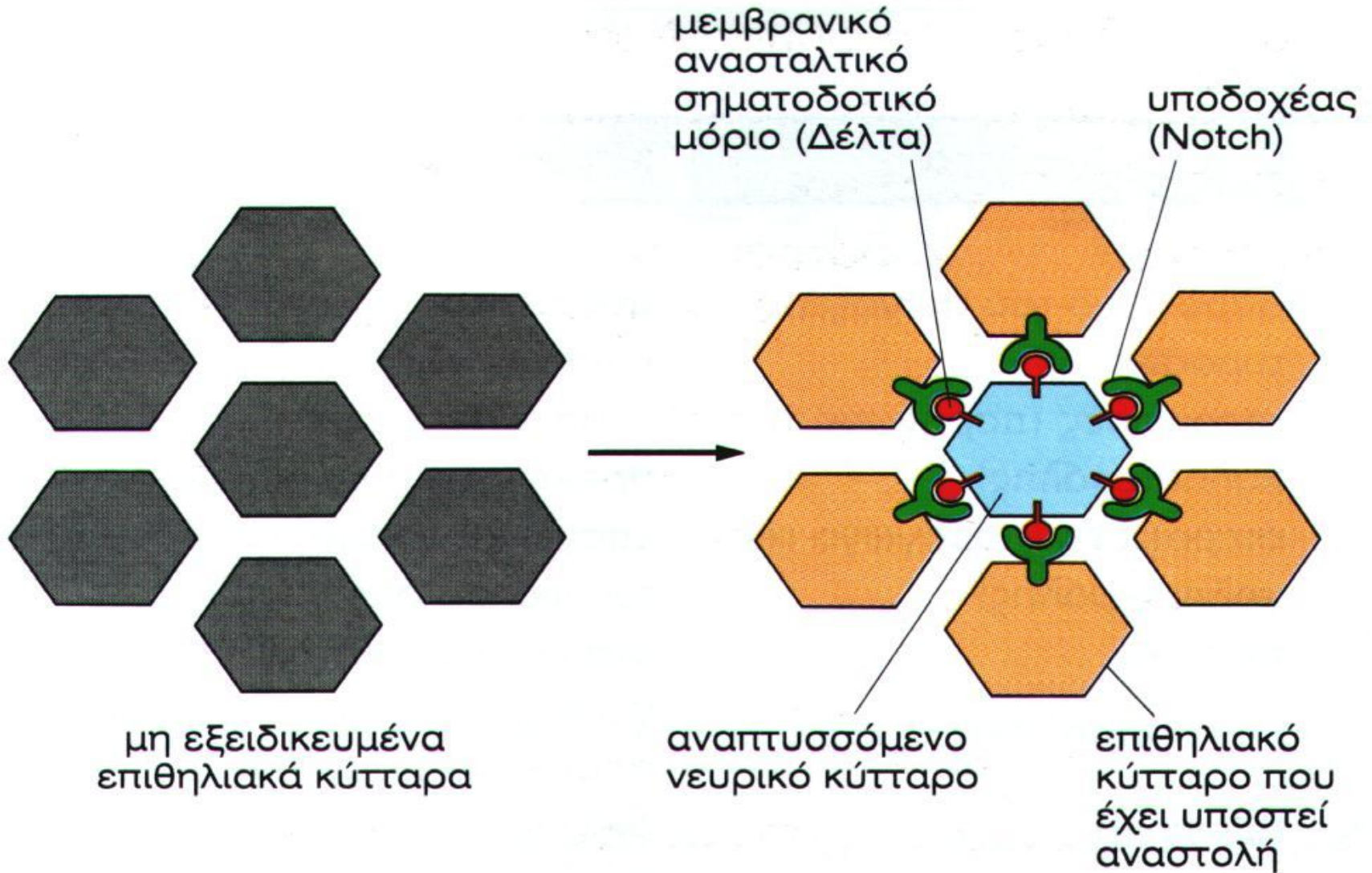


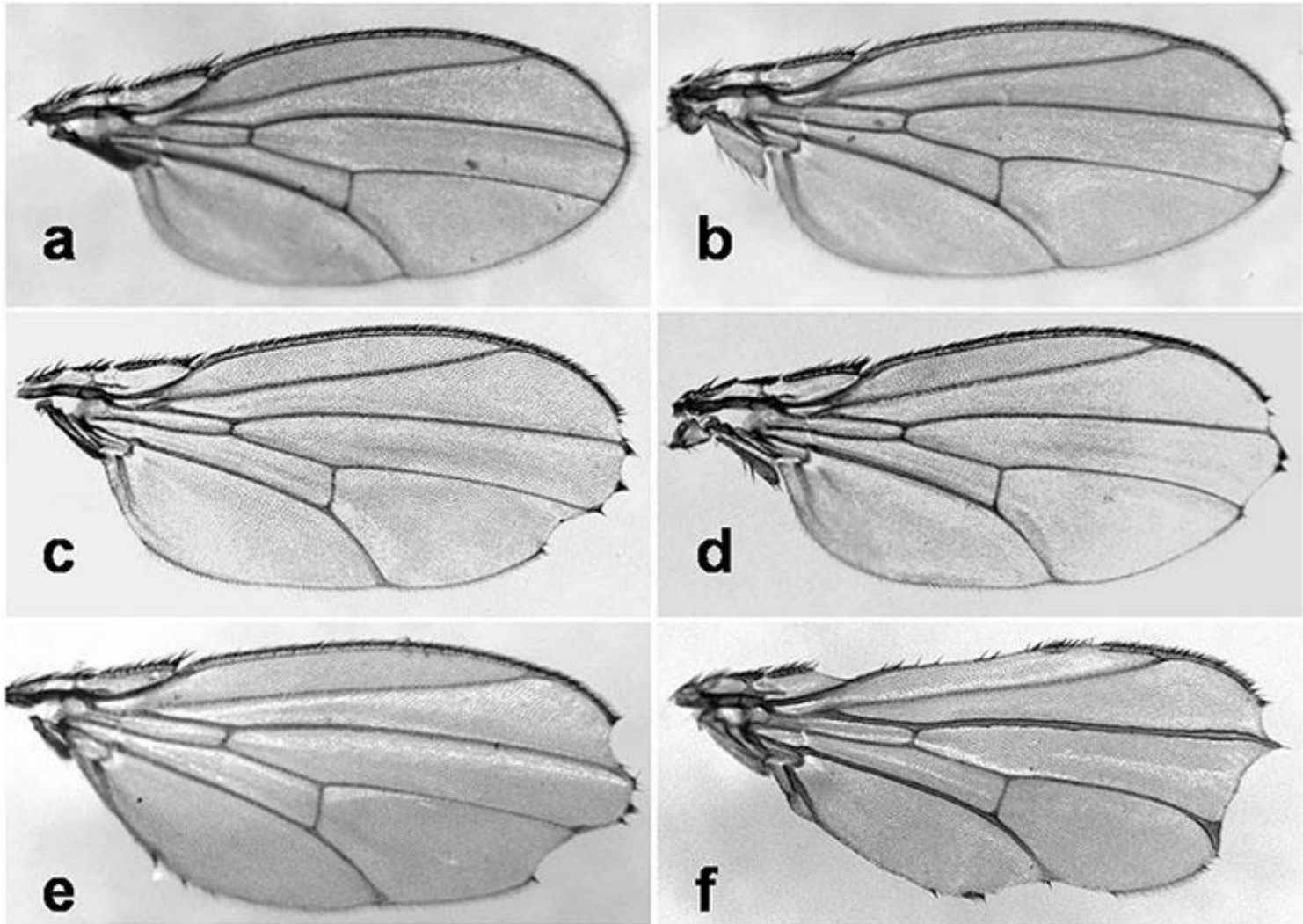
Σηματοδότηση Notch

Notch Signaling

Η σηματοδότηση που εξαρτάται από την επαφή δυο κυττάρων

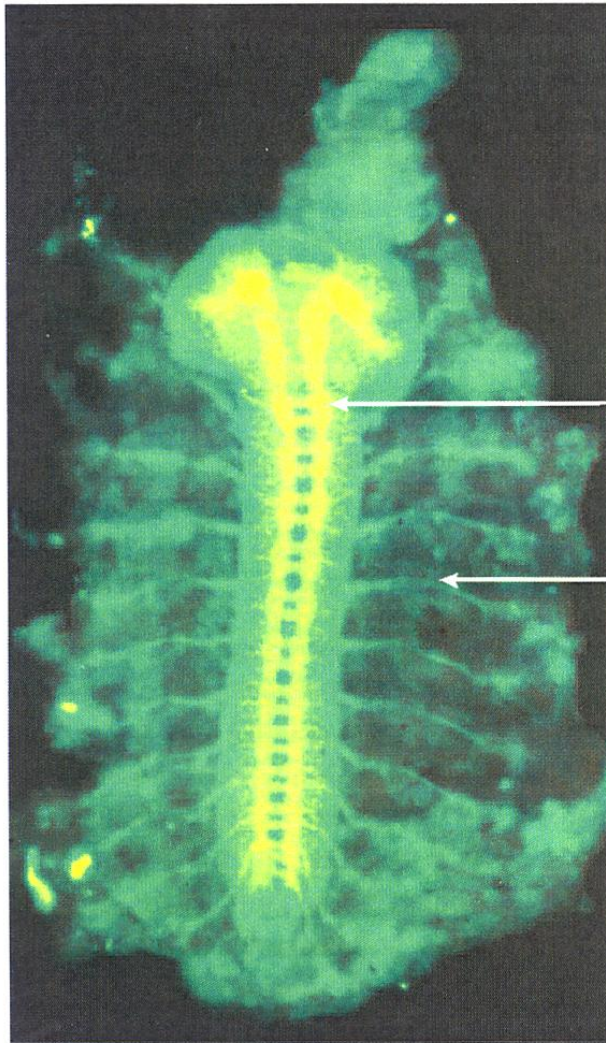


Το γονίδιο *notch* ανακαλύφθηκε από τον [Dexter \(1914\)](#) και πήρε το όνομά του απ' το χαρακτηριστικό οδοντωτό σχήμα που παίρνουν τα φτερά της *Drosophila* (*notch* = οδοντωτός) όταν υπάρχει μερική απώλεια της λειτουργίας του, λόγω μετάλλαξης.



Ο σημαντικός ρόλος που παίζει ο Notch πρωτοανακαλύφθηκε στη *Drosophila* από τον [Poulson \(1937\)](#), ο οποίος έδειξε ότι τεχνητές αρνητικές μεταλλάξεις στο γονίδιο *notch* ήταν θανατηφόρες σε εμβρυακό στάδιο, καθώς κύτταρα προορισμένα να γίνουν η επιδερμίδα του ζώου έδωσαν γένεση σε κύτταρα νευρικού ιστού.

Wild type



Notch null mutant

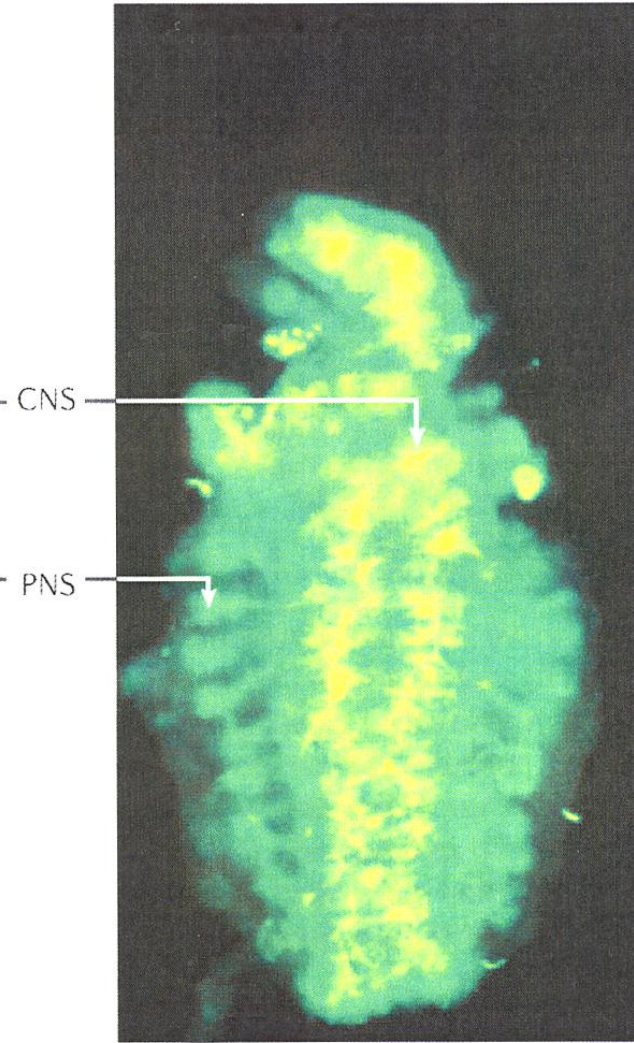
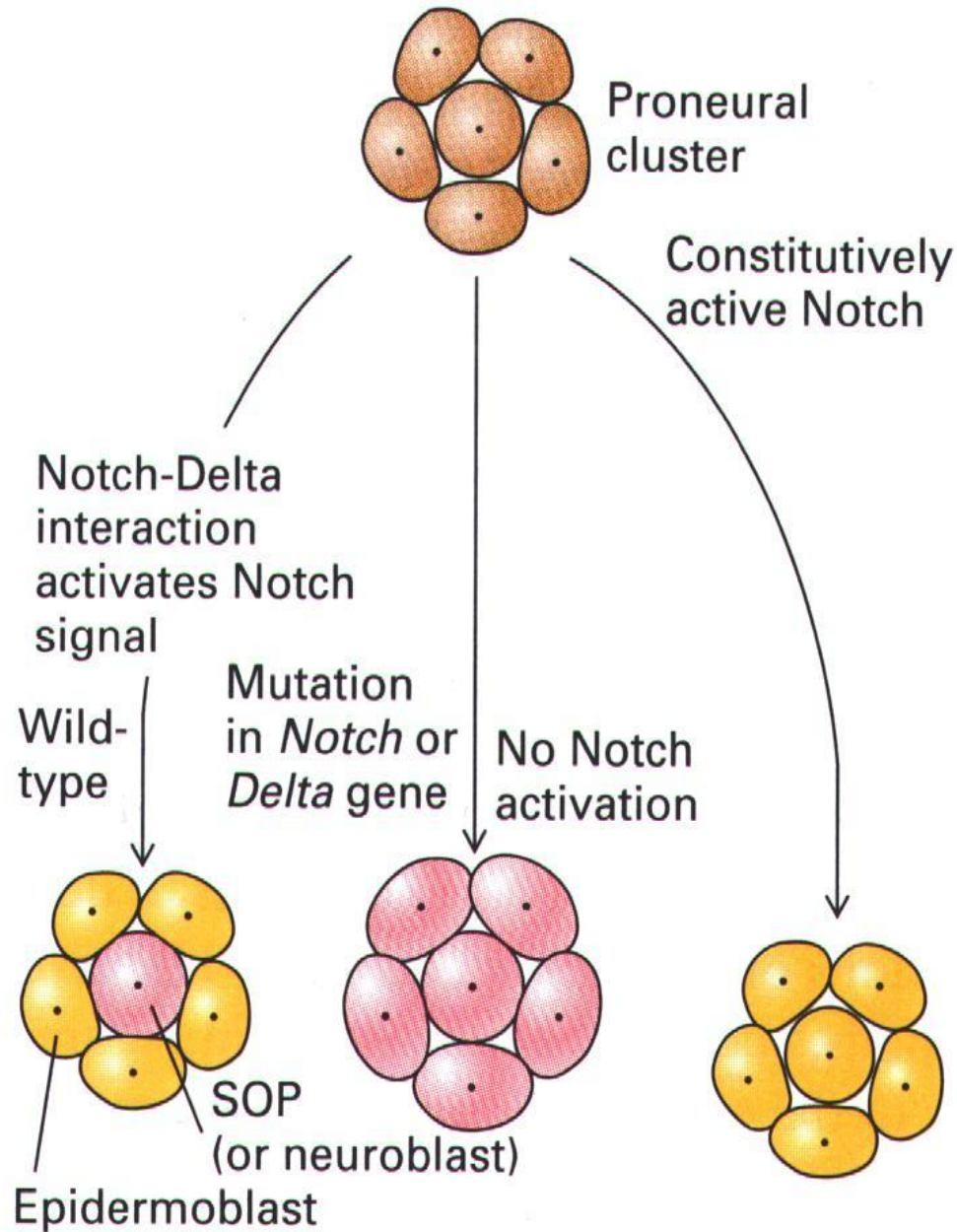
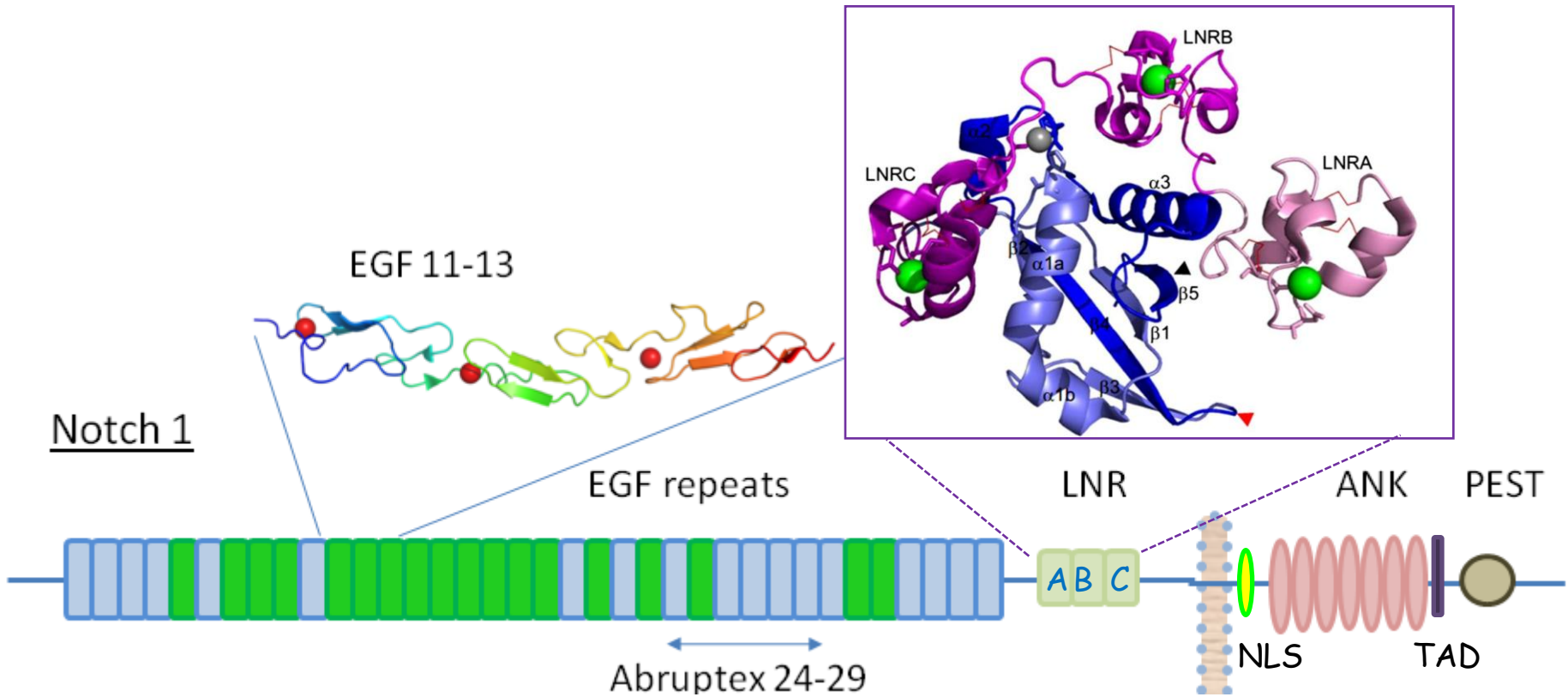


Figure 1 | *Drosophila melanogaster* embryos stained with an antibody against horseradish peroxidase that recognizes neural tissue. Wild-type and Notch null mutant *D. melanogaster* embryos, showing the hypertrophy of both the CNS and PNS that occurs in the absence of Notch. Image reproduced, with permission, from REF. 148 © (1989) Rockefeller University Press.

Η ενεργοποίηση του Notch εμποδίζει τη νευρική μοίρα βλαστικών κυττάρων



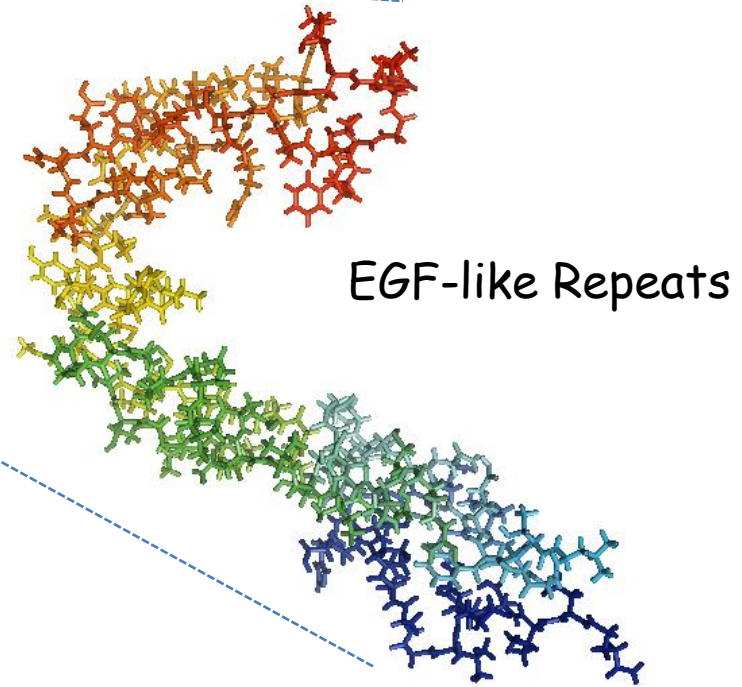
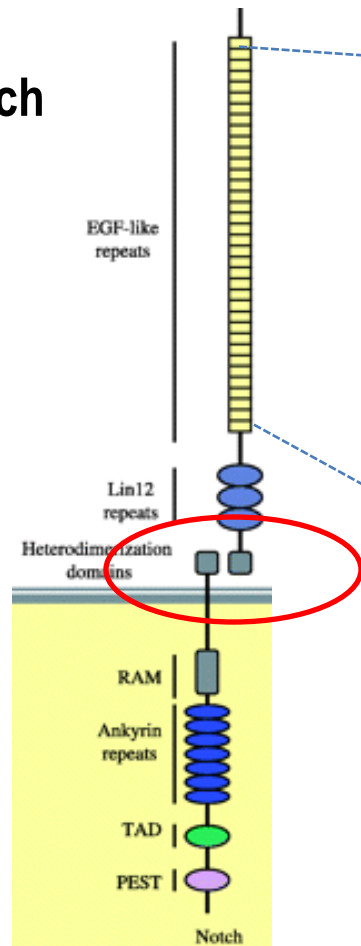
Δομή του υποδοχέα Notch



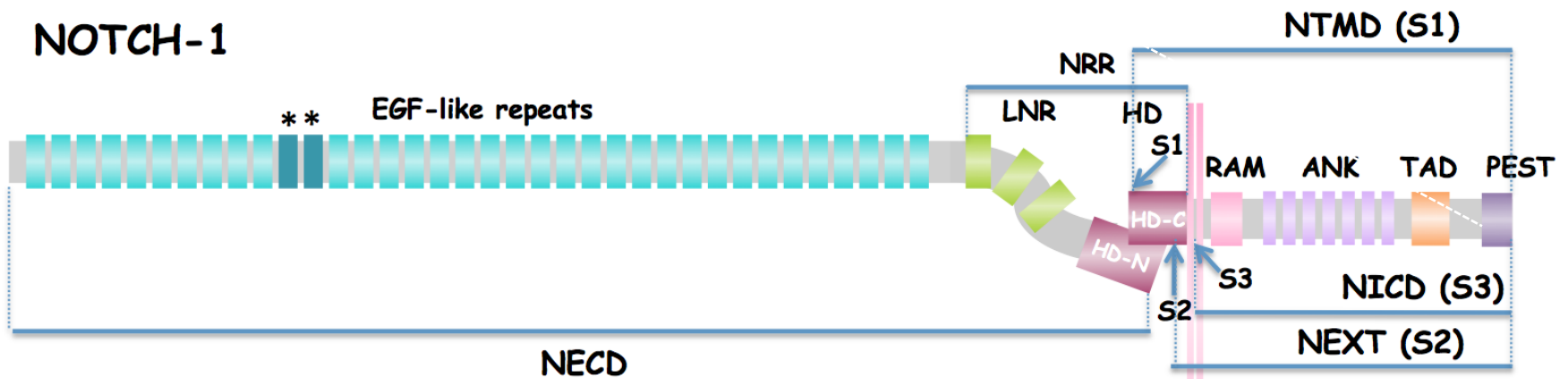
Στο εξωκυτταρικό τμήμα του Notch διακρίνονται οι 36 επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες EGF και 3 αλληλουχίες πλούσιες σε κυστεΐνη (LNR).

