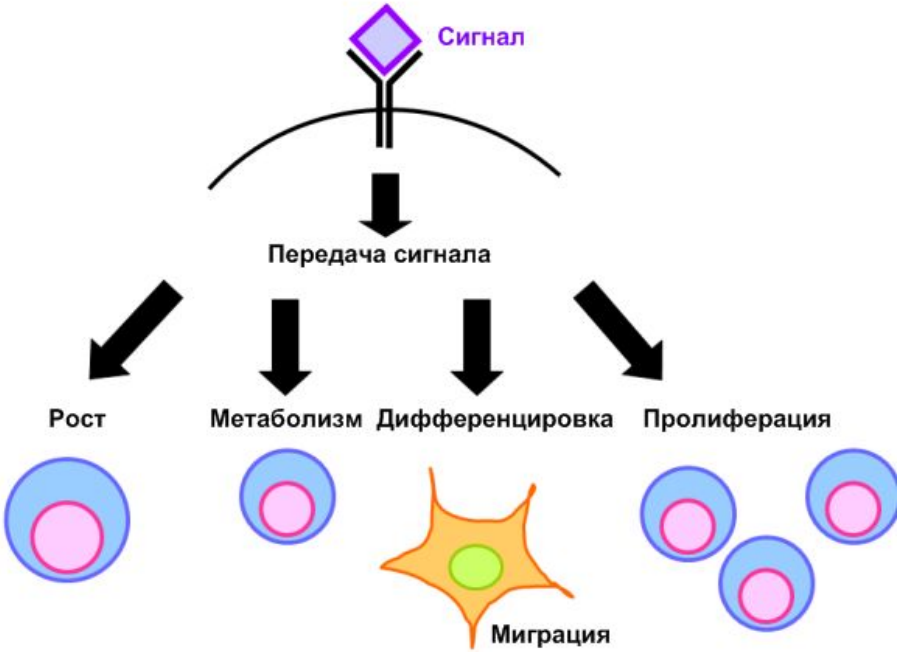
Внутри- и межклеточная сигнализация

Клеточная сигнализация затрагивает все стороны биологии клетки

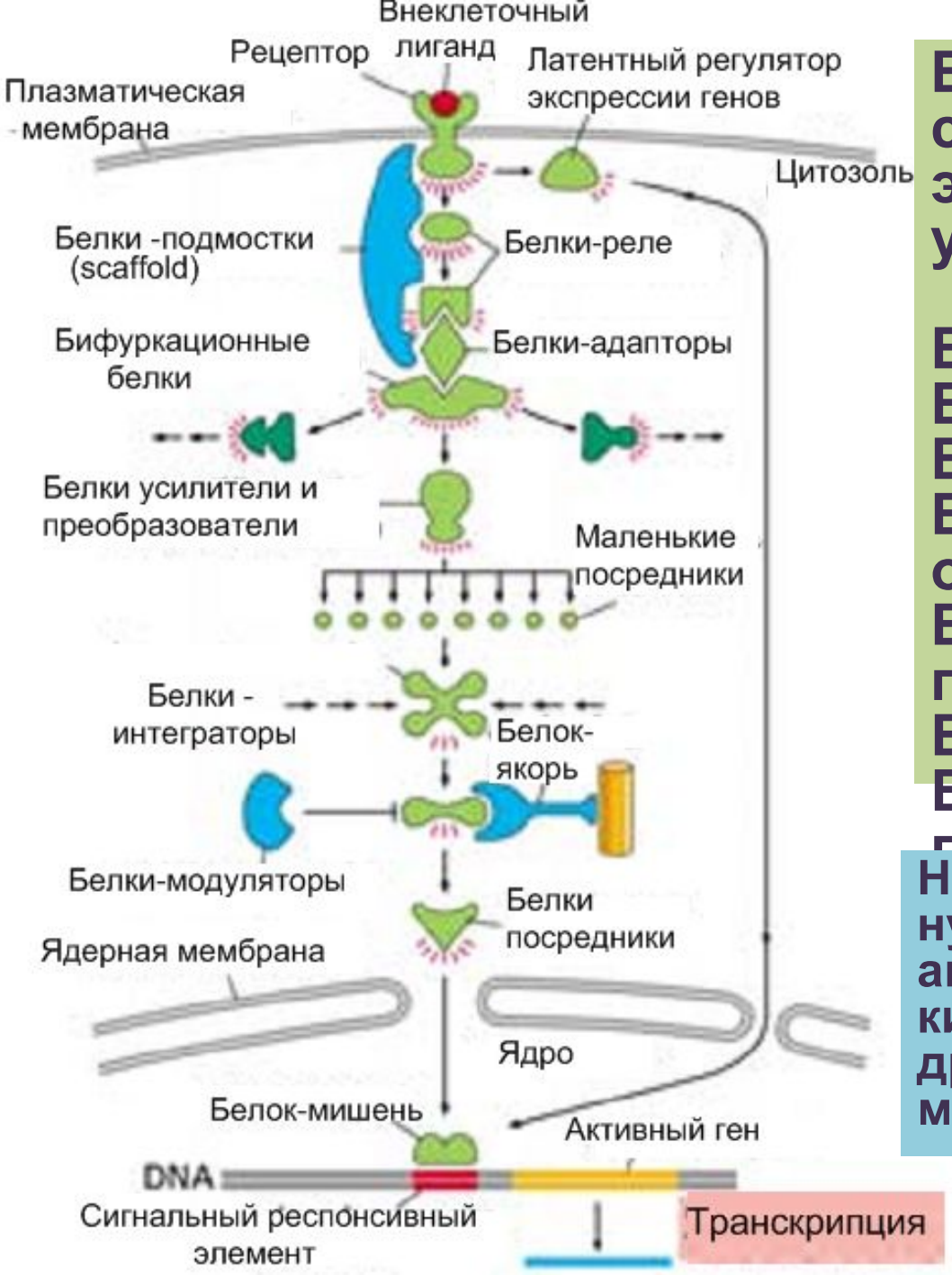
Клеточные пути сигнализации регулируют

- Клеточный цикл- пролиферация
- Цитоскелет- миграция клеток
- Транскрипцию- дифференцировка
- Перемещение мембран- экзоцитоз
- Выживание и смерть - апоптоз
- Развитие- формирование организ



Сигнальный путь это

1) Синтез сигнальной молекулы
(2) Выделение сигнальной молекулы
(3) Транспорт сигнальной молекулы к клетке – мишени
(4) Взаимодействие со специфическим рецептором
(5) Инициация внутриклеточного пути переноса сигнала
(6) Изменение метаболизма, функции или развития клетки-мишени
(7) Выключение действия сигнала



