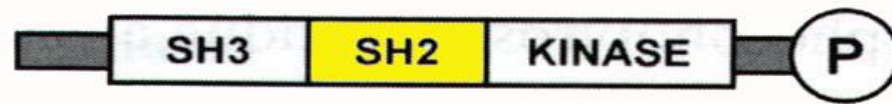


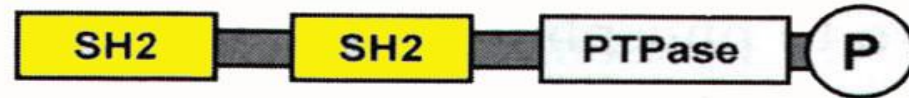
Δομικές περιοχές πρωτεϊνών και μεταγωγή σήματος

Κοινή βασική δομή 60-100 αα παρόλο που συναντώνται σε πολύ διαφορετικές πρωτεΐνες

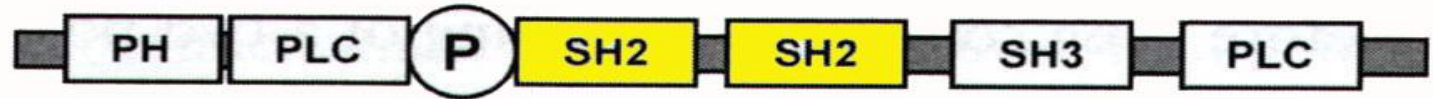
Src/Lck



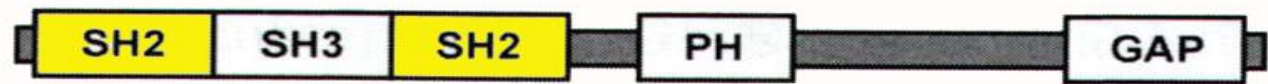
Syp



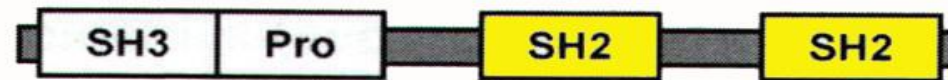
PL-C γ



p120 - GAP



p85 PI3-K



Grb2



Shc



Stat



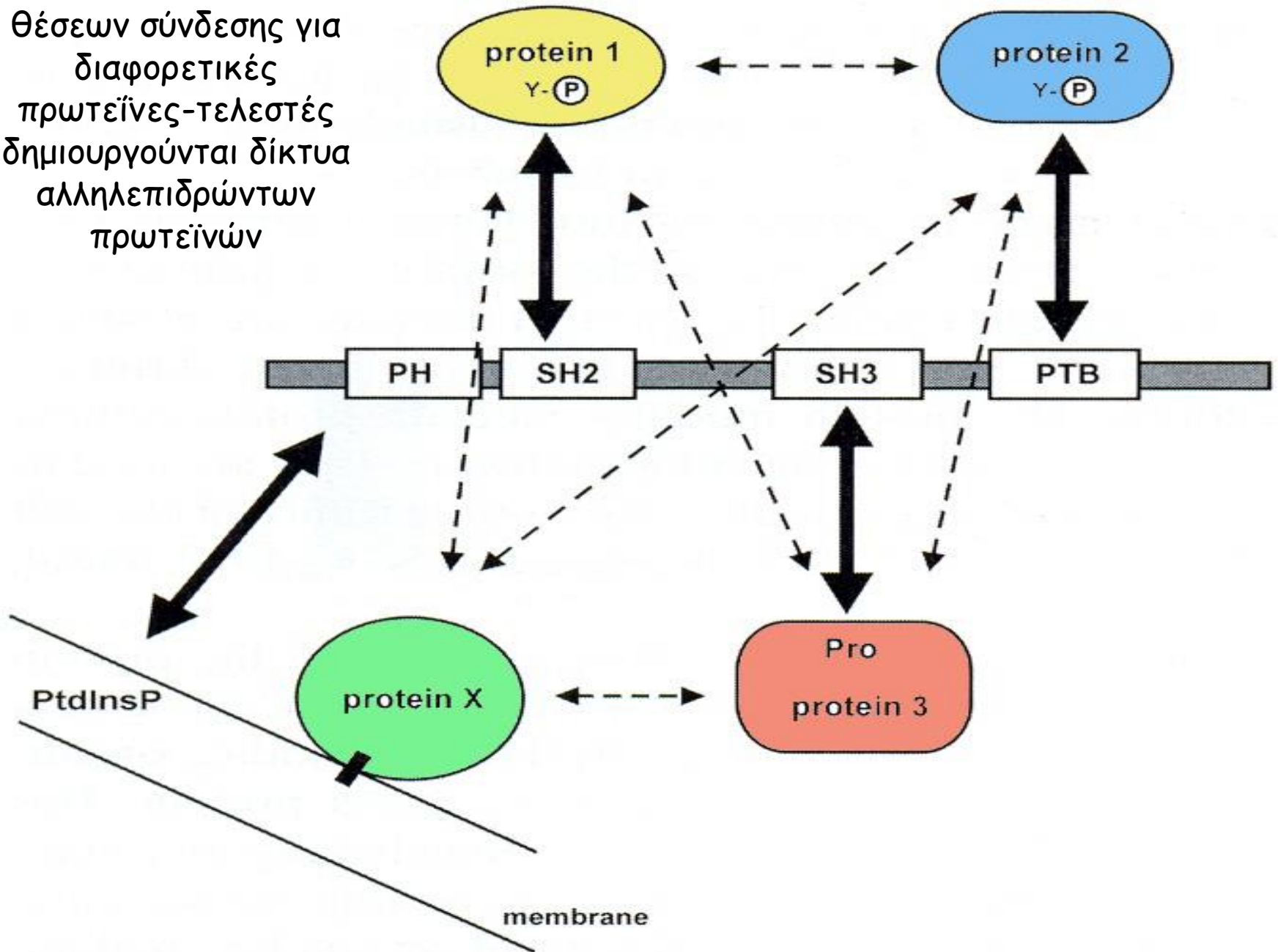
β ARK

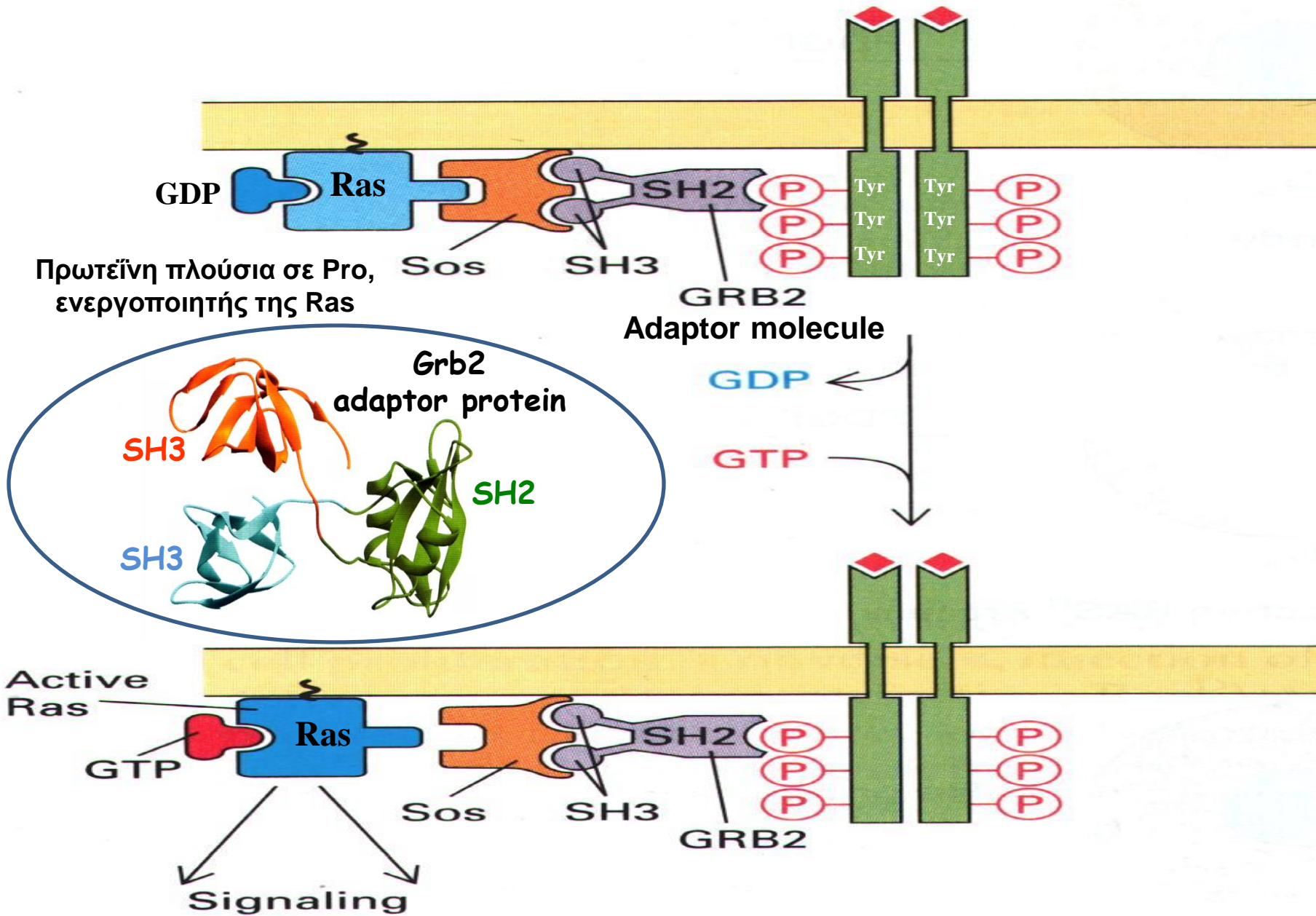


IRS - 1

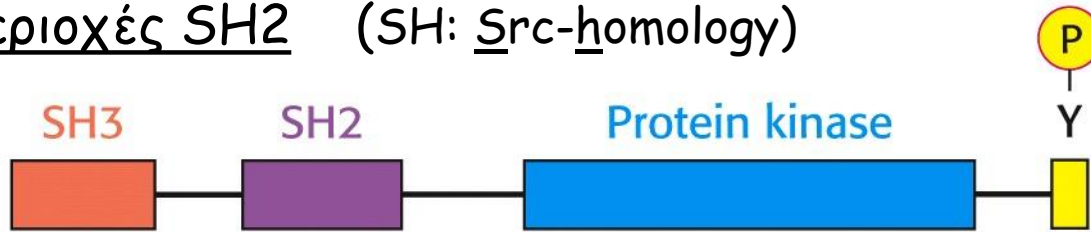


Λόγω των πολλαπλών θέσεων σύνδεσης για διαφορετικές πρωτεΐνες-τελεστές δημιουργούνται δίκτυα αλληλεπιδρώντων πρωτεϊνών

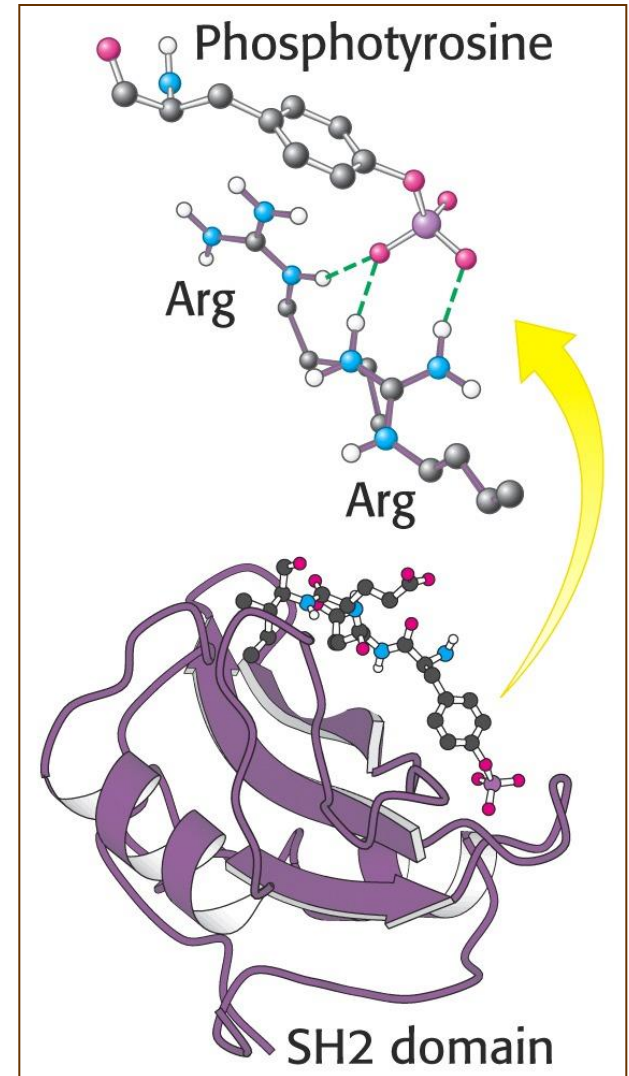
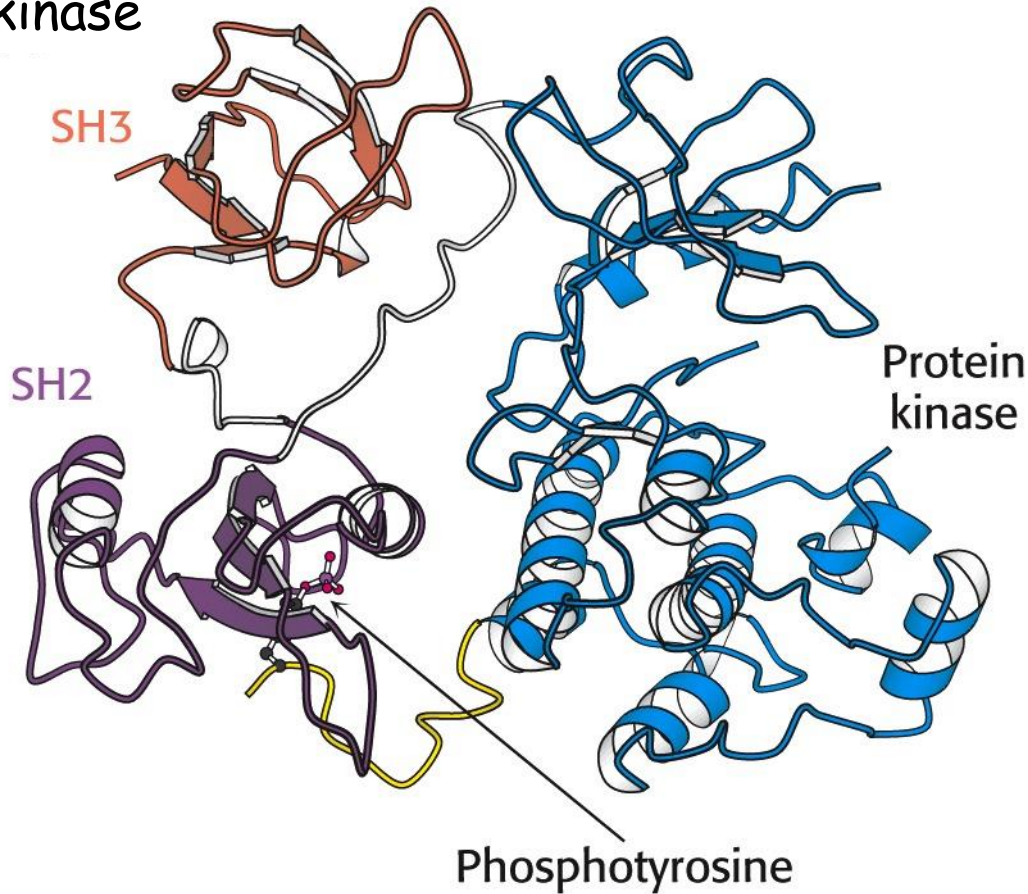




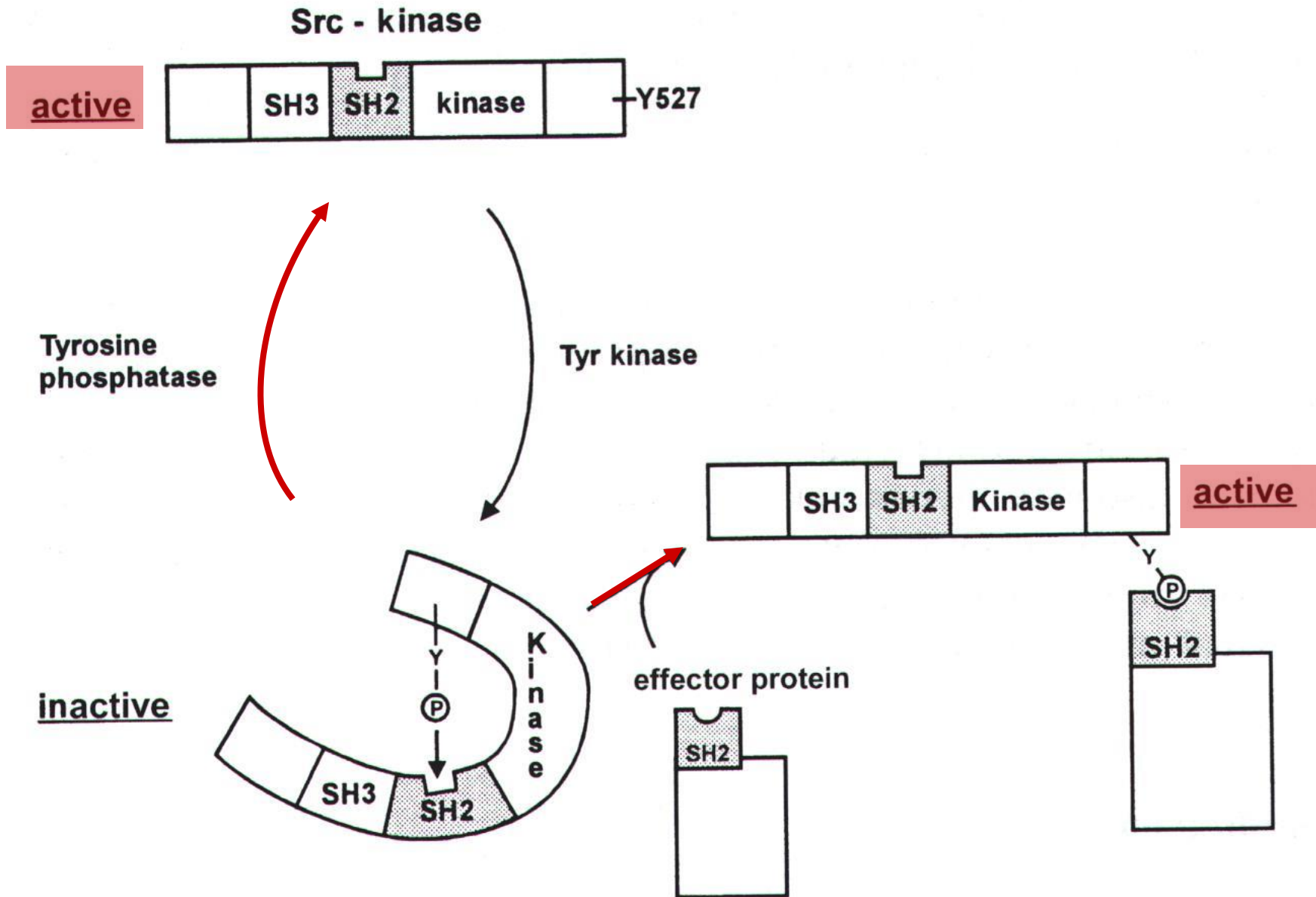
Περιοχές SH2 (SH: Src-homology)



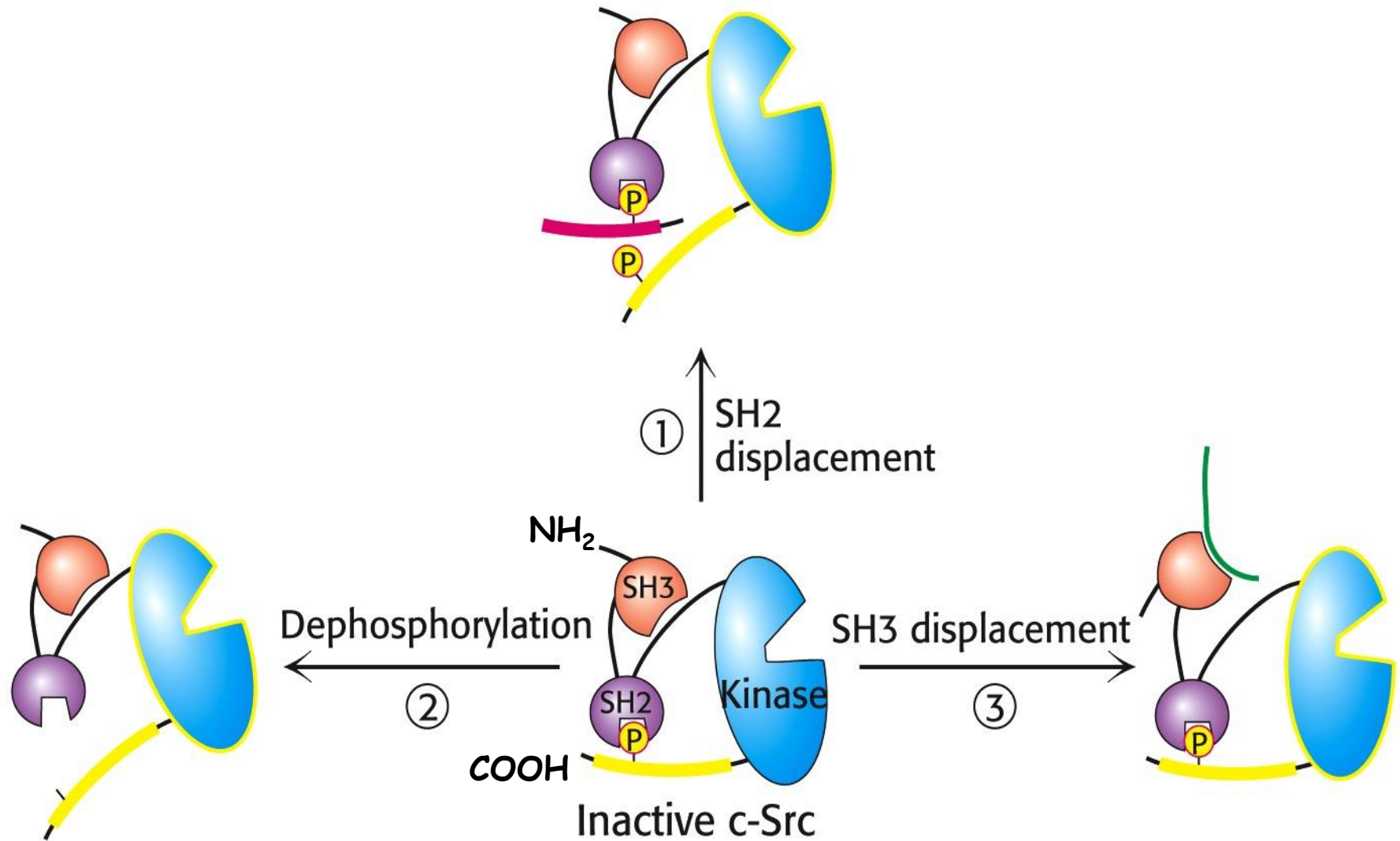
Src kinase



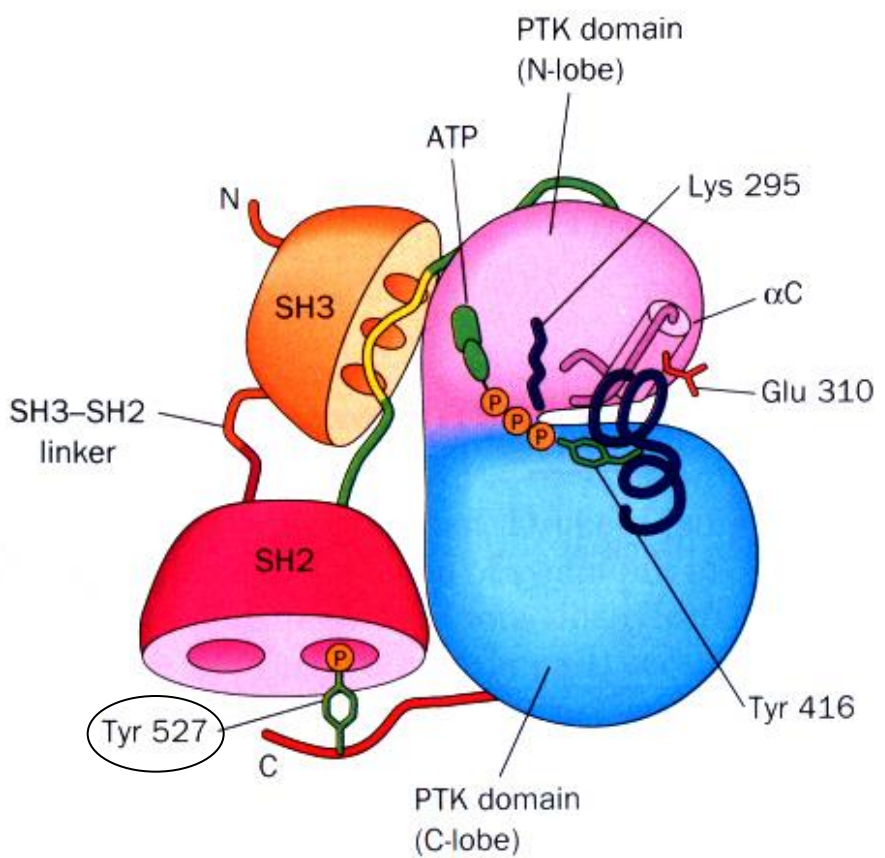
Αναστολή της c-Src κινάσης με αυτο-φωσφορλίωση



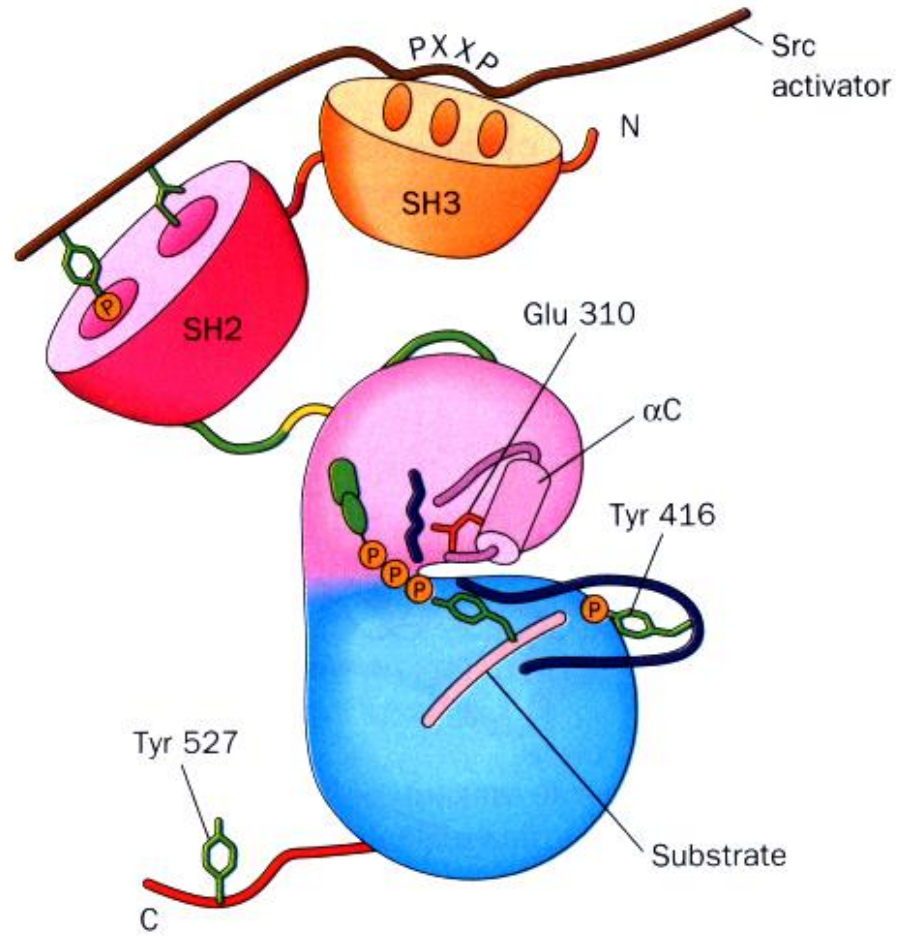
v-Src: στερείται το κατάλοιπο Tyr που φωσφορυλιώνεται και είναι υπερ-ενεργοποιημένη προκαλώντας σάρκωμα στις όρνιθες



Autoinhibited Form



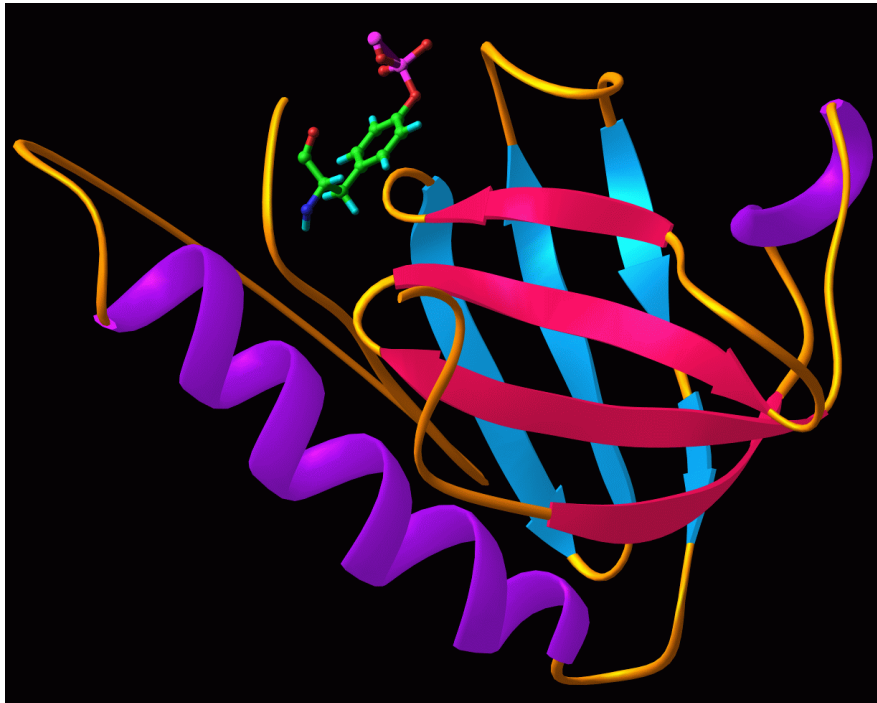
Active Form



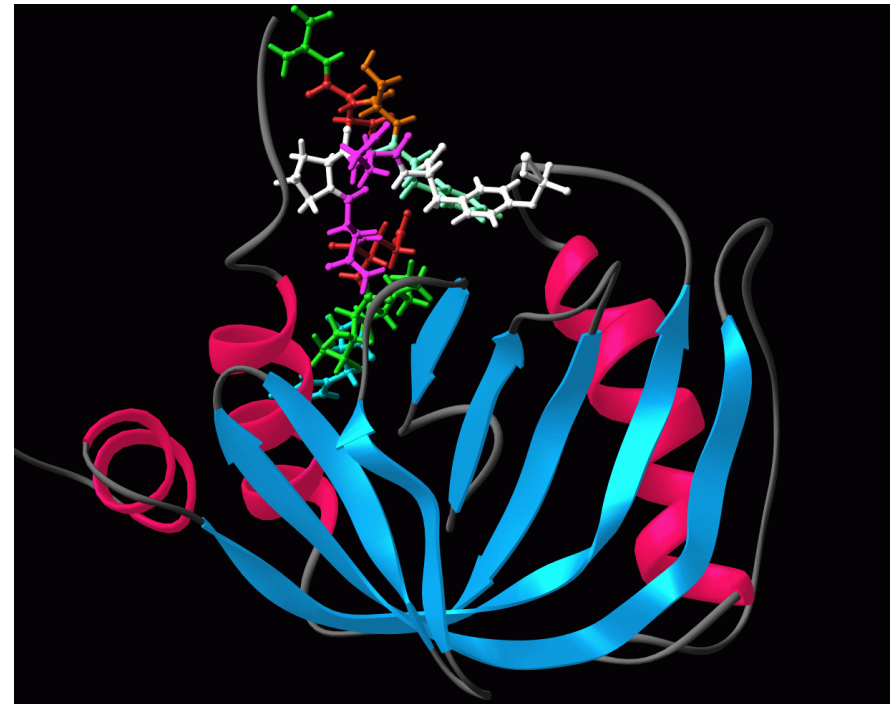
PTB : phosphotyrosine binding

Αναγνωρίζουν κατάλοιπα φωσφωρυλιωμένης Τυροσίνης κοντά στο $-NH_2$ άκρο του υποδοχέα

IRS: insulin receptor substrate

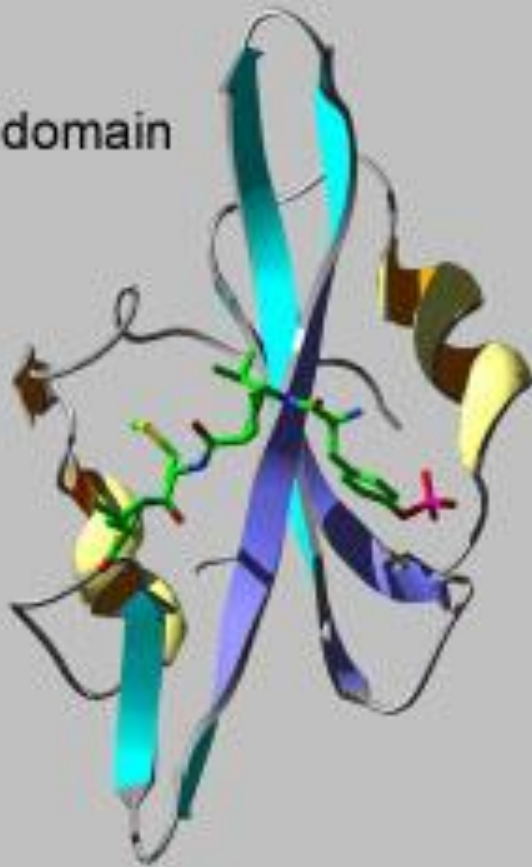


Shc

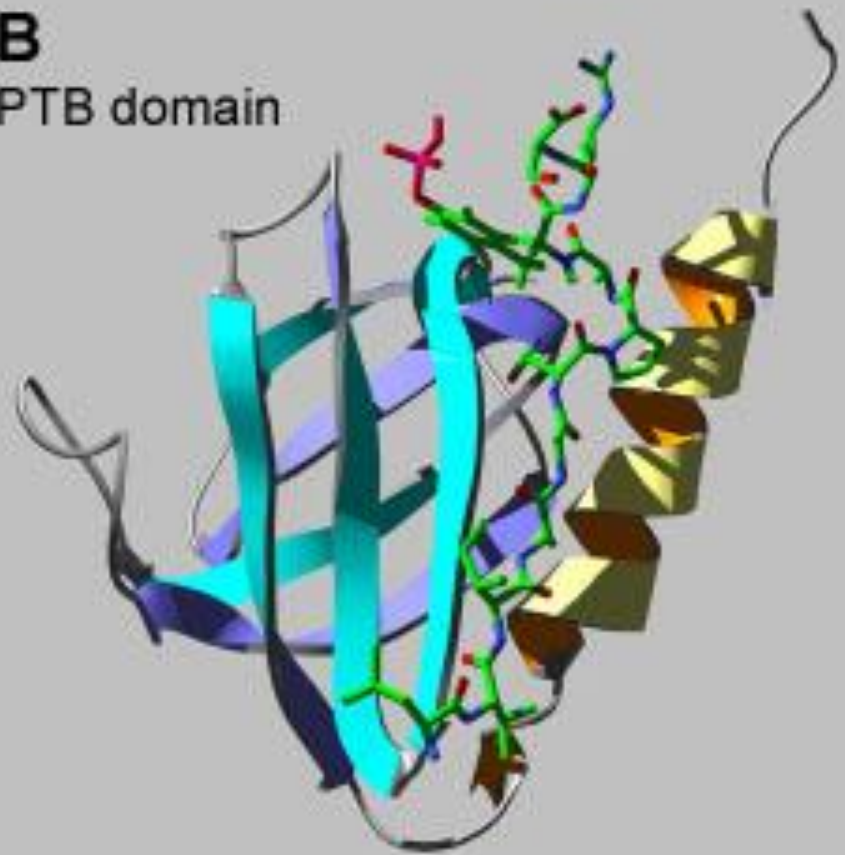


Μια δομή β-βαρελιού και μια α-έλικα

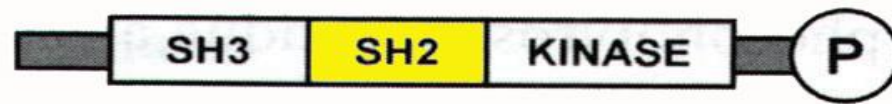
A
SH2 domain



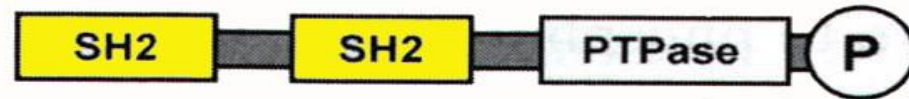
B
PTB domain



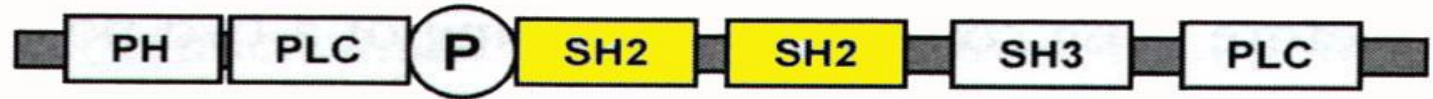
Src/Lck



Syp



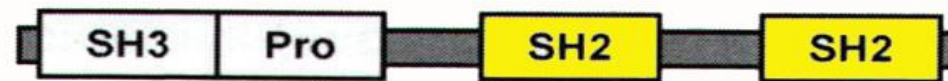
PL-C γ



p120 - GAP



p85 PI3-K



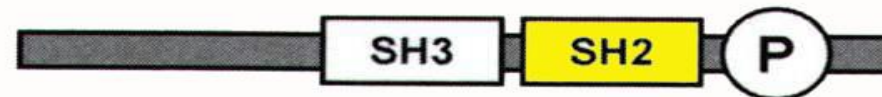
Grb2



Shc



Stat

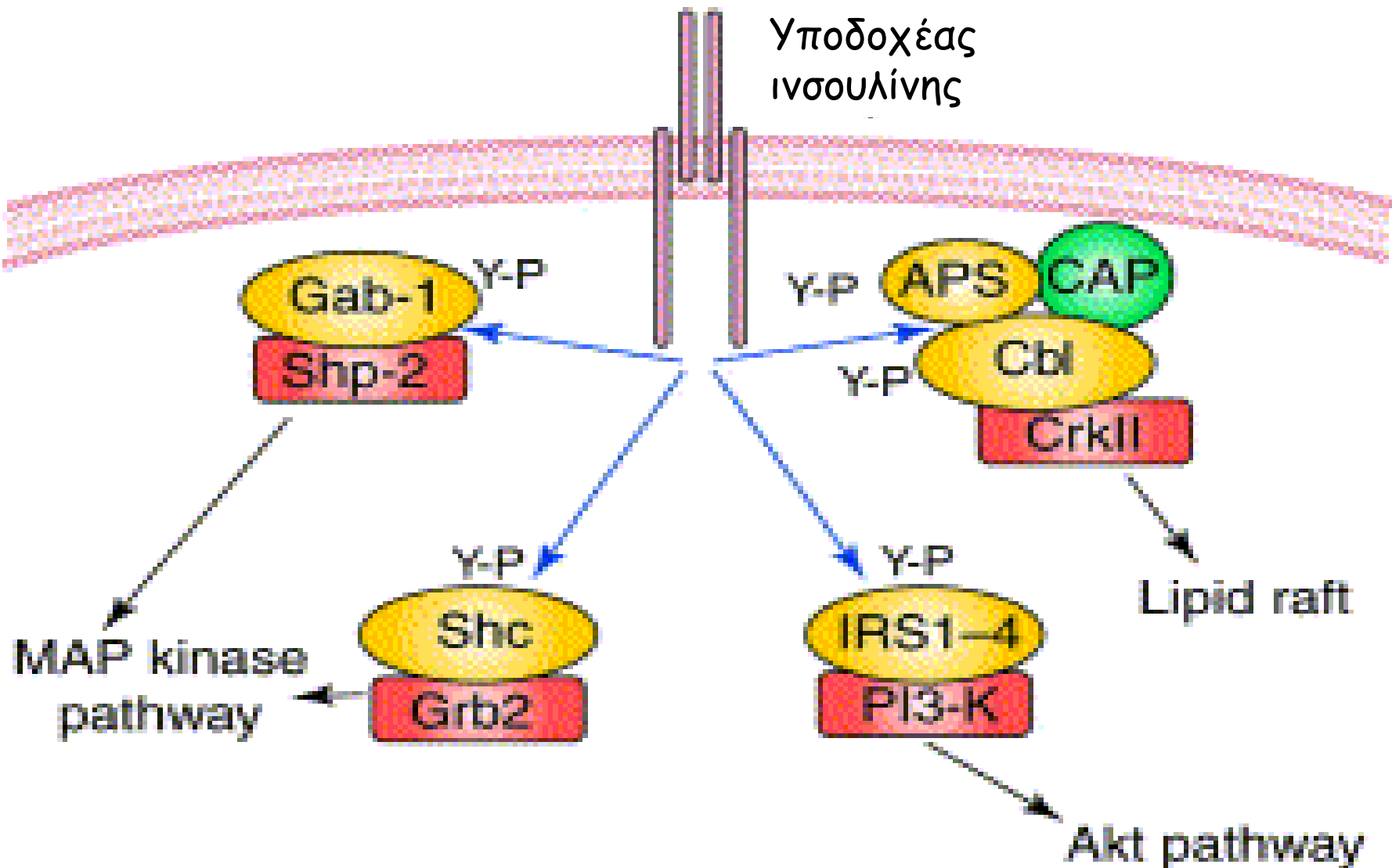


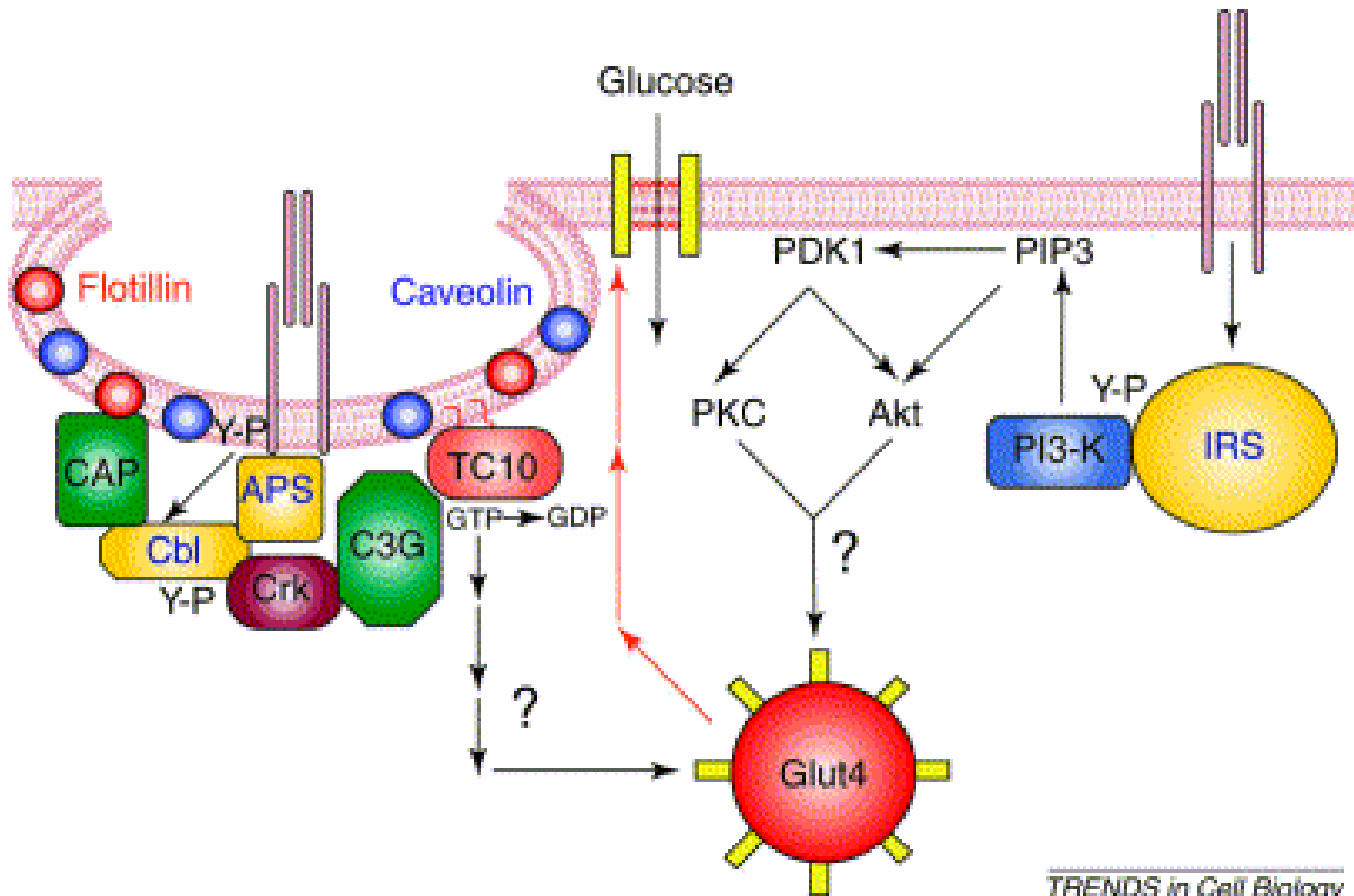
β ARK

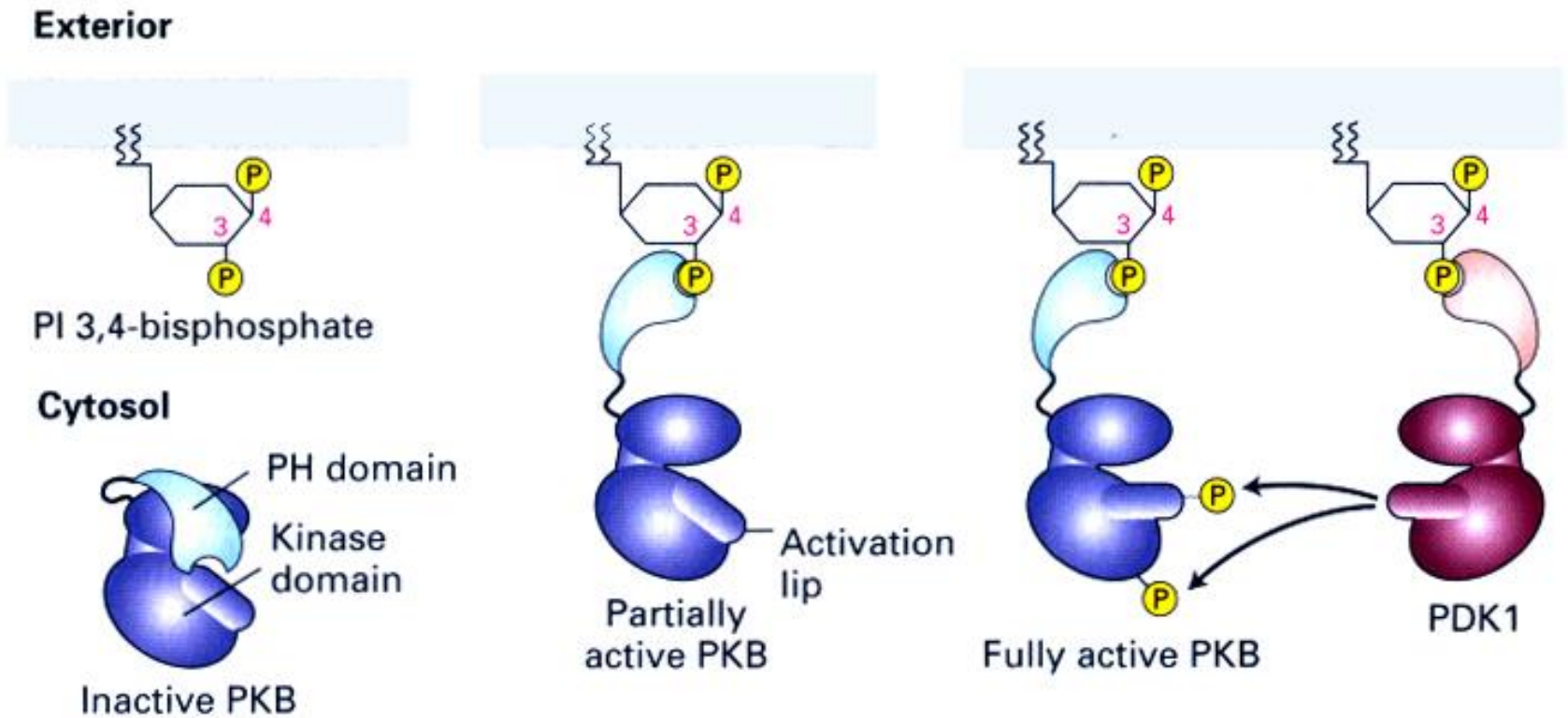


IRS - 1







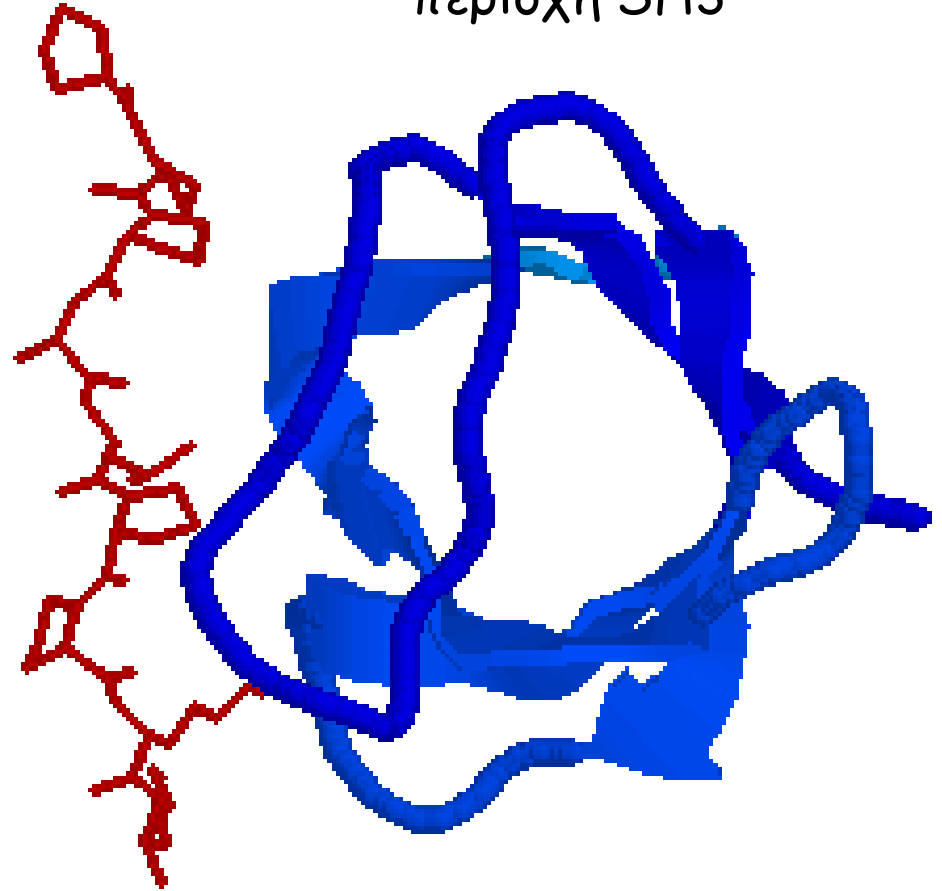
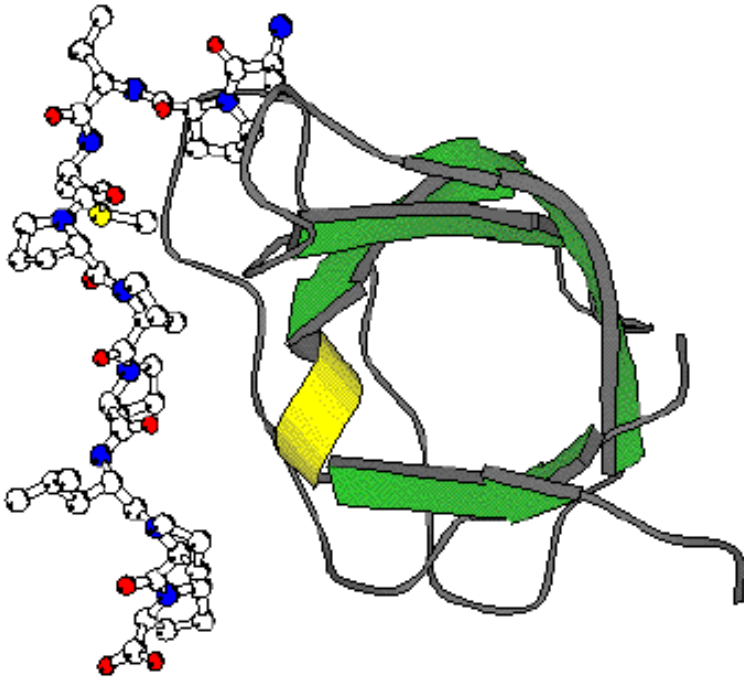


Η Akt δεν ενεργοποιείται από τη σύνδεση στα λιπίδια-στόχους της. Για την ενεργοποίησή της απαιτείται η φωσφορυλίωση της Thr308, που βρίσκεται στην θηλιά ενεργοποίησης. Η κινάση που φωσφορυλιώνει την Akt σε αυτήν τη θέση είναι η ιδιοσύστατα ενεργή PDK1 (phosphoinositide-dependent protein kinase), η οποία 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

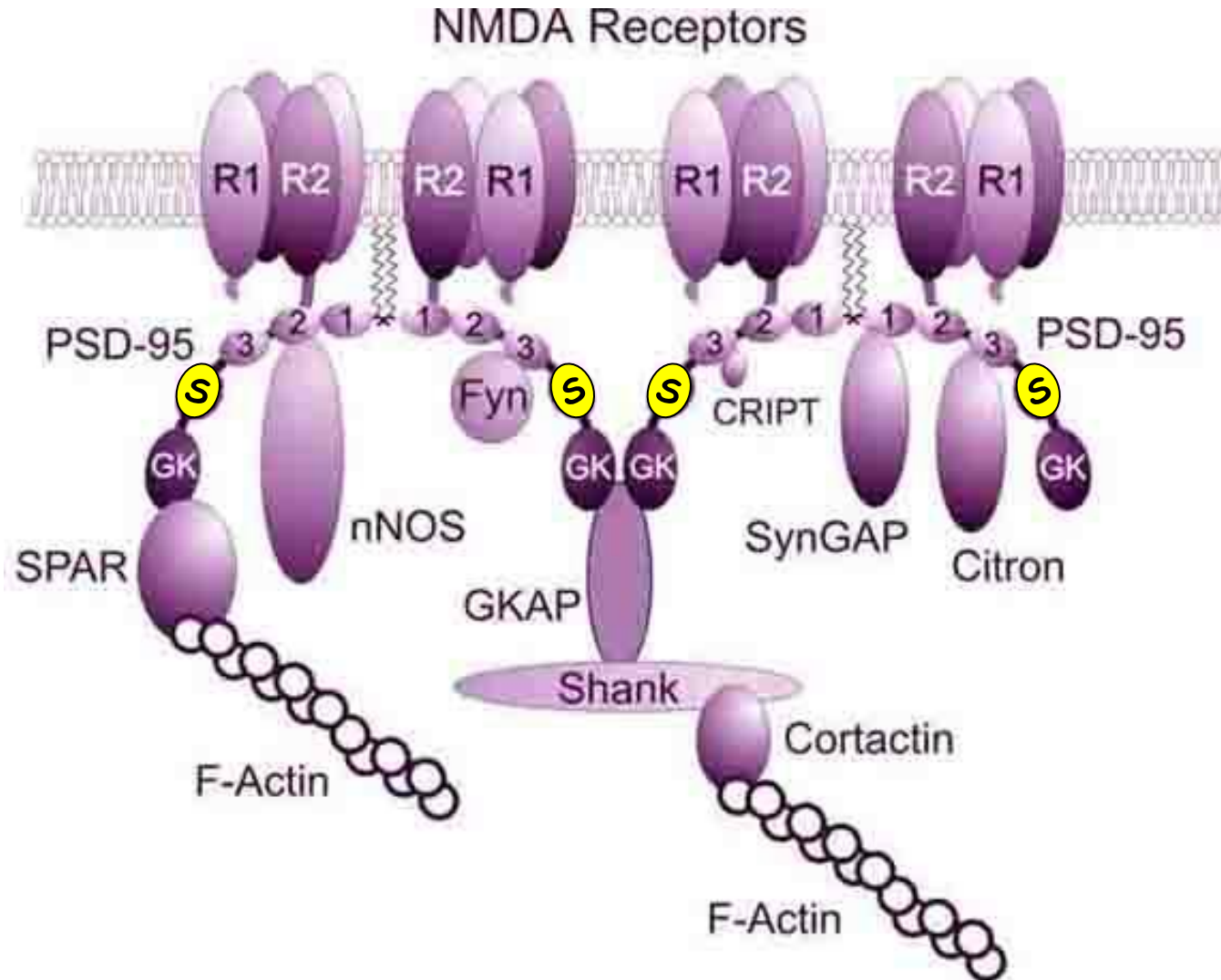
Η περιοχή SH3 αναγνωρίζει περιοχές πλούσιες σε Pro σε πρωτεΐνες-στόχους και συνδέεται μ' αυτές

περιοχή πλούσια σε Pro

περιοχή SH3

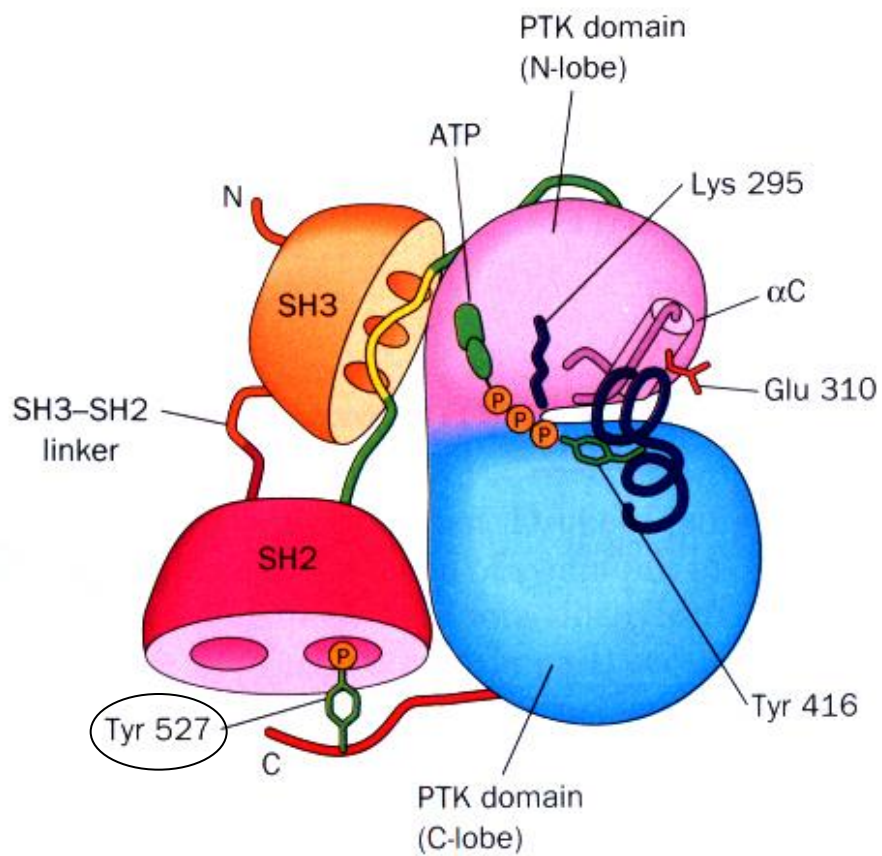


Μια θεμελιώδης λειτουργία των SH3 περιοχών είναι να σχηματίζουν λειτουργικά ολιγομερή σύμπλοκα σε συγκεκριμένες υποκυτταρικές θέσεις

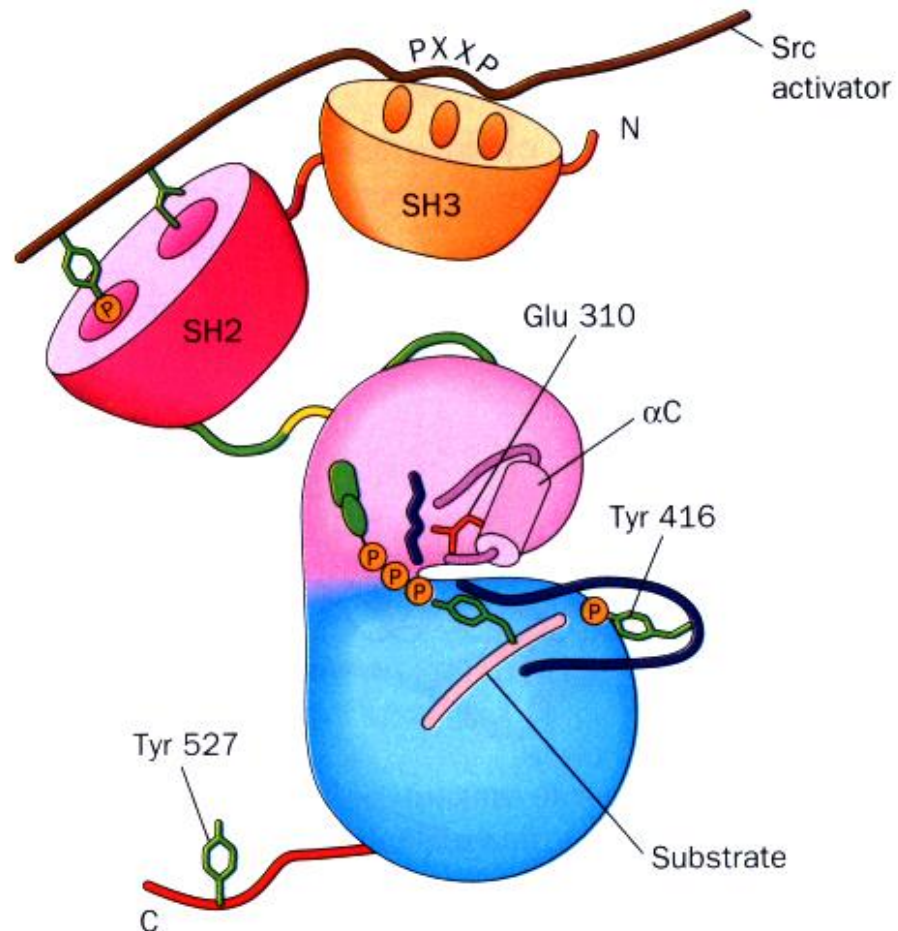


Ρύθμιση της ενζυμικής δράσης μέσω της SH3 αλληλεπίδρασης

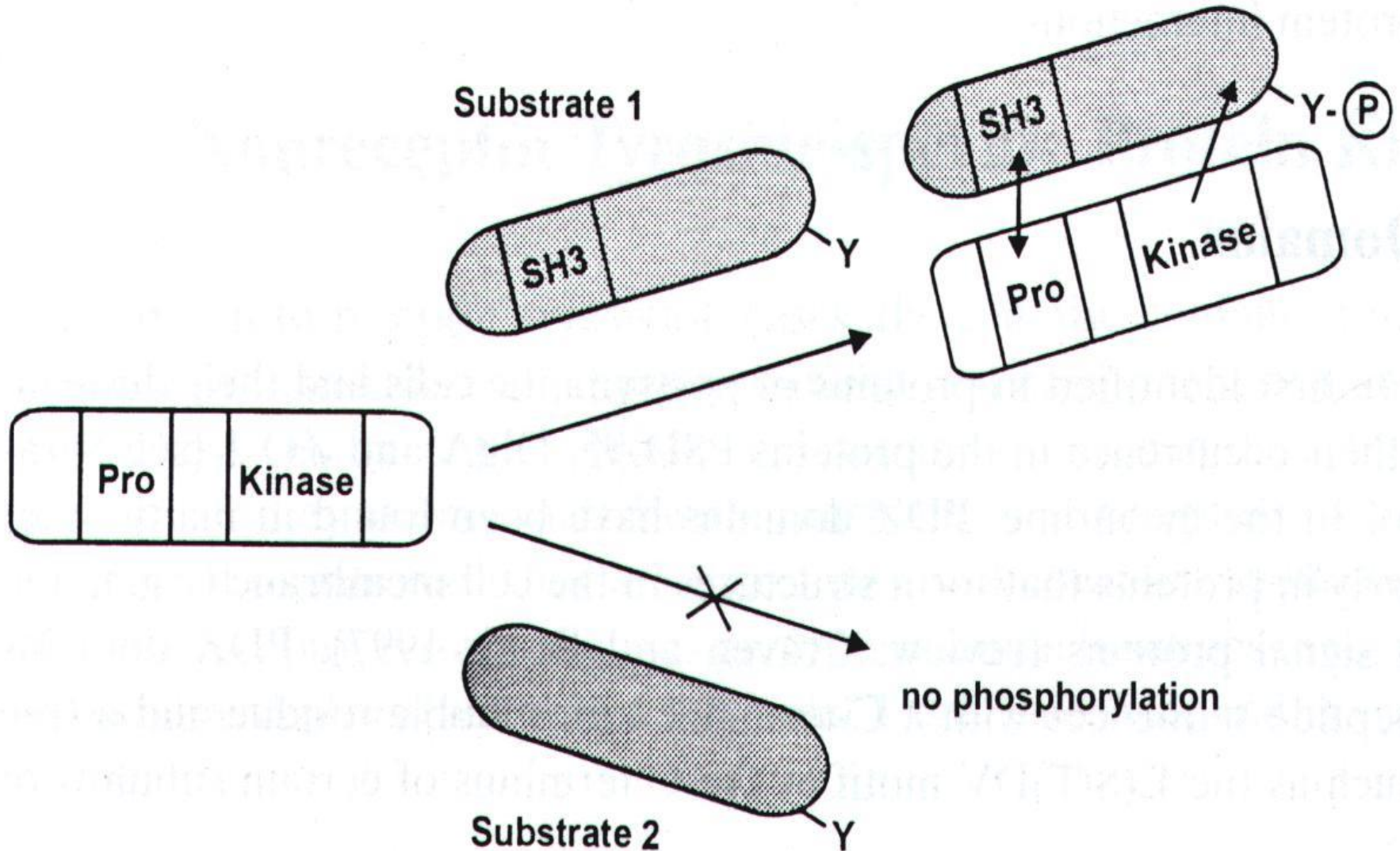
Autoinhibited Form

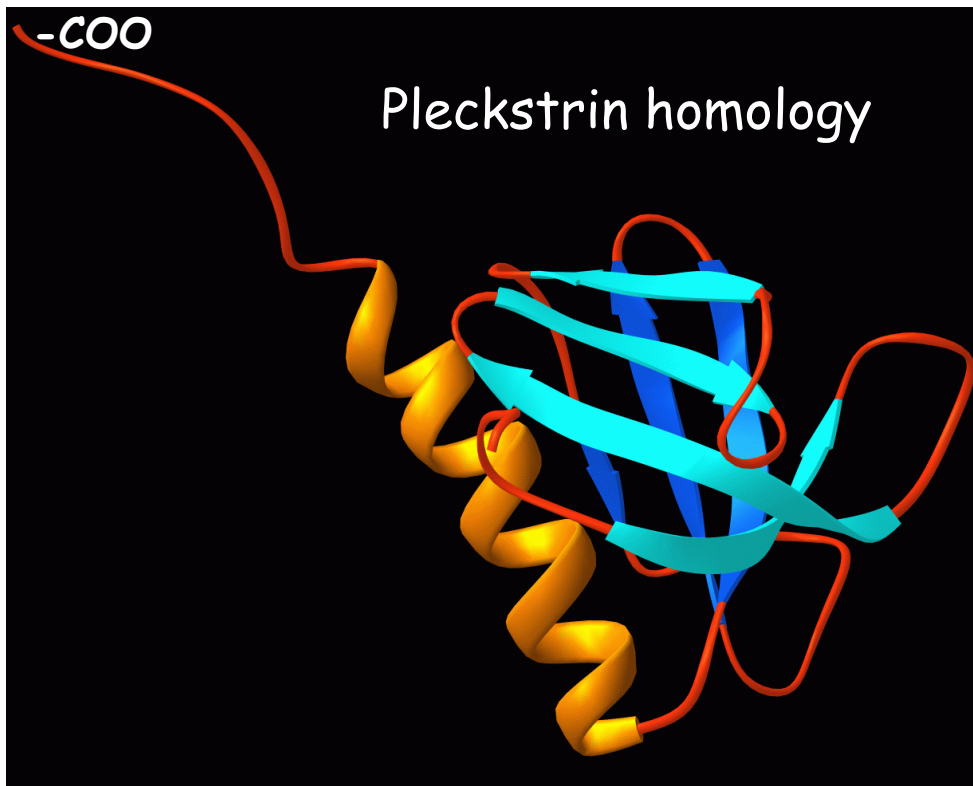


Active Form



Οι κινάσες τυροσίνης έχουν ενδογενώς χαμηλή εξειδίκευση υποστρώματος. Ένας τρόπος αύξησης της εξειδίκευσης και της επιλεκτικότητας της φωσφορυλίωσης των τυροσινών είναι η χρήση των SH3 περιοχών για τη σύνδεση των υποστρωμάτων στις κινάσες τυροσίνης.

