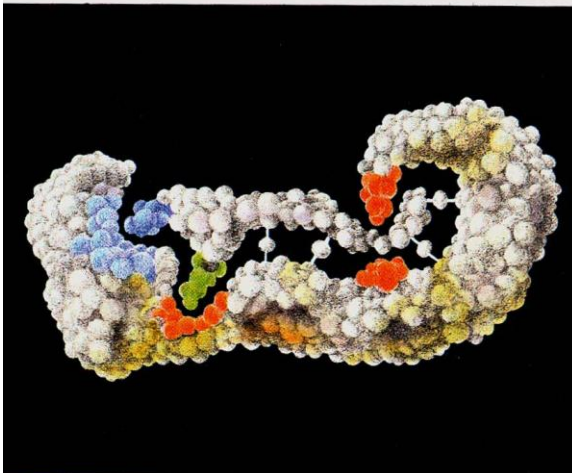
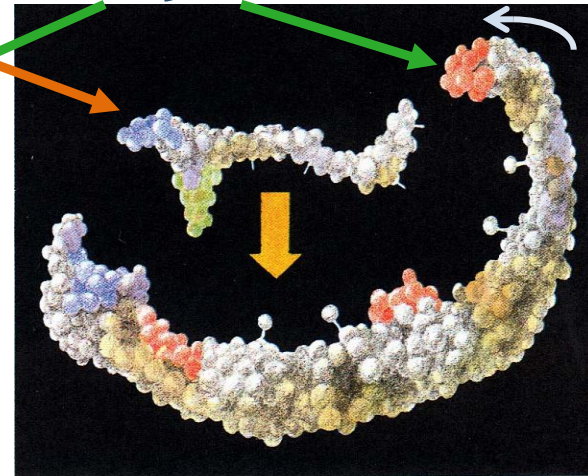
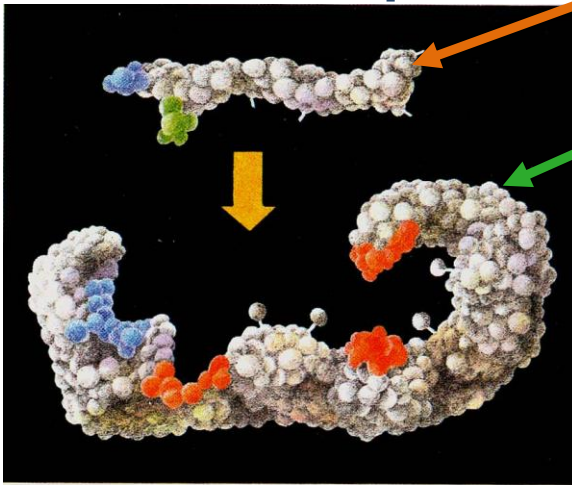


Stavy **A** a **C** se od sebe liší obsahem energie, který se může uvolnit jako volná energie E_v .

Přesto přeměna A–C neproběhne samovolně.

Musí projít stavem **B**, který má vyšší obsah energie než **A**. Aby se mohla uvolnit volná energie E_v , musíme stavu **A** „půjčit“ energii E_a ; jen tak se dostane na mezistupeň **B**.

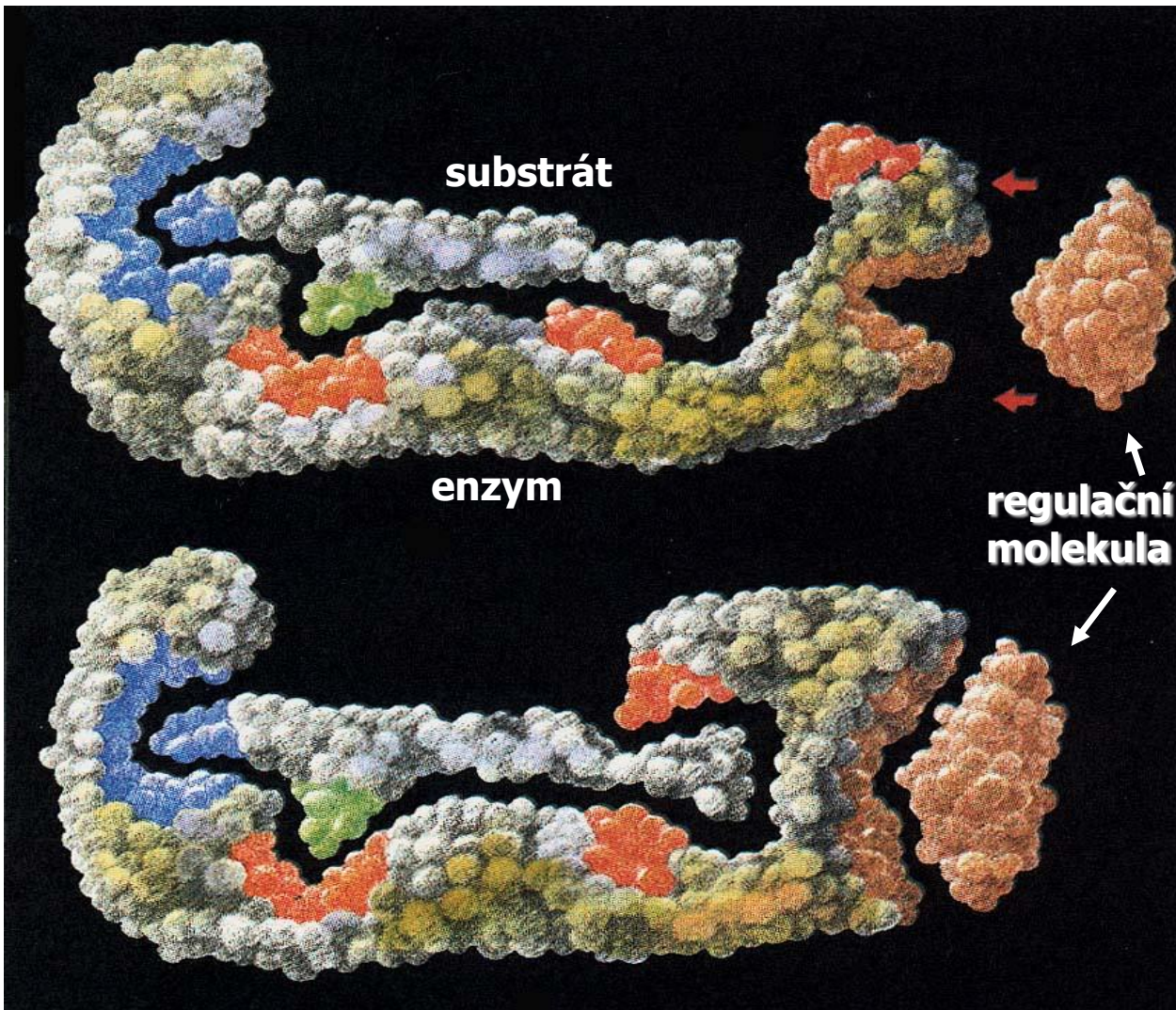
Jak vzniká komplex substrát - enzym



Substrát přesně zapadne do lůžka v molekule enzymu. V tomto lůžku ho poutají **různé typy sil**: hydrofobní (**modrá**), přitahování **opačně nabitých skupin** (**zelená** v substrátu a **červená** v lůžku), vodíkové můstky. Stěpená vazba se tím dostane mezi „nůžky“ silně polárních skupin (např. karboxylů).

Při „vyvolaném přizpůsobení“ je enzym teprve domodelován silami, které poutají substrát k jeho lůžku.

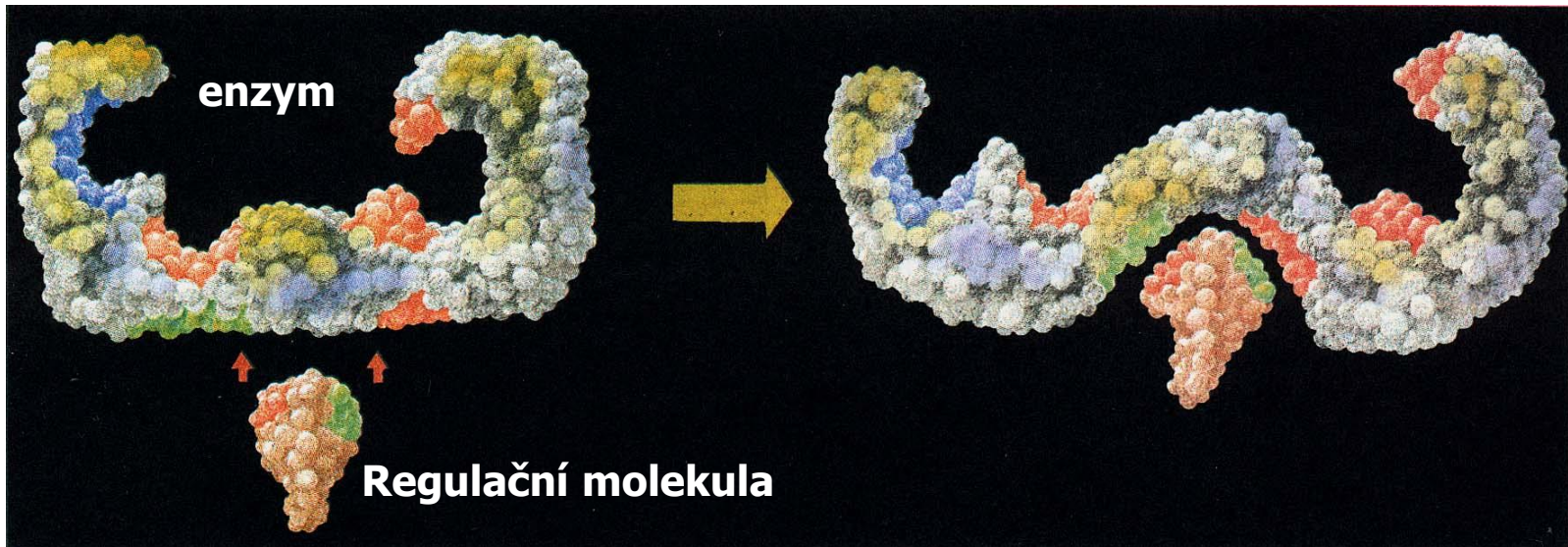
Alosterická aktivace enzymu.



Enzym sám není schopen rozštěpit substrát, neboť jeho molekula nemá správný tvar.

Teprve naváže-li se **na jiné místo** regulační molekula (hnědá zprava), získá funkční formu.

Alosterická inaktivace enzymu.

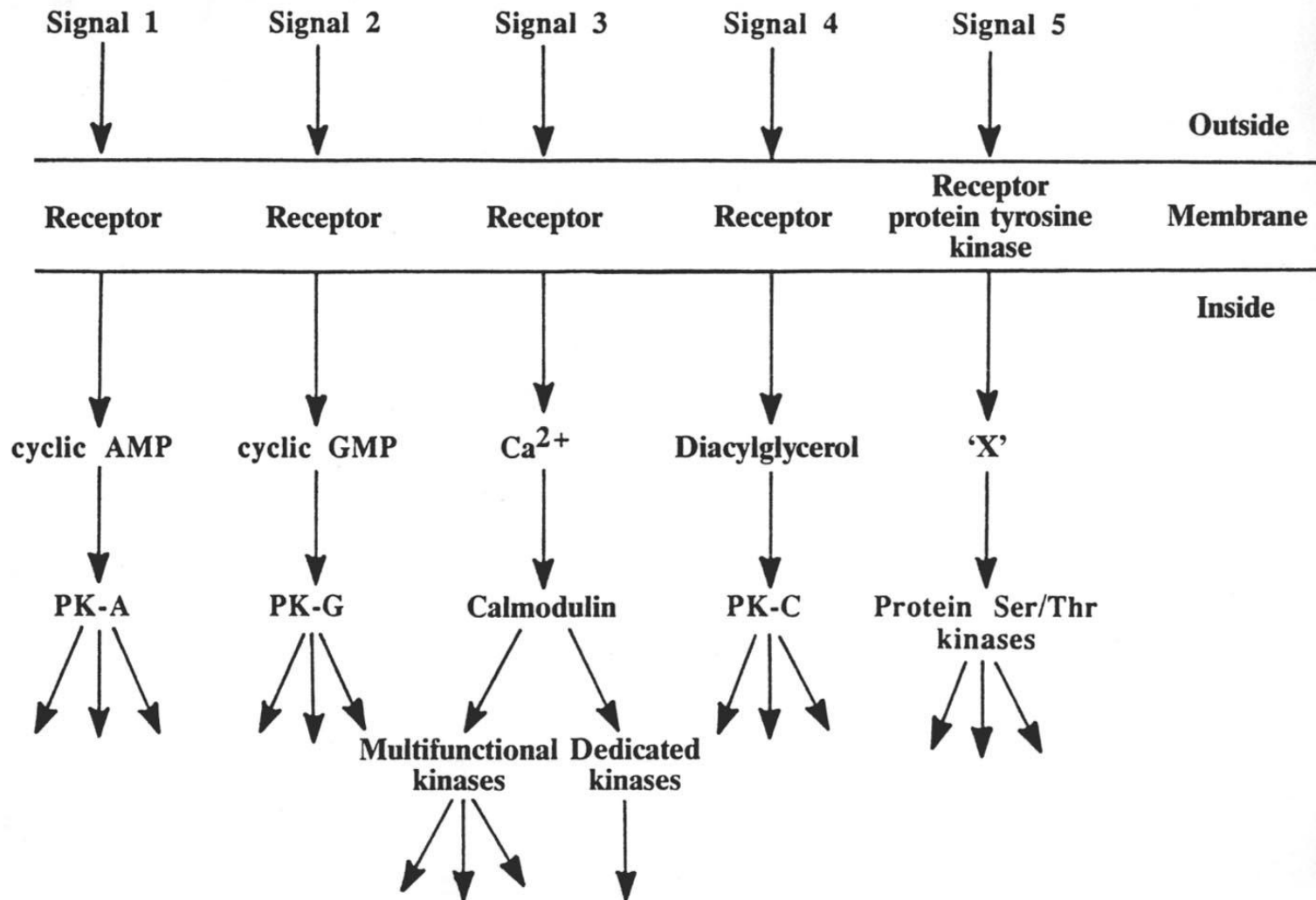


Regulační molekula se připojuje opět na jiném místě molekuly enzymu, než kam se váže substrát.

Tím se liší od pouhého blokování lůžka, které může způsobit látka podobná substrátu (soutěživá čili kompetitivní inhibice).

Alosterická inaktivace patří k regulačním pochodům. **Může ji vyvolat jen zcela určitá látka**, ta, která svými vlastnostmi *přesně odpovídá* místu, na které se váže.

Pět základních signálních systémů, které fungují v eukaryotických buňkách



Pět mezibuněčných paralelních signálních drah aktivovaných receptory svázanými s G-proteiny, tyrozin kinázovými receptory nebo oběma typy

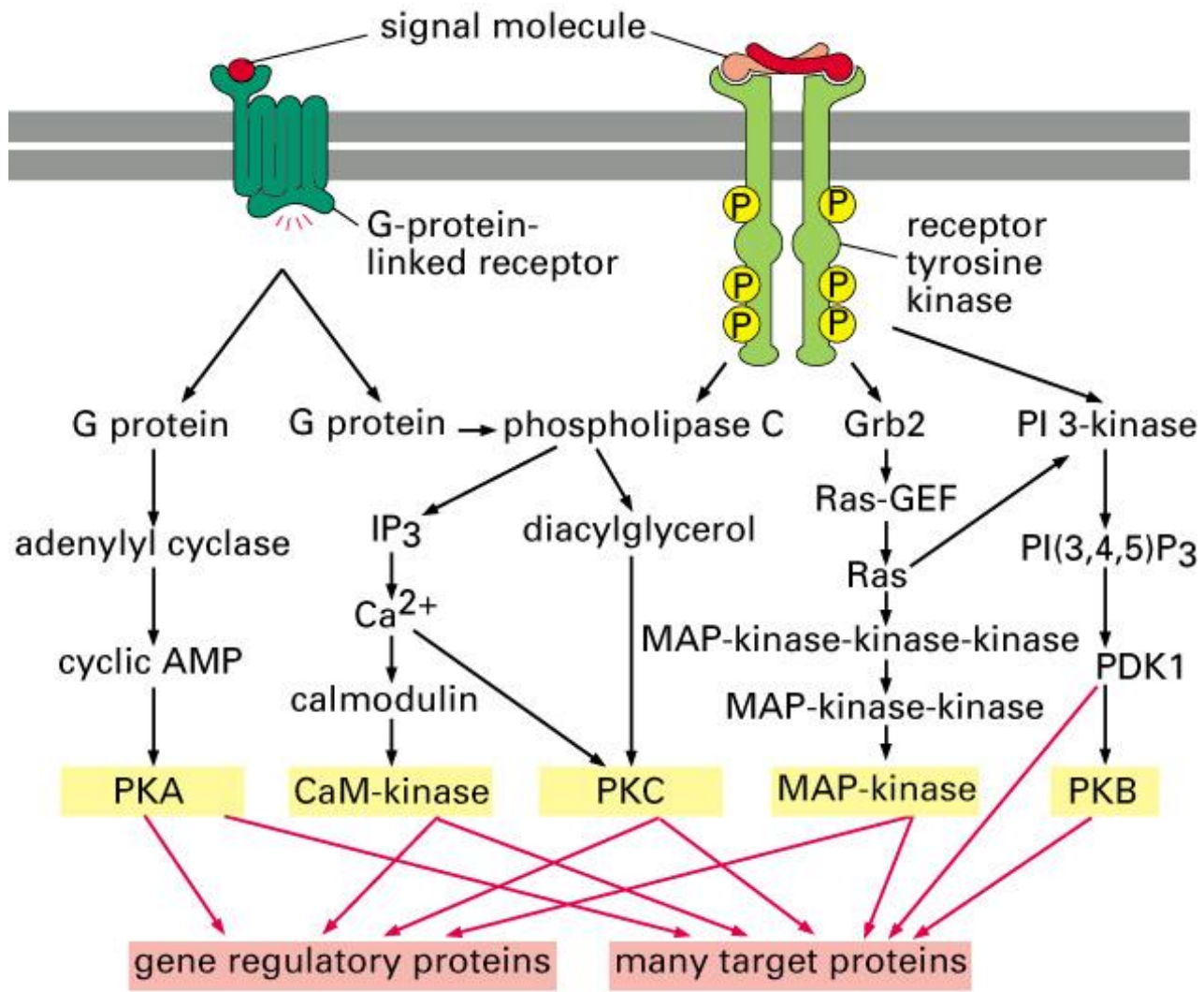


Figure 15–61. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

HLAVNÍ ROZDÍL V PŮSOBENÍ MEZI REGULÁTORY HYDROFILNÍ (LIPOFÓBNÍ) A HYDROFÓBNÍ (LIPOFILNÍ) POVAHY

Jak procházejí látky membránami?



