

Υποδοχείς κινάσες τυροσίνης

1. Δομή και λειτουργία των υποδοχέων κινάσες τυροσίνης

Γενική δομή και ταξινόμηση

Σύνδεση του προσδέτη και ολιγομερισμός του υποδοχέα

Σχηματισμός ετεροδιμερών

Η ενεργοποίηση του υποδοχέα μετά τη σύνδεση του προσδέτη

Δομή της περιοχής κινάσης τυροσίνης στον υποδοχέα ινσουλίνης

Ενεργοποίηση της περιοχής κινάσης τυροσίνης και πρωτεΐνες-τελεστές

Ενεργοποίηση της Ras από τους υποδοχείς αυξητικών παραγόντων

Οι πρωτεϊνικές κινάσες τυροσίνης, όπως και οι πρωτεϊνικές κινάσες σερίνης/θρεονίνης χρησιμοποιούνται ευρύτατα στην ενδοκυτταρική μετάδοση μηνυμάτων. Η ενεργοποίηση των πρωτεϊνικών κινάσων τυροσίνης “τυροδοτείται” κυρίως από σήματα που ρυθμίζουν την κυτταρική αύξηση και διαφοροποίηση. Τα εξωκυτταρικά σήματα είναι συνήθως πρωτεϊνικές ορμόνες, οι οποίες αν ασκούν ρυθμιστική δράση στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, ταξινομούνται ως αυξητικοί παράγοντες. Ο Πίνακας 9.1 δείχνει ορισμένους αυξητικούς παράγοντες θηλαστικών με τους αντίστοιχους υποδοχείς τους, οι οποίοι συμμετέχουν στη μεταφορά του σήματος στο εσωτερικό του κυττάρου.

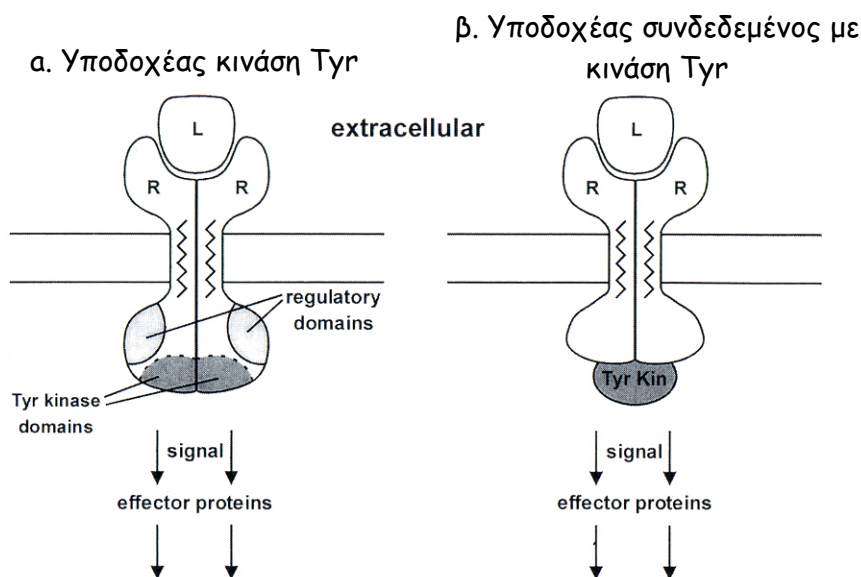
Η σύζευξη ενός εξωκυτταρικού μηνύματος στην φωσφορυλίωση της τυροσίνης στο εσωτερικό του κυττάρου μπορεί να πραγματοποιηθεί με δύο τρόπους, οι οποίοι περιλαμβάνουν δύο διαφορετικούς τύπους υποδοχέων:

Υποδοχείς με εσωτερική δράση κινάσης τυροσίνης

Μερικοί διαμεμβρανικοί υποδοχείς έχουν εσωτερική δράση κινάσης τυροσίνης. Αυτοί οι υποδοχείς είναι γνωστοί ως *υποδοχείς κινάσες τυροσίνης*. Η σύνδεση ενός προσδέτη στην εξωκυτταρική περιοχή του υποδοχέα διεγείρει τη δράση μιας κινάσης τυροσίνης, η οποία εντοπίζεται στην ενδοκυτταρική του περιοχή. Χαρακτηριστικό αυτού του τύπου υποδοχέα αποτελεί το γεγονός ότι η περιοχή σύνδεσης του προσδέτη και η περιοχή της κινάσης τυροσίνης αποτελούν τμήματα της ίδιας πρωτεΐνης.

Διαμεμβρανικοί υποδοχείς συνδεδεμένοι με δραστικότητα κινάσης τυροσίνης

Ένας άλλος τύπος διαμεμβρανικού υποδοχέα, είναι συνδεδεμένος στην ενδοκυτταρική του περιοχή με μια κινάση τυροσίνης, η οποία ενεργοποιείται όταν ένας προσδέτης συνδέεται στην εξωκυτταρική του περιοχή. Η διαφορά είναι ότι η κινάση τυροσίνης και ο υποδοχέας δεν αποτελούν τμήματα της ίδιας πρωτεΐνης.



Εικόνα 9.1 Σχηματική αναπαράσταση της μετάδοσης του μηνύματος από υποδοχείς με εσωτερική δράση κινάσης τυροσίνης και από υποδοχείς συνδεδεμένους με κινάση τυροσίνης. α) Οι υποδοχείς αυτοί εμφανίζουν στην κυτταροπλασματική τους περιοχή μια κινάση τυροσίνης, η οποία ενεργοποιείται με τη σύνδεση του προσδέτη στην εξωκυτταρική πλευρά του υποδοχέα και παράγει ένα σήμα που ενεργοποιεί άλλες πρωτεΐνες τελεστές (effector proteins). Στο σχήμα παρατηρούνται και οι ρυθμιστικές περιοχές της κινάσης. β) Οι υποδοχείς της κατηγορίας αυτής μεταφέρουν το σήμα σε μια κινάση τυροσίνης, η οποία δεν αποτελεί εσωτερικό τμήμα του υποδοχέα, αλλά είναι παροδικά ή μόνιμα συνδεδεμένη με την κυτταροπλασματική του περιοχή. Για απλούστευση απεικονίζεται η διμερής μορφή του υποδοχέα.

Πίνακας 9.1 : Αυξητικοί παράγοντες θηλαστικών και οι αντίστοιχοι υποδοχείς τους

Αυξητικός παράγοντας	Χαρακτηριστικά	Υποδοχείς
<i>PDGF (platelet derived growth factor): αυξητικός παράγοντας που παράγεται από τα αιμοπετάλια</i> <i>PDGF τύποι: AA, AB και BB</i>	Διμερής, αποτελείται από δύο αλυσίδες την A(17kD) και τη B(16kD) η τελευταία εκ των οποίων αποτελεί παράγωγο ενός c-sis πρωτο-ογκογονιδίου	Δύο τύποι του υποδοχέα κινάσης τυροσίνης, ο PDGF-Ra (170kD) και ο PDGF-Rβ (180kD)
<i>EGF (epidermal growth factor): επιδερμικός αυξητικός παράγοντας</i> <i>TGF-α (transforming growth factor): μεταμορφωτικός αυξητικός παράγοντας- α</i>	Περίπου 6kD, ο EGF και ο TGF-α είναι κατά 40% ταυτόσημοι	Υποδοχέας με δράση κινάσης τυροσίνης. Ο EGF-R αποτελεί προϊόν του c-erbB πρωτο-ογκογονιδίου
<i>TGF-β : μεταμορφωτικός αυξητικός παράγοντας- β</i> <i>TGF-β1, -β2, -β3</i>	Ομοδιμερές των 25 kD	Οι TGFβ-RI & II περιέχουν μια ειδική δράση κινάσης Ser/Thr
<i>IGF-1 και IGF-2 : Insulin-like αυξητικοί παράγοντες</i>	7 kD, συγγενής με την προ-ινσουλίνη	IGF-R με δράση κινάσης τυροσίνης
<i>FGF-1, FGF-2, FGF-3, FGF-4: αυξητικοί παράγοντες των ινοβλαστών</i>	Συγγενείς πρωτεΐνες των 16-32 kD	Υποδοχέας με δράση κινάσης τυροσίνης
<i>G-CSF : Granulocyte colony stimulating factor</i>	24 kD	150 kD, G-CSF υποδοχέας σχετιζόμενος με μια κινάση τυροσίνης
<i>GM-CSF : Granulocyte macrophage-colony stimulating factor</i>	14 kD	51 kD, GM-CSF υποδοχέας συζευγμένος με μια κινάση τυροσίνης
<i>Ιντερλευκίνες 1-7 (IL-1 - IL-7), 9, 12, 15 (IL-9, IL-12, IL-15)</i>		Υποδοχείς των ιντερλευκινών (IL-R-1- IL-R-7) συζευγμένοι με μια κινάση τυροσίνης
<i>Ιντερλευκίνη-8, IL-8</i>		IL-R-8. Υποδοχέας συζευγμένος με μια G πρωτεΐνη
<i>Ερυθροποιητίνη</i>		Epo-R, υποδοχέας σχετιζόμενος με μια κινάση τυροσίνης
<i>TNF: Tumor necrosis factor</i>		TNF-R, υποδοχέας σχετιζόμενος με μια κινάση τυροσίνης
<i>LIF: Ανασταλτικός παράγοντας της λευχαιμίας</i>		LIF-R, υποδοχέας σχετιζόμενος με μια κινάση τυροσίνης
<i>Ιντερφερόνες α,β,γ</i>		INF-Rα, INF-Rβ, INF-Rγ, υποδοχείς σχετιζόμενοι με κινάση τυροσίνης

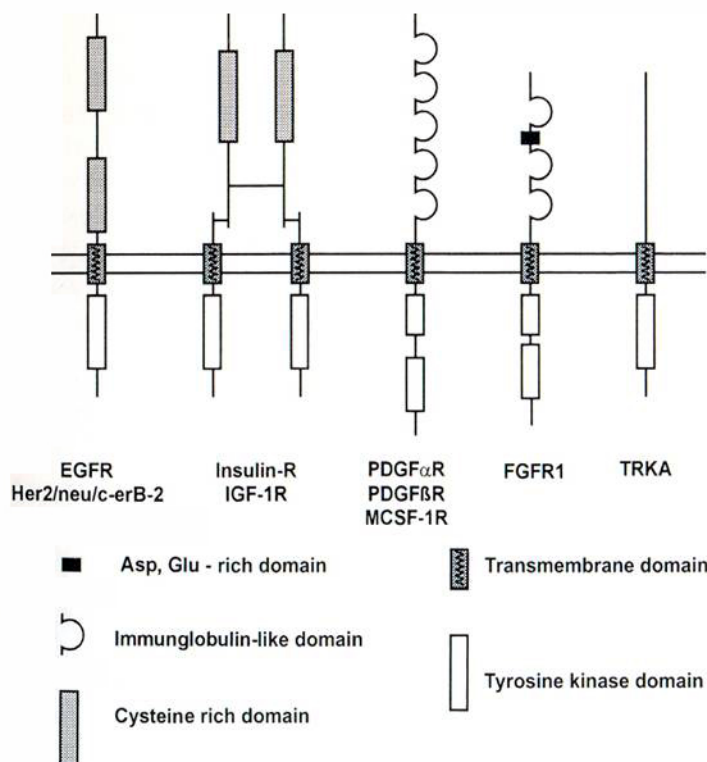
1. Δομή και λειτουργία των υποδοχέων κινάσες τυροσίνης

Οι υποδοχείς κινάσες τυροσίνης είναι διαμεμβρανικοί υποδοχείς, οι οποίοι εμφανίζονται στην εξωκυτταρική τους επιφάνεια θέσεις πρόσδεσης για εξωκυτταρικούς προσδέτες. Όταν αυτοί συνδέονται στον υποδοχέα ενεργοποιούν τη δράση μιας ειδικής κινάσας τυροσίνης που βρίσκεται στο ενδοκυτταρικό τμήμα του υποδοχέα. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την έναρξη της φωσφορυλίωσης καταλοίπων τυροσίνης στον ίδιο τον υποδοχέα αλλά και σε διάφορα πρωτεϊνικά υποστρώματα. Αυτά με τη σειρά τους “πυροδοτούν” τη βιολογική απόκριση του κυττάρου ενεργοποιώντας μια περαιτέρω αλληλουχία αντιδράσεων. Η απόκριση μπορεί να φθάσει μέχρι το επίπεδο του πυρήνα και να ενεργοποιήσει εκεί τη μεταγραφή συγκεκριμένων γονιδίων. Επίσης μπορεί να επηρεάσει την αναδιοργάνωση του κυτταρικού σκελετού, τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των κυττάρων, και τις αντιδράσεις του ενδιάμεσου μεταβολισμού τους, επίσης την κυτταρική διαίρεση, διαφοροποίηση και μορφογένεση.

