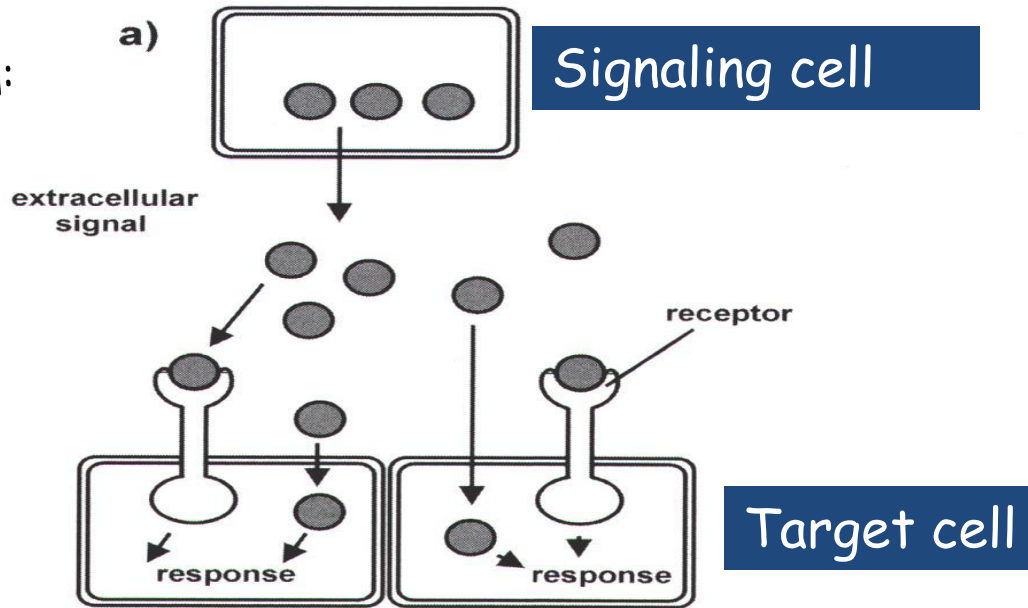
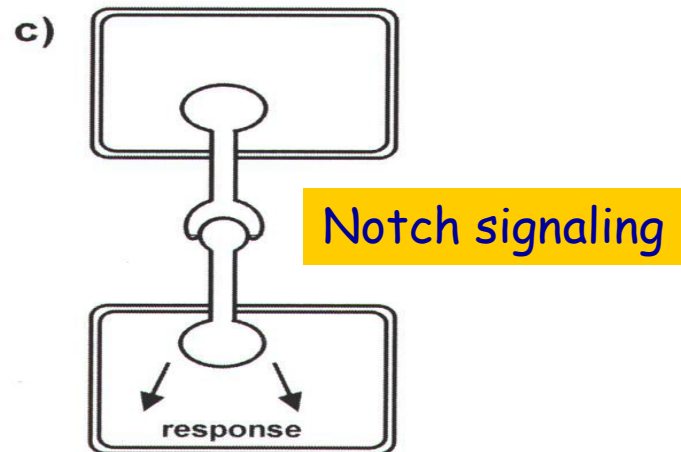
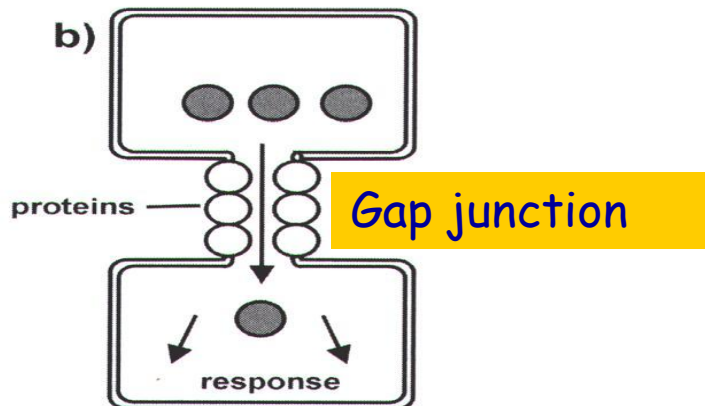


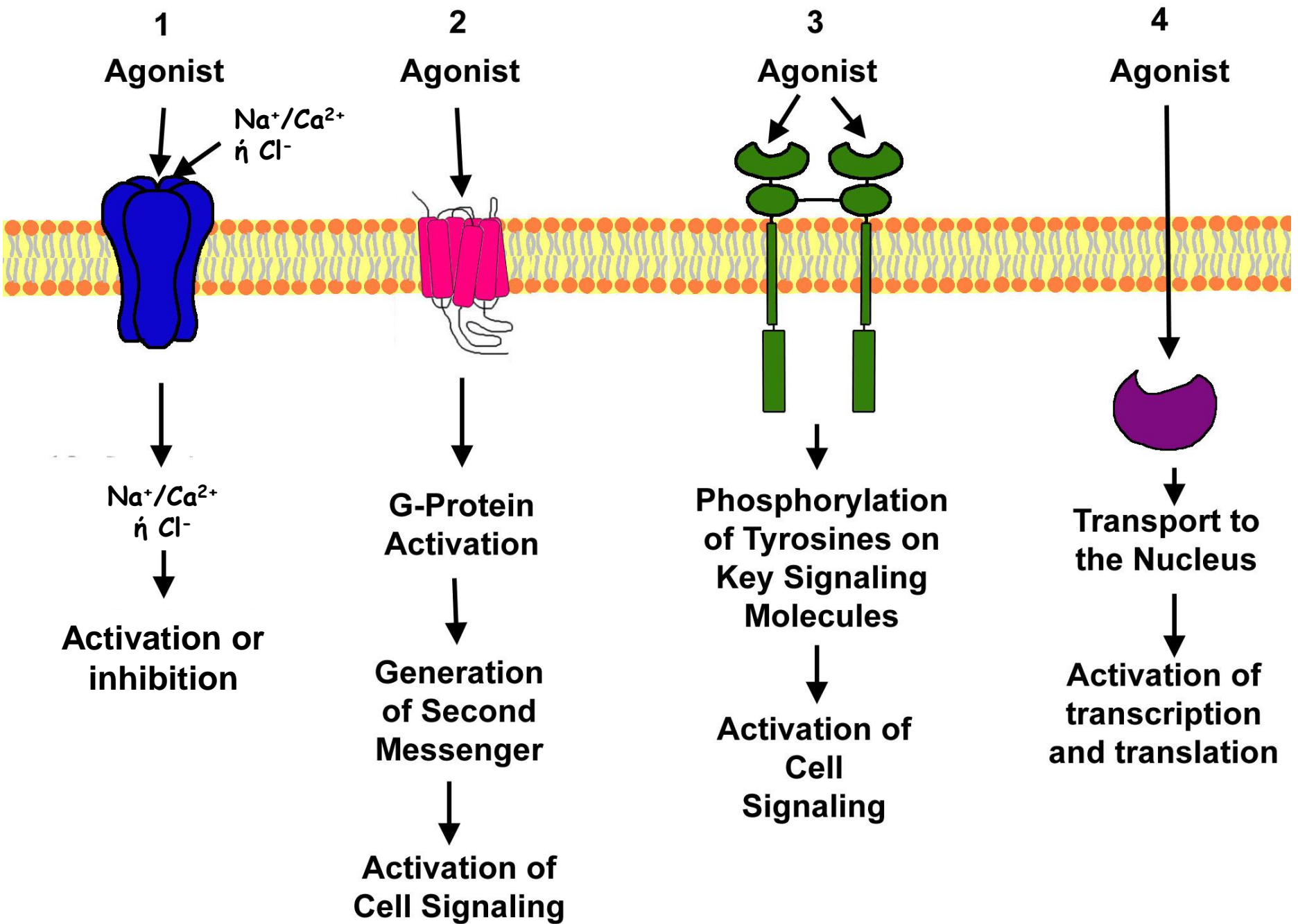
Τρόποι διακυτταρικής επικοινωνίας

Από απόσταση:
-Ενδοκρινής
-Παρακρινής



Με επαφή





Υποδοχείς που συνδέονται με G-πρωτεΐνες

G-Protein Coupled Receptors

GPCRs

(1% του γονιδιώματος)

Στον άνθρωπο, έχουν αναγνωρισθεί **865** γονίδια που κωδικοποιούν για GPCRs.

- Από τους υποδοχείς αυτούς, οι **400** είναι λειτουργικοί αισθητήριοι υποδοχείς όσφρησης. Η ανακάλυψη της πληθώρας των οσφρητικών GPCRs οφείλεται στον Richard Axel (βραβείο Nobel 2004), ο οποίος απέδειξε ότι κάθε οσφρητικός νευρώνας εκφράζει ένα μόνο είδος οσφρητικού υποδοχέα.
- Οι **370** μη-οσφρητικοί GPCRs θεωρούνται λειτουργικοί (δηλαδή έχουν αναγνωρισθεί οι προσδέτες και τα μεταγωγικά τους μονοπάτια), ενώ οι υπόλοιποι **90** χαρακτηρίζονται ως «ορφανοί», που σημαίνει ότι δεν έχει αναγνωρισθεί ακόμη ο ενδογενής τους προσδέτης.

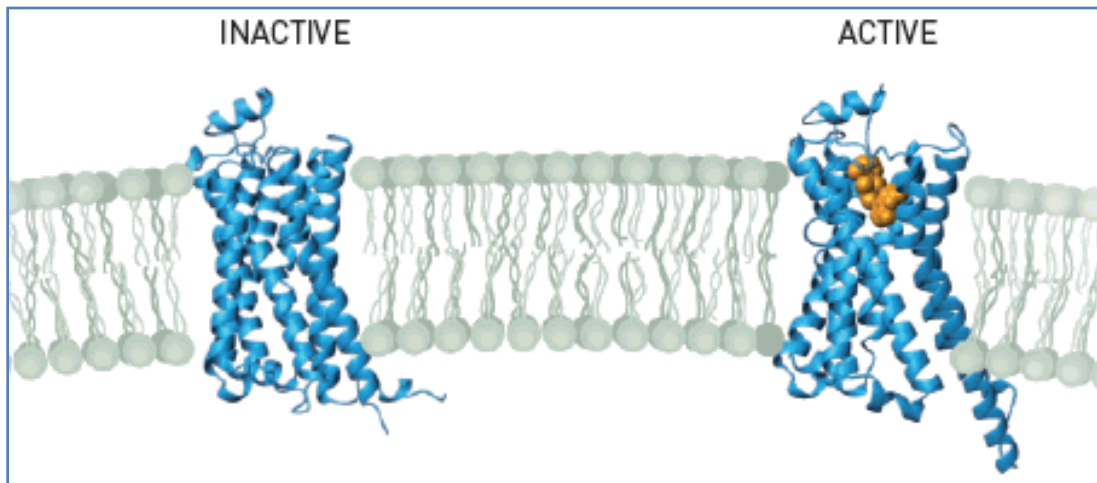
Το βραβείο Nobel Χημείας 2012, απονεμήθηκε στους Brian Kobilka και Robert Lefkowitz για την έρευνά τους πάνω στους GPCRs



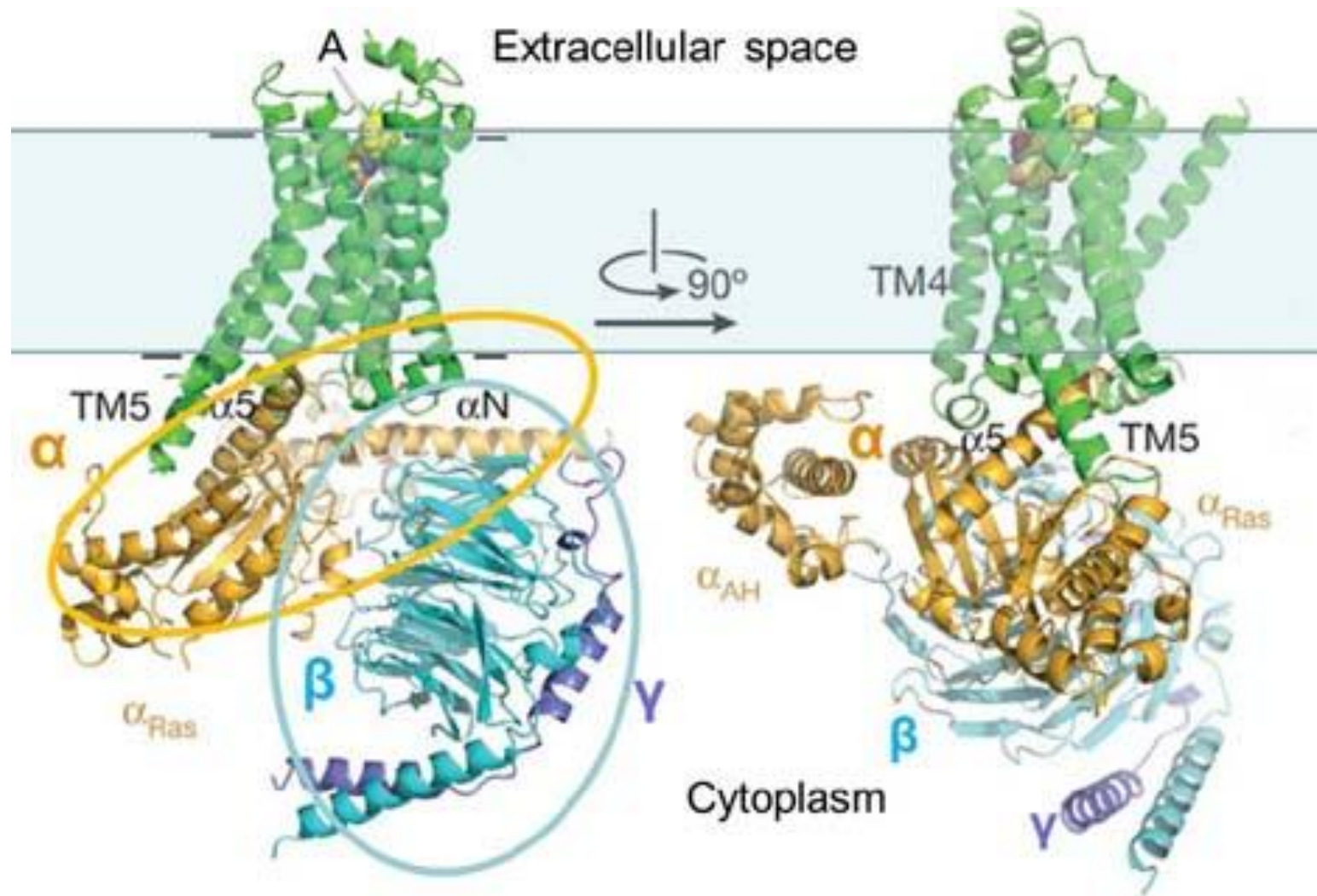
Brian Kobilka (1955 -)



Robert Lefkowitz (1943-)

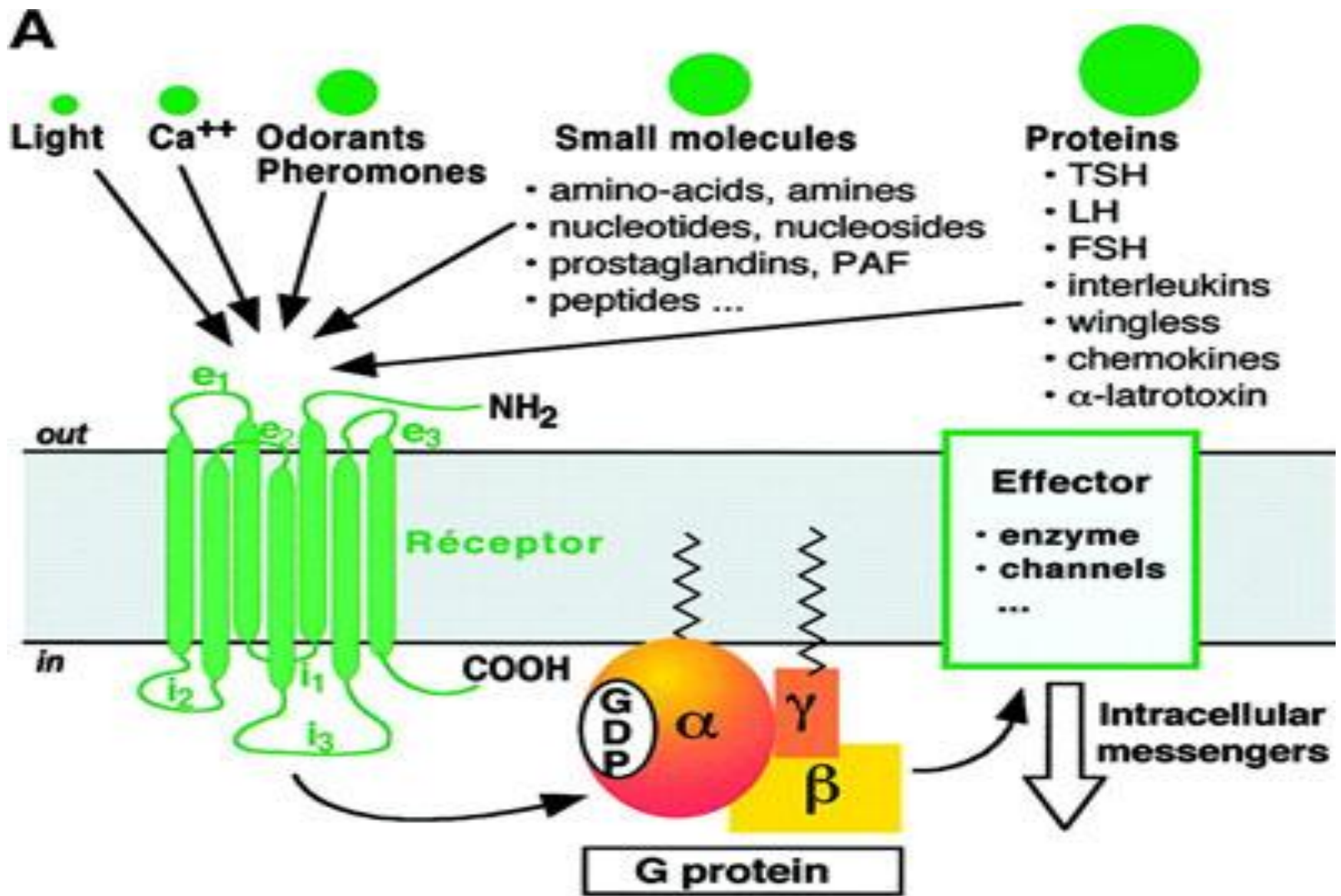


Το 2011, ο Kobilka πέτυχε να αποθανατίσει την εικόνα του β-αδρενεργικού υποδοχέα τη στιγμή που ενεργοποιείται από τον αγωνιστή. Αυτή η εικόνα θεωρήθηκε ως **"molecular masterpiece"**.

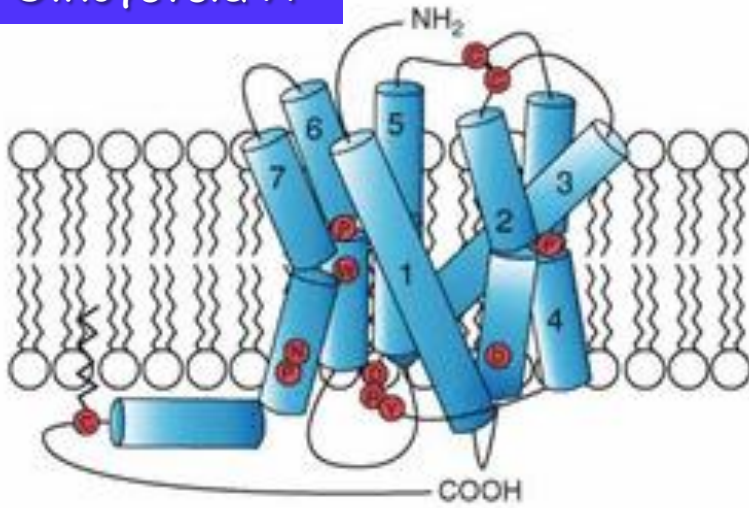


Φωτόνια, οσμές, νευροδιαβιβαστές, ορμόνες, χημειοκίνες, λιπίδια, νουκλεοτίδια, ιόντα ενεργοποιούν τους GPCRs και επάγουν μια πληθώρα φυσιολογικών λειτουργιών:

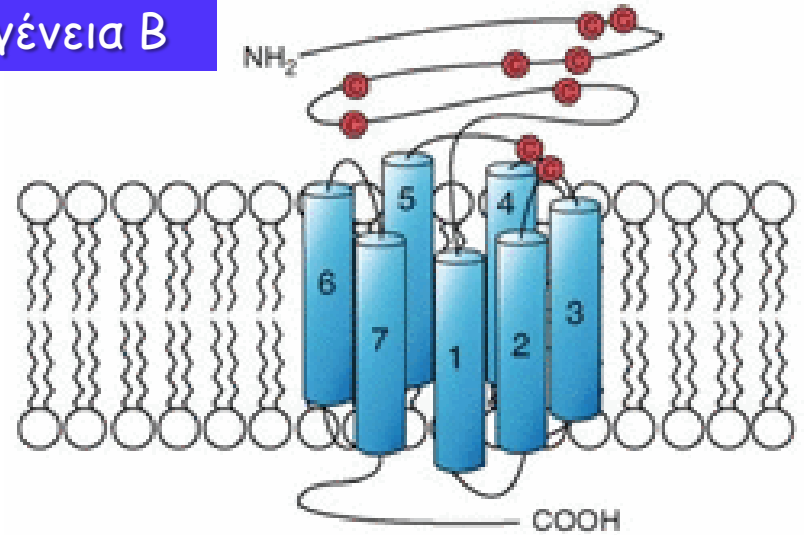
- Όραση: οι φωτοϋποδοχείς (η ροδοψίνη είναι ένας GPCR) μέσω μιας αντίδρασης φωτοϊσομερίωσης της 11-cis-ρετινάλης (προσδέτης) σε trans-ρετινάλη, μετατρέπουν την ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία σε κυτταρικό σήμα.
- Όσφρηση: υποδοχείς του οσφρητικού επιθηλίου αναγνωρίζουν οσμές και φερομόνες.
- Συμπεριφορά και ρύθμιση της διάθεσης: υποδοχείς στον εγκέφαλο των θηλαστικών δεσμεύουν τους νευροδιαβιβαστές, όπως η σεροτονίνη, η ακετυλοχολίνη, η ντοπαμίνη, το GABA.
- Διαβίβαση του Αυτόνομου Νευρικού Συστήματος: το Συμπαθητικό και το Παρασυμπαθητικό Νευρικό Σύστημα ρυθμίζονται από μονοπάτια των GPCRs, υπεύθυνα για τον έλεγχο πολλών αυτόματων λειτουργιών, όπως η πίεση του αίματος, ο καρδιακός ρυθμός, η σύσπαση των βρόγχων και διαδικασίες της πέψης.
- Ρύθμιση της δραστηριότητας του ανοσοποιητικού συστήματος και της φλεγμονής: οι υποδοχείς των χημειοκινών επάγουν τη χημειοταξία κυττάρων του ανοσοποιητικού κατά τη φλεγμονή, ενώ υποδοχείς της ισταμίνης επιβάλλουν στα κύτταρα στόχους την έναρξη της φλεγμονώδους αντίδρασης.
- Ρύθμιση της ομοιόστασης: υποδοχείς στον υποθάλαμο ρυθμίζουν πολλές λειτουργίες όπως πχ. ισοζύγιο του νερού.



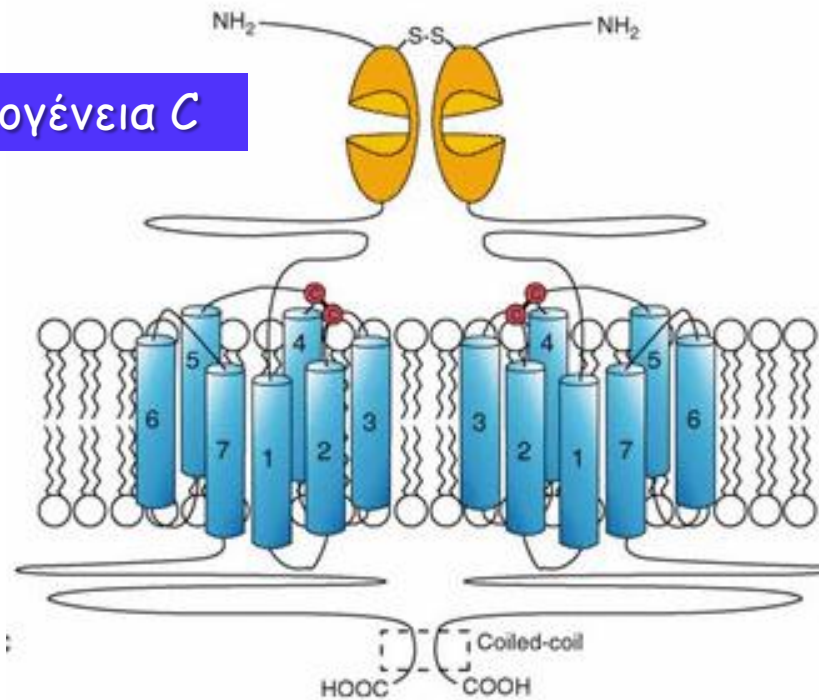
Οικογένεια Α



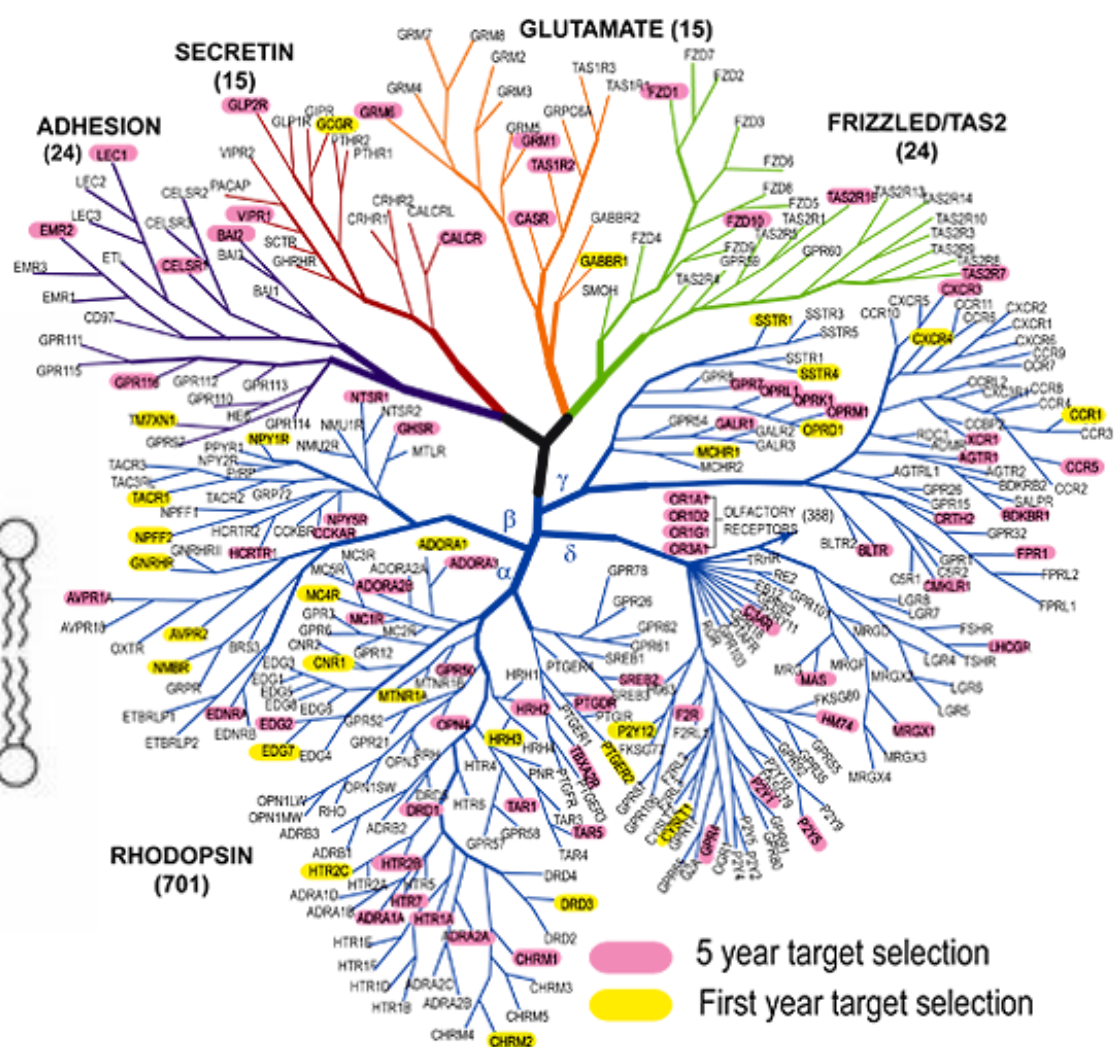
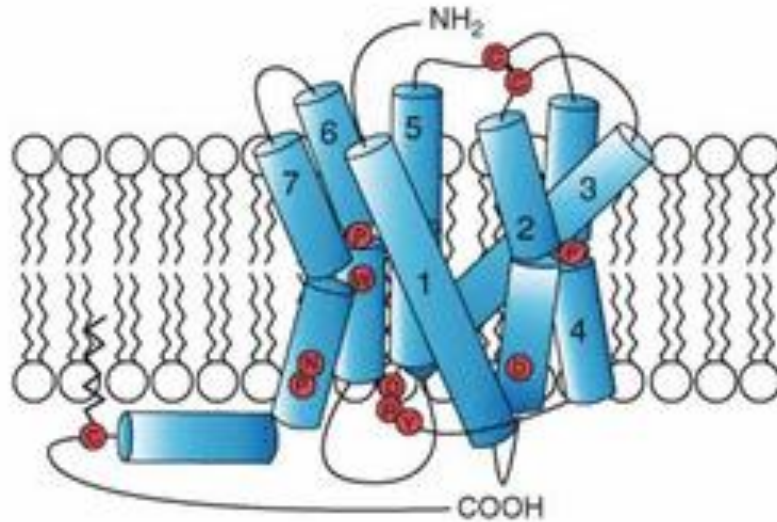
Οικογένεια Β



Οικογένεια C

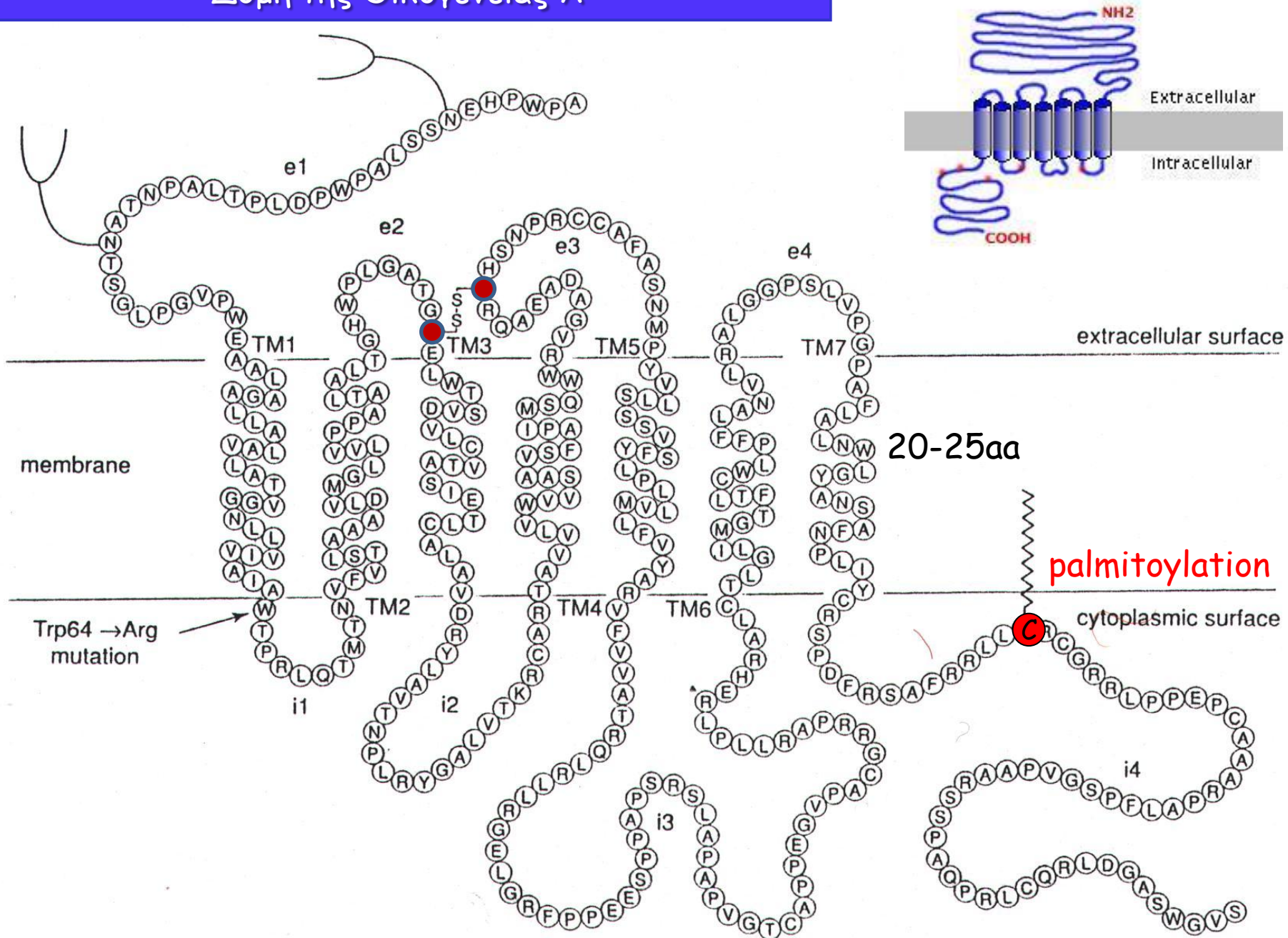


Οικογένεια A

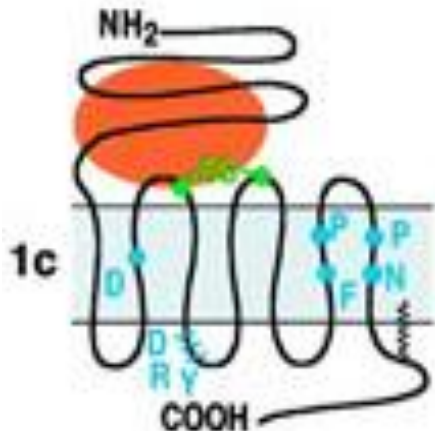
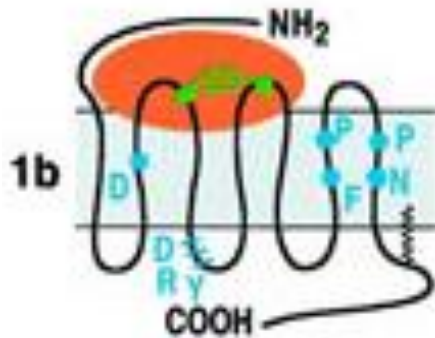
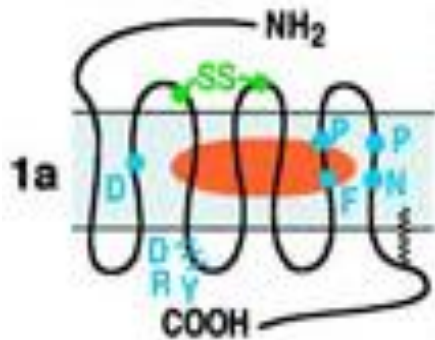


Η οικογένεια A περιλαμβάνει τα περισσότερα μέλη: 701 GPCRs, από τους οποίους μόνο για 519 έχουν αναγνωριστεί ενδογενείς προσδέτες. Στην Οικογένεια A ανήκουν οι GPCRs βιογενών αμινών (αδρεναλίνη, ντοπαμίνη, σεροτονίνη, ακετυλοχολίνη, ισταμίνη), οι GPCRs μικρών νευροπεπτιδίων (NPY, PAF, εγκεφαλίνες), χημειοκινών, λιπιδίων (λευκοτριενίων, λυσοφωσφατιδικού οξέος, προστανοειδών), γλυκοπρωτεϊνικών ορμονών (LH, FSH, TSH), οι φωτοϋποδοχείς, οι γευστικοί υποδοχείς (για το πικρό) και οι οσφρητικοί GPCRs.

Δομή της Οικογένειας A



Οικογένεια A



Υποδοχείς ροδοψίνης

Οσφρητικοί υποδοχείς / φερομονών

Υποδοχείς βιογενών αμινών: ακετυλοχολίνης, μουσκαρινικοί, (νορ)αδρεναλίνης, ντοπαμίνης, σεροτονίνης, ισταμίνης

Υποδοχείς οπιοειδών: delta, kappa, mu και νοσισεπτίνης

Υποοικογένεια λιπιδίων: υποδοχείς εικοσανοειδών (προσταγλανδινών: PGD₂, PGE₁, PGE₂, PGE₃, PGE₄, PGF_F, PGI₂, και θρομβοξανής A₂), λυσοφωσφατιδικού οξέος (LPAR1-6), λευκοτριενίων (LTB₄R), σφιγγοσίνης, κανναβινοειδών (CNR)

Υποδοχείς νουκλεοτιδίων: αδενοσίνης: (A₁, A_{2a}, A_{2b}, A₃), πουρινεργικοί υποδοχείς (P2YR1-14)

Υποδοχείς χημειοκινών CCR1-10, CXCR3-7, ιντερλευκίνη-8 ή CXCL8 (CXCR1, 2)

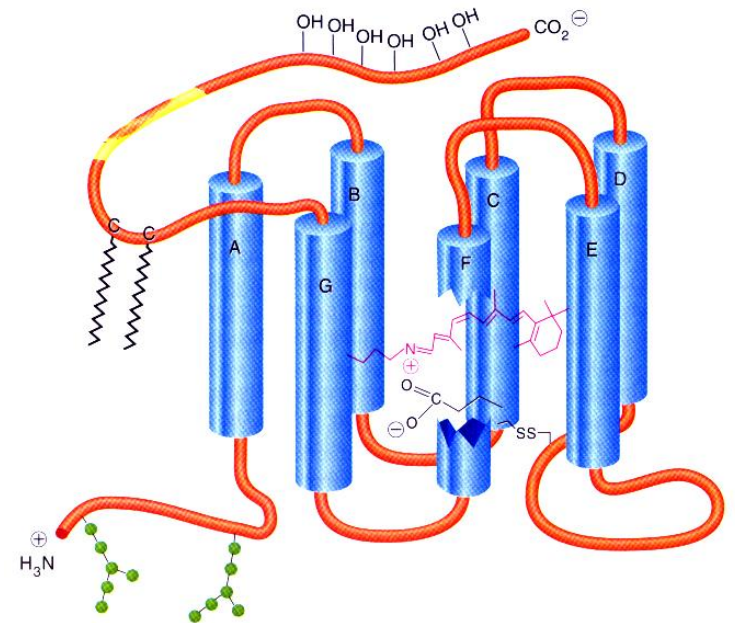
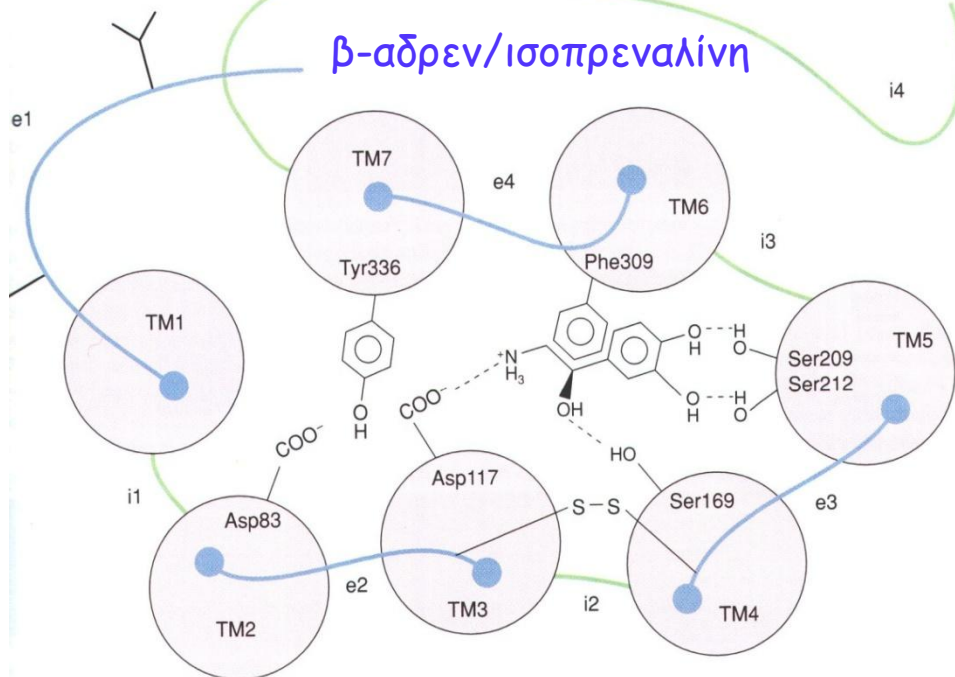
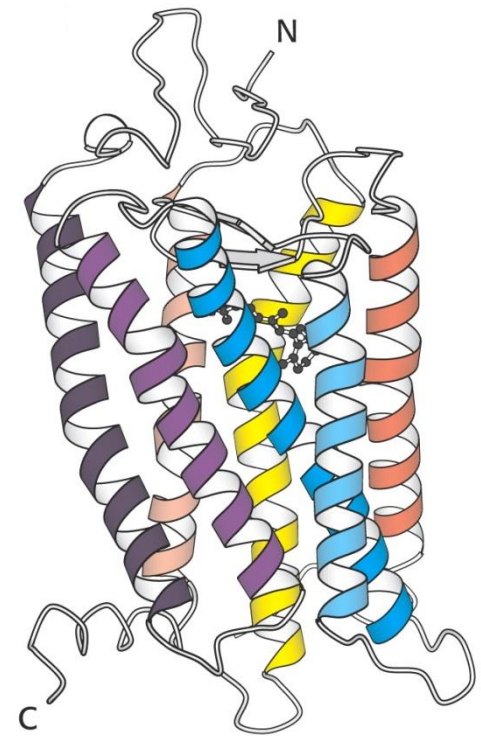
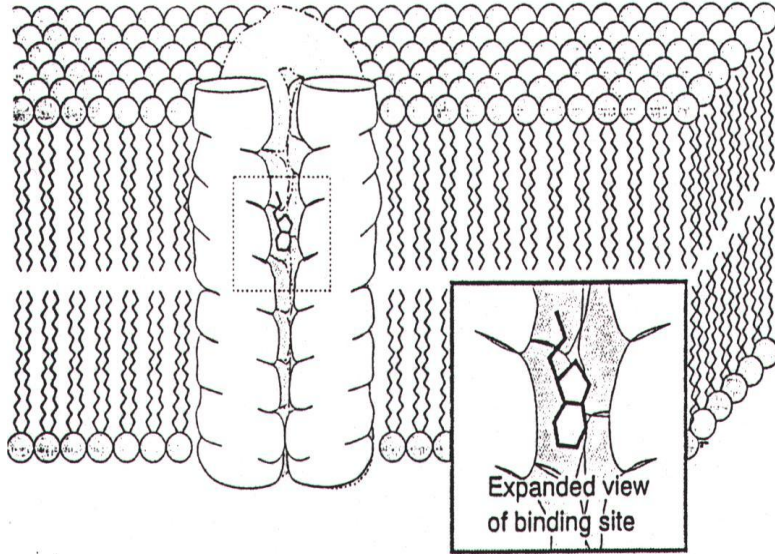
Υποδοχείς μικρών πεπτιδίων: υποδοχείς αγγειοτενσίνης, βασοπρεσίνης, βραδυκινίνης, γαλανίνης (GALR1-3), ενδοθηλίνης, GnRH (Gonadotropin releasing hormone), μελανοκορτίνης/ACTH (adrenocorticotrophin), νευροτενσίνης, νευροκινίνης, NPY (neuropeptide Y), ορεξίνης, ωκυτοκίνης, PRP (prolactin releasing peptide), σωματοστατίνης (SSTR1-5), TRH (Thyrotropin-releasing hormone), χολεκυστοκινίνης (CCKAR)

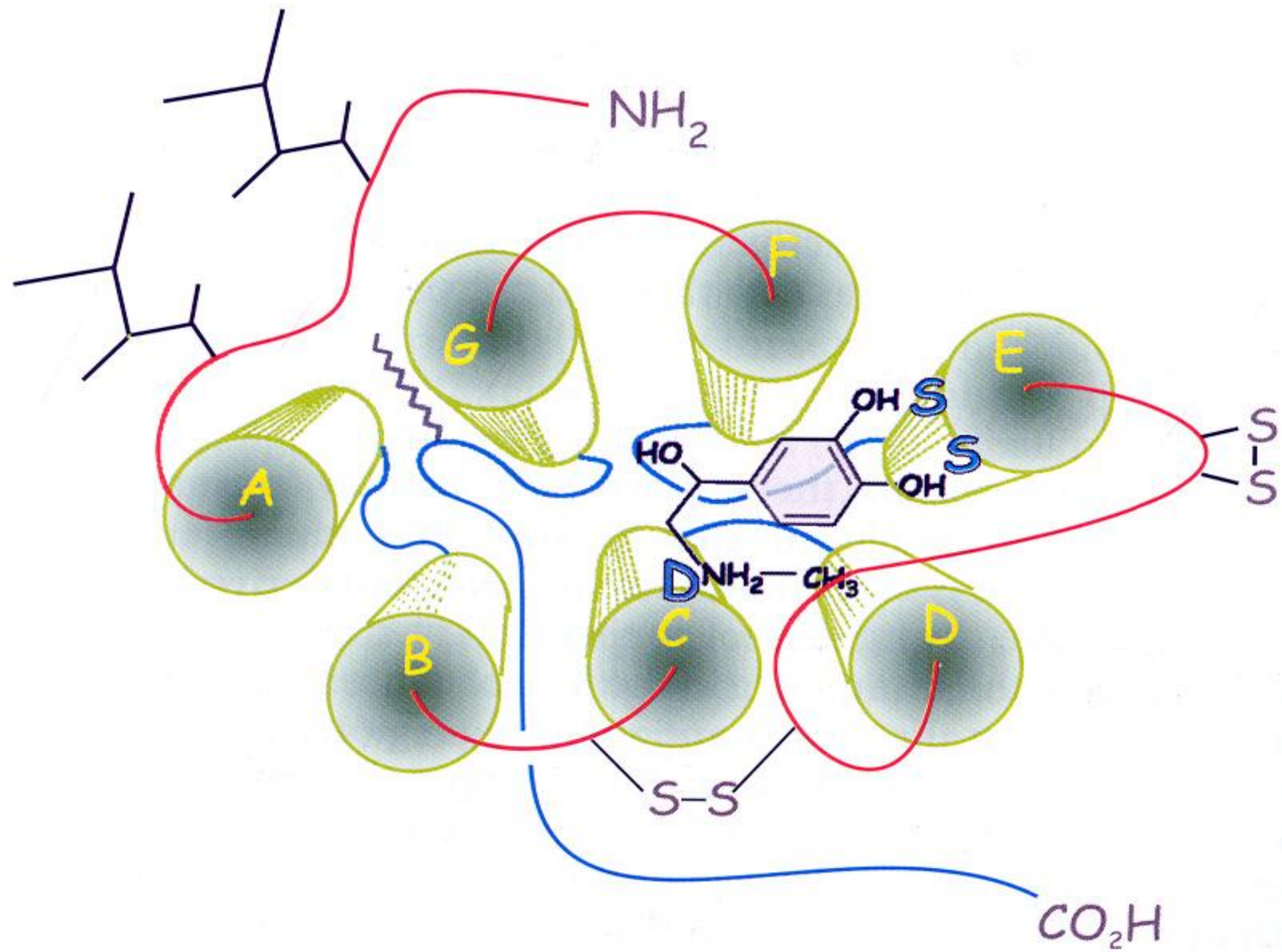
Υποδοχείς fMLP (Formyl Met-Leu-Phe peptide)

Υποδοχείς πρωτεασών: θρομβίνης

Υποδοχείς μεγάλων γλυκοπρωτεϊνικών ορμονών: LH/hCG, FSH, TSH

Οικογένεια A1: Θέση σύνδεσης ενδομεμβρανικά





Μέχρι σήμερα, έχουν κλωνοποιηθεί 4 PARs:

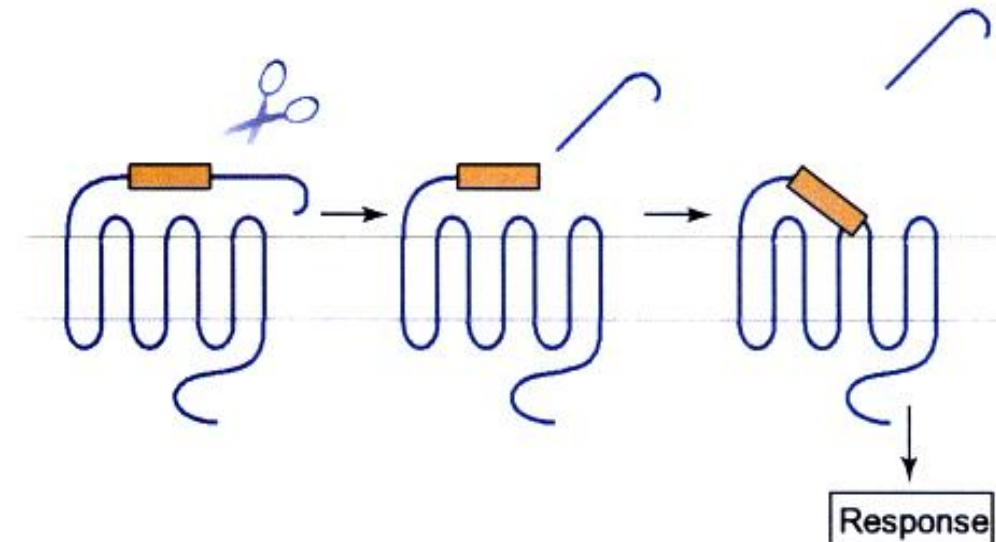
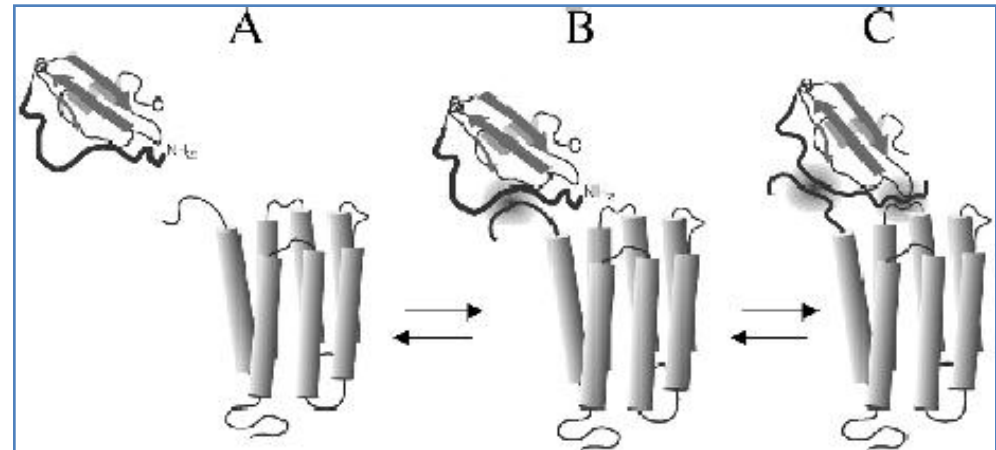
PAR-1, PAR-3 και PAR-4, οι οποίοι ενεργοποιούνται από τη Θρομβίνη, και PAR-2 οι οποίοι ενεργοποιούνται από τη Τρυψίνη.

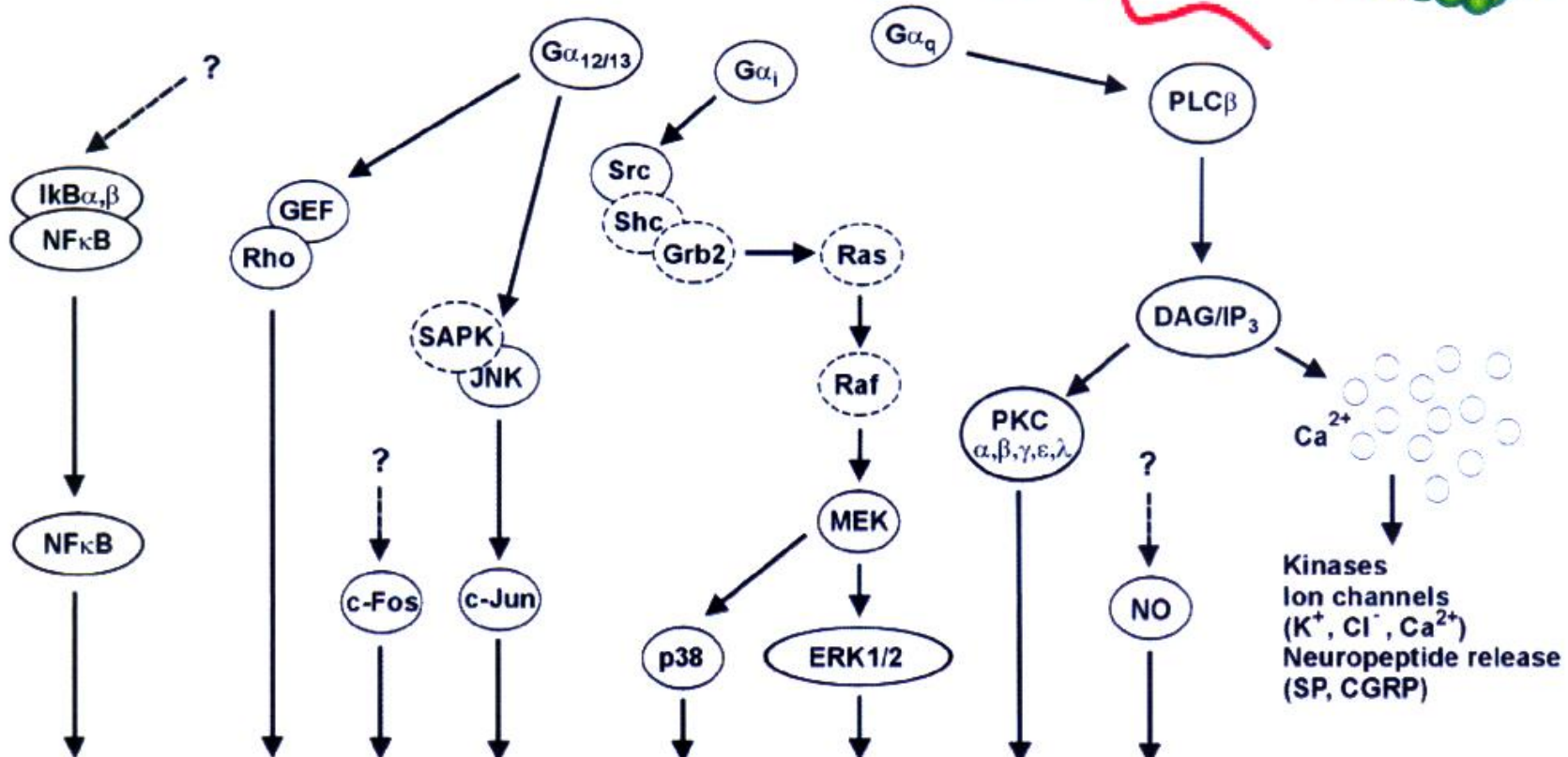
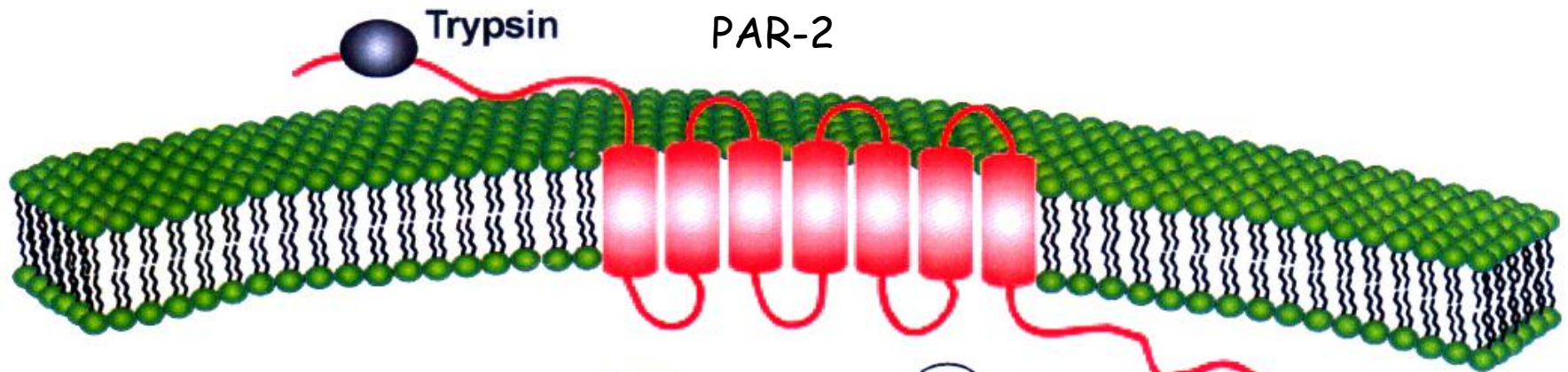
Αν και αρχικά ανακαλύφθηκαν στα αιμοπετάλια, στα ενδοθηλιακά κύτταρα και στους ινοβλάστες, οι PARs είναι ευρέως διαδεδομένοι και στο νευρικό σύστημα (νευρώνες και αστρογλοία).

Στα περισσότερα κύτταρα που εκφράζουν τον PAR-1, η ενεργοποίηση του υποδοχέα μεταφέρει το μήνυμα στον κυτταροσκελετό της ακτίνης, ο οποίος αλλάζει το σχήμα του κυττάρου. Τα ενδοκυτταρικά σηματοδοτικά μονοπάτια που ενεργοποιούνται από τον PAR-1 οδηγούν σε φωσφορλίωση των ERK κινασών.

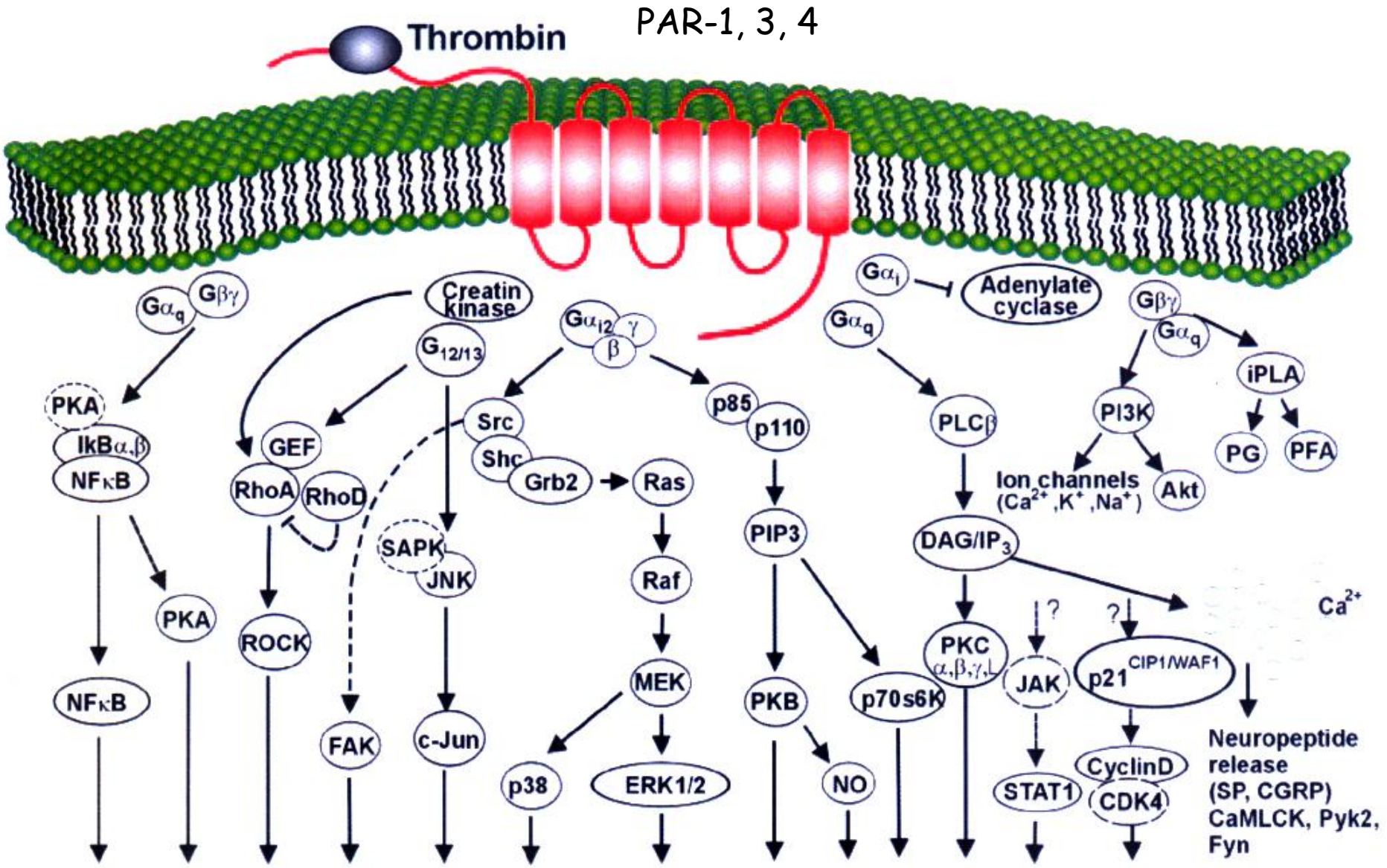
GPCRs οι οποίοι ενεργοποιούνται από πρωτεάσες - 1B

PARs: proteinases-activated receptors



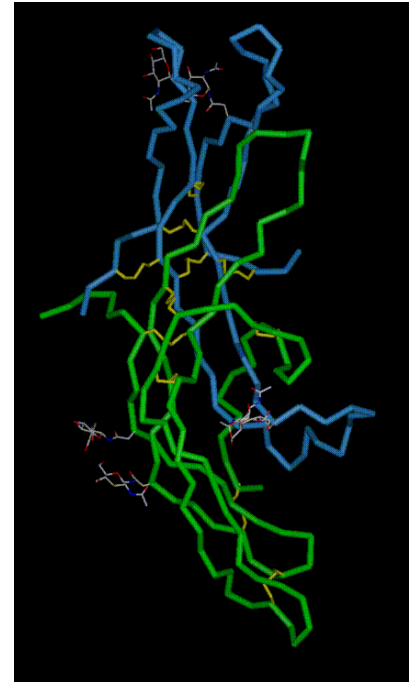
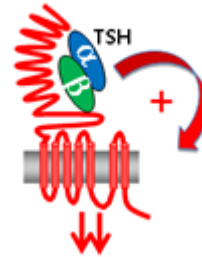
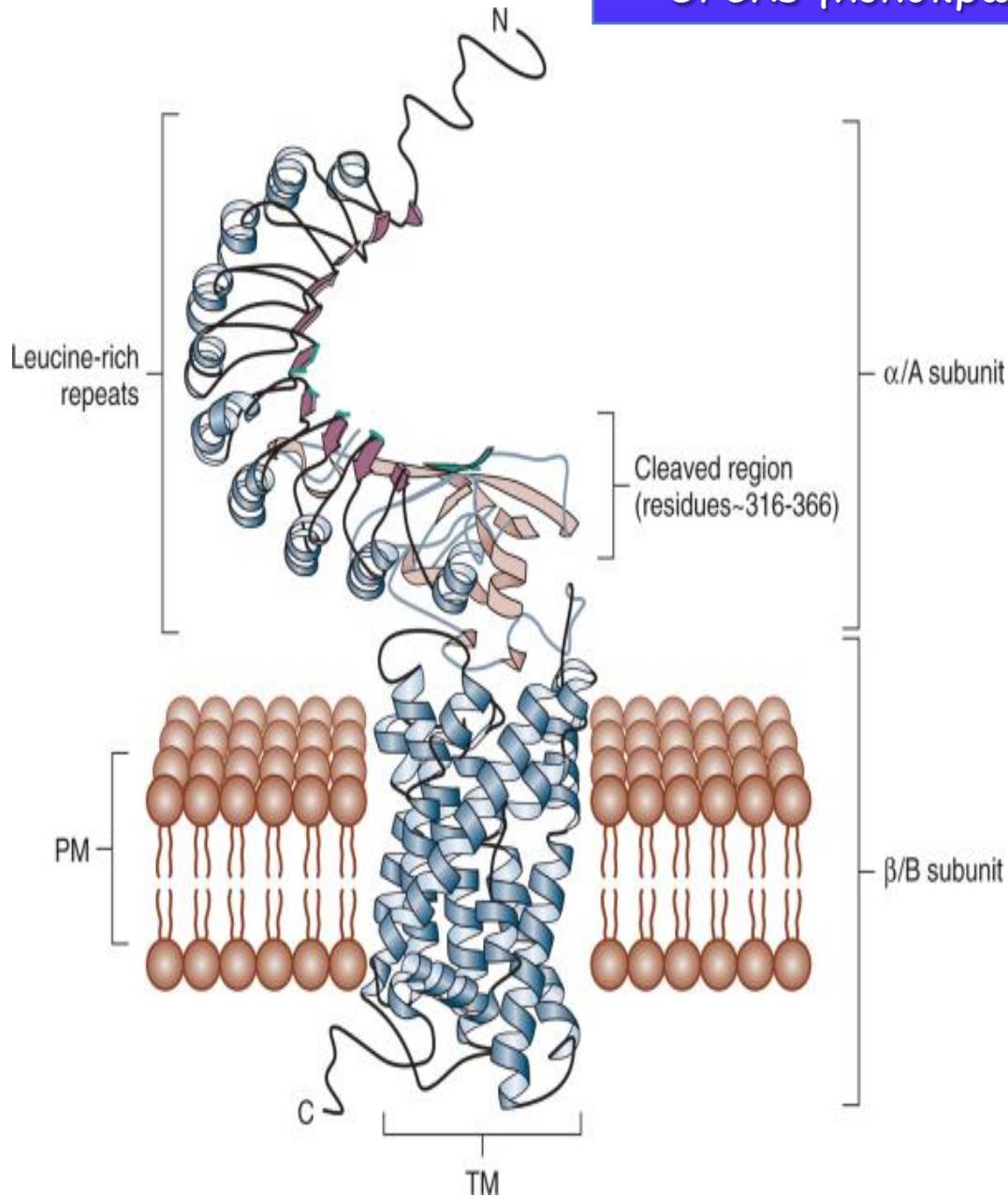


Apoptosis, cell adhesion, cell growth, contraction, differentiation, host defense, immunomodulation, inflammation, mitogenesis, receptor transactivation, secretion



Apoptosis, cell cycle, cell growth, cell motility, differentiation, host defense, immune response, inflammation, metabolic response, receptor transactivation, regulation, secretion, shape change

GPCRs γλυκοπρωτεϊνικών ορμονών GPCRs - 1C



Οι γλυκοπρωτεϊνικές ορμόνες, θυλακιοτροπίνη (FSH: follicle stimulating hormone), ωχρινοτροπίνη (LH: lutropin), ανθρώπινη χοριακή γοναδοτροπίνη (hCG: human chorionic gonadotropin) είναι διμερείς πρωτεΐνες περίπου 30 kDa που αποτελούνται από μια κοινή α-υπομονάδα και μια εξειδικευμένη β-υπομονάδα.