Внутриклеточный сигнальный путь – это множество участников:

Белки -рецепторы
Белки-реле
Белки-адапторы
Белки- структурные организаторы
Белки- усилители и преобразователи
Белки – интеграторы
Белки – посредники

Но не только белки, а и нуклеотиды, аминокислоты, жирные кислоты, ионы кальция и другие маленькие молекулы

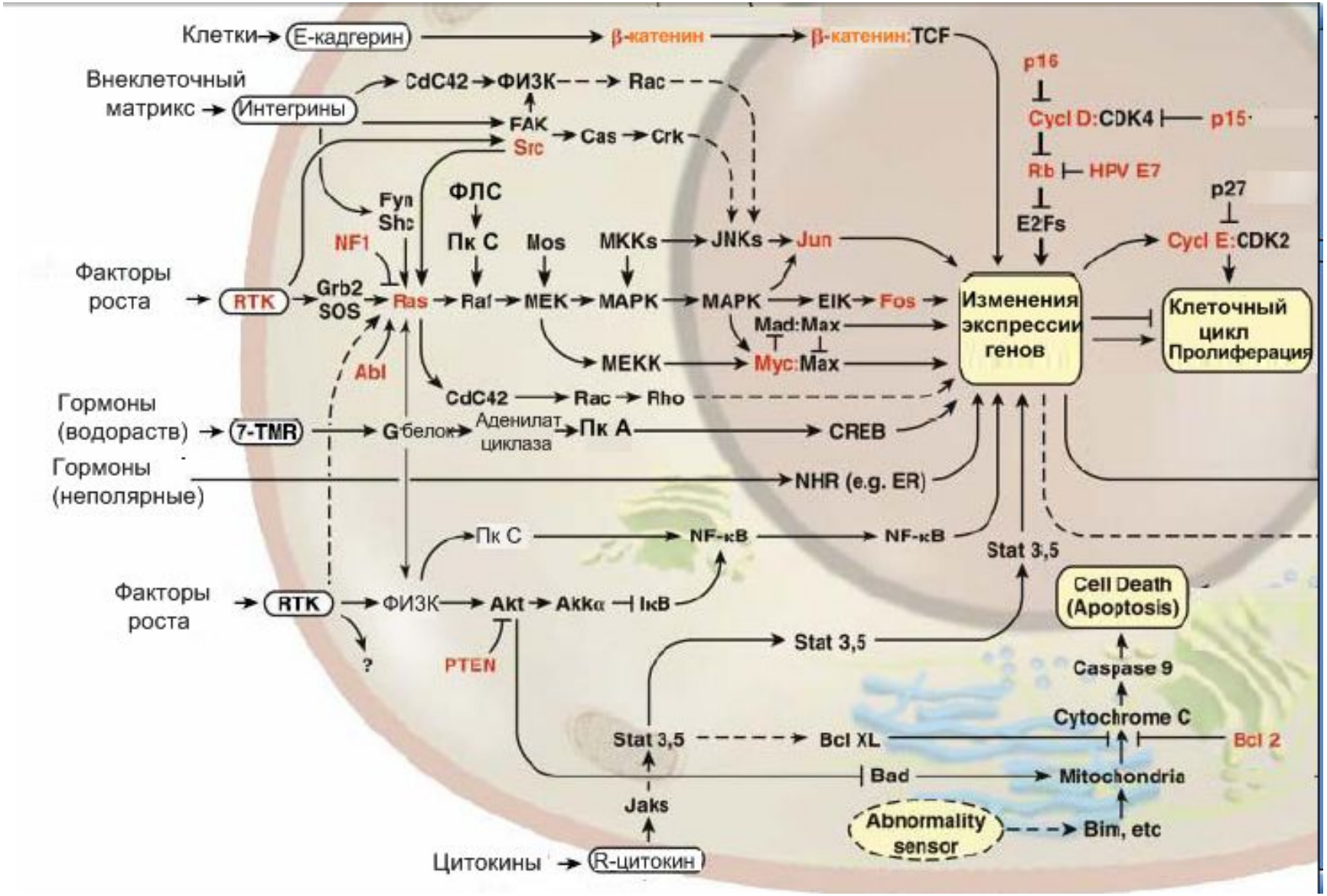
Откуда пошли сигналы

Лиганды-сигналы – это побочные продукты метаболических путей , означавших избыток или недостаток источников питания

Рецепторы и регуляторные белки были отобраны в процессе эволюции . В пользу этого говорит высокий консерватизм у разных видов живого в строении и функциях многих сигнальных путей

Что мы уже знаем о сигналах?

Что предстоит узнать



Все сигналы можно разделить на липофильные и гидрофильные

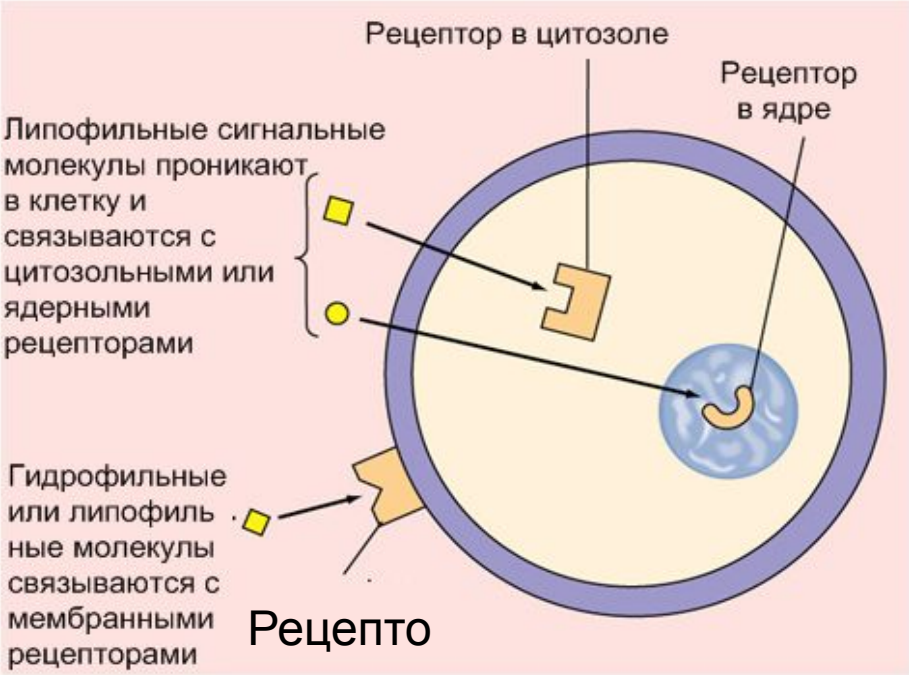
- **Липофильные молекулы, взаимодействуют с внутриклеточными рецепторами(стероиды, ретиноиды, NO и др.)**
- **Гидрофильные молекулы, взаимодействуют с поверхностными рецепторами (нейромедиаторы, пептидные гормоны и факторы роста , цитокины)**
- **Некоторые липофильные молекулы могут взаимодействовать с поверхностными рецепторами (простагландины и лейкотриены)**

