



**ΔΗΜΟΚΡΙΤΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΡΑΚΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ**

ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΚΑΙ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ

Δρ. Α. ΓΑΛΑΝΗΣ
agalanis@mbg.duth.gr

Κεφάλαιο 28

Μεταγωγή σημάτων

- 28.1 Εισαγωγή
- 28.2 Οι μεταφορείς και οι διάυλοι αποτελούν συστήματα διέλευσης υδρόφιλων ουσιών διαμέσου της μεμβράνης
- 28.3 Οι διάυλοι ιόντων είναι επιλεκτικοί
- 28.4 Οι νευροδιαβιβαστές ελέγχουν τη λειτουργία πολλών διαύλων ιόντων
- 28.5 Οι πρωτεΐνες G μπορούν να ενεργοποιούν ή να καταστέλλουν πρωτεΐνες-στόχους
- 28.6 Οι πρωτεΐνες G ενεργοποιούνται με την αποσύνδεση της υπομονάδας α από το τριμερές
- 28.7 Οι πρωτεϊνικές κινάσες είναι σημαντικοί παράγοντες της μεταγωγής σημάτων
- 28.8 Οι υποδοχείς αυξητικών ορμονών είναι κινάσες πρωτεϊνών
- 28.9 Οι υποδοχείς ενεργοποιούνται με διμερισμό
- 28.10 Οι υποδοχείς με ενεργότητα κινάσης ενεργοποιούν μονοπάτια μεταγωγής σημάτων
- 28.11 Τα μονοπάτια μεταγωγής σημάτων συχνά ενέχουν αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης-πρωτεΐνης
- 28.12 Μια επικράτεια SH2 προσδένεται σε μια μικρή αλληλουχία που φέρει ένα κατάλοιπο φωσφοτυροσίνης
- 28.13 Η παρουσία προλίνης είναι κρίσιμο χαρακτηριστικό των μοτίβων αλληλεπίδρασης πρωτεϊνών
- 28.14 Το μονοπάτι Ras/MAPK είναι ευρύτατα συντηρημένο
- 28.15 Η ενεργοποίηση της Ras ελέγχεται από το GTP
- 28.16 Το μονοπάτι της κινάσης MAP είναι ένας καταρράκτης σηματοδότησης
- 28.17 Τι καθορίζει την εξειδίκευση της σηματοδότησης;
- 28.18 Η ενεργοποίηση ενός μονοπατιού μπορεί να προκαλέσει διαφορετικά αποτελέσματα
- 28.19 Το κυκλικό AMP και η ενεργοποίηση του CREB
- 28.20 Το μονοπάτι JAK-STAT
- 28.21 Οι πρωτεΐνες Smad ενέχονται στο μονοπάτι μεταγωγής σήματος του TGFβ
- 28.22 Περίληψη

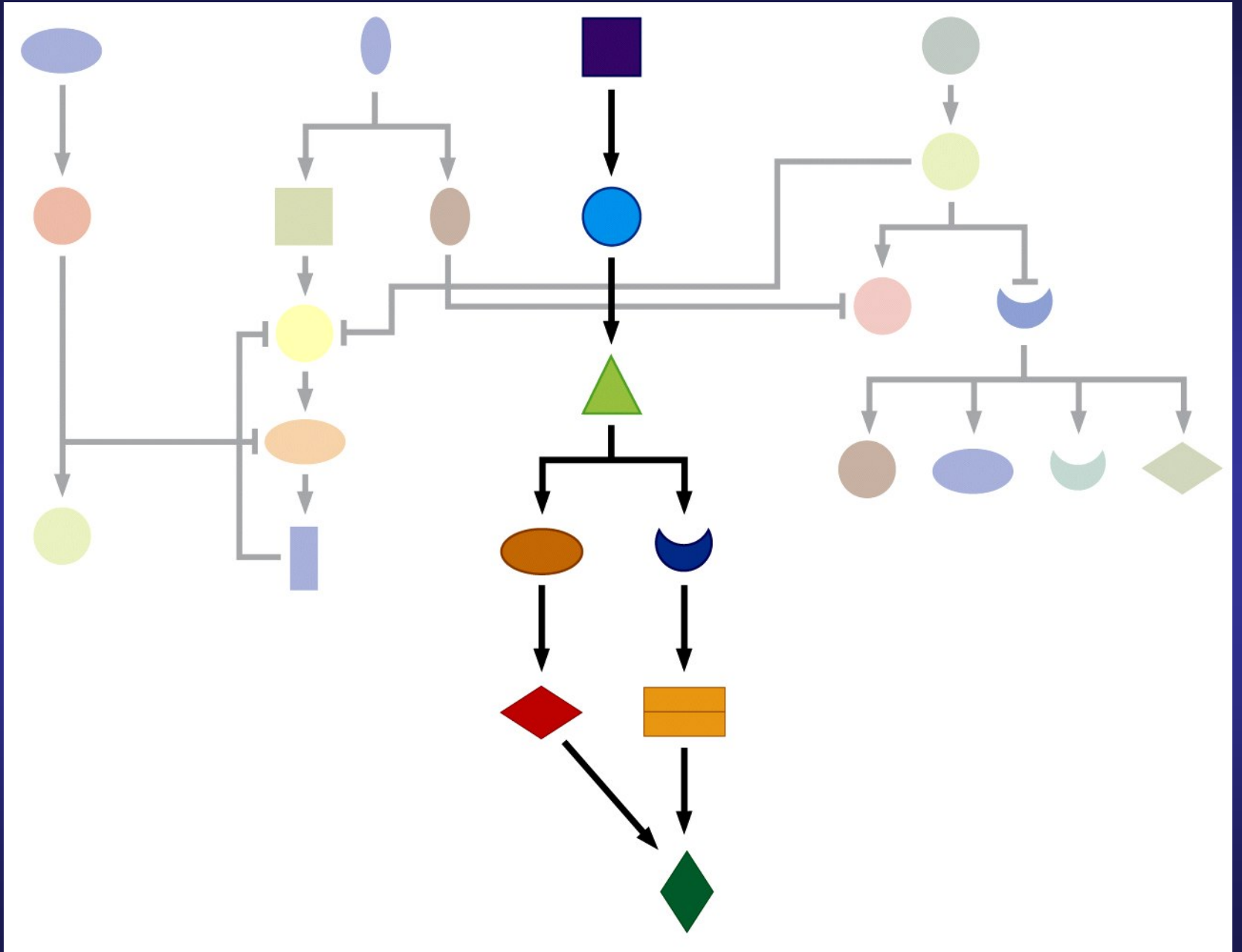


Figure 6.1 *The Biology of Cancer* (© Garland Science 2007)

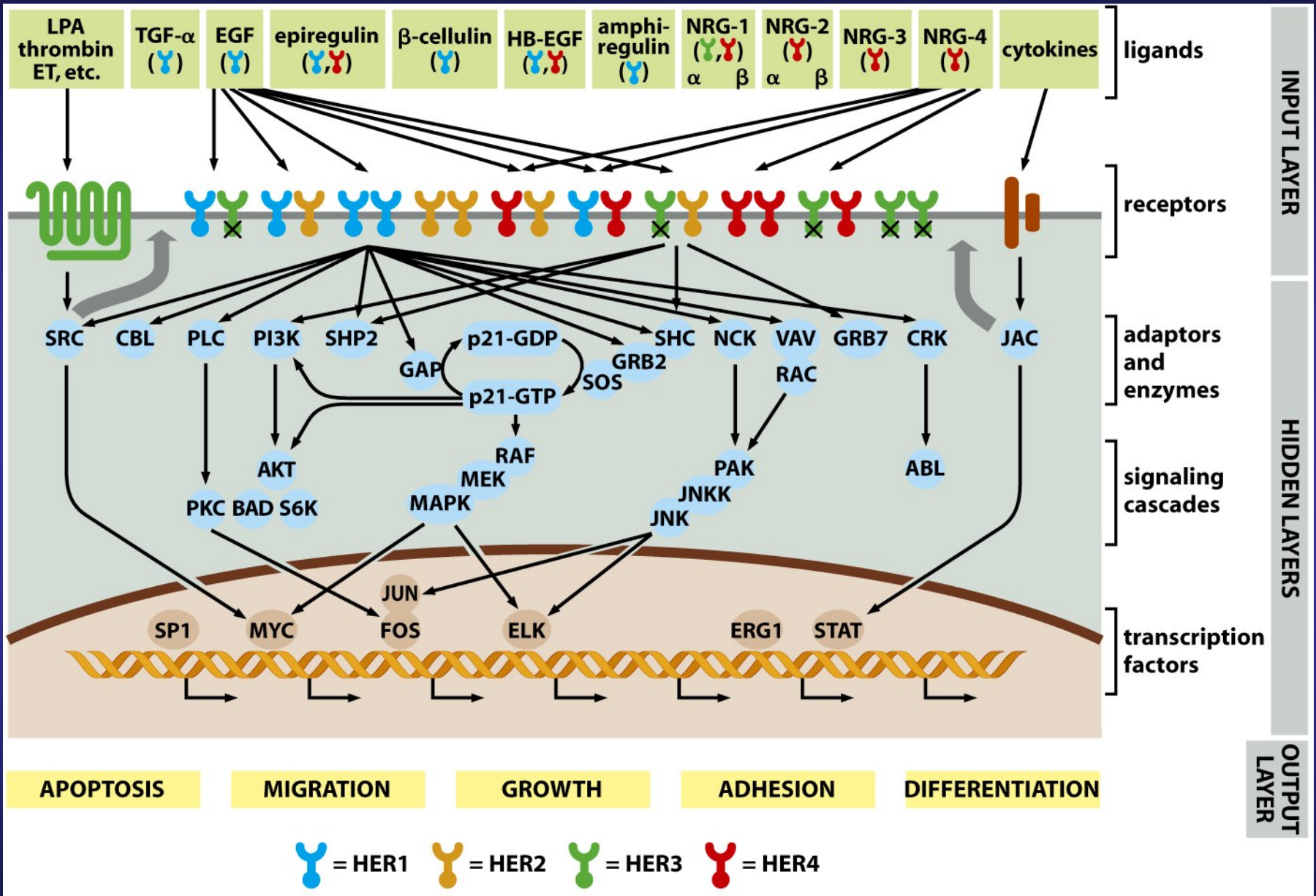
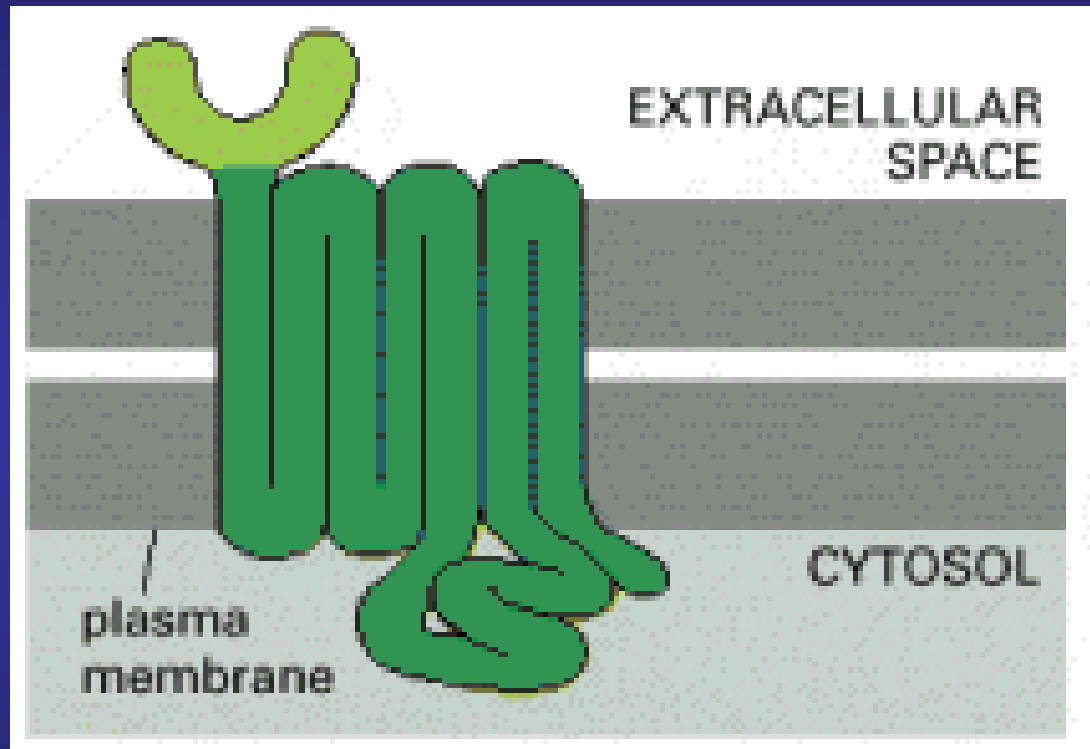
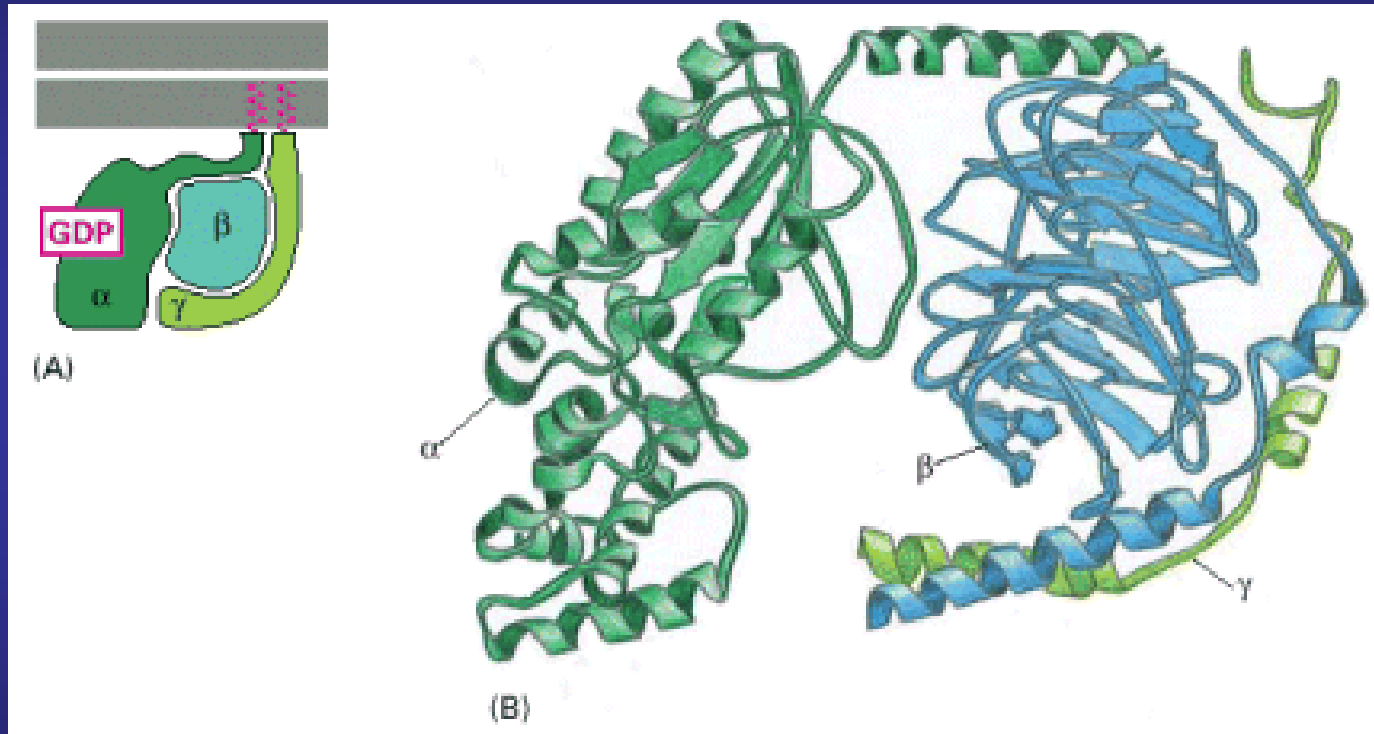


Figure 5.1 *The Biology of Cancer* (© Garland Science 2007)

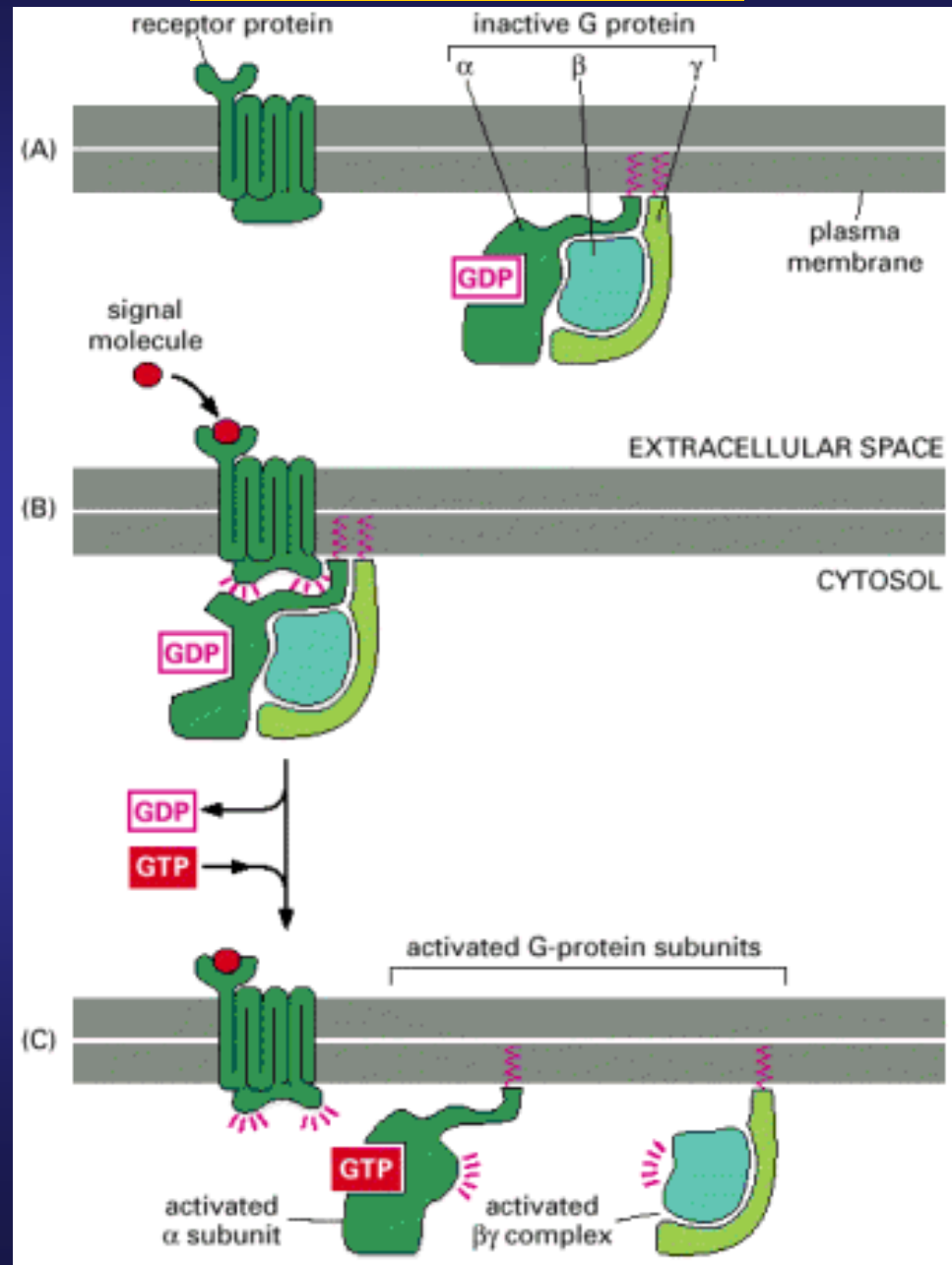
Σχηματική αναπαράσταση ενός οφιοειδούς υποδοχέα