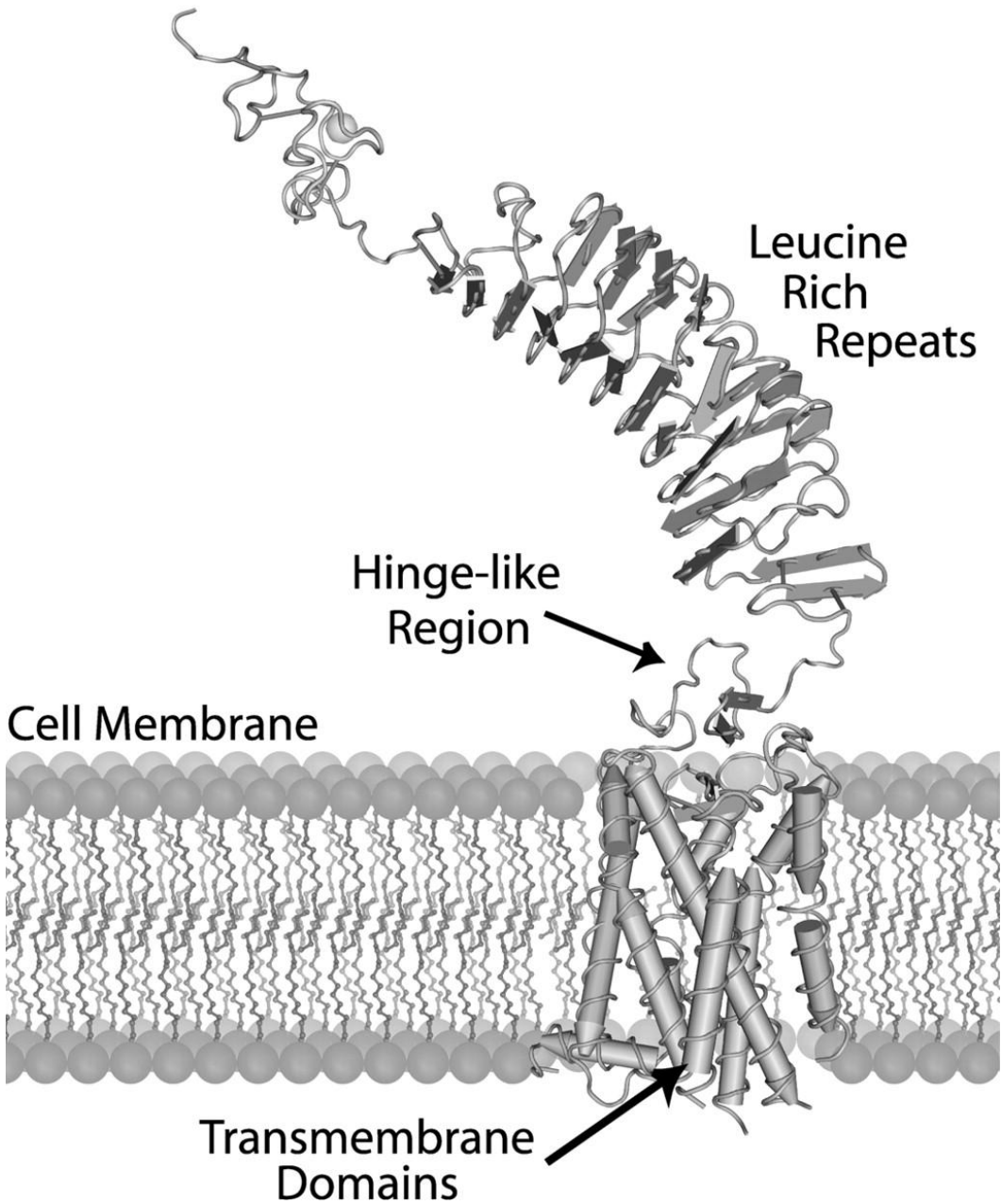
LDLa Module

Leucine Rich Repeats

Hinge-like Region

Cell Membrane

Transmembrane Domains

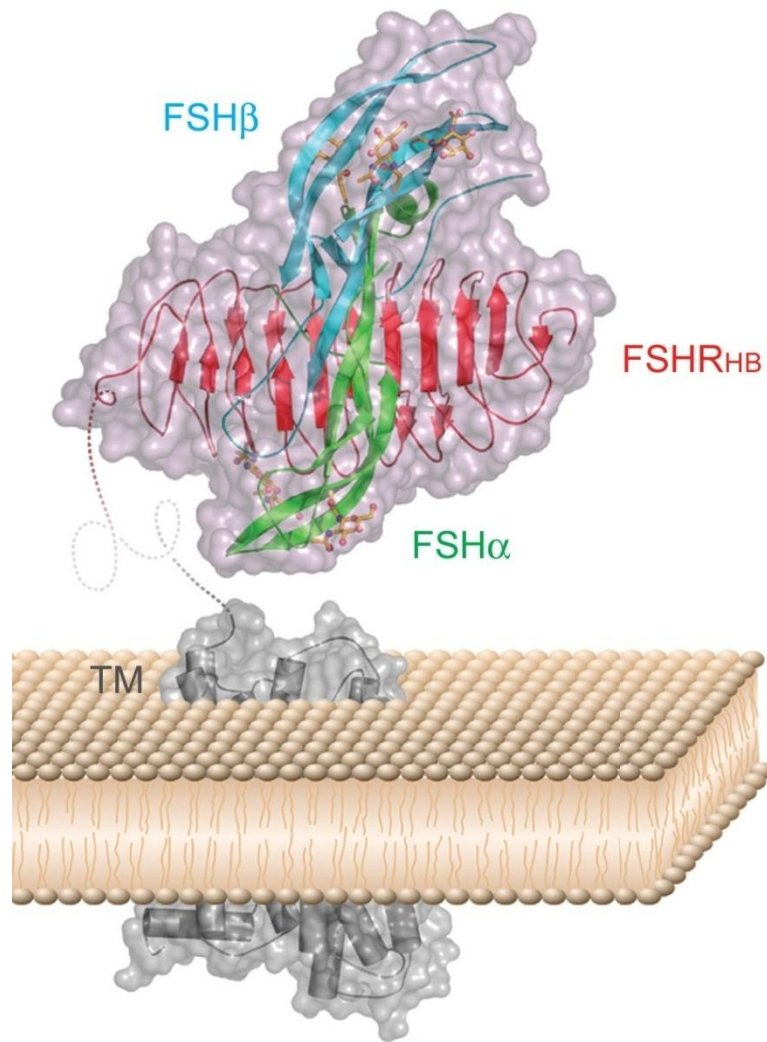


FSH β

FSHR_{HB}

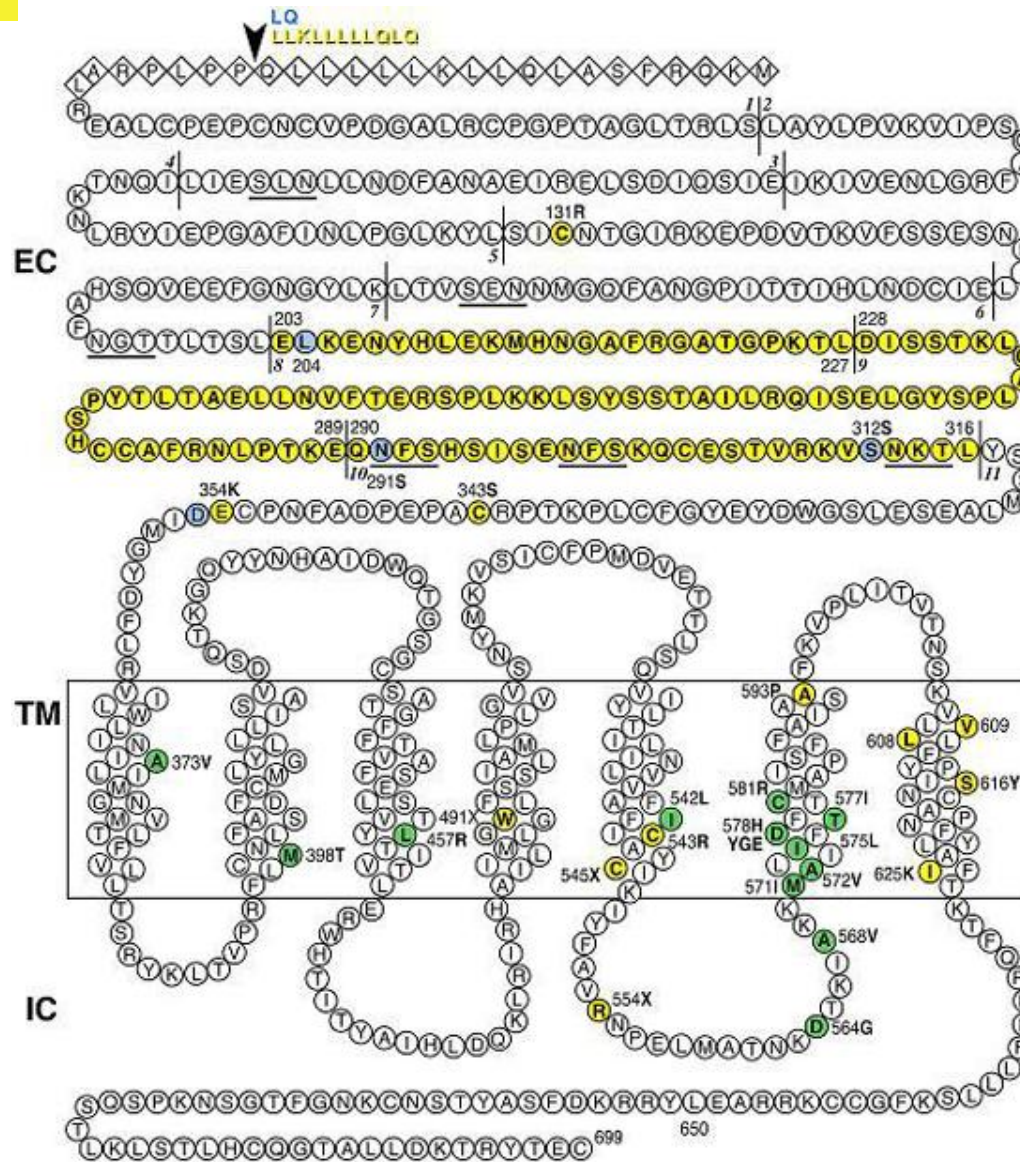
FSH α

TM



LH-R / hCG-R

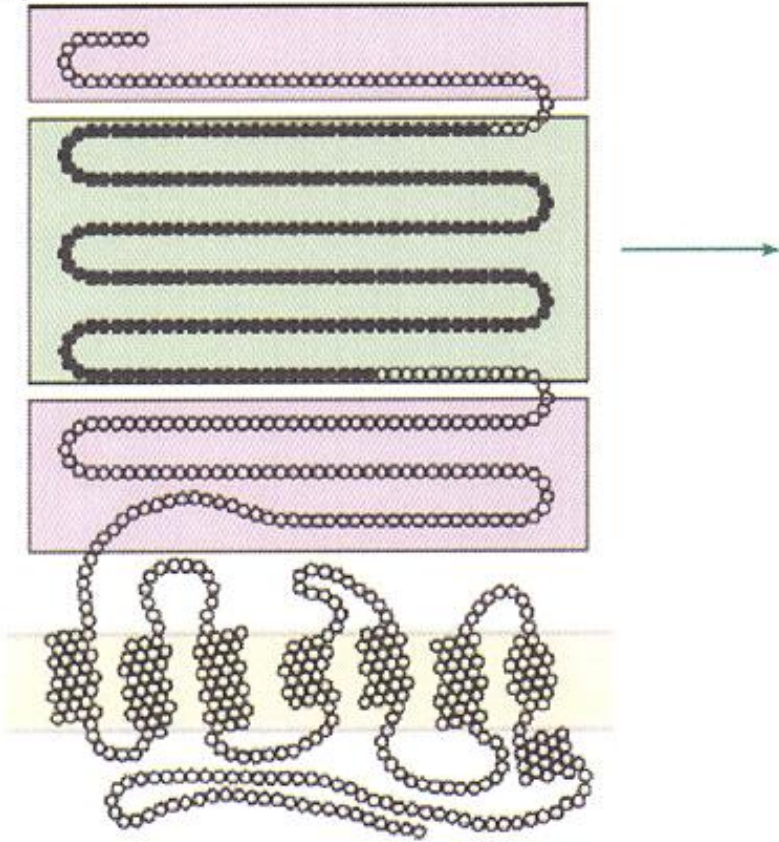
ectodomain



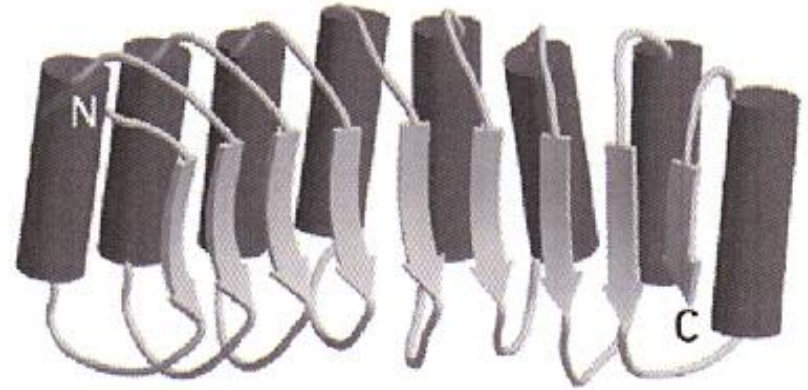
-NH₂:
350-
400
ααααα

Χαρακτηριστική δομή του υποδοχέα της LH/hCG. Διακρίνεται το μεγάλο εξωκυτταρικό -NH₂ άκρο που χαρακτηρίζει αυτήν την υπο-οικογένεια.

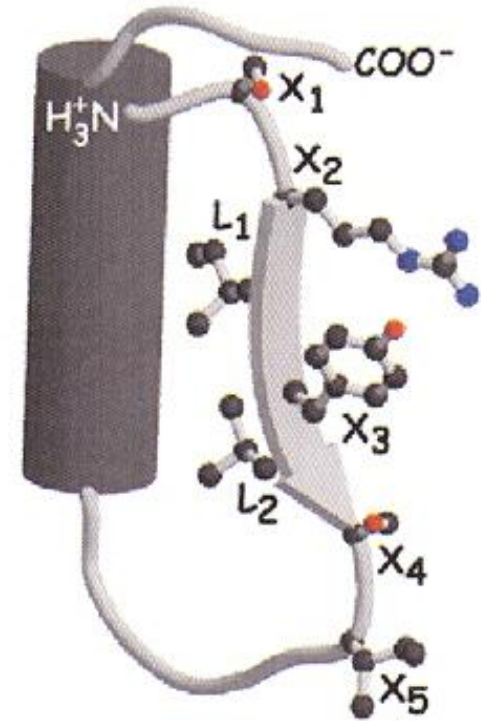
(a)



(b) Επαναλήψεις πλούσιες σε λευκίνη

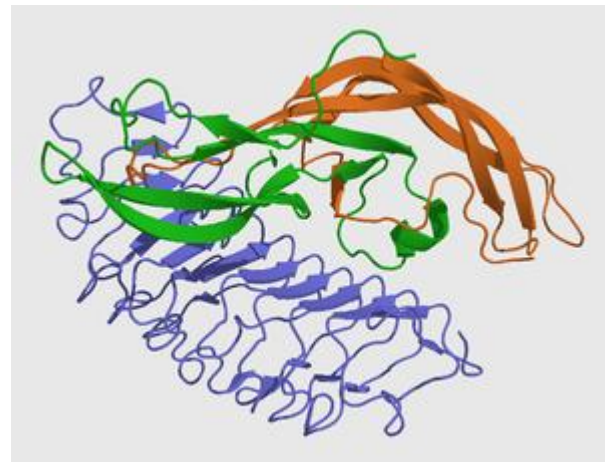


(c)

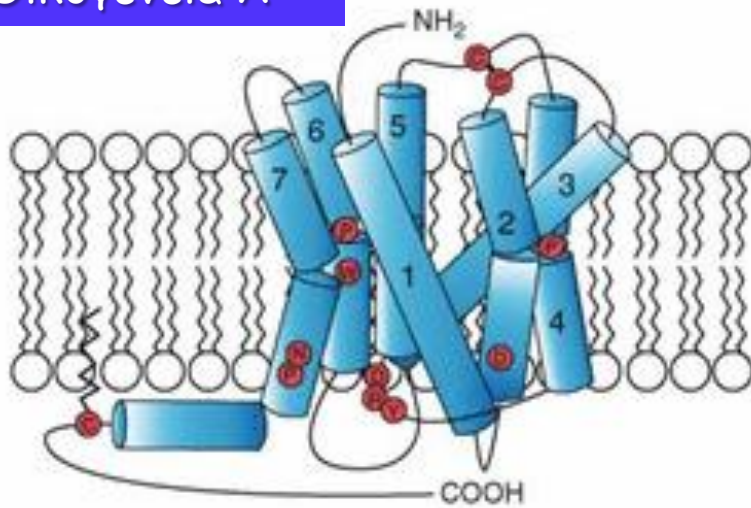


Τα κατάλοιπα που συμμετέχουν στη σύνδεση του προσδέτη είναι μη-λευκίνες που βρίσκονται στα β-πτυχωτά φύλλα (X₁, X₂, X₃, X₄, X₅).

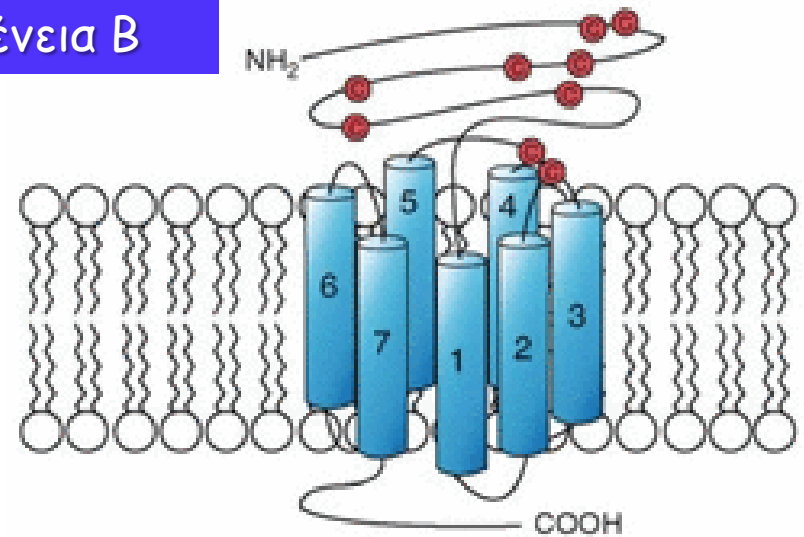
Το -NH₂ τελικό άκρο αποτελείται από μια περιοχή 9 επαναλήσεων λευκίνης, η οποία περιβάλλεται (πάνω και κάτω) από περιοχές πλούσιες σε κυστεΐνη.



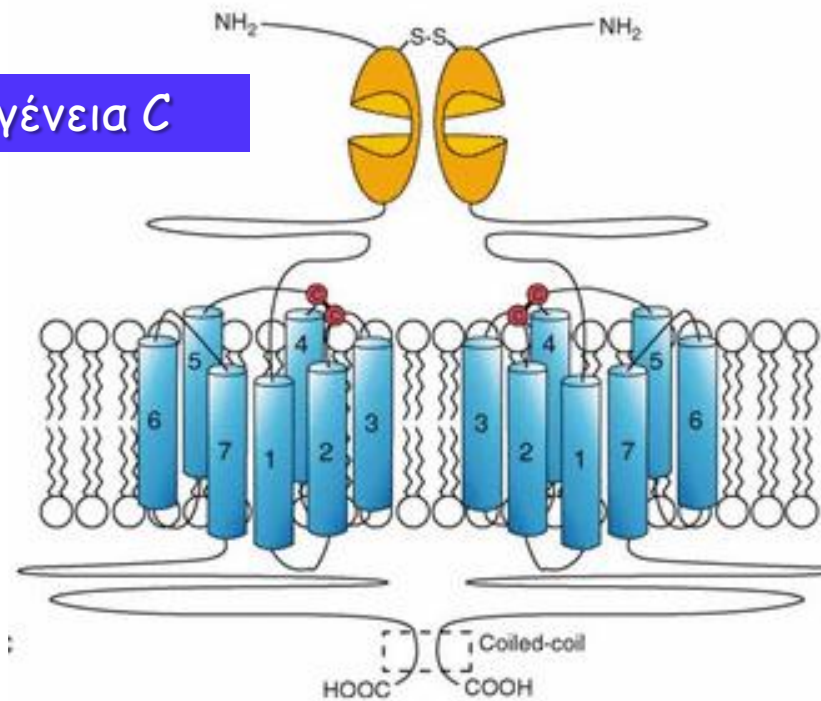
Οικογένεια Α



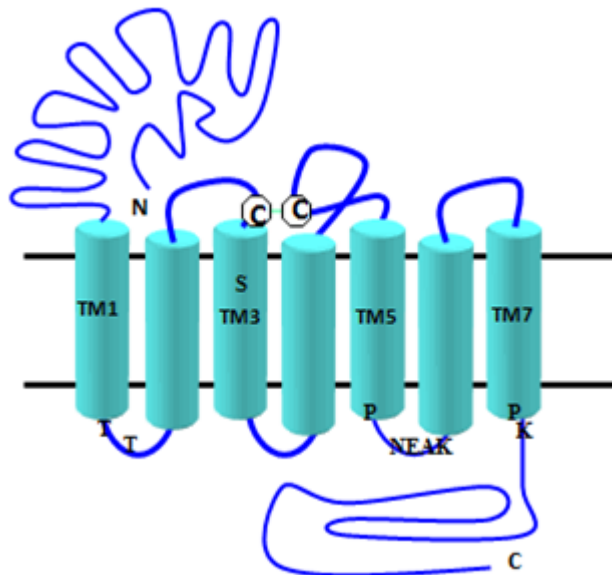
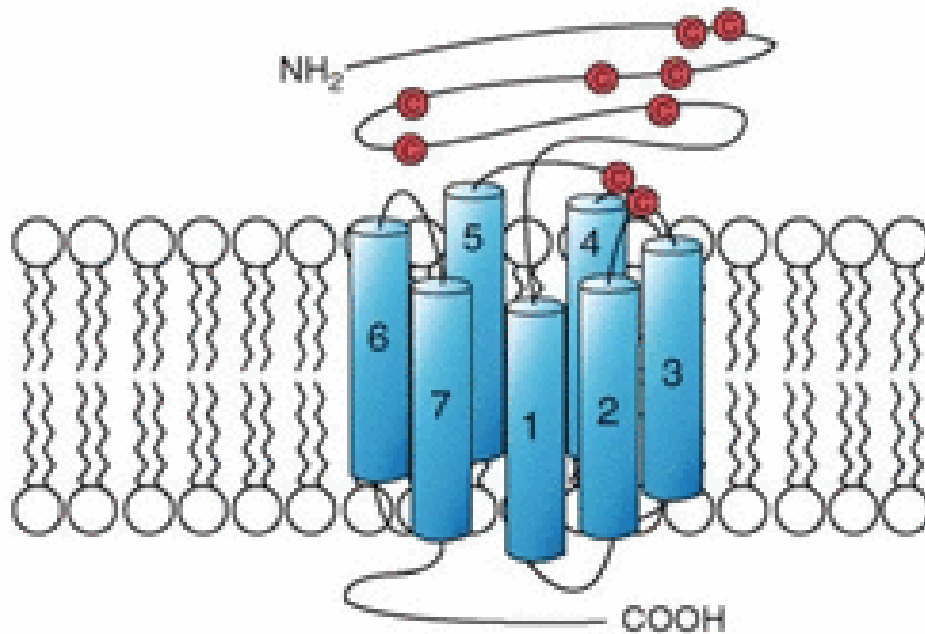
Οικογένεια Β



Οικογένεια C

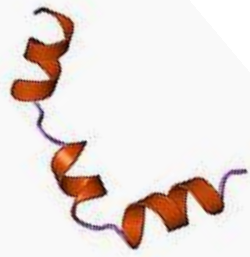
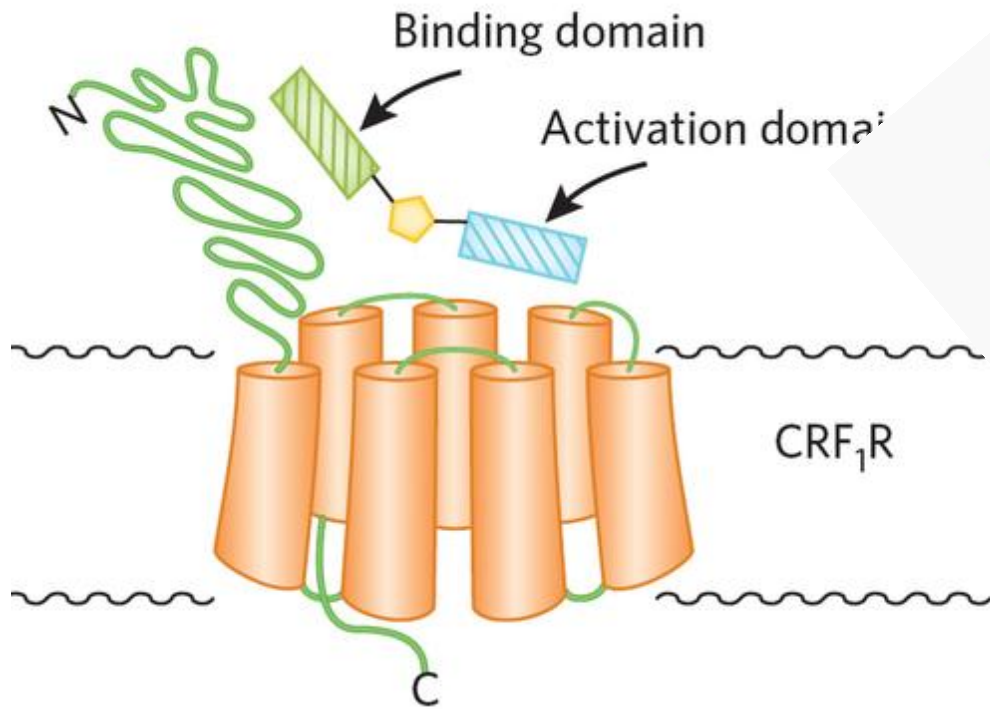


Οικογένεια Β: Σεκρετίνης

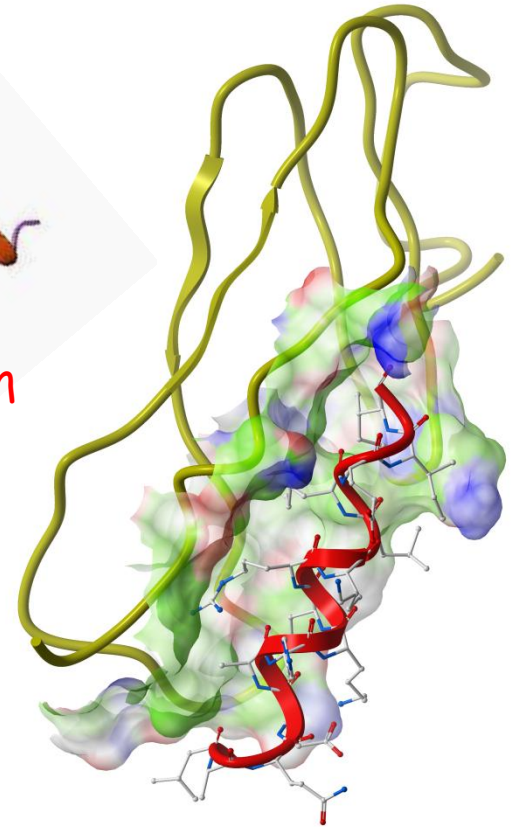


Η οικογένεια Β περιλαμβάνει 50 GPCRs, από τους οποίους μόνο για 29 έχουν αναγνωρισθεί οι ενδογενείς τους προσδέτες.

Ως προσδέτες των GPCRs της οικογένειας Β έχουν αναγνωρισθεί μεγάλες πεπτιδικές ορμόνες, όπως η CRH (Corticotropin-releasing hormone), GHRH (Growth-hormone-releasing hormone), γλυκαγόνη, καλσιτονίνη, σεκρετίνη, VIP (Vasoactive intestinal peptide), PACAP (Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide), CGRP (Calcitonin gene related peptide) και παραθυρεοειδής ορμόνη (PTH). Οι προσδέτες των GPCRs της οικογένειας Β συνδέονται μεγάλο στο NH₂-τελικό εξωκυτταρικό άκρο του υποδοχέα.



σεκρετίνη



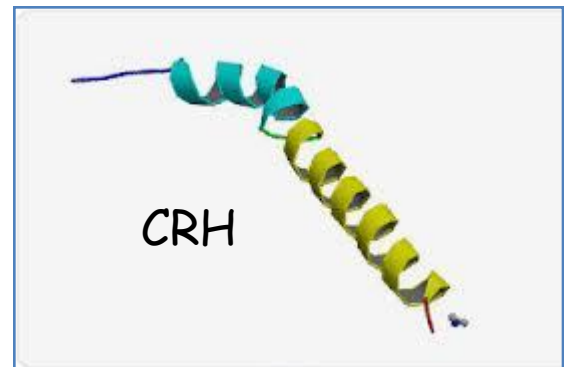
GHRH (Growth-hormone-releasing hormone)



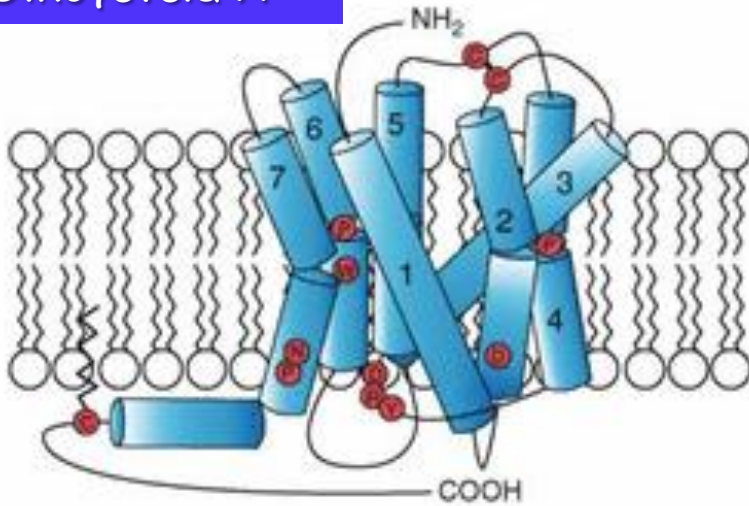
VIP



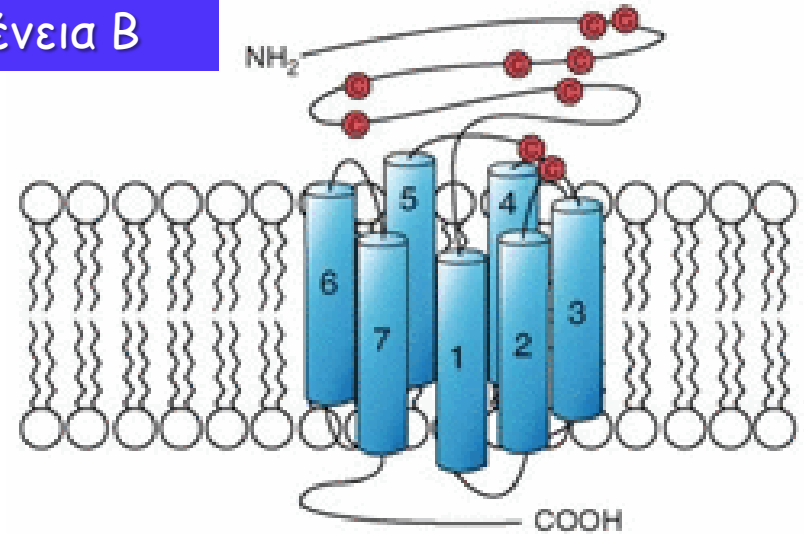
CRH



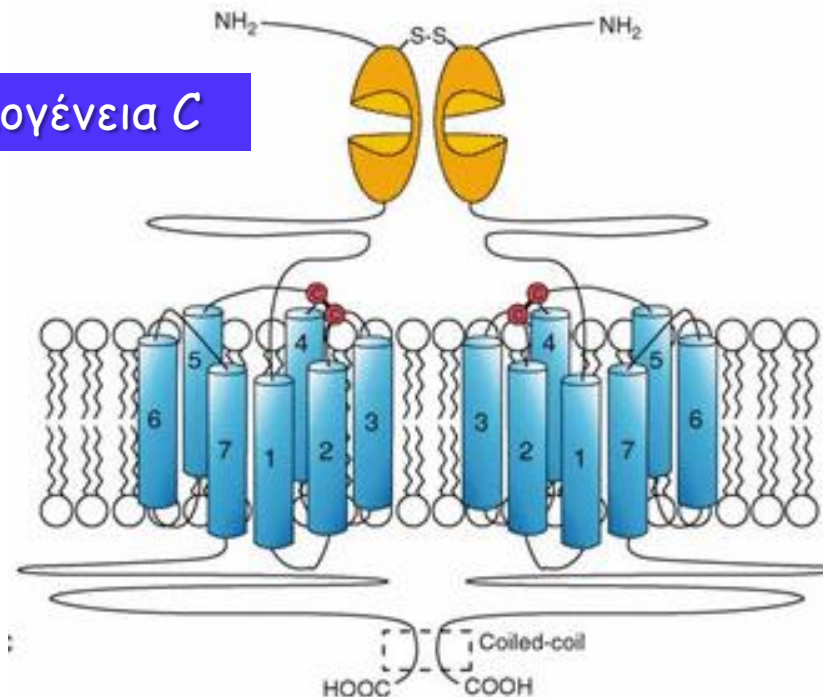
Οικογένεια Α



Οικογένεια Β

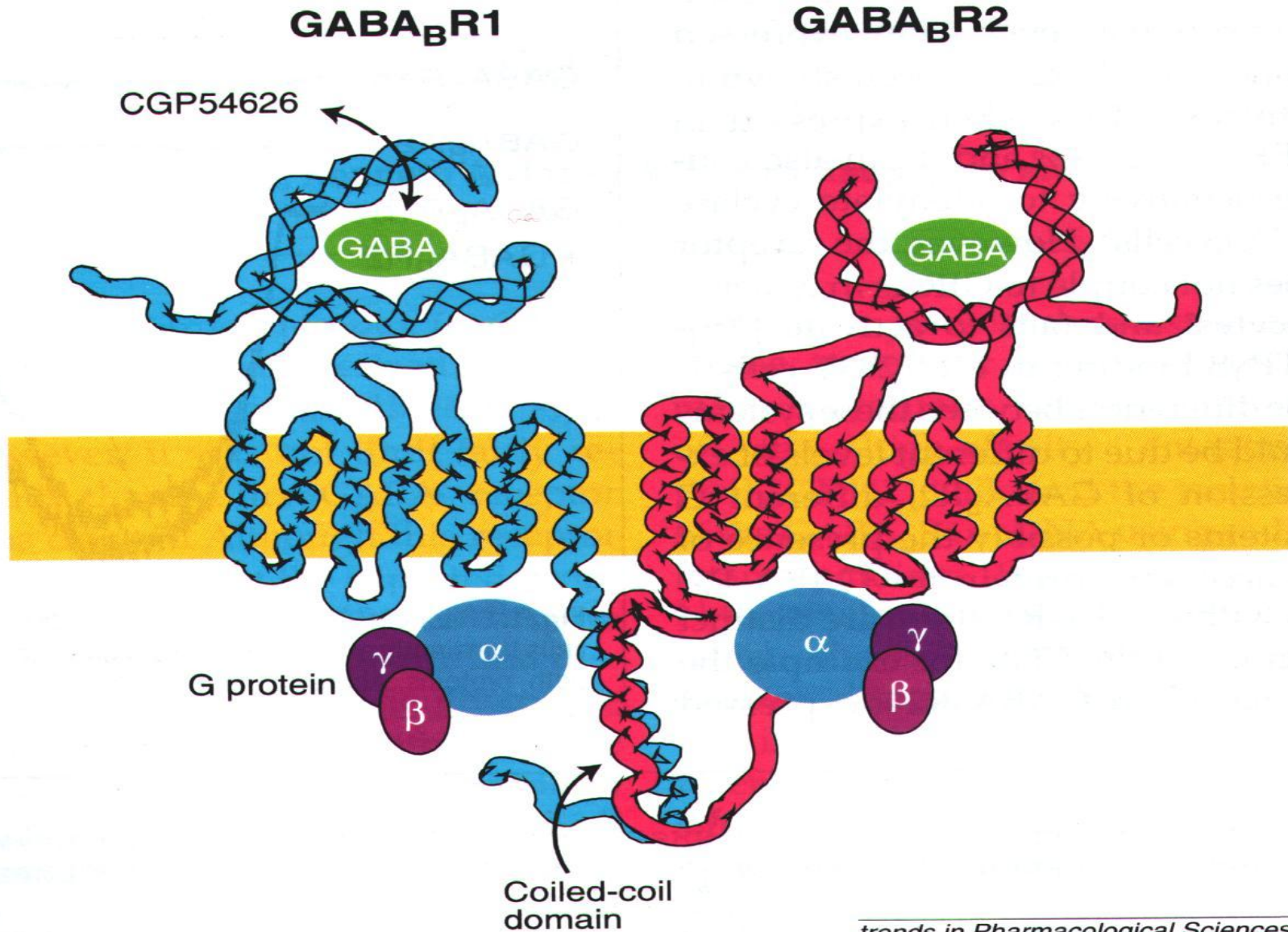


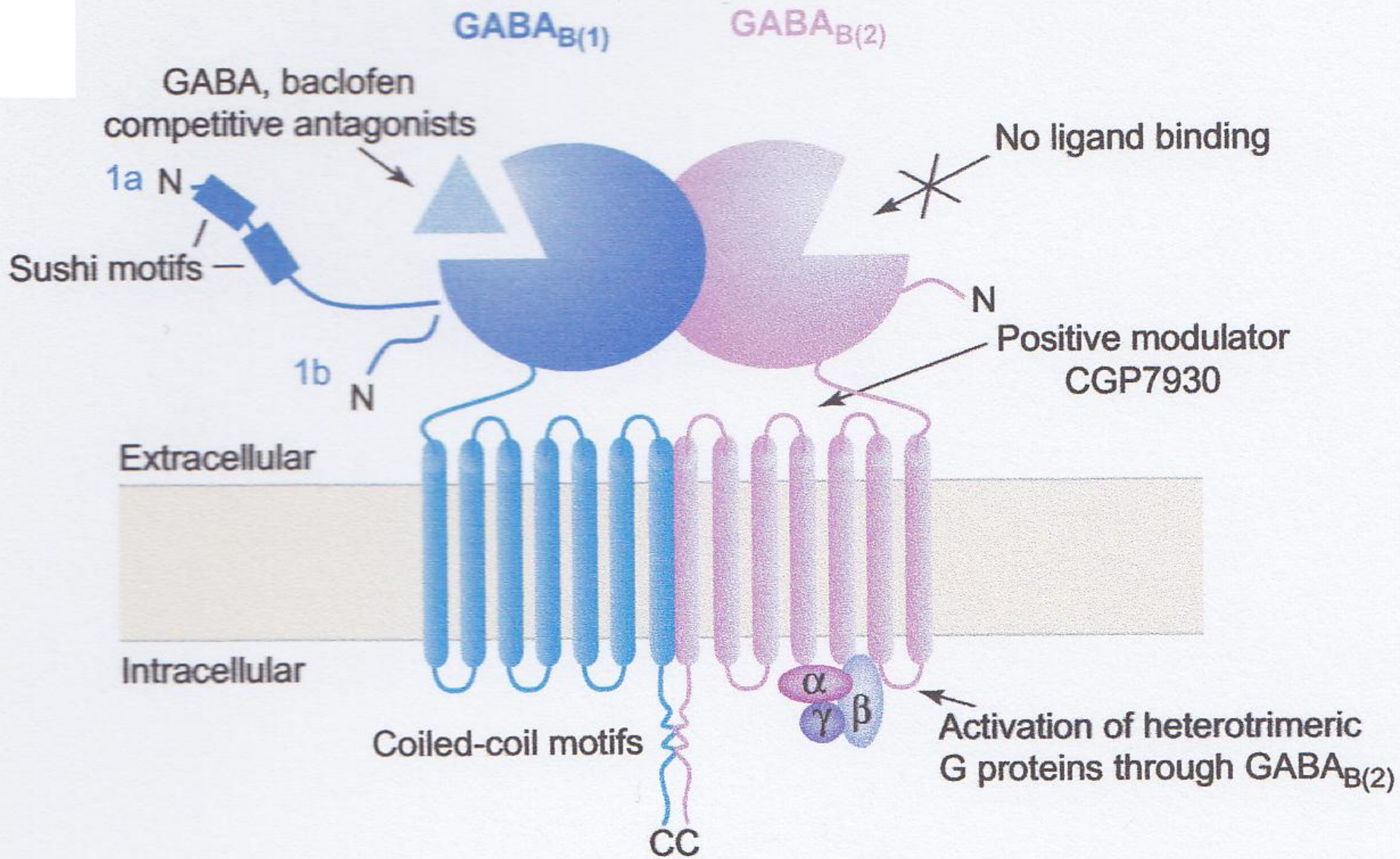
Οικογένεια C

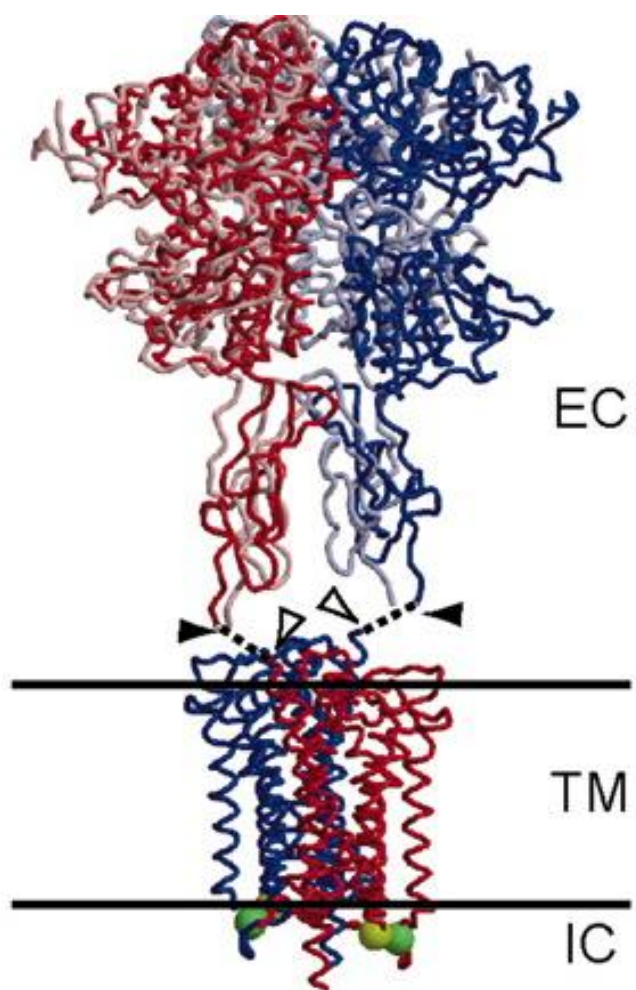


Η οικογένεια C περιλαμβάνει 22 GPCRs, από τους οποίους μόνο για 15 έχουν αναγνωριστεί οι ενδογενείς προσδέτες. Στους υποδοχείς της οικογένειας C ανήκουν οι μεταβροπικοί υποδοχείς του γλουταμινικού, οι αισθητήρες Ca^{2+} και οι υποδοχείς του γ-αμινοβουτυρικού οξέος $GABA_B$.

GPCRs οι οποίοι ενεργοποιούνται από γλουταμικό, GABA - Family 3





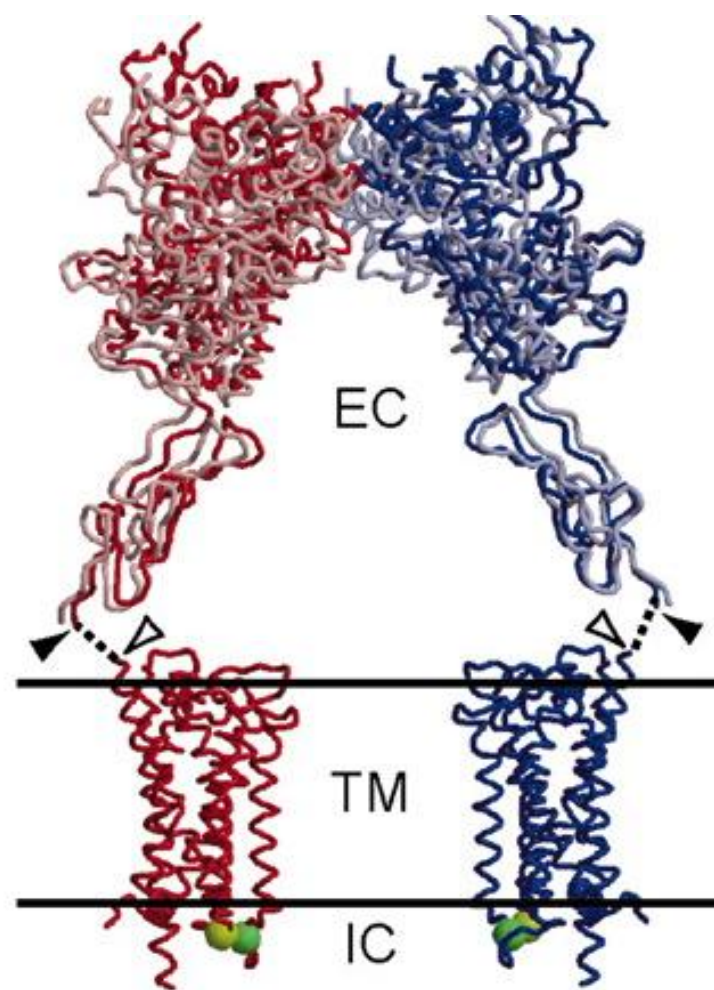


←

Agonist

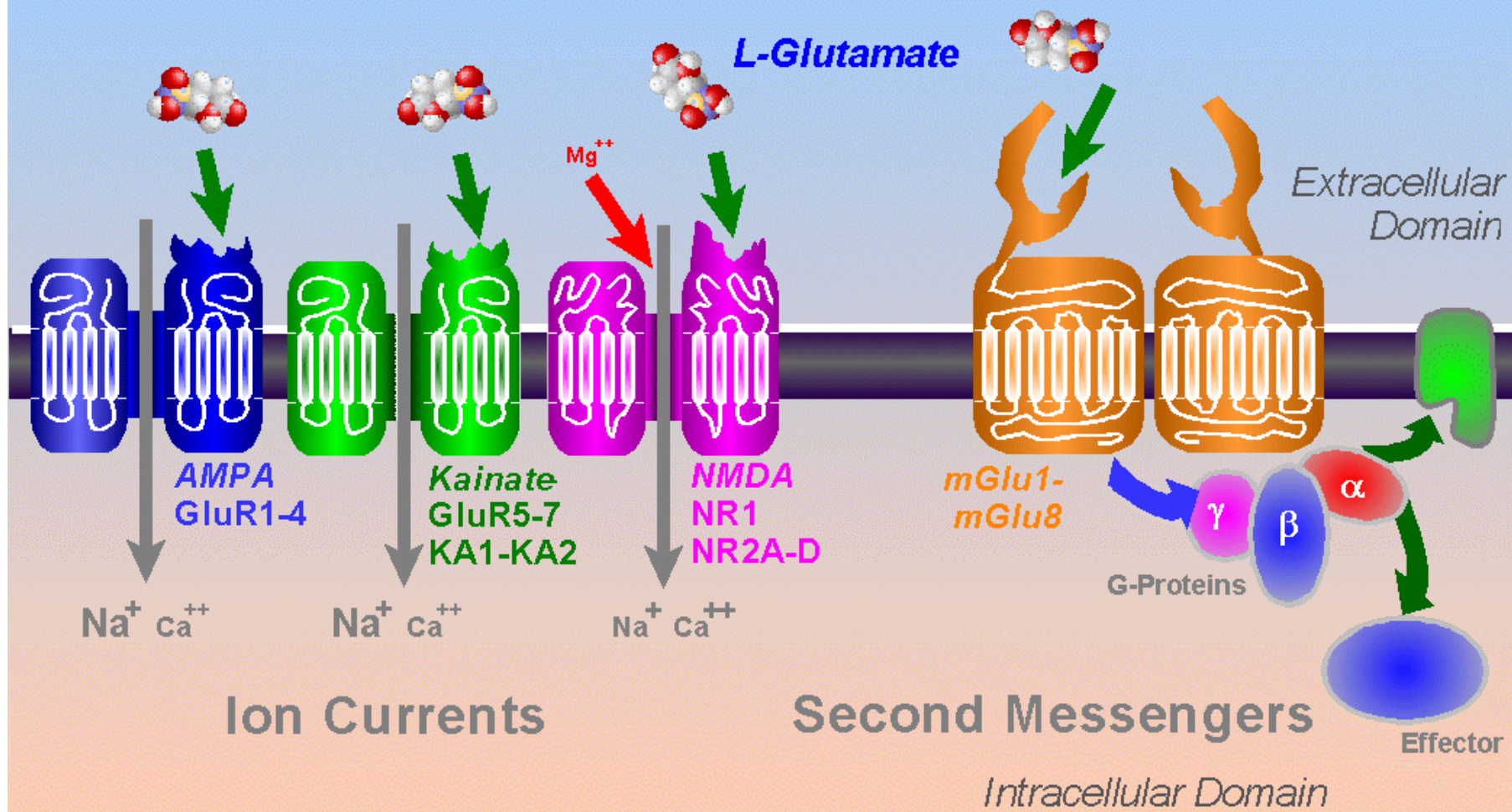
→

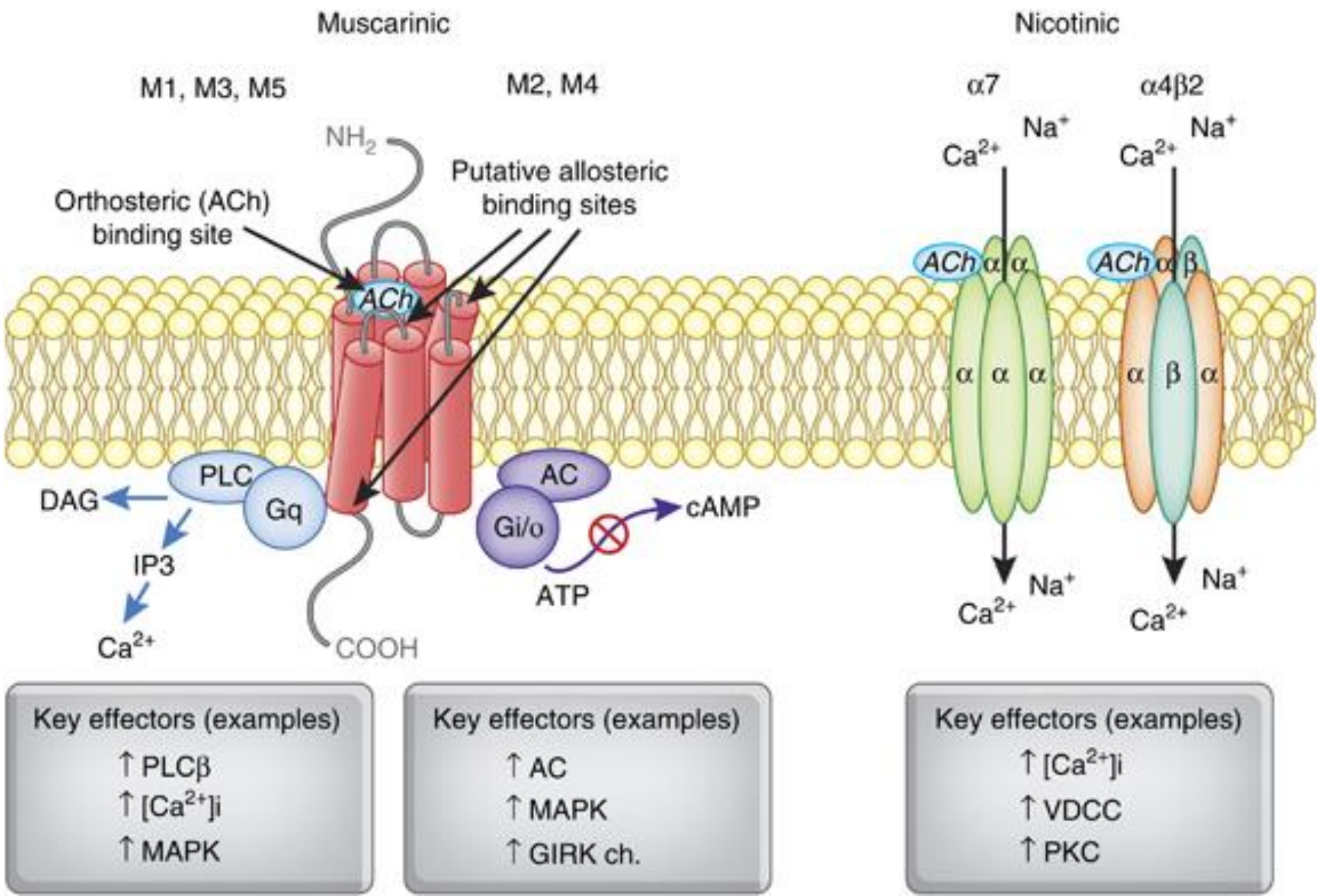
Antagonist



IONOTROPIC GLUTAMATE RECEPTORS

METABOTROPIC GLUTAMATE RECEPTORS





Key effectors (examples)

- ↑ PLCβ
- ↑ [Ca²⁺]_i
- ↑ MAPK

Key effectors (examples)

- ↑ AC
- ↑ MAPK
- ↑ GIRK ch.

Key effectors (examples)

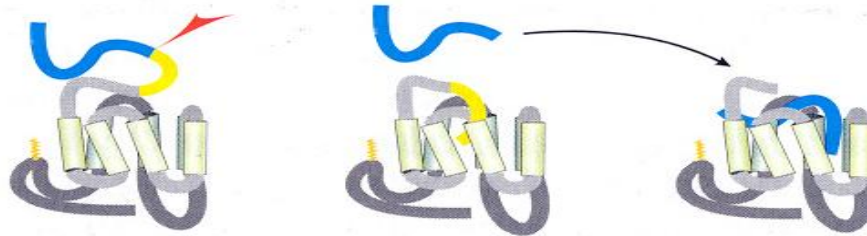
- ↑ [Ca²⁺]_i
- ↑ VDCC
- ↑ PKC

amines, nucleotides,
eicosanoids, etc.



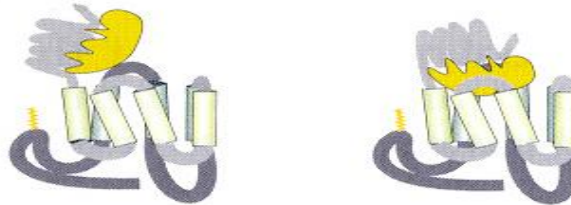
1A

proteinase activated
receptors (PAR)



1B

glycoprotein hormones,
(TSH, LH, FSH, etc.)



1C

peptide hormones



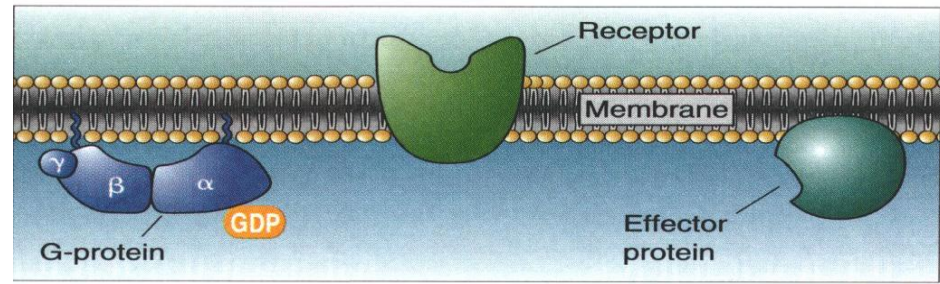
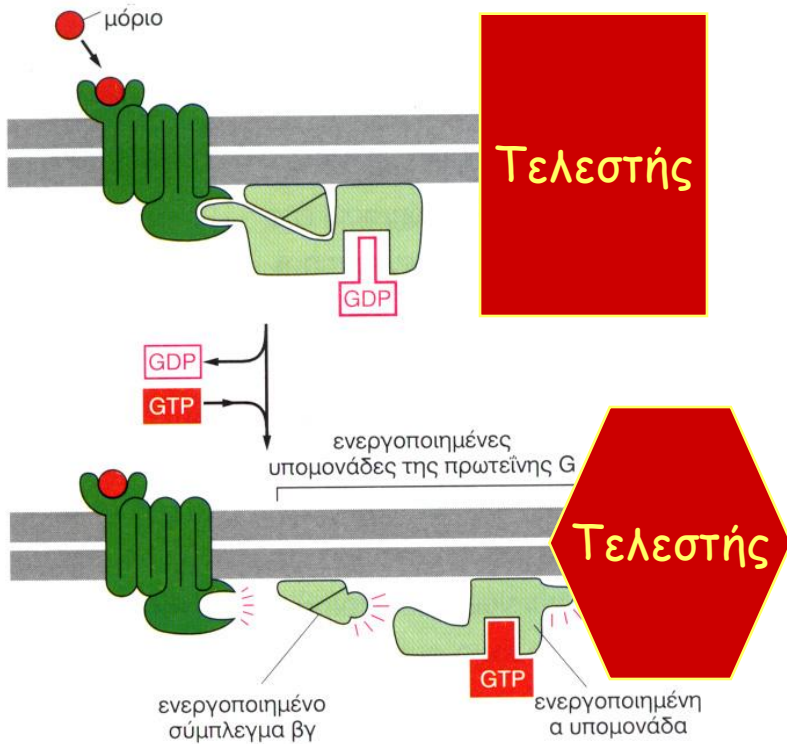
2

Ca^{2+} , glutamate,
GABA_B, etc.

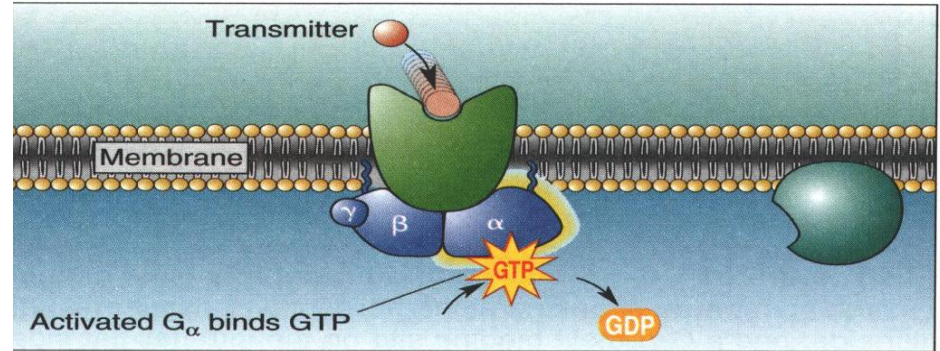


3

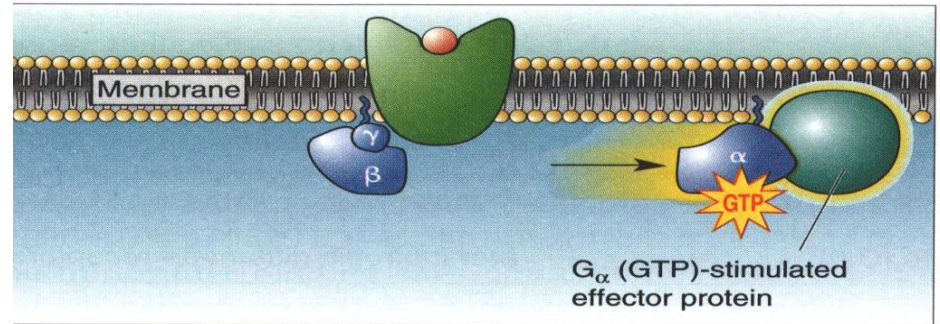
Σύνδεση GPCRs με τις πρωτεΐνες G και ενεργοποίηση του τελεστή



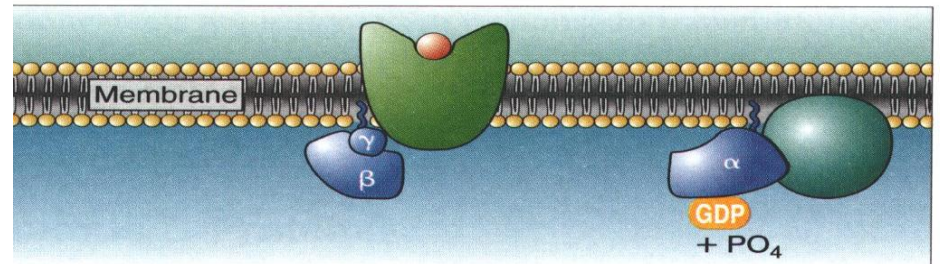
(a)



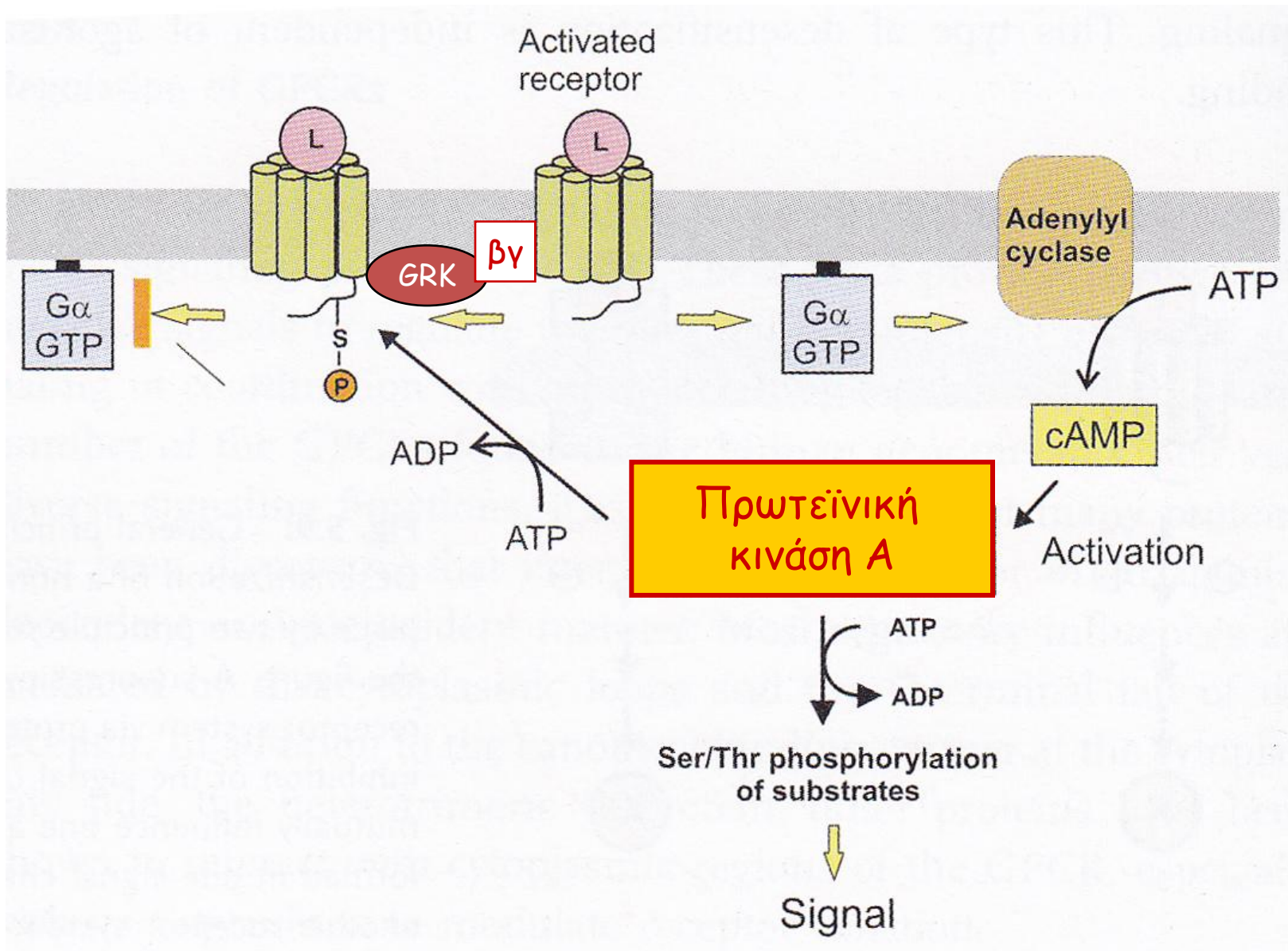
(b)

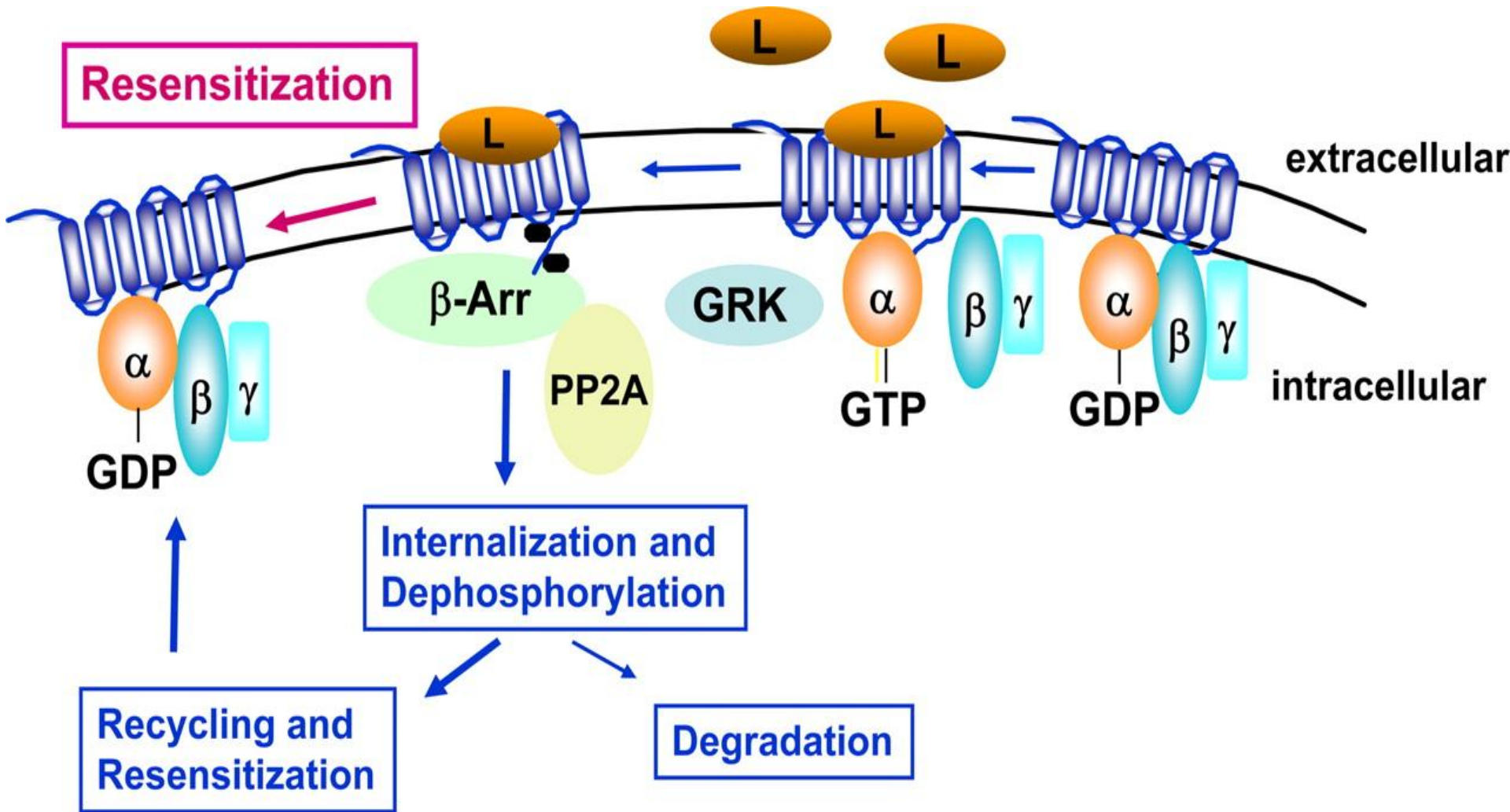


(c)

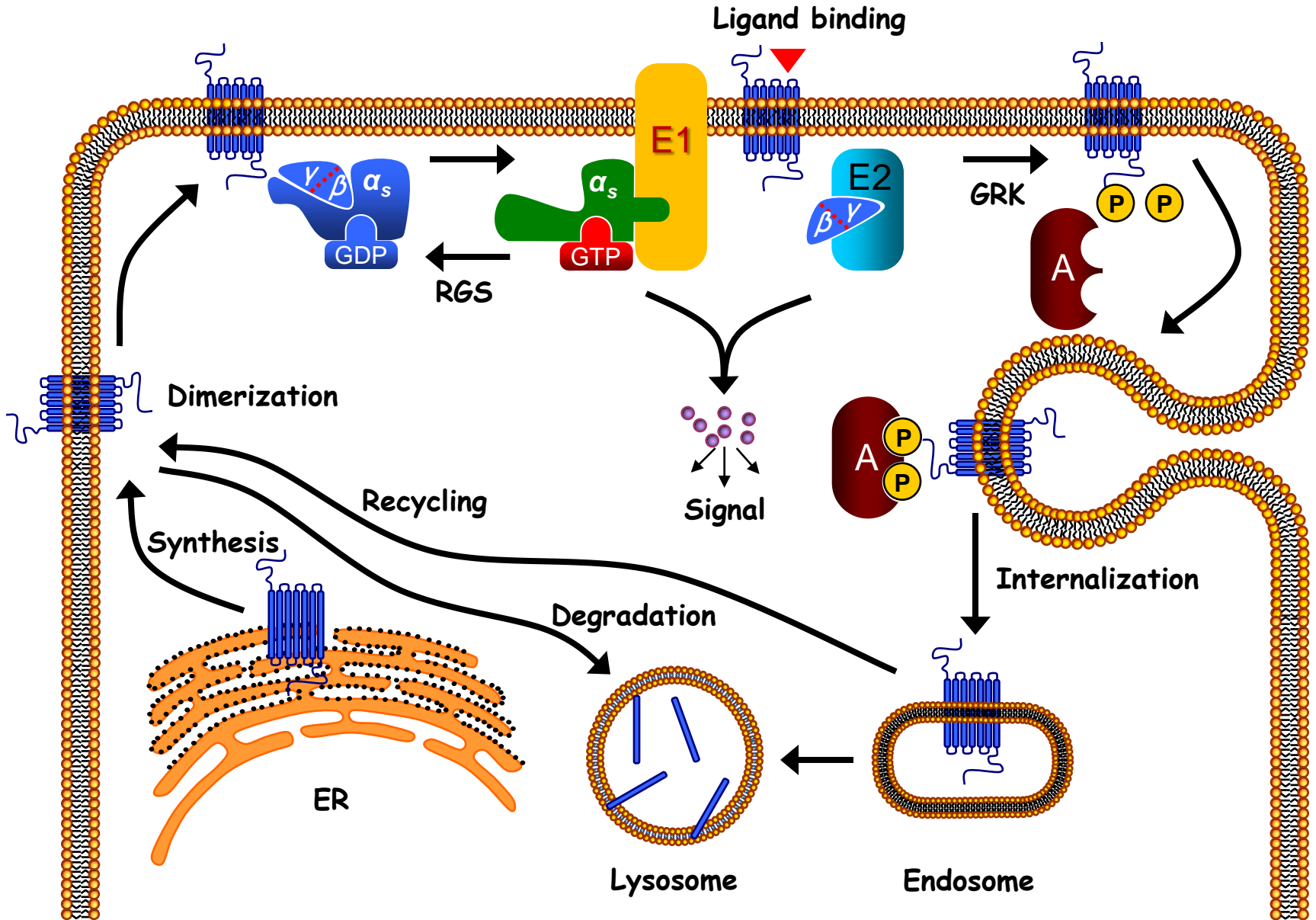


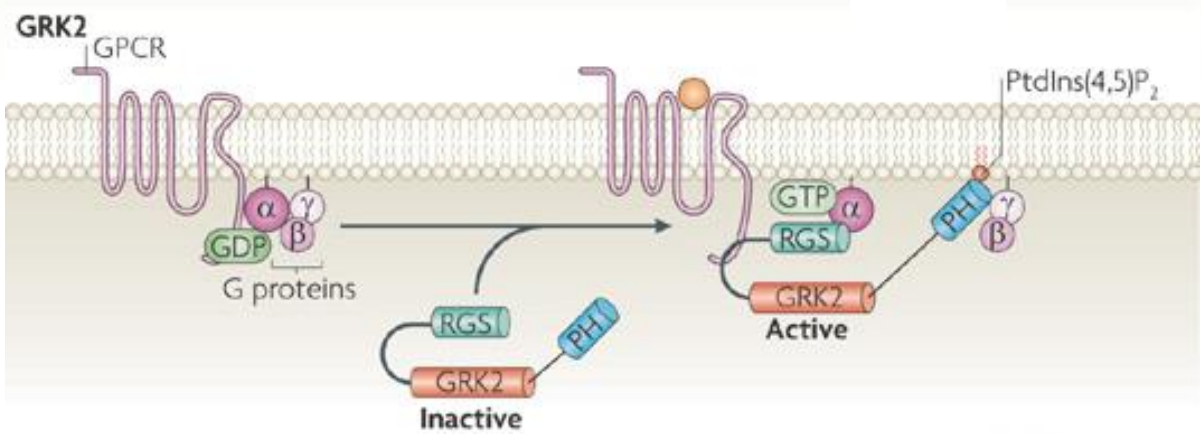
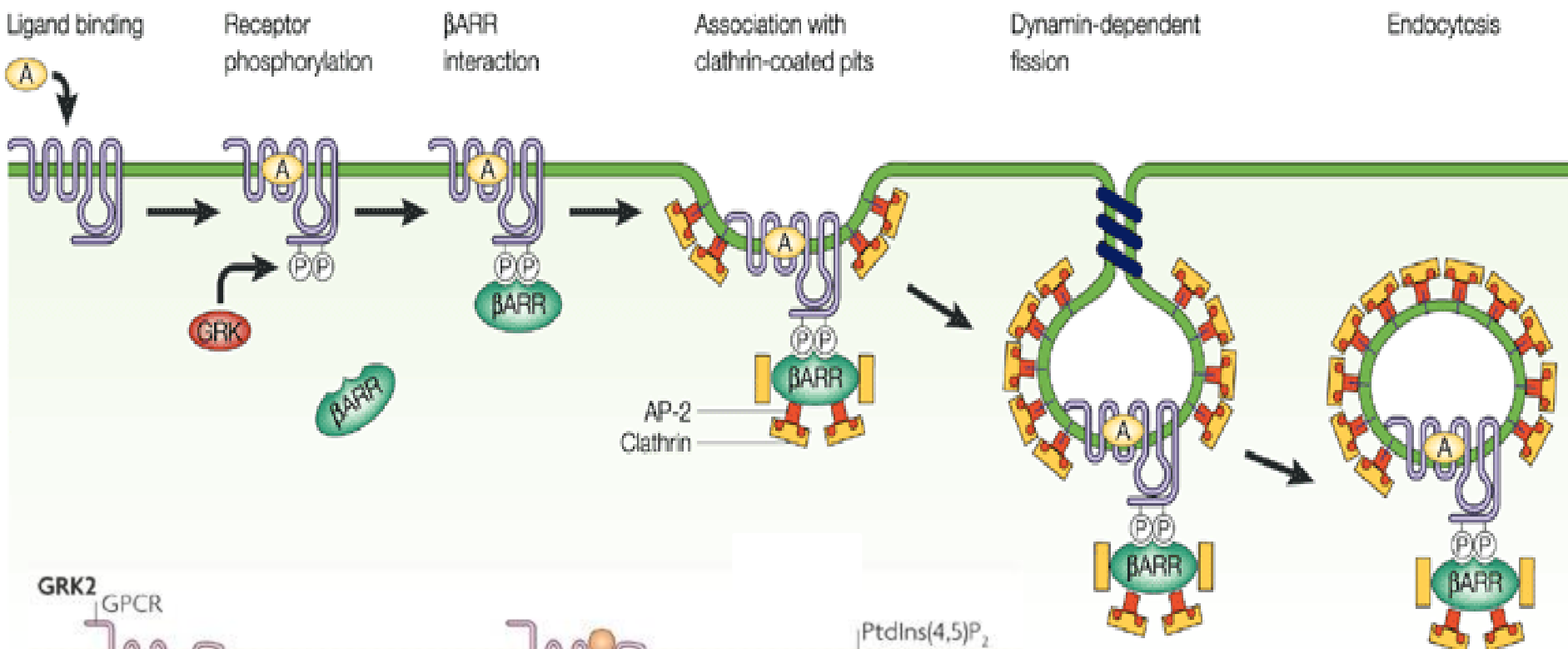
Λήξη του μηνύματος