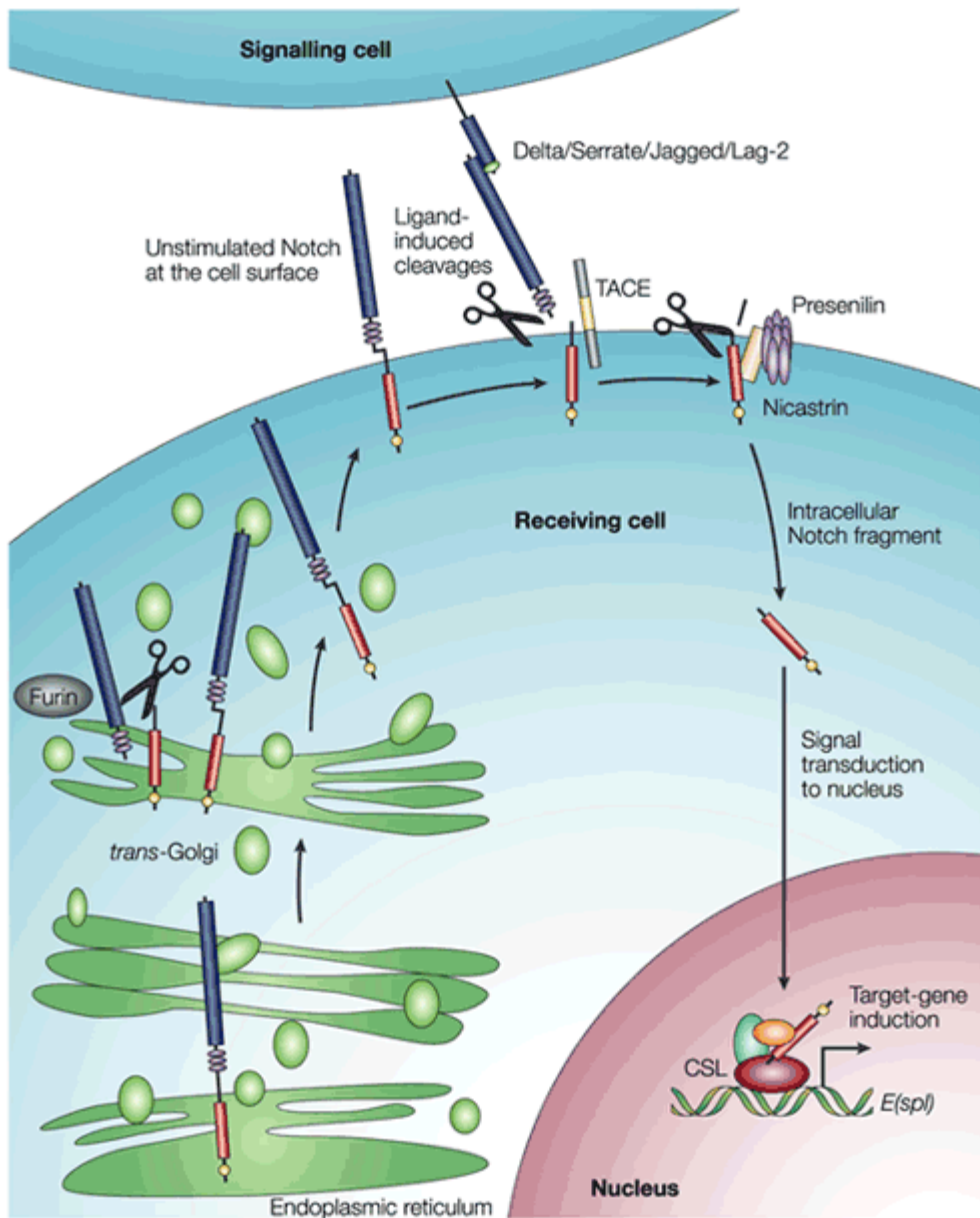
Στο ενδοκυτταρικό τμήμα του Notch διακρίνονται 6 επαναλαμβανόμενες ακολουθίες αγκυρίνης, μία περιοχή TAD (transcriptional activator domain), δύο περιοχές NLS (nuclear localization sequences) καθώς και μια ακολουθία PEST (πλούσια σε προλίνη, γλουταμικό, σερίνη, θρεονίνη).

Notch



NOTCH-1





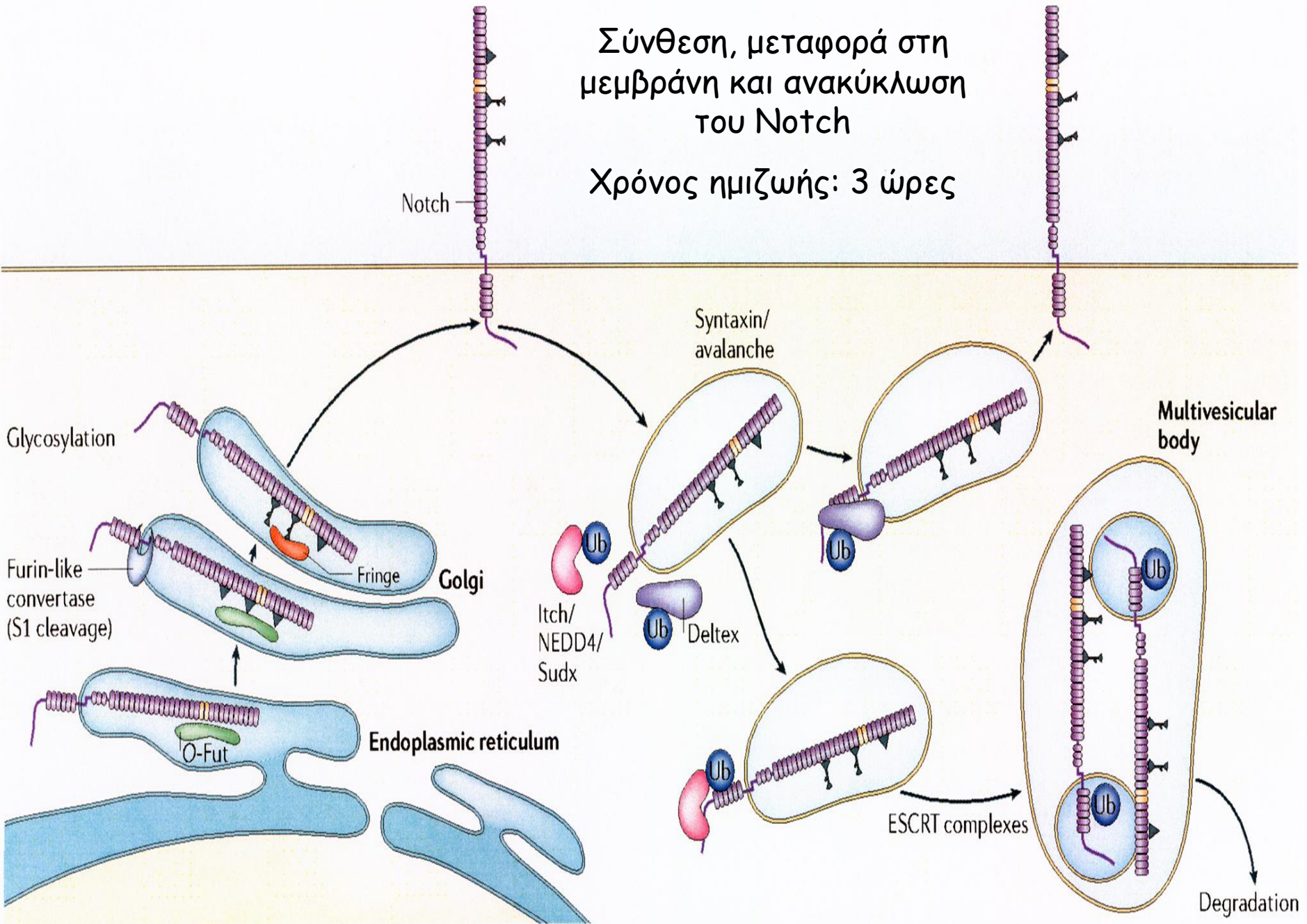
Η πρωτεΐνη Notch παράγεται στο ενδοπλασματικό δίκτυο, όπου αλληλεπιδρά με την Ο-φουκοσυλο-τρανσφεράση (O-Fut), και μεταφέρεται στο Golgi.

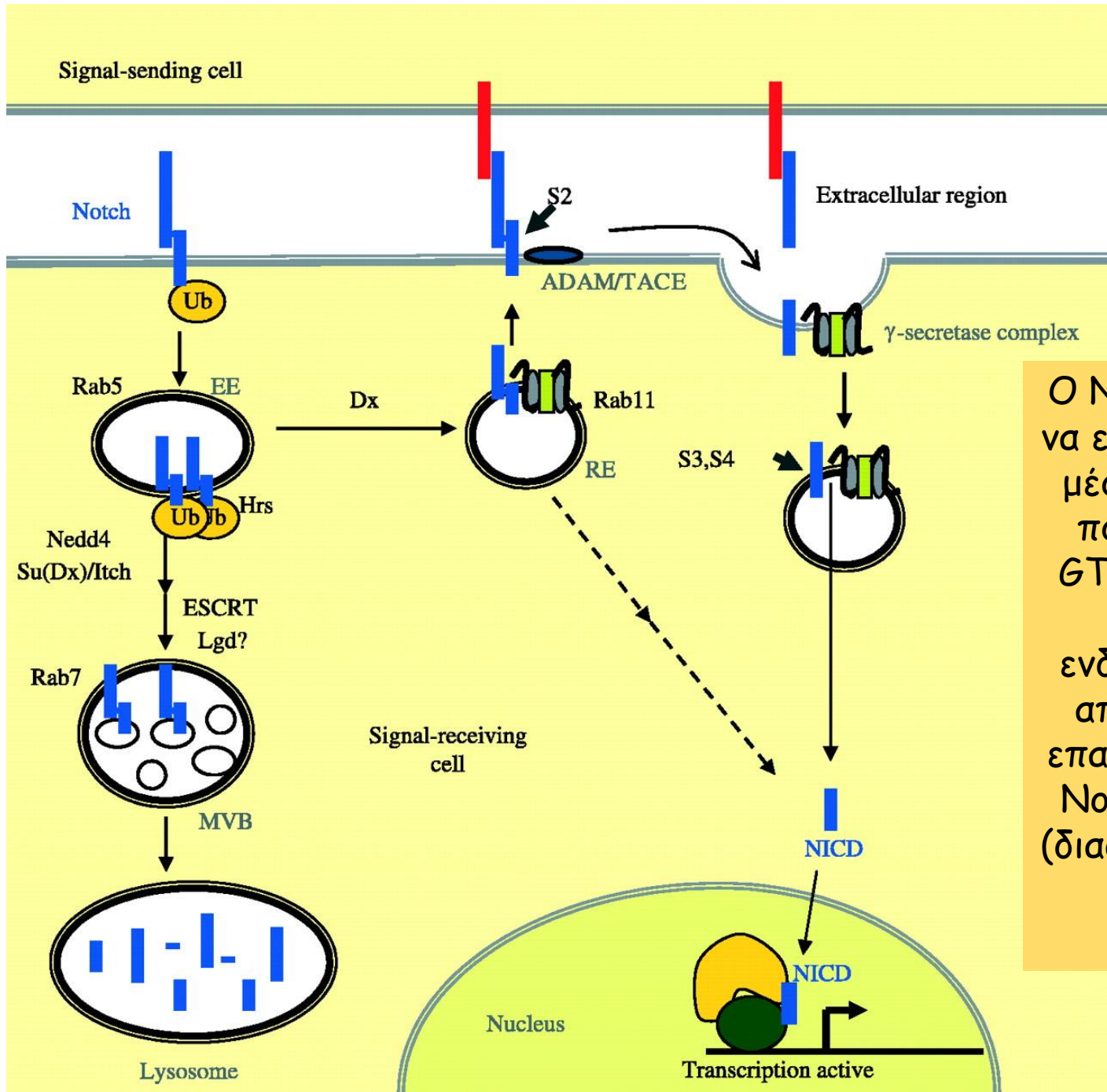
Στο Golgi κόβεται από μια furin-like πρωτεάση και γλυκοσυλιώνεται από την O-Fut και άλλες γλυκοσυλο τρανσφεράσες (πχ, την Fringe) πριν να μεταφερθεί στην πλασματική μεμβράνη.

Σύνθεση, μεταφορά στη μεμβράνη και ανακύκλωση του Notch

Χρόνος ημιζωής: 3 ώρες

Notch

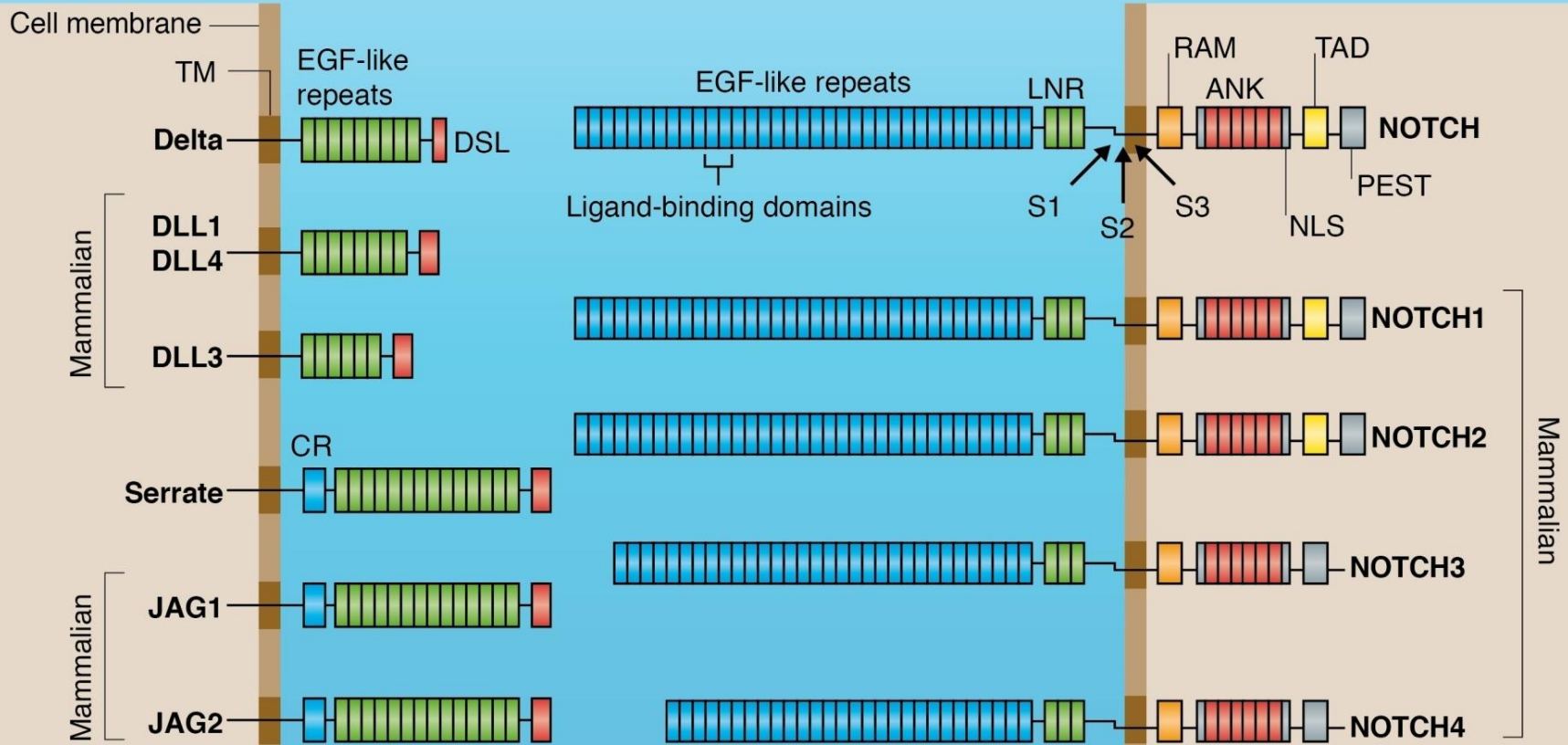


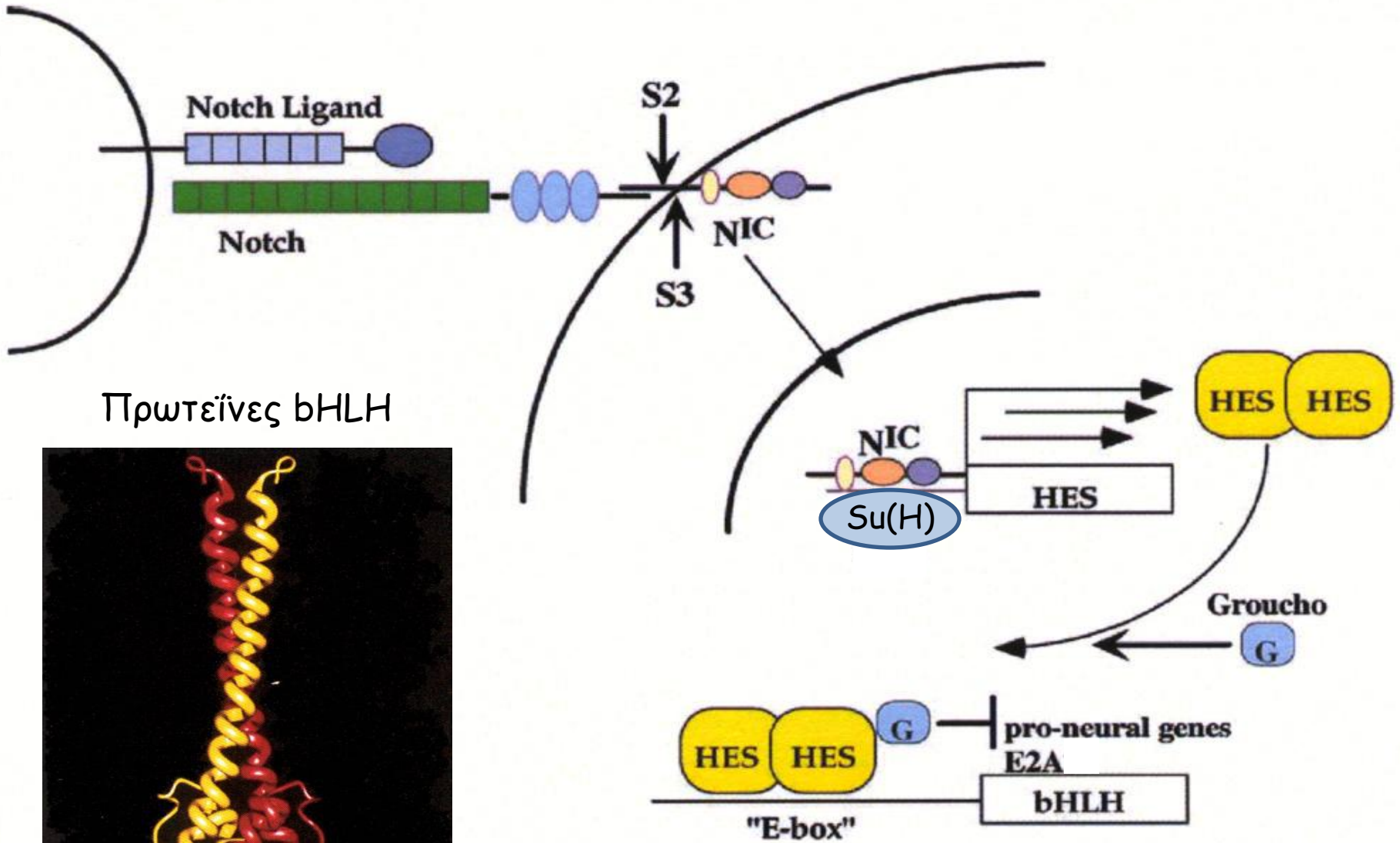


Ο Notch μπορεί όμως να ενδοκυτταρωθεί και μέσα σε ενδοσώματα που εκφράζουν τις GTPάσες Rab. Αυτού του είδους η ενδοκυττάρωση είναι απαραίτητη για την επανεμφάνιση ενεργού Notch στη μεμβράνη (διαδικασία απαραίτητη και για τους προσδέτες)

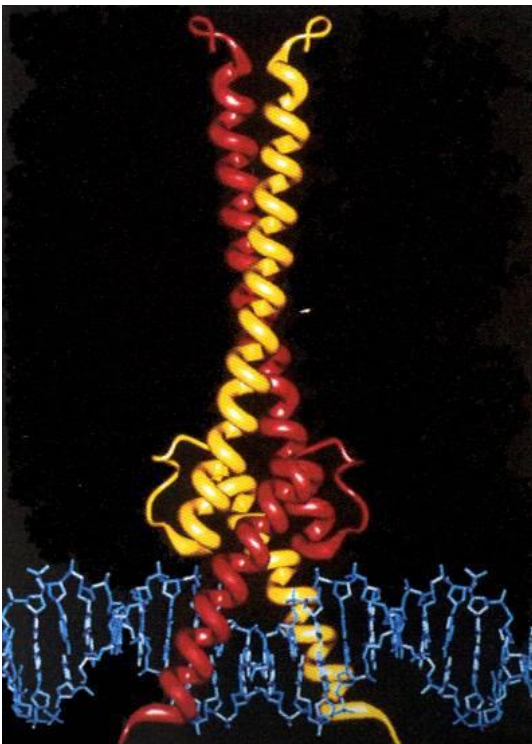
Το σηματοδοτικό μονοπάτι Notch

	Ενεργοποίηση του Υποδοχέα → Notch Receptor	Ενεργοποίηση του Μεταγραφικού παράγοντα → CSL effector
<i>Caenorhabditis elegans</i>	Lag-2, APX-1, ARG-1, DSL1	LIN-12, GLP-1
<i>Drosophila melanogaster</i>	Delta, Serrate	[Su(H)]
Θηλαστικά	Delta1-4, Serrate, Jagged 1,2	CBF1/RBPκJ