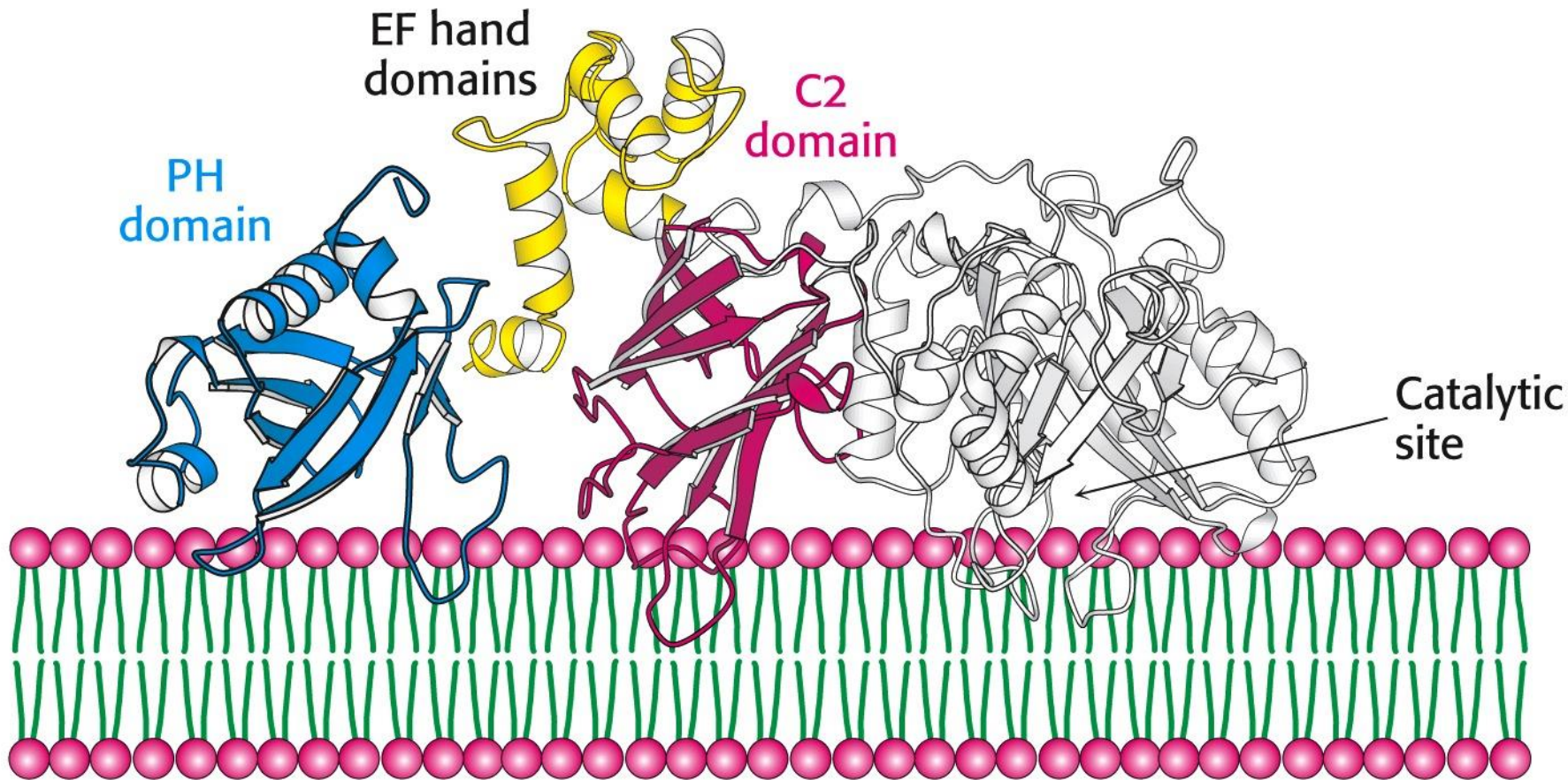
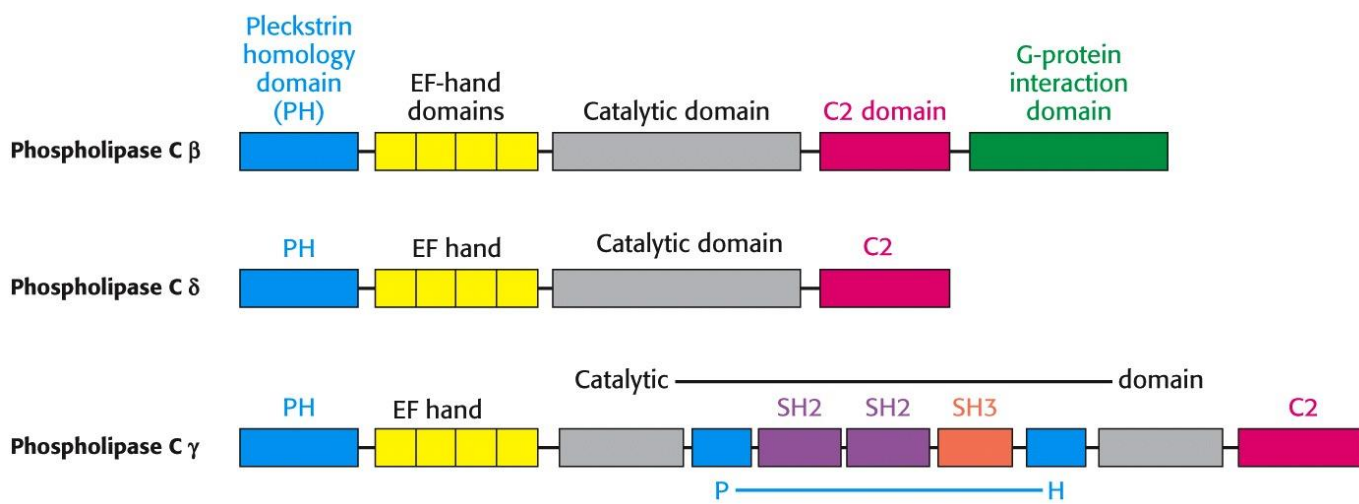




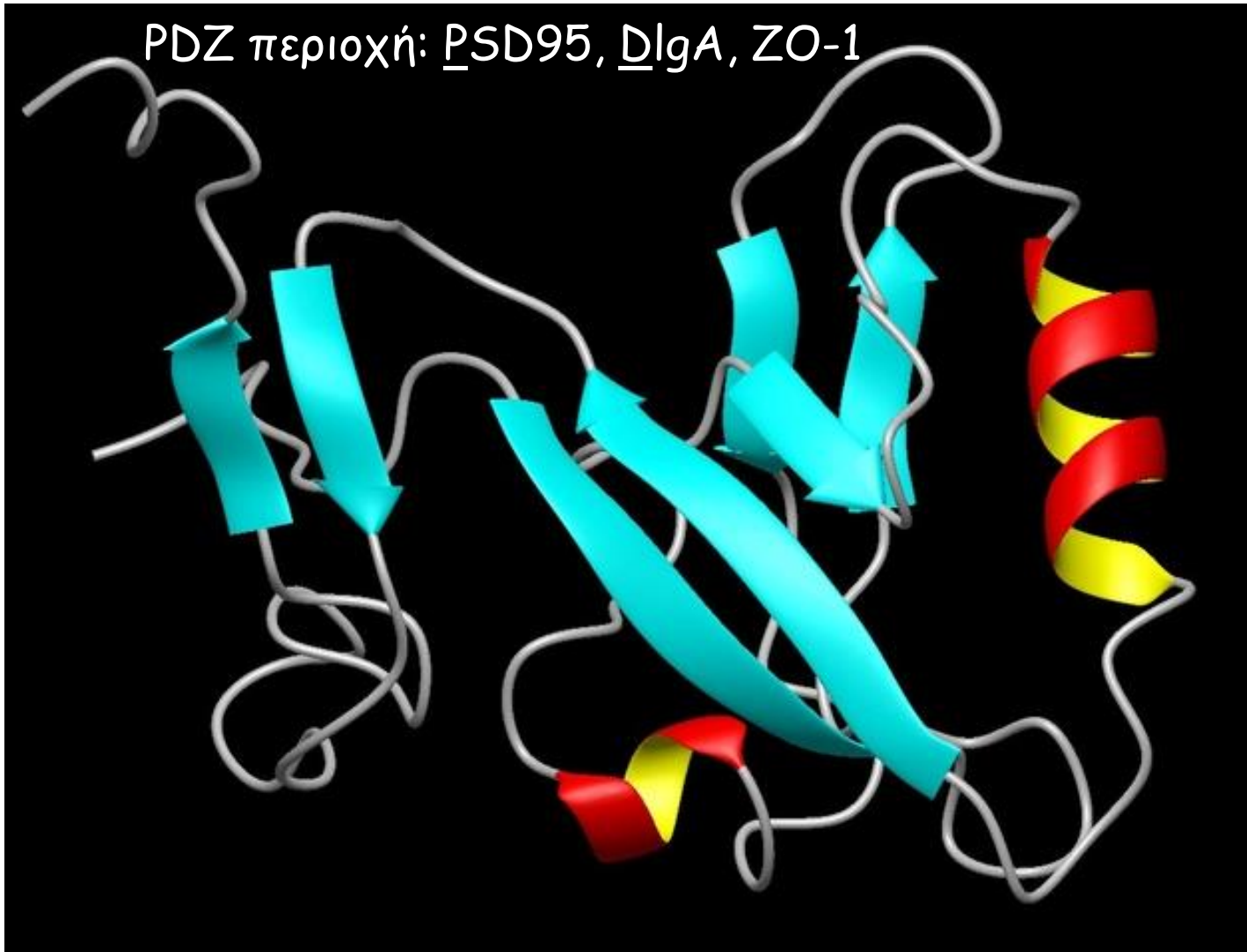
Είναι ένα δομικό μοτίβο 100 αα, το οποίο δεσμεύεται σε φωσφολιπίδια της ινοσιτόλης μεσολαβώντας στη σύνδεση των πρωτεϊνών στην πλασματική μεμβράνη.

Αρχικά αναγνωρίστηκαν σαν εσωτερικές επαναλήψεις στην πλεξτρίνη, το κύριο υπόστρωμα της PKC στα αιμοπετάλια.

Μια δομή β-βαρελιού με 7 αντιπαράλληλες β-αλυσίδες και μια -COO περιοχή α-έλικας

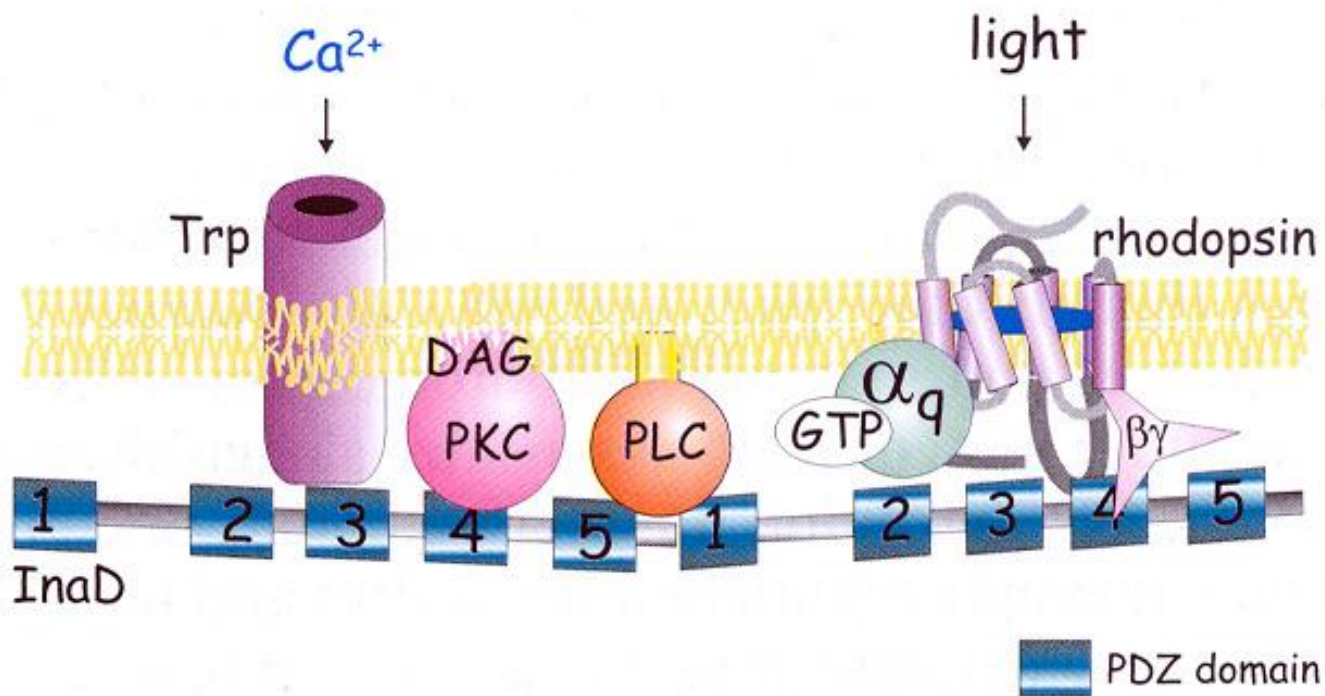


PDZ περιοχή: PSD95, DIgA, ZO-1

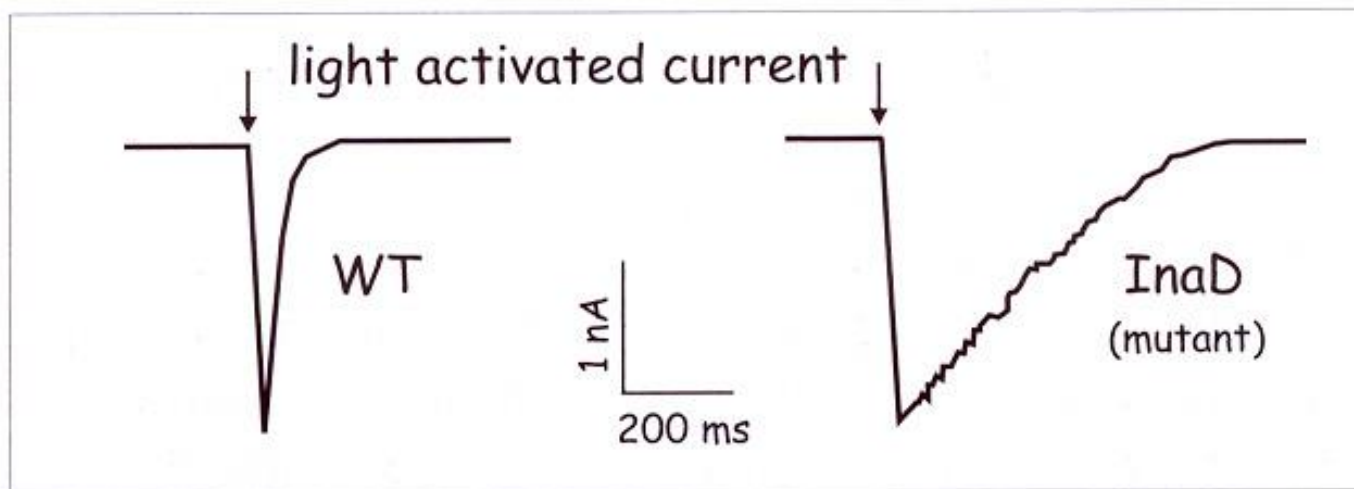


Οι PDZ πρωτεΐνες μπορούν να εξασφαλίσουν ένα πλαίσιο για συμπλέγματα πρωτεϊνών, όπως κανάλια ιόντων, της πλασματικής μεμβράνης και μπορούν να βοηθήσουν στη στρατολόγηση πρωτεϊνών προς μακρομοριακά σύμπλοκα συνδεδεμένα με την πλασματική μεμβράνη.

(a)

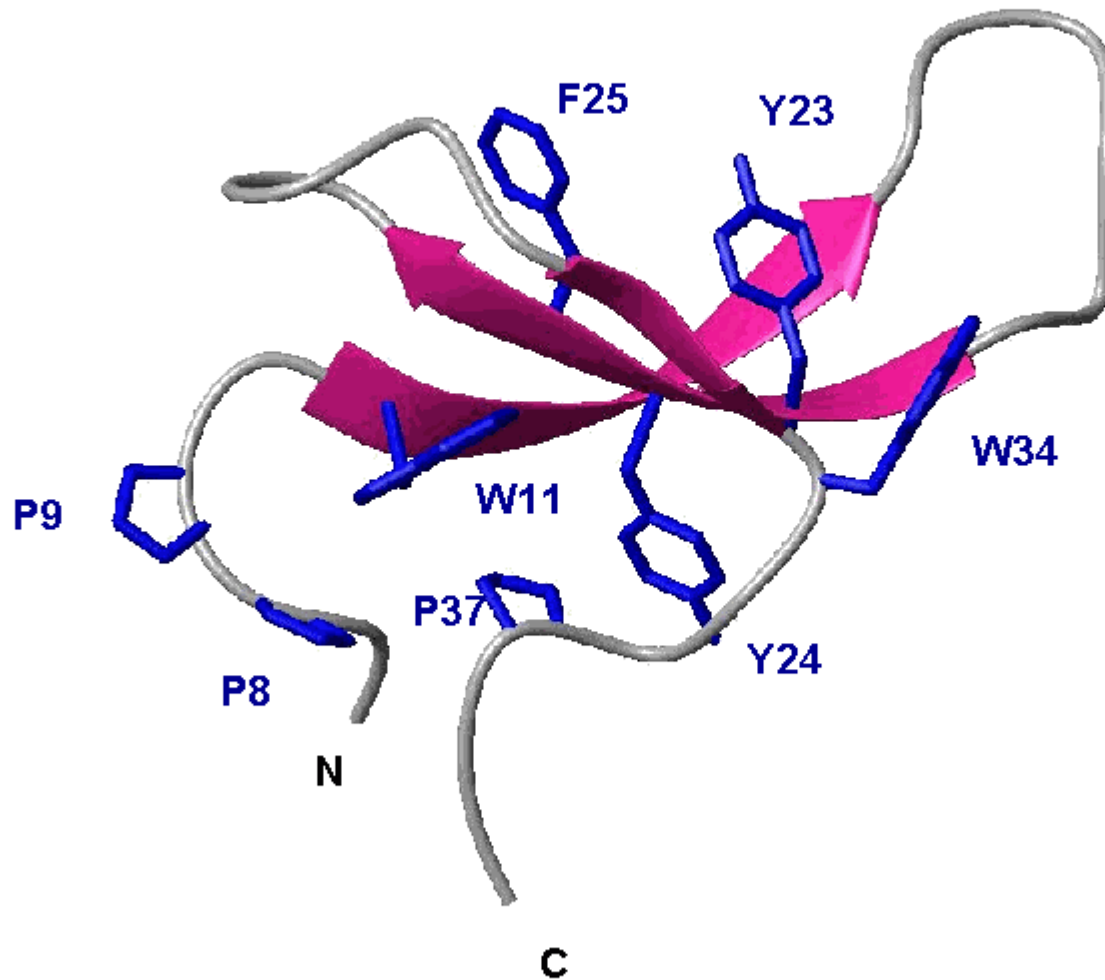


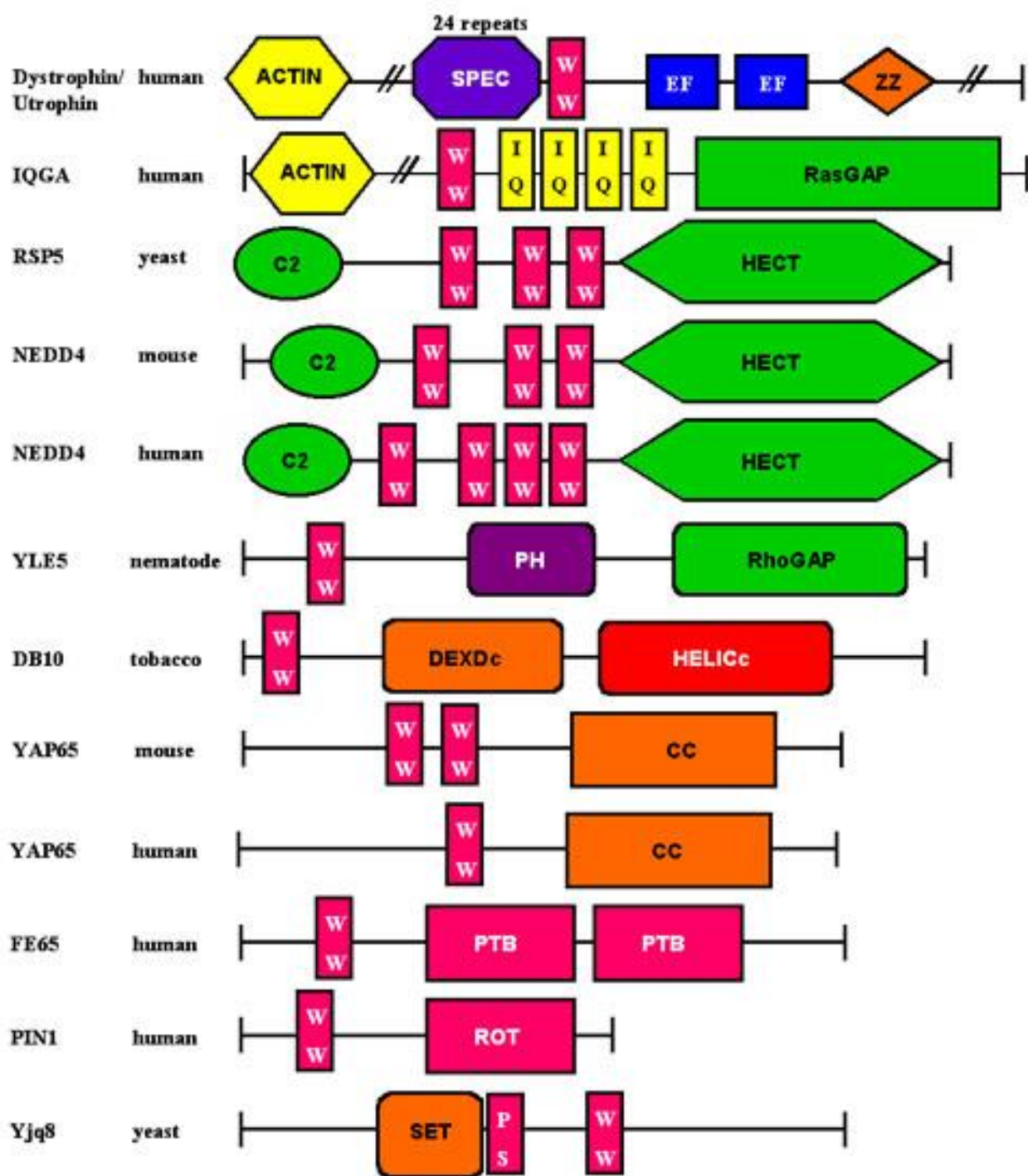
(b)



WW: είναι τμήματα 35-40 αμινοξέων τα οποία κυρίως συνδέονται σε αλληλουχίες πλούσιες σε Pro

Pin1 WW domain





Μικρές μονομερείς GTPάσες



Small GTPases

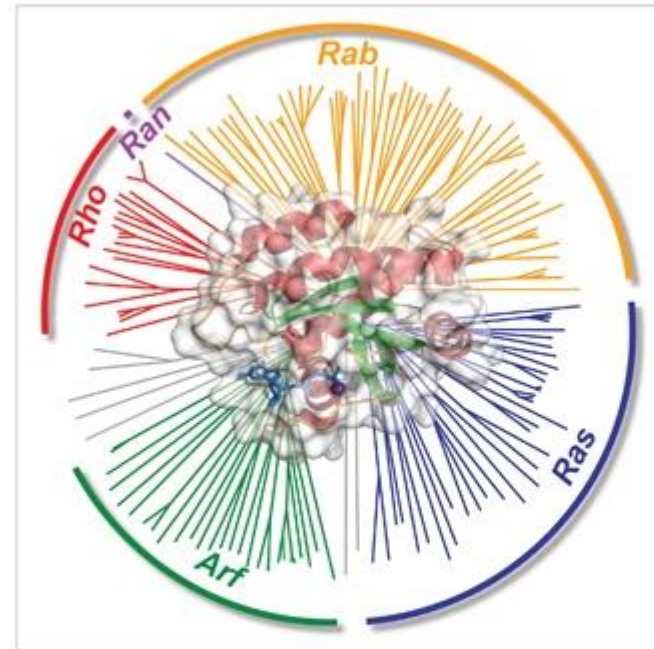
Volume 1 • Issue 1 • July 2010

Editor-in-Chief

Michael J. Williams
University of Aberdeen

Associate Editor

Klemens Rottner
Helmholtz Center for Infection Research



Bengt Hallberg
Umeå University

Udo Hacker
Leuven University

Johanna Ivaska
*VTT Medical Biotechnology
University of Turku*

Ingo Just
Heinrich Heine University

Rick A. Kahn
Emory University

Kozo Kaibuchi
Nagoya University

Erik Lundquist
University of Kansas

Paul Martin
University of Bristol

Iain Mattaj
EMBL

Harry Mellor
University of Bristol

Helen Mott
University of Cambridge

Arno Möller
University of Dundee

Catherine Nobes
University of Bristol

Mark Phillips
New York University

Lawrence Quilliam
Indiana University

Michael Rogers
University of Aberdeen

Craig R. Roy
Yale University

Michael Way
*Cancer Research UK
London Research Institute*

Alfred Wittinghofer
*Max-Planck-Institut für Molekulare
Physiologie*

Shaul Yalovsky
Tel Aviv University

Zhenbiao Yang
University of California, Riverside

Editorial Board

Pontus Aspenström
Karolinska Institute

Dafna Bar-Sagi
New York University

Johannes Bos
University Medical Center Utrecht

Vania Braga
Imperial College London

Cord Brakebusch
University of Copenhagen

Philippe Chavrier
Institut Curie, CNRS

Jacqueline Cherfils
IGERS, CNRS

John Collard
Netherlands Cancer Institute

Adrienne Cox
University of North Carolina

Anne Debant
CRBM, CNRS

Channing Der
University of North Carolina

Pier Paolo Di Fiore
Institute for Molecular Oncology

Cristlyn D'Souza-Schorey
University of New Dehli

Sandrine Ettienne-Manneville
Institut Curie, CNRS

Richard Firtel
University of California, San Diego

Michael Glotzer
University of Chicago

Andrew Goryachev
University of Edinburgh

Bruno Goud
Institut Curie, CNRS

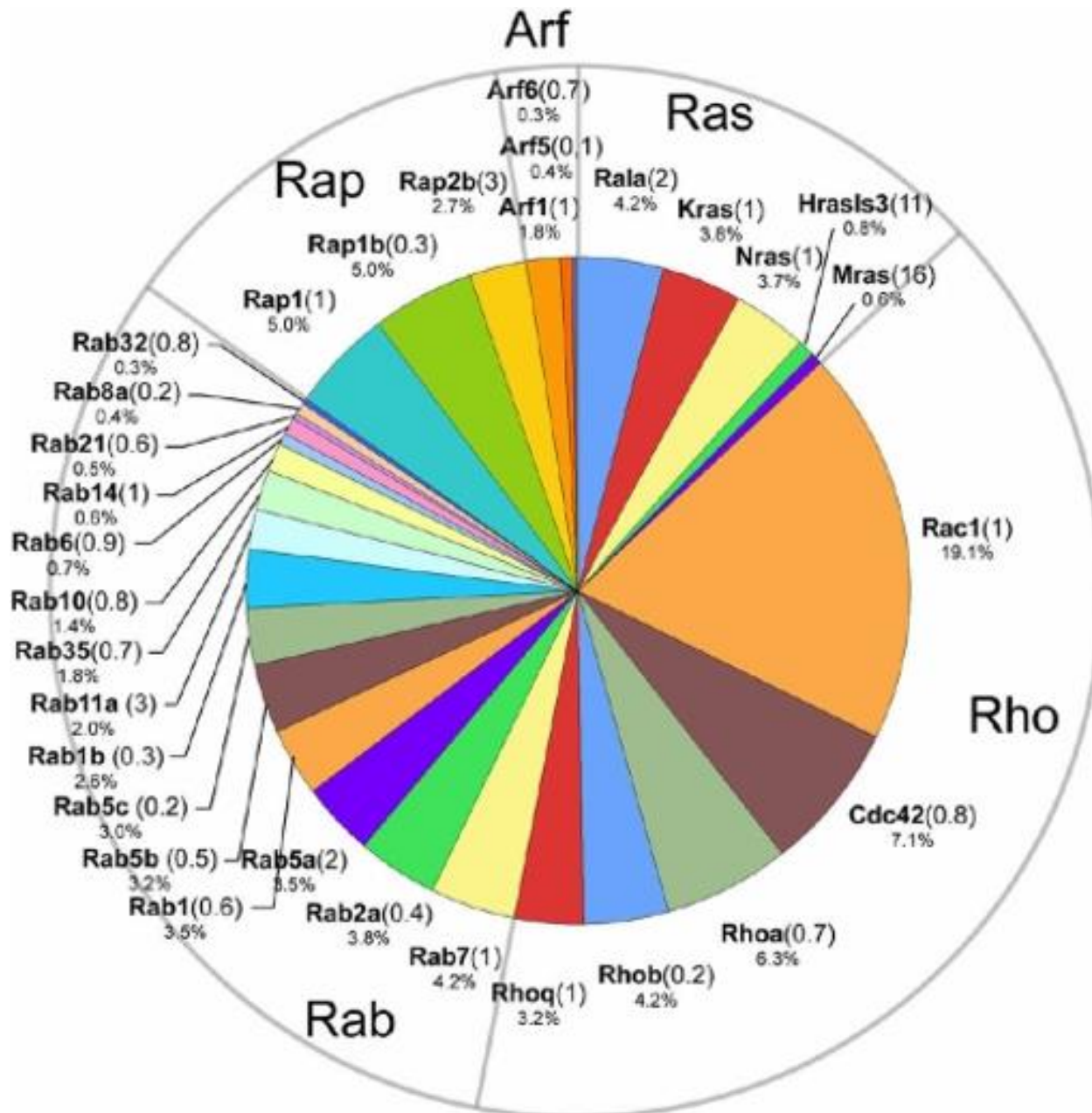


Ras family		GEF, gene or protein name	GAP, gene or protein name
Ras: Αύξηση και πολλαπλασιασμός	H-Ras	Ras-GEF, mSos	Ras-GAP; neurofibromin, p120-GAP
	N-Ras		
	Ki-Ras A		
	Ki-Ras B		
	Rap subfamily: Rap1A, 1B, 2A, 2B,		Rap1-GAP
	RalB TC21 (= k-Rev1) R-Ras	Ral-GEF	
Rho/Rac/Cdc42: Αναδιοργάνωση του κυτταροσκελετού	Rho A, B, C	Dbl	Bcr, reports of at least 8 others, (Lamarche, 1994)
	Rac1, Rac2		
Rab: Ενδοκυτταρική μεταφορά κυστιδίων	at least 24 different Rab proteins	MSS4	
Ran: Πυρηνο-κυτταροπλασματική μεταφορά	Ran,TC4	RCC1	

Ras superfamily

Ras	Rab	Rho	Arf	Rad	Ran	Rheb	Rit	κ B-Ras
H-Ras	Rab1A	RhoA	Arf1	Rad	Ran	Rheb	Rit	κ B-Ras1
K-Ras	Rab1B	RhoB	Arf2	Gem			Rin	κ B-Ras2
N-Ras	Rab2	RhoC	Arf3	Kir			Ric	
R-Ras	Rab3A	RhoD	Arf4	Rem1				
TC21	Rab3B	RhoE	Arf5	Rem2				
M-Ras	Rab4	RhoG	Arf6					
Rap1A	Rab5A	Rnd1	Arf7					
Rap1B	Rab5B	Rnd2						
Rap2A	Rab6	Rac1						
Rap2B	Rab7	Rac2						
RalA	Rab8	Rac3						
RalB	Rab9	Cdc42						
	Rab10	TC10						
	Etc.	TCL						
		TTF						
		Chp						

Figure 5



- 1964 Ανακάλυψη ρετροϊών του σαρκώματος των τρωκτικών Harvey-MSV και Kirsten-MSV
- 1973 Οι ιοί Ha-MSV (murine sarcoma virus) και Ki-MSV περιέχουν αλληλουχίες DNA τρωκτικών
- 1979 Ο ιός Ha-MSV κλωνοποιήθηκε Η p21 v-Ras βρέθηκε να συνδέει το GTP
- 1981 Ο ιός Ki-MSV κλωνοποιήθηκε
- 1982 Σε ανθρώπινους όγκους βρέθηκαν ογκογονίδια ανάλογα των ογκογονιδίων *v-ras*. Κλωνοποιήθηκε το ανθρώπινο ογκογονίδιο και βρέθηκε ότι η πρωτεΐνη H-Ras είναι υπερενεργή εξαιτίας μιας σημειακής μετάλλαξης (Gly12)
- 1983 Αναγνωρίστηκε σε ανθρώπινο όγκο νευροβλαστώματος η N-Ras. Η p21 Ras βρέθηκε ότι είναι GTPάση
- 1984 Η Ras βρέθηκε ότι ενεργοποιείται από μιτογόνους παράγοντες
- 1987 Δημιουργήθηκε το 1^ο διαγονιδιακό Ras ποντίκι. Αναγνωρίστηκε η Ras-GAP.
- 1988 Κρυσταλλική δομή της Ras
- 1989 Οι πρωτεΐνες Ras βρέθηκε ότι είναι φαρνεσυλιωμένες
- 1990 Αναγνωρίστηκε ο Ras-GEF
- 1993 Οι Ras αλληλεπιδρούν με τις Raf κινάσες
- 1994 Οι Ras αλληλεπιδρούν με τις PI3 κινάσες
- 1995 Αναστολείς της φαρνεσυλοτρανσφοράς μπλοκάρει τη δημιουργία όγκων που προκαλούν οι Ras

1997

Η K-Ras είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη

2001

H-Ras, N-Ras: διπλό knockout ποντίκι είναι βιώσιμο

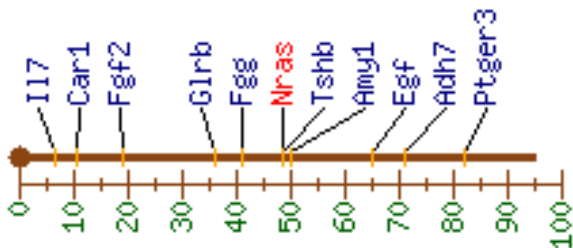
Οι Ras (Rat sarcoma) ανακαλύφθηκαν ως προϊόντα ογκογονιδίων



Werner H. Kirsten
(1925-1992)

Jennifer J. Harvey: An unidentified virus witch causes rapid production of tumor in mice, *Nature*, **1964**, 204, 1104-05

Werner Kirsten and L.A. Mayer: Morphologic responses to a murine erythroblastosis virus. *J Natl Cancer Inst.* **1967** Aug;39 (2): 311-35



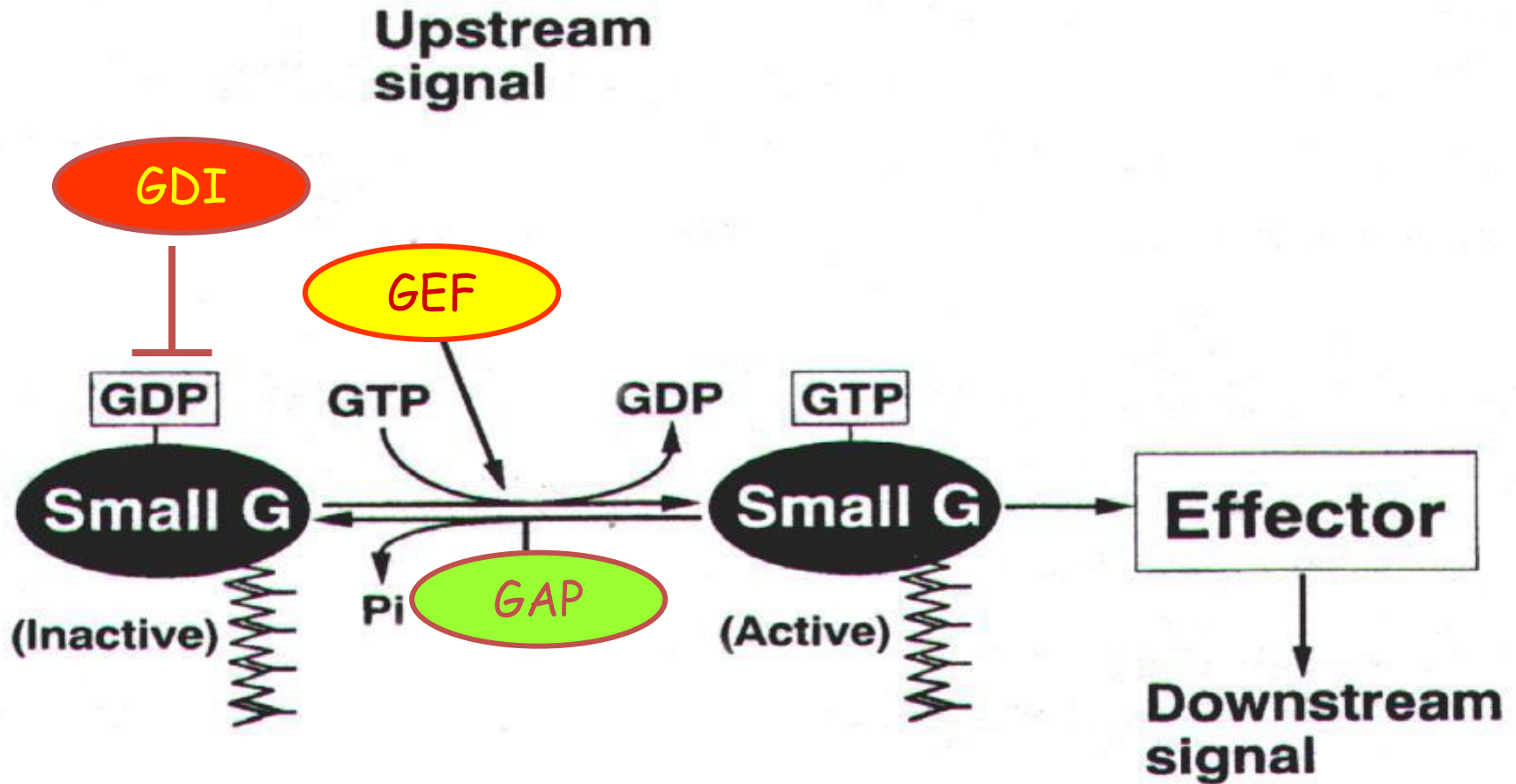
Shimizu K, Goldfarb M, Perucho M, Wigler M.: Isolation and preliminary characterization of the transforming gene of a human neuroblastoma cell line. *Proc Natl Acad Sci (U S A)* **1983** Jan;80 (2): 383-7

Δύο διαφορετικές διαμορφώσεις (ενεργοποίηση όταν ενωθούν με GTP)

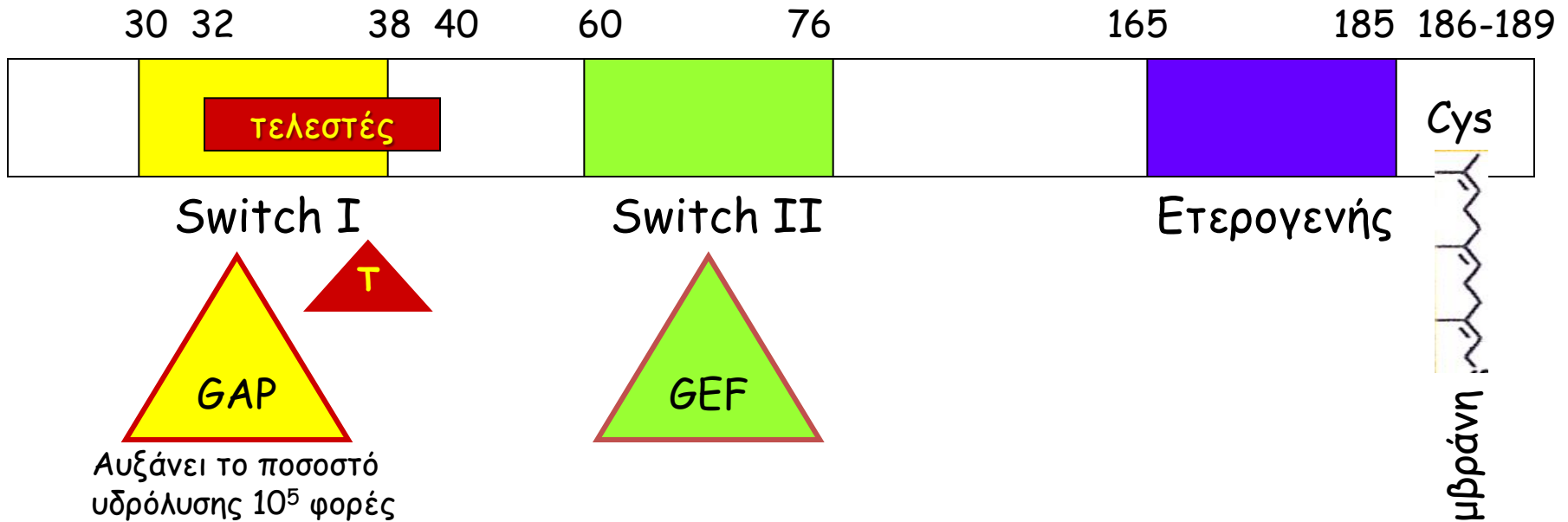
GEF: Διευκολύνει την ανταλλαγή GDP από GTP

GAP: Επιταχύνει την υδρόλυση του GTP

GDI: Αρνητικός ρυθμιστής, μπλοκάρει την απομάκρυνση του GDP



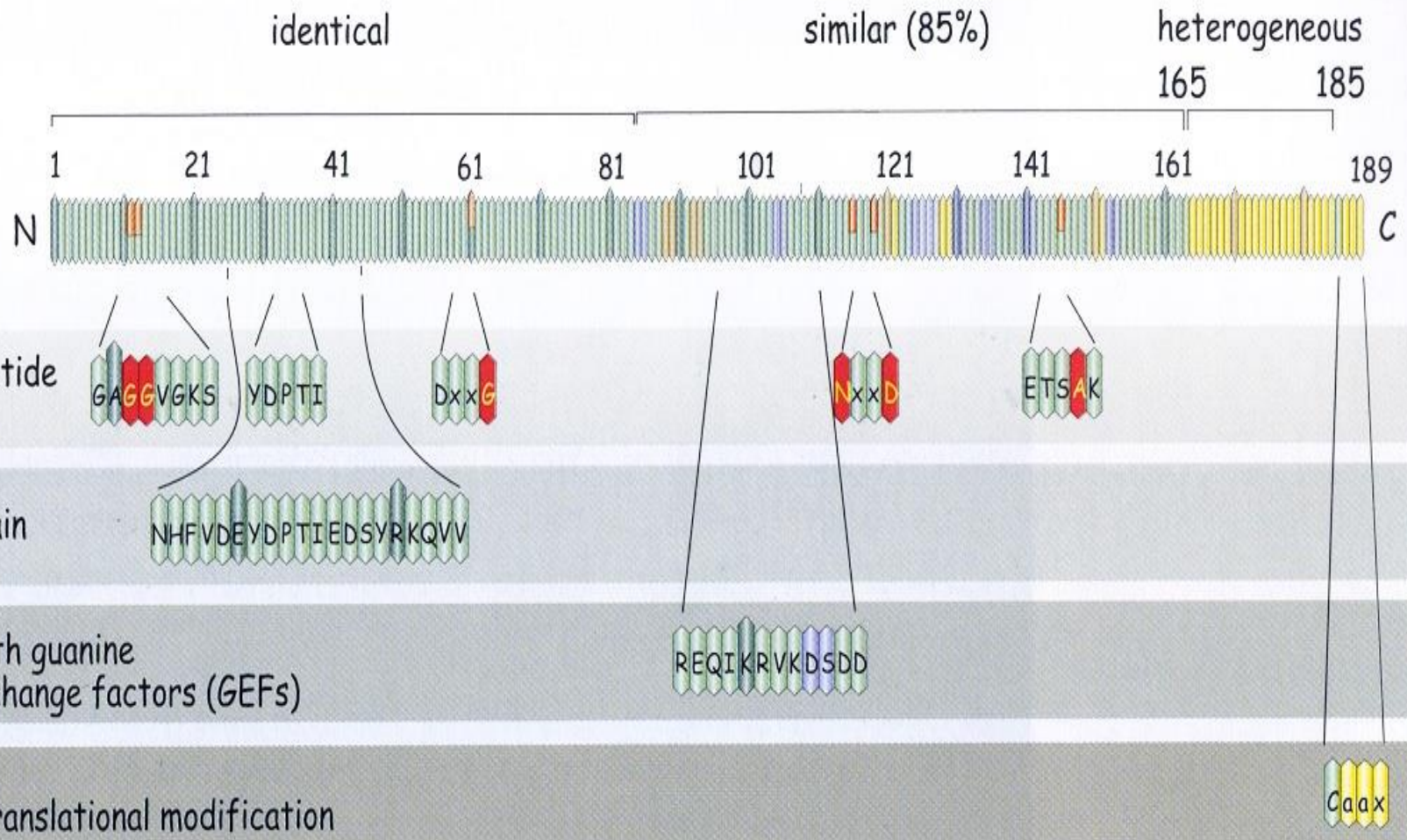
Η δομή των Ras: 189aa - 21kDa



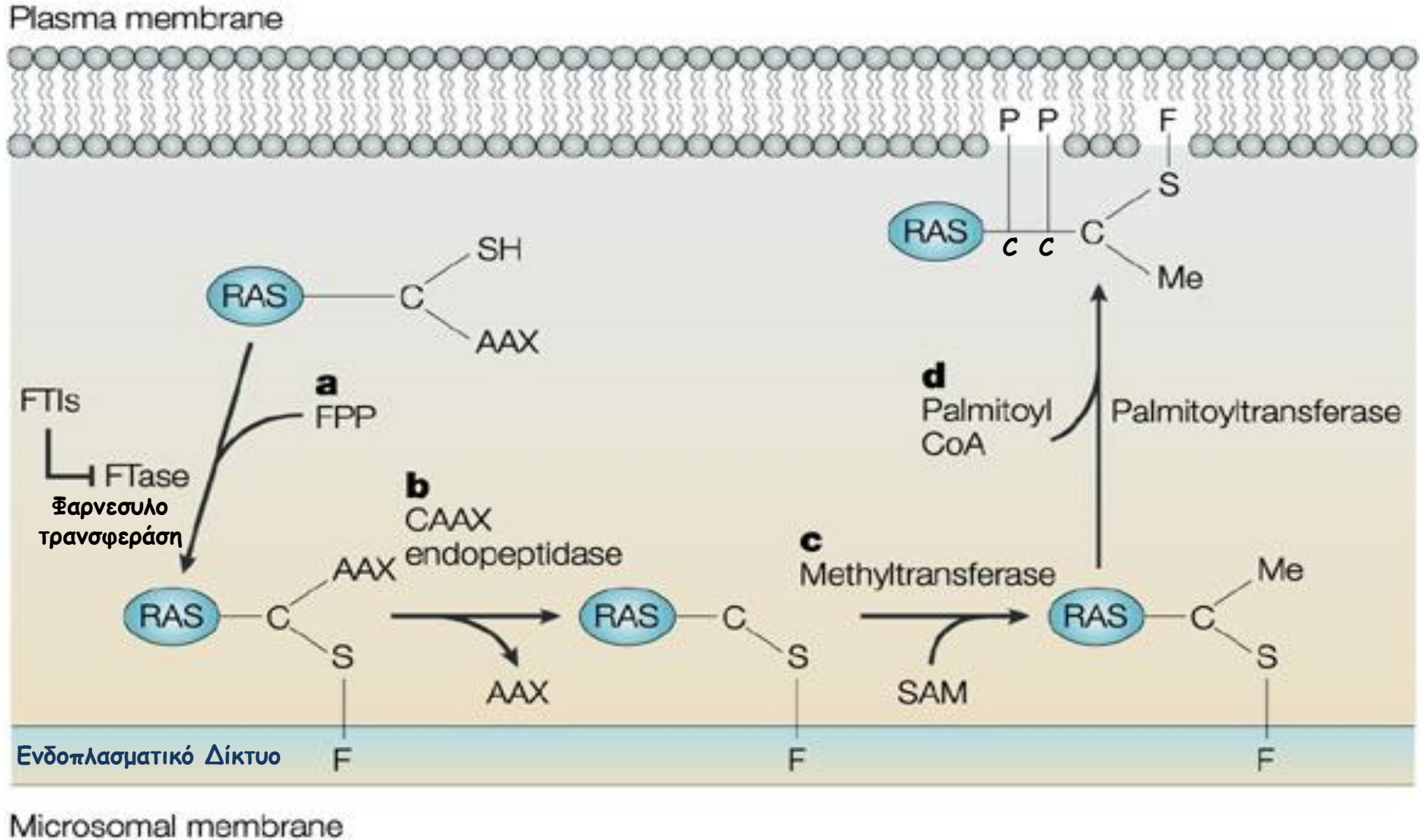
Αν την εξετάσουμε απομονωμένη, η πρωτεΐνη Ras είναι ένα πολύ ανεπαρκές ένζυμο. Αφ' ενός, ο ρυθμός υδρόλυσης GTP είναι πολύ χαμηλός και αφ' ετέρου, το σύμπλοκο της πρωτεΐνης Ras-GDP είναι πολύ σταθερό και διαχωρίζεται μόνο πολύ αργά. Οι σταθερές ταχύτητας και των δύο διαδικασιών είναι της τάξεως 10^{-4} sec^{-1} .

