

Система вторичных посредников.

**Механизм усиления при
трансмембранной передаче
информации, роль G-белков и
GTP-связующих белков**



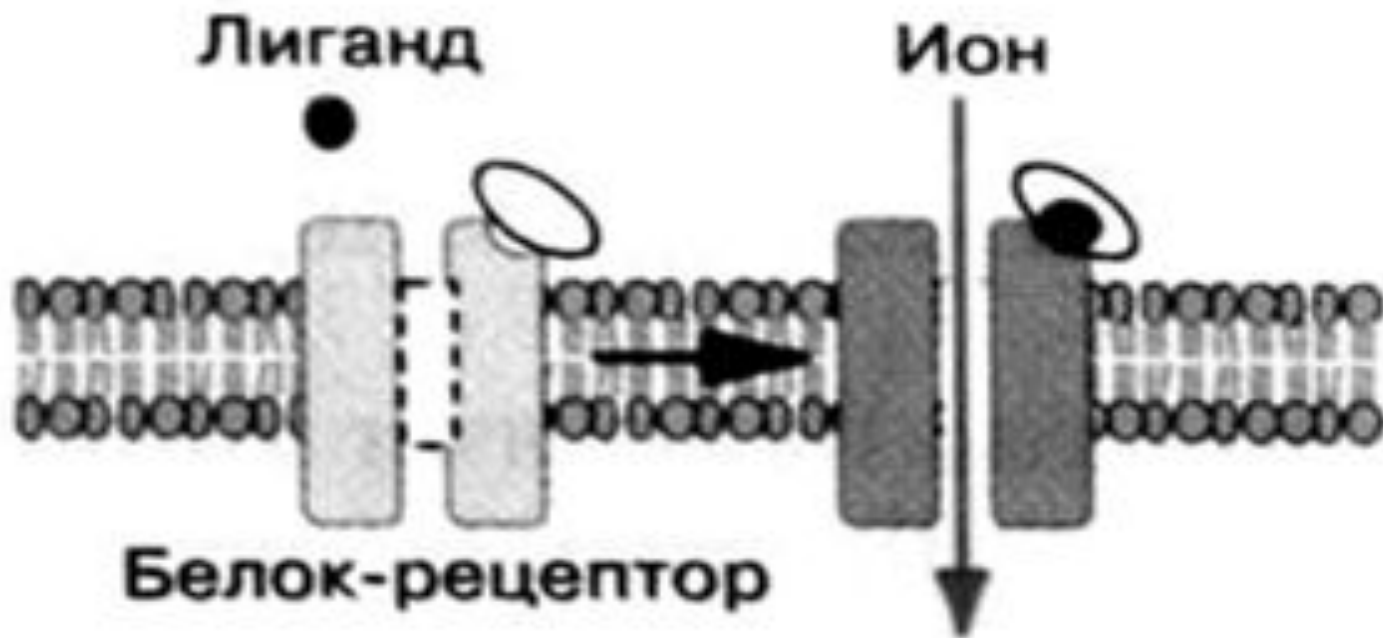
1. Строение и механизм действия рецепторов-каналов.

Рецепторы-каналы - **никотиновые ацетилхолиновые рецепторы**, находящиеся на **постсинаптической мембране** **нервно-мышечного соединения**.

Никотиновый ацетилхолиновый рецептор представляет собой **гликопротеин**, состоящий из **5 субъединиц** (2α , β , γ , δ), которые кодируются **4 разными генами**. Он имеет **2 участка для связывания ацетилхолина**. **Связывание 2 молекул ацетилхолина с рецептором вызывает его конформационные изменения**, что приводит к **открыванию канала**.

Время **открытого состояния канала** составляет **примерно 1 мсек**.

б) Регулируемые ионные каналы (ацетилхолин)



2. Рецепторы связанные с G-белком

- Функционирование *рецепторов, сопряженных с G-белками*, связано с продуцированием **вторичных посредников**.

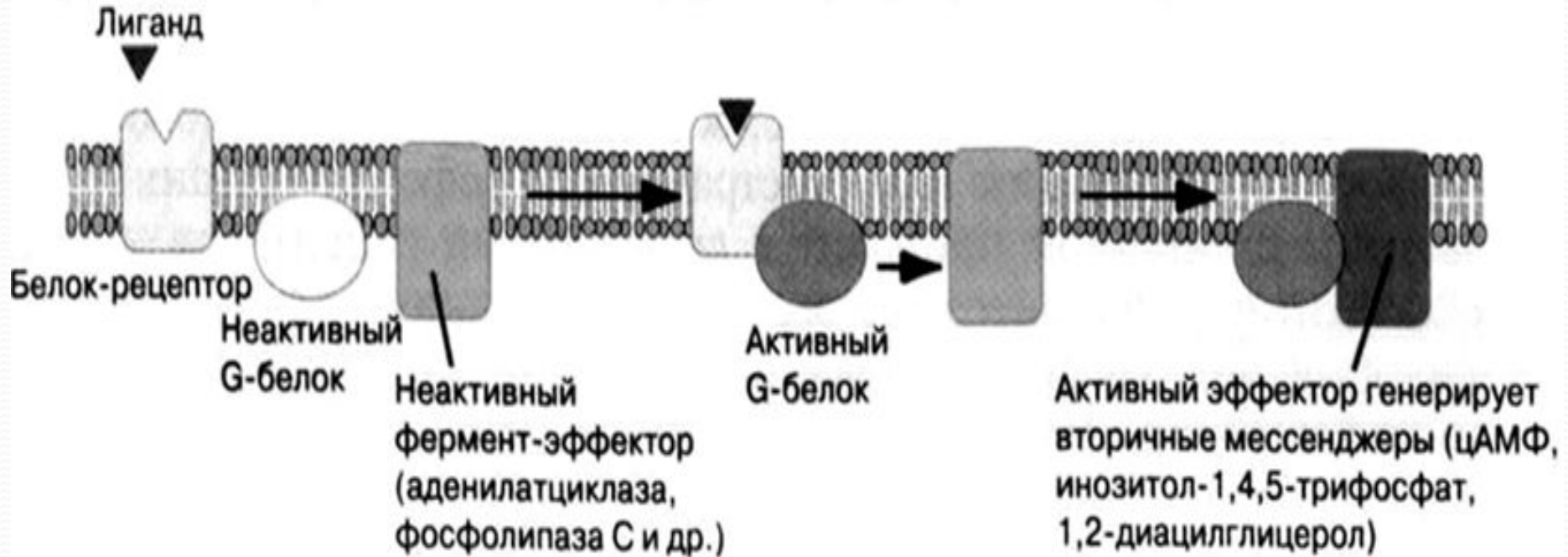
Общее строение.