■ Γενική δομή και ταξινόμηση

Οι υποδοχείς κινάσες τυροσίνης αποτελούν αναπόσπαστες μεμβρανικές πρωτεΐνες, οι οποίες διαθέτουν στην εξωκυτταρική τους πλευρά μια περιοχή πρόσδεσης του προσδέτη ενώ στην ενδοκυτταρική τους μια περιοχή κινάσας τυροσίνης (Εικόνα 9.1). Το διαμεμβρανικό τμήμα των υποδοχέων αυτών διαπερνά τη μεμβράνη με τη μορφή α -έλικας. Το ενδοκυτταρικό τους τμήμα εκτός από τη *συντηρημένη περιοχή της κινάσας τυροσίνης* περιλαμβάνει και άλλα τμήματα ρυθμιστικών αλληλουχιών στα οποία λαμβάνουν μέρος αντιδράσεις αυτοφωσφορυλίωσης, φωσφορυλίωσης και αποφωσφορυλίωσης από άλλες πρωτεϊνικές κινάσες και φωσφατάσες αντίστοιχα.

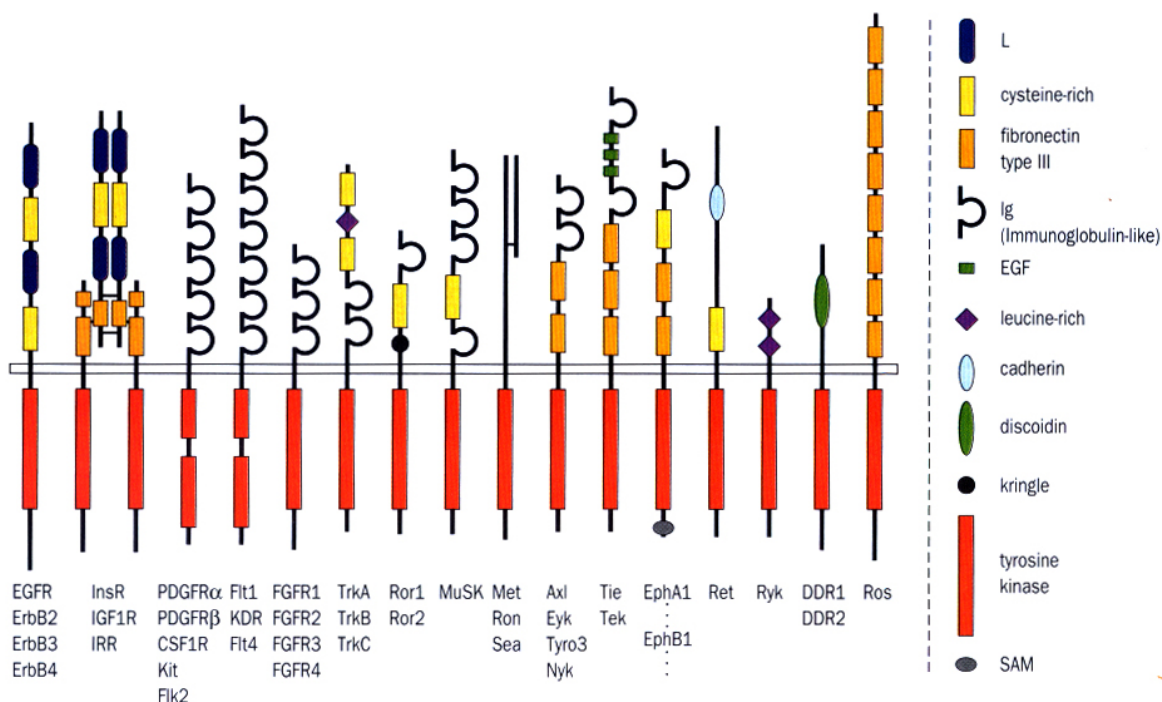
Στα θηλαστικά υπάρχουν περισσότερες από 100 οικογένειες υποδοχέων κινάσων τυροσίνης ανάλογα με τη φύση του προσδέτη με τον οποίο δεσμεύονται. Αυτές με τη σειρά τους υποδιαιρούνται σε υποοικογένειες ανάλογα με τα διαφοροποιημένα τμήματα των αλληλουχιών των εξωκυτταρικών περιοχών τους (Εικόνα 9.2 και 9.3).



Εικόνα 9.2 Παραδείγματα δομικών περιοχών υποδοχέων κινάσων τυροσίνης στα θηλαστικά.

Διακρίνονται 5 κατηγορίες υποδοχέων:

1. EGF-R (επιδερμικού αυξητικού παράγοντα)
 2. Υποδοχέα της ινσουλίνης (διμερής)
 3. PDGF-R (αιμοπεταλιακού αυξητικού παράγοντα)
 4. FGFR-R (αυξητικού παράγοντα των ινοβλαστών)
 5. TRKA (υποδοχέας των νευροτροφινών).
- Ταξινόμηση με βάση τους Ullrich and Schlessinger (1990).



Εικόνα 9.3 Ταξινόμηση των υποδοχέων κινάσες τυροσίνης βάση της οργάνωσης των δομικών τους περιοχών. Από τον *Hubbard SR and Hill JH., Protein tyrosine kinase structure and function, Annu. Rev. Biochem., 2000, 69, 373-398*

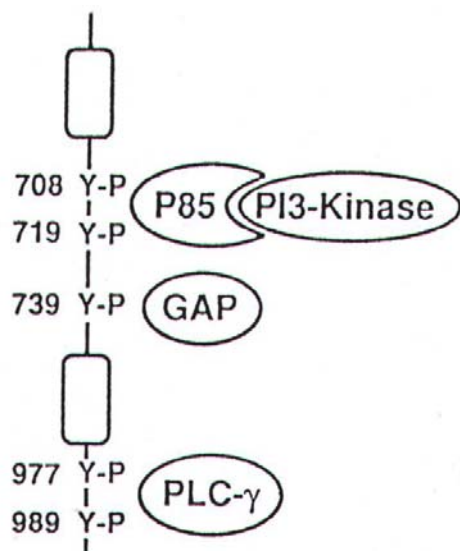
Ως προς τη δομή τους, οι υποδοχείς-κινάσες τυροσίνης κατατάσσονται σε δύο υποκατηγορίες: τους μονομερείς (υποδοχείς των EGF, NGF, PDGF κλπ) και τους πολυμερείς (υποδοχέας της ινσουλίνης).

α/ Μονερείς υποδοχείς

Οι υποδοχείς αυτοί είναι μονομερείς πρωτεΐνες με μια εξωκυτταρική, μια ενδομεμβρανική και μια ενδοκυτταρική περιοχή. Η εξωκυτταρική περιοχή (αμινοτελικό άκρο) περιέχει τη θέση σύνδεσης του αυξητικού παράγοντα, η ενδομεμβρανική περιοχή συγκρατεί τον υποδοχέα στη μεμβράνη και η κυτταροπλασματική περιοχή (καρβοξυτελικό άκρο) περιέχει την κινάση της τυροσίνης. Πέρα από την κοινή δομή που εμφανίζουν οι υποδοχείς αυτής της κατηγορίας, έχουν ορισμένες δομικές ιδιαιτερότητες, οι οποίες τους κατατάσσουν σε διαφορετικές οικογένειες.

Η οικογένεια του υποδοχέα EGF. Το ιδιαίτερο δομικό χαρακτηριστικό αυτών των υποδοχέων είναι οι δύο πλούσιες σε κυστεΐνη περιοχές στο εξωκυτταρικό τμήμα, ο ρόλος των οποίων δεν είναι γνωστός.

Η οικογένεια του υποδοχέα PDGF. Το χαρακτηριστικό αυτών των υποδοχέων είναι ότι η εξωκυτταρική τους περιοχή αποτελείται από 5 τμήματα (αλληλουχίες αμινοξέων) που συναντώνται στις ανοσοσφαιρίνες (immunoglobulin-like domains). Χαρακτηριστικό επίσης είναι ότι η κινάση της τυροσίνης που βρίσκεται στην κυτταροπλασματική περιοχή διακόπτεται από μια αλληλουχία αμινοξέων, η οποία ονομάζεται παρεμβαλλόμενη περιοχή της κινάσης (kinase insert region). Τα υπολείμματα τυροσίνης που βρίσκονται σ' αυτή την περιοχή, όταν φωσφορυλιωθούν αποτελούν θέσεις σύνδεσης ορισμένων πρωτεϊνών-στόχων.



Εικόνα 9.4 Λεπτομέρεια της κυτταροπλασματικής περιοχής του υποδοχέα PDGF (αυξητικού παράγοντα που προέρχεται από τα αιμοπετάλια). Με λευκό τετράγωνο συμβολίζεται η περιοχή της κινάσης. Ανάμεσα στα δύο λευκά τετράγωνα είναι η παρεμβαλλόμενη περιοχή στην κινάση. Με Y-P συμβολίζονται οι φωσφορυλιωμένες τυροσίνες, οι οποίες είναι θέσεις σύνδεσης ειδικών πρωτεϊνών-στόχων, όπως η πρωτεΐνη GAP (GTPase activating protein), η PI3-κινάση και η φωσφολιπάση C-γ (PLC-γ). Η P85 είναι μια πρωτεΐνη που χρησιμεύει στη σύνδεση/προσαρμογή των πρωτεϊνών-στόχων στους υποδοχείς-κινάσες. Από *W.J. Fantl et al, Annu. Rev. Biochem., 1993, 62, 453-481.*

Η **οικογένεια του υποδοχέα FGF** (fibroblast growth factor: αυξητικός παράγοντας των ινοβλαστών). Το χαρακτηριστικό των υποδοχέων αυτών είναι ότι στο εξωκυτταρικό τους τμήμα περιέχουν 3 περιοχές όμοιες μ' αυτές που συναντάμε στις ανοσοσφαιρίνες, και μια περιοχή πλούσια σε όξινα αμινοξέα (οκτώ συνεχή όξινα αμινοξέα). Στο κυτταροπλασματικό τους τμήμα περιέχουν και αυτοί μια περιοχή που παρεμβάλλεται ανάμεσα στην κινάση.