- Большинство гидрофильных молекул - сигналов синтезируется и хранится в секреторных везикулах
- Секреция их часто регулируется ионами [Ca] 2+

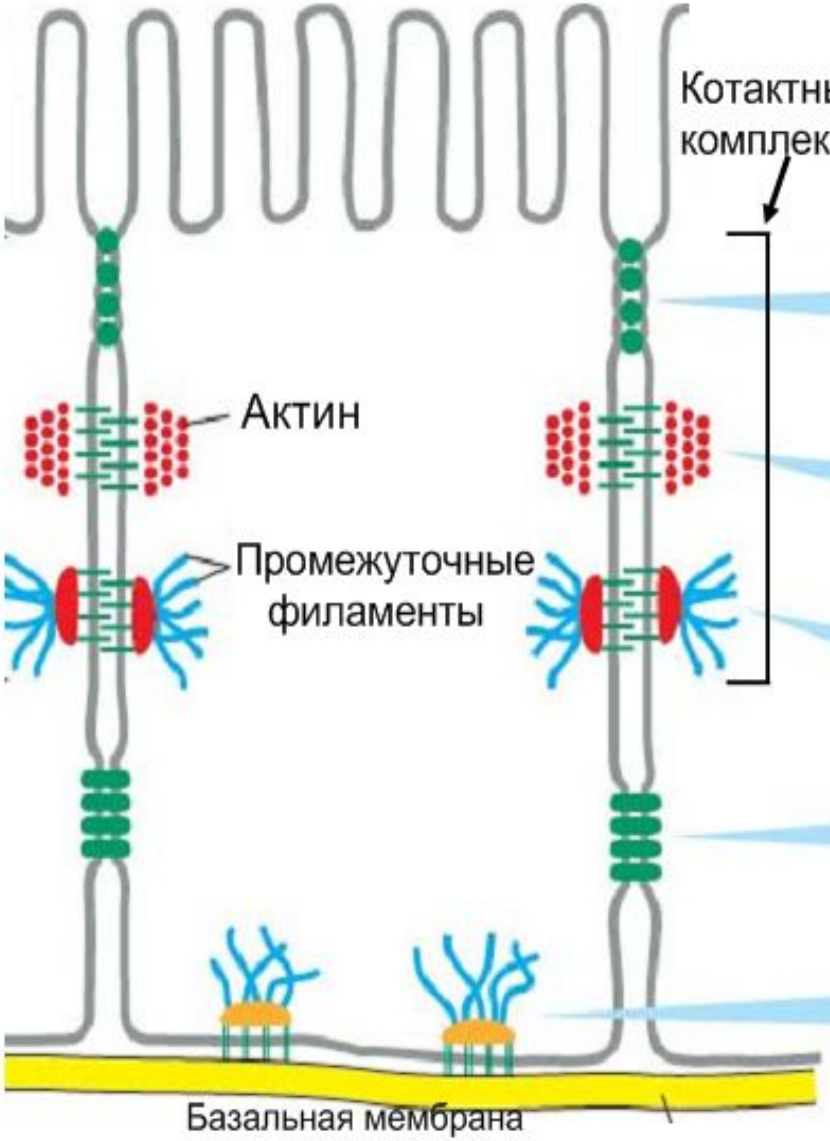
- Гидрофобные сигналы высвобождаются по мере их образования
- Время полужизни гидрофобного сигнала определяет продолжительность хронического эндокринного ответа или преходящего паракринного ответа.

- Липофильные сигналы проникают в клетку
- Часто активируют гены
- Медленный ответ

- Гидрофильные сигналы не проникают в клетку
- Их рецепторы на поверхности клетки
- Быстрый ответ