Эти рецепторы имеют 7 трансмембранных доменов, каждый из которых содержит 20–25 аминокислотных остатков, образующих α -спираль.

Кроме того, имеется 8 гидрофильных доменов, которые представляют собой чередующиеся внеклеточные и цитоплазматические петли.

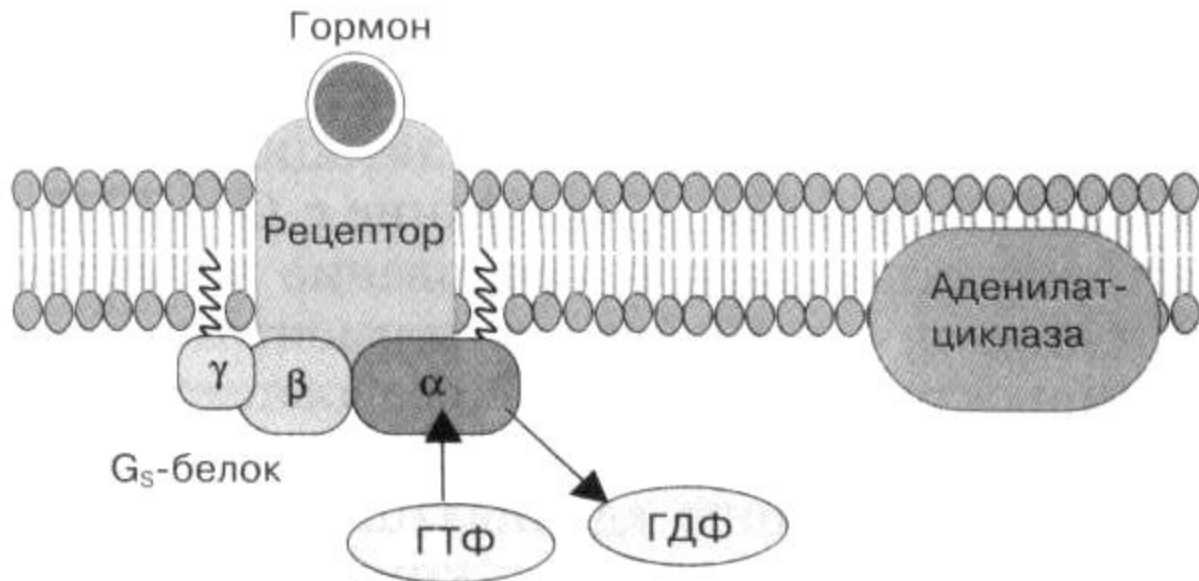
Общее строение.

а) Рецепторы, сопряженные с G-белком (адреналин, глюкагон, серотонин)

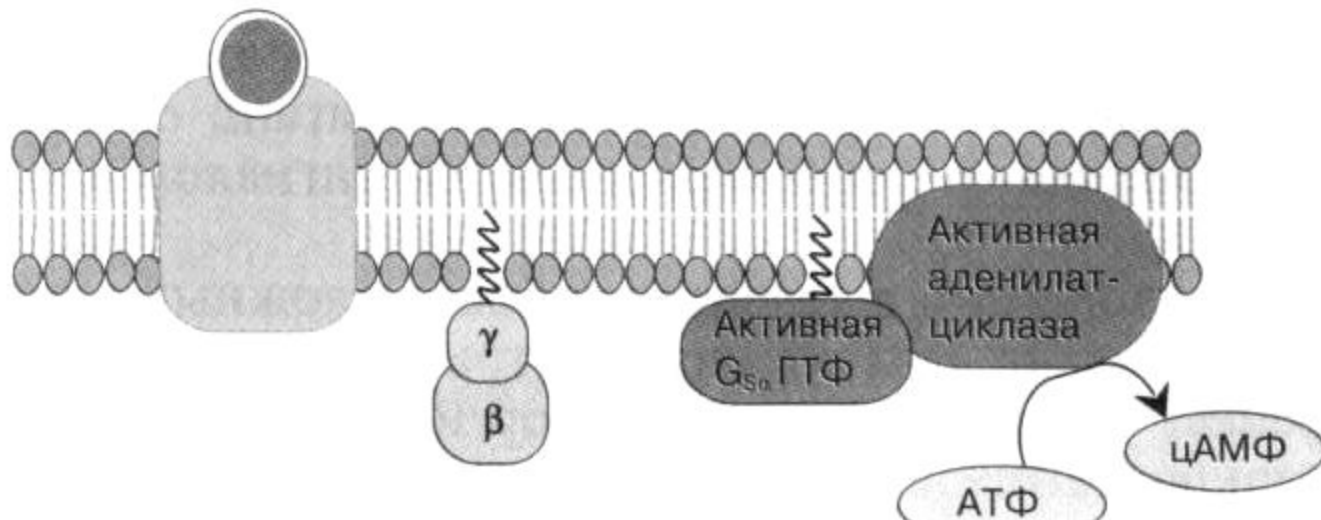


ГТФ-связующие белки (G-белки)

ГТФ-связывающие белки или *G-белки* являются гетеротримерными, состоящие из α , β и γ -субъединиц, взаимодействуют и с рецептором и с эффе́ктором. α -субъединицы участвуют в формировании домена для связывания гуаниновых нуклеотидов и обладают ГТФ-азной активностью.

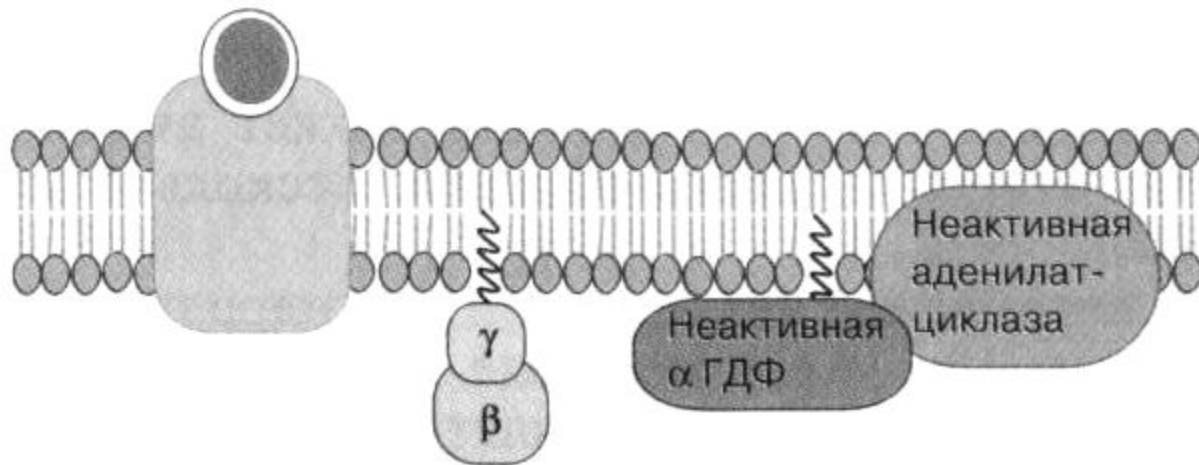


Стадия 1. Связывание лиганда с рецептором приводит к замещению ГДФ на ГТФ в нуклеозидфосфат-связывающем центре G_{S α} . Субъединица G_{S α} (ГТФ) отделяется от $\beta\gamma$ и активирует аденилатциклазу.