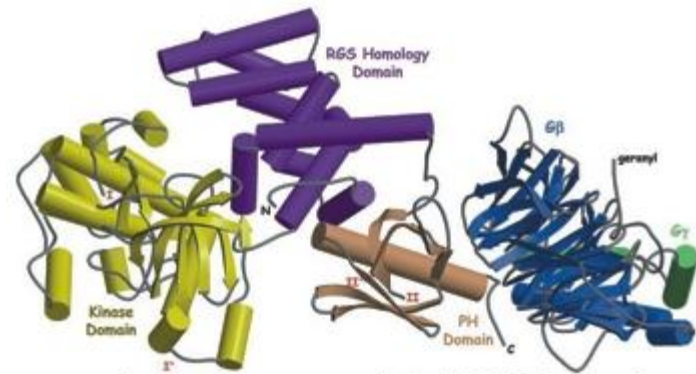
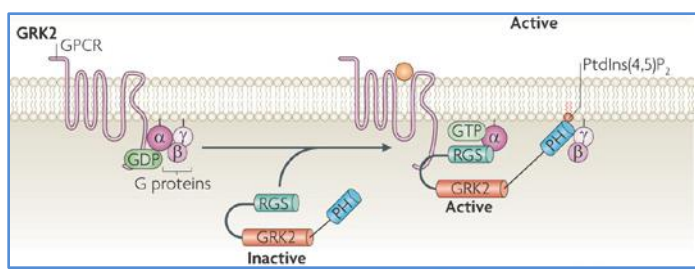




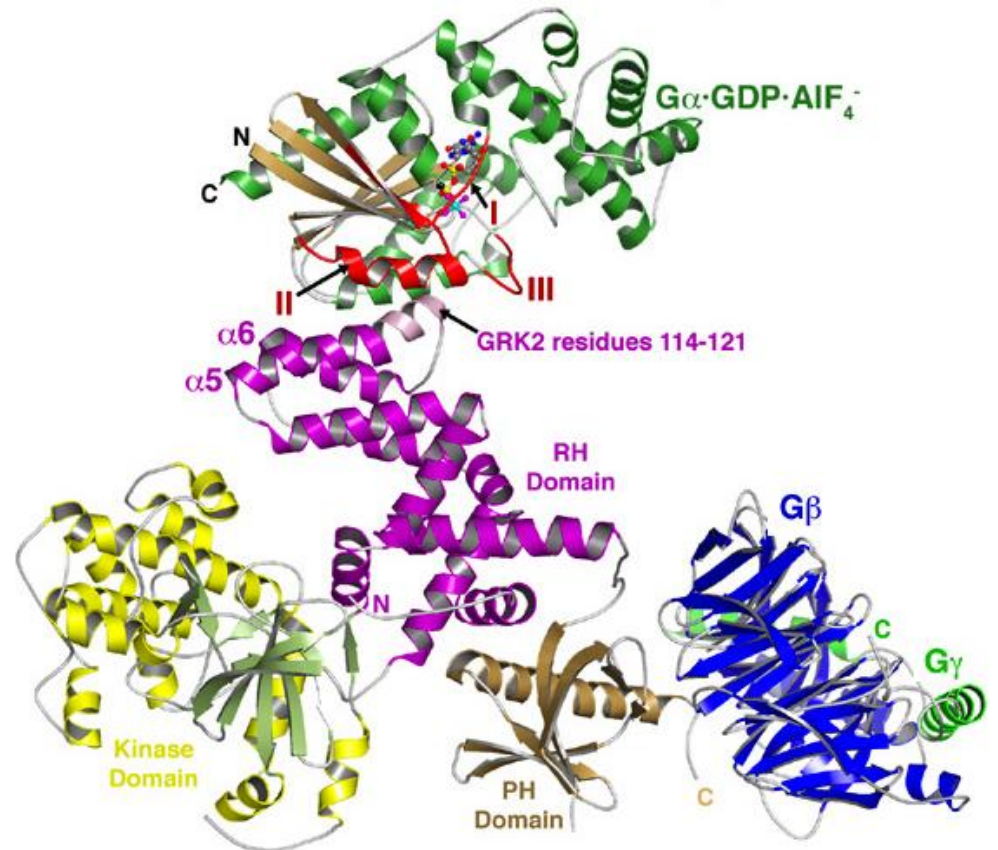
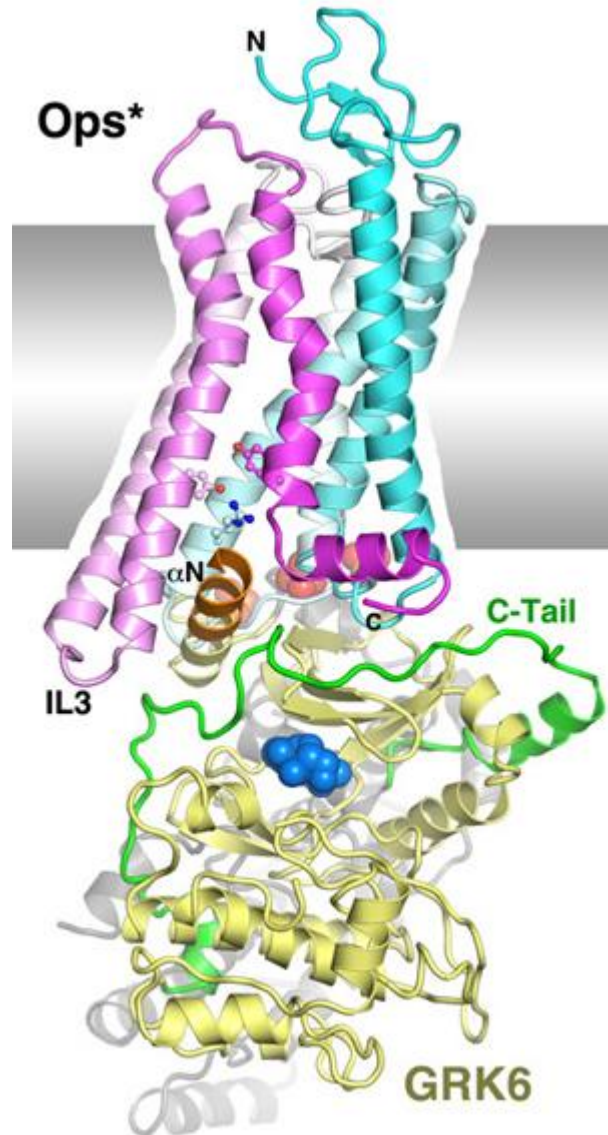
Εσωτερίκευση (internalization) και ανακύκλωση (recycling) του υποδοχέα



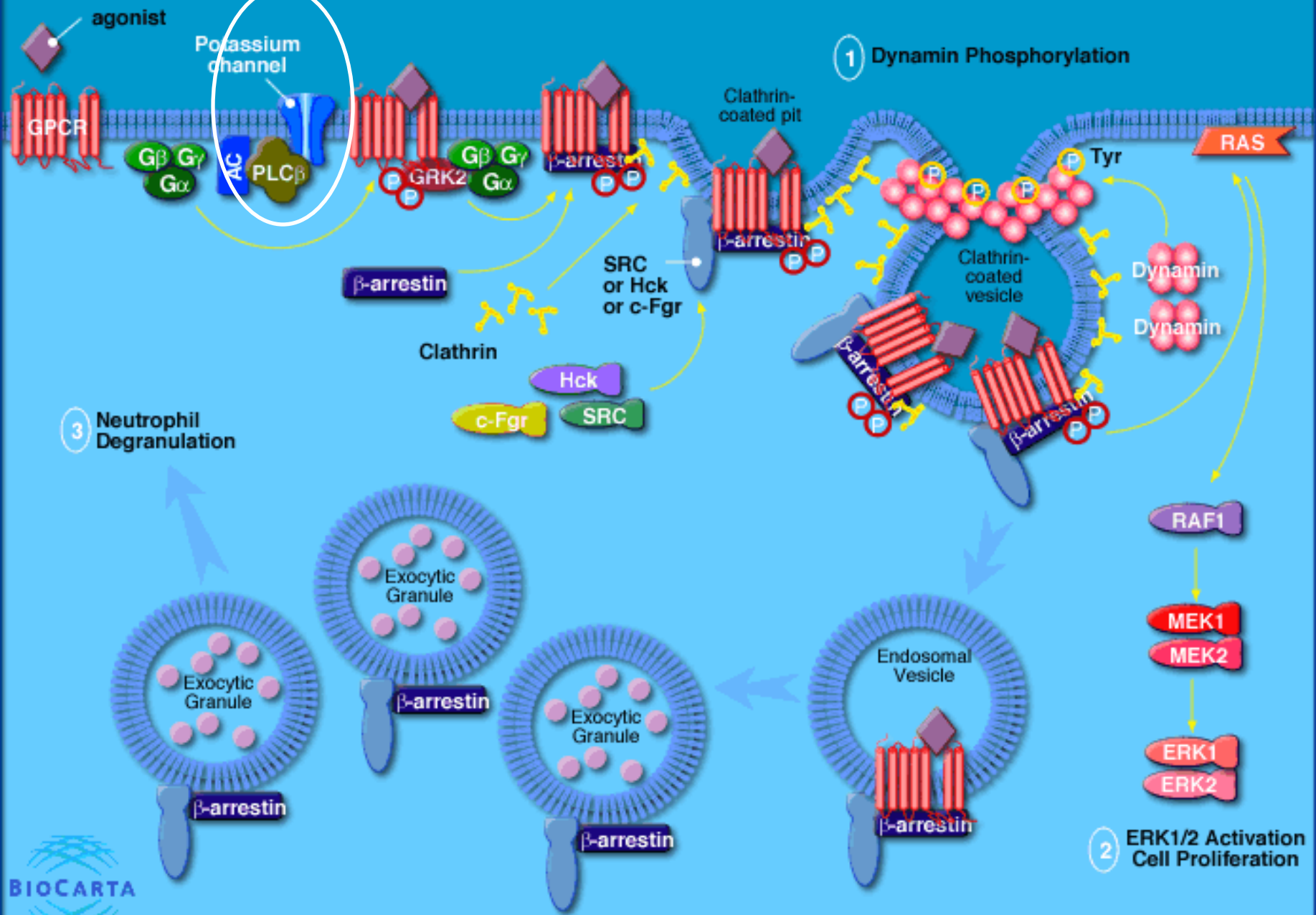




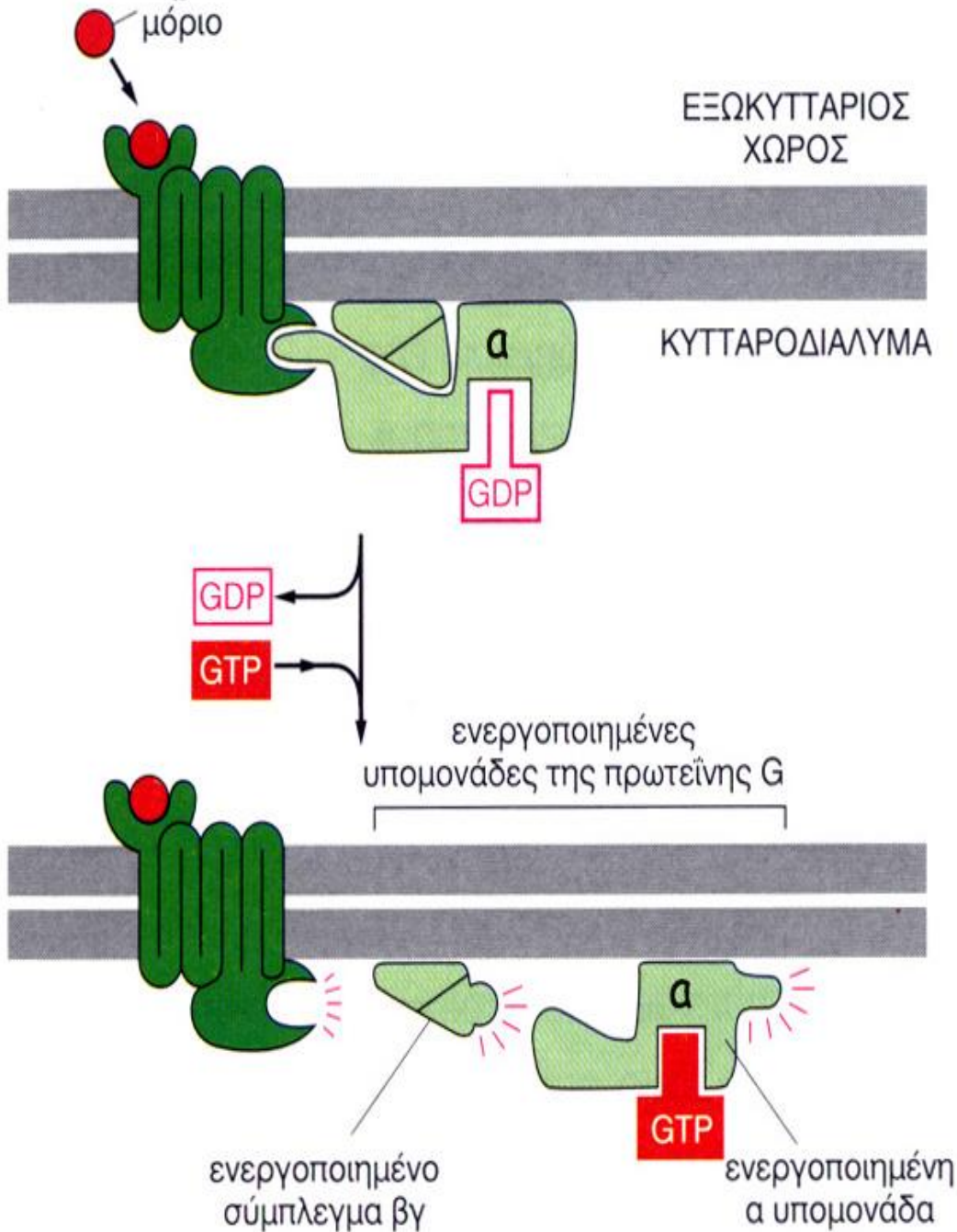
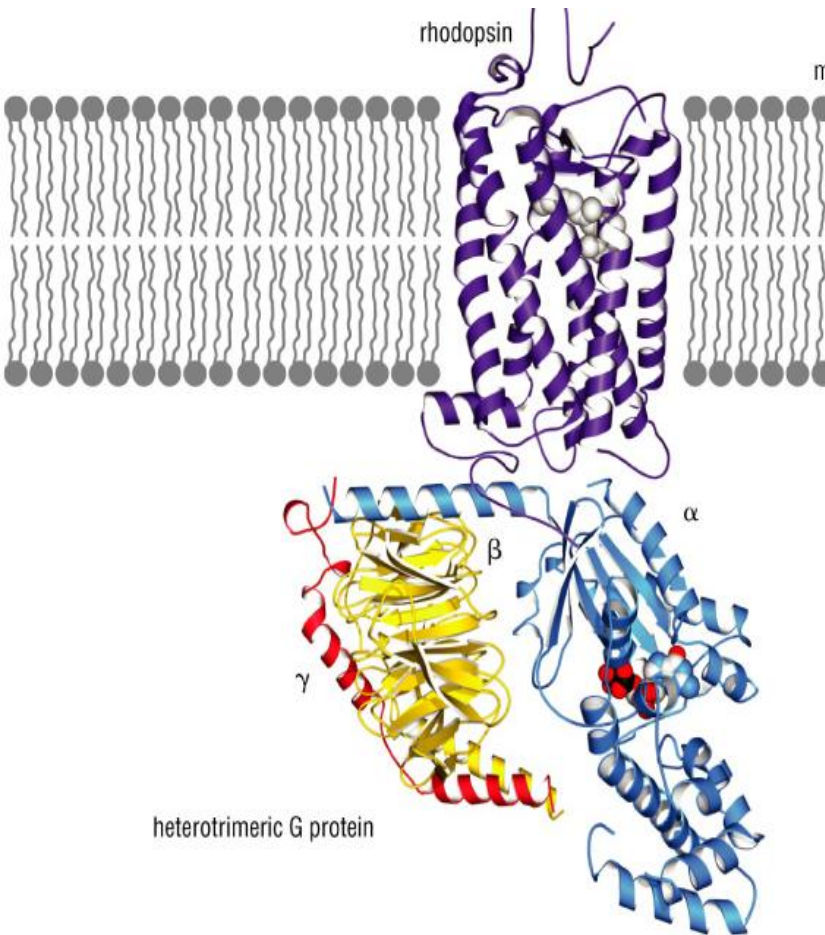
Quaternary structure of the GRK2/Gβγ complex

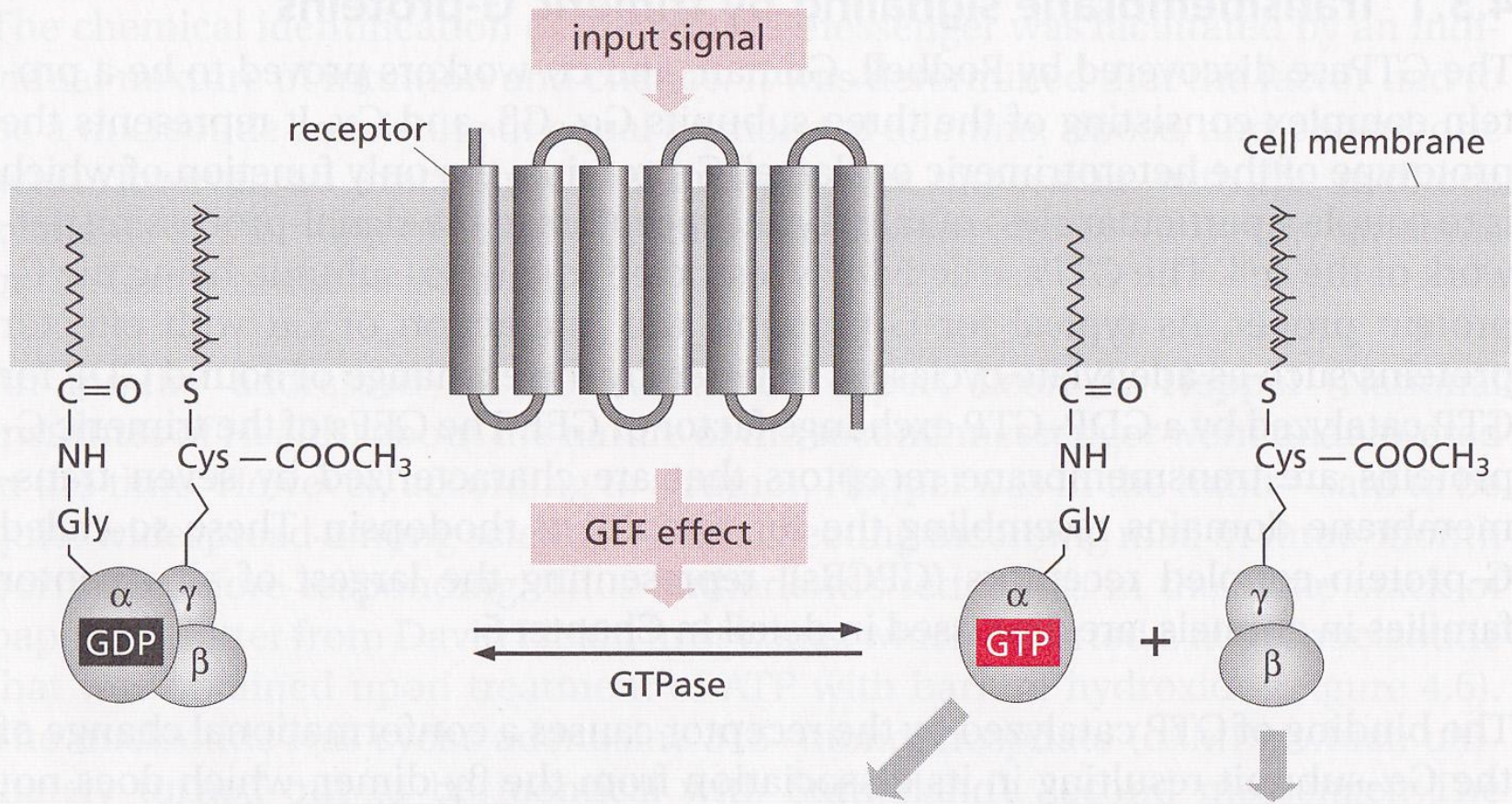


effectors



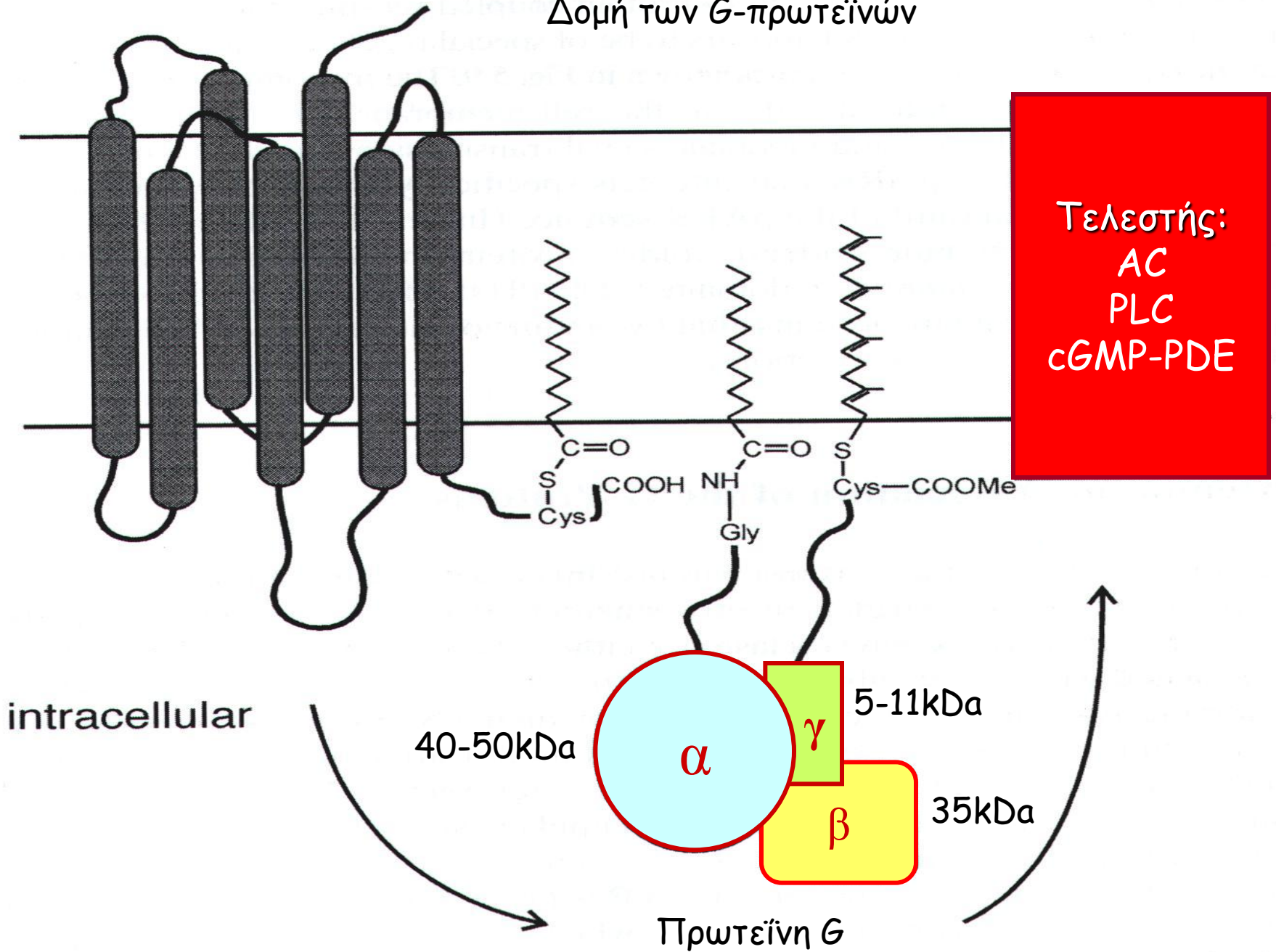
Σύνδεση του GPCR με τις πρωτεΐνες G



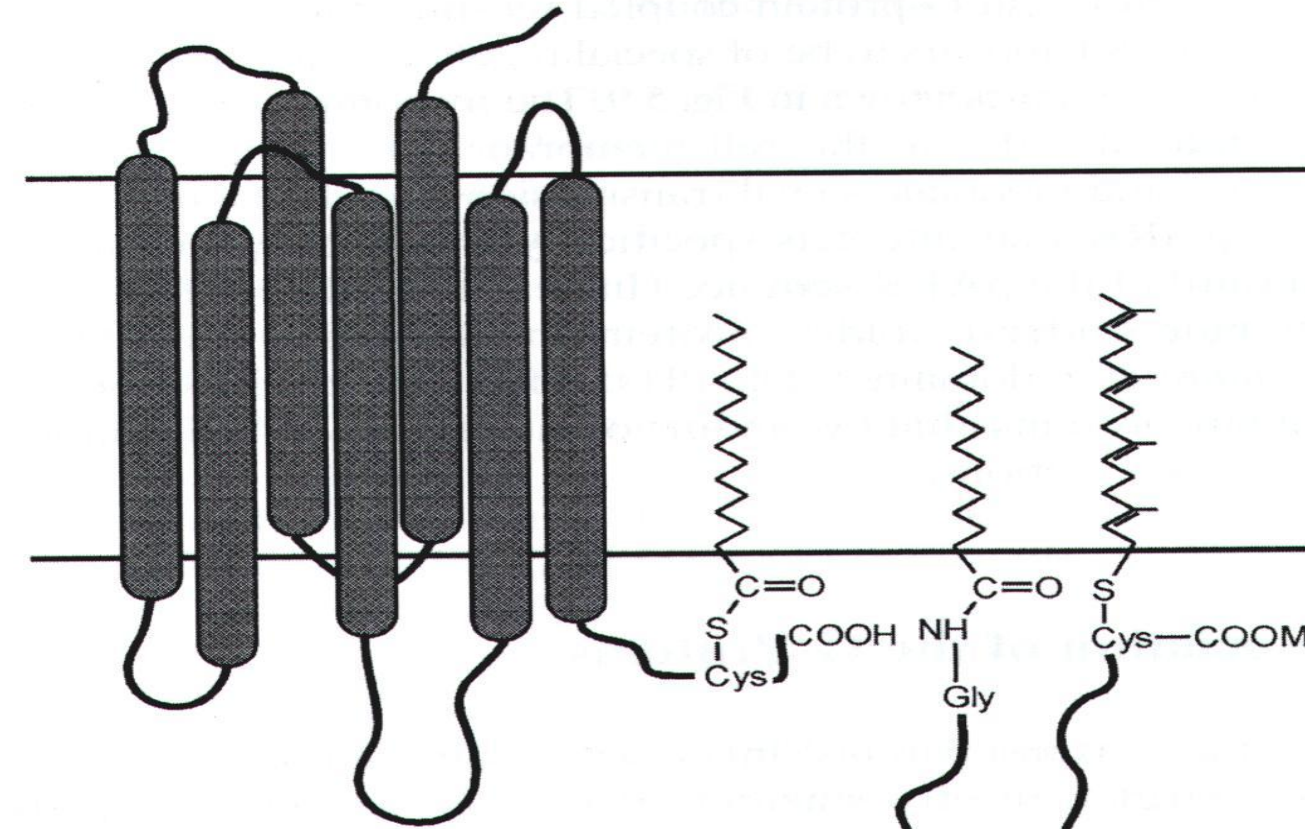


G_s	adenylate cyclases	↑	phospholipase $C\beta_1$ and $C\beta_2$	↑
G_{olf}	adenylate cyclases	↑	phosphatidylinositol 3-kinase γ	↑
G_t	cGMP phosphodiesterase	↑	adenylate cyclases 2, 4, and 7	↑
G_{gust}	cNMP phosphodiesterase	↑	K^+ channel GIRK	↑
$G_{q,11}$	phospholipase $C\beta$	↑	β -adrenergic receptor kinase	↑
$G_{12,13}$	Rho-GEF	↑		
$G_{i,0}$	adenylate cyclases 1, 3, 5, 6, 8	↓	adenylate cyclases 1, 3, 8 Ca^{2+} channels	↓

Δομή των G-πρωτεϊνών



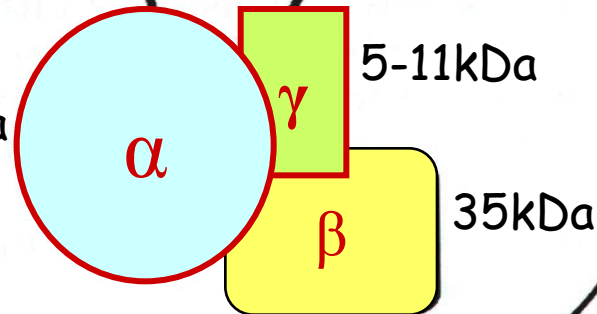
Σύνδεση με τη μεμβράνη



Η Gα υπομονάδα συνδέεται με τη μεμβράνη, μέσω ενός **μυριστοϊκού οξέος** που βρίσκεται συνδεδεμένο σε μια γλυκίνη (Gly) του -NH₂ άκρου της α υπομονάδας, ενώ η Gγ υπομονάδα χρησιμοποιεί μια **πρενυλομάδα**, η οποία βρίσκεται συνδεδεμένη σε μια κυστεΐνη (Cys) του -COOH άκρου της. Επίσης διακρίνεται η σύνδεση του -COOH άκρου του GPCR στη μεμβράνη, μέσω ενός **παλμιτοϊκού οξέος** που βρίσκεται συνδεδεμένο σε μια κυστεΐνη (Cys).

intracellular

40-50kDa

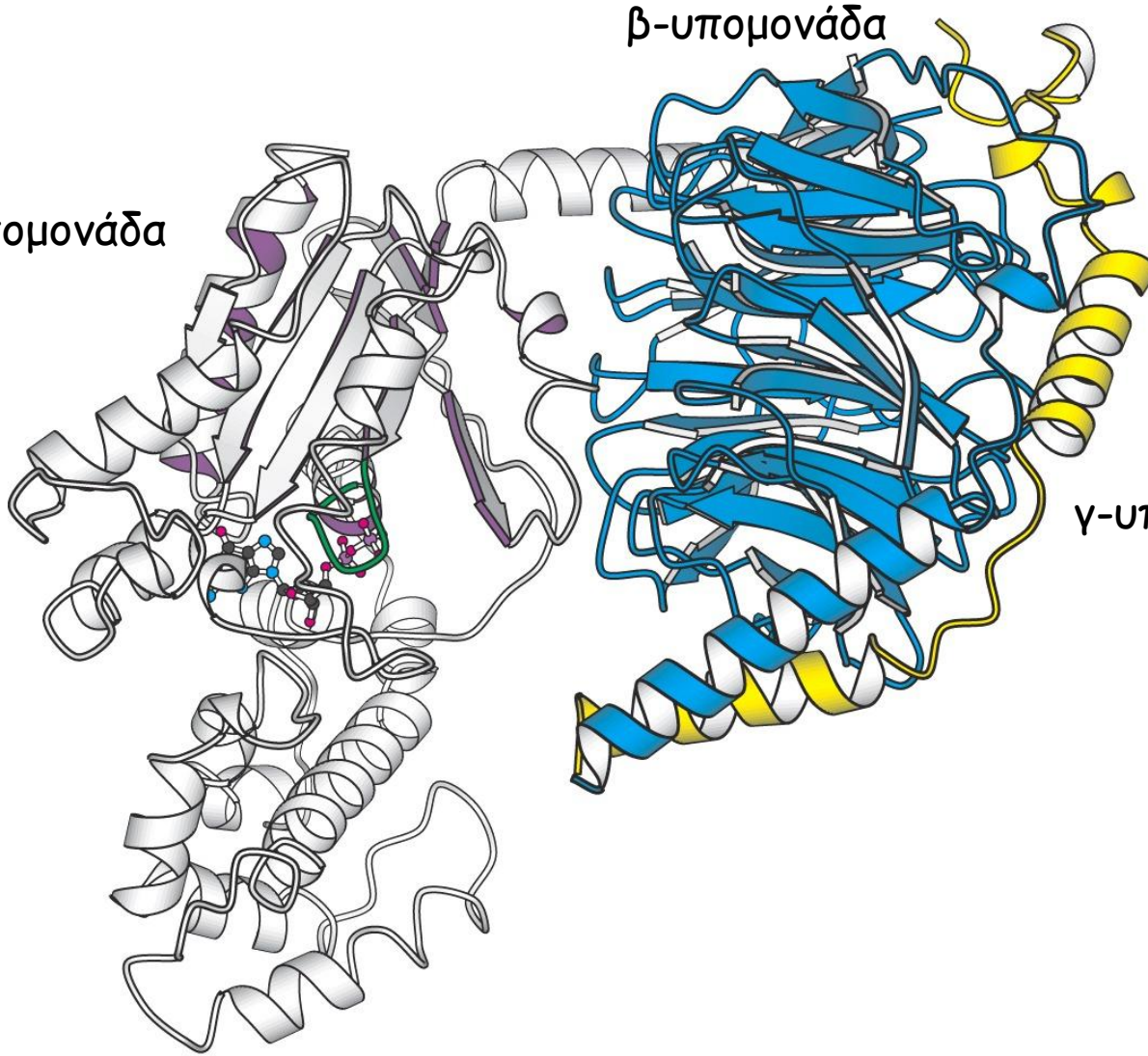


Πρωτεΐνη G

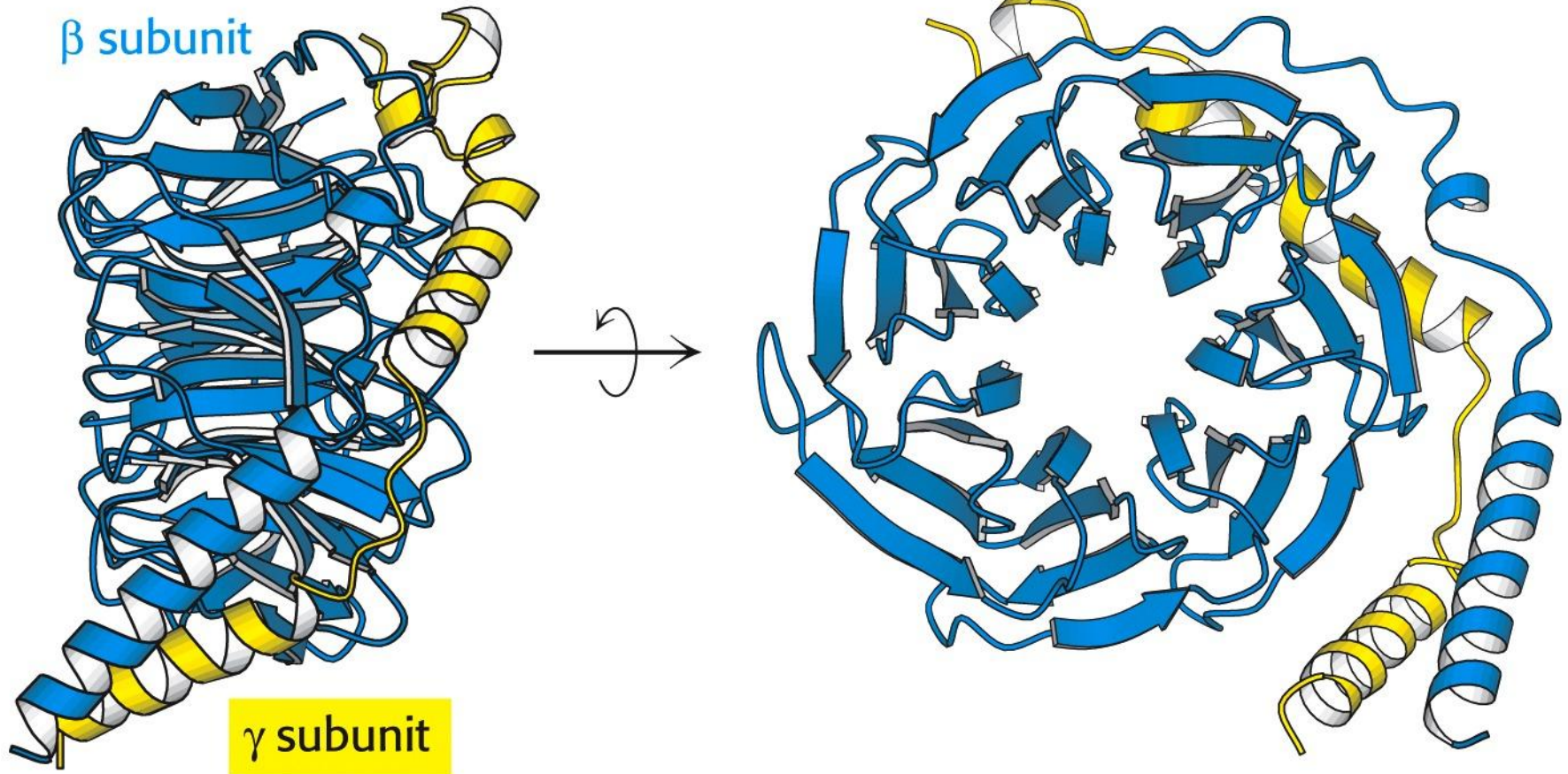
α-υπομονάδα

β-υπομονάδα

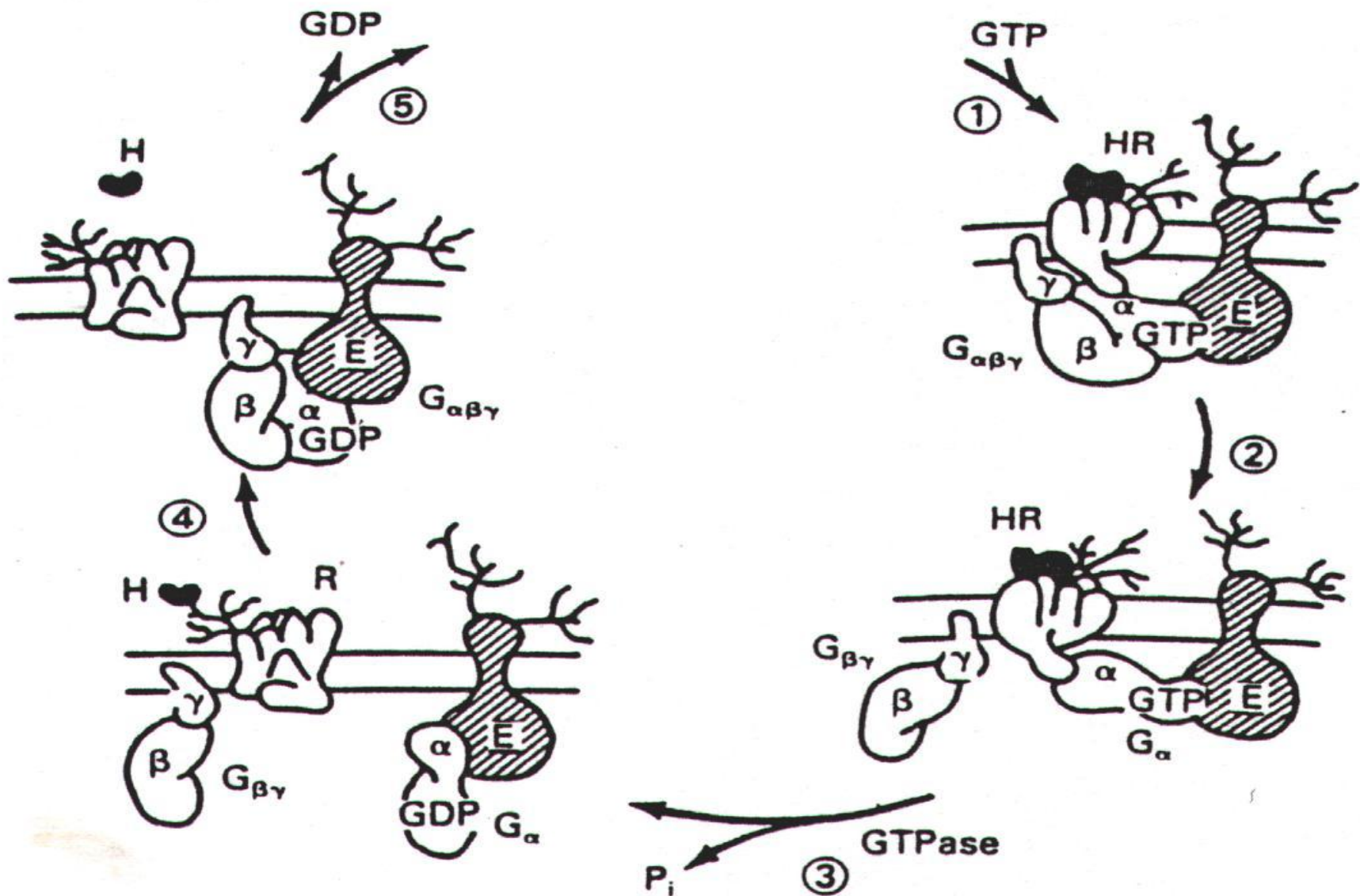
γ-υπομονάδα



β-υπομονάδα: δομή 7 λογχοειδών πρωοστήρων

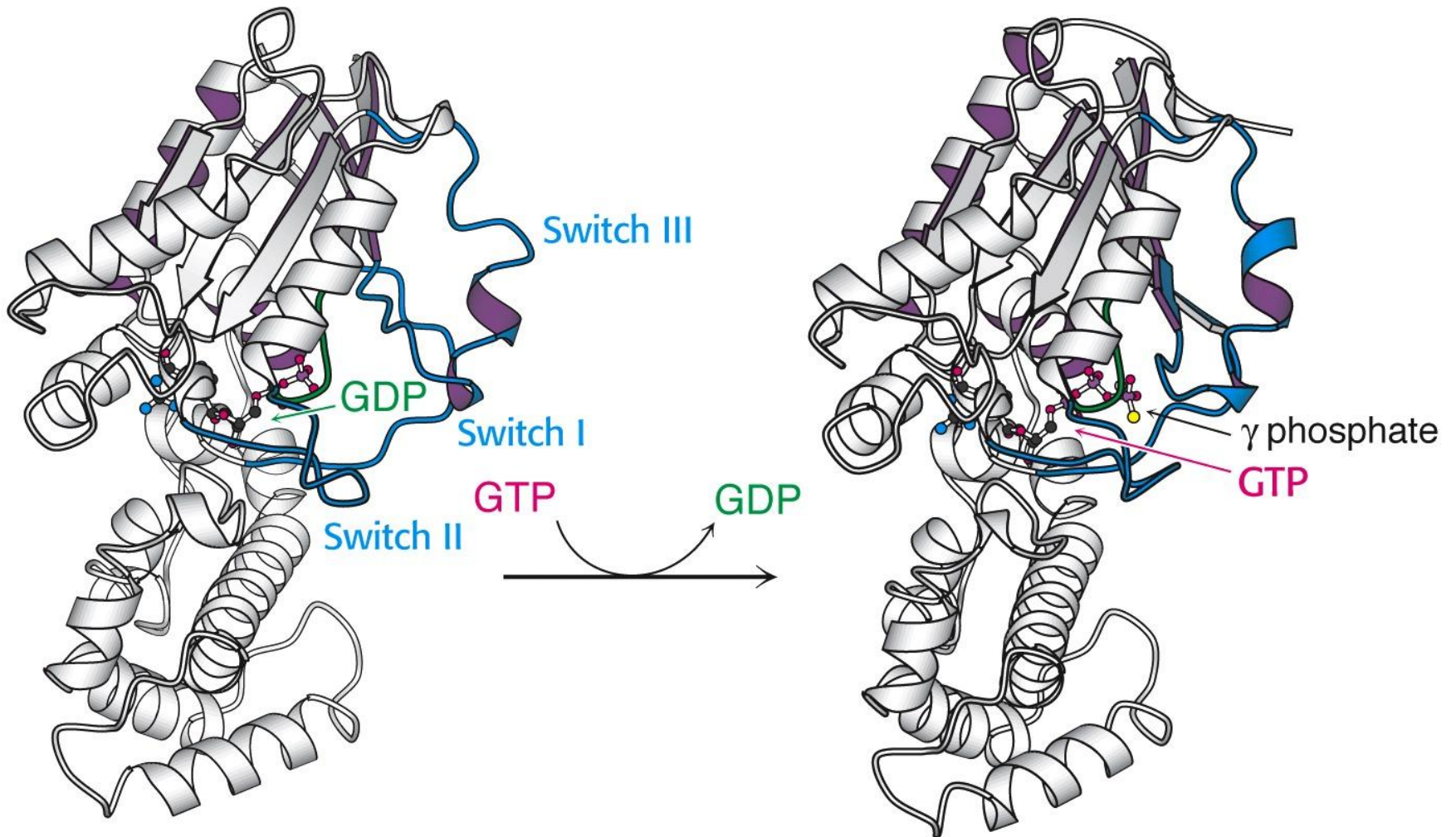


Η μετάδοση του μηνύματος μέσω των πρωτεϊνών G περιλαμβάνει μια σειρά πολύπλοκων διεργασιών

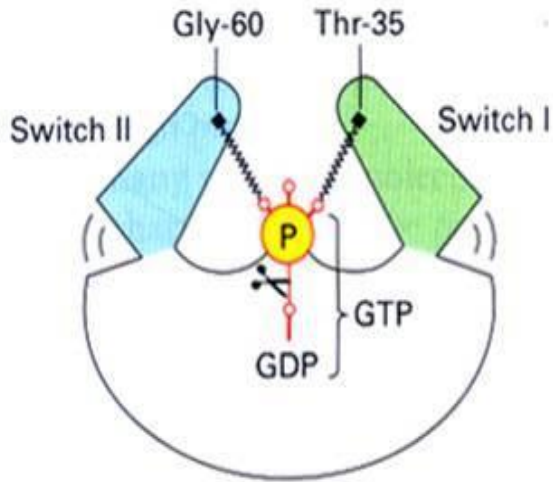


Το σύμπλοκο ορμόνης-υποδοχέα αλληλεπιδρά με την $G\alpha$, και ανοίγει τη θέση δέσμευσης του νουκλεοτιδίου ώστε το GDP να αποδεσμευτεί και να συνδεθεί το GTP .

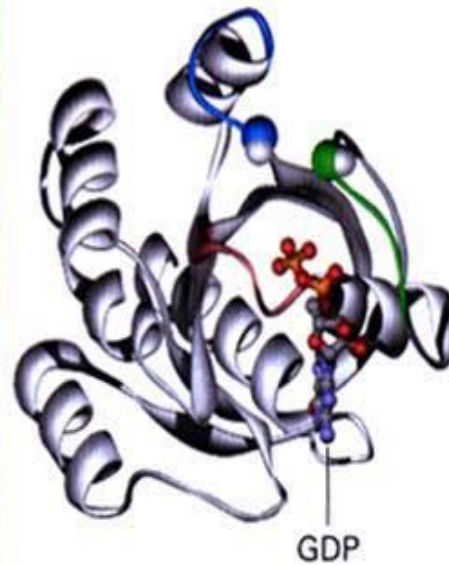
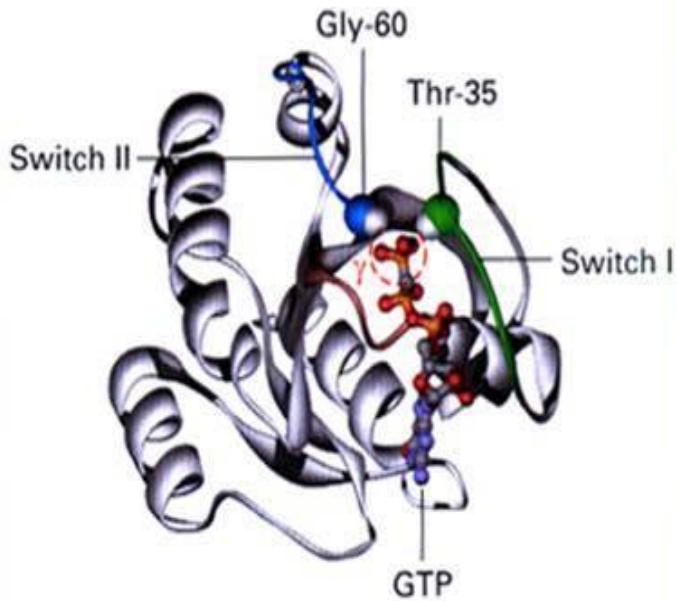
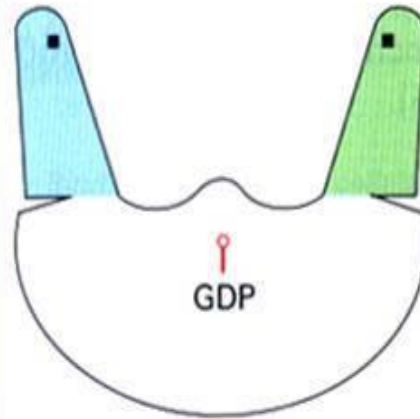
Η $G\alpha$ -υπομονάδα αποτελείται από τρία πολυπεπτιδικά τμήματα-κλειδιά: το διακόπτη I, διακόπτη II και διακόπτη III, τα οποία αλληλεπιδρούν είτε άμεσα είτε έμμεσα με τη γ-φωσφορική ομάδα του GTP αλλάζοντας τη διαμόρφωσή τους. Οι δομικές αυτές αλλαγές μειώνουν τη συγγένεια της $G\alpha$ προς το διμερές $G\beta\gamma$.



(a) GTP-bound "on" state



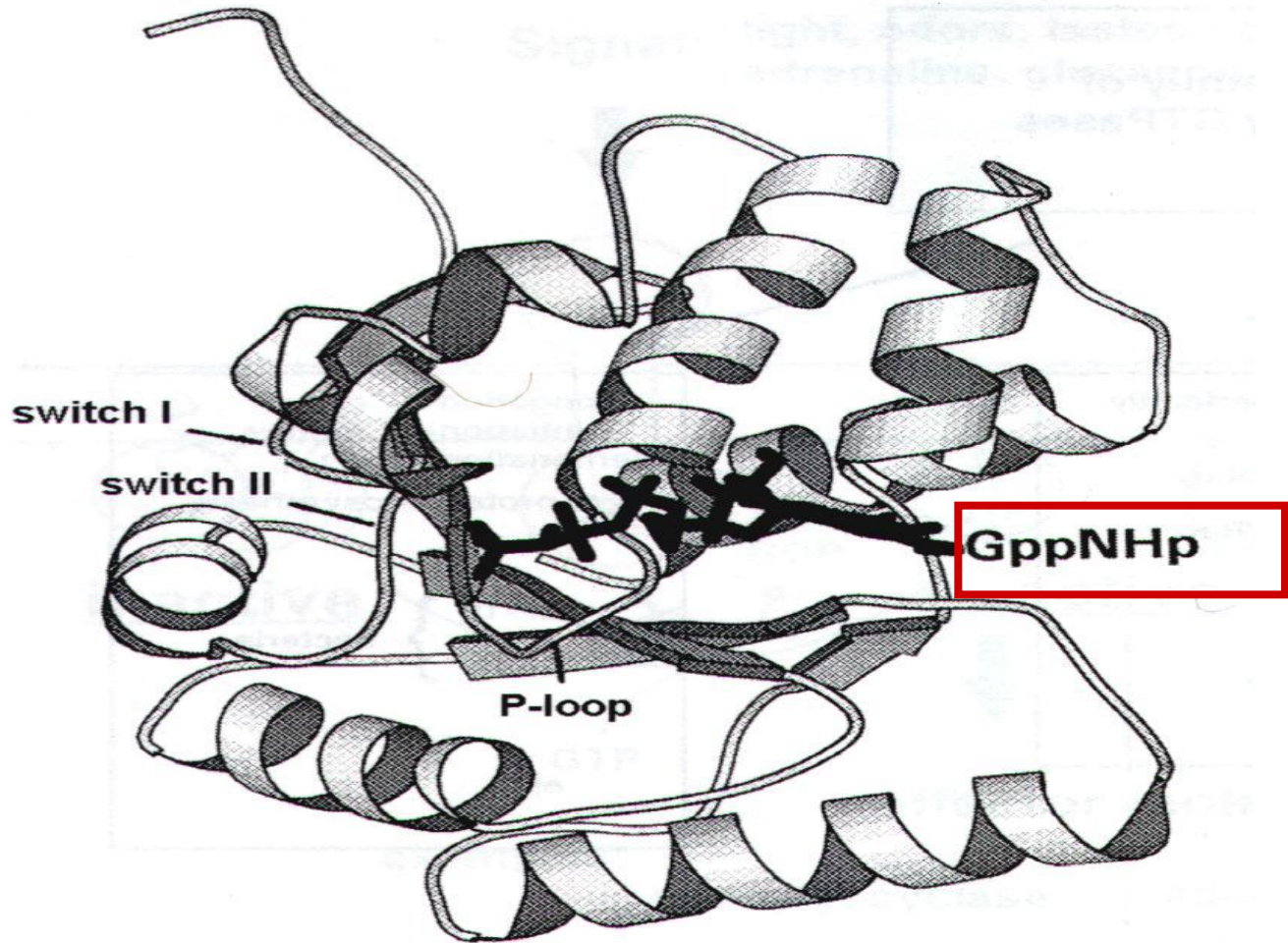
(b) GDP-bound "off" state



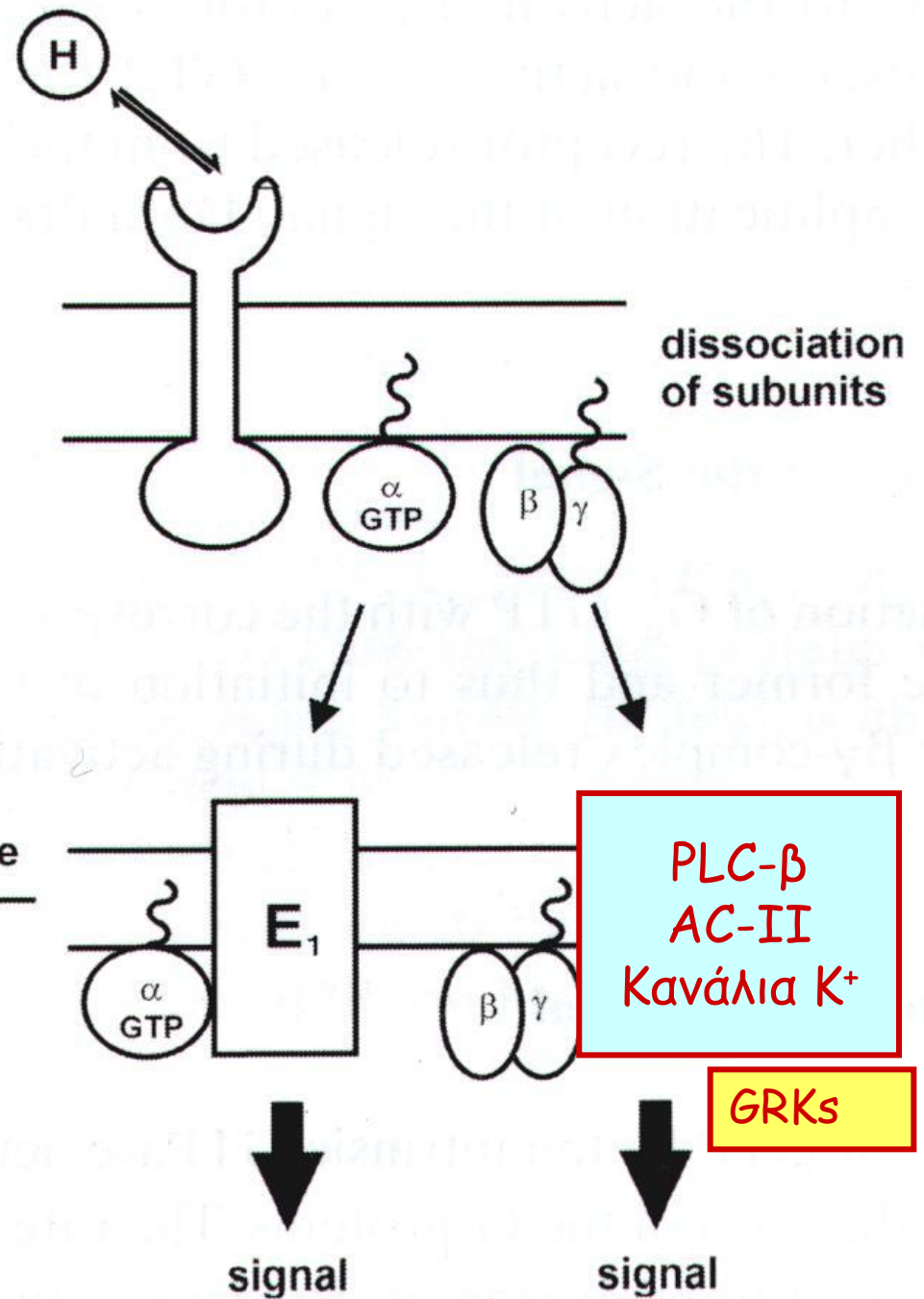
Σχηματική αναπαράσταση του μηχανισμού-διακόπτη της $G\alpha$ -υπομονάδας, στην ανοιχτή-ενεργή του διαμόρφωση (με συνδεδεμένο το GTP) και στην κλειστή του διαμόρφωση (με συνδεδεμένο το GDP).

Από Lodish et al, *Molecular Cell Biology*, 2004.

Ένα μη υδρολυόμενο ανάλογο του GTP



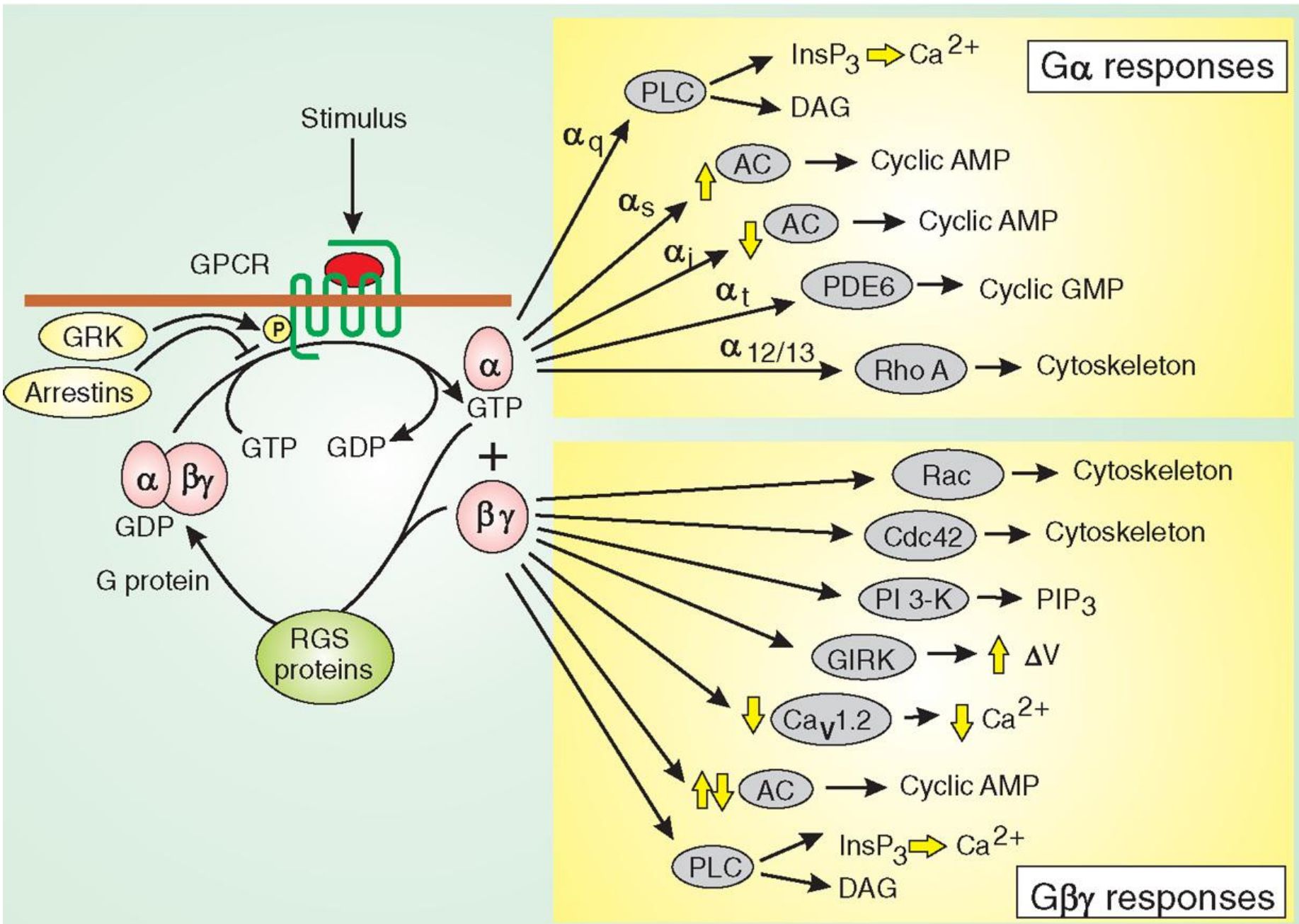
Ο ρόλος των βγ-υπομονάδων



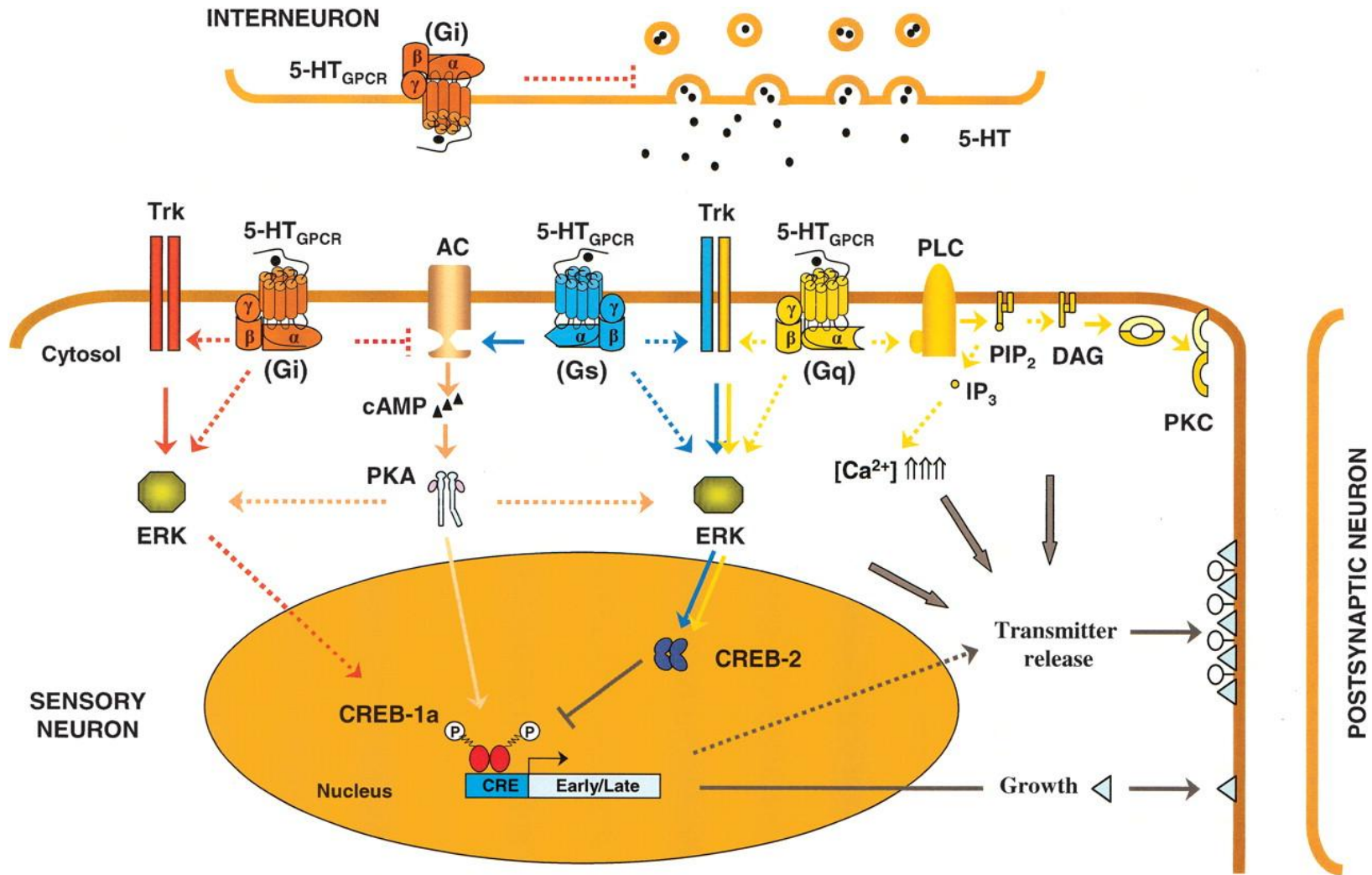
ground state

signal

signal

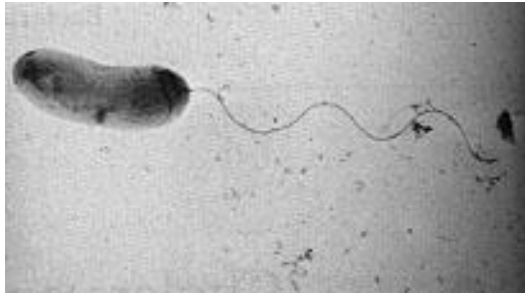


Ποικιλομορφία των α-υπομονάδων των πρωτεϊνών G



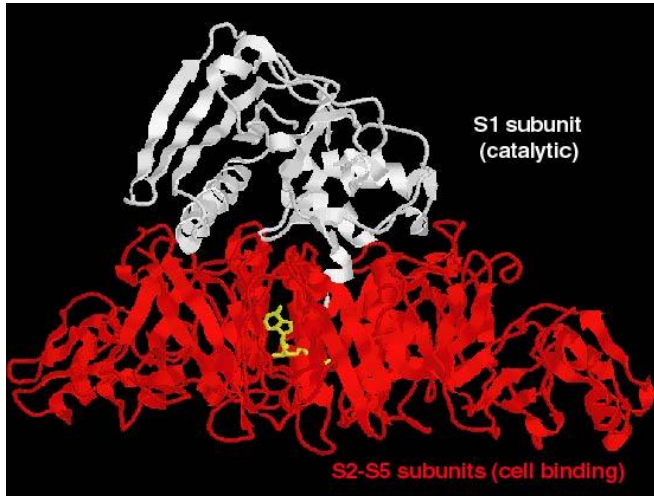
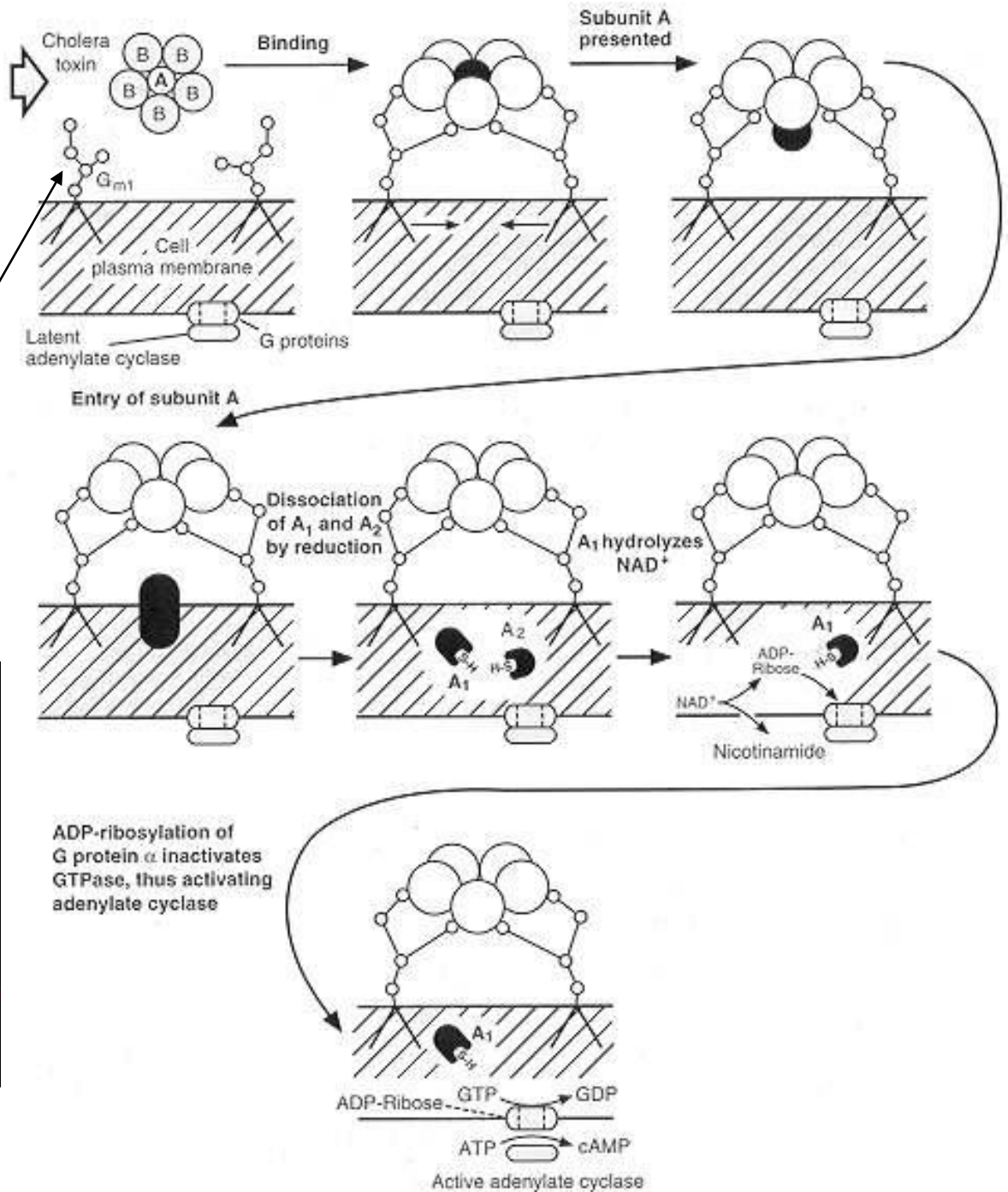
Ποικιλομορφία των α-υπομονάδων των πρωτεϊνών G