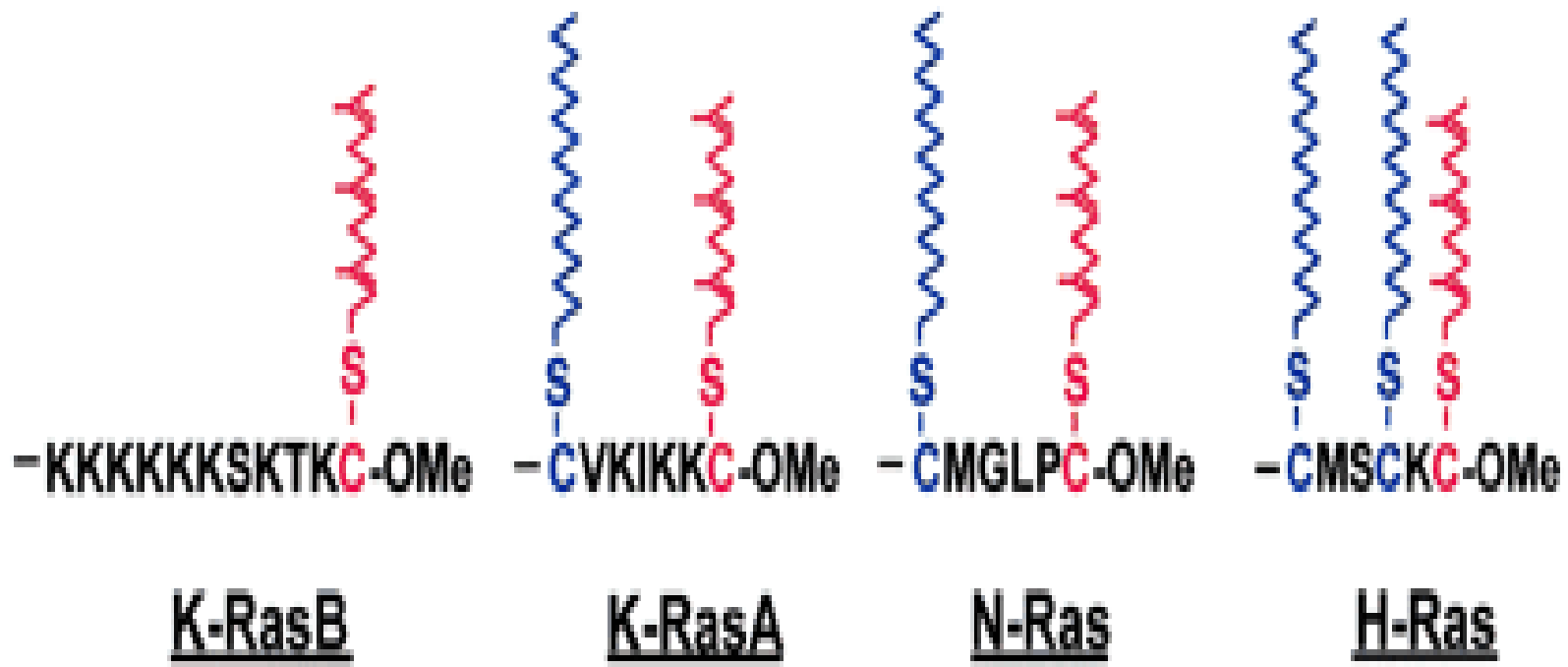
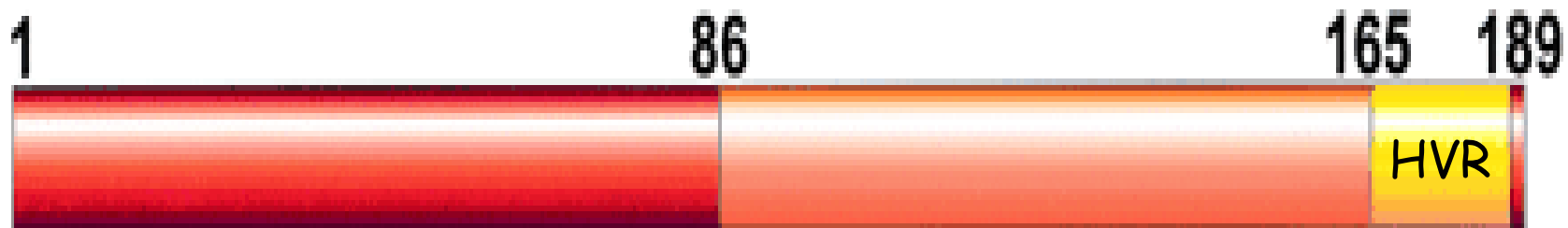
σύνδεση στη μεμβράνη

Κύρια χαρακτηριστικά της πρωτοταγούς αλληλουχίας των Ras

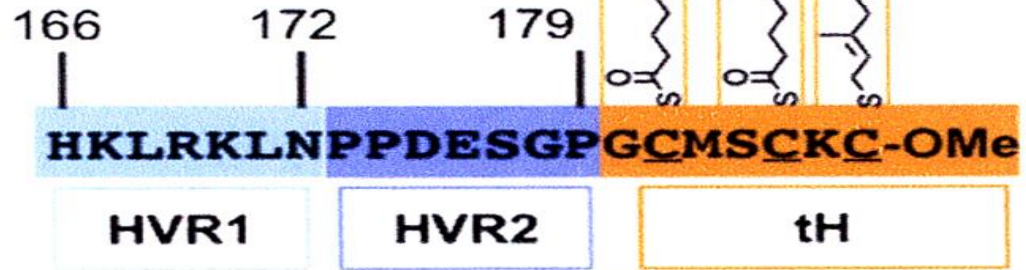


Τροποποίηση και σύνδεση της Ras στη μεμβράνη





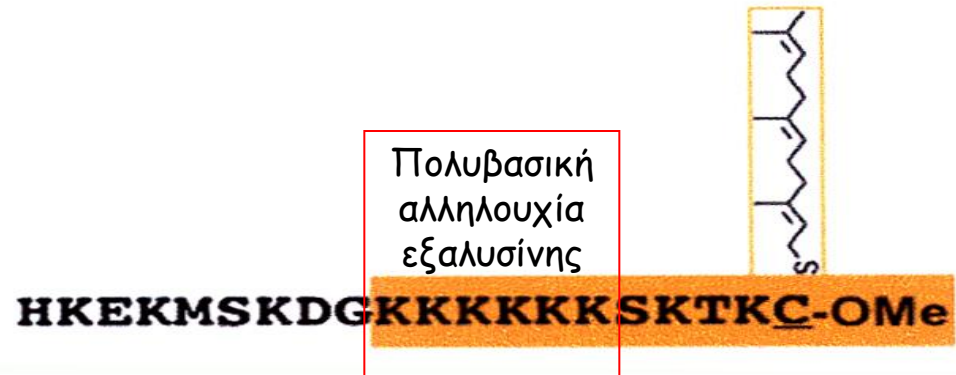
H-ras

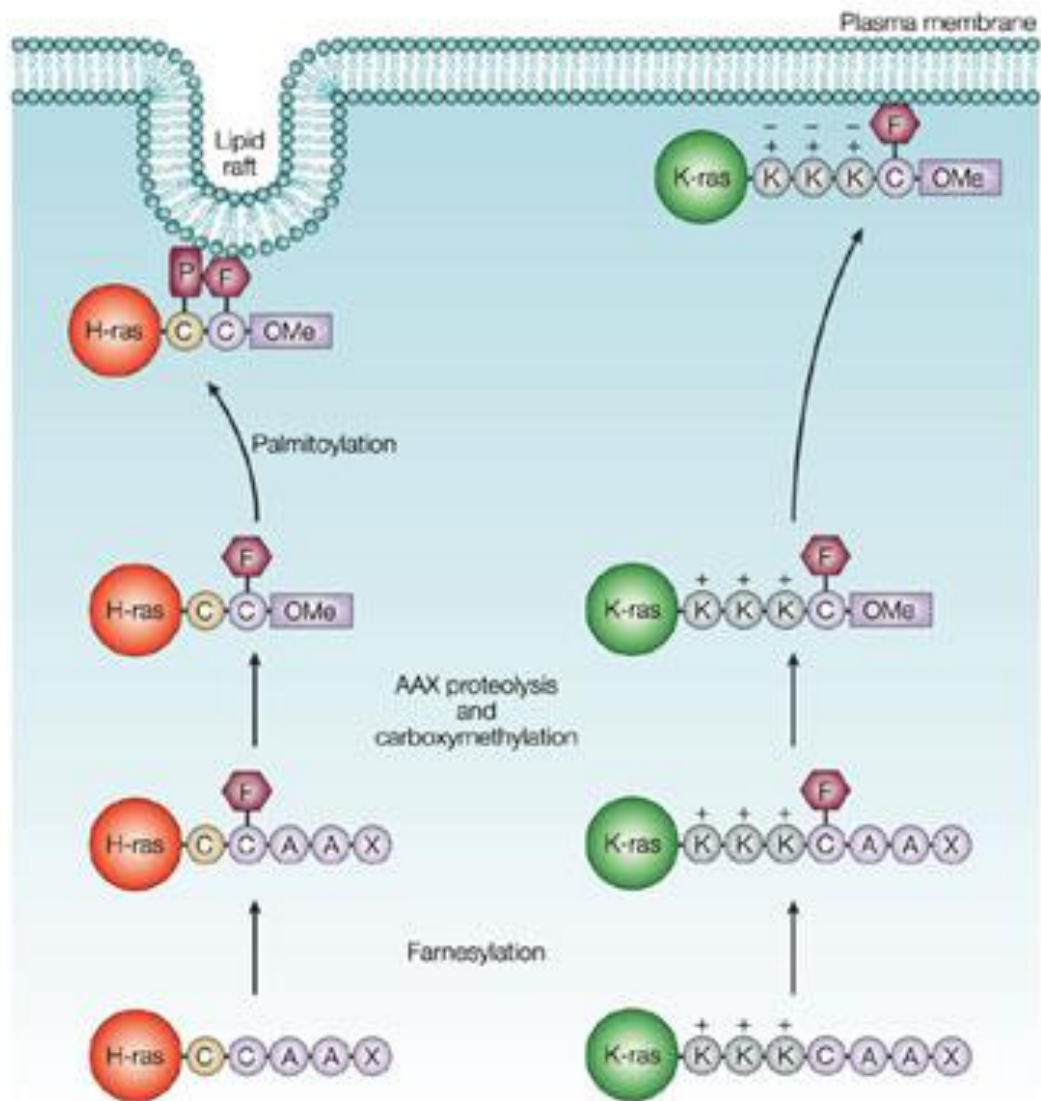


N-ras



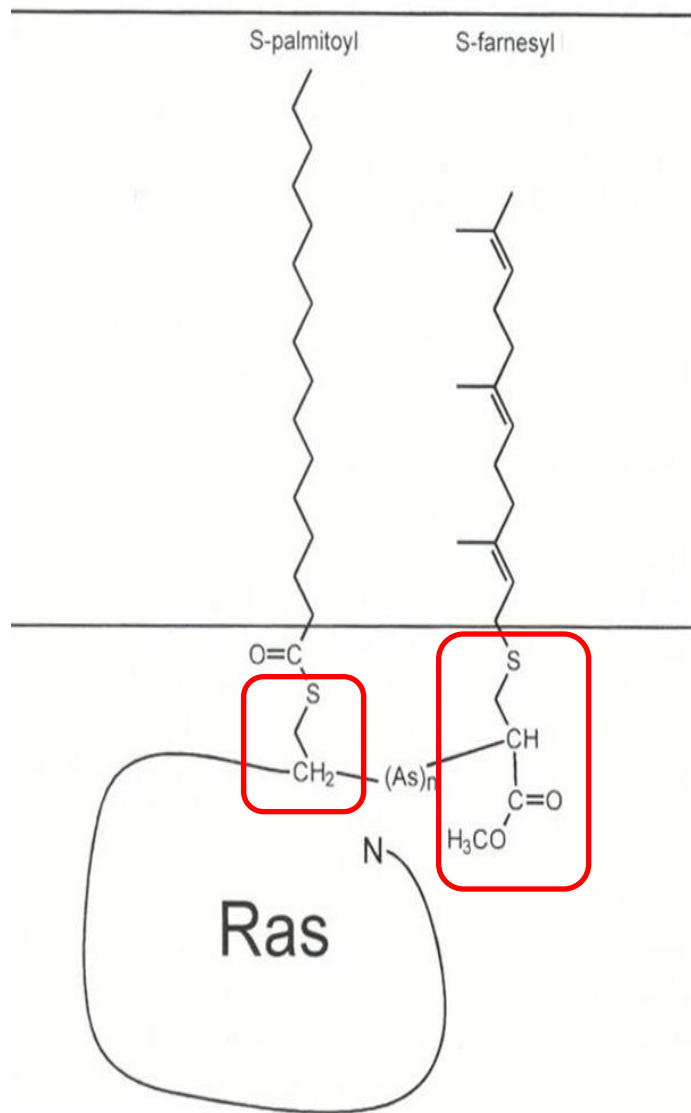
K-ras4B





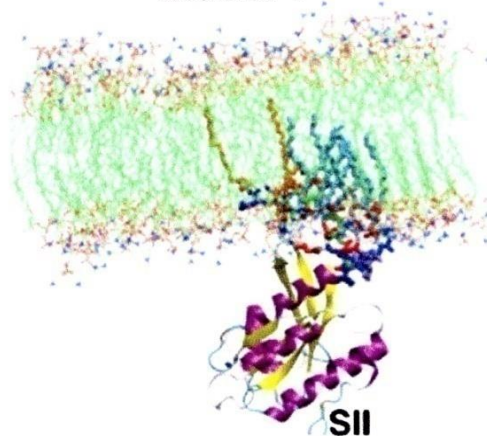
Σύνδεση της Ras με τη μεμβράνη

Εξάλειψη της σηματοδοτικής αλληλουχίας απαραίτητης για την προσθήκη λιπιδίων στις Ras οδηγεί σε απώλεια της σηματοδοτικής λειτουργίας τους

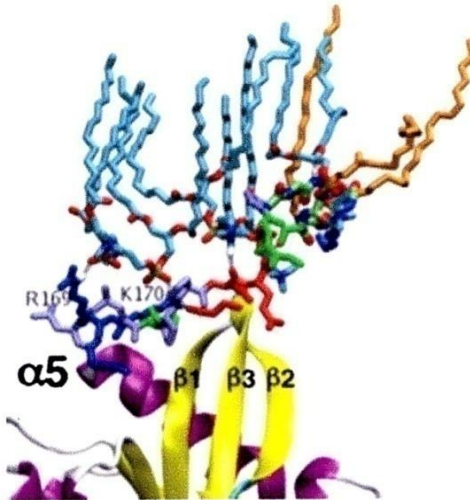
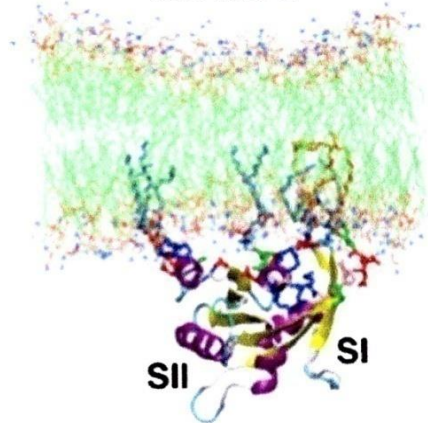


D. Abankwa et al. / Seminars in Cell & Developmental Biology 18 (2007) 599–607

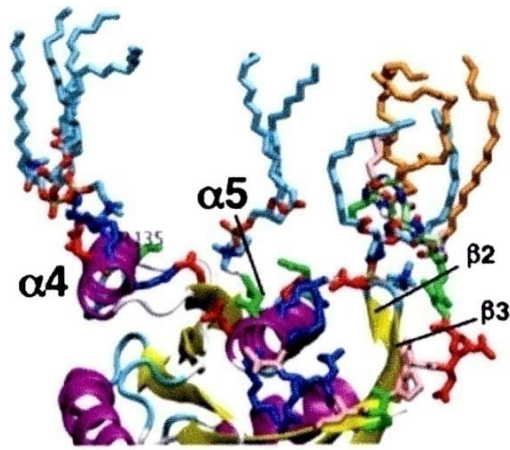
Model 1



Model 2



GDP-H-ras

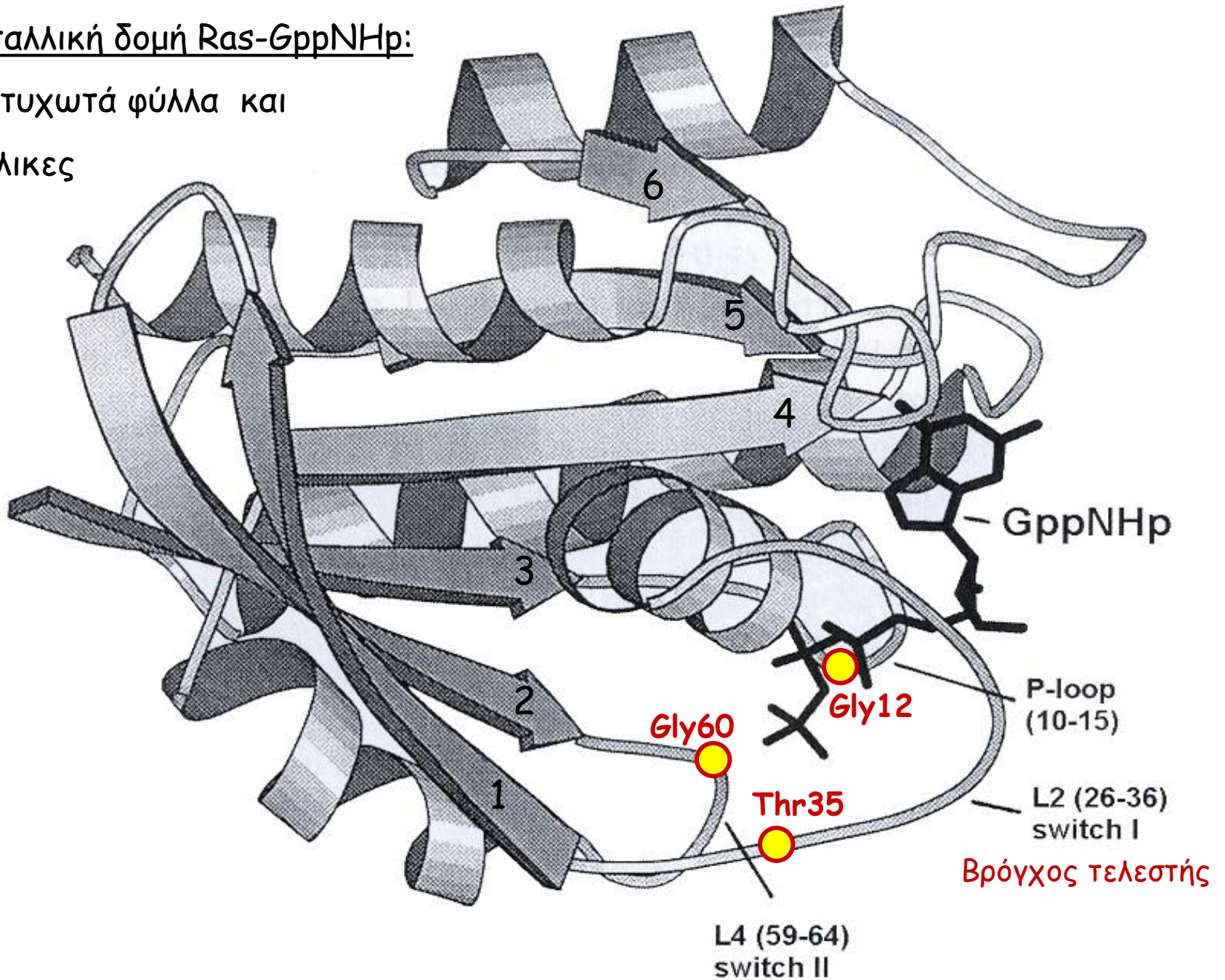


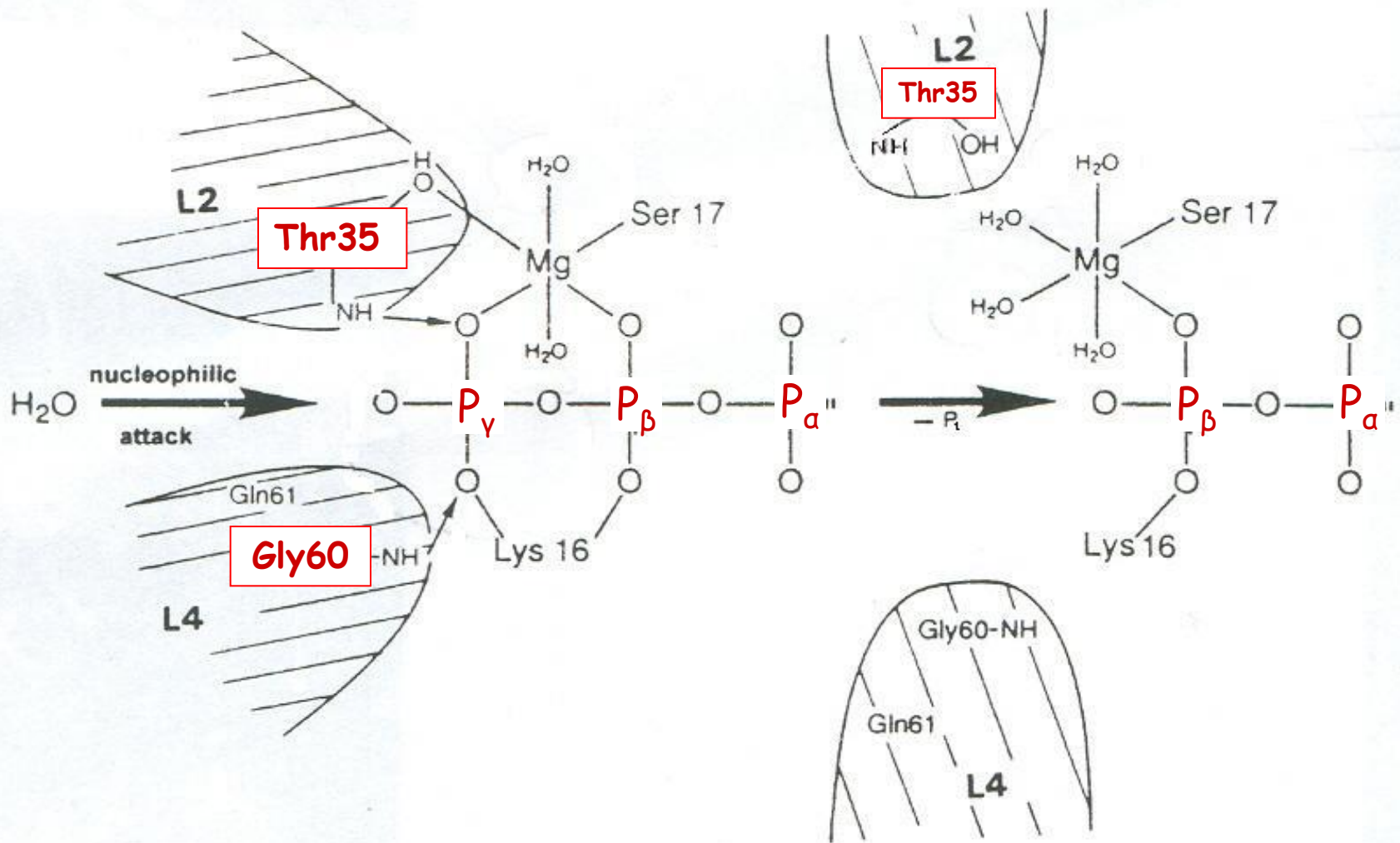
GTP-H-ras

Κρυσταλλική δομή Ras-GppNHp:

6 β-πτυχωτά φύλλα και

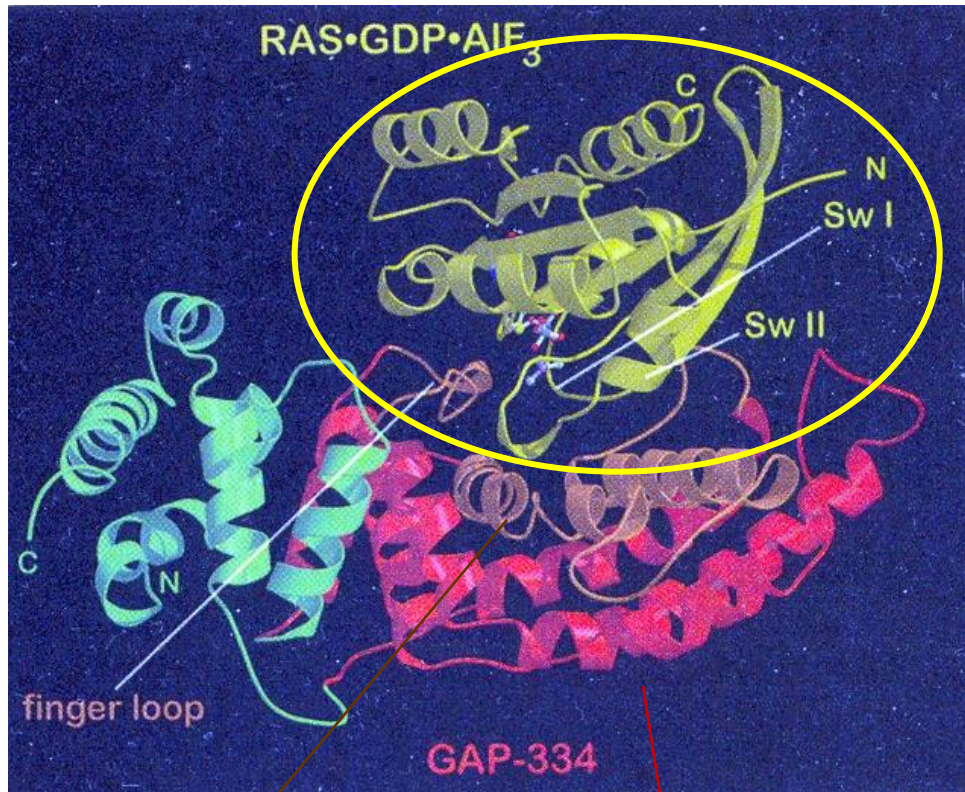
5 α-άλικες





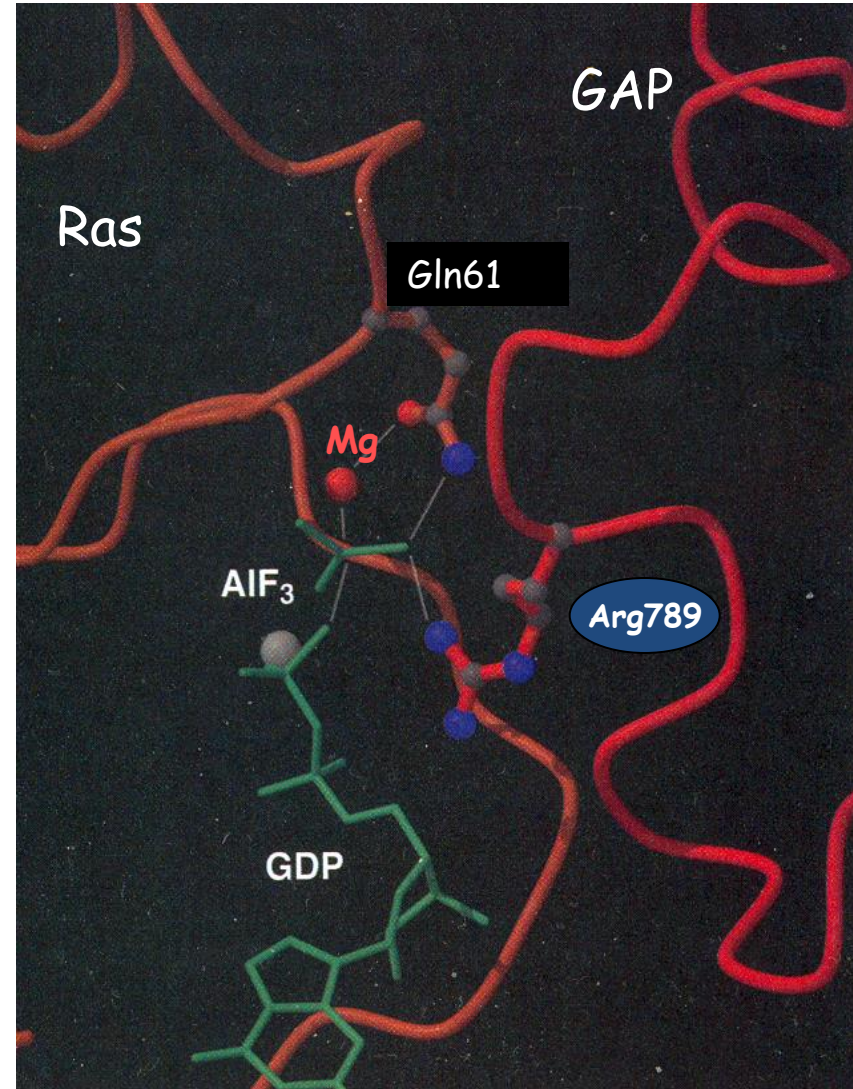
«Πυρηνόφιλη προσβολή» ενός μορίου H_2O στη $\gamma-PO_4$ του GTP. Η γ -φωσφορική ομάδα του GTP είναι στενά συνδεδεμένη μέσω των αλληλεπιδράσεων σε Thr35 (L2 βρόγχος), Lys16 και Gly60 (L4 βρόγχος) και μέσω του συντονισμού με το ιόν Mg^{2+}

Το AlF_3 παίρνει τη θέση της γ -φωσφορικής ομάδας



περιοχή
επαφής με
τη Ras

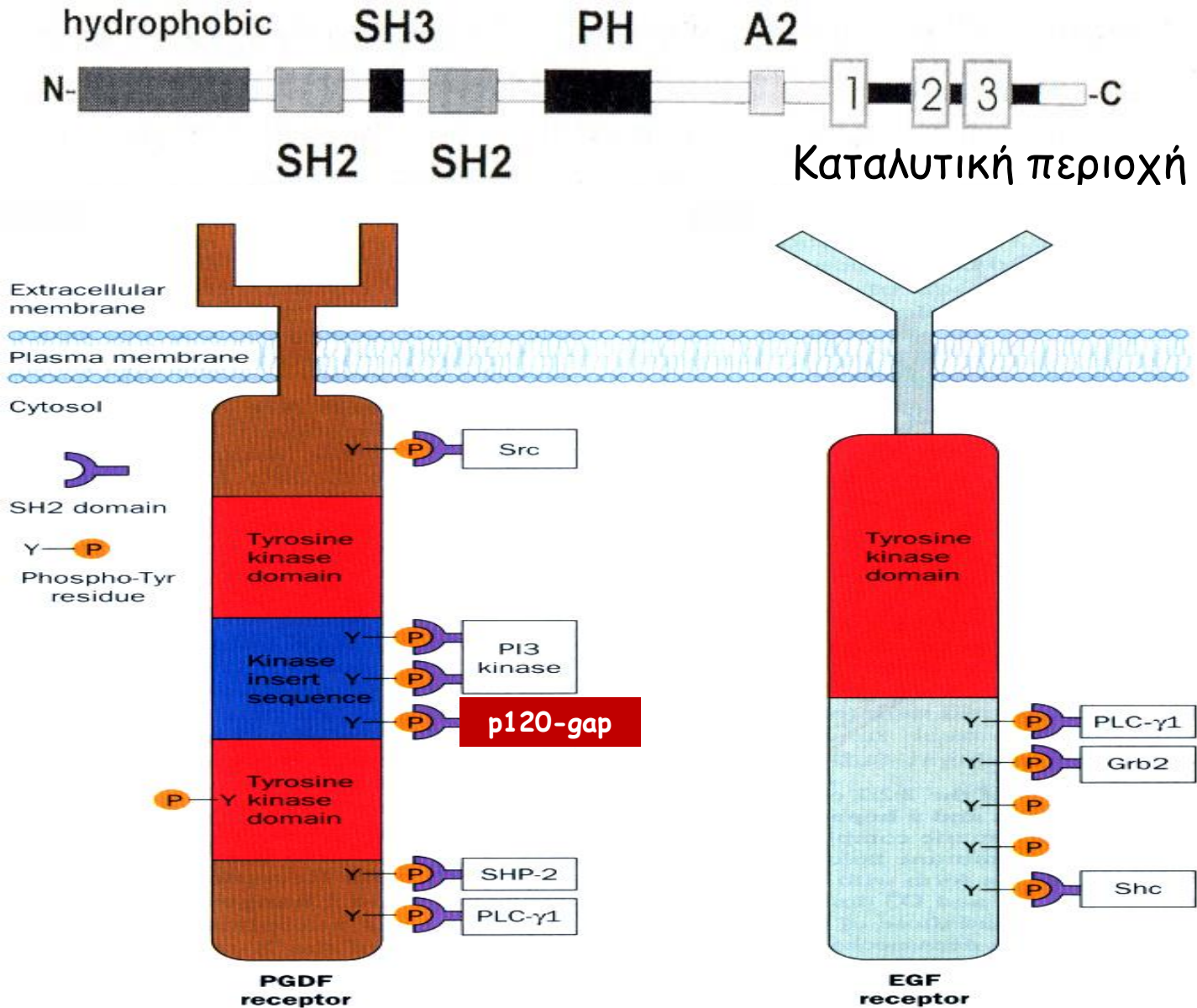
καταλυτική περιοχή της GAP



Η Arg789 εξουδετερώνει το φορτίο της γ -φωσφορικής ομάδας και βοηθά στη σταθεροποίηση του L4 βρόγχου της Ras.

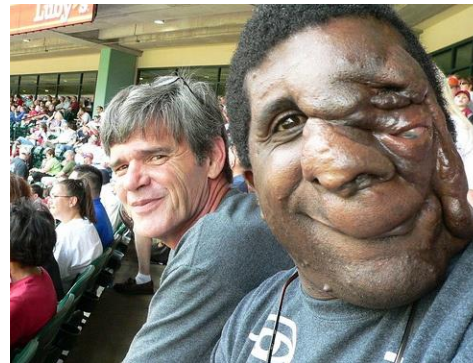
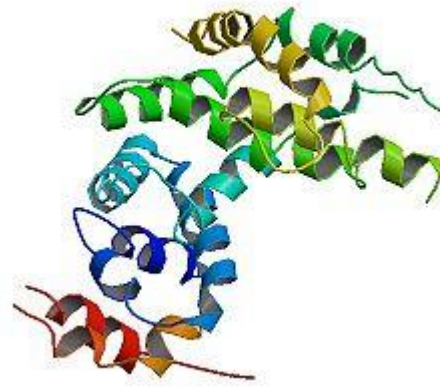
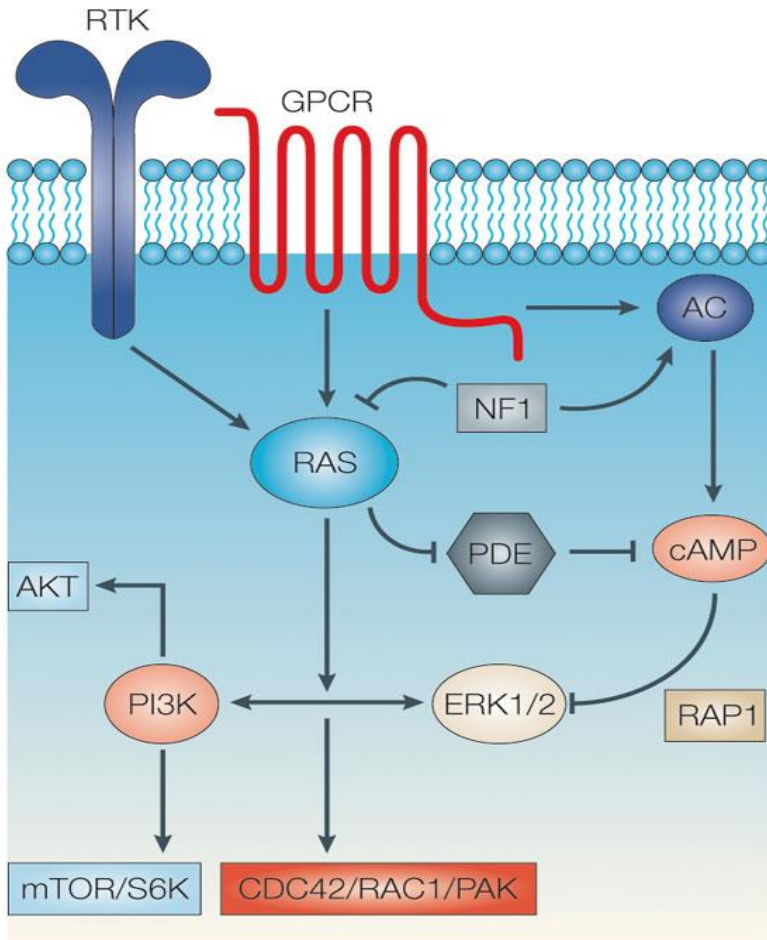
p120-gap

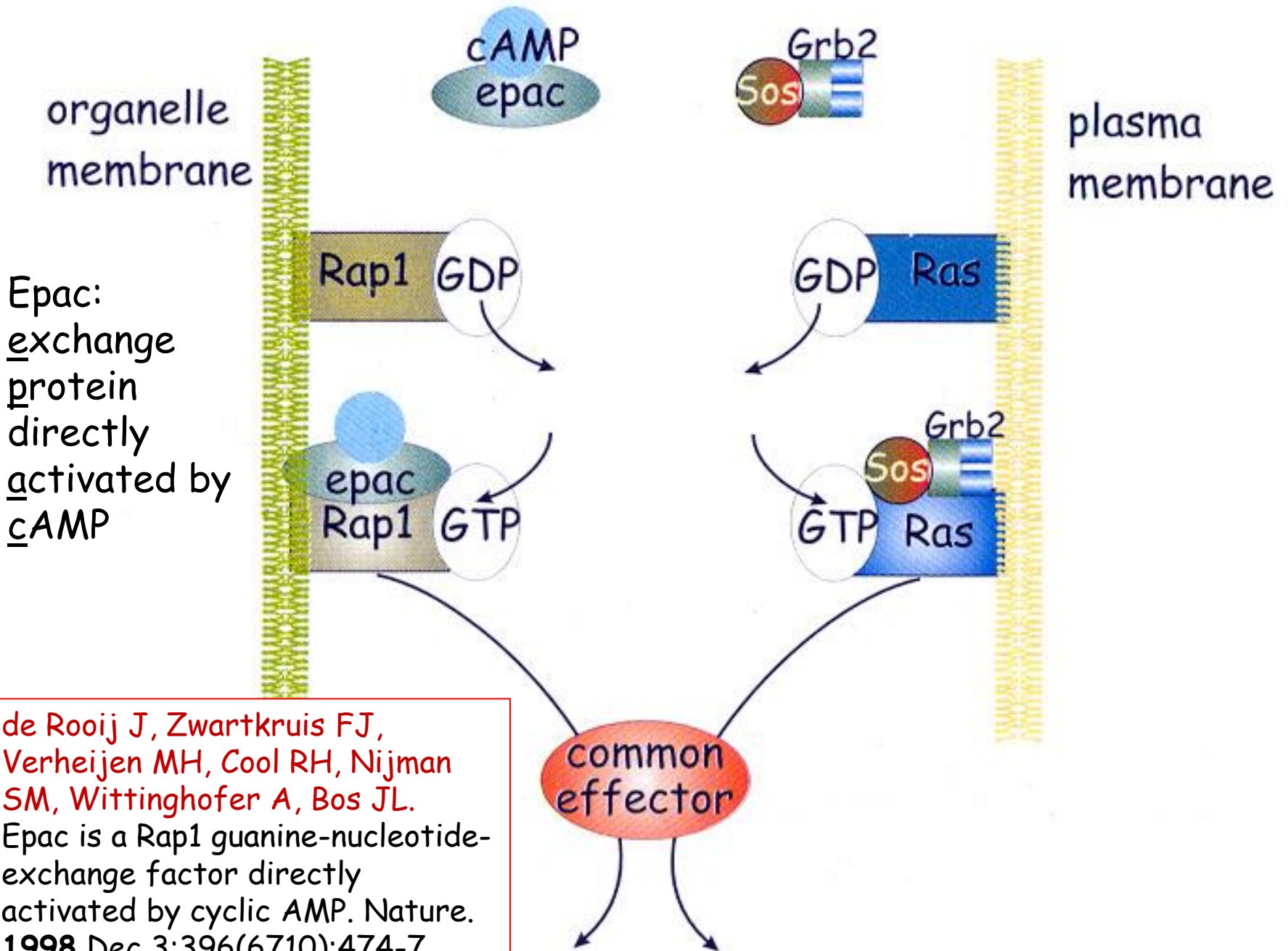
Trahey M, McCormick F. A cytoplasmic protein stimulates normal N-ras p21 GTPase, but does not affect oncogenic mutants. Science. 1987 Oct 23;238(4826):542-5.



Neurofibromin 1, NF1, είναι μια Ras-GAP, αρνητικές μεταλλάξεις της προκαλούν **neurofibromatosis type I** (von Recklinghausen disease, Watson disease)

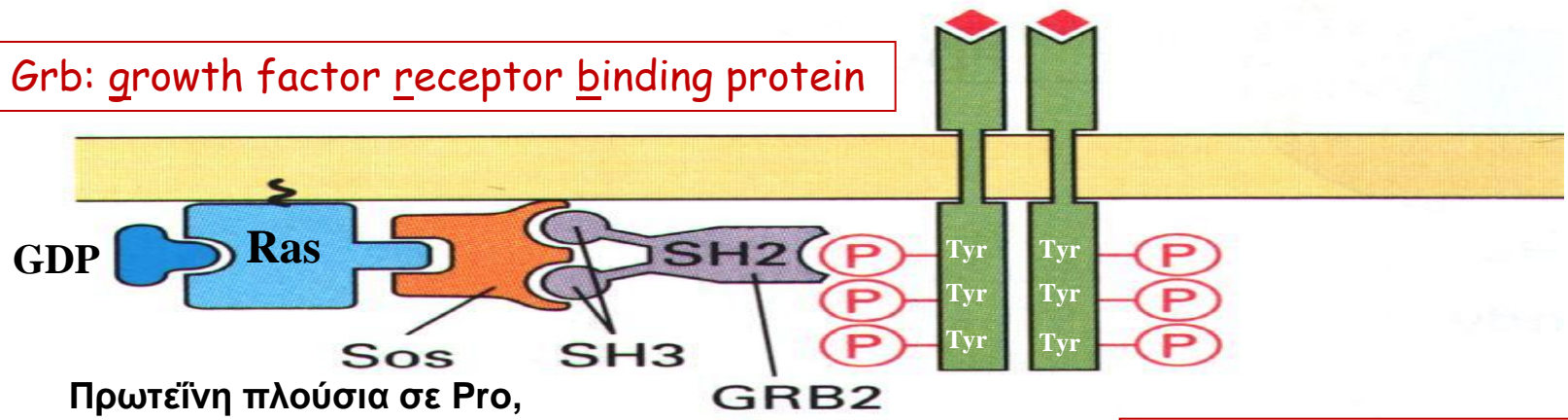
Ballester R, Marchuk D, Boguski M, Saulino A, Letcher R, Wigler M, Collins F. The NF1 locus encodes a protein functionally related to mammalian GAP and yeast IRA proteins. *Cell*. 1990 Nov 16;63(4):851-9





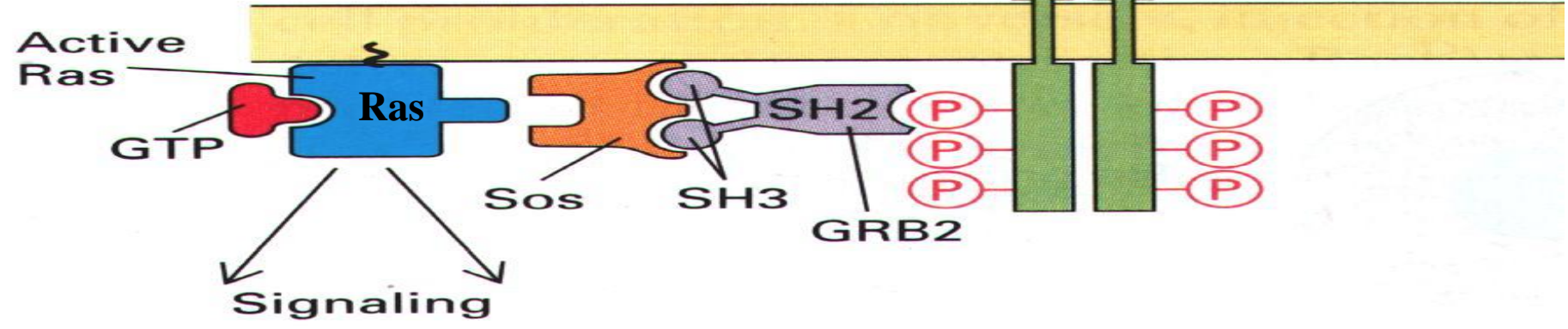
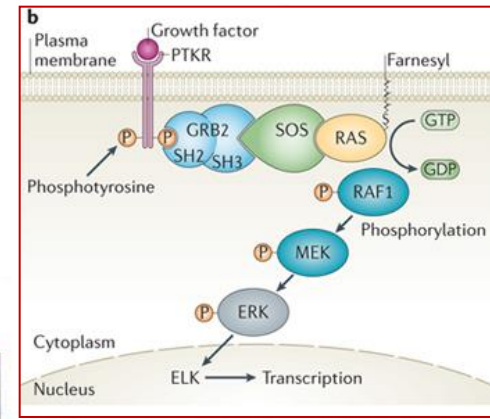
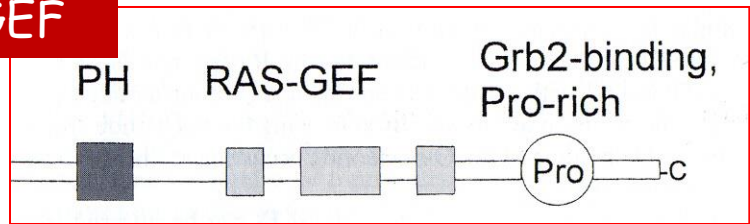
de Rooij J, Zwartkruis FJ, Verheijen MH, Cool RH, Nijman SM, Wittinghofer A, Bos JL. Epac is a Rap1 guanine-nucleotide-exchange factor directly activated by cyclic AMP. *Nature*. 1998 Dec 3;396(6710):474-7.

Grb: growth factor receptor binding protein



Πρωτεΐνη πλούσια σε Pro, παράγοντας ανταλλαγής νουκλεοτιδίων

mSos: GEF



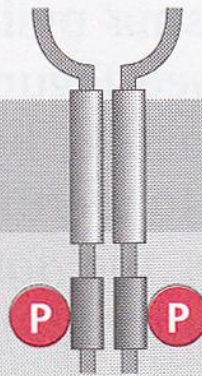
Μονοπάτια ενεργοποίησης της Ras

heptahelical receptor,
phosphorylated,
arrestin-coupled



Tyr kinase Src

Tyr kinase-
coupled
receptor



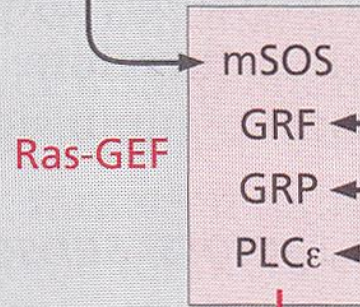
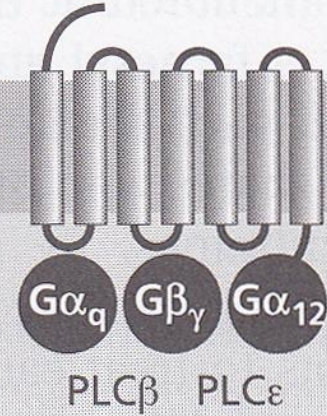
adaptor Grb2, Shc

ion channel-
coupled receptor
voltage-
dependent
ion channel

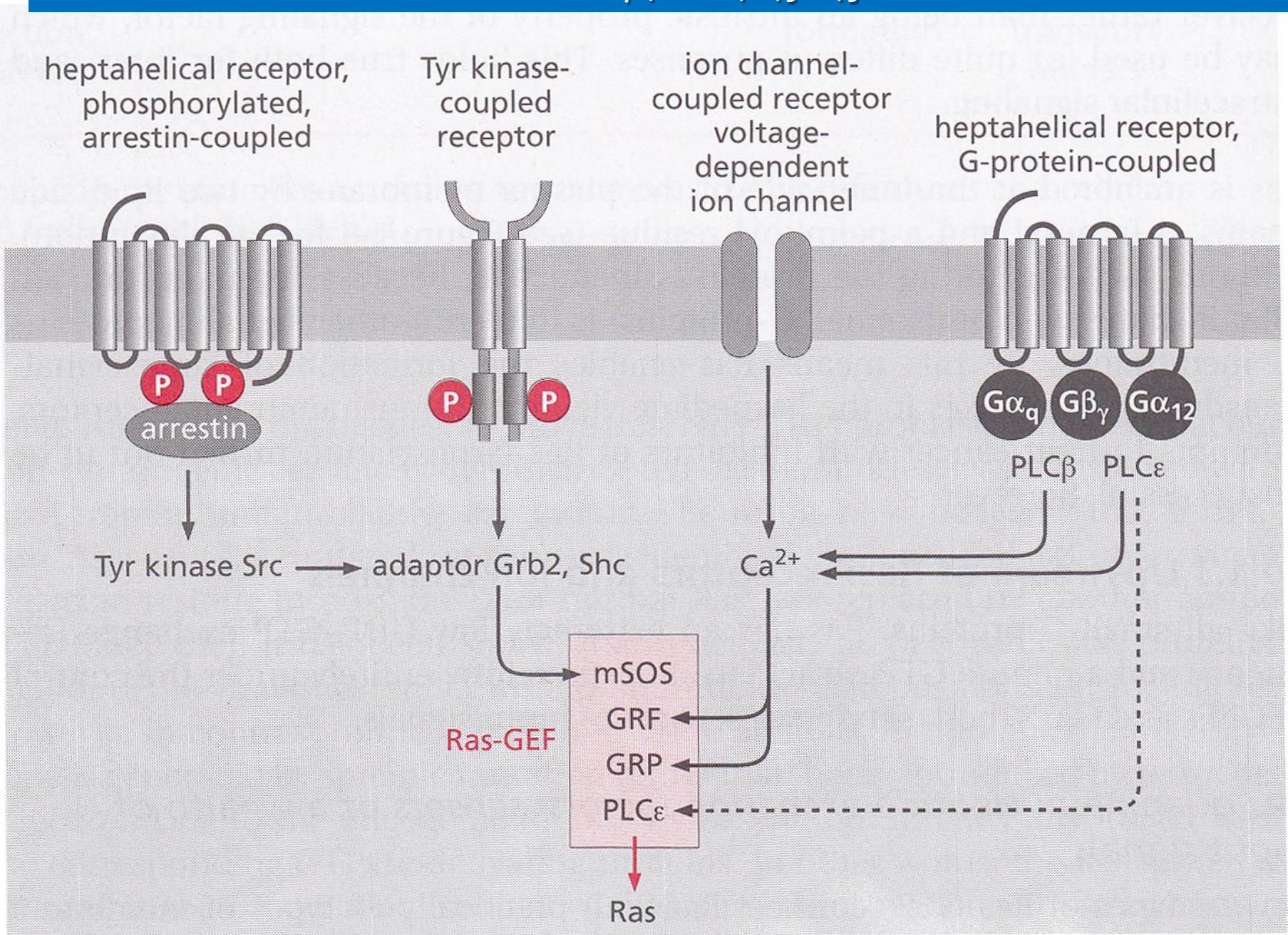


Ca²⁺

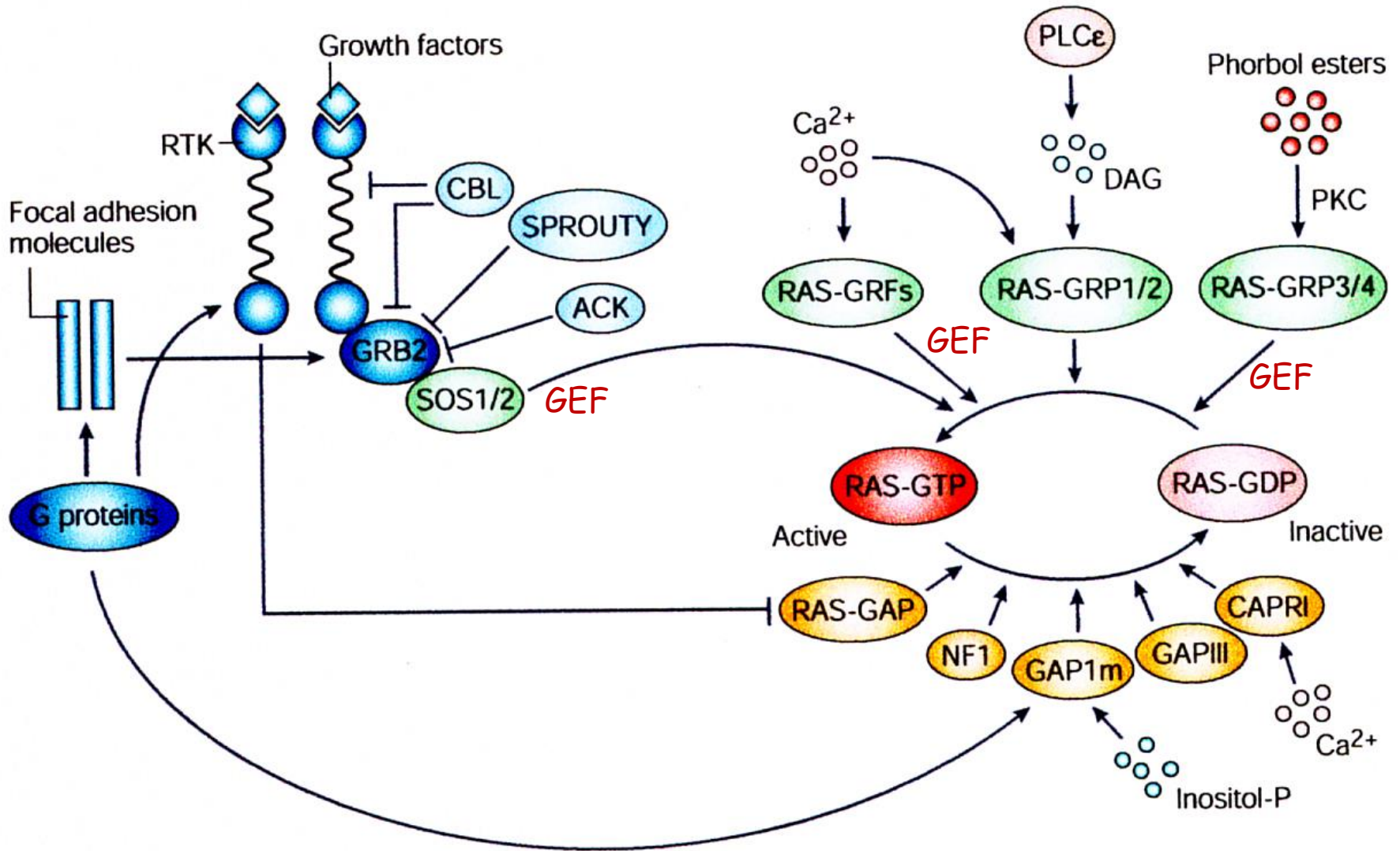
heptahelical receptor,
G-protein-coupled



Ras

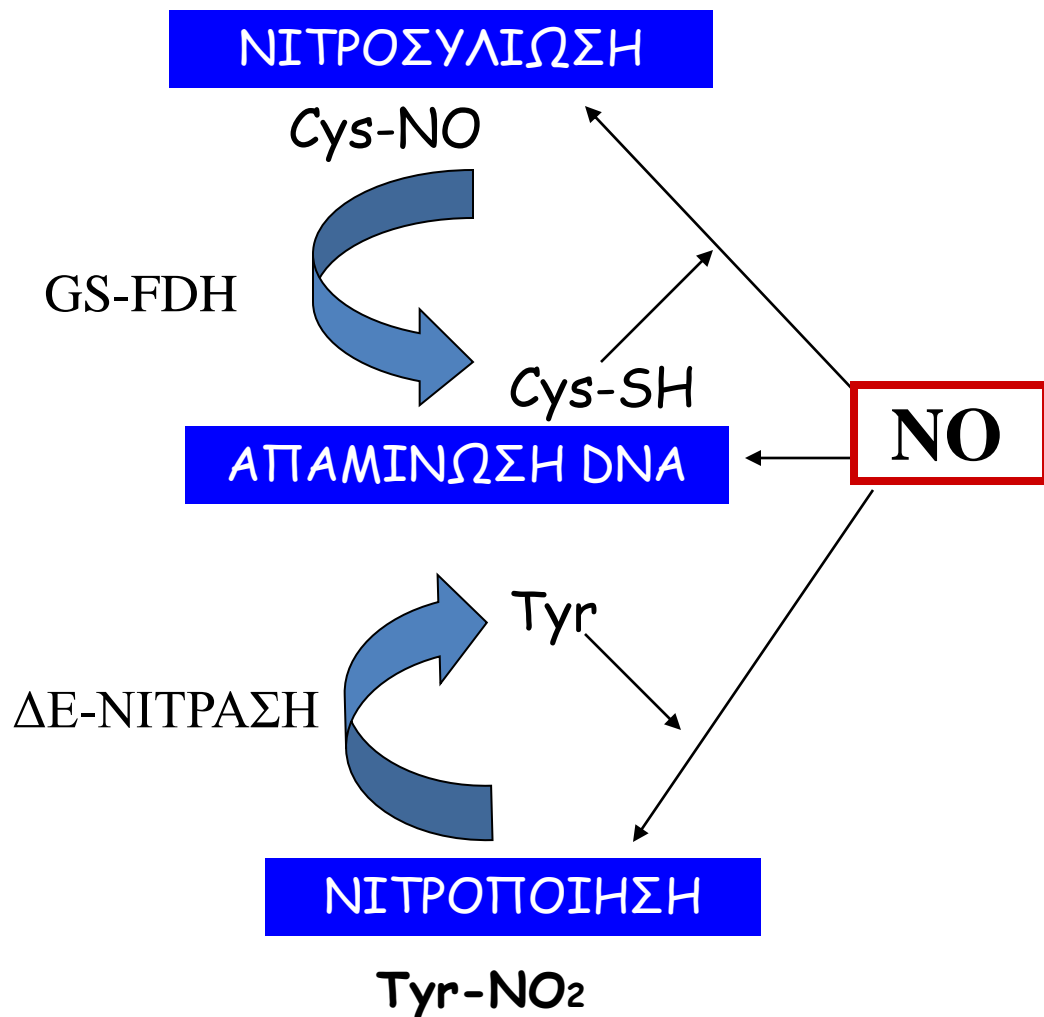


Ρυθμιστές της Ras



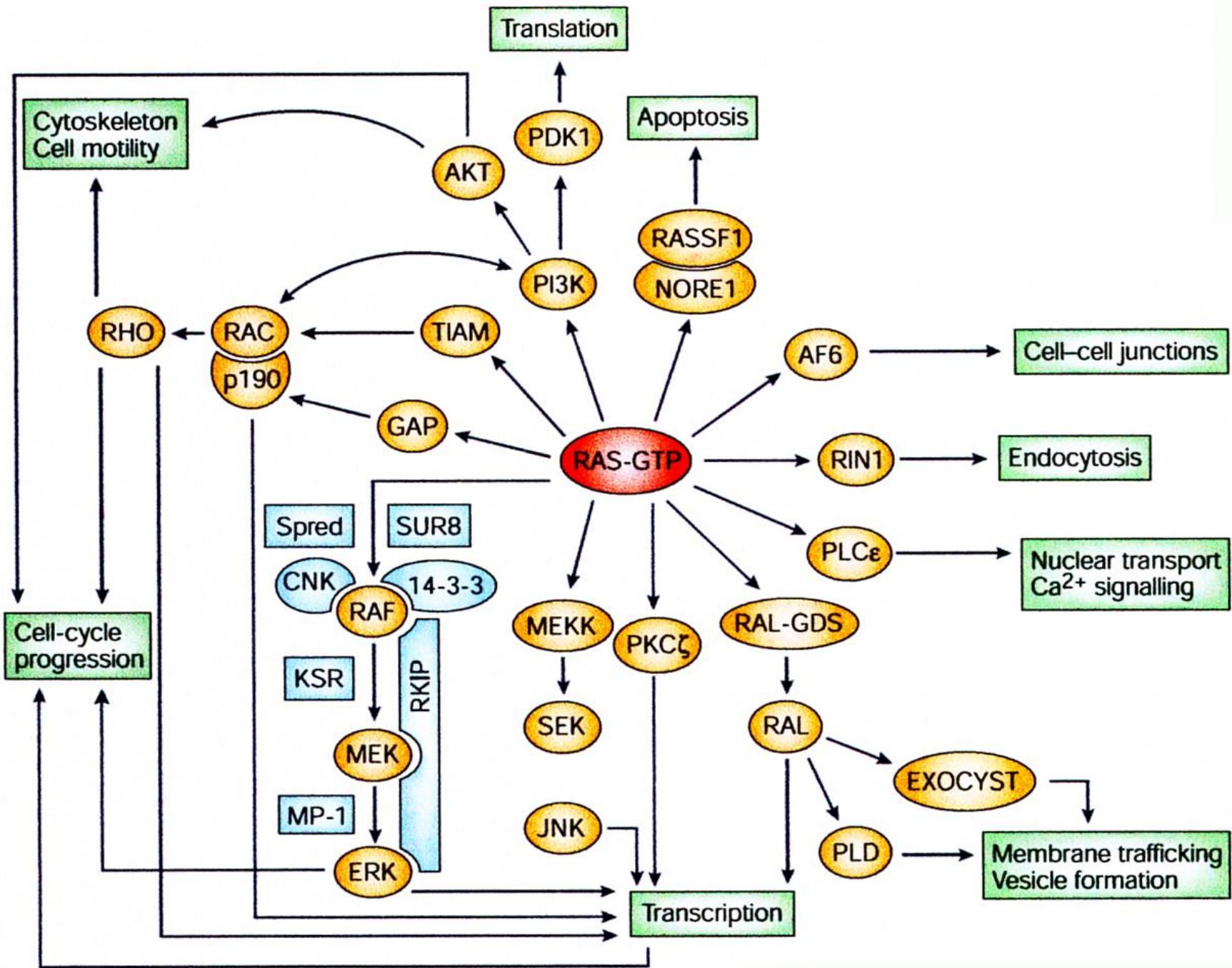
>1 μ M

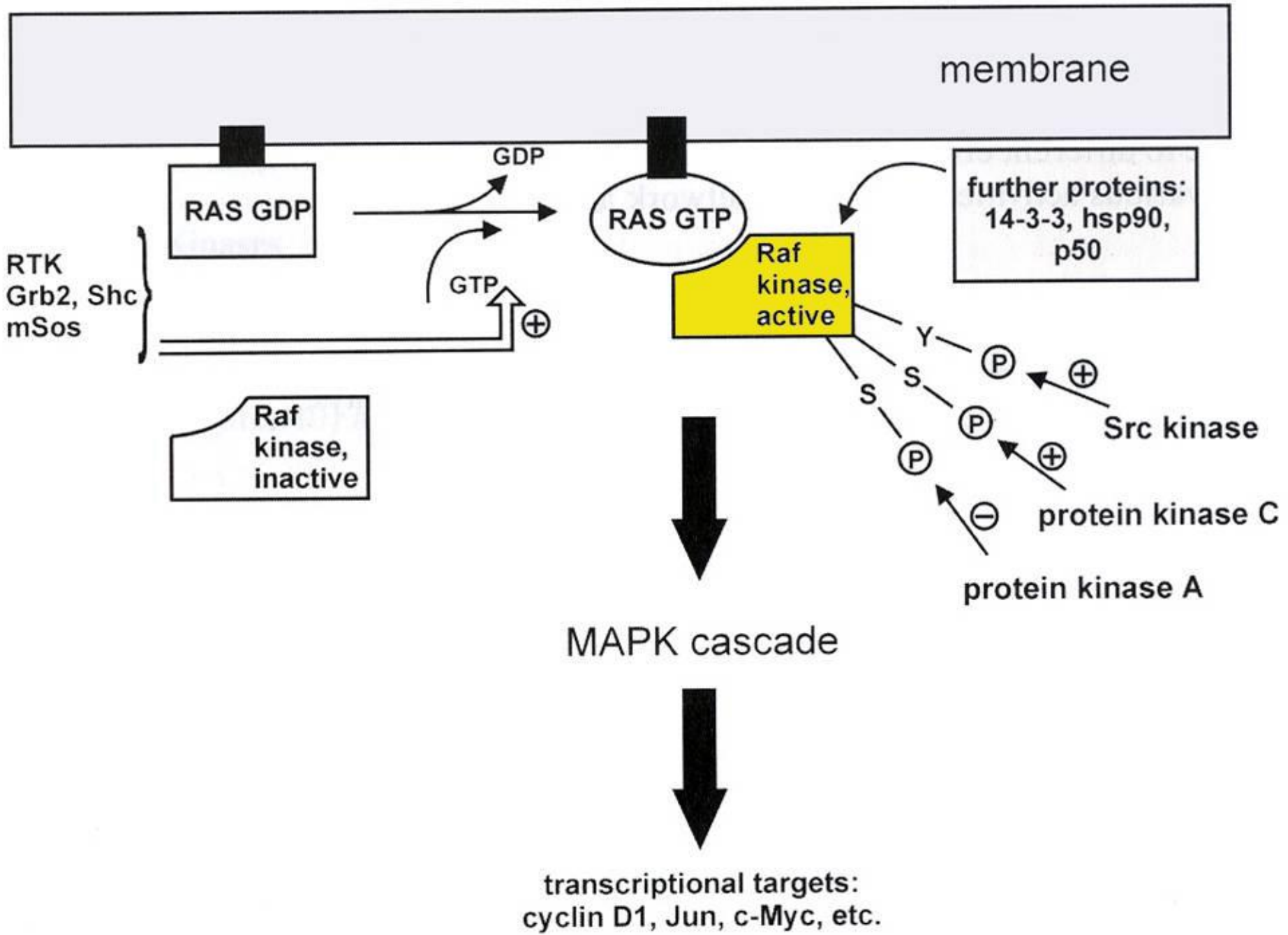
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΥΨΗΛΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΤΟΥ NO

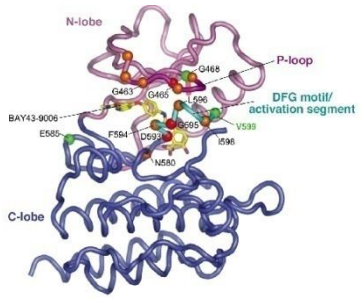


ΓΤΡαση p21 (ras)

- Η νιτροσυλίωση ενεργοποιεί τη Ras
- Έχει 5 κατάλοιπα κυστεΐνης- μόνο η κυστεΐνη 118 είναι σταθερά νιτροσυλιωμένη
- Μετάλλαξη της 118 αναστέλλει τη νιτροσυλίωση