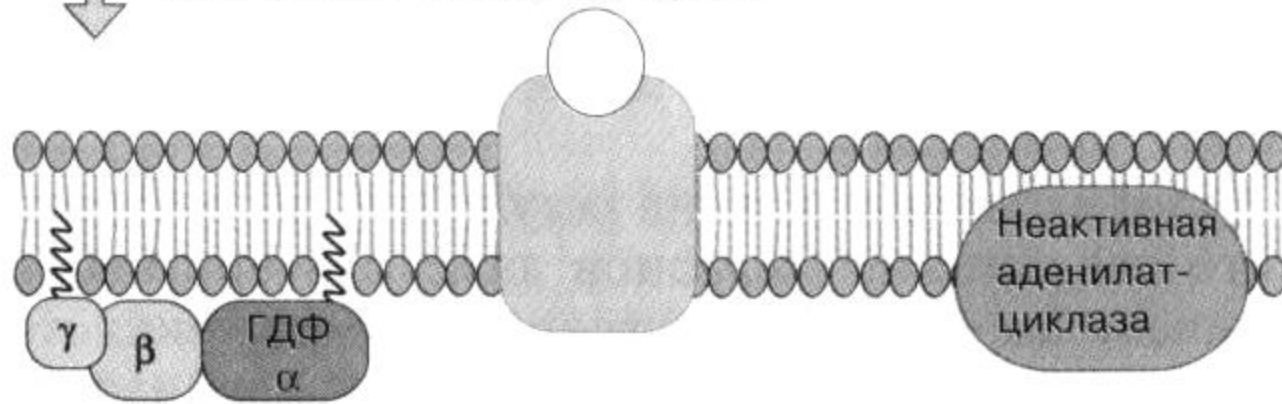




Стадия 2. ГТФазная активность $G_{S\alpha}$ приводит к медленному гидролизу ГТФ и инактивации $G_{S\alpha}$ и аденилатциклазы.



Стадия 3. Отделение $G_{S\alpha}$ (ГДФ) от аденилатциклазы и восстановление исходной тримерной структуры G_S -белка.



Неактивный G_S -белок

3. Рецептор, проявляющий ферментативную активность

Рецепторные тирозинкиназы. Главная функция - каскадная передача сигналов, регулирующих пролиферацию (*разрастание ткани организма путём размножения клеток*) и дифференцировку клеток, а также процессы клеточного метаболизма.

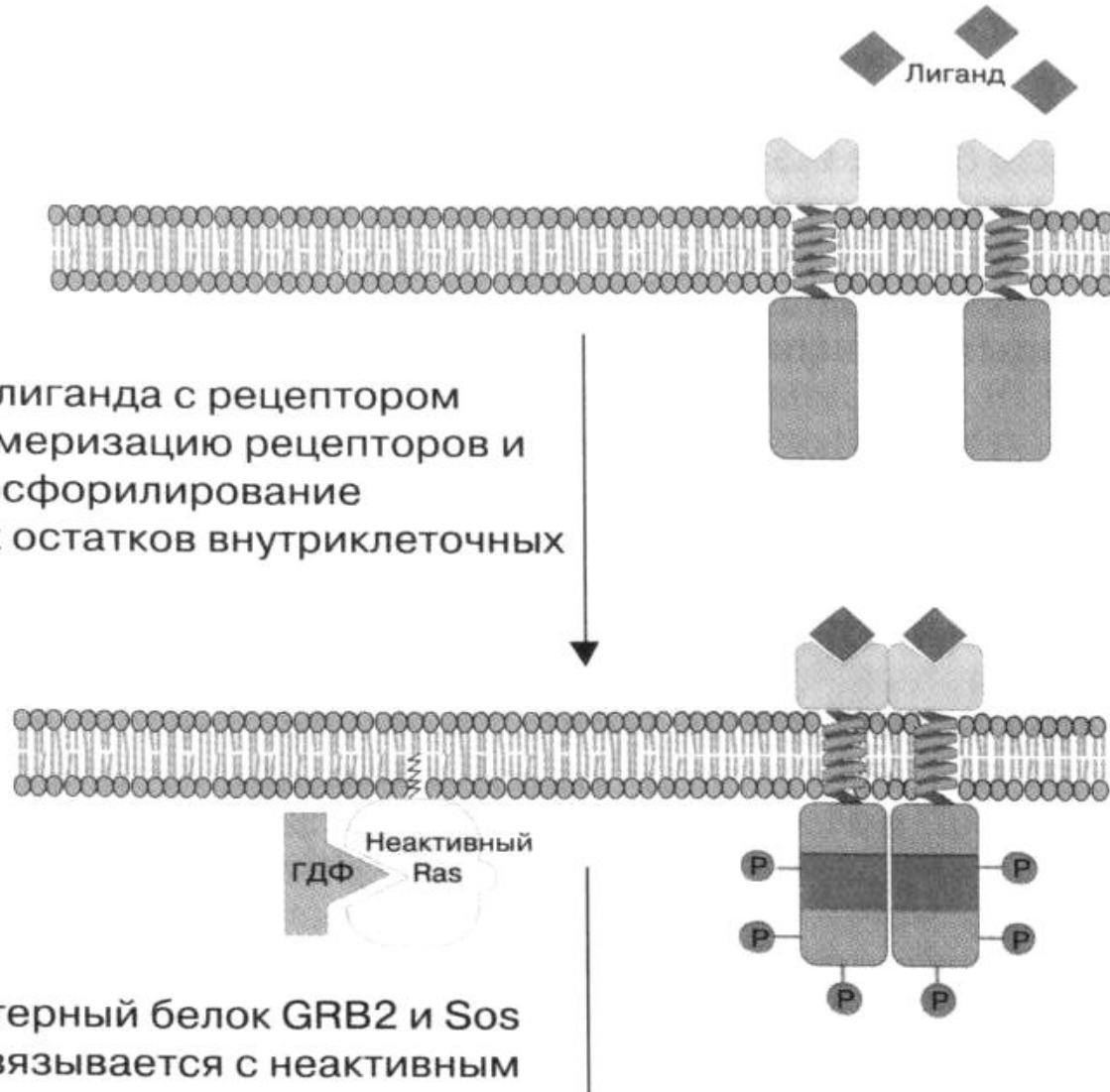
Особое значение рецепторных тирозинкиназ – участие в опухолевом процессе. Факторы роста продуцируются опухолевой клеткой и действуют на ее же рецепторы (аутокринная регуляция) или соседние клетки (паракринная регуляция).