Polární látky (například ionty) jsou ve vodě obvykle obklopeny několika molekulami vody (**hydratovány**).

To znemožňuje jejich průchod hydrofobní mezivrstvou v membráně.

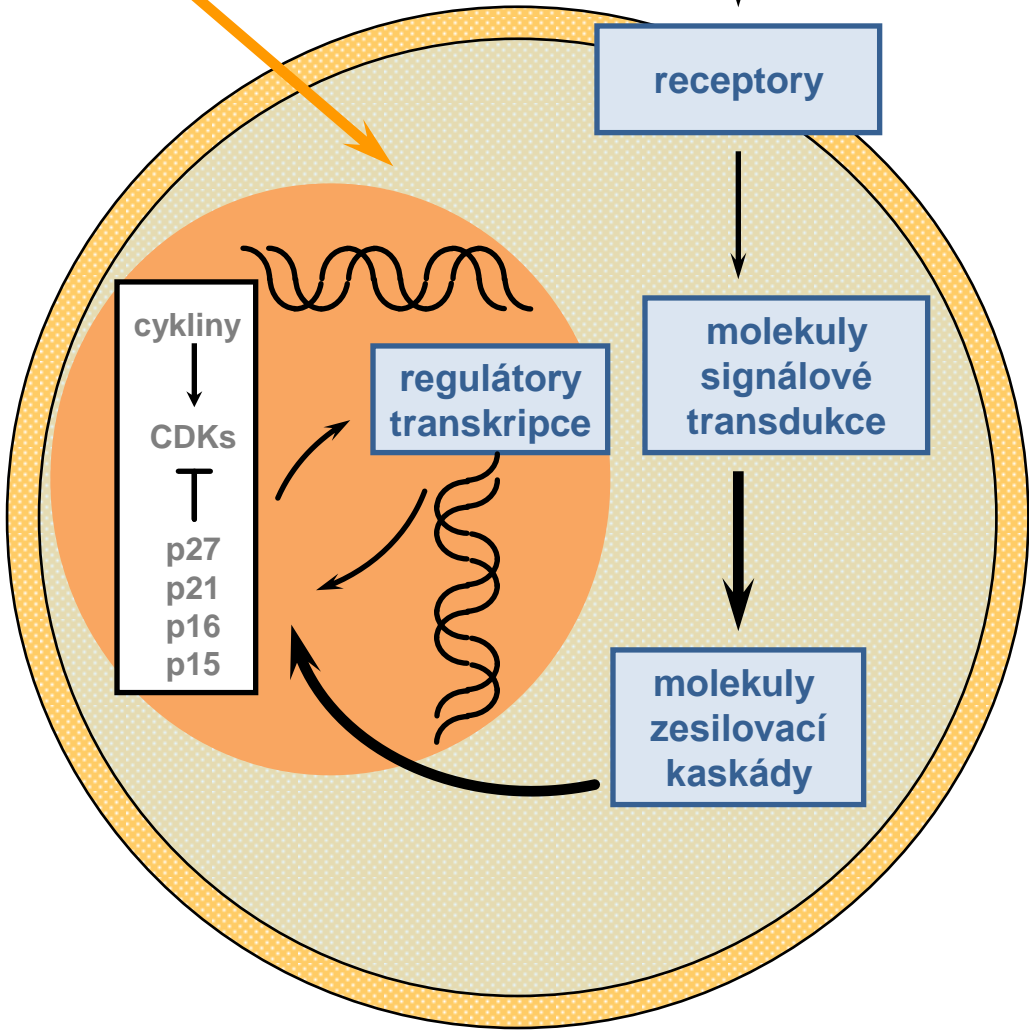
Když se však obalí **hydrofobním pláštěm**, snadno přes membránu projdou.

Struktura membrány může však obsahovat některé funkční prvky, třeba **kanálek (dole) s hydrofilním vnitřkem**.

Kanálek může měnit svůj rozměr, a tím regulovat průchodnost látek. Většinou však v roli regulátorů vystupují membránové bílkoviny.

Lipofilní regulátory

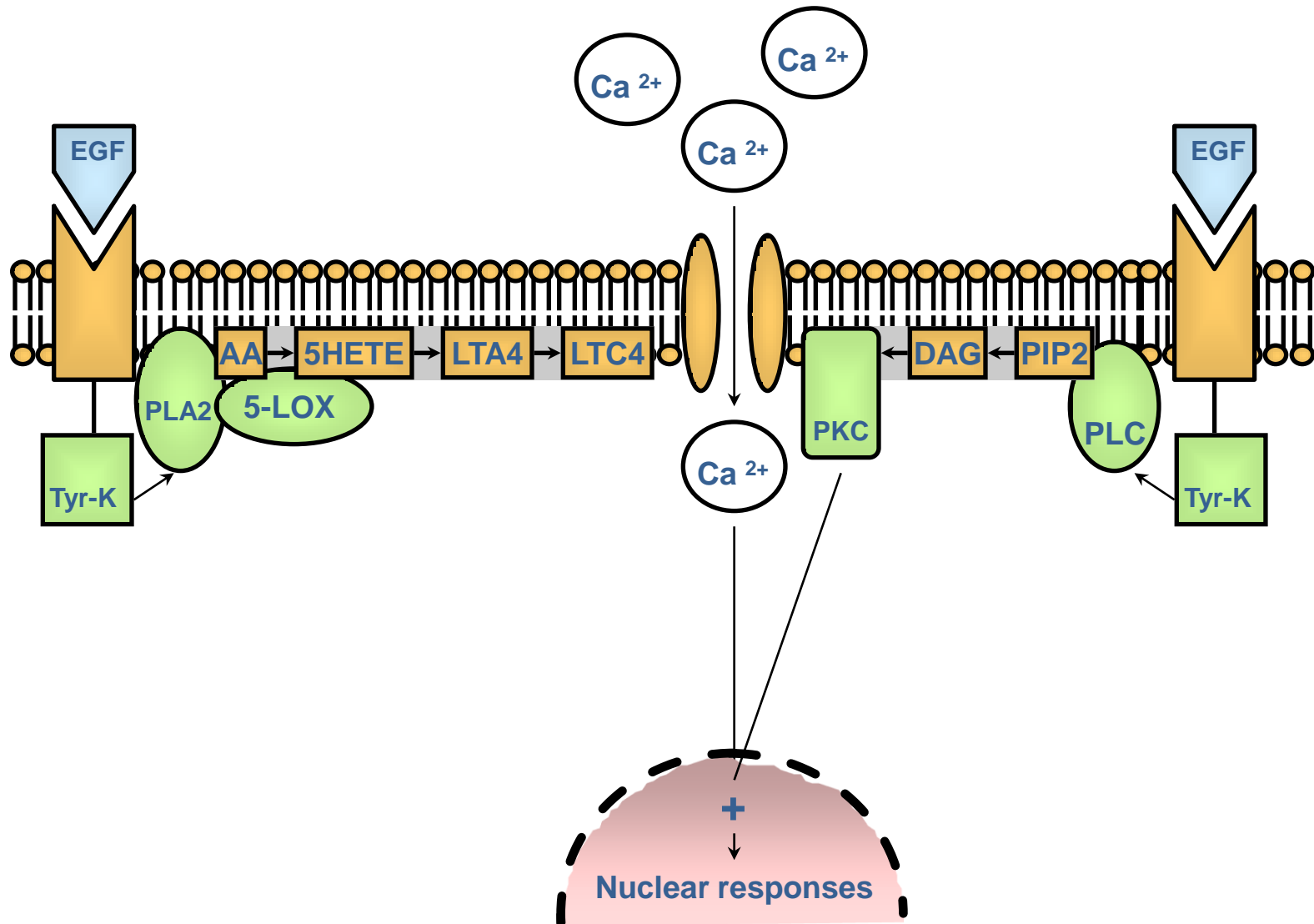
růstové signály
hydrofilní povahy
(proteiny, katecholaminy, apod.)



Změna konformace na úrovni membrán a cytosolu

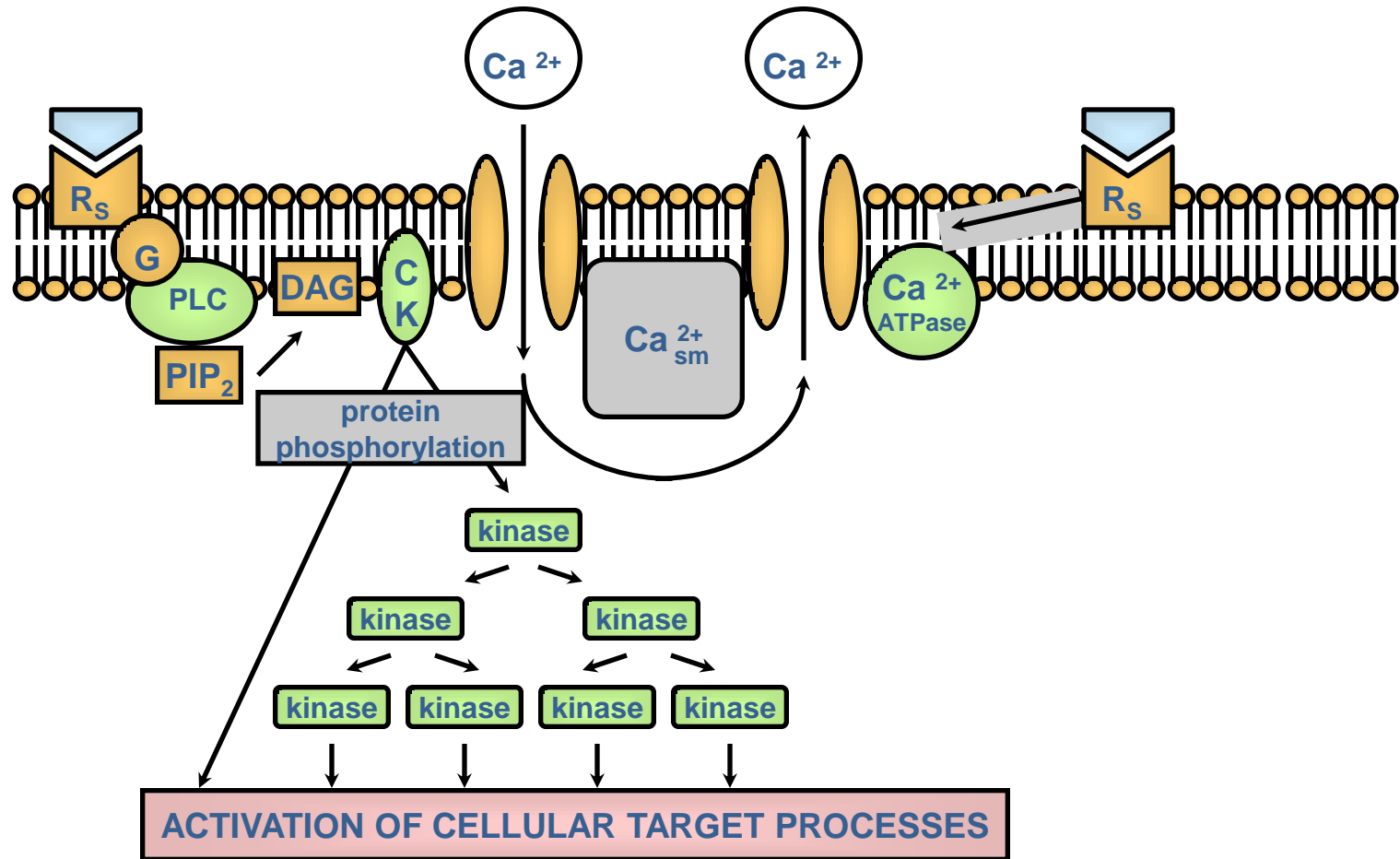
PŘÍKLADY

Přenos signálu přes receptor pro epidermální růstový faktor (EGF) se zapojením drah metabolismu kyseliny arachidonové (AA)

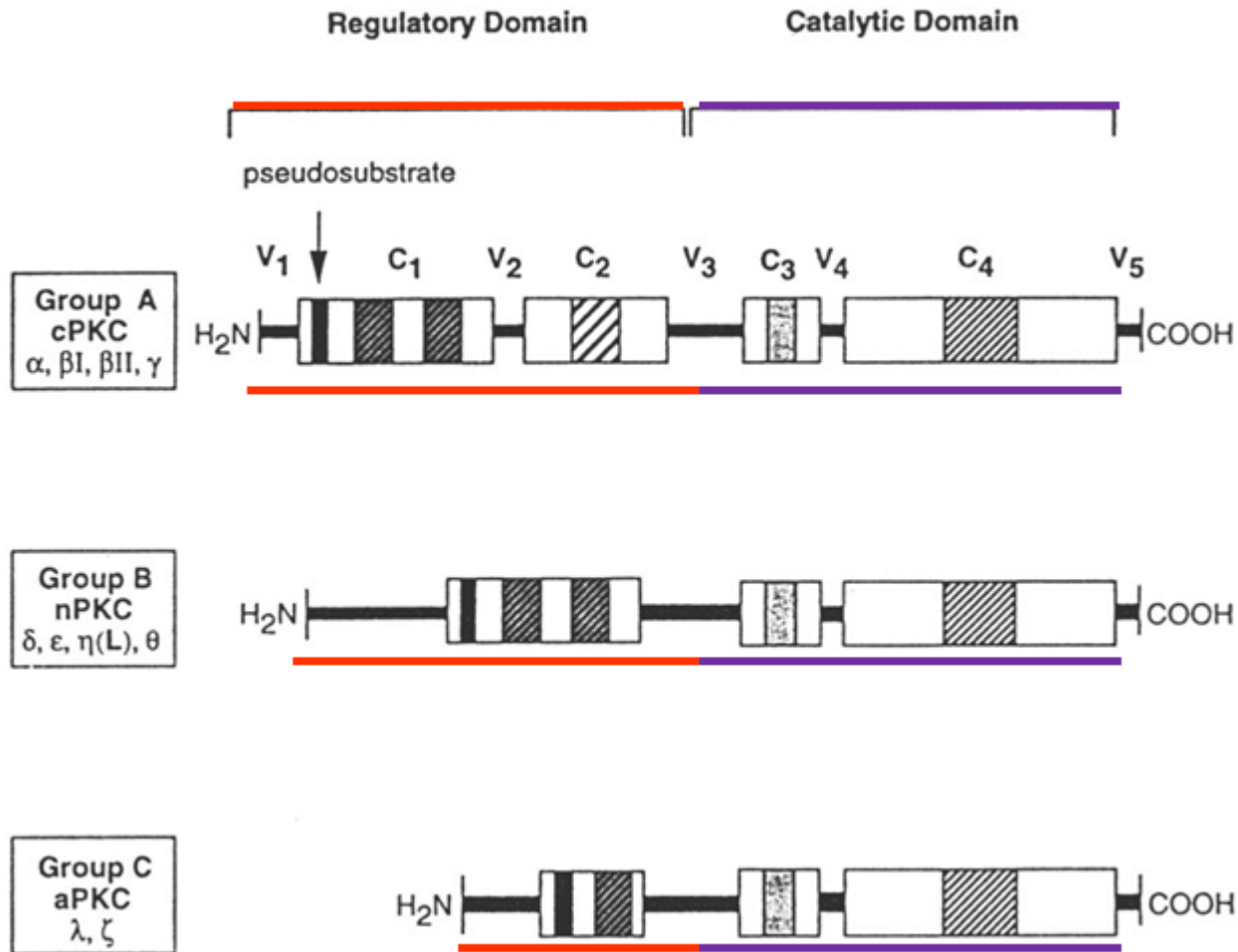


PLA2: fosfolipáza A2, 5-LOX: 5-lipoxygenáza, 5HETE: 5 hydroxykyselina, LTA4, C4: leukotrien A4, C4, PKC: protein kináza C, DAG: diacylglycerol, PIP2: fosfoinositoldifosfát, PLC: fosfolipáza C, Tyr K: tyrosin kináza

Kaskáda proteinových kináz v přenosu signálu

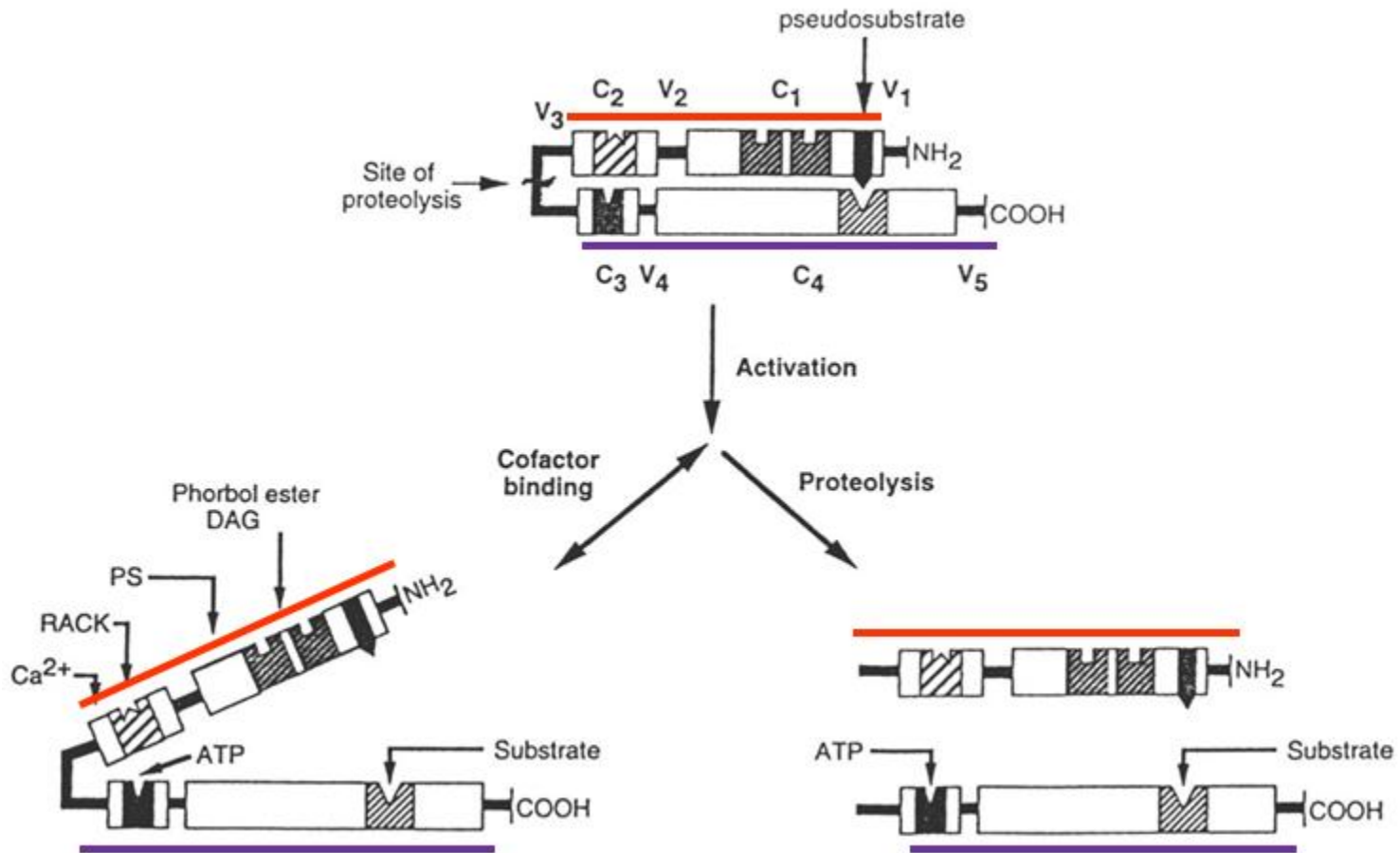


Struktura izoforem protein kinázy C (PKC)