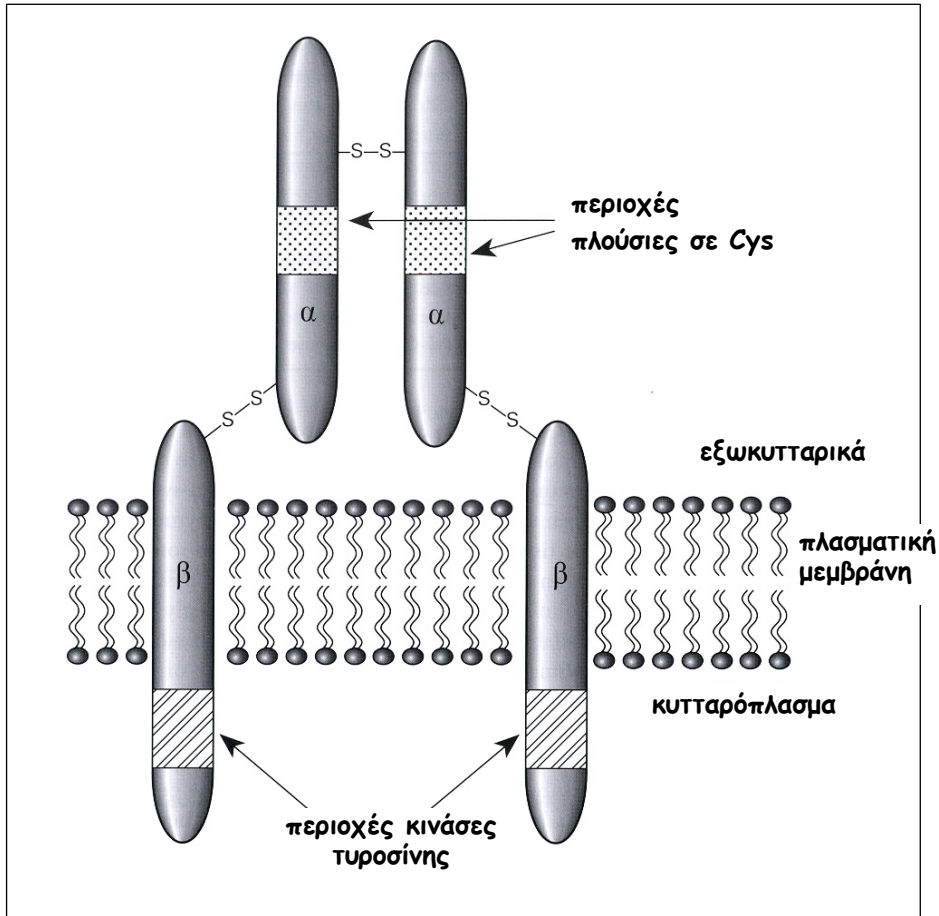
Η **οικογένεια του υποδοχέα NGF** (nerve growth factor: αυξητικός παράγοντας των νευρών). Ο NGF ανήκει στις νευροτροφίνες (neurotrophins) και η οικογένεια των υποδοχέων αυτών ονομάζεται και neurotrophin receptors family. Οι υποδοχείς αυτοί κωδικοποιούνται από το ογκογονίδιο *trk*, γι' αυτό συμβολίζονται και ως *trk* ή **trkA**. Χαρακτηριστικό τους οι 2 περιοχές που είναι όμοιες με τις ανοσοσφαιρίνες (Ig-like domains) και οι 2 περιοχές που είναι πλούσιες σε κυστεΐνη.

β/ Πολυμερείς υποδοχείς - Υποδοχέας της ινσουλίνης

Ο καλύτερα μελετημένος υποδοχέας αυτής της κατηγορίας είναι ο υποδοχέας της ινσουλίνης. Αποτελείται από δύο α-υπομονάδες και δύο β-υπομονάδες, οι οποίες ενώνονται μεταξύ τους με δεσμούς S-S δημιουργώντας ένα τετραμερές $\alpha_2\beta_2$. Οι υπομονάδες αυτές προέρχονται από ένα μονομερές γλυκοσυλιωμένο πολυπεπίδιο (πρόδρομος-precursor), το οποίο μεταφέρεται από το ενδοπλασματικό δίκτυο στη συσκευή Golgi, όπου και γλυκοσυλιώνεται εκ νέου, κόβεται από μια πρωτεΐνάση στις υπομονάδες α και β, και κατόπιν μεταφέρεται στην κυτταρική μεμβράνη όπου και παίρνει την τελική του θέση.

Οι α-υπομονάδες βρίσκονται εξ ολοκλήρου στην εξωκυτταρική περιοχή, με το καρβοξυτελικό άκρο τους προς την πλευρά της κυτταρικής μεμβράνης. Περιέχουν 15-20 θέσεις γλυκοσυλίωσης, καθώς και μια περιοχή πολύ πλούσια σε κυστεΐνη. Στις α-υπομονάδες βρίσκεται η θέση σύνδεσης της ινσουλίνης. Η ινσουλίνη με μορφή διμερούς μορίου ενώνεται ταυτόχρονα με τις δύο θέσεις σύνδεσής της, προκαλώντας μια αλλαγή στη διαμόρφωση των α-υπομονάδων, η οποία μεταδίδεται στις β-υπομονάδες που μ' αυτόν τον τρόπο ενεργοποιούνται.

Οι β-υπομονάδες διαπερνούν την κυτταρική μεμβράνη έχοντας το αμινοτελικό άκρο στην εξωκυτταρική περιοχή, ενώ το καρβοξυτελικό στο κυτταρόπλασμα. Στο κυτταροπλασματικό τους τμήμα περιέχουν την κινάση.



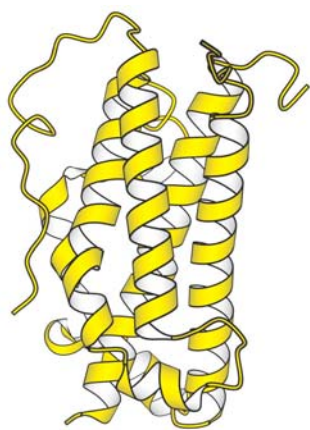
Εικόνα 9.5 Σχηματική αναπαράσταση της δομής του υποδοχέα της ινσουλίνης. Διακρίνονται οι περιοχές που είναι πλούσιες σε κατάλοιπα κυστεΐνης και η περιοχή της τυροσίνης κινάσης.

■ Σύνδεση του προσδέτη και ολιγομερισμός του υποδοχέα

Υπάρχουν τουλάχιστον δύο μηχανισμοί με τους οποίους η σύνδεση του προσδέτη μπορεί να αλλάξει την ολιγομερή κατάσταση του υποδοχέα (βλπ Εικόνα 9.12).

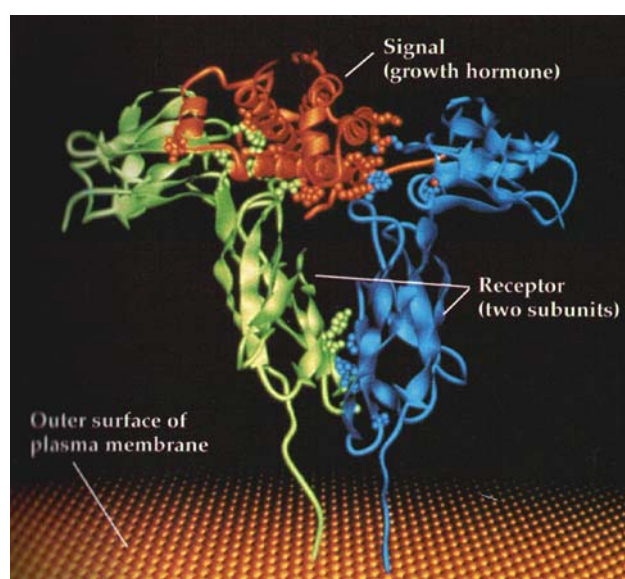
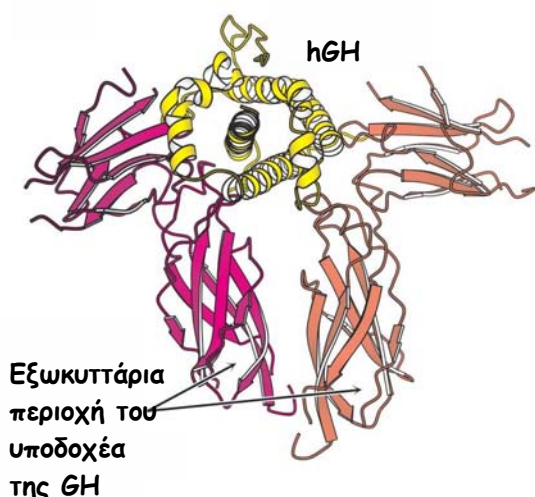
- Στην πρώτη περίπτωση, ο προσδέτης έχει δύο περιοχές σύνδεσης για το μόριο του υποδοχέα και προκαλεί *διμερισμό* του υποδοχέα. Απουσία του προσδέτη, ο υποδοχέας υπάρχει στη μονομερή του μορφή.
- Στη δεύτερη περίπτωση, η σύνδεση του προσδέτη μπορεί να *σταθεροποιήσει μια προ-συναρμολογημένη διμερή μορφή* υποδοχέα. Για παράδειγμα, ο υποδοχέας της ινσουλίνης είναι μια διμερής πρωτεΐνη αποτελούμενη από δύο αβ- υπομονάδες που ενώνονται μεταξύ τους με γέφυρες S-S. Πιθανολογείται ότι σ' αυτή τη περίπτωση, η ενεργοποίηση λαμβάνει χώρα με ένα *αλλοστερικό μηχανισμό*. Η σύνδεση του εξωκυτταρικού προσδέτη προκαλεί μια αλλαγή στη σχετική διαμόρφωση των δύο περιοχών της κινάσης τυροσίνης, κατά τέτοιο τρόπο ώστε να πραγματοποιείται αμοιβαία φωσφορυλίωση των υπολειμμάτων τυροσίνης.

Οι προσδέτες των υποδοχέων κινάσες τυροσίνης γενικά παρουσιάζουν πολλαπλές θέσεις σύνδεσης (multivalent), οι οποίες τους επιτρέπουν να προσαρμόσουν δύο (ή και περισσότερες) υπομονάδες του υποδοχέα με τέτοιο τρόπο ώστε ο υποδοχέας να διμεριστεί και να ενεργοποιηθεί η κινάση τυροσίνης που βρίσκεται στην κυτταροπλασματική περιοχή του.