Рецепторная тирозинкиназа имеет 3 основных домена:

- **внеклеточный N-концевой участок**, который гликолизирован и является агонист-связывающим участком, обеспечивающим специфичность восприятия сигнала;
- **собственно трансмембранный участок**, состоящий из гидрофобных аминокислот;
- **внутриклеточный тирозиновый домен**, аналогичный для всех рецепторных тирозинкиназ.

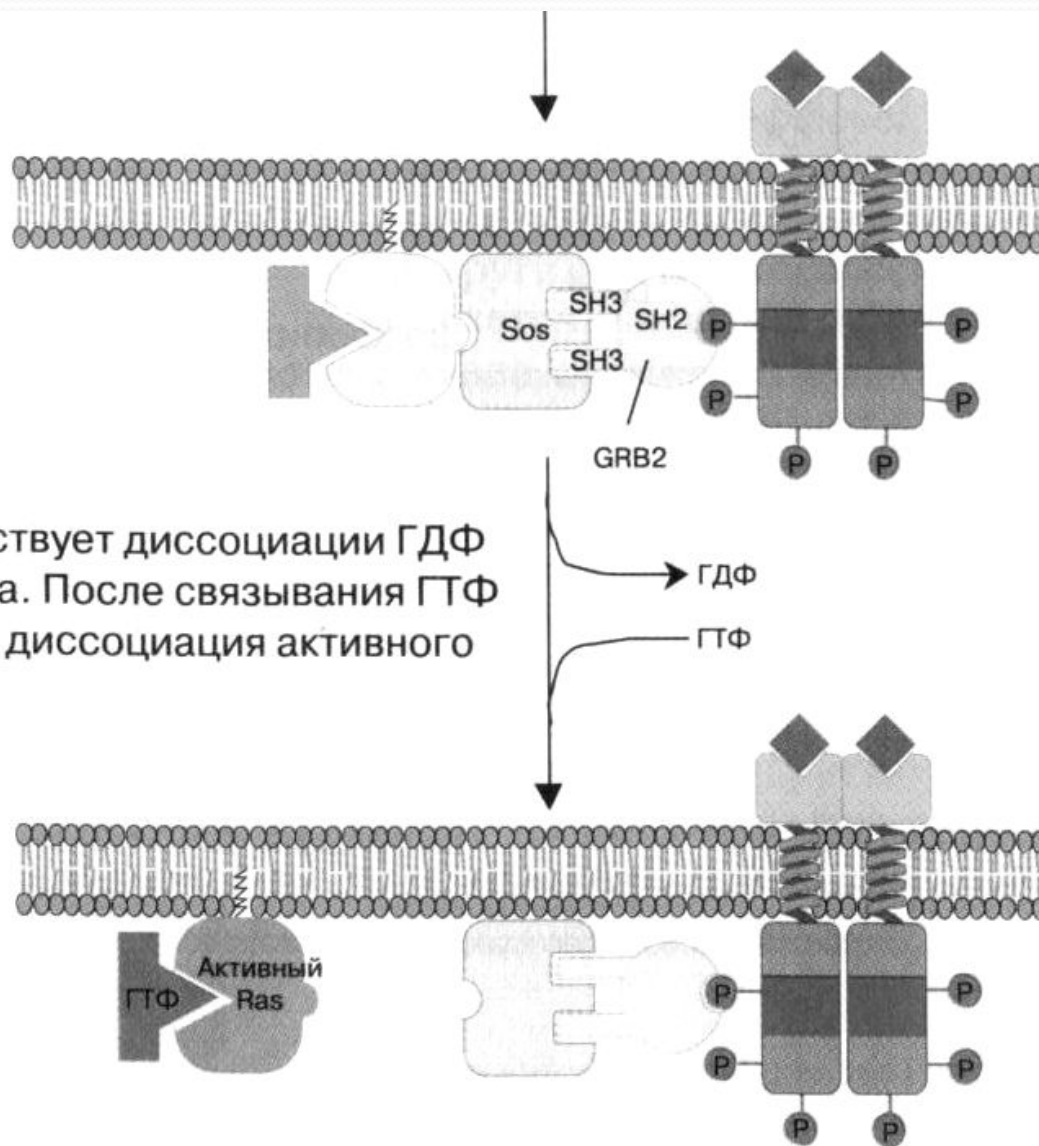
Механизм активации димерных рецепторов, связанных с тирозинкиназой

Связывание лиганда с рецептором вызывает димеризацию рецепторов и трансавтофосфорилирование тирозиновых остатков внутриклеточных доменов