A. Basu: Pharmacol. Ther., 59 (3), 257-280, 1993

Model aktivace protein kinázy C



A. Basu: Pharmacol. Ther., 59 (3), 257-280, 1993

Evoluční strom vybraných proteinových kináz

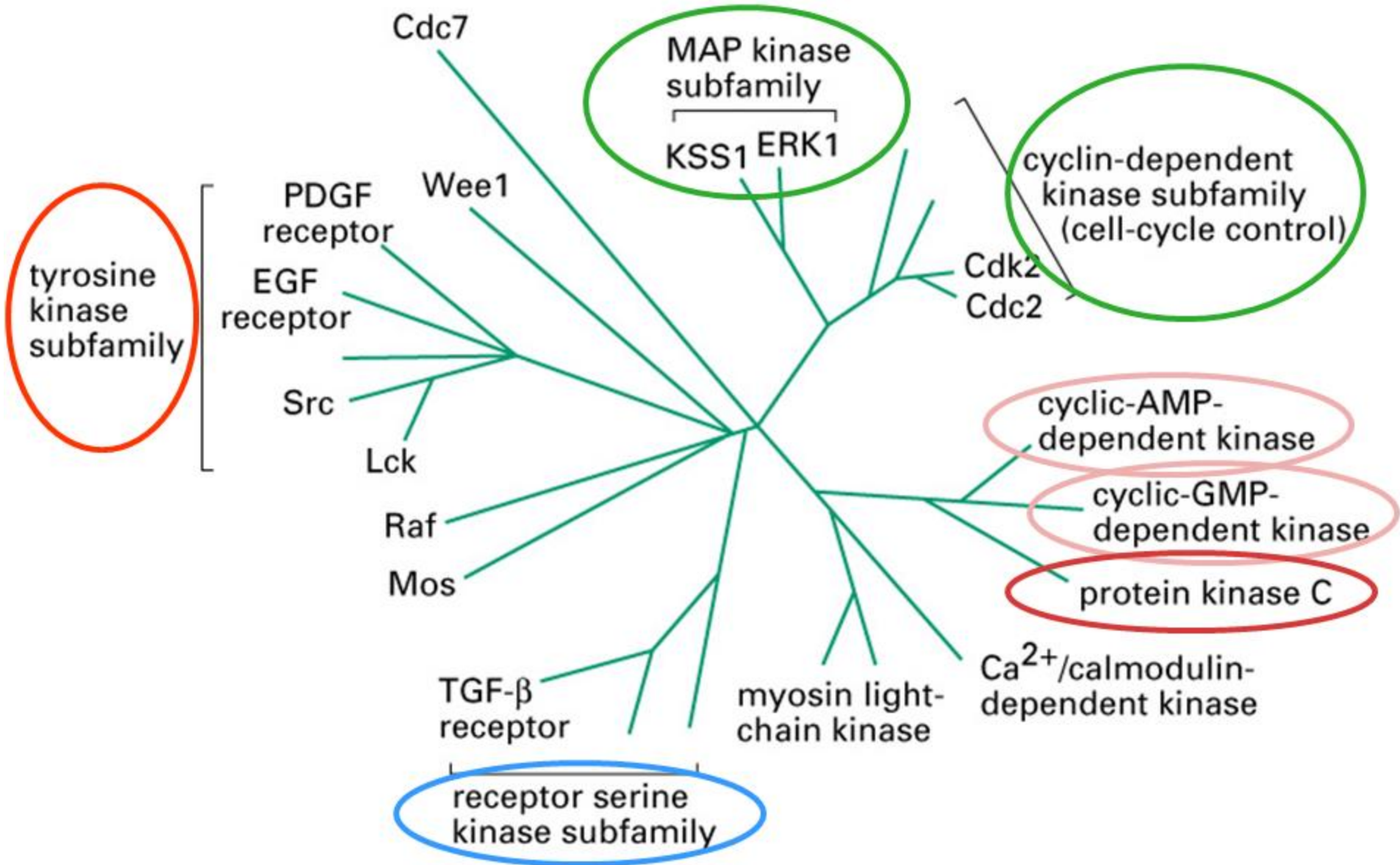
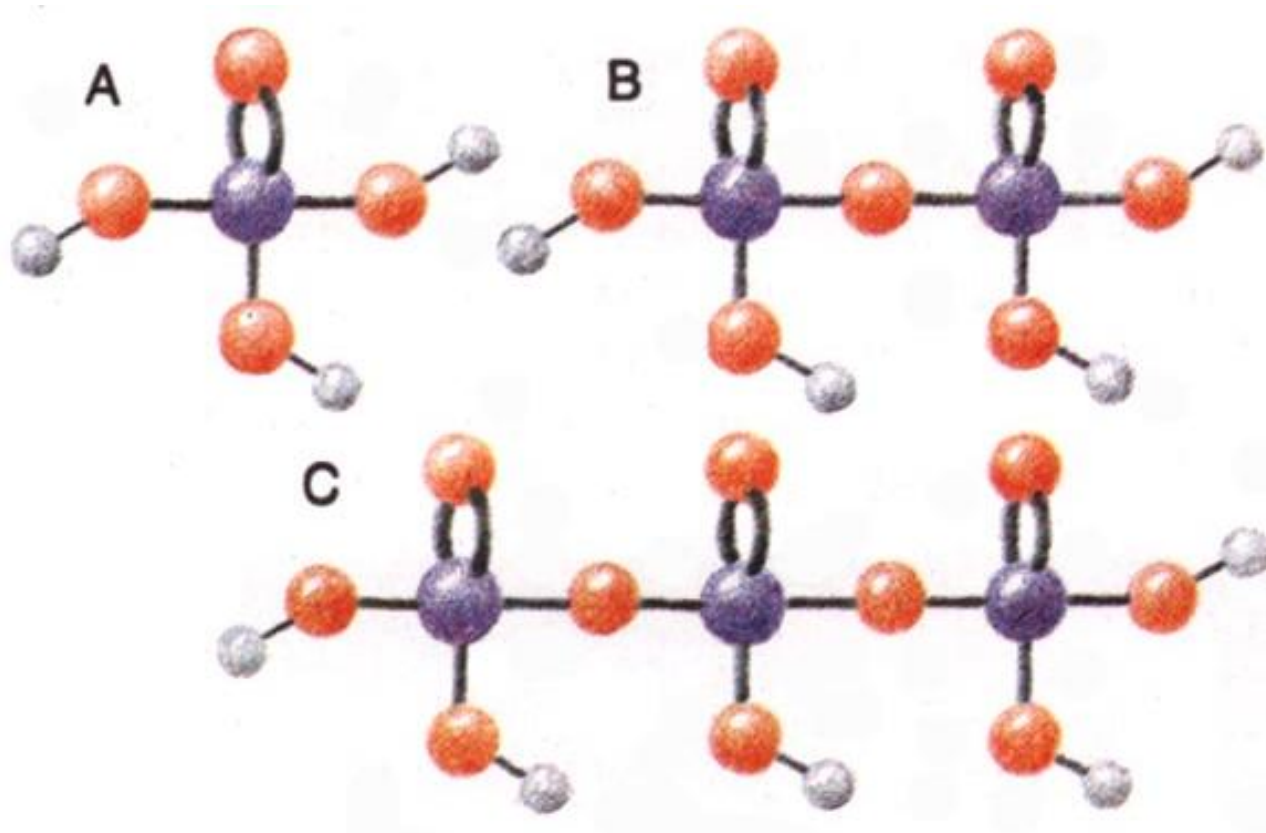
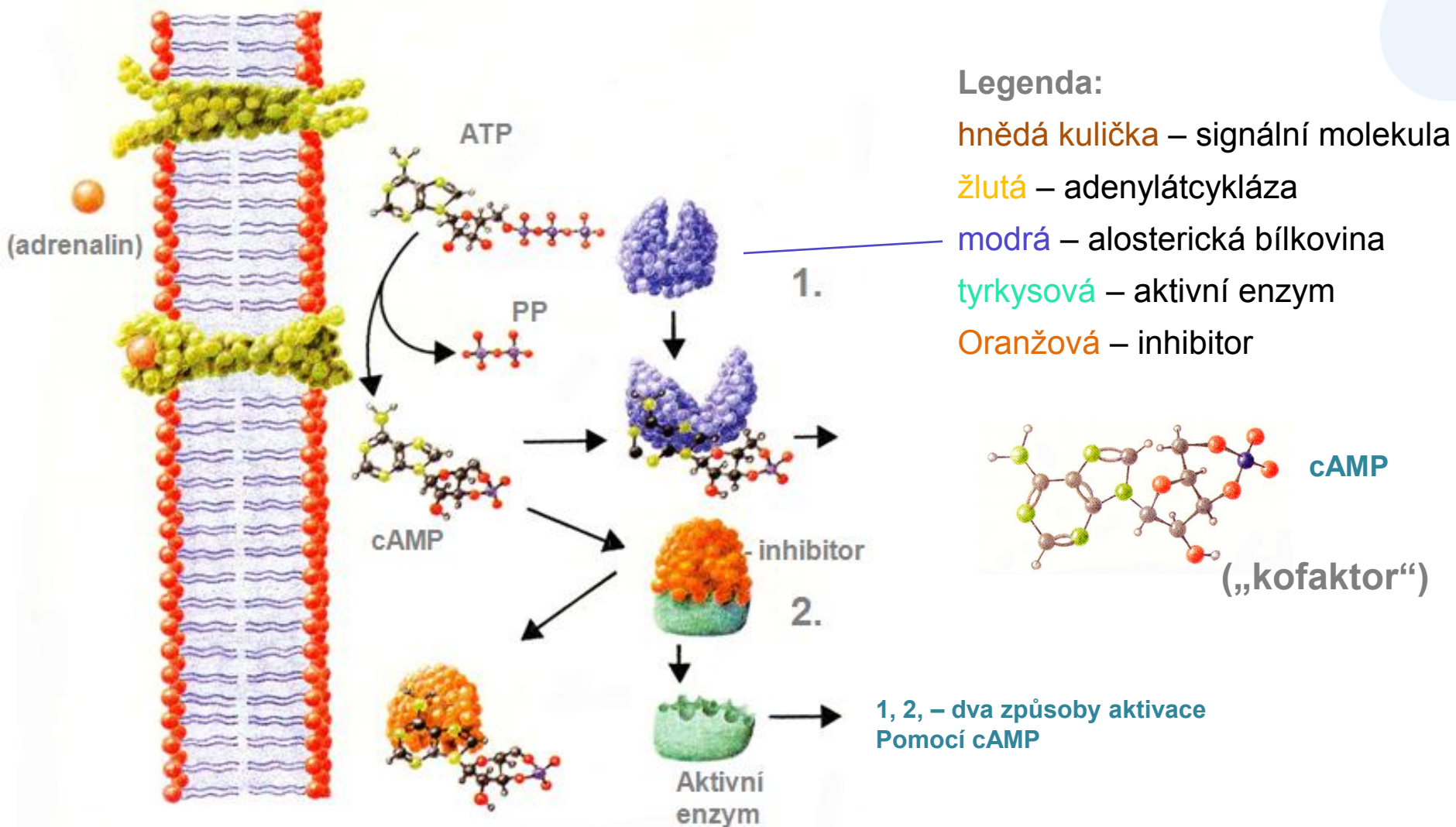


Figure 3-65. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.



- A. Kyselina fosforečná/ortofosforečná
- B. Kyselina pyrofosforečná
- C. Kyselina trifosforečná

Tyto kyseliny jsou nejdůležitějšími sloučeninami v přeměnách a úschově energie v živých systémech.



Vznik a činnost cAMP. V membráně buňky je bílkovina, která má dvě funkce: na vnější straně membrány je specifickým receptorem (přijímačem) signální molekuly (hnědá kulička) a na vnitřní straně membrány se po přijetí signálu mění v enzym, který převádí ATP na cAMP a pyrofosfát.

Jeden z hlavních významů popsaných reakcí - značný stupeň zesílení

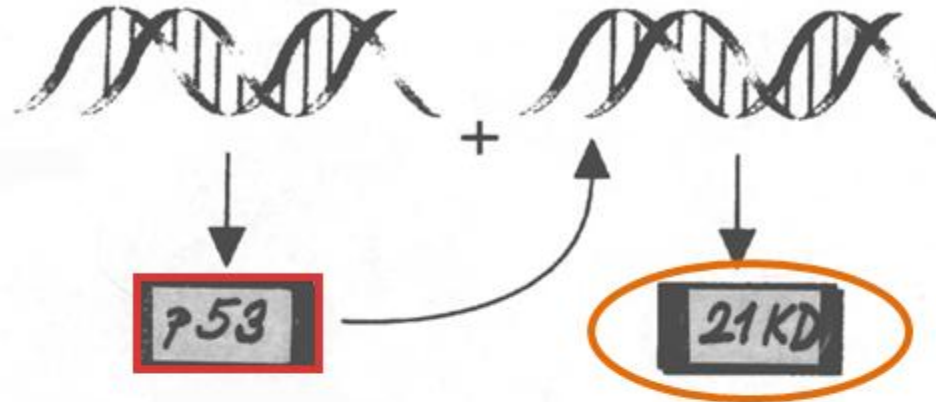
Stupně zesílení:

- Každá adenylátcykláza vyrobí mnoho molekul cAMP
- Každá molekula cAMP aktivuje jednu proteinkinázu, ta má za úkol především připojit kyselinu fosforečnou na enzym syntetizující glykogen z glukózy, a tím jeji vyřadit z provozu. Tak zablokuje mnoho molekul enzymu
- Současně naváže kyselinu fosforečnou na kinázu enzymu rozkládajícího glykogen. Tím uvede v činnost mnoho molekul kinázy.
- Jedna molekula kinázy však aktivuje mnoho molekul enzymu rozkládajícího glykogen.

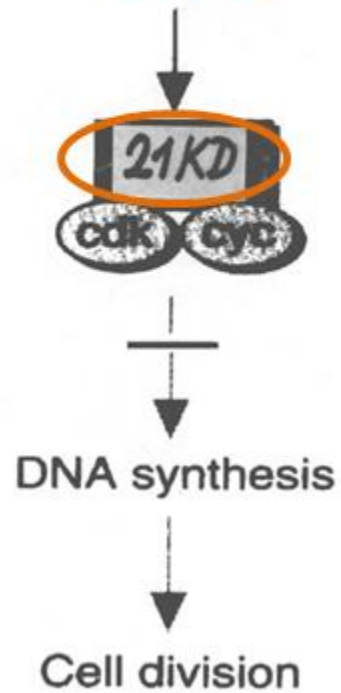
Kdyby každé zesílení bylo jen desetinásobné, pak výsledkem je 10 000 násobné zesílení rozkladu, podpořené zablokováním syntézy.

Změna konformace jako podstata řízení cytokinetyky

INHIBICE B. DĚLENÍ



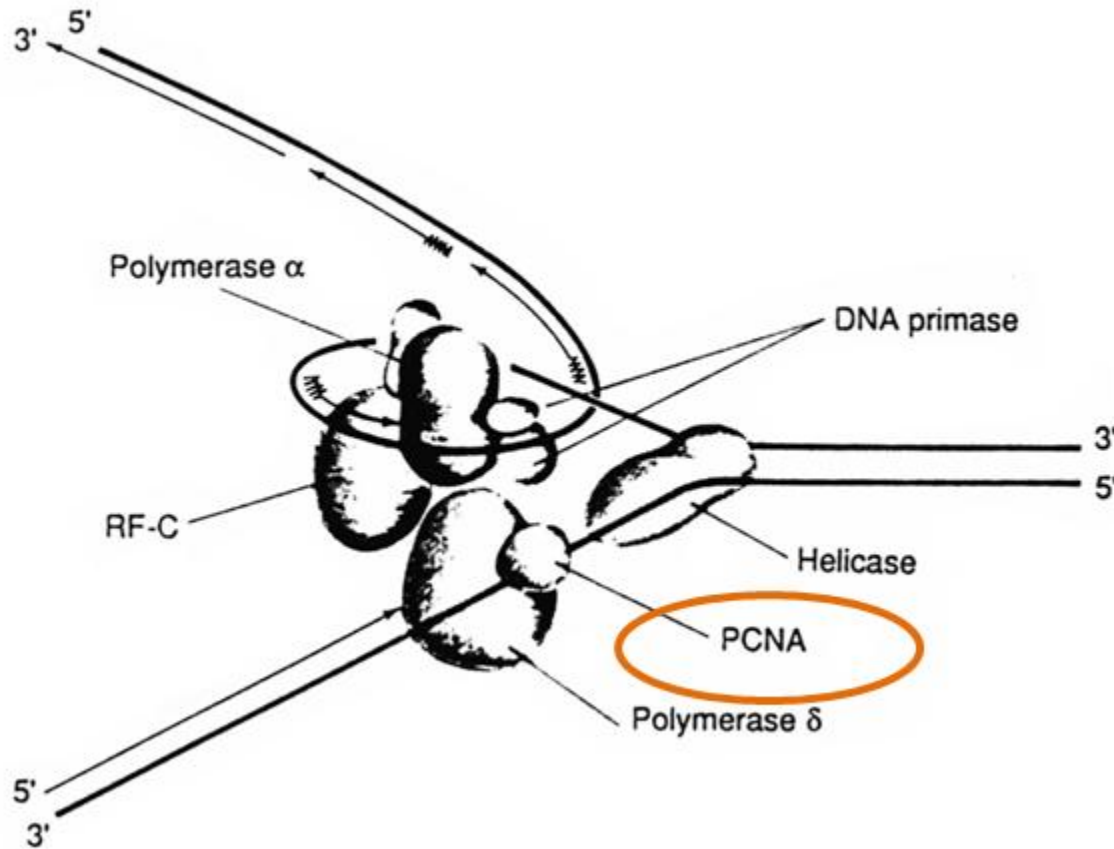
What p53 does. When the p53 protein is made, it turns on the gene for a 21 kilodalton protein that blocks Cdk enzymes, and thus cell division.