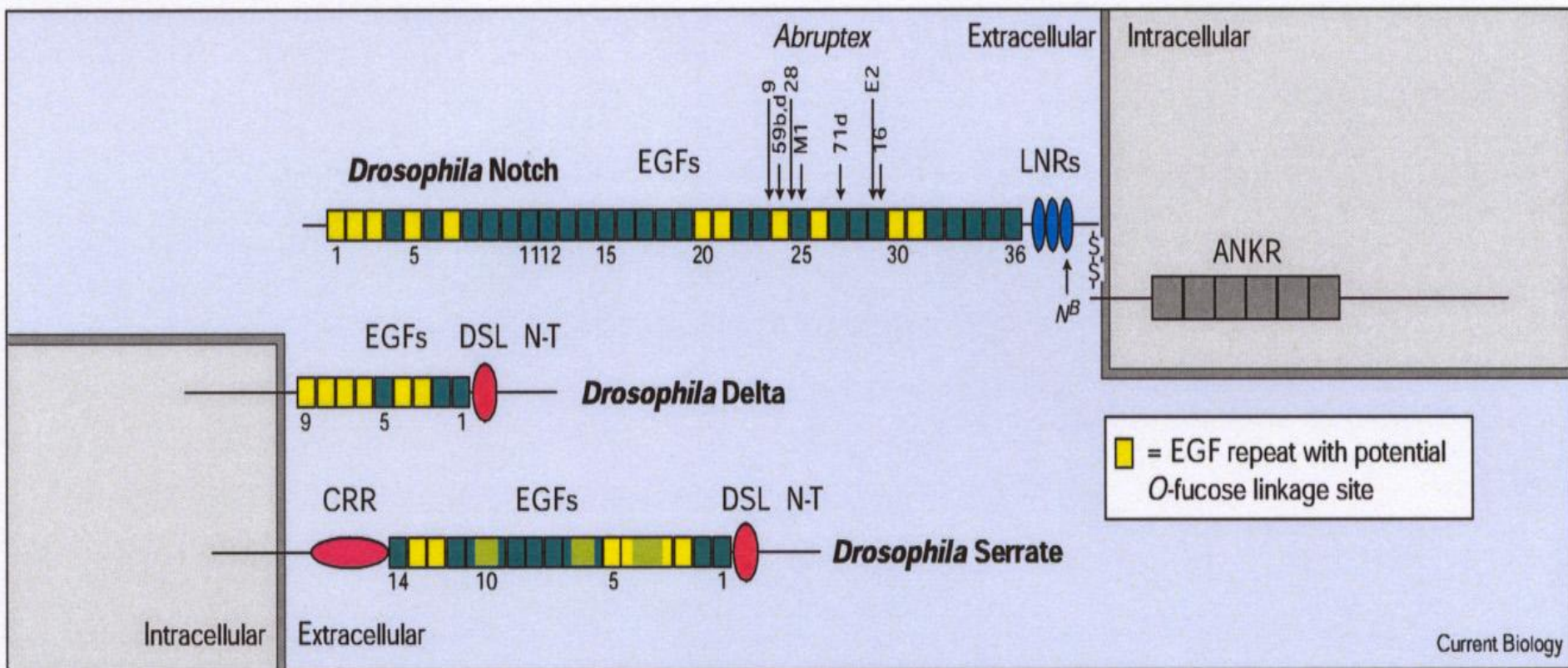


Πρωτεΐνες bHLH

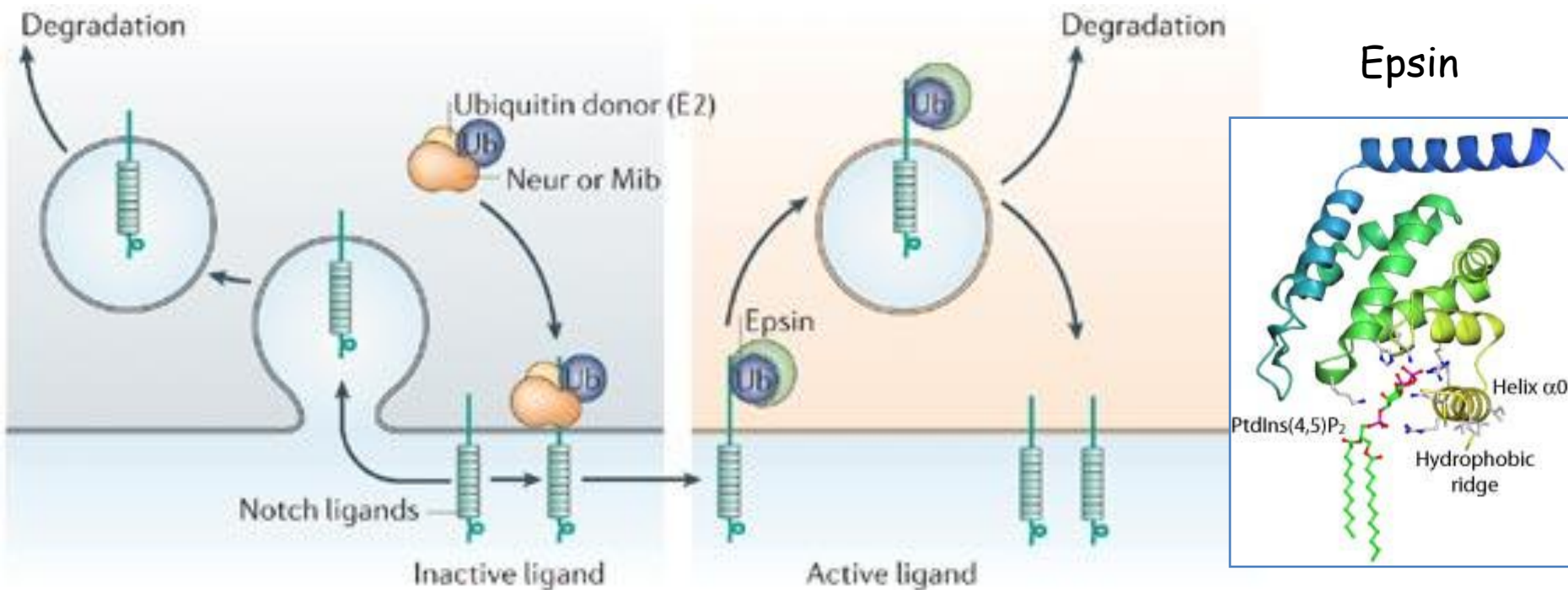


Η αλληλεπίδραση μεταξύ Notch/προσδέτη

γίνεται μεταξύ συγκεκριμένων EGF περιοχών του Notch υποδοχέα και συγκεκριμένων EGF περιοχών του προσδέτη

















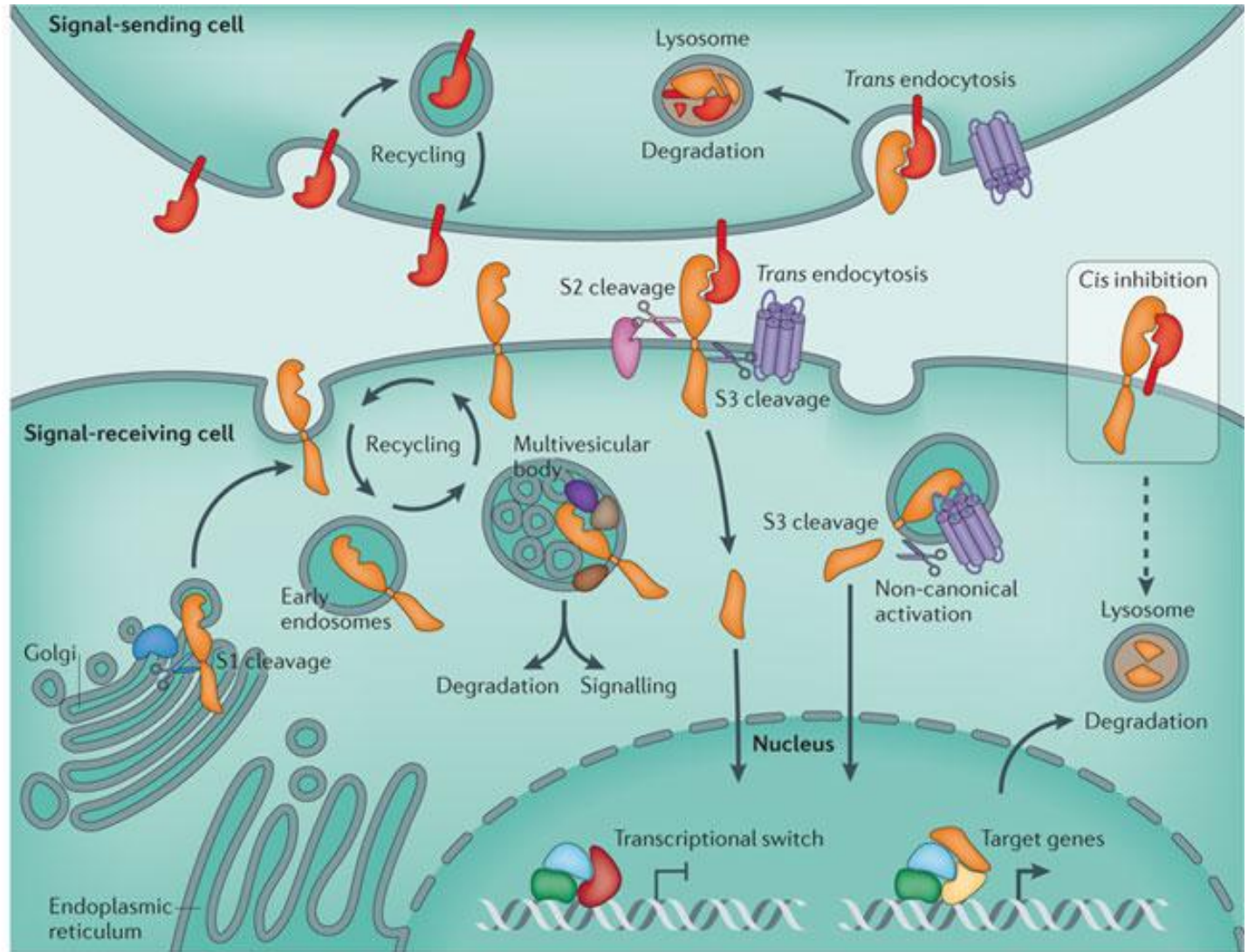
Η ενεργοποίηση του προσδέτη προϋποθέτει ουβικουιτινίωση



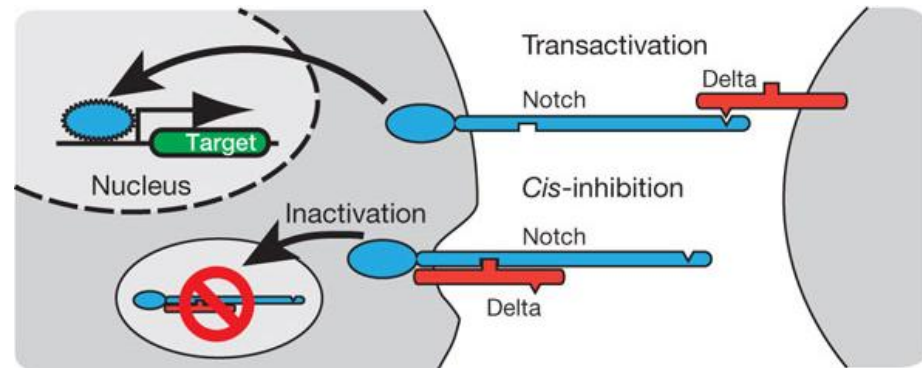
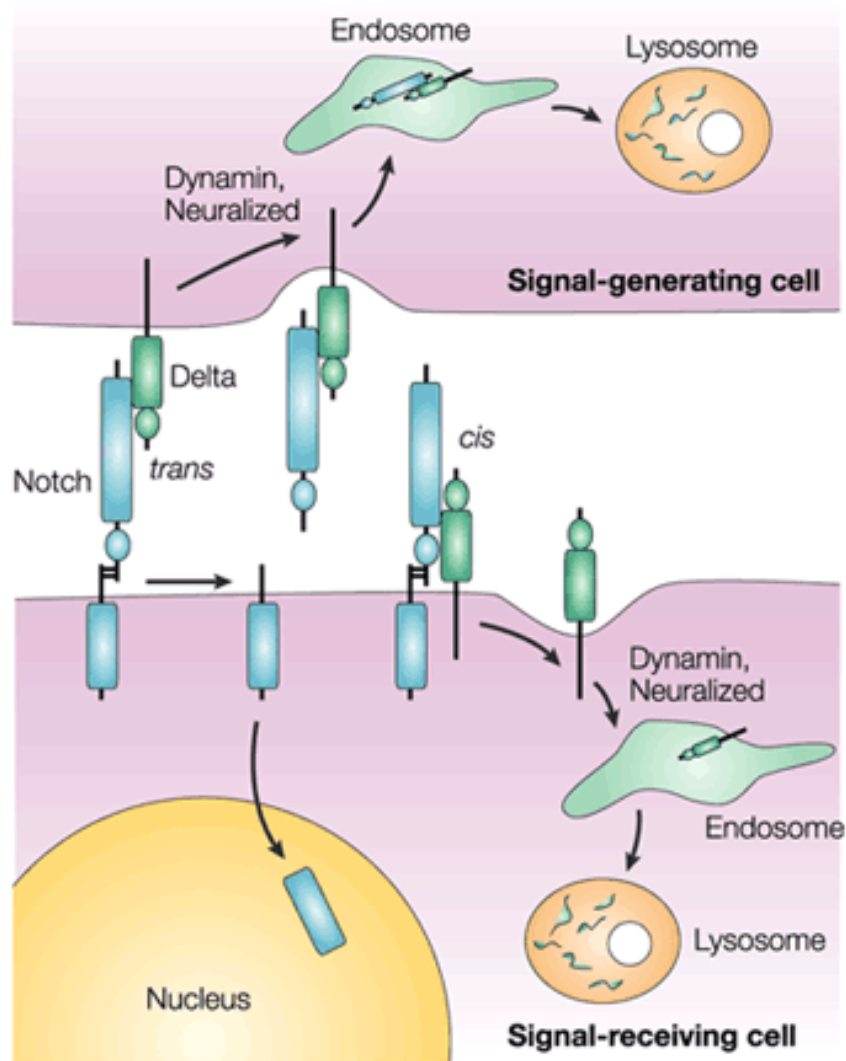
Copyright © 2006 Nature Publishing Group
Nature Reviews | Molecular Cell Biology

Trans-activation, cis-inhibition

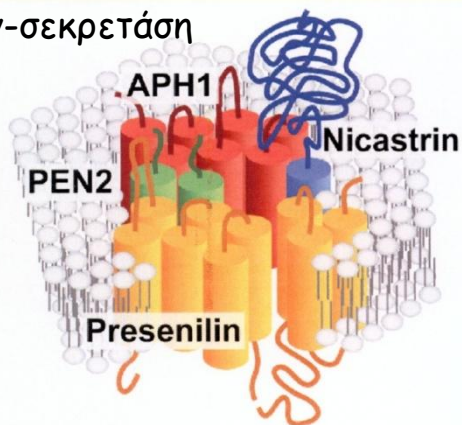
- Notch 
- NECD1 
- NICD 
- DSL ligands 
- Presenilin
γ-secretase complex 
- TACE 
- Deltex 
- Shrub and the
ESCRT-III complex 
- Kurtz 
- Furin 
- SU(H) 
- MAM (MAML
in mammals) 
- Co-repressors 
- Co-activators 