Σχηματική αναπαράσταση της πρωτεΐνης G



Οι πρωτεΐνες G διίστανται σε 2 σηματοδοτικές πρωτεΐνες όταν ενεργοποιούνται



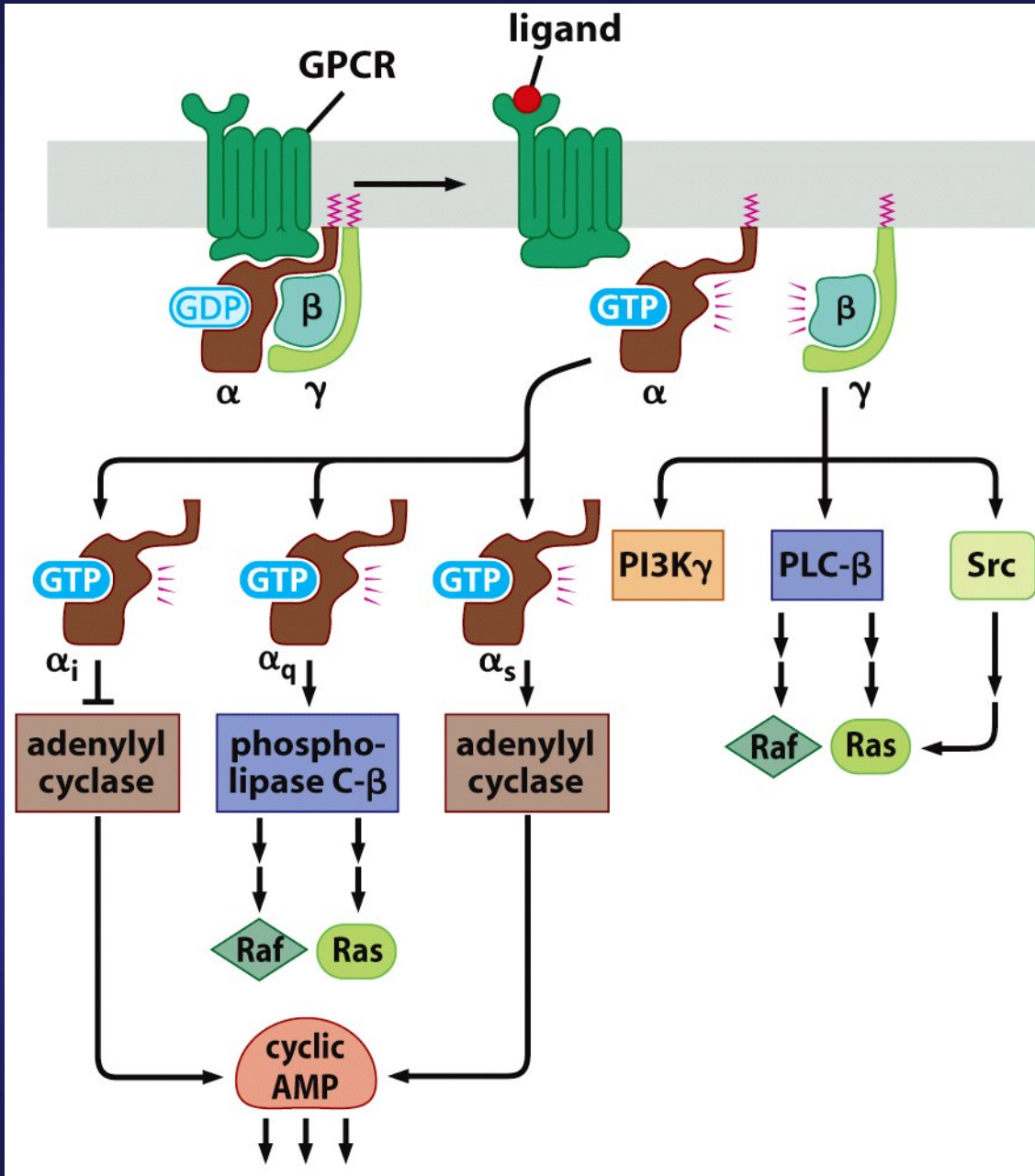
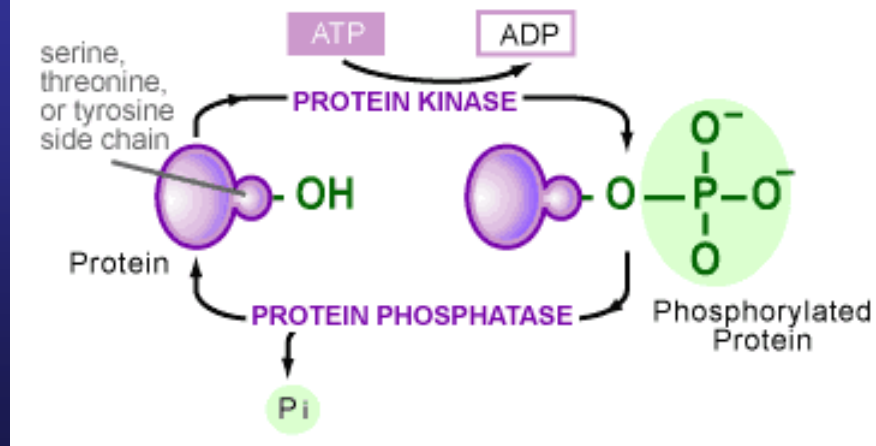


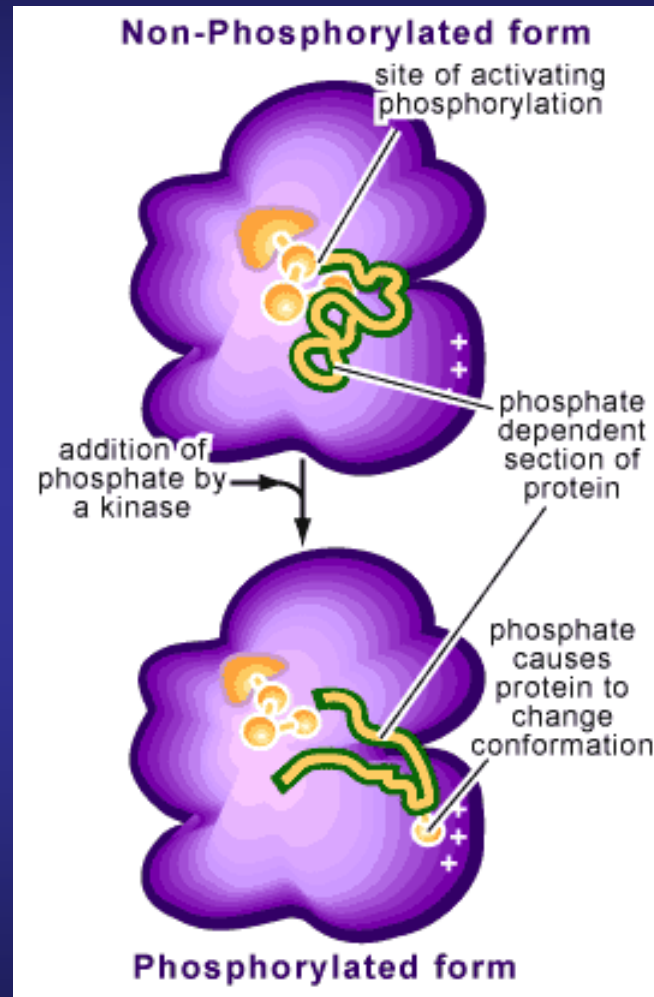
Figure 6.28 *The Biology of Cancer* (© Garland Science 2007)

Ανάλογα με το αμινοξικό κατάλοιπο-στόχο, διακρίνονται τρεις τύποι πρωτεϊνικών κινασών:

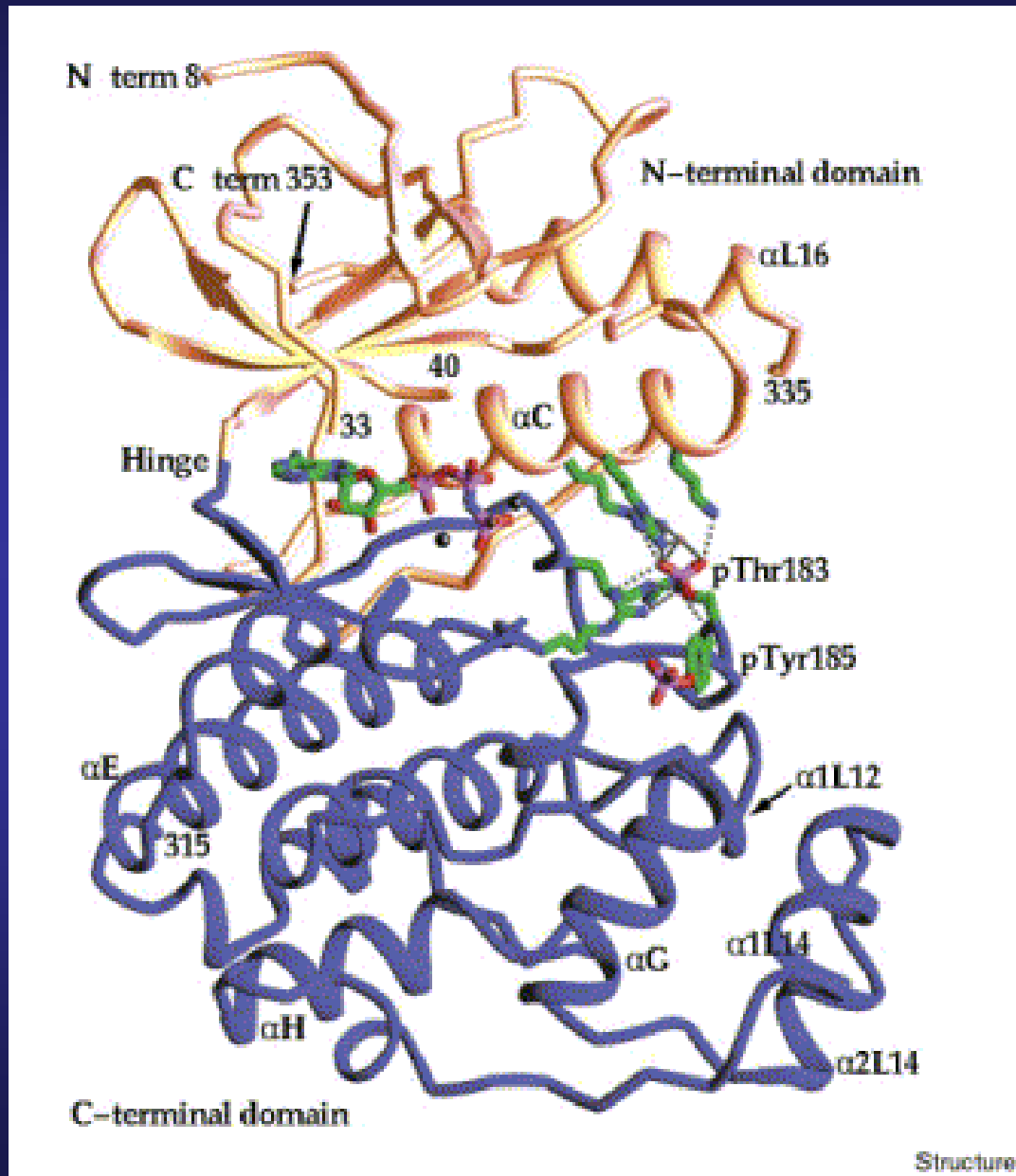
- ▶ Οι **πρωτεϊνικές κινάσες σερίνης/θρεονίνης** (protein serine/threonine kinases) ευθύνονται για τις περισσότερες φωσφορυλιώσεις στο κύτταρο. Όπως υποδηλώνει και το όνομά τους, φωσφορυλιώνουν στην πρωτεΐνη-στόχο κατάλοιπα σερίνης ή θρεονίνης.
- ▶ Οι **πρωτεϊνικές κινάσες τυροσίνης** (protein tyrosine kinases) φωσφορυλιώνουν στην πρωτεΐνη-στόχο κατάλοιπα τυροσίνης.
- ▶ Οι **κινάσες διπλής εξειδίκευσης** (dual specificity kinases) είναι πιο σπάνιες και μπορούν να φωσφορυλιώσουν στις πρωτεΐνες-στόχους τους είτε κατάλοιπα τυροσίνης είτε κατάλοιπα σερίνης/θρεονίνης.



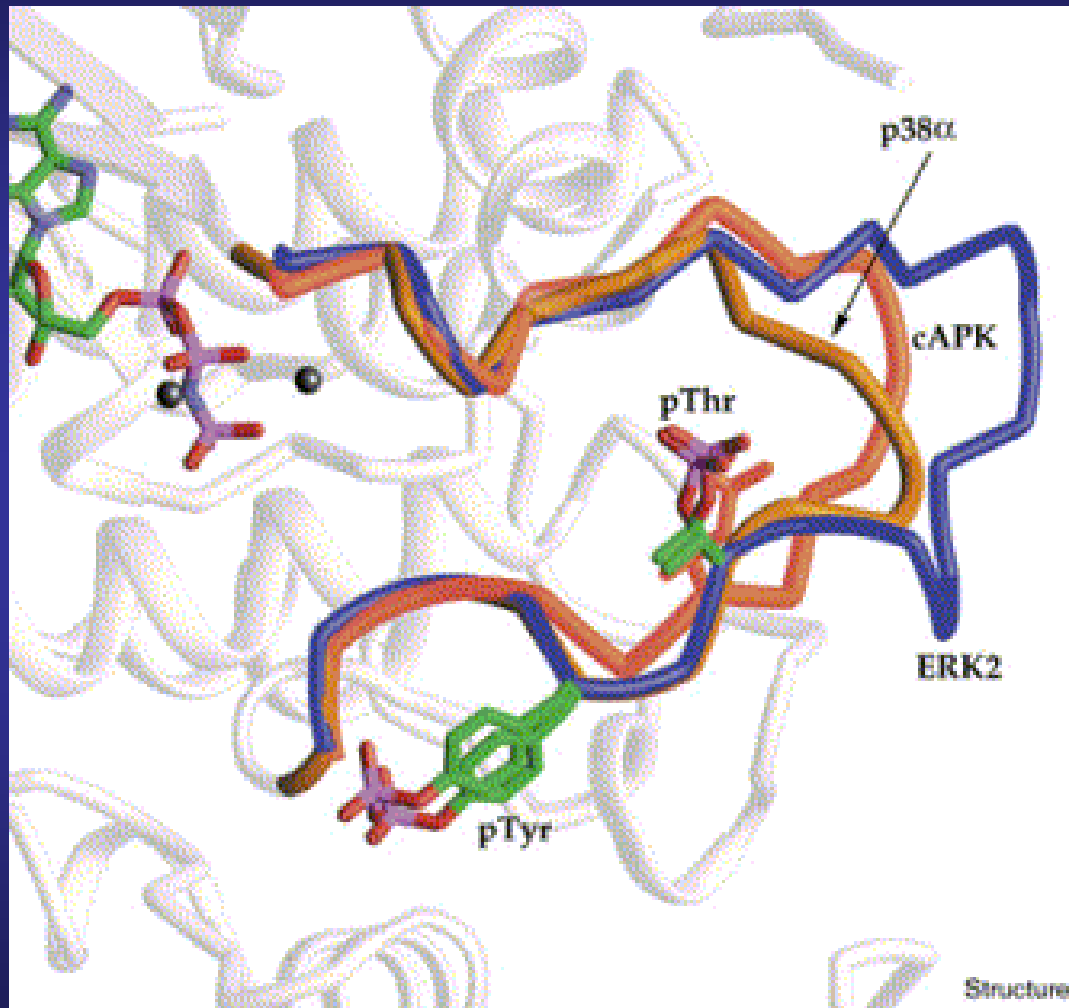
Η φωσφορυλίωση προκαλεί αλλαγή στη στερεοδιαμόρφωση της πρωτεΐνης



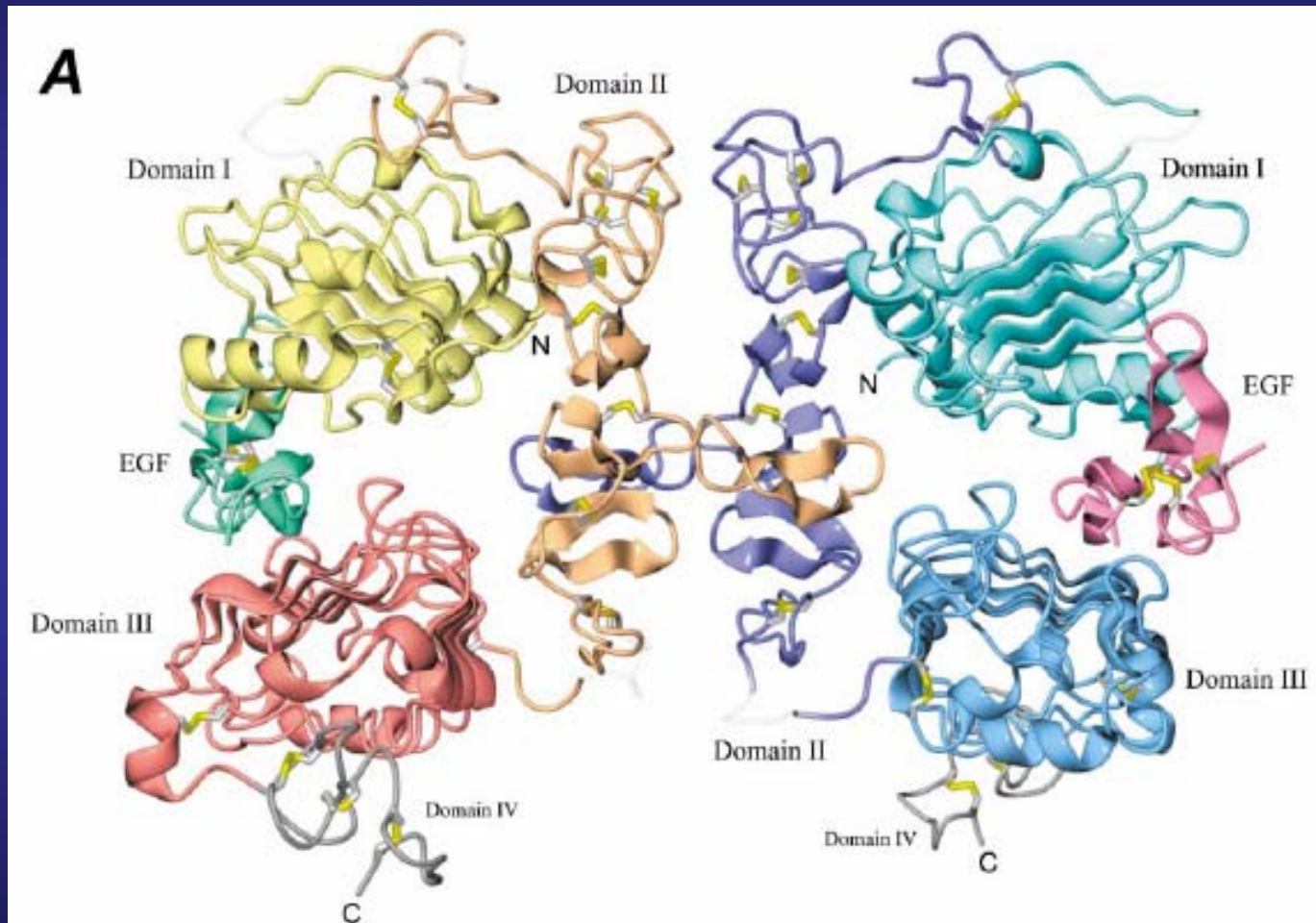
Σχηματική αναπαράσταση της κινάσης p38



Συγκριτική παρουσίαση των ενεργοποιημένων κινασών p38, ERK και cAPK

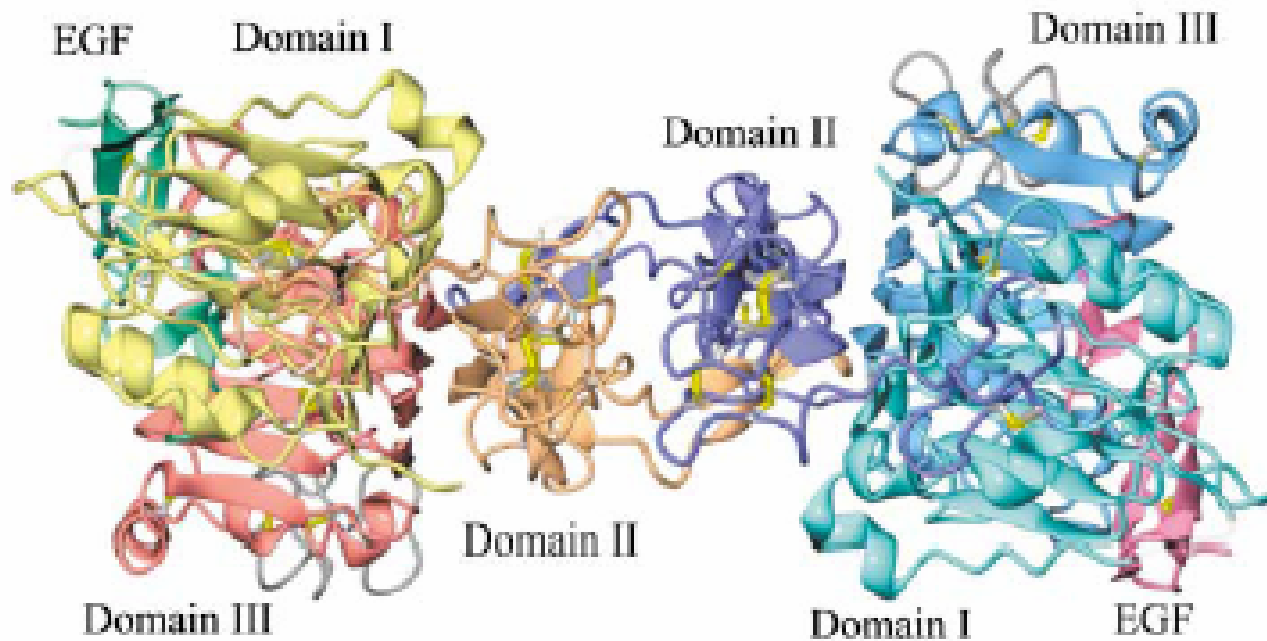


Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου EGF- υποδοχέας EGF



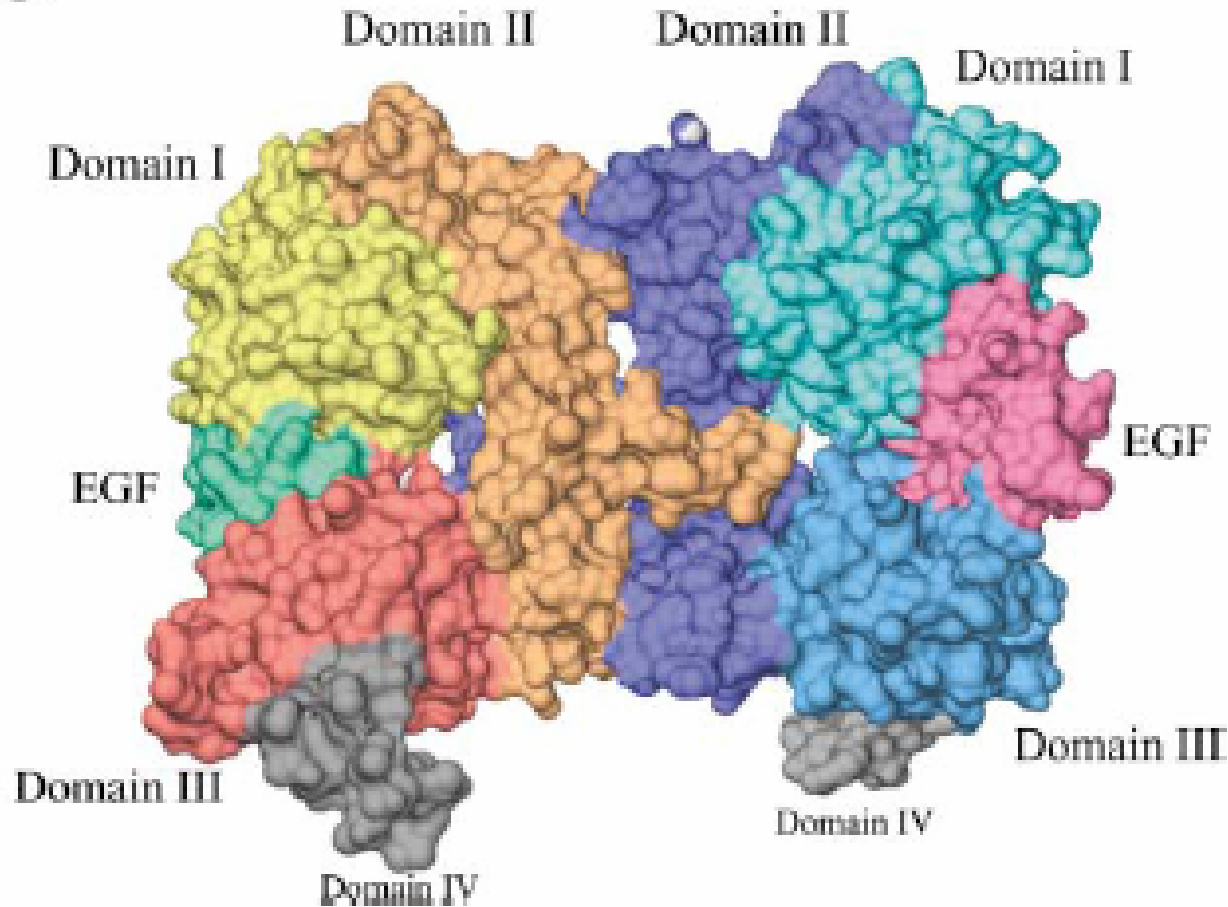
Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου EGF- υποδοχέας EGF