Změna konformace jako podstata řízení cytotkinetiky

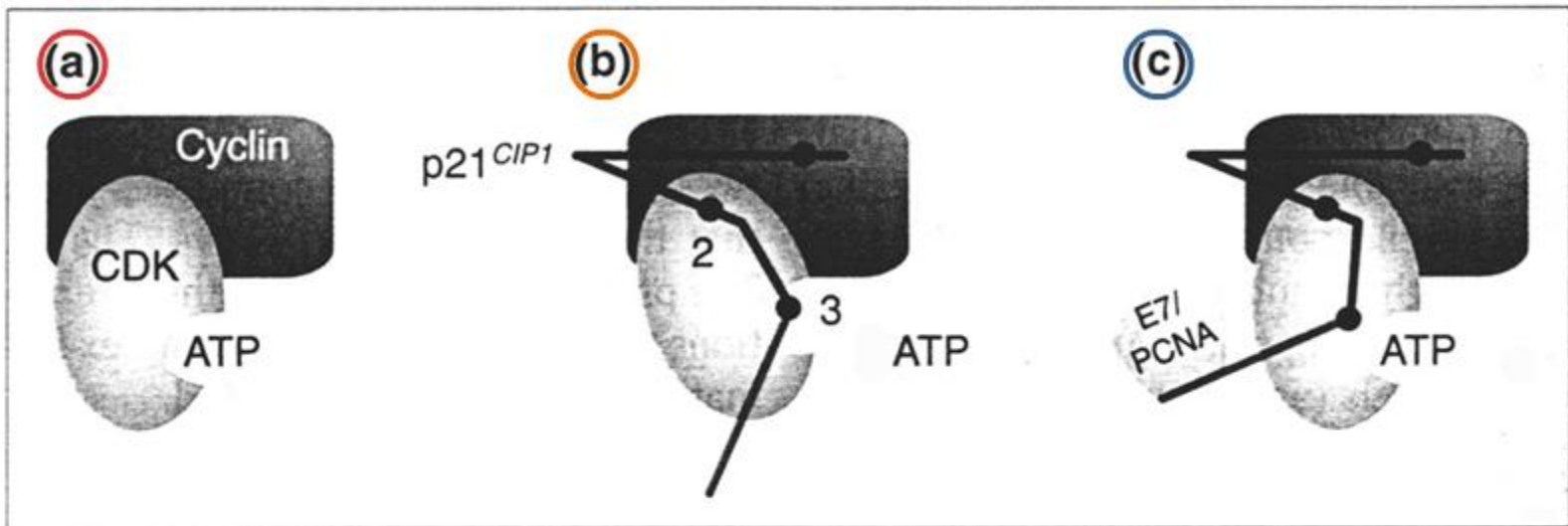
STIMULACE B. DĚLENÍ

Schema eukaryotické replikační vidličky ukazující sehrané působení DNA polymeráz α a δ na opačných stranách vidličky



R. A. Laskey et al.: Science 246, 609, 1989

Model blokace inhibice komplexů cyklin dependentní kináza - cyklin prostřednictvím p21



Model for the blocking of p21^{CIP1}-mediated inhibition of cyclin-dependent kinase (CDK)-cyclin complexes. (a) An active CDK-cyclin complex, in which ATP is bound in the catalytic cleft. (b) Inhibition of the complex by a CIP/KIP CKI (Ref. 19). There are three major features of the interaction: (1) a hydrophobic interaction between the RRLFG motif in the CIP/KIP CKI N-terminus and the cyclin; (2) a rearrangement of the CDK such that the glycine-rich loop that binds to ATP is no longer available; and (3) the insertion of the CKI 3₁₀-helix into the catalytic cleft, where it mimics ATP. The dark gray line represents the CIP/KIP CKI C-terminus, which was missing in the crystallization and whose orientation with respect to, and effect on, the CDK-cyclin complex is not clear. (c) Binding of E7 or proliferating-cell nuclear antigen to the p21^{CIP1} C-terminus might rearrange the interaction between p21^{CIP1} and the CDK-cyclin complex, and allow ATP binding and phosphorylation of some substrates.

Změna konformace na úrovni genomu

PŘÍKLADY

Negenotoxické hepatokarcinomy

(nádorové promotory, hormony, TCDD)



Negativní mutagenicita

(Nereagují s DNA)

GST-P: glutathion S-transferáza -
placentární forma

Nízká dávka



Inhibice oxidativního stresu
Indukce reparace DNA
Inhibice proliferace v oblastech GST-P⁺ ohnisek
Suprese apoptózy
Protektce GJIC
Aktivace detoxifikačních systémů v játrech
(CYP2C11, P-450 NADPH oxidoreduktáza)
Buněčná signalizace
(GABA, MAP kinázy)



Hormetický efekt na karcinogenezi

(Inhibice GST-P⁺ ohnisek a rozvoje nádoru)

Vysoká dávka



Indukce oxidativního stresu
(P-450, ROS, 8-OHdG)
Indukce reparace DNA
Zvýšení proliferace v oblastech GST-P⁺ ohnisek
Indukce apoptózy
Inhibice GJIC
Inhibice CYP2C11



Promoce karcinogeneze

(Indukce GST-P⁺ ohnisek a rozvoje nádoru)

Přesné prahování karcinogenicity

Aktivace NF- κ B TNF- α

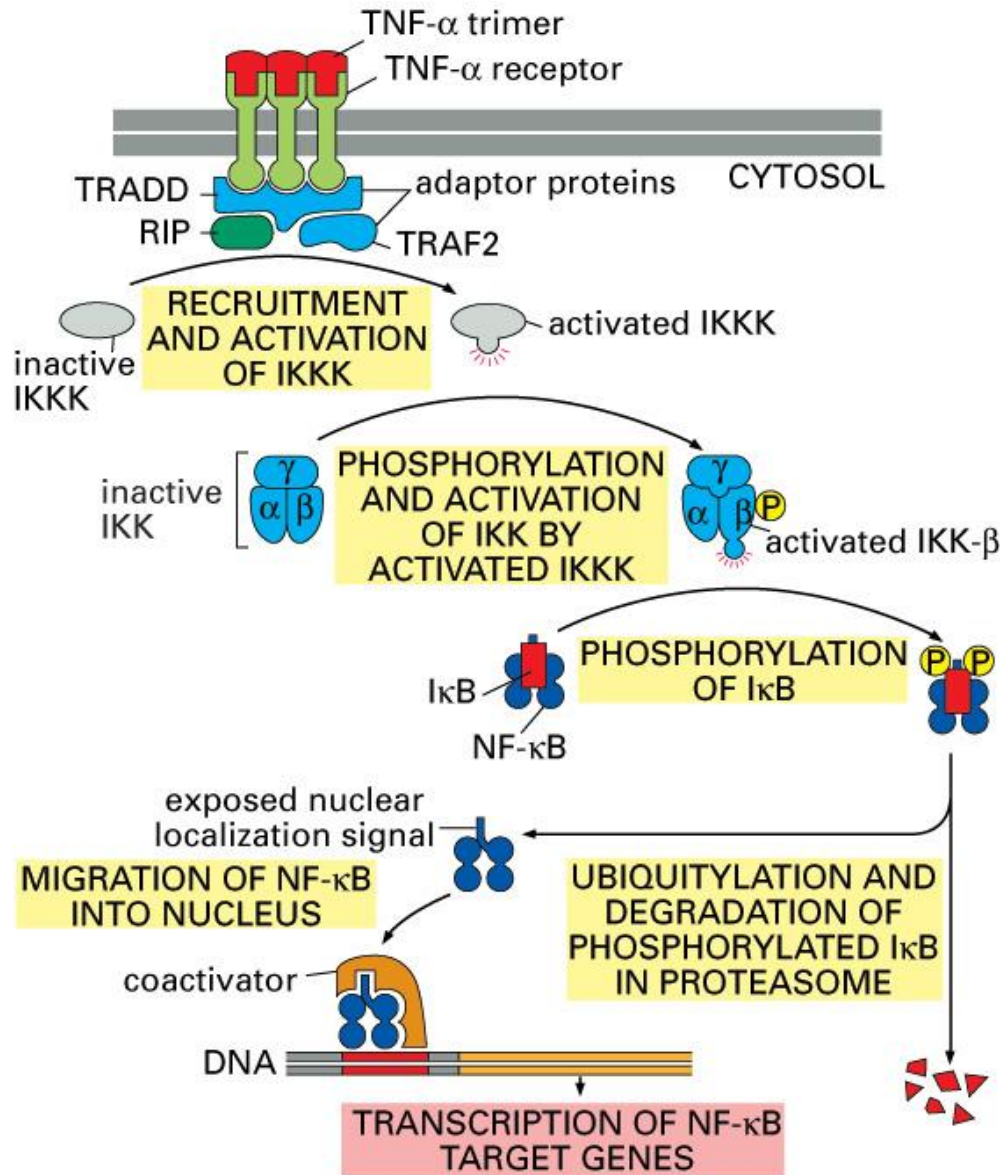


Figure 15-74. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Superodina jaderných receptorů

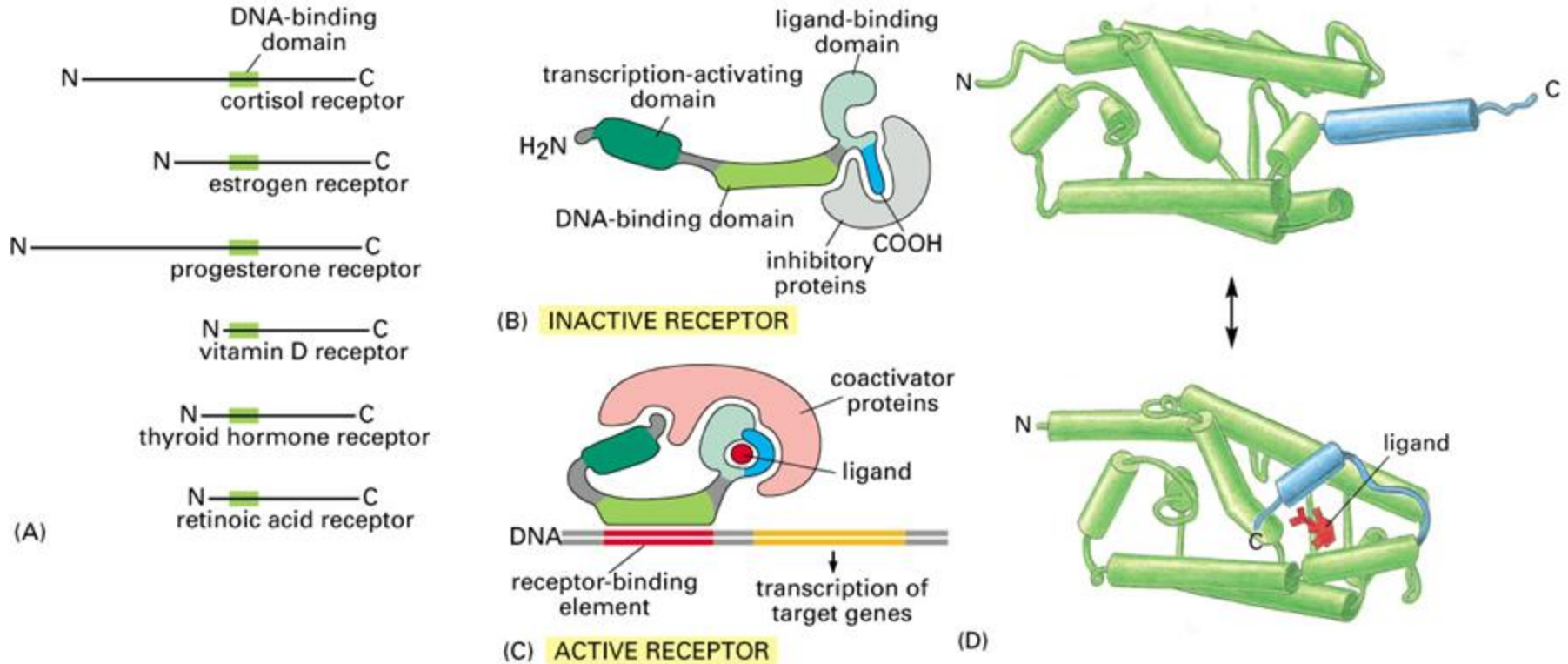


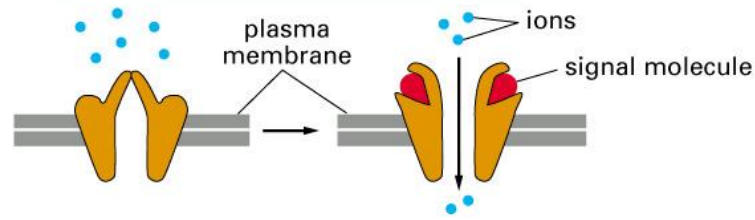
Figure 15–13 part 1 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.



PODSTATA - ZMĚNA KONFORMACE

Tři třídy buněčných povrchových receptorů

(A) ION-CHANNEL-LINKED RECEPTORS



(B) G-PROTEIN-LINKED RECEPTORS

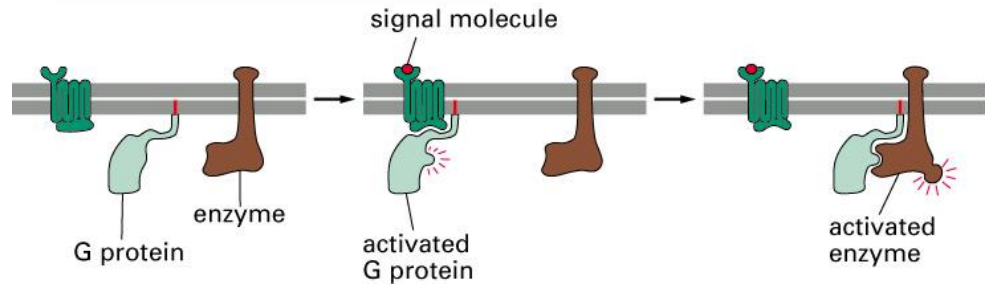


Figure 15–15 part 1 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

(C) ENZYME-LINKED RECEPTORS

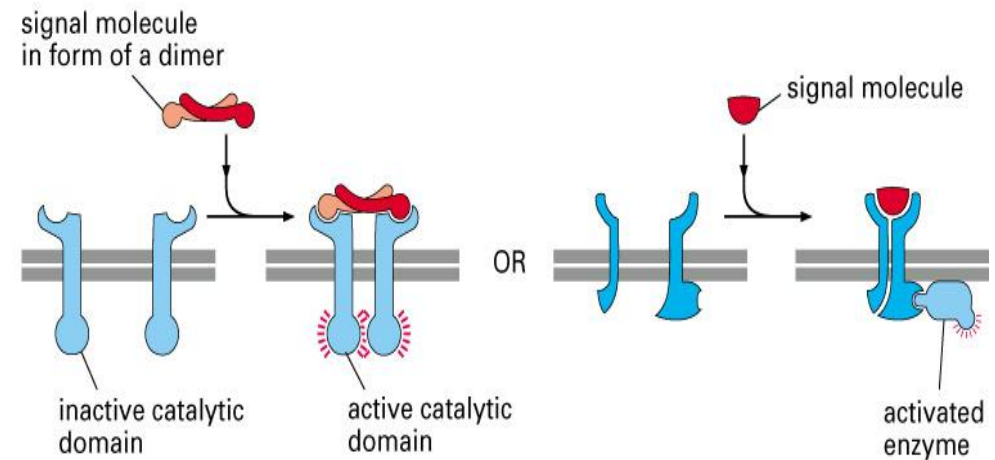


Figure 15–15 part 2 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Tvorba vazebných miest inositol fosfolipidu PI 3-kinázou