Subunit	tissue	Examples of receptors	Effector protein, function
G_s α _s	ubiquitous	βAR, glucagon receptor	adenylyl cyclase ↑ Ca ²⁺ channels ↑
α _{olf}	nasal epithelium	olfactory receptor	adenylyl-cyclase ↑
CTX (+)			
G_i α _{i1} , α _{i2} , α _{i3}	mostly ubiquitous	α ₂ adrenergic receptor	K ⁺ channels ↑ Ca ²⁺ channels ↓
α _{oA}	brain	α ₂ adrenergic receptor	K ⁺ -channels ↑ Ca ²⁺ -channels ↓
PTX (-)			
α _{t1} , transducin	retina	rhodopsin	cGMP specific phosphodiesterase ↑
α _g	taste buds		
α _z	brain		adenylyl cyclase ↓
G_q α _q	ubiquitous	α ₁ adrenergic receptor	phospholipase Cβ ↑
α ₁₁ , α ₁₄ , α ₁₅ , α ₁₆ ,			
G₁₂ α ₁₂ , α ₁₃ ,	ubiquitous		

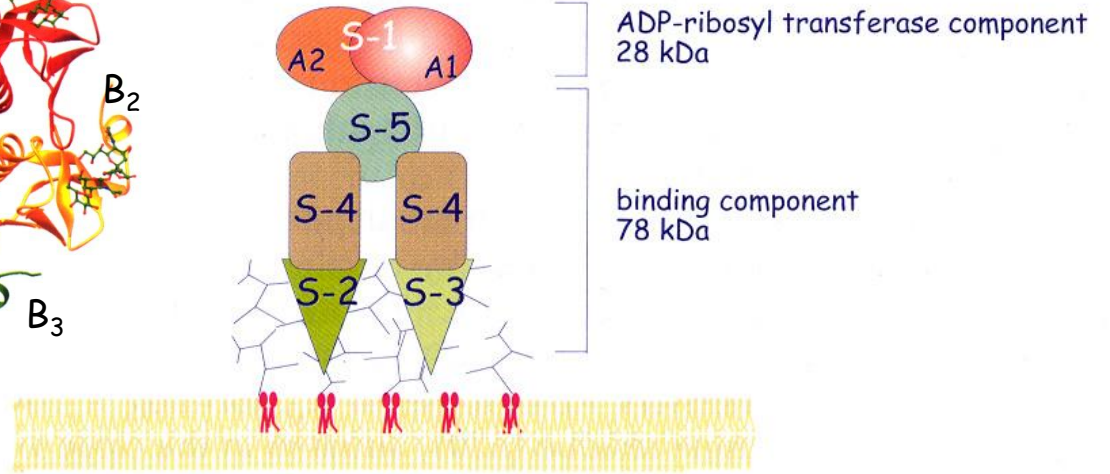
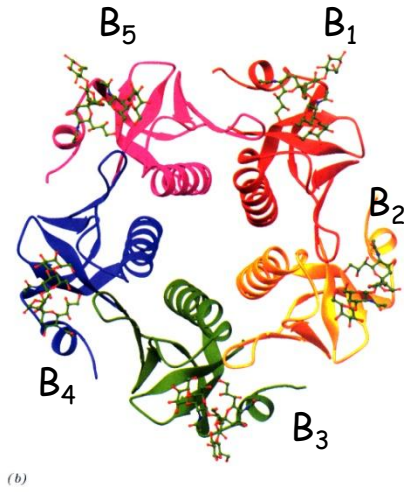


Vibrio cholerae

γαγγλιοσίδιο

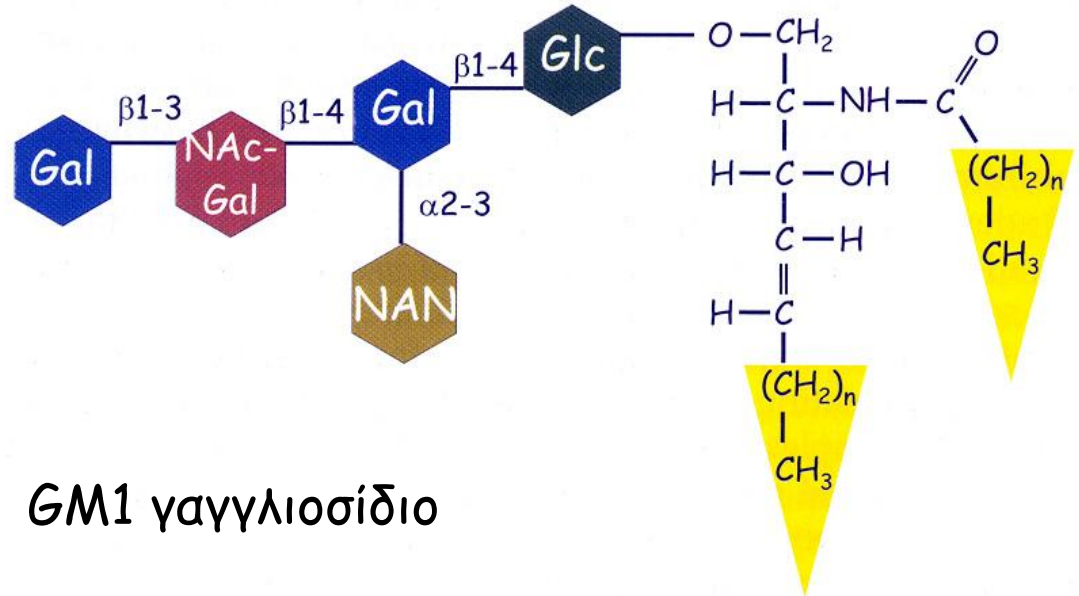


Τοξίνη της χολέρας:
εξαμερές AB₅

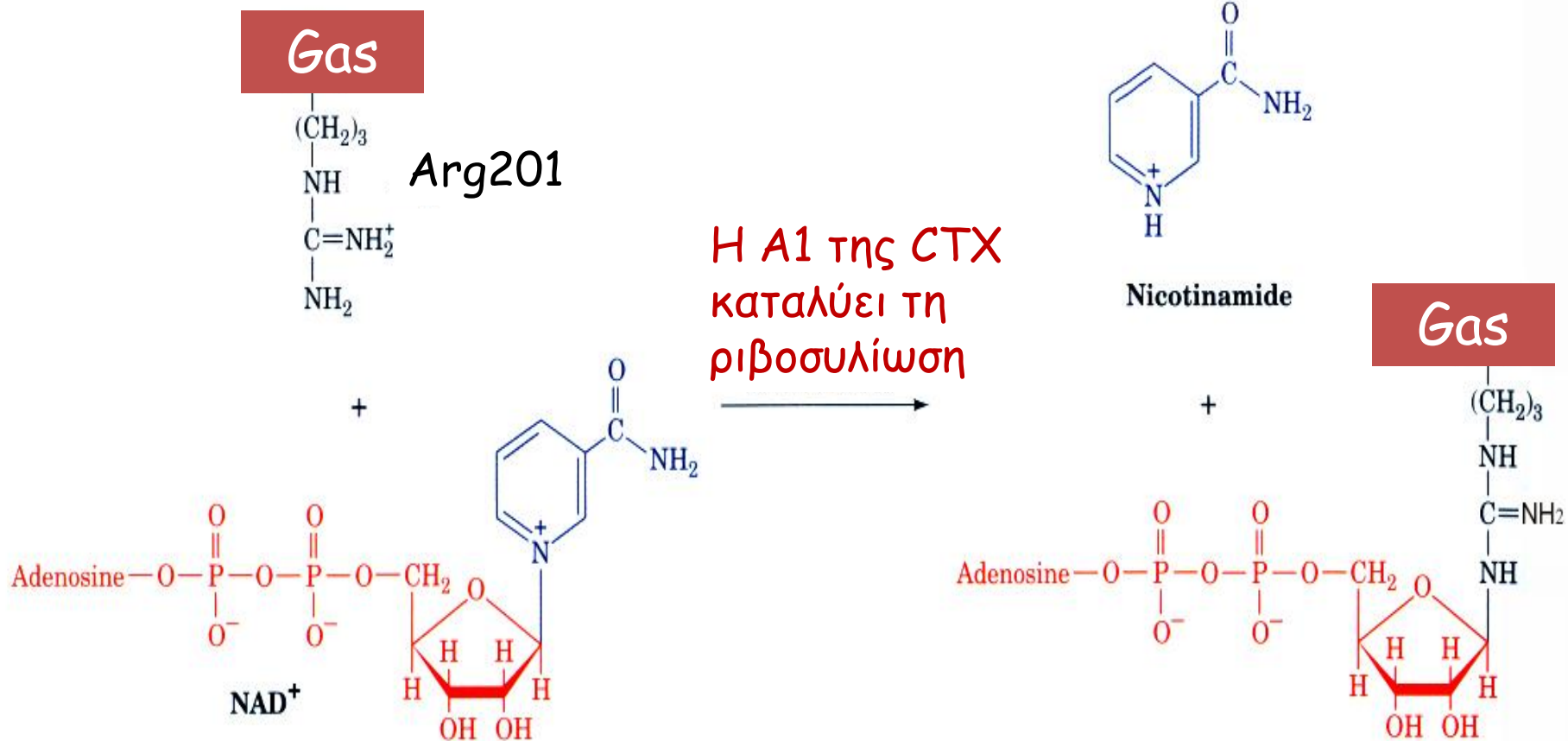


Τοξίνη της χολέρας
εξαμερές AB₅

(b)

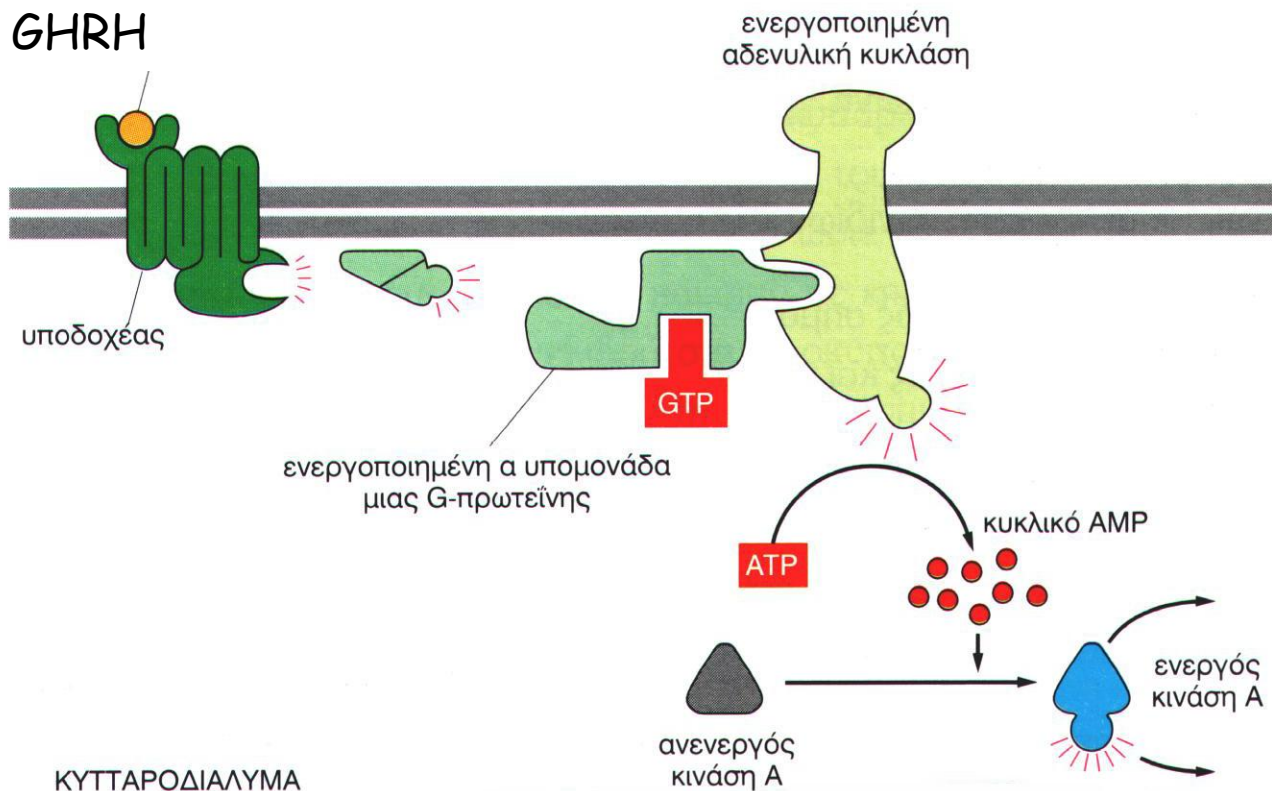


Τοξίνη της χολέρας και η ριβοσυλίωση της Gas



Παρεμποδίζεται η δράση GTPάσης, και η α_s παραμένει συνεχώς ενεργοποιημένη

1. Ασθενείς που πάσχουν από ακρομεγαλία ή γιγαντισμό η Arg201 της αλυσίδας των σωματοτρόπων κυττάρων της υπόφυσης έχει αντικατασταθεί από Cys.

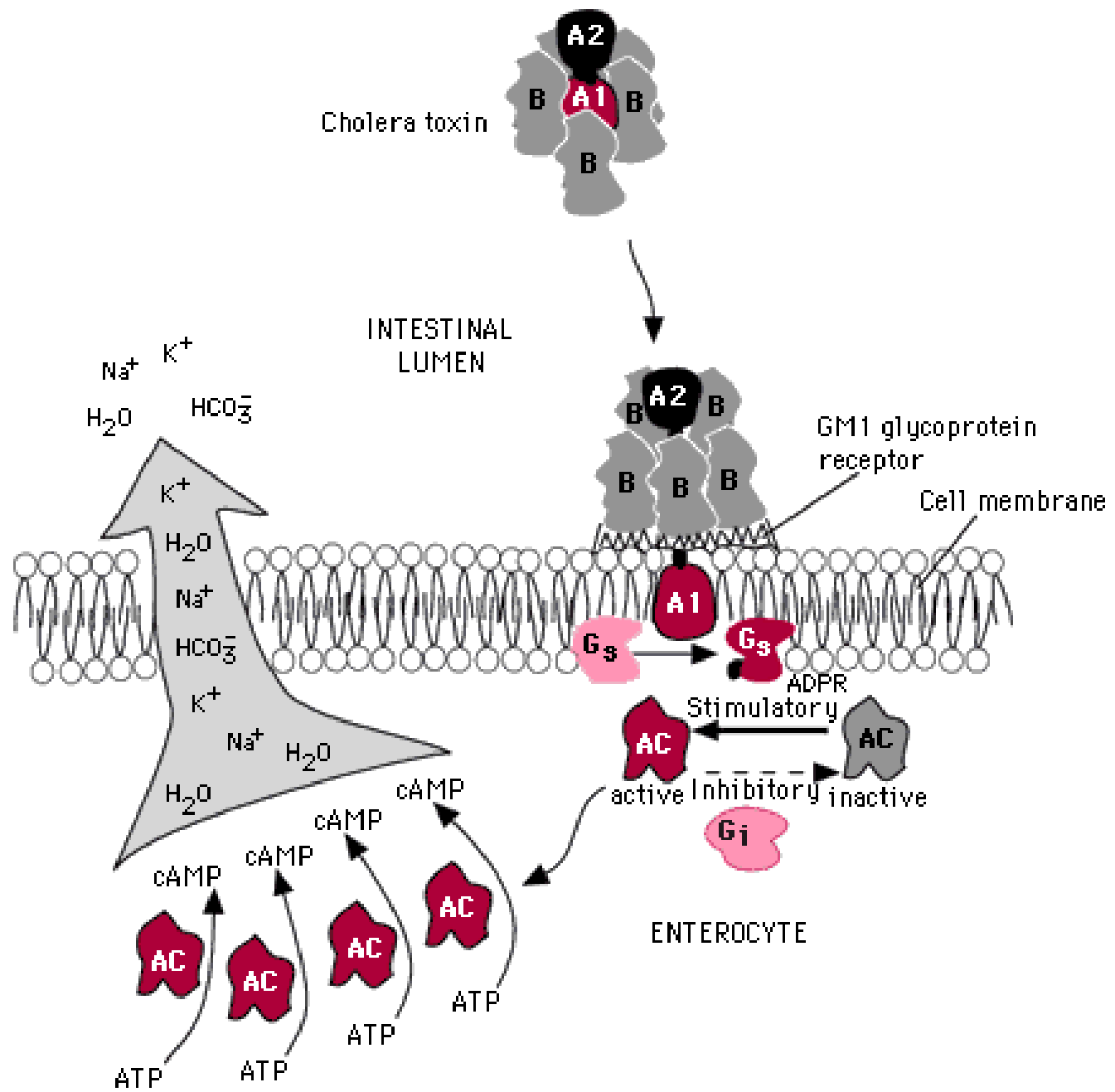


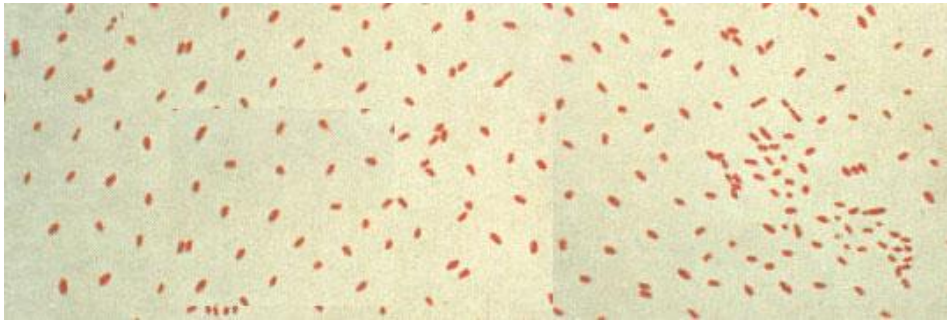
Υποθάλαμος

GHRH

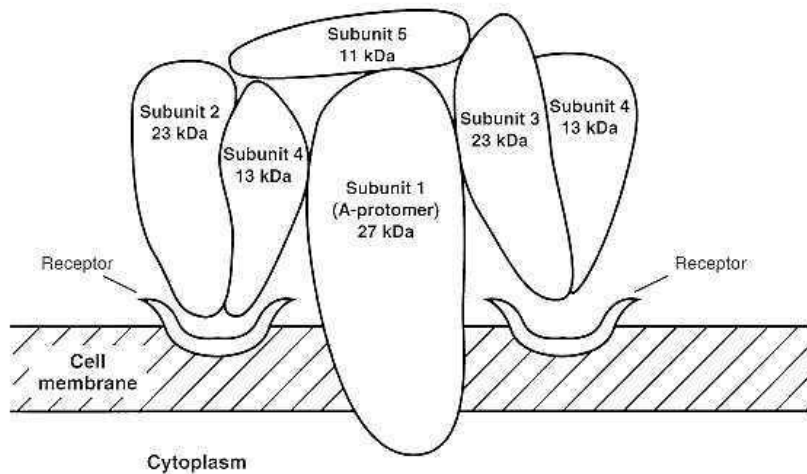
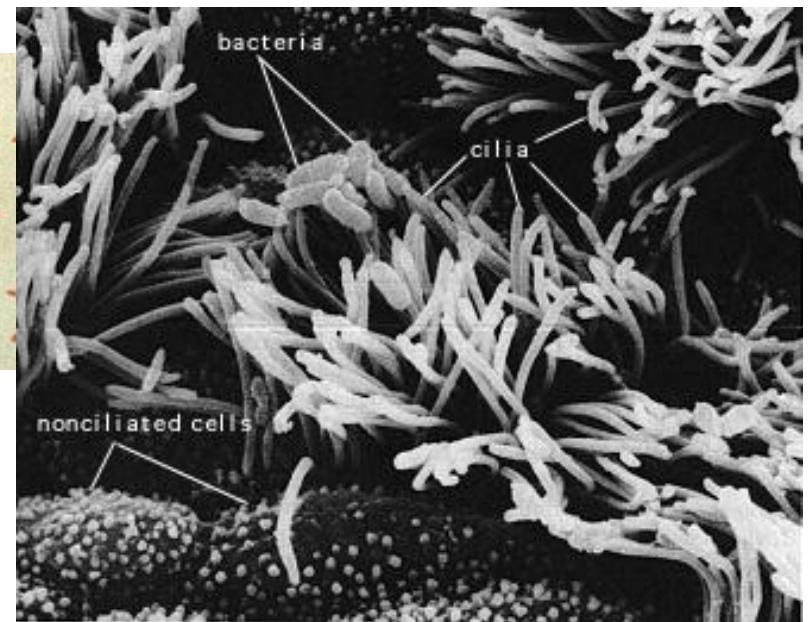
Υπόφυση

GH



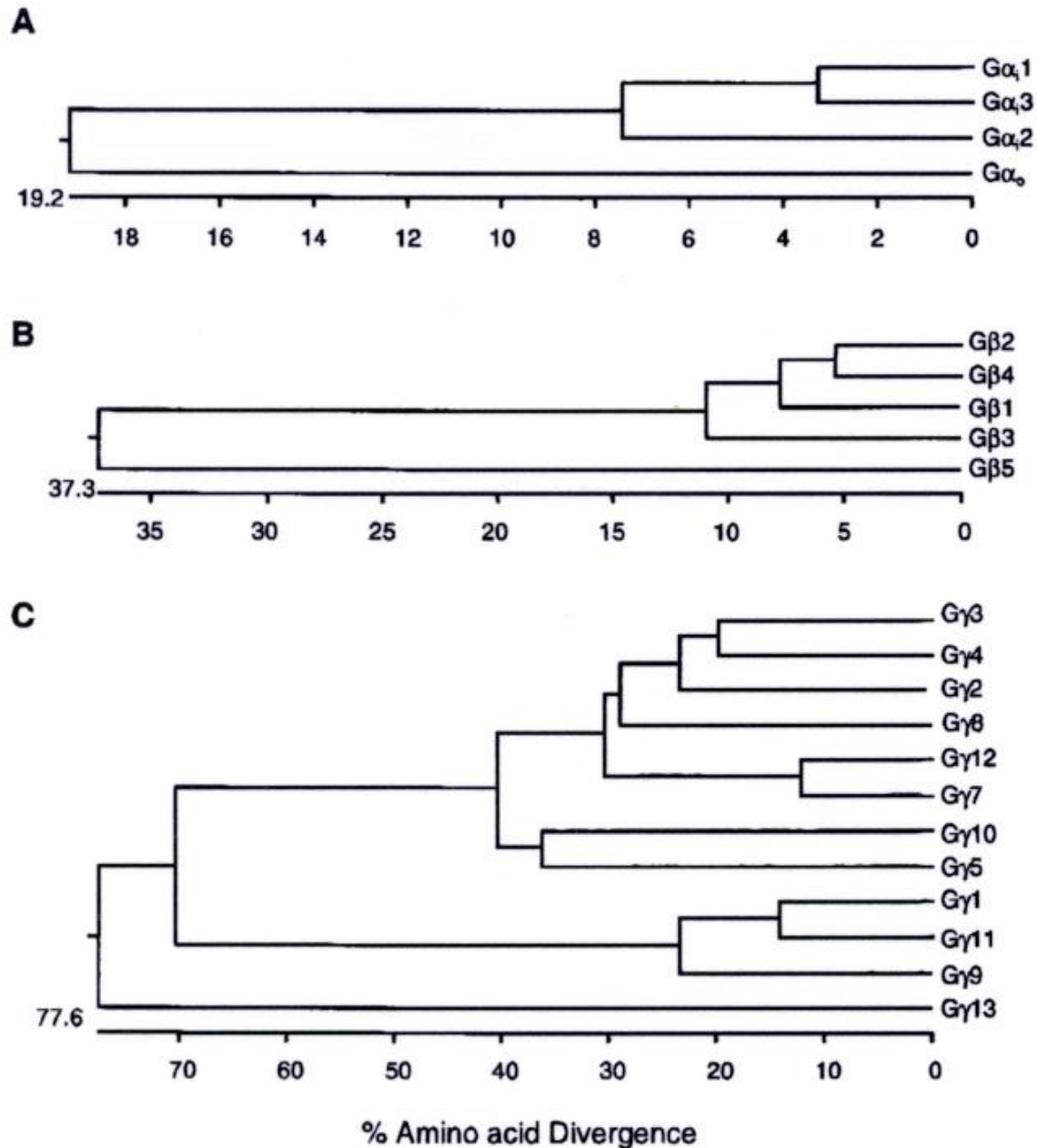


Bordetella pertussis



Η PTX μεταφέρει την ADP-ριβόζη σε μια Cys της **Gai** που βρίσκεται τέσσερις θέσεις πριν το C-τελικό άκρο. Η ριβοσυλίωση σε αυτήν τη θέση παρεμποδίζει τη σύνδεση υποδοχέα -Gi πρωτεΐνης καθελώνοντας τη Gi στην GDP-κατάσταση > άρεται η αναστολή της αδενυλοκυκλάσης > αύξηση του cAMP.

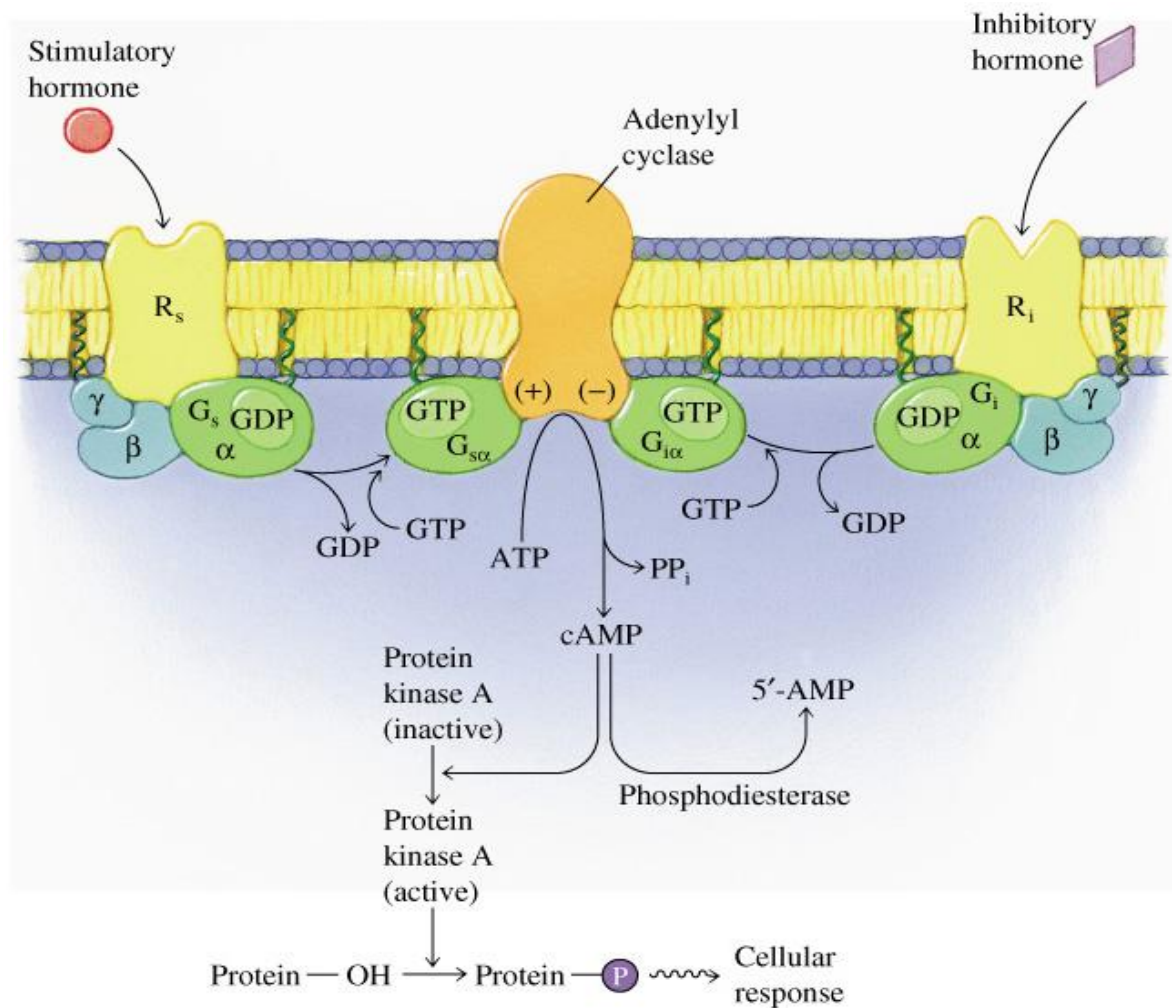
Ποικιλομορφία των G υπομονάδων : 27α, 5β και 14γ = 1890 συνδυασμοί



Το πρώτο επίπεδο εξειδίκευσης υπαγορεύεται από την G_{α} υπομονάδα, η οποία καθορίζει την εξειδίκευση G πρωτεΐνης-τελεστή.

Για παράδειγμα η οικογένεια $G_{\alpha q}/G_{\alpha 11}/G_{\alpha 14}/G_{\alpha 16}$ ενεργοποιεί τη **φωσφολιπάση $C \beta$** (PLC- β).

Οι $G_{\alpha s}$ και $G_{\alpha i}$ αναγνωρίζουν την **αδενυλική κυκλάση (AC)**, αλλά συνδέονται σε διαφορετικές θέσεις σύνδεσης και την ενεργοποιούν (αs) ή την απενεργοποιούν (αi).



Η εξειδίκευση υποδοχέα-G πρωτεΐνης φαίνεται να υποδεικνύεται από τη δομή του υποδοχέα έτσι ώστε ομόλογοι υποδοχείς να φανερώνουν παρόμοια σύνδεση.

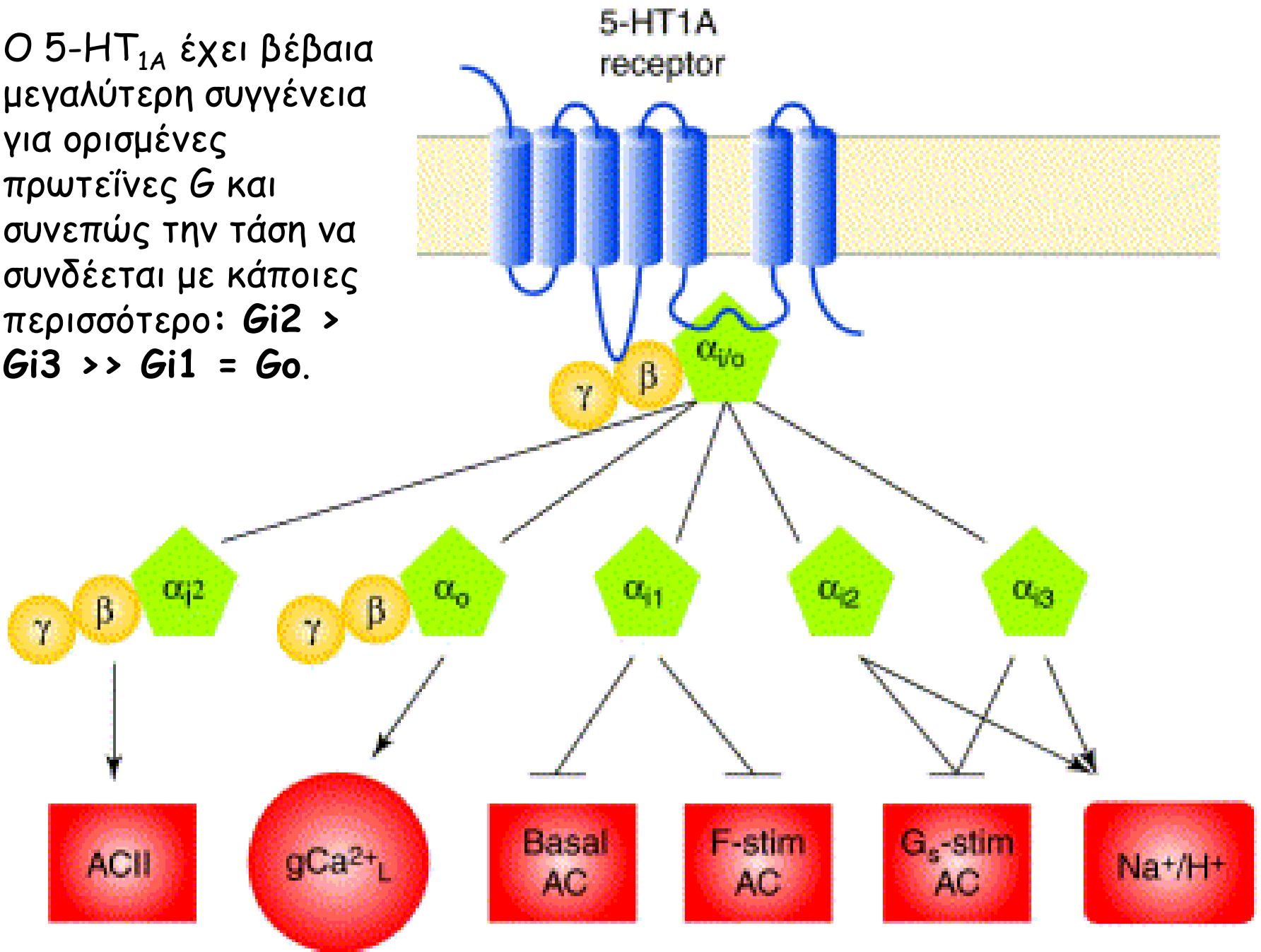
Η οικογένεια του 5-HT₁ υποδοχέα αποτελείται από 5 μέλη που όλοι συνδέονται αρχικά με τις πρωτεΐνες G_i/G_o και αναστέλλουν την AC.

Η οικογένεια του 5-HT₂ υποδοχέα συνδέεται με την G_q και διεγείρει την PLC.

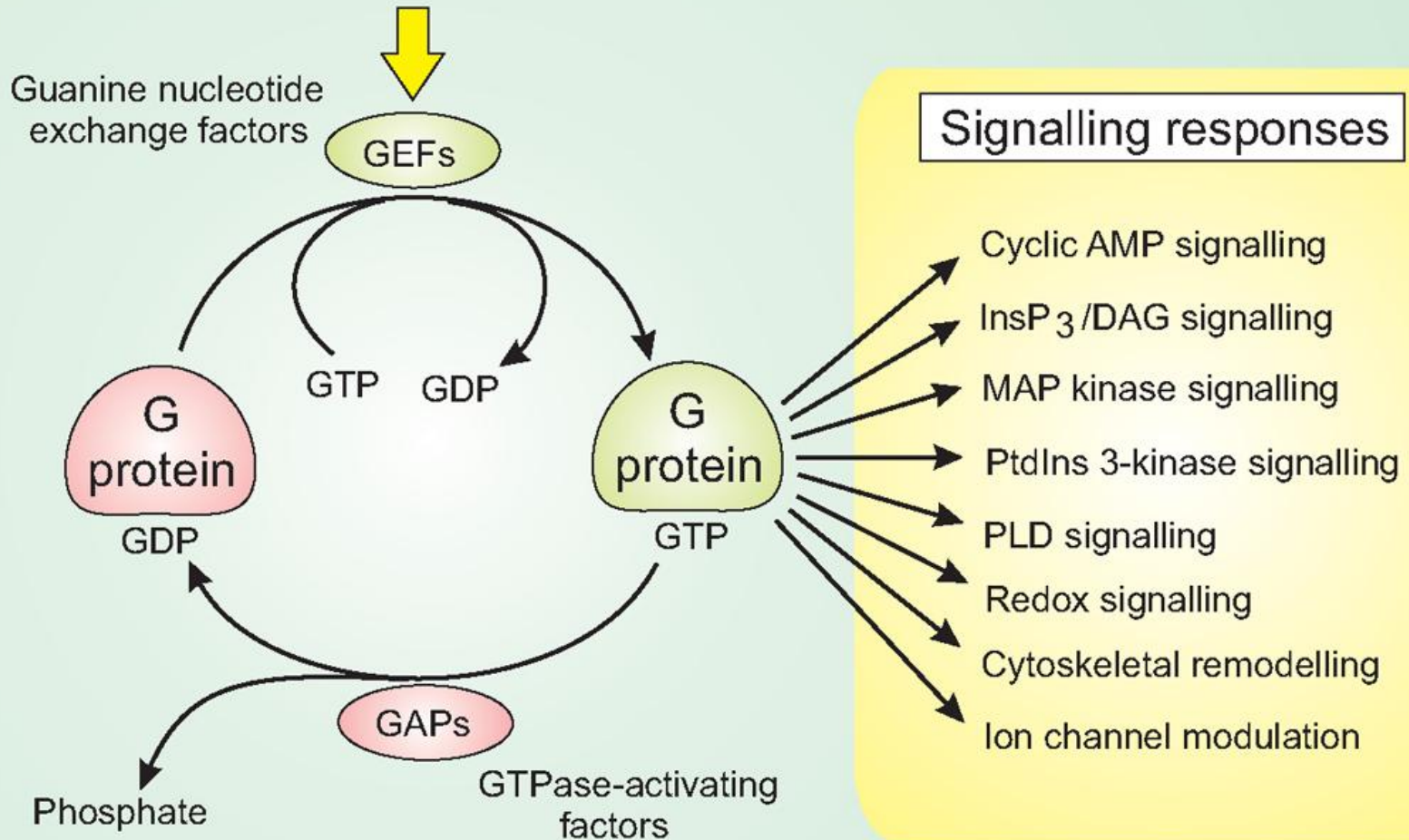
1. Η δομή του υποδοχέα και κυρίως οι ενδοκυτταρικές του περιοχές, που αναγνωρίζουν τις G πρωτεΐνες, καθορίζουν εν μέρει την επιλογή των υπομονάδων των G πρωτεϊνών από διαφορετικούς τύπους υποδοχέα.

2. Ο τύπος του κυττάρου και η αφθονία των G πρωτεϊνών σε διαφορετικά κύτταρα μπορεί να επηρεάσει την εξειδίκευση της G πρωτεΐνης για έναν συγκεκριμένο τύπο υποδοχέα.

Ο 5-HT_{1A} έχει βέβαια μεγαλύτερη συγγένεια για ορισμένες πρωτεΐνες G και συνεπώς την τάση να συνδέεται με κάποιες περισσότερο: Gi2 > Gi3 >> Gi1 = Go.



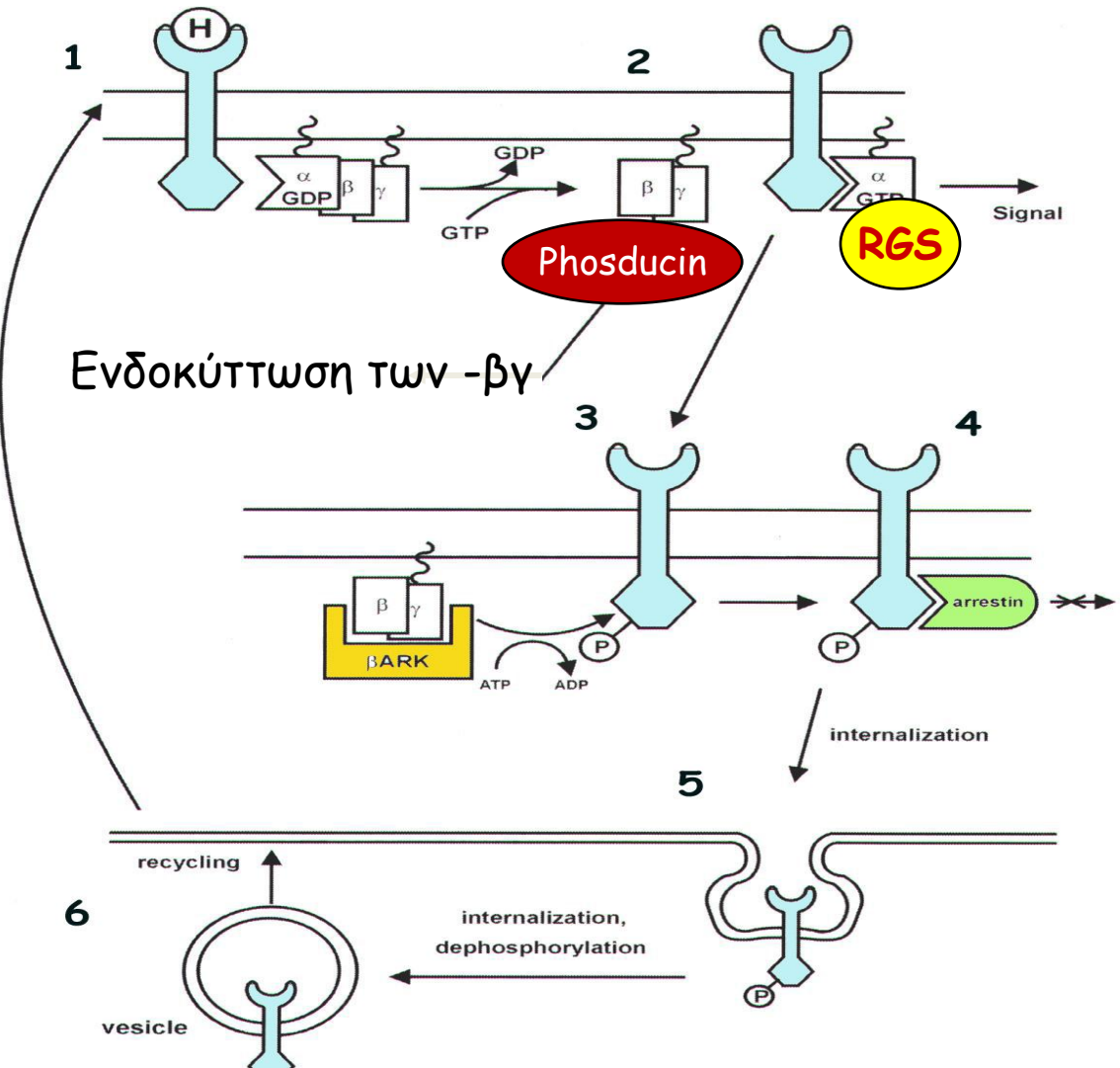
Input from cell surface receptors

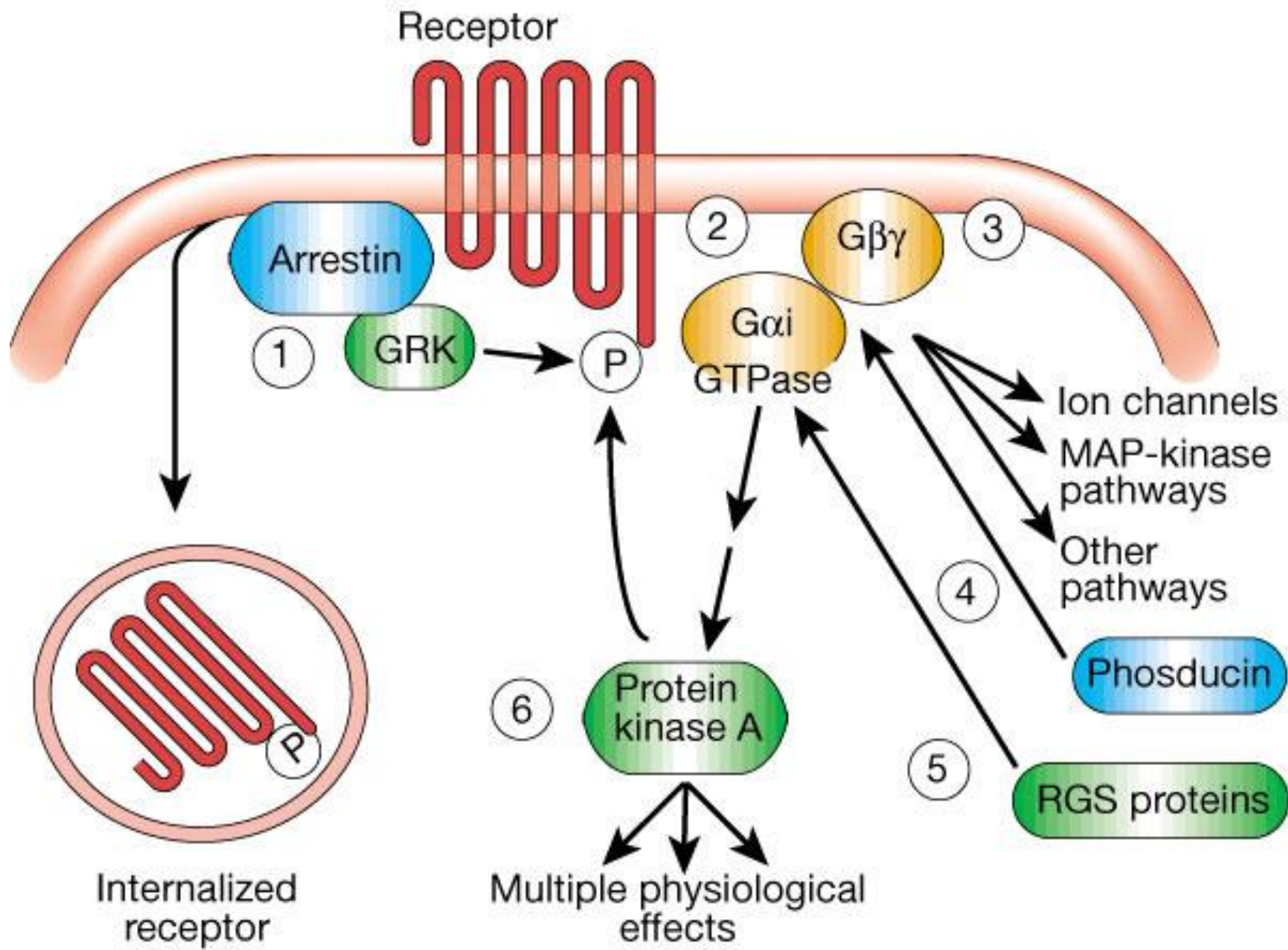


Ρύθμιση των G-πρωτεϊνών

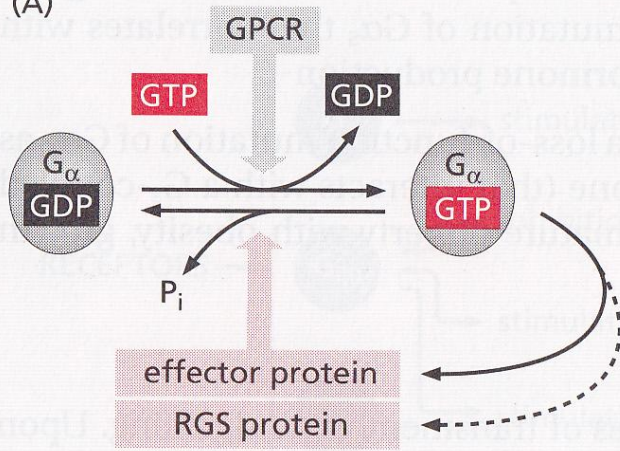
Τα κυριότερα σημεία ρύθμισης στο επίπεδο των πρωτεϊνών G είναι:

- Απενεργοποίηση του συμπλέγματος-βγ: σύνδεση της **φωσδυσίνης** (phosducin) στο σύμπλεγμα-βγ.
- Μείωση του χρόνου ζωής του συμπλέγματος $G\alpha/GTP$: ενεργοποίηση της GTP ράσης από τις πρωτεΐνες **RGS** (Regulators of G-protein Signaling)
- Ο ρυθμός υδρόλυσης του GTP είναι πολύ αργός $4GTP/min$.

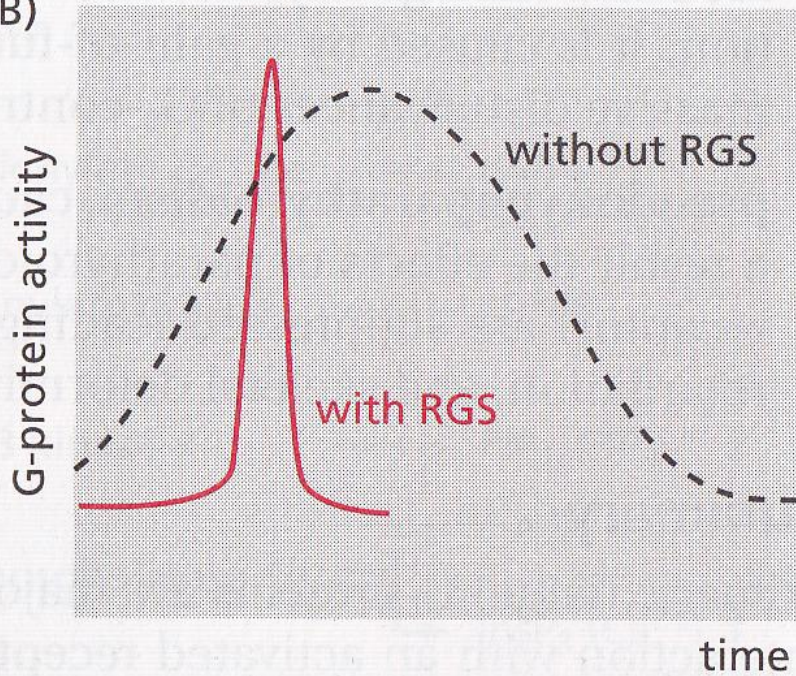




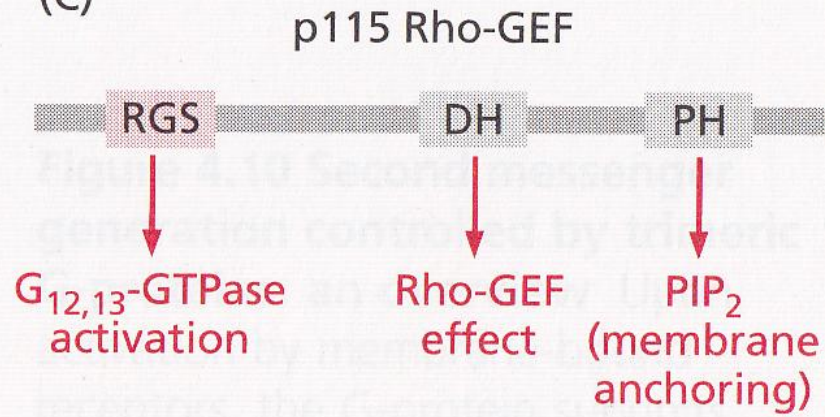
(A)



(B)



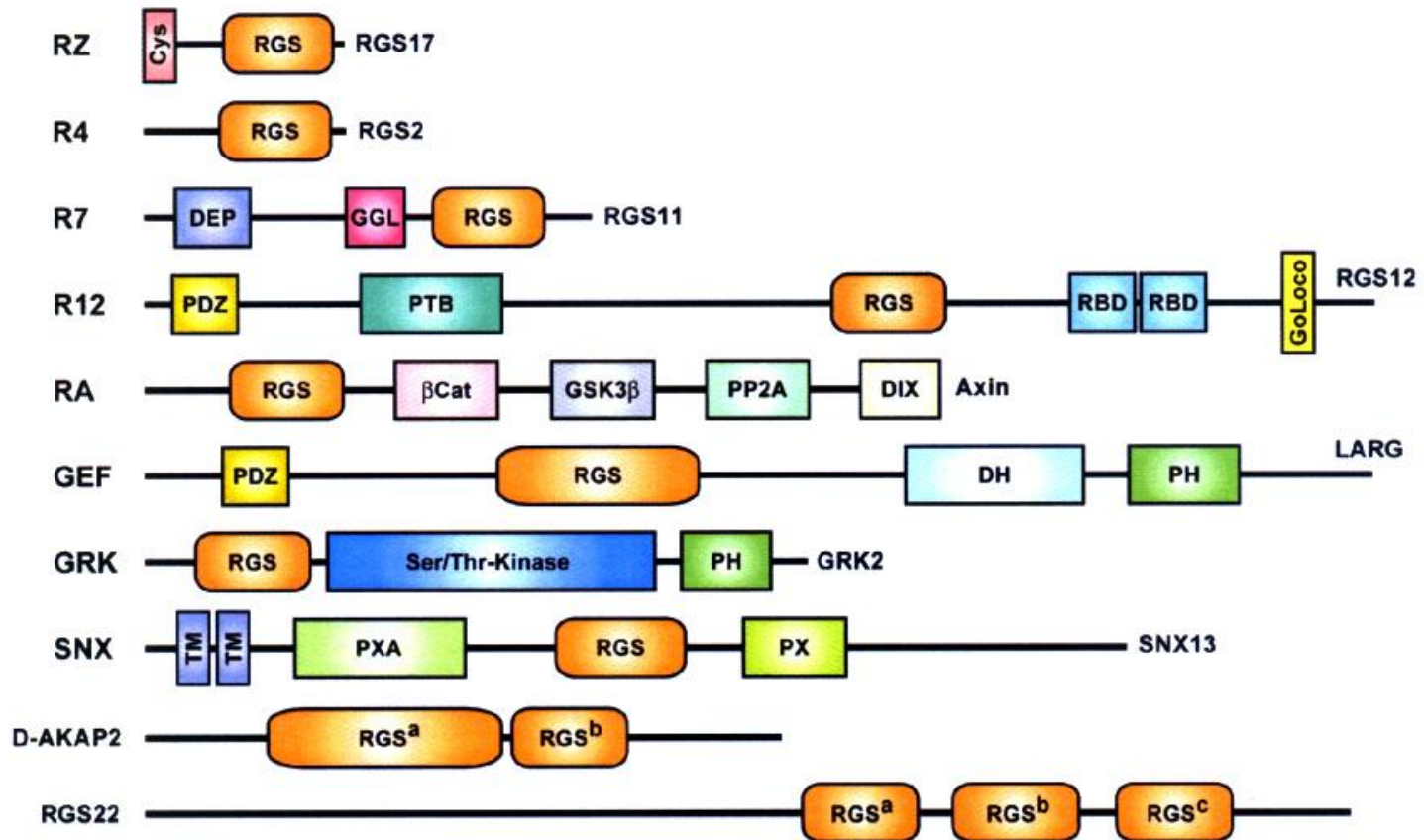
(C)

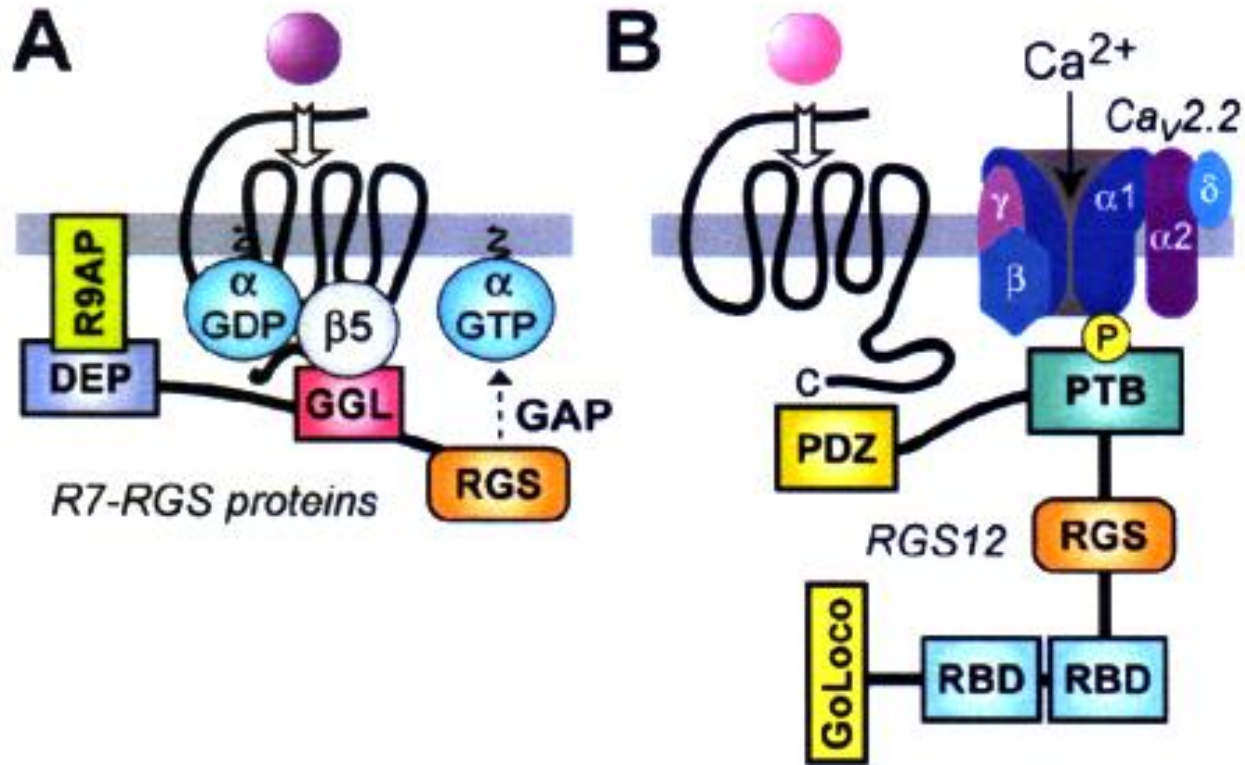


Οι πρωτεΐνες RGS συνδέονται εξειδικευμένα στην ***α-υπομονάδα*** και σχεδόν διπλασιάζουν το ρυθμό υδρόλυσης του GTP. Έχουν συνεπώς ανασταλτική δράση στη σηματοδότηση των GPCRs.

Η ανακάλυψή τους το 1996, έλυσε το παράδοξο ανάμεσα στη σύντομη διάρκεια σηματοδότηση των GPCRs *in vivo*, και τον αργό ρυθμό υδρόλυσης του GTP από απομονωμένη G_{α} υπομονάδα.

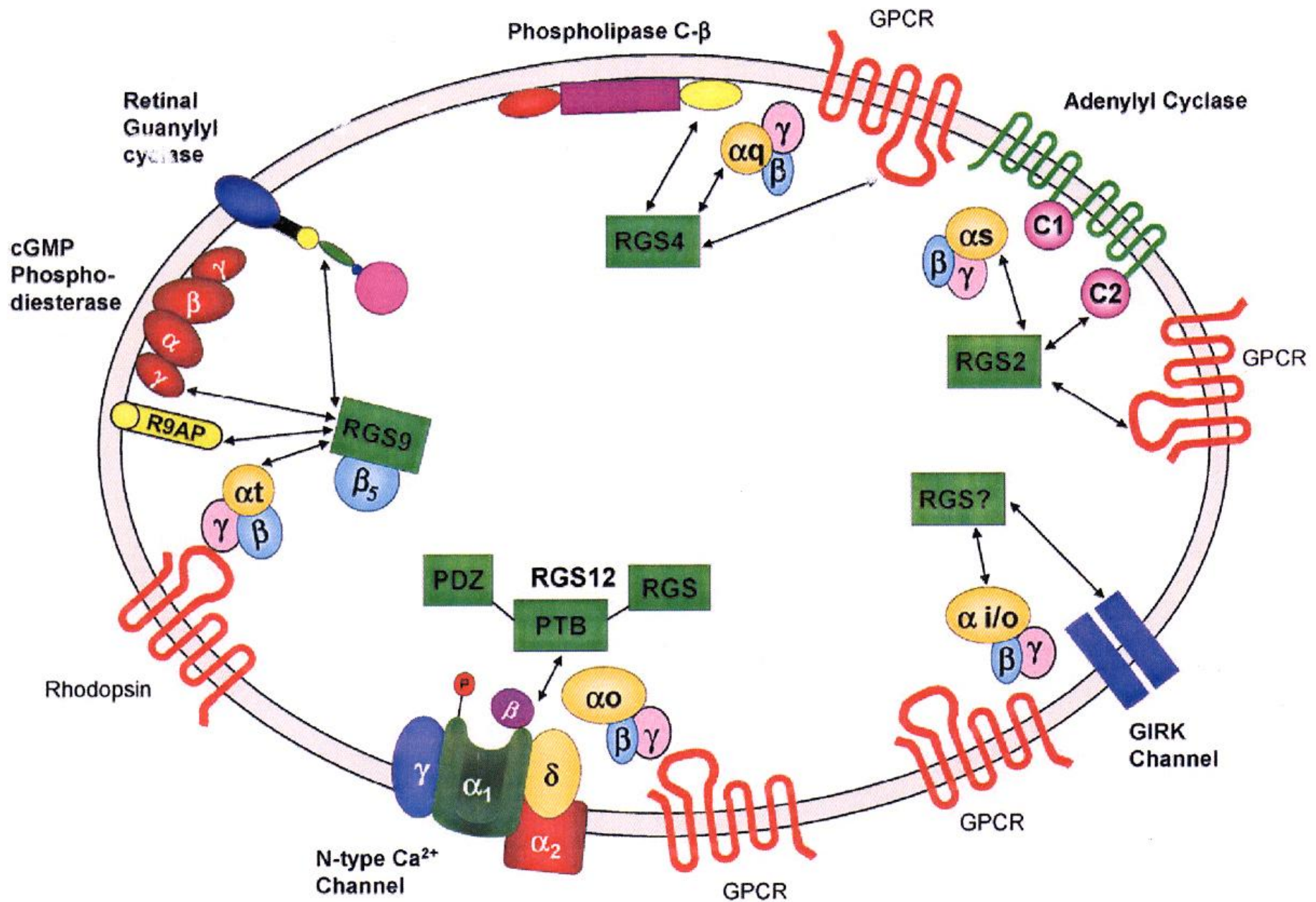
Μέχρι σήμερα έχουν βρεθεί 21 διαφορετικές RGS στα θηλαστικά.



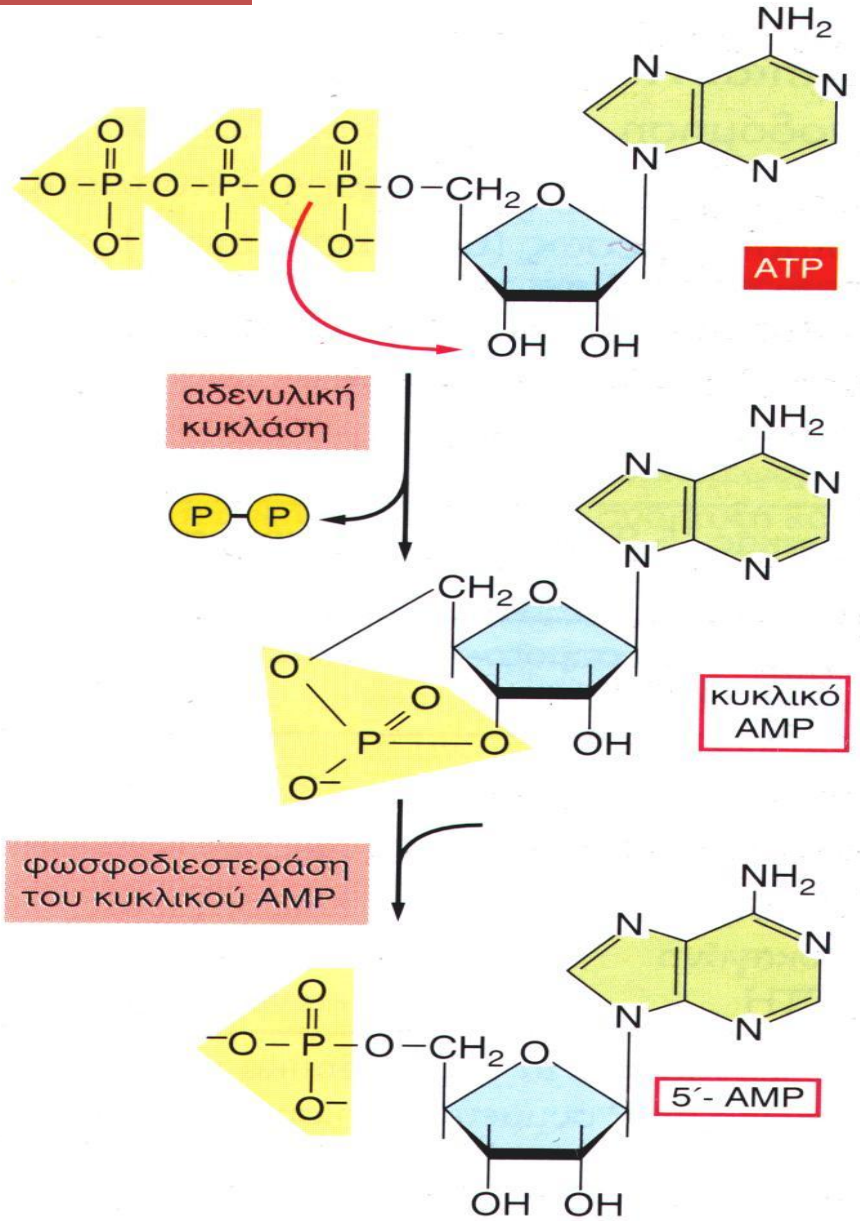
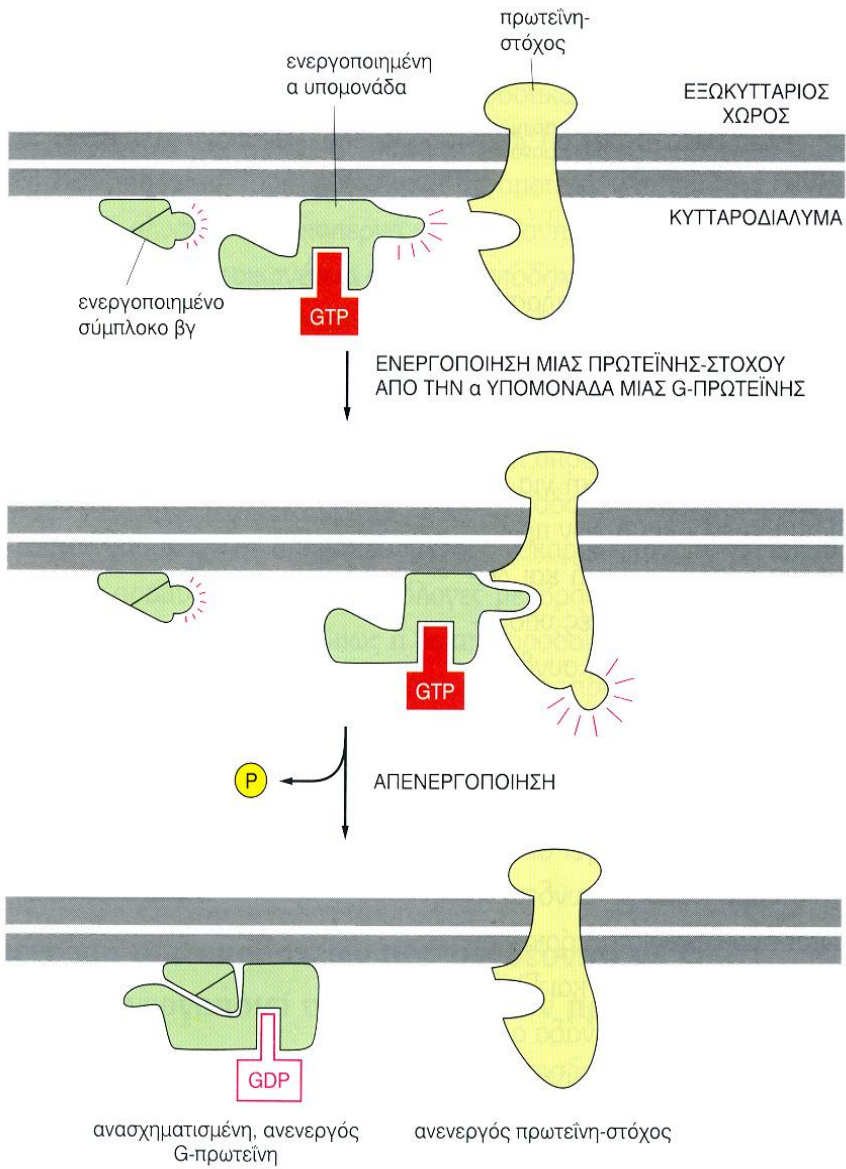


Οι RGS πρωτεΐνες μέσω των διαφορετικών δομικών περιοχών τους μπορούν να συνδέονται με την πλασματική μεμβράνη, κανάλια, GPCRs ή εξειδικευμένες Gα υπομονάδες.

Από Siderovski D., Willard F., The GAPs, GEFs, and GDIs of heterotrimeric G-protein alpha subunits, Int. J. Biol. Sci., 2005, 1, 51-66.