B



Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου EGF- υποδοχέας EGF

C

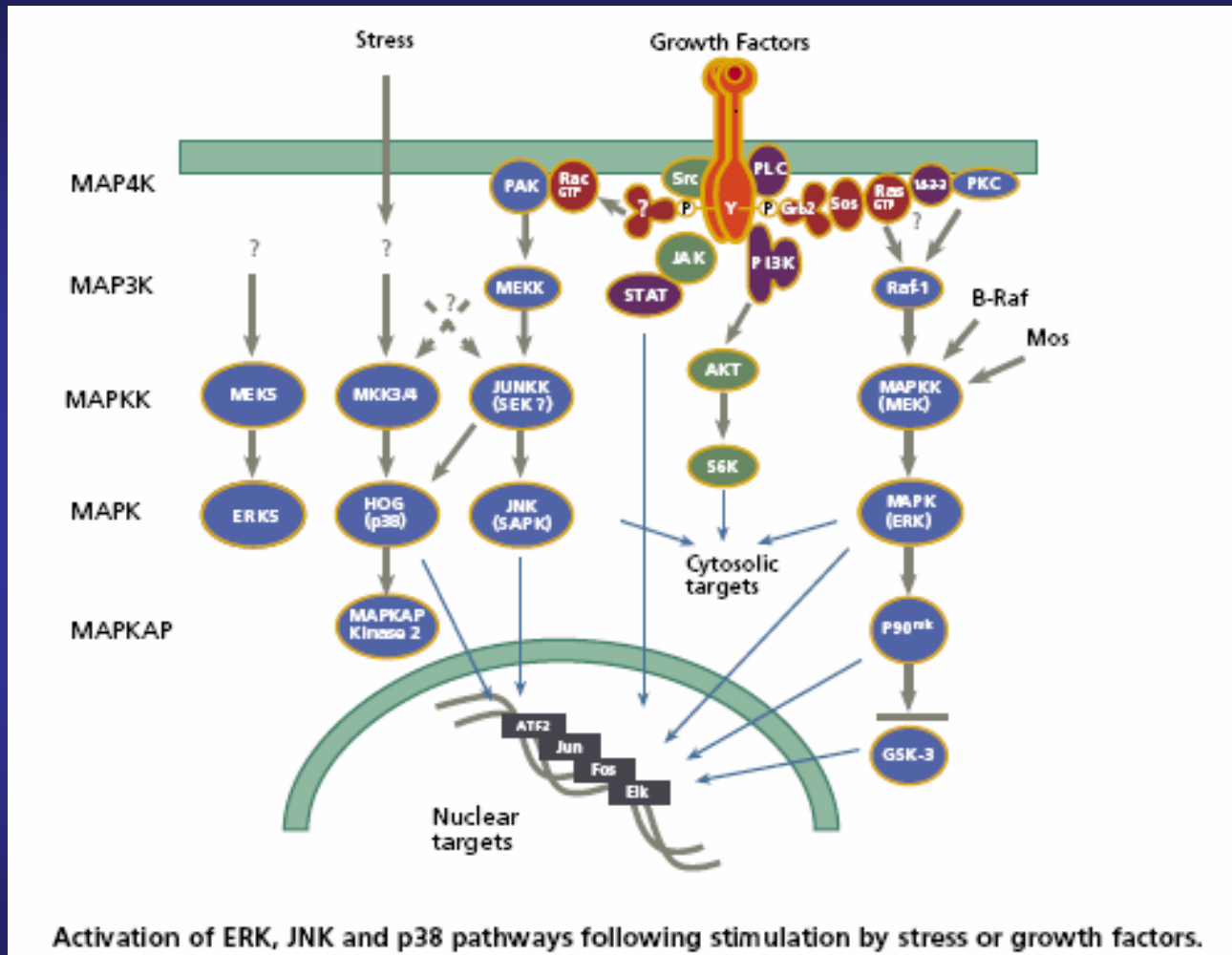


Πρωτεϊνικά μοτίβα αναγνώρισης

Table 1 Modification-specific recognition by protein modules

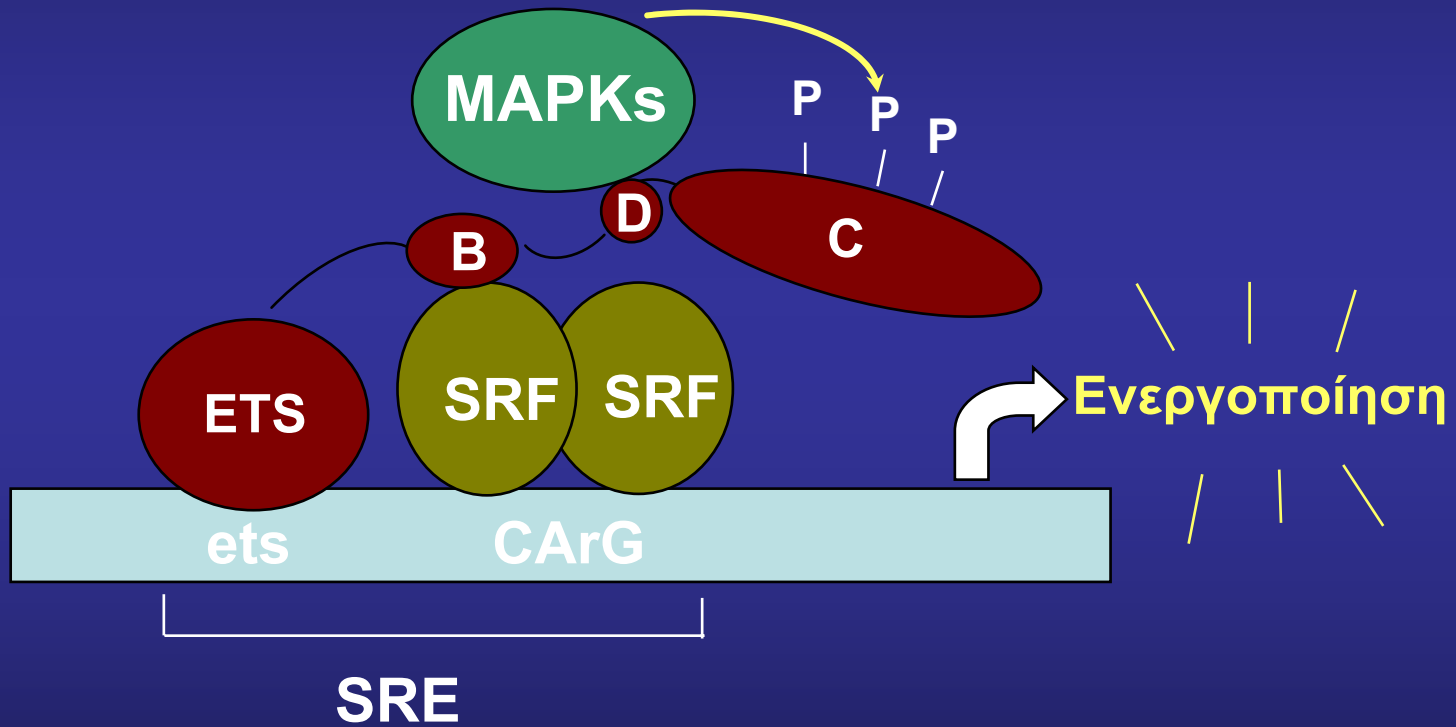
<i>Residue</i>	<i>Modification</i>	<i>Module*</i>
Serine	Phosphorylation	14-3-3, KIX, MH2, WW, WD40, LRR, arrestin domain, PBD, BRCT, CID
	O-GlcNAcylation	?
Threonine	Phosphorylation	14-3-3, WW, FHA, PBD, BRCT
	O-GlcNAcylation	?
Tyrosine	Phosphorylation	SH2, PTB
	Sulfation	?
	Nitration	?
Lysine	Acetylation	Bromodomain
	Methylation	Chromodomain
	Ubiquitination	UIM, UBA, CUE, UEV, NZF, PAZ
	Neddylation	Sharing domains with ubiquitination?
	Sumoylation	SIM, SHD
Arginine	Biotinylation	Avidin
	Monomethylation	?
	Symmetric dimethylation	Tudor
	Asymmetric dimethylation	?
Proline	Citrullination	?
	Hydroxylation	?
	Isomerization	?
Asparagine	Hydroxylation	?
	Glycosylation	Lectin
Aspartate	ADP-ribosylation	?
	Methylation	?
Glutamate	ADP-ribosylation	?
	Methylation	?

Τα μονοπάτια των MAP κινασών

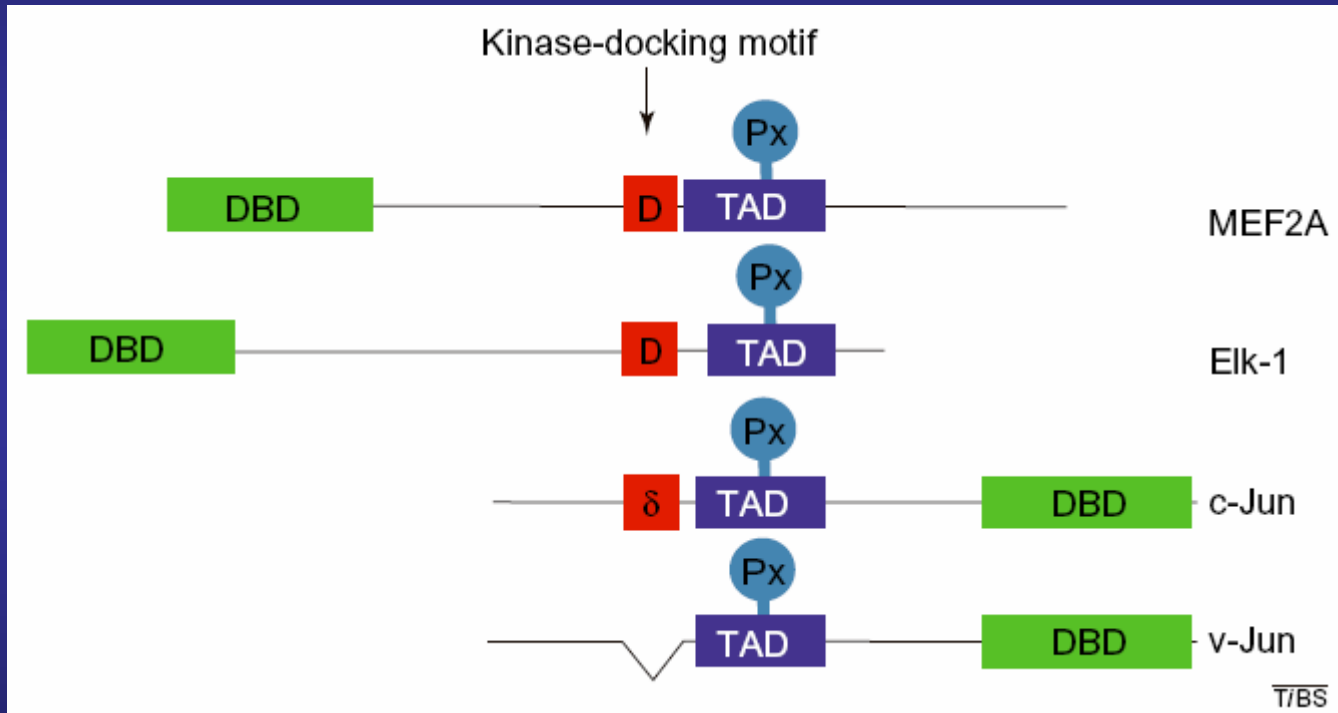


Activation of ERK, JNK and p38 pathways following stimulation by stress or growth factors.

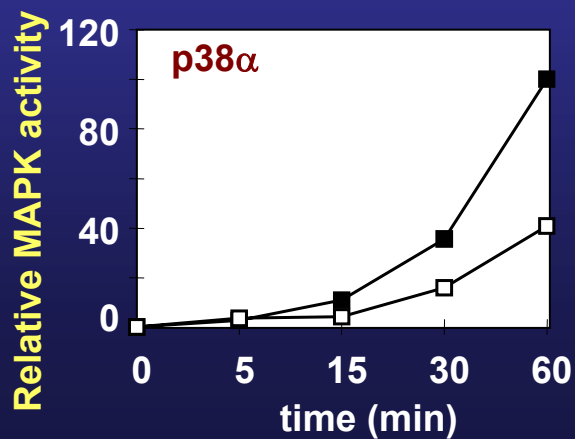
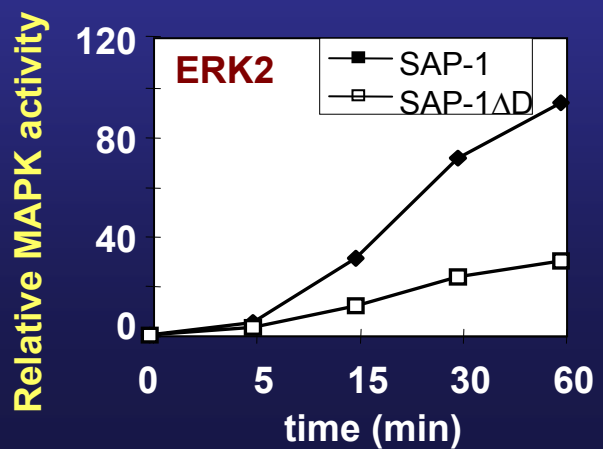
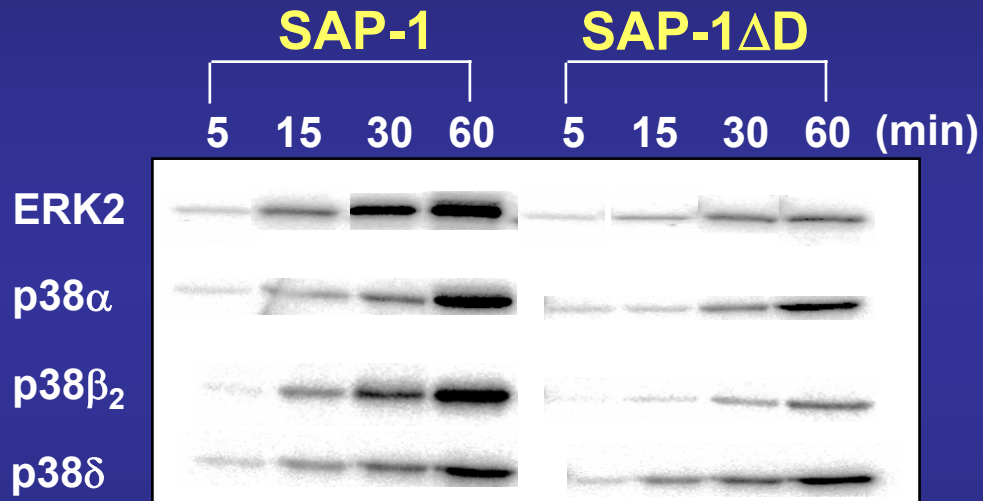
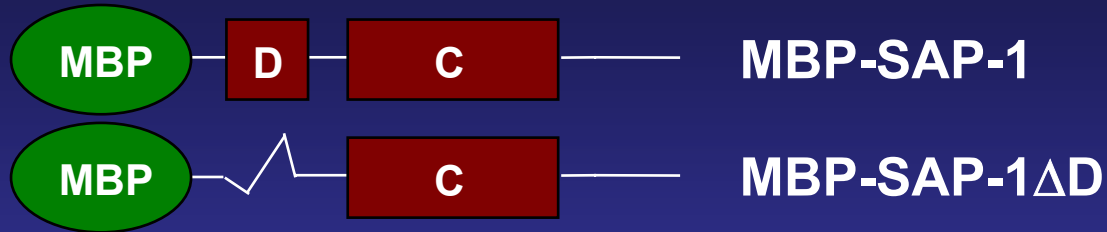
Ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα Elk-1 με φωσφορυλίωση



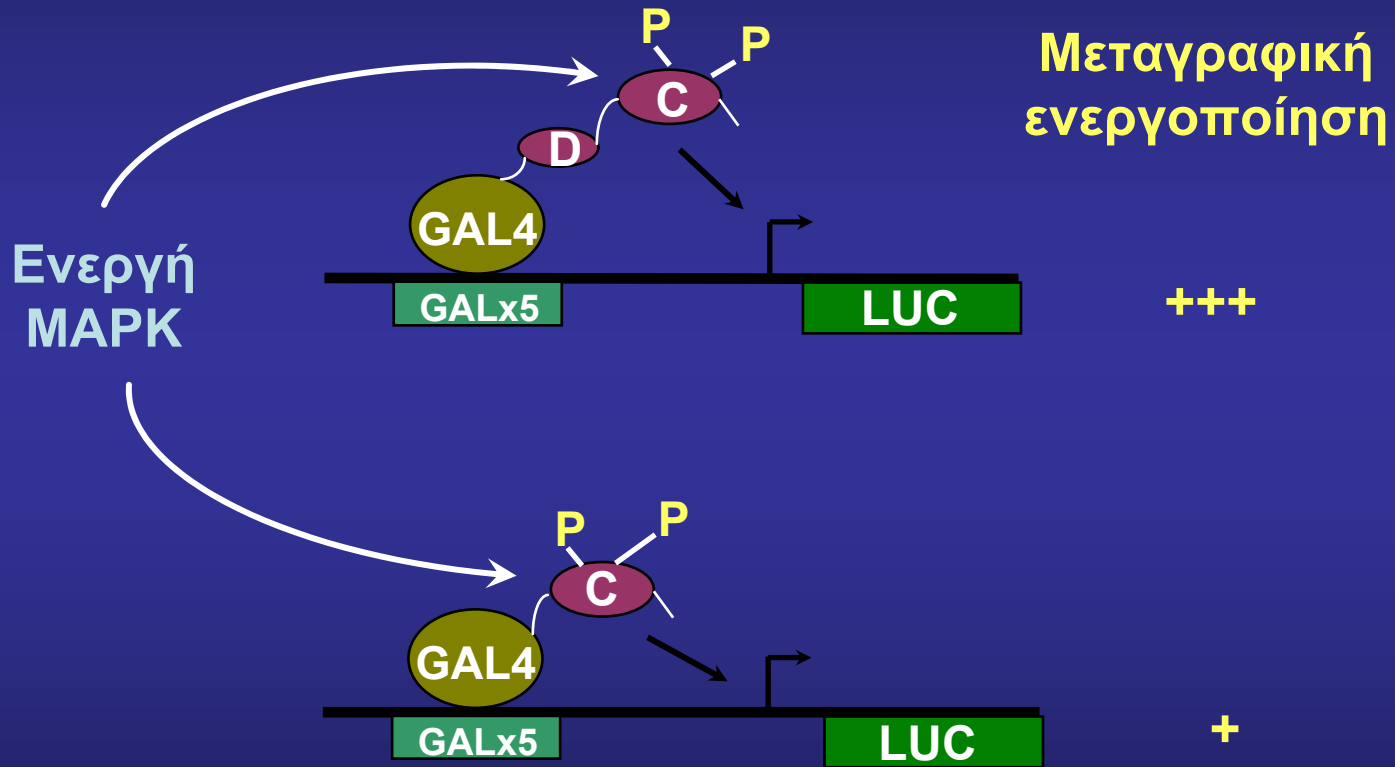
Μοτίβα συναρμογής κινασών (Kinase docking motifs)