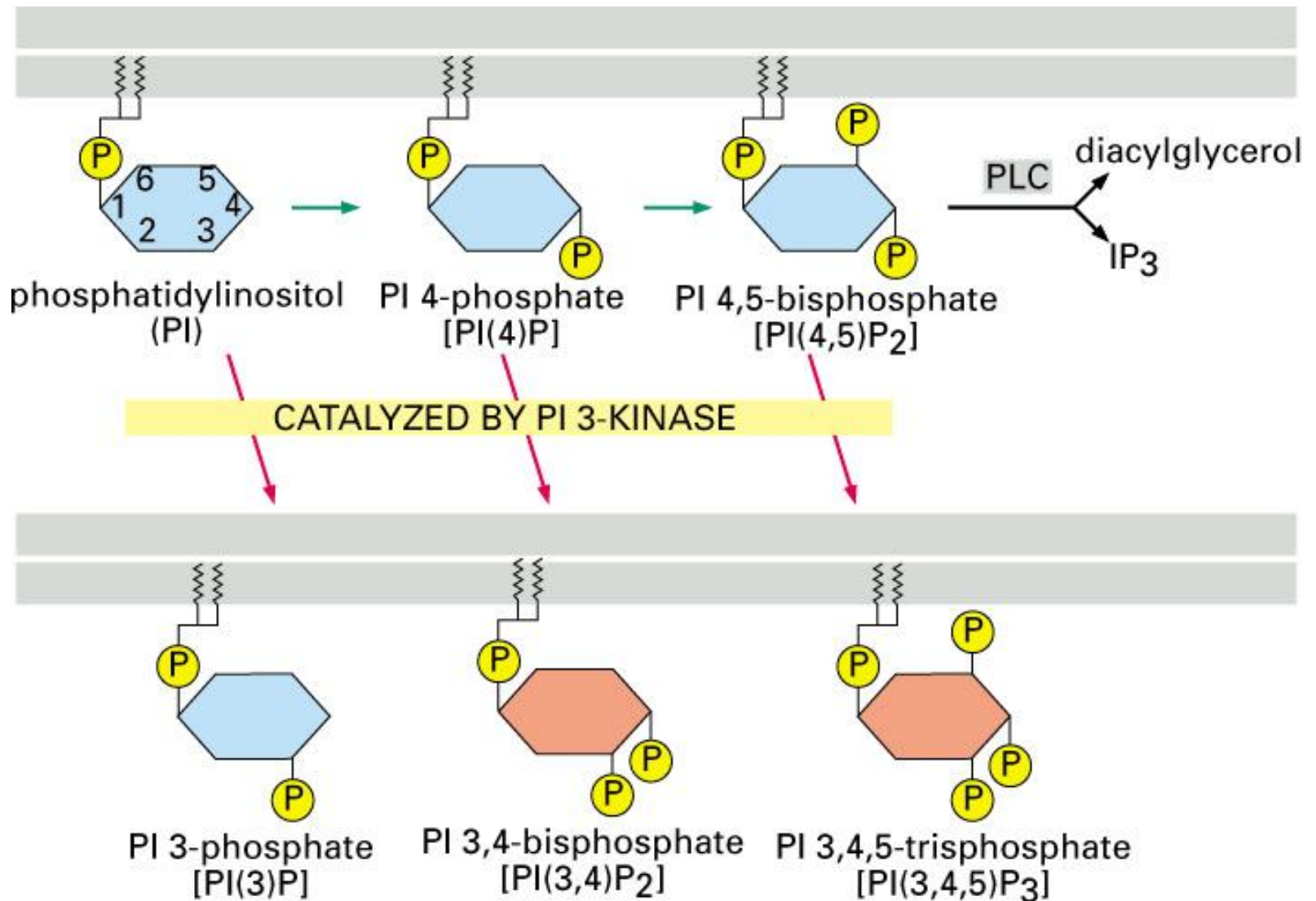


Figure 15–58. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Tvorba signálních proteinů s PH doménami k plasma tické membráně během aktivace B buněk

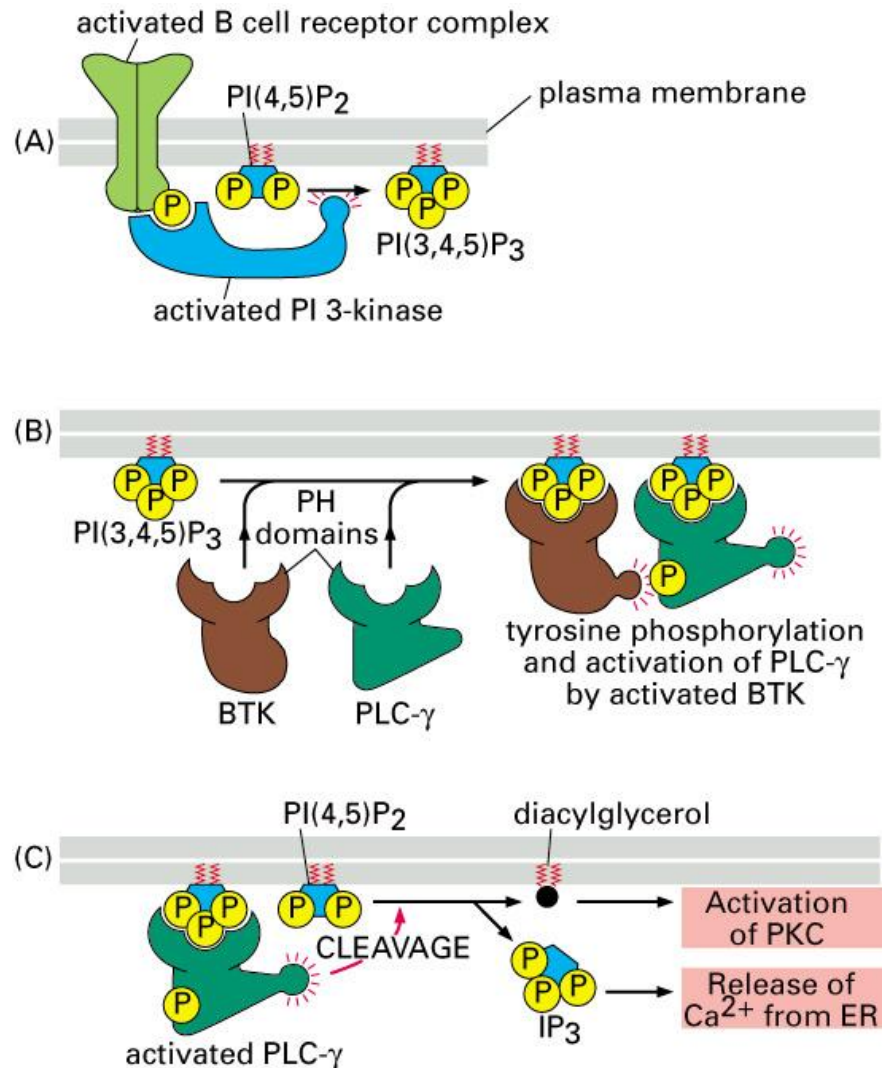


Figure 15–59. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Jedna z cest podpory buněčného přežití přes PI 3-kinázu

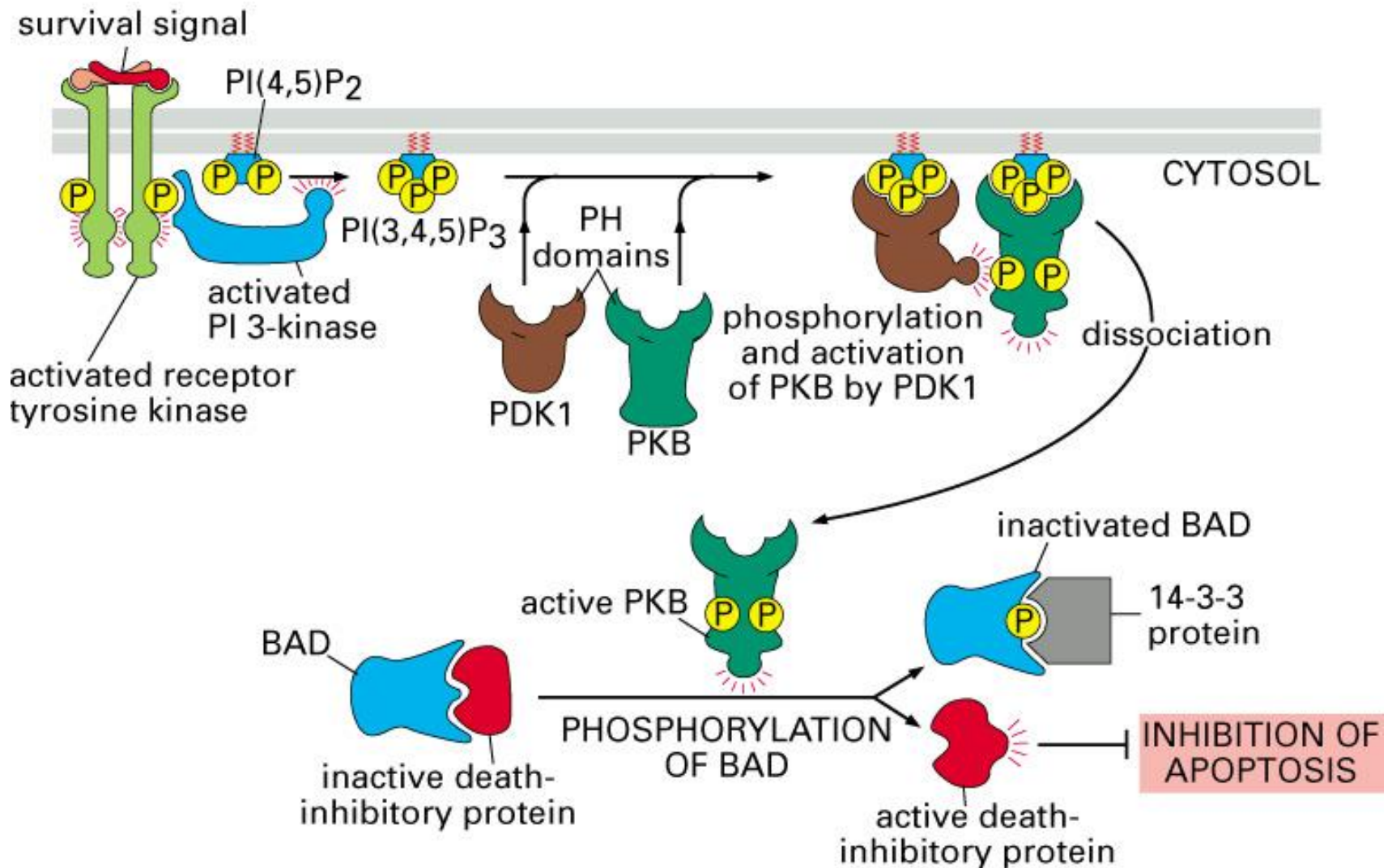


Figure 15-60. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Některé signální proteiny fungující přes cytokinové receptory a signální dráhu Jak-STAT

TABLE 15-5 Some Signaling Proteins That Act Through Cytokine Receptors and the Jak-STAT Signaling Pathway

SIGNALING LIGAND	RECEPTOR-ASSOCIATED JAKS	STATS ACTIVATED	SOME RESPONSES
γ -interferon	Jak1 and Jak2	STAT 1	activates macrophages; increases MHC protein expression
α -interferon	Tyk2 and Jak2	STAT 1 and STAT2	increases cell resistance to viral infection
Erythropoietin	Jak2	STAT 5	stimulates production of erythrocytes
Prolactin	Jak1 and Jak2	STAT 5	stimulates milk production
Growth hormone	Jak2	STAT 1 and STAT5	stimulates growth by inducing IGF-1 production
GM-CSF	Jak2	STAT 5	stimulates production of granulocytes and macrophages
IL-3	Jak2	STAT 5	stimulates early blood cell production

Model Smad-dependentní signální dráhy aktivované TGF- β

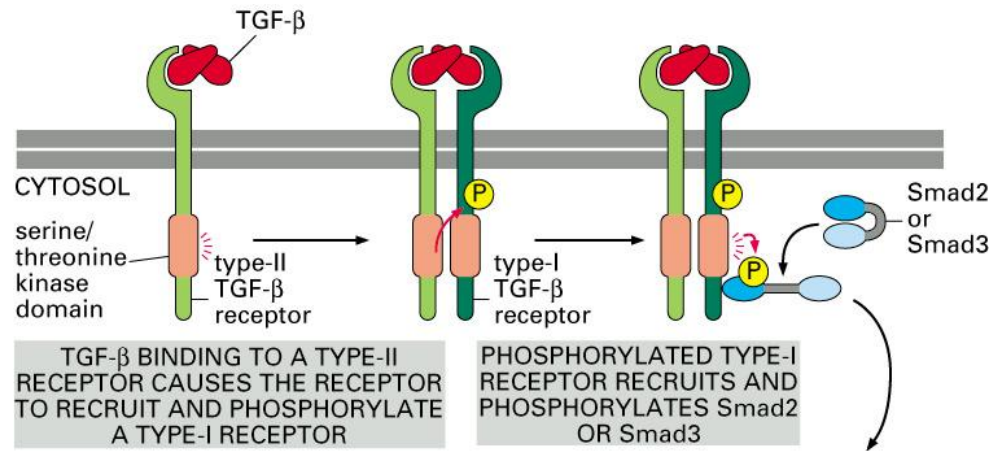
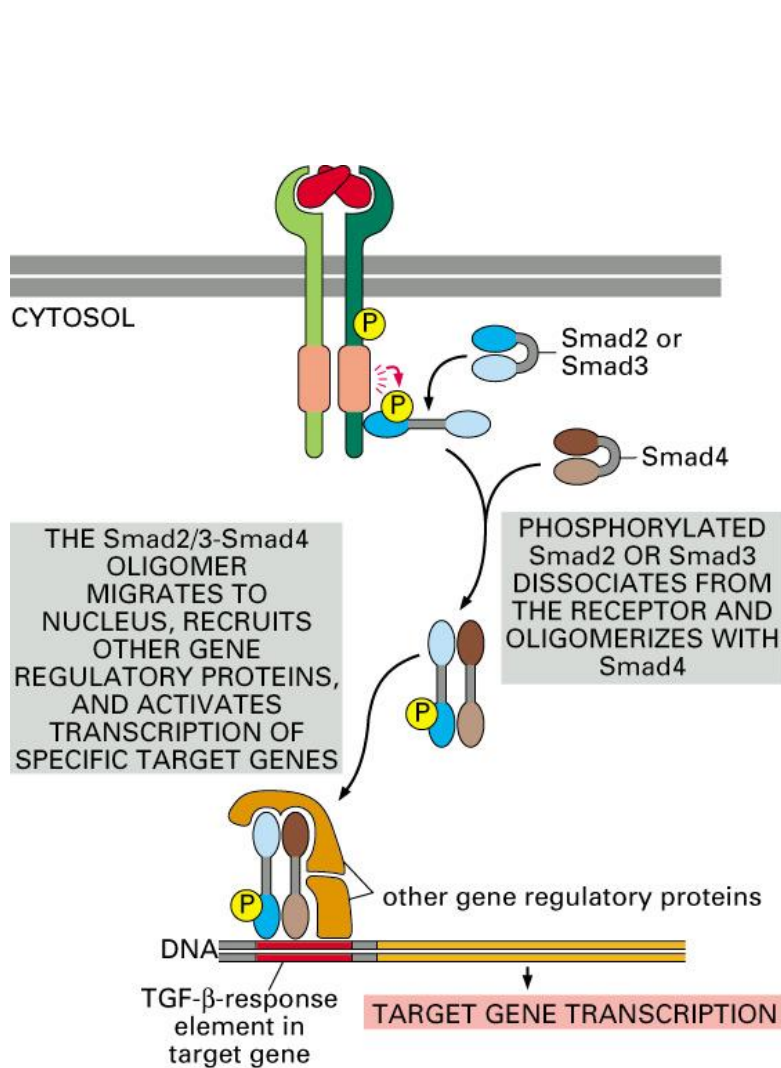
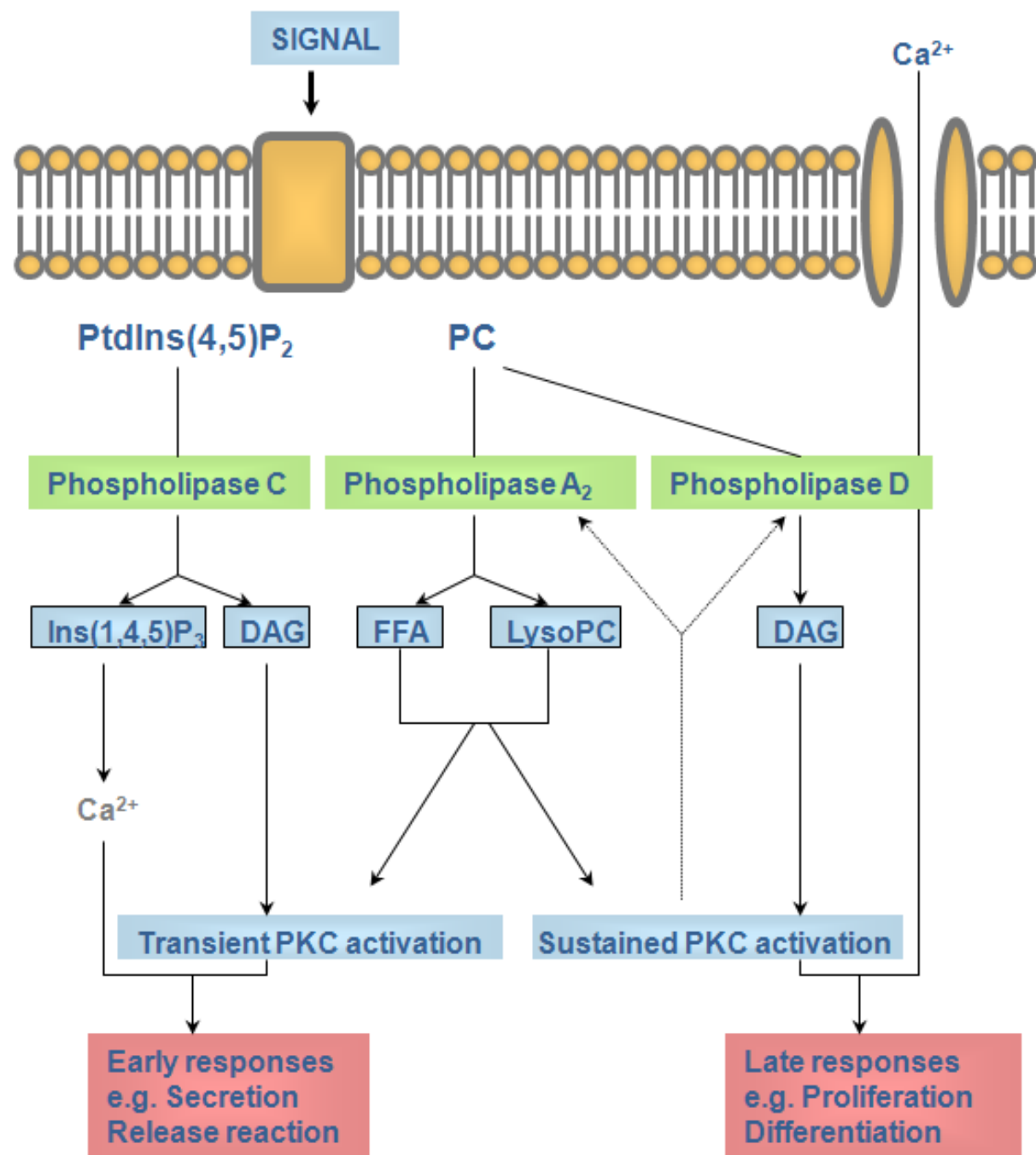