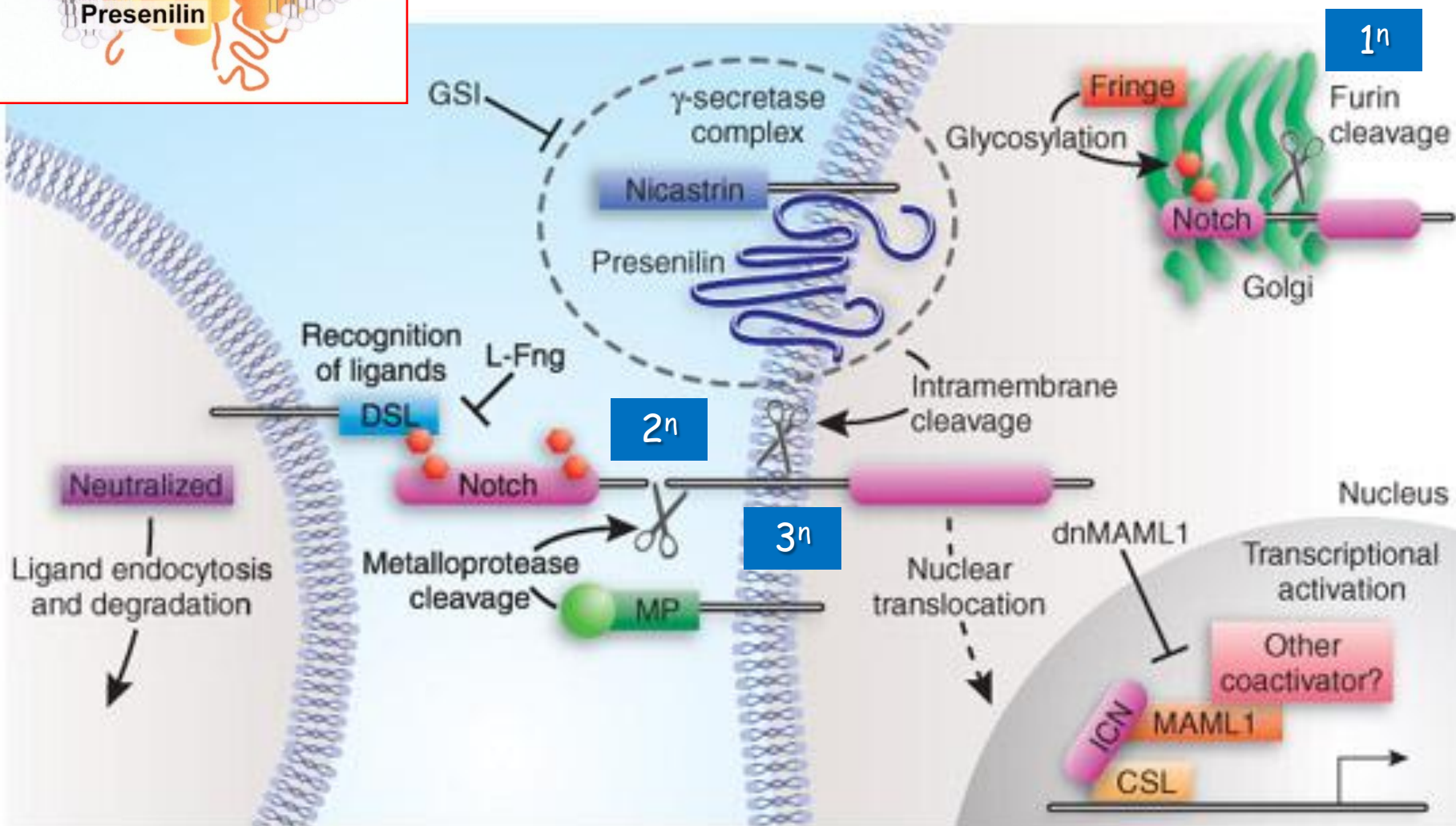
Trans-activation, cis-inhibition

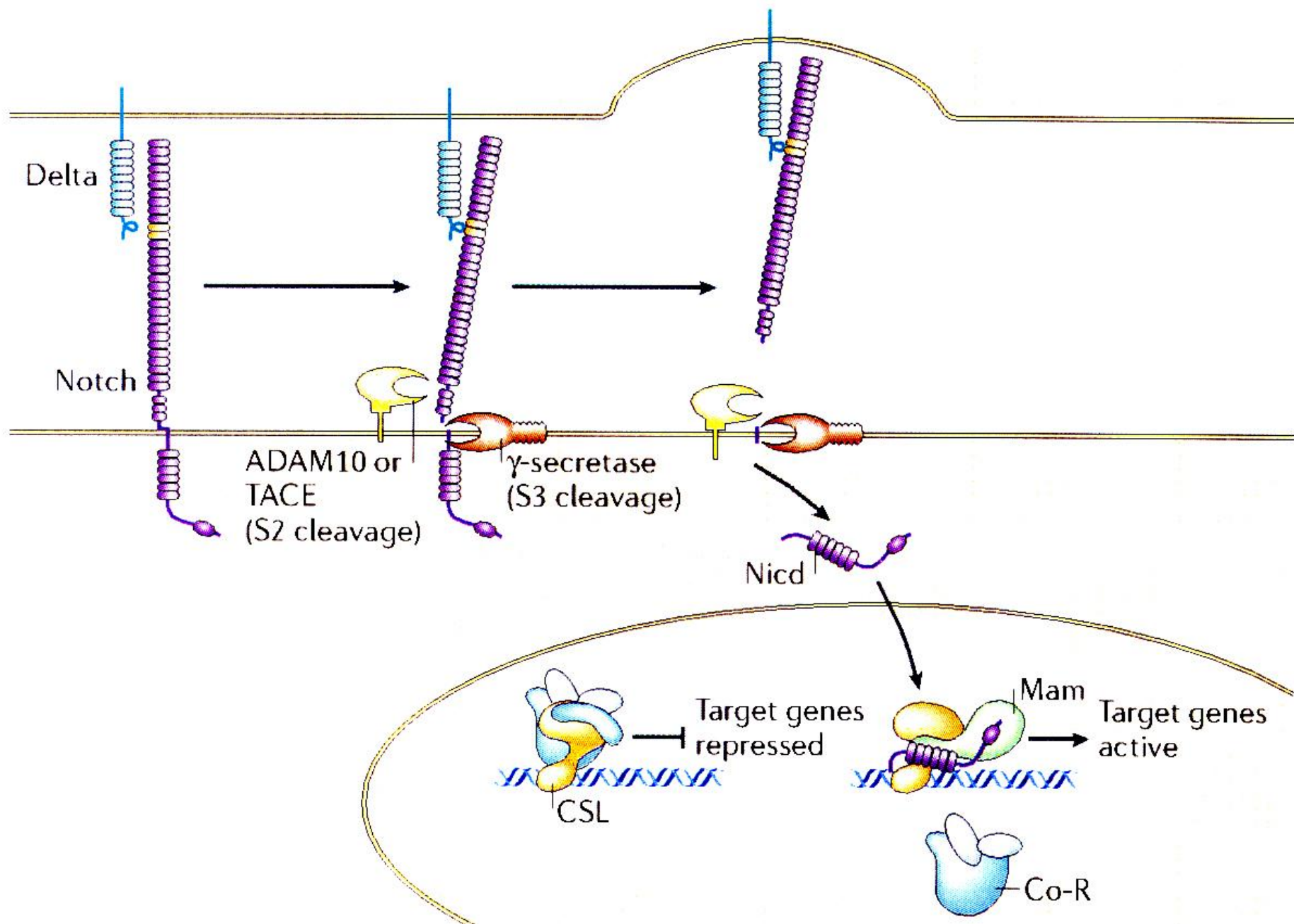


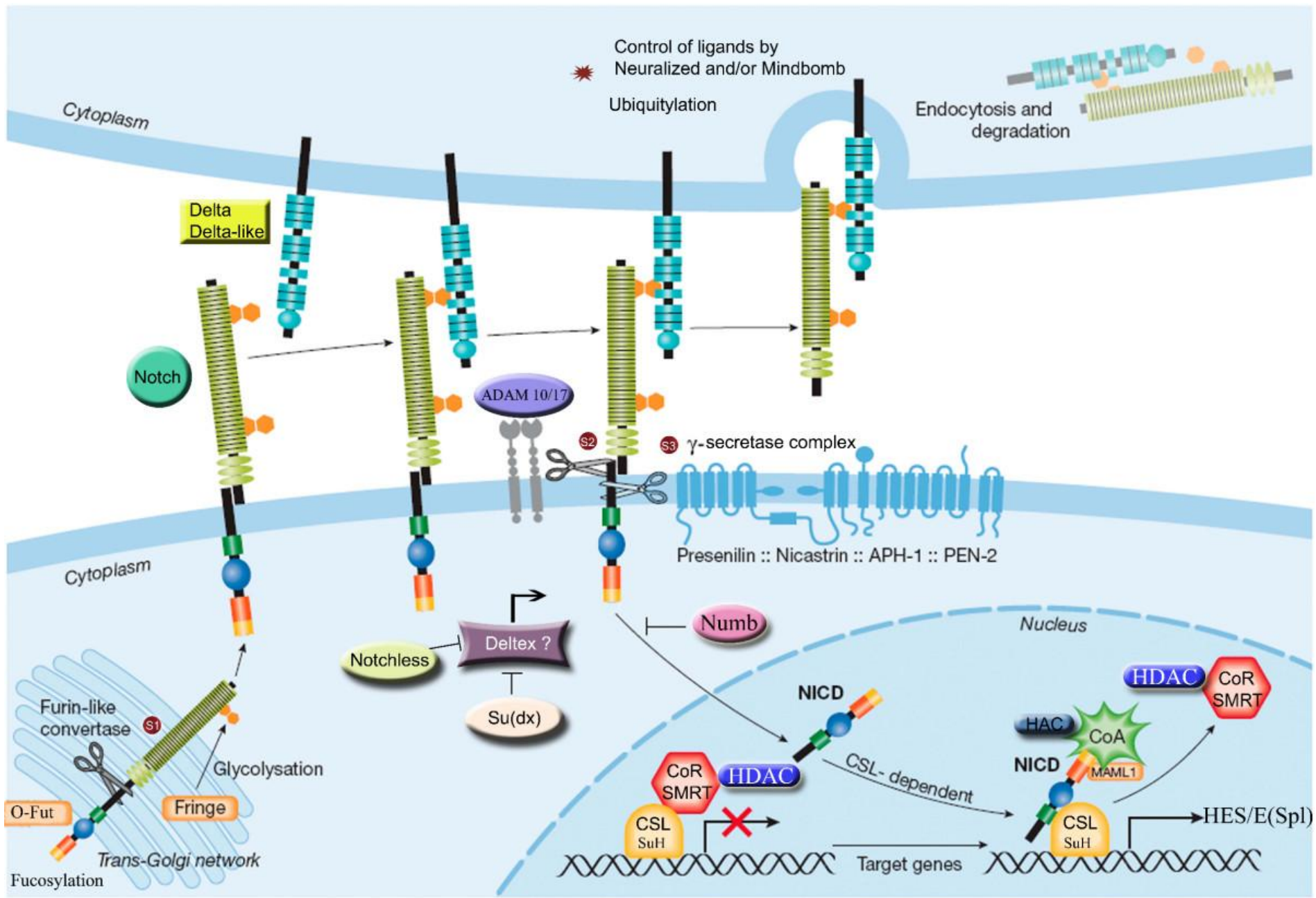
γ-σεκρετάση

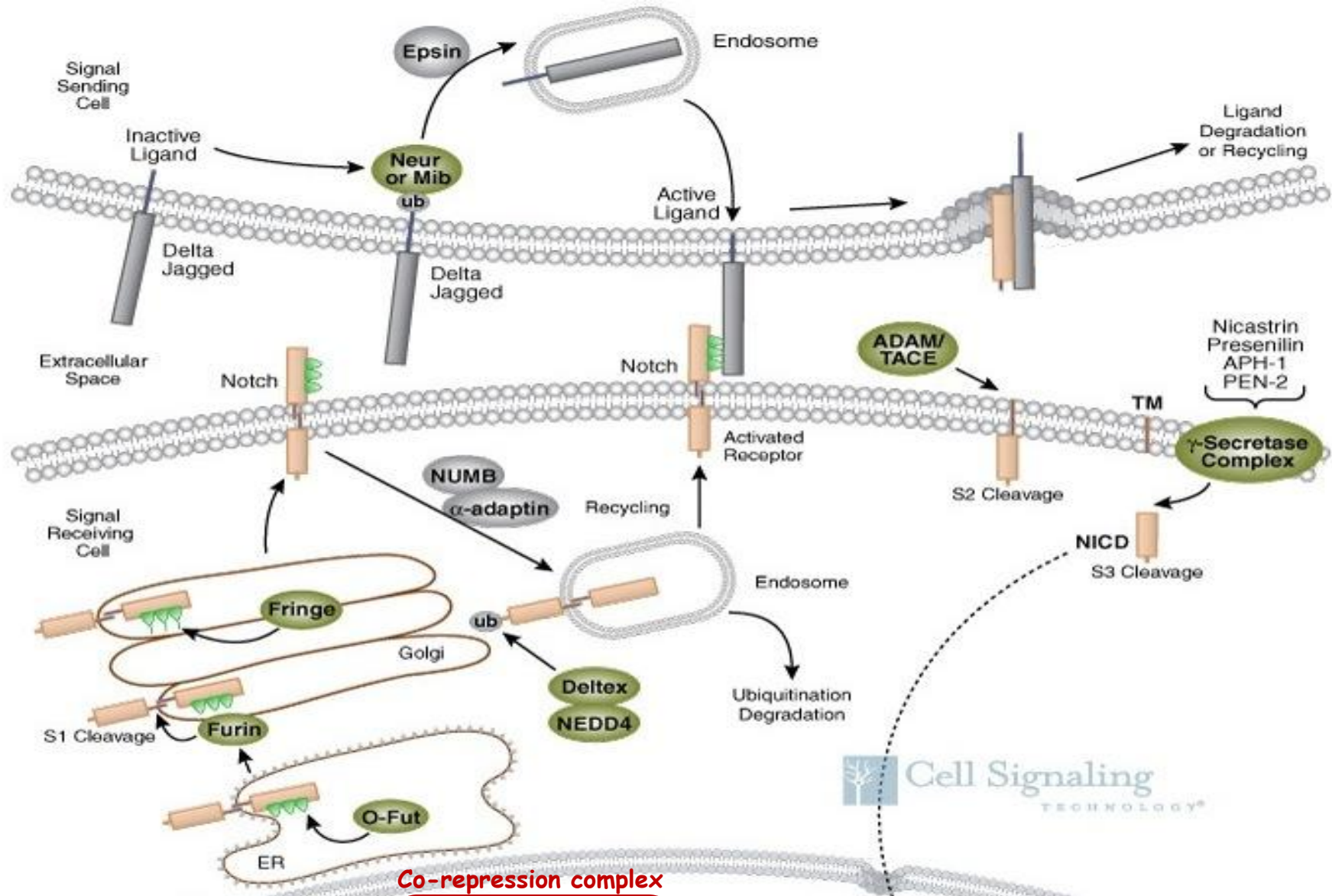


Ο υποδοχάς Notch υφίσταται 3 πρωτεολύσεις









Cell Signaling
TECHNOLOGY®

Co-repression complex



CSL: πρωτεϊνικό σύμπλοκο μεταγραφικών παραγόντων (CBF1, Su(H), Lag1) δρα σαν καταστολέας στρατολογώντας συν-καταστολείς, η σύνθεση των οποίων διαφέρει ανάλογα με το είδος και τον κυτταρικό τύπο

Inactive

Active

Notch Target Genes
HES Family
Myc
p21

HTAs:

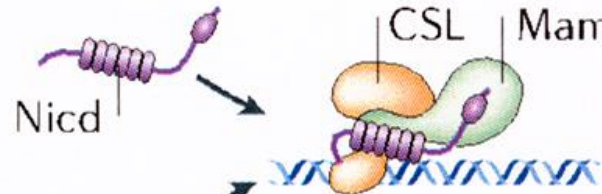
Ακετυλοτρανσφεράσες ακετυλιώνουν τις ιστόνες, ξεδιπλώνει η χρωματίνη και αρχίζει η μεταγραφή

HDACs:

απακετυλάσες εμποδίζουν την ακετυλίωση ιστονών και το ξεδίπλωμα της χρωματίνης

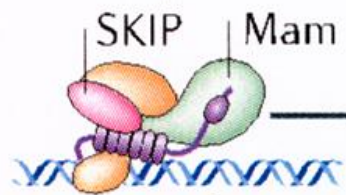
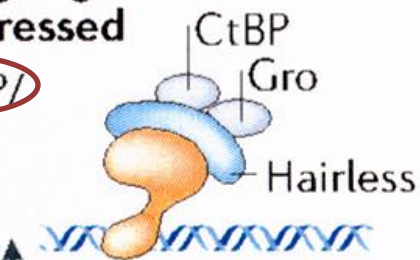
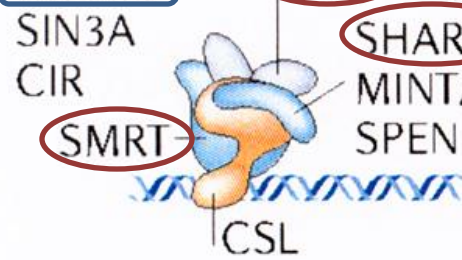
HAT complexes

p300
GCN5/PCAF
Chromatin remodelling
BRM
TRA1/TRRAP
Dom



Target genes repressed

HDACs



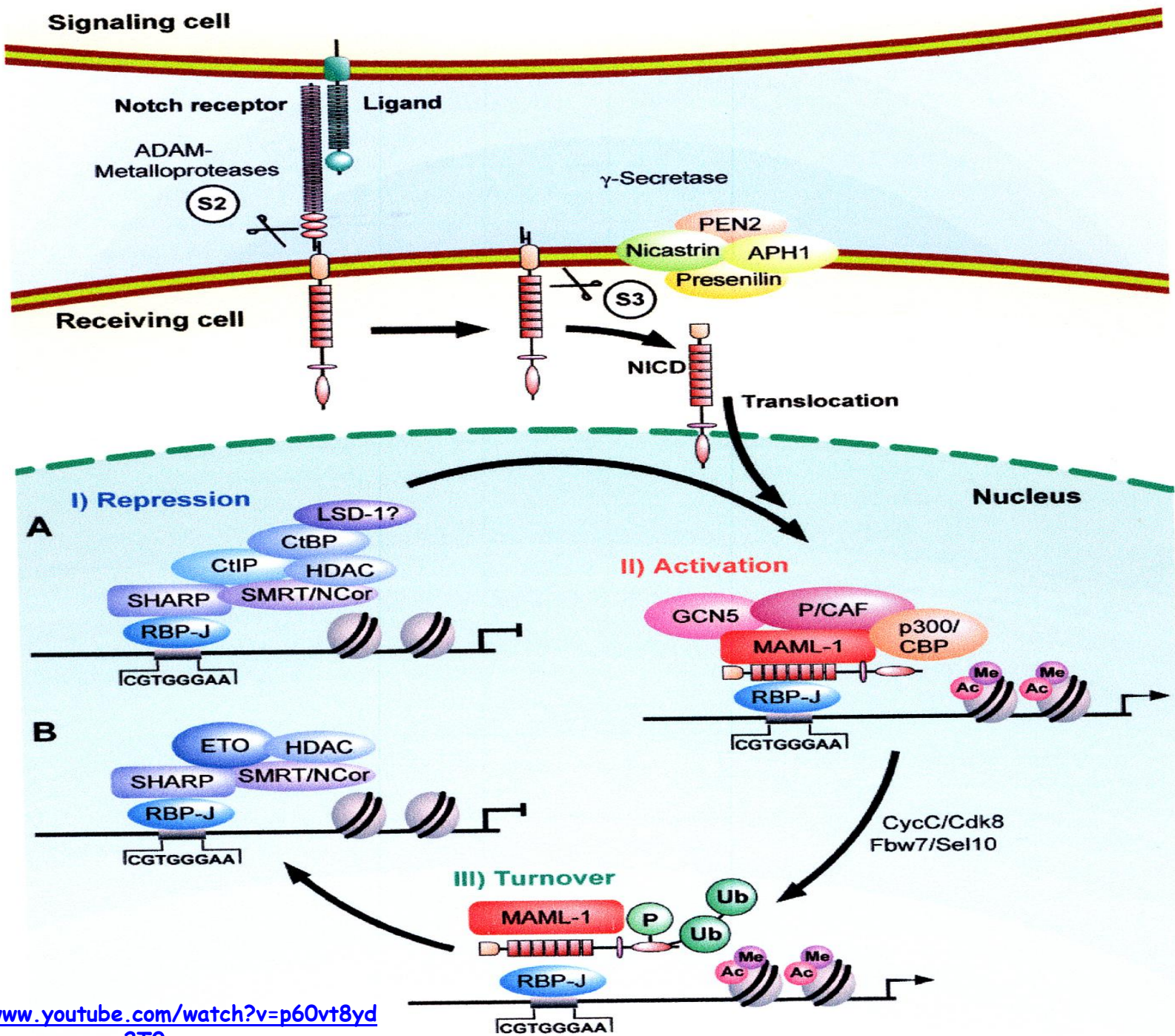
Target genes active

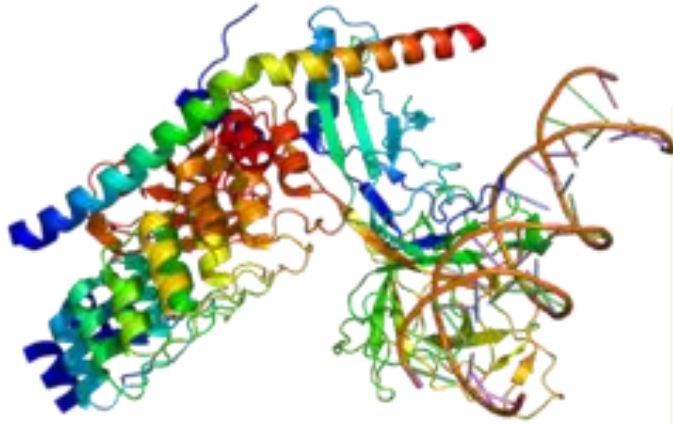
CDK8
SEL10



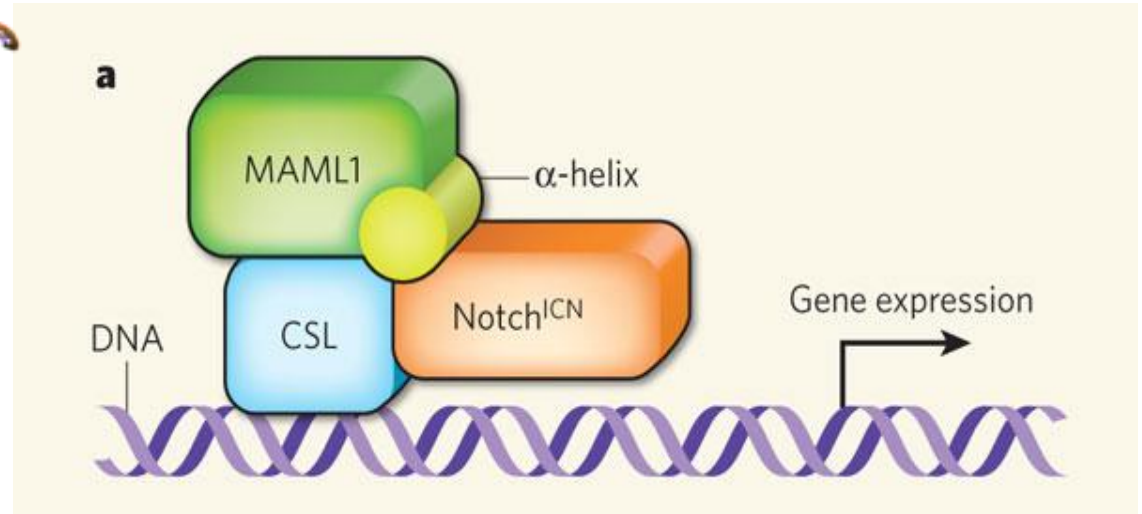
CSL:

πρωτεϊνικό σύμπλοκο μεταγραφικών παραγόντων (CBF1, Su(H), Lag1) δρα σαν καταστολέας στρατολογώντας συν-καταστολείς, η σύνθεση των οποίων διαφέρει ανάλογα με το είδος και τον κυτταρικό τύπο



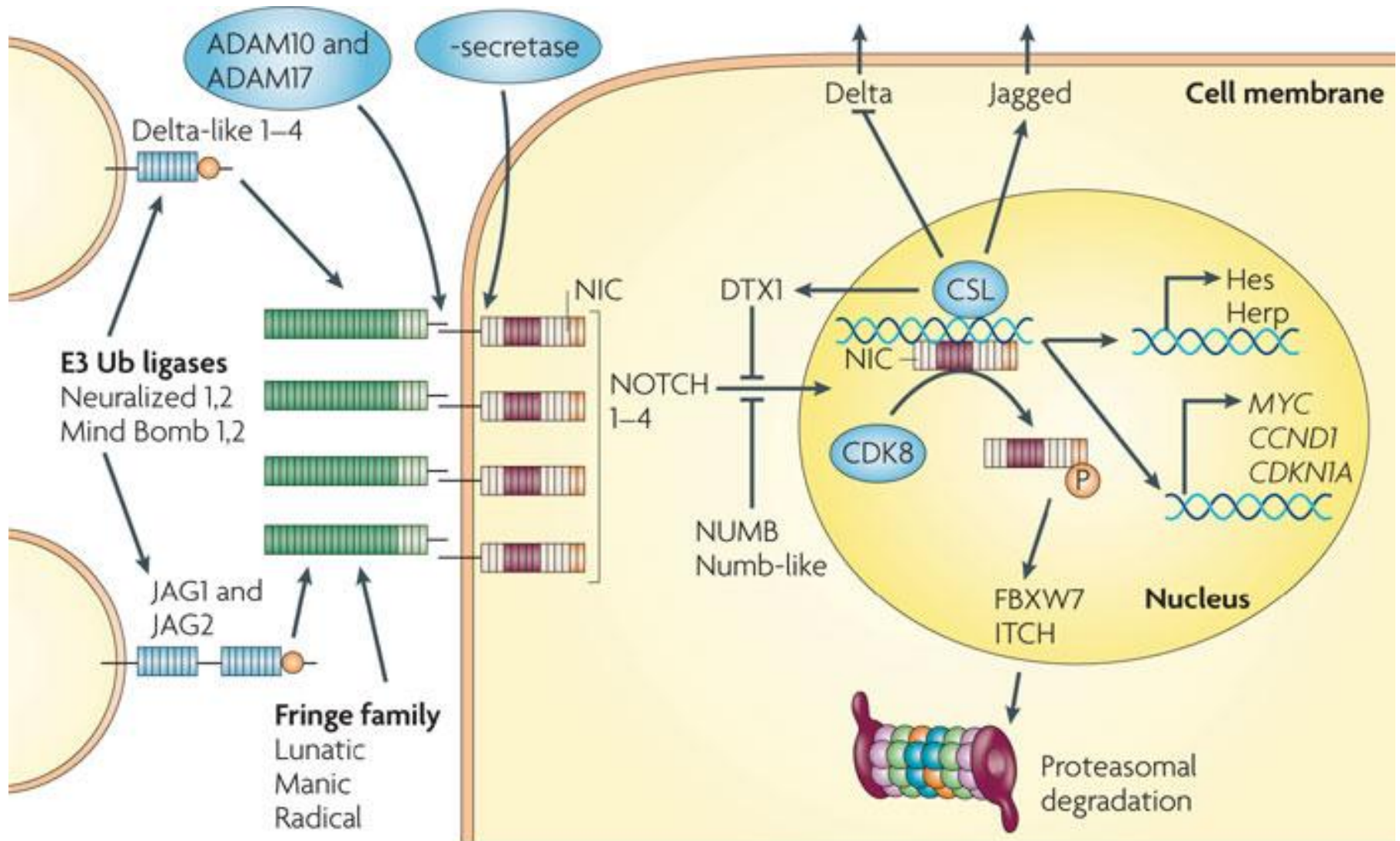


MAML-1

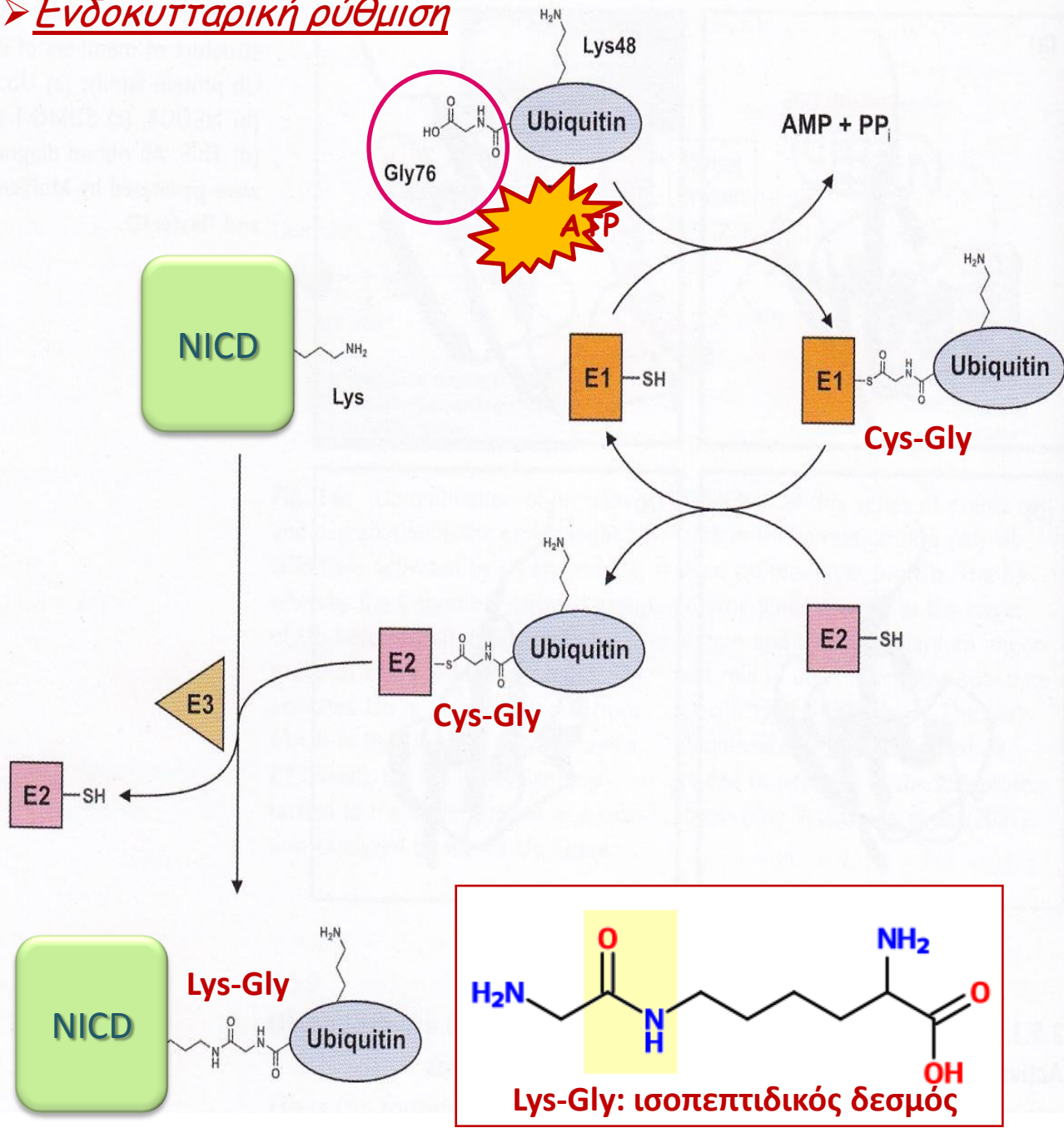


- Notch^{ICN} docks with CSL, a DNA-bound transcription factor.
- The CSL-Notch^{ICN} complex is recognized by an alpha-helical structure in the binding site of MAML1, a co-activator protein.
- Binding of MAML1 to the CSL-Notch^{ICN} complex initiates the expression of Notch-targeted genes