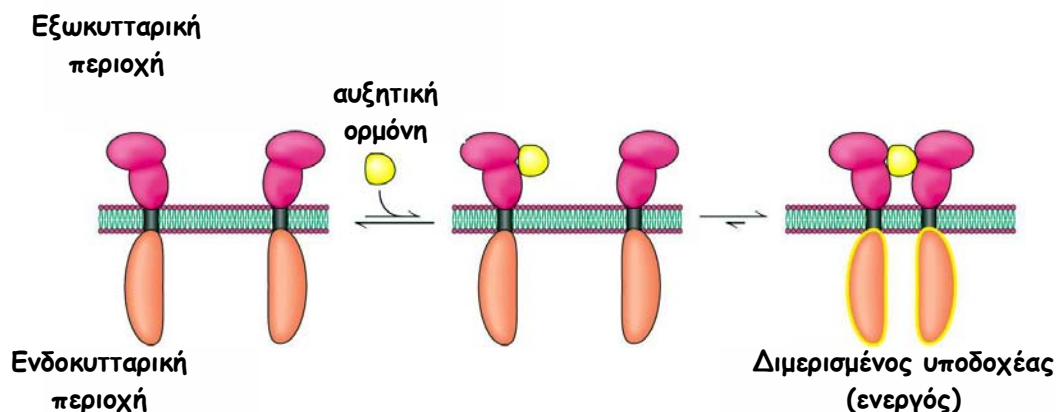


Εικόνα 9.6 Αυξητική ορμόνη του ανθρώπου (hGH)

Οι περισσότεροι προσδέτες, όπως ο EGF, η hGF και ο FGF υπάρχουν ως **μονομερείς πρωτεΐνες** σε διαλύματα, με τη δυνατότητα να προκαλέσουν αλλαγή στην ολιγομερή μορφή του υποδοχέα. Αυτό αποδεικνύεται από την ανάλυση της κρυσταλλικής δομής της ανθρώπινης αυξητικής ορμόνης (hGH), η οποία είναι μια μονομερής πρωτεΐνη 217 αμινοξέων που σχηματίζει δομή τεσσάρων ελίκων (Εικόνα 9.6). Ο υποδοχέας της αυξητικής ορμόνης αποτελείται από 638 αμινοξέα. Απουσία της δεσμευμένης ορμόνης ο υποδοχέας υφίσταται ως μονομερές. Η αυξητική ορμόνη δεσμεύεται στην εξωκυτταρική δομική περιοχή του υποδοχέα. Κάθε μόριο αυξητικής ορμόνης δεσμεύεται σε δυο μόρια του υποδοχέα της προάγοντας έτσι το σχηματισμό ενός διμερούς (Εικόνα 9.7).

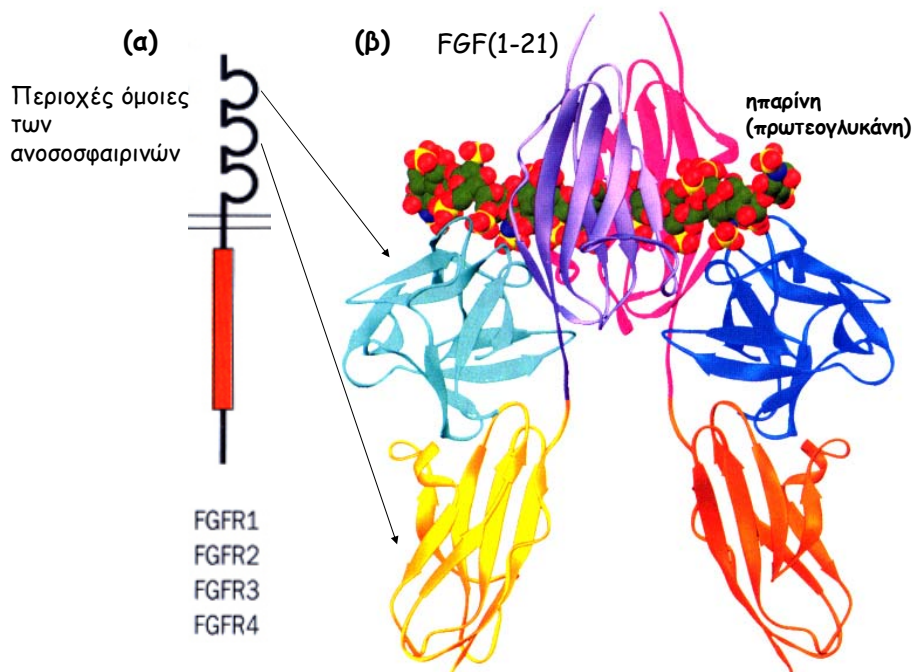


Εικόνα 9.7 Το σύμπλοκο της ανθρώπινης αυξητικής ορμόνης (**hGH, Growth Hormone**) με τη περιοχή σύνδεσης της στον υποδοχέα της (**GH-R**). Η αυξητική ορμόνη αποτελείται από 4 α-έλικες, οι οποίες βρίσκονται σε μια πακεταρισμένη μορφή. Η hGH δεσμεύεται κατά μη ισοδύναμο τρόπο στα δύο μονομερή του υποδοχέα, GH-R, στην εξωκυτταρική περιοχή σύνδεσης του προσδέτη.

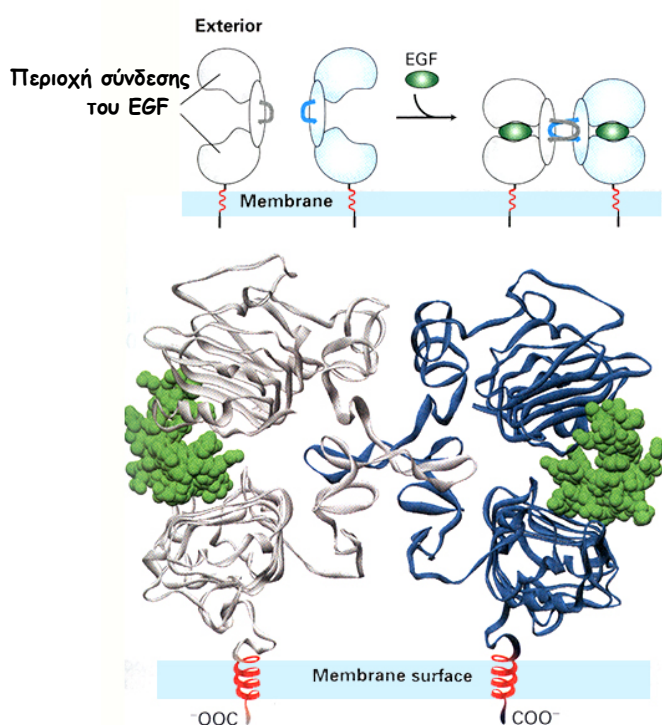


Εικόνα 9.8 Η σύνδεση της ανθρώπινης αυξητικής ορμόνης στην εξωκυτταρική περιοχή του υποδοχέα της οδηγεί στο διμερισμό και ενεργοποίηση του υποδοχέα. Από Berg et al, *Bιοχημεία, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, 2004*.

Οι αυξητικοί παράγοντες των ινοβλαστών (FGFs) στα θηλαστικά σχηματίζουν μια οικογένεια 21 συγγενικών πρωτεϊνών (FGF1-21) που συνδέονται σε τουλάχιστον 4 τύπους υποδοχέων FGF (FGFR1-4) ρυθμίζοντας κρίσιμες βιολογικές διαδικασίες όπως η κυτταρική αύξηση και διαφοροποίηση. Οι FGFs είναι μονομερή πολυπεπίδια, τα οποία διμερίζονται και συνδέονται σε δυο υποδοχείς, επάγοντας το διμερισμό τους. Για το διμερισμό και την ενεργοποίηση των υποδοχέων FGF-Rs απαιτείται και η πρόσδεση της ηπαρίνης στην εξωκυτταρική περιοχή των υποδοχέων.

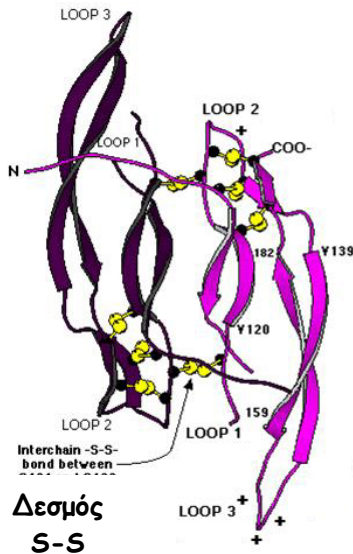


Εικόνα 9.9 Ο αυξητικός παράγοντας των ινοβλαστών (FGF) διμερίζεται και συνδέεται στην εξωκυτταρική περιοχή του υποδοχέα τους. Η σύνδεση, παρουσία της πρωτεογλυκάνης ηπαρίνης, οδηγεί στο διμερισμό του υποδοχέα. (α) Δομή του FGFR. (β) Διακρίνονται τα δυο μόρια του FGF, το μόριο της ηπαρίνης και η εξωκυτταρική περιοχή του διμερισμένου υποδοχέα (οι δυο από τις τρεις περιοχές, όμοιες με ανοσοσφαιρίνες). Από *Voet and Voet, Biochemistry, 2004*.



Εικόνα 9.10 Σχηματική αναπαράσταση της διαμεμβρανικής και της εξωκυτταρικής περιοχής του υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα. Η σύνδεση του EGF σε ένα μονομερή υποδοχέα, οδηγεί σε αλλαγή της διαμόρφωσής του και στο διμερισμό δυο όμοιων EGF-R. Δηλαδή, για να ενεργοποιηθεί ο υποδοχέας πρέπει δυο μόρια EGF να συνδεθούν σε δύο μονομερείς υποδοχείς. Στη συνέχεια, οι δυο υποδοχείς διμερίζονται και ο υποδοχέας ενεργοποιείται. Από *Molecular Cell Biology, Lodish et al, 2007*.

Σε μερικές περιπτώσεις, ο προσδέτης υπάρχει σε **διμερή μορφή** και με τη δέσμευσή του επάγει το σχηματισμό διμερών του ενεργού υποδοχέα. Ο PDGF αποτελεί ένα τέτοιο παράγοντα, ο οποίος αποτελείται από δύο πρωτεϊνικές υπομονάδες ενωμένες με γέφυρα δισουλφιδικού δεσμού.



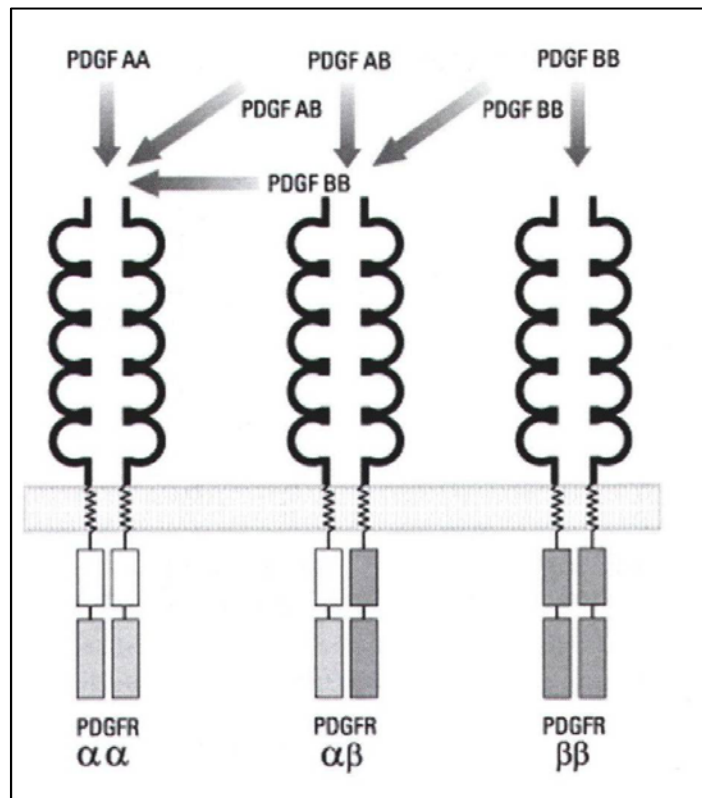
Εικόνα 9.11. Διμερής δομή του αυξητικού παράγοντα των αιμοπεταλίων. Οι δυο υπομονάδες είναι συνδεδεμένες με δεσμούς θείου.