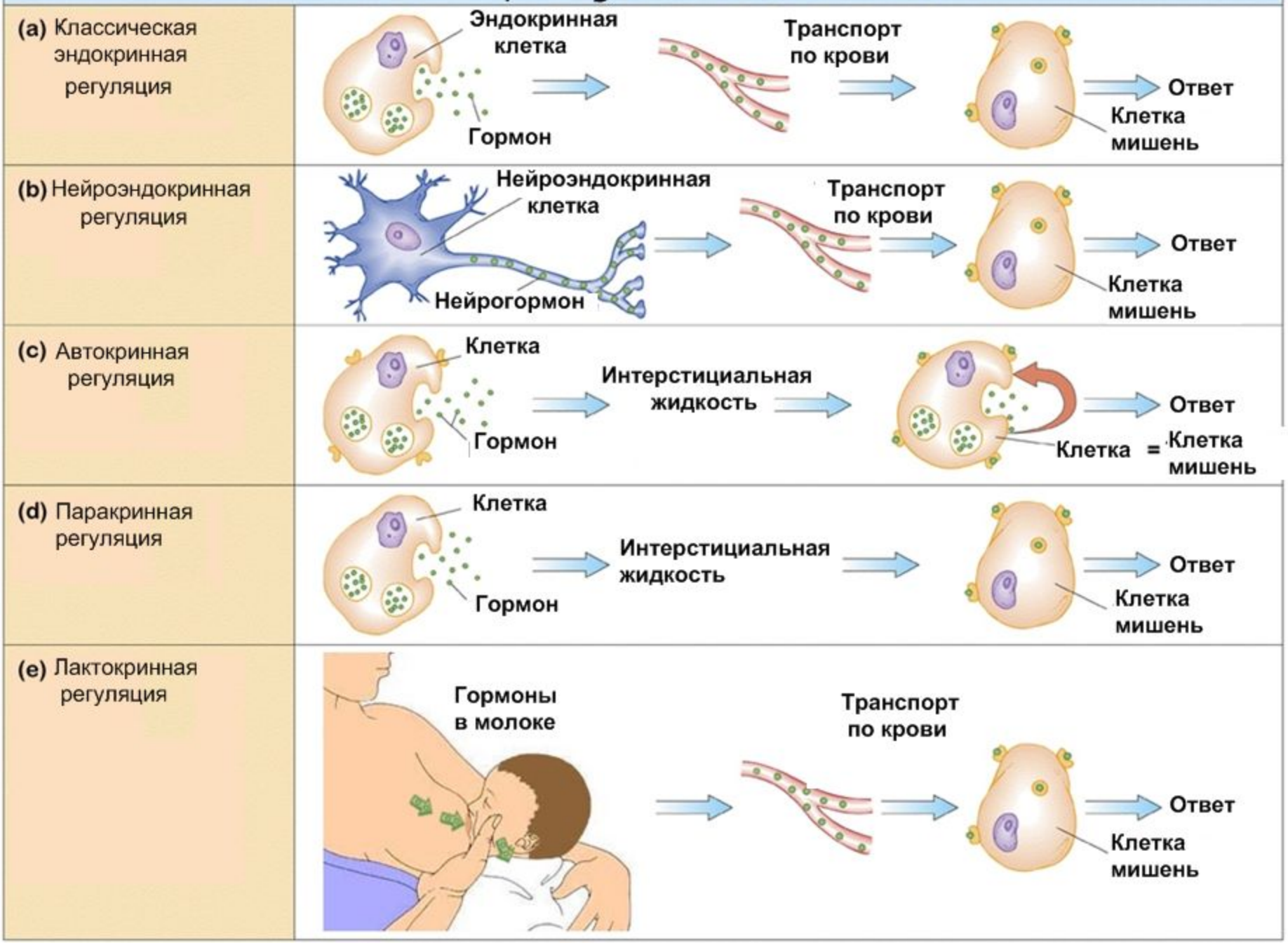


Некоторые пути обмена сигналами



Типы	Функция
Плотные контакты	Соединяют соседние клетки, формируя слой эпителия, не допуская проникновения молекул между клетками
Адгезионные контакты	Соединяют актиновые филаменты одной клетки с актиновыми филаментами соседней клетки
Десмосомы	Соединяют промежуточные филаменты одной клетки с таковыми соседней клетки
Щелевые контакты	Обеспечивают обмен небольшими молекулами между соседними клетками
Полудесмосомы	Прикрепляют промежуточные филаменты клетки к базальной мембране
Фокальные контакты	Связывают актиновые филаменты с межклеточным матриксом

Некоторые пути обмена сигналами



Классификация молекул-сигналов

1. Сигнальные молекулы, построенные из аминокислот
- Сигналы - сложные белки (тиреотропин, гонадотропины)
- Сигналы - простые белки (соматотропин, инсулин)
- Сигналы- пептиды (глюкагон, кортикотропин , факторы роста, цитокины)

2. Производные аминокислот
(адреналин, серотонин, тироксин, мелатонин)

3. Стероиды (производные холестерола и других полиизопренов)
(альдостерон, кортизол, ретиноевая кислота, витамин Д)

4. Эйкозаноиды (производные 20-углеродных, полиненасыщенных жирных кислот)
(простагландин E_1, тромбоксан A_2).

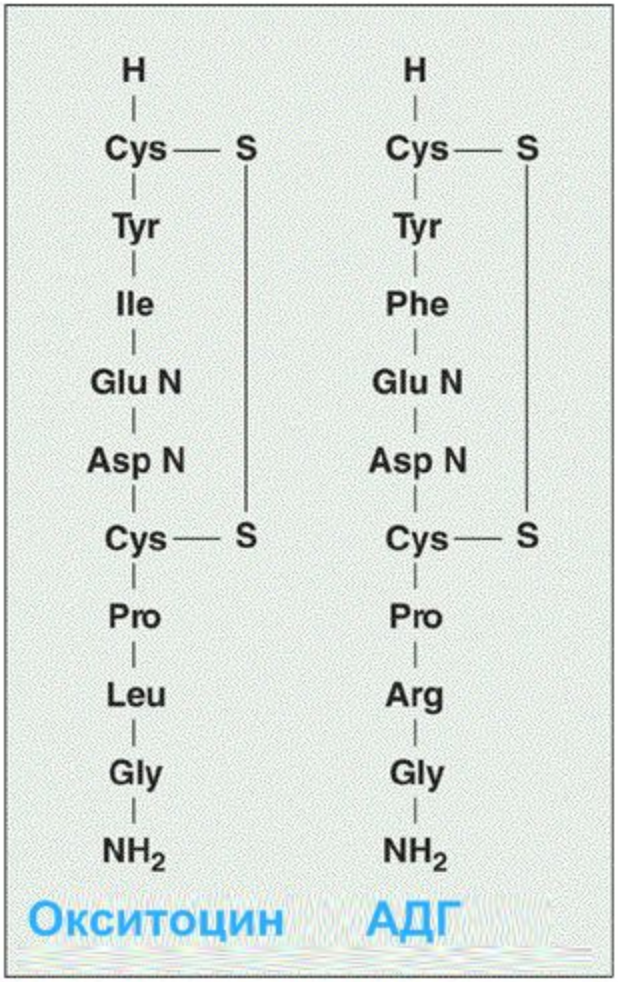
Сигналы можно разделить по месту образования, растворимости в воде и неполярных растворителях и по другим критериям

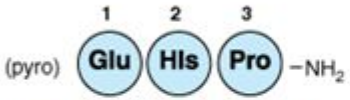
Сигналы, построенные из аминокислот

Гликопротеины (ТСГ,ФСГ,ЛГ)