Ρύθμιση της σηματοδότησης Notch μέσω ουβικουιλίνωσης και γλυκοσυλίωσης



➤ Ενδοκυτταρική ρύθμιση

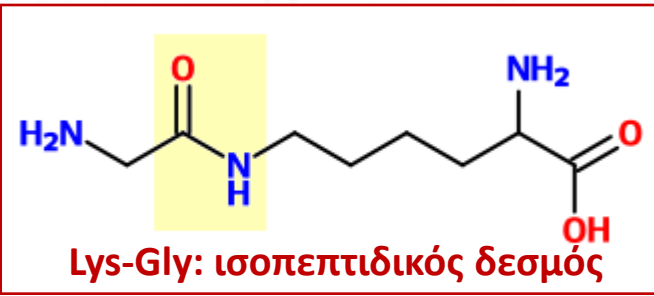


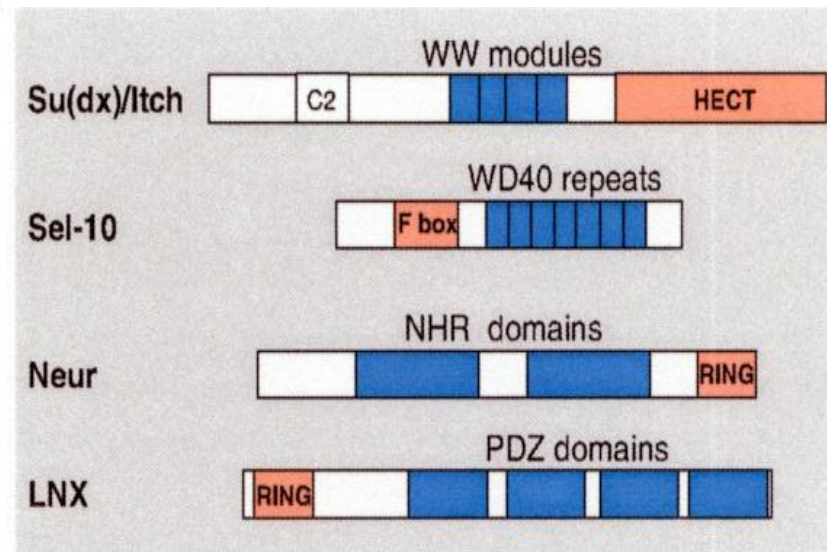
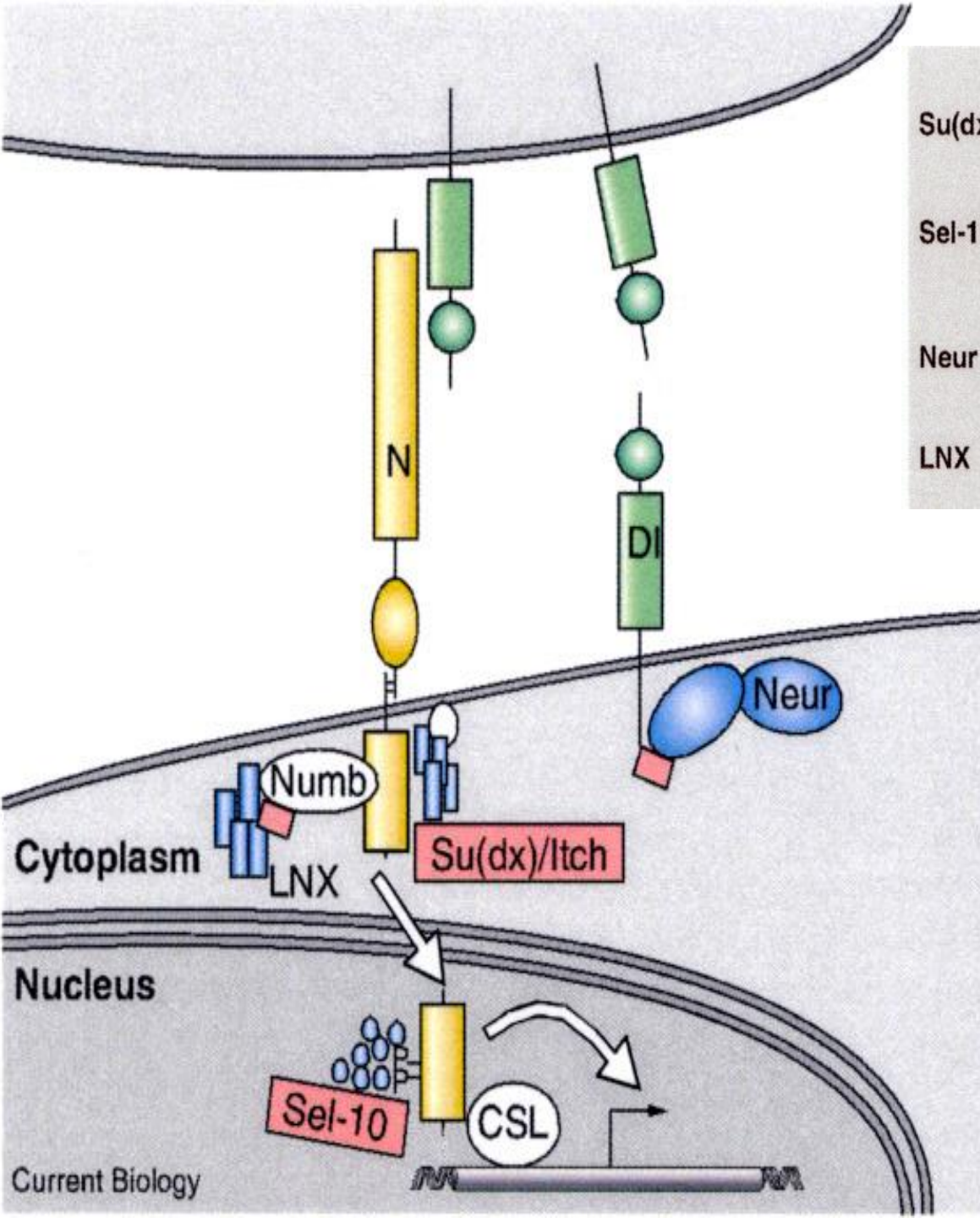
Ουβικουιλίνωση.

Το **E1**, το ένζυμο που ενεργοποιεί την ουβικουιλίνη, συνδέει την ουβικουιλίνη (UB) ως ένα πλούσιο σε ενέργεια θειοεστέρα μέσω ενός δεσμού Gly-Cys. Η αντίδραση απαιτεί την υδρόλυση ενός μορίου ATP.

Το **E2**, το ένζυμο σύζευξης της ουβικουιλίνης, προσλαμβάνει την ουβικουιλίνη από το E1, την συνδέει μέσω ενός πλούσιου σε ενέργεια δεσμού θειο-εστέρα, και στη συνέχεια την μεταφέρει στην πρωτεΐνη υπόστρωμα, όπου δημιουργείται ένας ισοπεπτιδικός δεσμός μεταξύ του καρβοξυτελικού του άκρου της γλυκίνης και της ε-αμινομάδας ενός καταλοίπου λυσίνης.

Η πρωτεΐνη υπόστρωμα μεταφέρεται από το **E3**, μια λιγάση της ουβικουιλίνης, που δρα ως προσαρμογέας ή πρωτεΐνη σκαλωσιά. Το E3 παίζει ένα ρόλο κλειδί καθώς καθιστά την ουβικουιλίνωση μια εξειδικευμένη αντίδραση και επιπλέον ρυθμίζεται από σήματα εισόδου.





Έχουν βρεθεί 4 πρωτεΐνες με δράση E3 λιγάσης, που έχουν σχέση με τη ρύθμιση του Notch signaling.

Με μπλε χρώμα είναι οι περιοχές που προσδίδουν την ιδιότητα αναγνώρισης - σύνδεσης του μορίου-στόχου (NICD) και με κόκκινο οι περιοχές που προσδίδουν την ιδιότητα E3 λιγάσης.

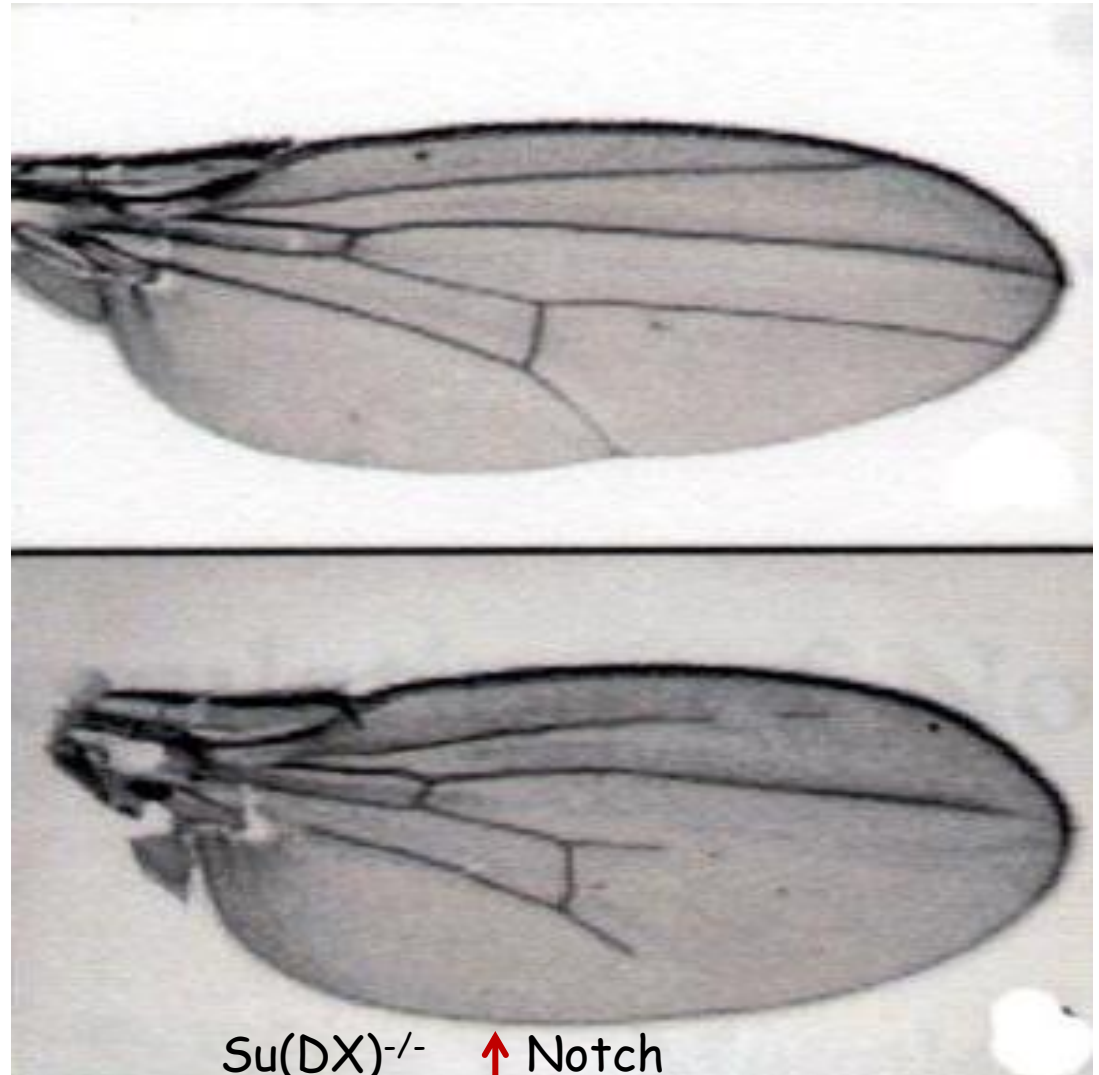
Από: *Eric C. Lai, Current Biology, 2002*

Suppressor of Deltex (*Drosophila*) / Itch (ποντίκια)

Συνδέονται στο NICD πριν αποκοπεί και το ουβικουιτινιώνουν

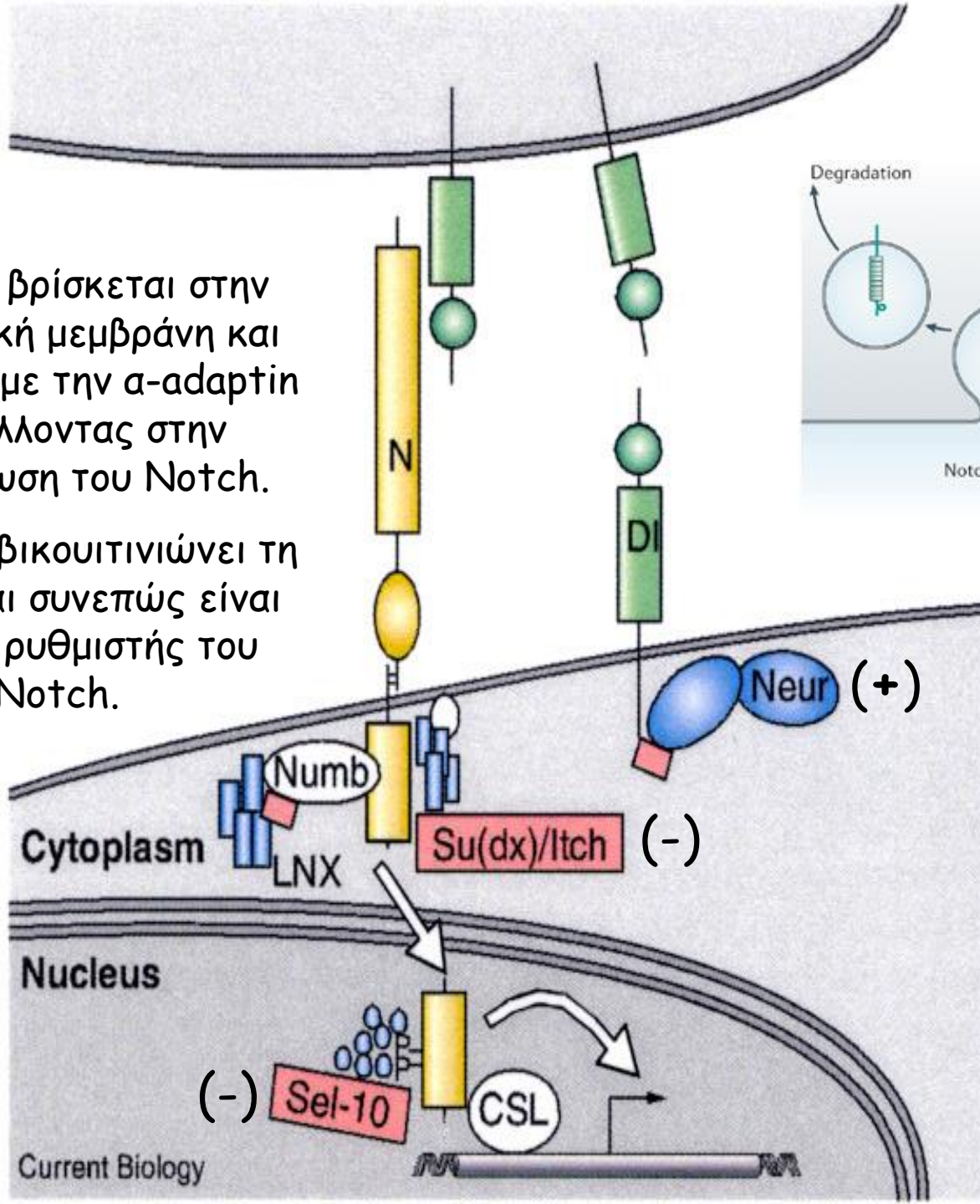
Φωτογραφία φτερού *Drosophila*.

Στην επάνω φωτογραφία, τα νεύρα στο φτερό της *Drosophila*, αναπτύσσονται κανονικά, ενώ στην κάτω φωτογραφία, υπάρχουν κενά στα νεύρα, λόγω της αρνητικής μετάλλαξης της *Suppressor of Deltex* και συνεπώς υπερδραστηριότητας του *Notch*.



Η **Numb** βρίσκεται στην πλασματική μεμβράνη και συνδέεται με την α -adaptin συμβάλλοντας στην ενδοκύτωση του Notch.

Η **LNX** ουβικουιτινιώνει τη Numb, και συνεπώς είναι θετικός ρυθμιστής του Notch.

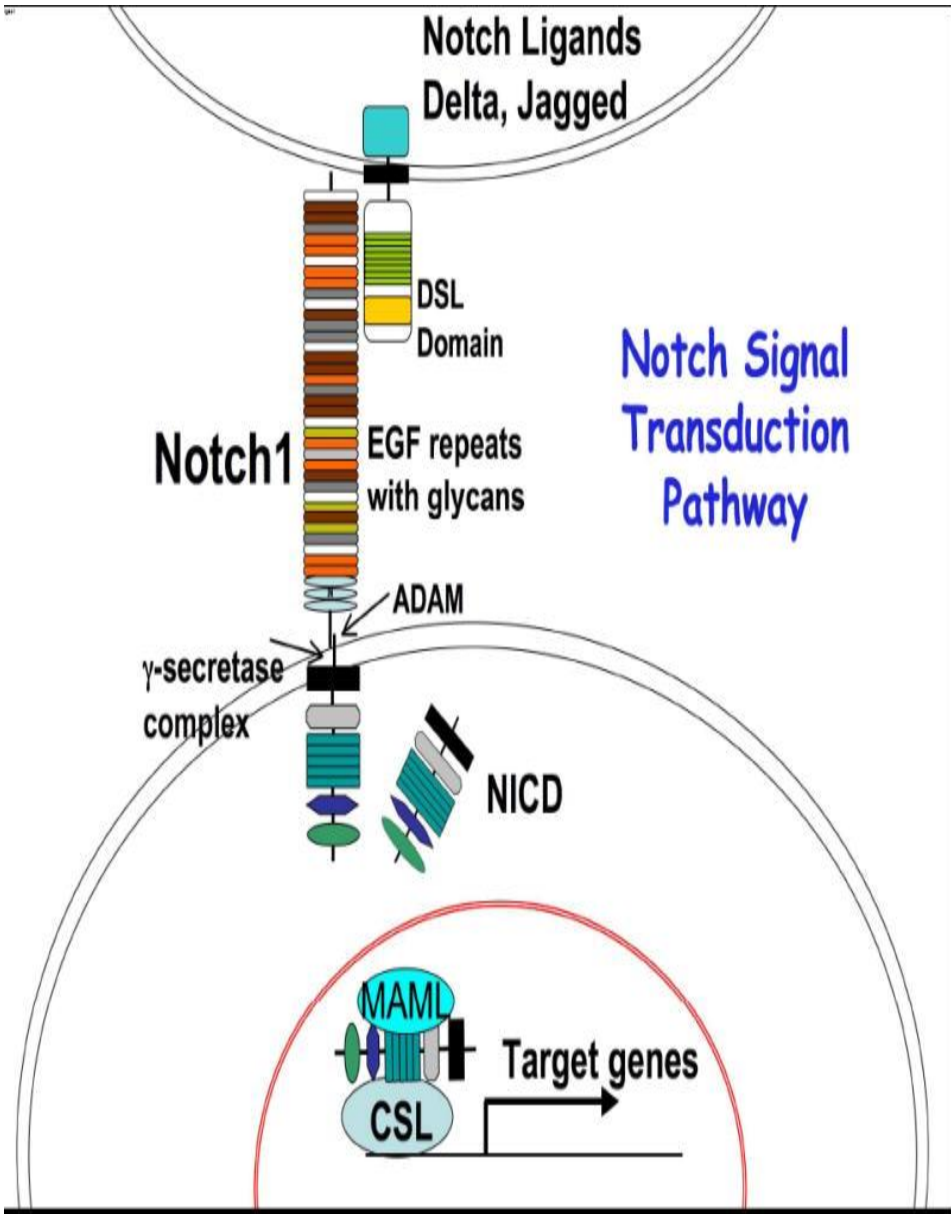


Η **Neur** βρίσκεται στην πλασματική μεμβράνη και δεν αλληλεπιδρά άμεσα με τον Notch, αλλά ουβικουιτινιώνει άλλες πρωτεΐνες, οι οποίες συμμετέχουν στη λειτουργία του.

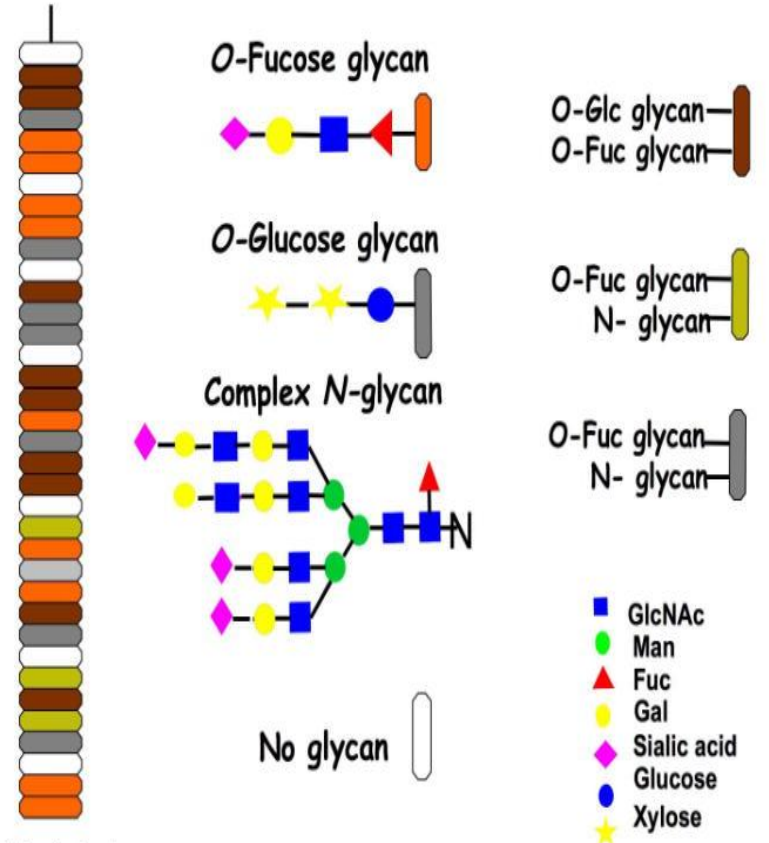
➤ Εξωκυτταρική ρύθμιση

Η εξωκυτταρική ρύθμιση της σηματοδότησης μέσω Notch γίνεται στο μεγαλύτερο ποσοστό της με γλυκοσυλίωση του Notch υποδοχέα από την πρωτεΐνη **Fringe**.