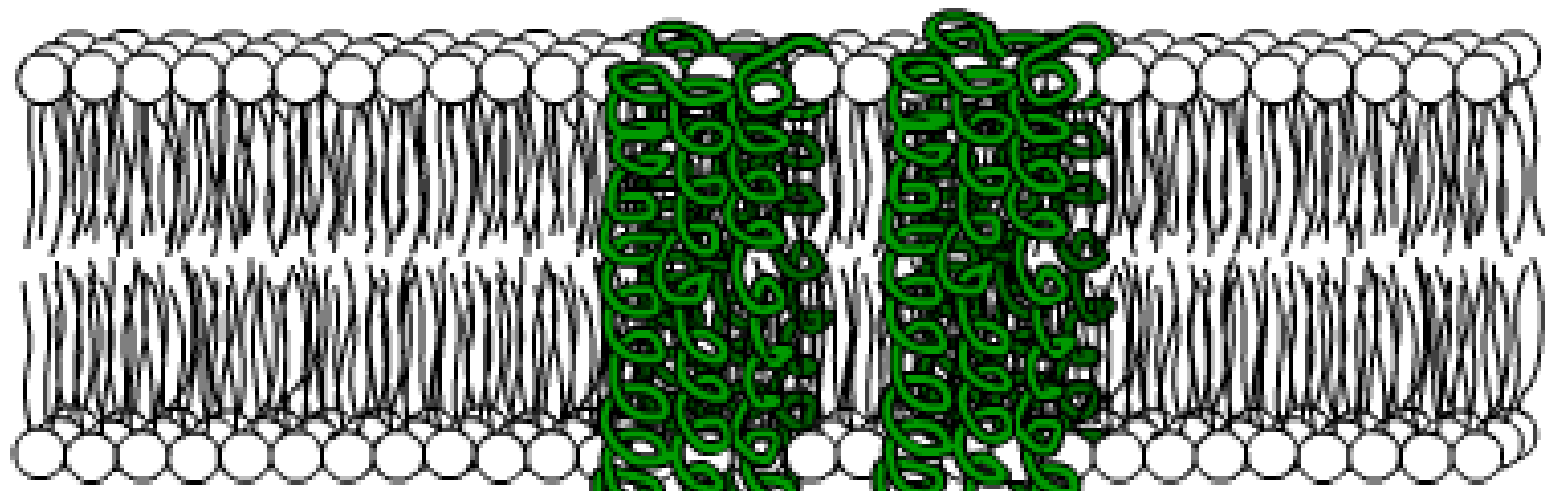


Αδενυλική κυκλάση



Transmembrane domain 1

Transmembrane domain 2



N-terminal domain

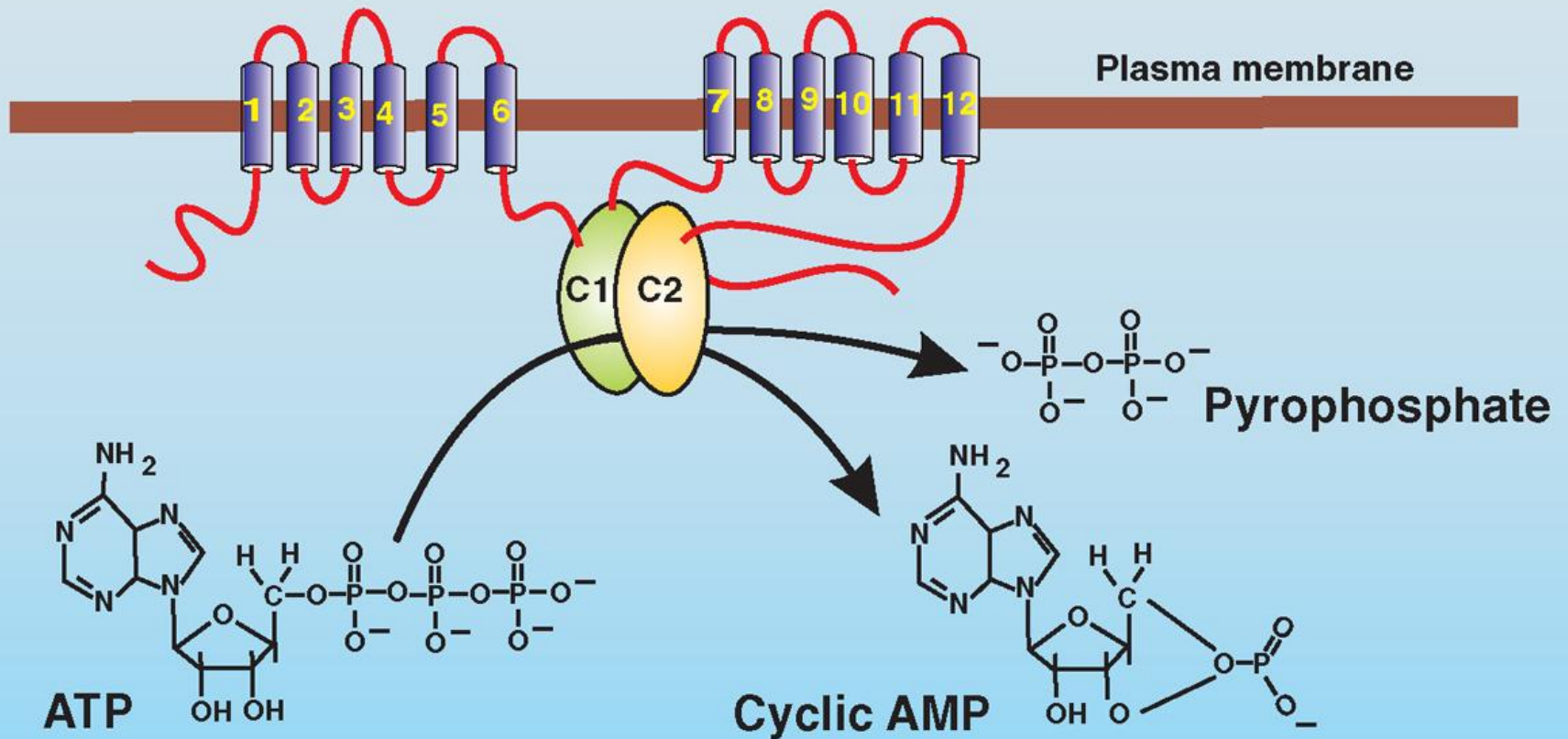
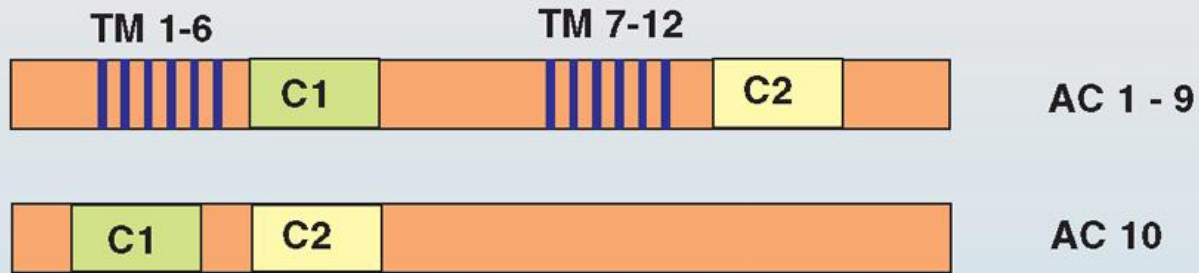
Cytoplasmic domain 2b

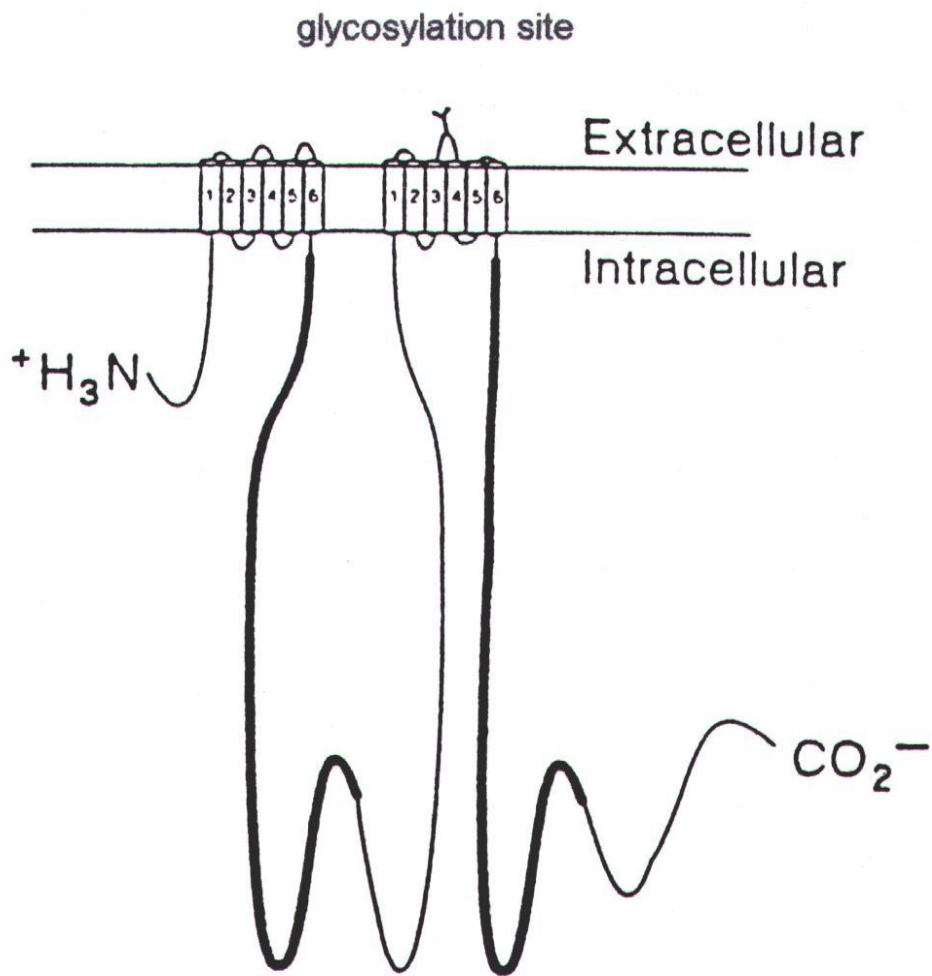
Cytoplasmic domain 1b

Cytoplasmic domain 1a

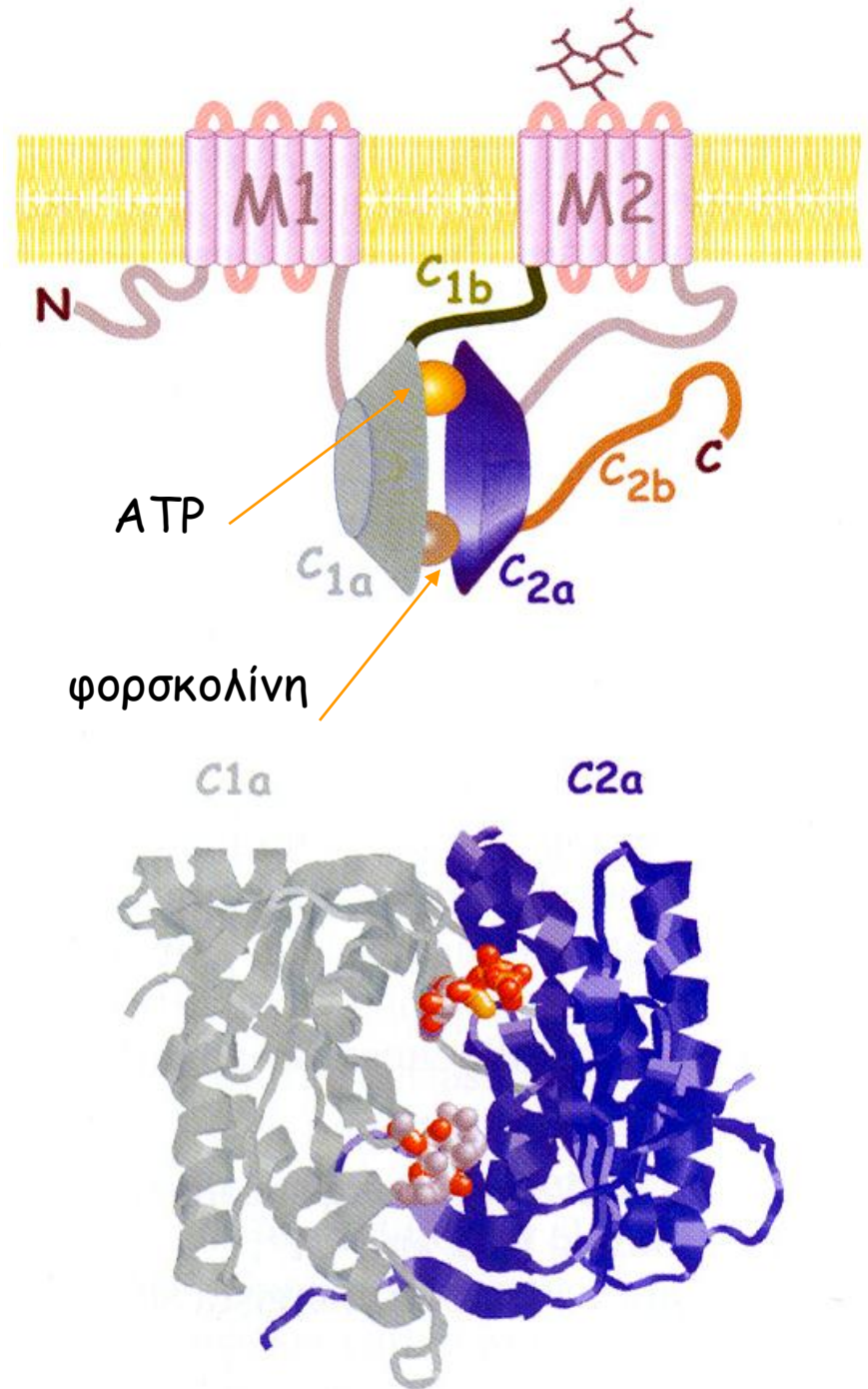
Cytoplasmic domain 2a

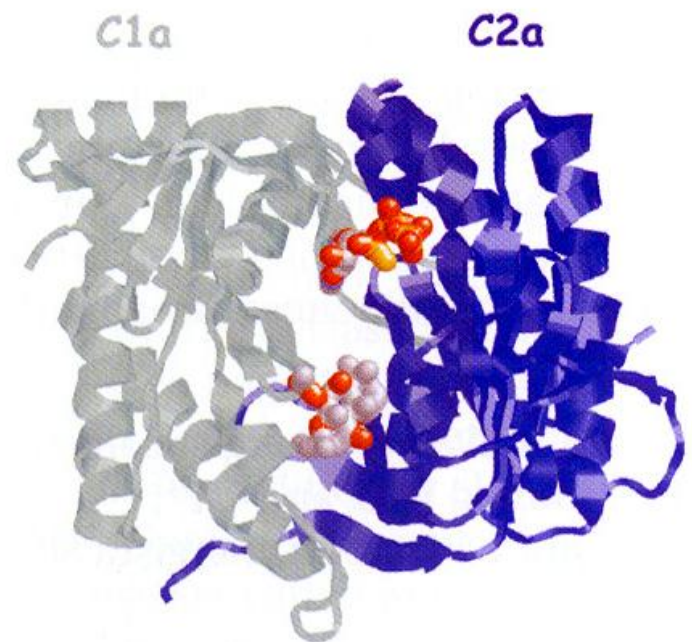
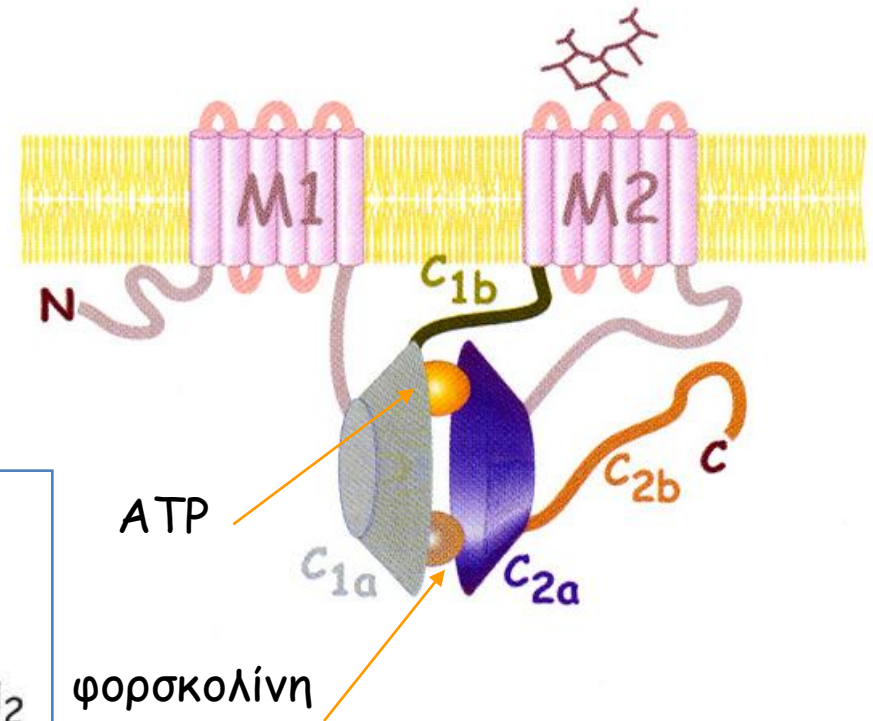
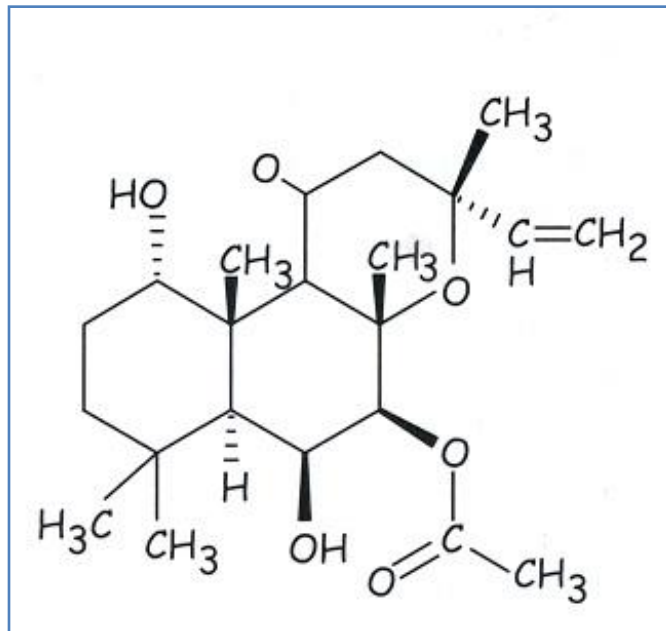




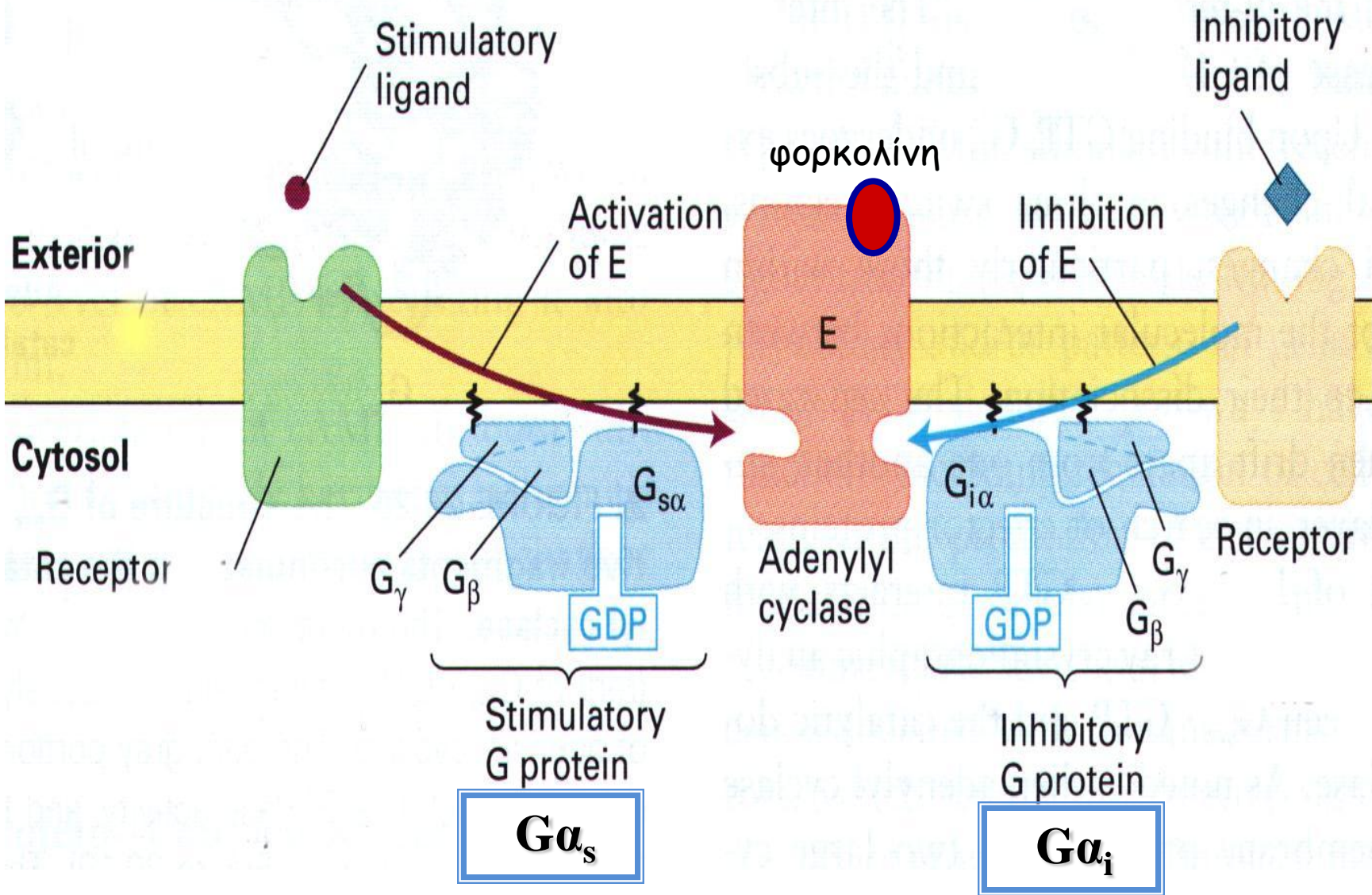


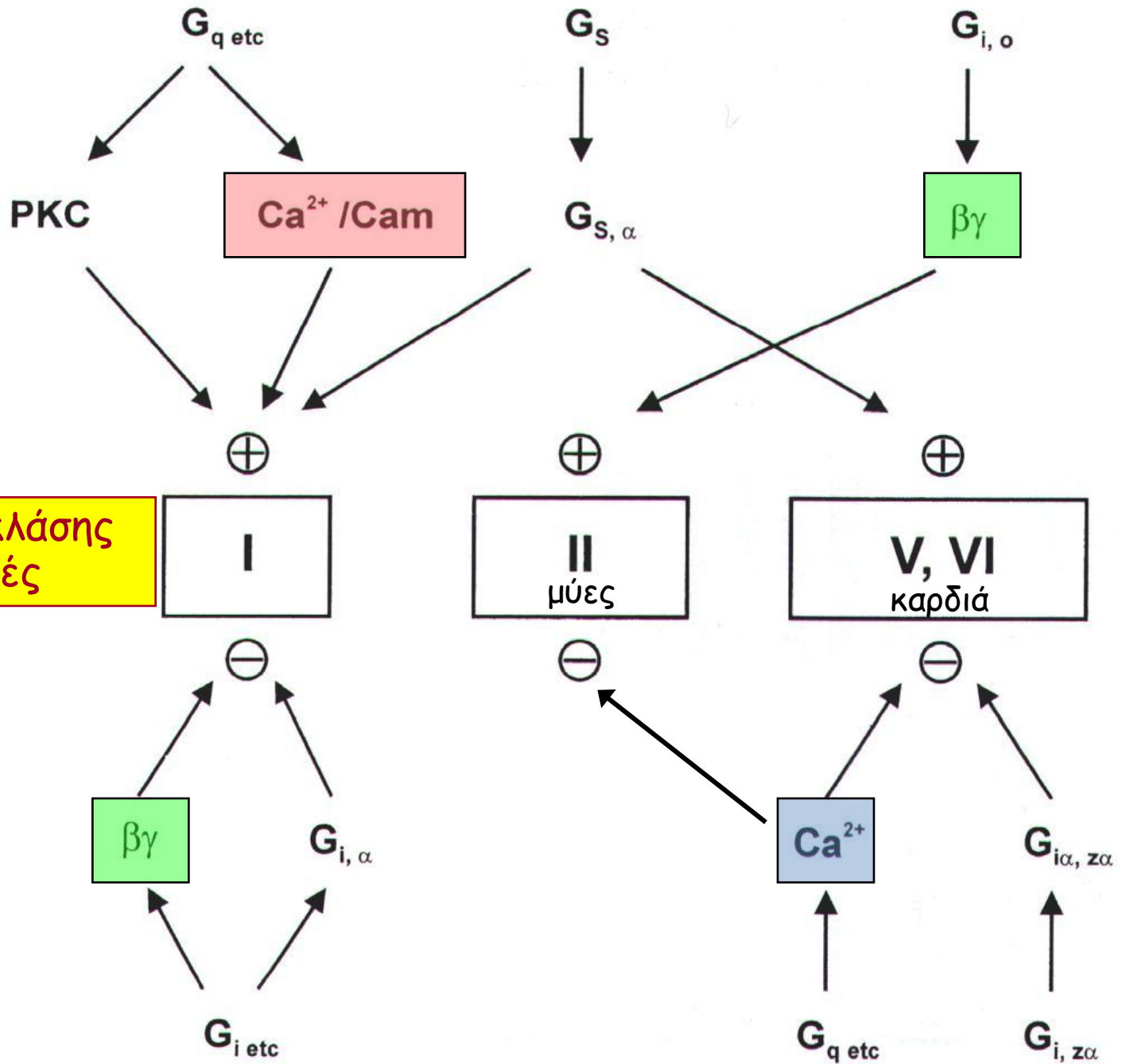
Η αδενυλοκυκλάση είναι μια γλυκοπρωτεΐνη μοριακού βάρους 120 kDa.





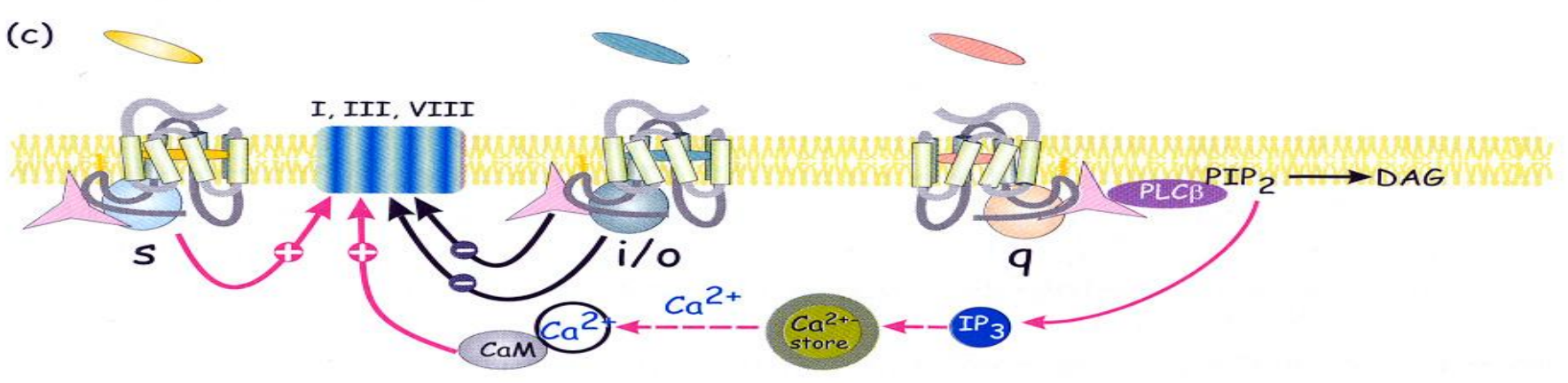
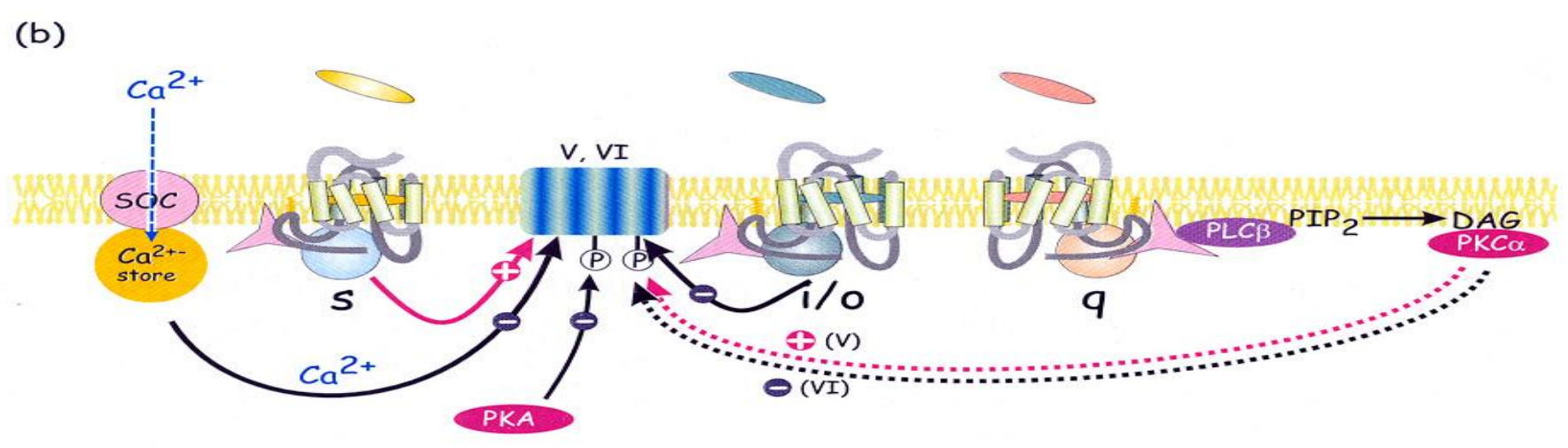
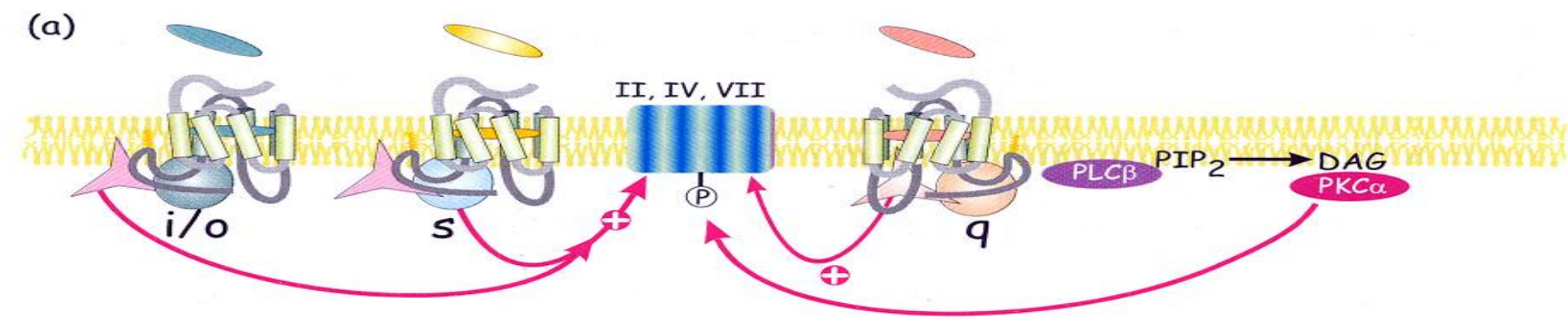
ΑΔΕΝΥΛΙΚΗ ΚΥΚΛΑΣΗ: Ενεργοποίηση και Αναστολή

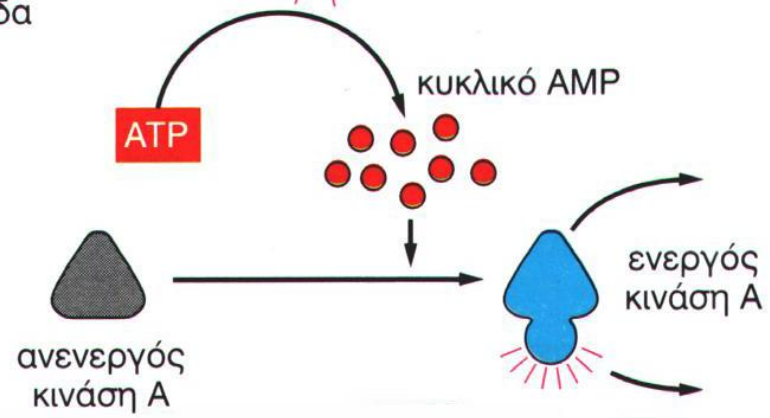
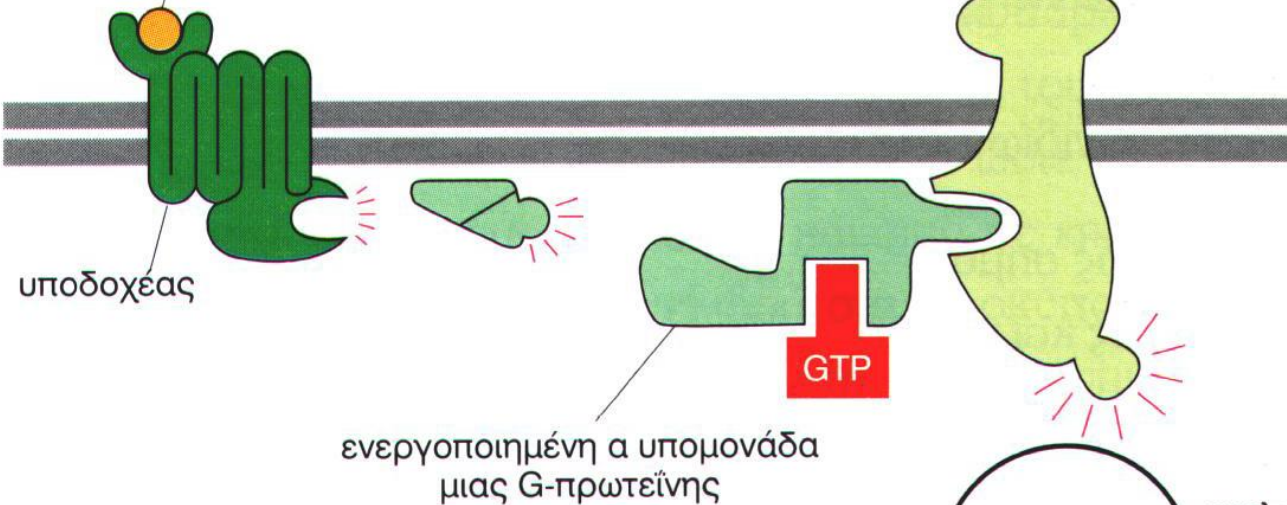
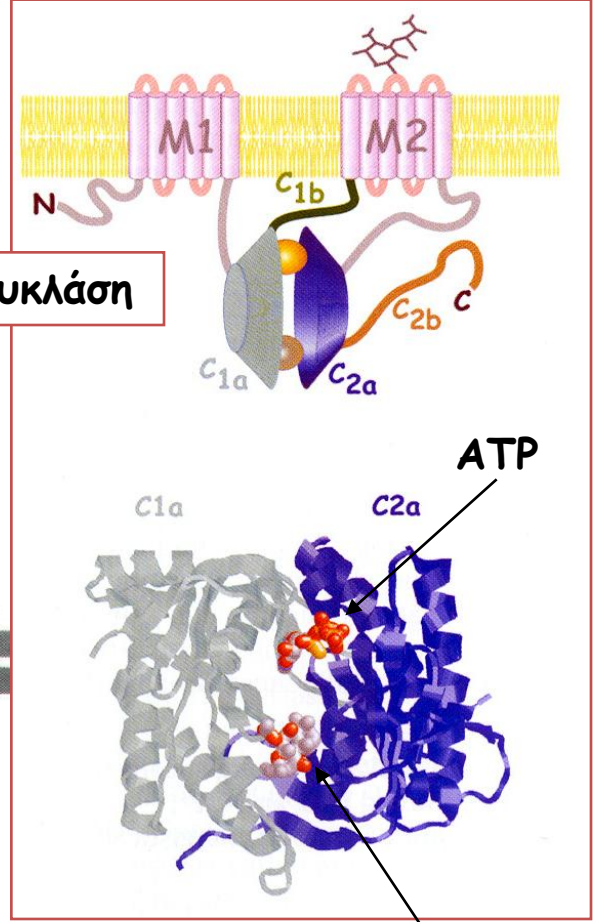
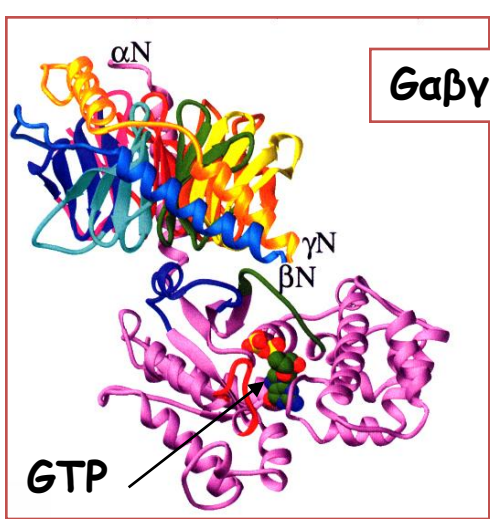
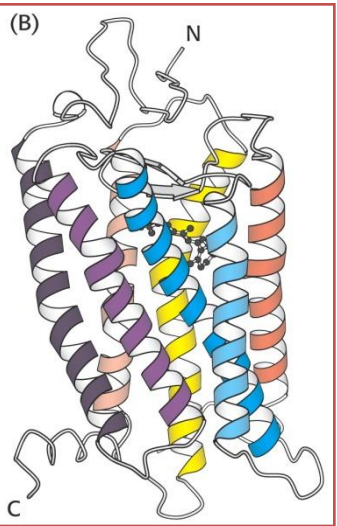




**Αδενυλοκυκλάσης
ισομορφές**

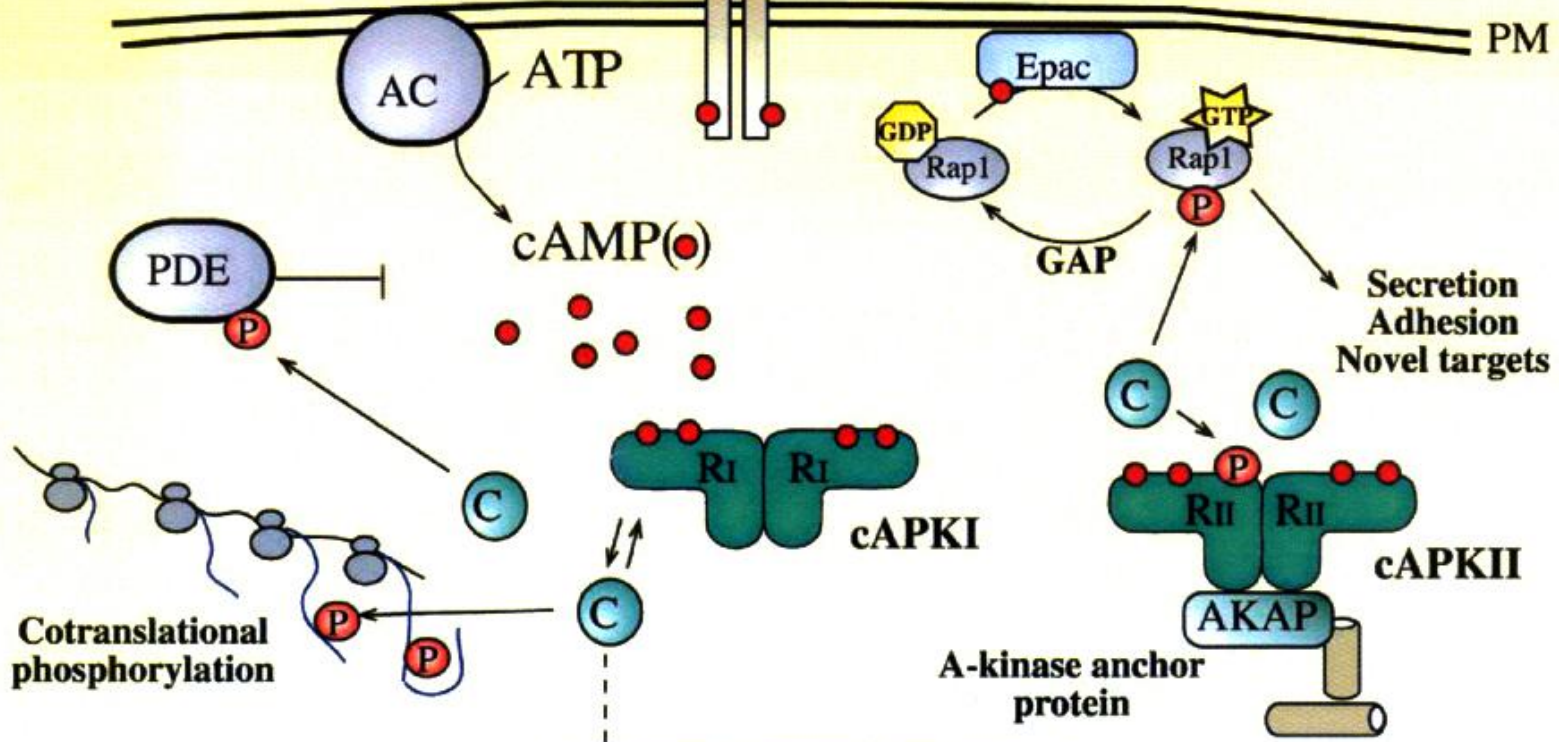
Inhibition





ΚΥΤΤΑΡΟΔΙΑΛΥΜΑ

Adenylyl cyclase Cyclic nucleotide gated ion channels Exchange protein activated by cAMP PM



PDE

cAMP

Epac
Rap1
GDP
GTP
GAP

Secretion
Adhesion
Novel targets

Ri Ri
cAPKI

Rii Rii
AKAP
cAPKII

A-kinase anchor protein

Cotranslational phosphorylation

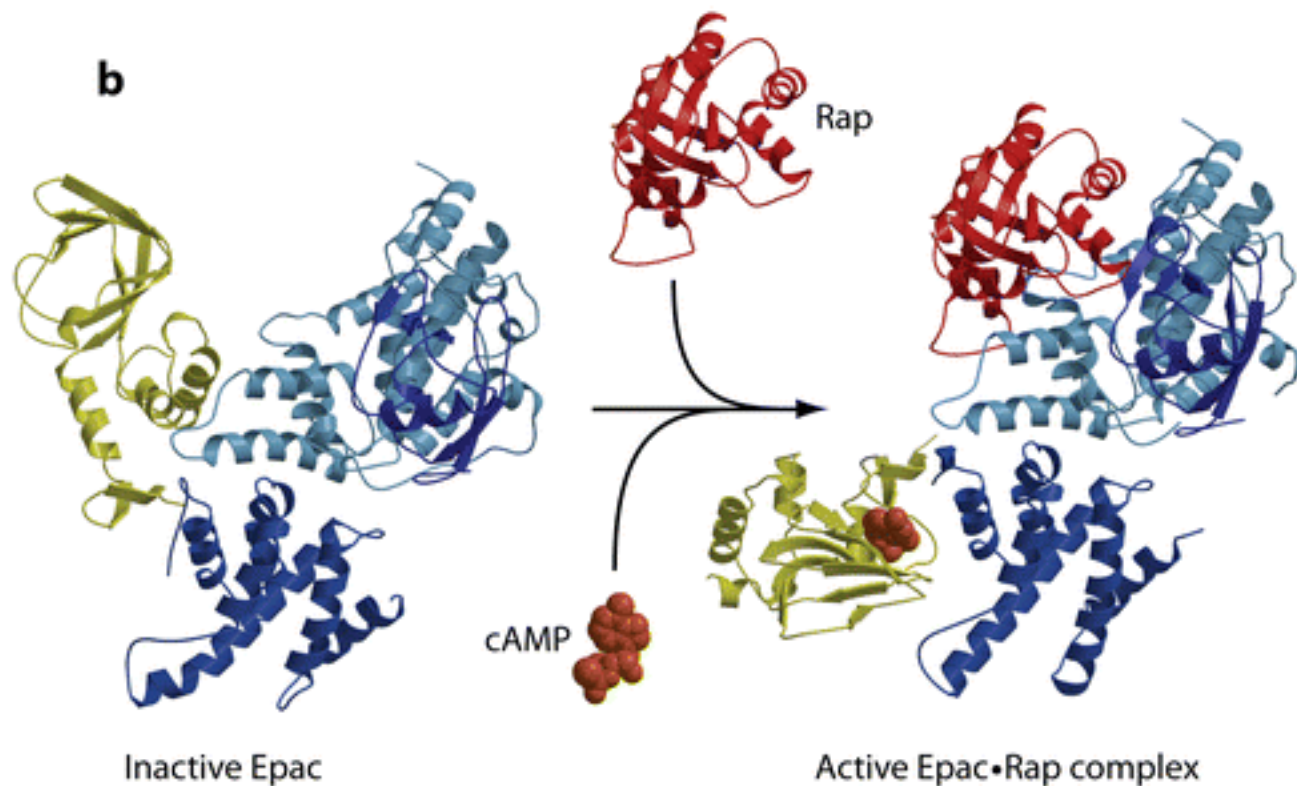
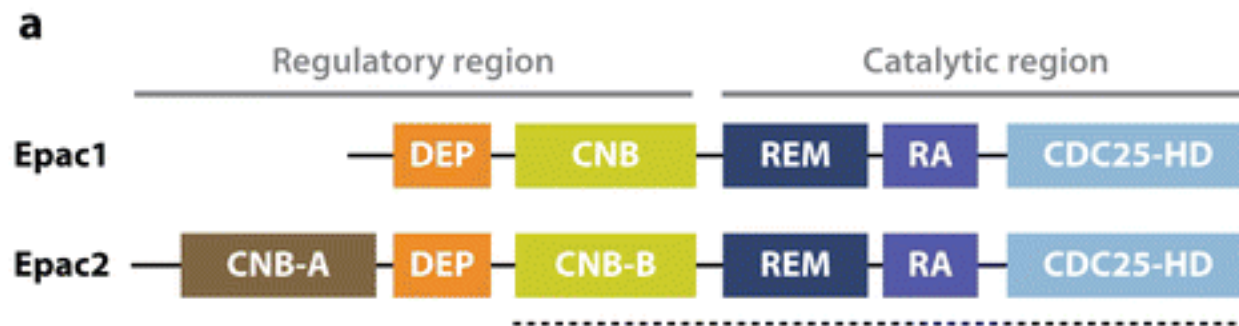
PKI

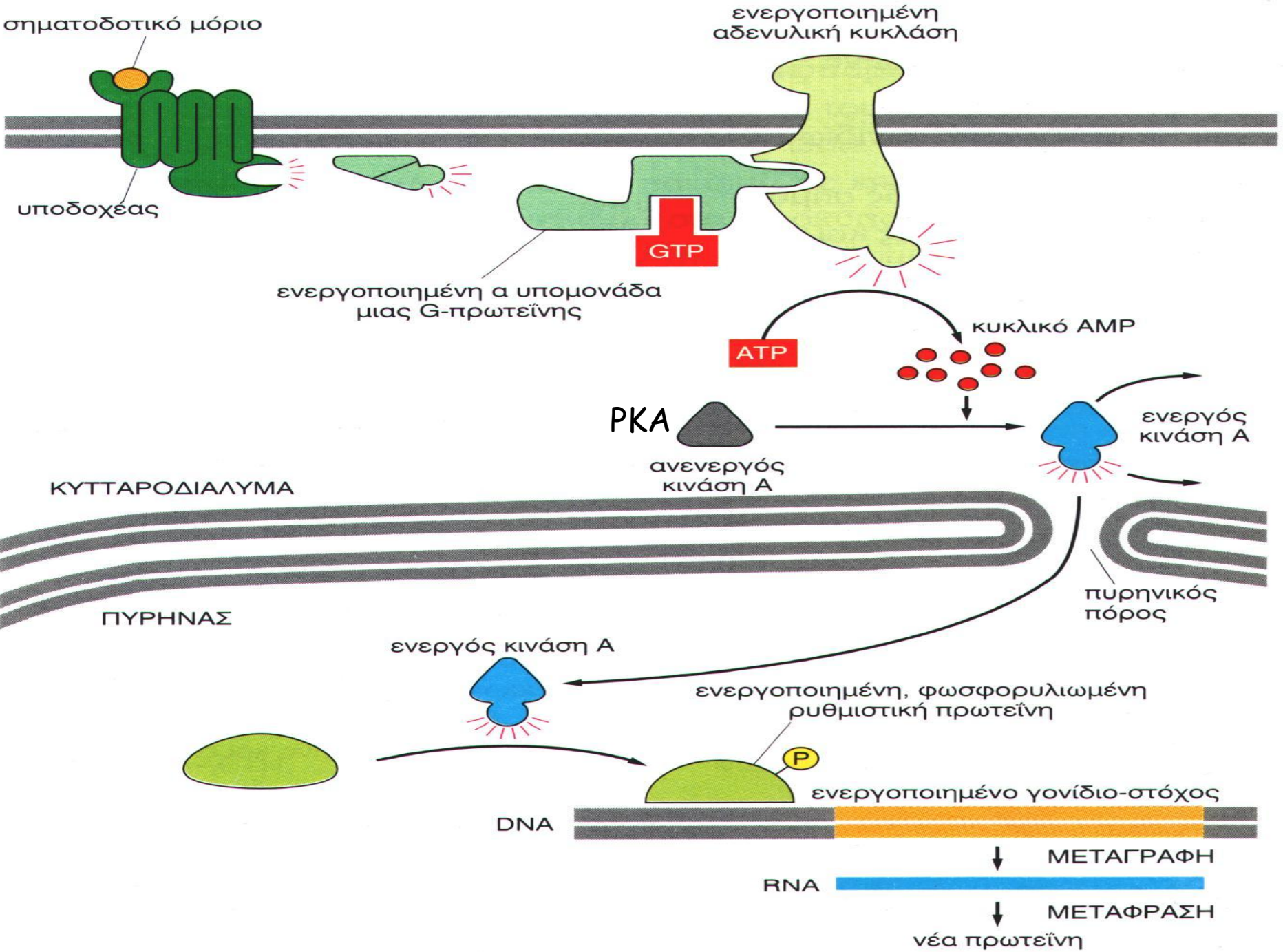
CREB

Nucleus

ICER

→ Activating
—| Inhibiting
- - - Translocation





σηματοδοτικό μόριο

υποδοχέας

ενεργοποιημένη
αδενυλική κυκλάση

ενεργοποιημένη α υπομονάδα
μιας G-πρωτεΐνης

GTP

ATP

κυκλικό AMP

PKA

ανενεργός
κινάση A

ενεργός
κινάση A

ΚΥΤΤΑΡΟΔΙΑΛΥΜΑ

ΠΥΡΗΝΑΣ

πυρηνικός
πόρος

ενεργός κινάση A

ενεργοποιημένη, φωσφορυλιωμένη
ρυθμιστική πρωτεΐνη

ενεργοποιημένο γονίδιο-στόχος

DNA

RNA

ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ

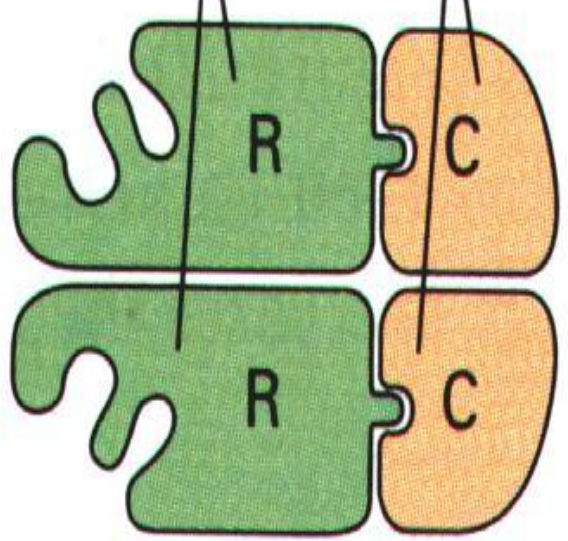
ΜΕΤΑΦΡΑΣΗ

νέα πρωτεΐνη

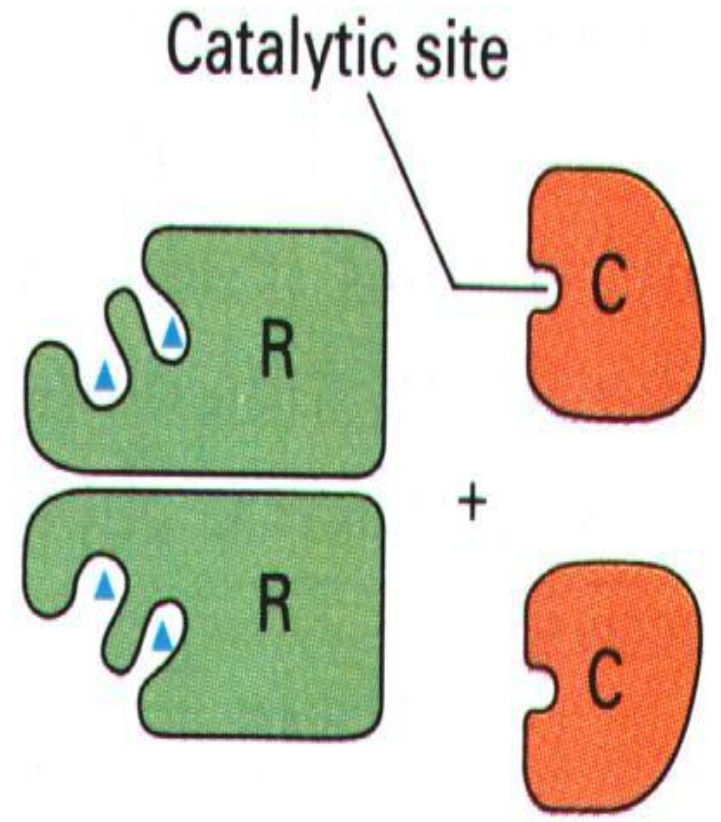
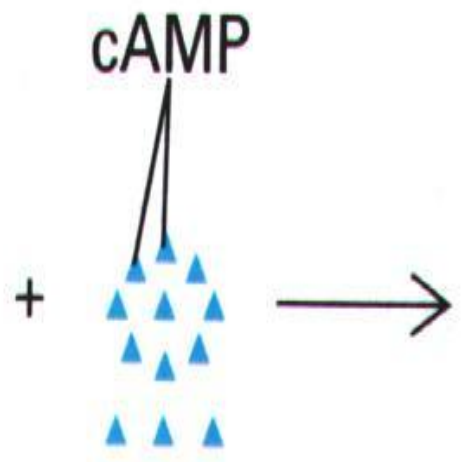
P

cAMP-dependent protein kinase

Regulatory subunits Catalytic subunits



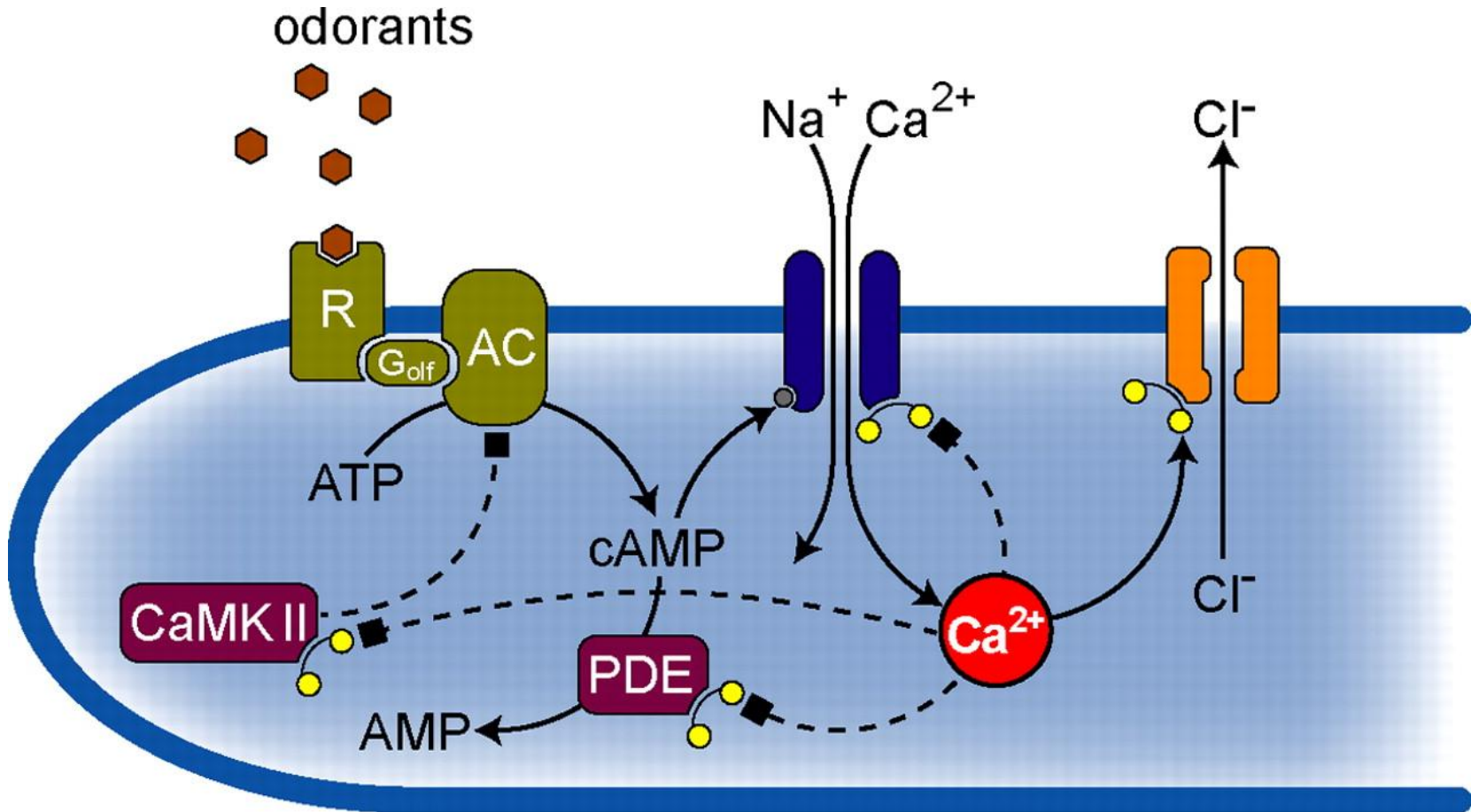
Inactive



Active

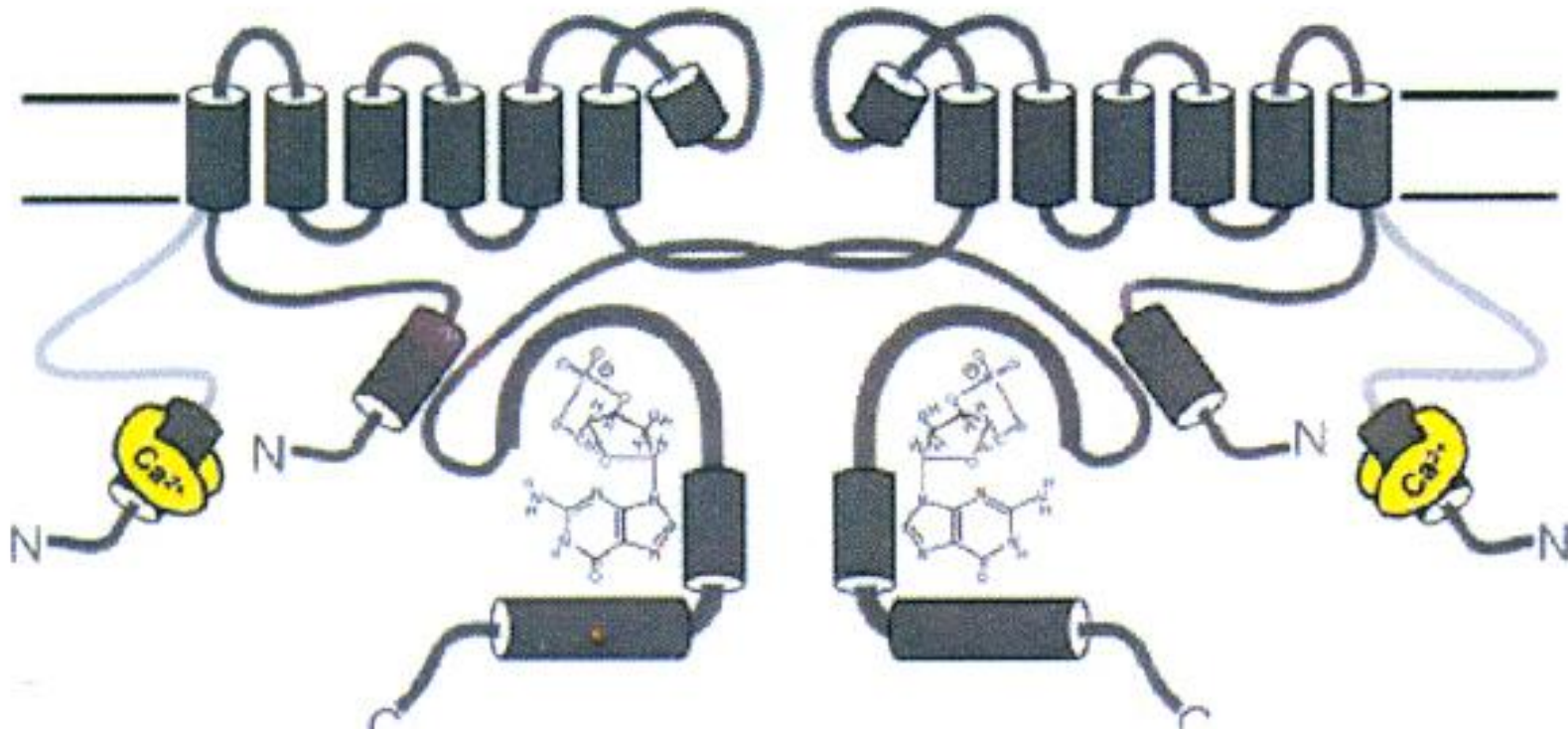
Οι PKA κινάσες αποτελούνται από τέσσερα μέρη: δύο καταλυτικές και 2 ρυθμιστικές υπομονάδες.

Κανάλια ιόντων που ρυθμίζονται
από δεύτερους διαβιβαστές:
όσφρηση



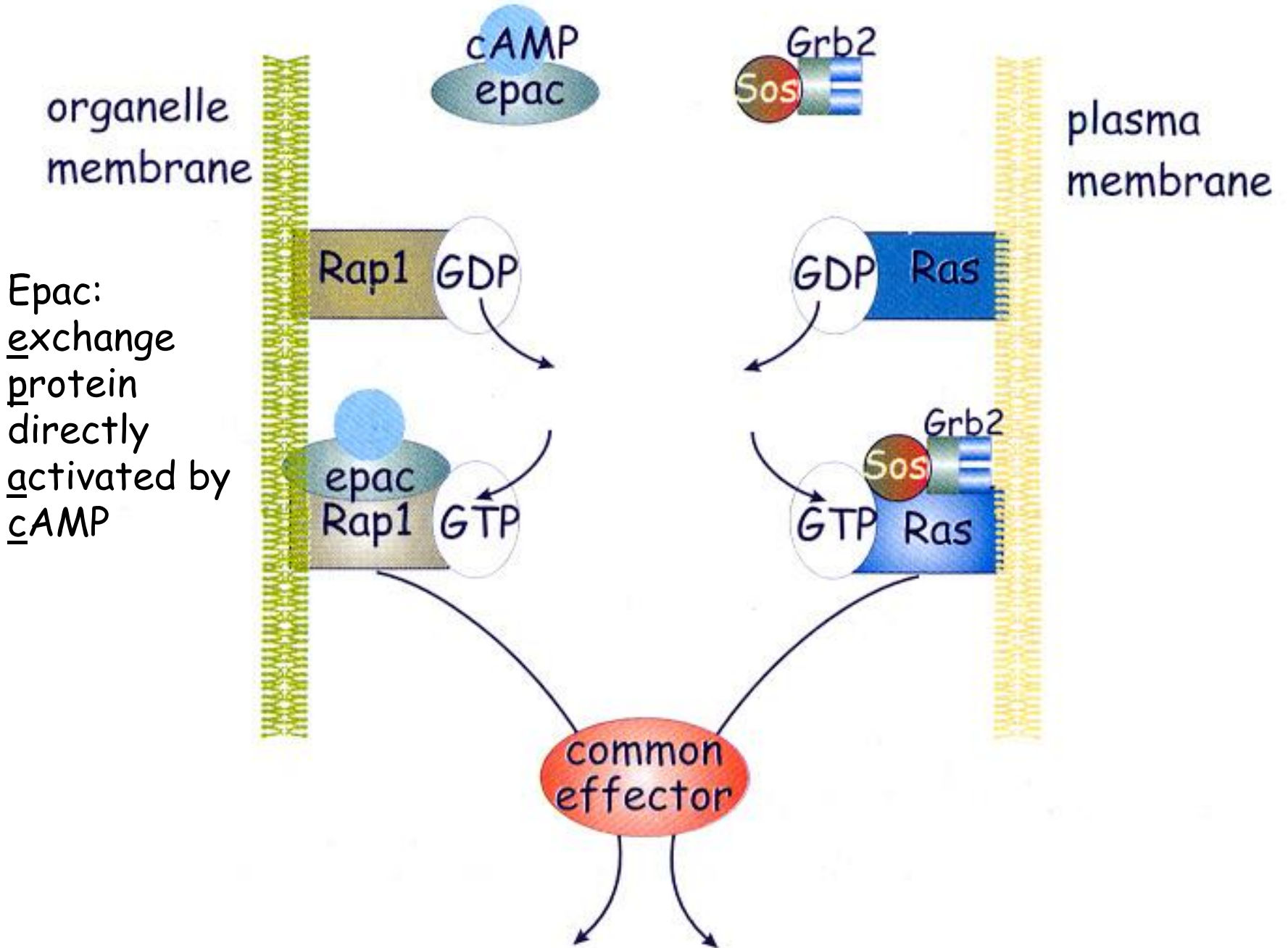
 : CaM

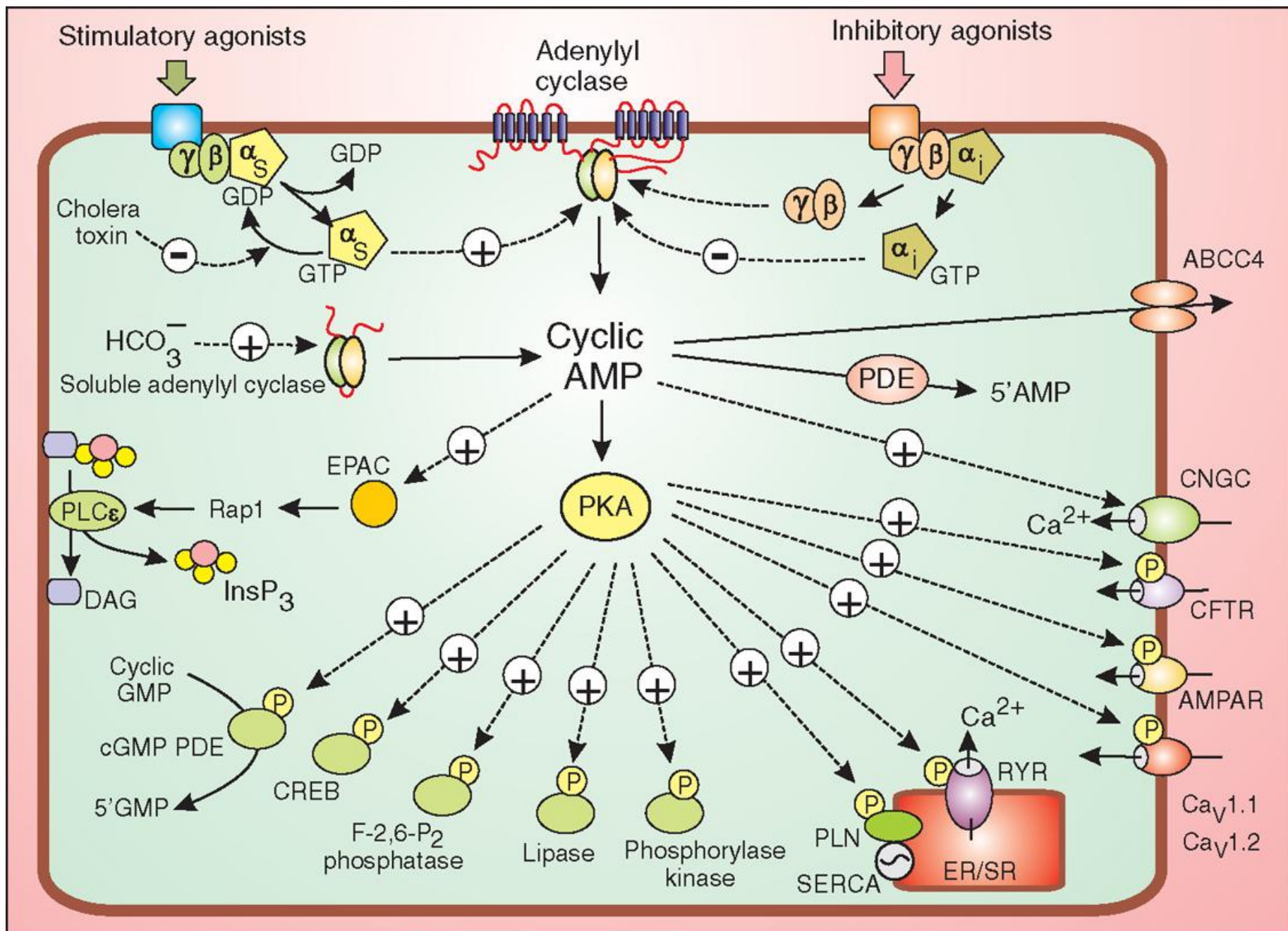
Olfactory CNG channels



Ένα άλλο χαρακτηριστικό των καναλιών των κυκλικών νουκλεοτιδίων είναι ότι ρυθμίζονται αρνητικά από το Ca^{2+} . Η αύξηση του κυτταροπλασματικού Ca^{2+} μετά το άνοιγμα των καναλιών, οδηγεί στη δημιουργία του συμπλόκου Ca^{2+} /καλμοντουλίνης, το οποίο συνδέεται στο N-τελικό άκρο των καναλιών και αλλάζοντας τη διαμόρφωση των υπομονάδων ελαττώνει τη συγγένεια των καναλιών για τα κυκλικά νουκλεοτίδια (cAMP, cGMP).

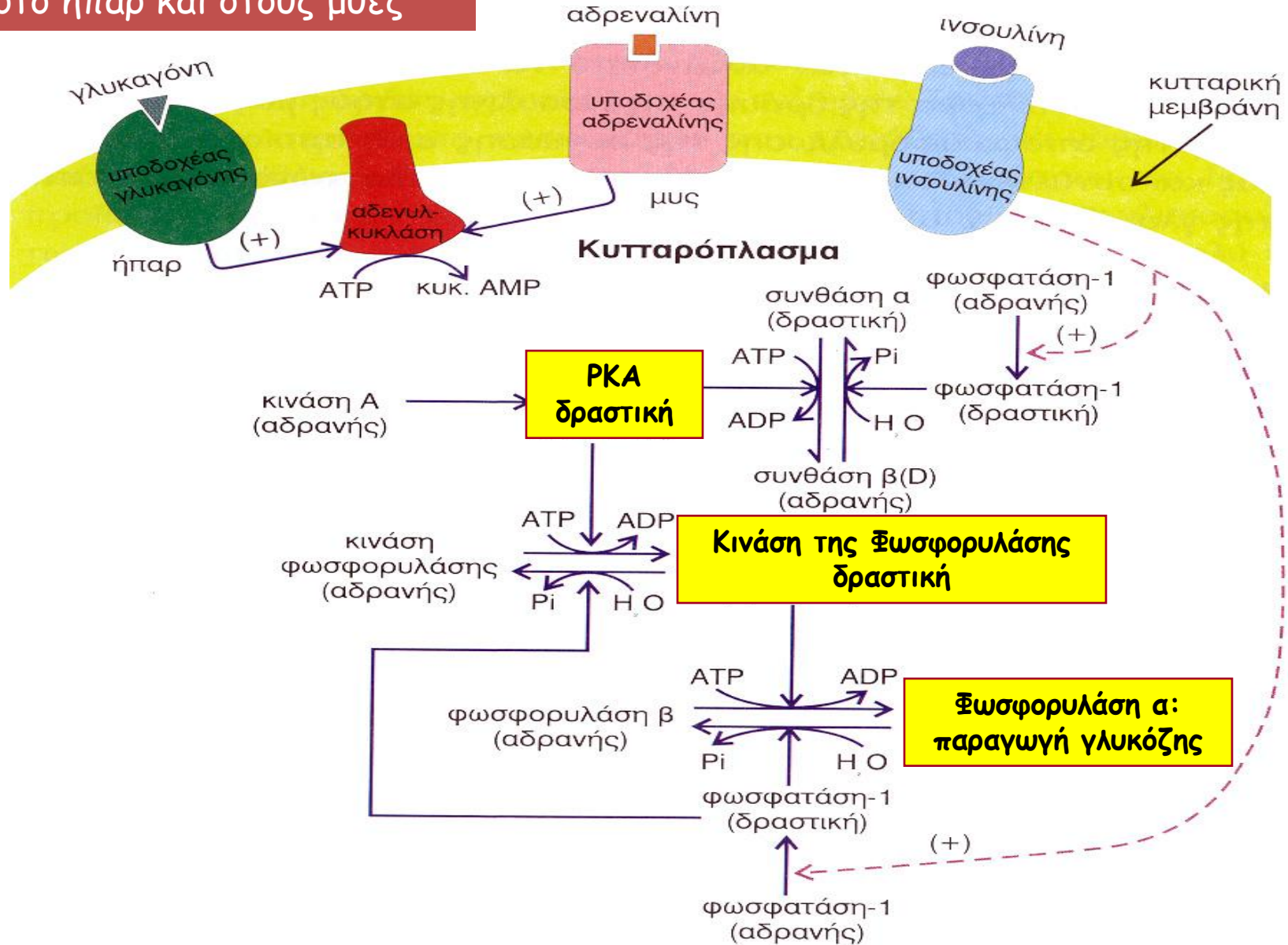
Στο μηχανισμό αυτό αρνητικού feed-back οφείλεται η γρήγορη προσαρμογή των οσφρητικών και των φωτο-υποδοχέων.