Общая α субъединица

Уникальная β субъединица



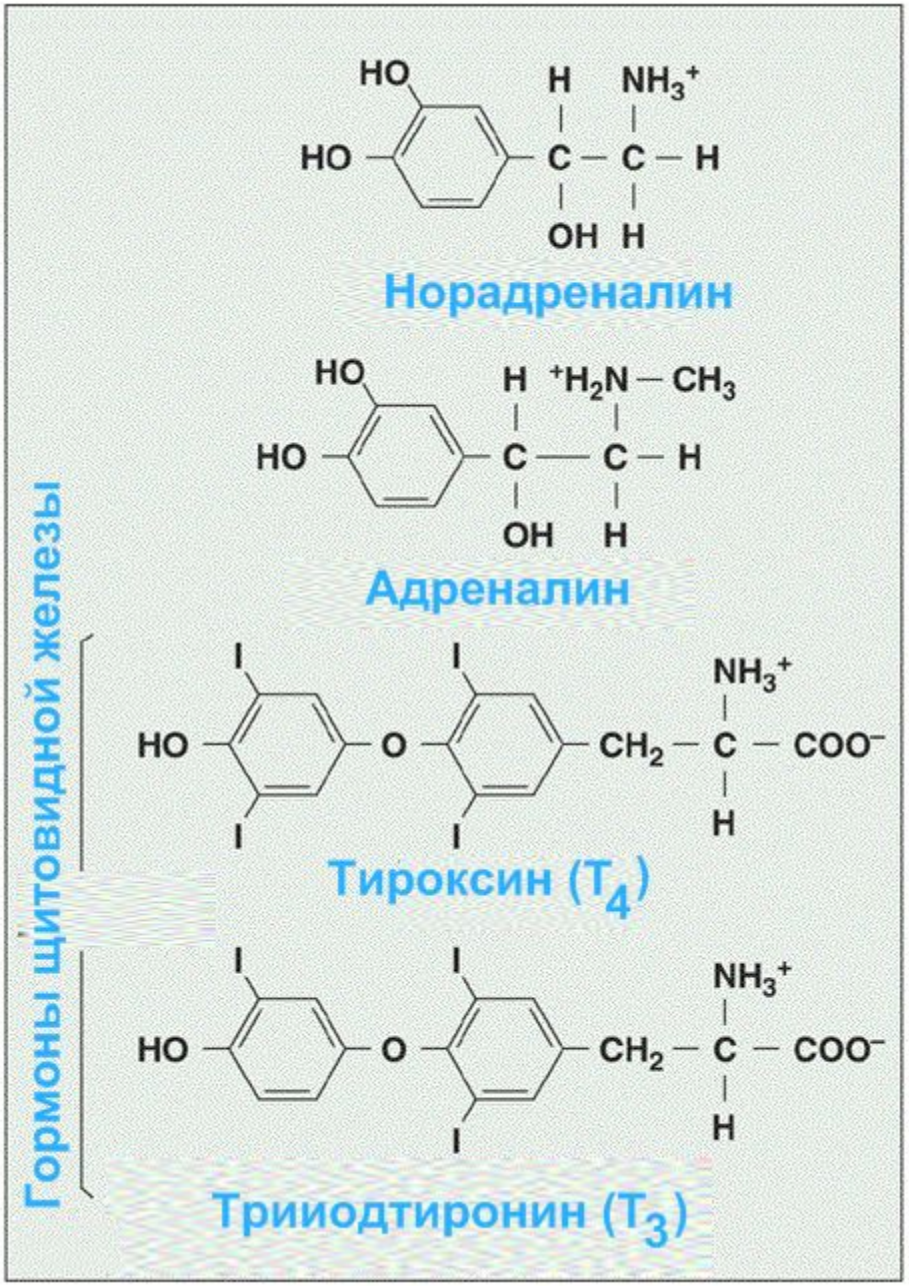


Тиреолиберин

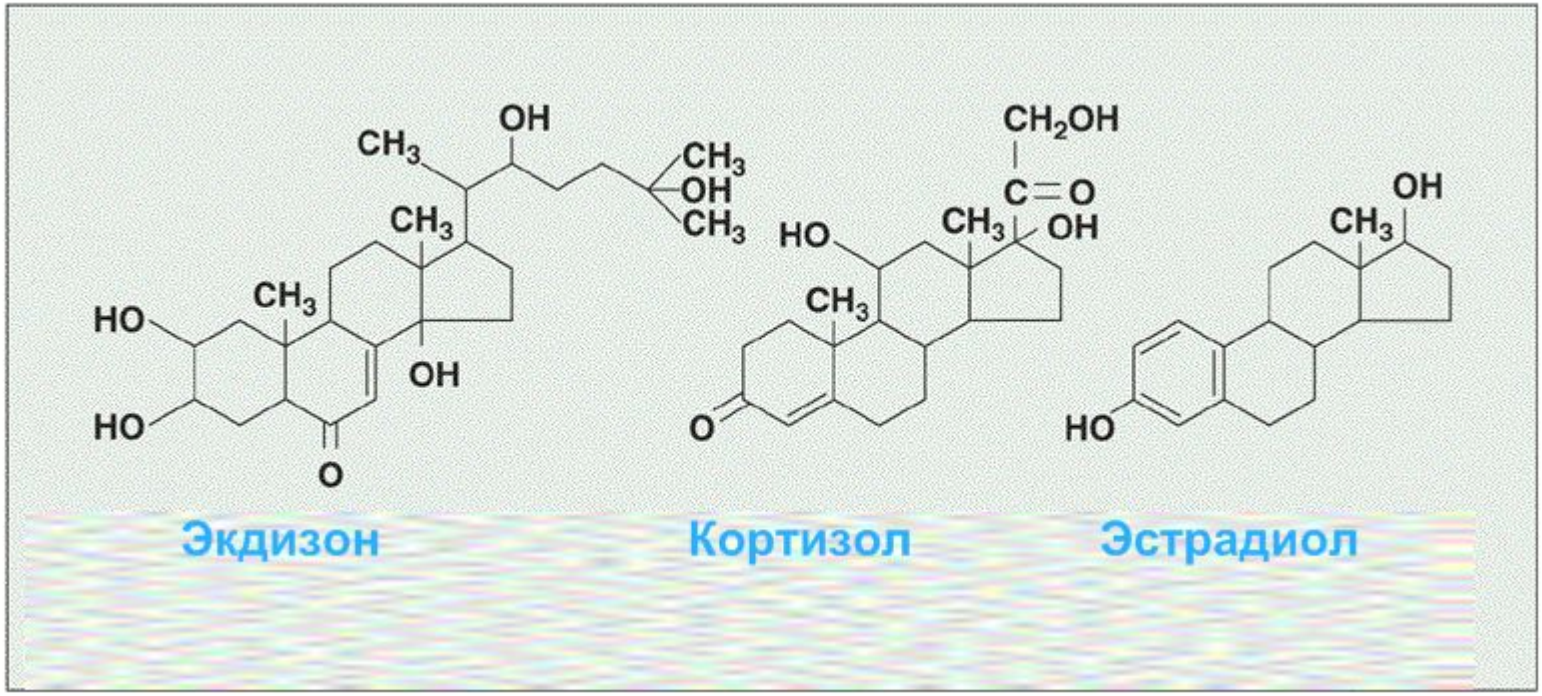
АКТГ

Сигналы – ***производные*** аминокислот

- *тирозина* :
  - *Тироксин,*
  - *трииодтиронин*
  - *адреналин,*
  - *норадреналин*
- *триптофана*
  - *-серотонин*
  - *-мелатонин*