■ Σχηματισμός ετεροδιμερών

Μια άλλη όψη του προσδετο-επαγόμενου ολιγομερισμού του υποδοχέα, που έχει ρυθμιστική σημασία, είναι η δυνατότητα του υποδοχέα να σχηματίζει ετεροδιμερή. Έχουν αναγνωριστεί οικογένειες πρωτεϊνών με στενά συγγενικά μέλη, για ένα αριθμό αυξητικών παραγόντων καθώς και για τους αντίστοιχους υποδοχείς τους.

Ο ετερόλογος διμερισμός παρατηρείται ανάμεσα στα διαφορετικά μέλη μιας οικογένειας υποδοχέων. Με αυτόν τον τρόπο, ένας αυξητικός παράγοντας μπορεί να δεσμευτεί και να ενεργοποιήσει διαφορετικούς διμερείς συνδυασμούς μελών μιας οικογένειας υποδοχέων. Η Εικόνα 9.12 δείχνει τις δυνατότητες ετερόλογου διμερισμού των υποδοχέων χρησιμοποιώντας ως παράδειγμα τον υποδοχέα PDGF.

Ο ετεροδιμερισμός των υπομονάδων των υποδοχέων αποτελεί ένα μηχανισμό, ο οποίος μπορεί να αυξήσει την ποικιλία και τη ρύθμιση των μονοπατιών μετάδοσης του μηνύματος. Από τη στιγμή που διάφορα μέλη μιας οικογένειας υποδοχέα διαφέρουν στην ακριβή δομή των περιοχών αυτοφωσφορυλίωσης και των ρυθμιστικών αλληλουχιών, υποτίθεται ότι η ρύθμιση και η δραστηριότητα είναι διαφορετικές για τους διάφορους συνδυασμούς των υποτύπων ενός υποδοχέα. Οι υπότυποι ενός υποδοχέα που εκφράζονται σε εξειδικευμένους ιστούς ενός οργανισμού του δίνουν τη δυνατότητα να επεξεργάζεται ορμονικά μηνύματα με διαφορετικό τρόπο.



Εικόνα 9.12 Ομο- και ετερο-διμερή του υποδοχέα PDGF.

Υπάρχουν δυο υπότυποι του υποδοχέα PDGF, ο α- και ο β-υπότυπος, και σχηματίζονται τα διμερή αα, αβ και ββ.

Ο αυξητικός παράγοντας που παράγεται από τα αιμοπετάλια (PDGF: platelet derived growth factor) είναι ένας διμερής αυξητικός παράγοντας, ο οποίος αποτελείται από δυο αλυσίδες, την A και την B και συναντάται στις εξείς διμερείς μορφές AA, AB και BB.

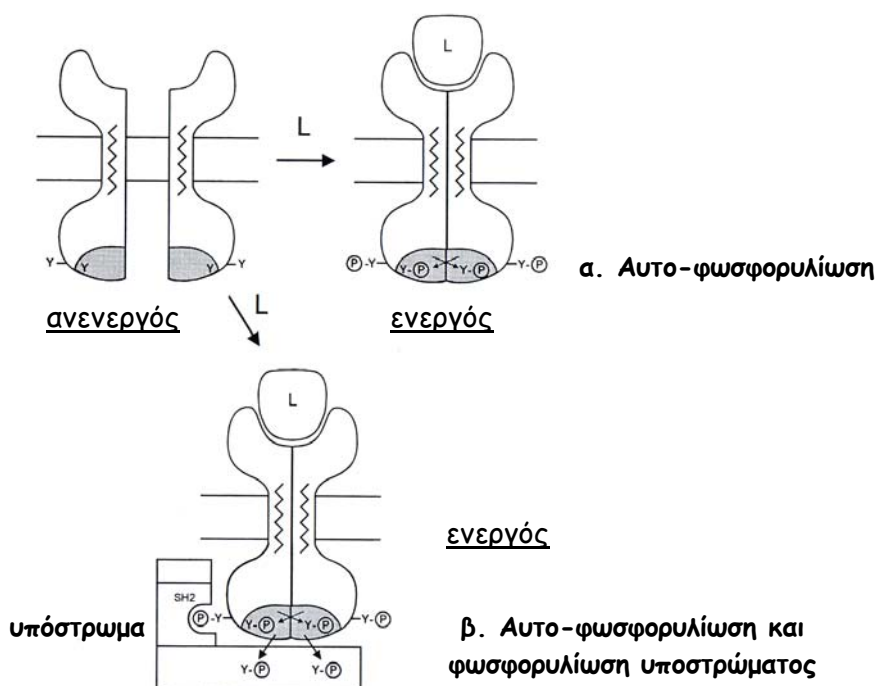
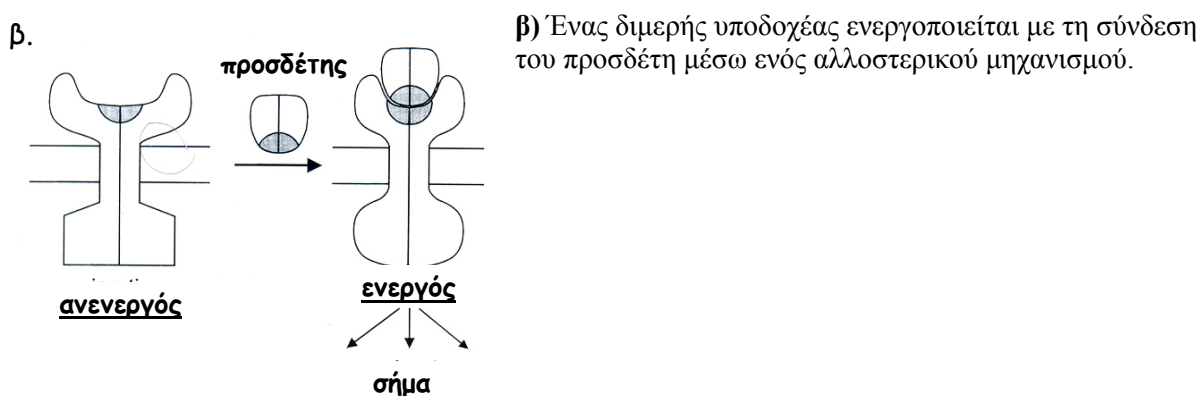
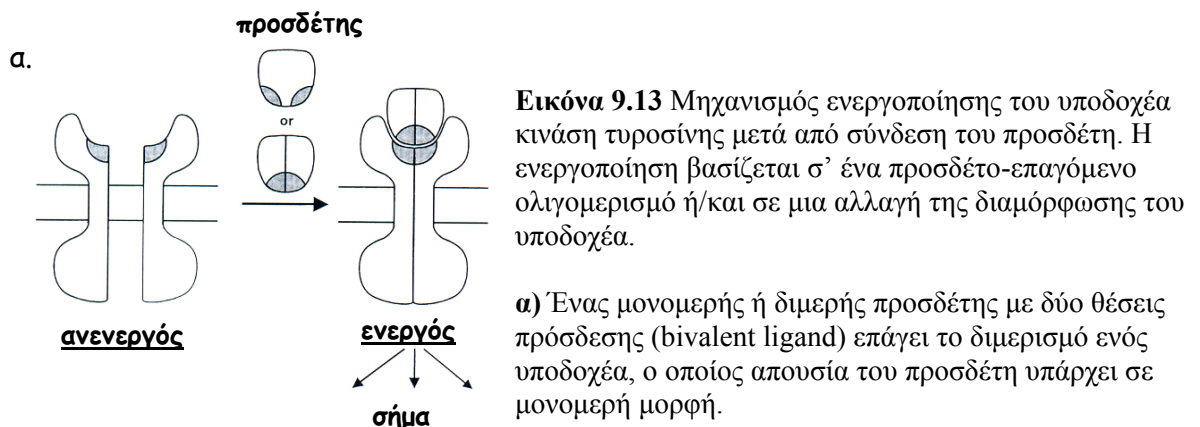
Το AA διμερές συνδέεται στον υποδοχέα αα, το AB διμερές συνδέεται στον υποδοχέα αα και αβ, και το BB διμερές συνδέεται σε όλους τους τύπους των PDGF υποδοχέων.

■ Η ενεργοποίηση του υποδοχέα μετά τη σύνδεση του προσδέτη

Η σύνδεση του εξωκυτταρικού προσδέτη είδαμε ότι οδηγεί στην αλλαγή της ολιγομερούς κατάστασης του υποδοχέα. Ο διμερισμός του υποδοχέα είναι το έναυσμα για την ενεργοποίηση της ενδογενούς δραστηριότητας κινάσης τυροσίνης. Ο διμερισμός ενός υποδοχέα μετά από σύνδεση του προσδέτη, αποτελεί μια γενική μέθοδο μετάδοσης του μηνύματος στο εσωτερικό του κυττάρου μέσω της μεμβράνης, με τη βοήθεια υποδοχέων κινασών τυροσίνης.

Η διέγερση της κινάσης τυροσίνης μπορεί να προκαλέσει διπλό αποτέλεσμα:

- Πρώτον, αυτοφωσφορυλίωση του υποδοχέα με ένα trans- μηχανισμό πχ. ανάμεσα στα δυο πρωτομερή (protomers) του υποδοχέα και
- Δεύτερον, φωσφορυλίωση διαφόρων πρωτεϊνικών υποστρωμάτων σε κατάλοιπα τυροσίνης (Εικόνα 9.13).



Εικόνα 9.14 Αυτοφωσφορυλίωση επαγόμενη από τον προσδέτη (L, ligand) και φωσφορυλίωση υποστρώματος από τις κινάσες τυροσίνης του υποδοχέα. Η περιοχή της κινάσης τυροσίνης του υποδοχέα ενεργοποιείται με τη σύνδεση του προσδέτη. Επομένως μπορούν να πραγματοποιηθούν η αυτοφωσφορυλίωση και/ή φωσφορυλίωση των πρωτεϊνικών υποστρωμάτων. Τα πρωτεϊνικά υποστρώματα παρουσιάζουν ειδικές περιοχές σύνδεσης φωσφοτυροσινών (περιοχές SH2 και PTB), τις οποίες αναγνωρίζουν και στις οποίες συνδέονται οι φωσφορυλιωμένες τυροσίνες, που σχηματίζονται κατά τη διαδικασία της αυτοφωσφορυλίωσης.

■ Ενεργοποίηση της περιοχής κινάσης τυροσίνης και πρωτεΐνες-τελεστές

Η διέγερση της δράσης της κυτταροπλασματικής κινάσης τυροσίνης είναι αποτέλεσμα της σύνδεσης του προσδέτη με τον υποδοχέα.