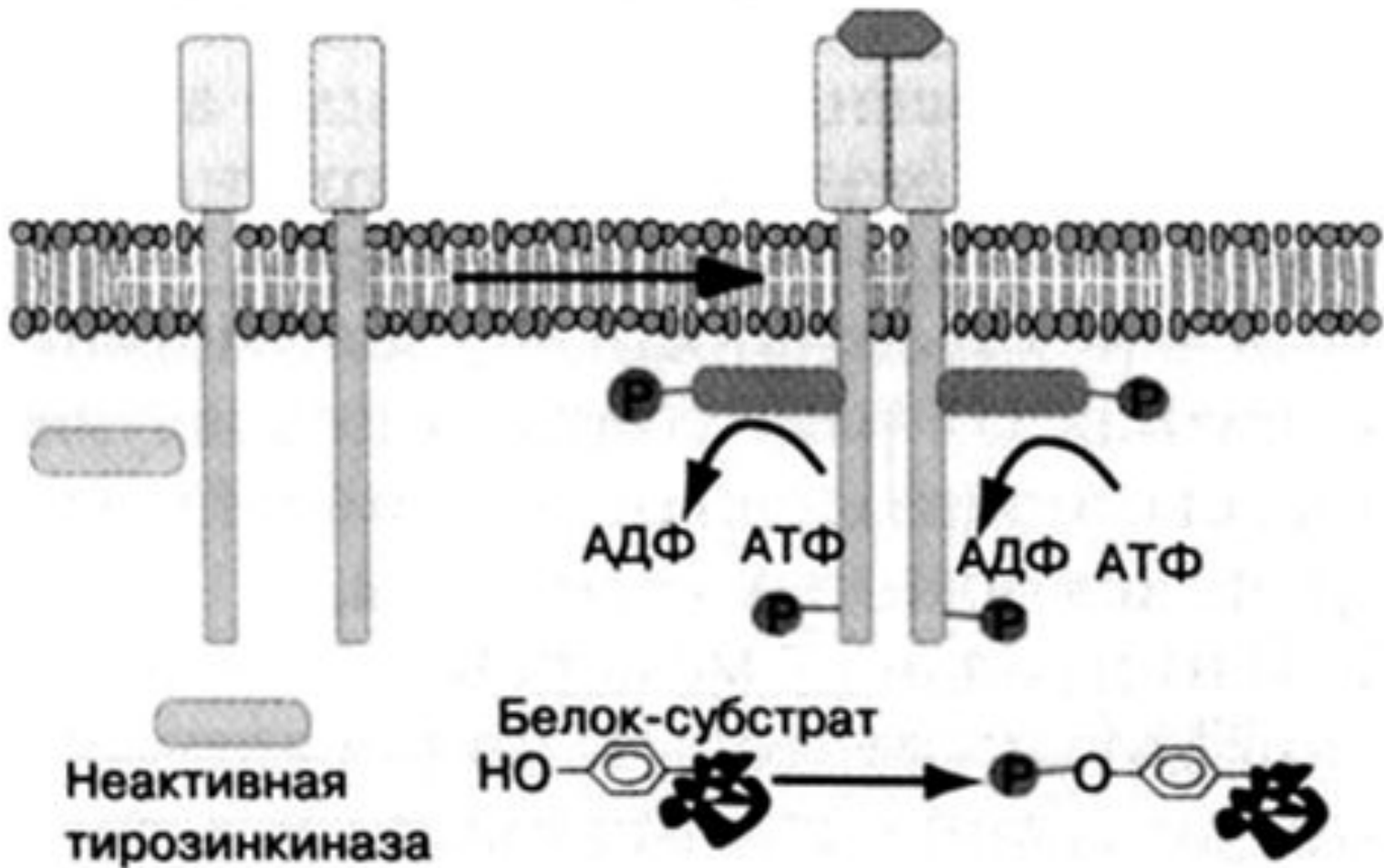
Через адаптерный белок GRB2 и Sos рецептор связывается с неактивным

Ras-белком



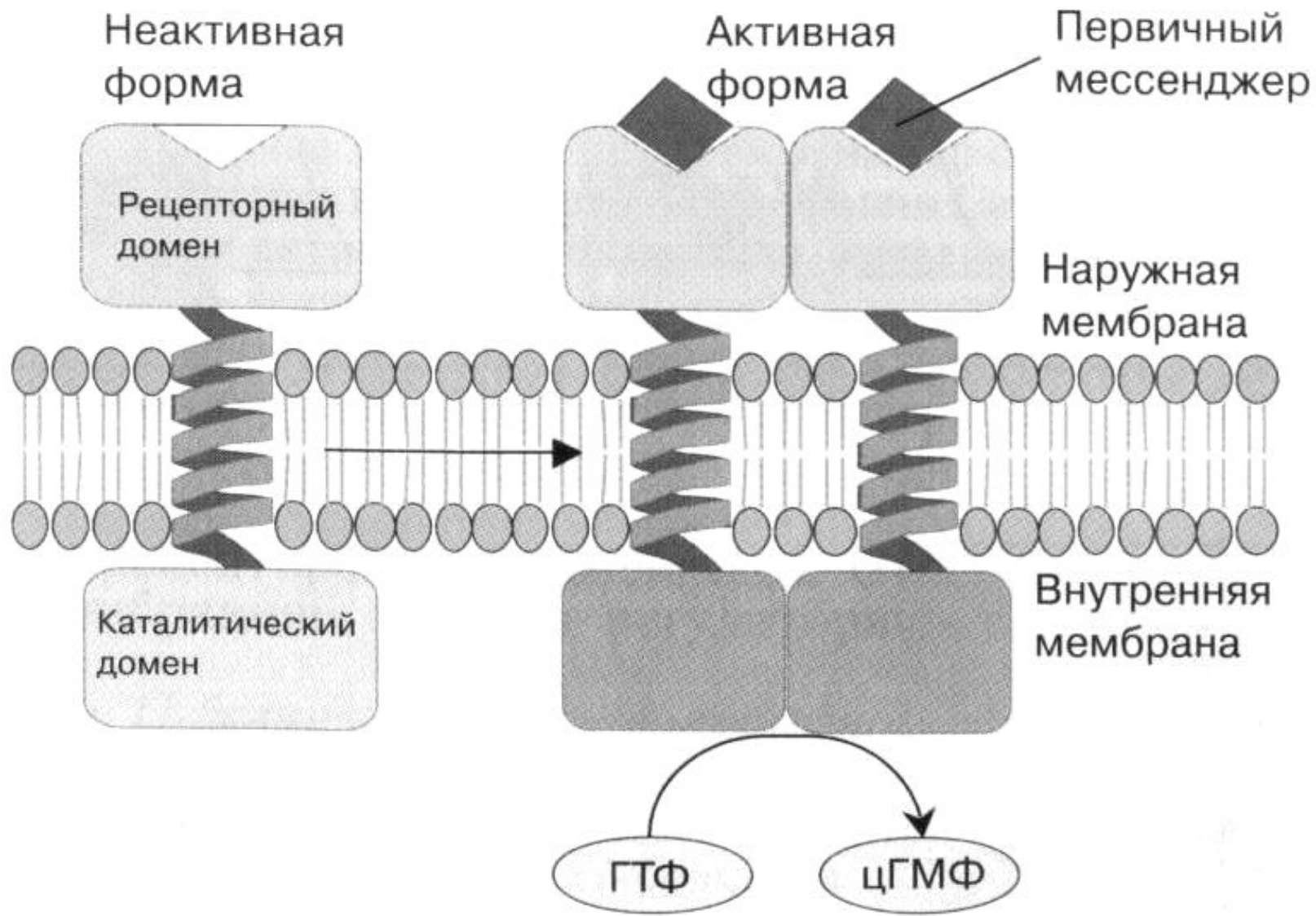
Sos способствует диссоциации ГДФ от Ras-белка. После связывания ГТФ происходит диссоциация активного Ras.