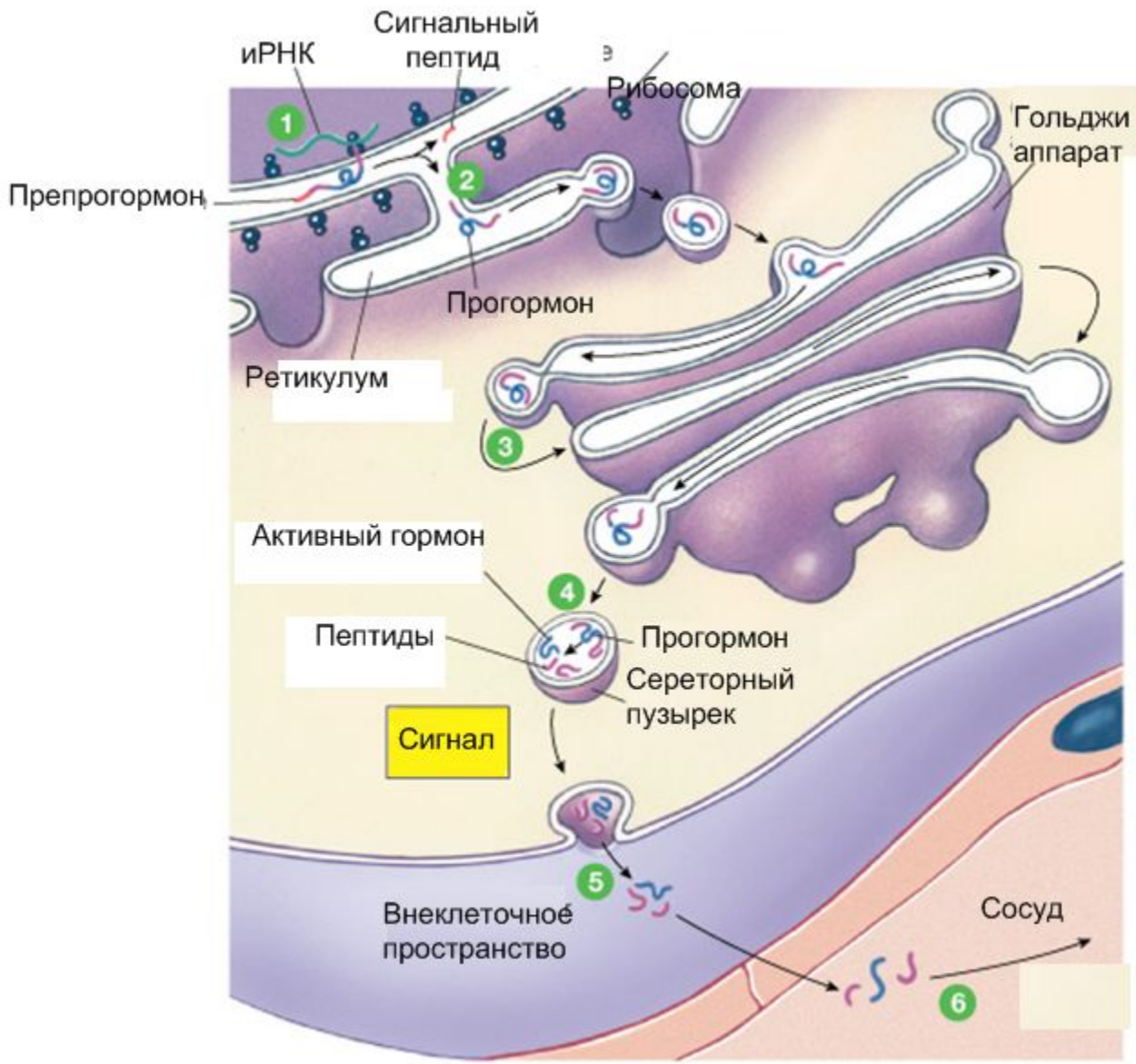


Стероиды (производные холестерола и других полиизопренов)



- *Производные С20 ненасыщенных жирных кислот (эйкозаноиды)*

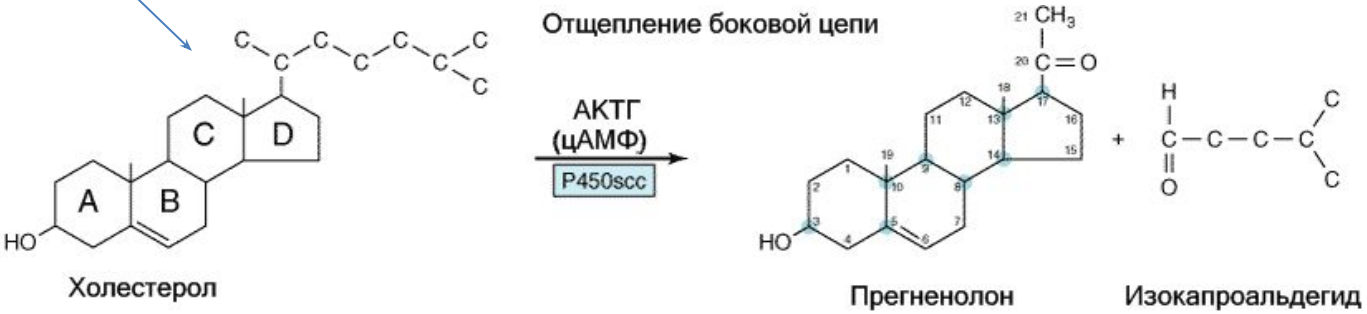
Механизмы синтеза сигнальных молекул определяются их химической структурой



1. На рибосомах по иРНК собирается препрогормон, Сигнальный пептид помогает ему пройти в ЭПР
2. Фепменты ЭПР удаляют сигальный пептид. Образуется прогормон
3. Прогормон проходит из ЭПР в аппарат Гольджи
4. Секреторные пузырьки содержащие прогормон и ферменты встраиваются в аппарат Гольджи и ферменты превращают прогормон в гормон(ы) и дополнительные пептиды
5. Путем экзоцитоза сереторные пузырьки высвобождают гормоны во внеклеточное пространство
6. По сосудам гормон доставляется к органам-мишеням