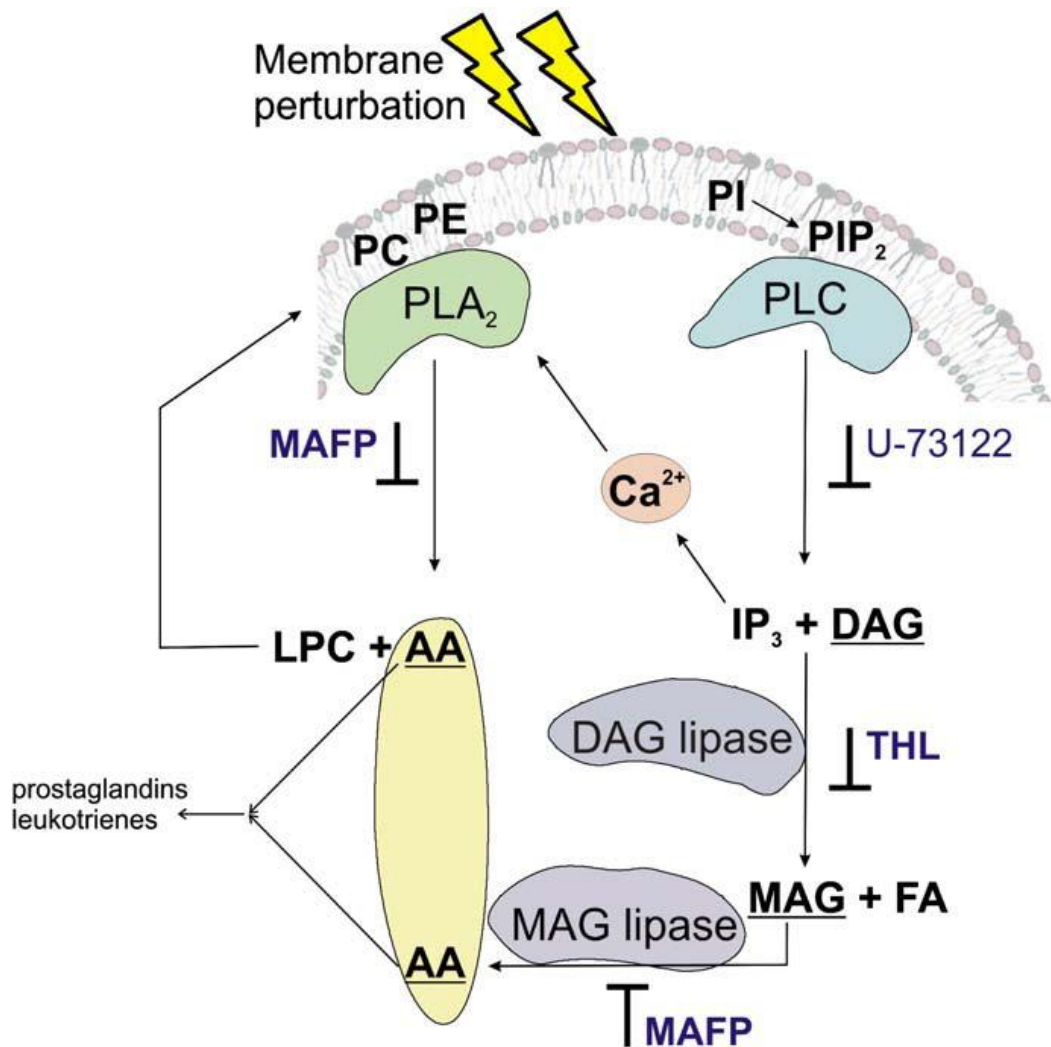
Figure 15-65 part 1 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Figure 15-65 part 2 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Proteinové kinázy a fosfatázy



Přehled možných drah uvolnění kyseliny arachidonové (AA), použitých inhibitorů a detekovaných lipidových meziproductů (podtrženo)



Lipidomics reveals membrane lipid remodelling and release of potential lipid mediators during early stress responses in a murine melanoma cell line
 Gábor Balogh a, Mária Péter a, Gerhard Liebisch b, Ibolya Horváth a, Zsolt Török a, Enikő Nagy a, Andriy Maslyanko a, Sándor Benkő c, Gerd Schmitz b, John L. Harwood d, □, László Vígh a, □ *Biochimica et Biophysica Acta* xxx (2010) xxx–xxx

Kontrola transkripce genů environmentálními signály

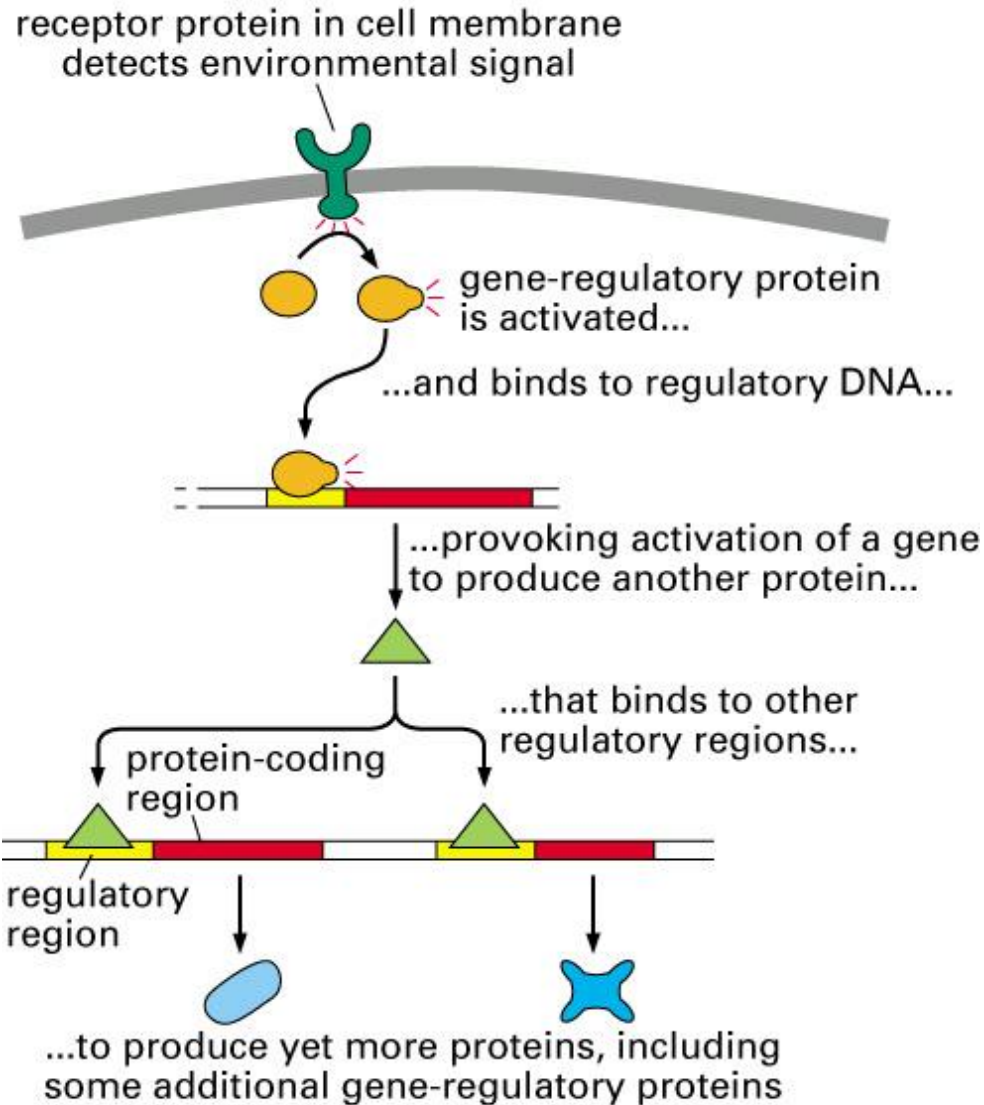


Figure 1-40. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Fosforylace proteinů

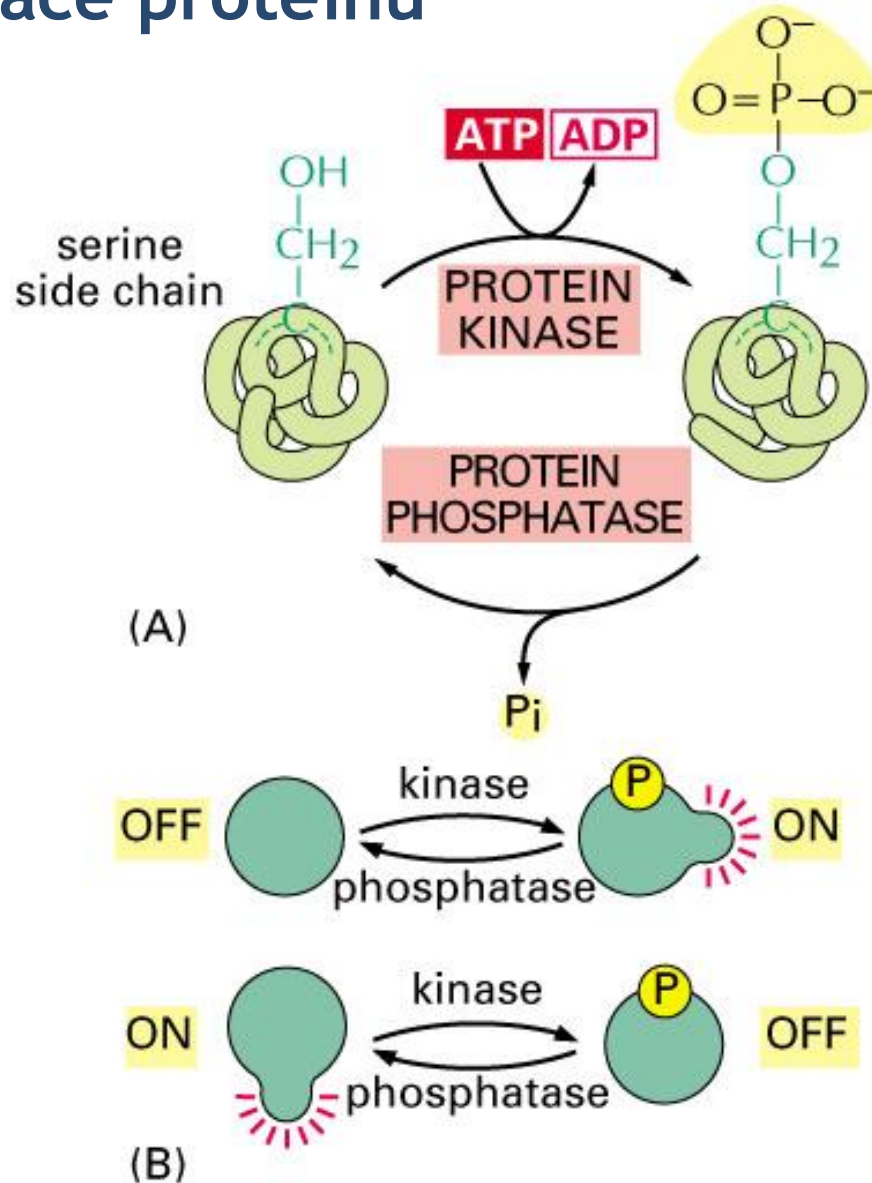


Figure 3–63. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

3-D struktura proteinové kinázy

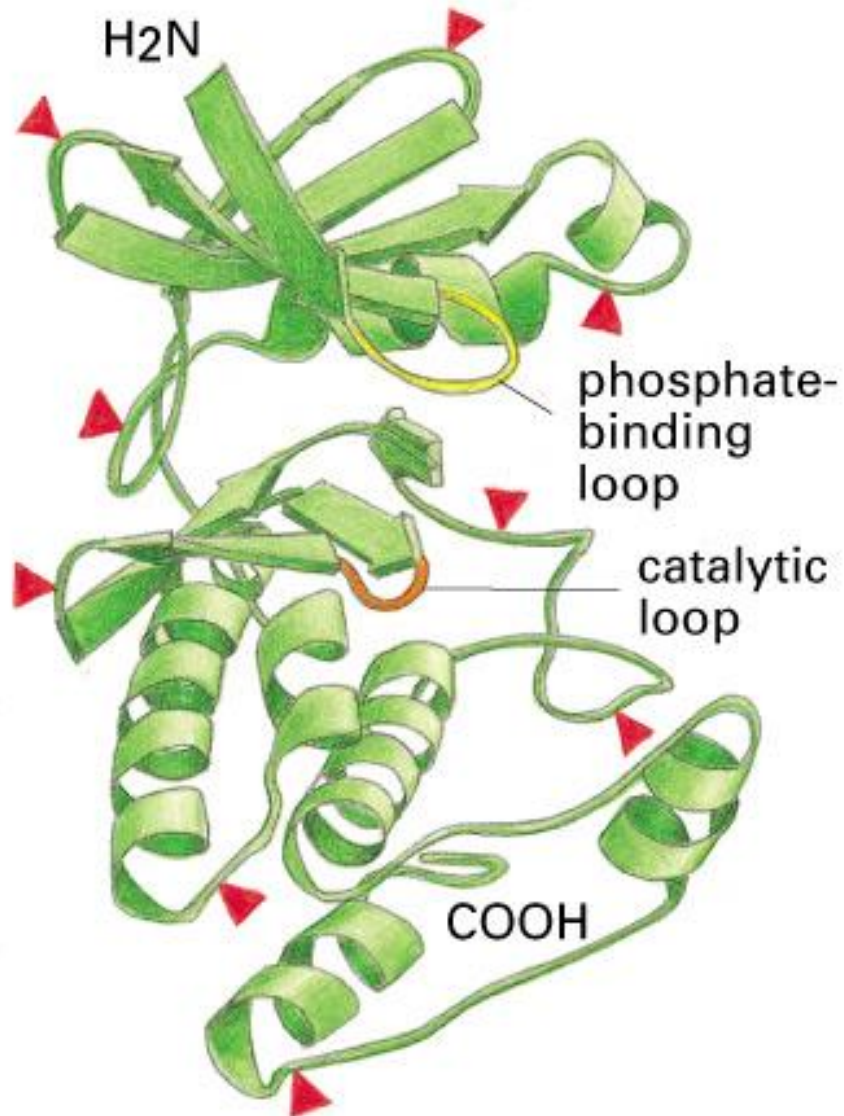


Figure 3-64. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Cdk protein funguje jako nástroj integrace

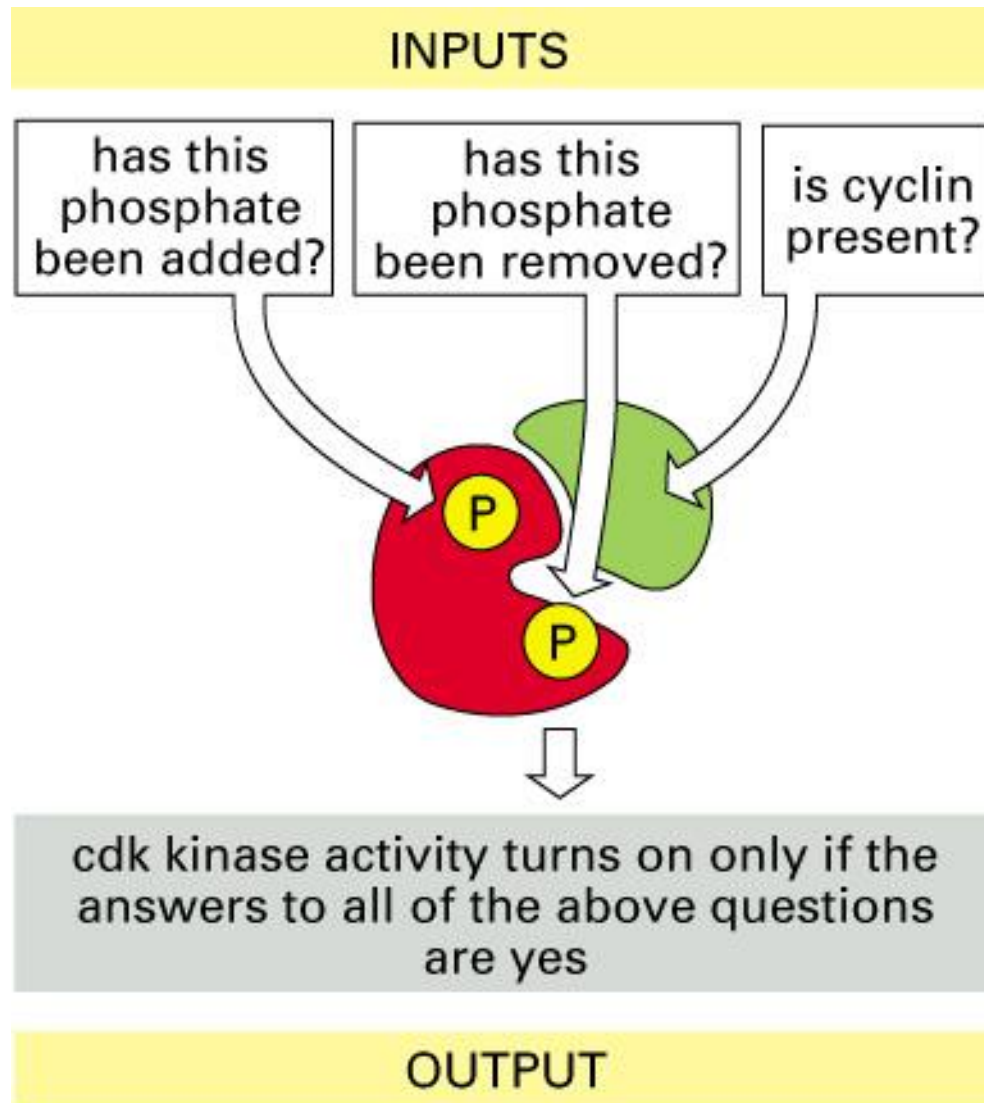


Figure 3–66. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Aktivace protein kinázy typu Src dvěma následujícími ději