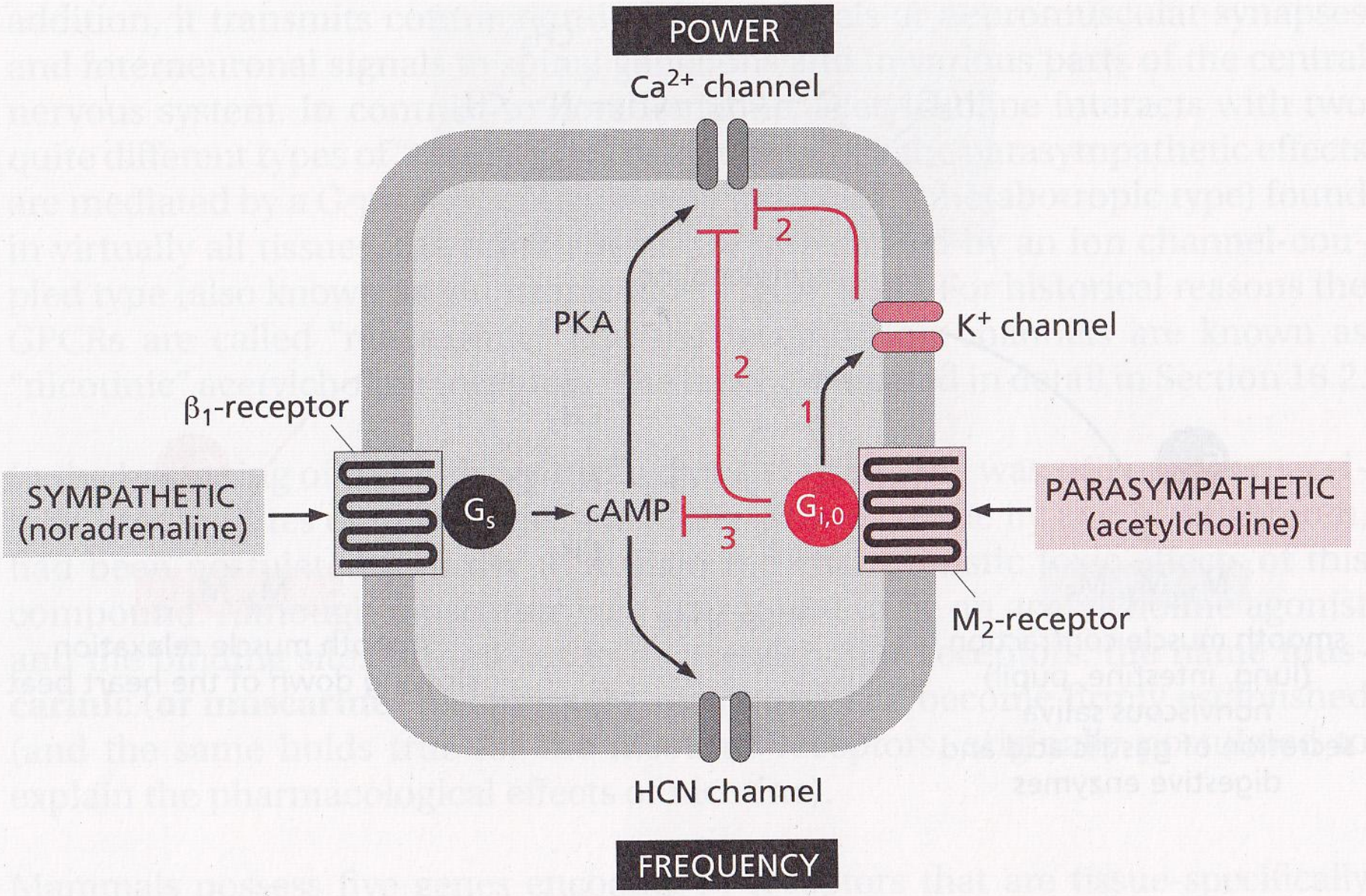




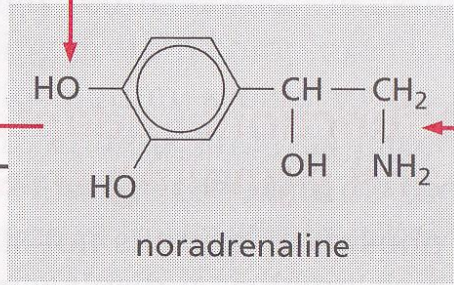
Ορμονικός έλεγχος του μεταβολισμού του γλυκογόνου στο ήπαρ και στους μύες

Εξωτερικό κυττάρου





catechol O-methyltransferase (COMT)



presynaptic
recapture

monoamine
oxidase (MAO)

β -receptor

α_2 -receptor

GRK2

β -arrestin

adenylate cyclase

cAMP

protein kinase A

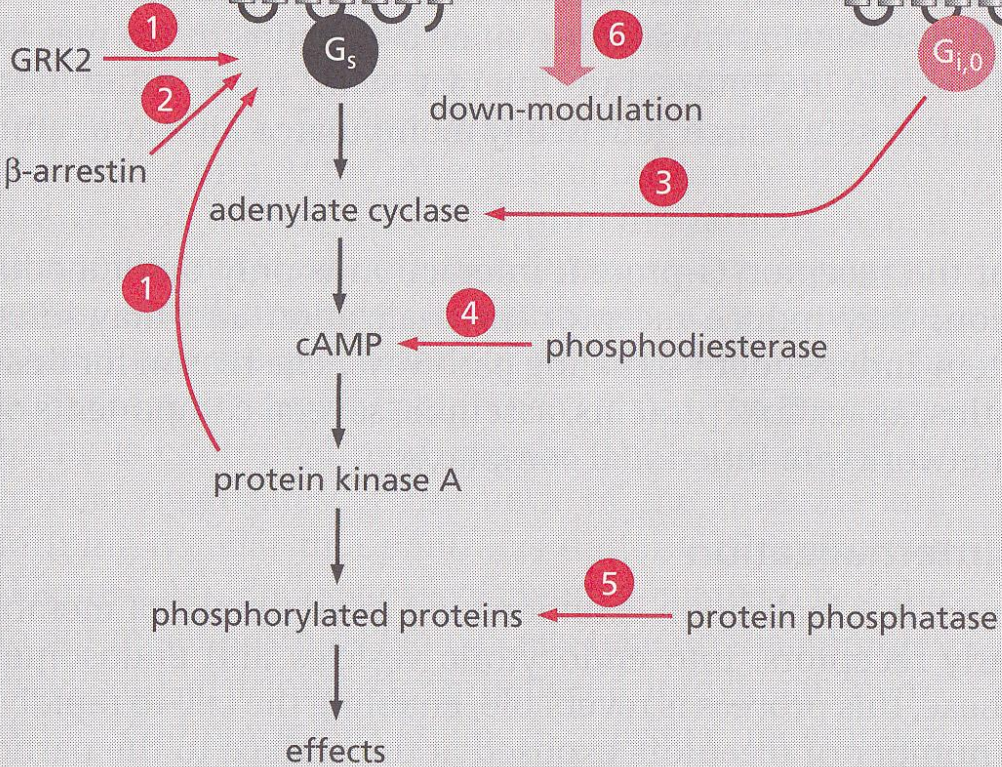
phosphorylated proteins

effects

down-modulation

phosphodiesterase

protein phosphatase



1

2

1

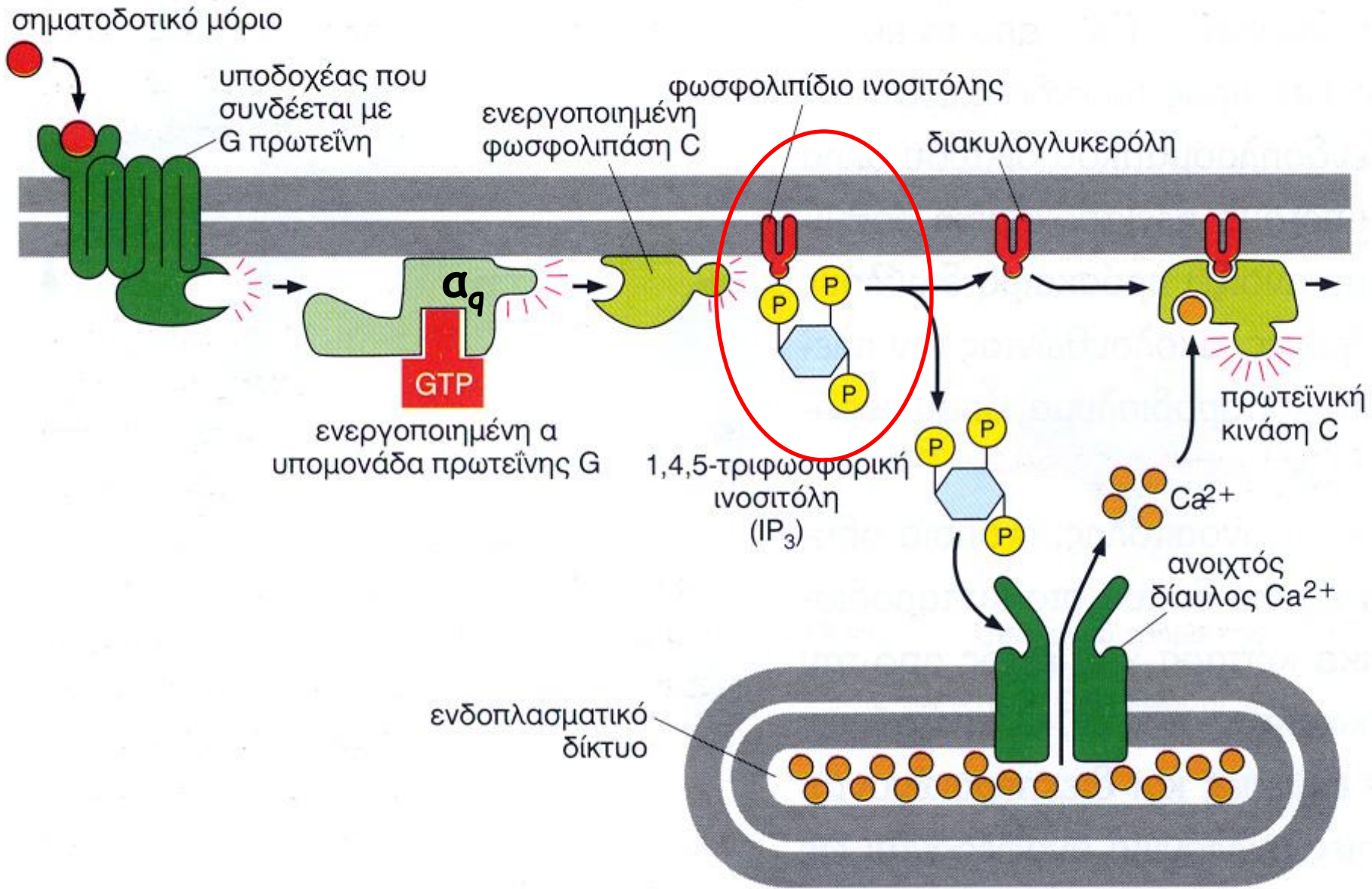
6

3

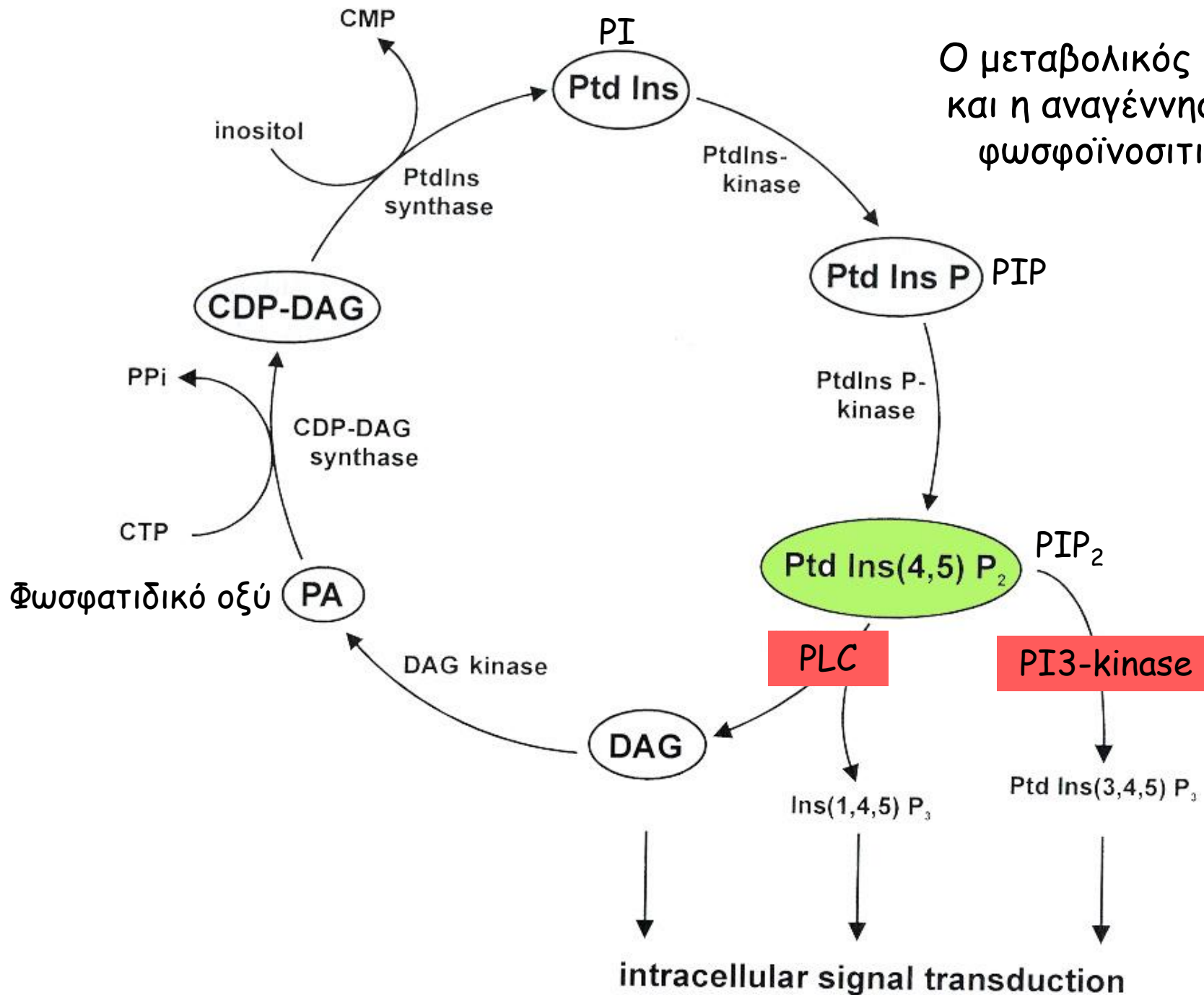
4

5

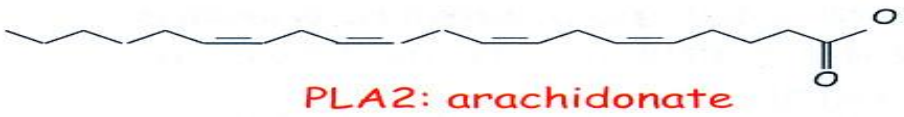
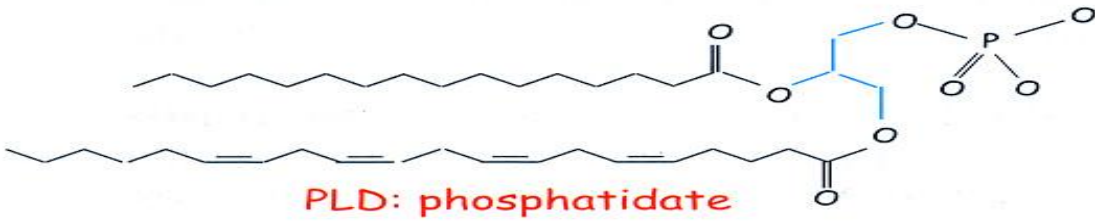
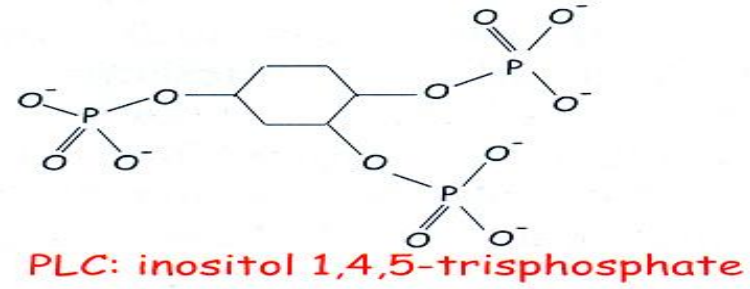
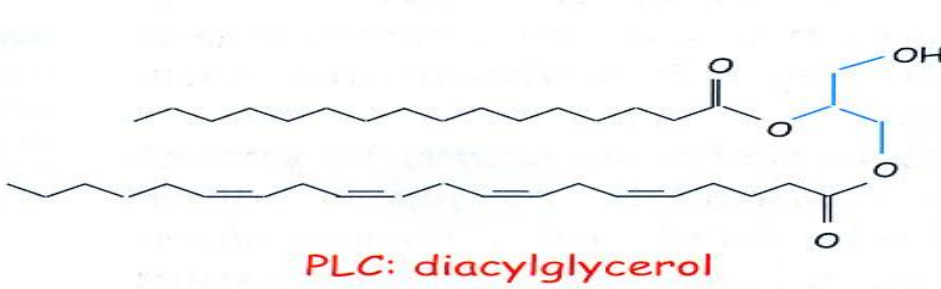
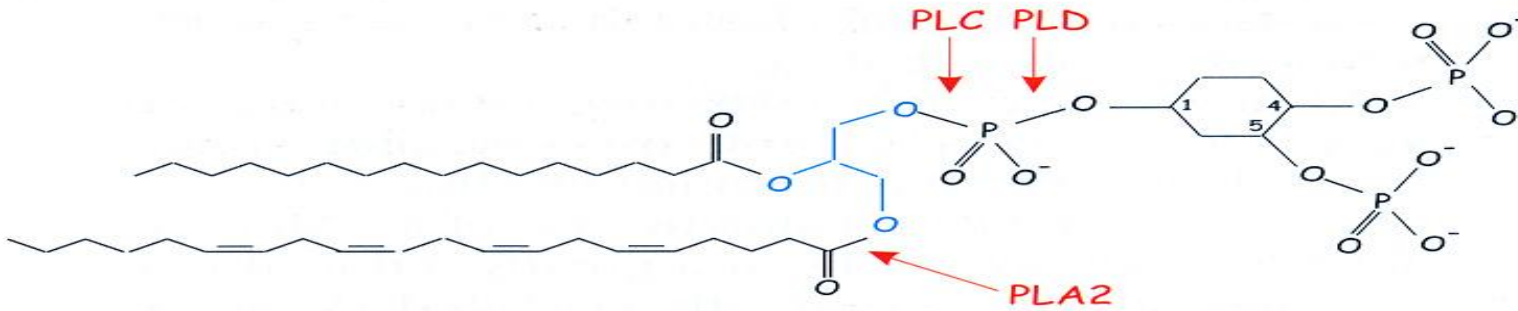
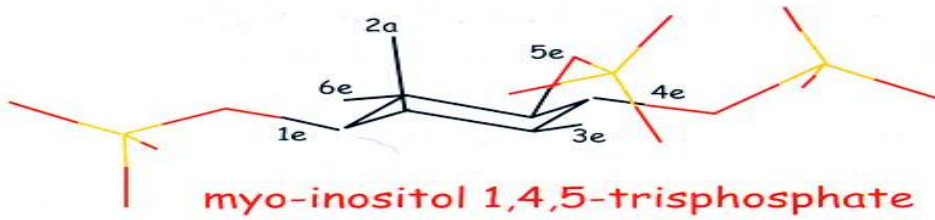
Το μονοπάτι των φωσφατιδυλο-ινοσιτιδίων



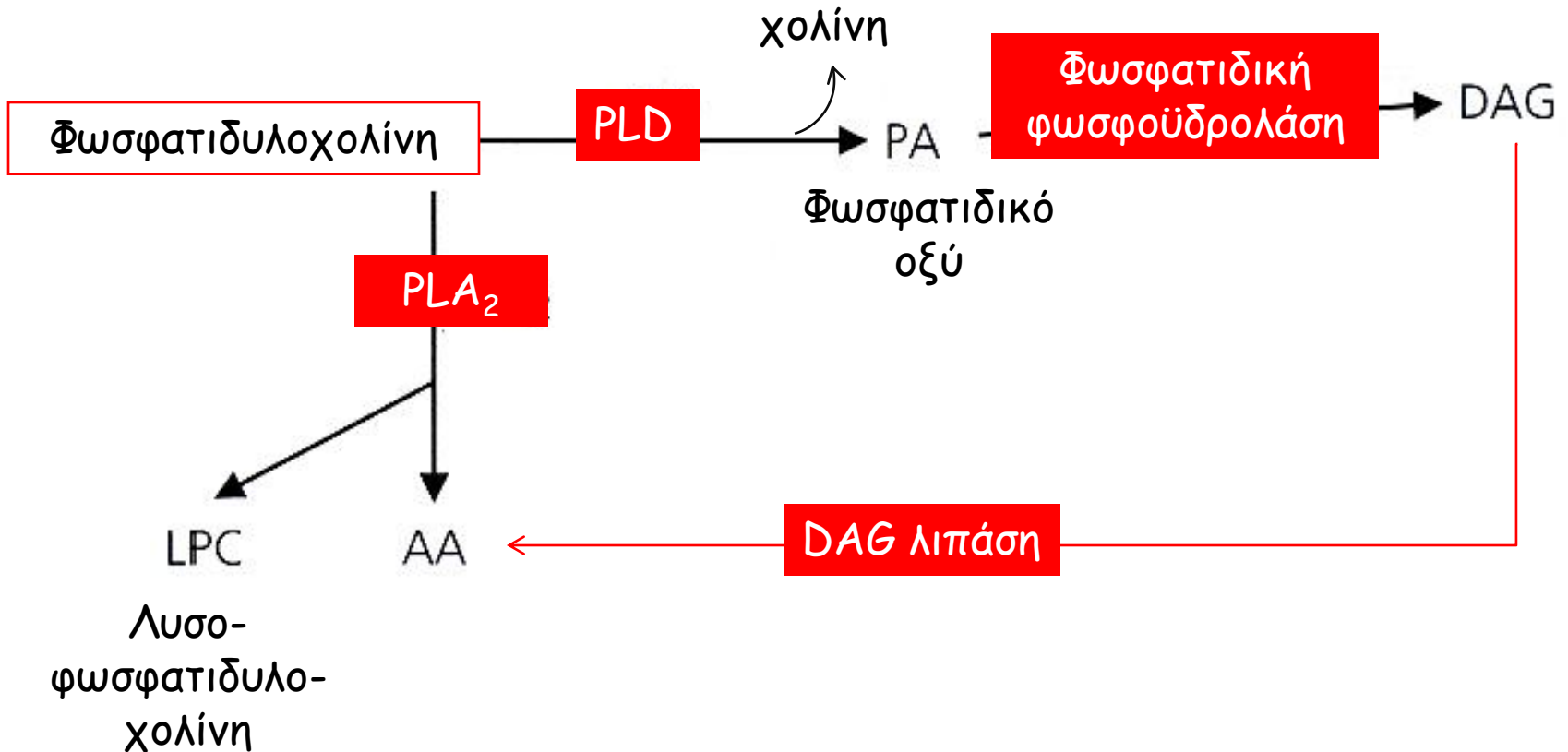
Ο μεταβολικός κύκλος
και η αναγέννηση των
φωσφοϊνοσιτιδίων

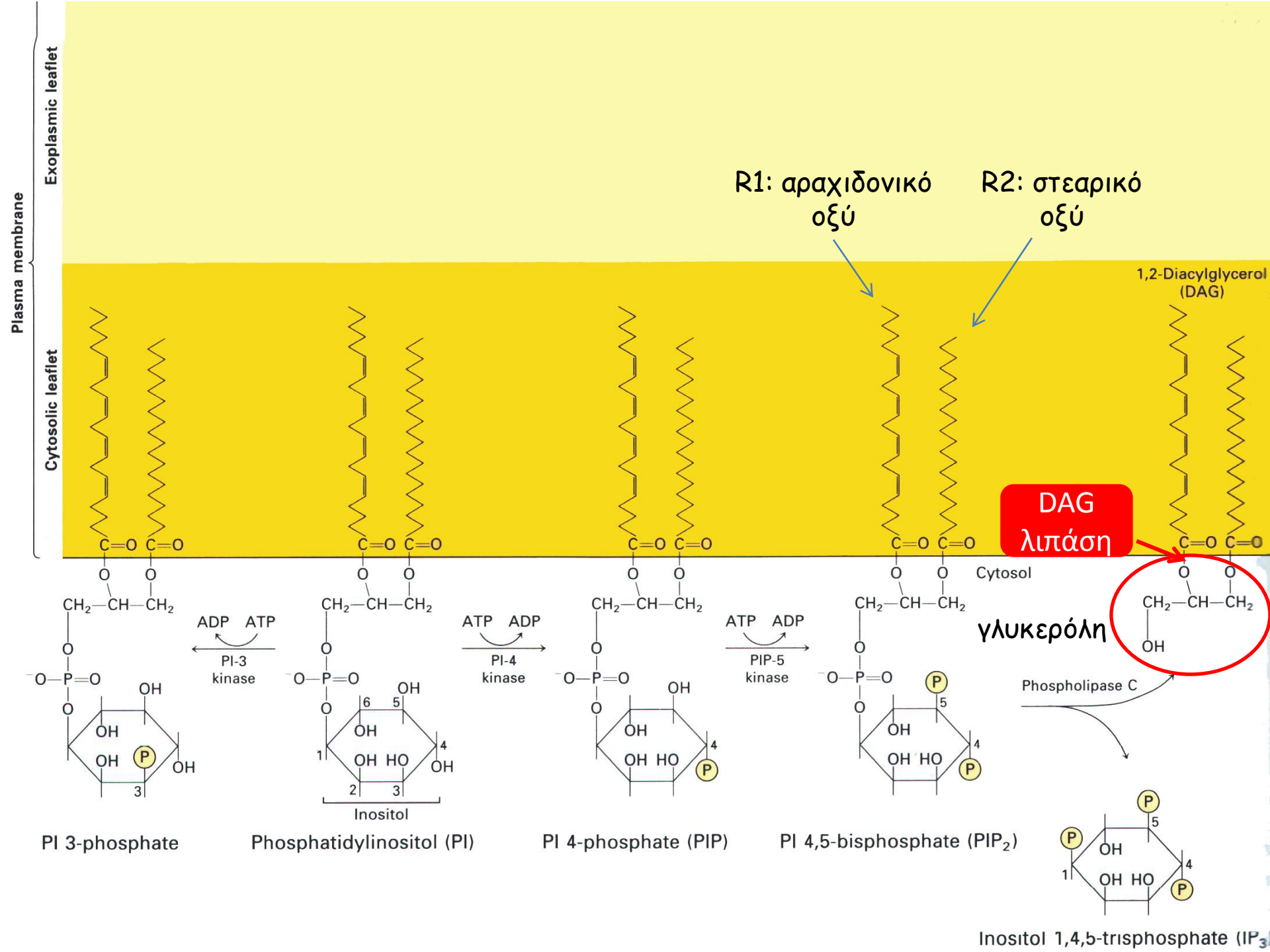


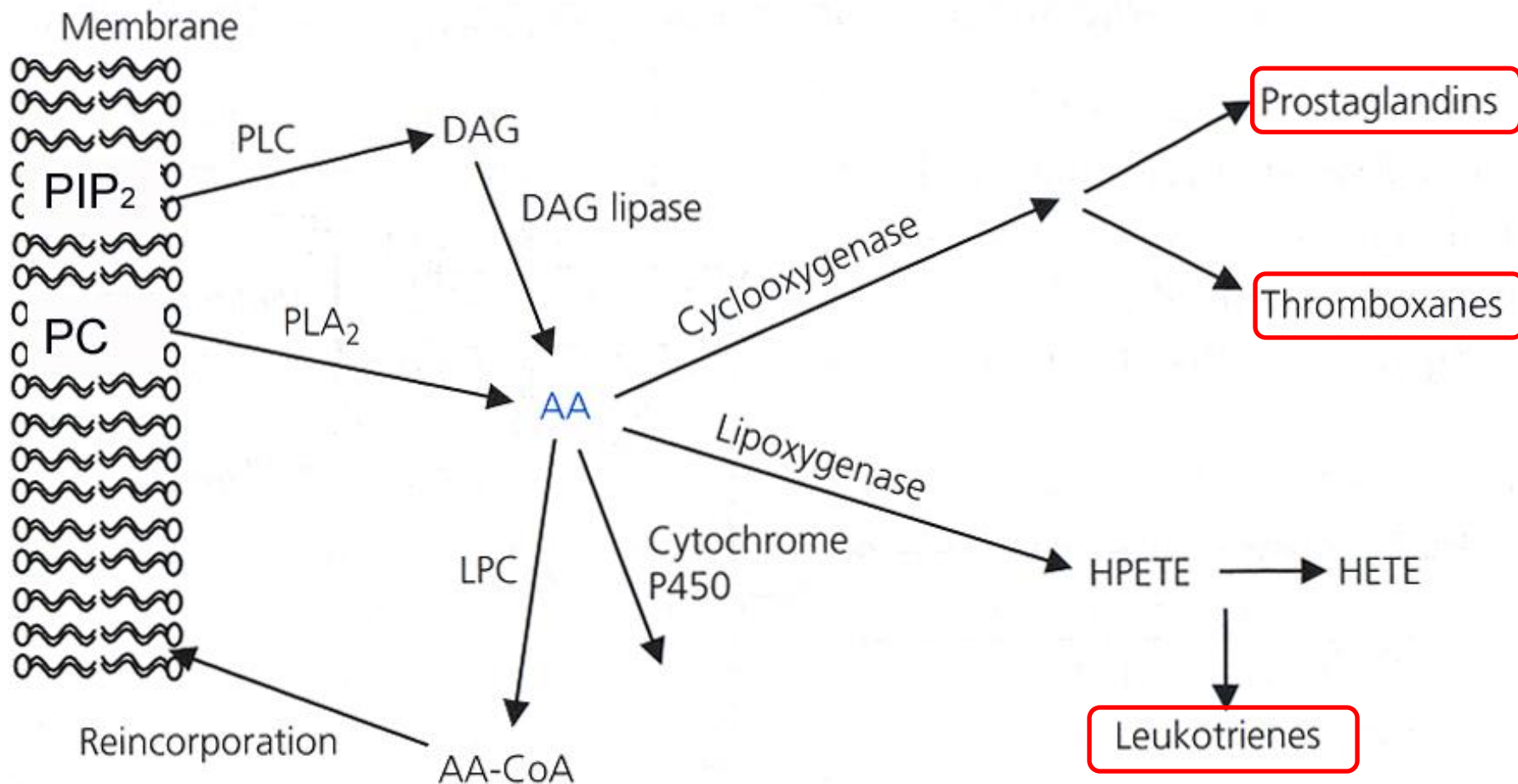
Οι φωσφολιπάσες είναι ένζυμα, τα οποία διασπούν φωσφολιπίδια. Οι φωσφολιπάσες τύπου A1, A2, C και D διαφοροποιούνται ανάλογα με τη θέση στόχευσής τους στο φωσφολιπίδιο



Άλλα φωσφολιπίδια της μεμβράνης που συμμετέχουν στη σηματοδότηση





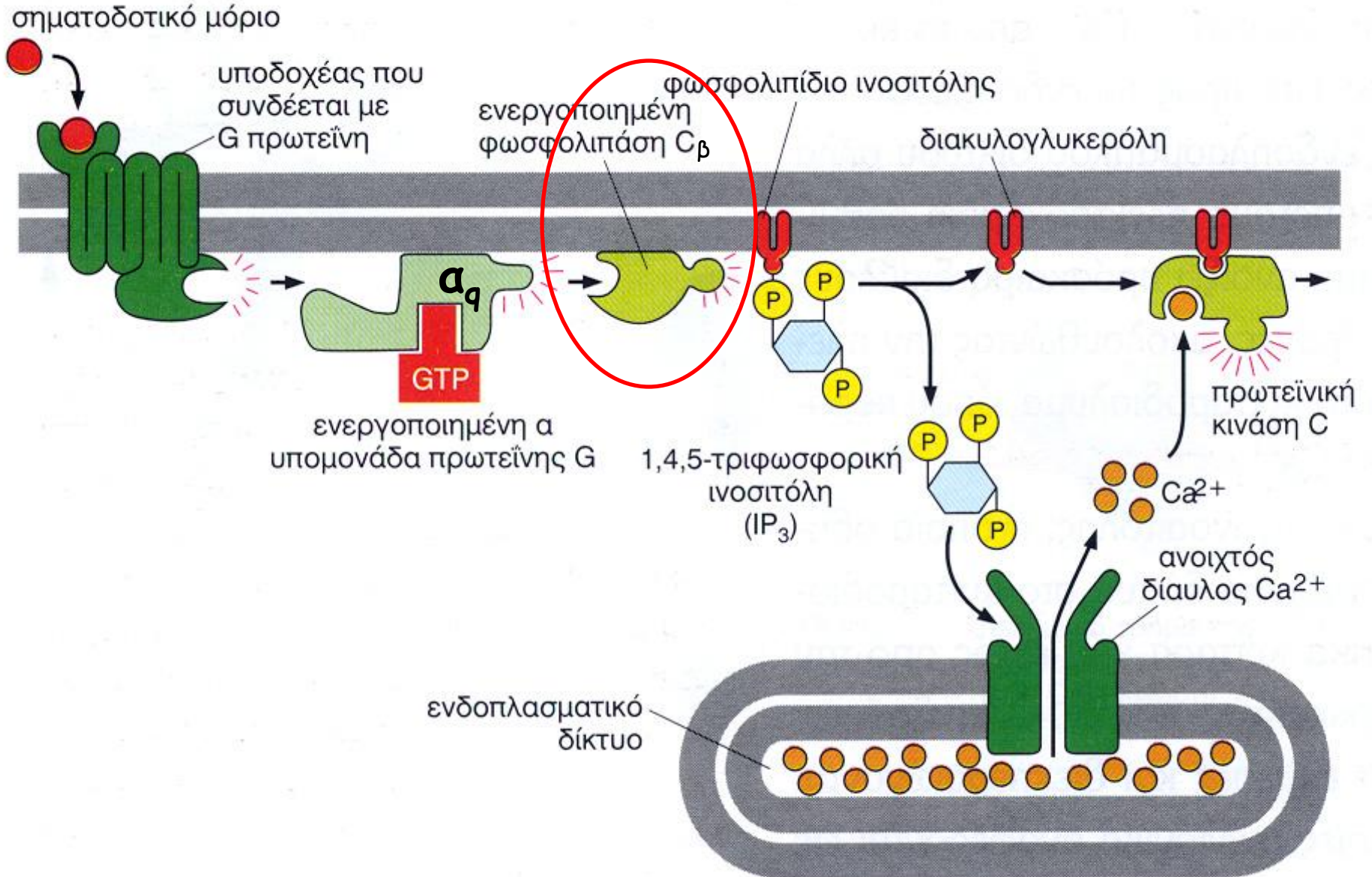


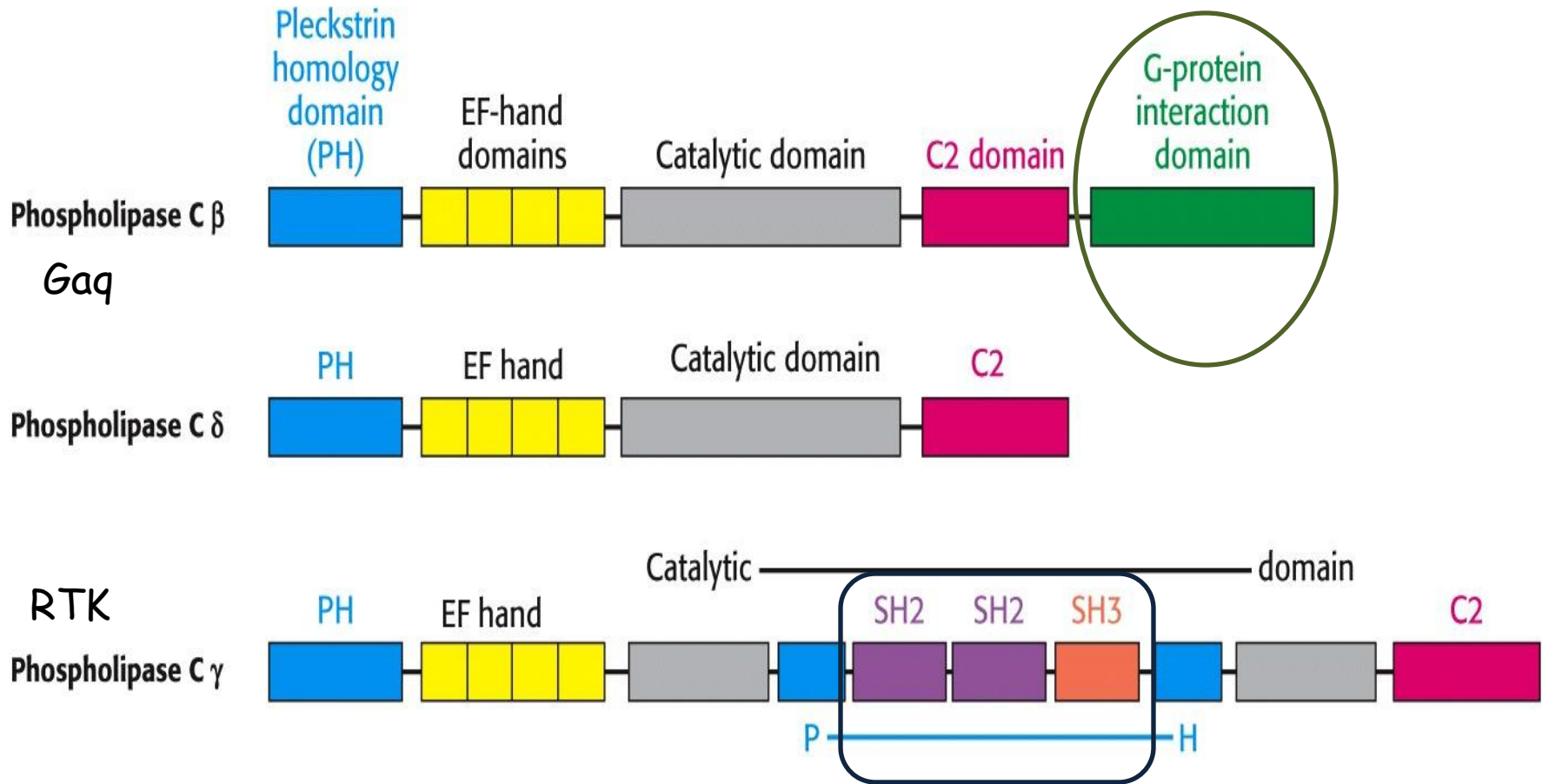
Κεντρικός ρόλος του αραχιδονικού οξέος (AA): Σύνθεση και περαιτέρω μεταβολισμός του.

Η κύρια πηγή του AA είναι η φωσφατιδυλοχολίνη (PC) μέσω της υδρόλυσής της από την PLA₂. Επίσης μπορεί να προέλθει και από την υδρόλυση της DAG από την DAG λιπάση. Στη συνέχεια το AA καταβολίζεται από την κυκλοοξυγενάση, το κυτόχρωμα P450 και τη λιποξυγενάση.

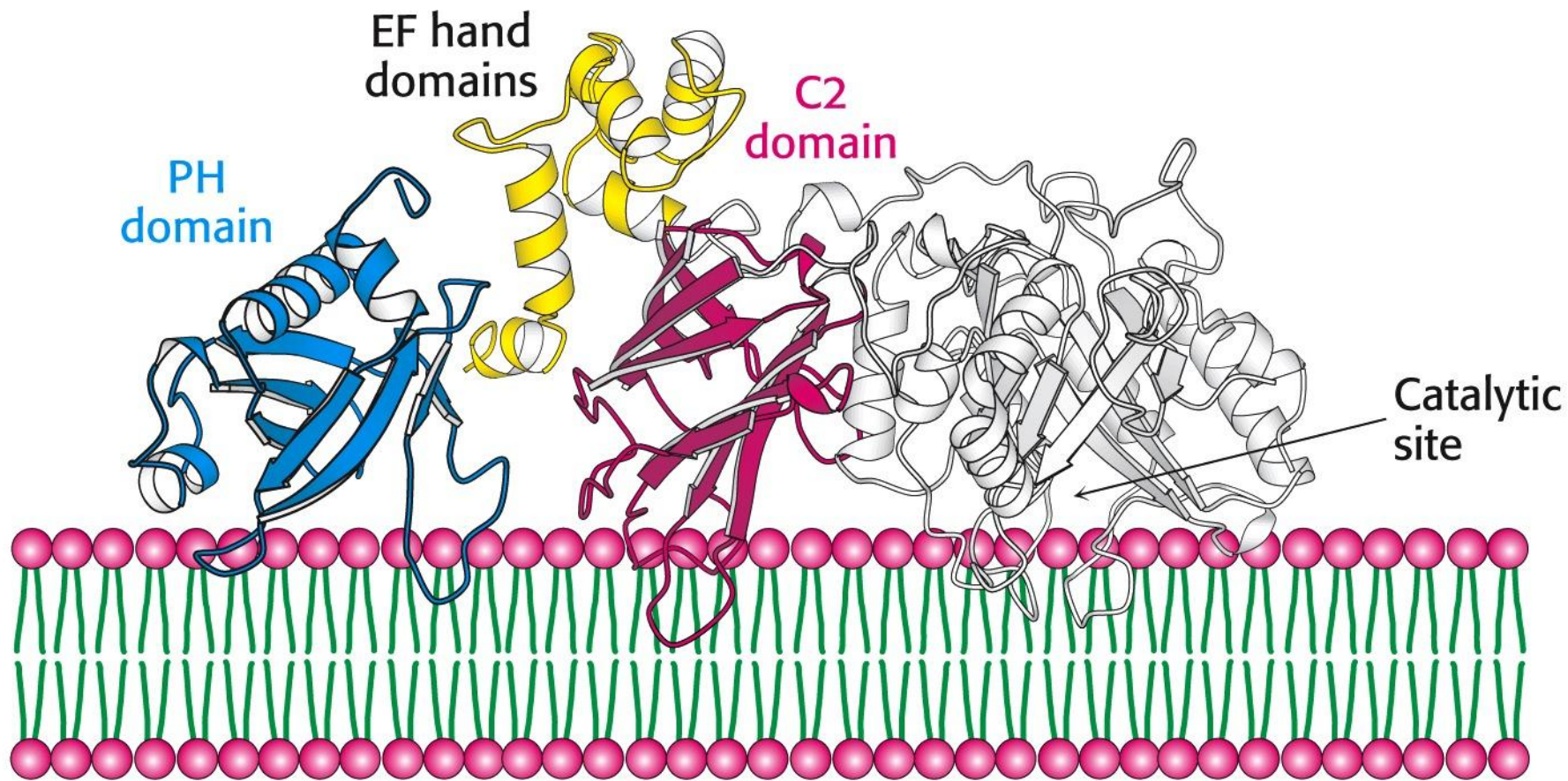
Από Hancock J. Cell Signalling, 2005.

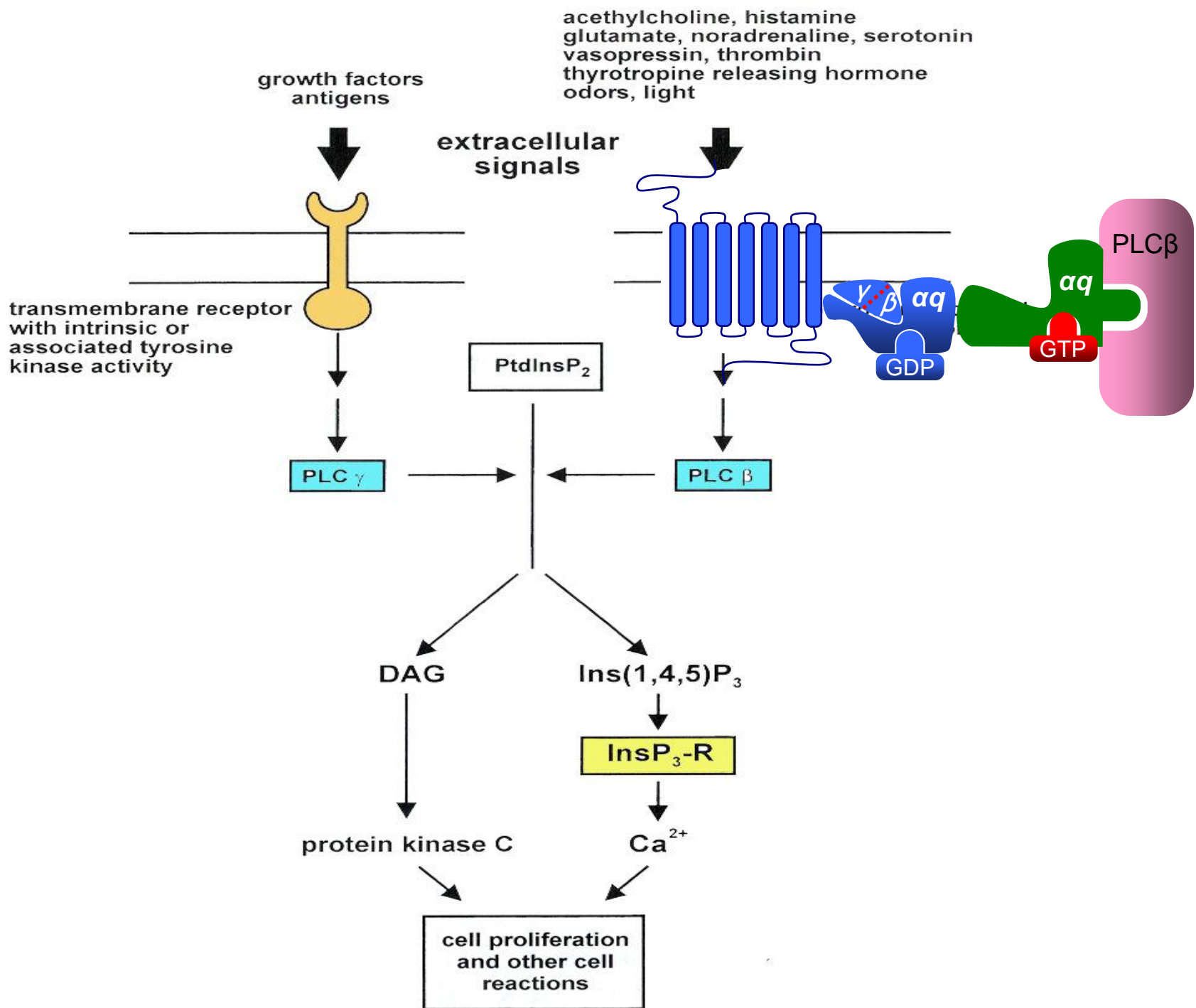
Φωσφολιπάσες C



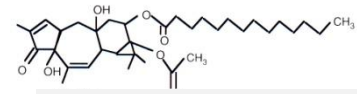


Κοινό όλων των PLC είναι η **περιοχή πλεξτρίνης** (PH, pleckstrin homology domain), μέσω της οποίας δεσμεύονται στη φωσφατιδυλ-διφωσφορική ινοσιτόλη (PIP₂) της μεμβράνης, η **περιοχή EF-χεριού** που δεσμεύει το Ca²⁺ και η **καταλυτική περιοχή**

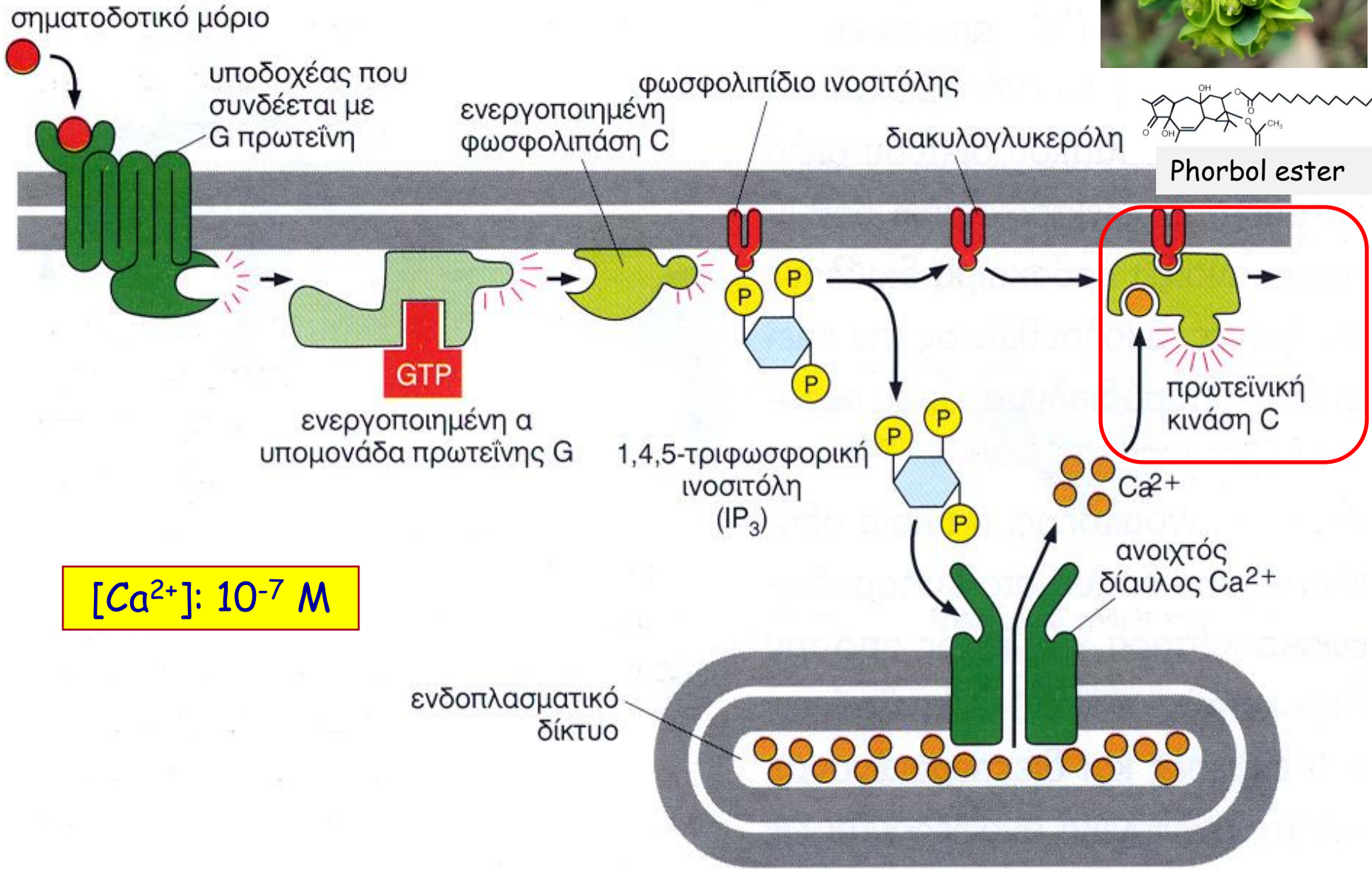




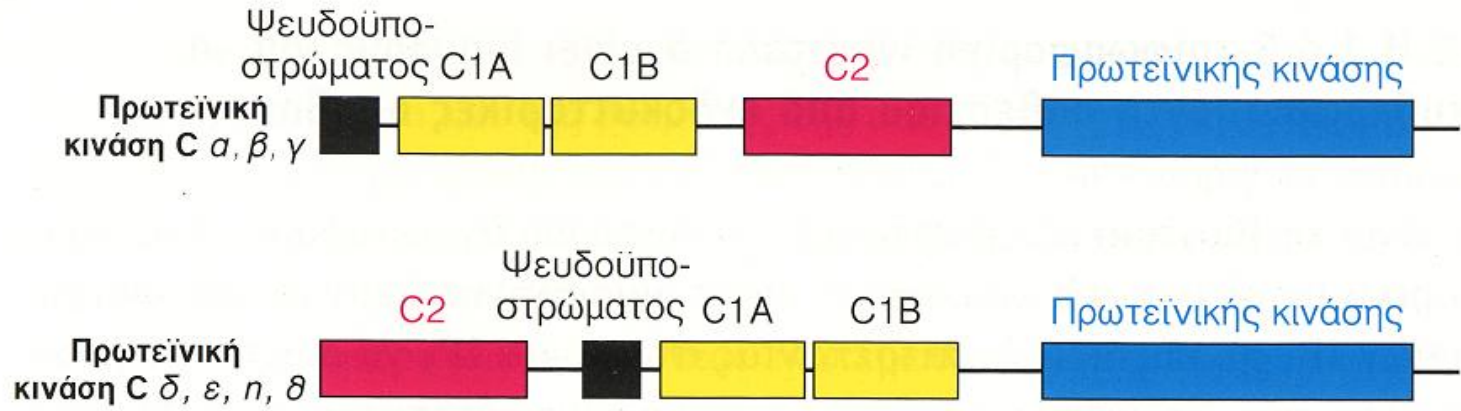
$[Ca^{2+}]: 10^{-3} M$



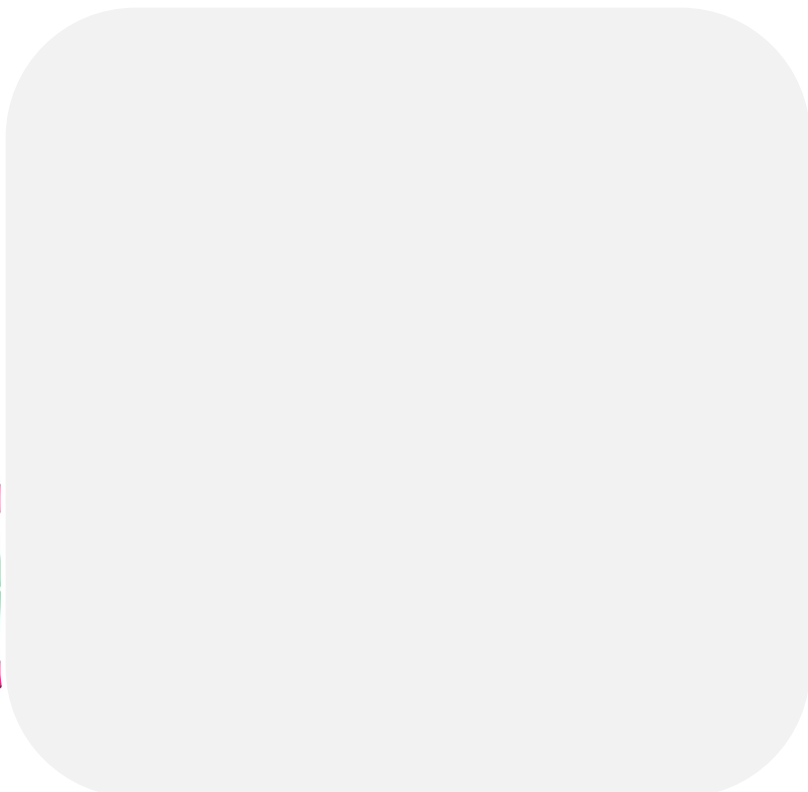
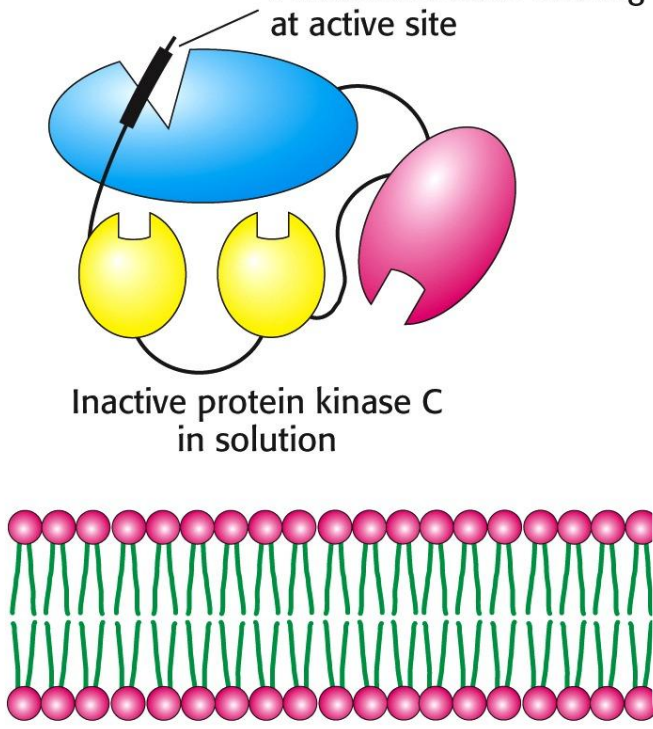
Phorbol ester



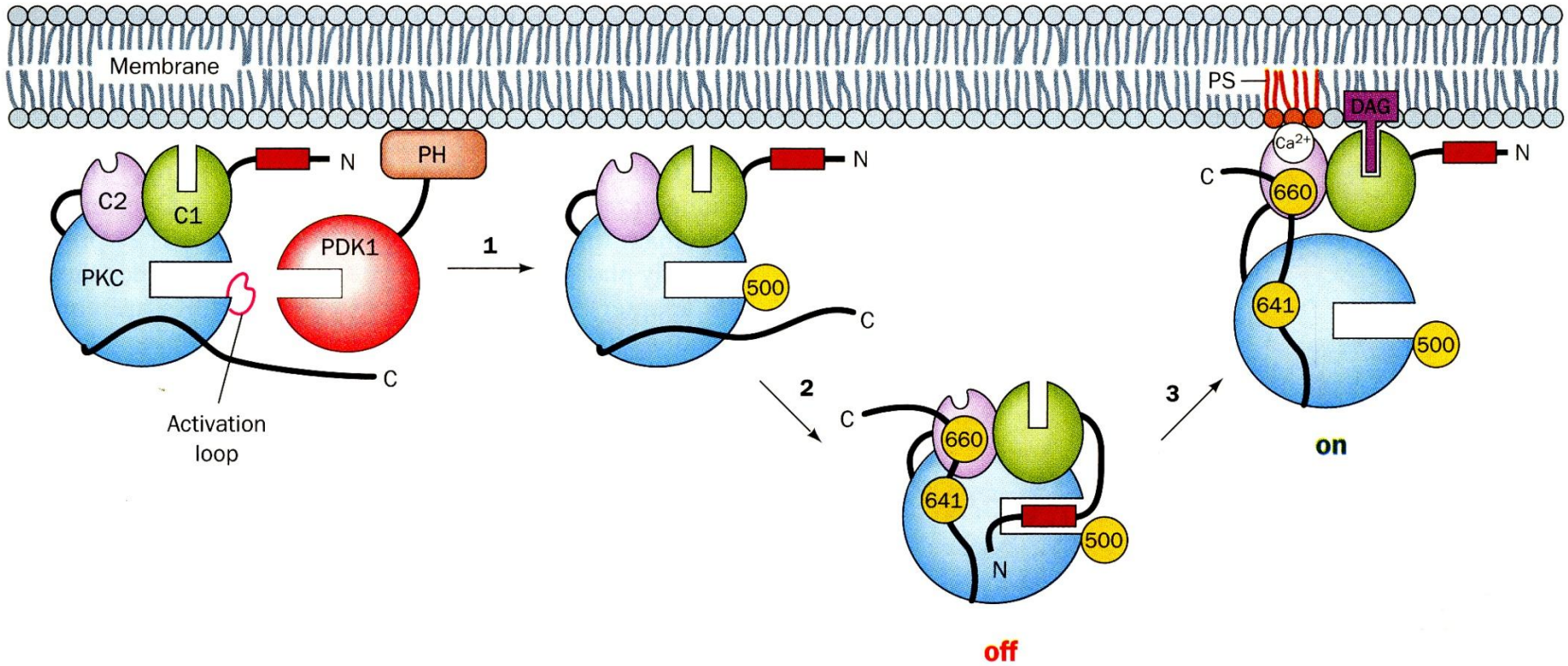
$[Ca^{2+}]: 10^{-7} M$



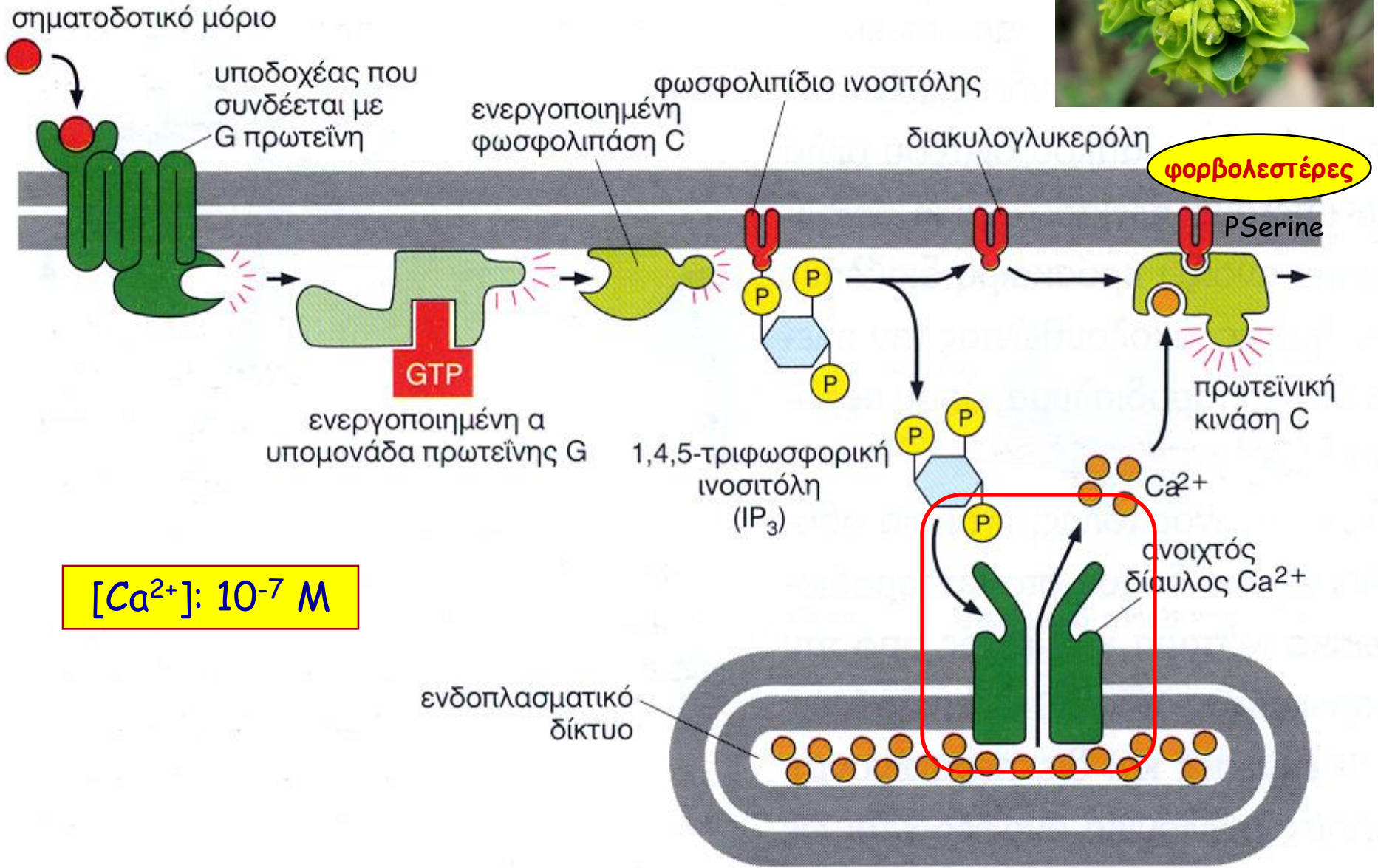
(B) Pseudosubstrate binding at active site



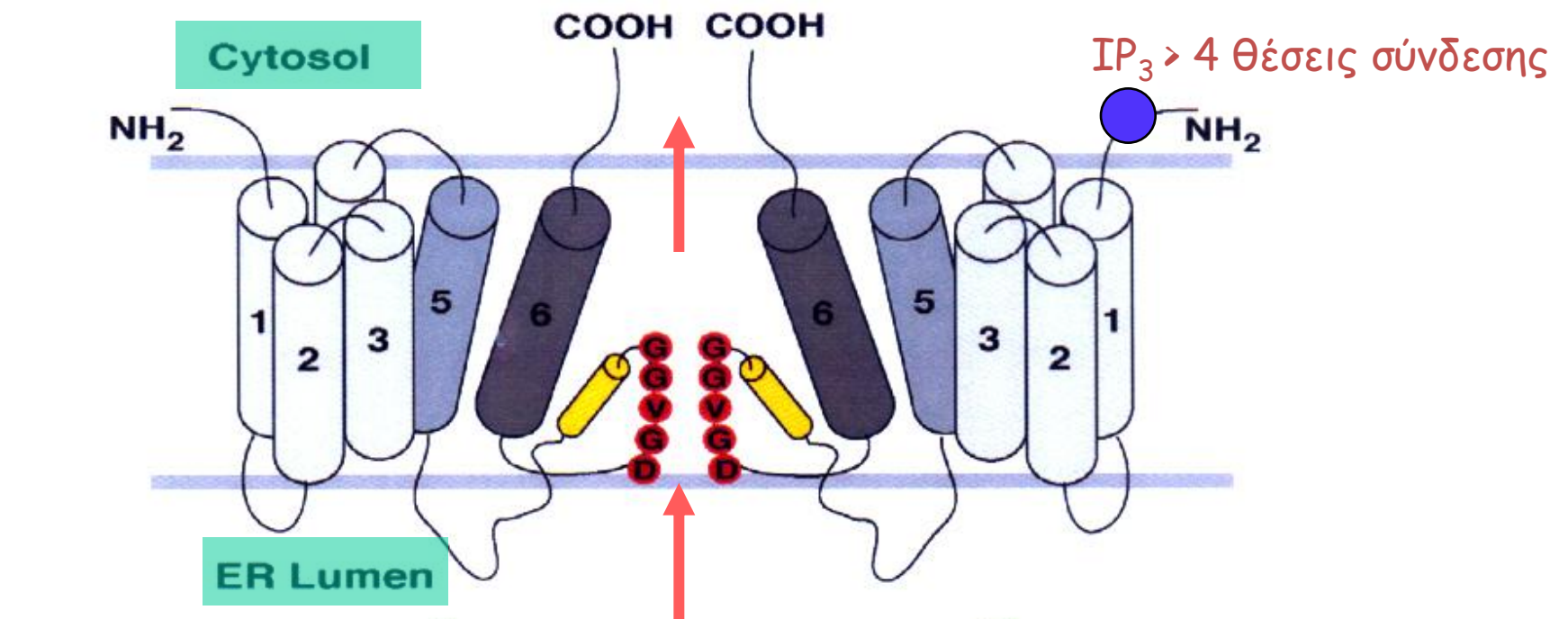
Η ενεργοποίηση της PKC πραγματοποιείται σε 3 βήματα



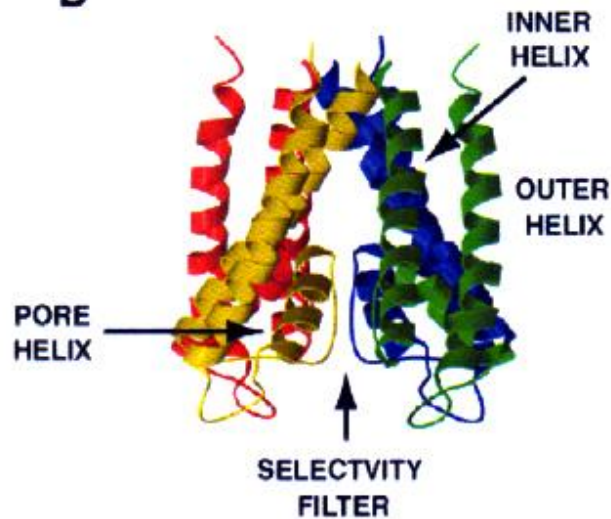
$[Ca^{2+}] : 10^{-3} M$



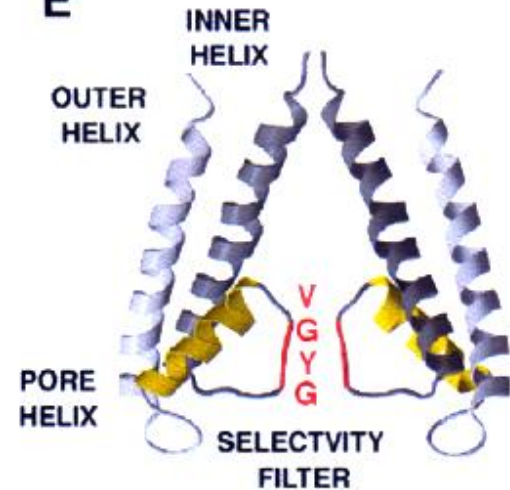
$[Ca^{2+}] : 10^{-7} M$



D

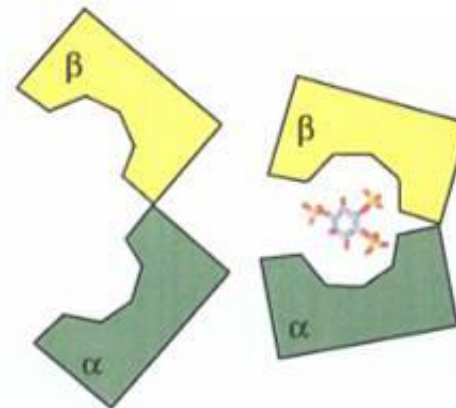
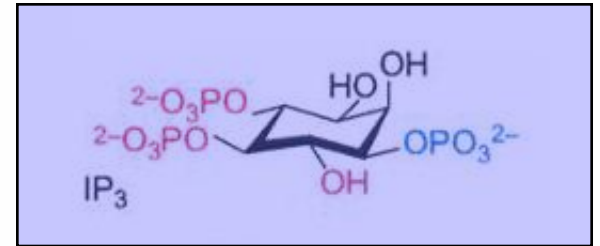
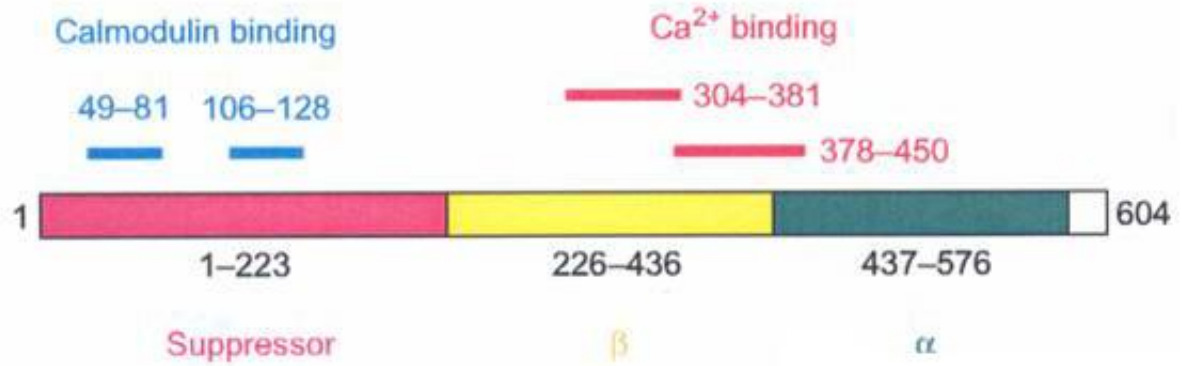


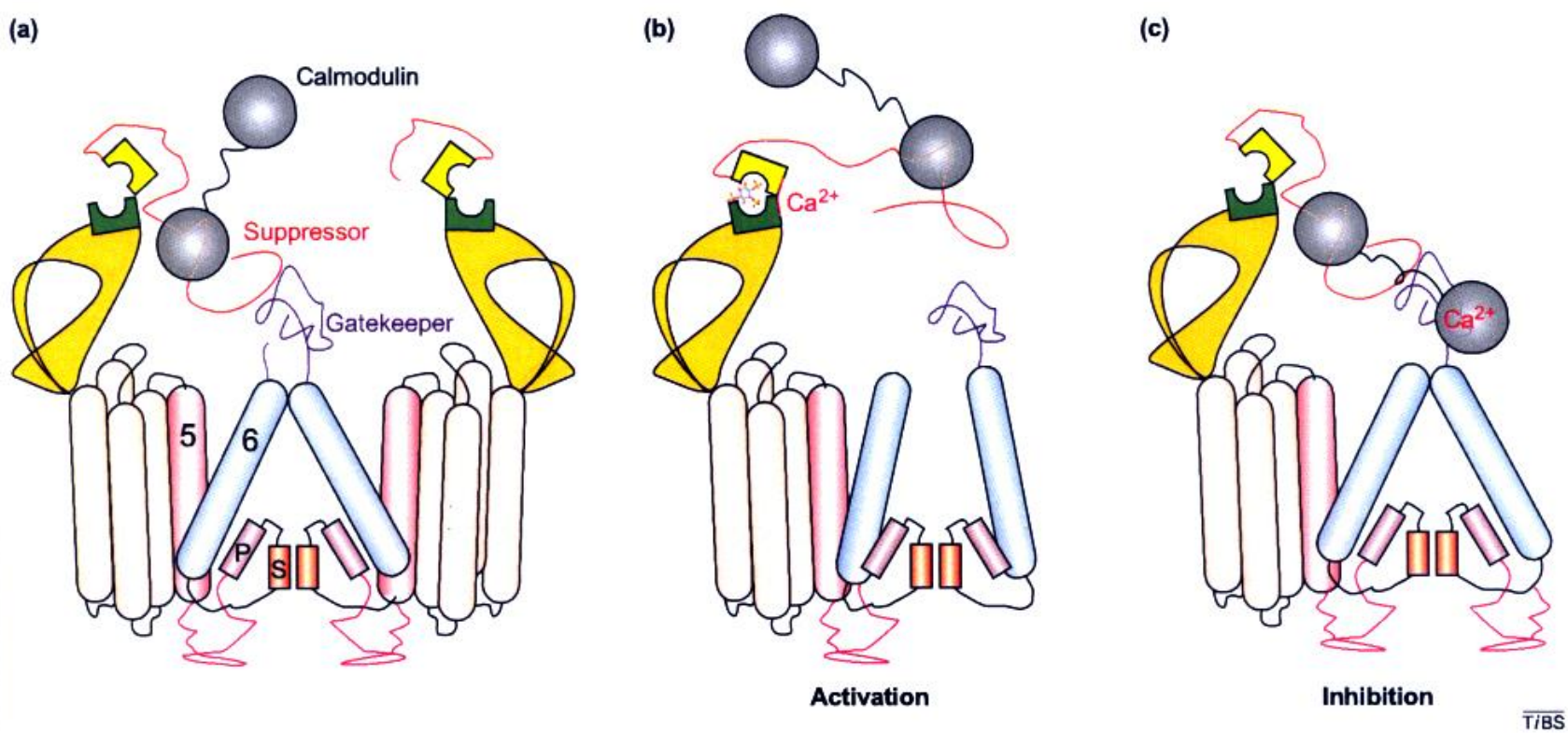
E



Από Bosanac et al, Structural insights into the regulatory mechanisms of IP₃ receptors, Biochemica et Biophysica Acta 2004, 1742, 89-102.