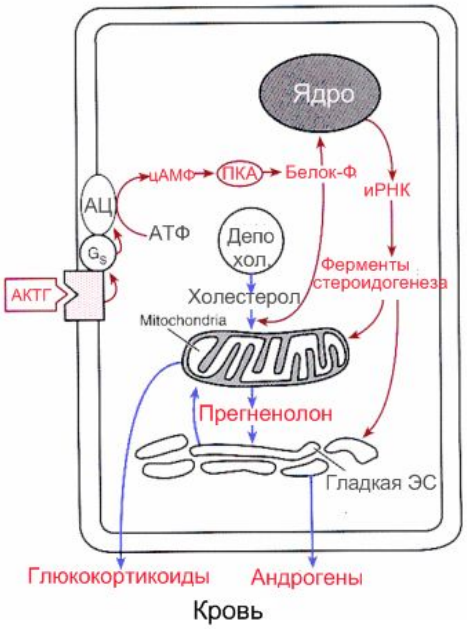
Синтез производных холестерола

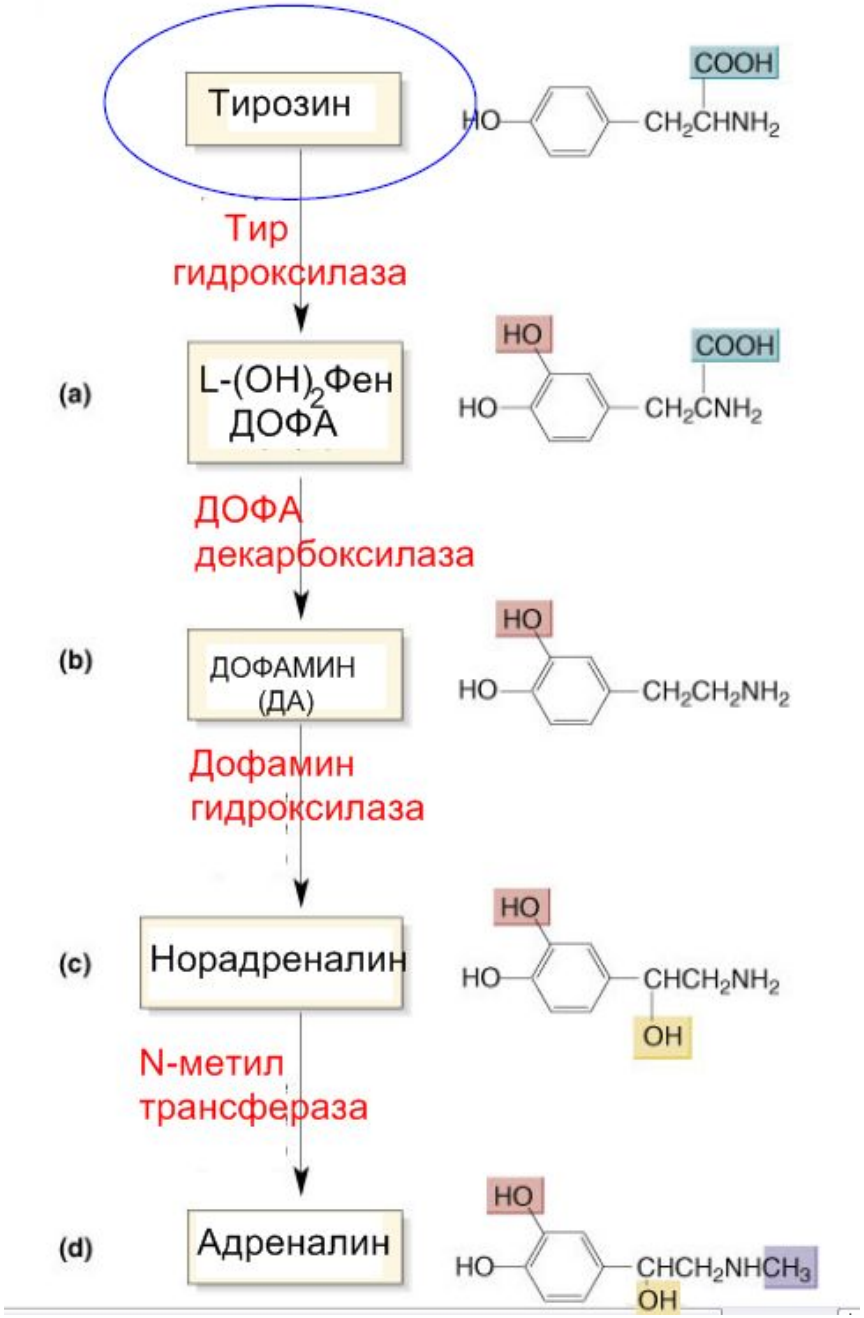
Ацетил-КоА



Базовая структура стероидных гормонов

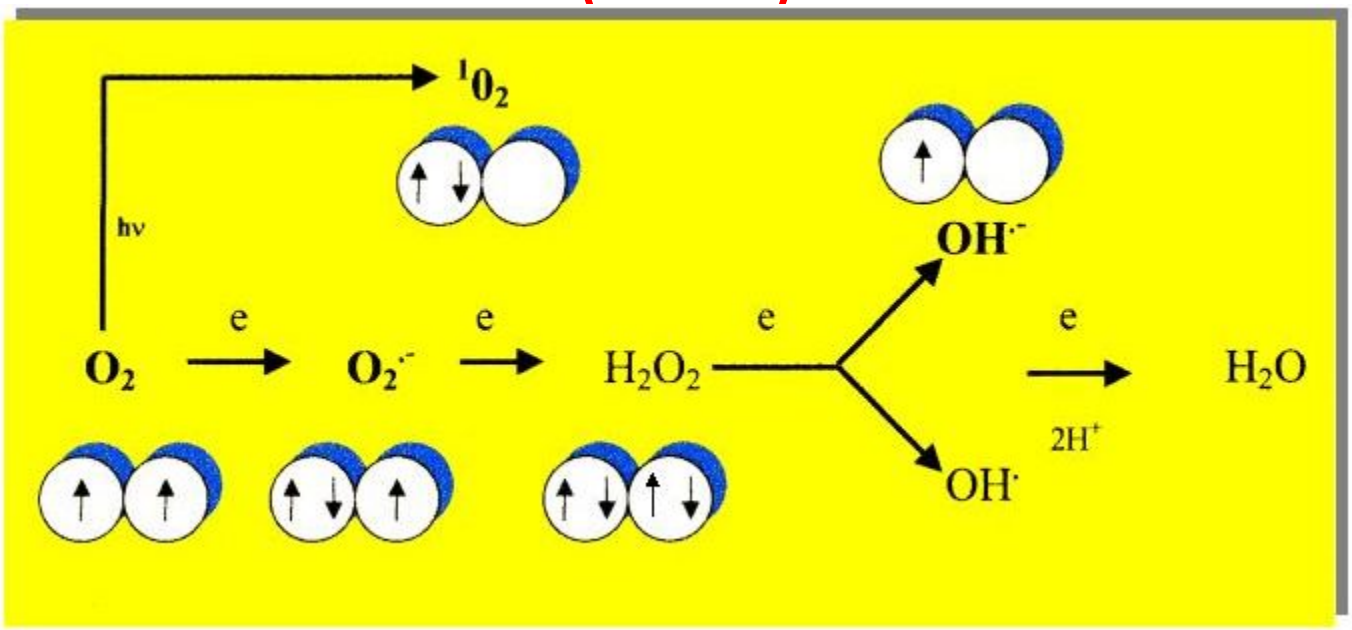
Copyright ©2006 by The McGraw-Hill Companies, Inc.
All rights reserved.