в) Рецепторы, ассоциированные с тирозинкиназой (эритропоэтин, интерфероны)

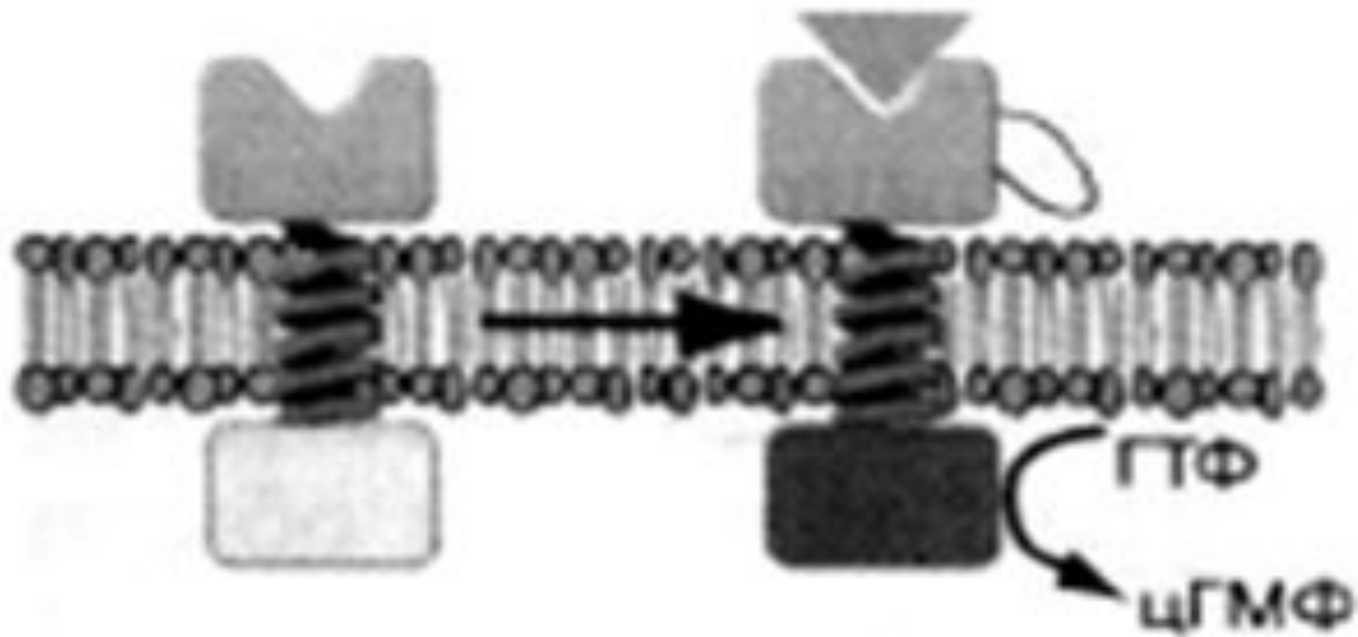


4. Мембраносвязанная гуанилатциклаза.

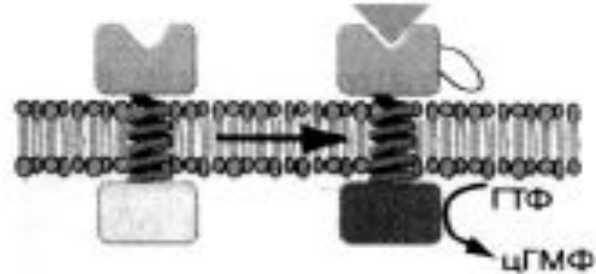
- Фермент состоит из внеклеточного рецепторного домена, одиночного α -спирального трансмембранного сегмента и внутриклеточного каталитического домена.
- В качестве агонистов этого фермента выступают некоторые биогенные пептиды:
- *натрийуретический пептид, регулирующий гомеостаз жидкости в организме и кардиососудистую функцию; пептиды, секретируемые яичниками и стимулирующие подвижность сперматозоидов; термостабильные энтеротоксины из E. coli.*
- Связывание этих агонистов с внеклеточным рецепторным доменом приводит к димеризации рецепторов и активации каталитического домена.
- Субстратом мембраносвязанной гуанилатциклазы является ГТФ, который превращается ферментом в 3',5'-циклический гуанозинмонофосфат (цГМФ).



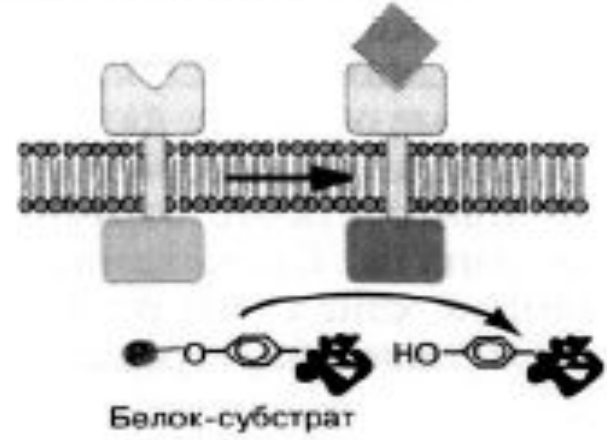
г) Рецепторная гуанилатциклаза (основной фактор предсердия)



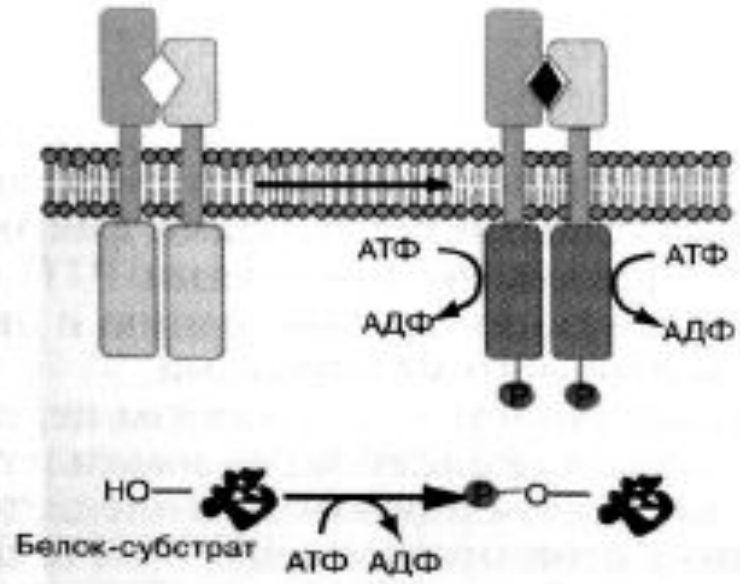
г) Рецепторная гуанилатциклаза
(основной фактор предсердия)