Ν-τελικό άκρο



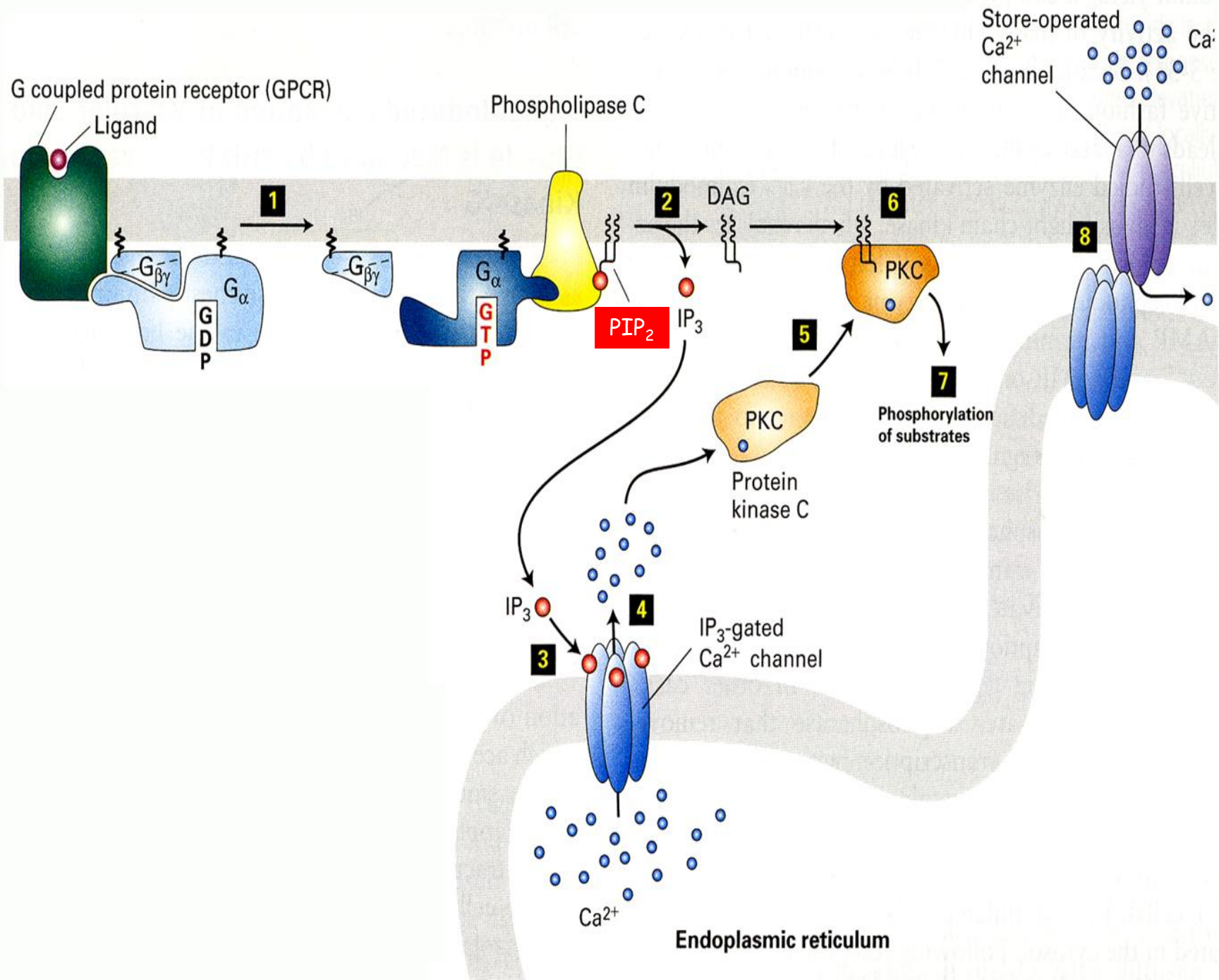


(α) Διακρίνονται οι δυο υπομονάδες του καναλιού, με την ανασταλτική περιοχή (suppressor) του N-τελικού άκρου της 1^{ης} υπομονάδας να είναι συνδεδεμένη με τον φύλακα της πύλης (gatekeeper) της C-τελικής περιοχής της 2^{ης} υπομονάδας, κρατώντας το κανάλι κλειστό.

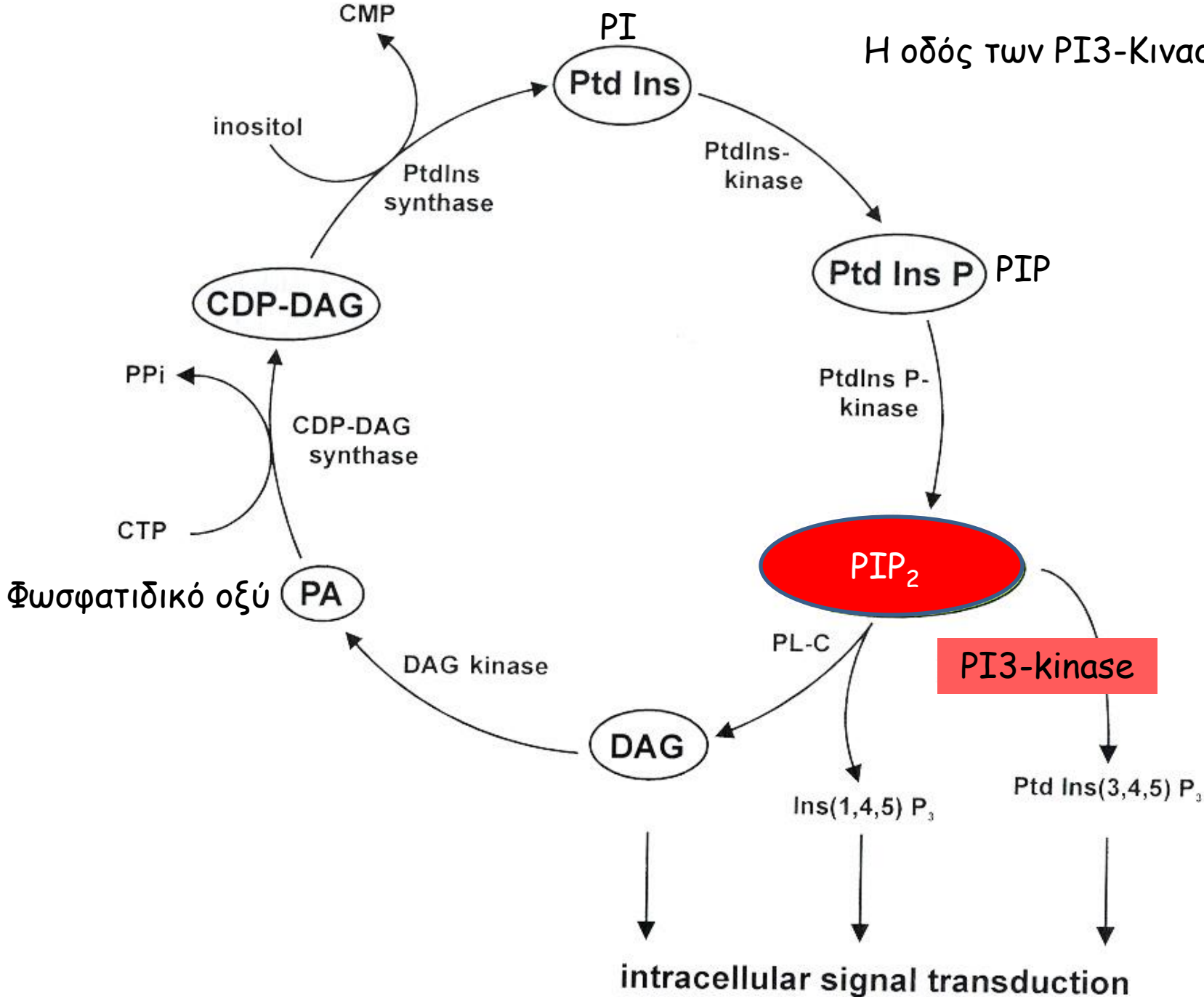
(β) Η σύνδεση της IP₃ κλείνει την σαν όστρακο δομή του N-τελικού άκρου, αποκαλύπτοντας μια θέση πρόσδεσης για το Ca²⁺. Η σύνδεση IP₃ και Ca²⁺ αποσταθεροποιεί την ανασταλτική αλληλεπίδραση ανάμεσα σε κατάλοιπα του N-τελικού άκρου και στον "φύλακα της πύλης" του C-τελικού άκρου, επιτρέποντας στην πύλη να ανοίξει.

(γ) Η σύνδεση Ca²⁺-καλμοντουλίνης στον υποδοχέα κλειδώνει τον υποδοχέα σε μια κλειστή κατάσταση φέρνοντας κοντά την ανασταλτική περιοχή του N-τελικού άκρου της μιας υπομονάδας με τον φύλακα της πύλης της C-τελικής περιοχής της άλλης υπομονάδας.

Από Taylor C., da Fonseca C., Morris E., *IP₃ receptors: the search for structure*, Trends in Biological Sciences, 2004, 29, 210-219.

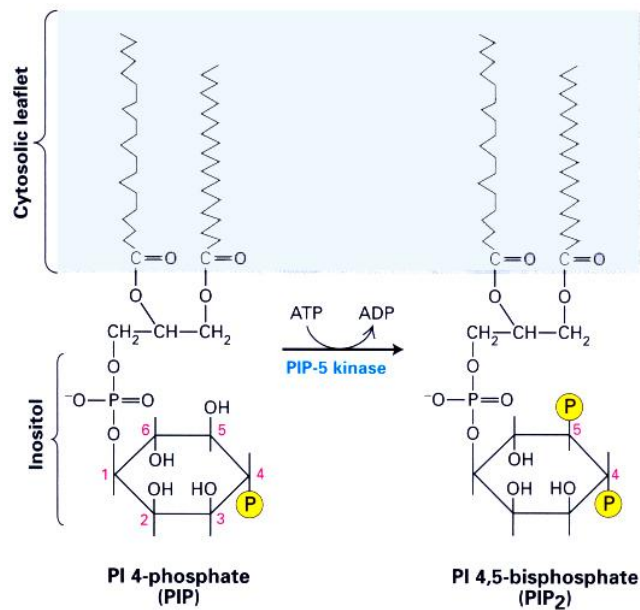


Η οδός των PI3-Κινασών



Μεταβολικές οδοί των φωσφατιδυλοϊνοσιτιδίων της μεμβράνης

Οι **PI3-Ks** καταλύουν τη φωσφορυλίωση της θέσης 3' της ινοσιτόλης των φωσφατιδυλοϊνοσιτιδίων και δημιουργούν PtdIns(3,4,5)P₃, PtdIns(3,4)P₂.

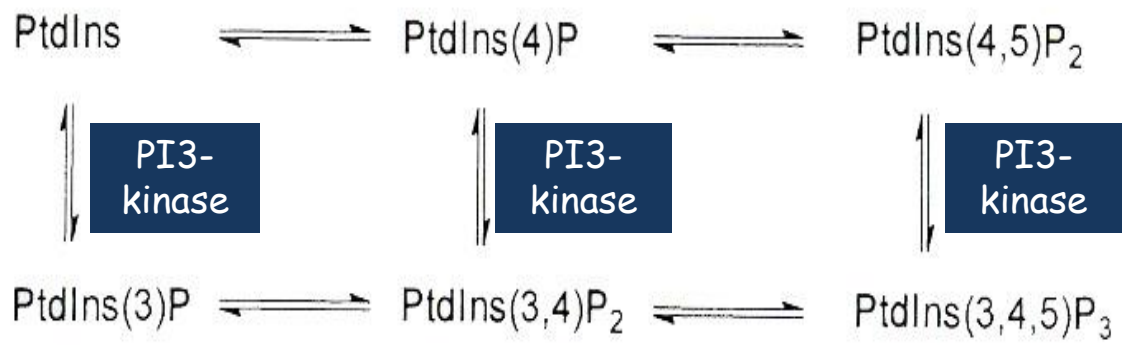
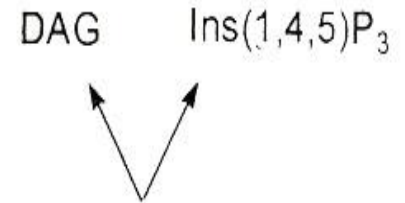
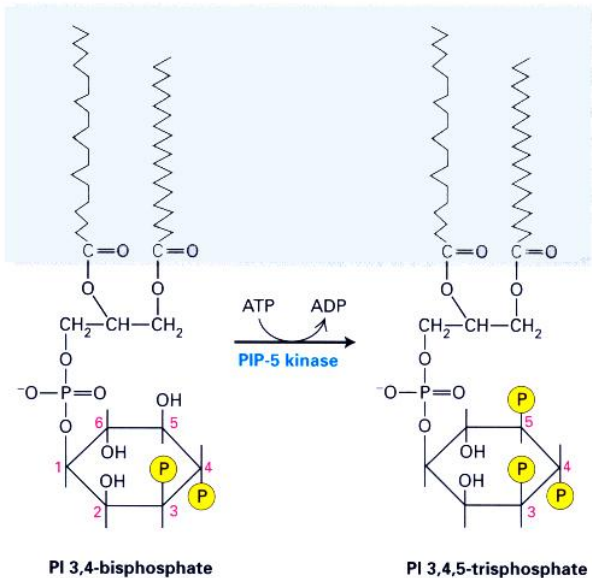


PI3-kinase

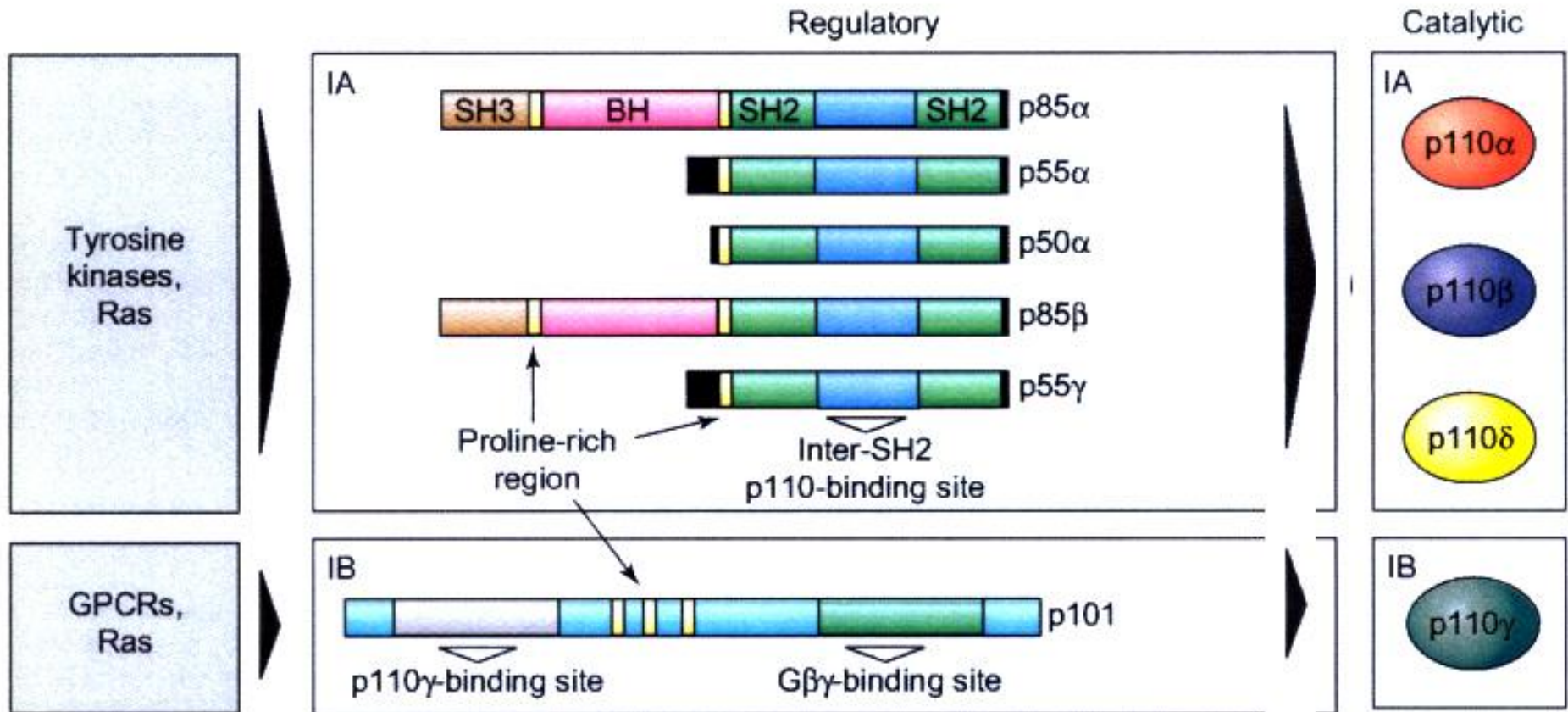
ATP → ADP

PI3-kinase

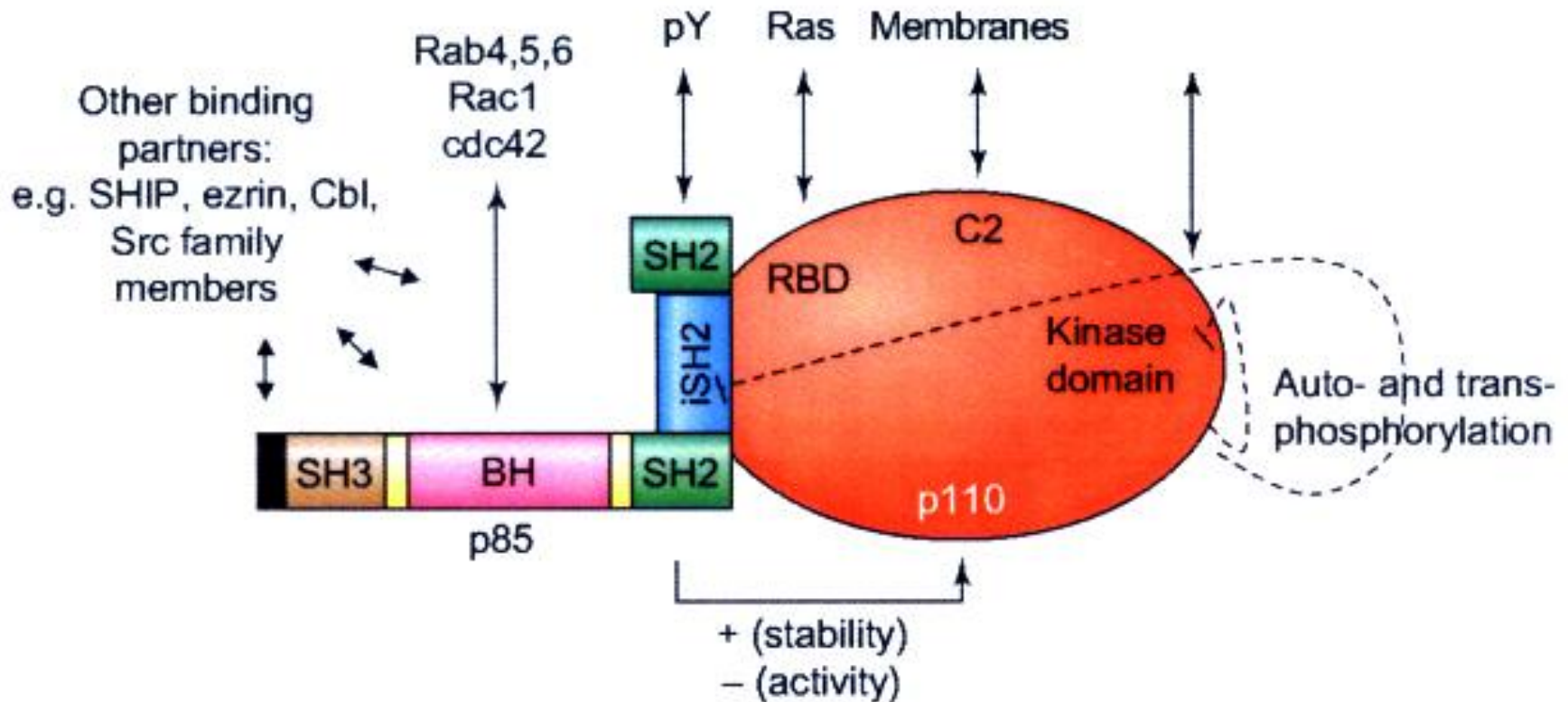
ATP → ADP



1. Η τάξη I των PI3-K είναι ετεροδιμερή ένζυμα, τα οποία κατά προτίμηση φωσφορυλιώνουν τα PtdIns-4,5-P₂ παράγοντας 3,4,5-τριφωσφορική φωσφατιδυλοϊνοσιτόλη, ένα λιπίδιο (δεύτερος διαβιβαστής)-κλειδί που ελέγχει ένα μεγάλο εύρος κυτταρικών αποκρίσεων. Αποτελούνται από μια καταλυτική (p110) και μια ρυθμιστική υπομονάδα.

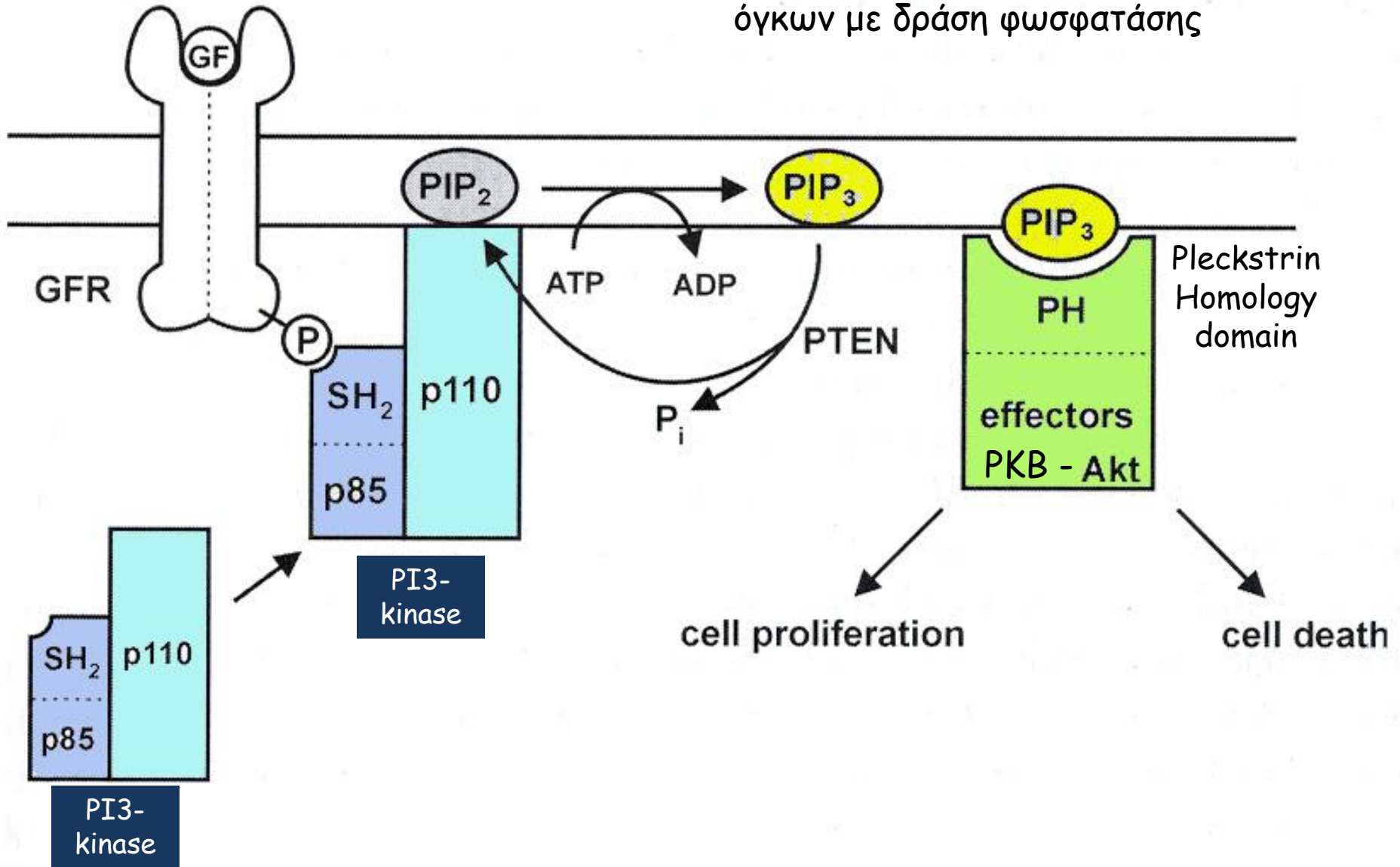


Η καταλυτική υπομονάδα περιέχει μια περιοχή **RBD** (Ras binding domain) μέσω της οποίας συνδέεται στην *GTP* μορφή της μικρής *GTP*άσης Ras, και ενεργοποιείται από αυτήν. Η ρυθμιστική υπομονάδα παίζει το ρόλο πρωτεΐνης-προσαρμογέα (adaptor) συνδέοντας το ένζυμο με ανοδικά σηματοδοτικά μονοπάτια

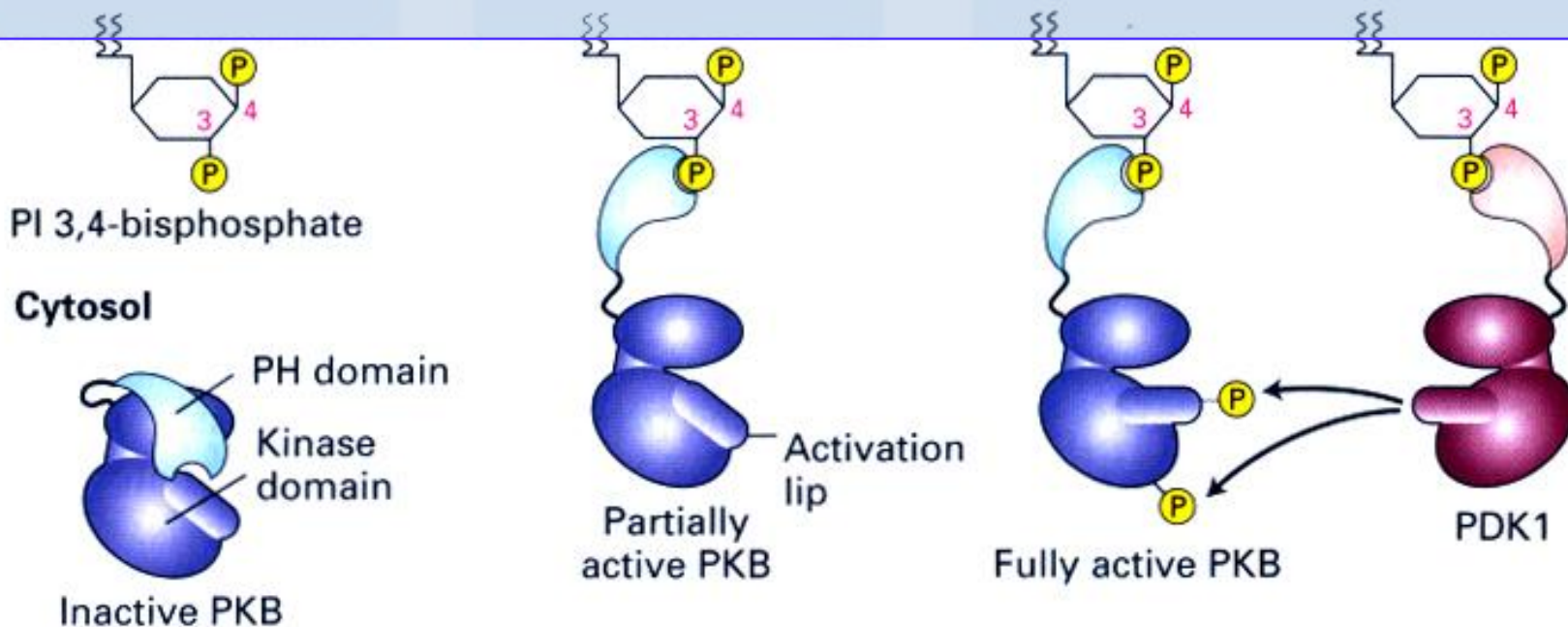


Από Vanhaesebroeck B., Ali K., Bilancio A., Geering B., Foukas L., Signalling by PI3K isoforms: insights from gene-targeted mice, Trends in Biochem. Sci., 2005, 30, 194-204.

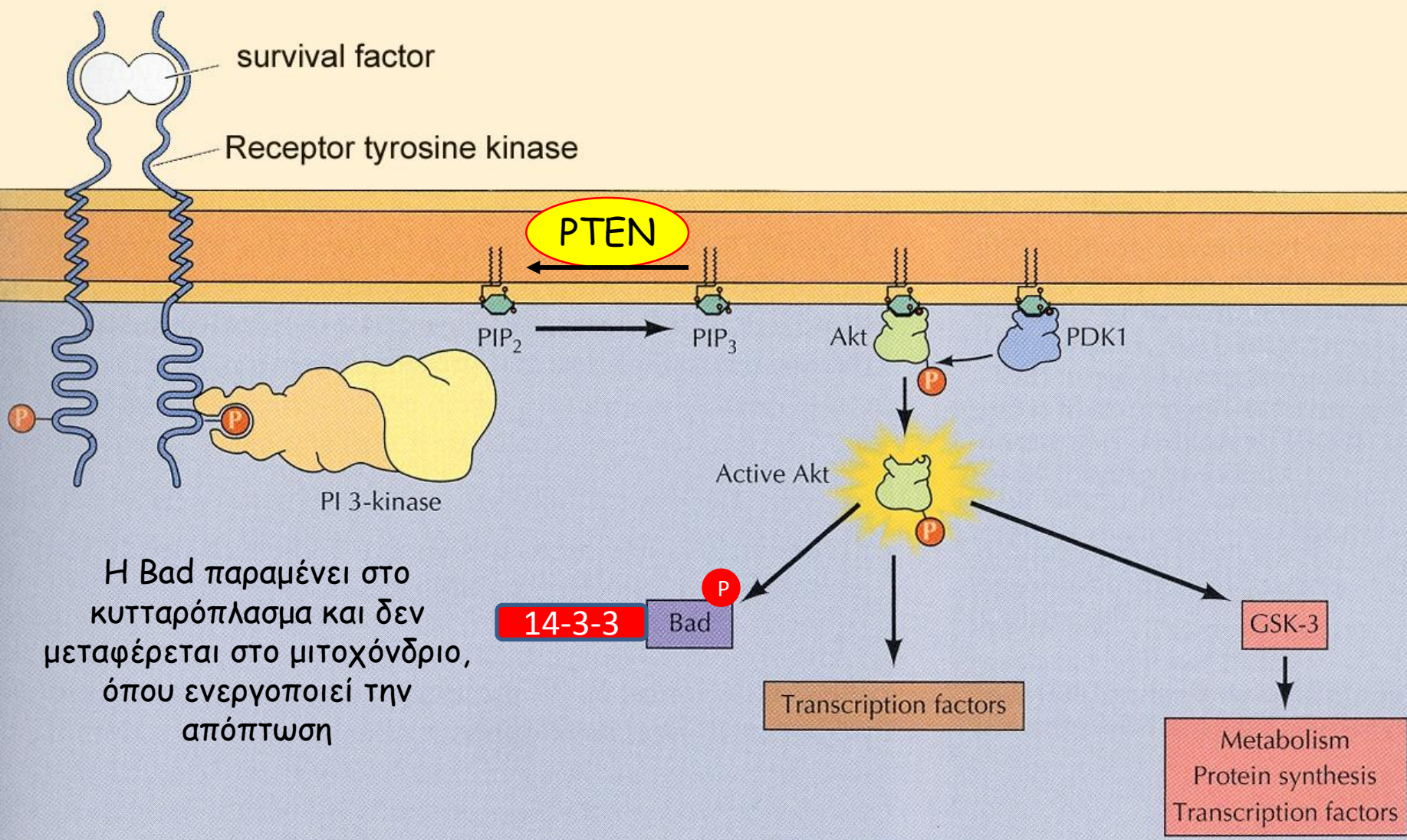
Ο PTEN είναι ένας καταστολέας
όγκων με δράση φωσφατάσης



Exterior



Η Akt δεν ενεργοποιείται από τη σύνδεση στα λιπίδια-στόχους της. Για την ενεργοποίησή της απαιτείται η φωσφορυλίωση της Thr308, που βρίσκεται στην θηλιά ενεργοποίησης. Η κινάση που φωσφορυλιώνει την Akt σε αυτήν τη θέση είναι η ιδιόσυστα ενεργή PDK1 (phosphoinositide-dependent protein kinase), η οποία μέσω της PH περιοχής της επίσης συνδέεται στα $\text{PtdIns}(3,4,5)\text{P}_3$. Η σύνδεση της Akt στα $\text{PtdIns}(3,4,5)\text{P}_3$ προκαλεί μια αλλαγή διαμόρφωσης που επιτρέπει τη φωσφορυλίωση της από την PDK1



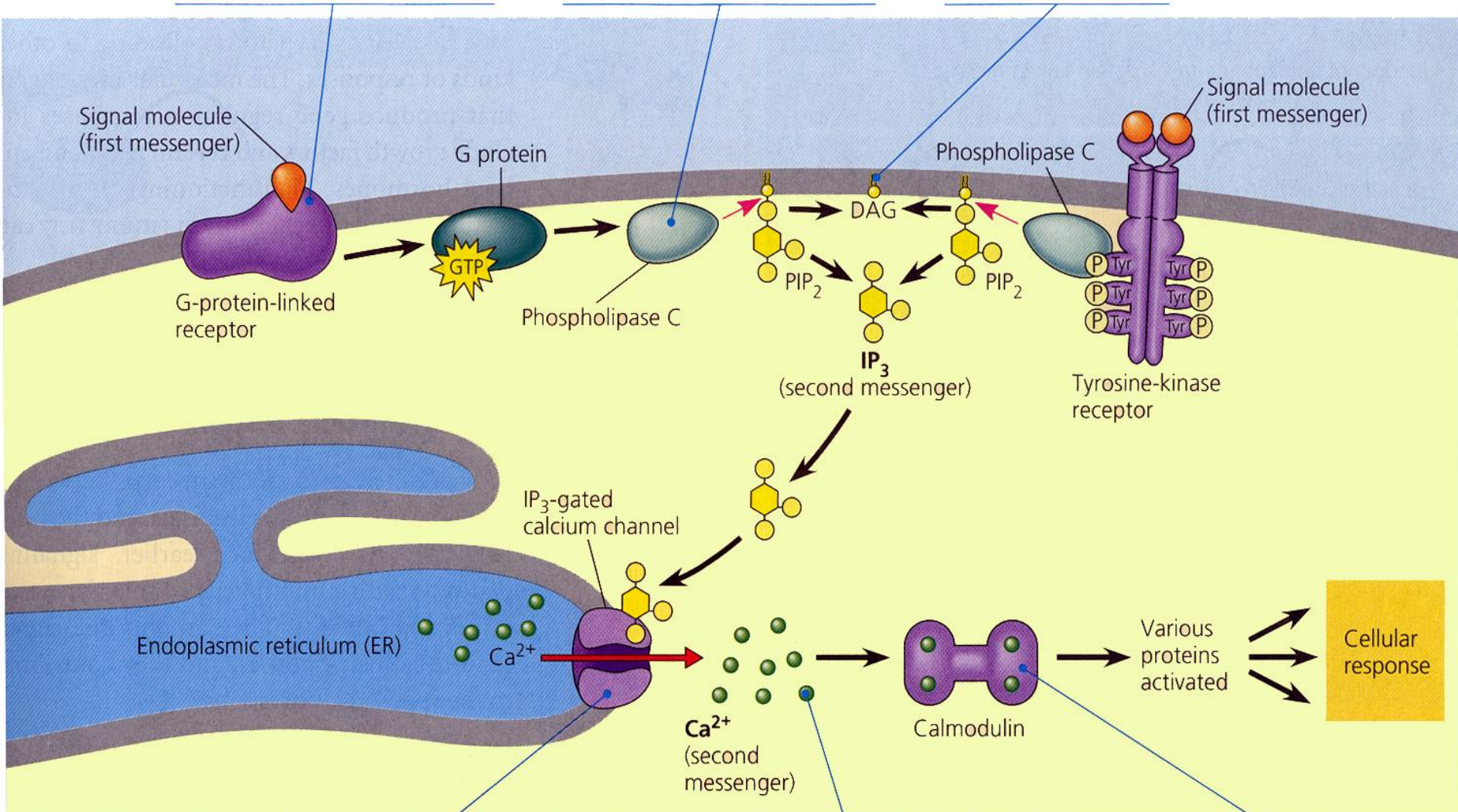
Η Bad παραμένει στο κυτταρόπλασμα και δεν μεταφέρεται στο μιτοχόνδριο, όπου ενεργοποιεί την απόπτωση

Κυτταρική επιβίωση

1 A signal molecule binds to a receptor, leading to activation of phospholipase C.

2 Phospholipase C cleaves a plasma membrane phospholipid called PIP₂ into DAG and IP₃.

3 DAG functions as a second messenger in other pathways.



4 IP₃ quickly diffuses through the cytosol and binds to a ligand-gated calcium channel in the ER membrane, causing it to open.

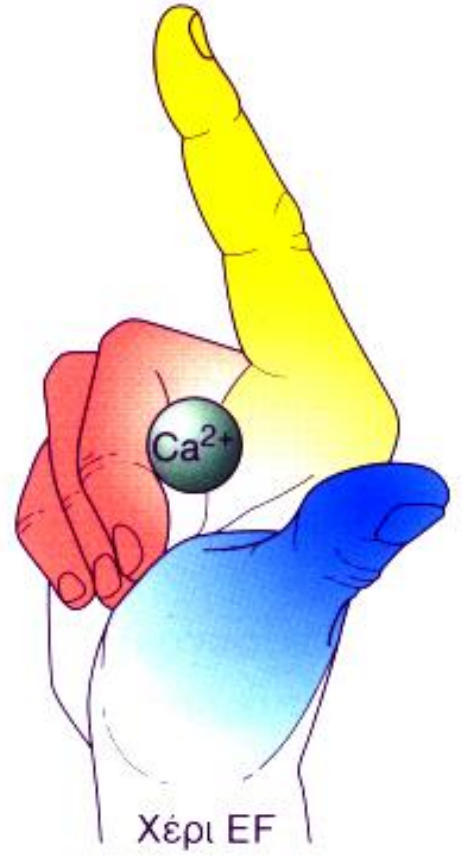
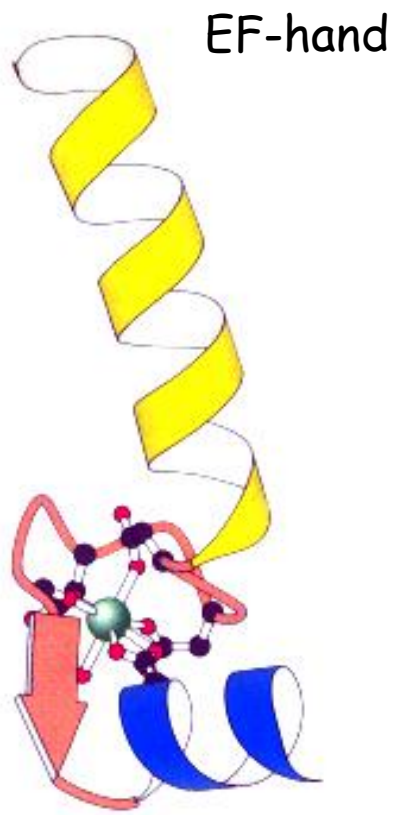
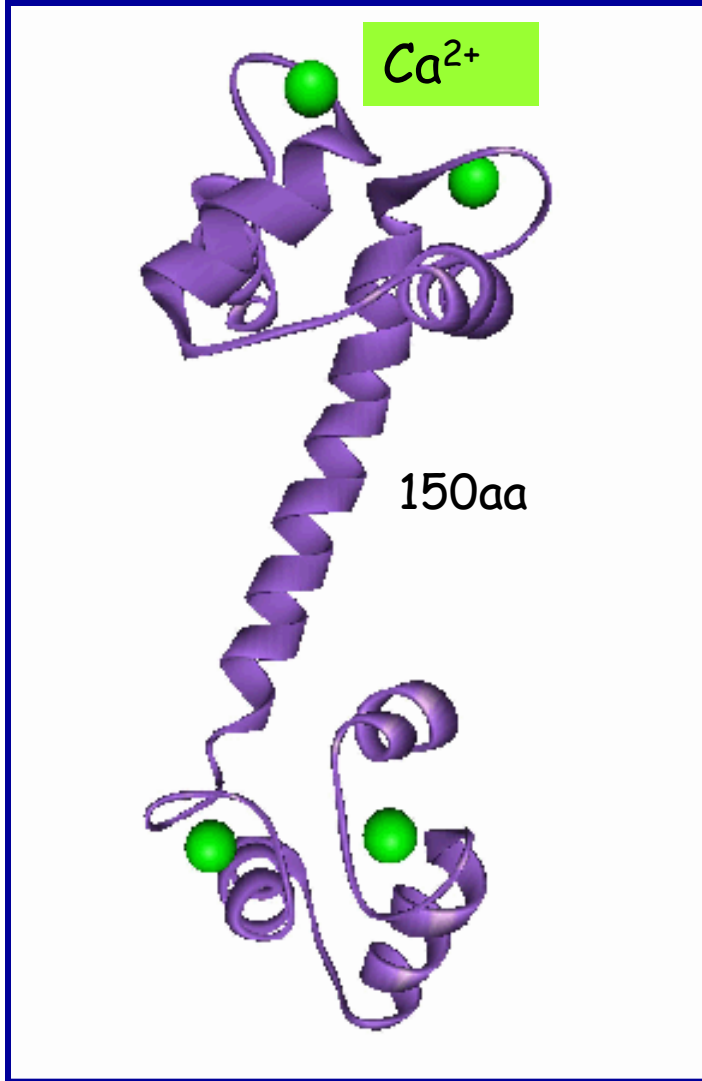
5 Calcium ions flow out of the ER (down their concentration gradient), raising the Ca²⁺ level in the cytosol.

6 The calcium ions activate the next protein in one or more signaling pathways, often acting via calmodulin, a Ca²⁺-binding protein.

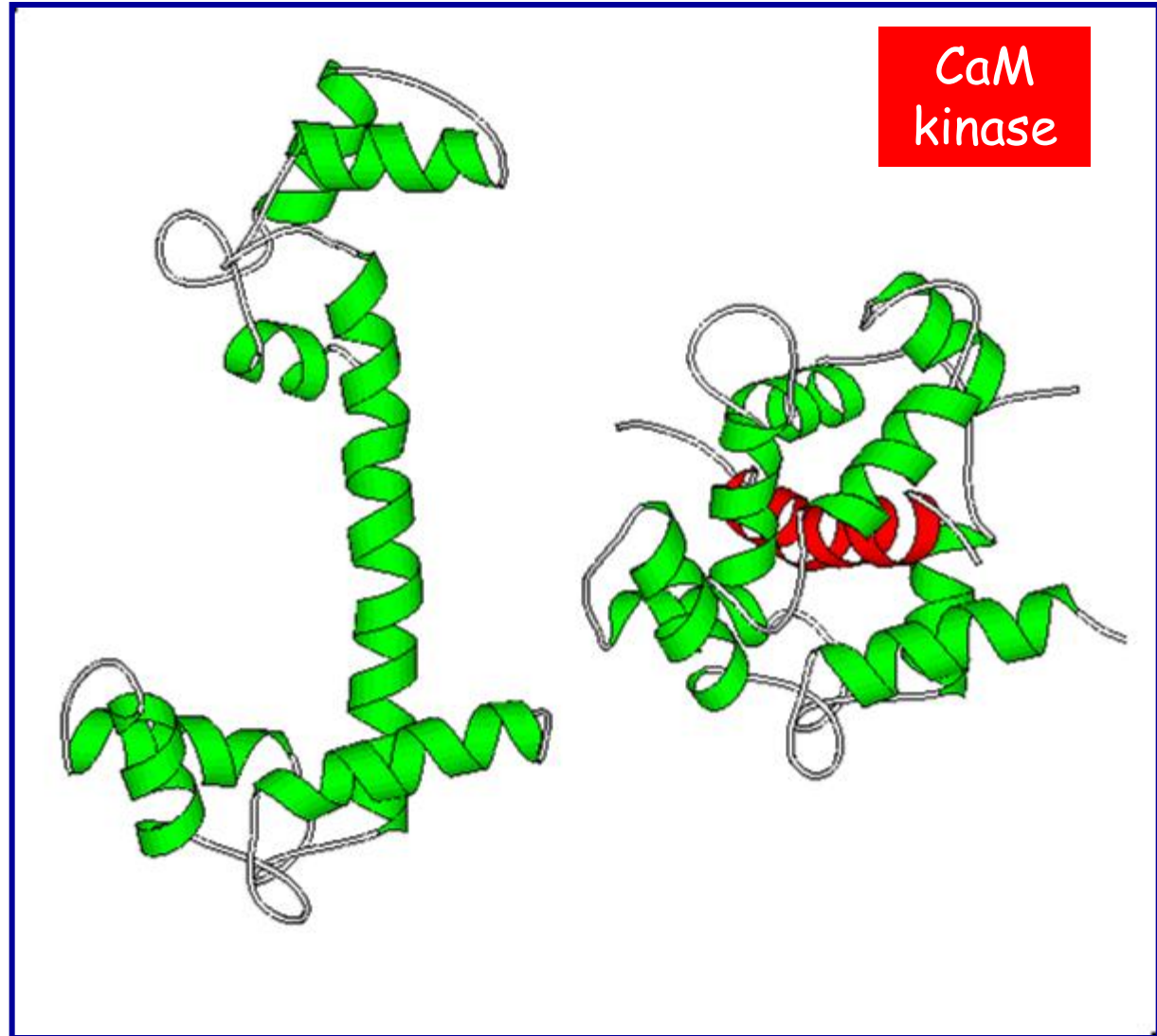
Table 6.2. Ca²⁺ binding proteins

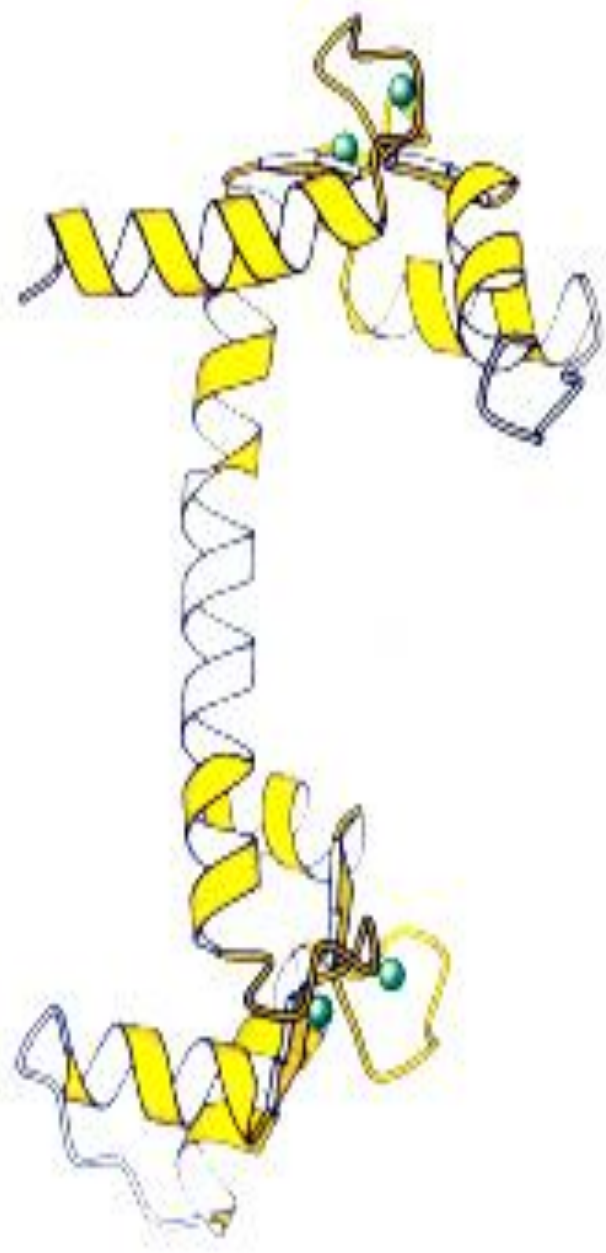
protein	function
troponin C	modulator of muscle contraction
caldesmon	modulator of muscle contraction
α -actinin	bundling of actin
villin	organization of actin filaments
calmodulin	modulator of protein kinases and other enzymes
calcineurin B	protein phosphatase
calpain	protease
phospholipase A2	release of arachidonic acid
protein kinase C	ubiquitous protein kinase
Ca ²⁺ -activated K ⁺ channel	effektor of hyperpolarization
InsP ₃ receptor	intracellular Ca ²⁺ release
ryanodin receptor	intracellular Ca ²⁺ release
Na ⁺ /Ca ²⁺ transporter	exchange of Na ⁺ and Ca ²⁺ via the cell membrane
Ca ²⁺ ATPase	transport of Ca ²⁺ through cell membrane
recoverin	regulation der guanylyl cyclase
parvalbin	Ca ²⁺ storage
calreticulin	Ca ²⁺ storage
calbindin	Ca ²⁺ storage
calsequestrin	Ca ²⁺ storage

Ca²⁺/Calmodulin complex



Από τους σημαντικότερους στόχους της Ca^{2+} /καλμοντουλίνης είναι η ***Ca^{2+} /καλμοντουλίνη-εξαρτώμενη πρωτεϊνική κινάση*** (CaM kinase), η οποία παίζει σημαντικό ρόλο στη νευρική μεταγωγή σήματος.





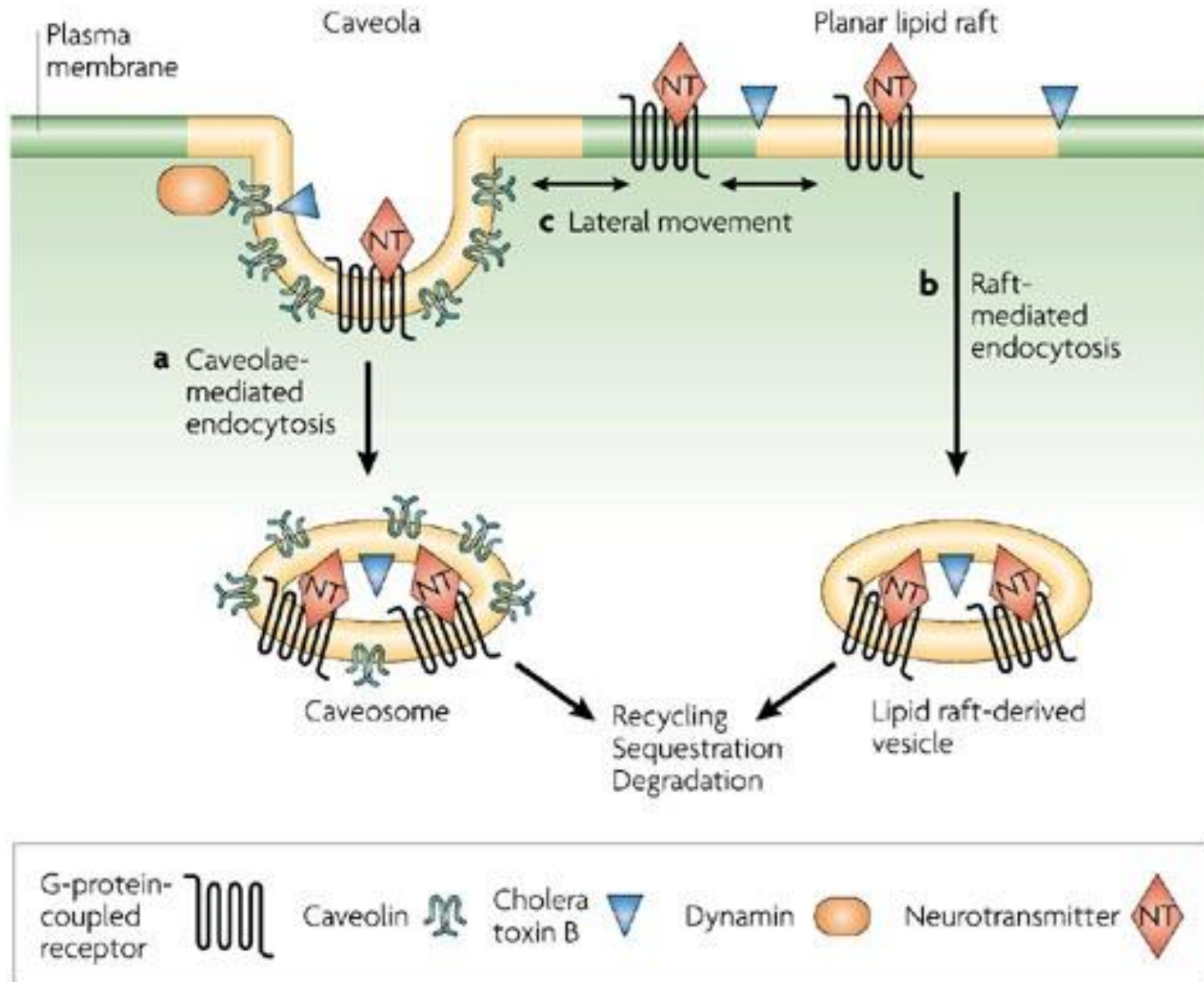
Κινάση
CaM



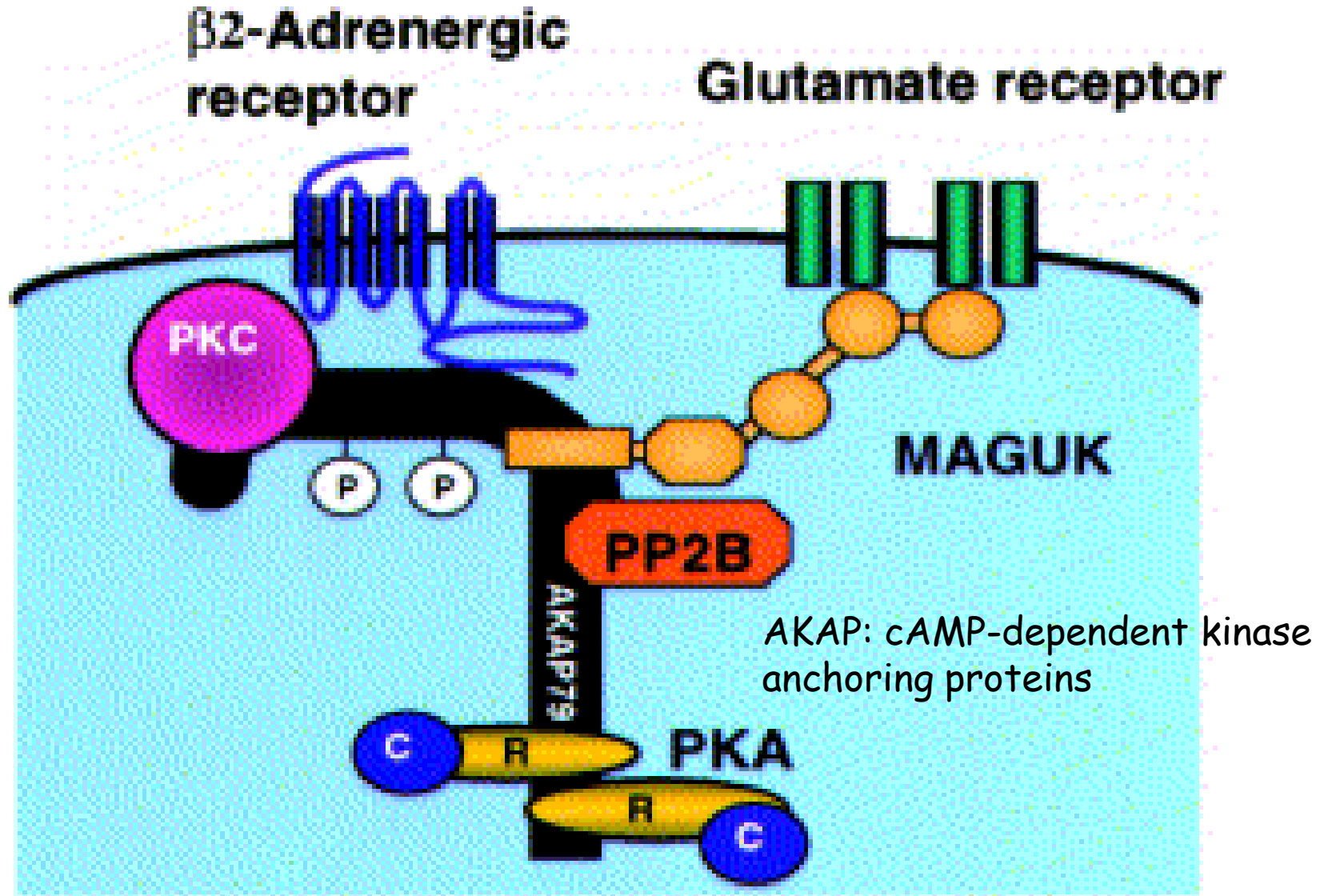
Πεπτίδιο
της
κινάσης CaM



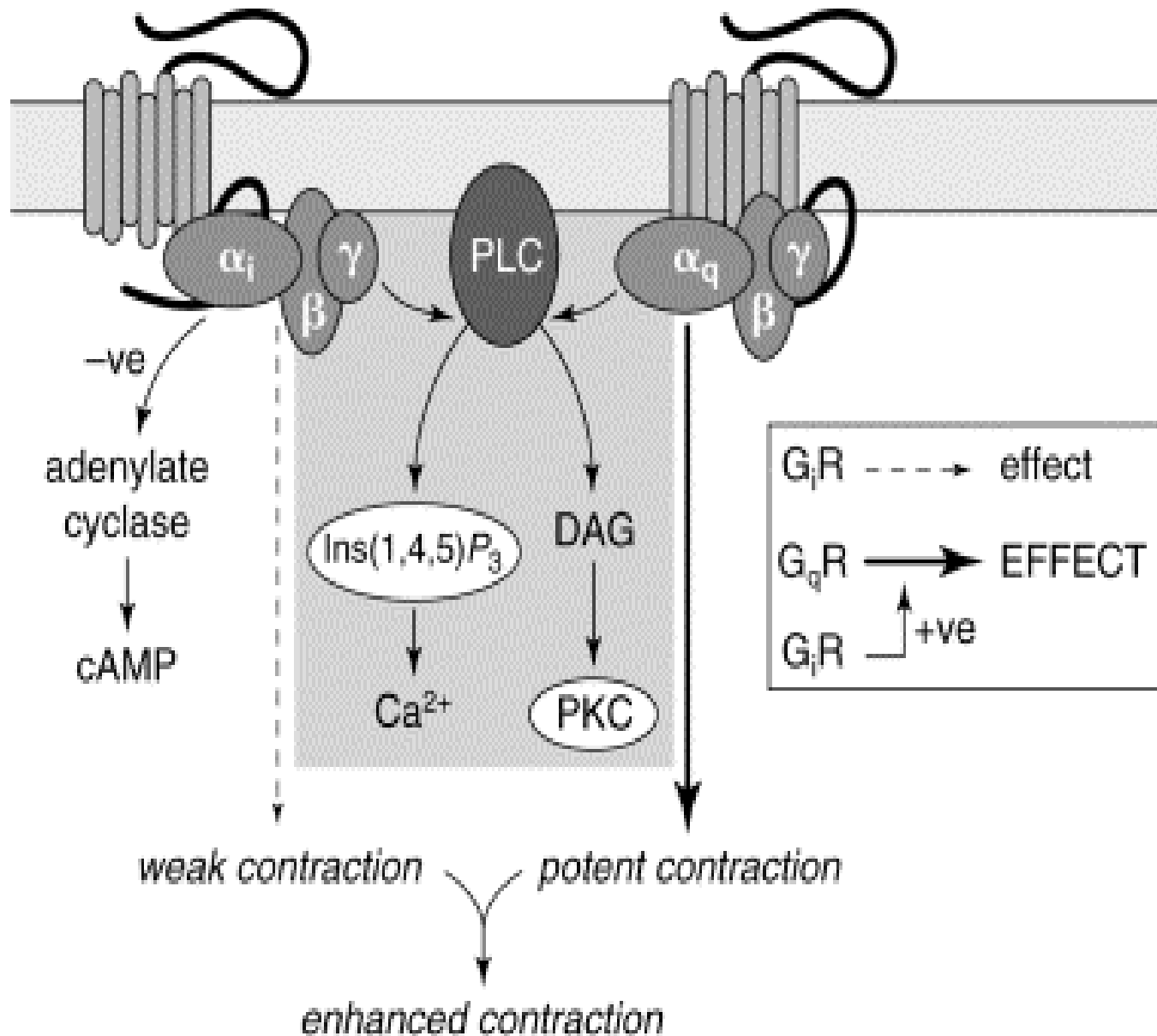
Η έννοια της «μικροπεριοχής» (microdomain)



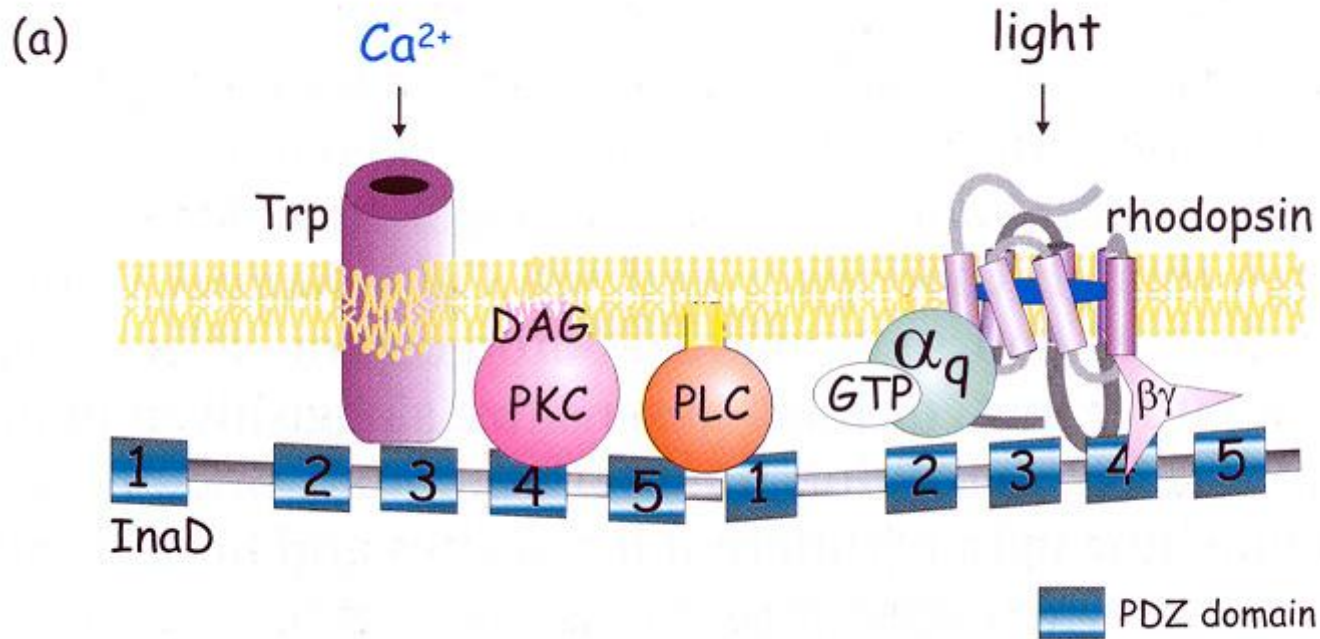
Η έννοια της «μικροπεριοχής» : ο ρόλος των AKAP