Η προσδέτο-επαγόμενη φωσφορυλίωση των υπολειμμάτων τυροσίνης έχει ένα διπλό αποτέλεσμα: Η δραστηριότητα κινάσης τυροσίνης οδηγεί σε trans- φωσφορυλίωση των δύο διμερών (αυτο-ενεργοποίηση) μέσω φωσφορυλίωσης καταλοίπων Tyr, που βρίσκονται κοντά στο ενεργό κέντρο. Επιπλέον, φωσφορυλιώνονται και κατάλοιπα Tyr εκτός του ενεργού κέντρου. Αυτά τα φωσφορυλιωμένα κατάλοιπα χρησιμοποιούνται ως θέσεις σύνδεσης για πρωτεϊνικά υποστρώματα, μέσω των SH2 ή των PTB περιοχών. Οι πρωτεΐνες (effector proteins: πρωτεΐνες τελεστές) μπορεί να είναι ένζυμο που ενεργοποιούνται με τη φωσφορυλίωση των τυροσινών ή απλώς να λειτουργούν ως μόρια-προσαρμογείς (adaptor molecules), να έχουν δηλαδή την ιδιότητα να συνδέουν άλλες πρωτεΐνες στον ενεργοποιημένο υποδοχέα μέσω πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων. Με τη βοήθεια των μορίων αυτών άλλες σηματοδοτικές πρωτεΐνες οδηγούνται στον ενεργοποιημένο υποδοχέα και στην κυτταρική μεμβράνη (Εικόνα 9.16).

Η αυτοφωσφορυλίωση και η φωσφορυλίωση των πρωτεϊνικών υποστρωμάτων αποτελούν απαραίτητα συστατικά της μετάδοσης του μηνύματος μέσω των υποδοχέων κινάσες τυροσίνης.

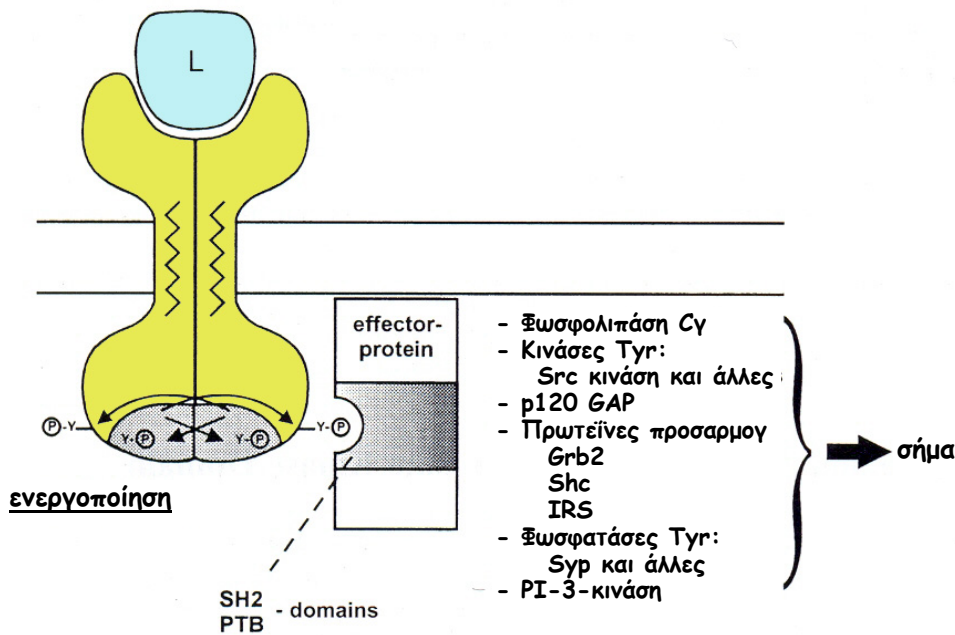
Το είδος της πρωτεΐνης-τελεστή που θα συνδεθεί στον υποδοχέα εξαρτάται από τη φύση της SH2 δομικής περιοχής και τις αλληλουχίες του υποδοχέα που περιβάλλουν τις περιοχές των φωσφορυλιωμένων τυροσινών. Ο υποδοχέας κινάση τυροσίνης συχνά έχει διάφορες περιοχές αυτοφωσφορυλίωσης με διαφορετικές γειτονικές αλληλουχίες, μέσω των οποίων κάθε φωσφορυλιωμένη τυροσίνη του υποδοχέα μπορεί να λειτουργήσει ως σημείο πρόσδεσης για άλλη πρωτεΐνη. Η Εικόνα 9.16 δείχνει την ποικιλία των πρωτεϊνών-τελεστών που μπορούν να αλληλεπιδράσουν μ' ένα τύπο υποδοχέα, χρησιμοποιώντας των PDGF υποδοχέα ως παράδειγμα.

Μερικά σημαντικά μόρια-τελεστές των υποδοχέων κινάσες τυροσίνης είναι :

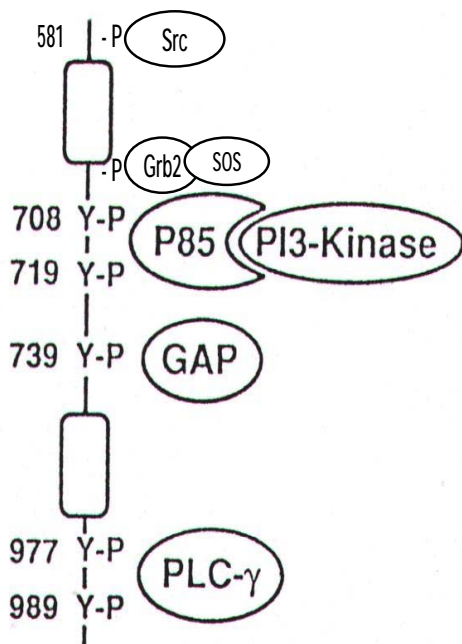
- η p85 υπομονάδα της PI3-κινάσης
- η φωσφολιπάση Cγ
- οι κινάσες τυροσίνης της Src οικογένειας που δεν είναι υποδοχείς
- η p120 GAP, ένα ένζυμο που ενεργοποιεί GTPase (GTPase activating enzyme), που δρα στο μονοπάτι μετάδοσης του μηνύματος μέσω των Ras πρωτεϊνών
- η Grb2 πρωτεΐνη, μια πρωτεΐνη-προσαρμογέας (adaptor protein) στο Ras-εξαρτώμενο μονοπάτι μετάδοσης του μηνύματος
- η SH2-PTP2 πρωτεϊνική φωσφατάση τυροσίνης.

Αυτά τα παραδείγματα δείχνουν την ποικιλομορφία των μεταγωγικών μονοπατιών που μπορούν να ενεργοποιηθούν οι υποδοχείς κινάσες τυροσίνης.

Ξεκινώντας από τους υποδοχείς κινάσες τυροσίνης, ενεργοποιούνται μεταγωγικά μονοπάτια που περιλαμβάνουν ενδοκυτταρικά σηματοδοτικά μόρια, όπως η τριφωσφορική ινοσιτόλη (inositol-1,4,5-triphosphate, IP₃), πολυφωσφοϊνοσιτίδια (PtdinsP₃), Ca²⁺, και διακυλογλυκερόλη (diacylglycerol, DAG). Οι υποδοχείς κινάσες τυροσίνης είναι επίσης κύρια συστατικά σηματοδοτικών μονοπατιών που ελέγχουν την αύξηση και τη διαφοροποίηση του κυττάρου. Οι πρωτεΐνες-τελεστές που αναφέρθηκαν παραπάνω, είναι συστατικά-κλειδιά κεντρικών μεταγωγικών μονοπατιών, και ξεκινώντας από πολύ διαφορετικά εξωτερικά σήματα, ενεργοποιούνται μέσω υποδοχέων κινάσων τυροσίνης και συνδέονται με τη μεταγωγή του σήματος



Εικόνα 9.16 Η σύνδεση του αυξητικού παράγοντα και ο διμερισμός του υποδοχέα οδηγεί στην trans-φωσφορυλίωση των δυο διμερών. Οι φωσφορυλιωμένες τυροσίνες του υποδοχέα λειτουργούν ως θέσεις πρόσδεσης για ενδοκυτταρικές πρωτεΐνες, με ειδικές περιοχές SH2 και PTB, οι οποίες αναγνωρίζουν φωσφορυλιωμένες τυροσίνες. Οι πρωτεΐνες αυτές ενεργοποιούνται κατά την πρόσδεση, και μεταφέρουν στη συνέχεια το φώσφορο σε άλλες πρωτεΐνες-στόχους. Οι πρωτεΐνες που έχουν βρεθεί να αλληλεπιδρούν άμεσα με τις φωσφορυλιωμένες τυροσίνες είναι: η φωσφολιπάση Cγ, κινάσες τυροσίνης (src κ.α.), η p120 GAP (μια GTP activating protein), πρωτεΐνες-προσαρμογείς (Grb2, Shc, IRS), φωσφατάσες τυροσίνης (Syp κ.α) και η PI3-κινάση.



Εικόνα 9.17 Κατάλοιπα φωσφοτυροσινών του υποδοχέα του PDGF και η σύνδεση σηματοδοτικών πρωτεϊνών που περιέχουν SH2 περιοχές. Η εικόνα δείχνει την ποικιλία των τελεστών που μπορούν να αλληλεπιδράσουν με τον ενεργοποιημένο υποδοχέα. Τα κατάλοιπα τυροσίνης του PDGF υποδοχέα σχεδιάζονται με βάση τη θέση τους στην αλληλουχία του υποδοχέα. Ο υποδοχέας αυτός έχει τουλάχιστον 9 περιοχές φωσφορυλίωσης τυροσίνης στην κυτταροπλασματική του περιοχή. Τα φωσφορυλιωμένα κατάλοιπα τυροσίνης αναγνωρίζονται από τις SH2 περιοχές των πρωτεϊνών:

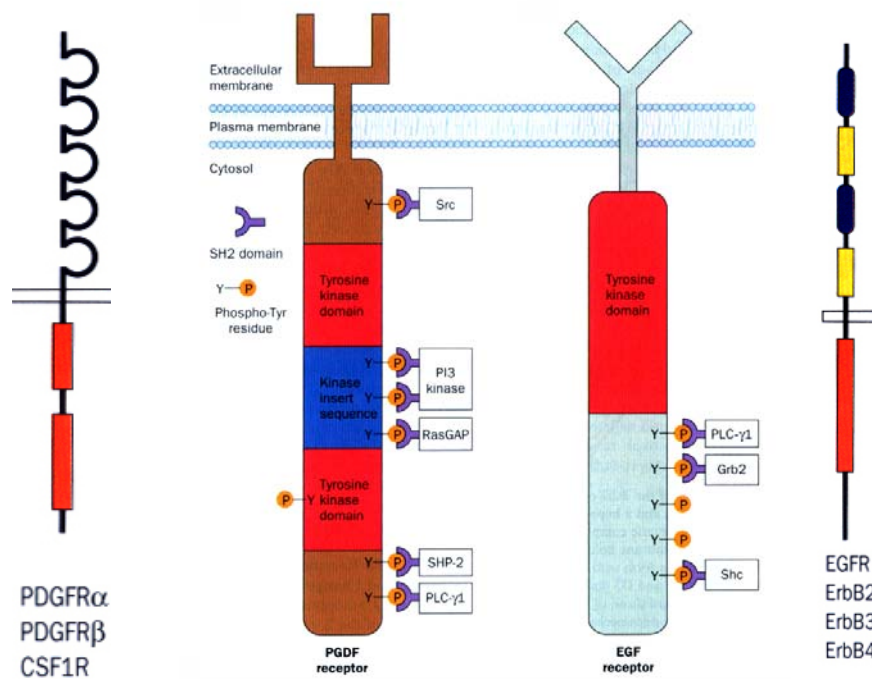
Src: κινάσες τυροσίνης.