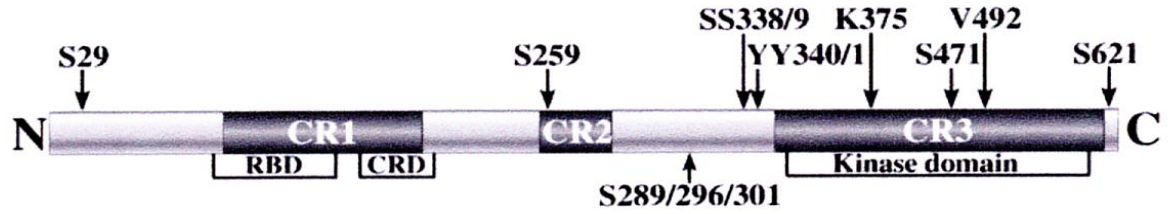




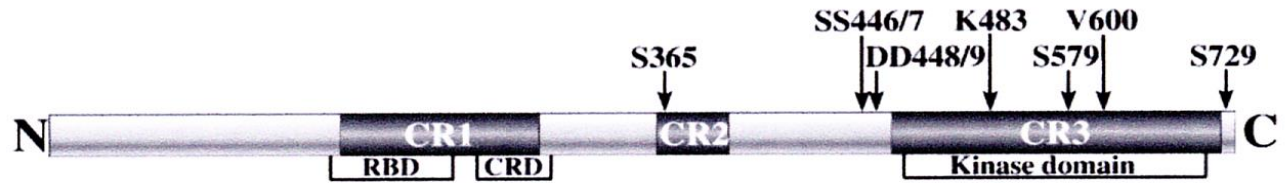


Raf kinase

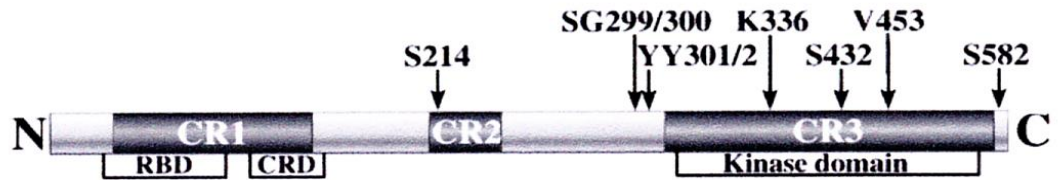
Raf-1



B-Raf



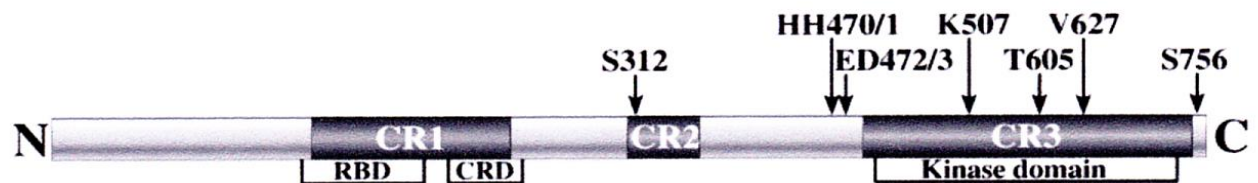
A-Raf

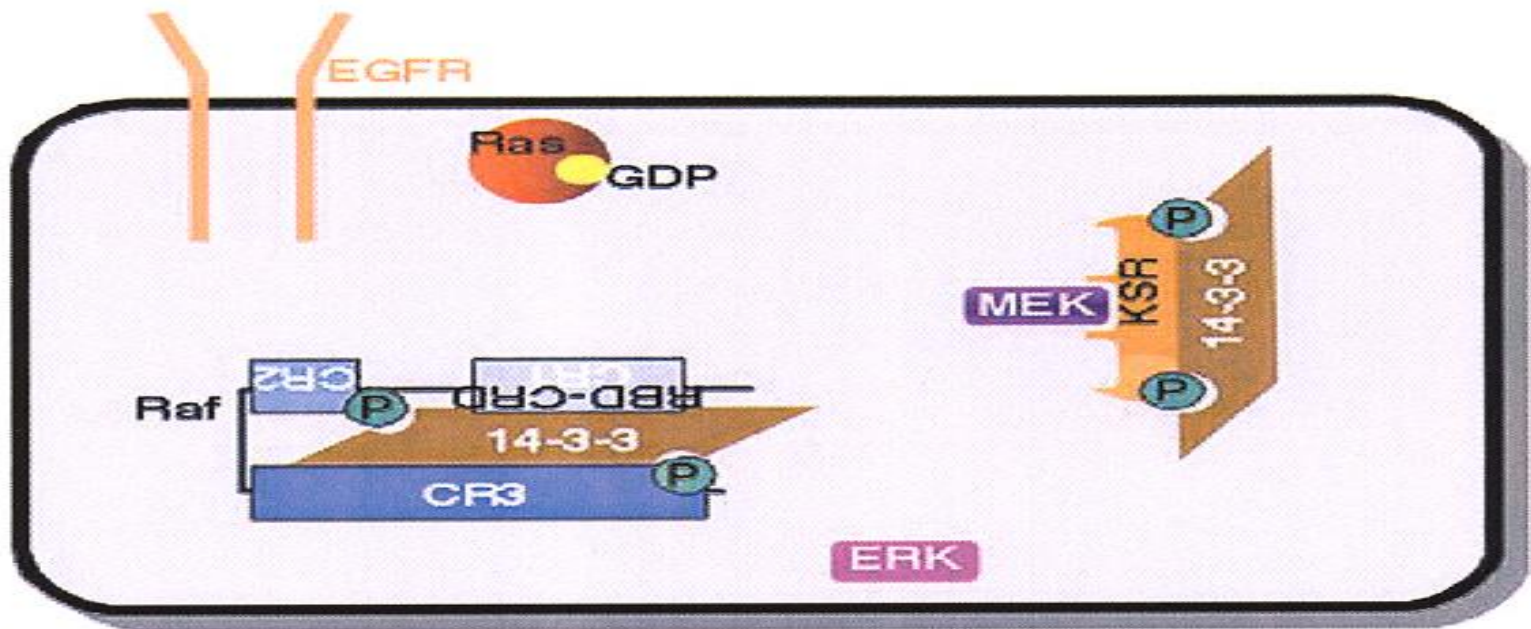


D-Raf

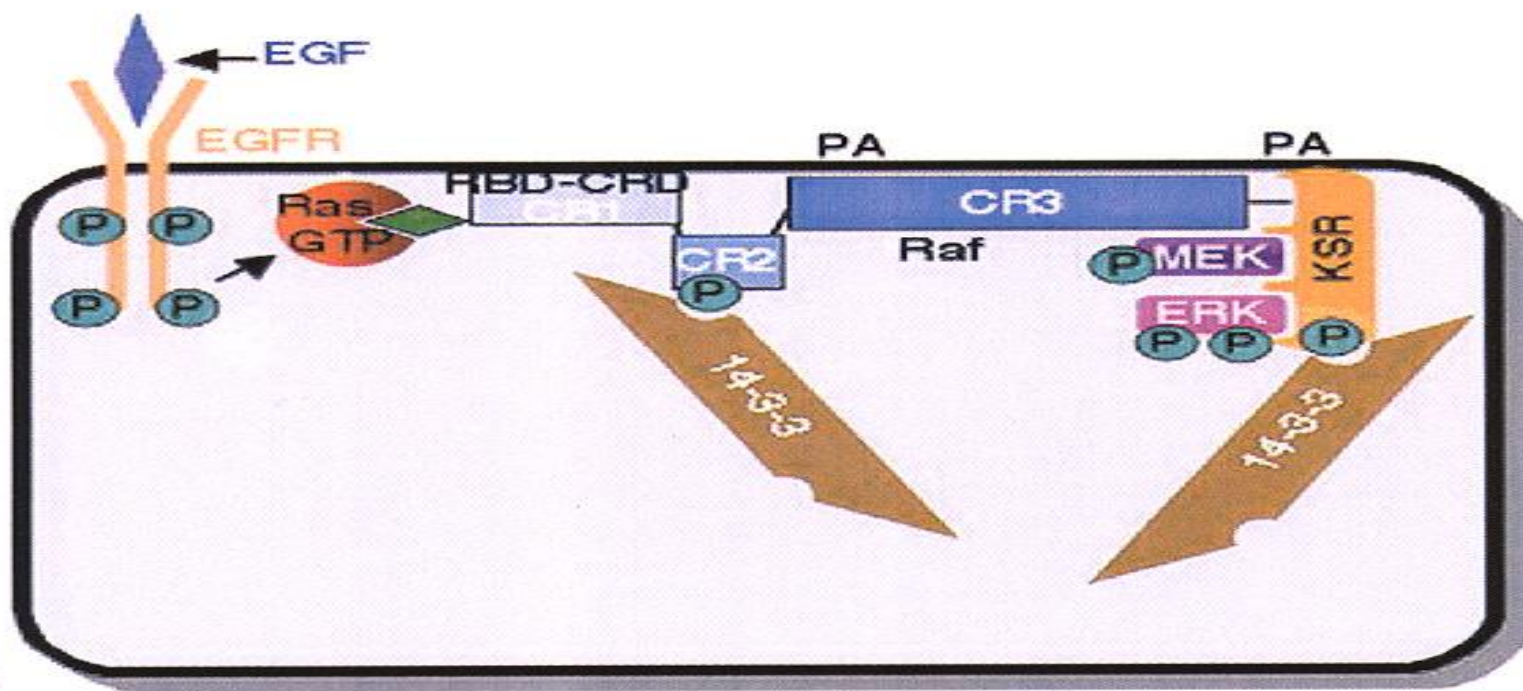


lin-45

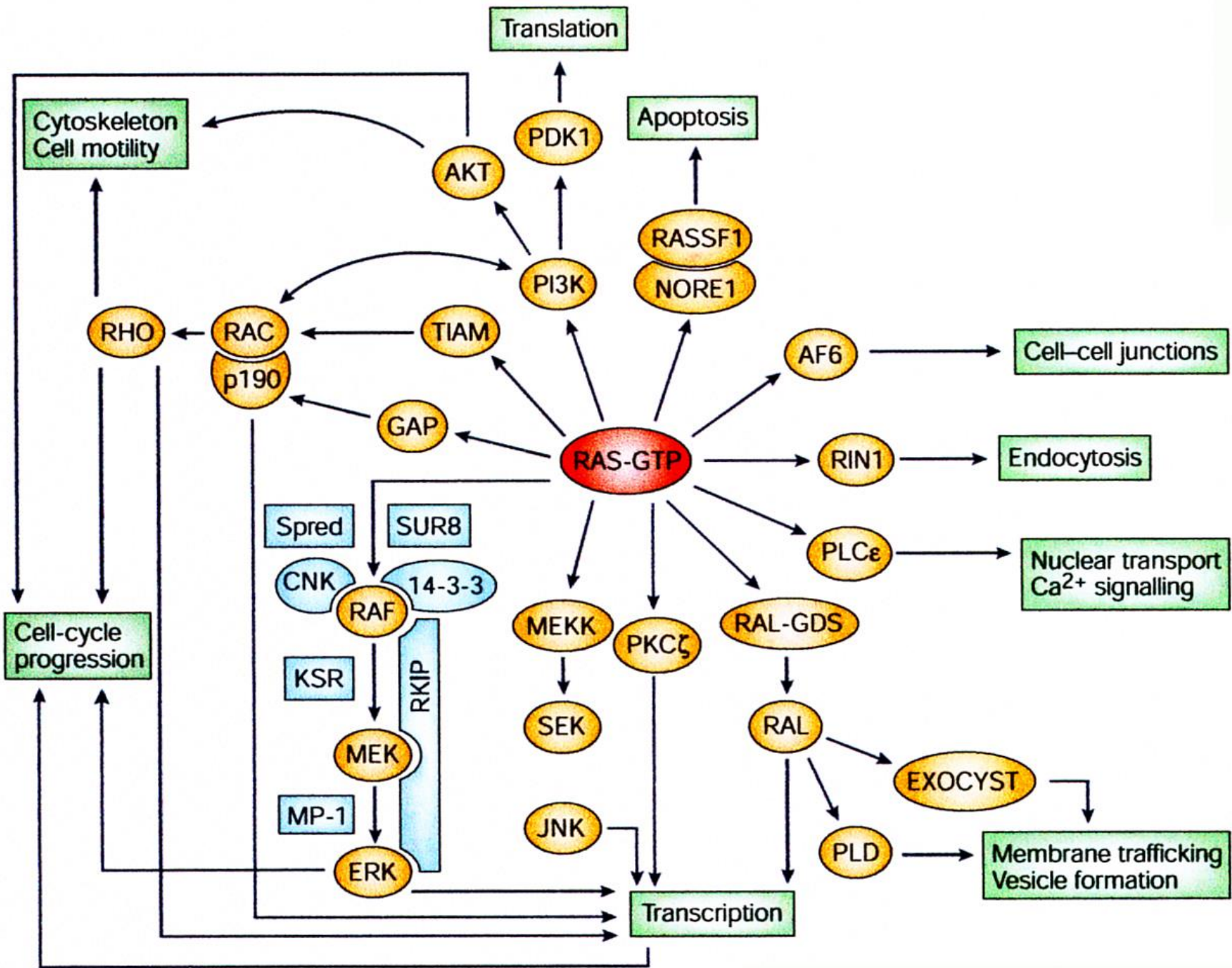


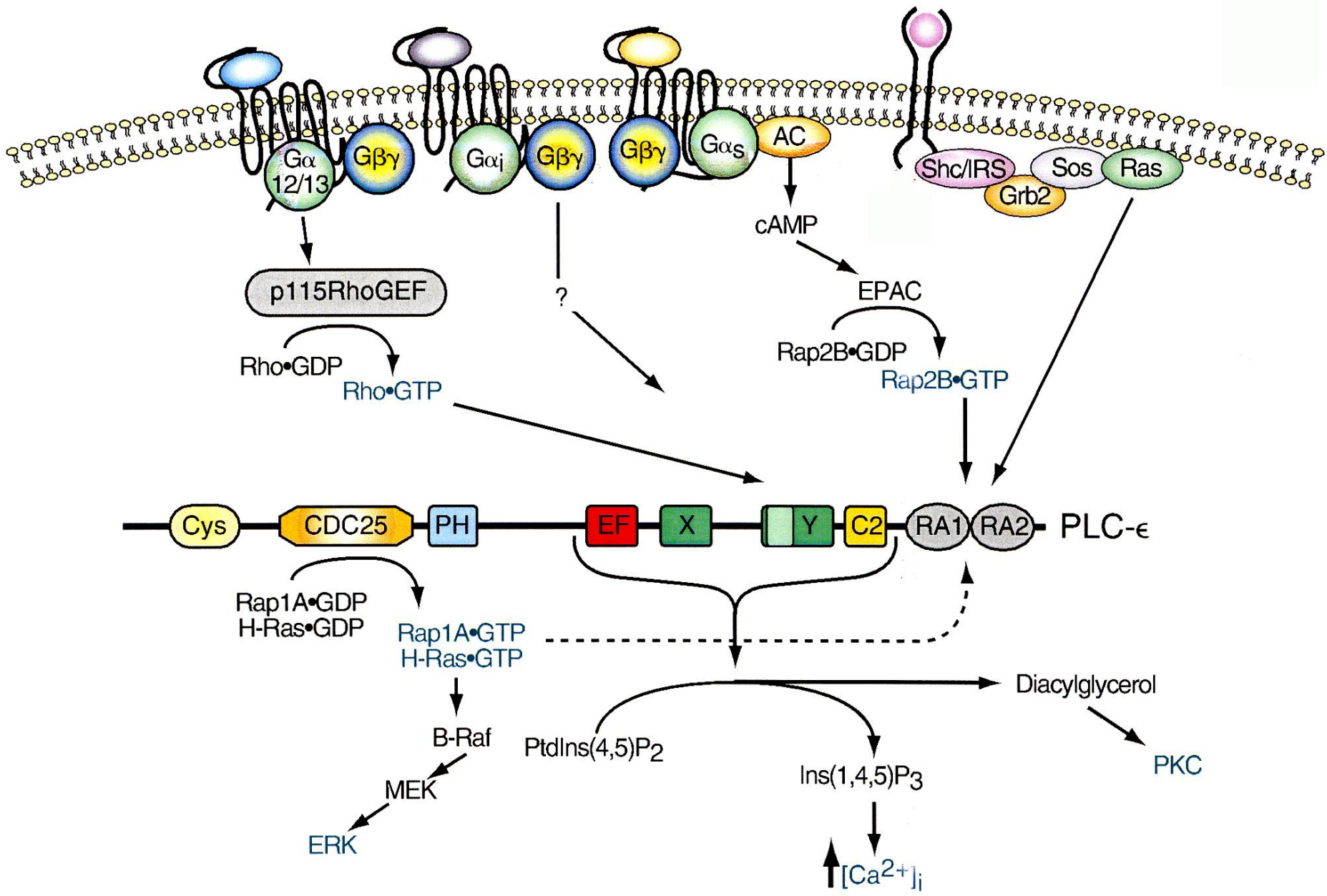


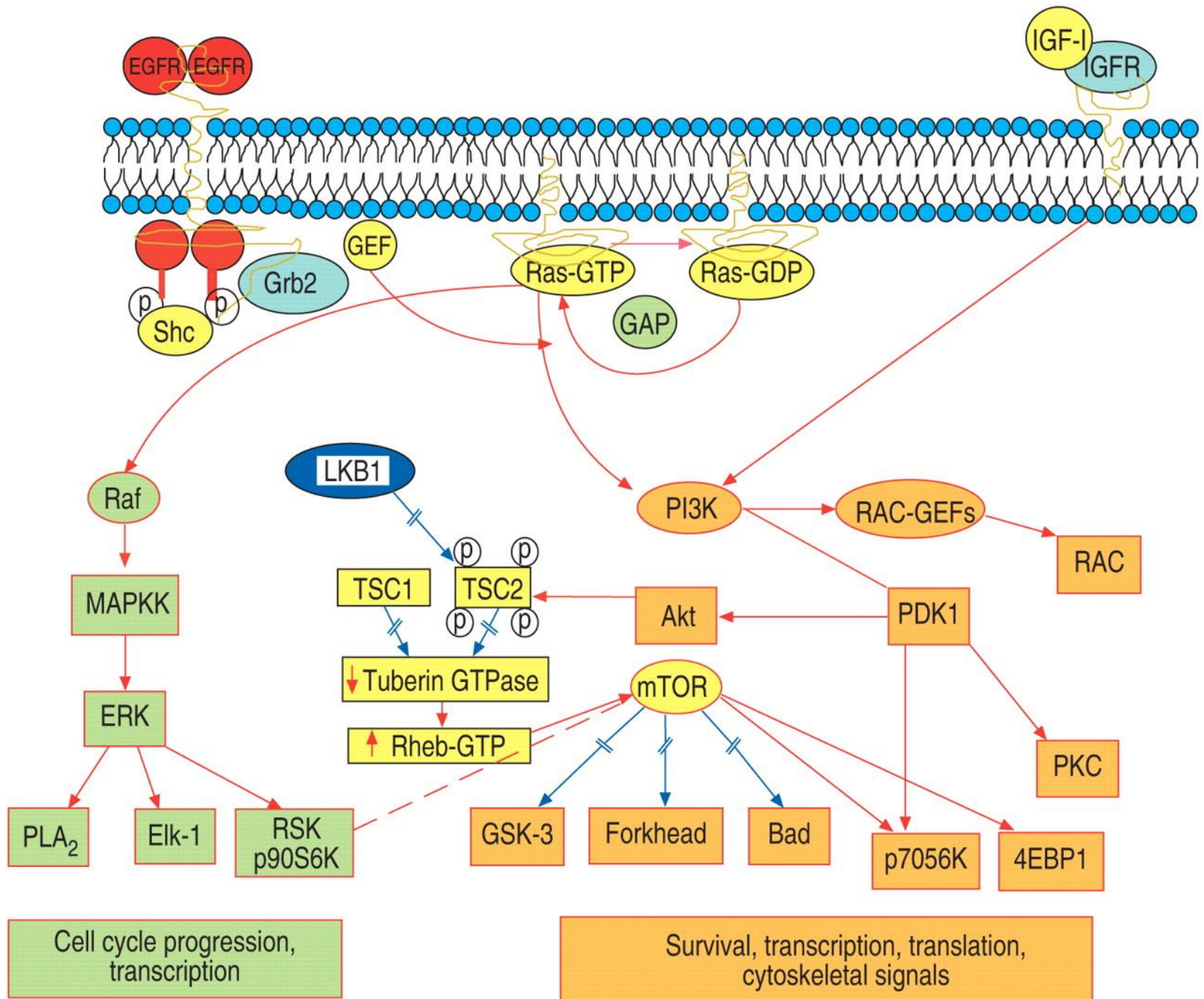
A



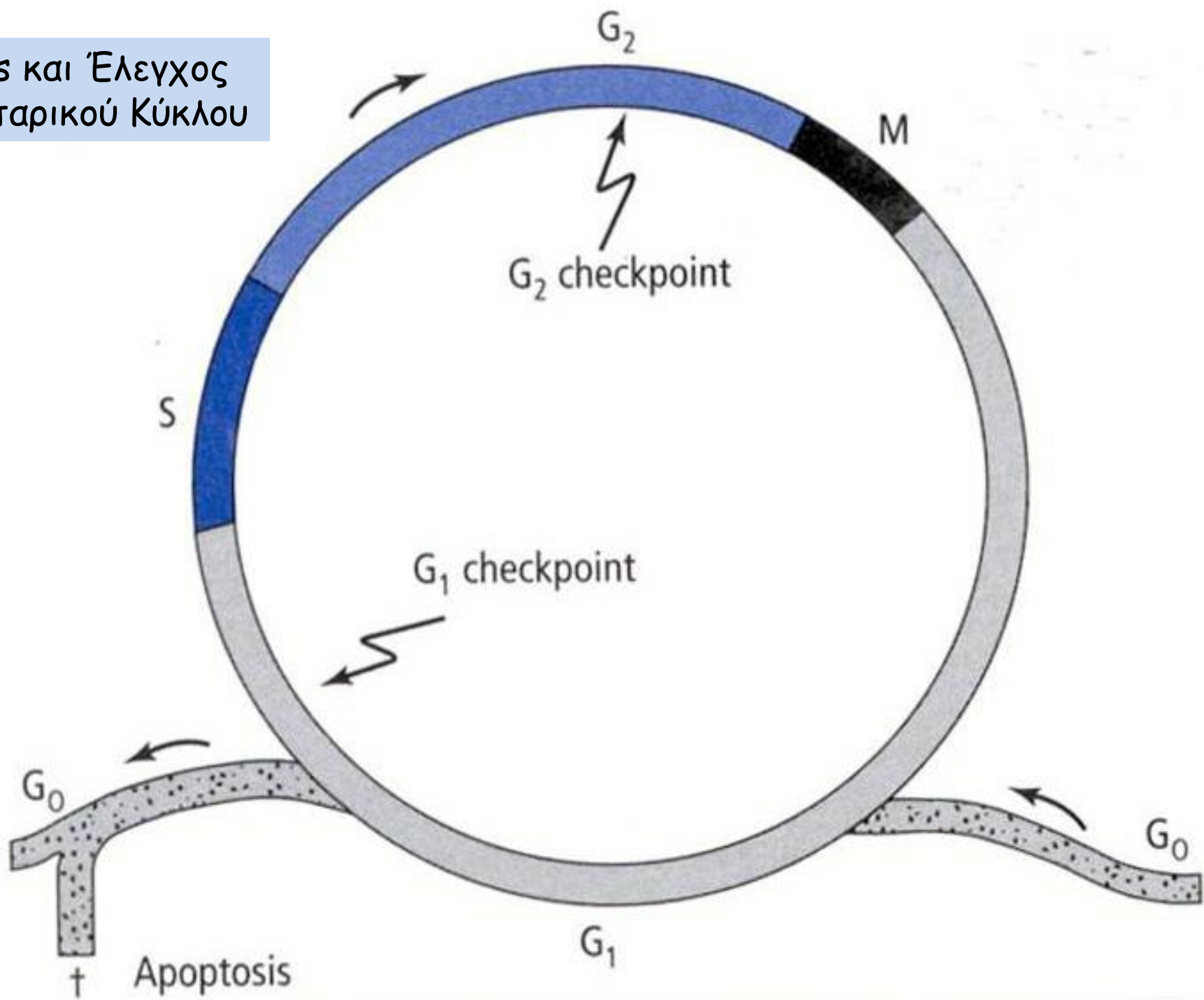
B



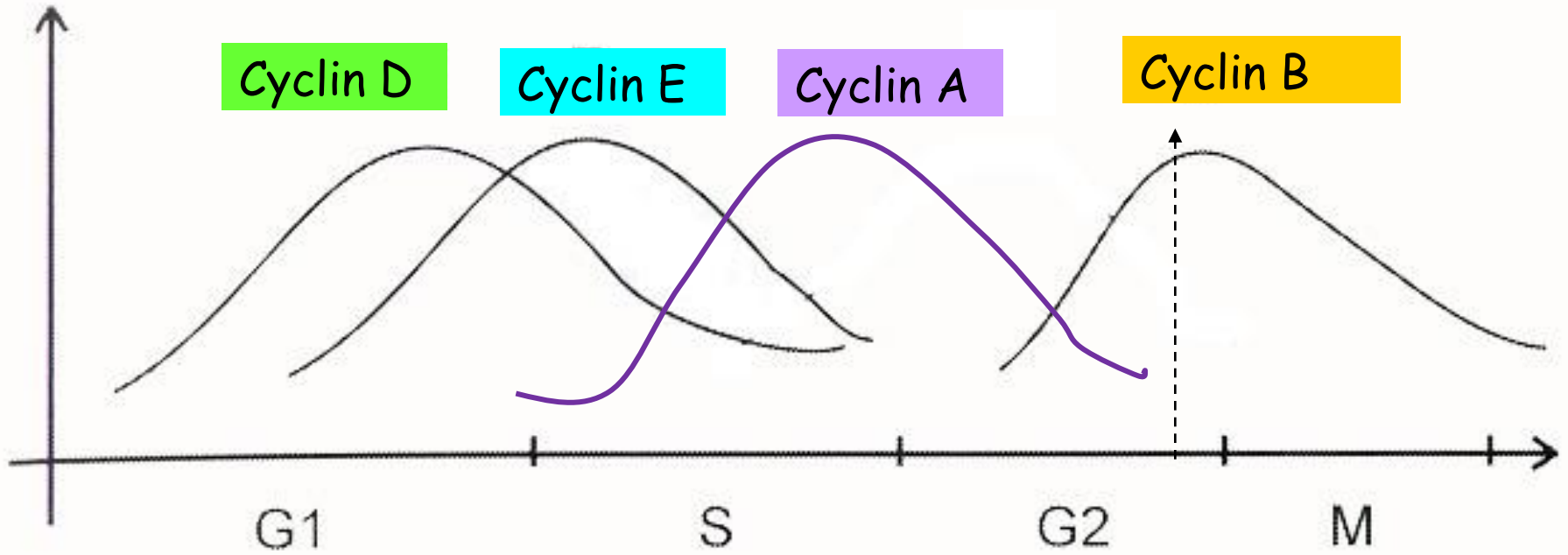




Ras και Έλεγχος Κυτταρικού Κύκλου



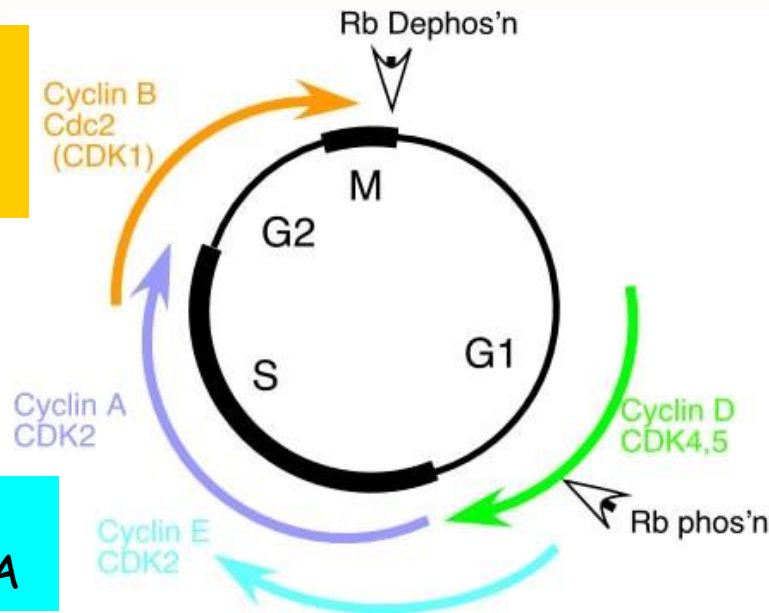
Αλλαγές στη συγκέντρωση των κυκλινών κατά τη διάρκεια του κυτταρικού



Καθορίζει το χρόνο έναρξης της μίτωσης

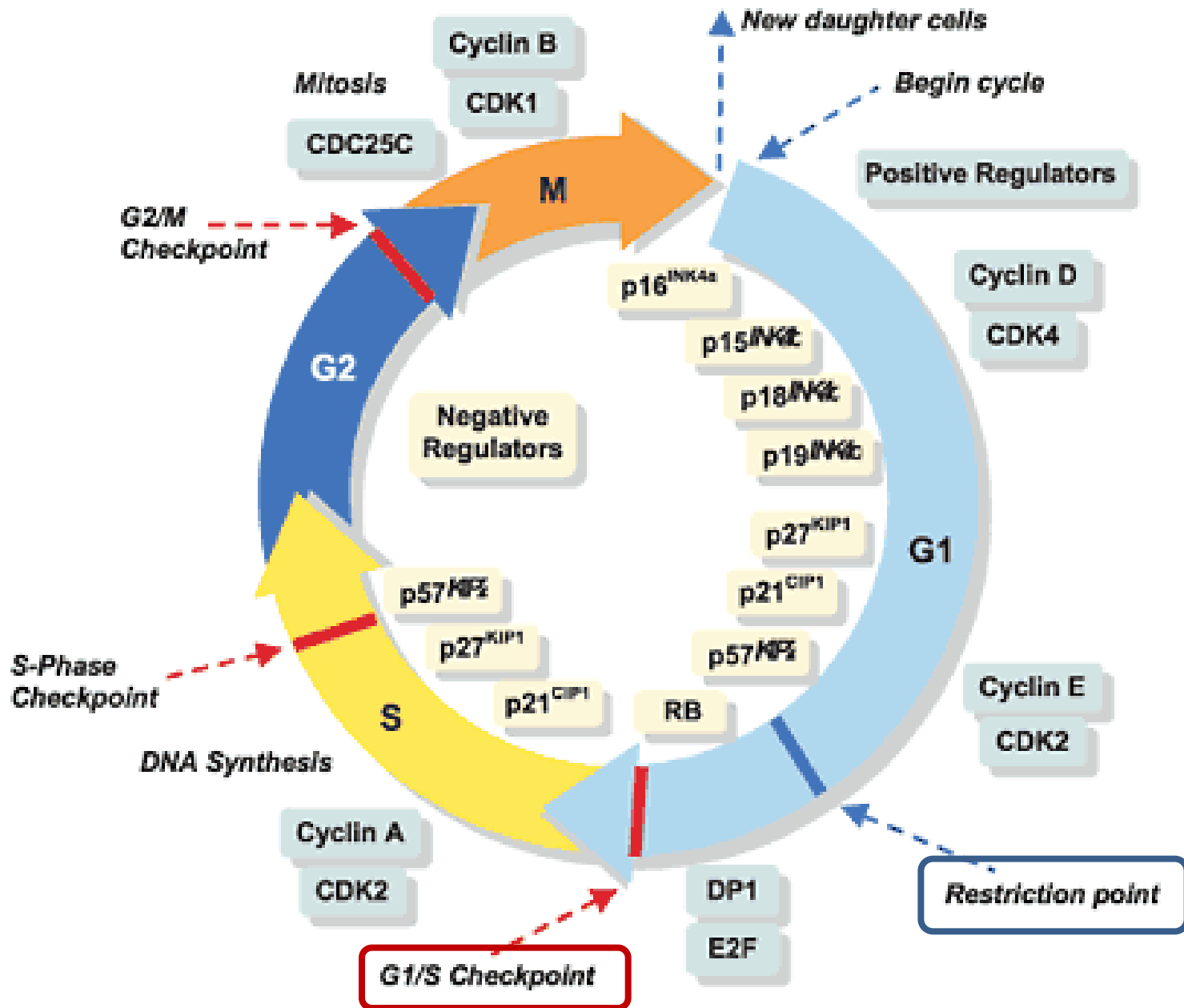
Καθοδηγεί το κύτταρο κατά τη φάση S

Προετοιμάζει το κύτταρο για την αντιγραφή του DNA

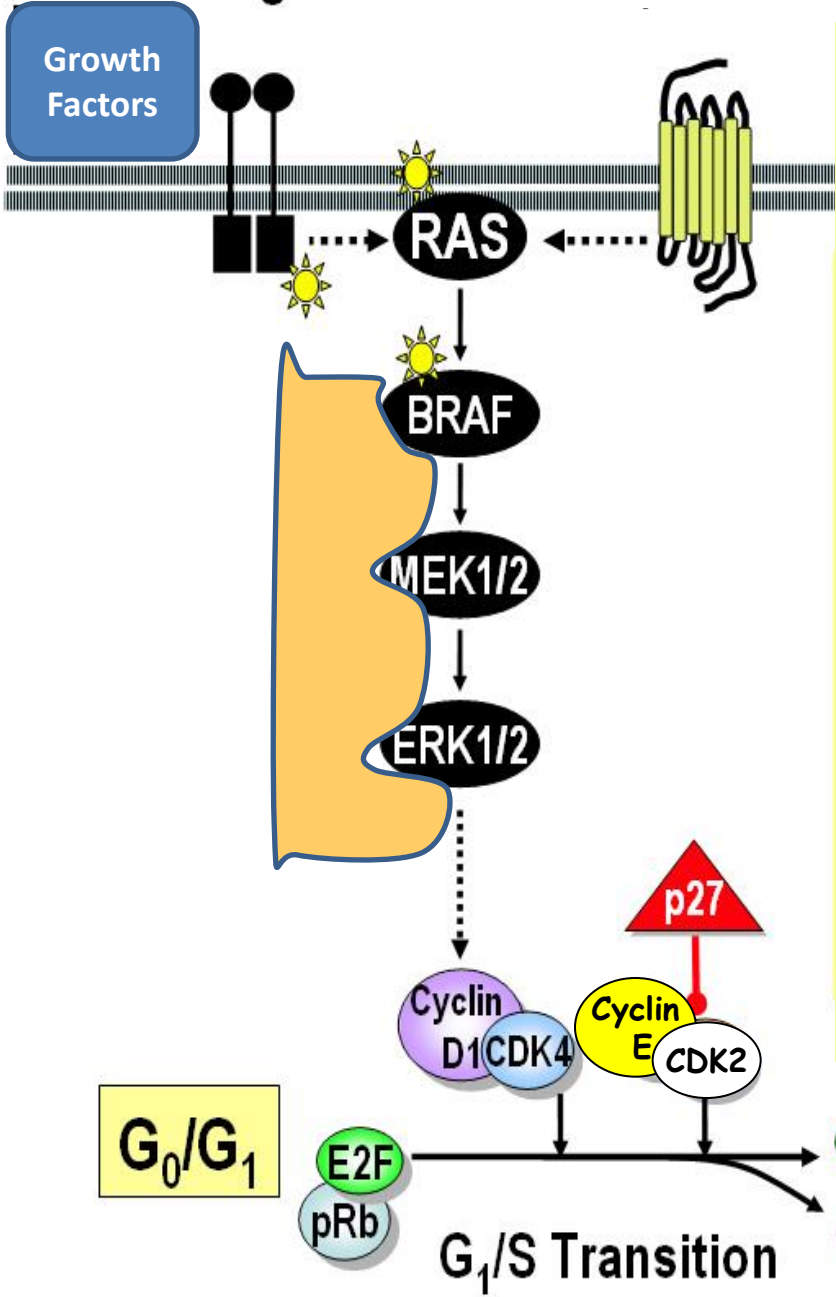


Καθοδηγεί το κύτταρο κατά τη φάση G1

Όταν το κύτταρο βρίσκεται στη φάση G₀ για να μεταβεί στην S χρειάζεται ενεργοποίηση των Ras σε δύο σημεία: Ένα για την είσοδο από την G₀ στην G₁, και ένα για την είσοδο από την G₁ στην S.



Regulation of the G_0/G_1 Transition by the ERK1/2 Pathway



Η σύνθεση της κυκλίνης D επάγεται από αυξητικούς παράγοντες, μέσω της σηματοδότησης του μονοπατιού Ras/Raf/MEK/ERK, και συνεχίζεται για όσο διάστημα οι αυξητικοί παράγοντες είναι διαθέσιμοι.

Ωστόσο, η κυκλίνη D αποικοδομείται ταχύτατα μετά την απομάκρυνση των αυξητικών παραγόντων και η συγκέντρωσή της μειώνεται ραγδαία. Επομένως, εφόσον υπάρχουν διαθέσιμοι αυξητικοί παράγοντες κατά την G_1 , δημιουργούνται σύμπλοκα Cdk4, 6/κυκλίνης D τα οποία προωθούν τη διέλευση από το σημείο περιορισμού.

Αν όμως οι αυξητικοί παράγοντες απομακρυνθούν πριν από αυτό το καθοριστικό ρυθμιστικό σημείο του κυτταρικού κύκλου, τα επίπεδα της κυκλίνης D μειώνονται ταχύτατα και τα κύτταρα δεν μπορούν να μεταβούν από την G_1 στην S , αλλά εισέρχονται στην G_0 .

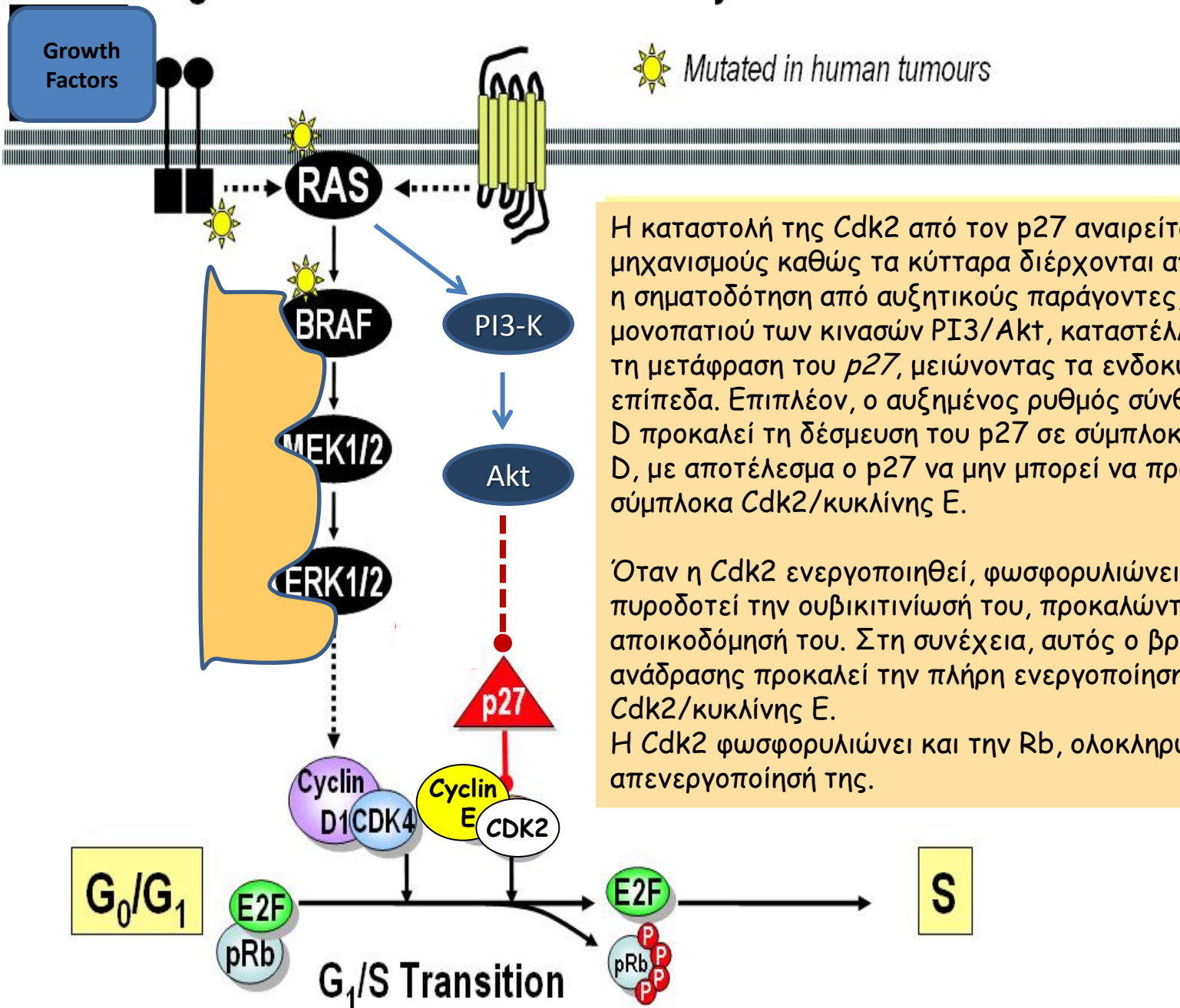
Με άλλα λόγια, η δυνατότητα επαγωγής της σύνθεσής της και η ταχύτατη ανακύκλωση της κυκλίνης D1 επιτρέπουν τη σύνδεση της σηματοδότησης από αυξητικούς παράγοντες με το μηχανισμό του κυτταρικού κύκλου, επιτρέποντας τη ρύθμιση της διέλευσης των κυττάρων από την G_1 ανάλογα με τη διαθεσιμότητα εξωκυτταρικών αυξητικών παραγόντων.

G_0/G_1

S

G_1/S Transition

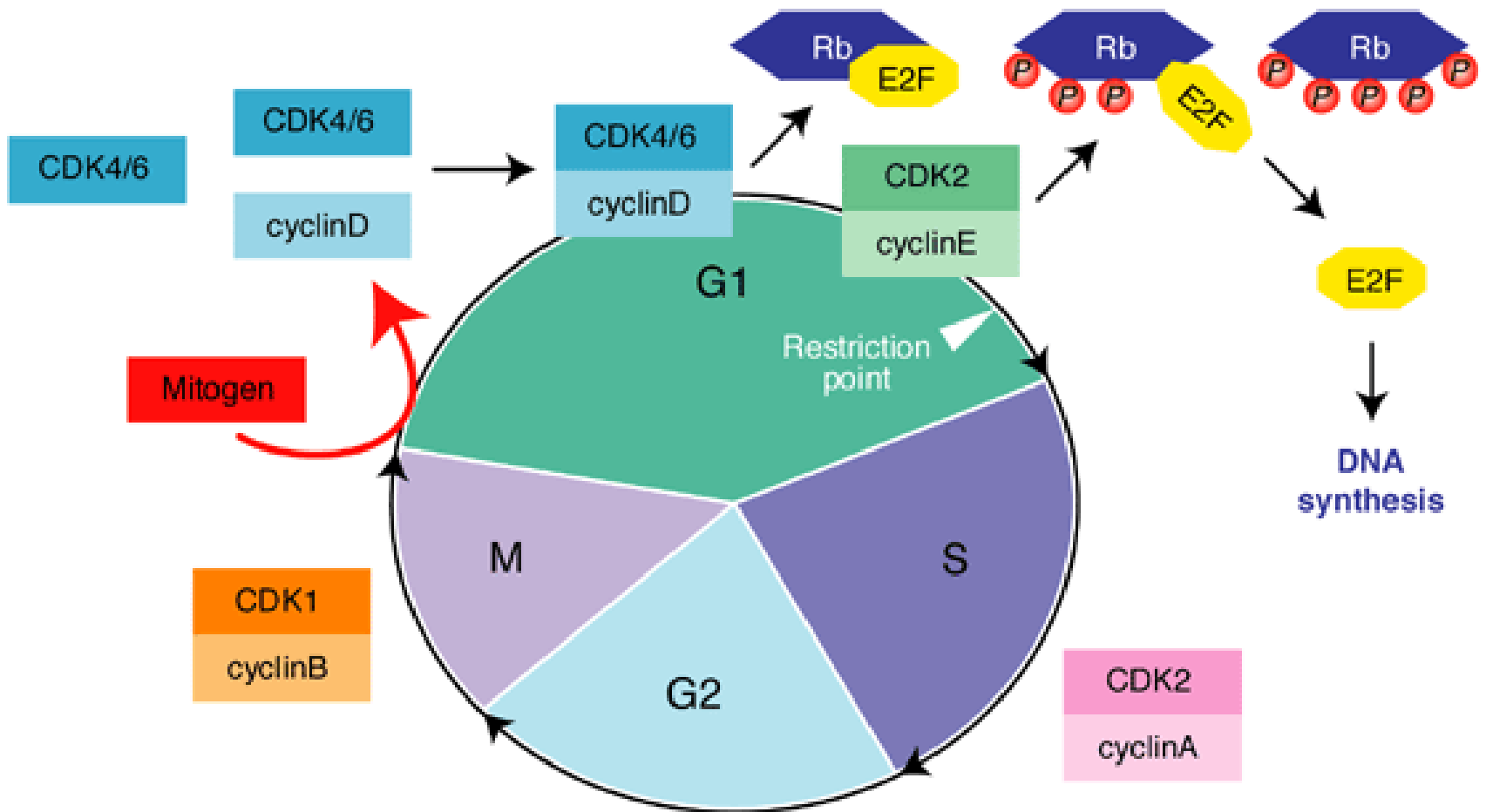
Regulation of the G_1/S Transition by the PI3-K/Akt Pathway



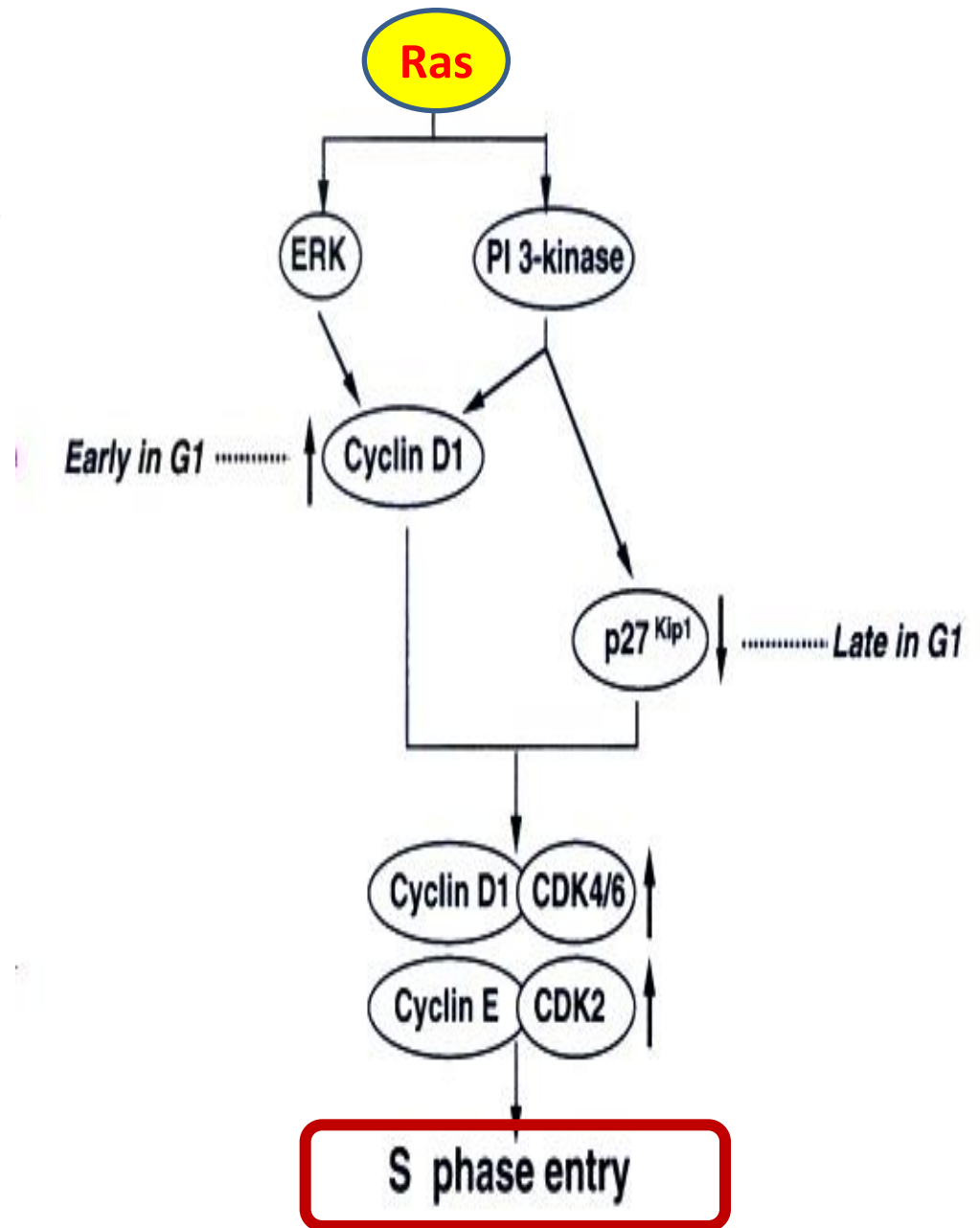
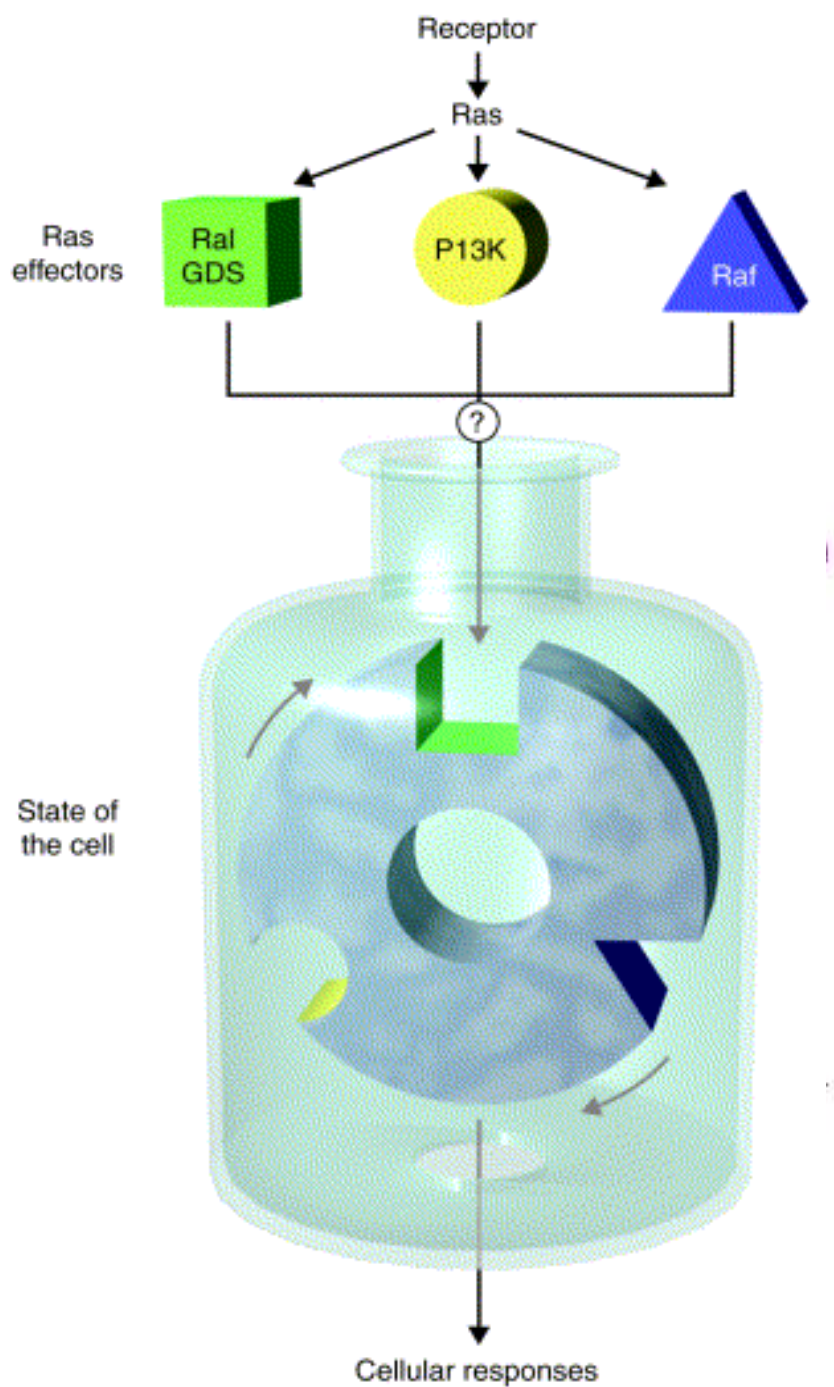
Η καταστολή της Cdk2 από τον p27 αναιρείται με πολλαπλούς μηχανισμούς καθώς τα κύτταρα διέρχονται από την G_1 . Πρώτον, η σηματοδότηση από αυξητικούς παράγοντες, μέσω του μονοπατιού των κινασών PI3/Akt, καταστέλλει τη μεταγραφή και τη μετάφραση του p27, μειώνοντας τα ενδοκυτταρικά του επίπεδα. Επιπλέον, ο αυξημένος ρυθμός σύνθεσης της κυκλίνης D προκαλεί τη δέσμευση του p27 σε σύμπλοκα Cdk4, 6/κυκλίνης D, με αποτέλεσμα ο p27 να μην μπορεί να προσδεθεί σε σύμπλοκα Cdk2/κυκλίνης E.

Όταν η Cdk2 ενεργοποιηθεί, φωσφορυλιώνει τον p27 και πυροδοτεί την ουβικιτινίωσή του, προκαλώντας την πλήρη αποικοδόμησή του. Στη συνέχεια, αυτός ο βρόχος θετικής ανάδρασης προκαλεί την πλήρη ενεργοποίηση των συμπλόκων Cdk2/κυκλίνης E.

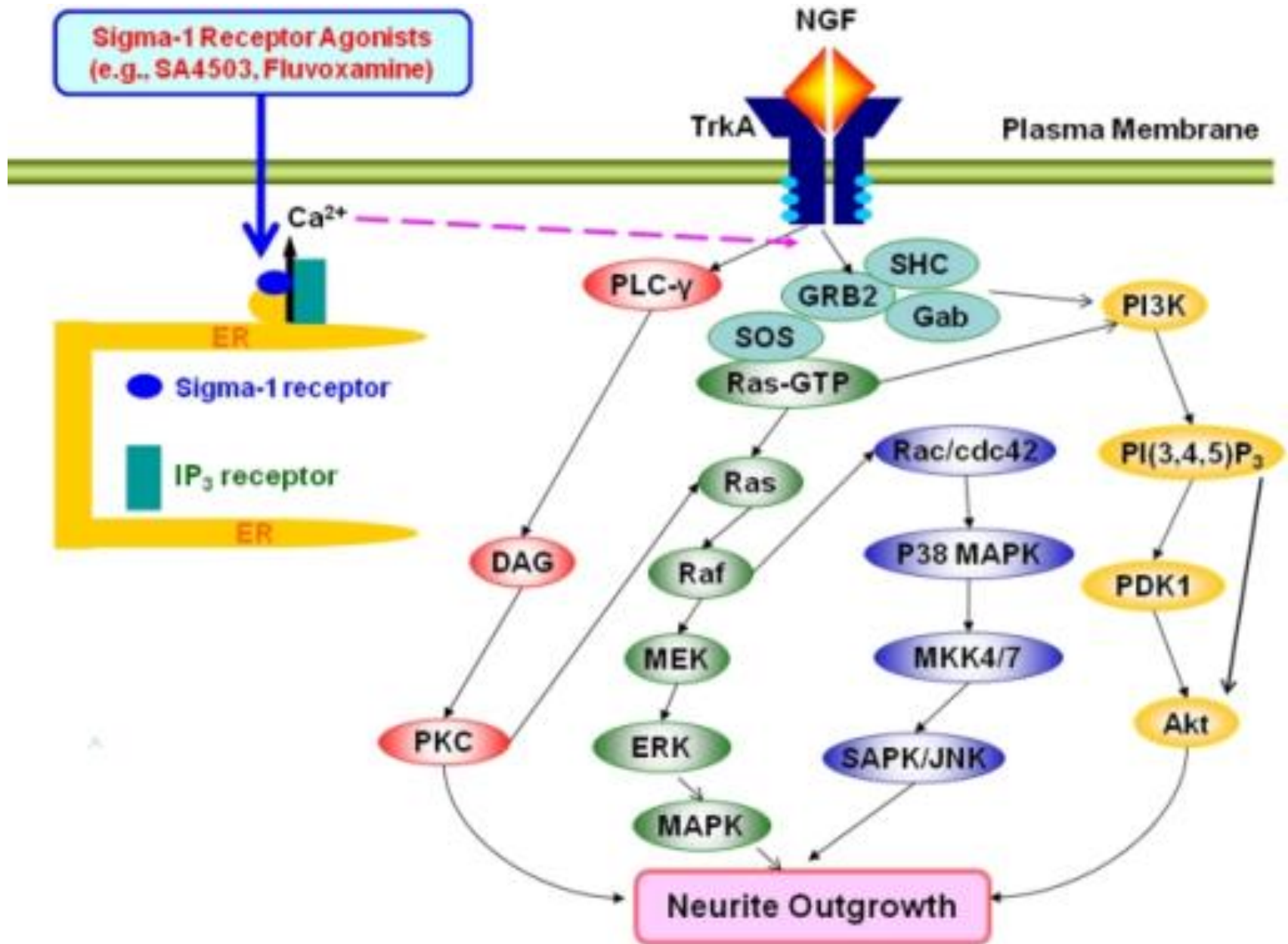
Η Cdk2 φωσφορυλιώνει και την Rb, ολοκληρώνοντας την απενεργοποίησή της.



Mitogens drive cell cycle progression by induction of cyclinD and inactivation of the retinoblastoma (Rb) protein



Θετική επίδραση των N-Ras στη διαφοροποίηση των νευρικών κυττάρων



Αρνητική επίδραση των Ras στη διαφοροποίηση των μυϊκών κυττάρων

Ο μεταγραφικός παράγοντας MyoD καθοριστικό ρόλο στη διαφοροποίηση των μυοβλαστικών κυττάρων σε μυϊκά

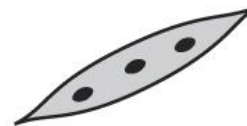
mesodermal progenitor



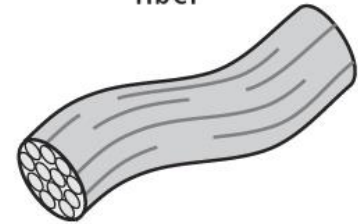
myoblasts



multinucleate myotube



muscle fiber



external signals

mrf4

Determination

pax3

pax3

myoD

myf5
mrf4

Differentiation

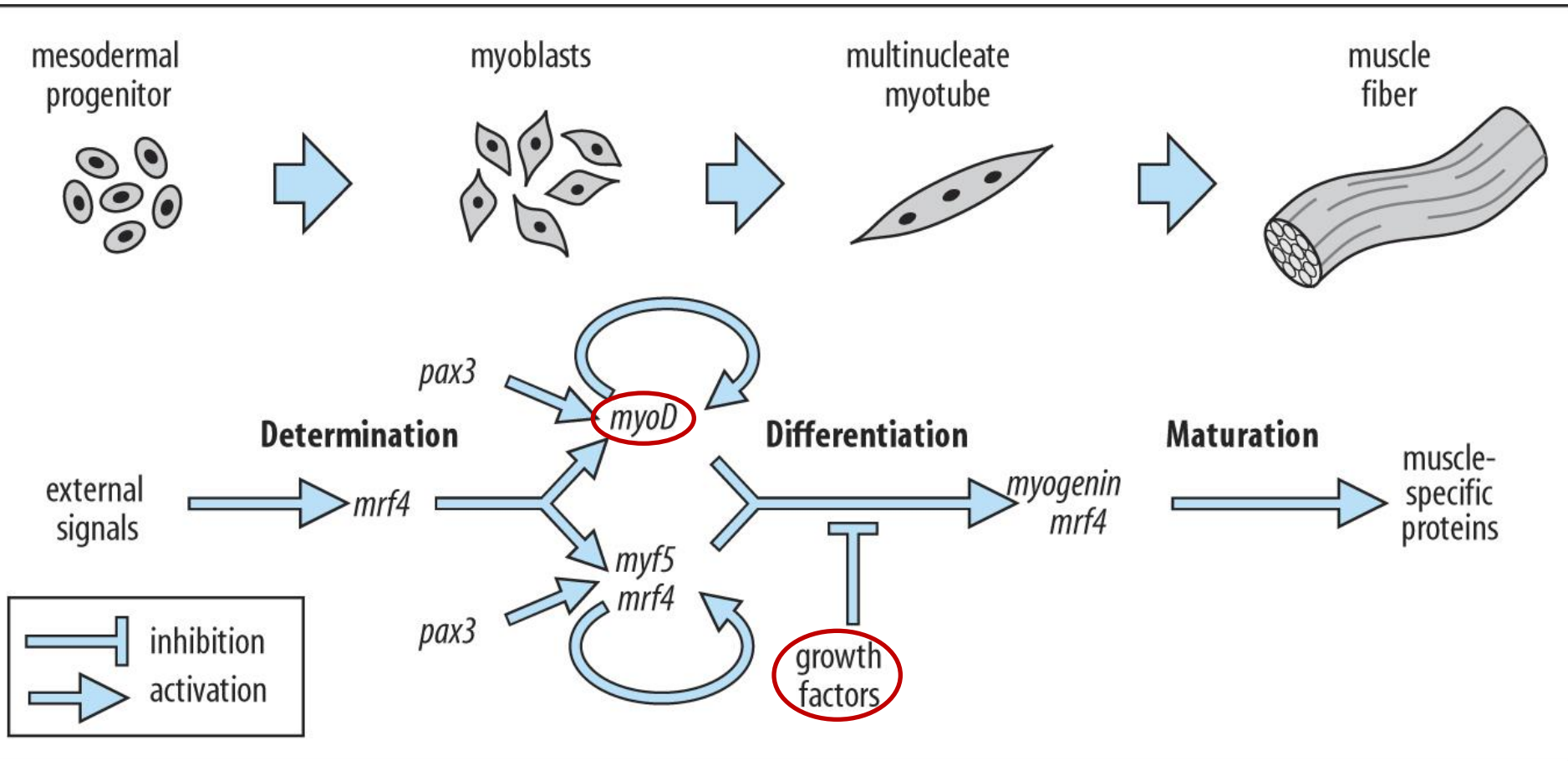
myogenin
mrf4

Maturation

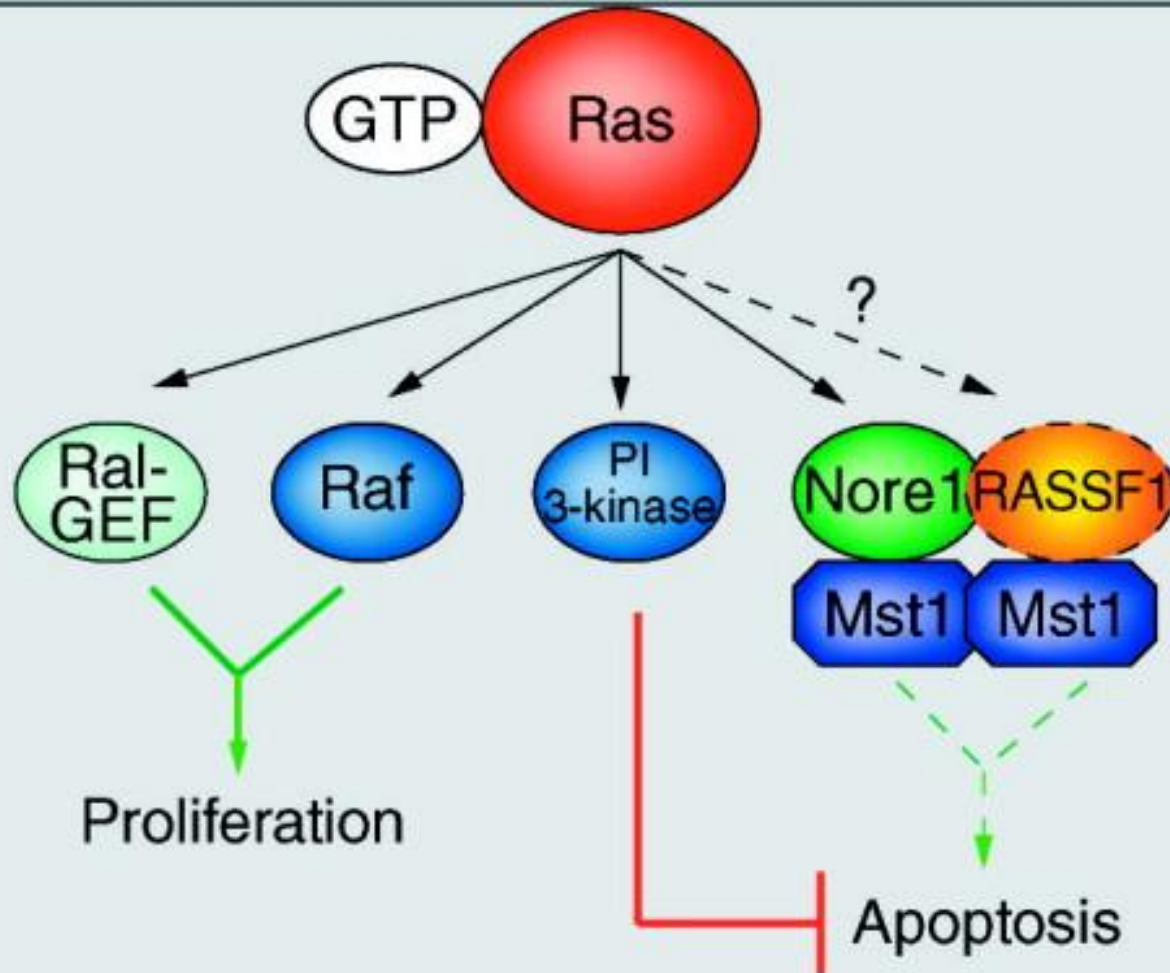
muscle-specific proteins

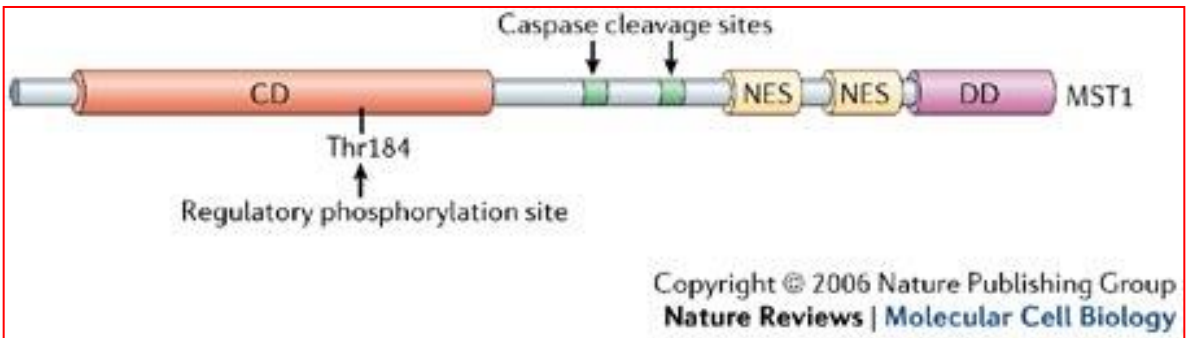
inhibition
activation

growth factors



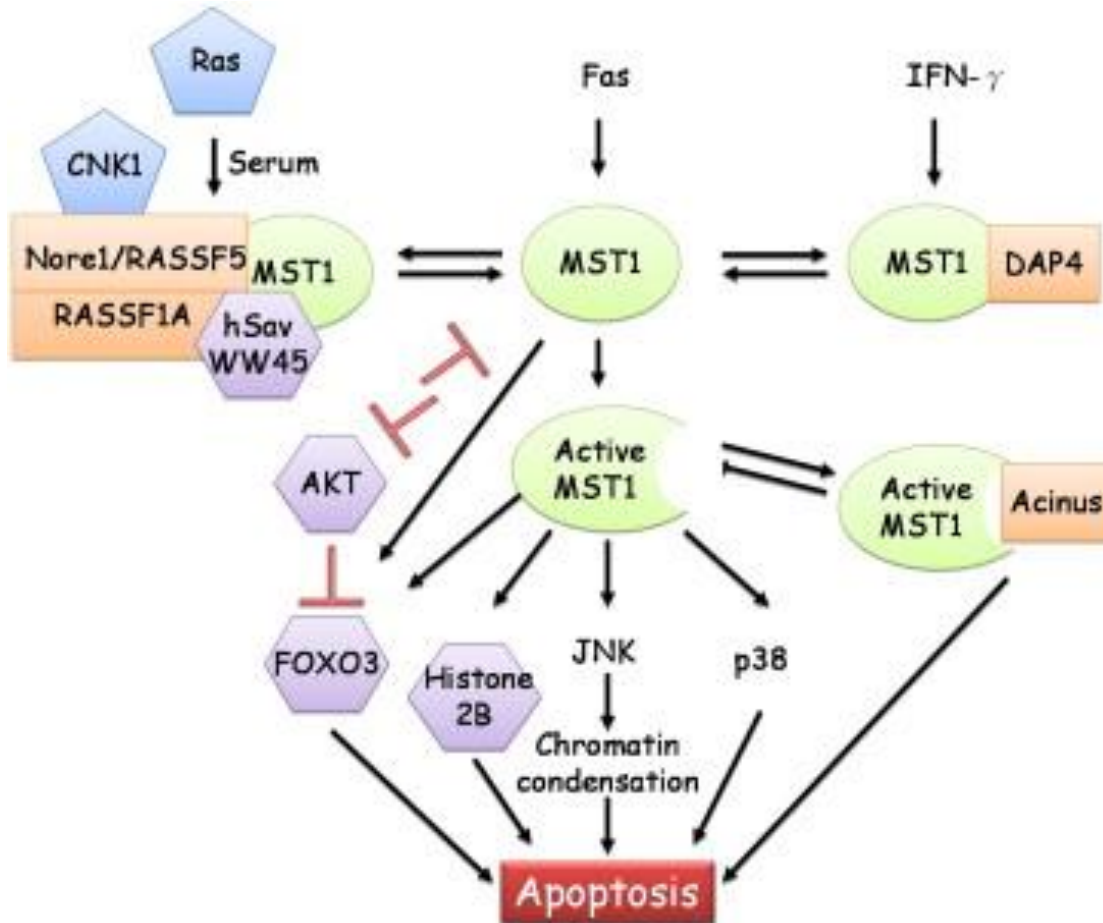
Η Ras μπορεί να προωθήσει την απόπτωση μέσω του συμπλέγματος Nore1 (Novel Ras effector)-RASSF1-Mst1 (mammalian Ste20-like kinase)



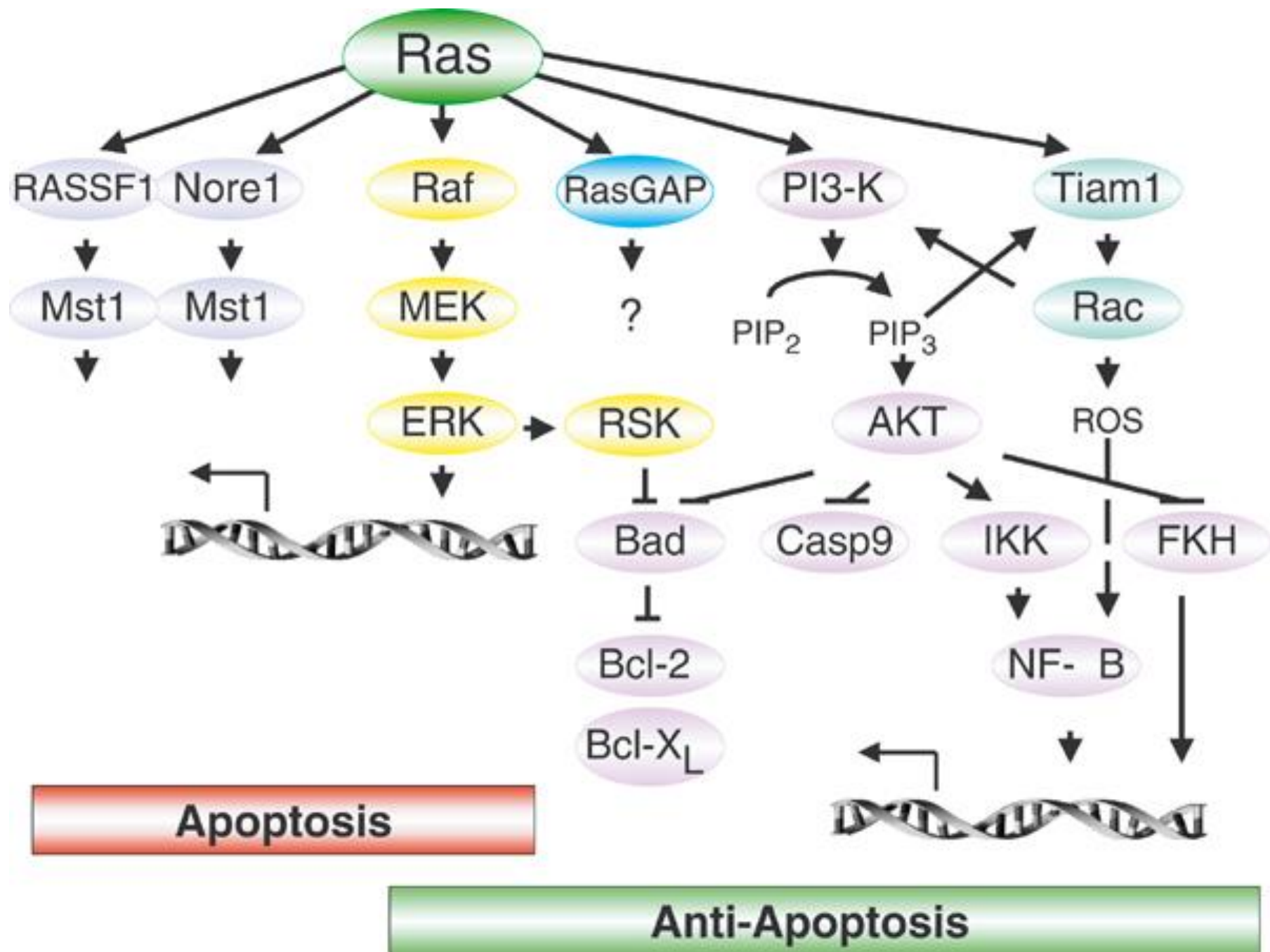


Η Nore1 προσδέεται στη Mst1, μια πρωτεϊνική κινάση που εμπλέκεται στη διαδικασία της απόπτωσης.