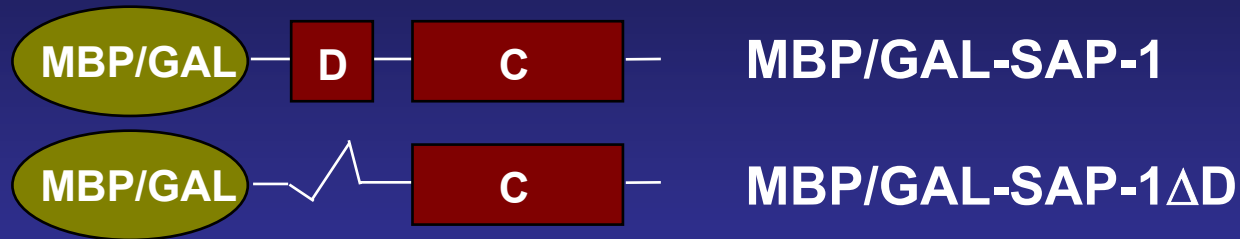
Ρόλος του μοτίβου συναρμογής D στη φωσφορυλίωση του SAP-1 από τις MAP κινάσες



Δοκιμή λουσιφεράσης

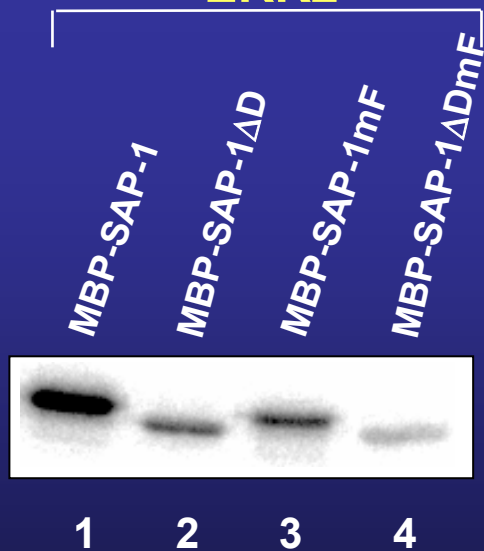


Ρόλος του μοτίβου συναρμογής D στη μεταγραφική ενεργοποίηση του SAP-1 από τις MAP κινάσες

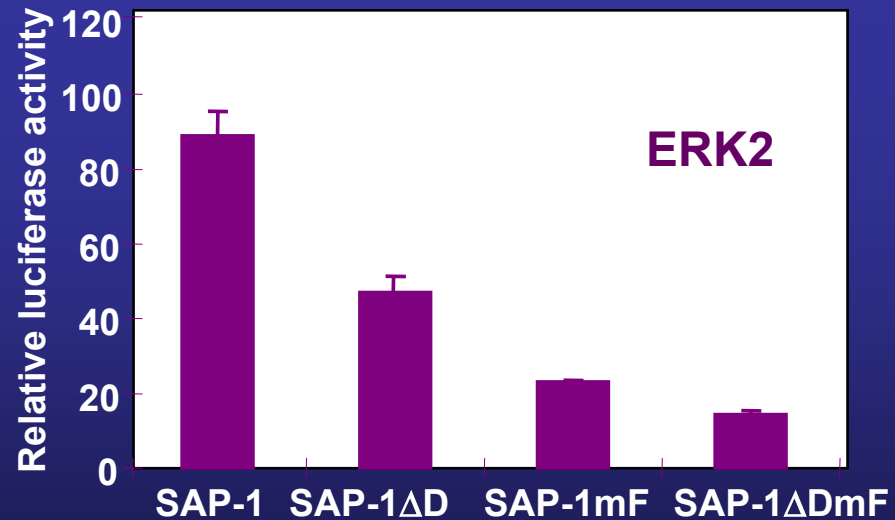


In vitro :

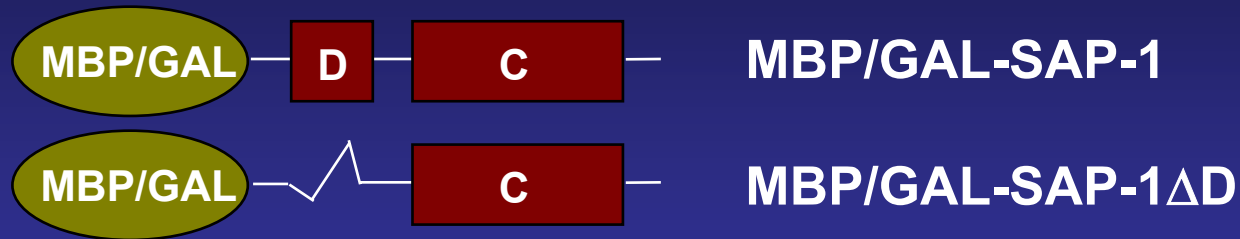
ERK2



In vivo :



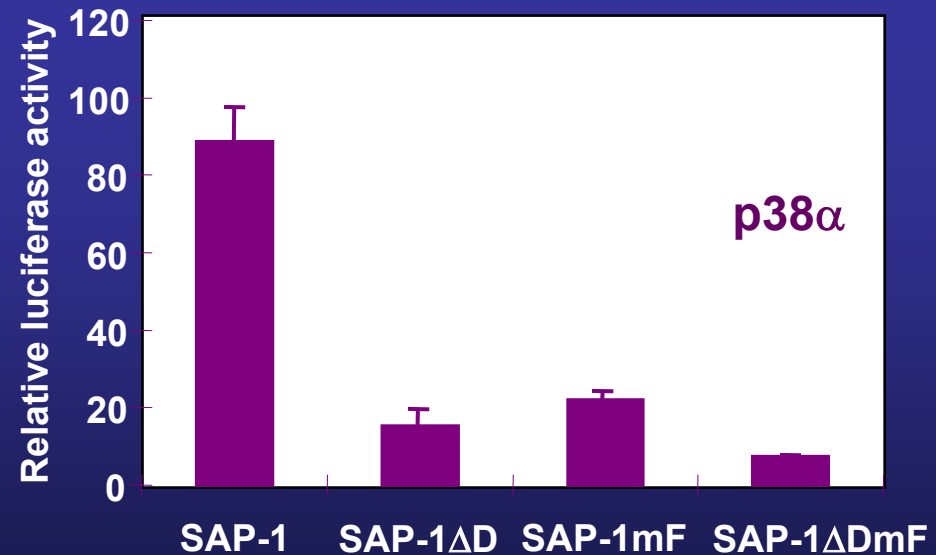
Ρόλος του μοτίβου συναρμογής D στη μεταγραφική ενεργοποίηση του SAP-1 από τις MAP κινάσες



In vitro :

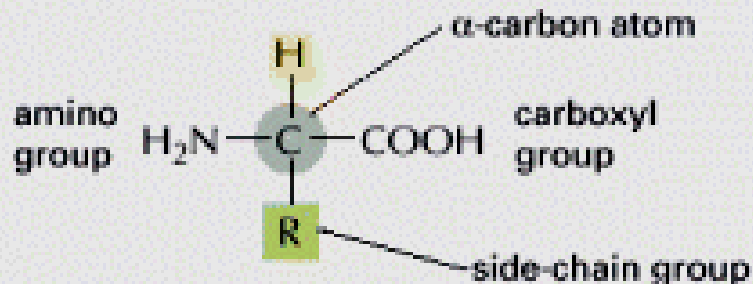


In vivo :

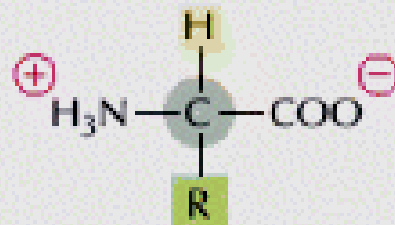


THE AMINO ACID

The general formula of an amino acid is



R is commonly one of 20 different side chains.
At pH 7 both the amino and carboxyl groups are ionized.



FAMILIES OF AMINO ACIDS

The common amino acids are grouped according to whether their side chains are

acidic
basic
uncharged polar
nonpolar

These 20 amino acids are given both three-letter and one-letter abbreviations.

Thus: alanine = Ala = A

Τα Αμινοξέα

Μη πολικά (υδρόφοβα)

glycine	Gly	G
alanine	Ala	A
valine	Val	V
leucine	Leu	L
isoleucine	Ile	I
methionine	Met	M
phenylalanine	Phe	F
tryptophan	Trp	W
proline	Pro	P

Ηλεκτρικά φορτισμένα (αρνητικά και υδρόφιλα)

Aspartic acid	Asp	D
glutamic acid	Glu	E

Πολικά (υδρόφιλα)

serine	Ser	S
threonine	Thr	T
cysteine	Cys	C
tyrosine	Tyr	Y
asparagine	Asn	N
glutamine	Gln	Q

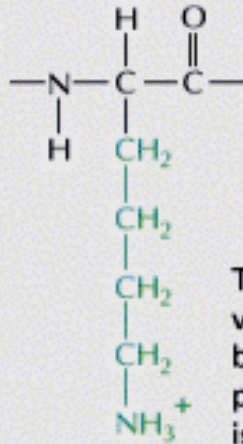
Ηλεκτρικά φορτισμένα (θετικά και υδρόφιλα)

lysine	Lys	K
arginine	Arg	R
histidine	His	H

BASIC SIDE CHAINS

lysine

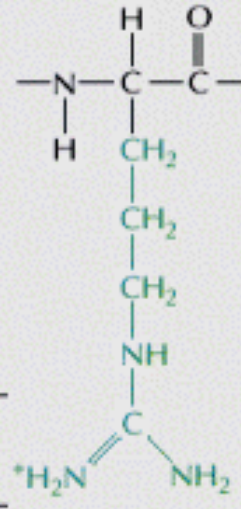
(Lys, or K)



This group is very basic because its positive charge is stabilized by resonance.

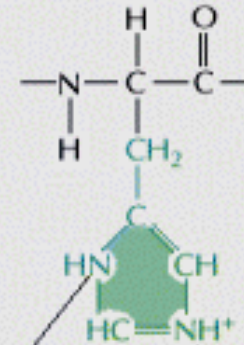
arginine

(Arg, or R)



histidine

(His, or H)



These nitrogens have a relatively weak affinity for an H⁺ and are only partly positive at neutral pH.

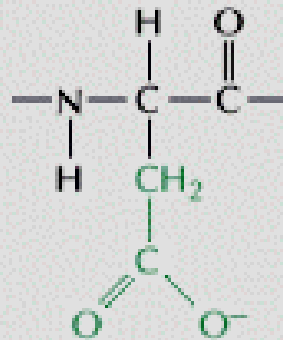
Ηλεκτρικά φορτισμένα (θετικά και υδρόφιλα)

lysine	Lys	K
arginine	Arg	R
histidine	His	H

ACIDIC SIDE CHAINS

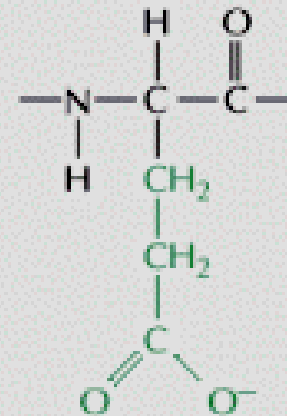
aspartic acid

(Asp, or D)



glutamic acid

(Glu, or E)



**Ηλεκτρικά φορτισμένα
(αρνητικά και υδρόφιλα)**

Aspartic acid Asp D

glutamic acid Glu E

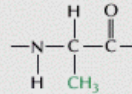
Μη πολικά (υδρόφοβα)

glycine	Gly	G
alanine	Ala	A
valine	Val	V
leucine	Leu	L
isoleucine	Ile	I
methionine	Met	M
phenylalanine	Phe	F
tryptophan	Trp	W
proline	Pro	P

NONPOLAR SIDE CHAINS

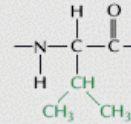
alanine

(Ala, or A)



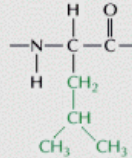
valine

(Val, or V)



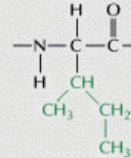
leucine

(Leu, or L)



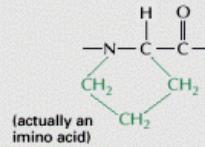
isoleucine

(Ile, or I)



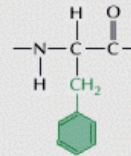
proline

(Pro, or P)



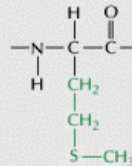
phenylalanine

(Phe, or F)



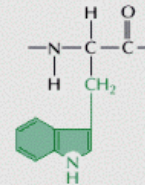
methionine

(Met, or M)



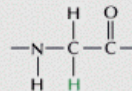
tryptophan

(Trp, or W)



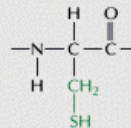
glycine

(Gly, or G)

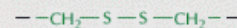


cysteine

(Cys, or C)



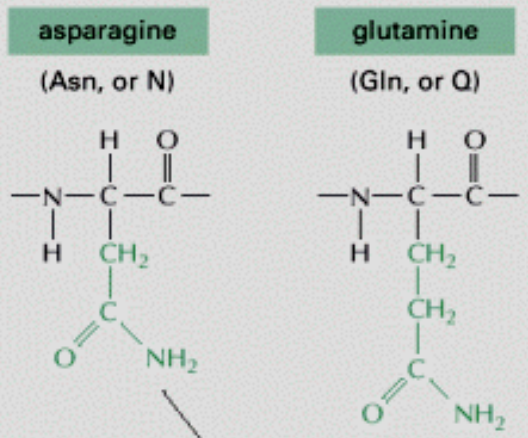
Disulfide bonds can form between two cysteine side chains in proteins.



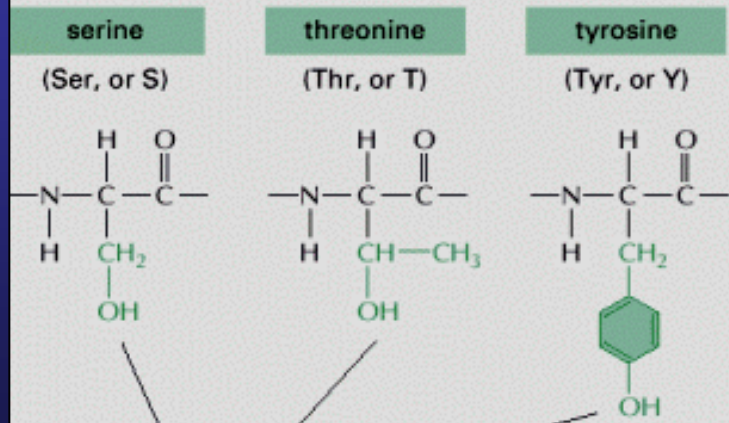
Πολικά (υδρόφιλα)

serine	Ser	S
threonine	Thr	T
cysteine	Cys	C
tyrosine	Tyr	Y
asparagine	Asn	N
glutamine	Gln	Q

UNCHARGED POLAR SIDE CHAINS



Although the amide N is not charged at neutral pH, it is polar.



The -OH group is polar.

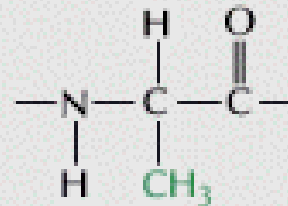
Μη πολικά (υδρόφοβα)

glycine	Gly	G
alanine	Ala	A
valine	Val	V
leucine	Leu	L
isoleucine	Ile	I
methionine	Met	M
phenylalanine	Phe	F
tryptophan	Trp	W
proline	Pro	P

NONPOLAR SIDE CHAINS

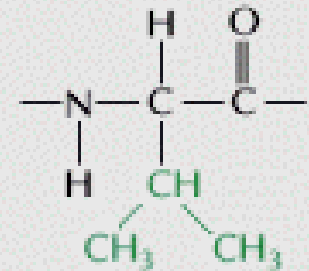
alanine

(Ala, or A)

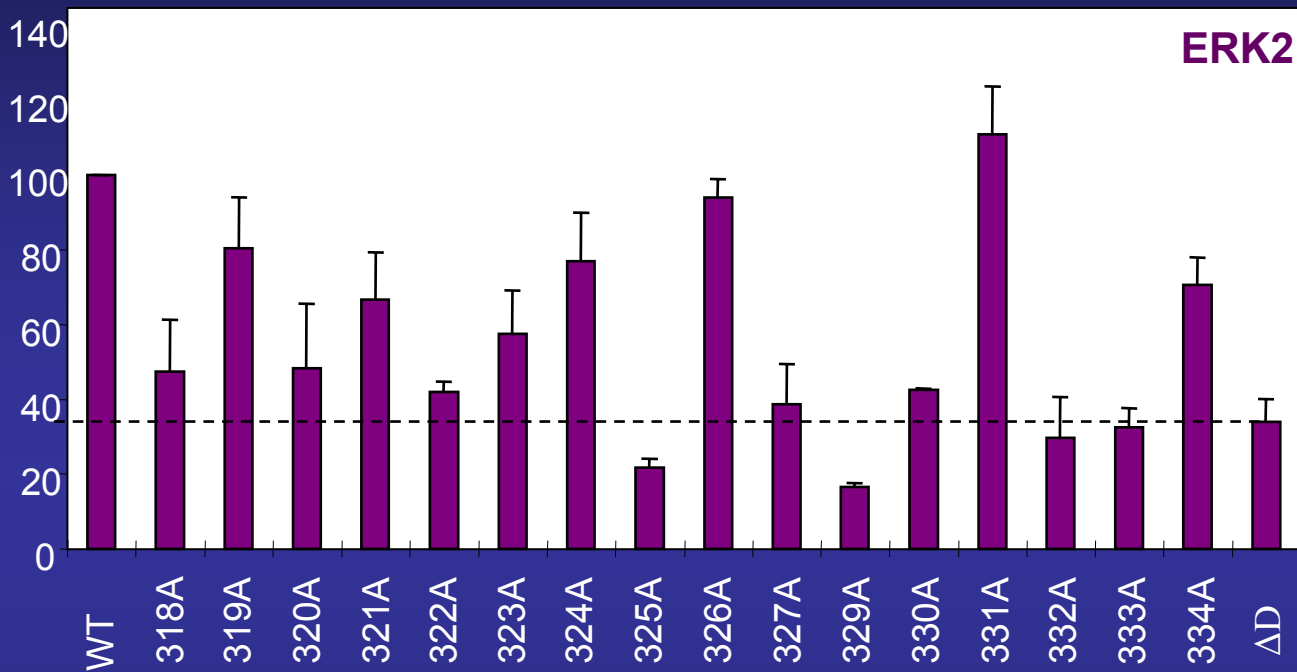


valine

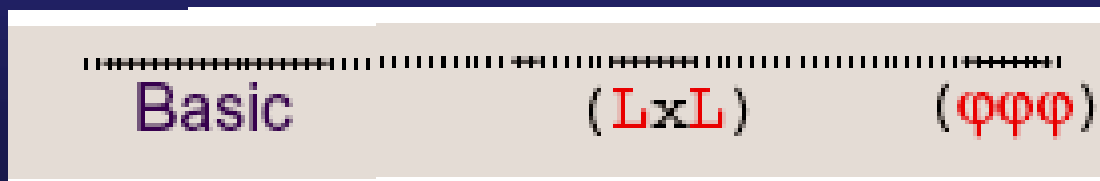
(Val, or V)



Χαρακτηρισμός της επικράτειας D του μεταγραφικού παράγοντα SAP-1



WT R S K K P K G L G L P T L V I T ΔD



Μοτίβα συναρμογής κινασών (Kinase docking motifs)

(b) Άλλα υποστρώματα

*Jip-1¹⁵²YRPKR---PTTLNL
*Jip-3¹⁹⁹GRSRK-ERPTSLNV

JNK

*PTP-SL²²⁵LQERR-GSNVSLTL
*STEP²¹¹LQERR-GSNVSLTL
*MKP3⁶¹IMLRRLQK-GNLPV
*PDE4D⁴⁵²VETKKVTSSGVLLL
*MEK1¹MKKKPTP---IQL

ERK

Features:
φ Basic LxL

*Rsk1⁷²²LAQRR-VRKLPSTT
*Rsk2⁷²⁶LAQRRGIKKITSTA
*Rsk3⁷²⁰LAQRRGMKRLTSTR
*Xp90Rsk⁸⁰¹LAQRR-VKKLPSTT

ERK

*Mnk1³⁹¹LARRRALAQGRSR
Msk1⁷⁴⁰LAKRRKMKKTSTST

ERK/p38

MAPKAP-K2³⁸⁴LLLKRRKKARALEA
MAPKAP-K3³⁶²LLNKRRKKQAGSSS

p38

Features:
φ Basic

Μοτίβα συναρμογής κινασών (Kinase docking motifs)

Μοτίβο:

Basic

(LxL)

(φφφ)