Grb2, p85: πρωτεΐνες προσαρμογείς, **PI3-kinase**:

κινάση της 3-φωσφατιδυλ-ινοσιτόλης,

GAP: GTPase activating protein,

PL-Cγ: φωσφολιπάση Cγ.



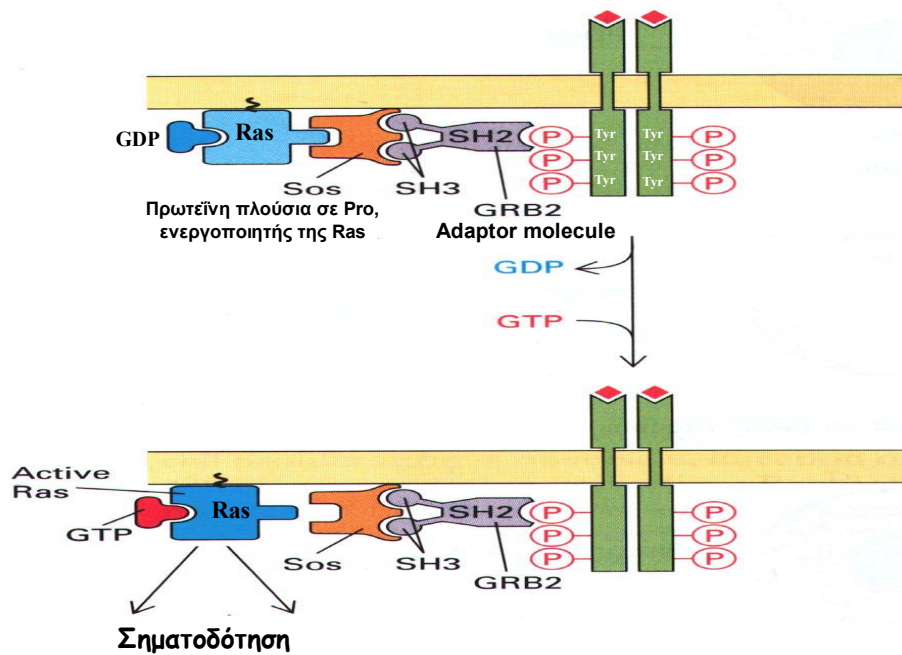
Εικόνα 9.18 Φωσφορυλιωμένα κατάλοιπα τυροσίνης του υποδοχέα PDGF και του υποδοχέα EGF στα οποία προσδένονται διάφορα σηματοδοτικά μόρια.

Ανάλογα με τη φύση των πρωτεϊνών τελεστών υπάρχουν διάφοροι μηχανισμοί ενεργοποίησής τους. Ορισμένοι απ' αυτούς που θεωρούνται σημαντικοί είναι :

- φωσφορυλίωση σε κατάλοιπα τυροσινών του τελεστή, πχ. η φωσφολιπάση C- γ
- επαγωγή μιας αλλαγής στη διαμόρφωση του τελεστή, πχ. η PI3 κινάση
- μεταφορά του τελεστή στην πλασματική μεμβράνη πχ. Grb2-Sos, Shc-Grb2

■ Ενεργοποίηση της Ras από τους υποδοχείς αυξητικών παραγόντων

Πρωτεΐνη-κλειδί στη μεταγωγή μηνύματος μέσω πρωτεϊνών κινάσων τυροσίνης είναι η πρωτεΐνη Ras, μια μονομερής G-πρωτεΐνη, που βρίσκεται στην εσωτερική πλευρά της πλασματικής μεμβράνης. Η ενεργοποίηση του υποδοχέα κινάση τυροσίνης οδηγεί στη σύνδεση του μορίου-προσαρμογέα Grb2, μέσω της SH2 περιοχής του στις φωσφορυλιωμένες τυροσίνες του υποδοχέα. Η Grb2 ενεργοποιείται και στη συνέχεια συνδέεται μέσω της SH3 περιοχής της με μια περιοχή πλούσια σε προλίνη της Sos (ένα GEF, Guanine nucleotide exchange factor). Η Sos με τη σειρά της ενεργοποιεί την ανταλλαγή του GDP με GTP και ενεργοποιεί τη μικρή GTPάση Ras.



Εικόνα 9.19 Μετά την ενεργοποίηση του RTK (Receptor Tyrosine Kinase), μια πρωτεΐνη-προσαρμογέας, η GRB2 συνδέεται μέσω της SH2 περιοχής της με τις φωσφορυλιωμένες Tyr του υποδοχέα και μέσω της SH3 περιοχής της με την πρωτεΐνη Sos, μια πρωτεΐνη πλούσια σε προλίνη, που μπορεί να ενεργοποιεί τη μικρή GTPάση Ras. Από *Alberts et al, Essential Cell Biology, 1998*.

2. Δομικές περιοχές των πρωτεϊνών που επιτρέπουν την αλληλεπίδραση μεταξύ πρωτεϊνών

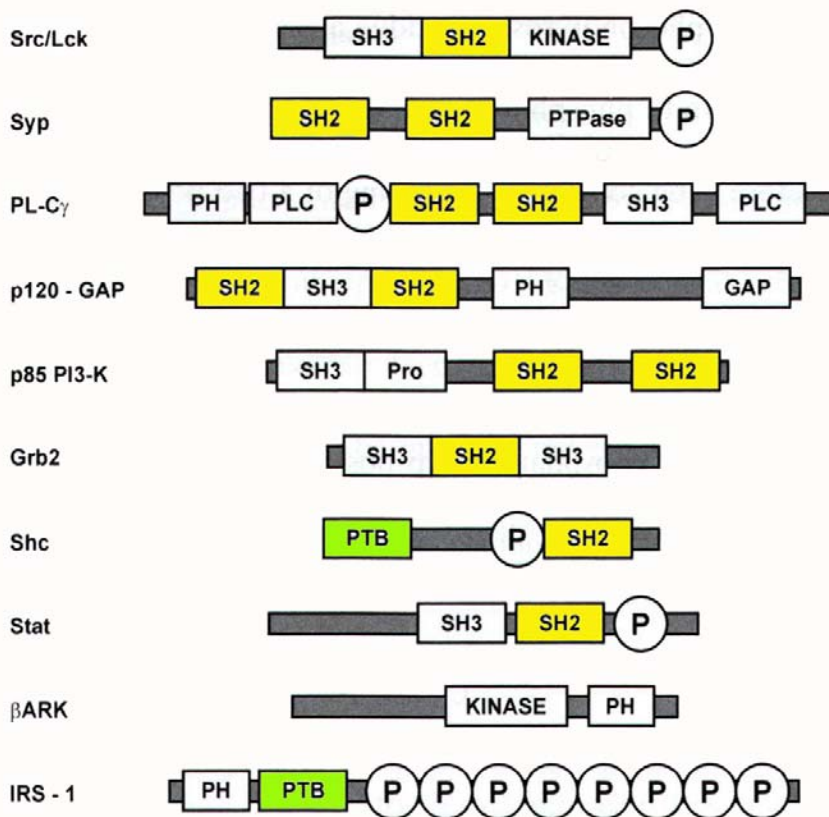
Οι ειδικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πρωτεϊνών αποτελούν τη βάση για τη σύνδεση των σηματοδοτικών πρωτεϊνών. Μέσω αυτών των αλληλεπιδράσεων, έρχονται κοντά τα σηματοδοτικά ένζυμα με τα υποστρώματά τους, οδηγώντας το πρωτεϊνικό υπόστρωμα προς το καταλυτικό κέντρο ή κατευθύνοντας ένα ένζυμο, που συνήθως εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα, προς την κυτταρική μεμβράνη, ώστε να έχει άμεση πρόσβαση στα υποστρώματά του.

Το κύτταρο χρησιμοποιεί συγκεκριμένα δομικά στοιχεία για την επικοινωνία μεταξύ διάφορων πρωτεϊνών ενός σηματοδοτικού μονοπατιού. Αυτά είναι πρωτεϊνικές περιοχές (domains) 60-100 αμινοξέων, με μια κοινή βασική δομή παρ' όλο που συναντώνται σε πολύ διαφορετικές πρωτεΐνες. Μεσολαβούν όχι μόνο στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πρωτεϊνών αλλά και μεταξύ αυτών και των λιπιδίων της πλασματικής μεμβράνης. Χρησιμοποιούνται για να συνδέσουν πρωτεΐνες ενός σηματοδοτικού μονοπατιού ή για να τις κατευθύνουν προς την πλασματική μεμβράνη.

Δύο σημεία, ιδιαίτερης σημασίας για την αλληλεπίδραση πρωτεϊνών είναι: α/ η ύπαρξη αρκετών παραλλαγών του βασικού μοτίβου των δομικών περιοχών με ελαφρώς τροποποιημένη ειδικότητα σύνδεσης και β/ η παρουσία αρκετών δομικών περιοχών σε μία πρωτεΐνη. Μεταβάλλεται μ' αυτόν τον τρόπο η ικανότητα σύνδεσης με διάφορα δομικά μοτίβα των πρωτεϊνών-στόχων. Αν μια σηματοδοτική πρωτεΐνη έχει πολλαπλές θέσεις σύνδεσης για διαφορετικές πρωτεΐνες-τελεστές (multivalence of signal proteins), μπορούν να δημιουργηθούν δίκτυα αλληλεπιδρώντων πρωτεϊνών που συμβάλλουν στην εξειδίκευση και στην ποικιλομορφία της μετάδοσης του μηνύματος, επιτρέποντας τη σύνδεση διαφορετικών σηματοδοτικών μονοπατιών.

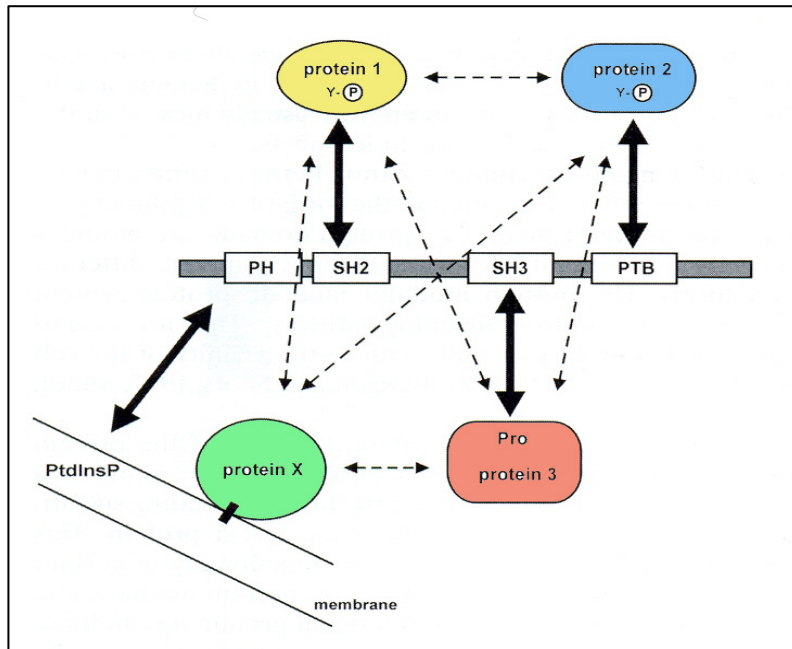
Μέχρι σήμερα έχει περιγραφεί ένας μεγάλος αριθμός δομικών μοτίβων, με συγκεκριμένες και εξειδικευμένες δυνατότητες σύνδεσης, τα πιο σημαντικά από τα οποία είναι οι :

- Περιοχές SH2 και περιοχές PTP : αναγνωρίζουν φωσφορυλιωμένες τυροσίνες.
- Περιοχές SH3: αναγνωρίζουν περιοχές πλούσιες σε προλίνη.
- Περιοχές PH (Pleckstrin Homology) : αναγνωρίζουν φωσφολιπίδια και βοηθούν τη σύνδεση των πρωτεϊνών στην κυτταρική μεμβράνη.
- Περιοχές PDZ : αναγνωρίζουν μικρές πεπτιδικές αλληλουχίες και βοηθούν στη δημιουργία μακρομοριακών συμπλεγμάτων.
- Περιοχές WW : αν και δεν είναι ακόμη γνωστός ο ακριβής τους στόχος βοηθούν στην αλληλεπίδραση πρωτεϊνών κατά τη διαδικασία της ουβικουιτινώσεως.