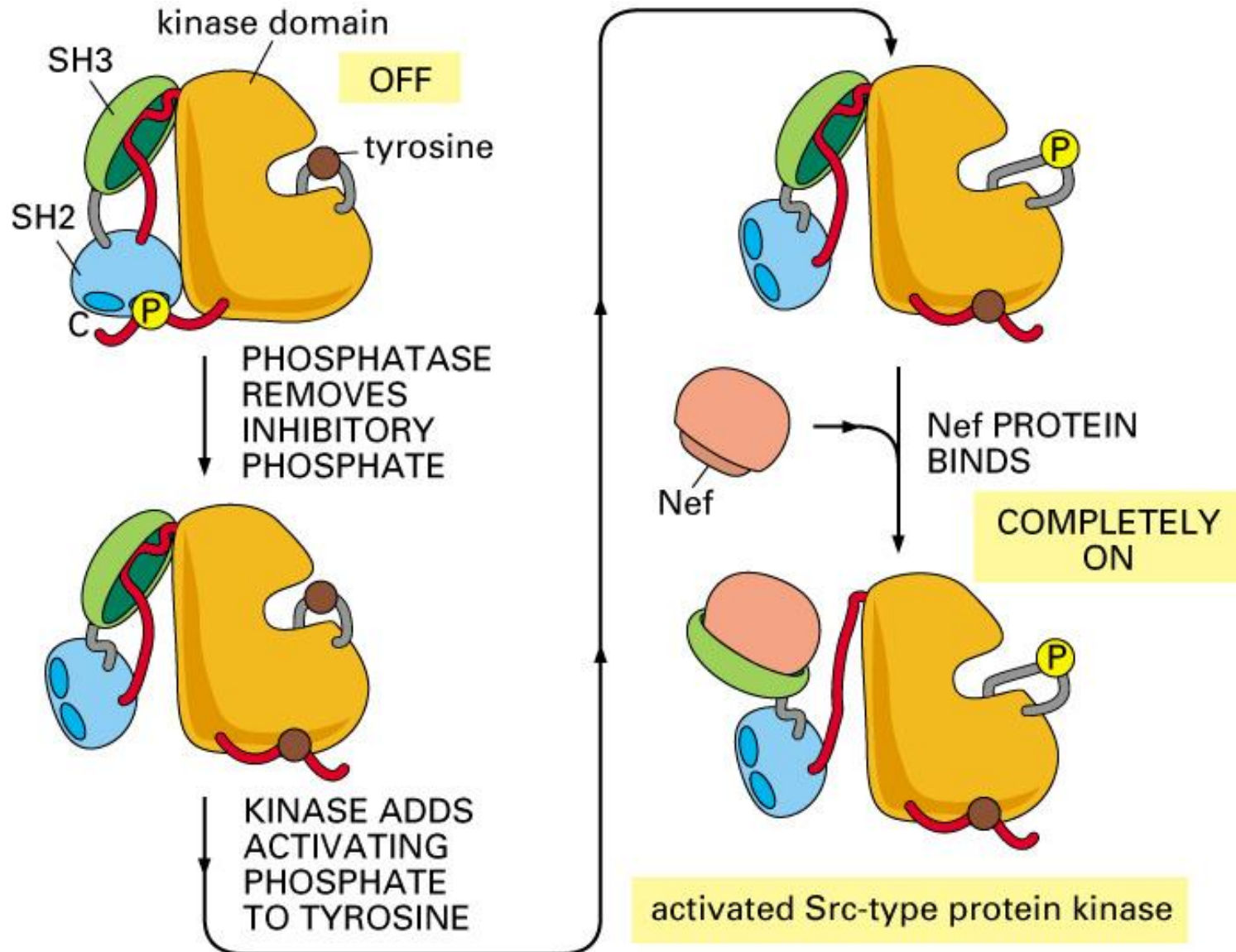


Figure 3–68. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Protein kináza typu Src funguje jako nástroj integrace

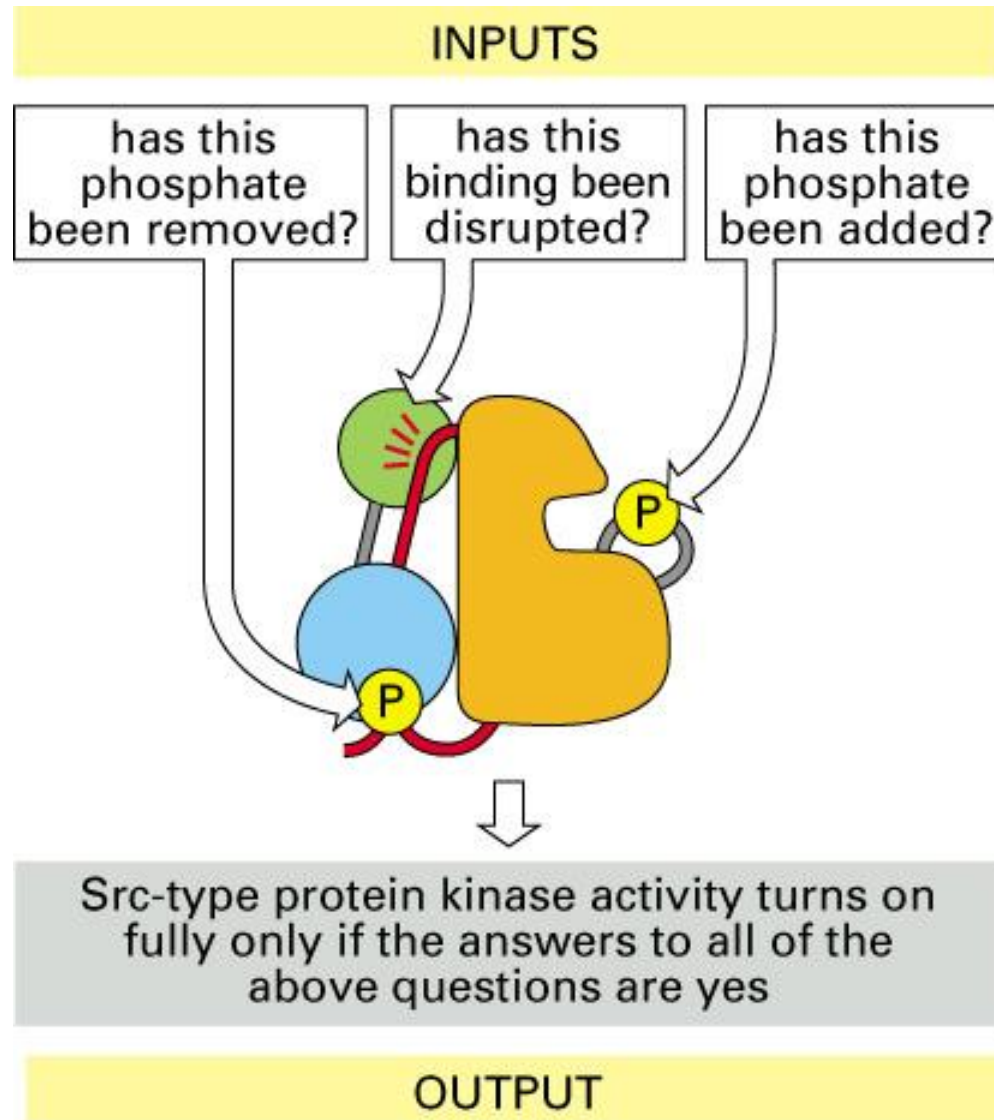


Figure 3–69. Molecular Biology of The Cell, 4th Edition.

GTP-vazebné proteiny jako molekulární spouštěče

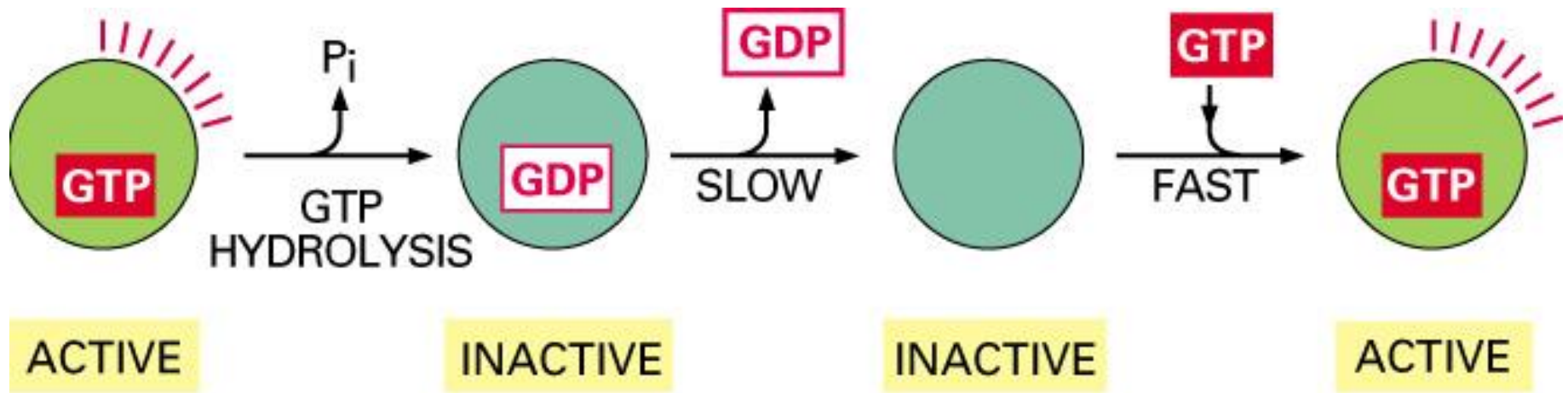
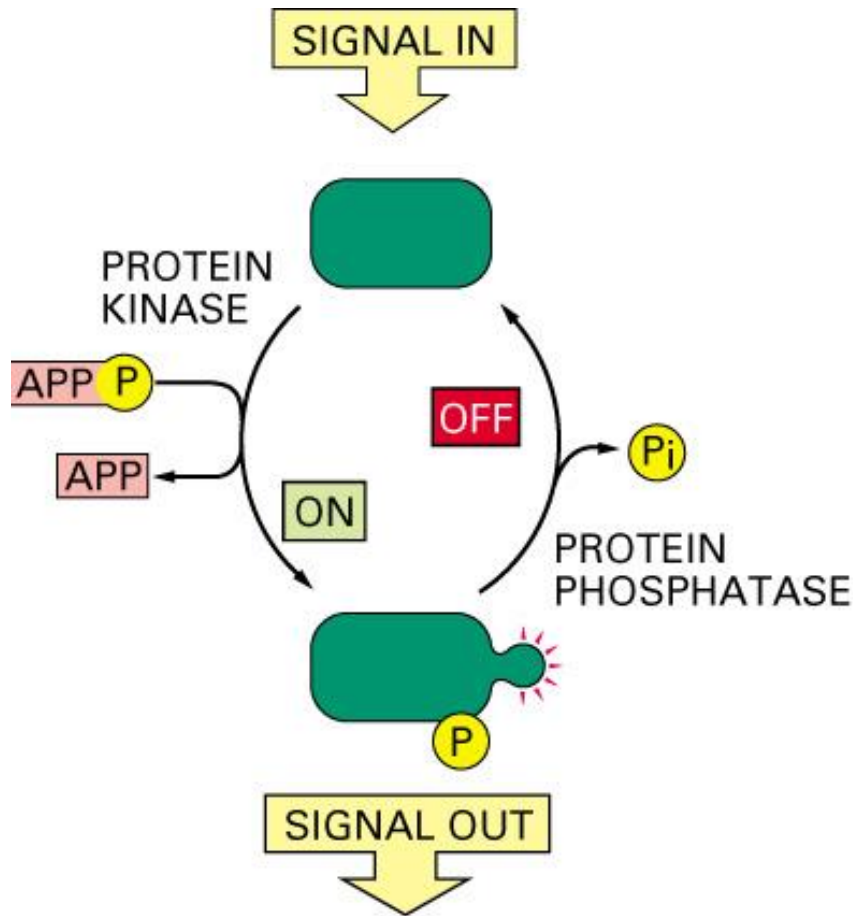
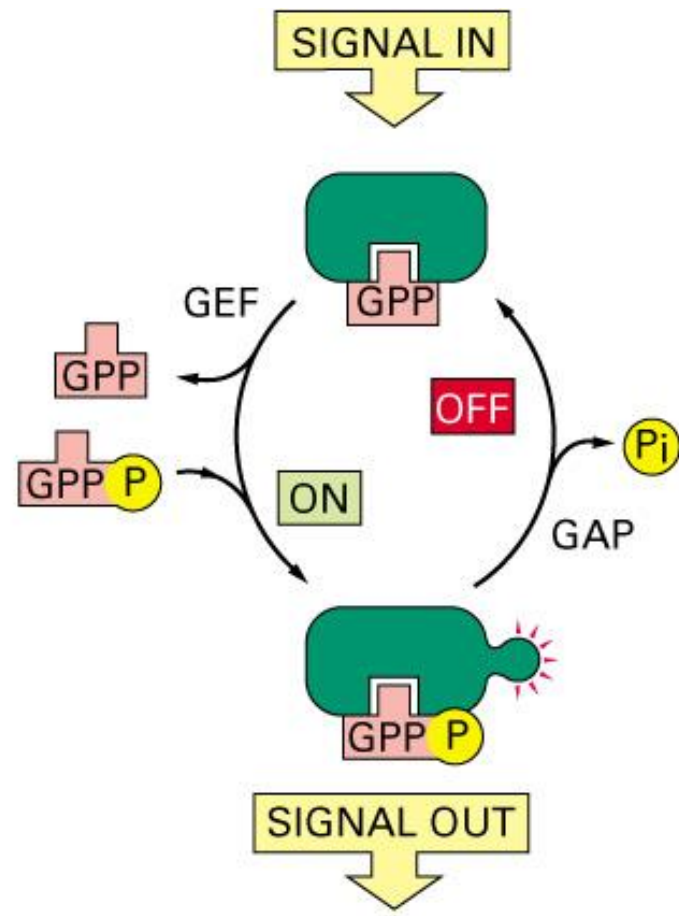


Figure 3–70. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Srovnání dvou hlavních vnitrobuněčných signálních mechanismů u eukaryotických buněk



SIGNALING BY PHOSPHORYLATION



SIGNALING BY GTP-BINDING PROTEIN

Velké konformační změny v EF-Tu způsobené hydrolýzou GTP

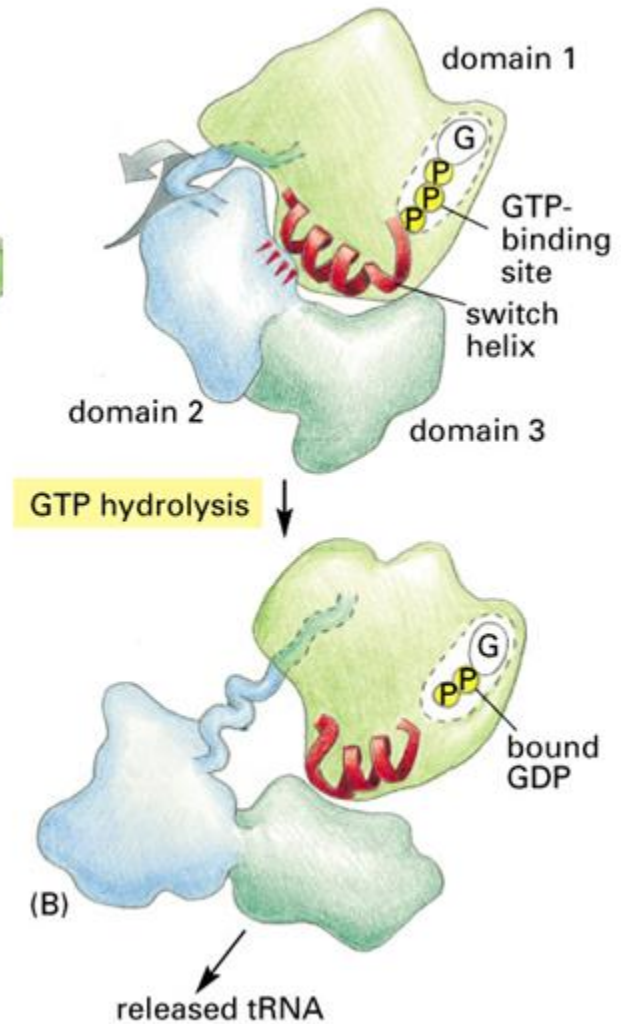
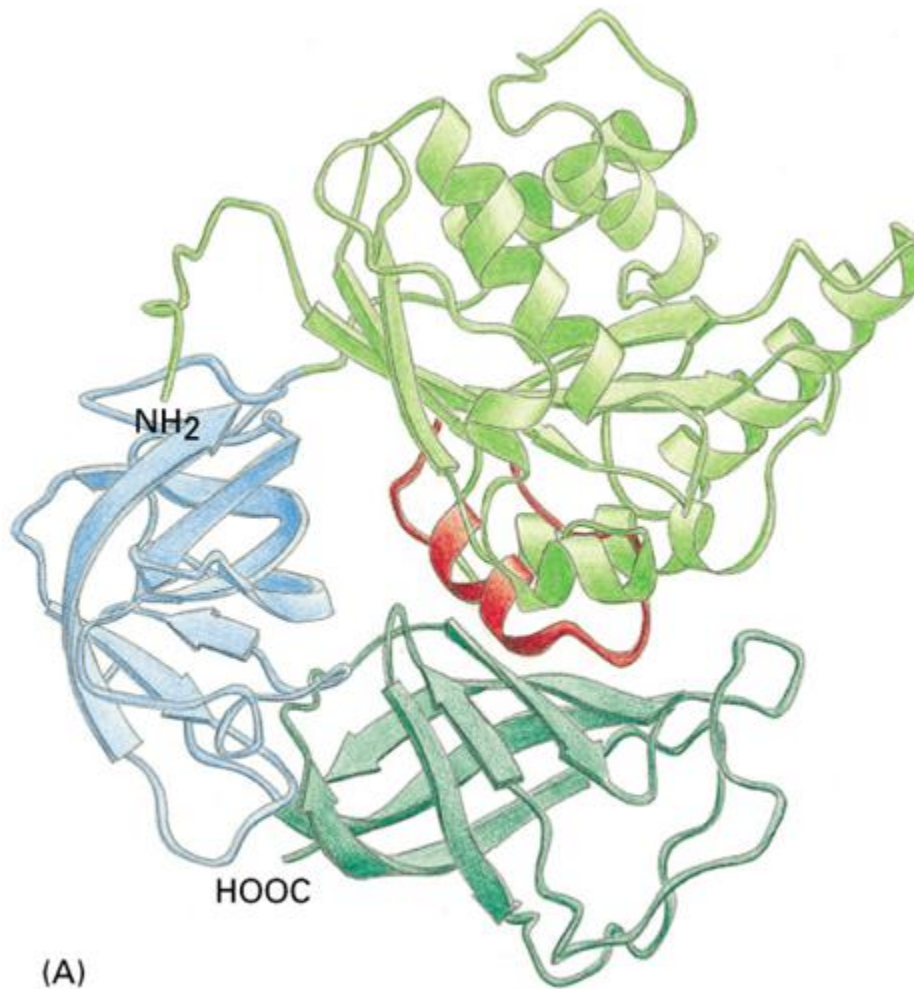