**Ηλεκτρικά φορτισμένα
(θετικά και υδρόφιλα)**

lysine Lys K

arginine Arg R

histidine His H

**Ηλεκτρικά φορτισμένα
(αρνητικά και υδρόφιλα)**

Aspartic acid Asp D

glutamic acid Glu E

Η κοινή θέση συναρμογής (CD περιοχή) των MAP κινασών

ERK1	333	Y	Y	D	P	T	D	E	P	V	341
ERK2	314	Y	Y	D	P	S	D	E	P	I	322
ERK5	350	Y	H	D	P	D	D	E	P	D	359
p38 α	311	Y	H	D	P	D	D	E	P	V	319
p38 β	319	Y	H	D	P	E	D	E	P	E	327
p38 γ	314	L	H	D	T	E	D	E	P	Q	322
p38 δ	311	F	R	D	T	E	E	E	T	E	319
JNK1	324	W	Y	D	P	S	E	A	E	A	332
JNK2	324	W	Y	D	P	A	E	A	E	A	332
JNK3	362	W	Y	D	P	A	E	V	E	A	370

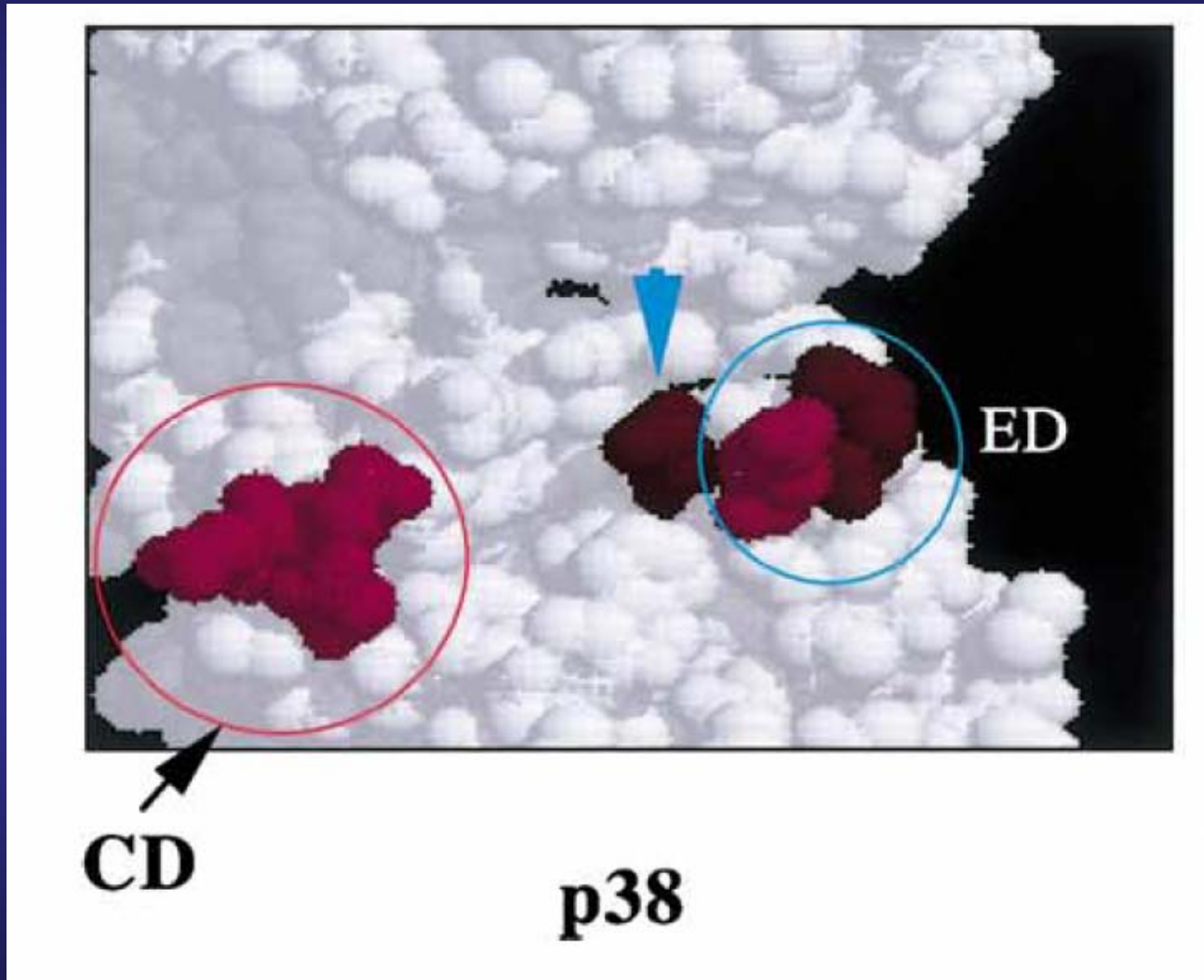
Η CD περιοχή της ERK2



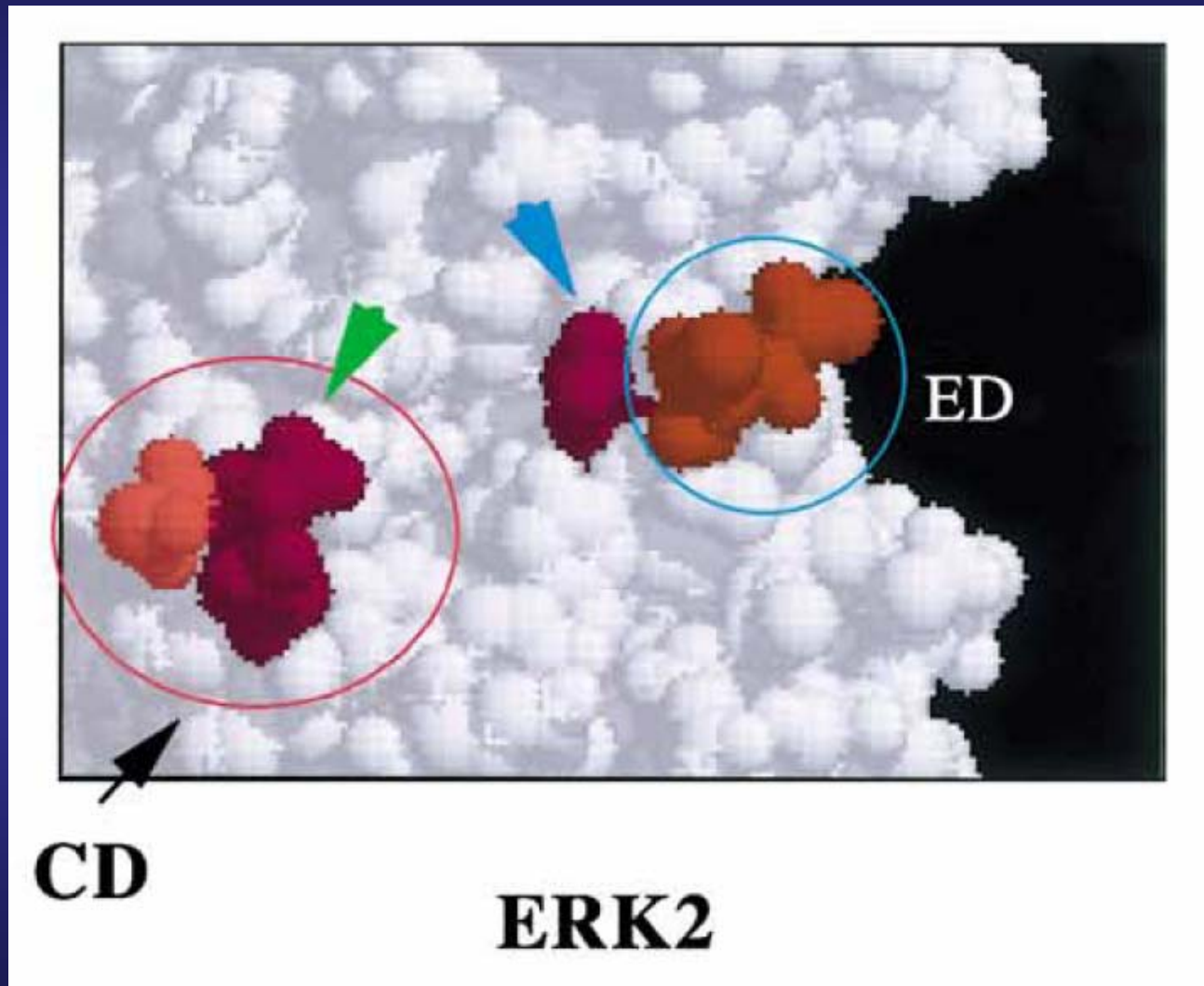
⇒ Asp316 και Asp319

★ Ενεργό κέντρο

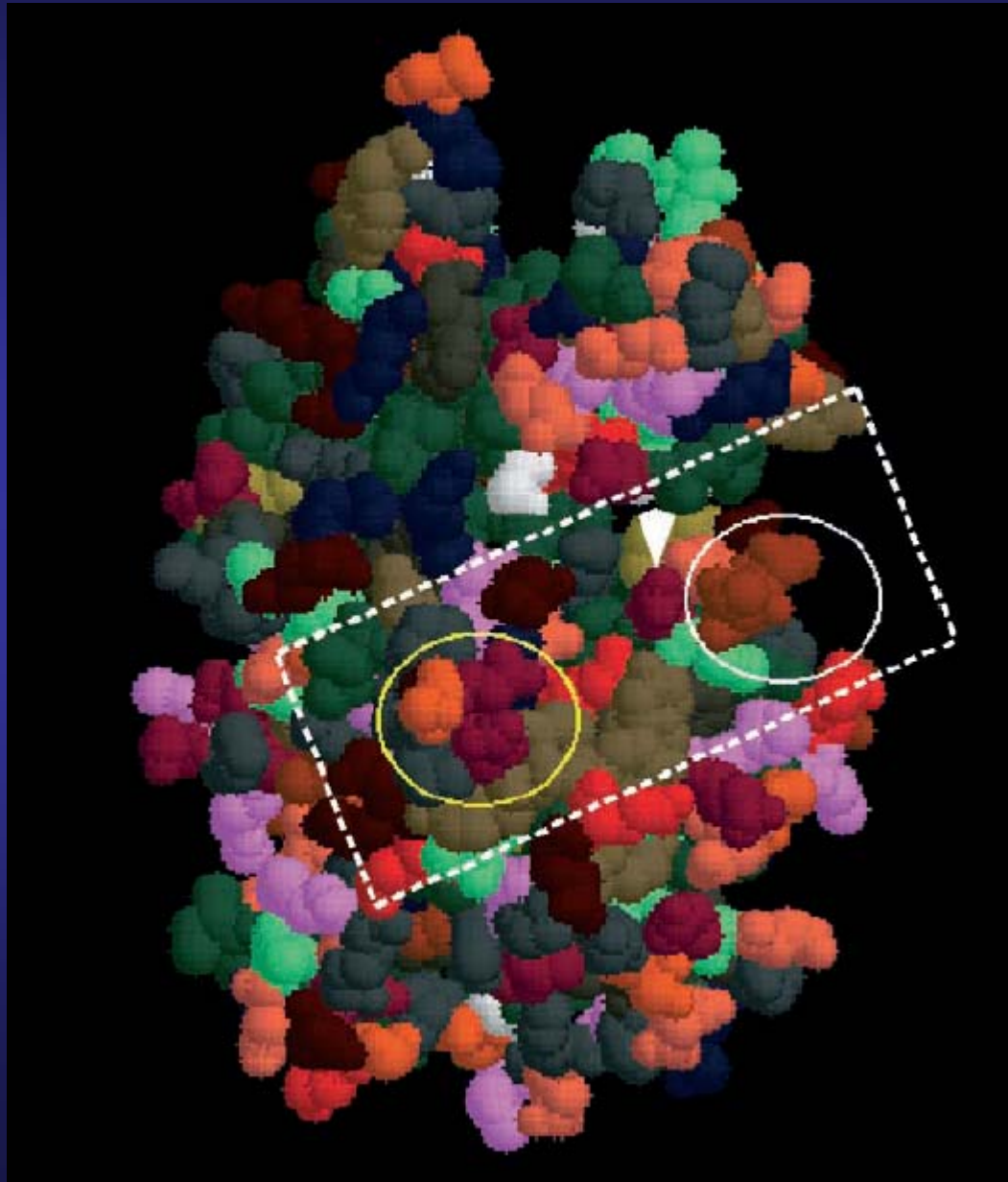
Οι περιοχές CD και ED της κινάσης p38



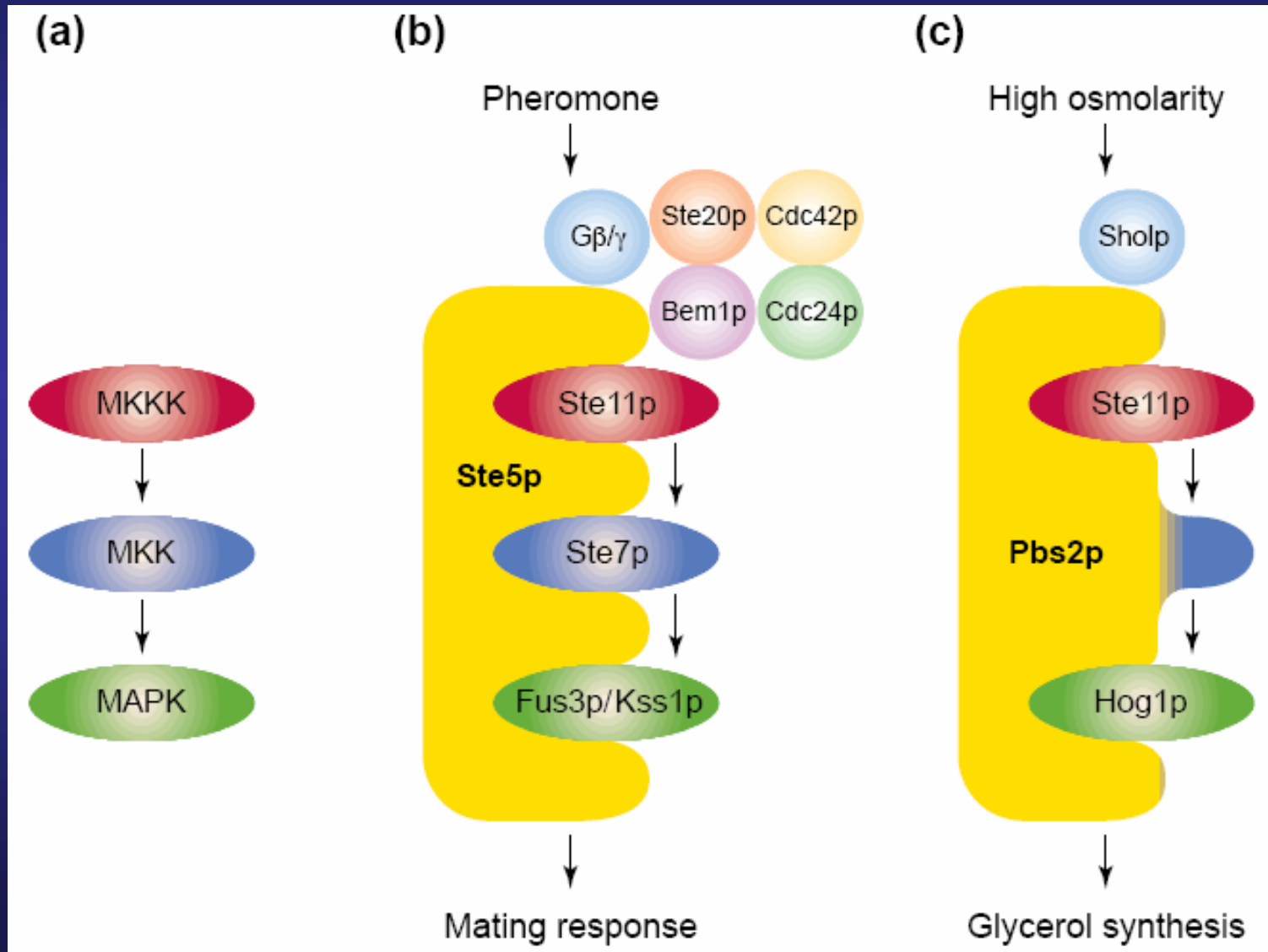
Οι περιοχές CD και ED της κινάσης ERK2



Οι περιοχές CD, ED και η αύλακα συναρμογής της κινάσης ERK2

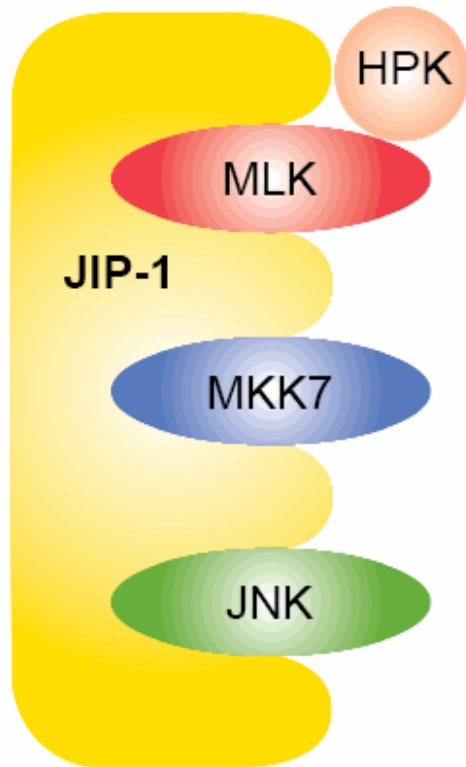


Ο ρόλος των ικριωμάτων στην εξειδίκευση των MAPK μονοπατιών



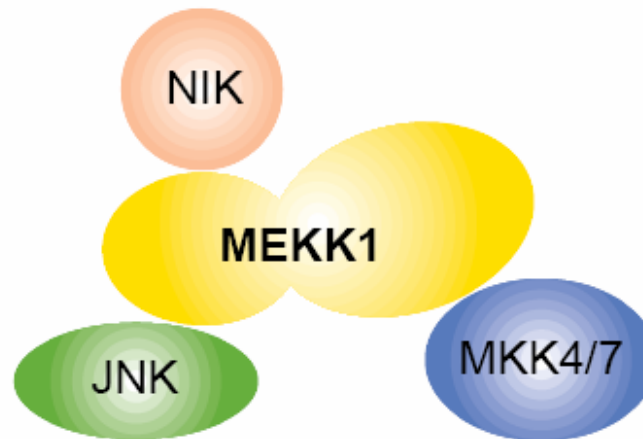
Ο ρόλος των ικριωμάτων στην εξειδίκευση των μονοπατιών μεταγωγής σήματος

(a)



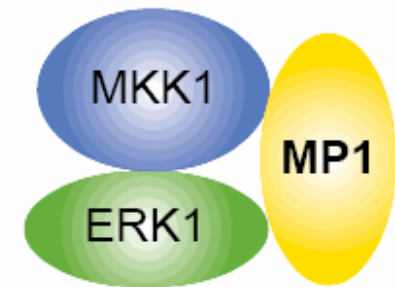
Ste5p-like
scaffold complex

(b)



Pbs2p-like
scaffold complex

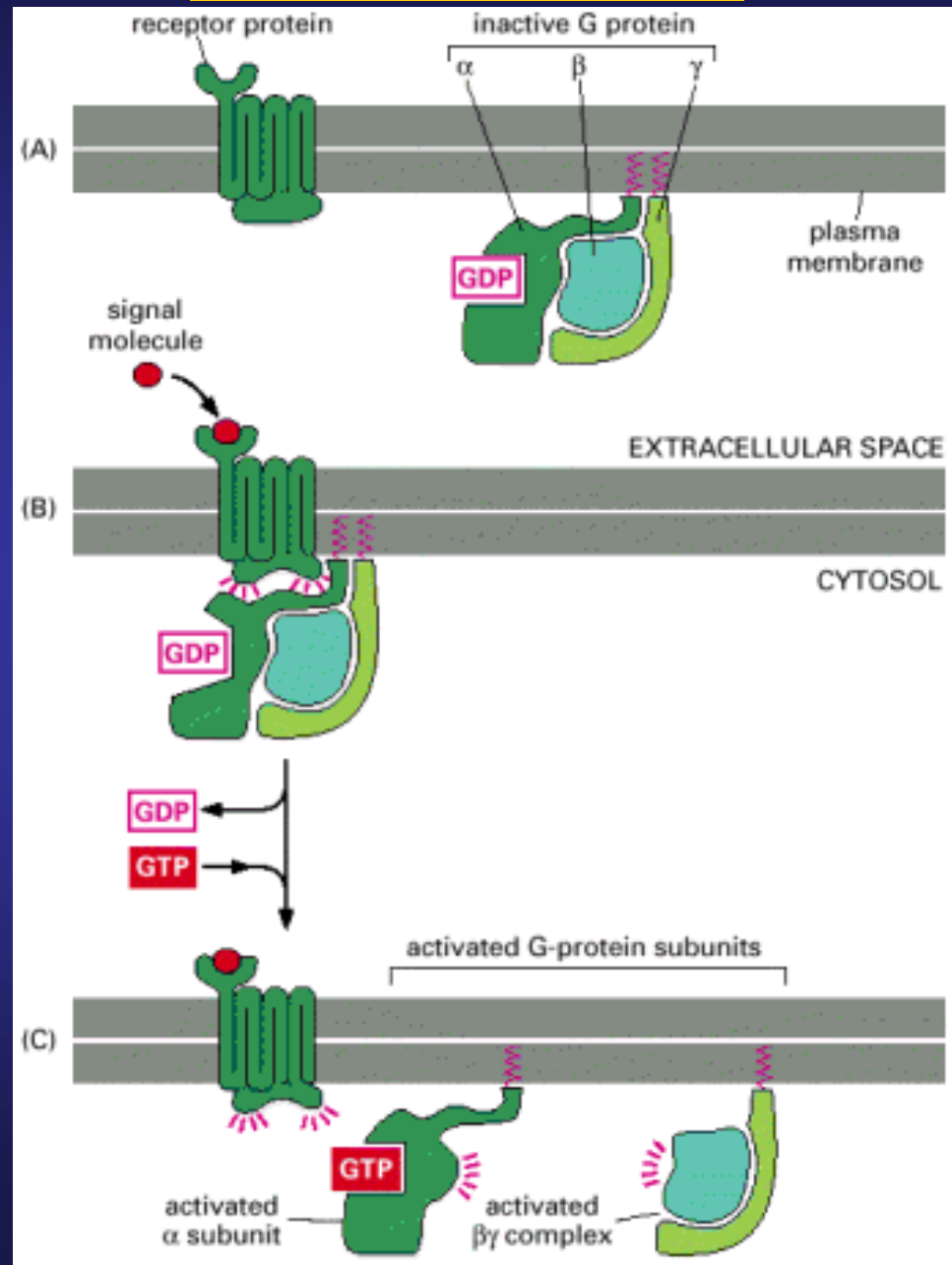
(c)