Πρόσφατα βρέθηκε ότι και μια άλλη πρωτεΐνη, η **Scabrous**, συμμετέχει στην εξωκυτταρική ρύθμιση με διάφορους μηχανισμούς.

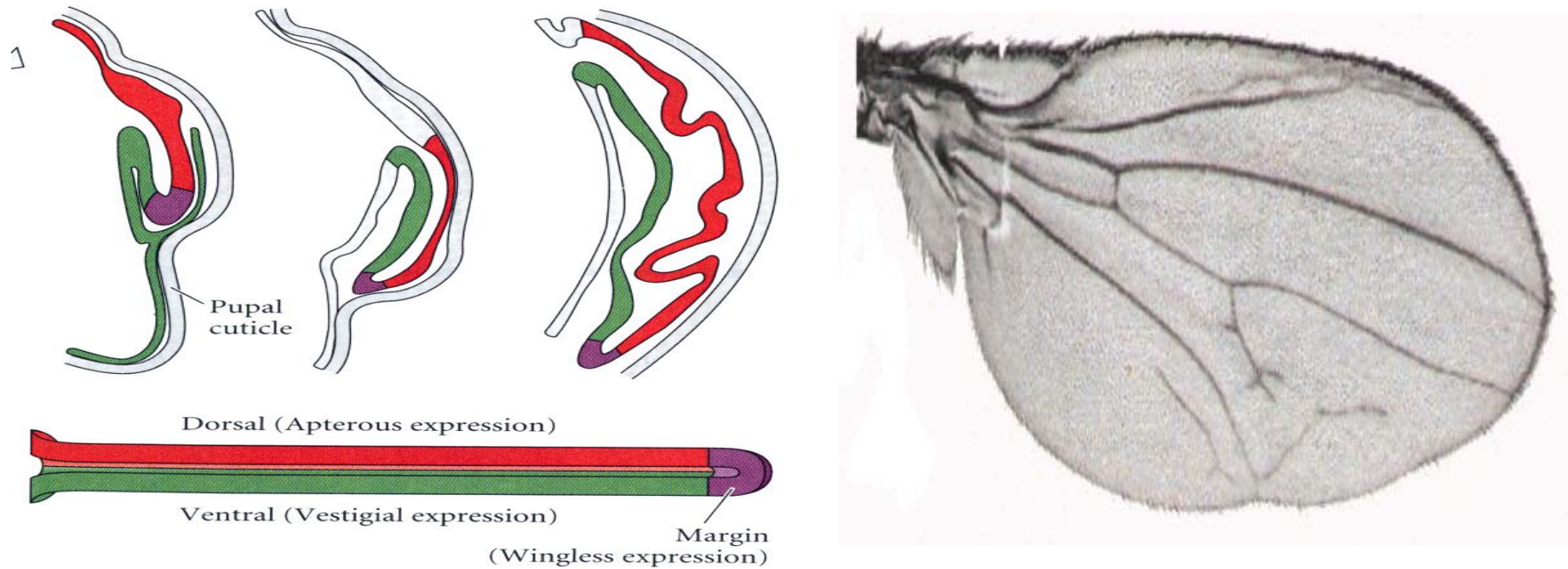


Glycans of Mammalian Notch1 EGF Repeats



Notch1 EGF repeats

Fringe: δημιουργία ορίων (boundary formation)

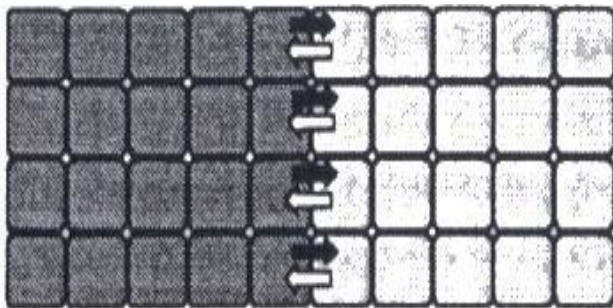


(α) Σχηματική απεικόνιση κυττάρων αναπτυσσόμενου φτερού της *Drosophila*
Με πράσινο είναι τα κύτταρα που θα δημιουργήσουν την κοιλιακή (dorsal) πλευρά του φτερού, με κόκκινο την ραχιαία (ventral) και με μοβ την οριακή (margin) περιοχή.

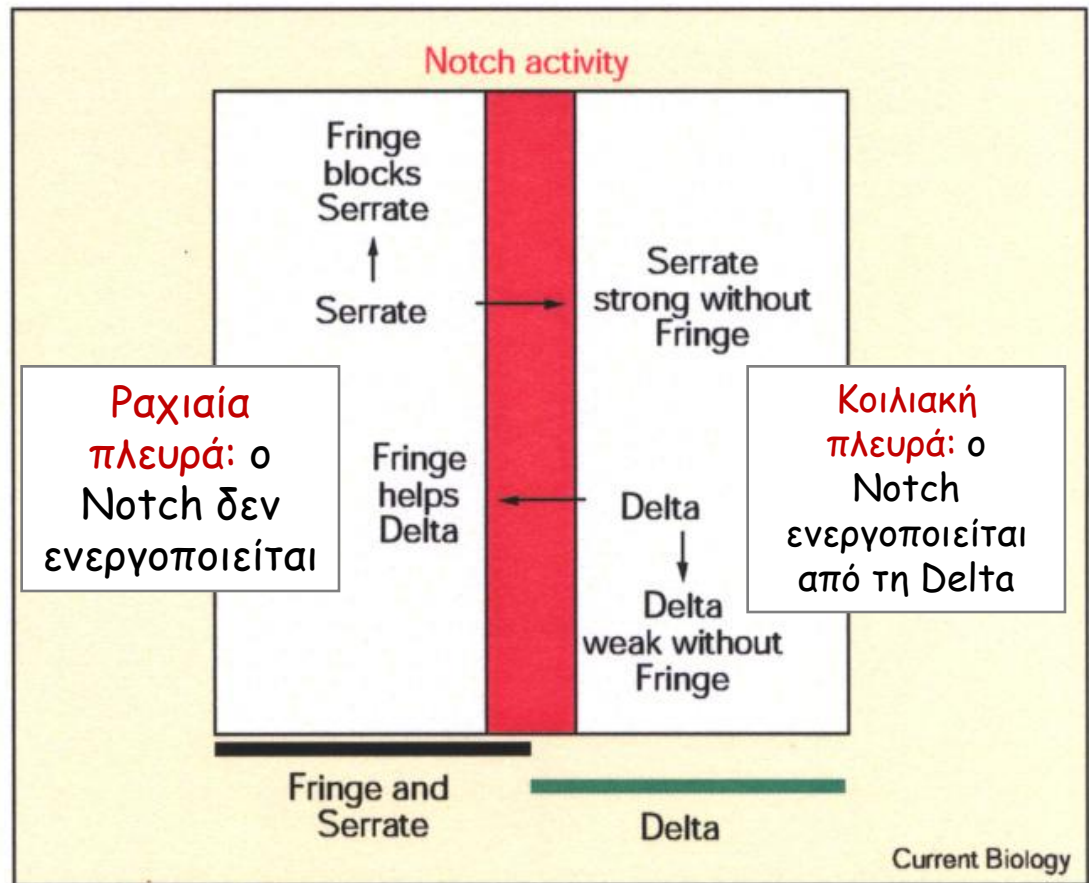
(β) Φωτογραφία αναπτυσσόμενου φτερού της *Drosophila*: Η επίδραση της Fringe στα κύτταρα των φτερών της *Drosophila* έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία οριακής περιοχής μεταξύ των κοιλιακών και των ραχιαίων κυττάρων, στην οποία τα κύτταρα έχουν τριχίδια (fringe - φράντζα).

Fringe: εμποδίζει τη σύνδεση της Serrate ενώ διευκολύνει τη σύνδεση της Delta

Ραχιαία (Fringe) - Κοιλιακά
Serrate - Delta



Boundary formation

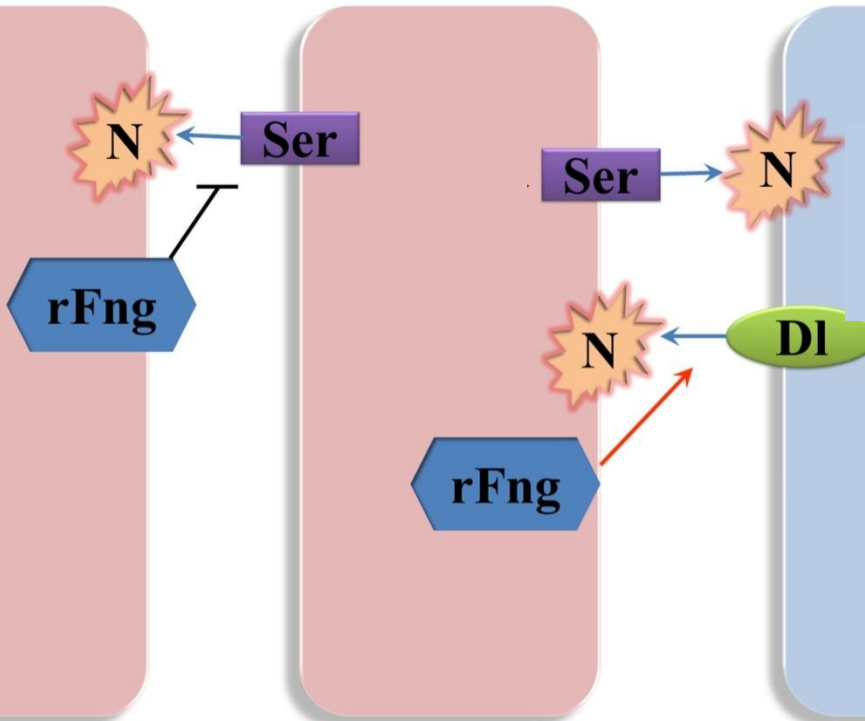


Σχηματική απεικόνιση ραχιαίας, κοιλιακής και οριακής περιοχής

α: Τα βελάκια δηλώνουν ότι στα οριακά ραχιαία κύτταρα ο Notch υποδοχέας ενεργοποιείται από την Delta των γειτονικών, οριακών, κοιλιακών κυττάρων και στα οριακά κοιλιακά κύτταρα ο Notch ενεργοποιείται από την Serrate των γειτονικών, οριακών, ραχιαίων κυττάρων. Στα υπόλοιπα ραχιαία ο Notch δεν ενεργοποιείται, ενώ στα κοιλιακά ενεργοποιείται μερικώς από τη Delta.

β: Η Fringe και η Serrate εκφράζονται στη ραχιαία πλευρά, ενώ η Delta μόνο στην κοιλιακή και ο Notch και στις δύο. Με κόκκινο χρώμα είναι η οριακή περιοχή που σχηματίζεται λόγω της δράσης της Fringe.

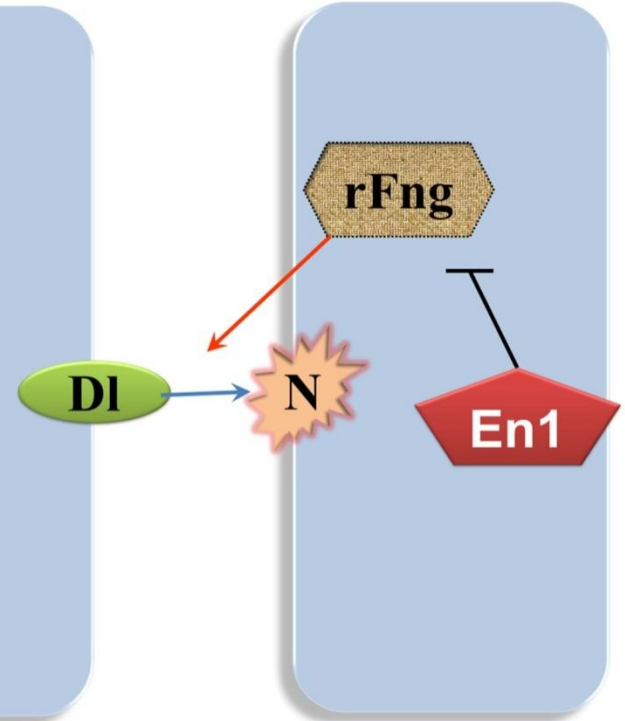
Dorsal Cells



Serrate to Notch signaling is inhibited by Fringe

Fringe enhances Delta to Notch signaling

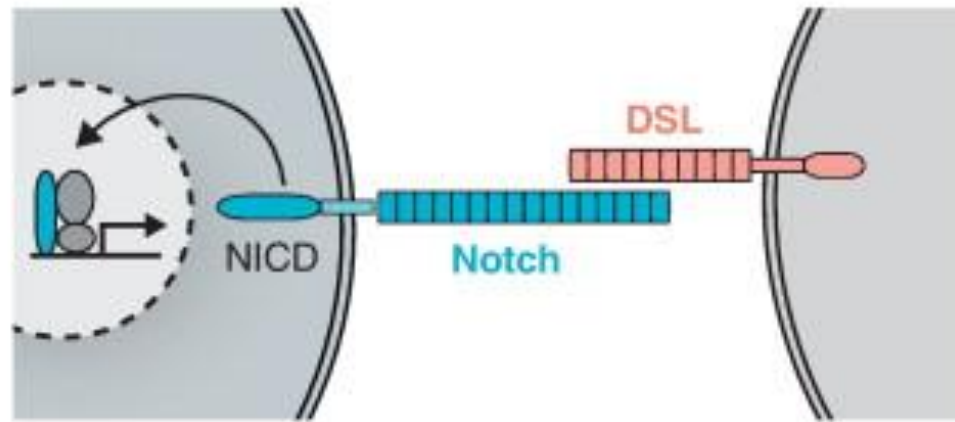
Ventral cells



Serrate to notch signaling occurs uninhibited due to absence of Fringe

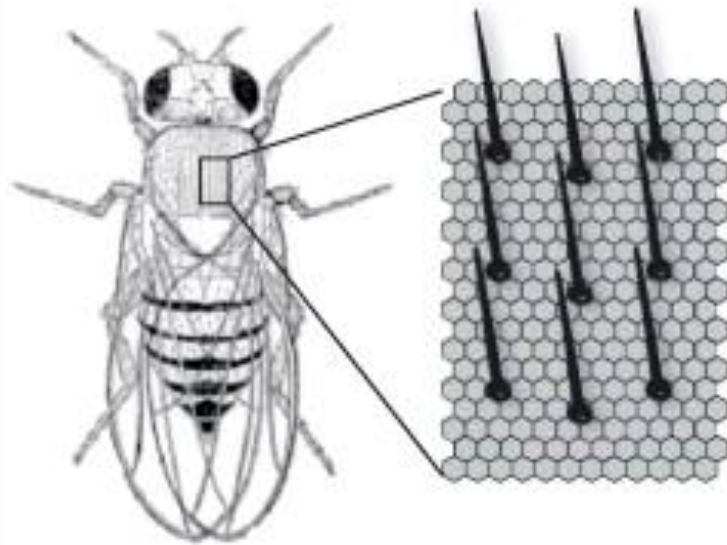
Delta to notch weak due to absence of Fringe

(a)



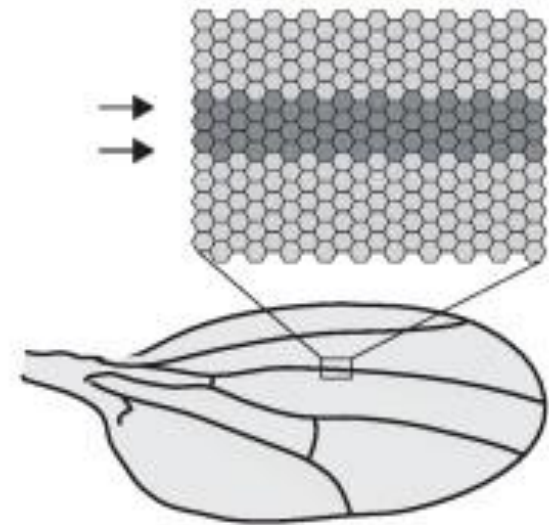
(b)

lateral inhibition

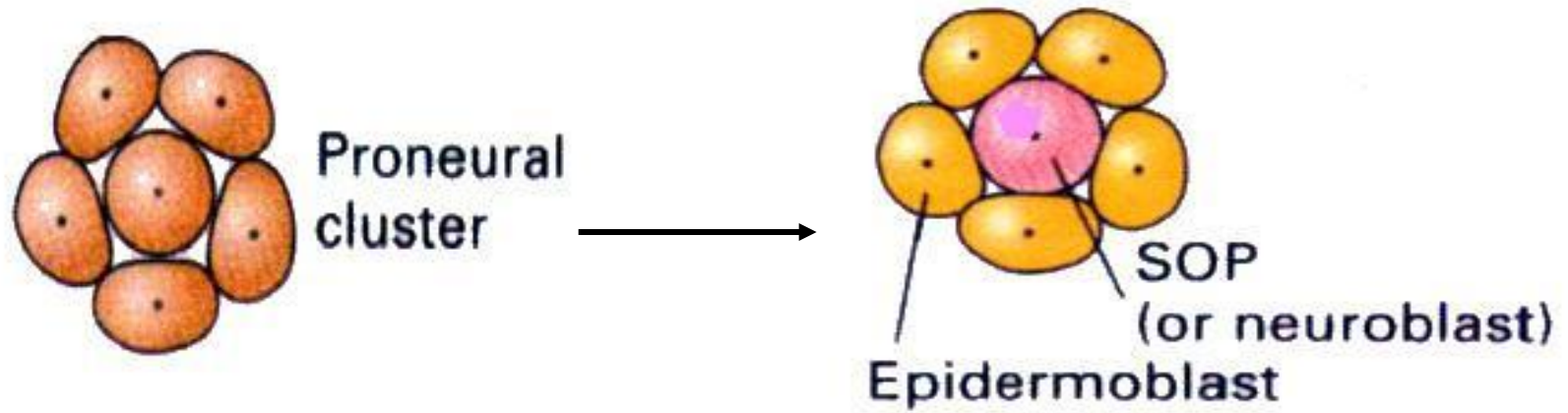


(c)