Figure 3-74 part 1 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition

Alosterický “walking” protein

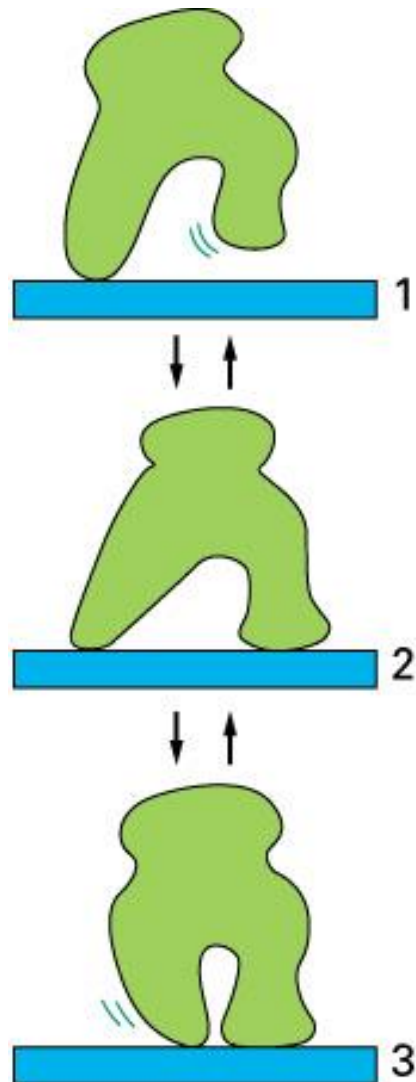


Figure 3–75. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Transport vápníkových iontů pumpou Ca^{2+}

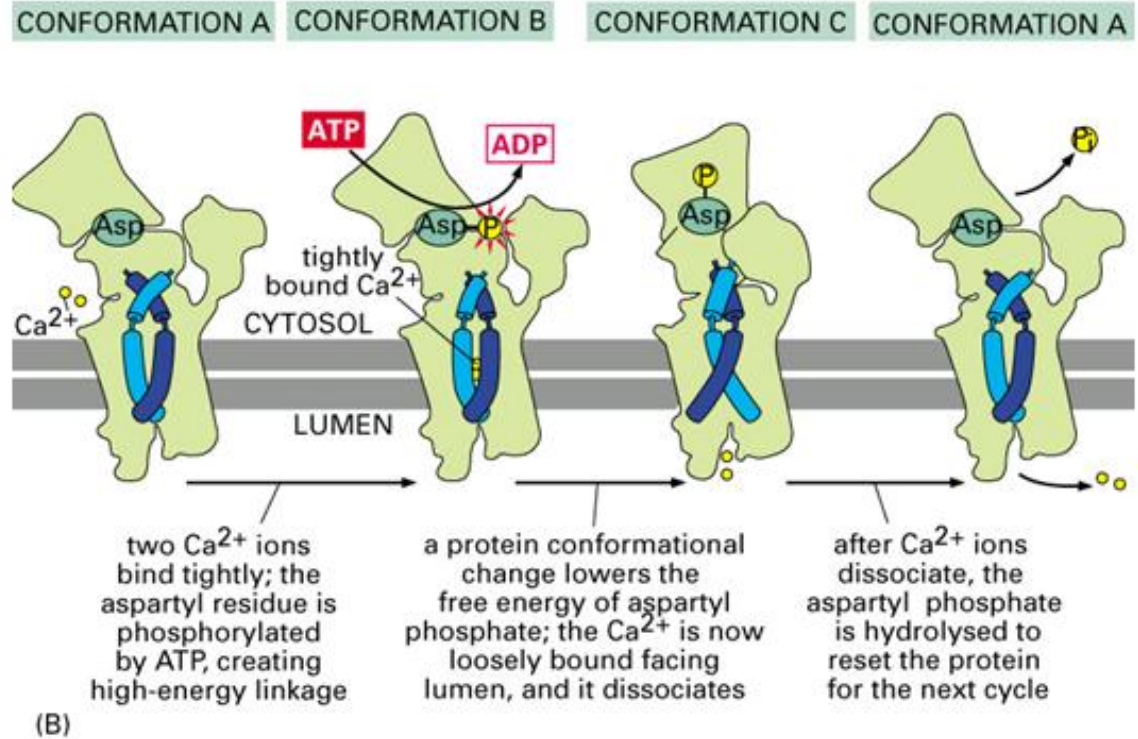
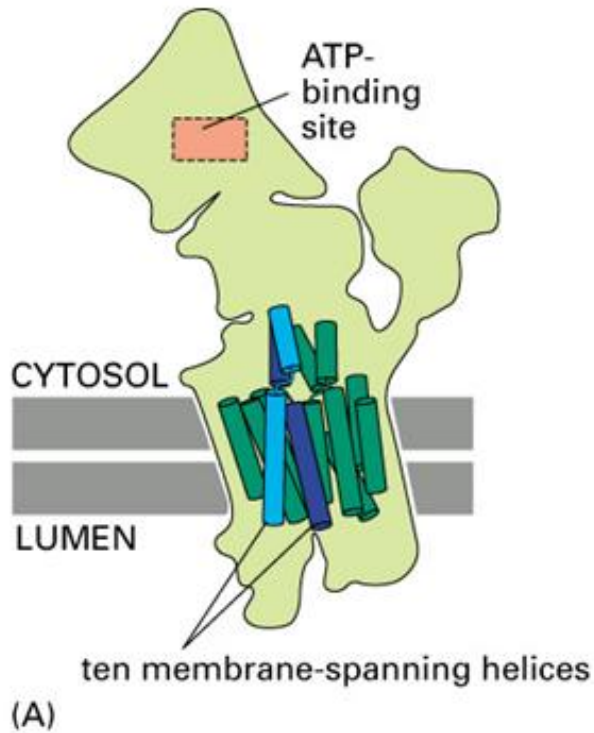
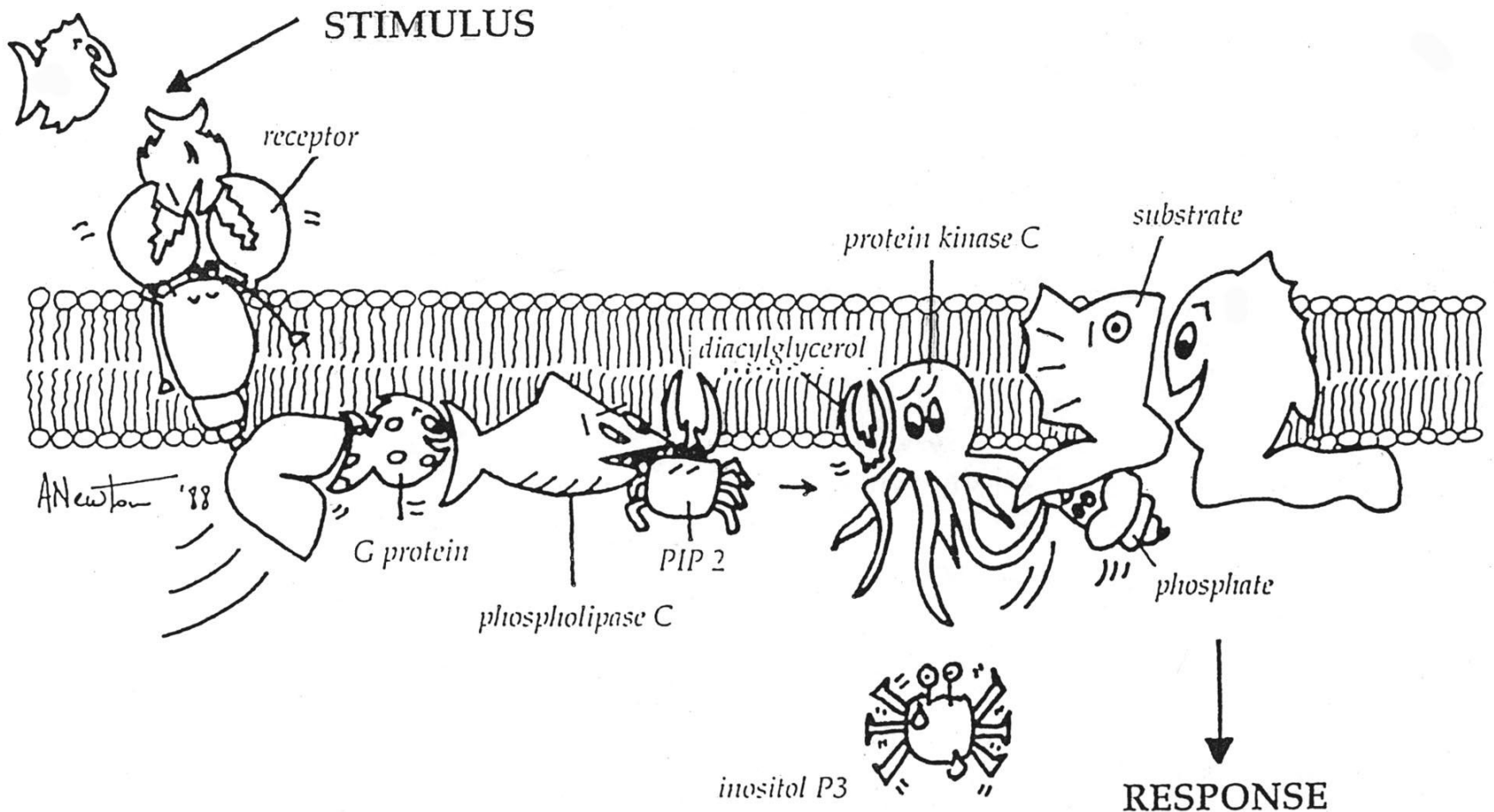
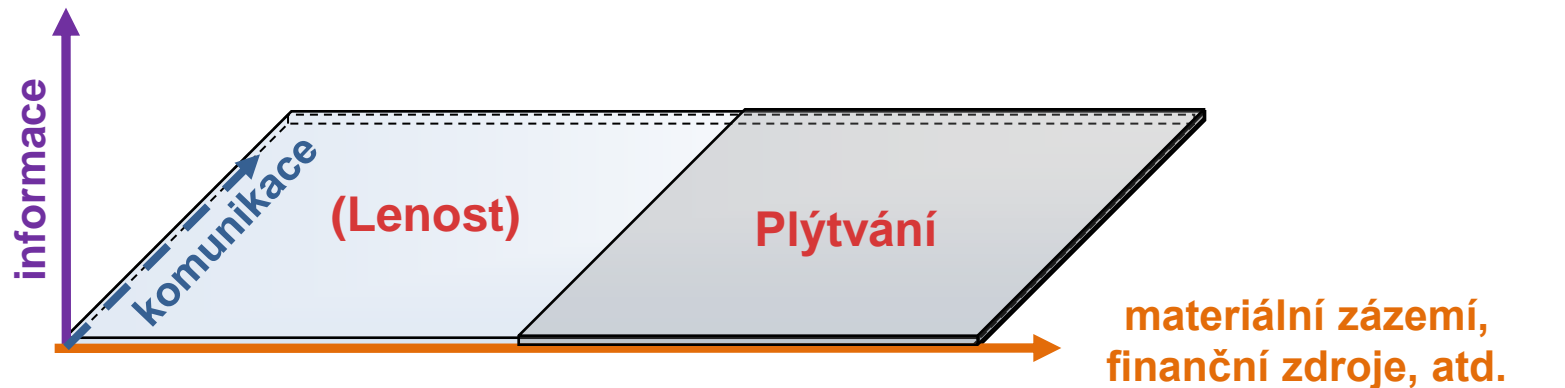
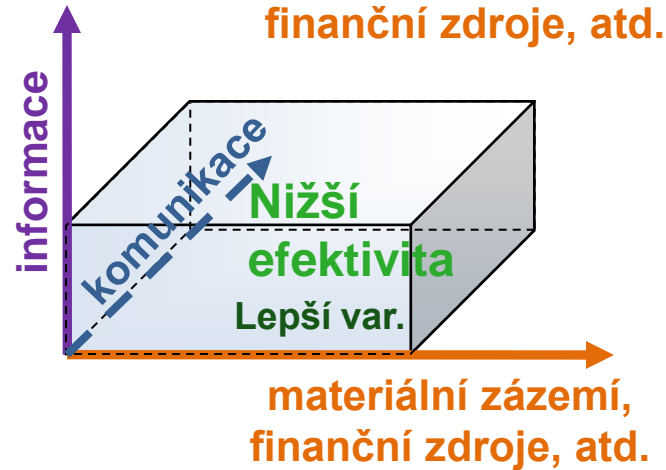
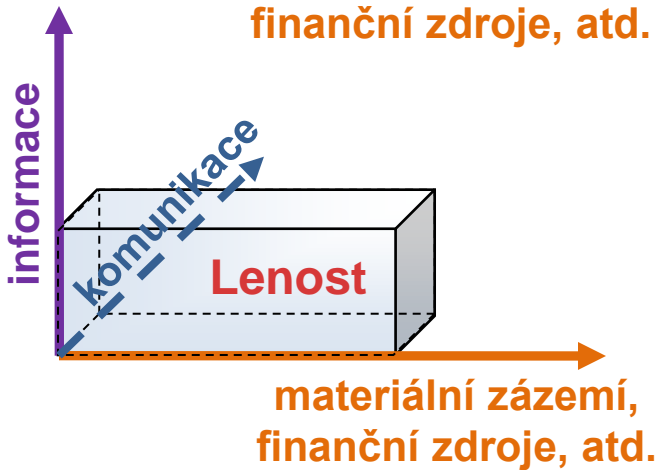
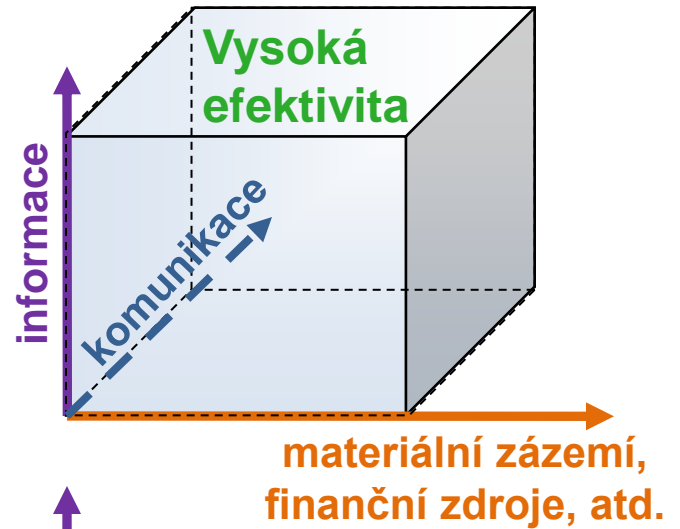


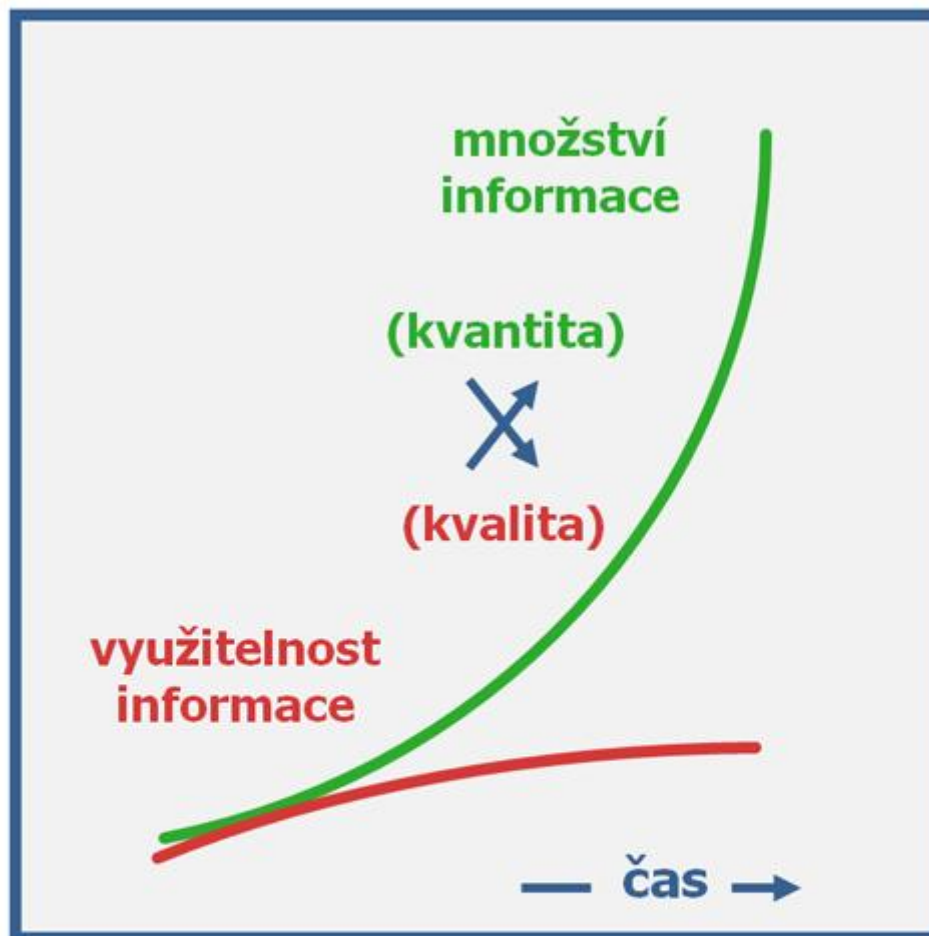
Figure 3-77 part 2 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Receptorem zprostředkovaná dráha aktivace



potenciál





„Moudrost člověka lze měřit podle starostlivosti,
s níž myslí na věci budoucí nebo na konec.“

G. Ch. Lichtenberg