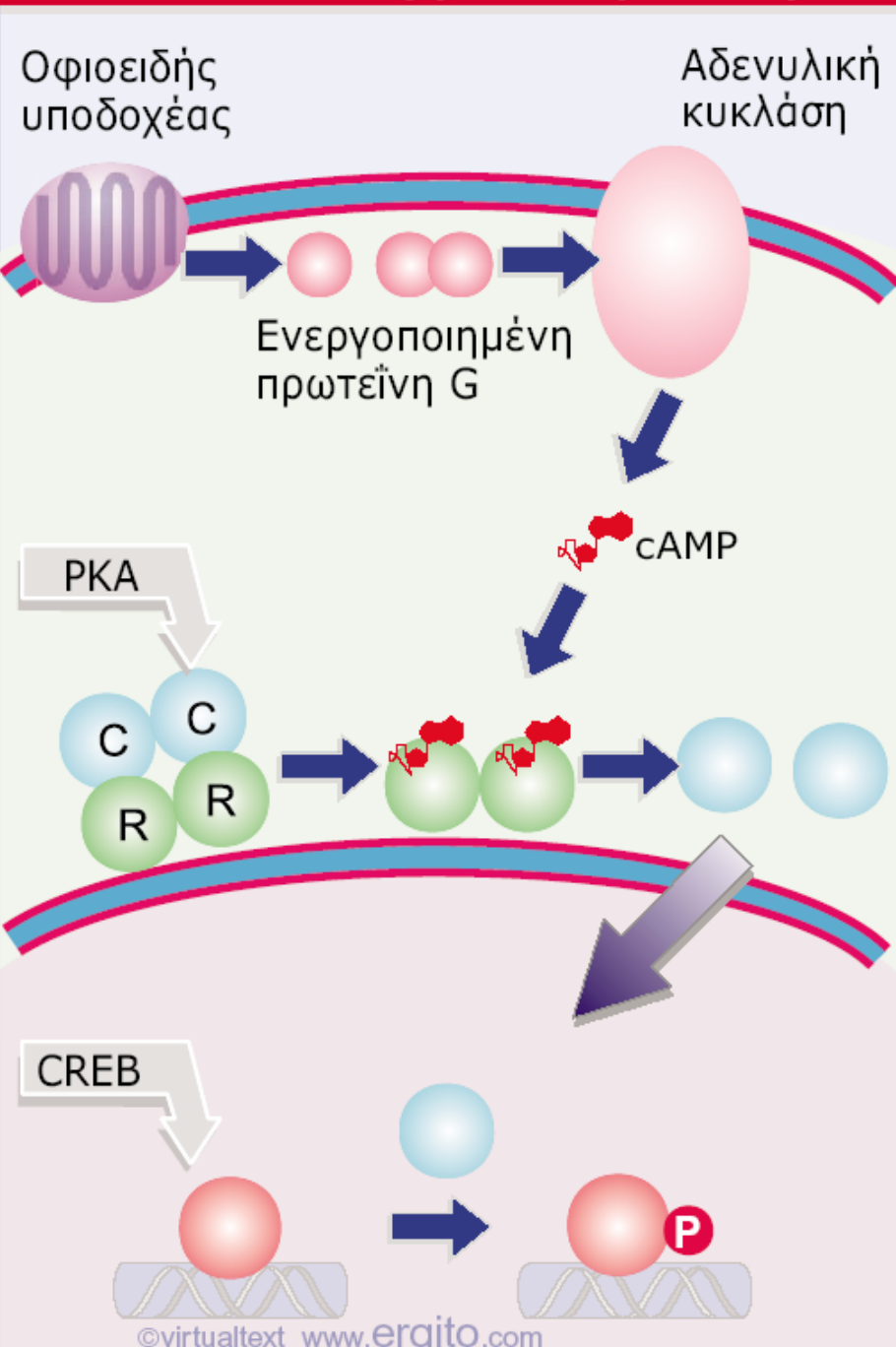
MP1
scaffold complex

Το πρώτο κυτταρικό μονοπάτι που ανακαλύφτηκε ως απόκριση στο c-AMP είναι το μονοπάτι της απελευθέρωσης της γλυκόζης από το γλυκογόνο. Η αντίδραση συμβαίνει στα ηπατικά και μυϊκά κύτταρα και προκαλείται κυρίως από την ορμόνη επινεφρίνη.

Οι πρωτεΐνες G διίστανται σε 2 σηματοδοτικές πρωτεΐνες όταν ενεργοποιούνται



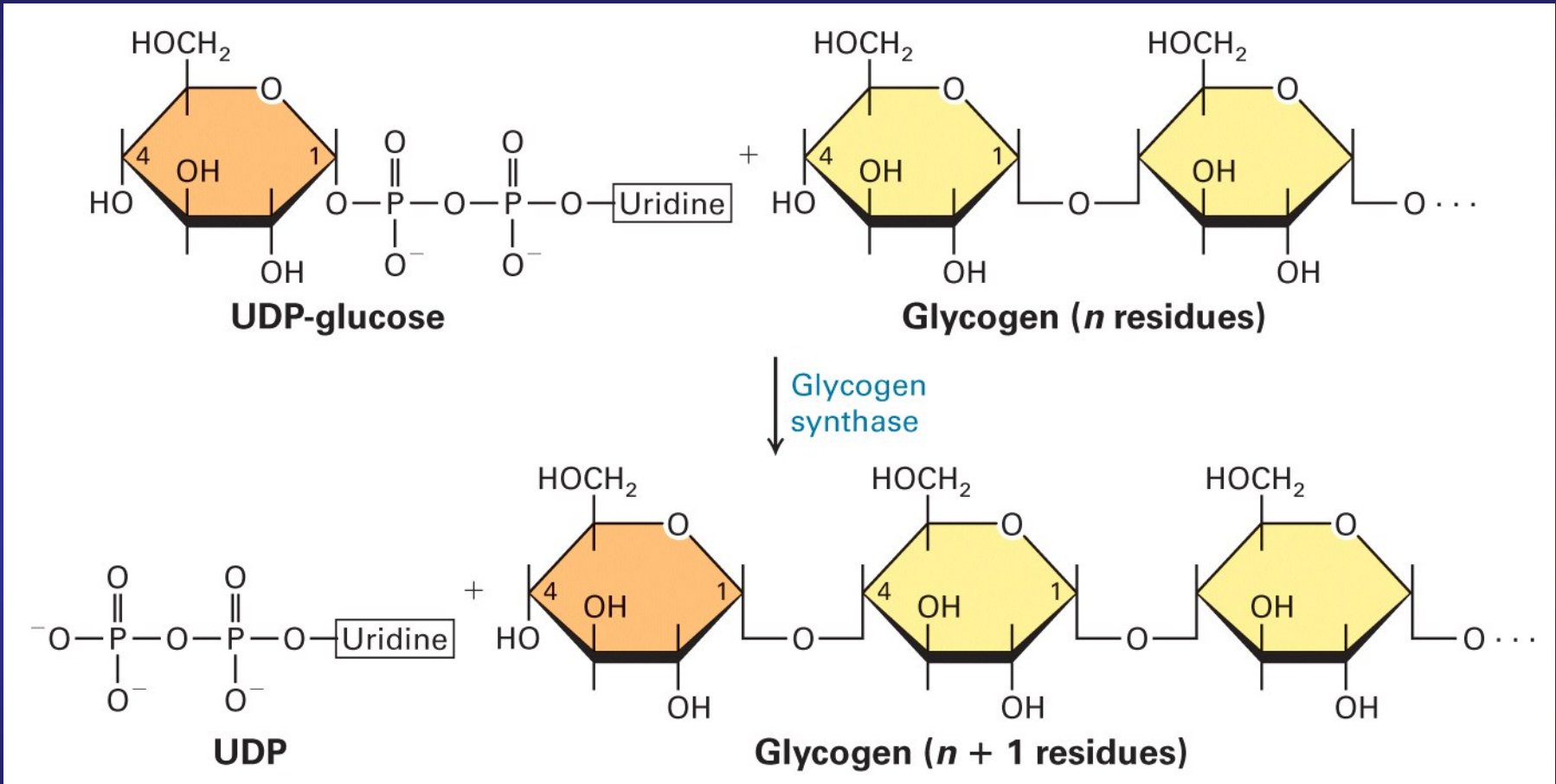
Το κυκλικό AMP ενεργοποιεί την κινάση PKA



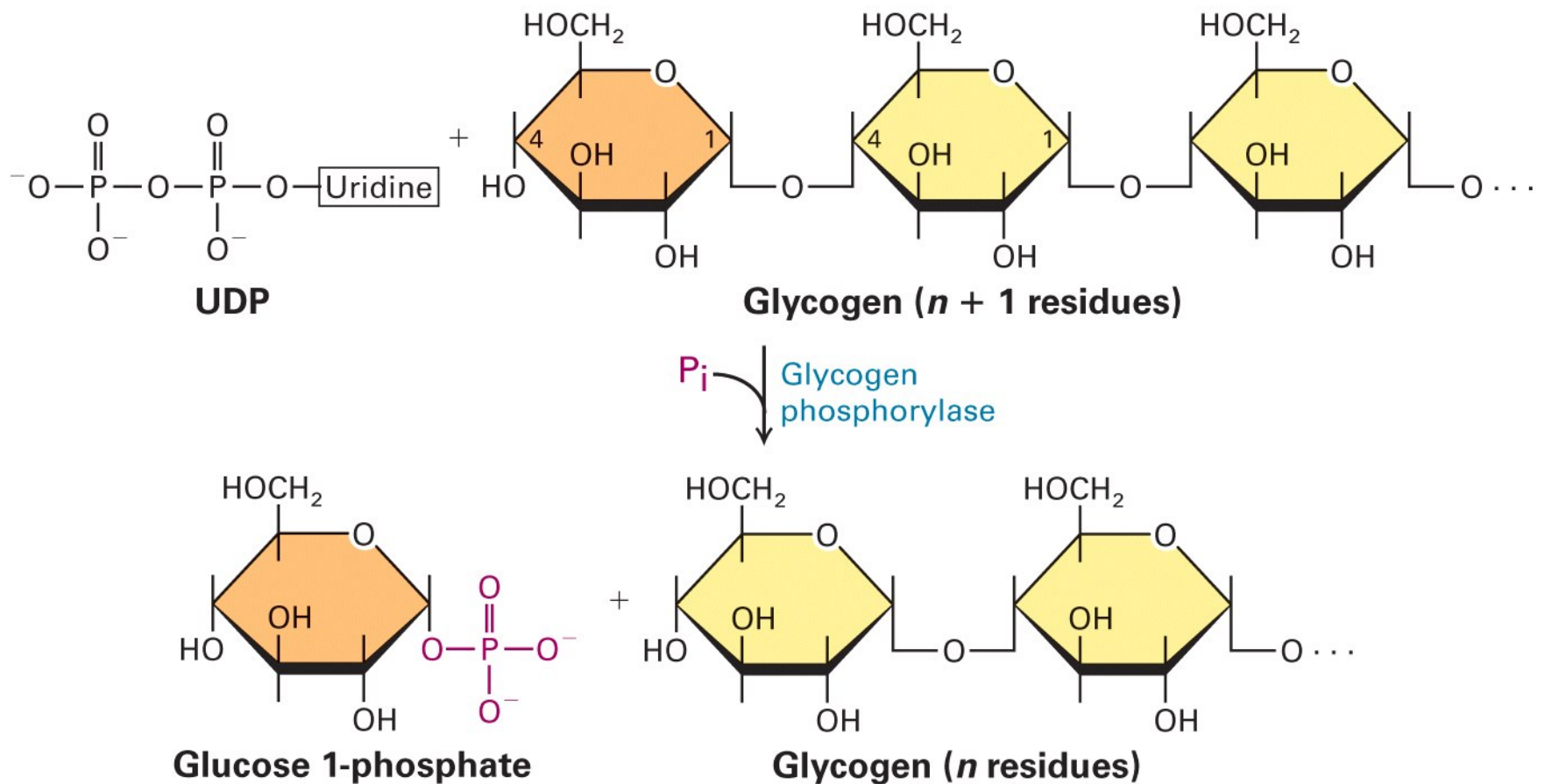
Εικόνα 28.44 Όταν το κυκλικό AMP δεσμεύεται στην υπομονάδα R της PKA, η υπομονάδα C αποδεσμεύεται. Μερικές από τις υπομονάδες C διαχέονται στον πυρήνα, όπου φωσφορυλιώνουν το μεταγραφικό παράγοντα CREB.

Έμμεση συμμετοχή της PKA

Ο πολυμερισμός της γλυκόζης σε γλυκογόνο καταλύεται από το ένζυμο συνθετάση του γλυκογόνου

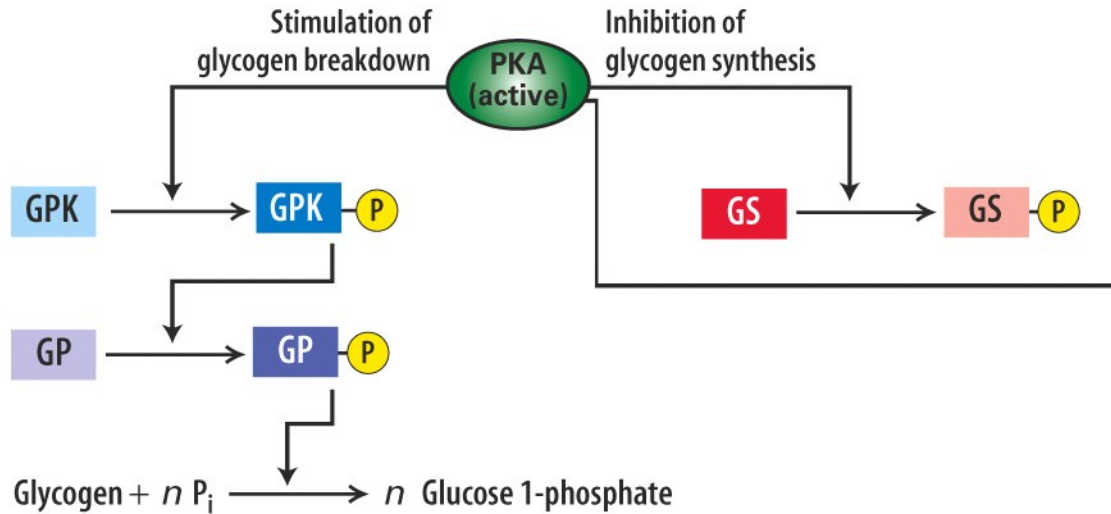


Η αποικοδόμηση του γλυκογόνου σε γλυκόζη καταλύεται από το ένζυμο φωσφορυλάση του γλυκογόνου



PKA vs ΡΡάση I

(a) Increased cAMP

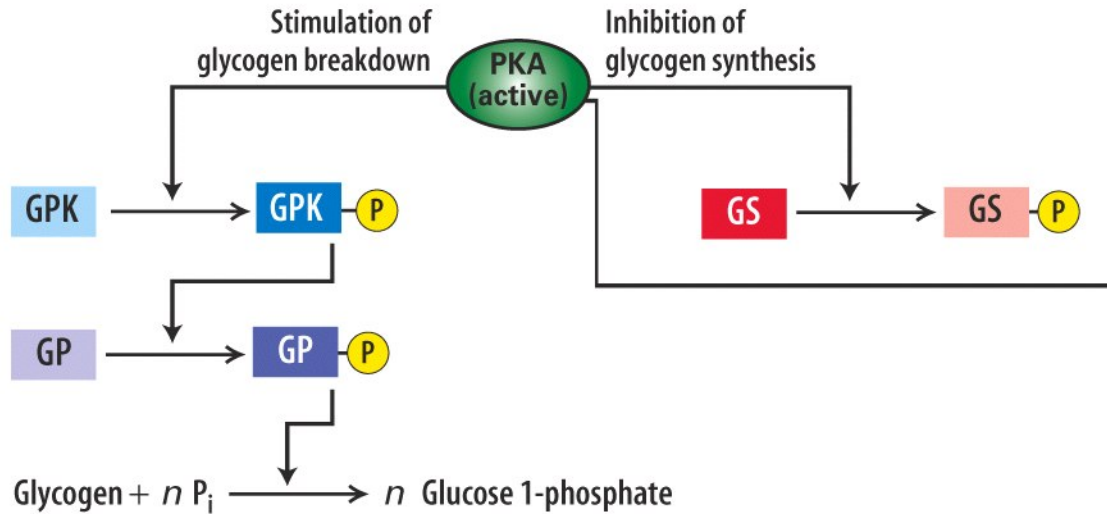


Abbreviations:

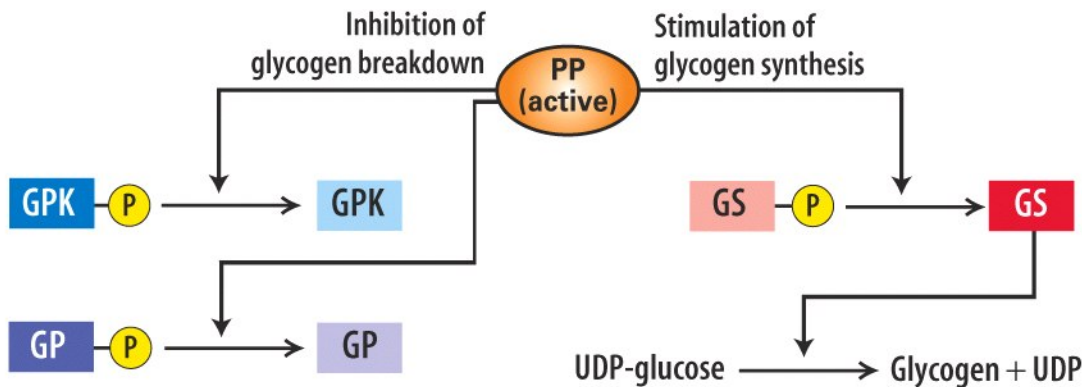
- PKA Protein kinase A
- PP Phosphoprotein phosphatase
- GPK Glycogen phosphorylase kinase
- GP Glycogen phosphorylase
- GS Glycogen synthase
- !P Inhibitor of phosphoprotein phosphatase

PKA vs PPάση I

(a) Increased cAMP



(b) Decreased cAMP

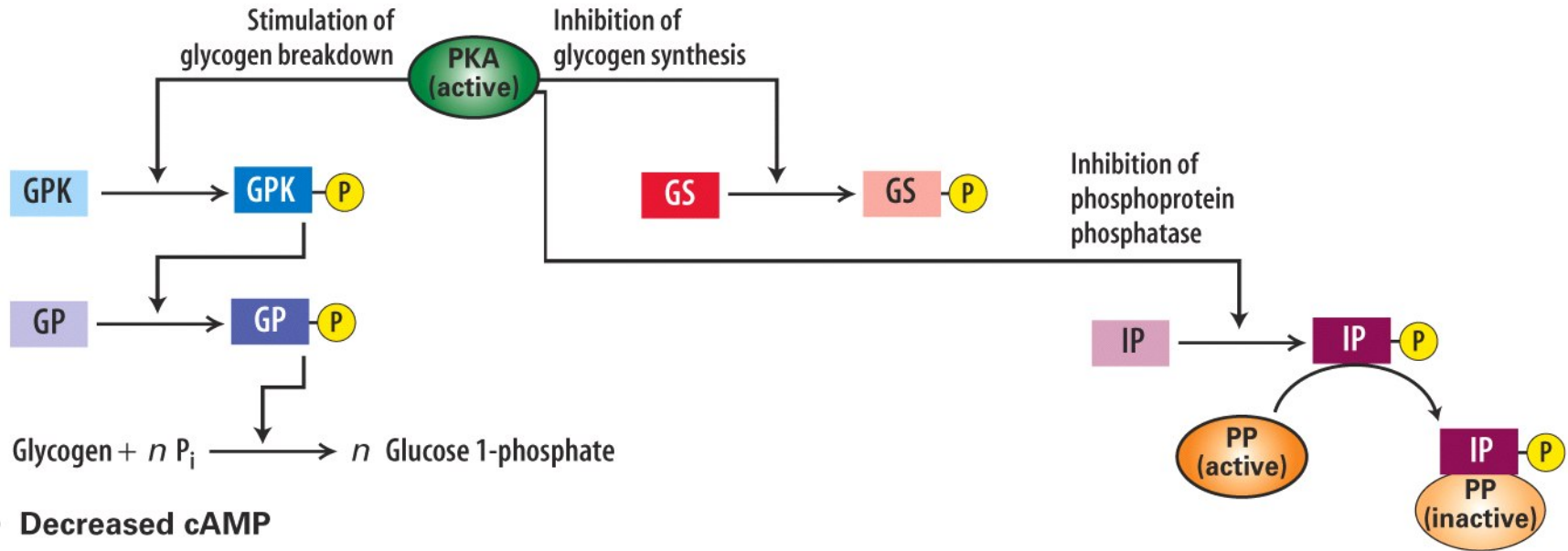


Abbreviations:

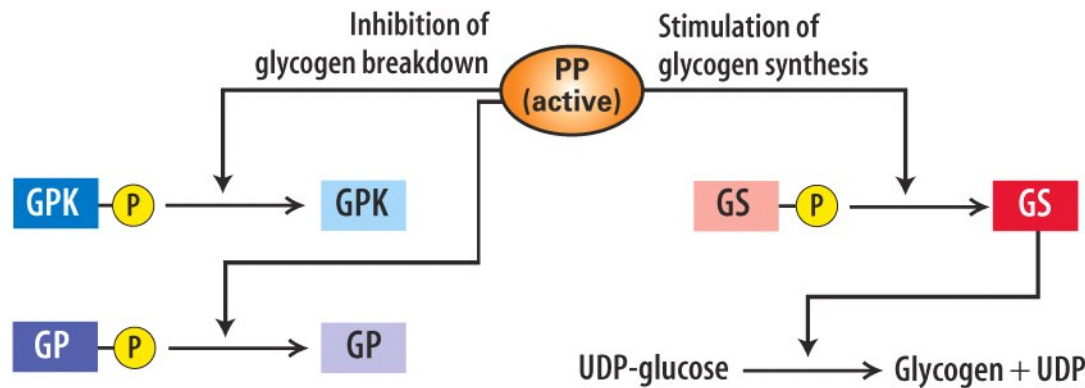
- PKA Protein kinase A
- PP Phosphoprotein phosphatase
- GPK Glycogen phosphorylase kinase
- GP Glycogen phosphorylase
- GS Glycogen synthase
- !P Inhibitor of phosphoprotein phosphatase

PKA vs PPάση I

(a) Increased cAMP



(b) Decreased cAMP

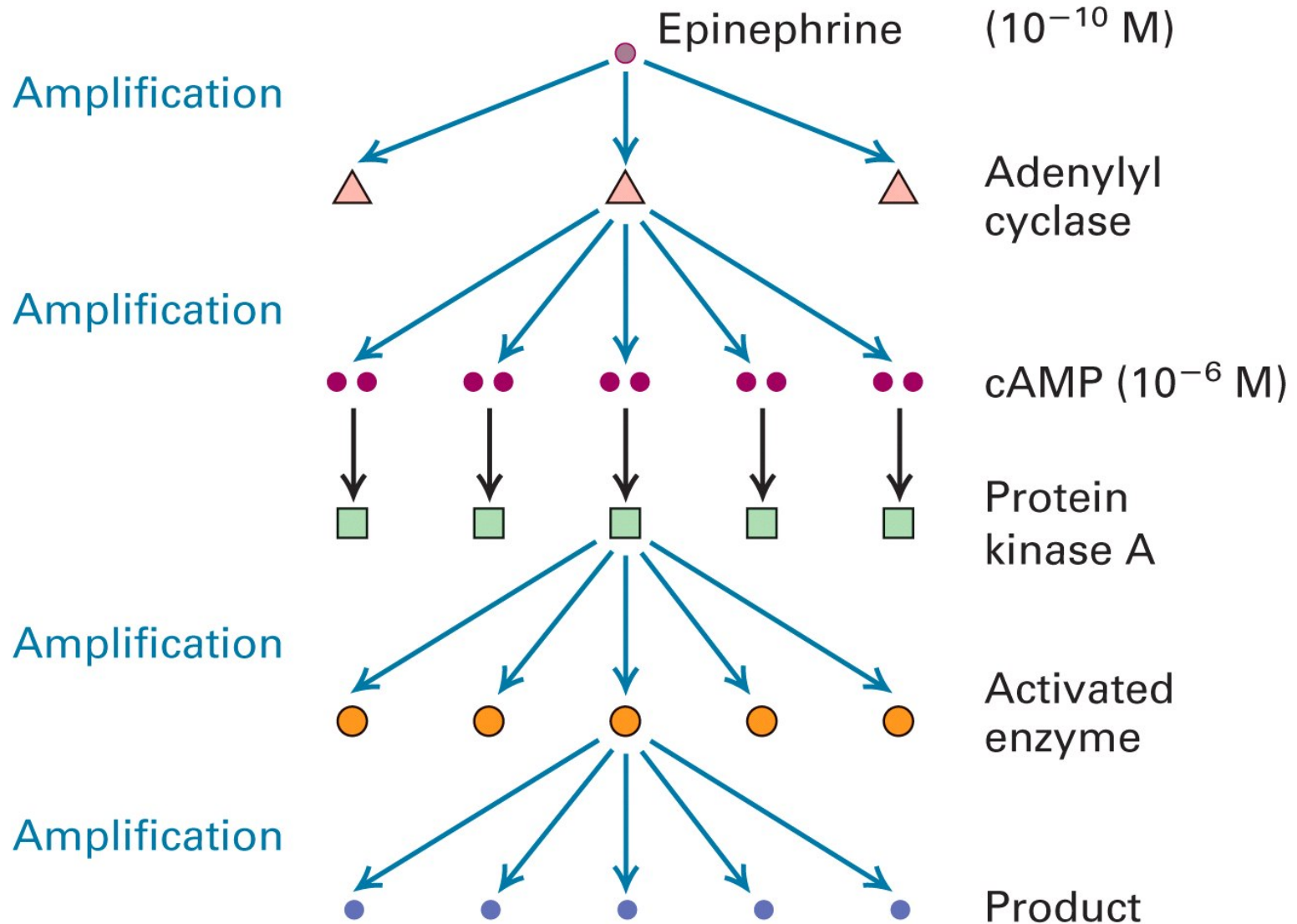


Abbreviations:

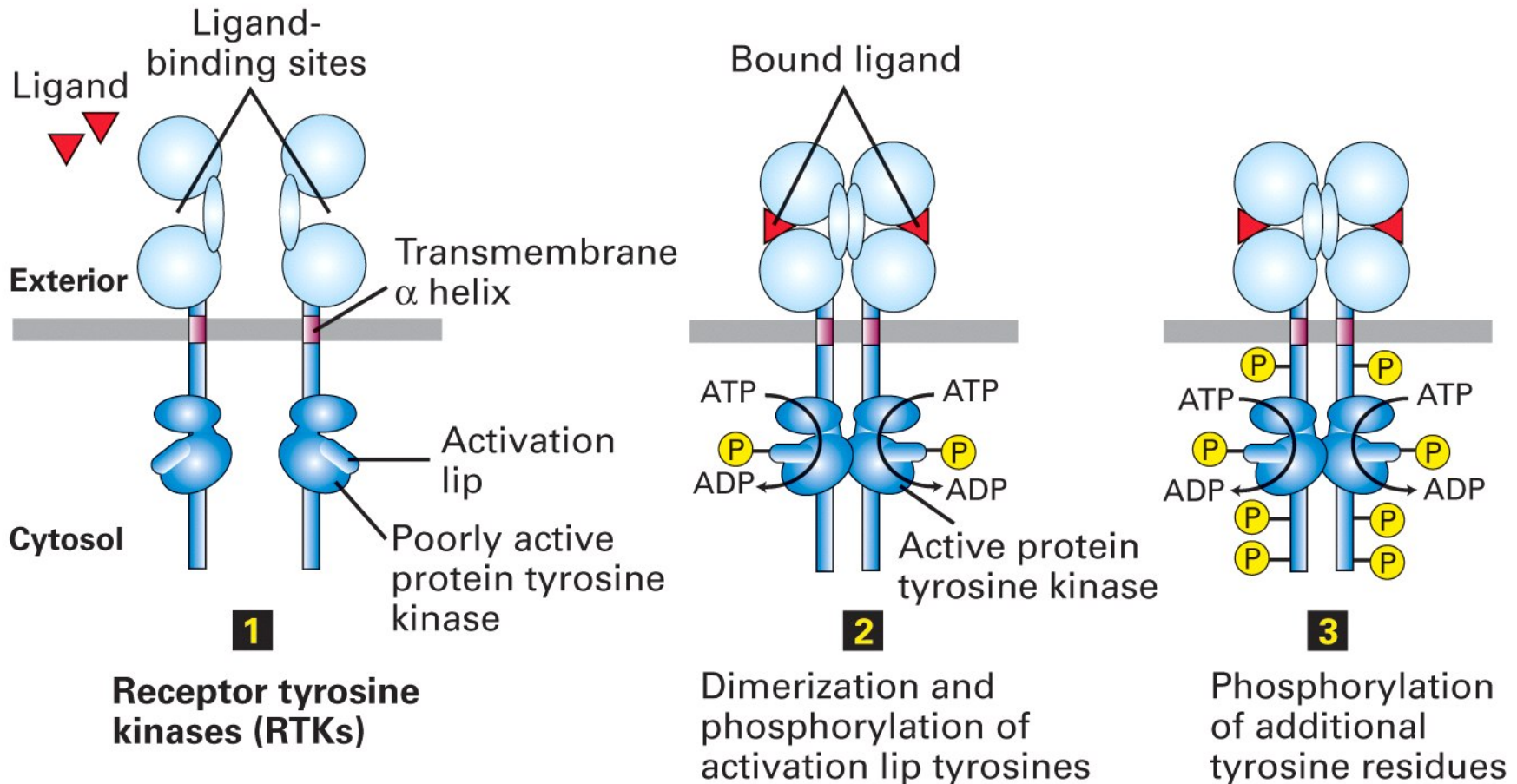
- PKA Protein kinase A
- PP Phosphoprotein phosphatase
- GPK Glycogen phosphorylase kinase
- GP Glycogen phosphorylase
- GS Glycogen synthase
- !P Inhibitor of phosphoprotein phosphatase

Η αποικοδόμηση του γλυκογόνου και η παραγωγή γλυκόζης, που προκαλείται από τα αυξημένα επίπεδα επινεφρίνης, αποτελεί χαρακτηριστικό παράδειγμα διπλού μηχανισμού ρύθμισης. Πιο συγκεκριμένα προκαλείται ενεργοποίηση των ενζύμων που συμμετέχουν στο μονοπάτι αποικοδόμησης του γλυκογόνου με παράλληλη απενεργοποίηση των ενζύμων που καταλύουν τον πολυμερισμό της γλυκόζης σε γλυκογόνο.

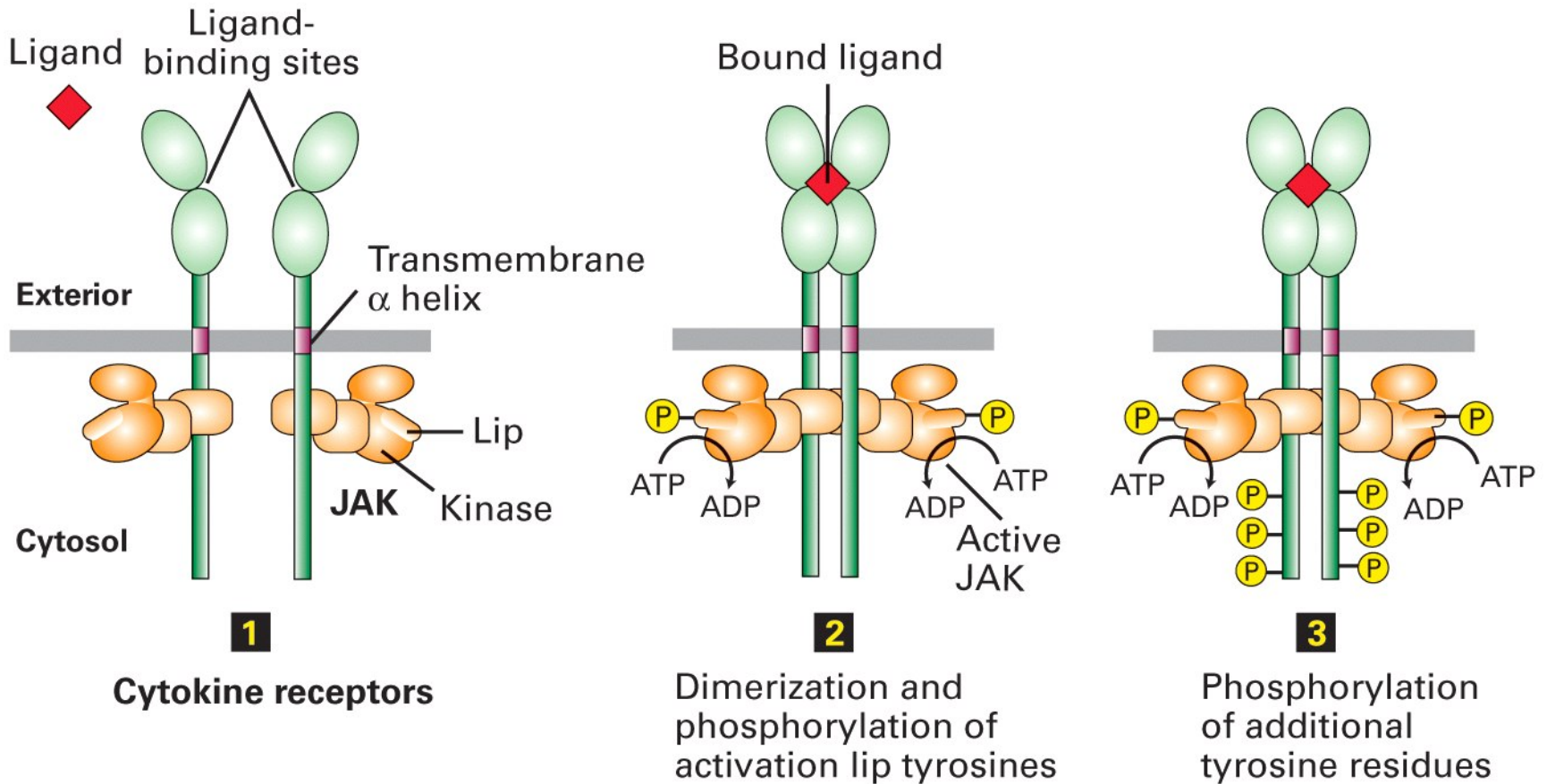
Η ενίσχυση του σήματος είναι βασικό χαρακτηριστικό των σηματοδοτικών μονοπατιών



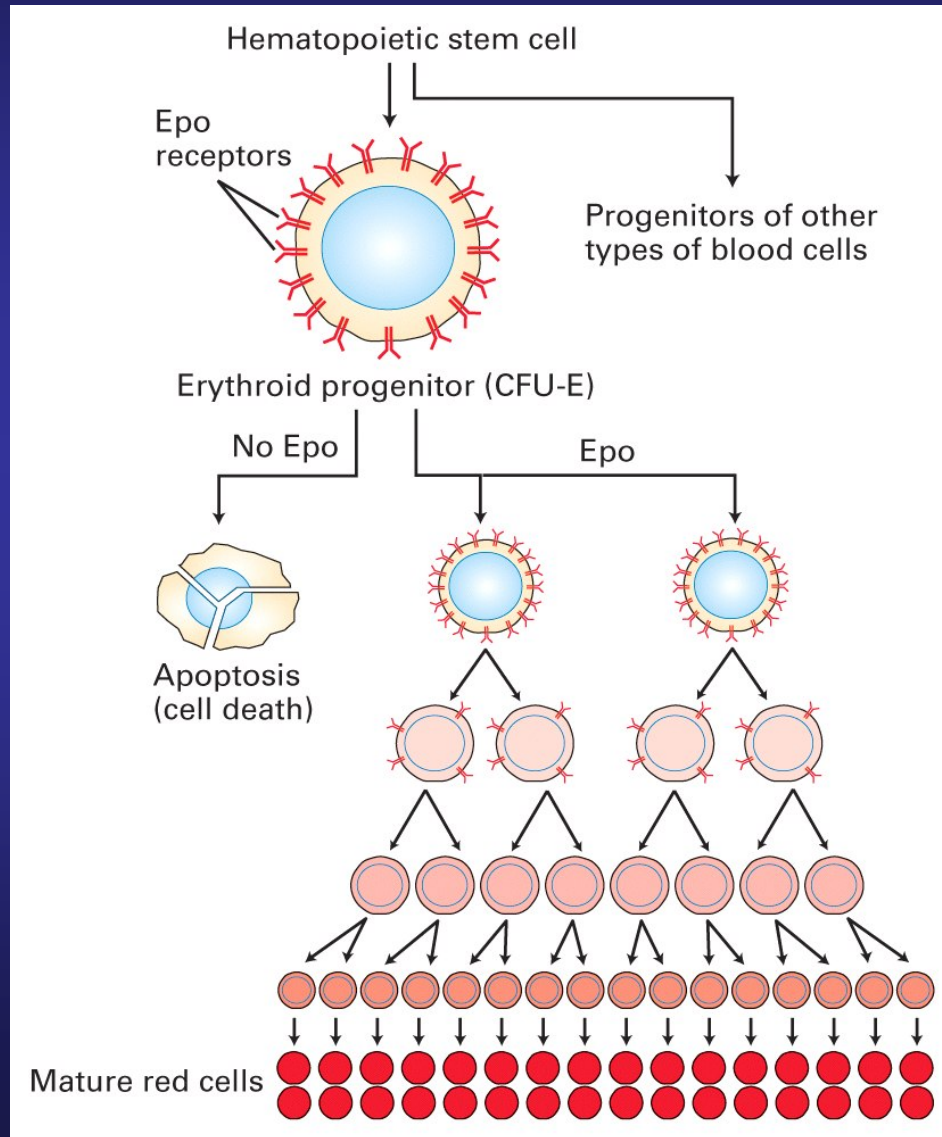
Ενεργοποίηση των υποδοχών κινάσης τυροσίνης