Εικόνα 9.20

Σηματοδοτικές πρωτεΐνες στις οποίες διακρίνονται οι περιοχές αλληλεπίδρασης με άλλες πρωτεΐνες. *Src/Lck*: οικογένεια κινάσων Tyr *Syp*: πρωτεϊνικές φωσφατάσες τυροσίνης. *p85/PI3K*: ρυθμιστική υπομονάδα της PI3-κινάσης *Grb2, Shc, IRS-1*: πρωτεΐνες προσαρμογείς *Stat*: μεταγραφικός παράγοντας *β ARK*: κινάση του β -αδρενεργικού υποδοχέα.



Εικόνα 9.21 Αλληλεπίδραση διαφόρων πρωτεϊνών με τη βοήθεια των περιοχών αλληλεπίδρασης. Μια υποθετική πρωτεΐνη περιέχει περιοχές PH, SH2, SH3 και PTB. Μέσω των SH2 και PTB συνδέεται με φωσφορυλιωμένα κατάλοιπα τυροσίνης των πρωτεϊνών 1 και 2. Μέσω της SH3 συνδέεται με μια περιοχή πλούσια σε προλίνη της πρωτεΐνης 3, ενώ μέσω της PH περιοχής συνδέεται με τα φωσφατυδυλο-inosιτίδια της μεμβράνης. Με τη σειρά της η πρωτεΐνη 3 αλληλεπιδρά με την πρωτεΐνη X δημιουργώντας ένα μακρομοριακό σύμπλεγμα.

■ Περιοχές SH2

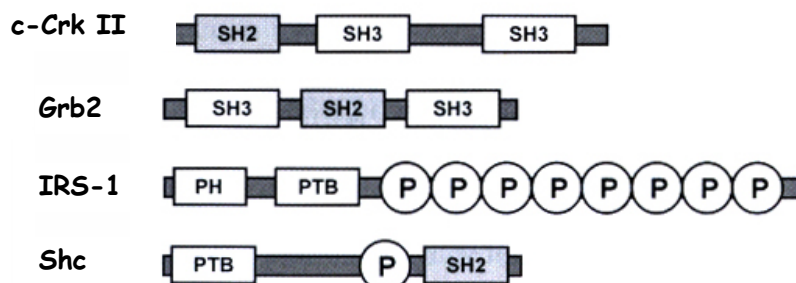
Οι SH2 περιοχές αποτελούν τις καλύτερα μελετημένες δομικές πρωτεϊνικές περιοχές με μια ρυθμιστική λειτουργία. Ανακαλύφθηκαν για πρώτη φορά ως ένα μοτίβο αλληλουχίας που παρουσίαζε ομολογία με μια αλληλουχία της Src κινάσης τυροσίνης. Από εκεί πήραν και την ονομασία τους SH: Src Homolog. Η Src (προφέρεται sarc) ήταν η πρώτη κινάση τυροσίνης που έγινε γνωστή. Το ένζυμο αυτό ανακαλύφθηκε στη μεταλλαγμένη του, ιδιόσυστατα ενεργή, μορφή (v-src) σε ρετροϊούς πτηνών που επάγουν σαρκώματα. Αργότερα βρέθηκε ότι υπάρχει και στα κύτταρα των θηλαστικών (c-src) όπου εμπλέκεται στη ρύθμιση της κυτταρικής αύξησης και διαφοροποίησης.

3. Μόρια - προσαρμογείς στην ενδοκυτταρική μεταγωγή σήματος

Η διαδικασία μεταγωγής σήματος, η οποία ξεκινάει από τους ενεργοποιημένους διαμεμβρανικούς υποδοχείς, έχει συχνά ως σκοπό να φέρει συγκεκριμένα πρωτεϊνικά συστατικά του σηματοδοτικού μονοπατιού κοντά σε καθορισμένες θέσεις του κυττάρου, πχ να φέρει ένα ένζυμο κοντά στο υπόστρωμά του. Το κύτταρο χρησιμοποιεί τις επονομαζόμενες πρωτεΐνες-προσαρμογείς (adaptor proteins) για να φέρει κοντά σηματοδοτικά μόρια. Αυτά τα μόρια-προσαρμογείς βοηθούν να αποφασισθεί πού και πότε ένα ένζυμο, όπως μια πρωτεϊνική κινάση, θα ενεργοποιηθεί. Οι πρωτεΐνες προσαρμογείς δεν έχουν καμιά ενζυμική δράση οι ίδιες, αλλά λειτουργούν σαν συνδετικός κρίκος ανάμεσα σε διαφορετικές σηματοδοτικές πρωτεΐνες, μεσολαβώντας στην εξειδικευμένη χωρική γειτνίαση κατά τη μεταγωγή σήματος. Επιπλέον, οι πρωτεΐνες-προσαρμογείς χρησιμεύουν στη στόχευση της υποκυτταρικής εντόπισης των σηματοδοτικών γεγονότων. Είναι ένα οργανωτικό στοιχείο στη διάδοση του μηνύματος, βοηθώντας στη δημιουργία

πολυπρωτεϊνικών συμπλεγμάτων σε εξειδικευμένες υποκυτταρικές θέσεις. Η εξειδίκευση και η ρύθμιση της μεταφοράς του μηνύματος αυξάνεται, εφόσον μόνο ορισμένες σηματοδοτικές πρωτεΐνες μπορούν να συνδεθούν με την πρωτεΐνη-προσαρμογέα.

Η ύπαρξη πολλών δομικών περιοχών, που επιτρέπουν την αλληλεπίδραση μεταξύ πρωτεϊνών, είναι χαρακτηριστικό των πρωτεϊνών προσαρμογέων, επιτρέποντας το σχηματισμό πολυ-πρωτεϊνικών συμπλεγμάτων.



Εικόνα 9.27 Δομικές περιοχές των πρωτεϊνών-προσαρμογέων. Οι πρωτεΐνες προσαρμογείς δεν εμφανίζουν καμία ενζυμική δραστηριότητα, ενώ περιέχουν δομικές περιοχές που τις βοηθούν να συνδέονται σε σηματοδοτικές πρωτεΐνες. IRS-1: υπόστρωμα του υποδοχέα της ινσουλίνης, PTB: περιοχή δέσμευσης φωσφοτυροσίνης, PH: περιοχή ομόλογη της πλεξτρίνης, P: θέση δέσμευσης SH2 και PTB, που περιέχει φωσφοτυροσίνες.

Η λειτουργία πολλών πρωτεϊνών προσαρμογέων είναι στενά συνδεδεμένη με την κυτταρική μεμβράνη ή με τον κυτταροσκελετό. Η ύπαρξη περιοχών PH και μυριστουλικών τροποποιήσεων προτείνει ότι οι πρωτεΐνες αυτές εμπλέκονται στο συντονισμό και την ομαδοποίηση σηματοδοτικών συμπλεγμάτων στην εσωτερική πλευρά της κυτταρικής μεμβράνης.

Οι πρωτεΐνες προσαρμογείς είναι, πάνω από όλα, σημαντικά στοιχεία για τον έλεγχο της υποκυτταρικής οργάνωσης γεγονότων φωσφορυλίωσης σε Ser και Tyr. Γι'αυτό, πολλές πρωτεΐνες προσαρμογείς περιέχουν περιοχές PTB ή SH2 που κατευθύνουν εξειδικευμένες αλληλεπιδράσεις με θέσεις αυτο-φωσφορυλίωσης ενός ενεργοποιημένου υποδοχέα.

Η **πρωτεΐνη Grb2** (growth factor receptor binding protein) αναγνωρίστηκε ως ένα συστατικό της μεταγωγής σήματος των αυξητικών παραγόντων και του σηματοδοτικού μονοπατιού των Ras. Η πρωτεΐνη προσαρμογέας Shc, ο υποδοχέας EGF, ο υποδοχέας PDGF και η φωσφατάση Syp, περιγράφηκαν ως μόρια που συνδέονται στην SH2 περιοχή της πρωτεΐνης Grb2. Η πρωτεΐνη Grb2 είναι ισχυρά συνδεδεμένη, μέσω της SH3 περιοχής της, σε μια πλούσια σε προλίνη περιοχή του παράγοντα ενεργοποίησης GTPασών, Sos, ο οποίος μπορεί να περάσει το μήνυμα στην πρωτεΐνη Ras. Με τη μορφή του συμπλόκου Grb2-Sos, η πρωτεΐνη Grb2 δρα για να δημιουργήσει ένα δεσμό ανάμεσα στον ενεργοποιημένο υποδοχέα κινάση τυροσίνης και την πρωτεΐνη Ras. Η σύνδεση στη μεμβράνη της πρωτεΐνης Sos είναι απαραίτητη για να δράσει ως ενεργοποιητής στο σηματοδοτικό μονοπάτι των Ras.

Η **πρωτεΐνη Crk** πρωτο-ανακαλύφθηκε ως το μετασηματιζών στοιχείο των ρετρο-ιών CT10 και ASV-1. Στην περιοχή SH3 της Crk συνδέεται η κινάση Alb, αλλά ο φυσιολογικός ρόλος της Crk παραμένει άγνωστος.

Το **υπόστρωμα του υποδοχέα της ινσουλίνης, IRS** (insulin receptor substrate) συνδέει τον υποδοχέα της ινσουλίνης με τις πρωτεΐνες-τελεστές της. Με τη σύνδεση της ινσουλίνης στον υποδοχέα της, ενεργοποιείται η δραστηριότητα κινάσης του υποδοχέα. Η πρωτεΐνη IRS φωσφορυλιώνεται σε πολλά κατάλοιπα τυροσίνης, τα οποία στη συνέχεια χρησιμεύουν ως θέσεις πρόσδεσης διαφόρων πρωτεϊνών τελεστών, πχ το σύμπλοκο Grb2-mSos, η PI3-κινάση,

η πρωτεϊνική φωσφατάση τυροσίνης SHP-2. Η πρωτεΐνη IRS περιέχει επίσης μια περιοχή σύνδεσης φωσφοτυροσίνης PTB, η οποία συνδέεται στις θέσεις αυτό-φωσφορυλίωσης του υποδοχέα της ινσουλίνης, και μια περιοχή PH, η οποία μεσολαβεί για τη σύνδεση της πρωτεΐνης στη μεμβράνη.