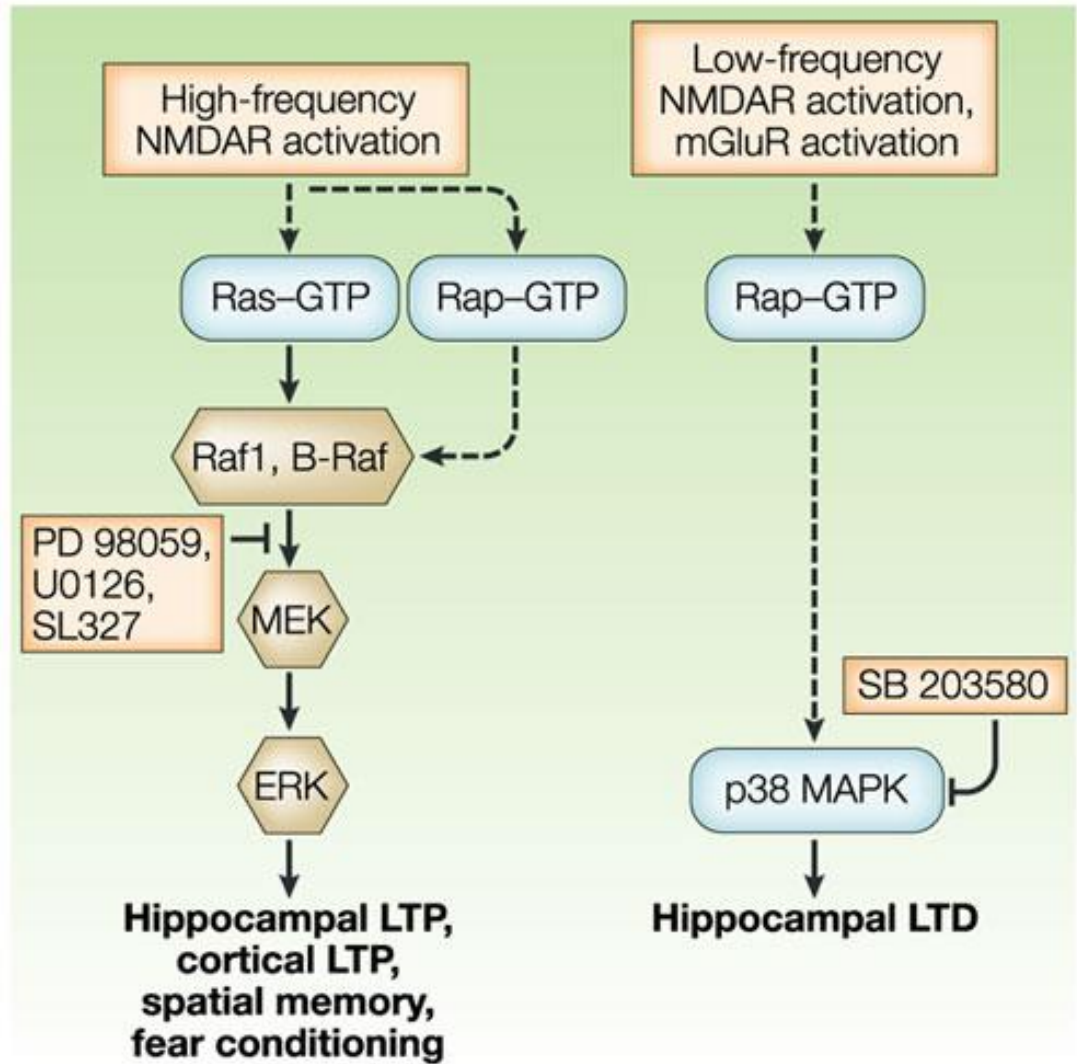
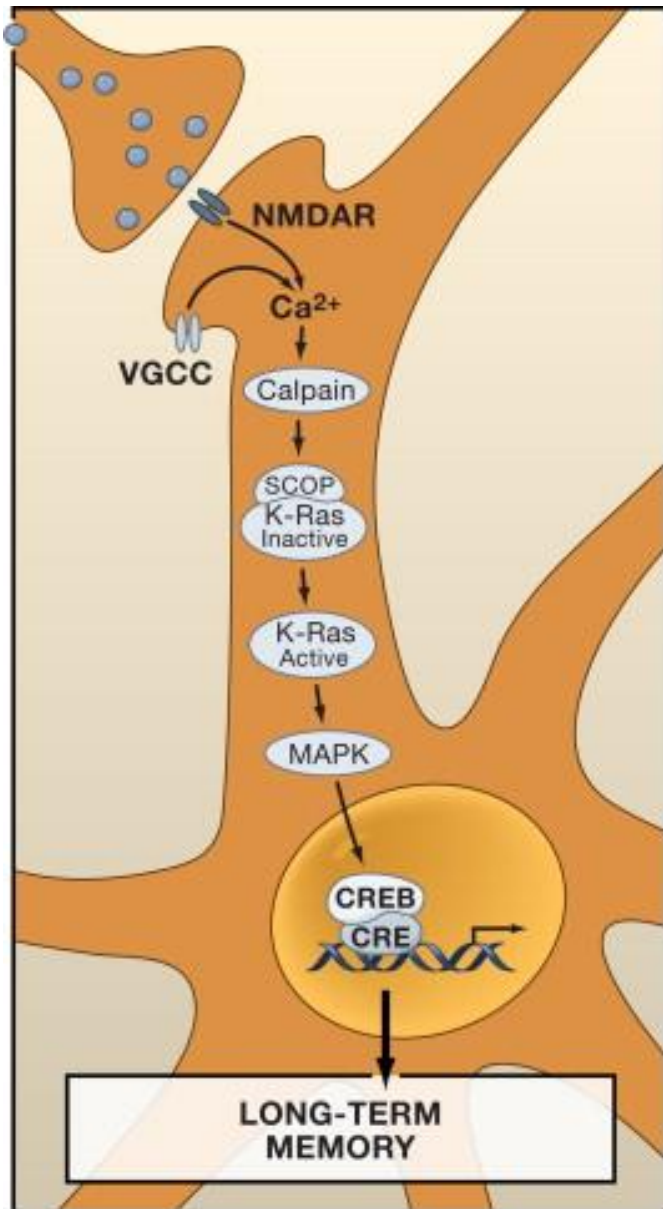
Η Mst1 ενεργοποιεί την κασπάση 3, η οποία αποκόπτοντας από το καρβοξυτελικό άκρο της Mst1 το τμήμα που αναστέλλει το διμερισμό της, την καθιστά ενεργή.



Ενεργοποίηση της Mst1 προκαλεί επίσης και η έκθεση των κυττάρων στον προσδέτη Fas, ο οποίος κατεξοχήν προωθεί την απόπτωση.

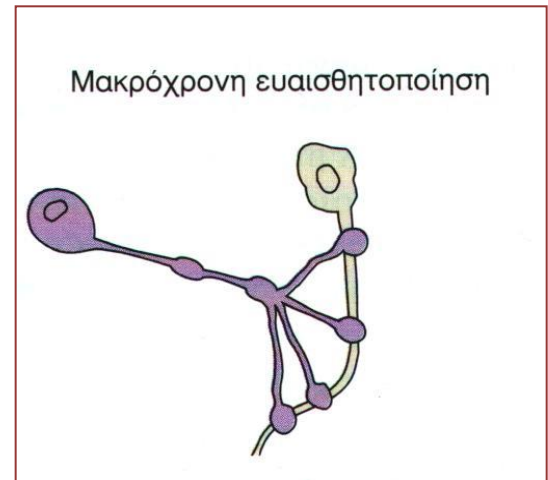
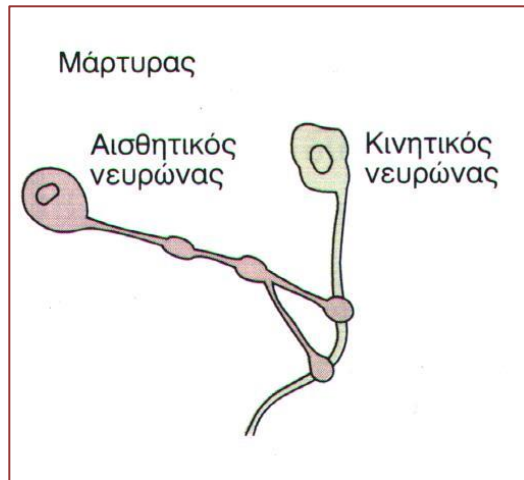
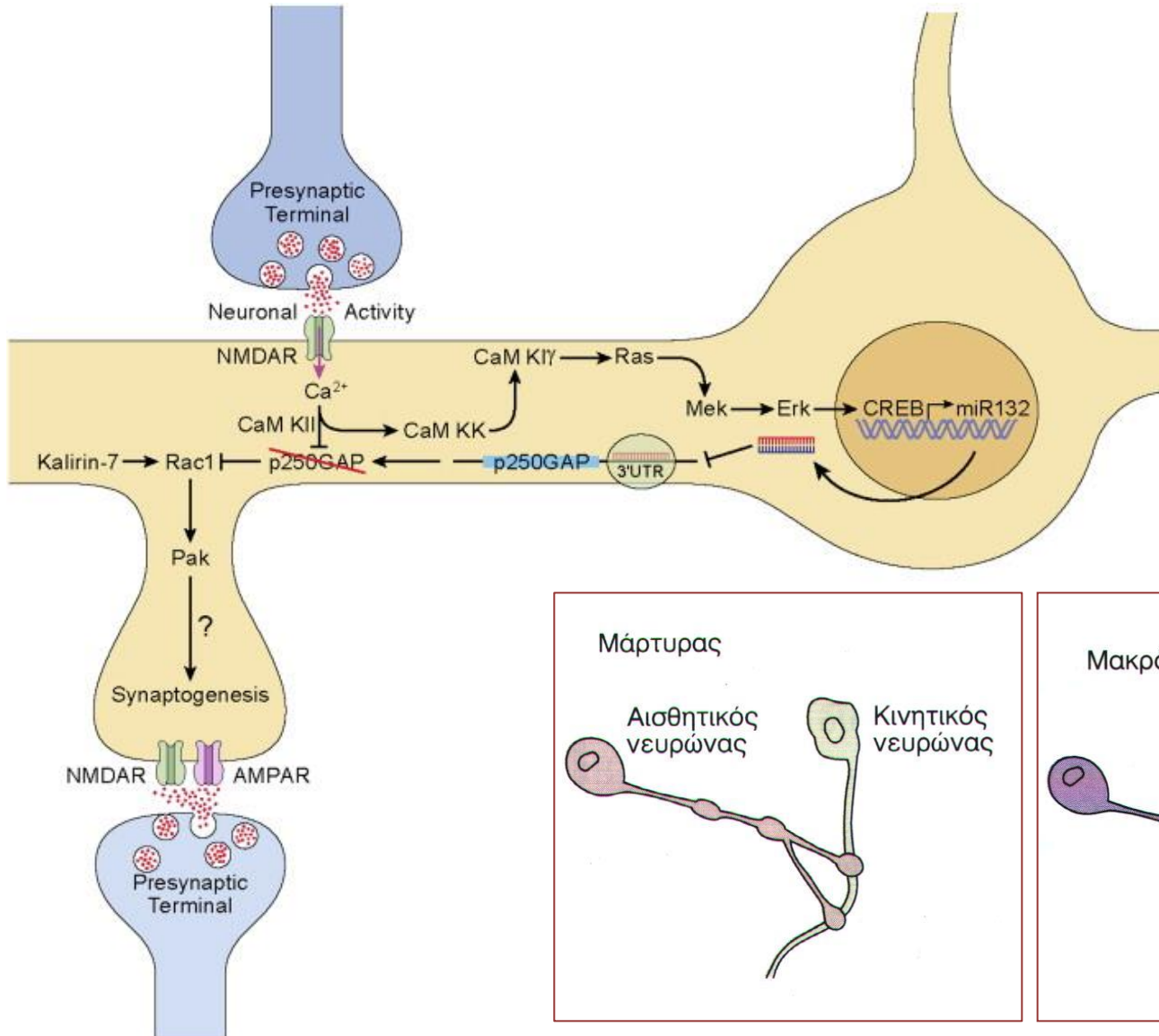


Το μονοπάτι των Ras/MAPKs στη μνήμη μακράς διάρκειας



Η λειτουργία της μνήμης απαιτεί αλλαγές στη συναπτική διαβίβαση:

- Η μνήμη βραχείας διάρκειας εξαρτάται από τη μετατροπή προϋπαρχόντων πρωτεϊνών ενώ
- Η μνήμη μακράς διάρκειας απαιτεί αλλαγές στην έκφραση γονιδίων και σύνθεση νέων πρωτεϊνών που επάγουν τη συναπτογένεση (δημιουργία νέων συνάψεων).



Πρωτεΐνες Rho/Rac/Cdc42

Η απομόνωση του *Rho-A*, του πρώτου μέλους της οικογένειας Rho/Rac, απομονώθηκε από την ομάδα του Richard Axel το 1985, ψάχνοντας για γονίδια ομόλογα των *ras* στην *Aplysia*. Έκτοτε γονίδια *rho* αναγνωρίστηκαν σε όλα τα είδη:

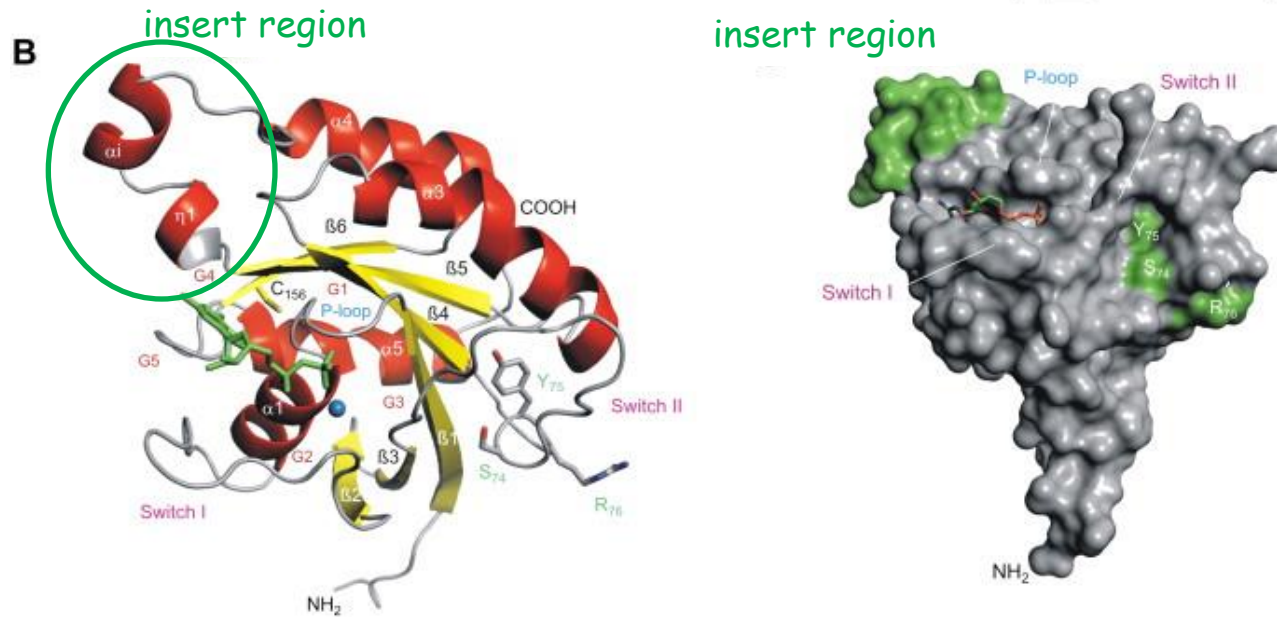
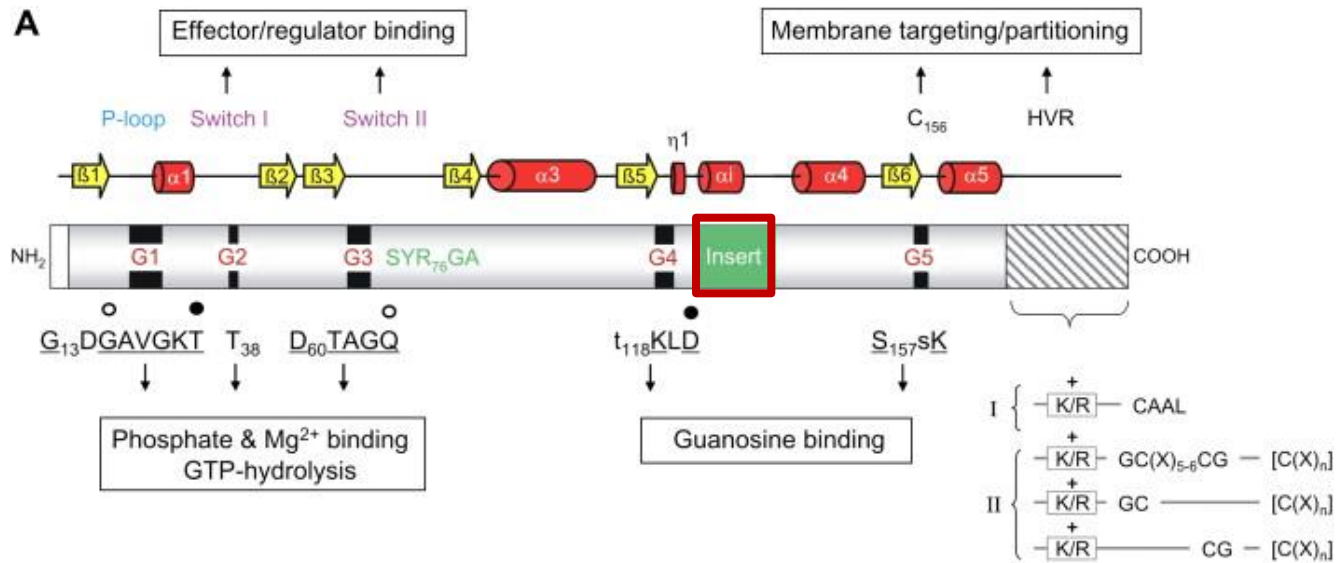
- στη ζύμη *S. Cerevisiae* (7 γονίδια),
- στο φυτό *Arabidopsis thaliana* (11 γονίδια),
- στο *C. elegans* (9 γονίδια),
- στη *D. Melanogaster* (9 γονίδια) και
- στον άνθρωπο (23 γονίδια).

Σύμφωνα με την ομολογία της αμινοξικής τους αλληλουχίας, οι πρωτεΐνες Rho (Ras homologous) κατατάσσονται σε 6 υπο-οικογένειες:

1. **Rho** : Ras homology (RhoA, RhoB, RhoC),
2. **Rac** : Related to A- and C-kinases (Rac1, Rac2, Rac3, RhoG),
3. **Cdc42-like** : cell-cycle defective cell type (Cdc42, TC10, TCL, Wrch1,Chp),
4. **Rnd** (Rnd1, Rnd2, Rnd3),
5. **RhoBTB** (RhoBTB1, RhoBTB2, RhoBTB3) και
6. **Miro** (Miro1, Miro2).

Υπάρχουν και κάποιες Rho, οι οποίες δεν ρυθμίζονται όπως τα άλλα μέλη της οικογένειας, θεωρούνται «άτυπες», όπως οι RhoT.

Οι Rho πρωτεΐνες διαφέρουν από τις υπόλοιπες μικρές GTPάσες γιατί περιέχουν ένα Rho insert domain 13α ανάμεσα στο β5 πτυχωτό φύλλο και την α4 έλικα, που εμπλέκεται στην ενεργοποίηση τελεστών των Rho

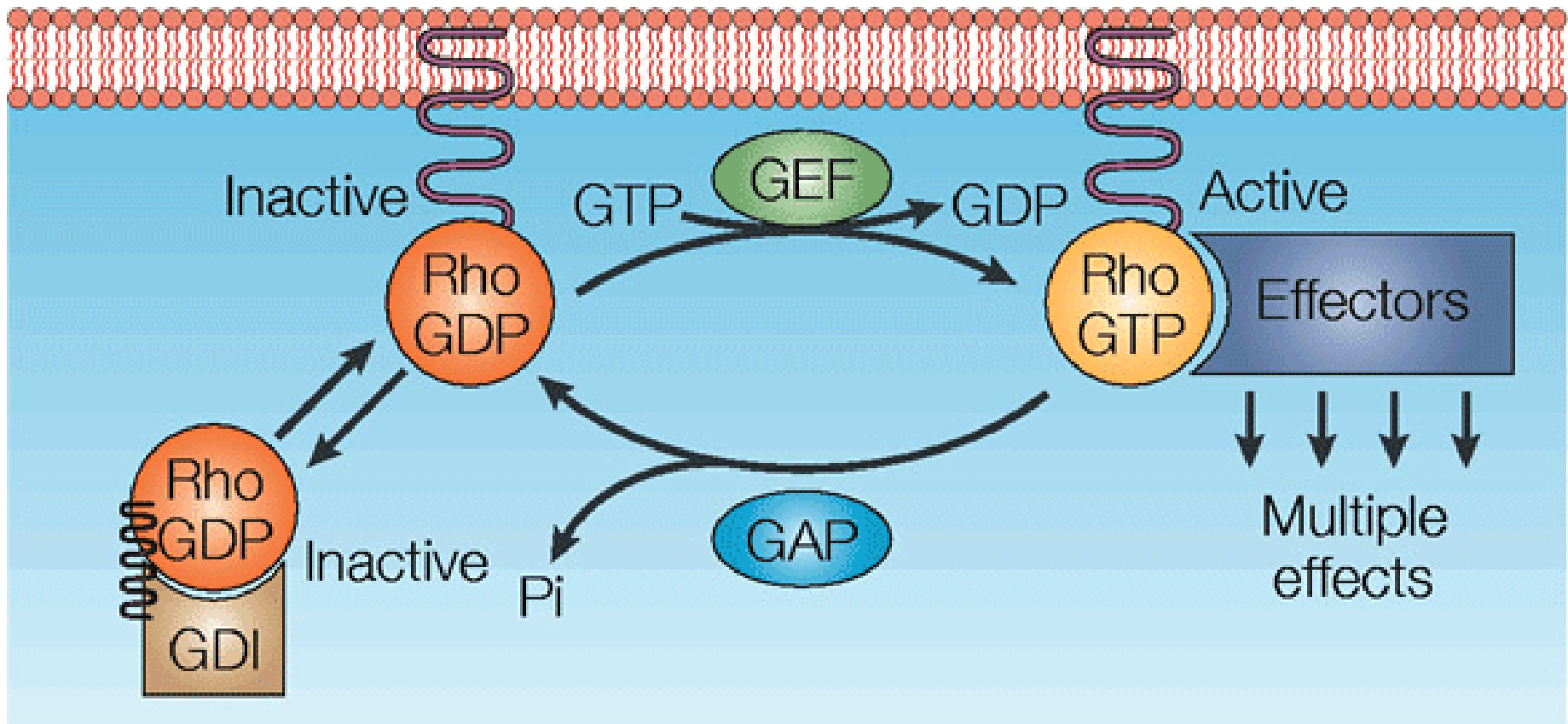


Σε αντίθεση με τις Ras, οι οποίες είναι αγκυροβολημένες στη μεμβράνη, οι Rho GTPάσες μετακινούνται από το κυτταρόπλασμα στη μεμβράνη.

Η λιπιδιακή άγκυρα που τις συνδέει στη μεμβράνη είναι ένα γερανυλ-γερανύλιο.

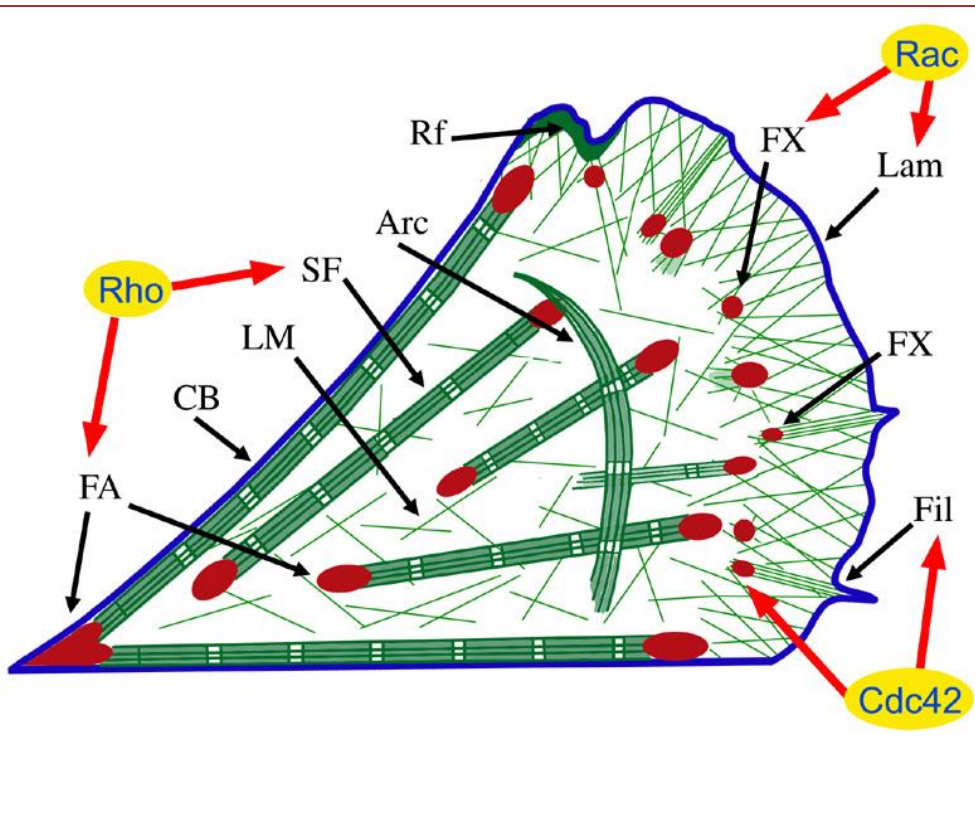
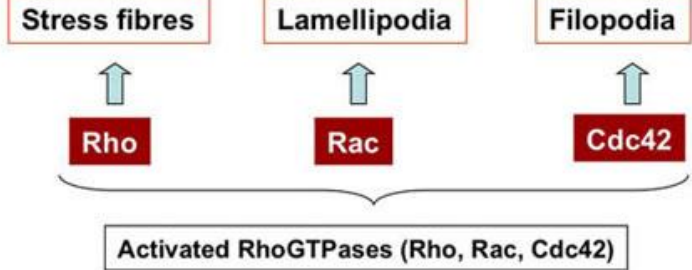
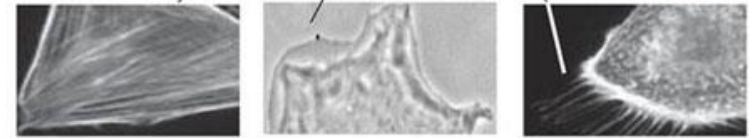
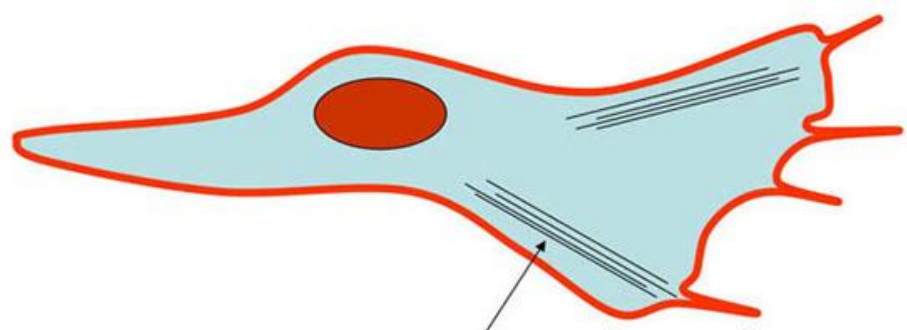
Στη GDP-Rho ανενεργή μορφή, η λιπιδιακή αλυσίδα κρύβεται λόγω της σύνδεσής της με μια **GDI** (GDP dissociation inhibitor) καθιστώντας τη Rho κυτταροπλασματική.

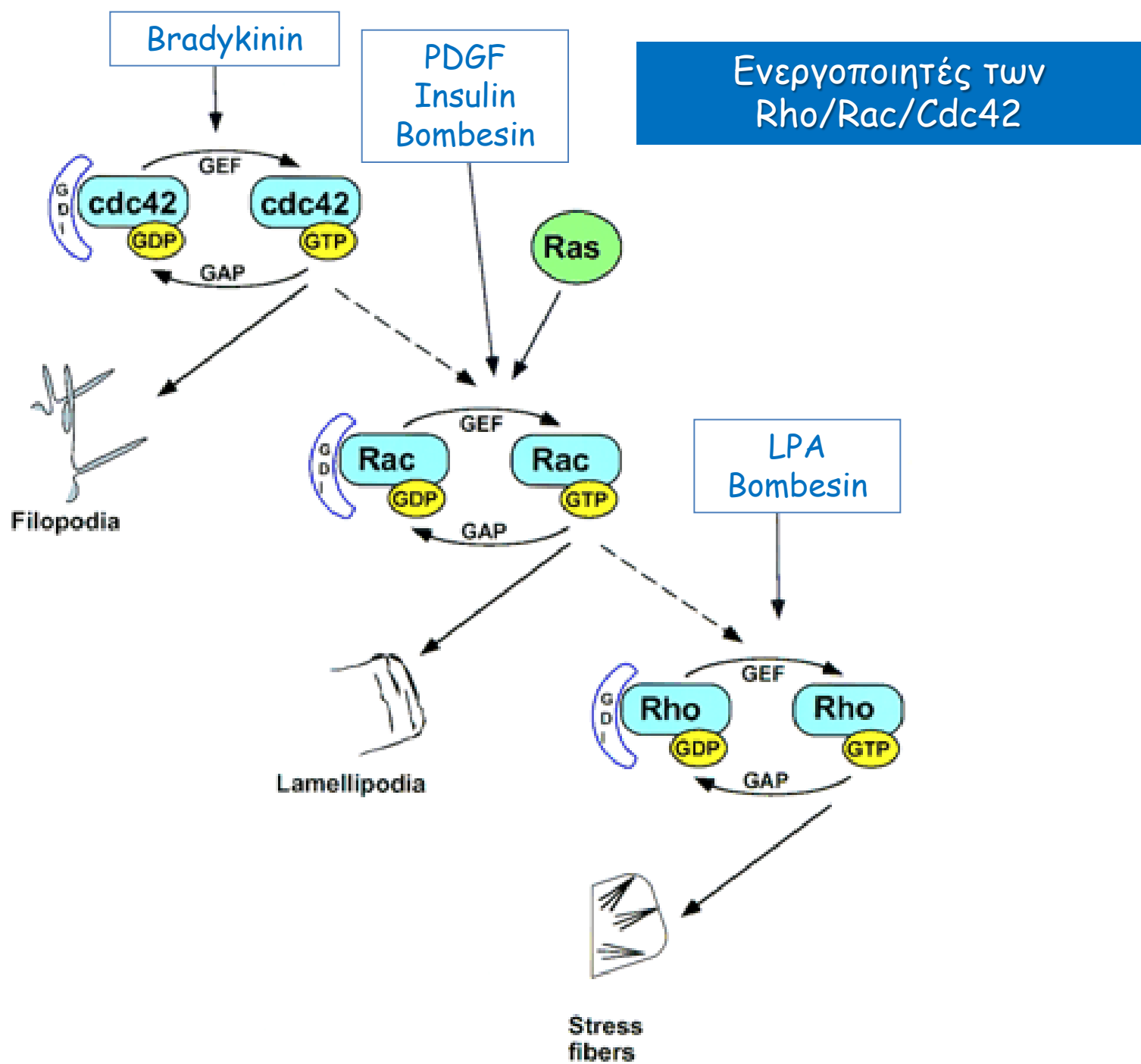
Ο τρόπος με τον οποίο απομακρύνεται η GDI και η Rho μεταφέρεται στη μεμβράνη, όπου με τη βοήθεια του GEF ανταλλάσσει το GDP Με GDP και ενεργοποιείται δεν είναι ακόμη γνωστός.



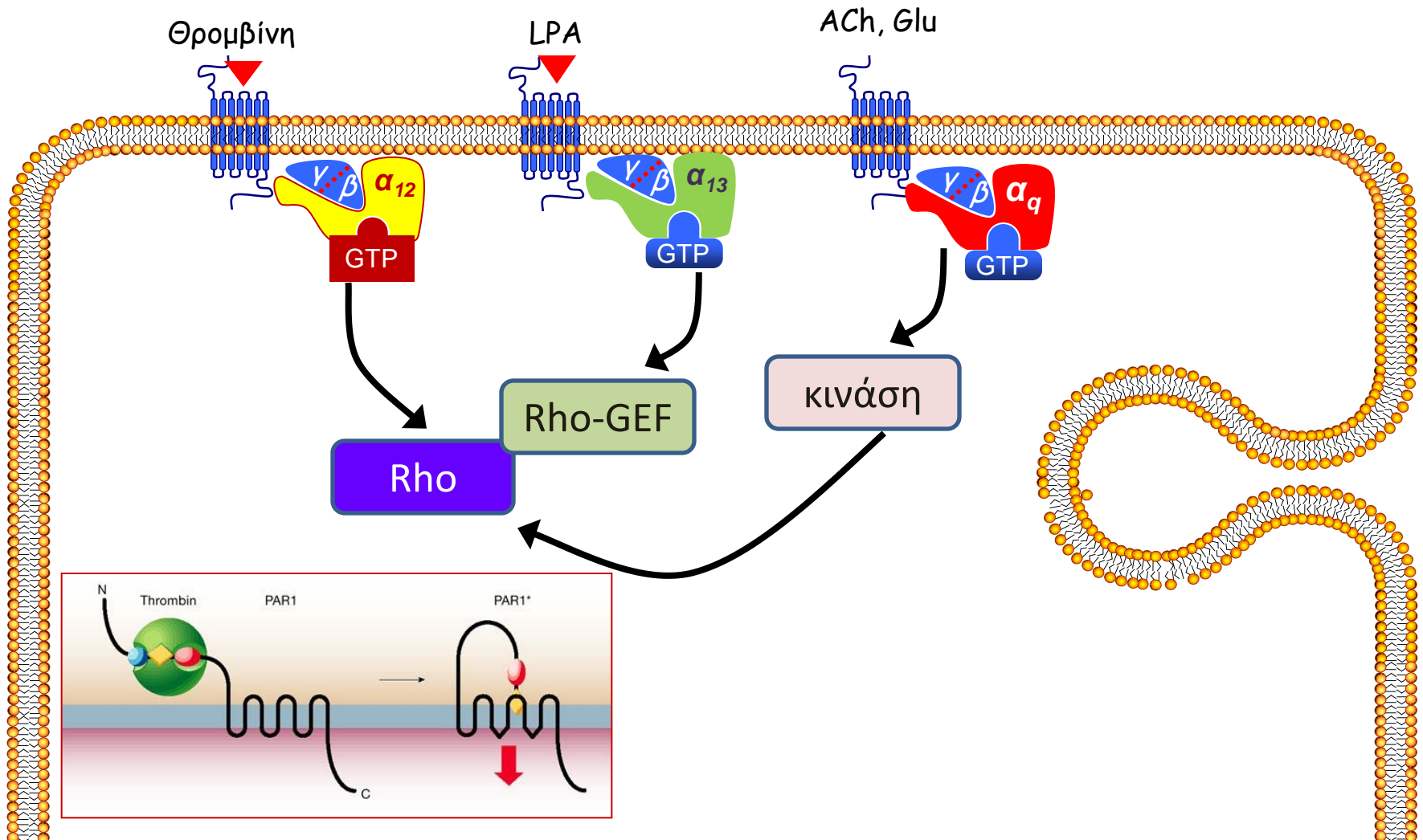
Ο ρόλος των Rho στους ινοβλάστες:

- η δημιουργία **ινιδίων πίεσης** της ακτίνης (ινίδια πίεσης δημιουργούνται όταν ο ινοβλάστης διατηρεί σταθερή σύνδεση με το υπόστρωμά του),
- η δημιουργία **φιλοποδίων** (προεκβολές της μεμβράνης, όμοιες με δάχτυλα, πλούσιες σε ακτίνη) και
- **ελασματοποδίων** (προεξοχές της μεμβράνης πλούσιες σε ακτίνη).



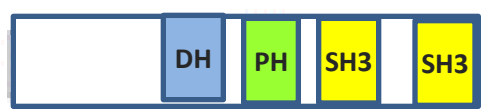


Ενεργοποίηση των Rho από GPCRs



- Ο υποδοχέας της Θρομβίνης ενεργοποιεί την G α_{12} , η οποία δρα απευθείας στη Rho
- Ο υποδοχέας του LPA ενεργοποιεί την G α_{13} , η οποία ενεργοποιεί τη Rho-GEF.
- Ο υποδοχέας της ακετυλοχολίνης και του γλουταμινικού ενεργοποιούν την G α_q , η οποία δρα μέσω ενός μηχανισμού που απαιτεί την ενεργοποίηση μιας κινάσης.

GEFs	GTPases	Τελεστές	Κυτταρική δράση
------	---------	----------	-----------------



Tiam1

Trio

Vav

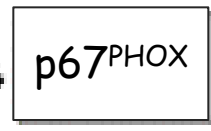
p190RhoGEF

Tuba

GTPases



Τελεστές



Συνδέσεις προσκόλλησης

Ενεργοποίηση JNK
Οργάνωση του
ΚΥΤΤΑΡΟΣΚΕΛΕΤΟΥ

Οξείδωση NADH
Μεταγραφή (NF-κB)

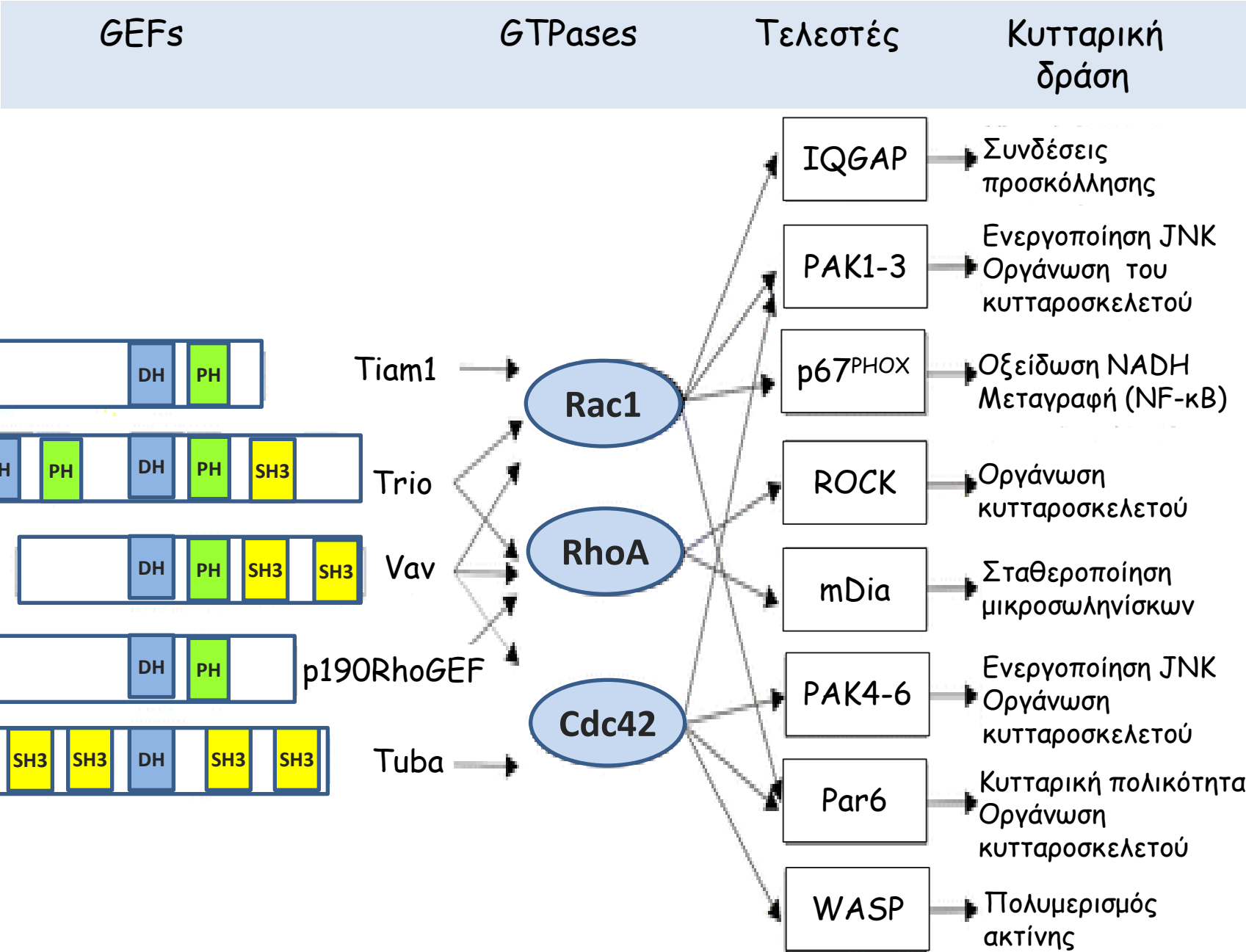
Οργάνωση
ΚΥΤΤΑΡΟΣΚΕΛΕΤΟΥ

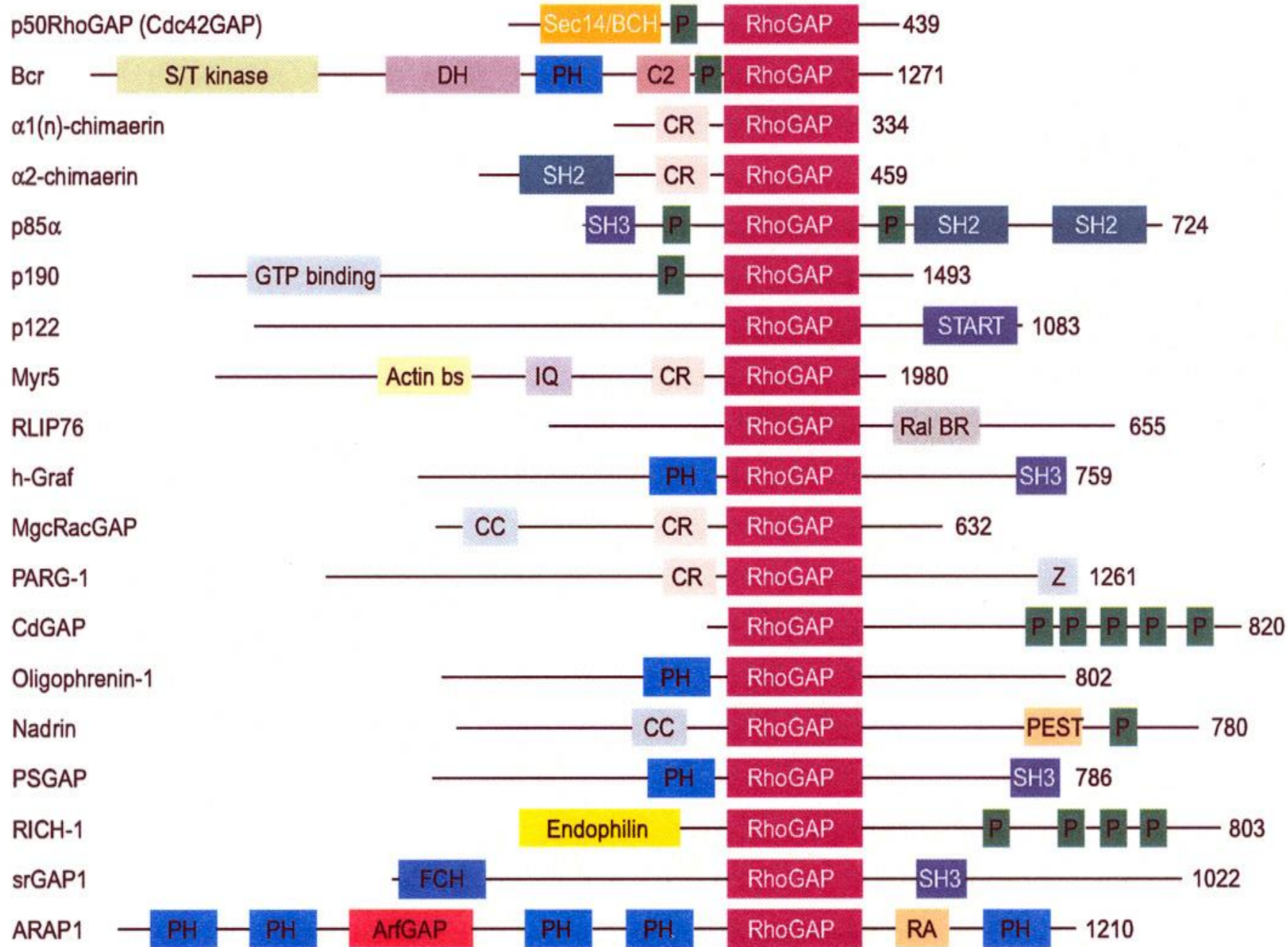
Σταθεροποίηση
μικροσωληνίσκων

Ενεργοποίηση JNK
Οργάνωση
ΚΥΤΤΑΡΟΣΚΕΛΕΤΟΥ

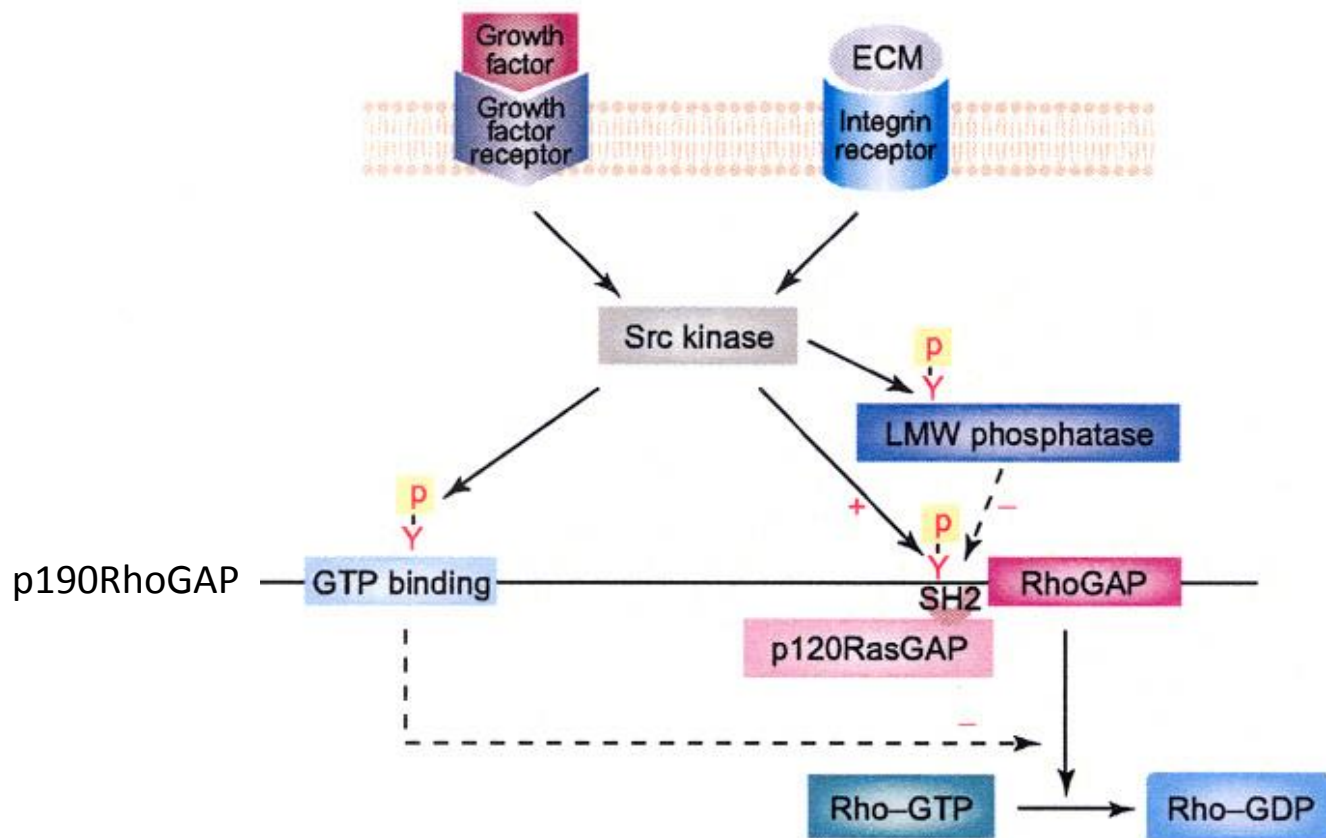
Κυτταρική πολικότητα
Οργάνωση
ΚΥΤΤΑΡΟΣΚΕΛΕΤΟΥ

Πολυμερισμός
ακτίνης





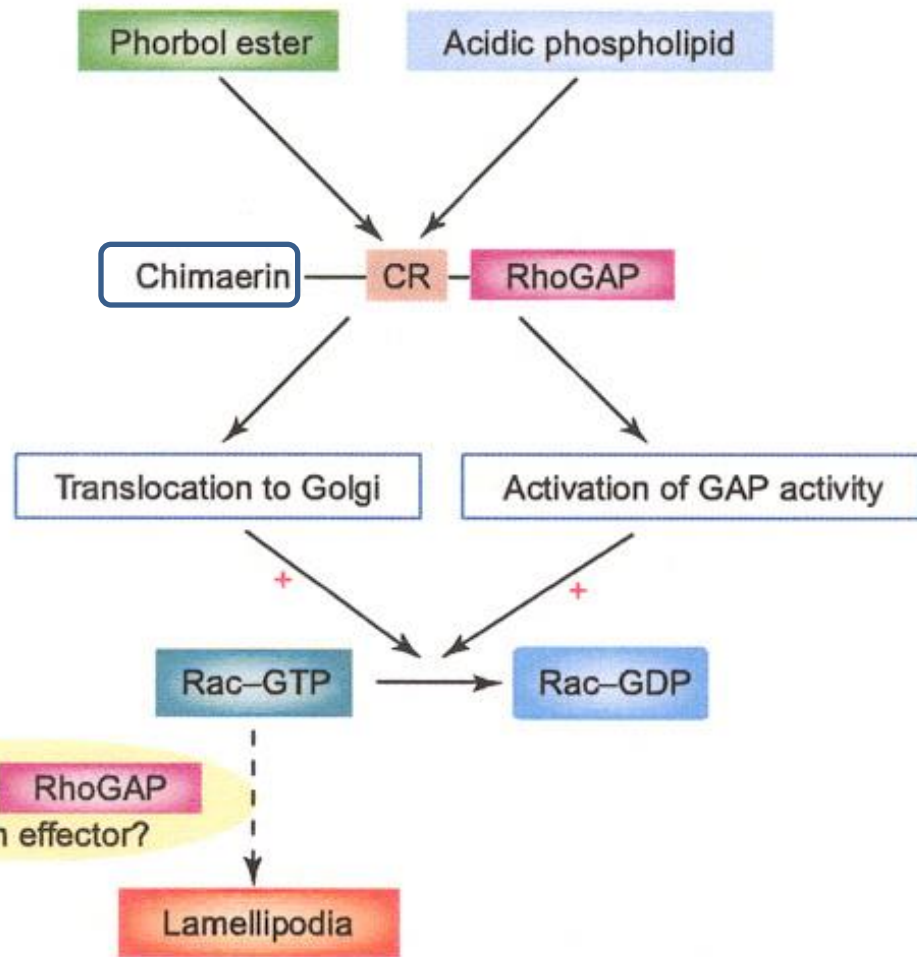
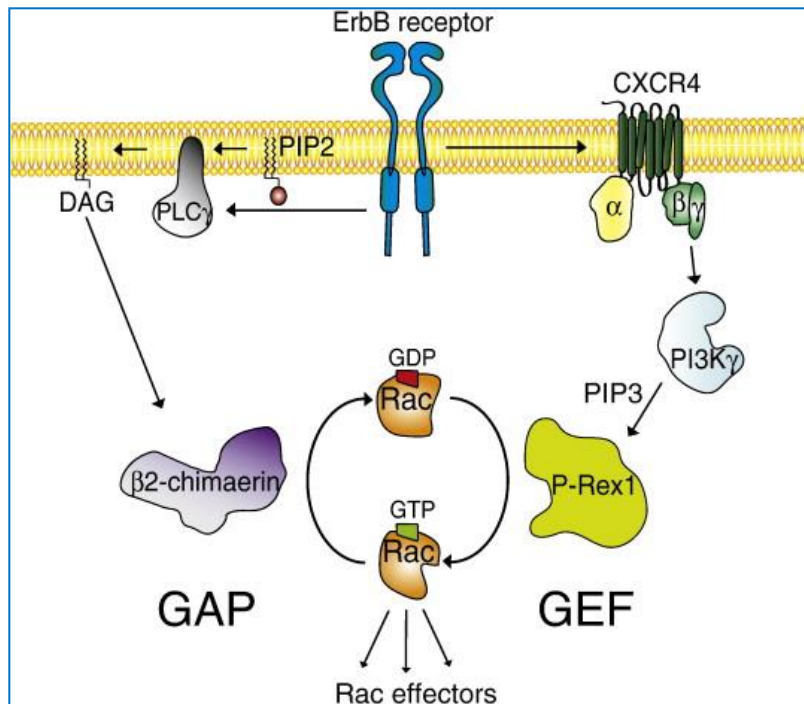
Ενεργοποίηση της p190Rho-GAP από φωσφορυλίωση



Η φωσφορυλίωση της τυροσίνης της p190RhoGAP από την Src επιτρέπει τη σύνδεσή της με την p120 RasGAP, τη μετακίνησή της στην πλασματική μεμβράνη και την ενεργοποίησή της καταλυτικής της δραστηριότητας.

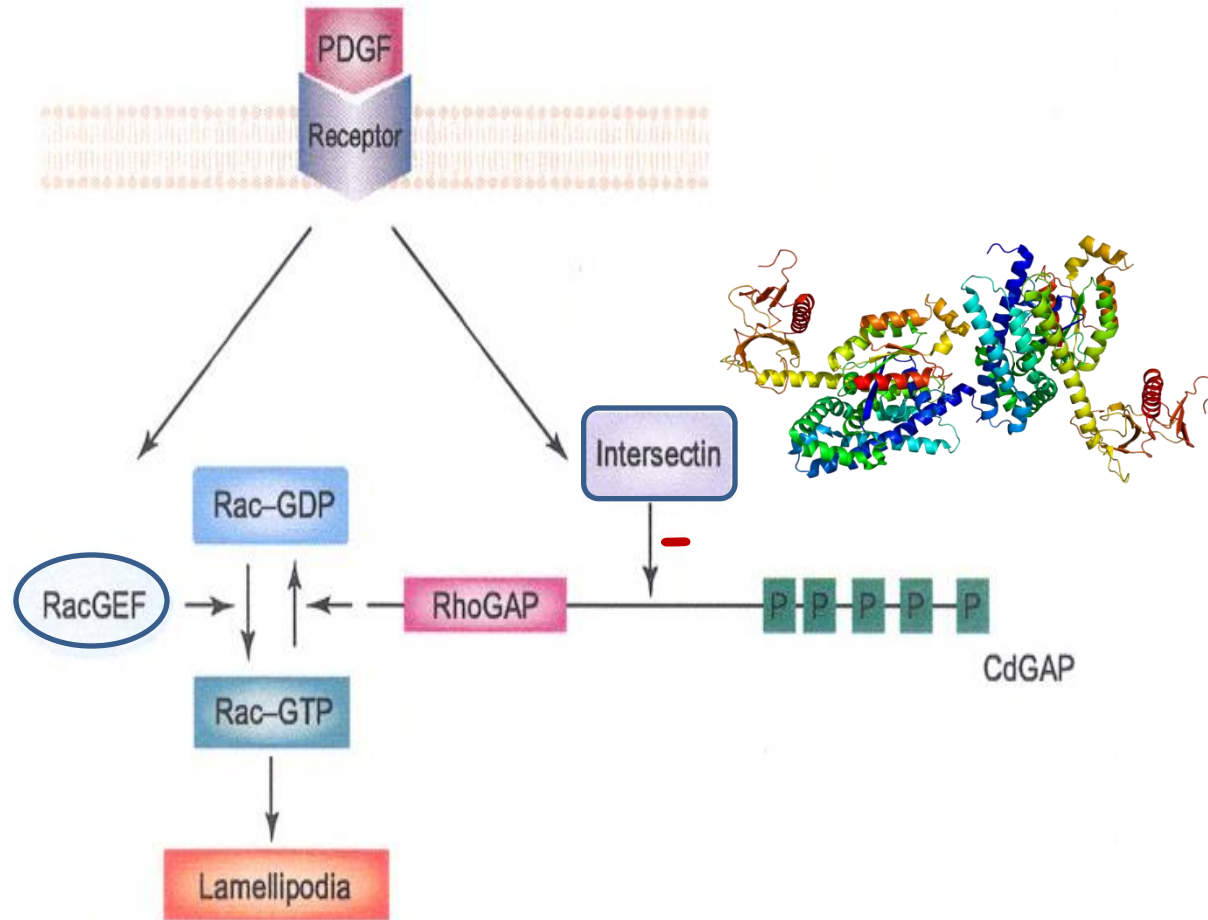
Η αποενεργοποίηση της p190 μπορεί να επιτευχθεί εν μέρει με την αποφωσφορυλίωση από τη μικρού Μ.Β. φωσφατάση της τυροσίνης (LMW), η οποία αποτελεί υπόστρωμα της Src. Παρόλο που ο ακριβής μηχανισμός δεν έχει ακόμα αποσαφηνιστεί, ένα ανέπαφο Ν-τελικό άκρο της GTP συνδετικής περιοχής (N-terminal GTP-binding domain) της p190 θεωρείται απαραίτητο για τη φυσιολογική λειτουργία της Rho GAP.