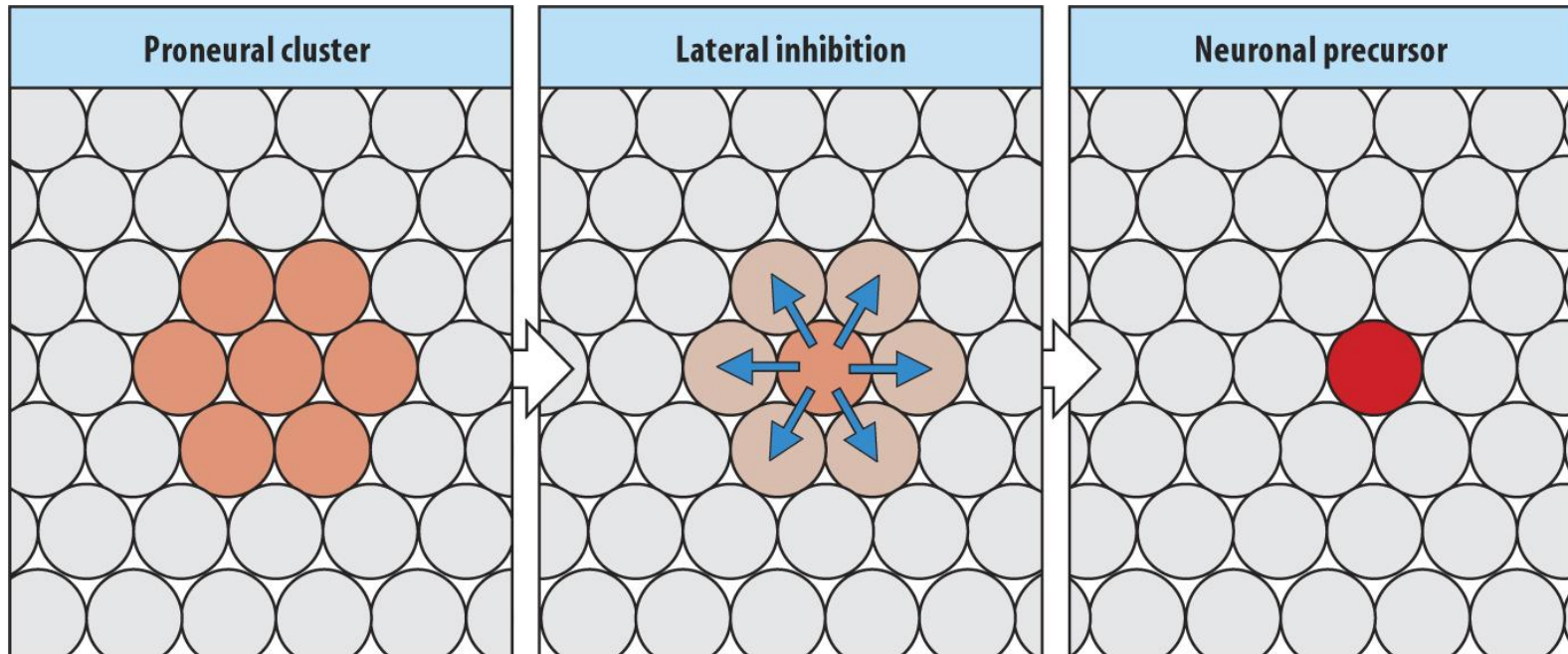
boundary formation

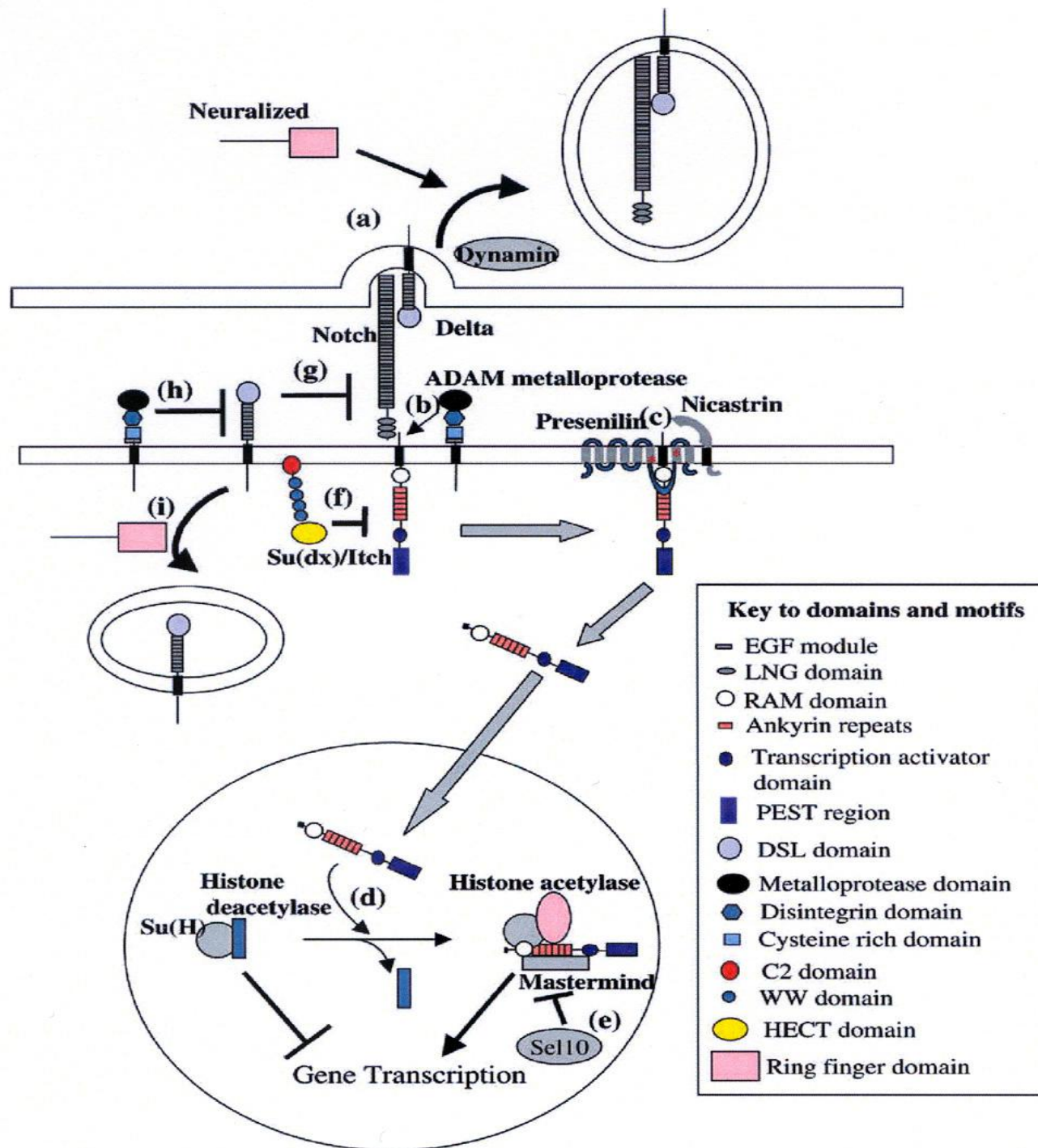


Lateral inhibition: πλευρική παρεμπόδιση



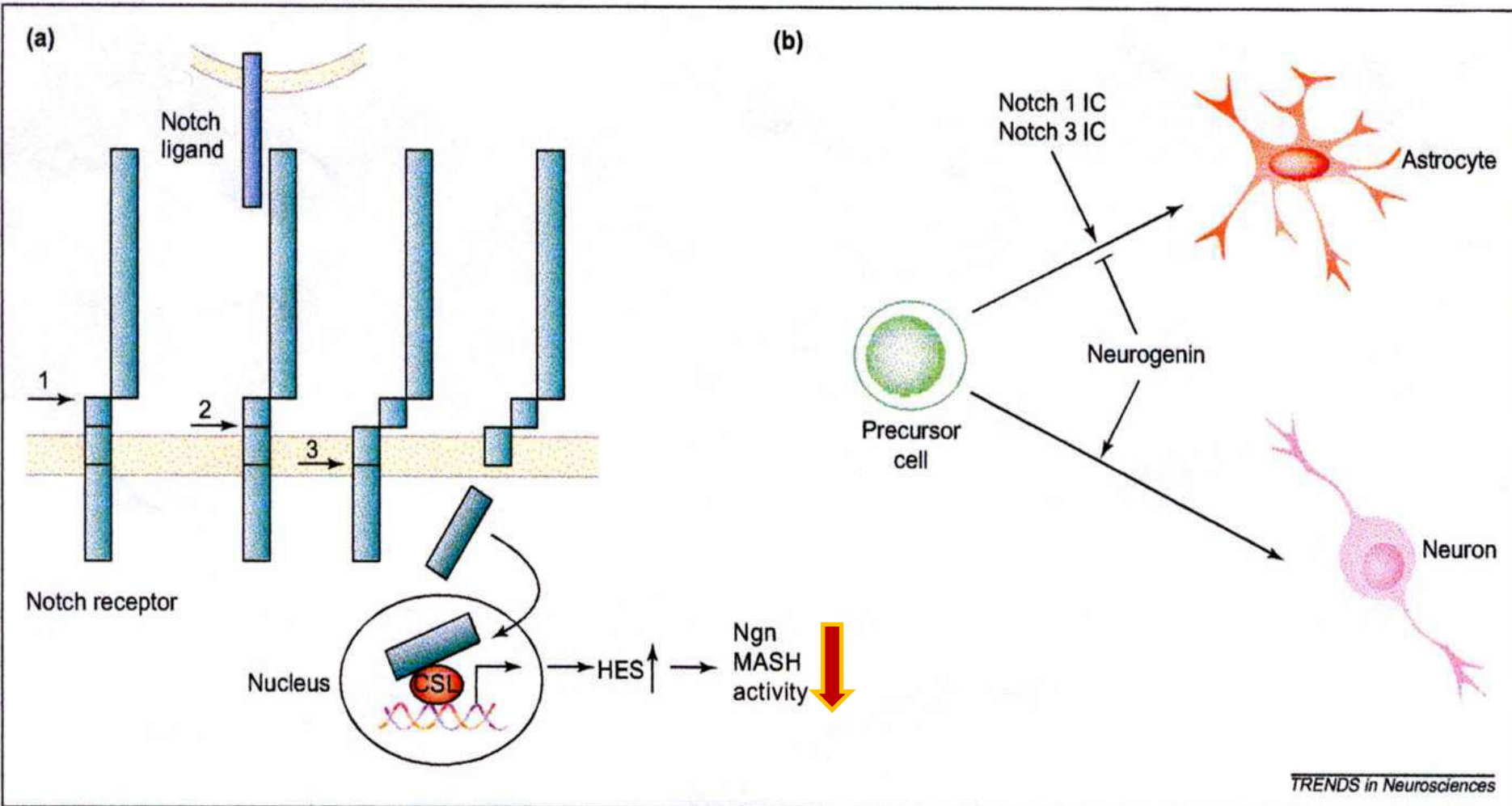
Κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης εμφανίζονται ομάδες κυττάρων, οι οποίες έχουν ένα κοινό αναπτυξιακό - νευρωνικό- δυναμικό (proneural cluster), ωστόσο ορισμένα μόνο κύτταρα από την ομάδα υιοθετούν αυτή τη δυναμική. Αυτά που υιοθετούν την νευρωνική μοίρα καταστέλλουν την ίδια μοίρα στα υπόλοιπα.

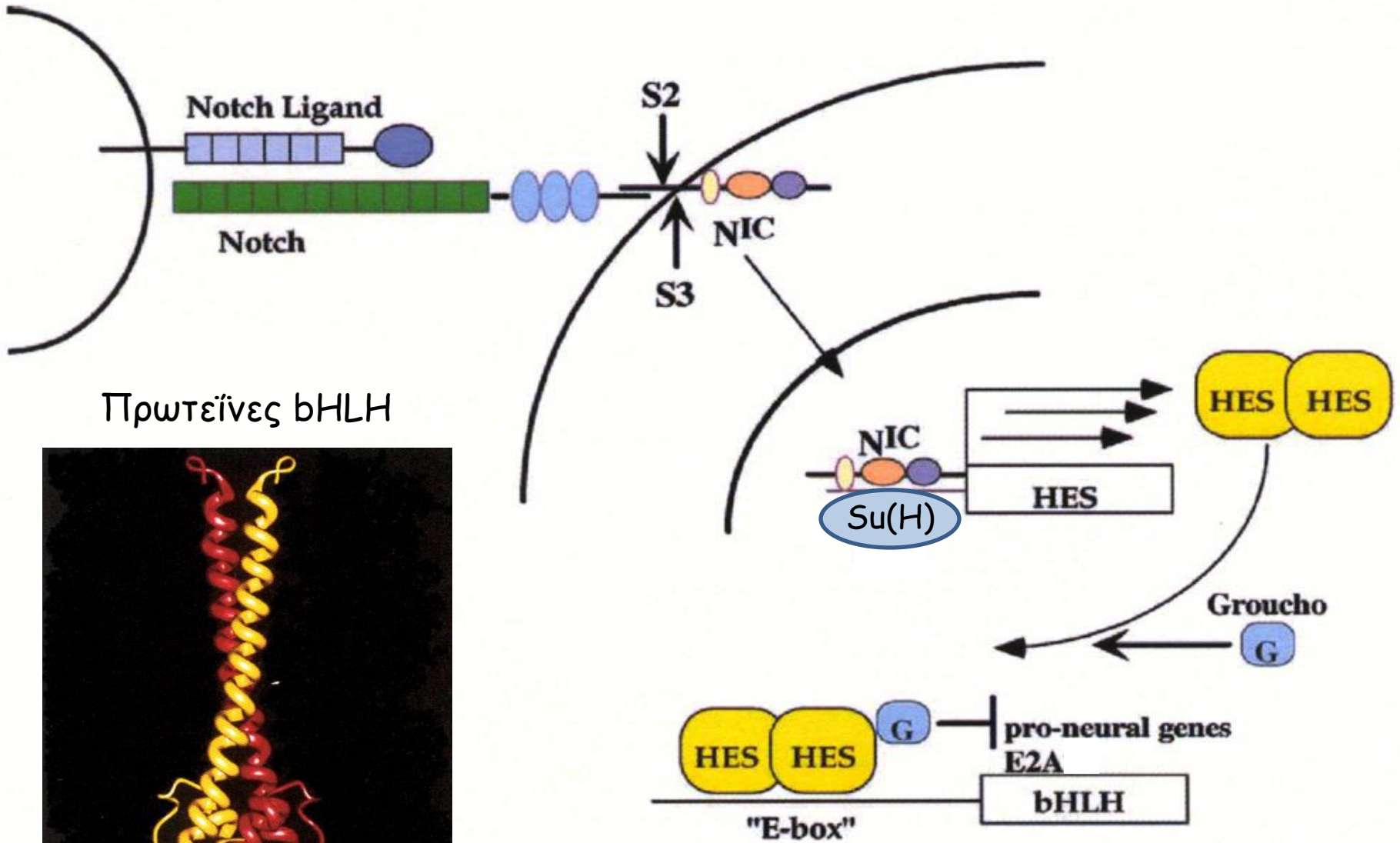




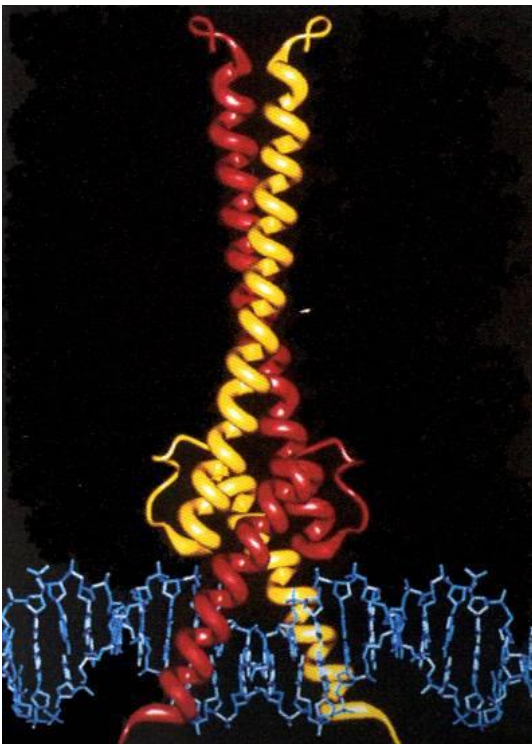
Notch και γένεση αστροκυττάρων

Εισάγοντας την ενδοκυτταρική περιοχή του Notch σε εμβρυικά εγκεφαλικά κύτταρα ποντικού 9^{ης} μέρας, τα κύτταρα που τελικά δέχονται το NICD του Notch διαφοροποιούνται σε γλοιακά.