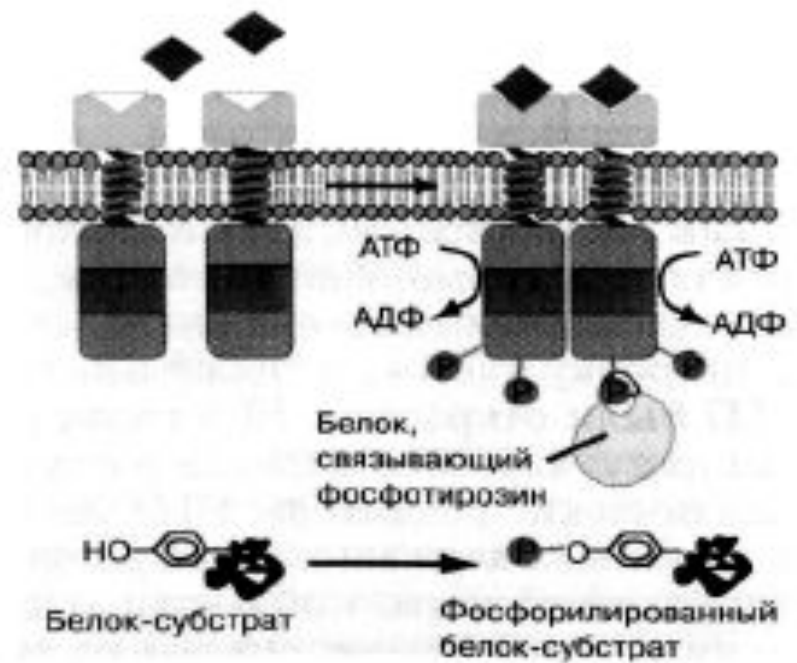
д) Рецепторная тирозинфосфатаза
(лейкоцитарный белок CD45)



е) Рецепторные серин/треонинкиназы
(трансформирующий фактор роста β)



ж) Рецепторные тирозинкиназы
(инсулин, эпидермальный фактор роста)



Система вторичных посредников

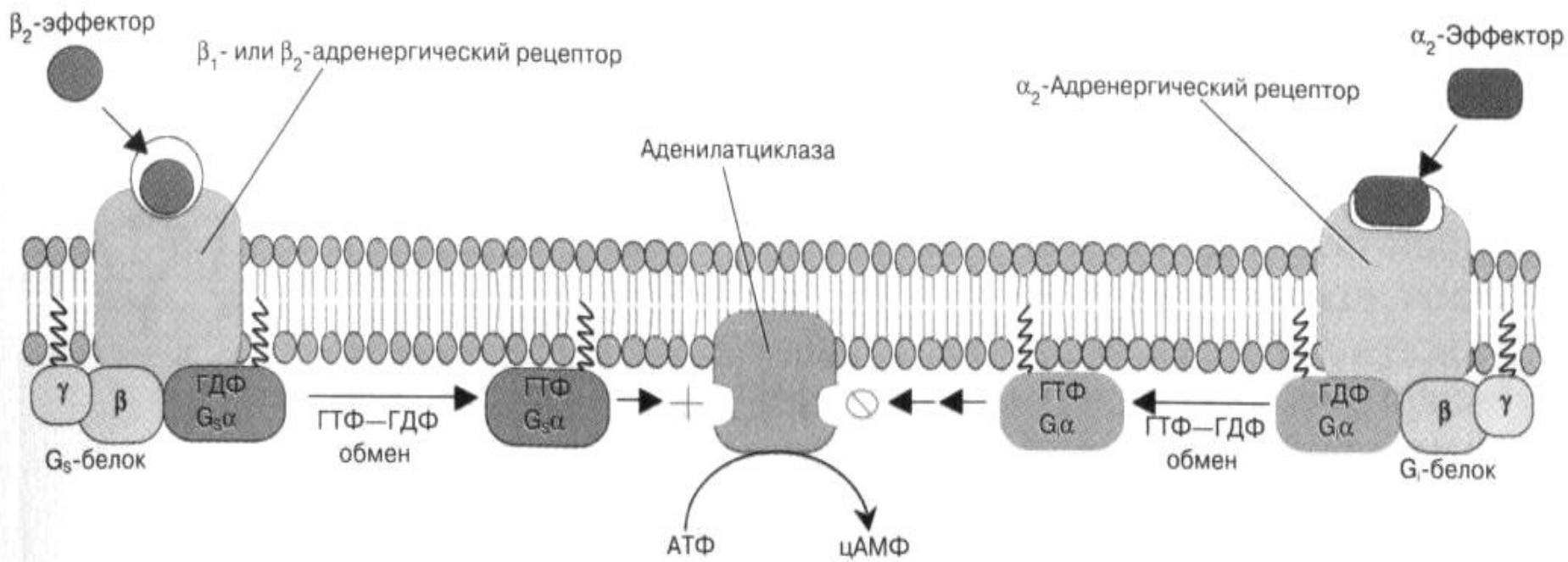
1. цАМФ (3,5'-циклический аденозинмонофосфат);
2. цГМФ;
3. NO (оксид азота);
4. Ионы Ca^{2+} ;

Эффекты цАМФ:

- Изменение проницаемости мембран
- Синтез стероидных гормонов корой надпочечников
- Секреторные реакции экзо- и эндокринных желез
- Транскрипция генов
- Перемещение внутриклеточных структур
- Подвижность и агрегация у одноклеточных организмов

Критерии цАМФ как регулятора (распространяются и на другие сигнальные внутриклеточные молекулы)

- Химический агент должен стимулировать активность аденилатциклазы в препаратах чувствительной ткани.
- В ответ на действие химического агента должна возрастать концентрация цАМФ в ткани.
- Косвенное доказательство участия цАМФ в реакции – потенцирование гормонального эффекта ингибиторами фосфодиэстеразы.
- Воспроизведение гормонального эффекта с помощью цАМФ или его производного (например, дибутирил-цАМФ).