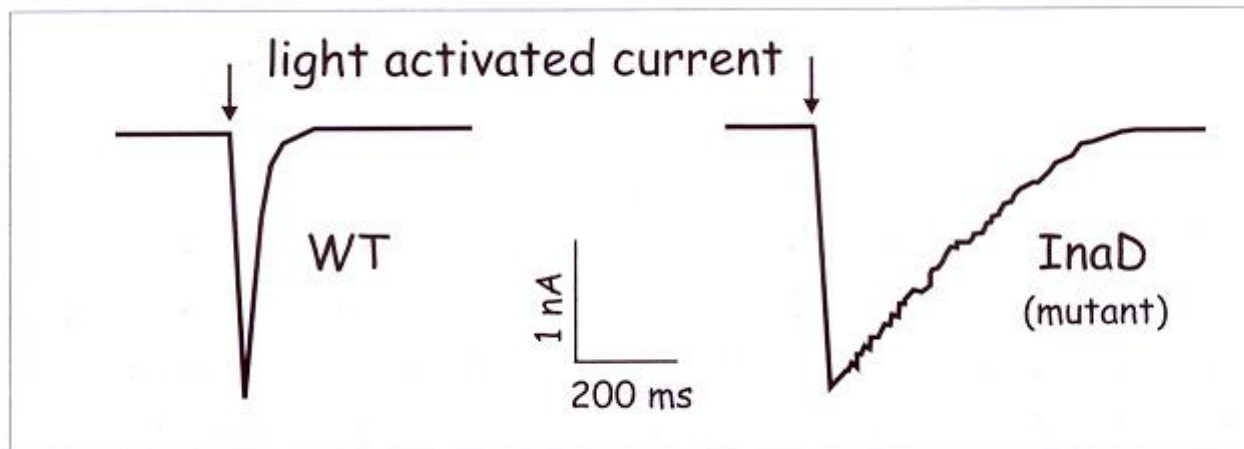
Διασταυρούμενη επικοινωνία : cross-talk

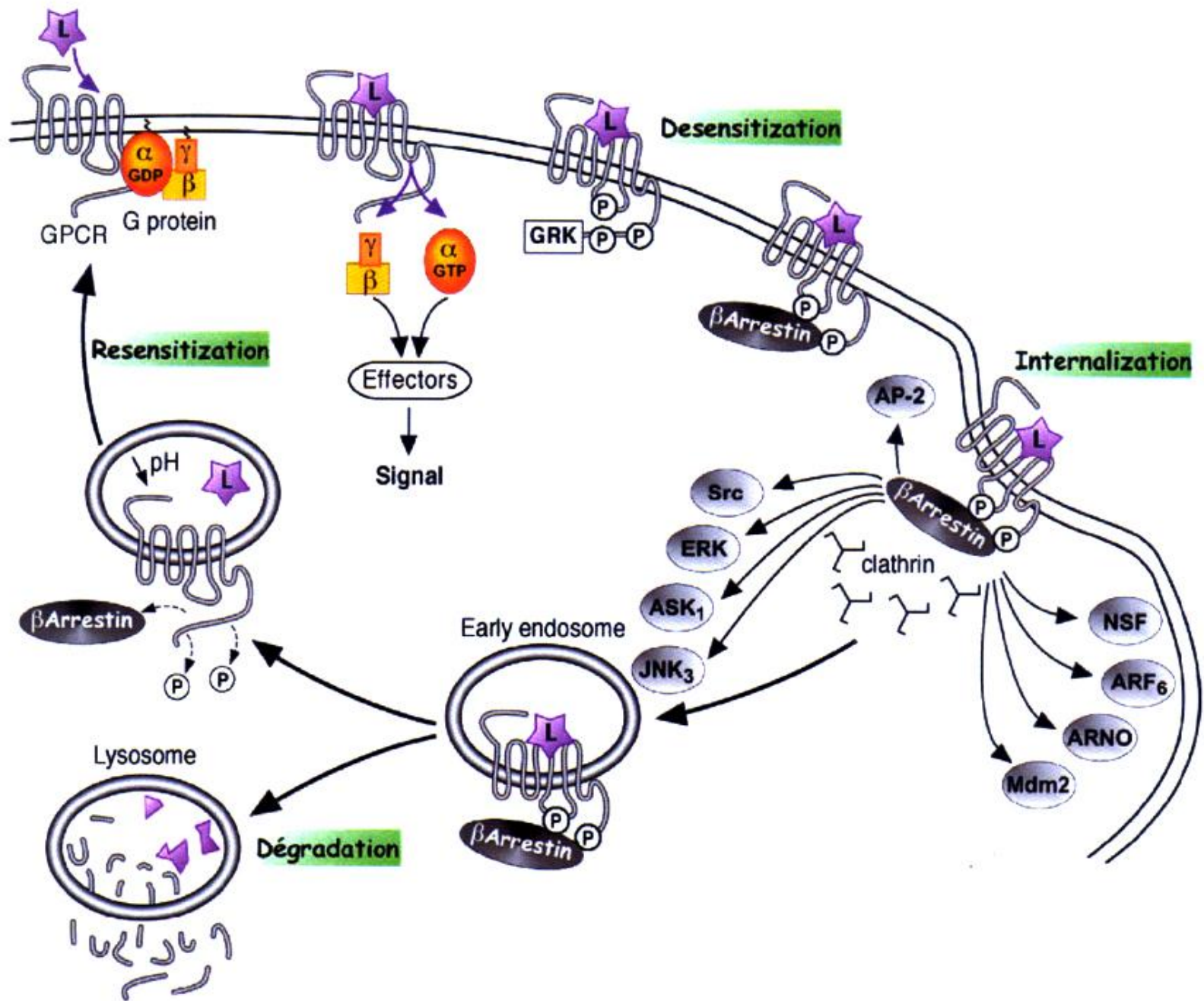


Ένα ζήτημα ζωής και θανάτου: Ο ρόλος των σηματοδοτικών συμπλόκων της PKC στη δράση διαφυγής της μύγας προκειμένου να ξεφύγει

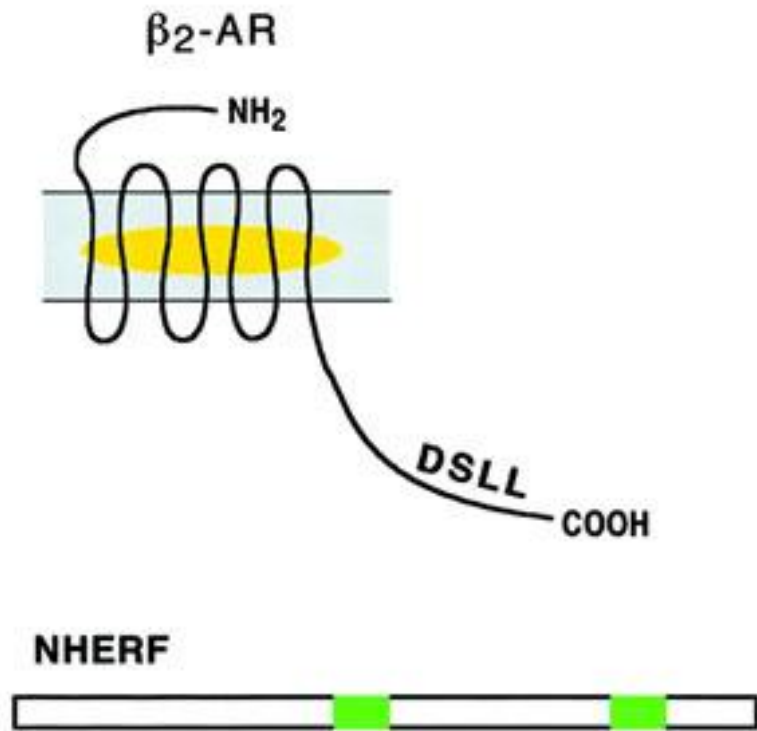


(b)

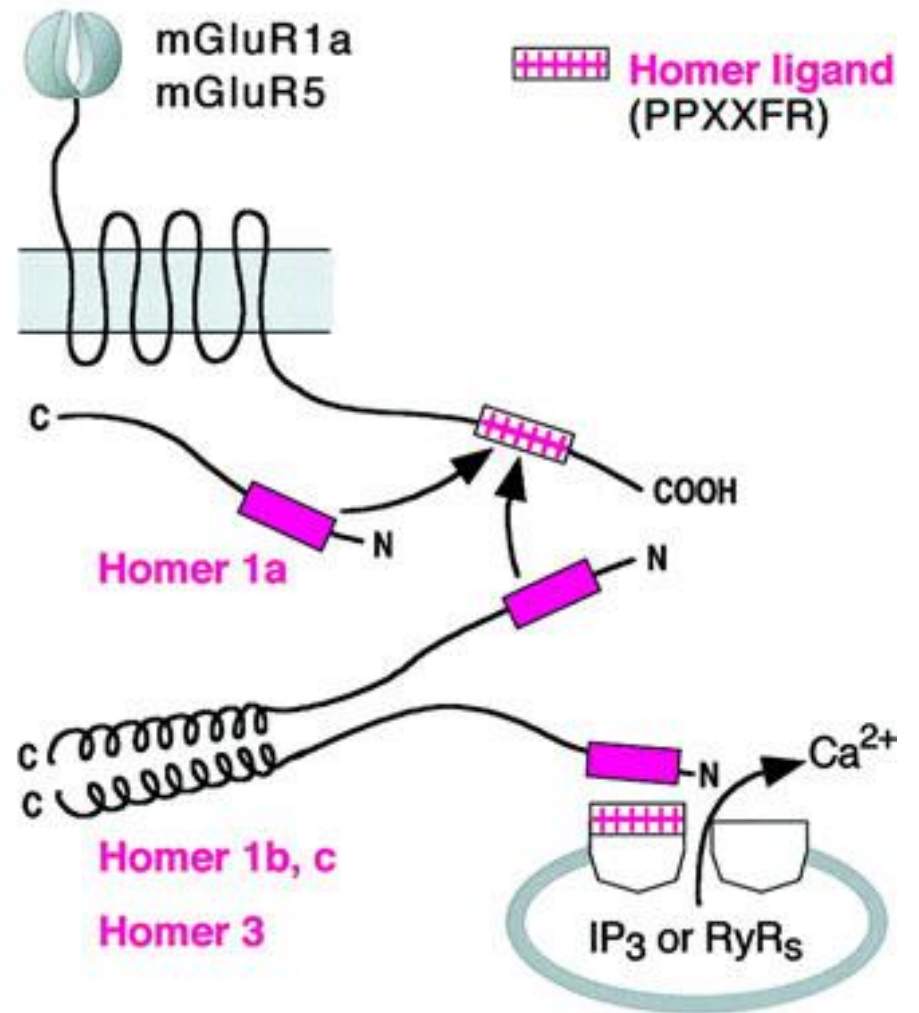


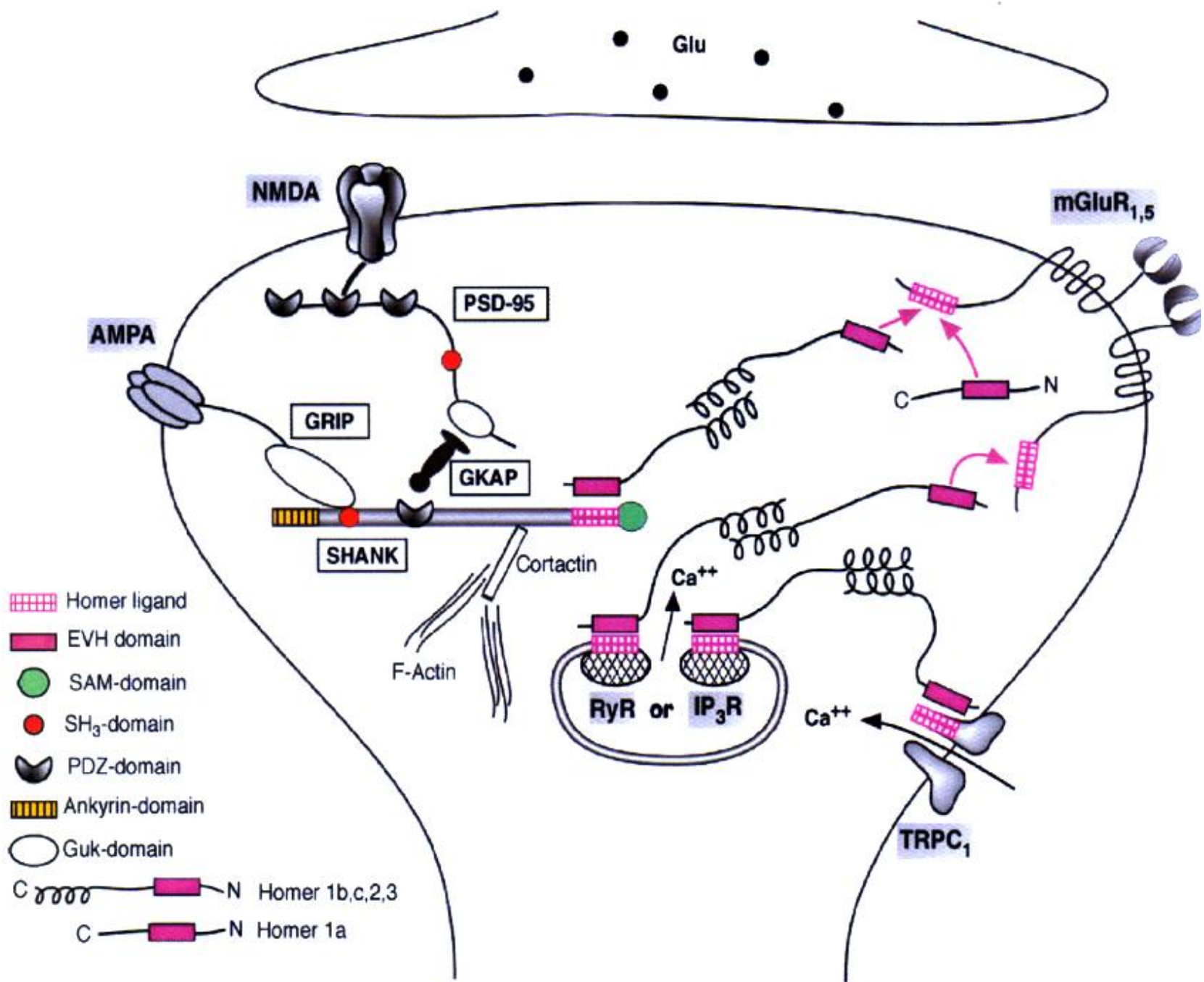


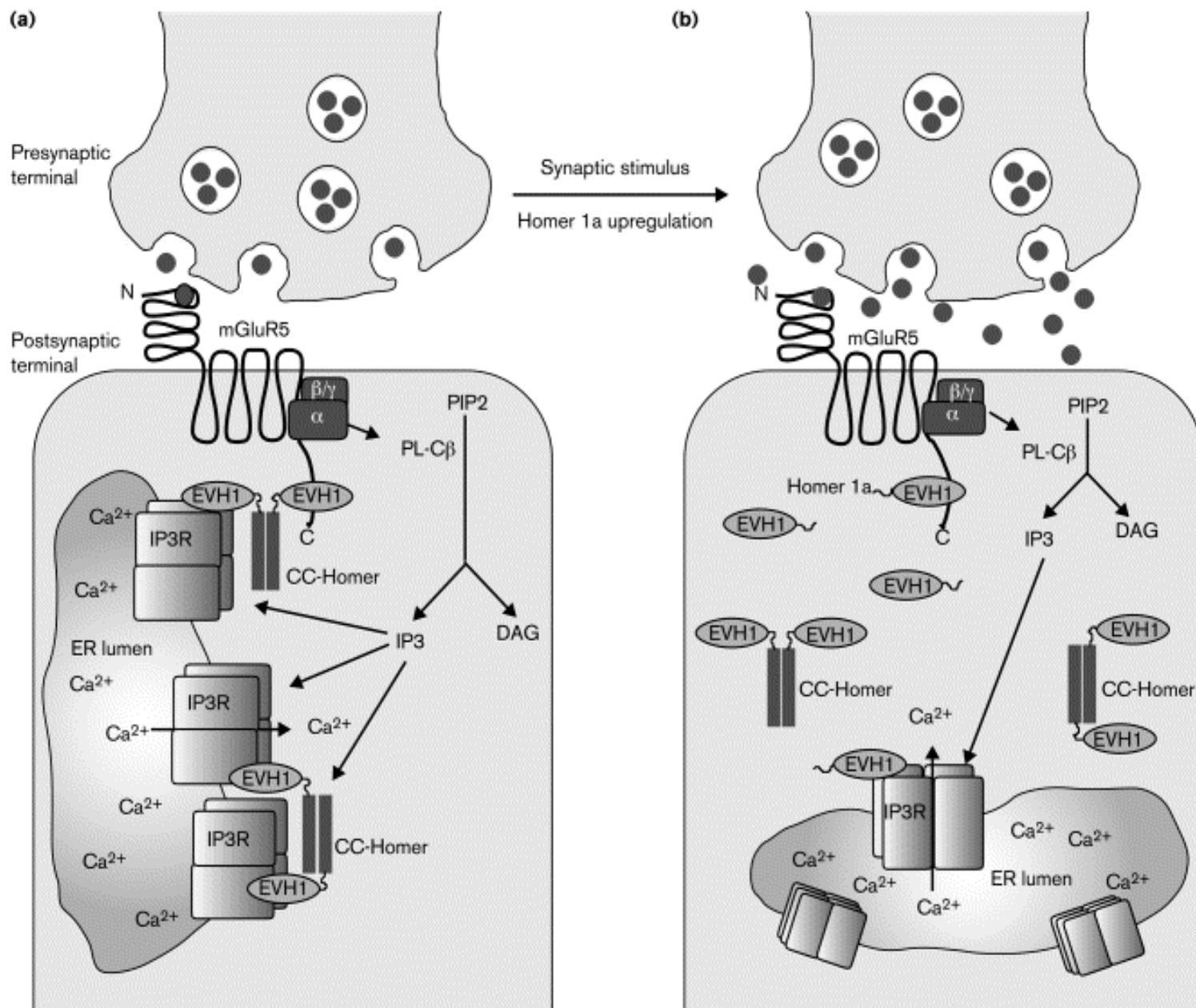
A **PDZ protein**

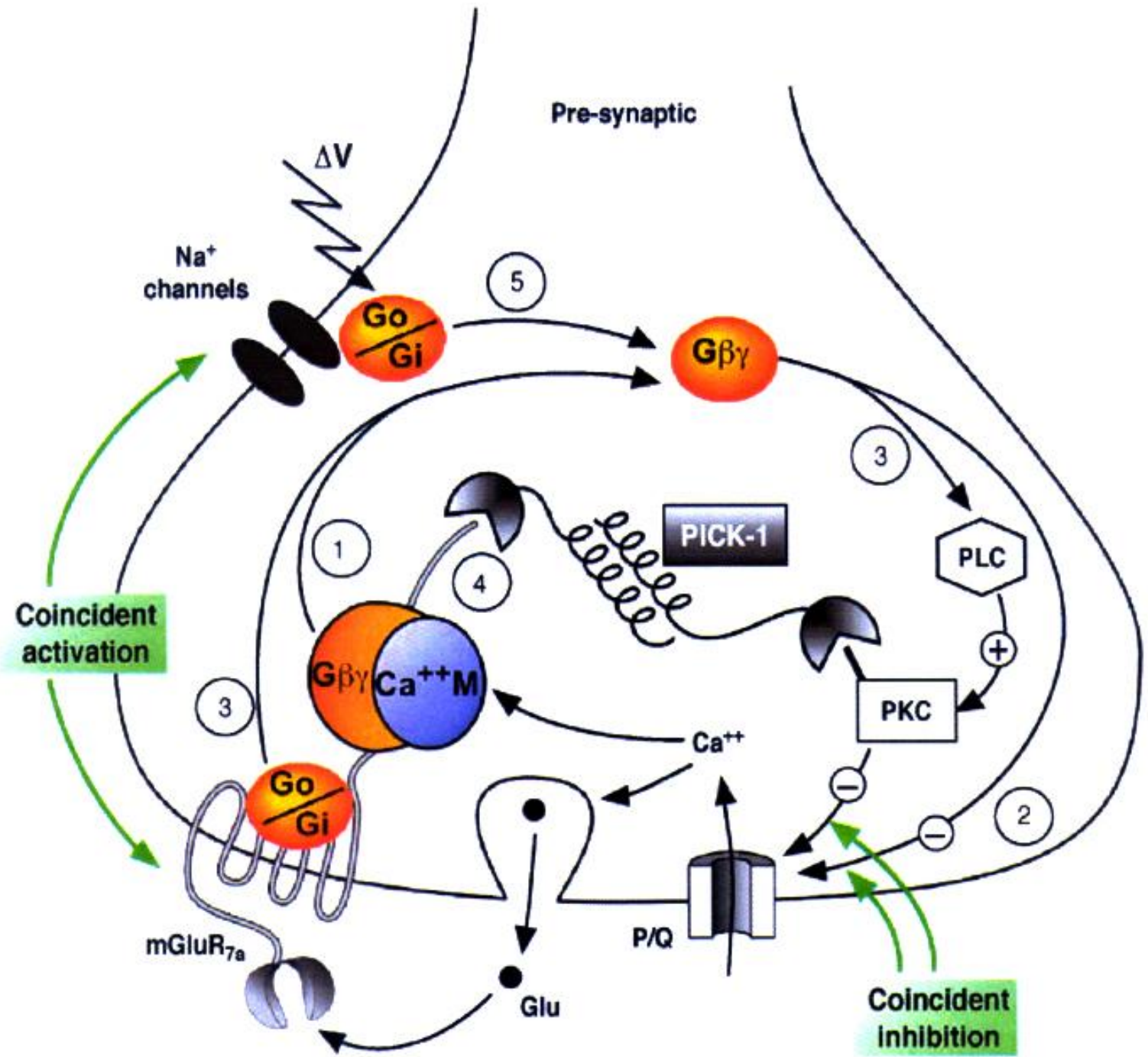


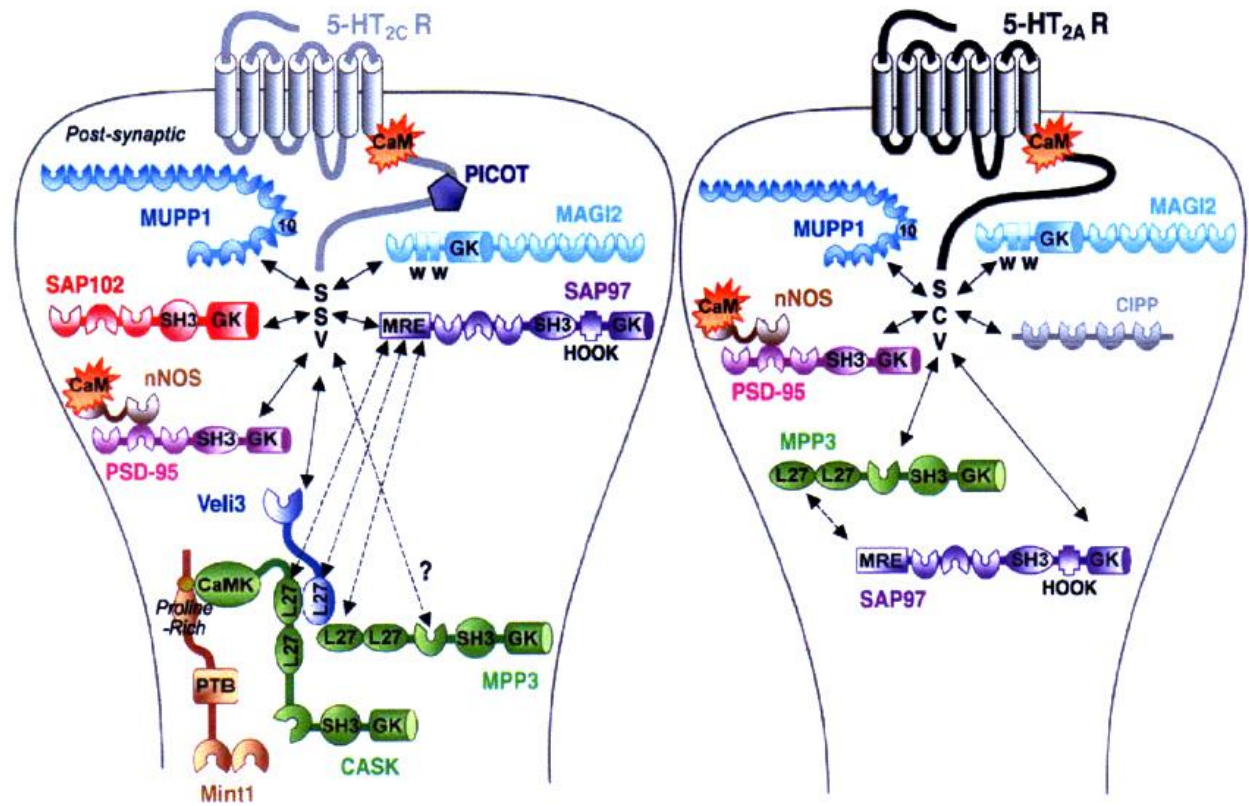
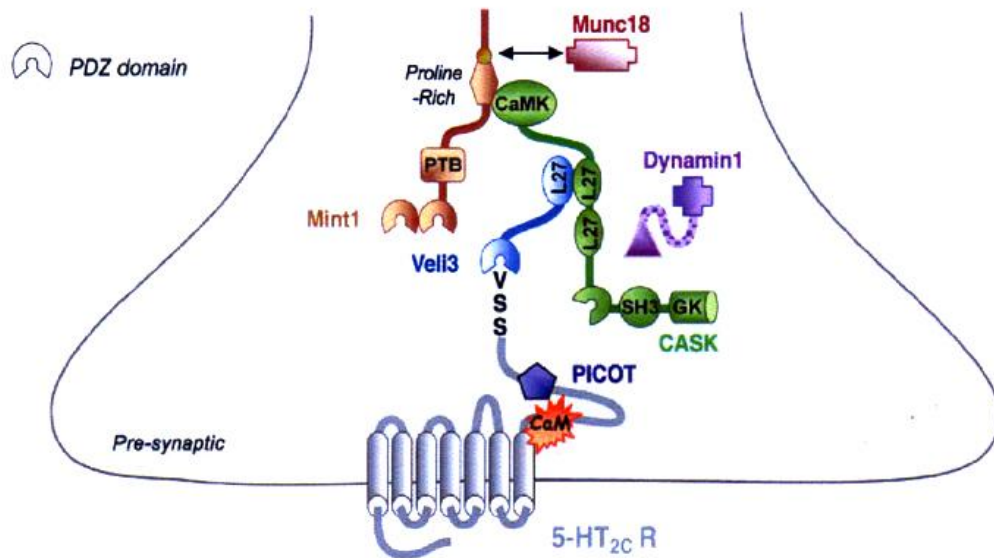
B **EVH protein**

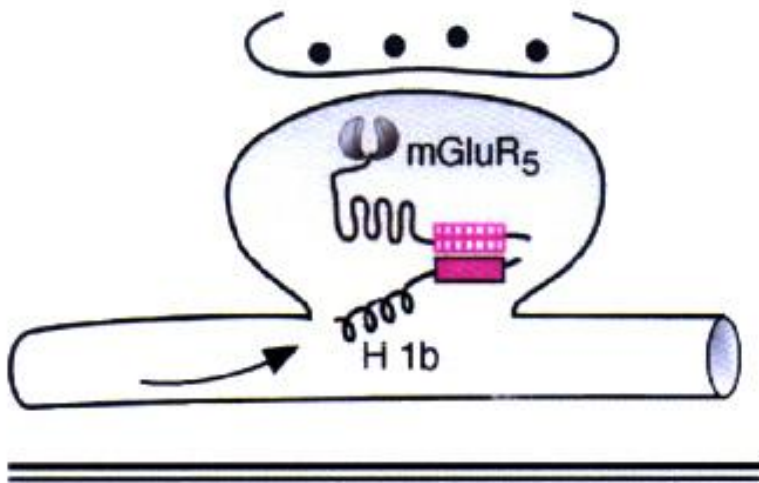




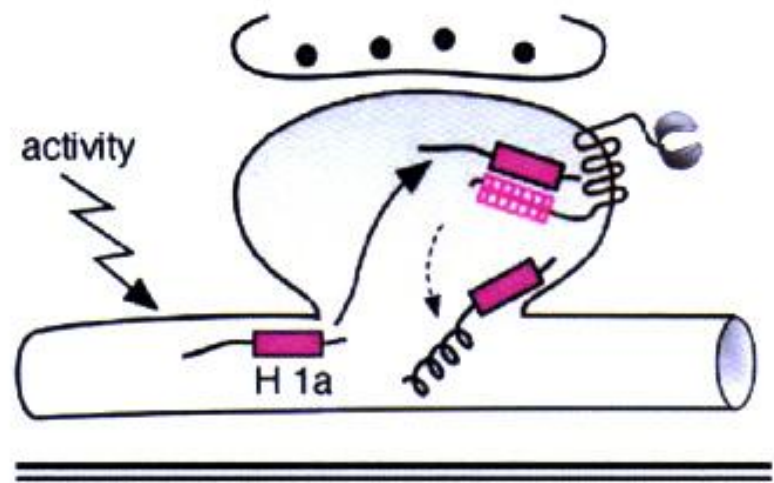




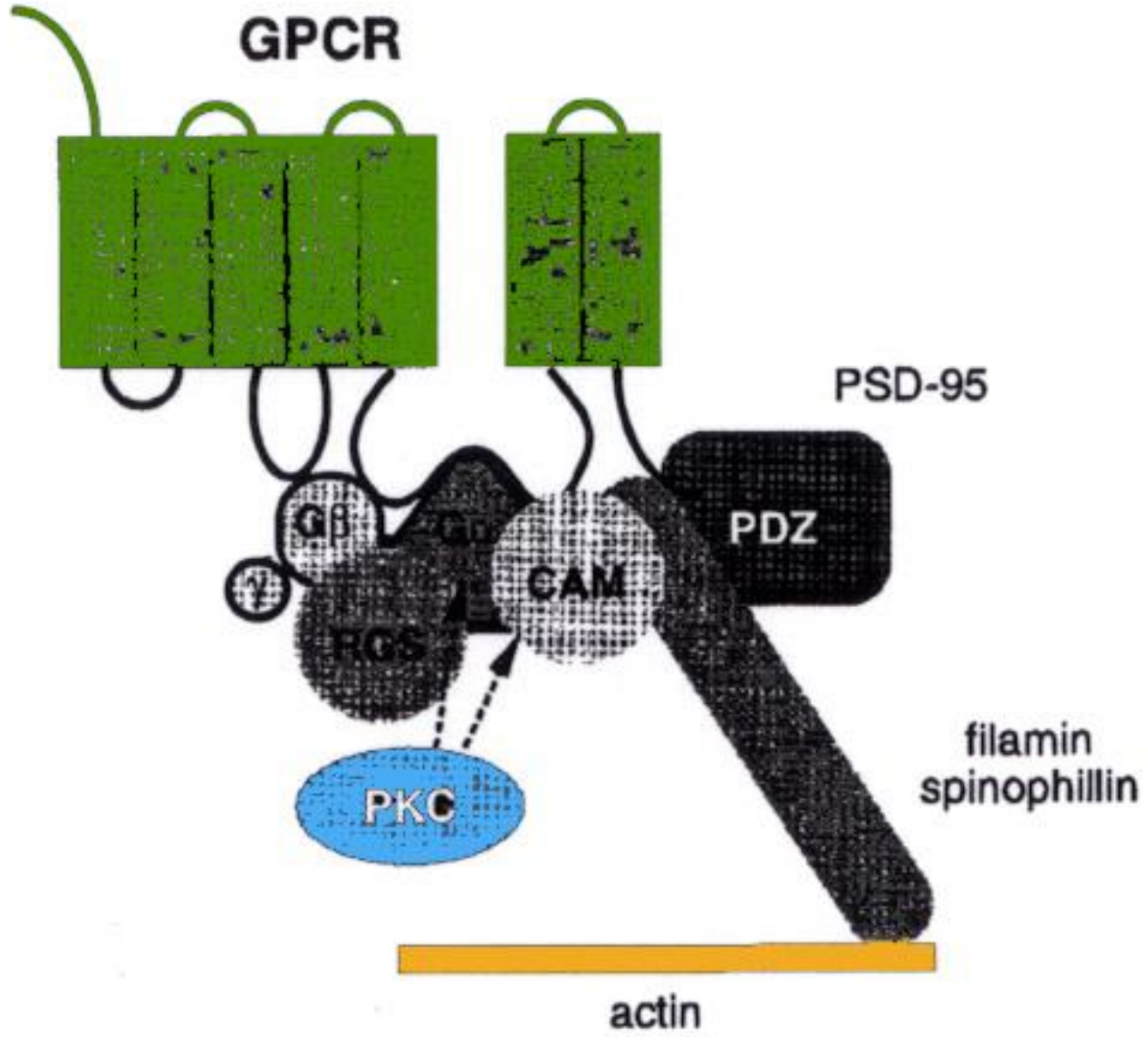




Targeting



Trafficking to membrane



Τα βραβεία Νόμπελ για τα κυκλικά νουκλεοτίδια και τη μεταγωγή σήματος

- 1971 — Earl W. Sutherland Jr, for his discoveries concerning the mechanisms of action of hormones through cAMP.
- 1992 — Edmond H. Fischer and Edwin G. Krebs, for their discoveries concerning reversible protein phosphorylation as a biological regulatory mechanism.
- 1994 — Alfred G. Gilman and Martin Rodbell, for their discovery of G proteins and the roles of these proteins in signal transduction in cells.
- 1998 — Robert F. Furchgott, Louis J. Ignarro and Ferid Murad, for their discoveries concerning nitric oxide and cGMP as signalling molecules in the cardiovascular system.
- 2000 — Arvid Carlsson, Paul Greengard and Eric R. Kandel, for their discoveries concerning signal transduction in the nervous system.

Images © The Nobel Foundation.

1971



Earl W. Sutherland

1992



Edmond Fisher



Edwin G. Krebs

1994



Alfred G. Gilman

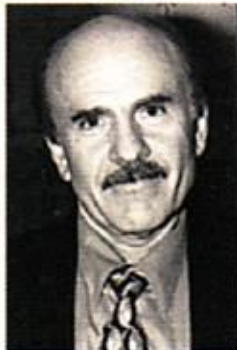


Martin Rodbell

1998



Robert Furchgott



Louis J. Ignarro



Ferid Murad

2000



Arvid Carlsson



Paul Greengard



Eric R. Kandel



The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2004

Richard Axel and Linda B. Buck

"for their discoveries of odorant receptors and the organization of the olfactory system"

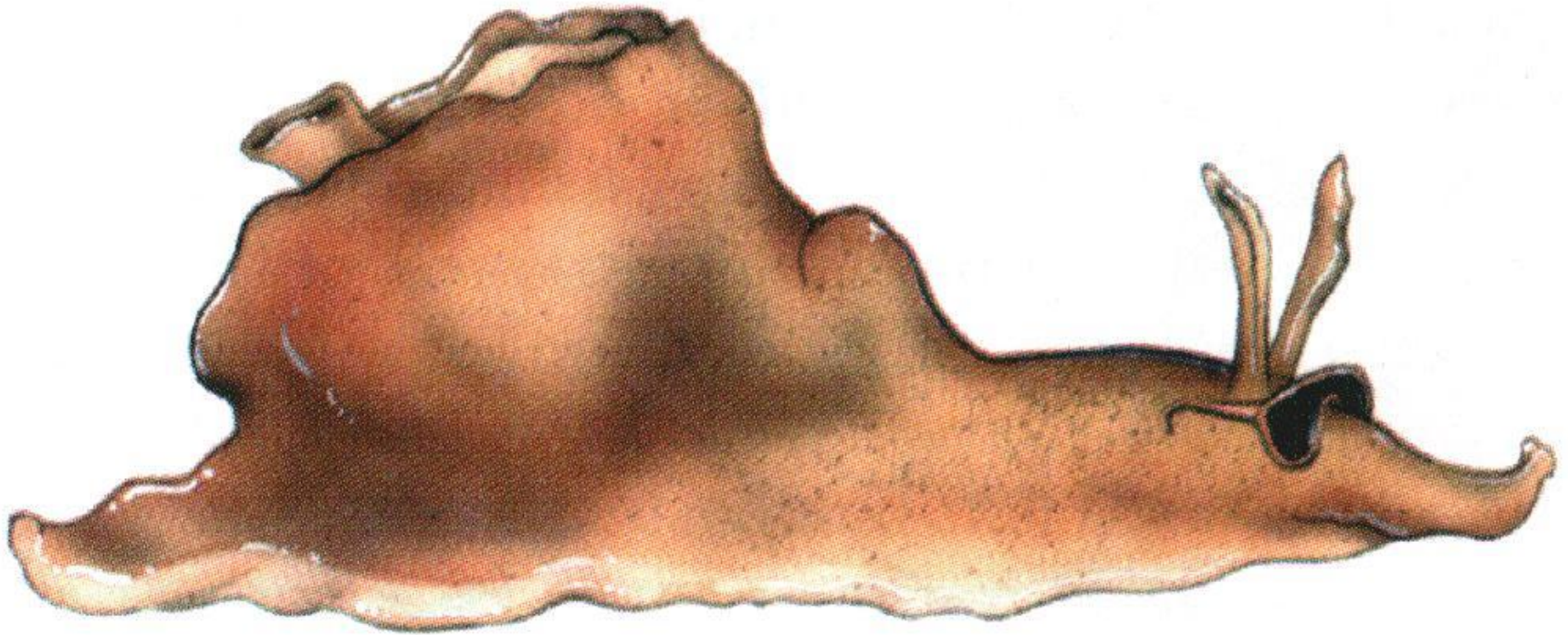


Richard Axel

Linda B. Buck

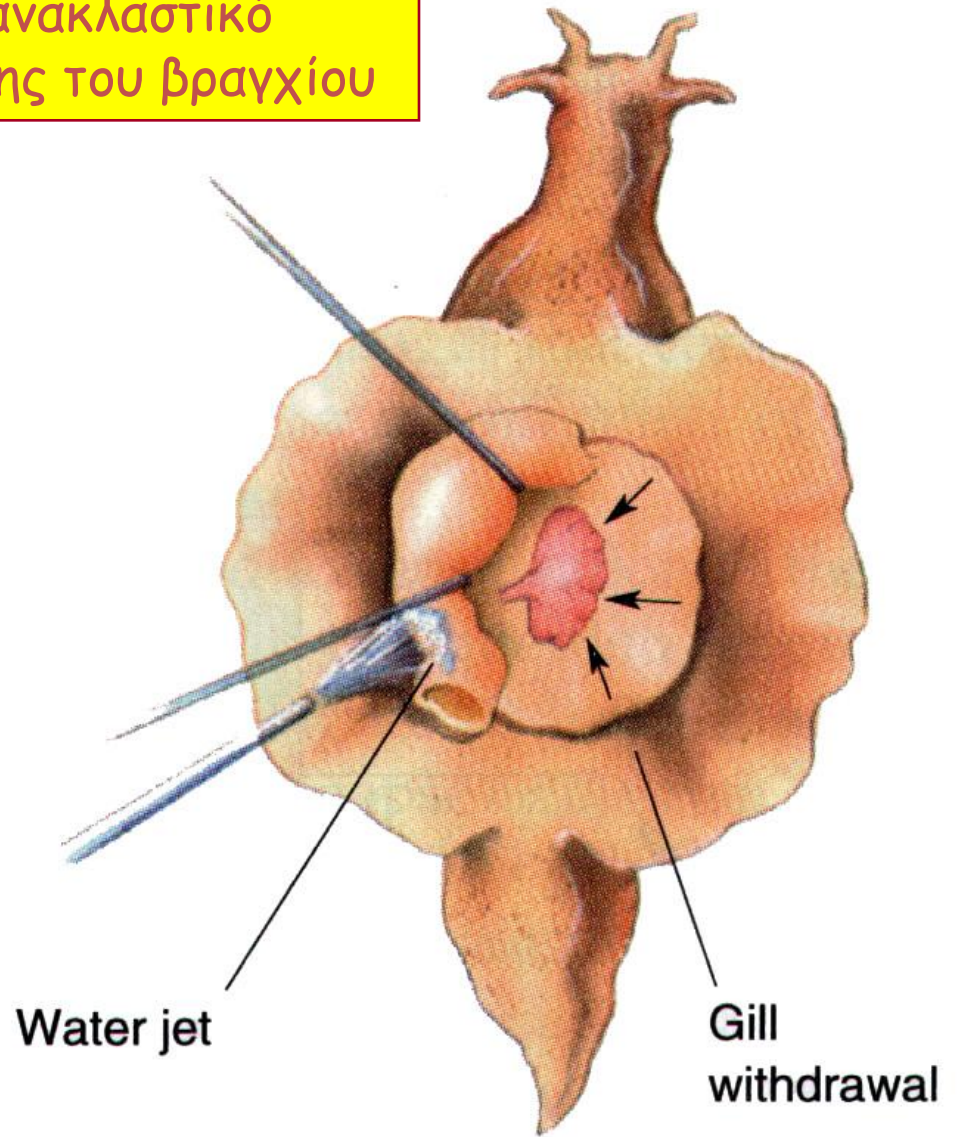
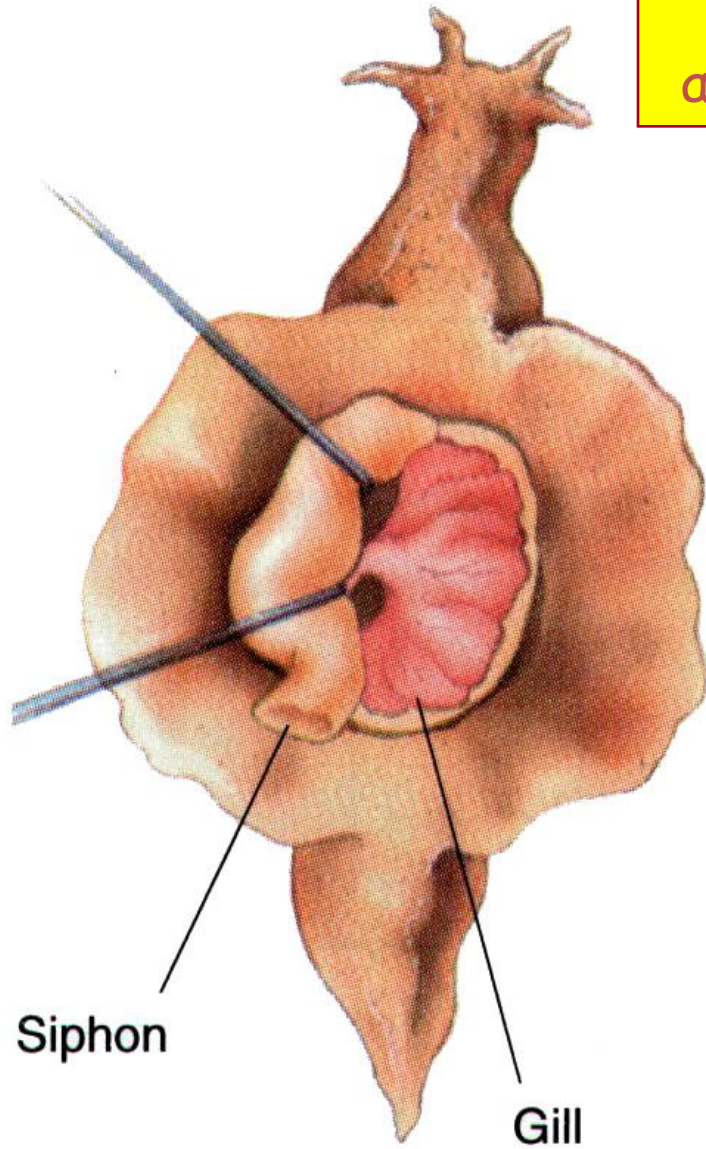


CAMP και μνήμη



Aplysia californica: 20.000 νευρικά κύτταρα

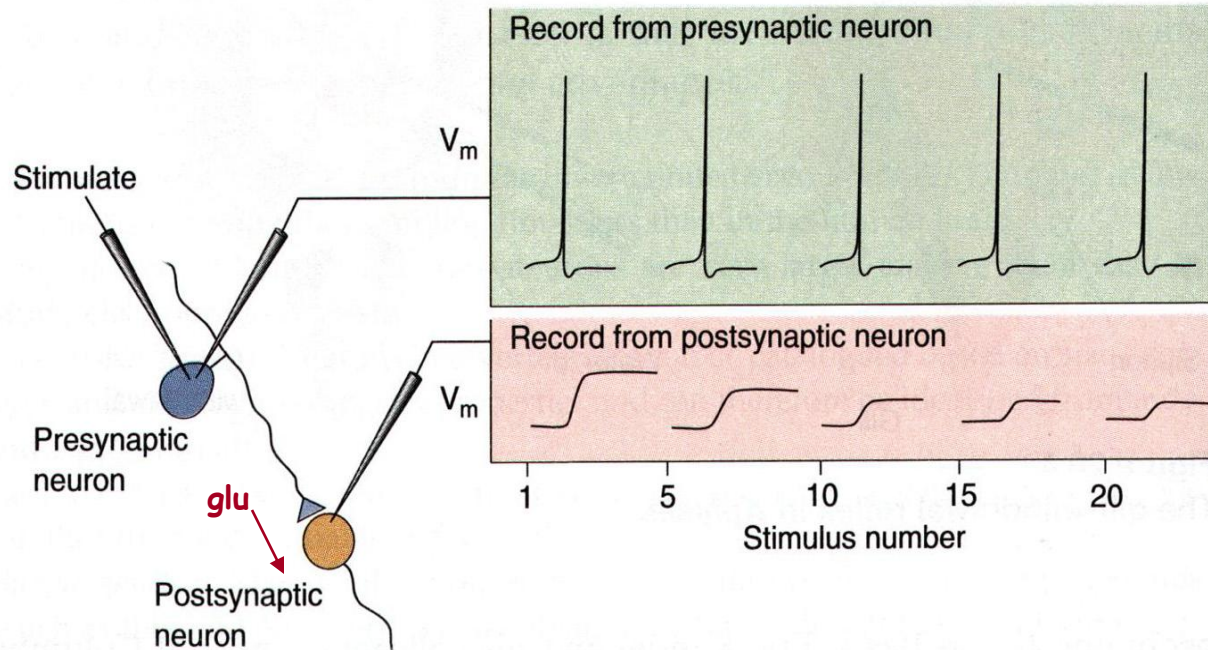
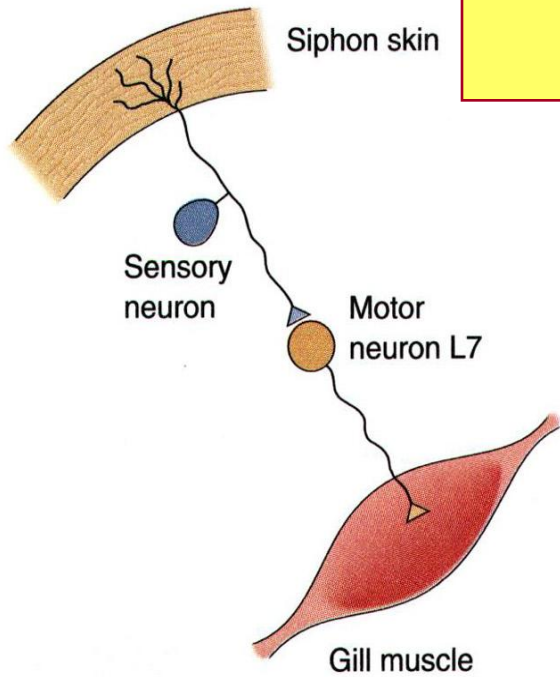
Αντανακλαστικό
απόσυρσης του βραγχίου



The gill-withdrawal reflex in *Aplysia*.

ΕΘΙΣΜΟΣ

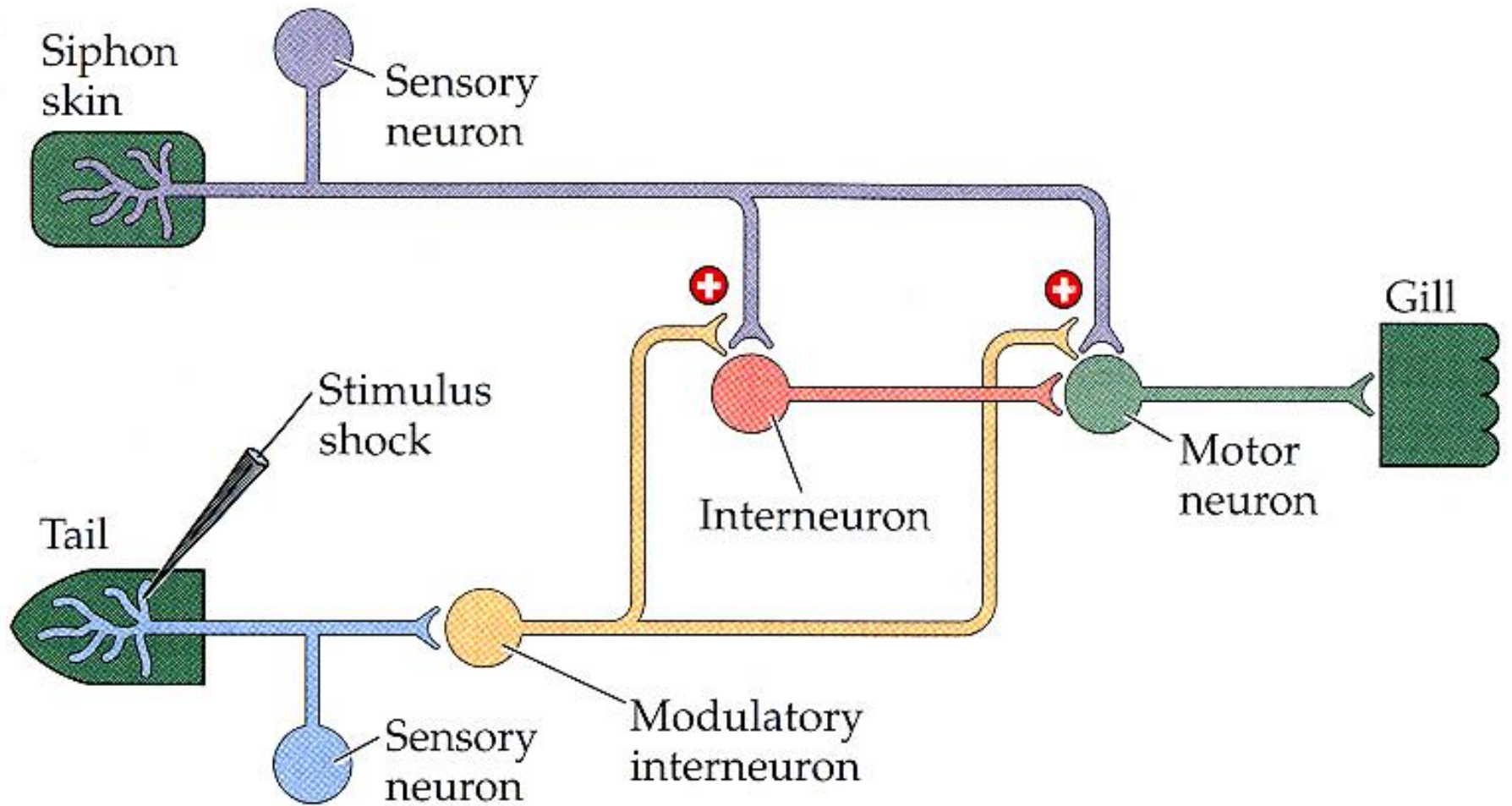
Αισθητήριοι νευρώνες από το σίφωνα (sensory neurons) δημιουργούν συνάψεις με κινητήριοις νευρώνες (motor neurons) που νευρώνουν τους μύς του βραγχίου. Ο εθισμός οφείλεται στην ελάττωση του ποσού του διαβιβαστή που απελευθερώνεται στη σύναψη ανάμεσα στον αισθητήριο και στον κινητήριο νευρώνα, δηλαδή η επαναλαμβανόμενη διέγερση του σίφωνα (αισθητήριου νευρώνα) οδηγεί στην **ελάττωση του μετασυναπτικού δυναμικού** (κινητήριου νευρώνα).



A simple wiring diagram for the gill-withdrawal reflex. The sensory neuron which detects stimuli applied to the skin of the siphon synapses directly on the motor neuron that causes the gill to withdraw.

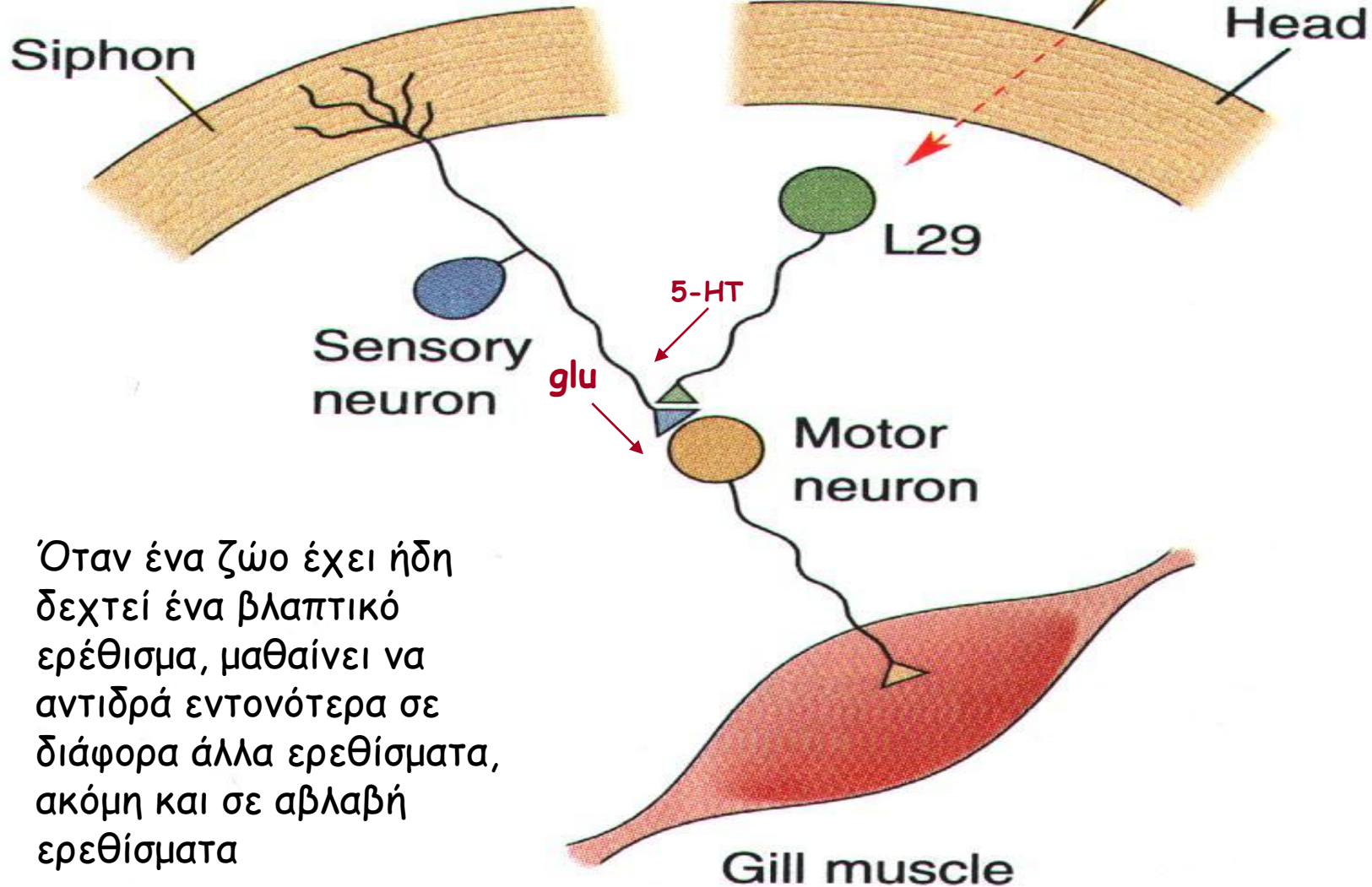
Habituation at the cellular level. Repeated electrical stimulation of a sensory neuron leads to a progressively smaller EPSP in the postsynaptic motor neuron.

Ευαισθητοποίηση του αντανακλαστικού απόσυρσης του βραγχίου

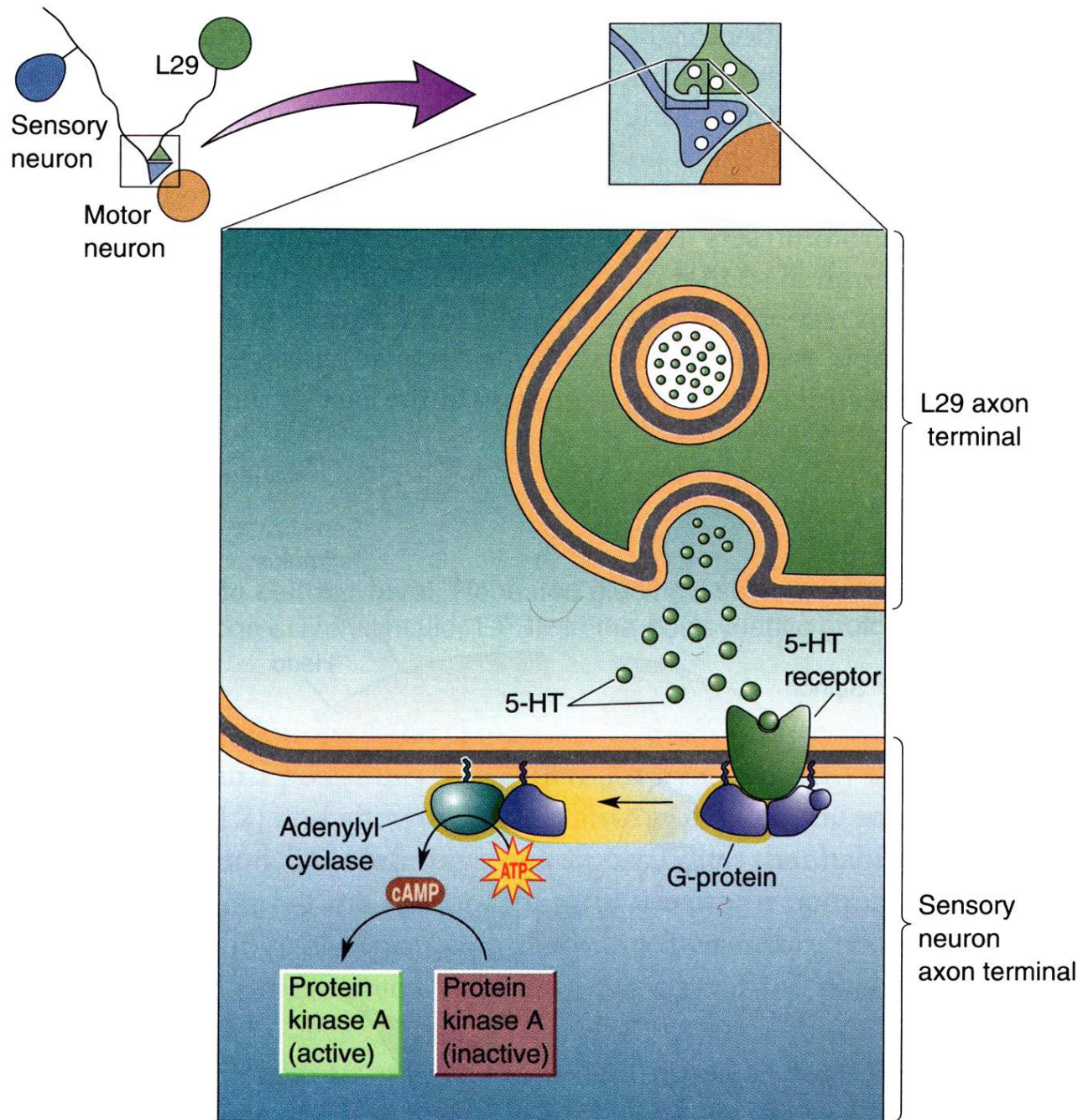


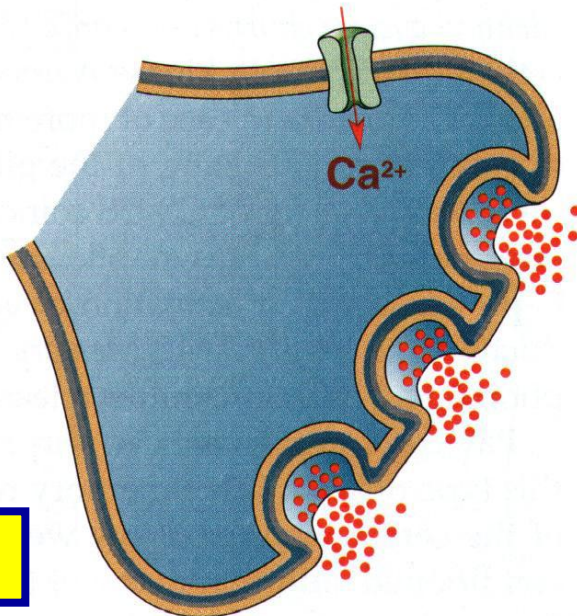
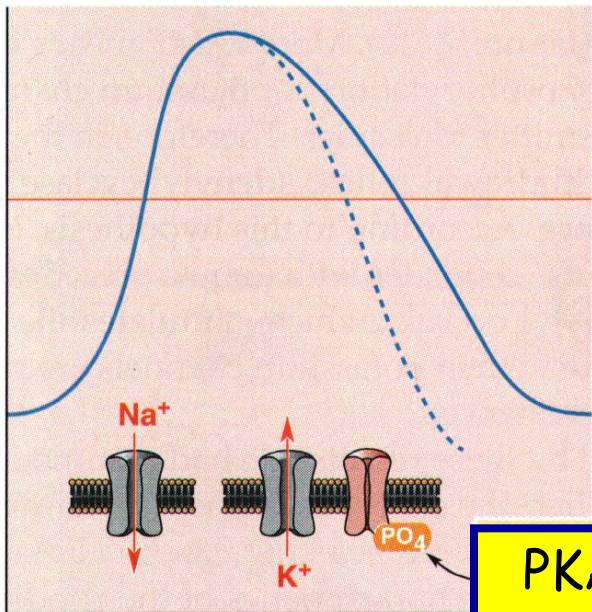
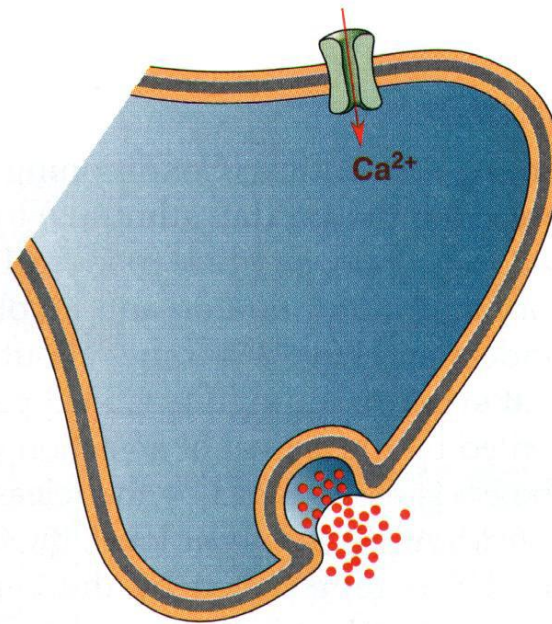
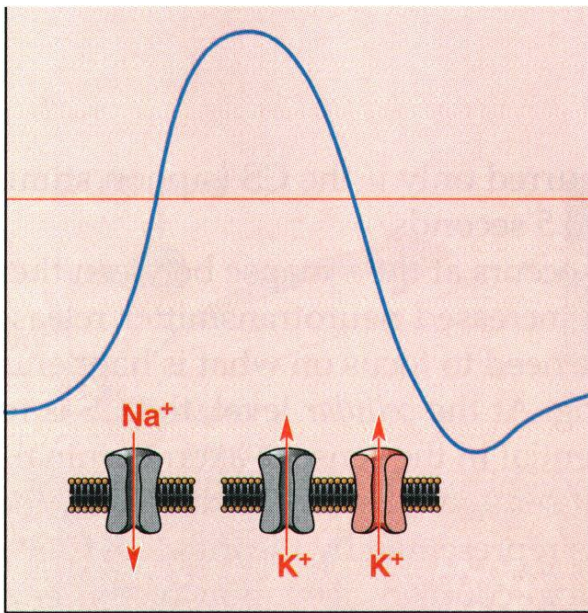
ΕΥΑΙΣΘΗΤΟΠΟΙΗΣΗ

Ενίσχυση της συναπτικής διαβίβασης



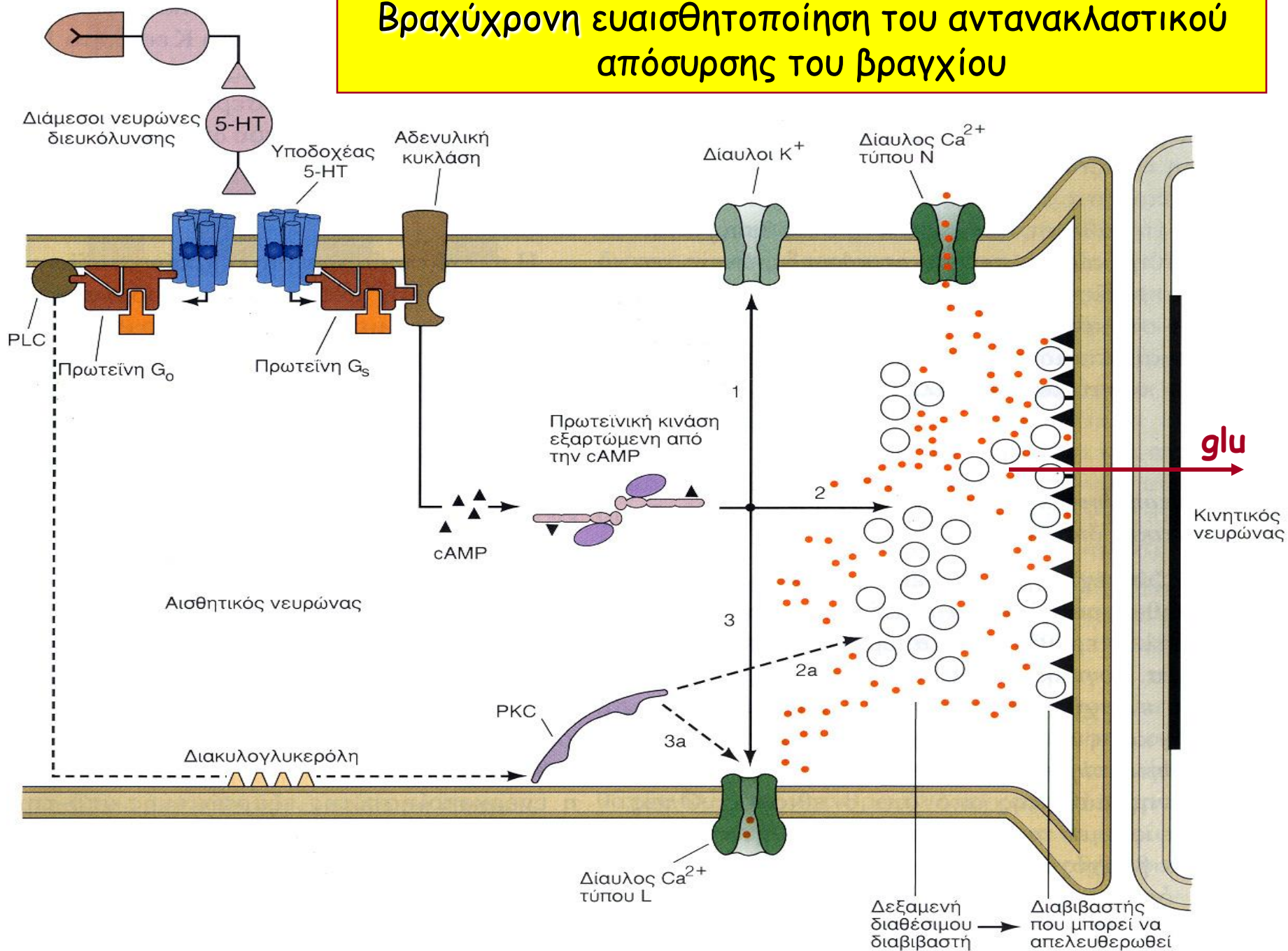
Όταν ένα ζώο έχει ήδη δεχτεί ένα βλαπτικό ερέθισμα, μαθαίνει να αντιδρά εντονότερα σε διάφορα άλλα ερεθίσματα, ακόμη και σε αβλαβή ερεθίσματα

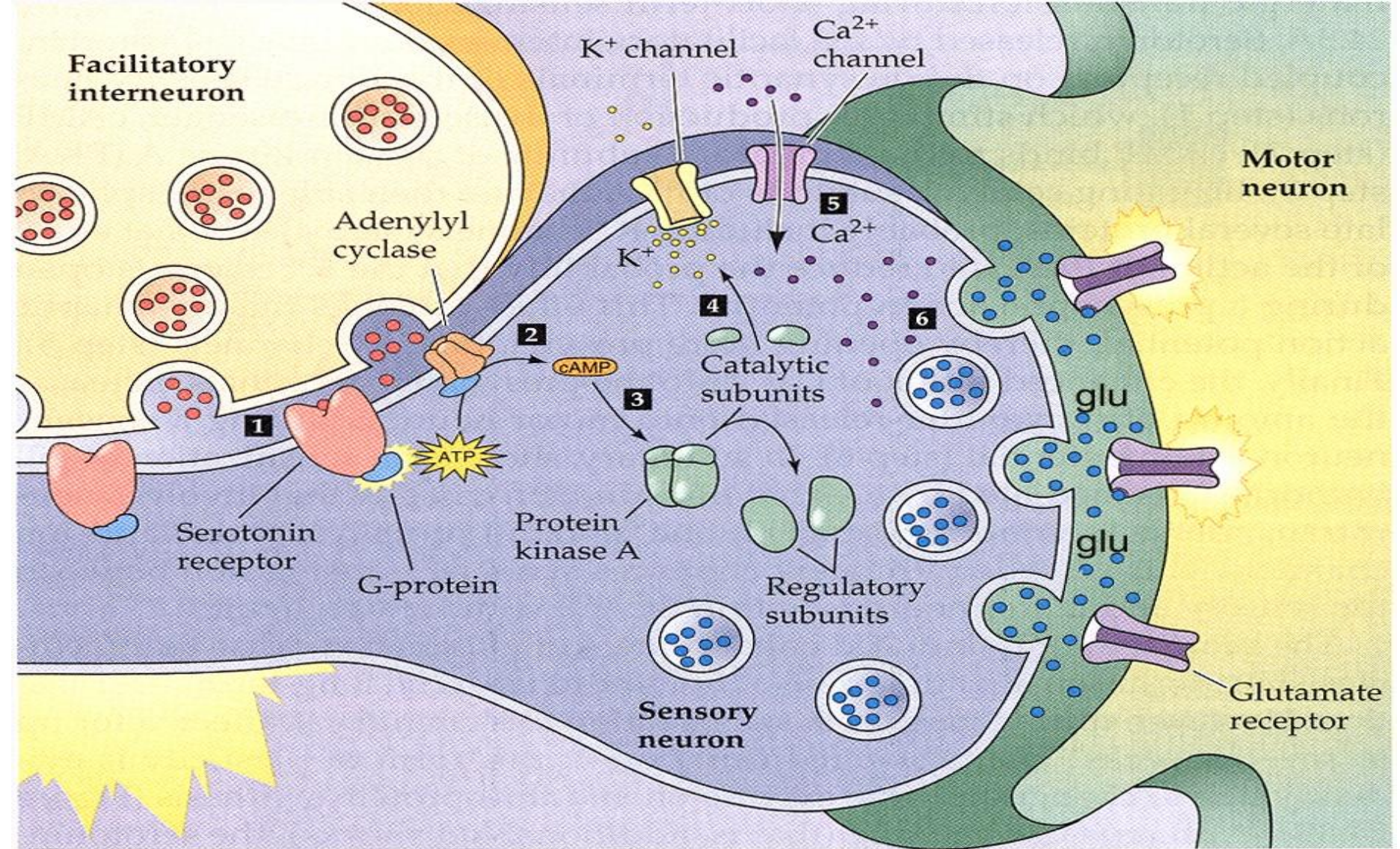




Η φωσφορυλίωση οδηγεί στο κλείσιμο των καναλιών K⁺, γεγονός που προκαλεί παράταση της εκπόλωσης

Βραχύχρονη ευαισθητοποίηση του αντανακλαστικού απόσυρσης του βραγχίου





Η απελευθέρωση 5-HT από το νευρώνα διευκόλυνσης ενεργοποιεί υποδοχείς του αισθητήριου νευρώνα του σίφωνα. Η ενεργοποίησή τους διεγείρει την AC και αυξάνει το cAMP, το οποίο ενεργοποιεί την PKA. Η PKA με τη σειρά της φωσφορυλιώνει κανάλια K⁺. Η φωσφορυλίωση οδηγεί στο κλείσιμο των καναλιών K⁺ γεγονός που προκαλεί παράταση της εκπόλωσης του αισθητήριου νευρώνα, με αποτέλεσμα την αύξηση της απελευθέρωσης του διαβιβαστή γλουταμικό (glu).