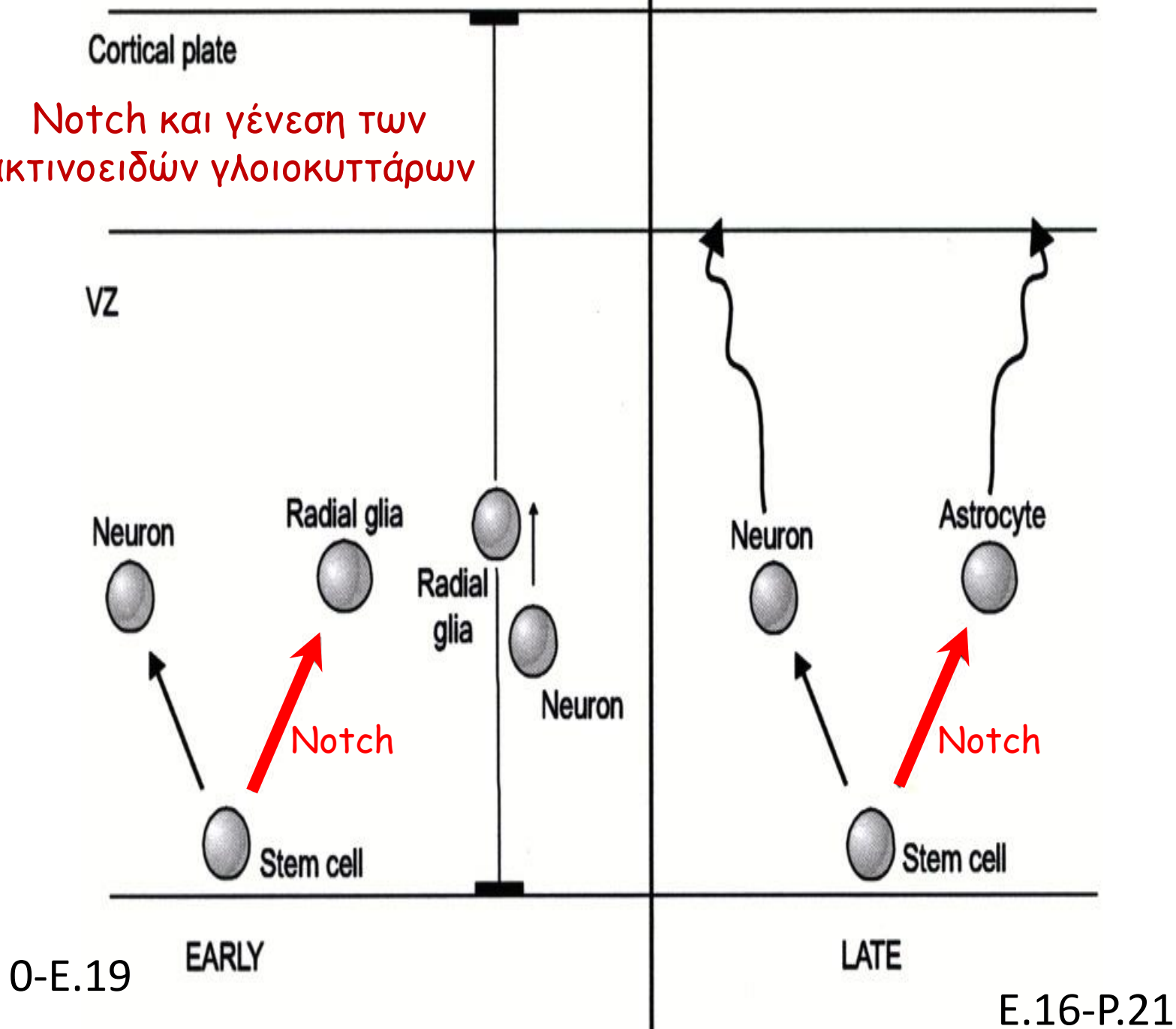




Πρωτεΐνες bHLH

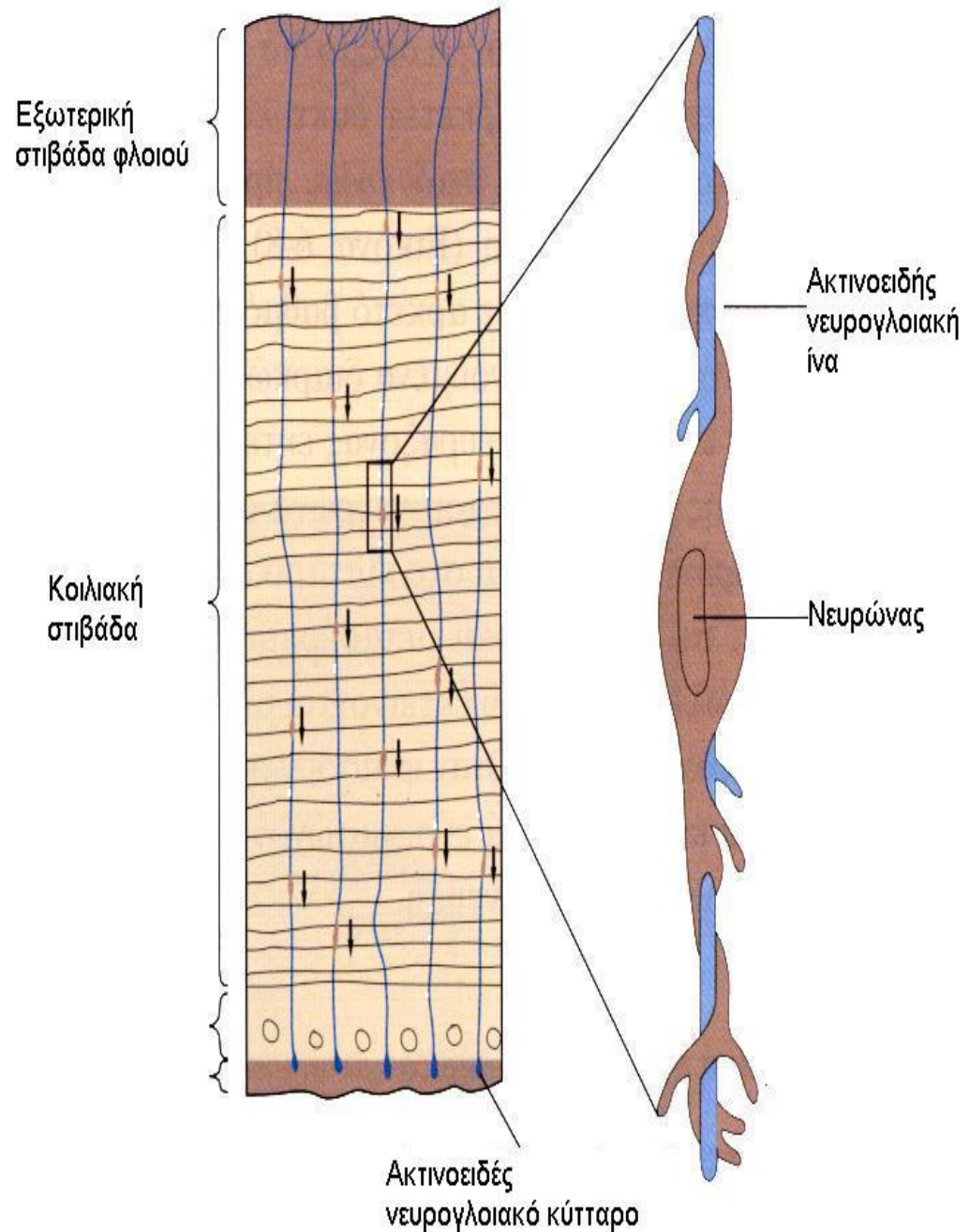


Notch και γένεση των ακτινοειδών γλοιοκυττάρων

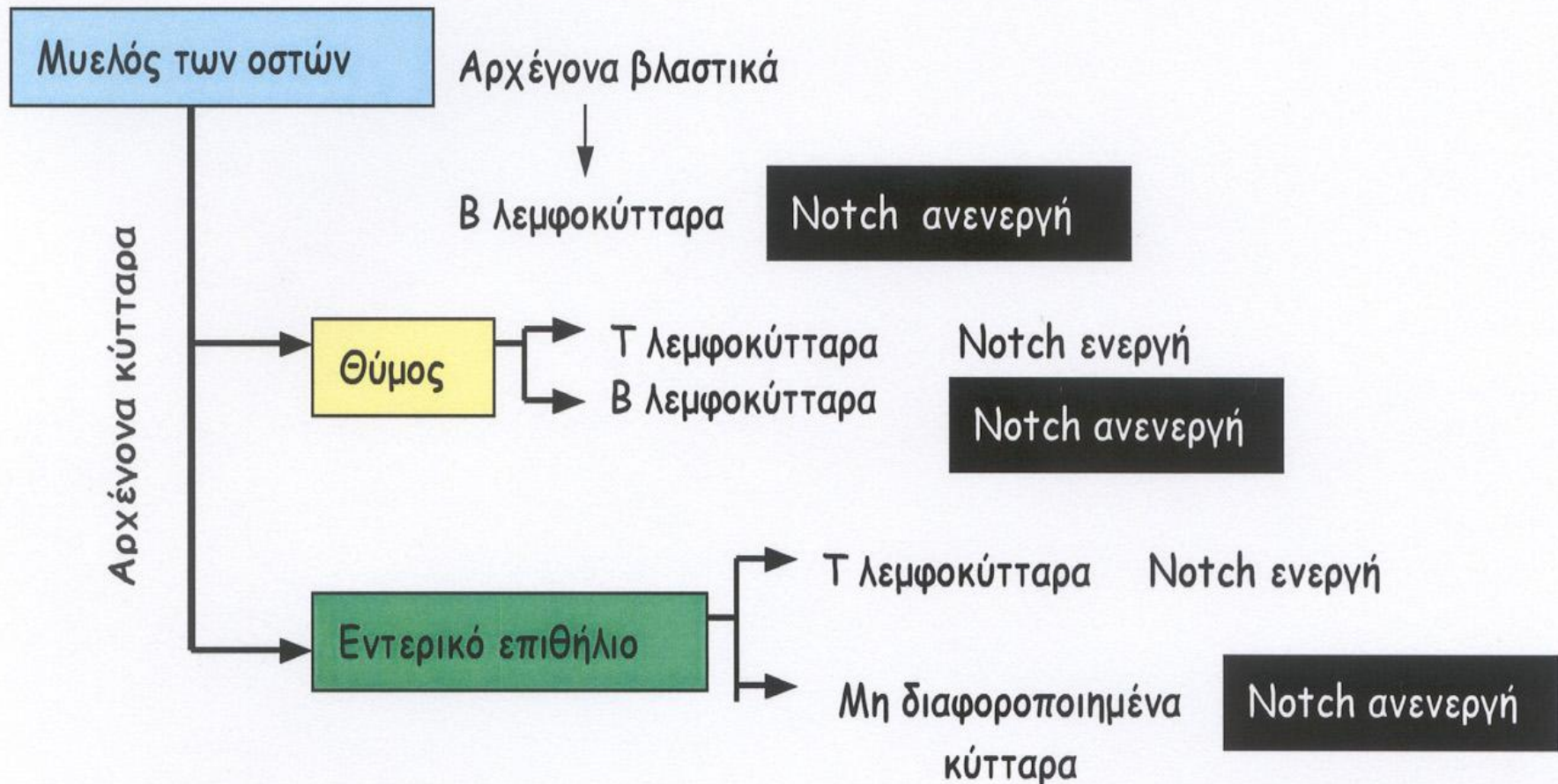


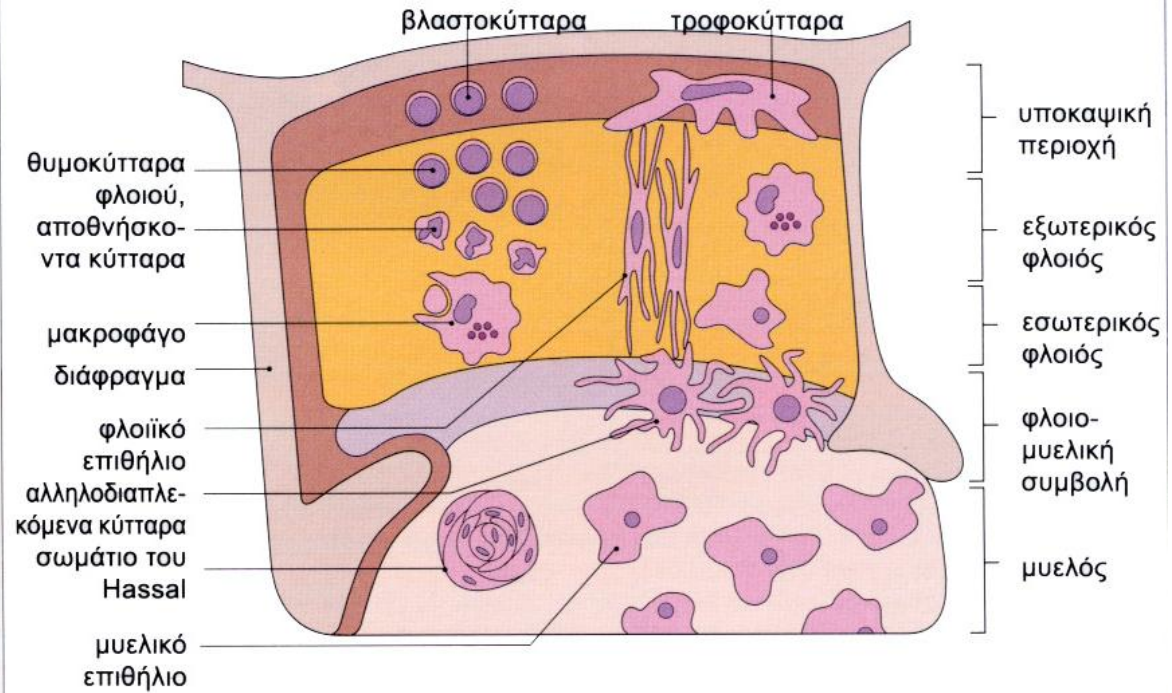
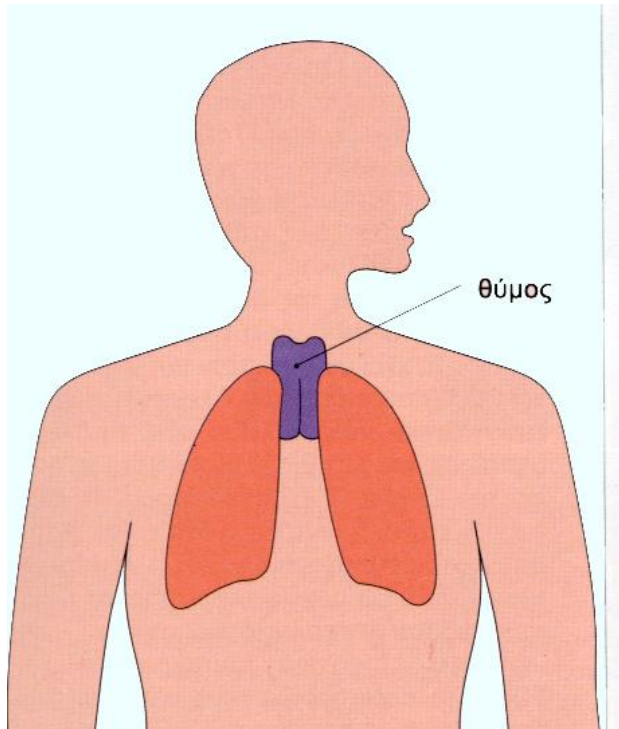
Σε μία τομή του εγκεφαλικού φλοιού διακρίνονται οι δύο στιβάδες: η κοιλιακή και η εξωτερική.

Σε μεγέθυνση φαίνεται ένα ακτινοειδές γλοιοκύτταρο (μπλε), το οποίο χρησιμεύει ως σκαλωσιά για την μετακίνηση του νευρώνα από τη μία στιβάδα στην άλλη.



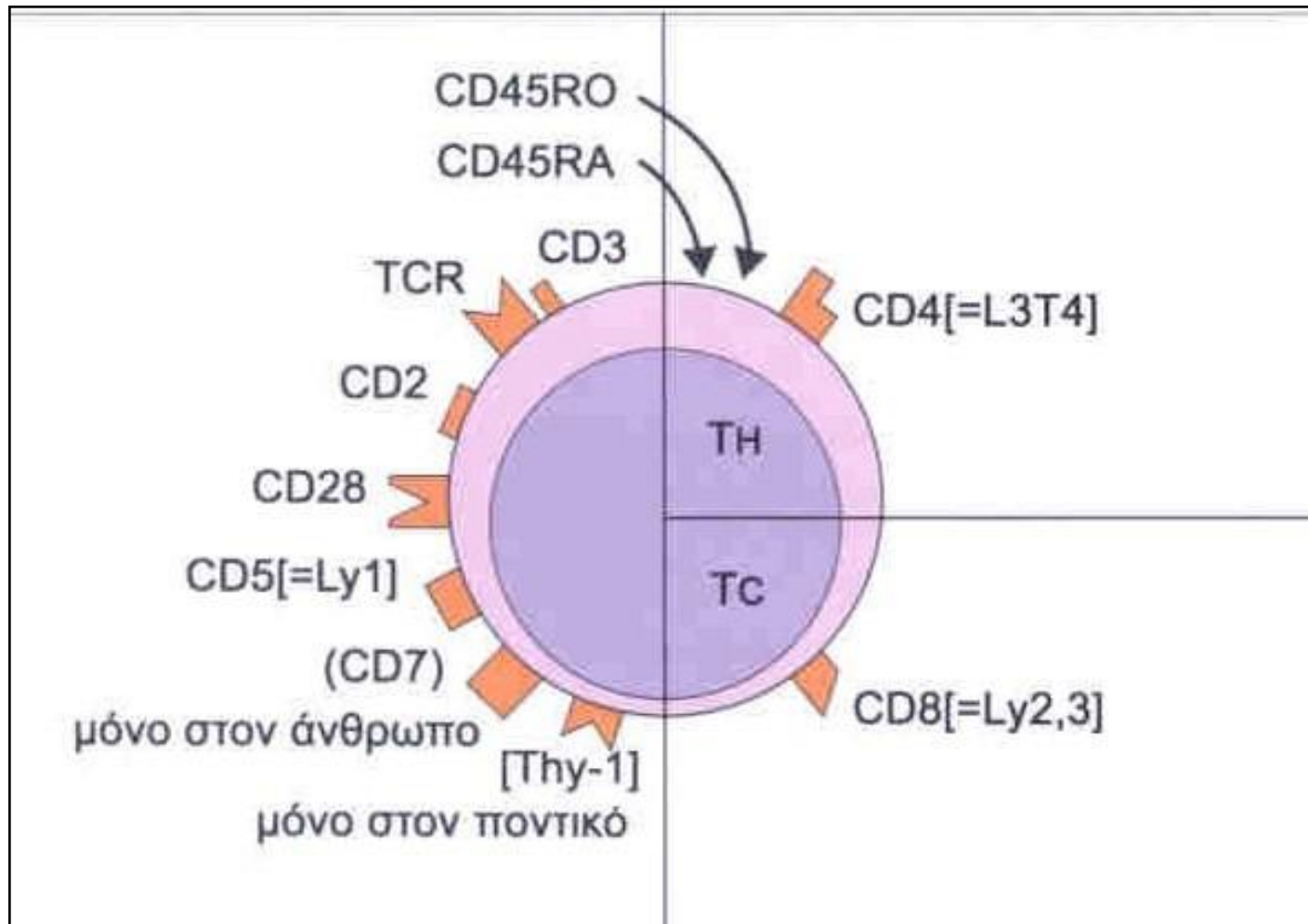
Οι υποδοχείς Notch ελέγχουν τη μοίρα των λεμφοκυττάρων, προωθώντας τη διαφοροποίηση των αρχέγονων βλαστικών κυττάρων σε Τ λεμφοκύτταρα, εμποδίζοντας την ανάπτυξή τους σε Β λεμφοκύτταρα

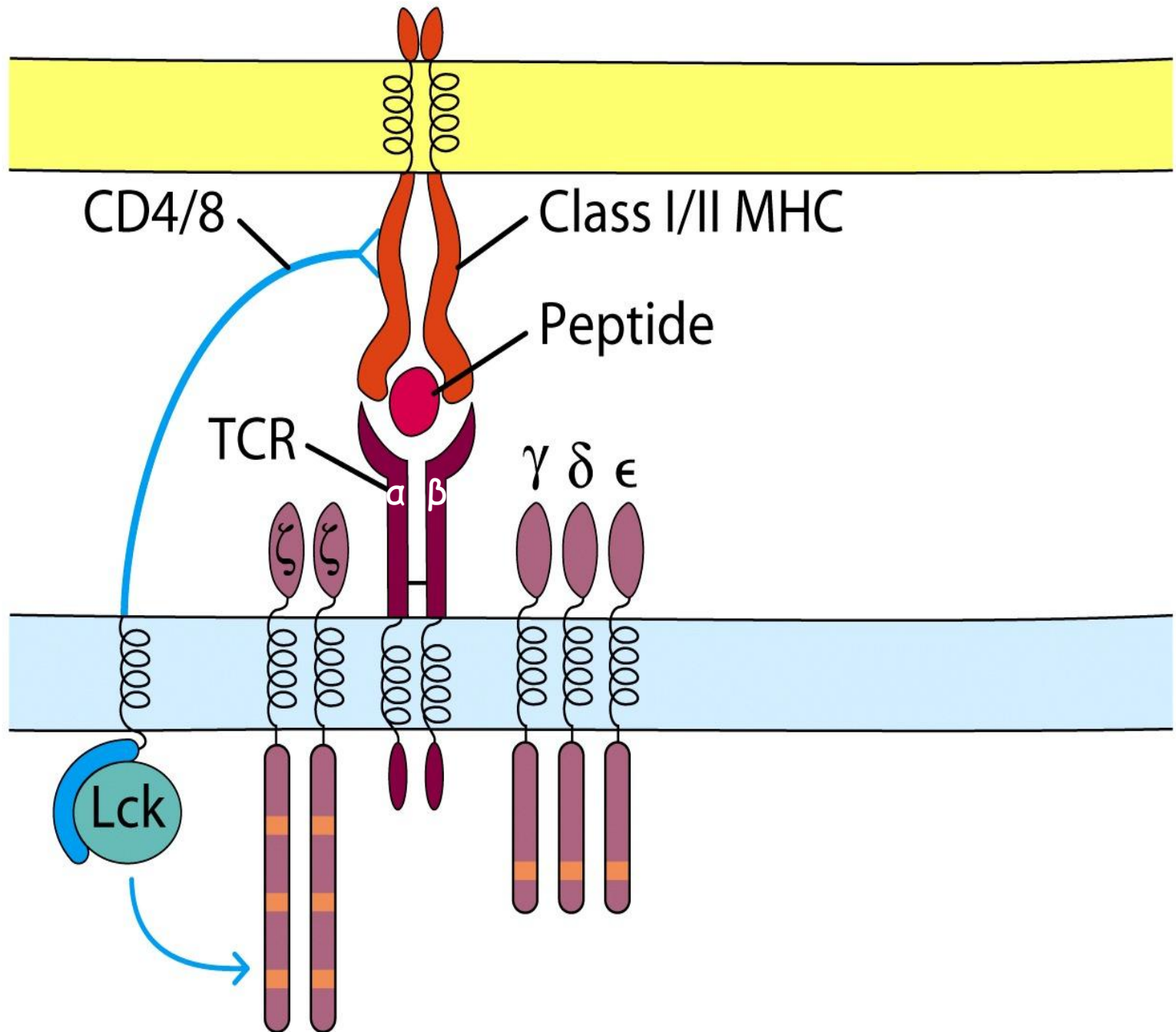


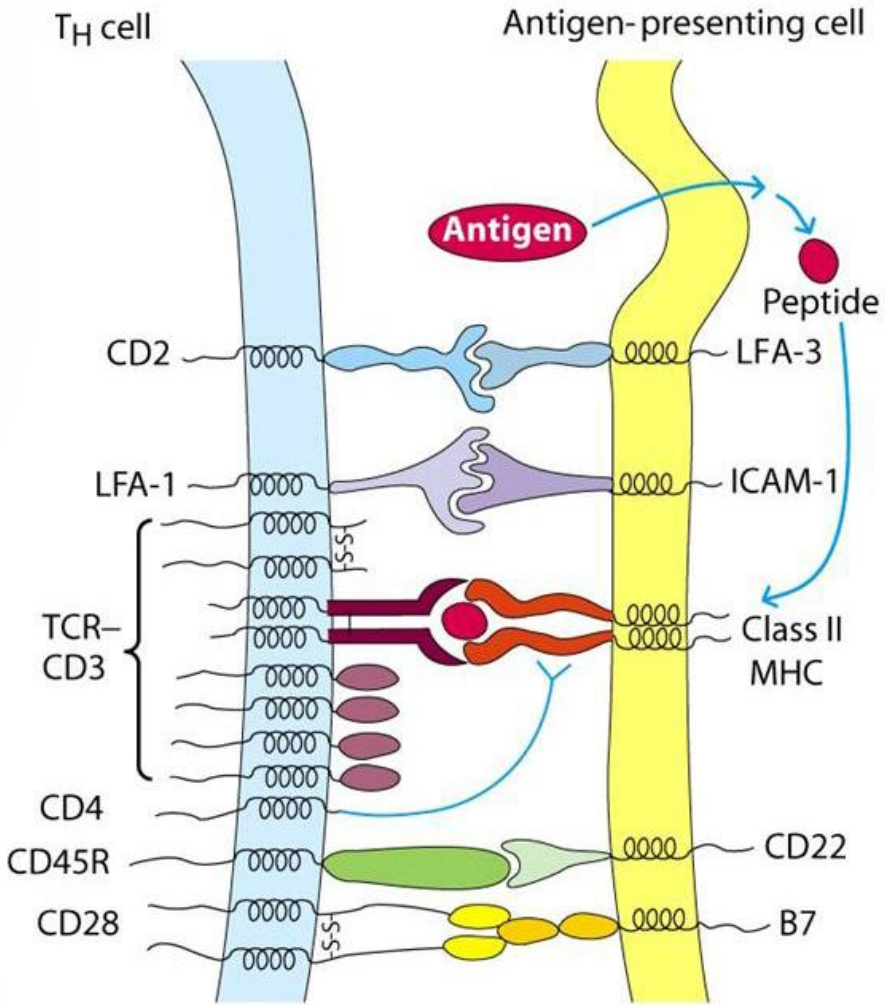


Τα αρχέγονα λεμφοκύτταρα μπαίνουν στο θύμο αδένα στο σημείο της ένωσης του φλοιού με το μυελό του θύμου (φλοιομυελική συμβολή) και ξεκινούν την πορεία τους προς την ωρίμανση. Το 90% των αναπτυσσόμενων λεμφοκυττάρων βρίσκονται στο φλοιό, ενώ τα υπόλοιπα στον μυελό.

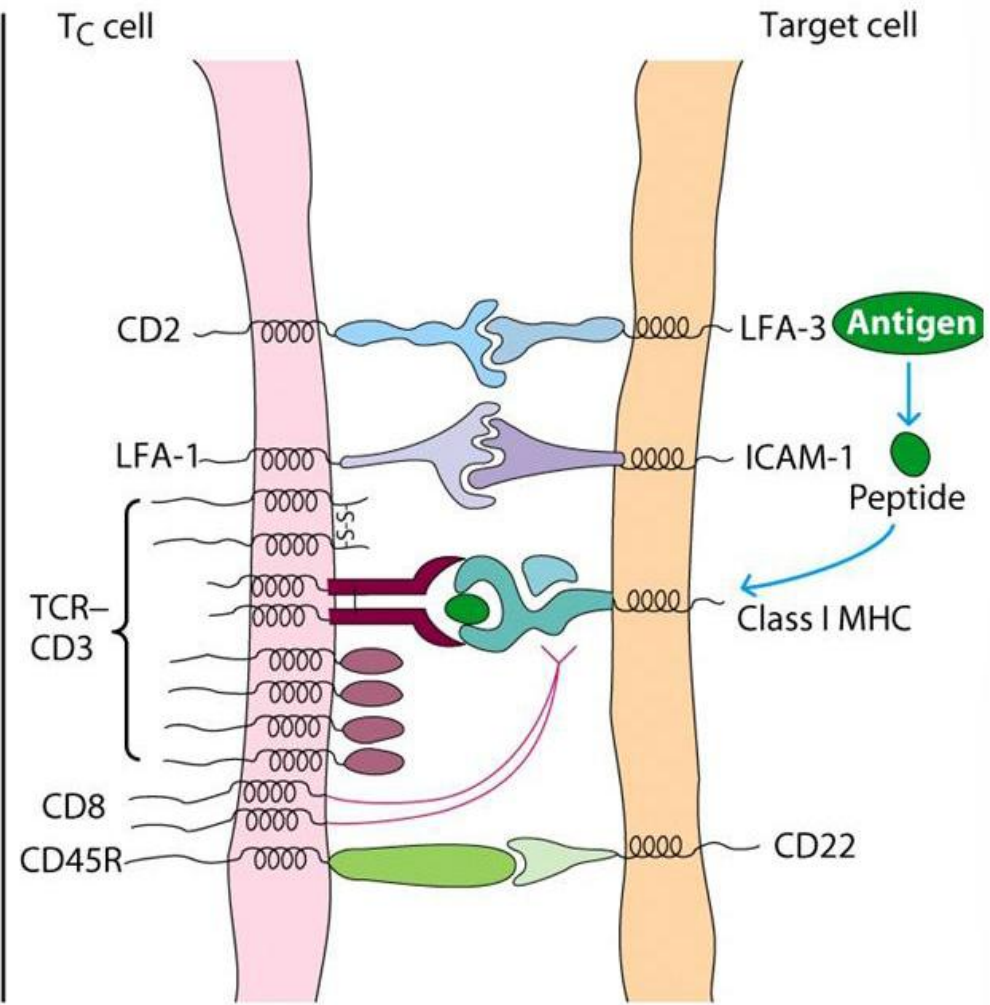
Η ωρίμανση των λεμφοκυττάρων, αρχίζει από τη στιγμή που ξεκινούν να μεταγράφουν ορισμένους πρωτεϊνικούς υποδοχείς της πλασματικής μεμβράνης (CD45RO, CD45RA, CD3, CD2, TCR), οι οποίοι αναγνωρίζουν διάφορους τύπους αντιγόνων και χαρακτηρίζουν τα Τ λεμφοκύτταρα





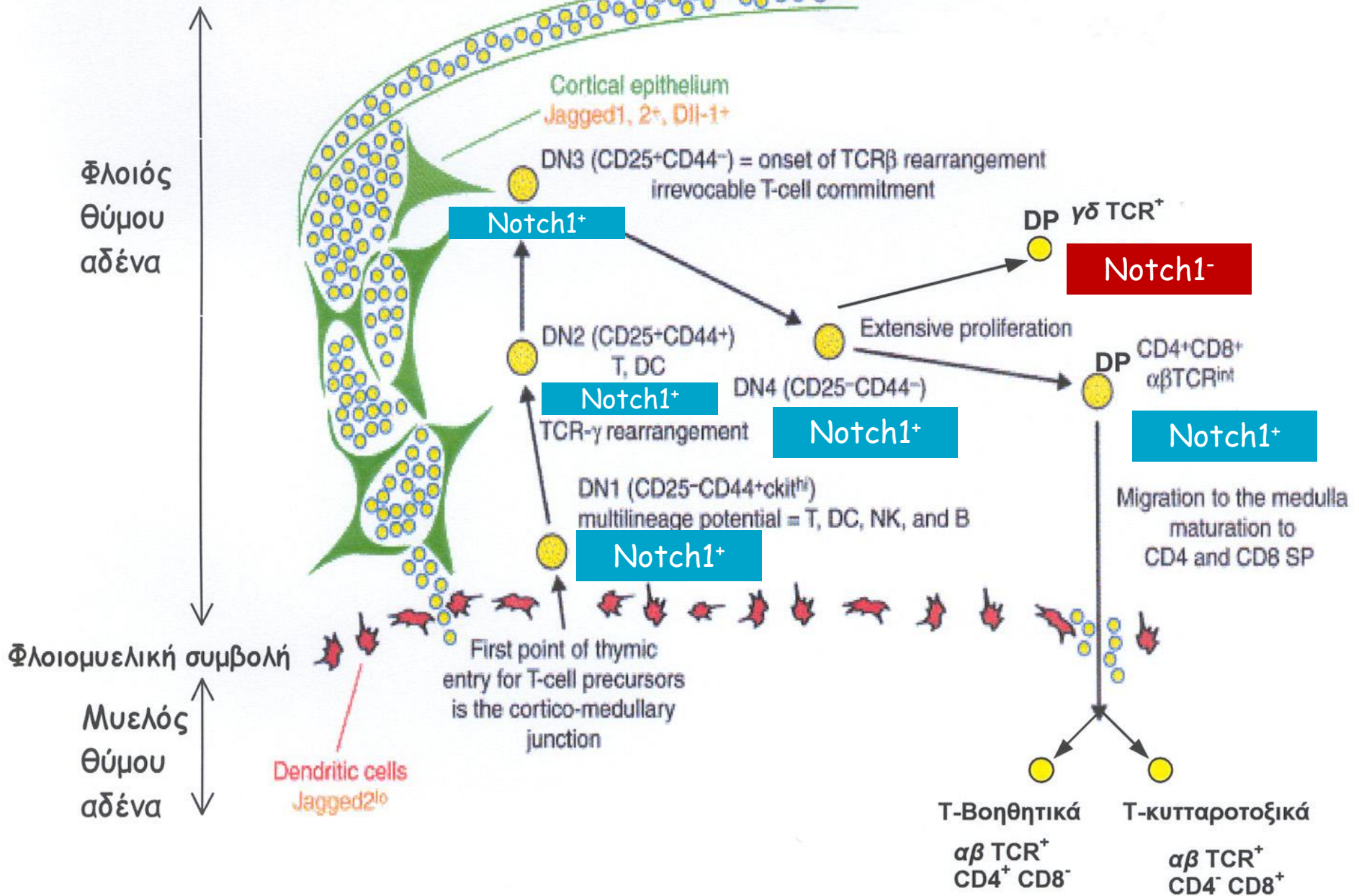


T_H βοηθητικά



T_C κυτταροτοξικά

Τα ανώριμα Τ λεμφοκύτταρα περνούν από πέντε στάδια (DN1, DN2, DN3, DN4, DP) μέχρι να καταλήξουν στην τελική τους μορφή (SP).



Σύνδρομο CADASIL: αρτηριοπάθεια

Συνδέεται με μεταλλάξεις του γονιδίου Notch 3 στο χρωμόσωμα 19p13:
Το προϊόν είναι ο μη λειτουργικός υποδοχέας Notch ο οποίος εκφράζεται εξειδικευμένα σε λεία μυϊκά κύτταρα του αγγειακού συστήματος του εγκεφάλου