Ενεργοποίησης της Rac-GAP μέσω σύνδεσης με λιπίδια



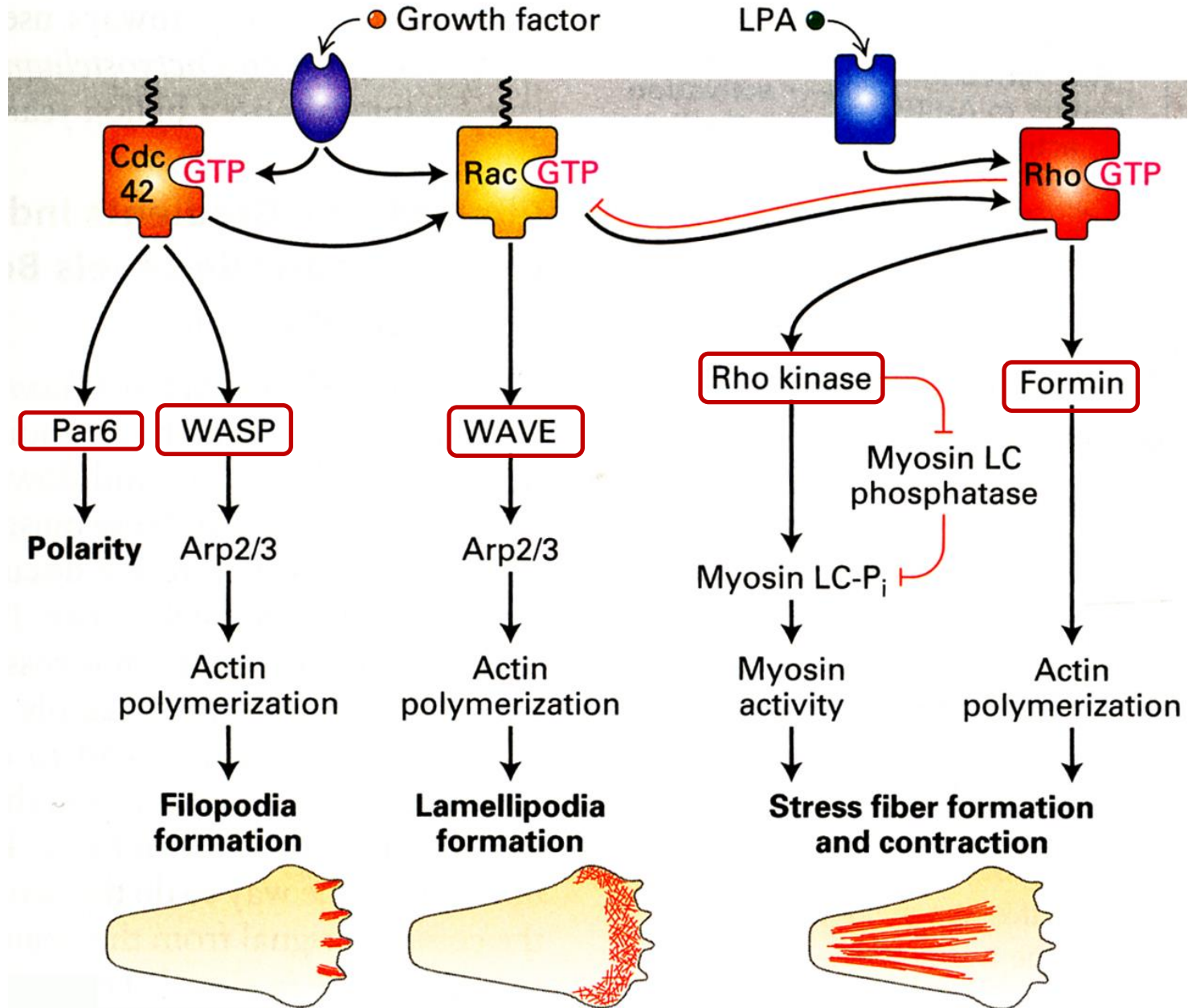
Η n-χιμαιρίνη (n-chimaerin), μια RacGAP, περιέχει μια περιοχή πλούσια σε κυστεΐνη (CR domain) η οποία λειτουργεί ως περιοχή σύνδεσης στην DAG. Η φωσφατιδυλοσερίνη και το φωσφατιδικό οξύ συνδεδεμένα στην n-χιμαιρίνη αυξάνουν την καταλυτική της δραστηριότητα και την μετακινούν στη συσκευή Golgi. Η ενεργοποίηση της χιμαιρίνης έχει ως αποτέλεσμα να ελαττώσει τη δημιουργία ελασματοποδίων από την Rac-1. Αντίθετα με τη φωσφατιδυλοσερίνη και το φωσφατιδικό οξύ, οι φωσφατιδυλο-ινοσιτόλες και τα αραχιδονικά οξέα εμποδίζουν την GAP δραστηριότητα της χιμαιρίνης.

Αναστολή της Cd-GAP μέσω αλληλεπίδρασης με την ιντερσεκτίνη

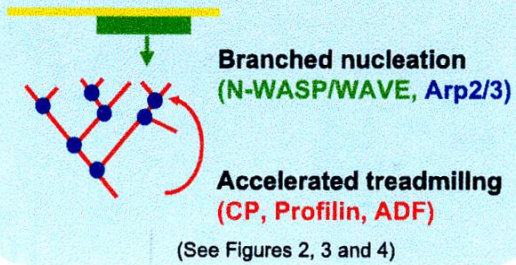


Η CdGAP αλληλεπιδρά με τις περιοχές SH3 της ιντερσεκτίνης, μιας ενδοκυτταρικής πρωτεΐνης που περιέχει 5 περιοχές SH3. Η αλληλεπίδραση αυτή προκαλεί μια αλλαγή στη διαμόρφωση της CdGAP που επιτρέπει στο πλούσιο σε προλίνη C-τελικό άκρο της να συνδεθεί με τη RhoGAP καταλυτική περιοχή της, έχοντας ως αποτέλεσμα την παρεμπόδιση της GAP δραστηριότητας ως προς την Rac-1

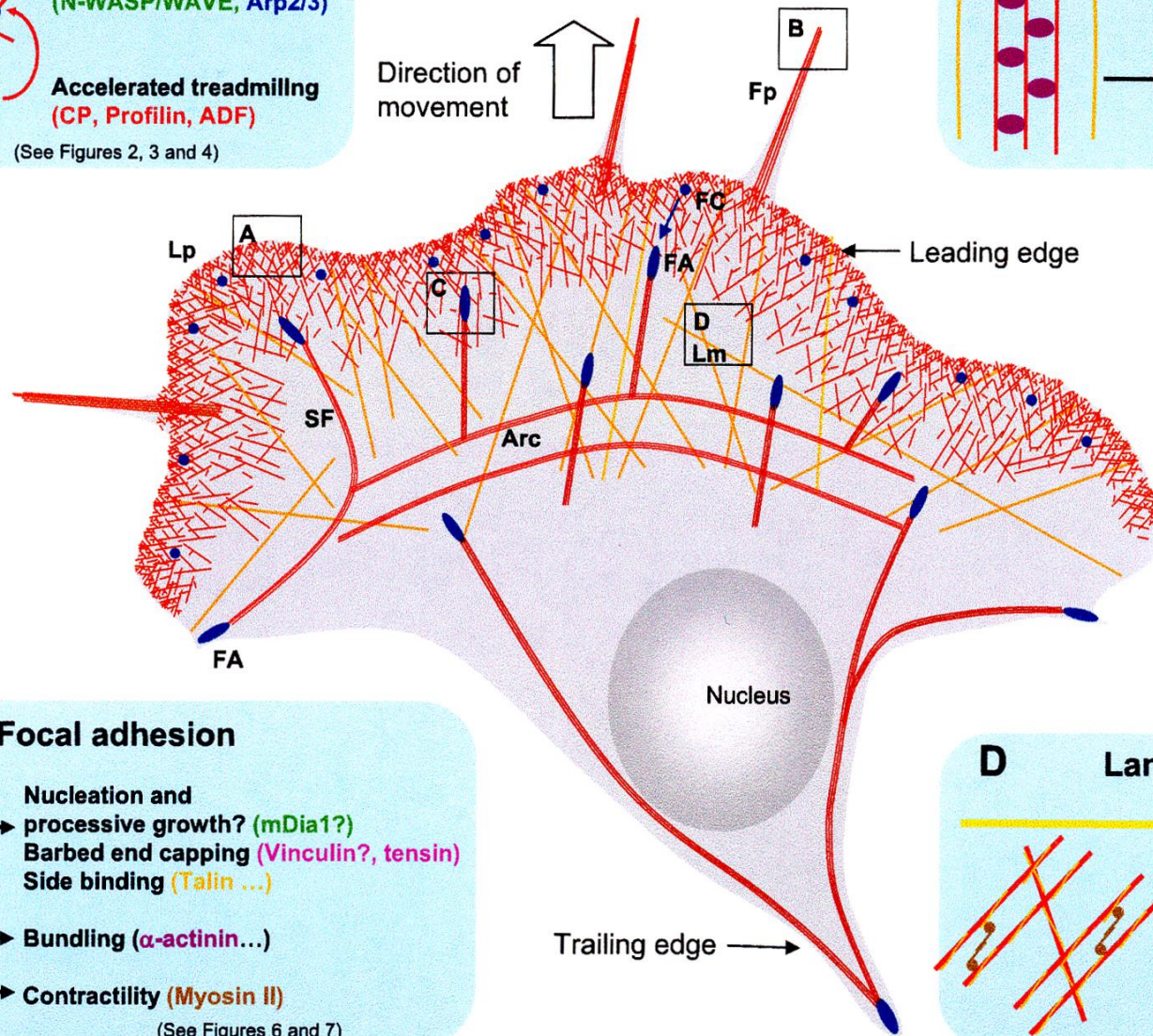
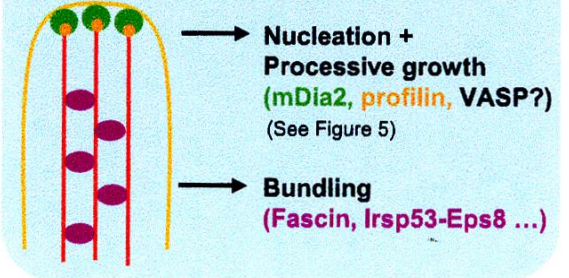
Τελεστές των Rho



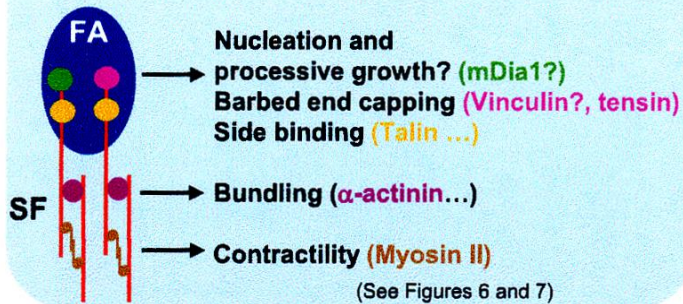
A Lamellipodium



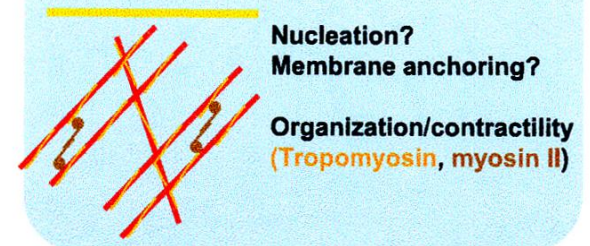
B Filopodium



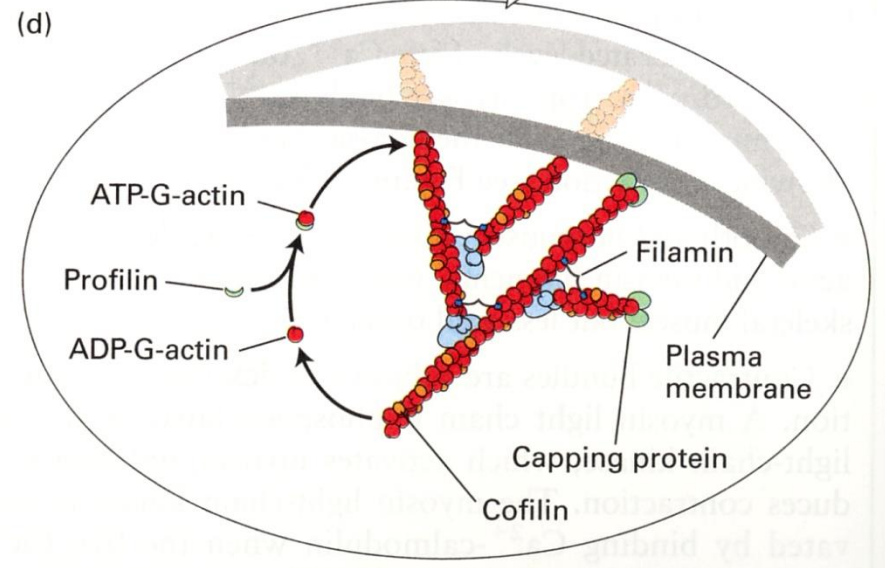
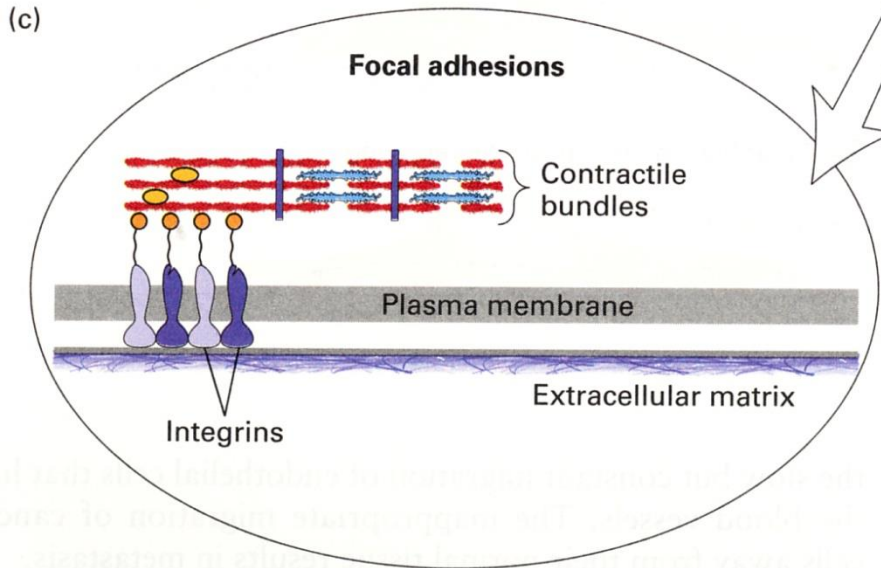
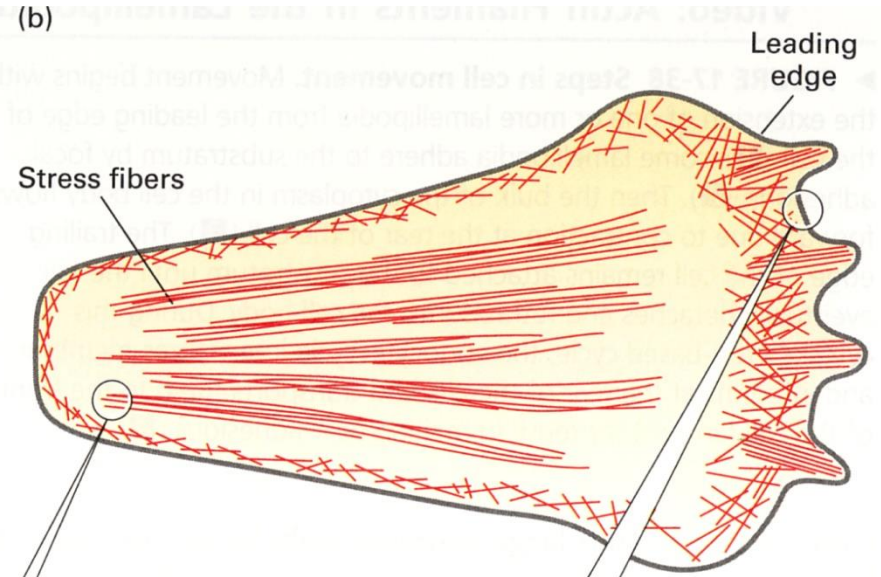
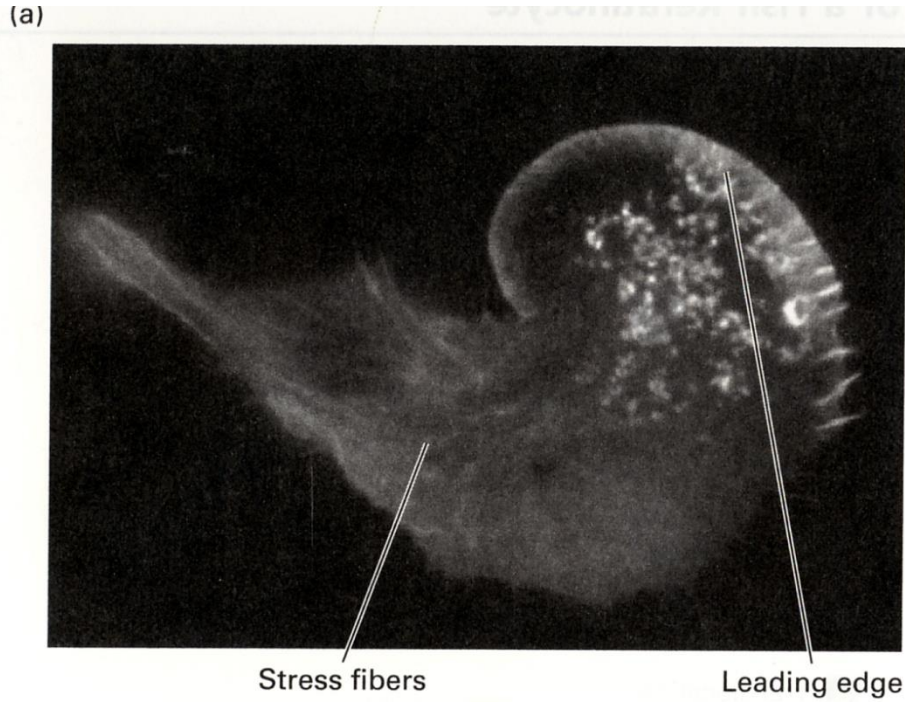
C Focal adhesion

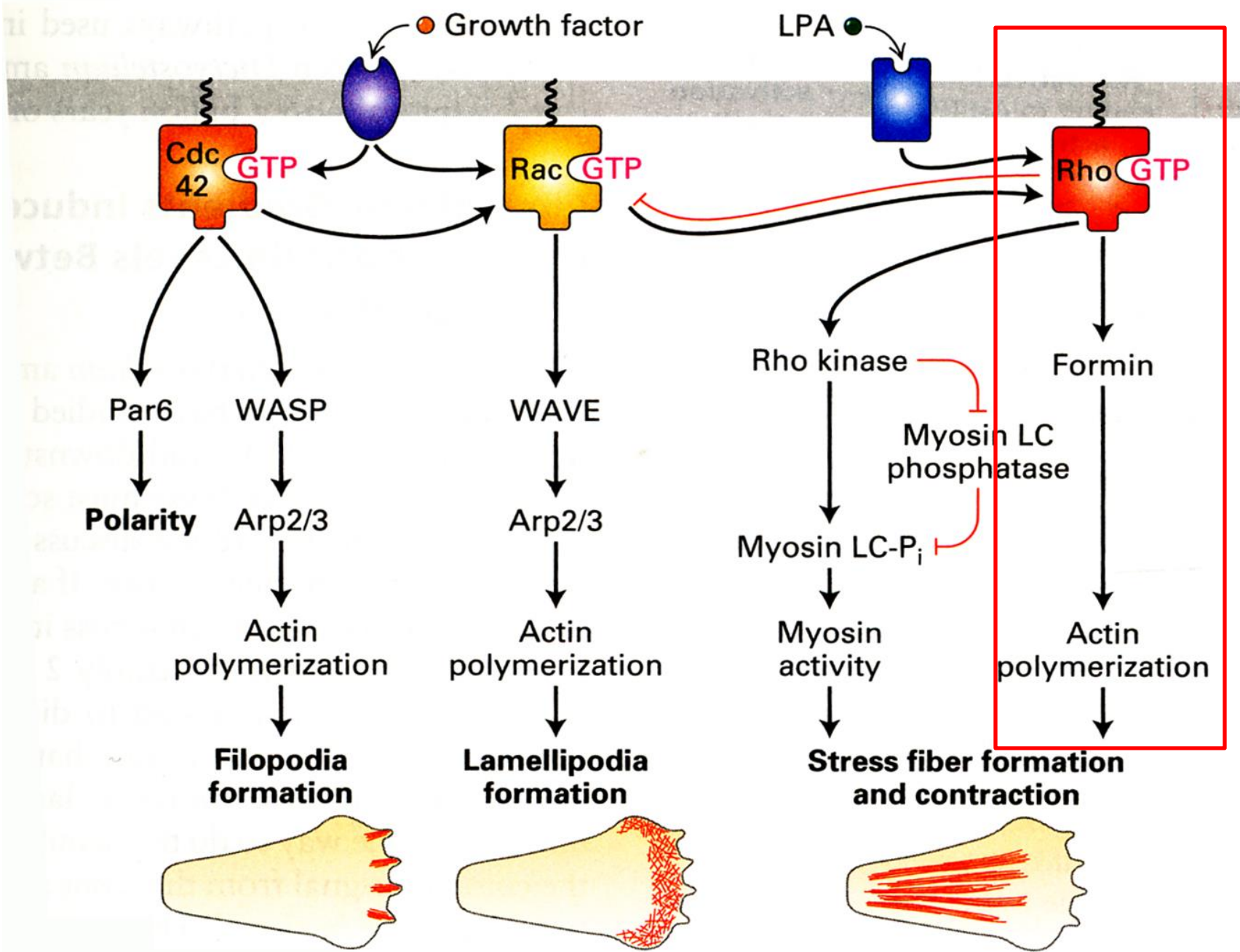


D Lamella



Θέσεις εστιακής προσκόλλησης

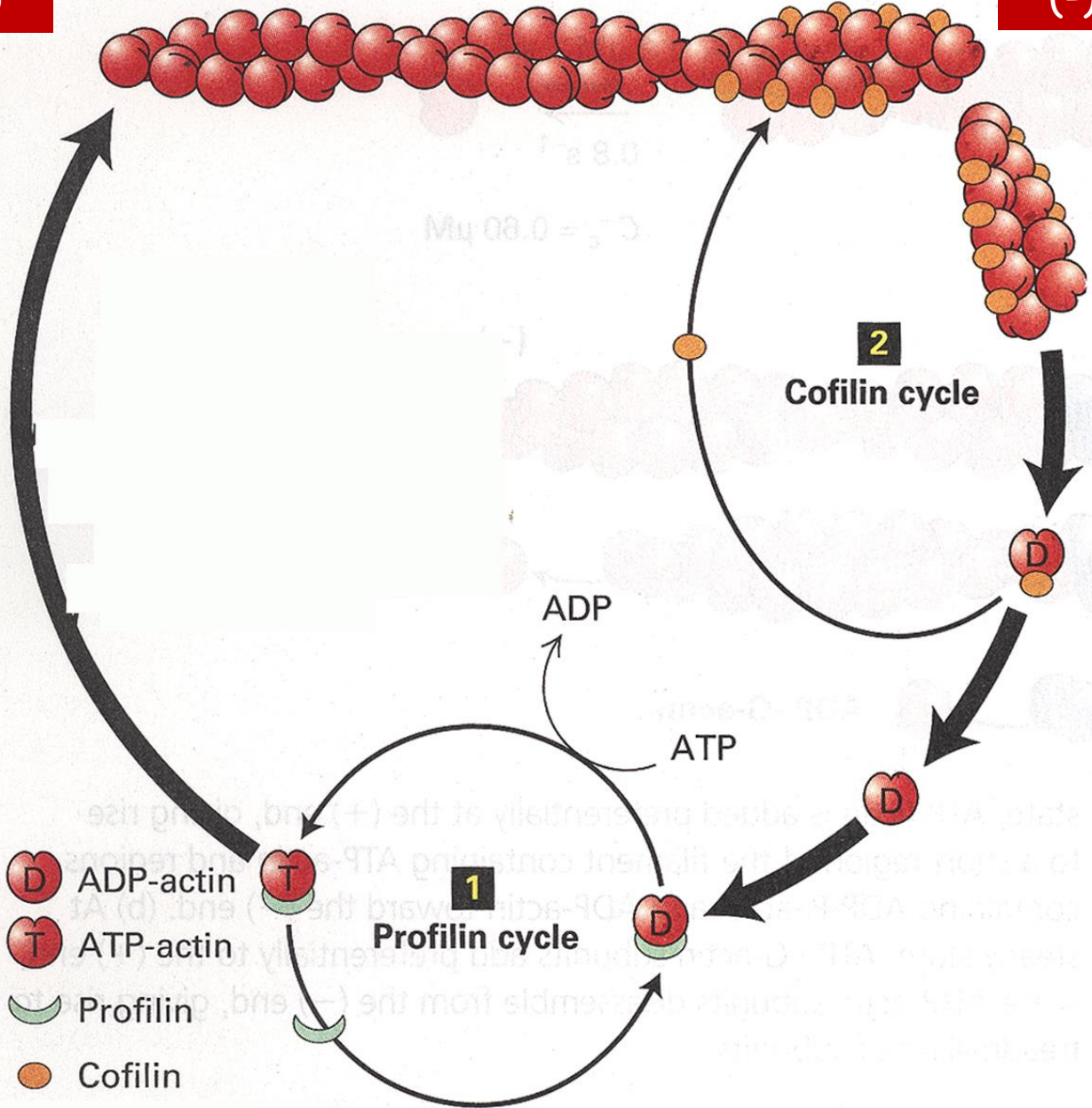




(+) άκρο

Actin-ATP Actin-ADP-P_i Actin-ADP

(-) άκρο



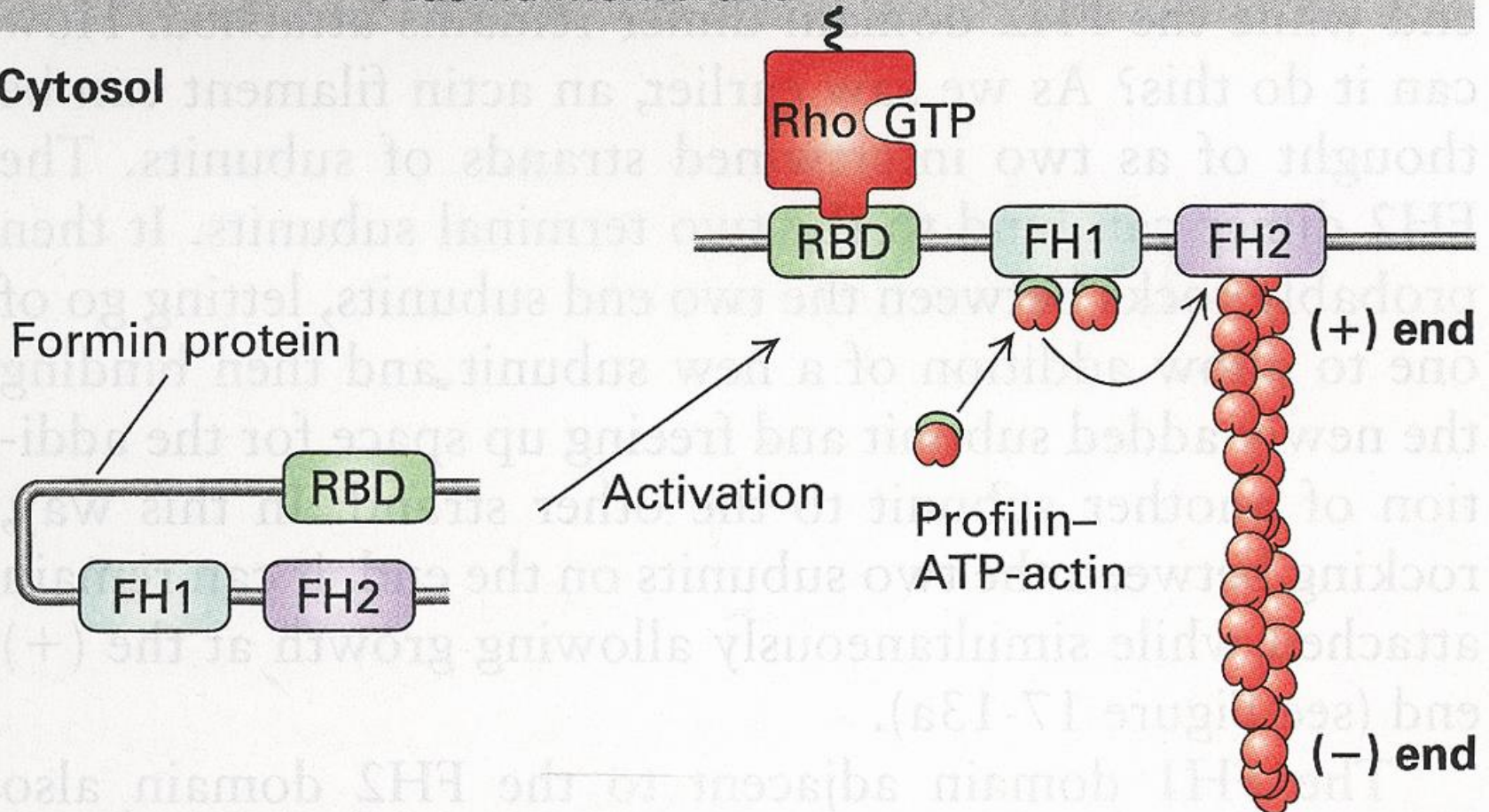
- D ADP-actin
- T ATP-actin
- Profilin
- Cofilin

Rho / mDia / profilin-actin-GTP: επιμήκυνση της F-ακτίνης

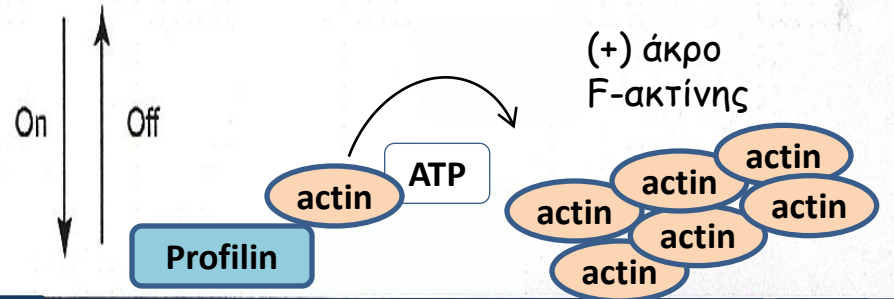
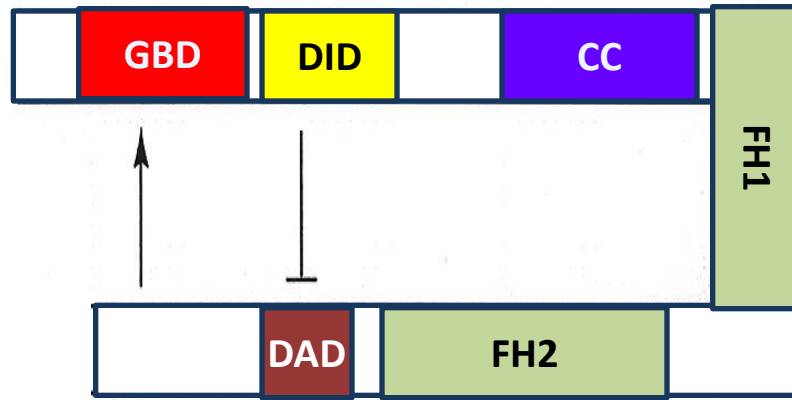
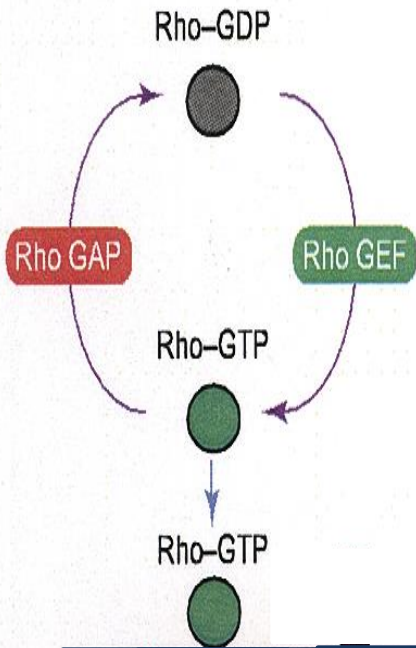
Exterior

Plasma membrane

Cytosol



mDia auto-inhibited state



mDia



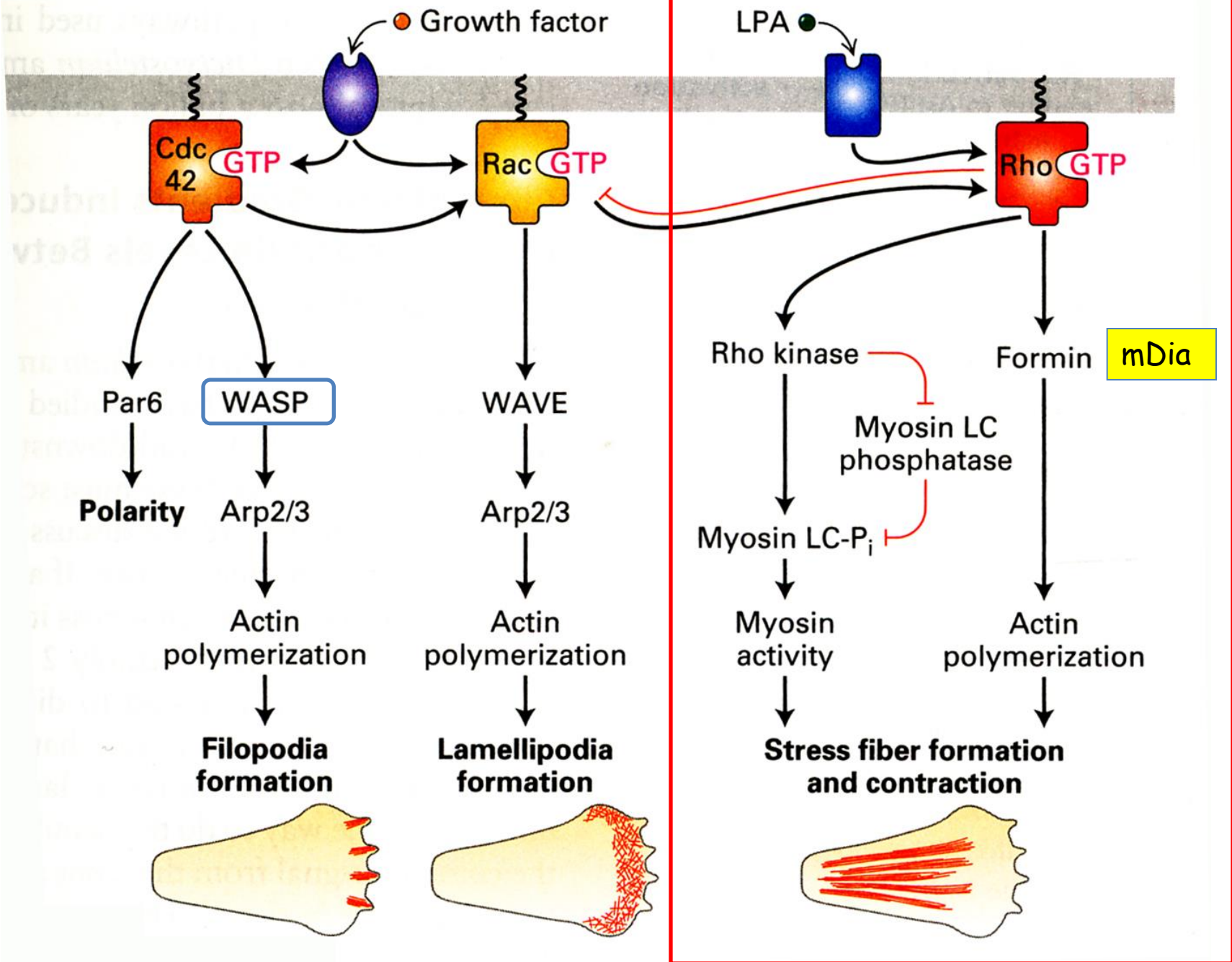
GTPase binding domain

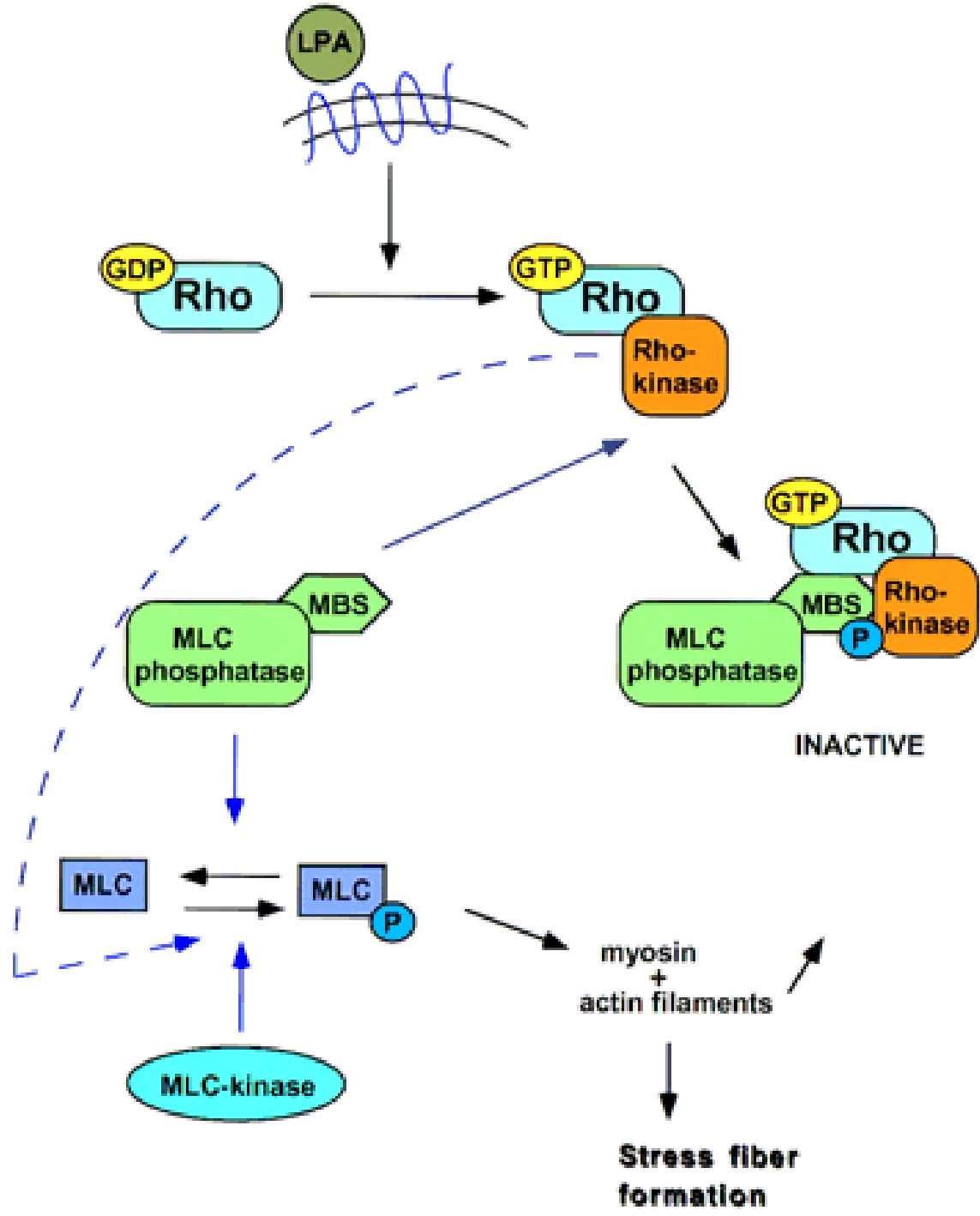
Diaphanous inhibitory domain

coiled coil domain

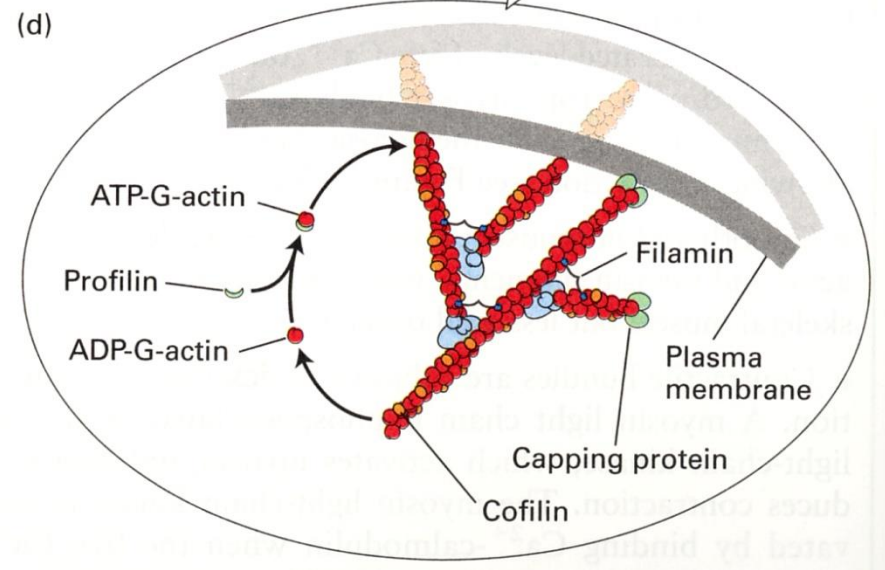
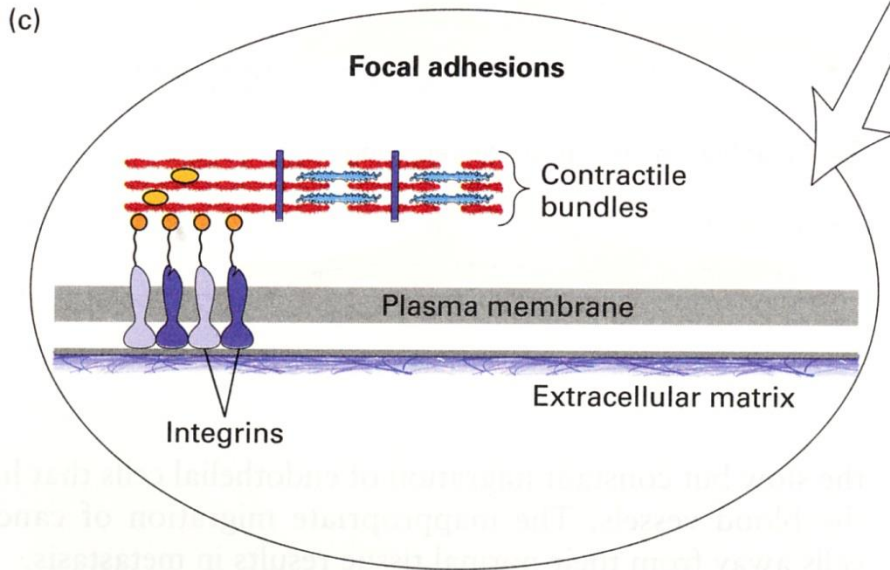
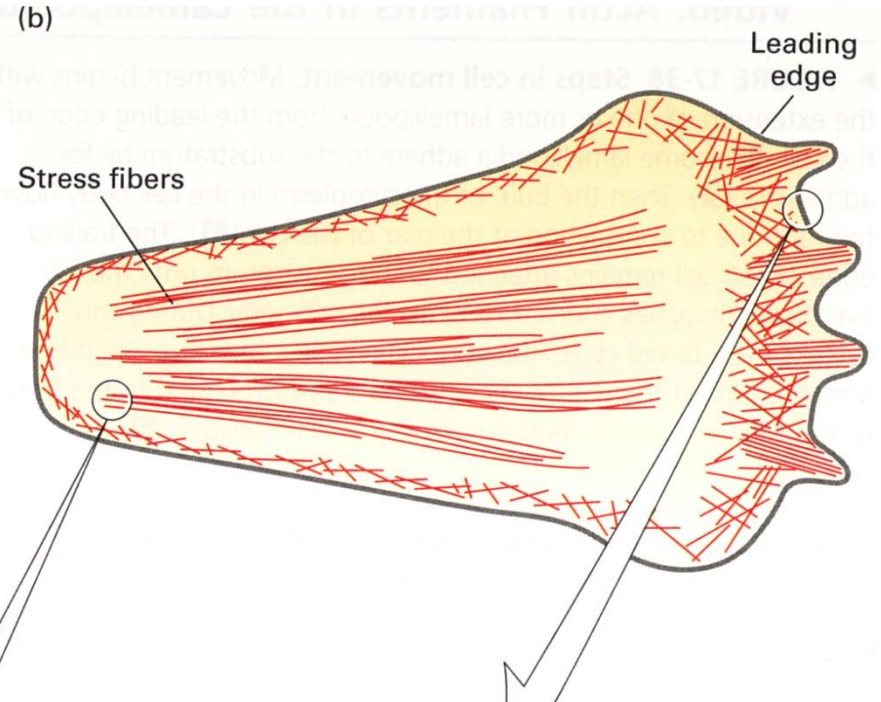
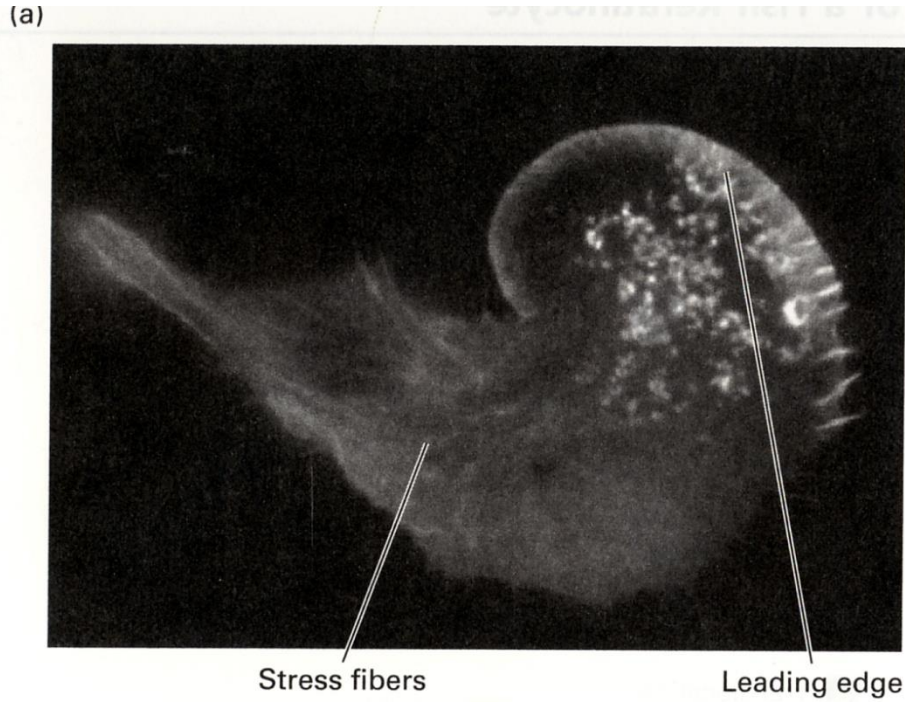
Formin homology domain 1 (Proline rich)

Diaphanous autoregulatory domain

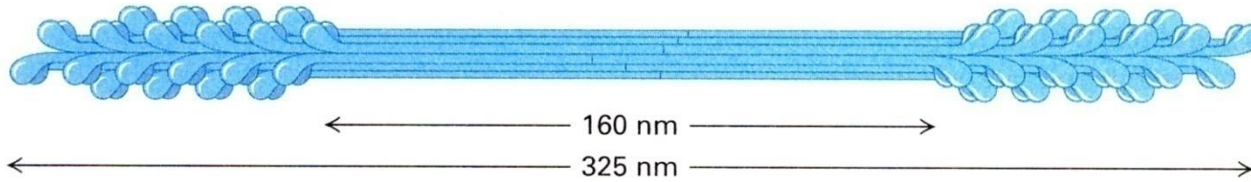




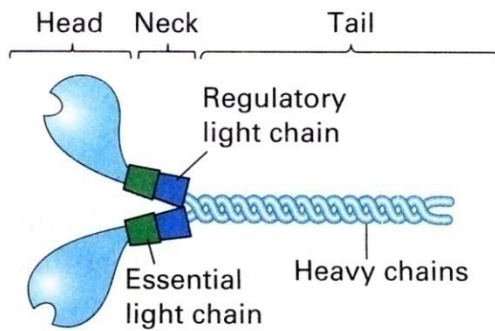
Θέσεις εστιακής προσκόλλησης



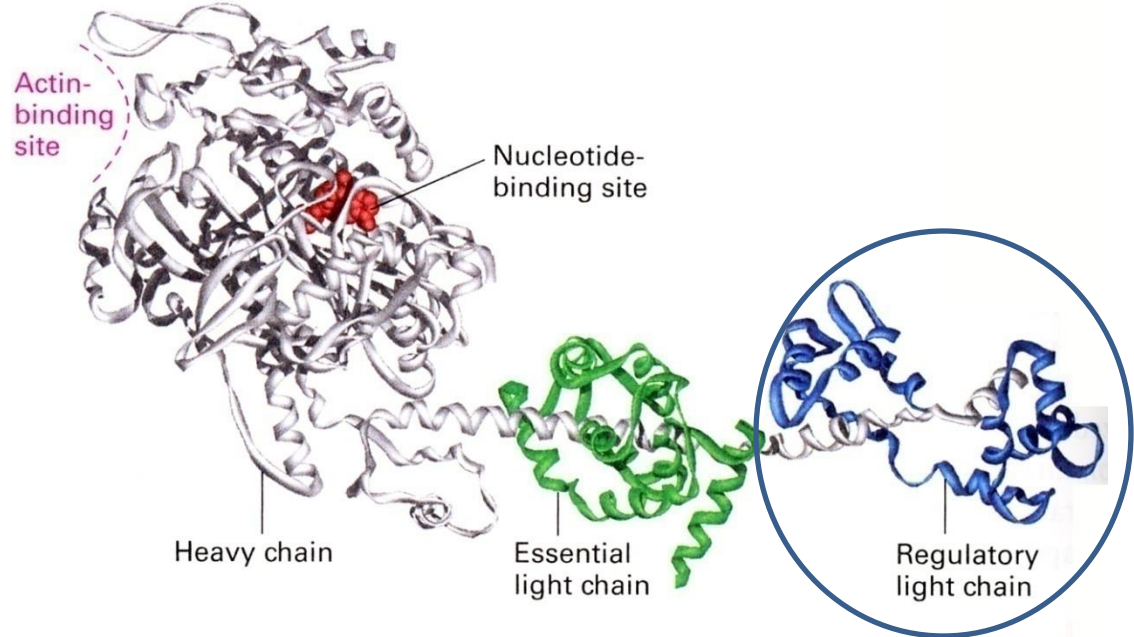
(a)



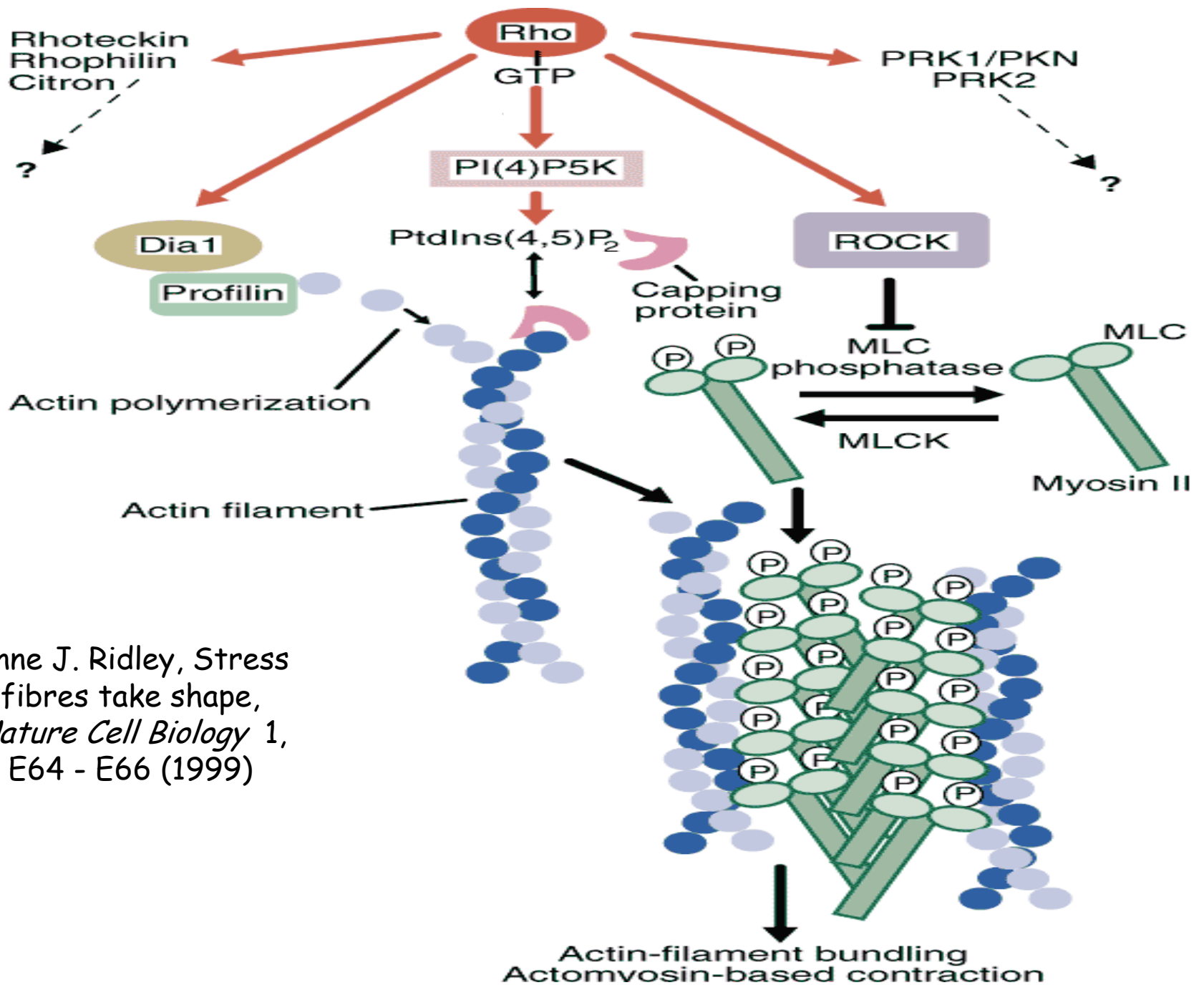
Μυοσίνη II



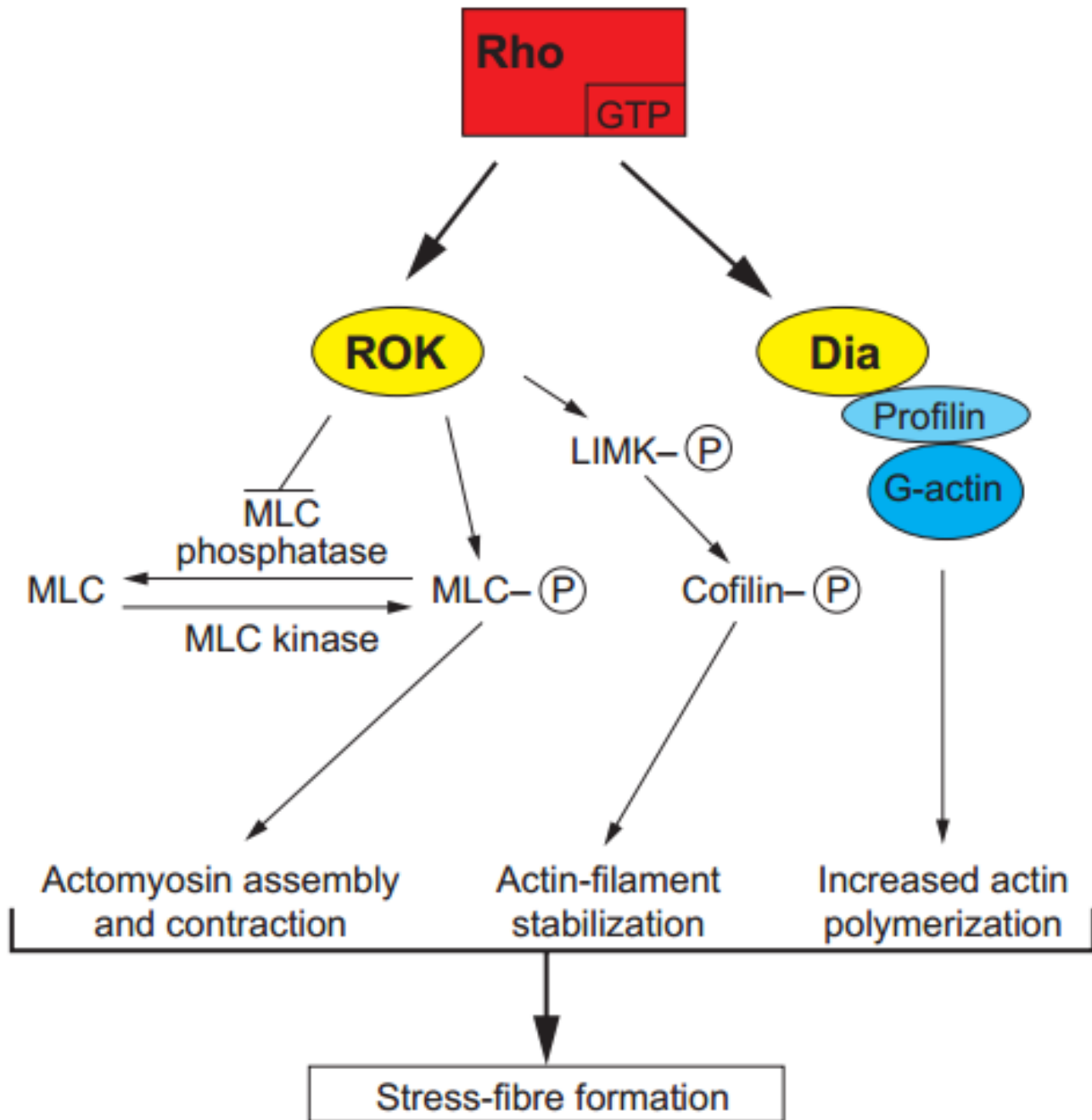
(c) Head and neck domain

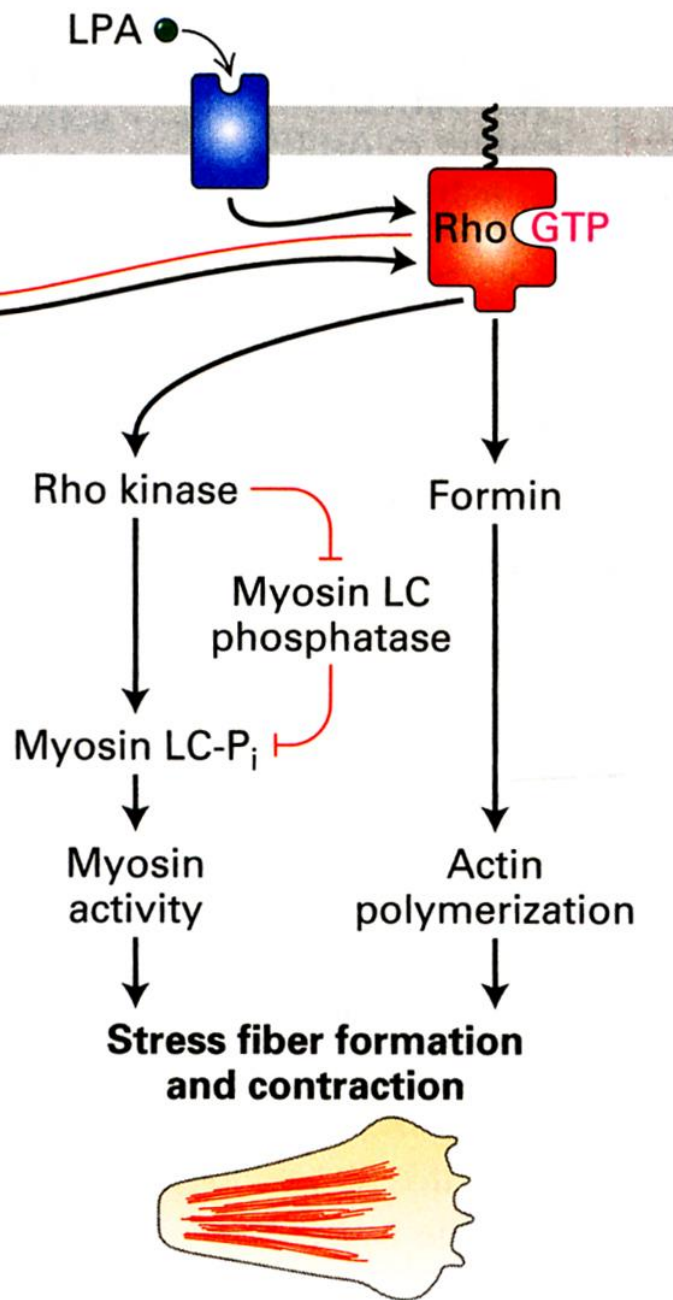
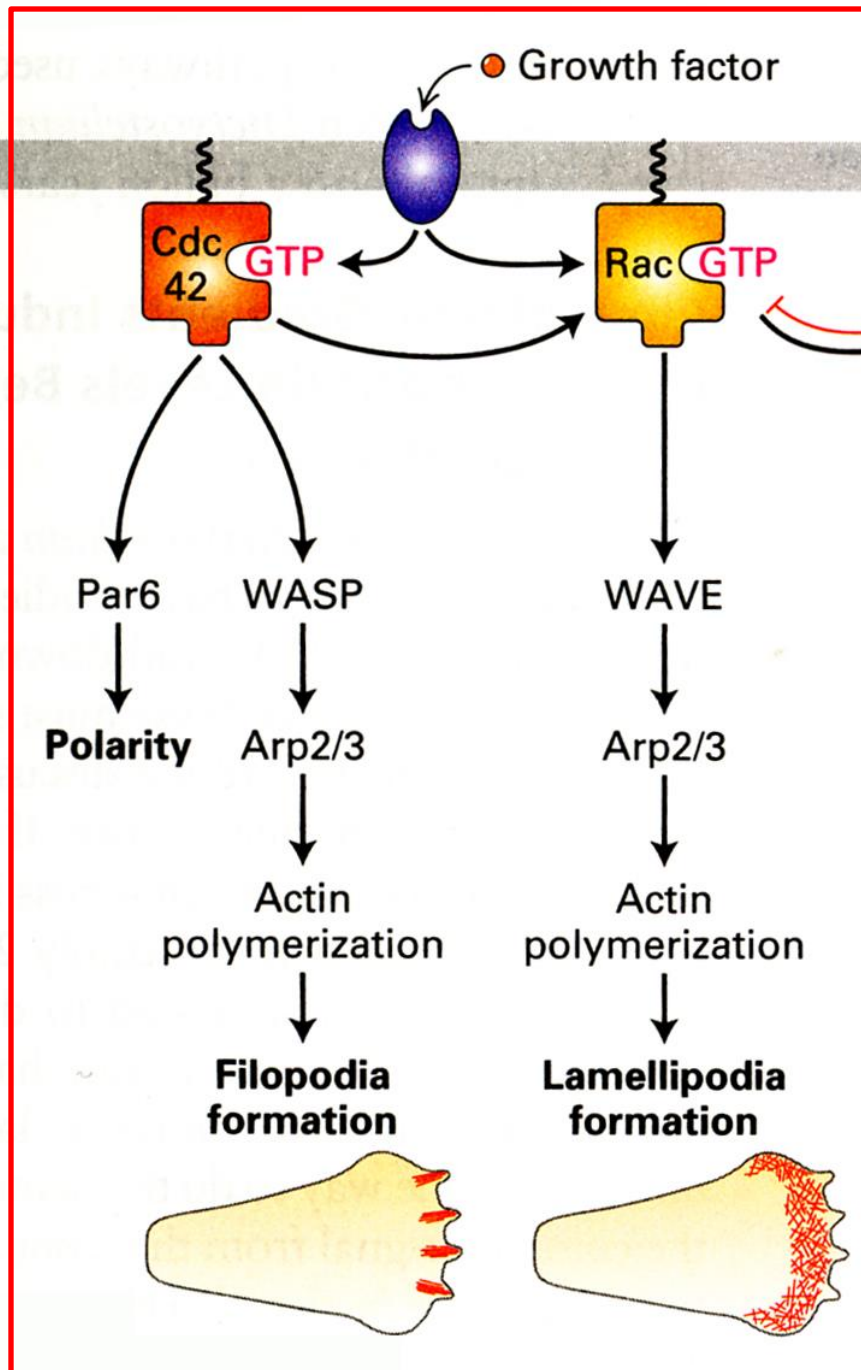


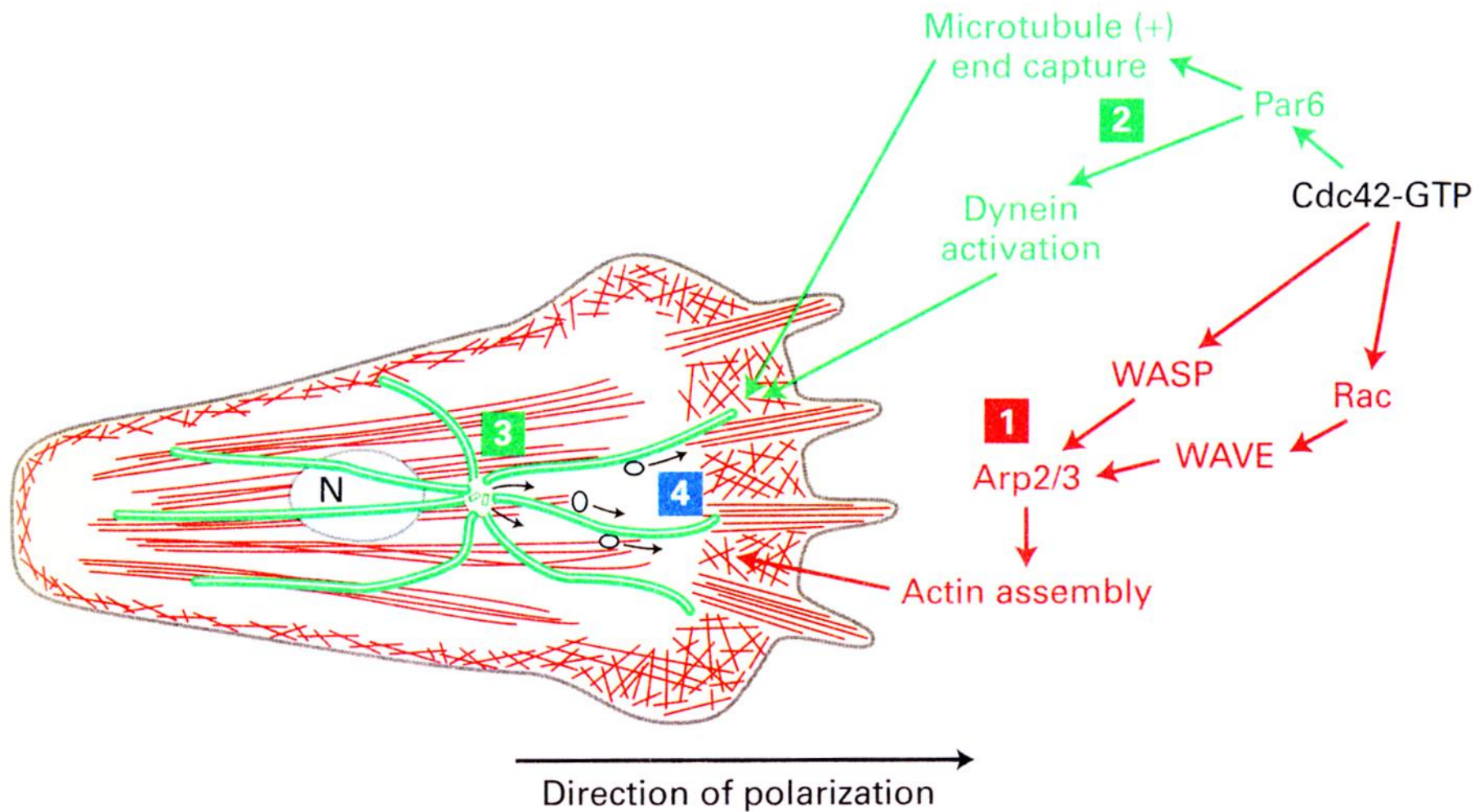
Όταν η R-MLC δεν είναι φωσφορυλιωμένη, ο κύκλος της ΑΤΡάσης της μυοσίνης II είναι ανενεργός.