Описание к рисунку с предыдущего слайда

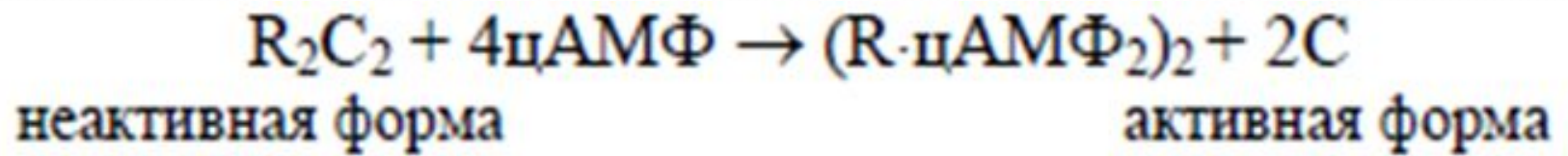
Активация фермента (аденилатциклаз) происходит в результате взаимодействия стимулирующего (Gs) ГТФ-связывающего с α -субъединицей белка. Примером рецепторов, активирующих аденилатциклазу через стимулирующий ГТФ-связывающий белок, являются β -адренергические рецепторы.

α_2 -Адренергические рецепторы же связаны с ингибирующим (Gi) ГТФ-связывающим белком.

Аденилатциклаза представляет собой интегральный белок, полипептидная цепь которого образует 12 гидрофобных доменов, встроенных в цитоплазматическую мембрану.

Распад цАМФ зависит от активности фосфодиэстеразы, которая, в свою очередь, контролируется ионами Ca^{2+} и кальмодулином.

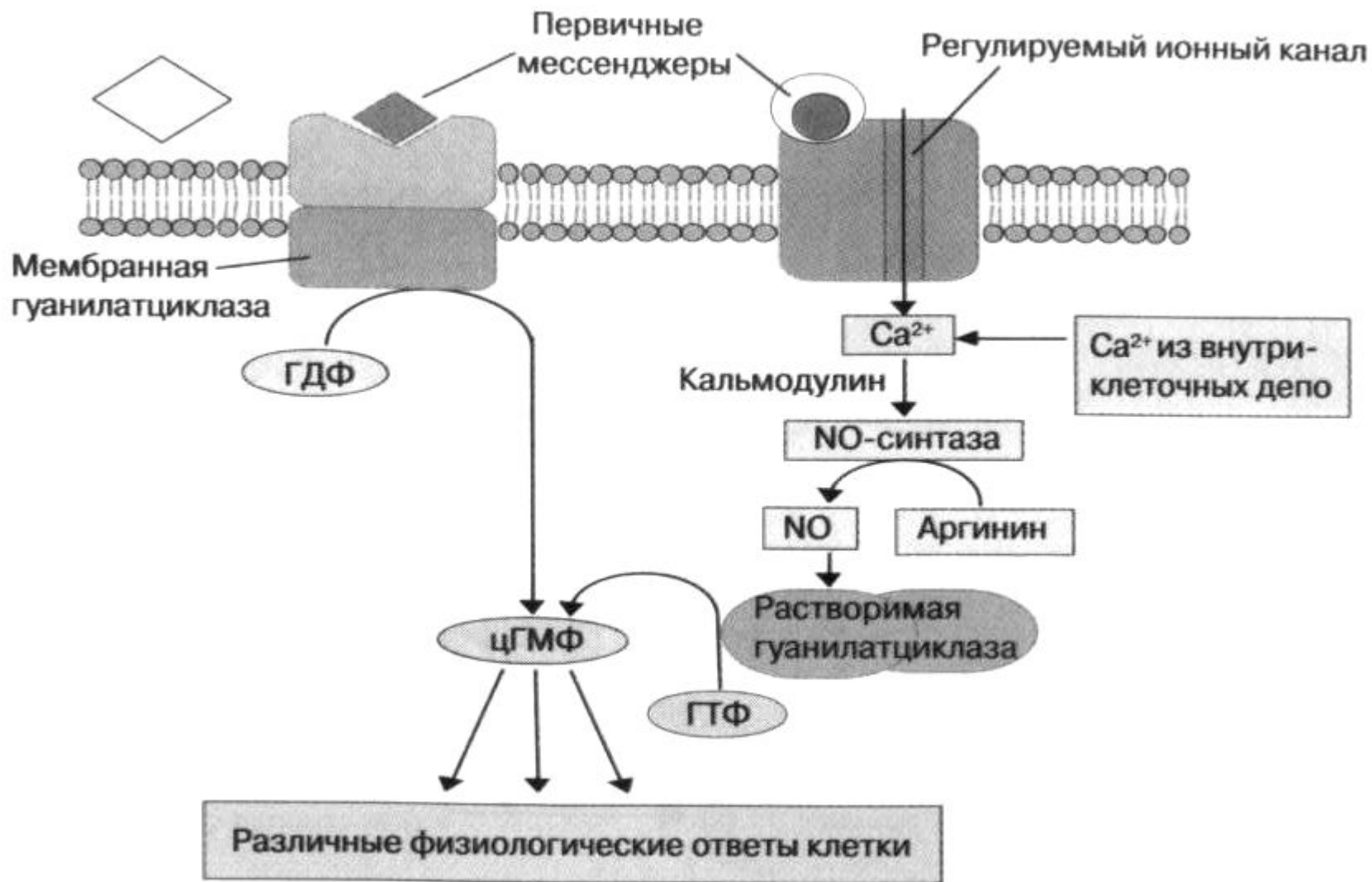
Увеличение цАМФ в клетке приводит к активации цАМФ-зависимой протеинкиназы (протеинкиназа А). В неактивной форме этот фермент представляет собой тетрамерный белок, состоящий из двух регуляторных (R) и двух каталитических (С) субъединиц. Каталитические субъединицы приобретают активность только после диссоциации комплекса, которая происходит вследствие присоединения 4 молекул цАМФ к 2 регуляторным субъединицам. (рисунок ниже)



Механизм активации ПК-А.

- Субстратами для протеинкиназы А могут быть белки ионных каналов, ионообменников, транспортных АТФ-аз, цитоскелета, ферменты, белки рибосом, ядерные белки и др. Все эти субстраты будут фосфорилироваться протеинкиназой А по остаткам серина и треонина. Фосфорилирование белков будет изменять их активность как в сторону увеличения, так и уменьшения. На функциональное состояние цАМФ-зависимой сигнальной системы способны оказывать влияние вещества различной природы. →

Дитерпен растительного происхождения форсколин непосредственно активирует АЦ. Ингибиторы фосфодиэстеразы потенцируют эффекты цАМФ, замедляя процесс его распада. Получены синтетические соединения, способные модулировать активность ПК-А. Все названные вещества находят применение в изучении физиологии цАМФ-зависимой сигнальной системы, некоторые используются как лекарственные вещества (спазмолитики группы теофилина, папаверин).





***Спасибо за
внимание!***