Ενεργοποίηση των υποδοχών κυτοκίνης

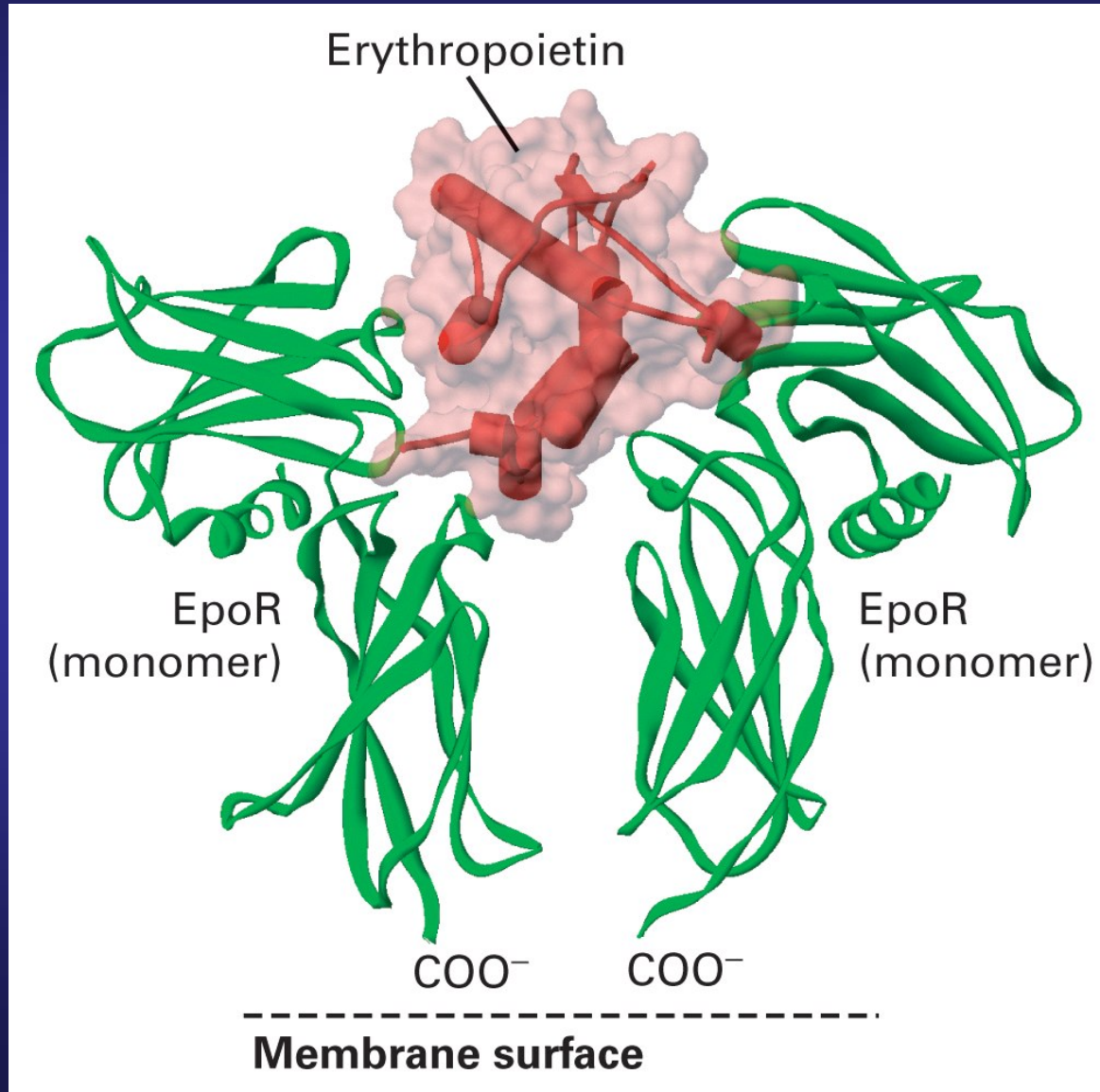


Ο ρόλος της ερυθροποιητίνης στην παραγωγή των ώριμων ερυθρών αιμοσφαιρίων

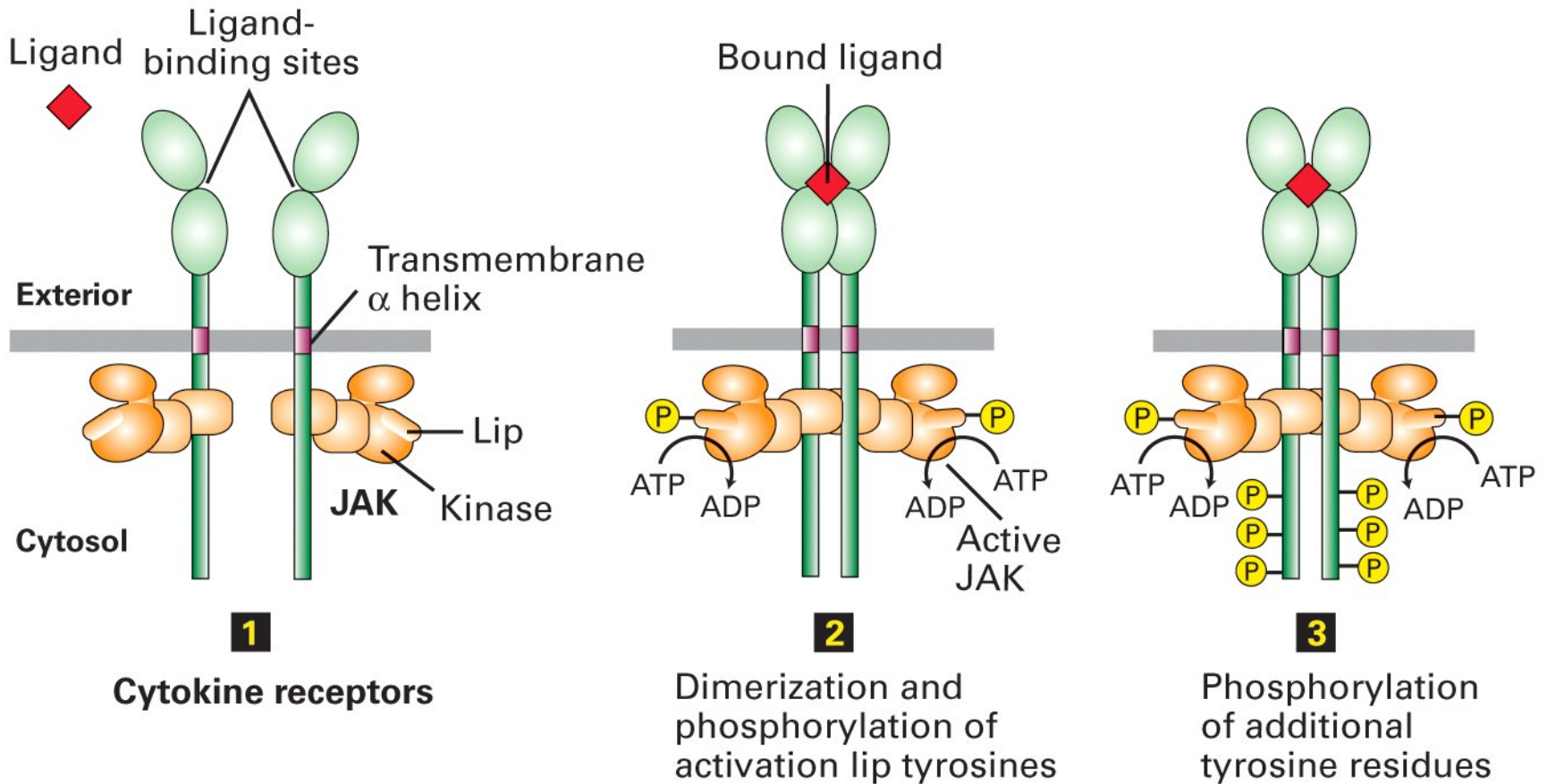


Σε καταστάσεις υποξίας (μειωμένης συγκέντρωσης οξυγόνου) ενεργοποιείται ο μεταγραφικός παράγοντας Hypoxia Inducing Factor-1, ο οποίος οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων της κυτοκίνης, ερυθροποιητίνης. Καθώς τα επίπεδα της ερυθροποιητίνης αυξάνονται, τα πρώιμα ερυθροκύτταρα διαφοροποιούνται σε ώριμα ερυθρά αιμοσφαίρια, ο ρόλος των οποίων είναι η μεταφορά οξυγόνου δεσμευμένο με αιμοσφαιρίνη.

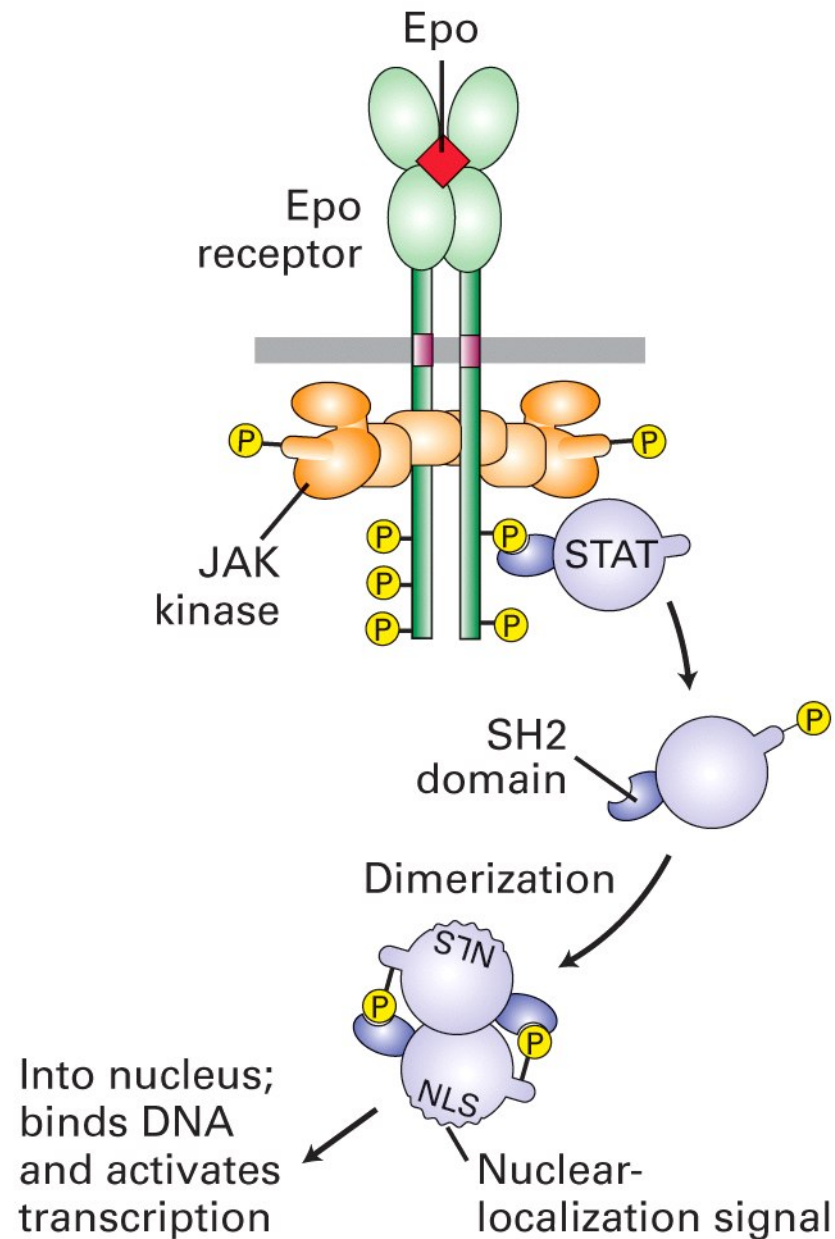
Αλληλεπίδραση της ερυθροποιητίνης με τον αντίστοιχο υποδοχέα



Ενεργοποίηση των υποδοχών κυτοκίνης

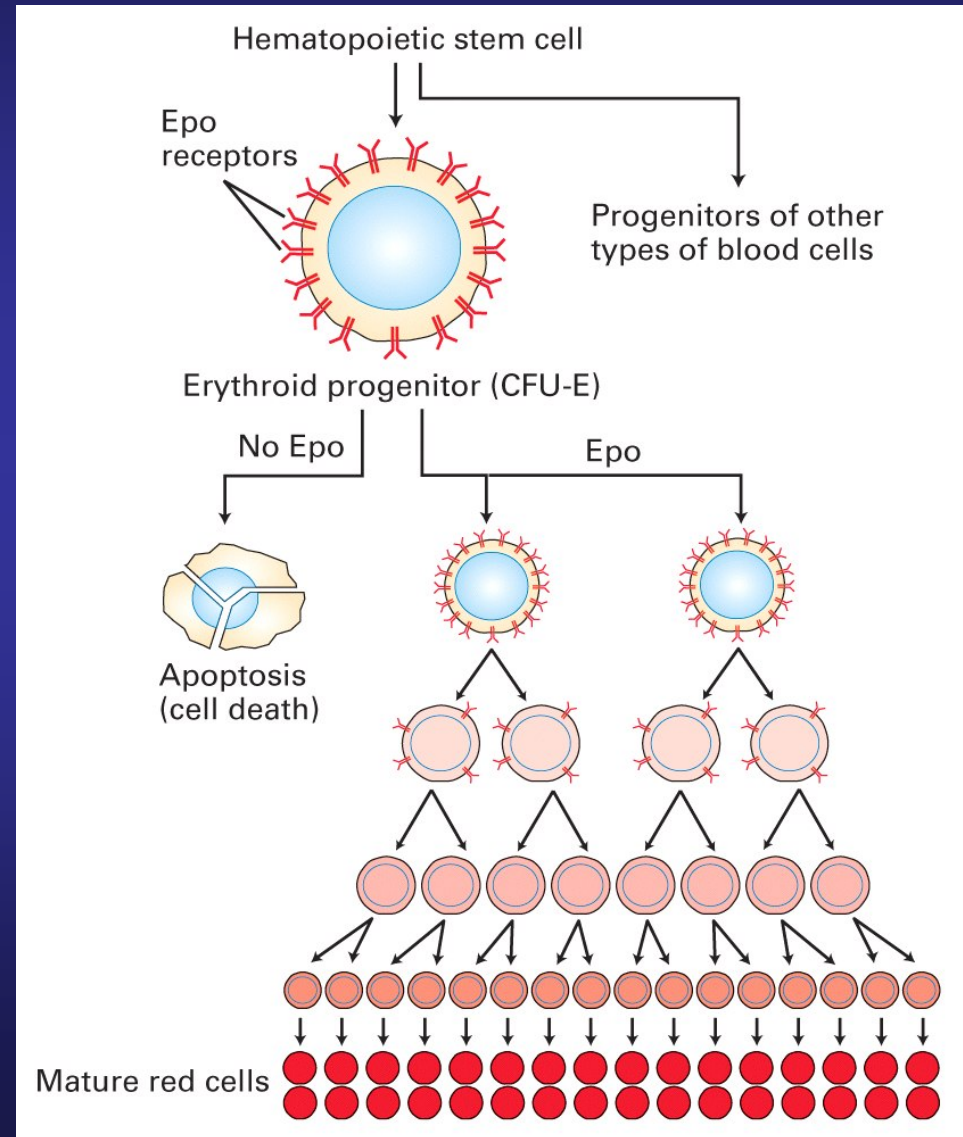


Κυτοκίνη → Υποδοχέας → Κινάση JAK → STAT

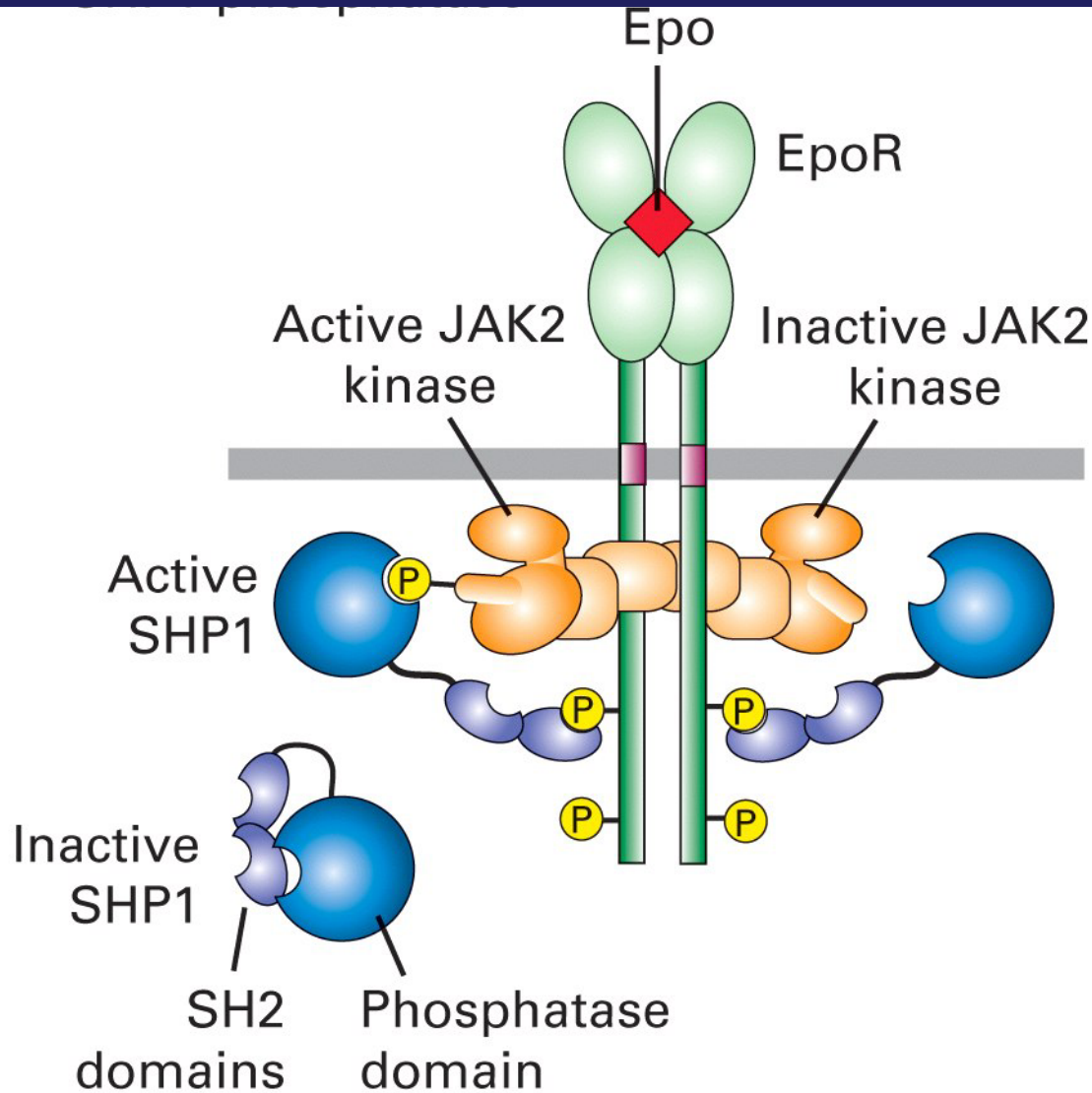


Ο ρόλος της ερυθροποιητίνης στην παραγωγή των ώριμων ερυθρών αιμοσφαιρίων

Ο ενεργοποιημένος μεταγραφικός παράγοντας STAT5 προκαλεί την παραγωγή των αντι-αποπτωτικών πρωτεϊνών Bcl.



Η φωσφατάση SHP1 προκαλεί την απενεργοποίηση της JAK2



Ο υποδοχέας της ερυθροποιητίνης και η κινάση JAK2 είναι αναγκαία για την παραγωγή των ερυθρών αιμοσφαιρίων

EpoR

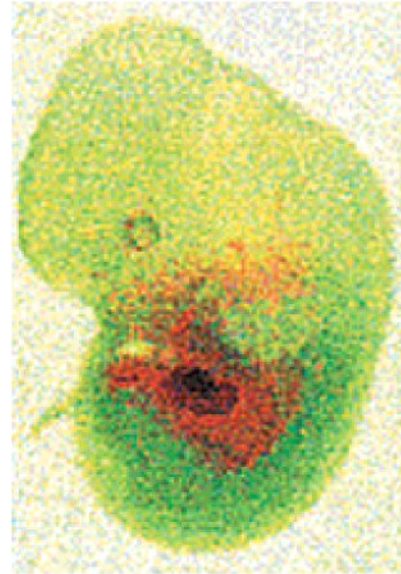


+/+



-/-

JAK2

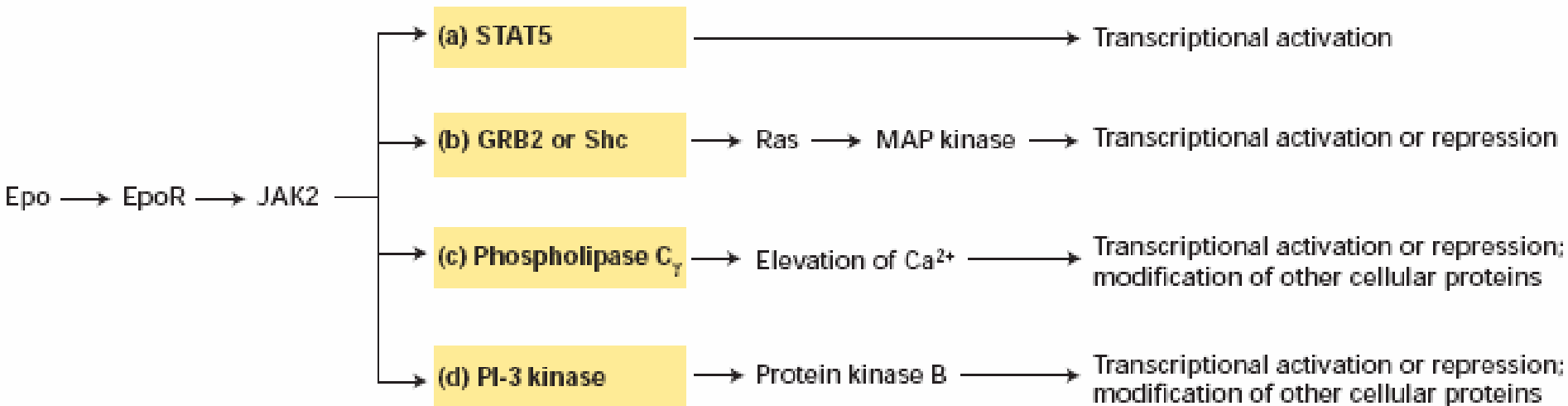


+/+

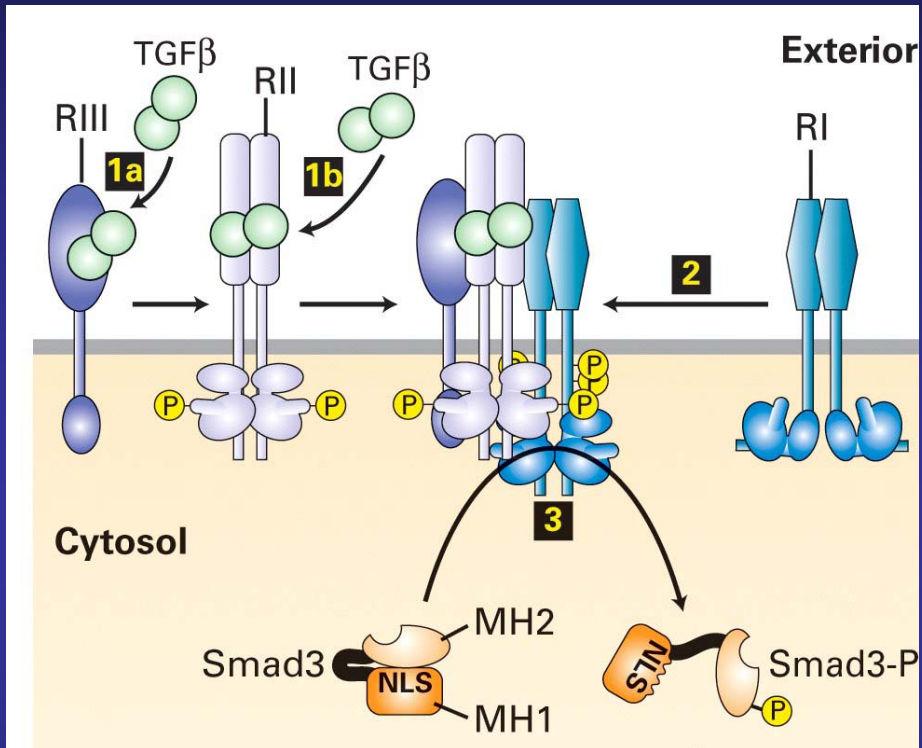


-/-

Τα σηματοδοτικά μονοπάτια της ερυθροποιητίνης



Το μονοπάτι μεταγωγής σήματος του TGFβ



Το μονοπάτι μεταγωγής σήματος του TGFβ