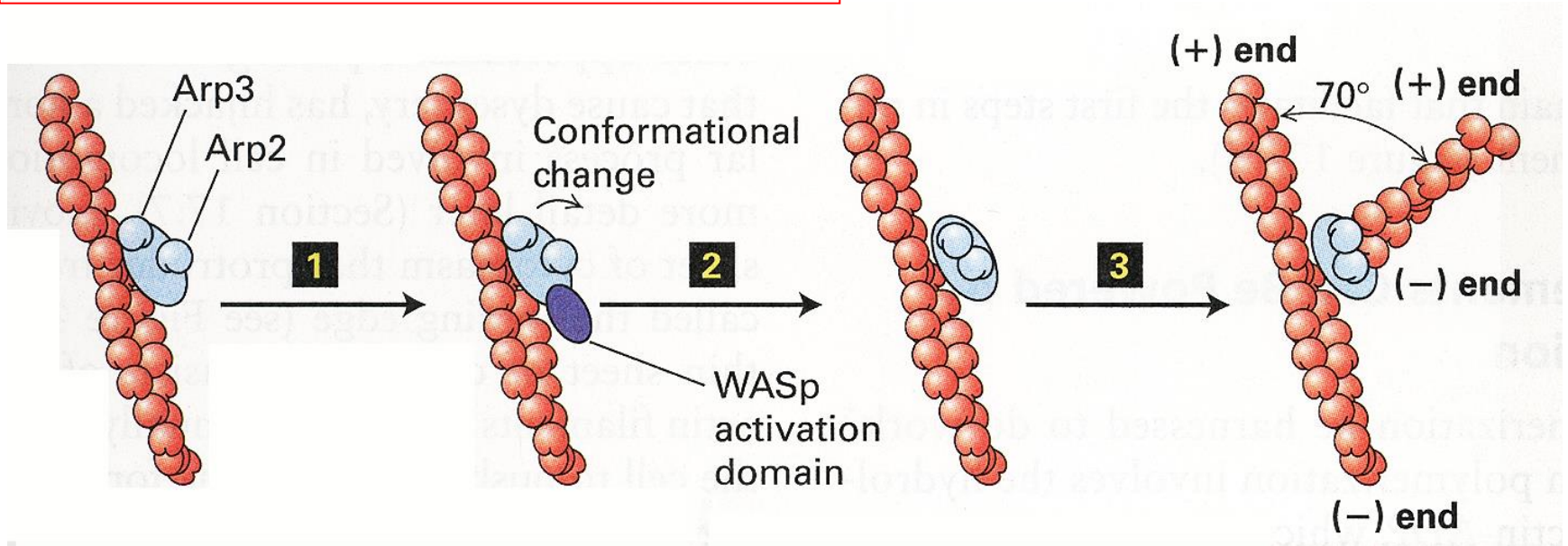
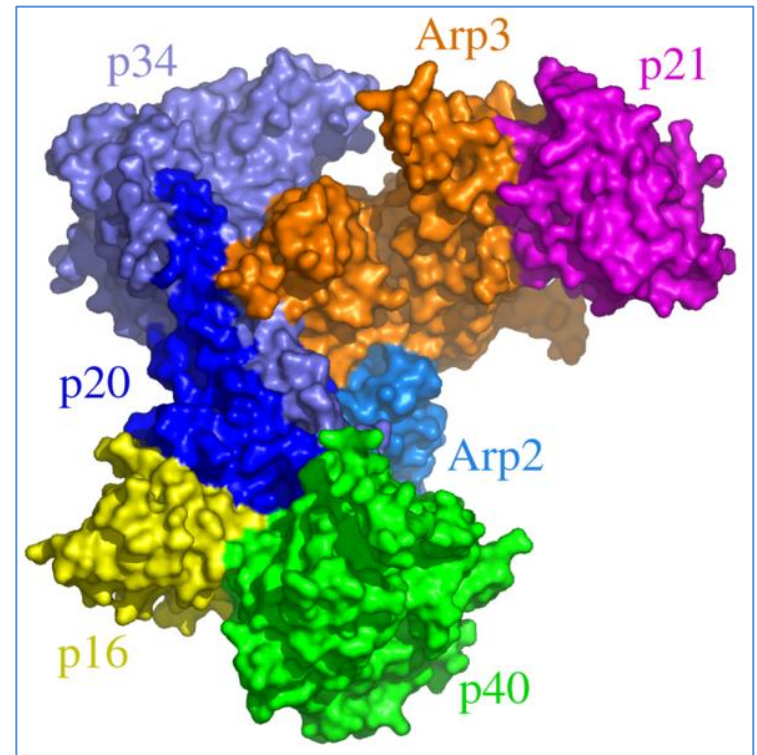
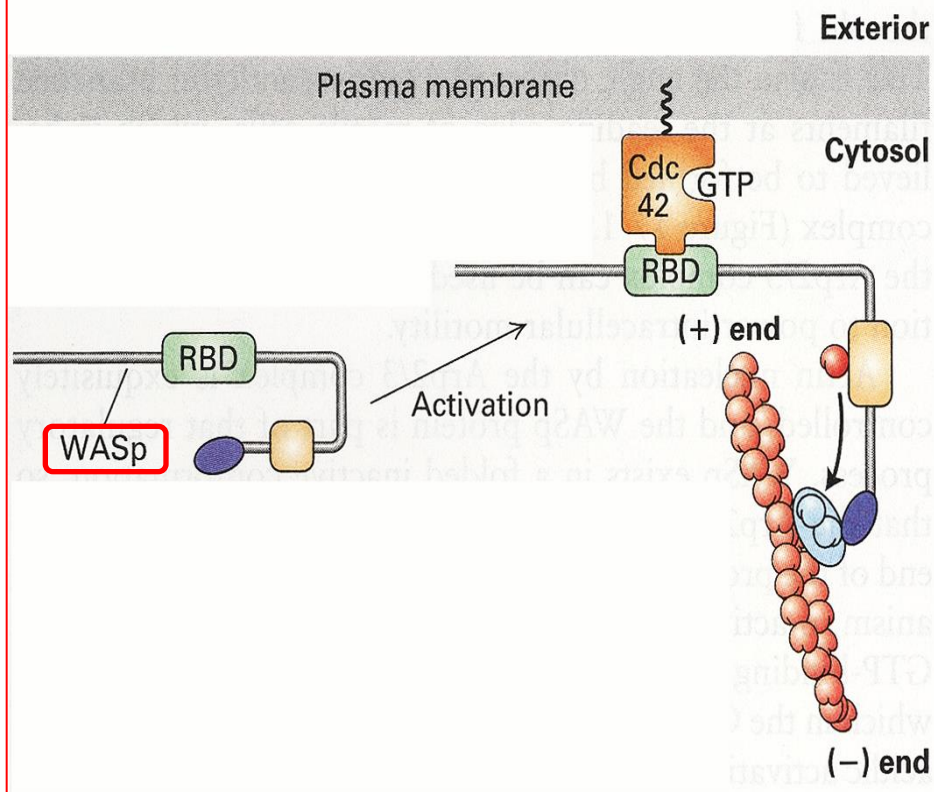


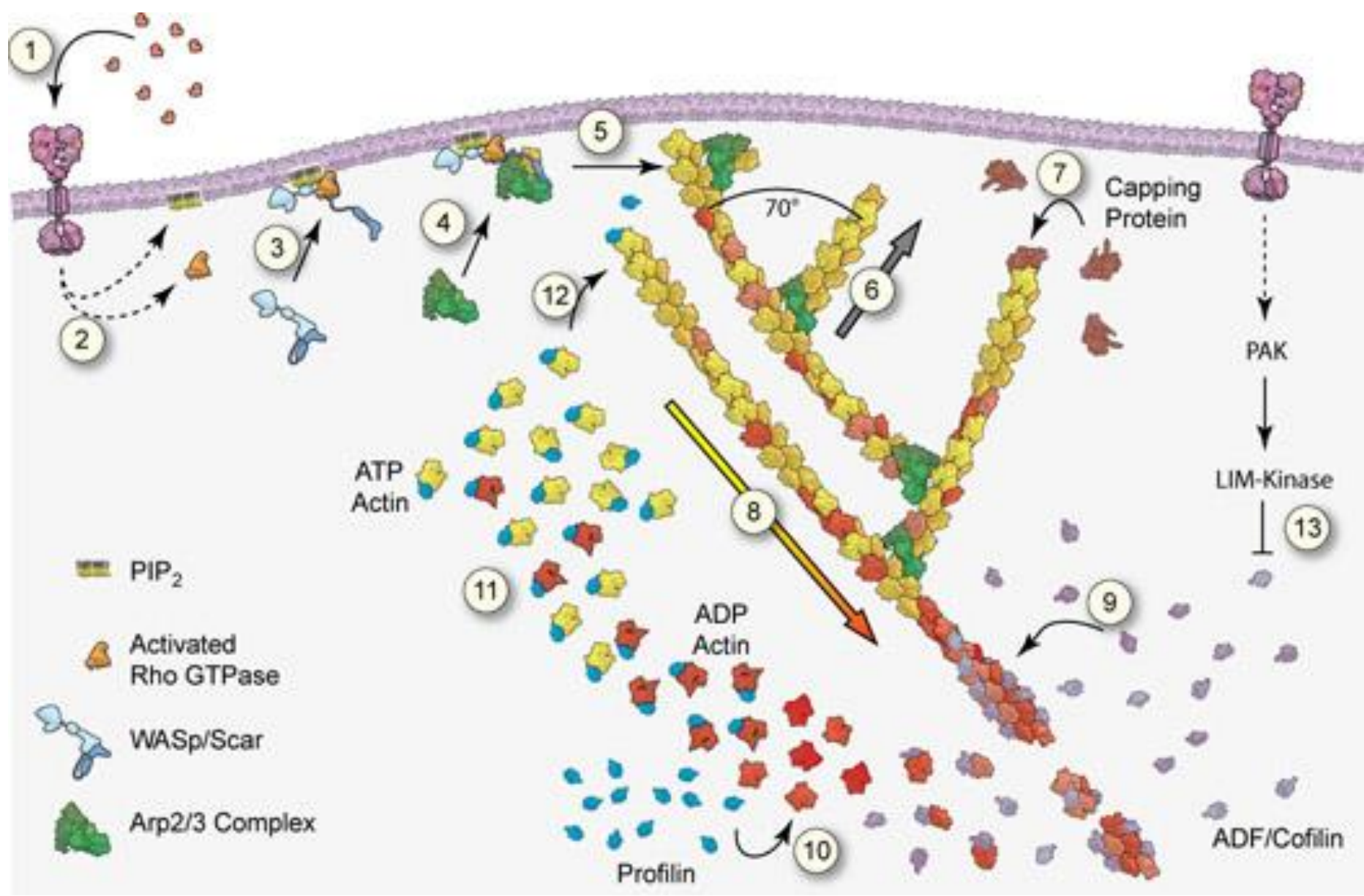
Anne J. Ridley, Stress
 fibres take shape,
Nature Cell Biology 1,
 E64 - E66 (1999)



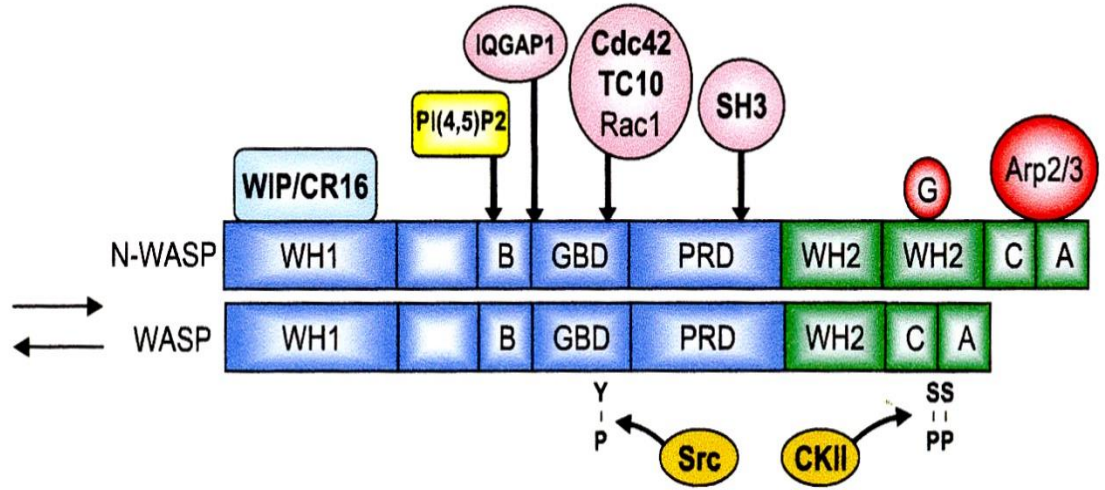
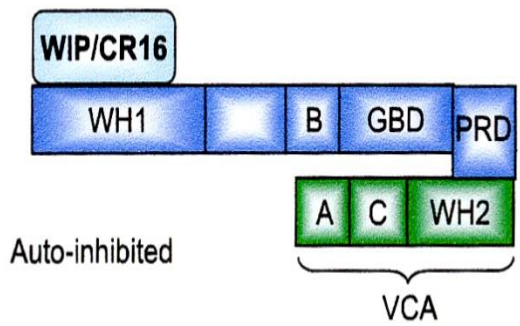




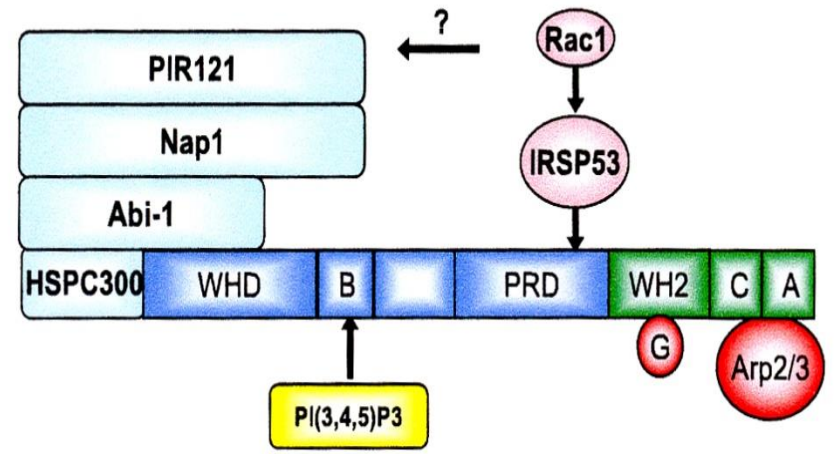
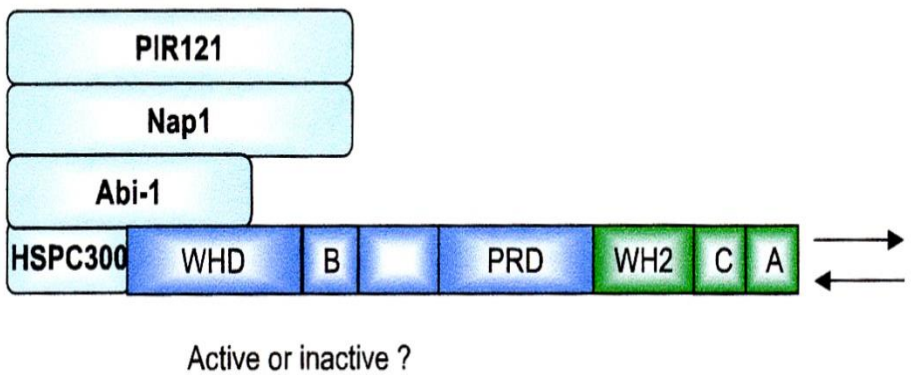


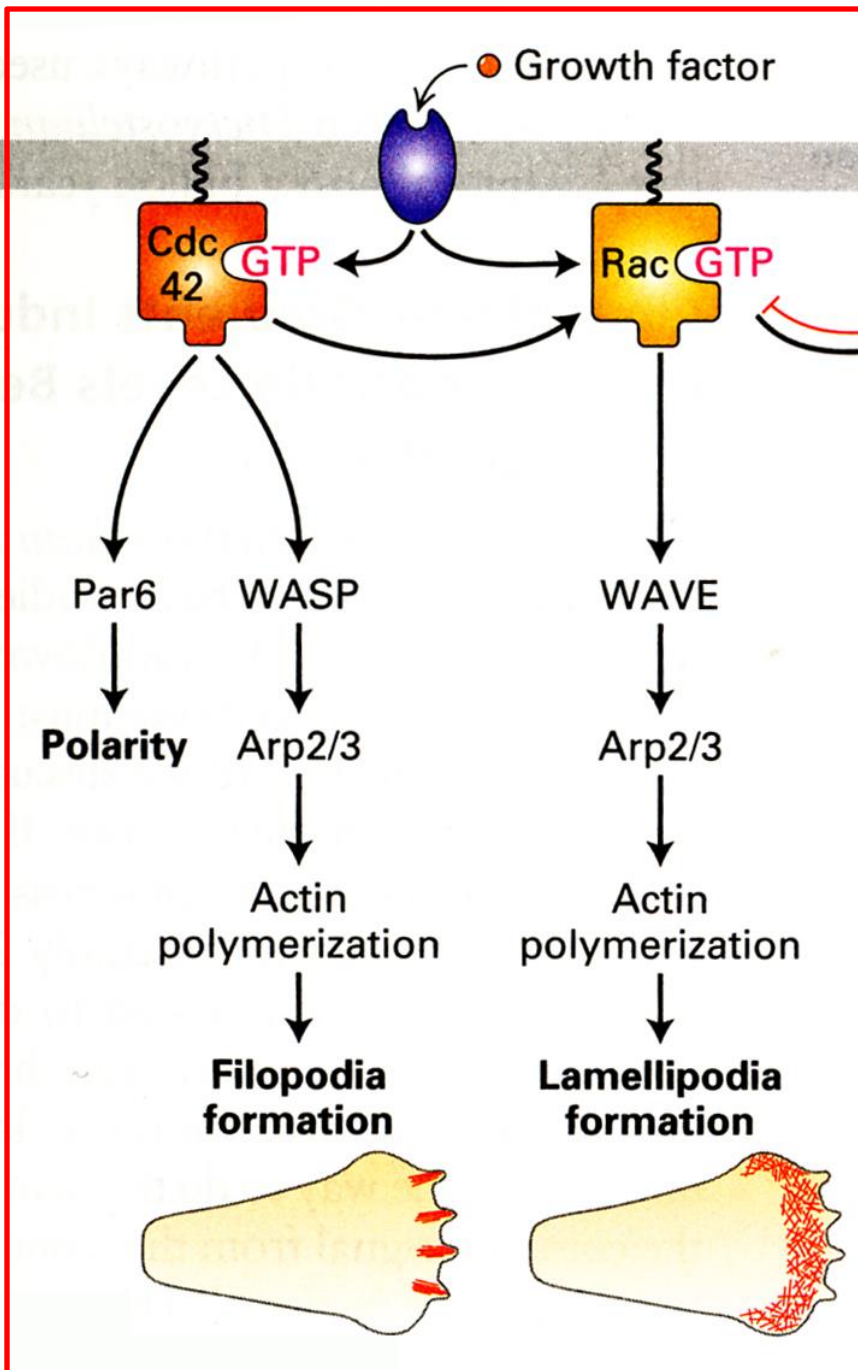


WASP / NWASP

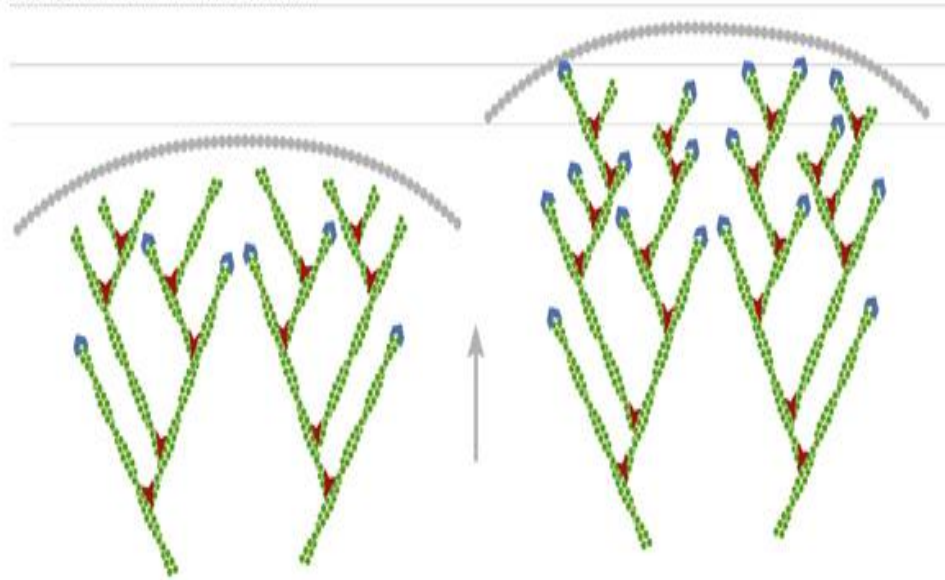


SCAR / WAVE

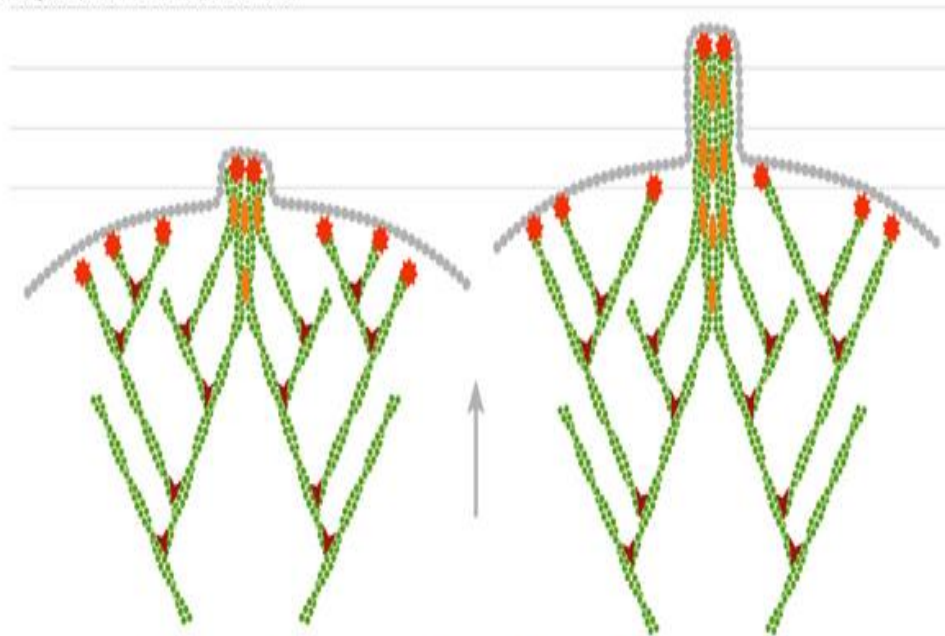




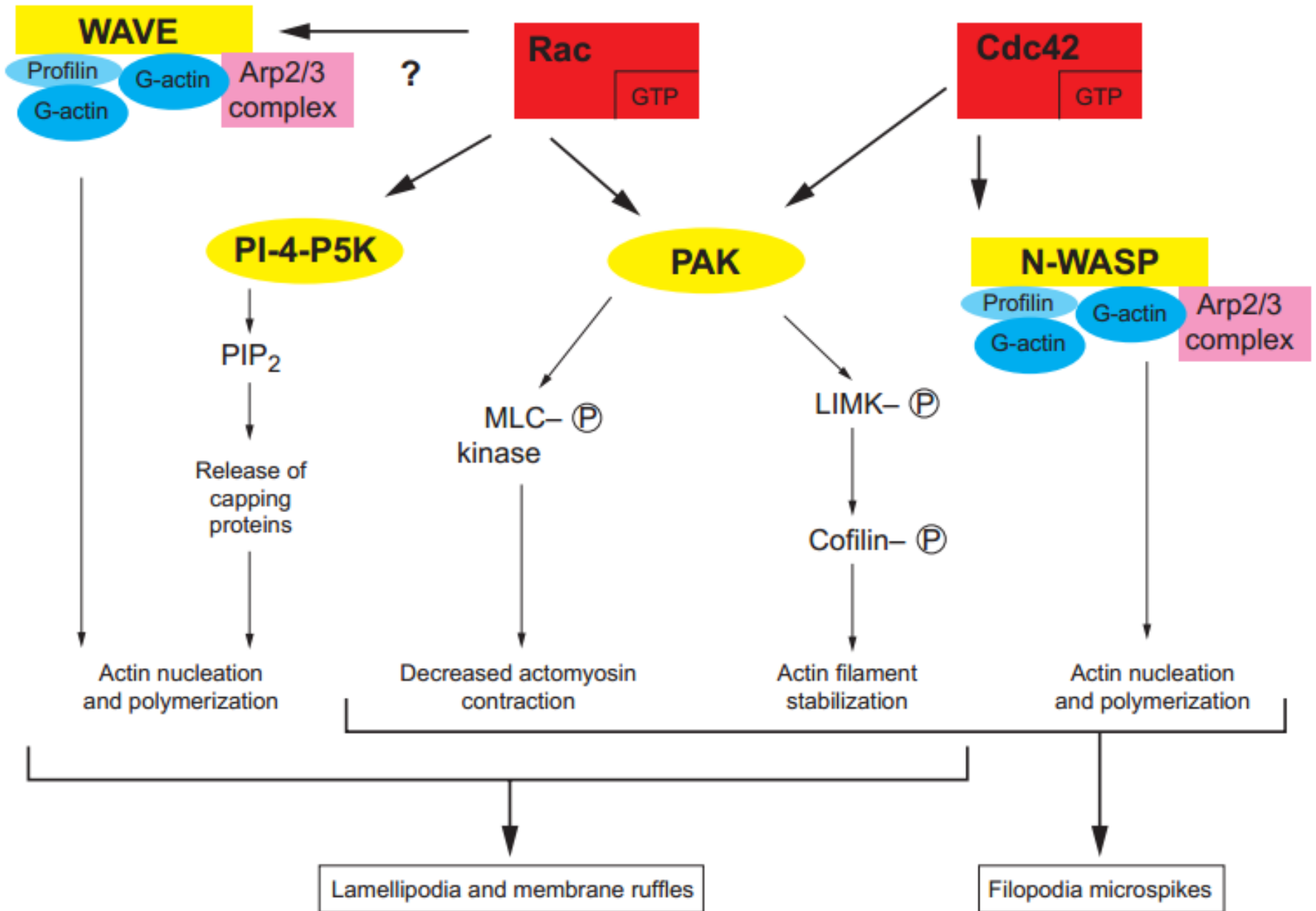
A Capping predominates - lamellipodial protrusion

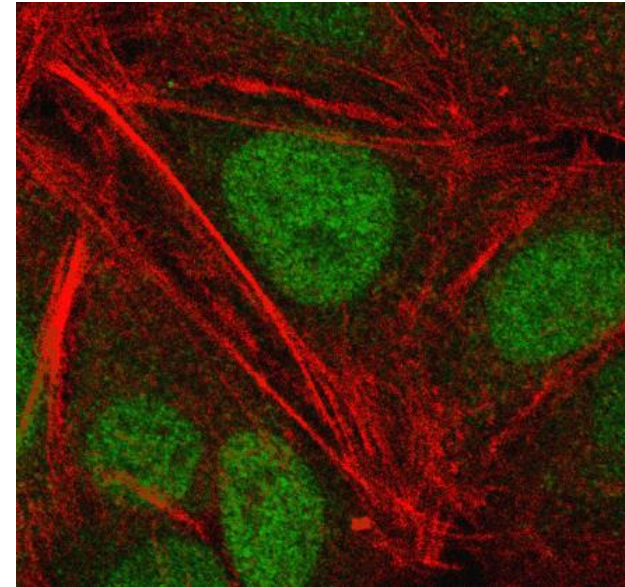
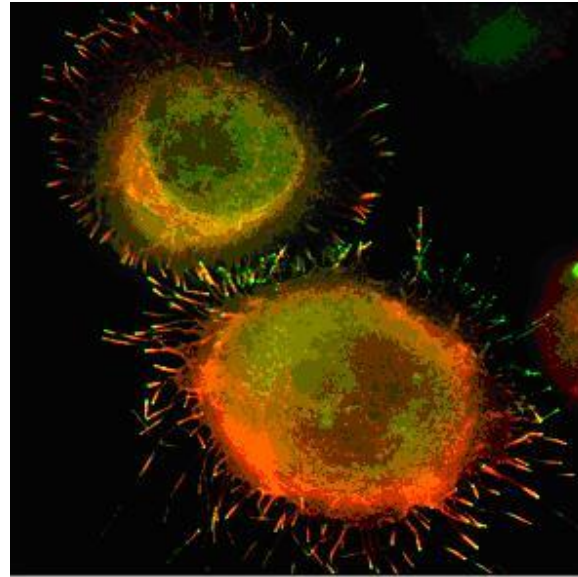
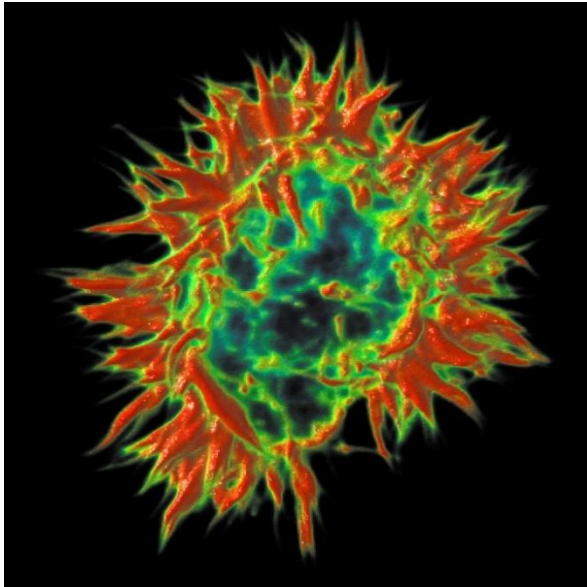
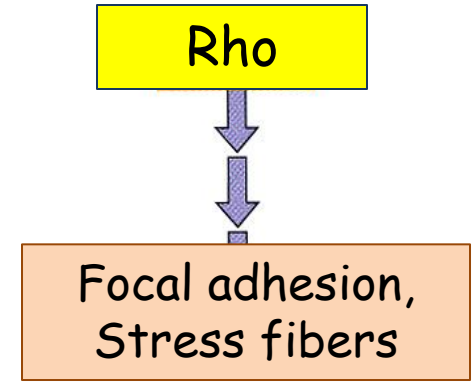
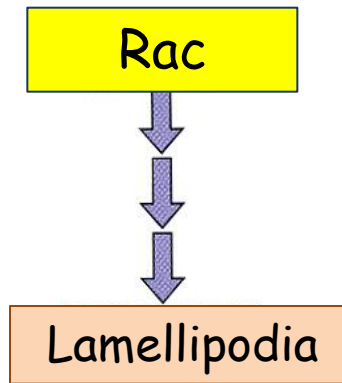
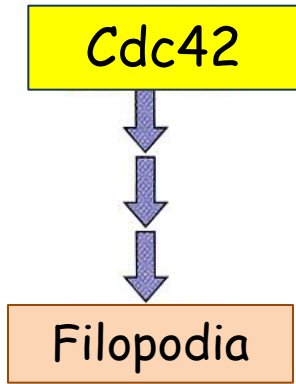


B Elongation predominates - filopodia formation

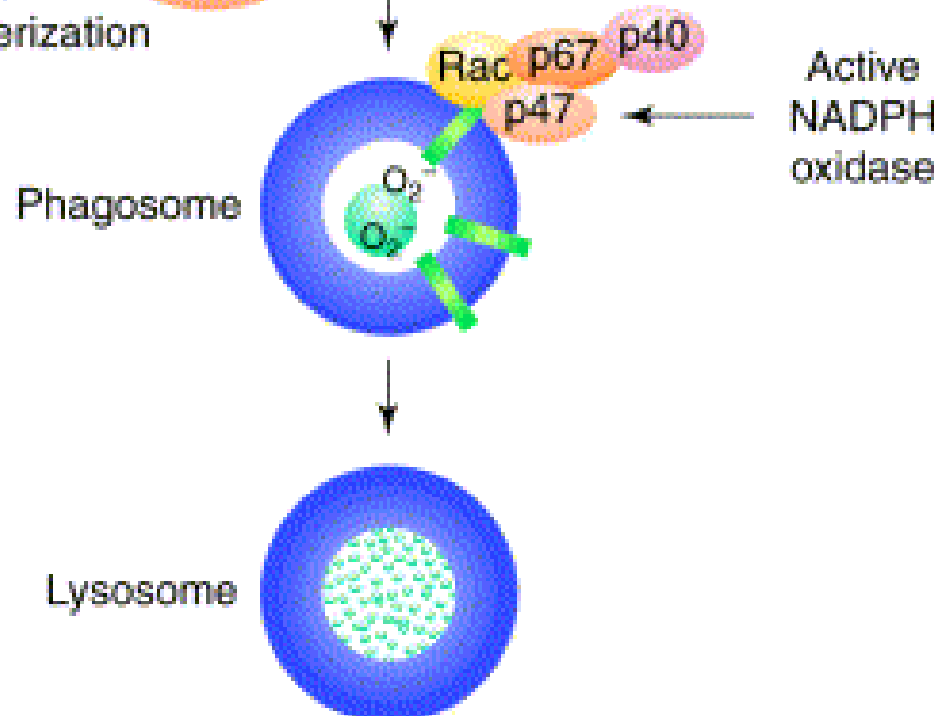
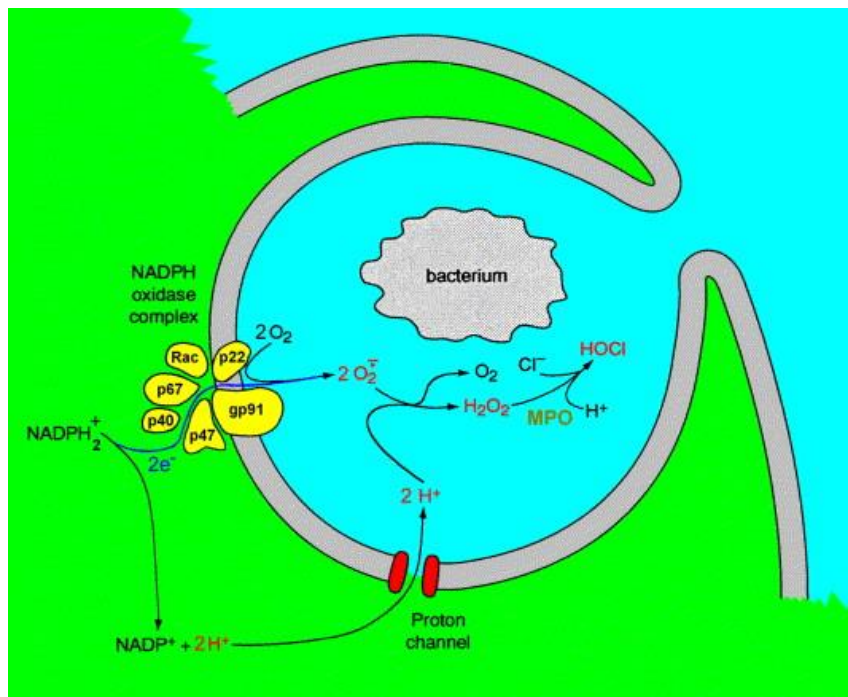
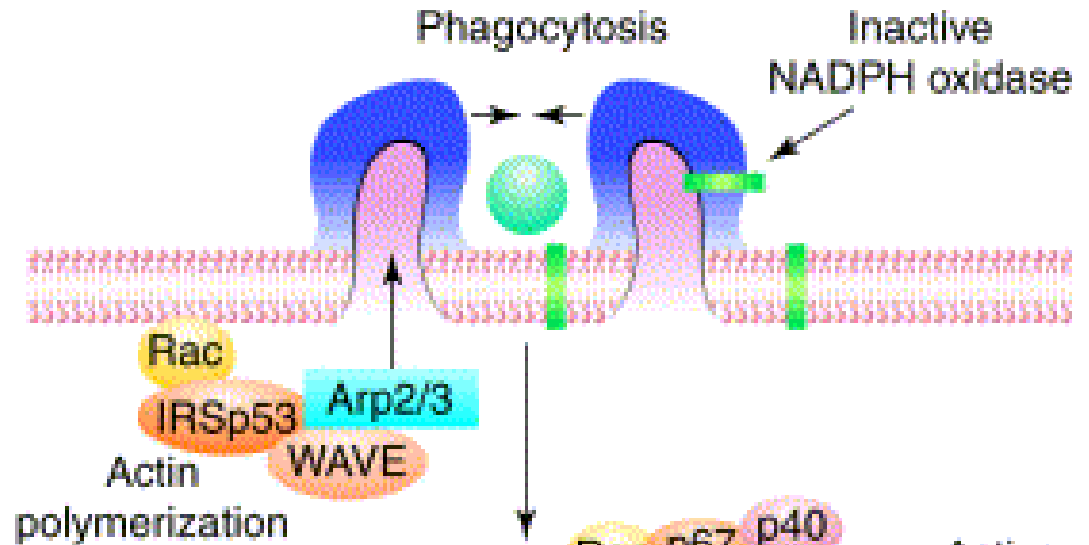


● Membrane F-actin ▲ Capping protein ▼ Arp2/3 Fascin ● Ena/VASP

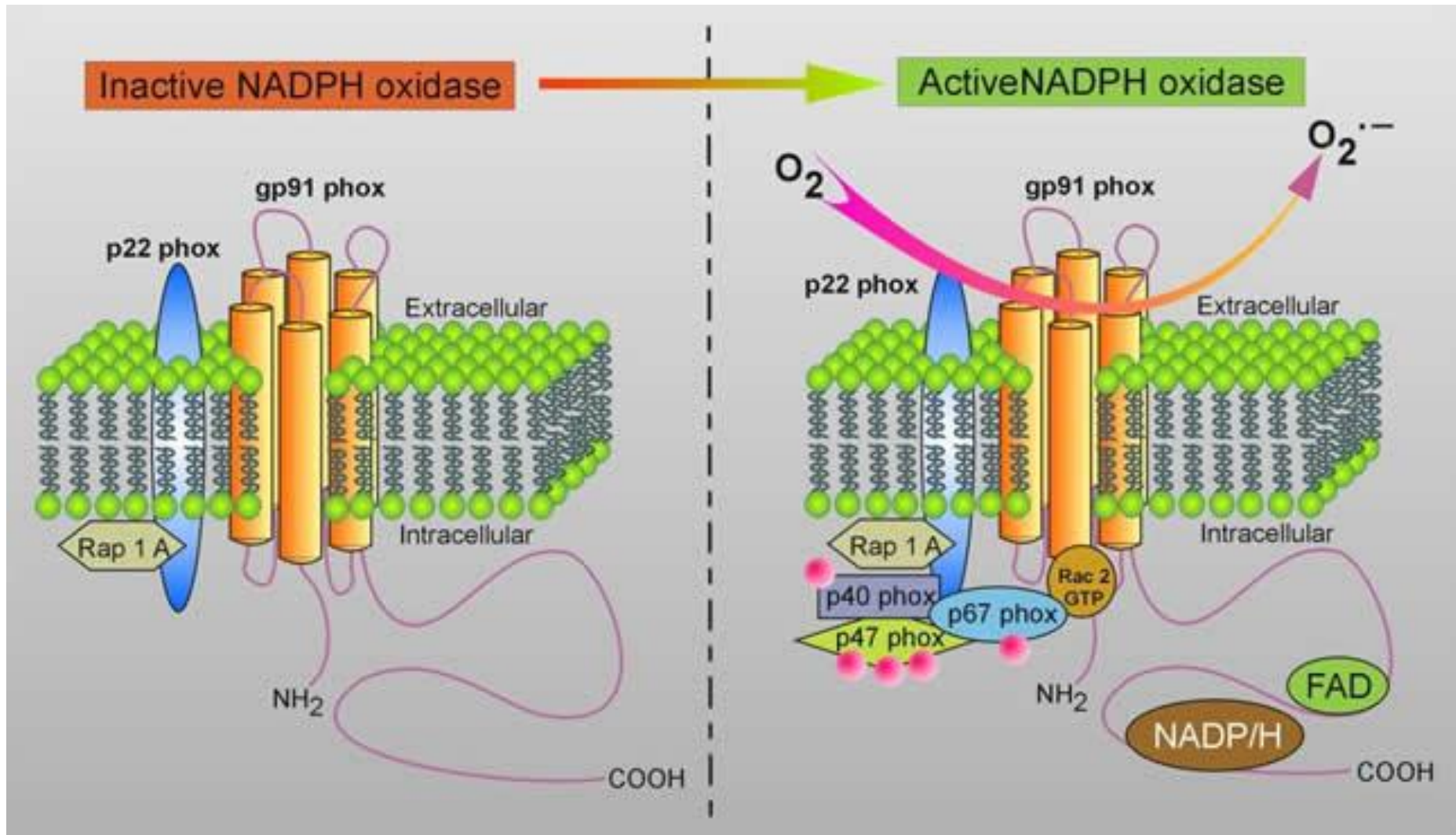




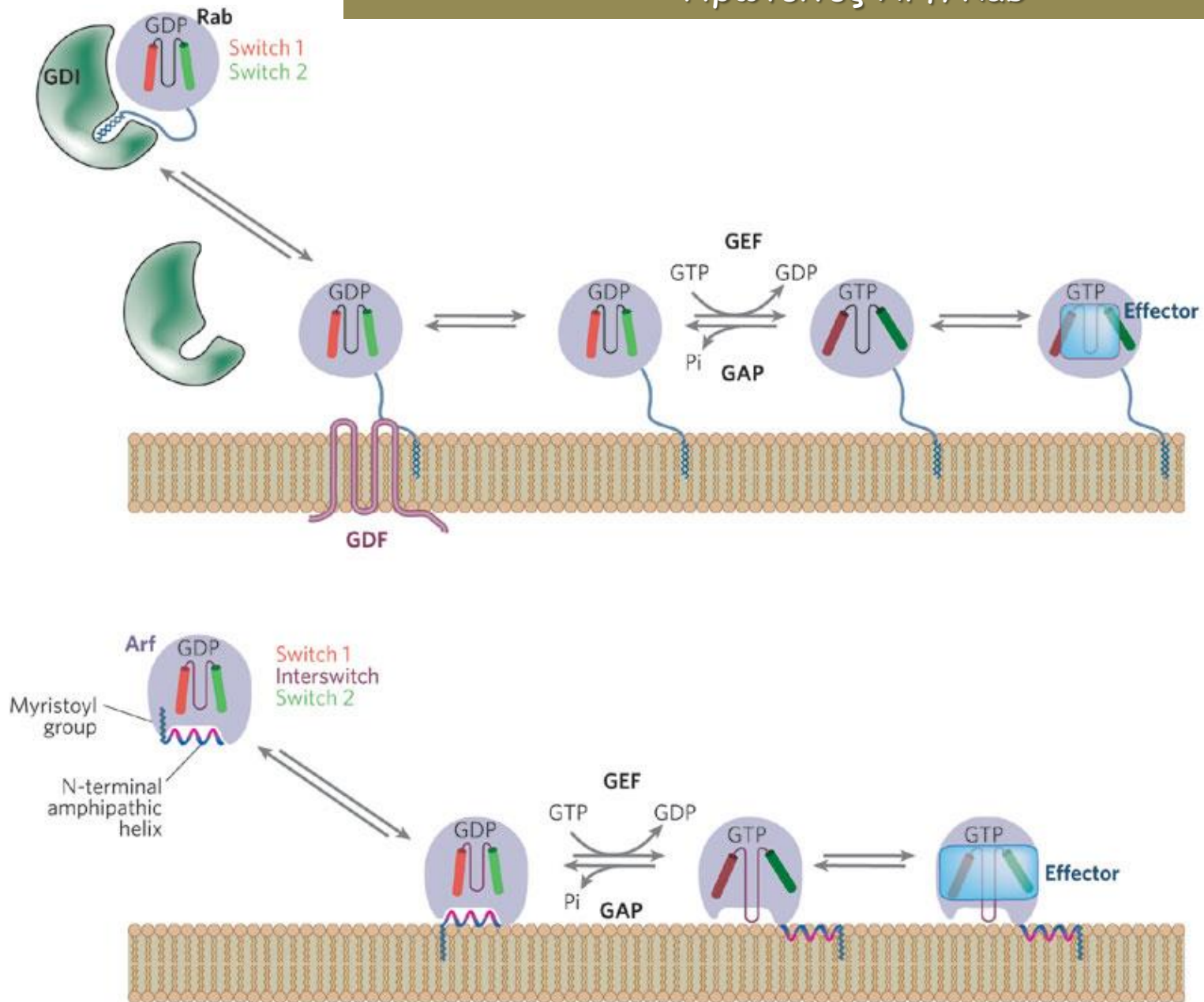
Ο ρόλος της Rac στη φαγοκυττάρωση



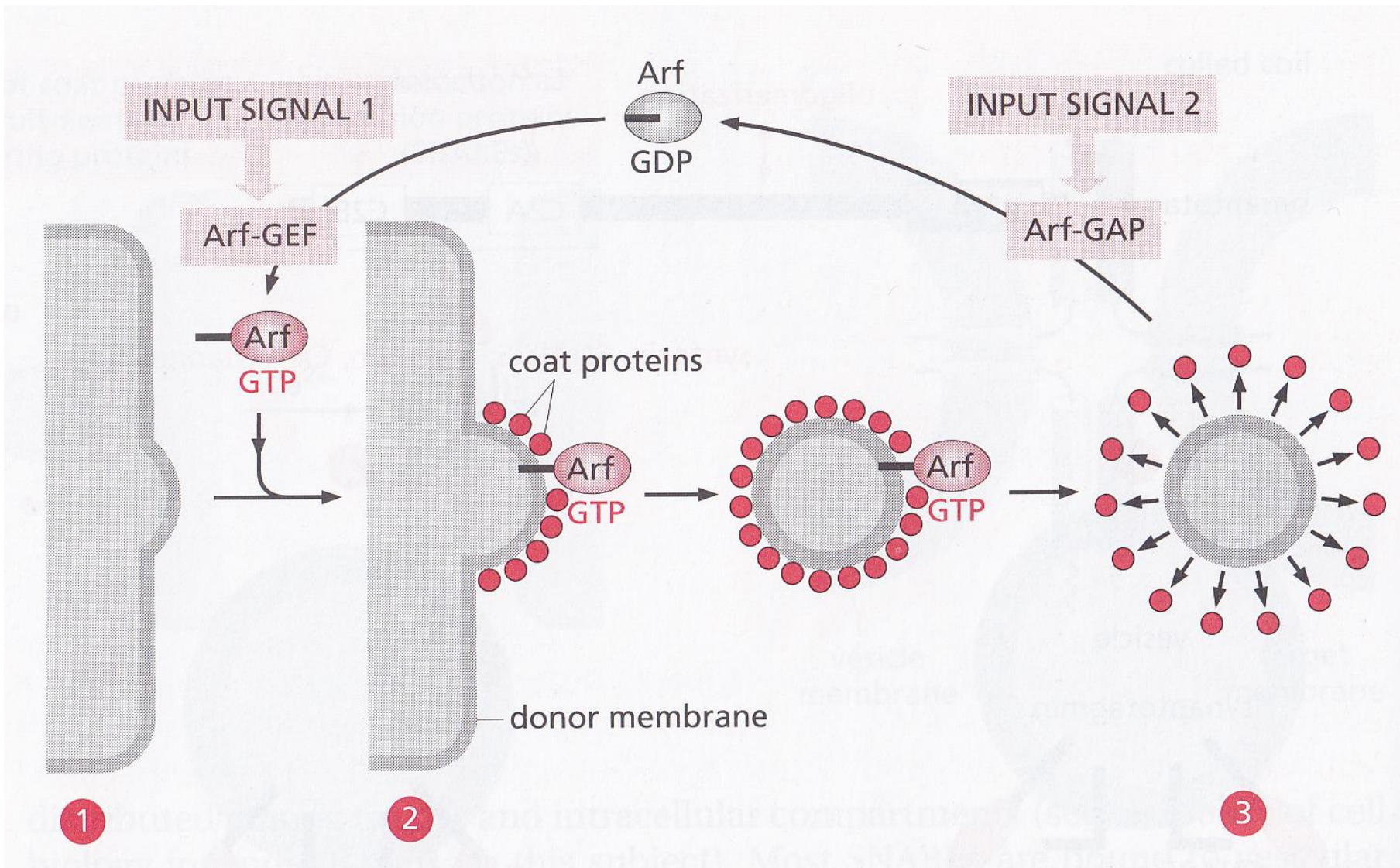
Ο ρόλος της Rac στην ενεργοποίηση της οξειδάσης NADPH

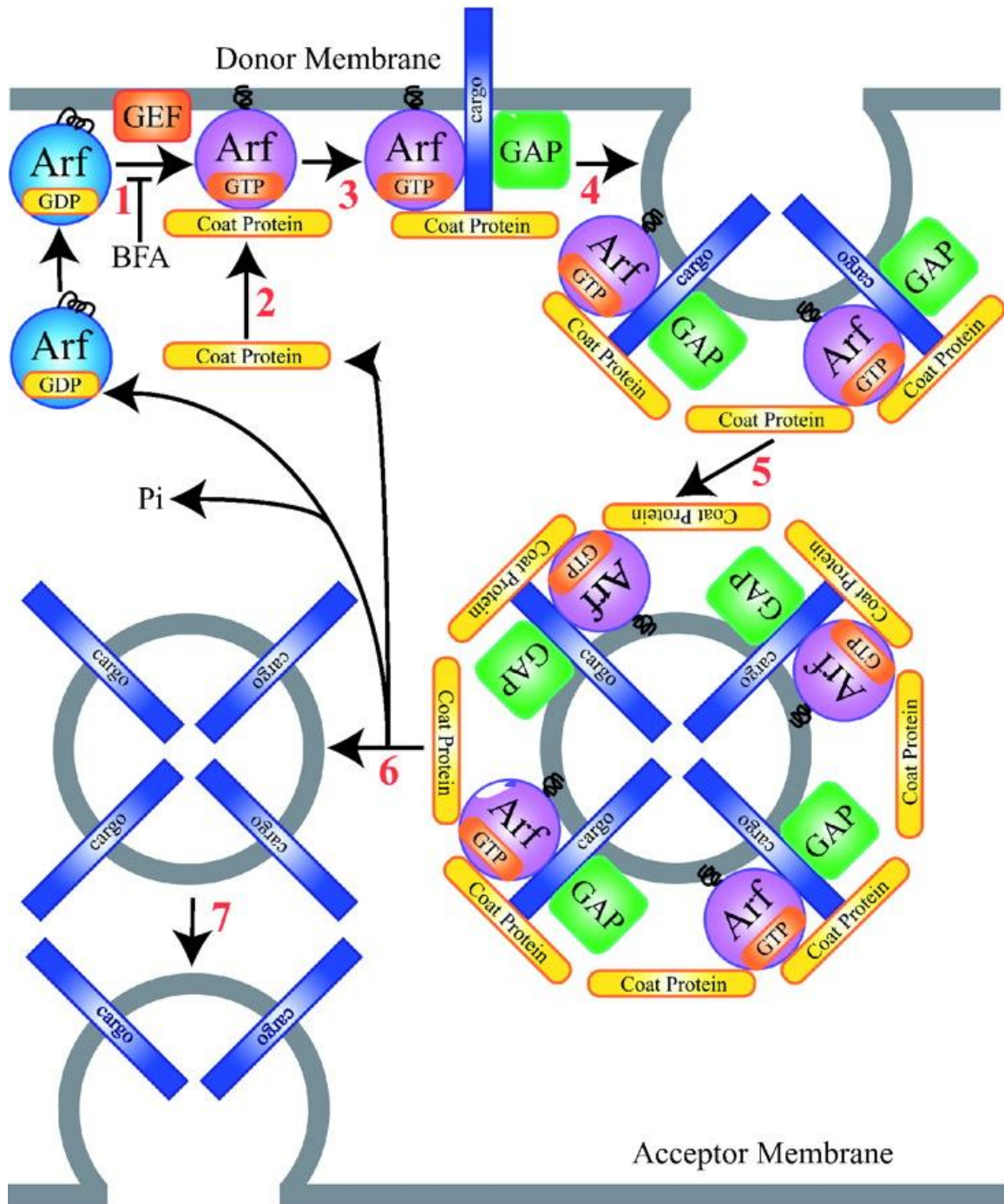


Πρωτεΐνες Arf/Rab



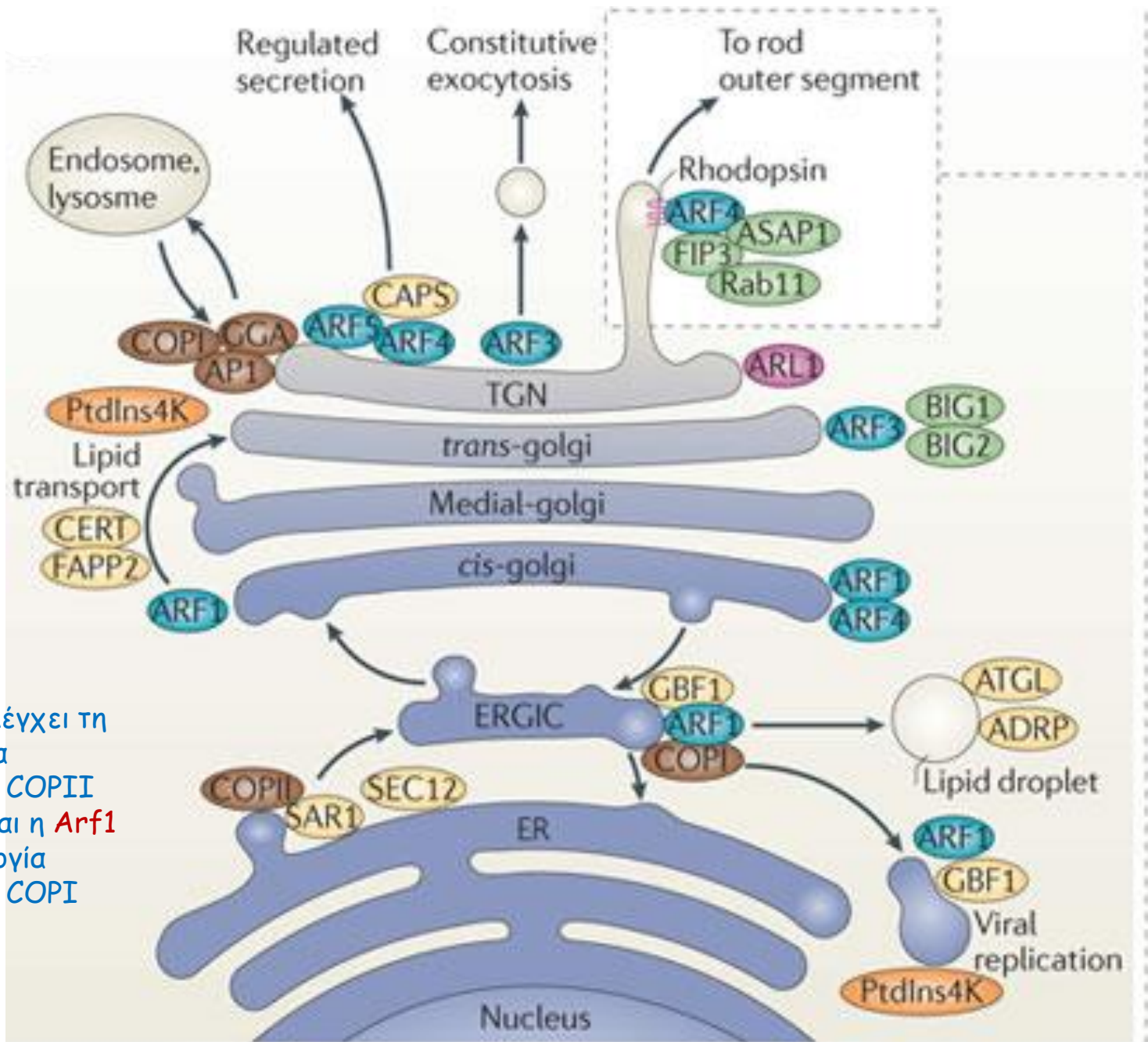
Πρωτεΐνες Arf (ADP-ribosylation factor) και δημιουργία κυστιδίων





Η κύρια δράση των Arf1, 2, 3, και 6, όπως και των Sar1, είναι να στρατολογούν καλυπτήριες πρωτεΐνες (coat proteins, COP-I, COP-II) στη θέση εκβλάστησης του κυστιδίου.

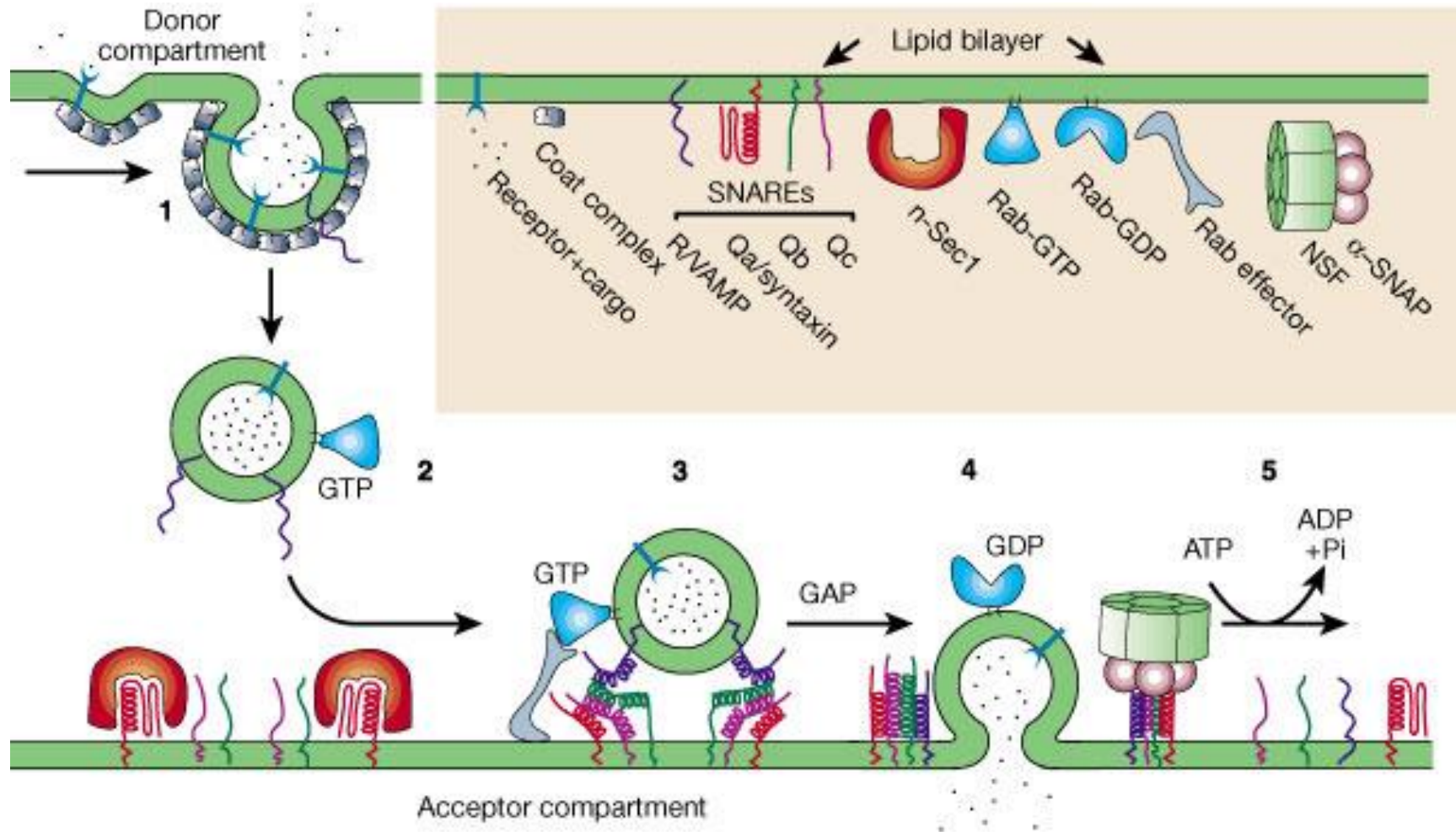
Οι Arf έχουν διαφορετικές θέσεις δράσης



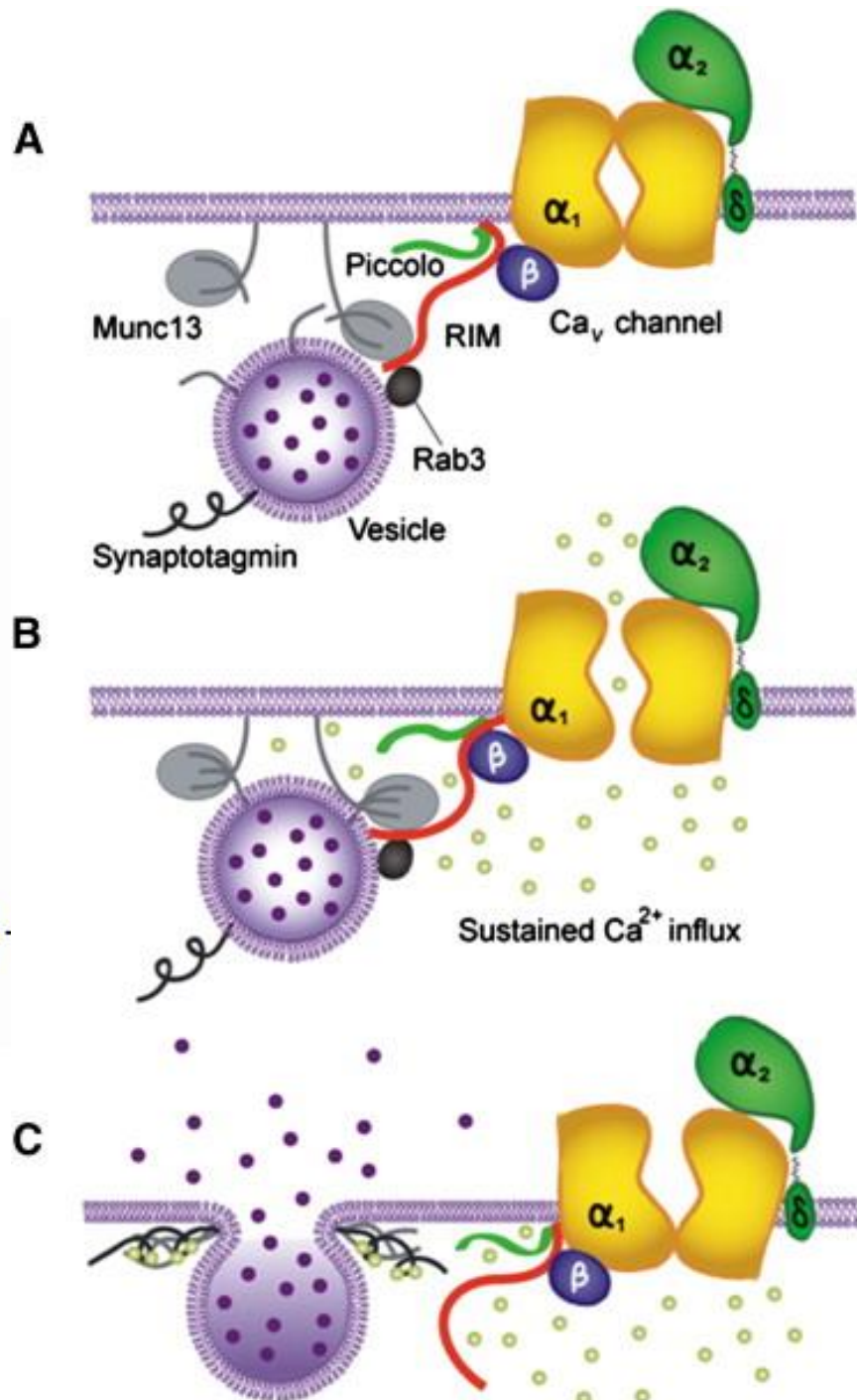
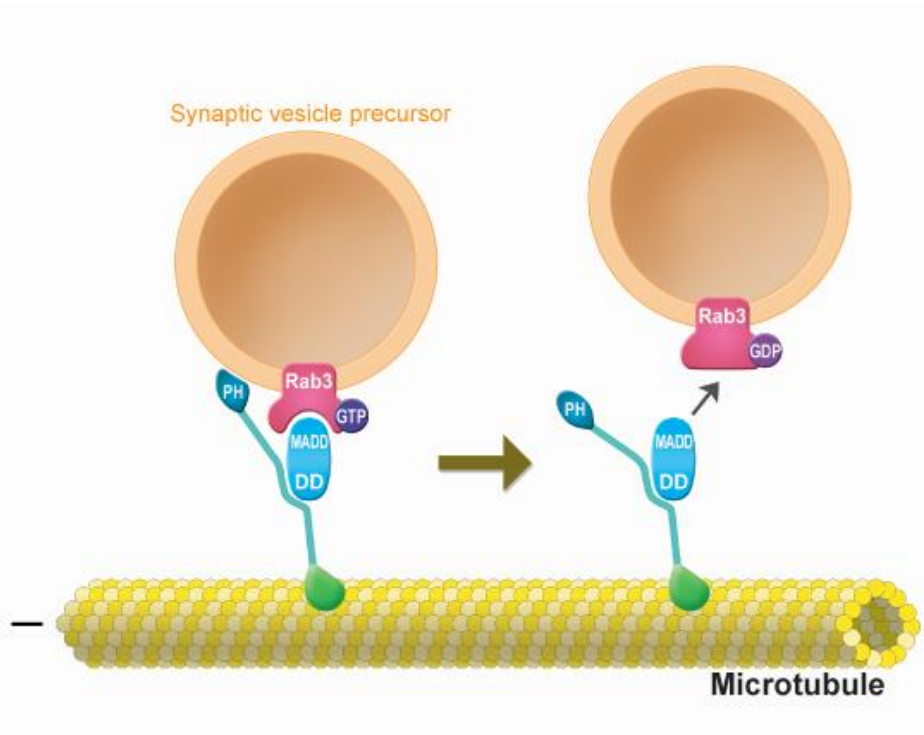
Η *Sar1* ελέγχει τη δημιουργία κυστιδίων COPII στο ΕΔ, και η *Arf1* τη δημιουργία κυστιδίων COPI στο Golgi.

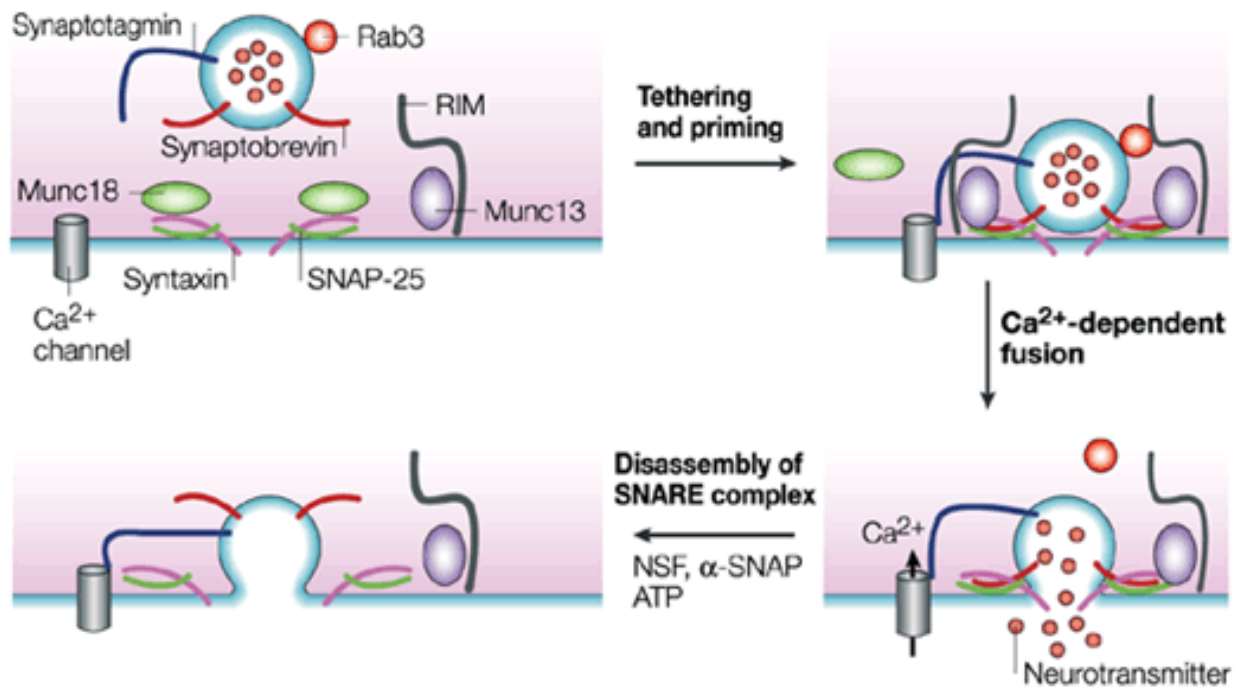
Πρωτεΐνες Rab (Rat Brain): μεταφορά συναπτικών κυστιδίων και σύντηξη με τη μεμβράνη

Rab3 ελέγχει την απελευθέρωση των νευροδιαβιβαστών στη σύναψη

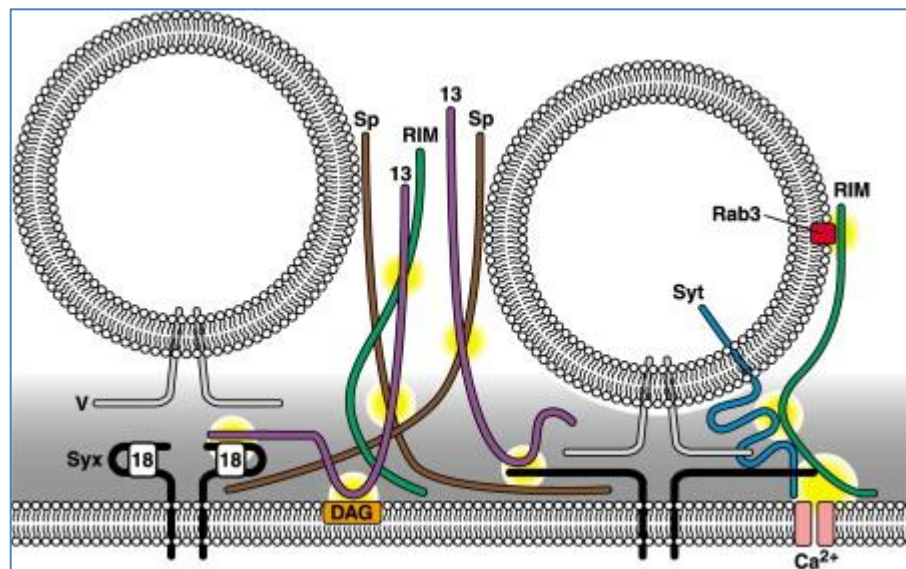


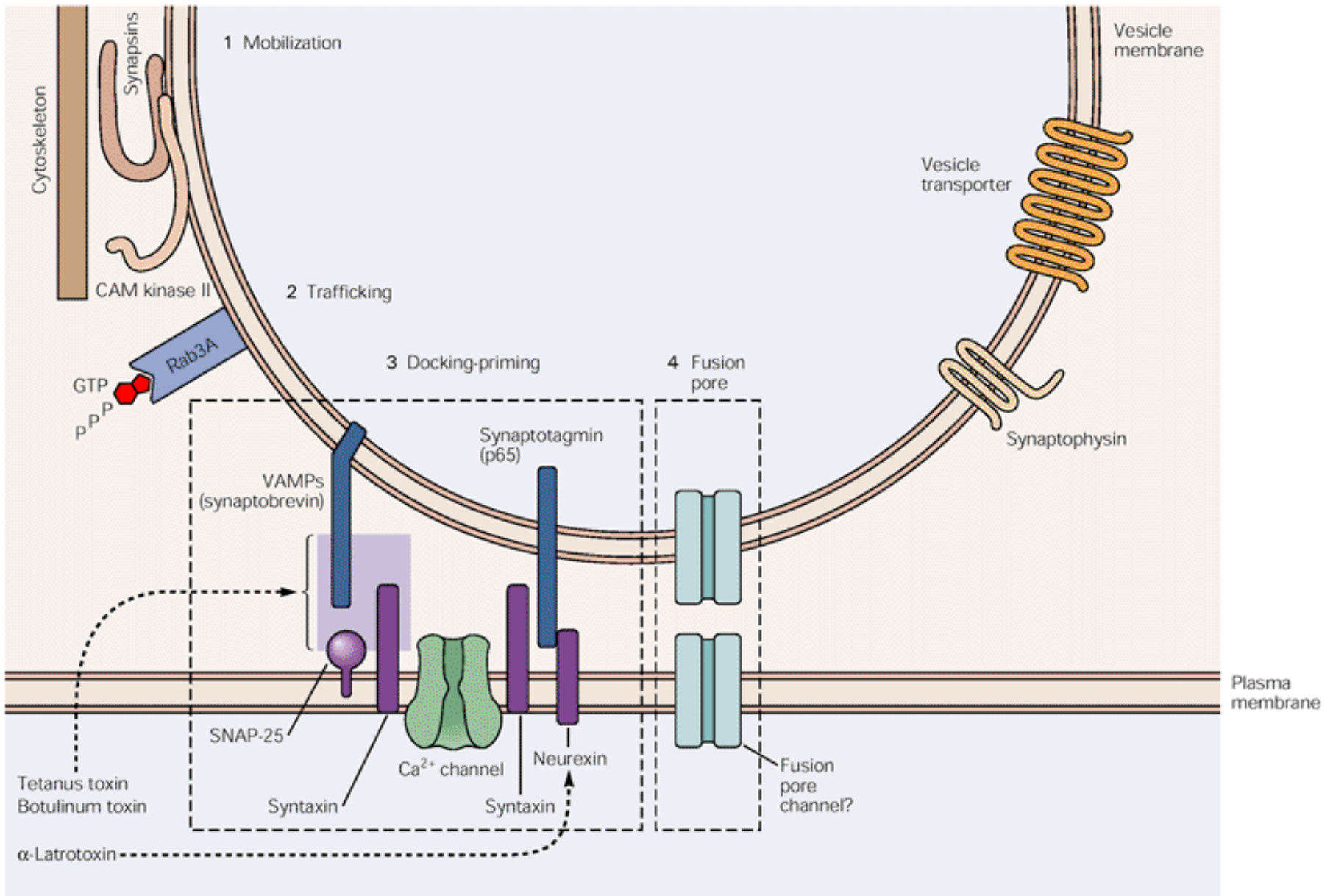
Rab3 ελέγχει την απελευθέρωση των νευροδιαβιβαστών στη σύναψη





Nature Reviews | Molecular Cell Biology





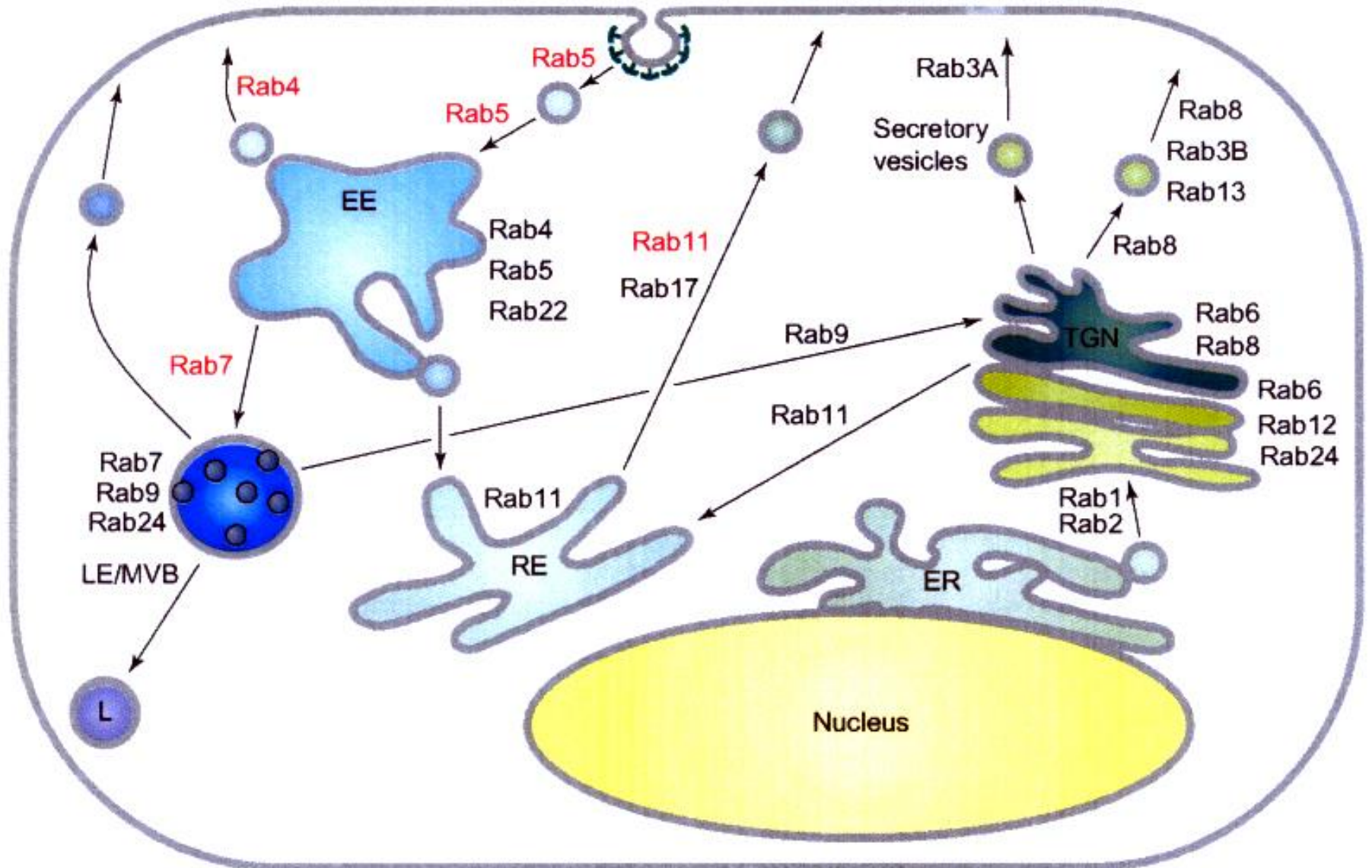
Rab1 και Rab2 από το ΕΔ στο Golgi

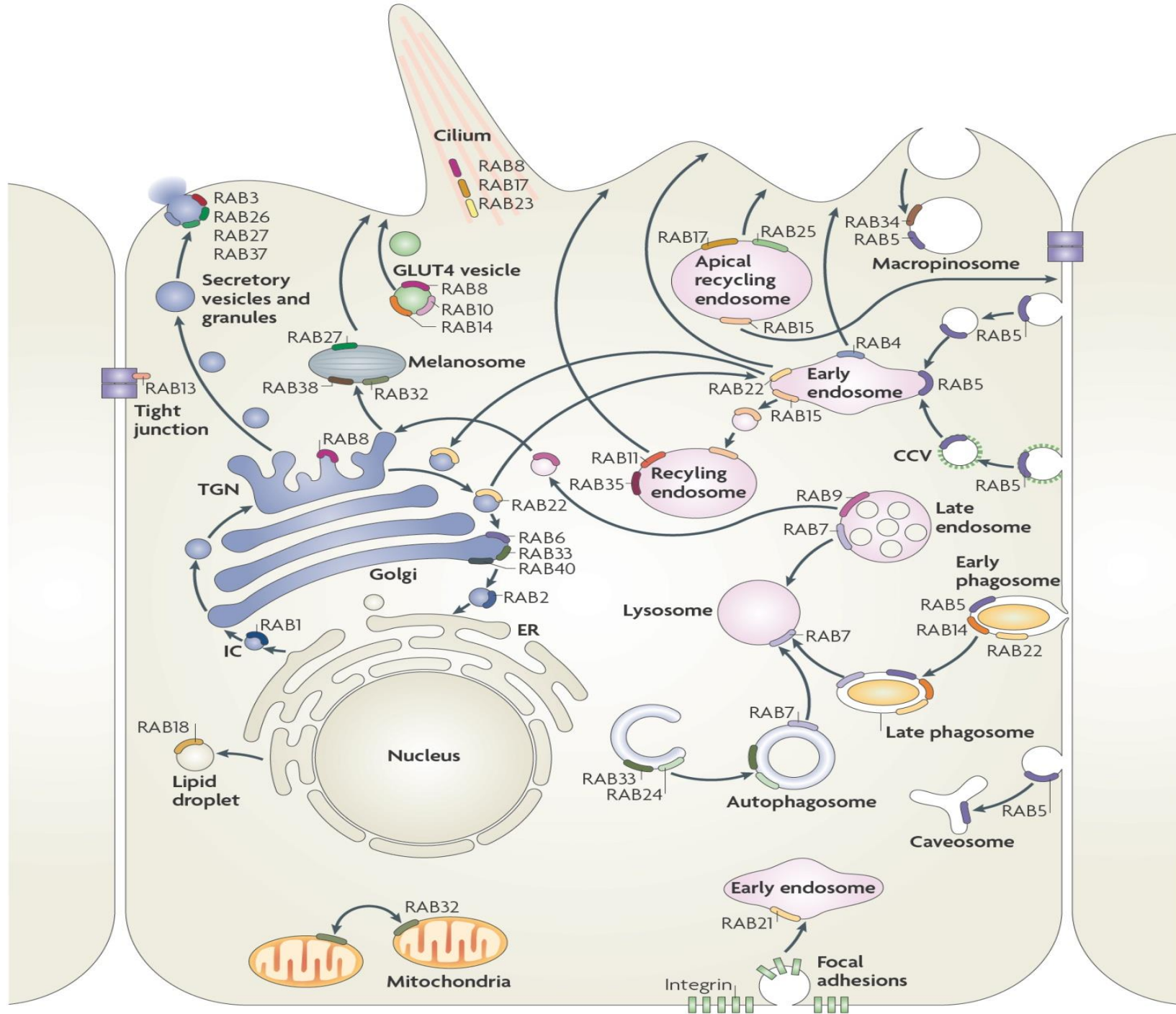
Rab6 μεταφορά μέσα στο Golgi

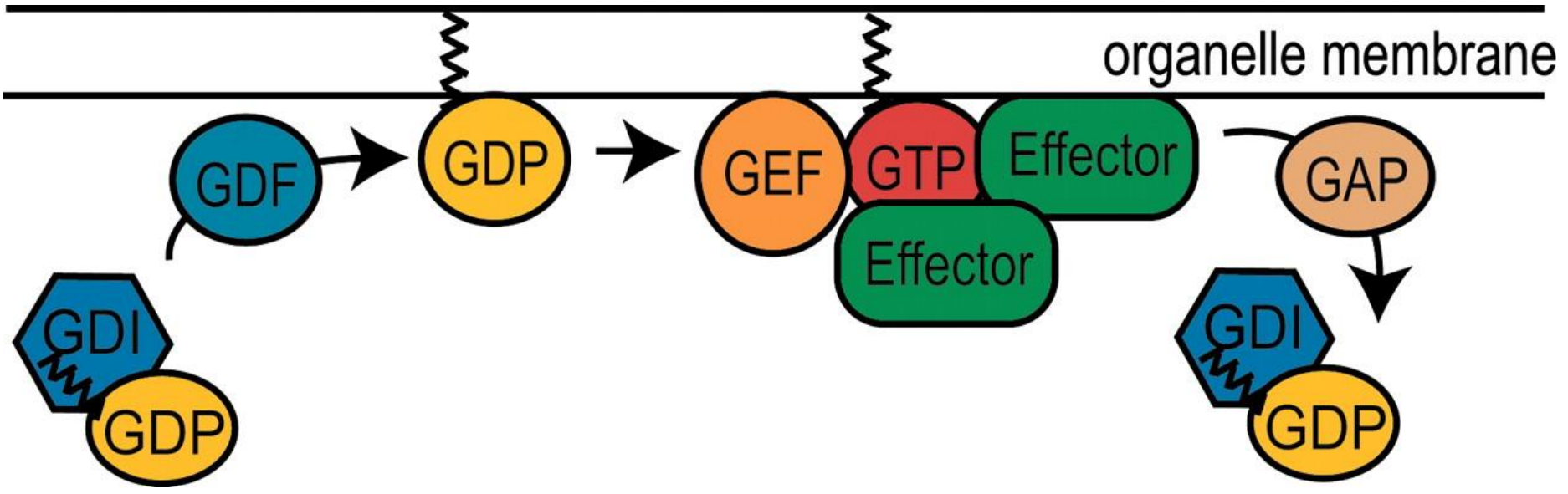
Rab8 από το trans-Golgi στην πλασματική μεμβράνη

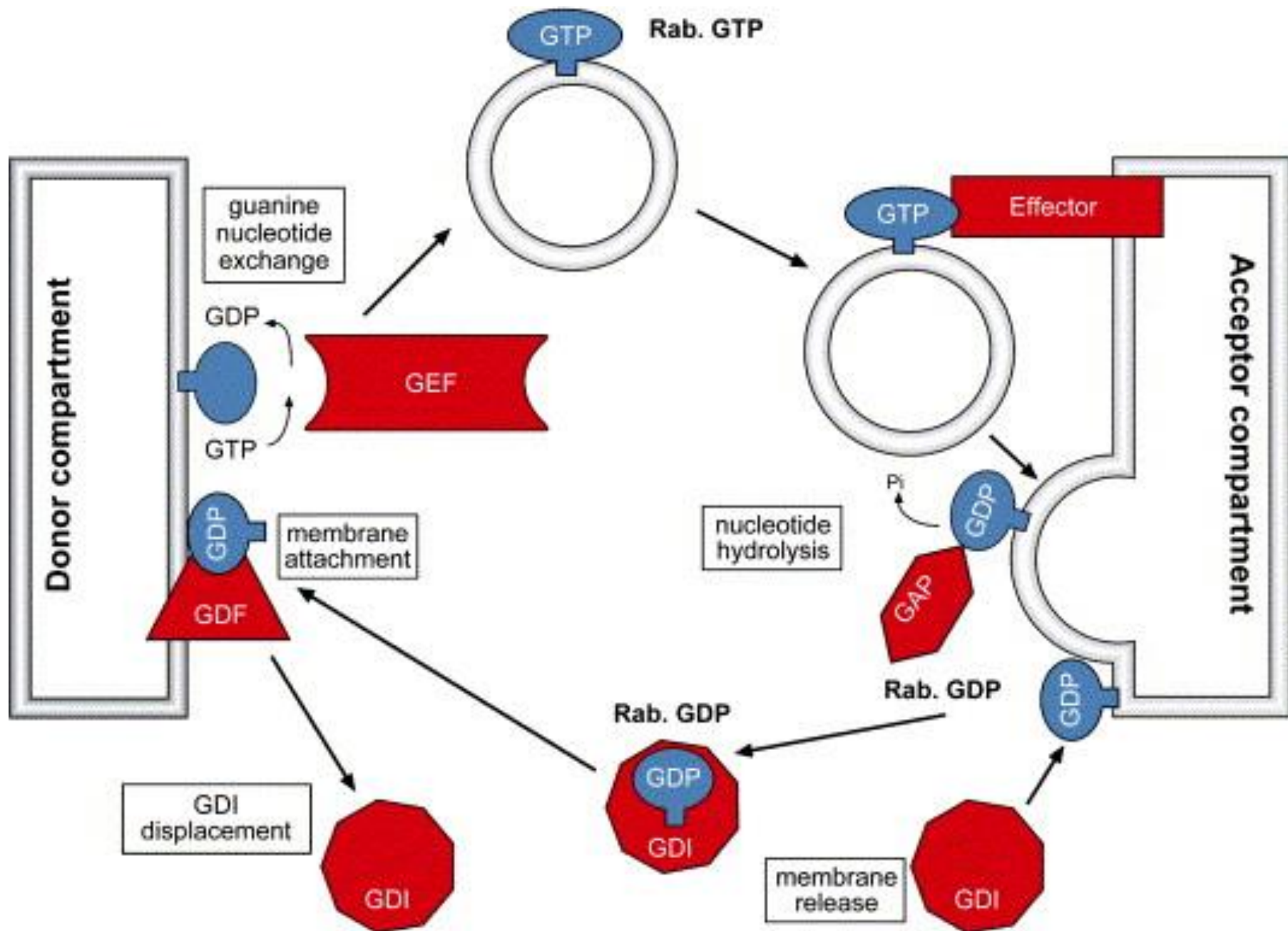
Rab4, Rab5, Rab9 ενδοκύττωση

Rab7 ανακύκλωση των down-regulated υποδοχών της πλασματικής μεμβράνης



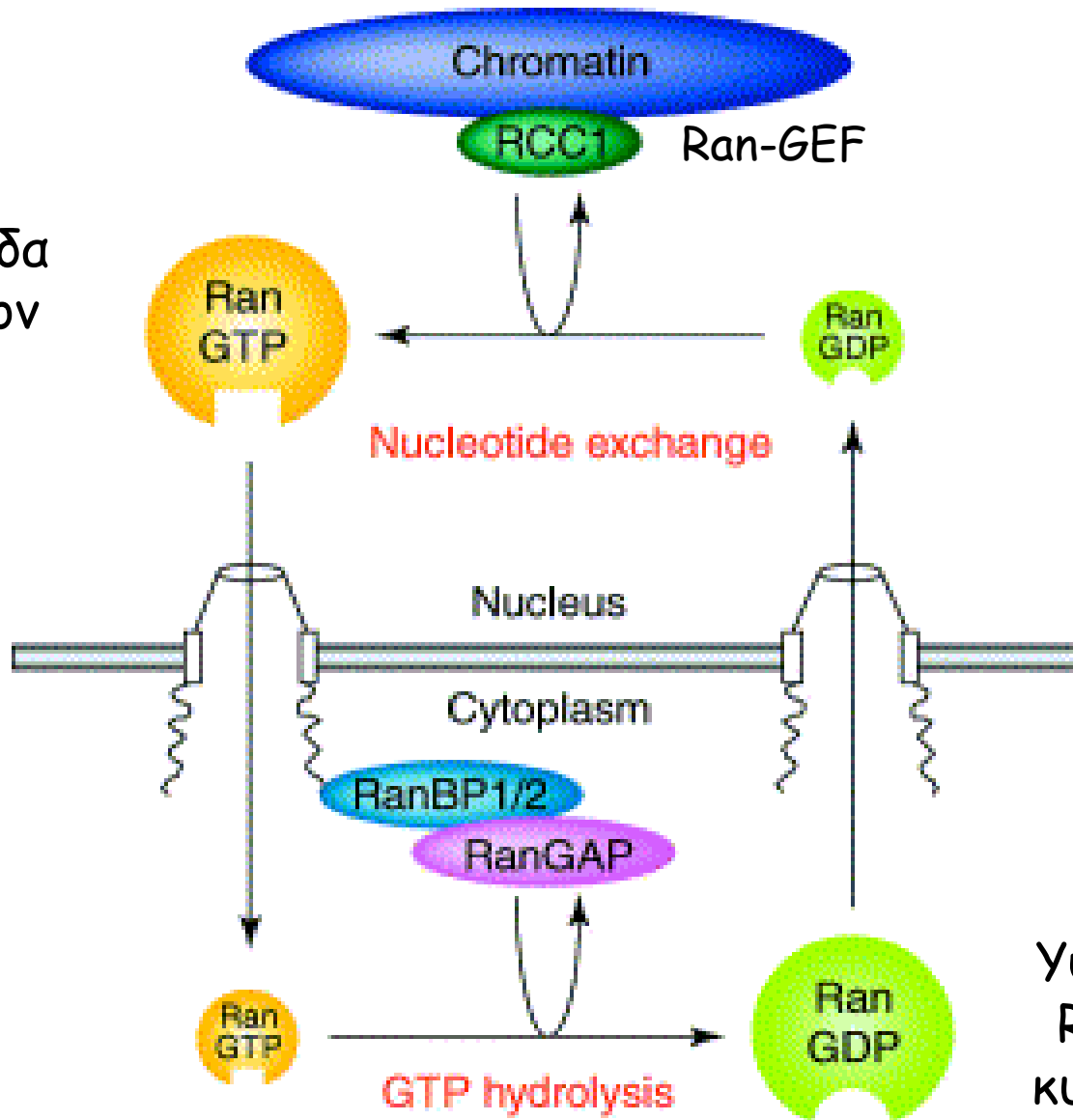




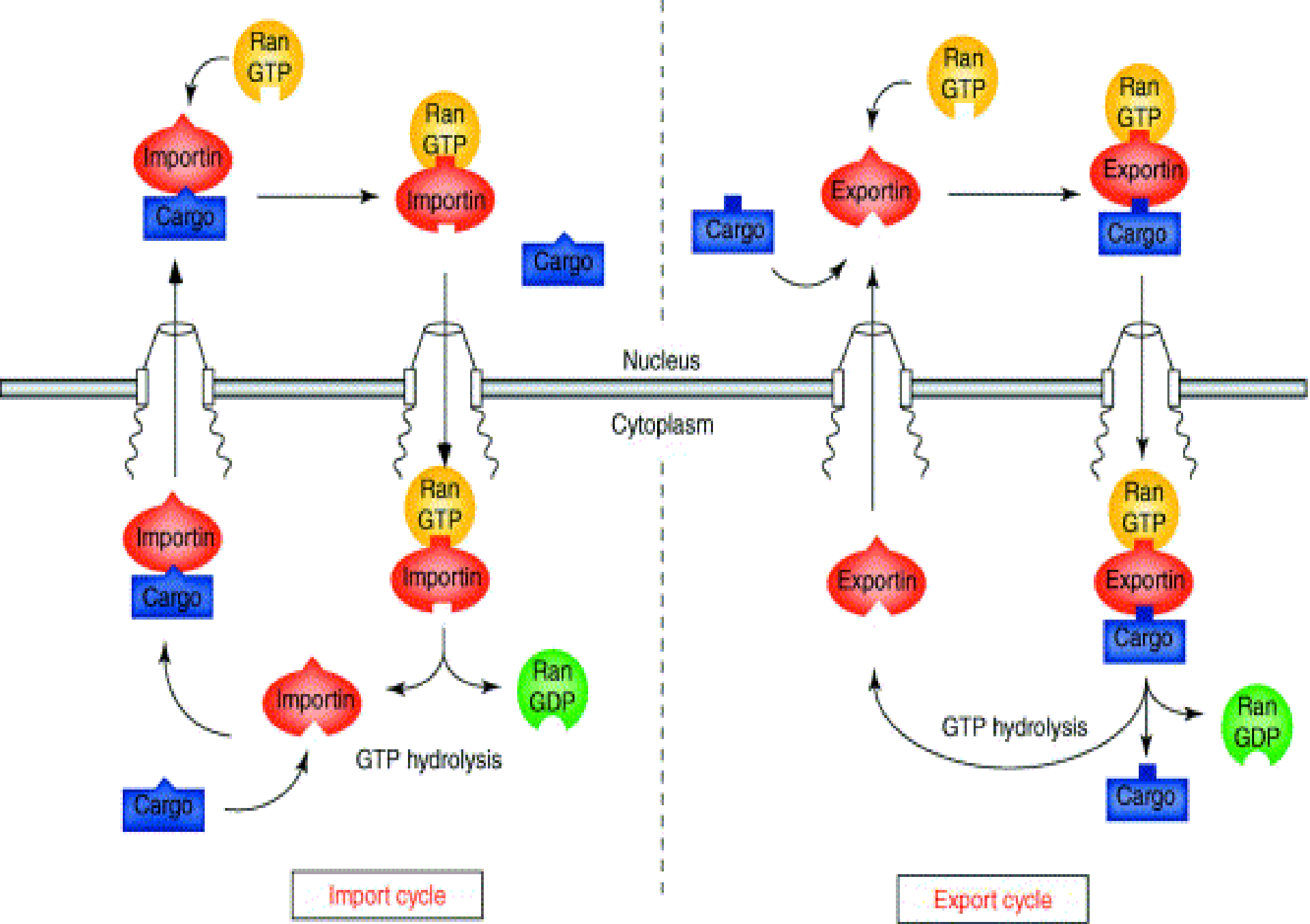


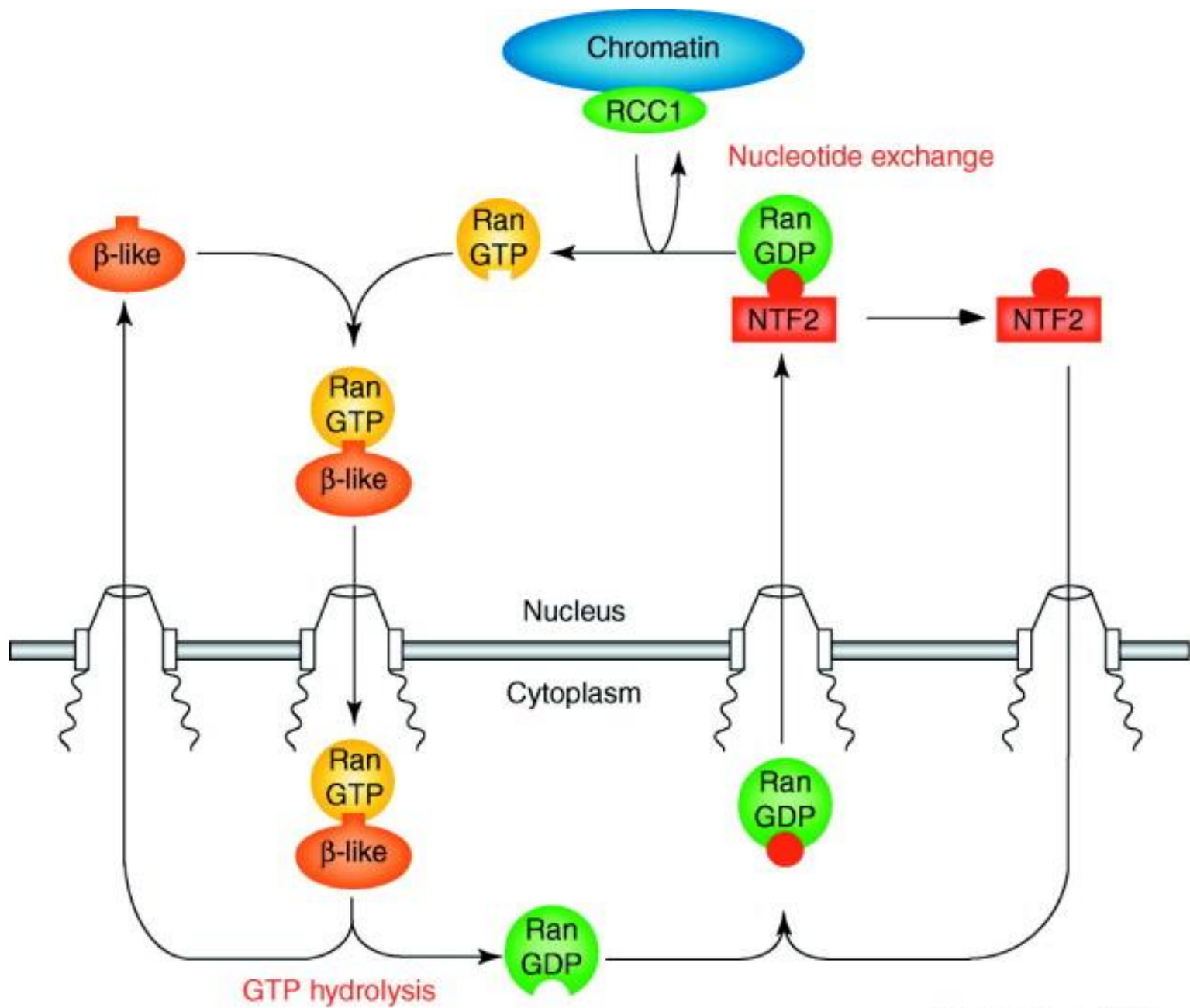
Πρωτεΐνες Ran: Αναγνωρίστηκαν το 1993

Υψηλά επίπεδα
Ran-GTP στον
πυρήνα

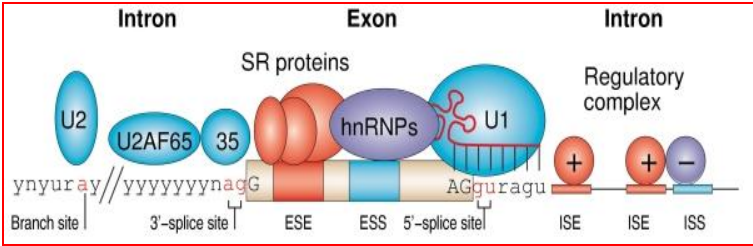


Υψηλά επίπεδα
Ran-GDP στο
κυτταρόπλασμα

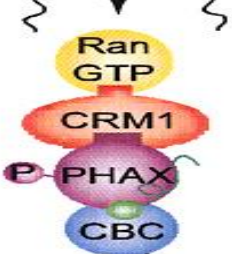




U snRNA export

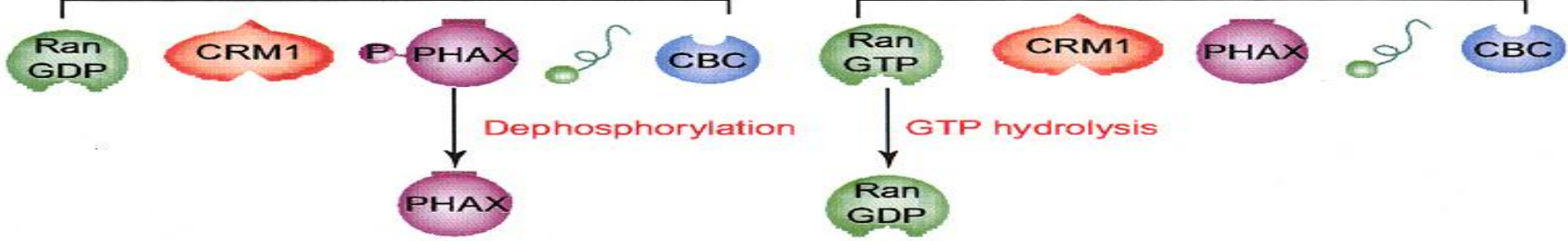


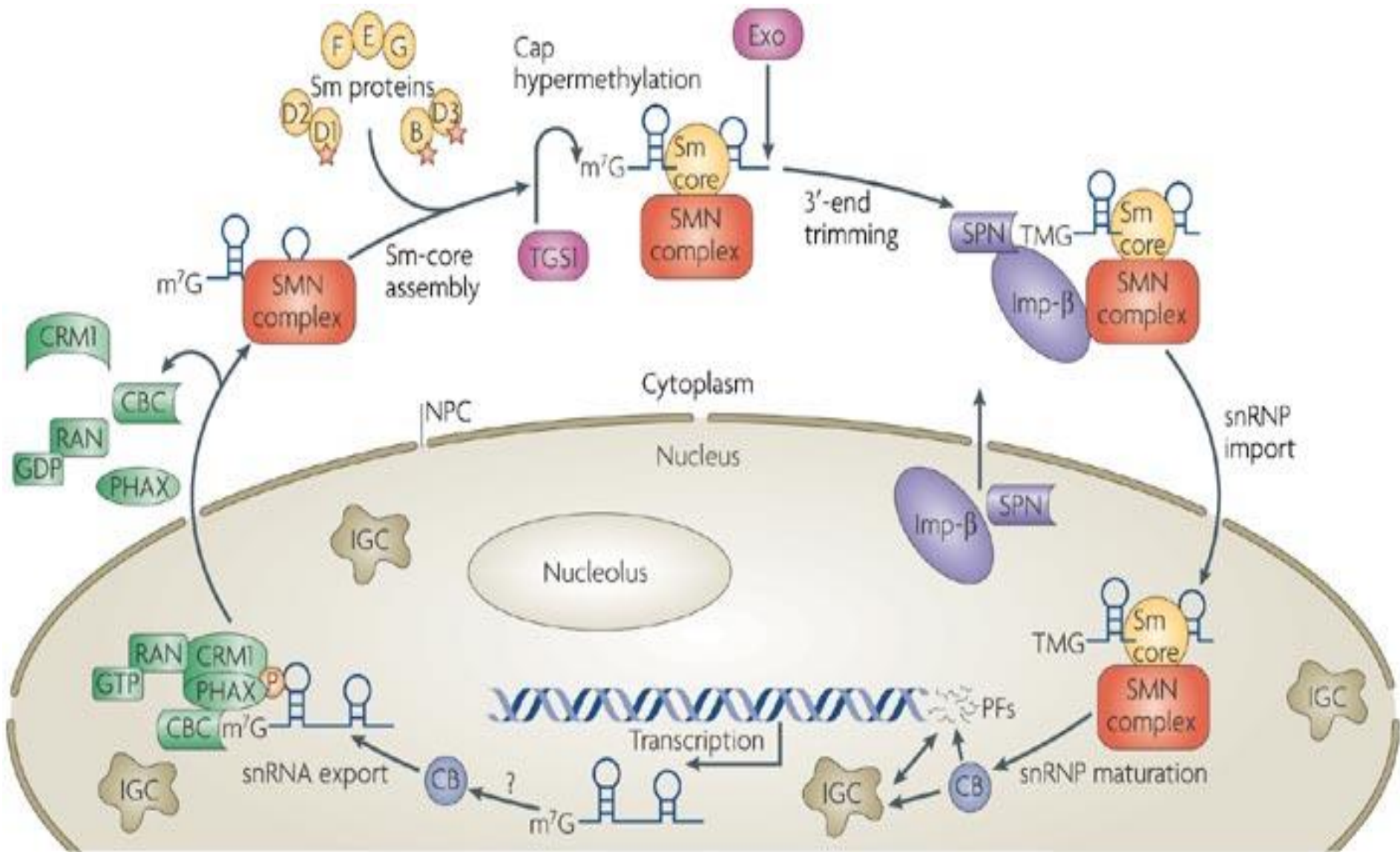
Exportin
Phosphorylated adaptor for RNA export
Cap binding complex



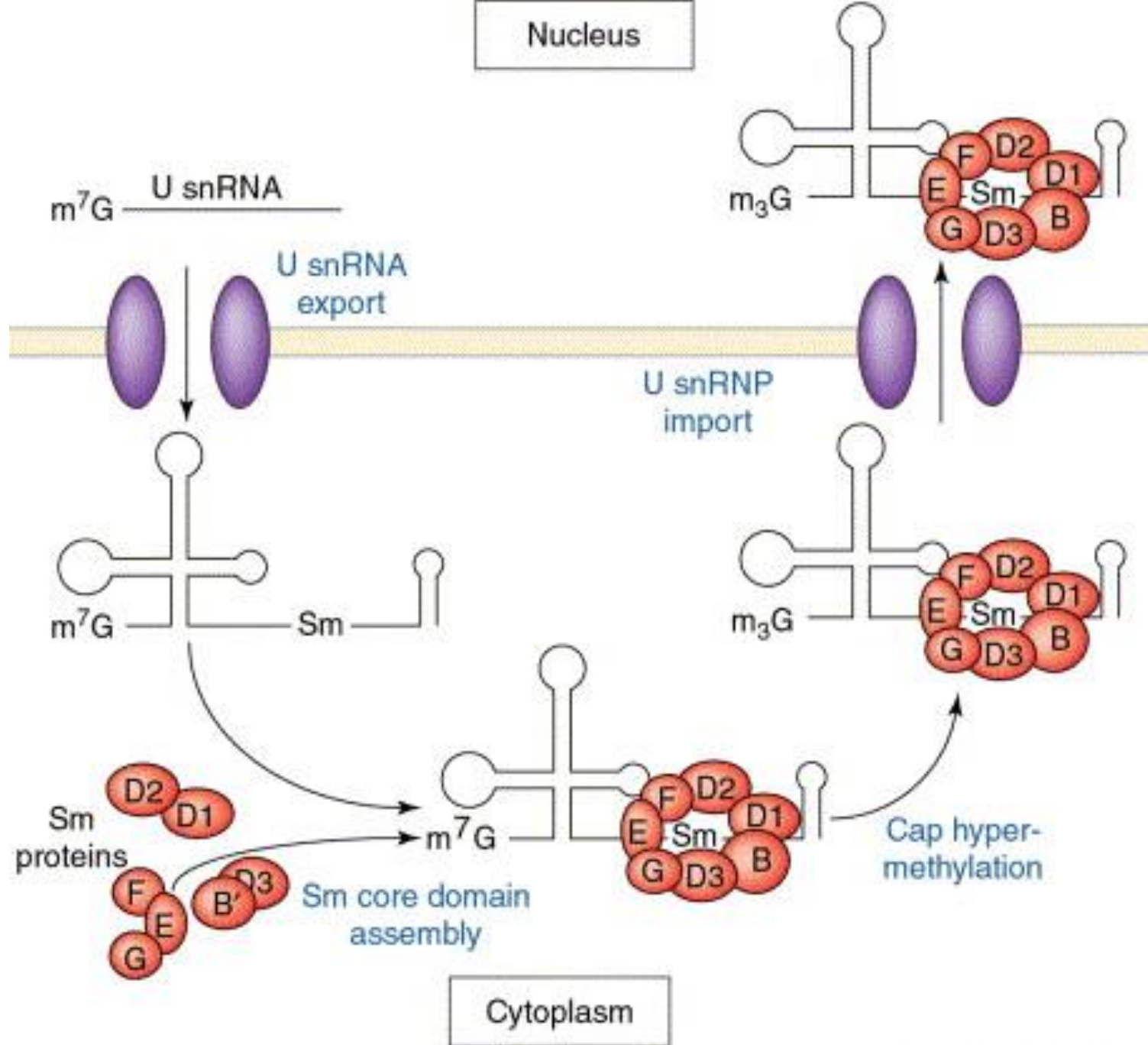
GTP hydrolysis

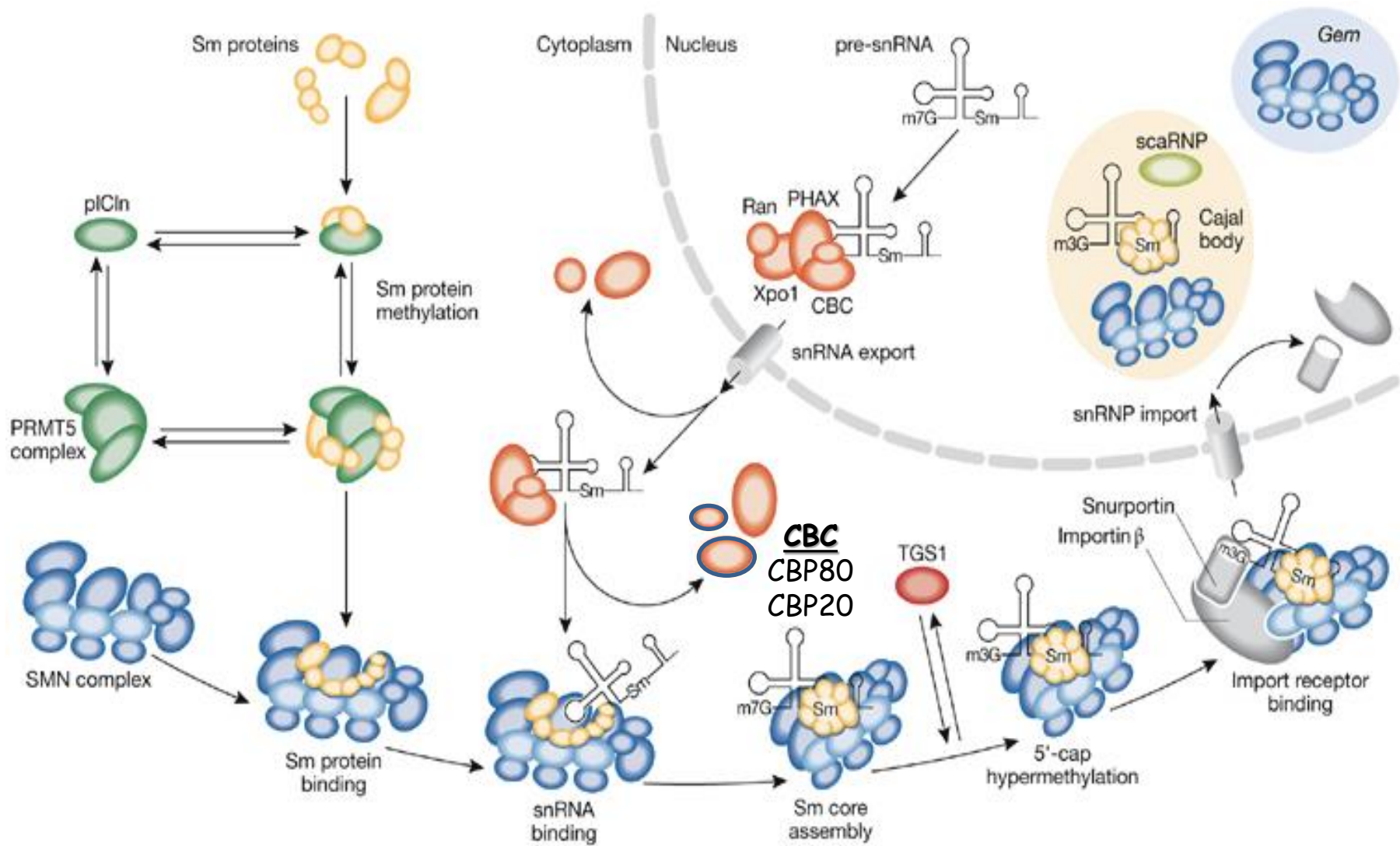
Dephosphorylation



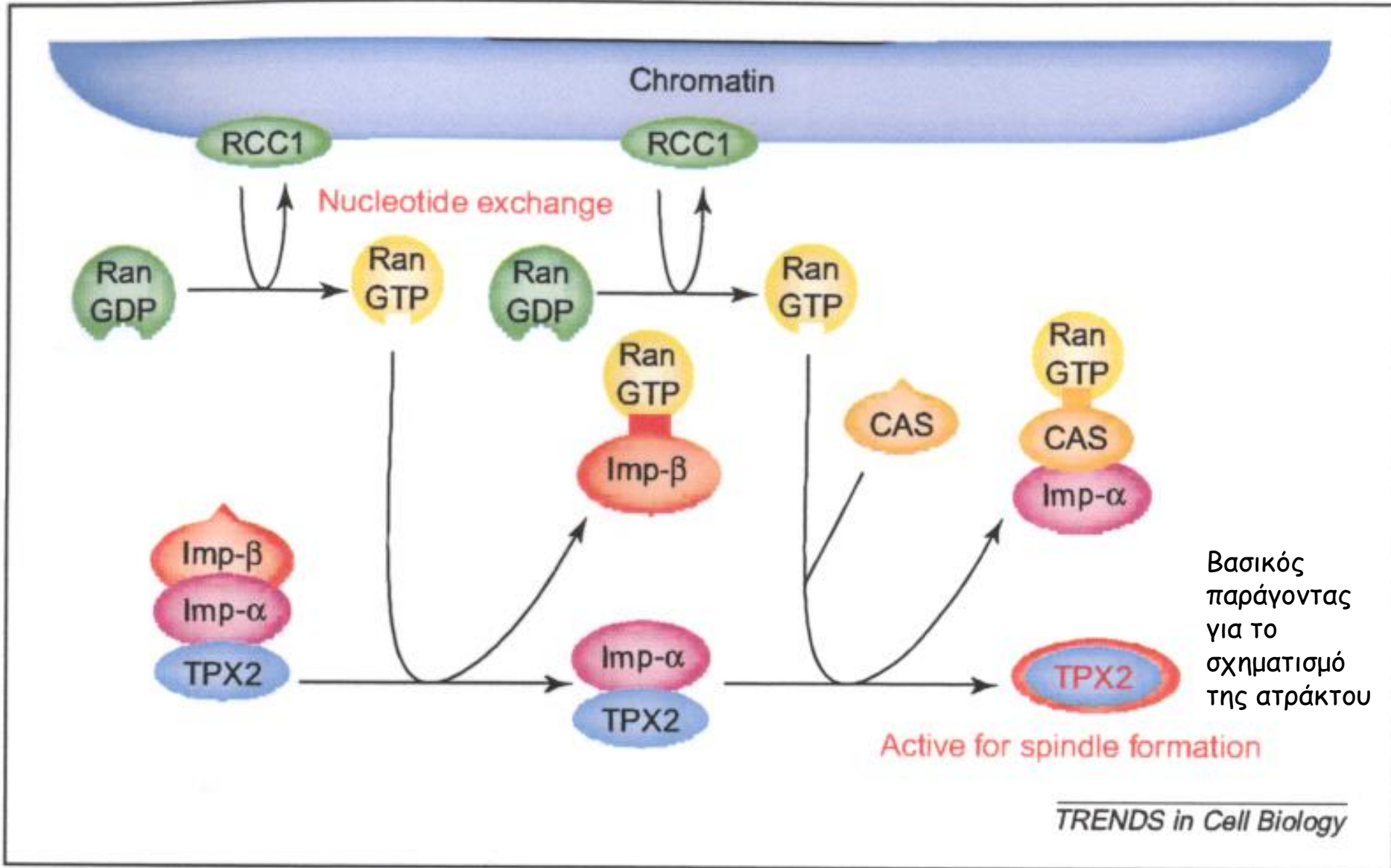


A. Gregory Matera, Rebecca M. Terns and Michael P. Terns, Non-coding RNAs: lessons from the small nuclear and small nucleolar RNAs, *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 8, 209-220 (March 2007)

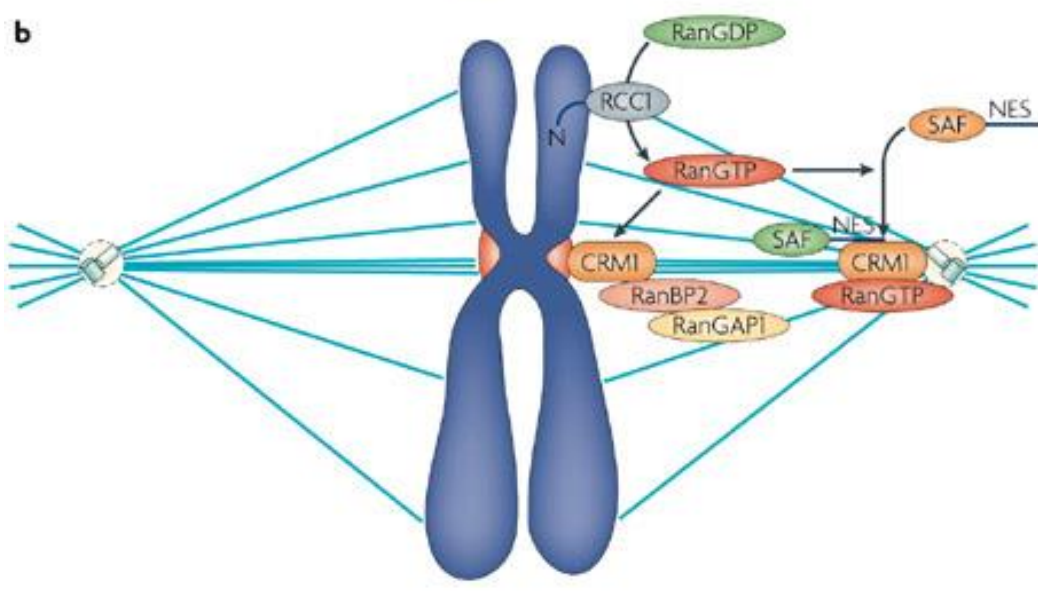
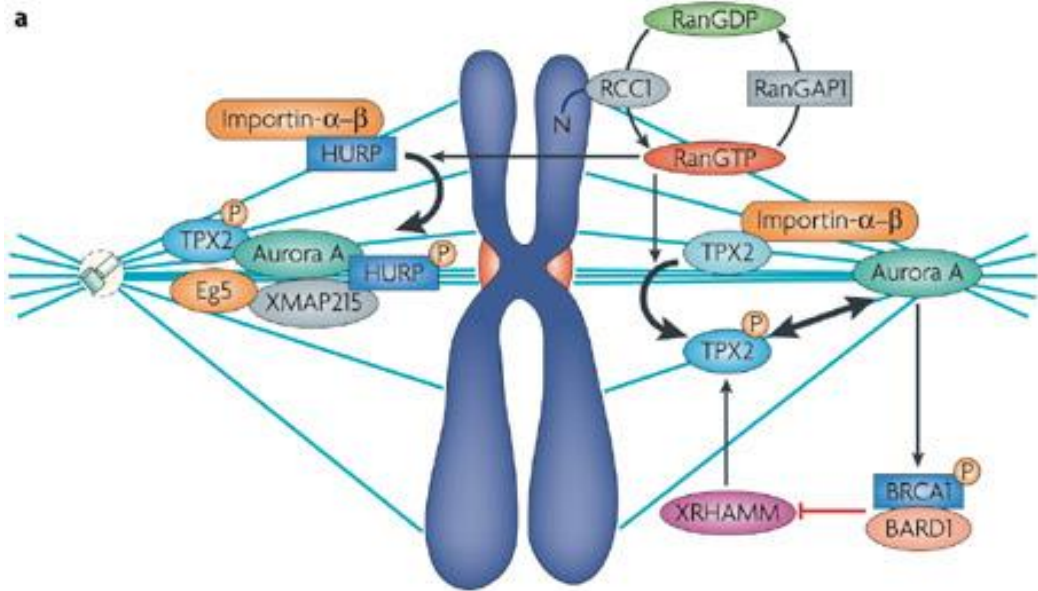




Ο ρόλος της Ran στο σχηματισμό της πυρηνικής ατράκτου



Ο ρόλος της Ran στο σχηματισμό της πυρηνικής ατράκτου



Ο ρόλος της Ran στο σχηματισμό της πυρηνικής ατράκτου