Синтез производных арахидоновой кислоты см. лекции по обмену липидов.

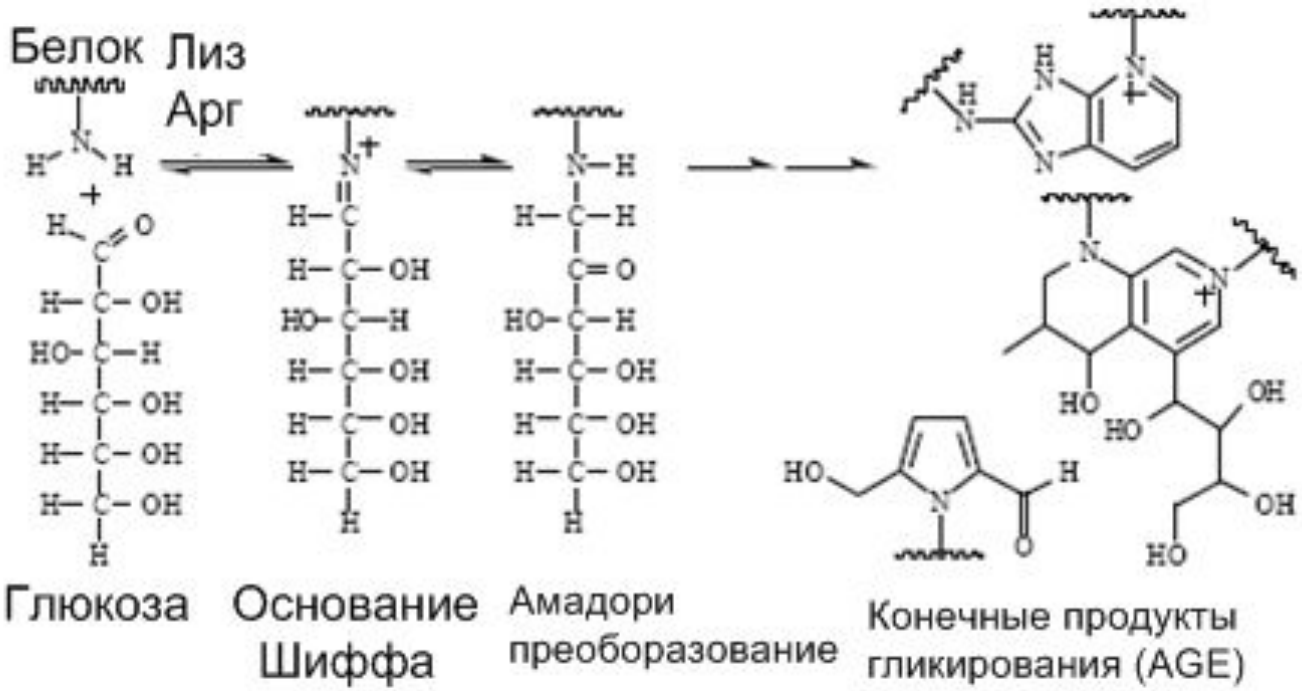
Сигналы: активные формы кислорода (АФК)



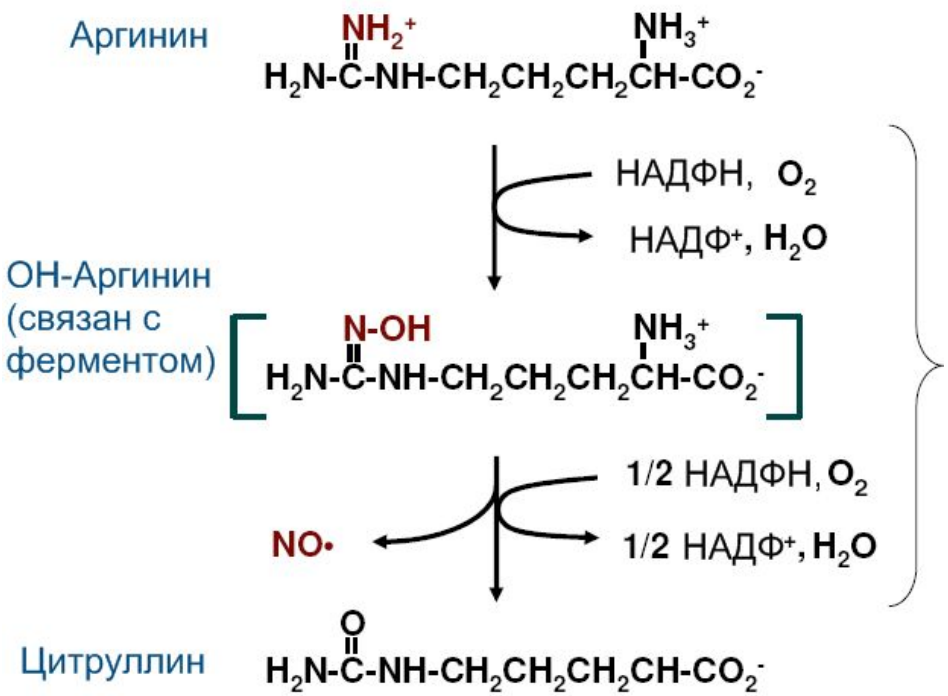
Источники :

- Дыхательная цепь митохондрий
- Микросомальное окисление (цитохромы P450 и b5)
- Мембранные ферменты- липооксигеназы, МАО и другие оксидазы пероксисом, НАДФН оксидазы и др

Сигналы: AGE (advanced glycation end products)
Конечные продукты гликирования белков



Оксид азота (NO) образуется из аргинина



Фермент синтаза оксида азота (NOS) содержит четыре кофермента –ФАД, ФМН, гем и тетрагидроптерин и катализирует обе стадии этой реакции

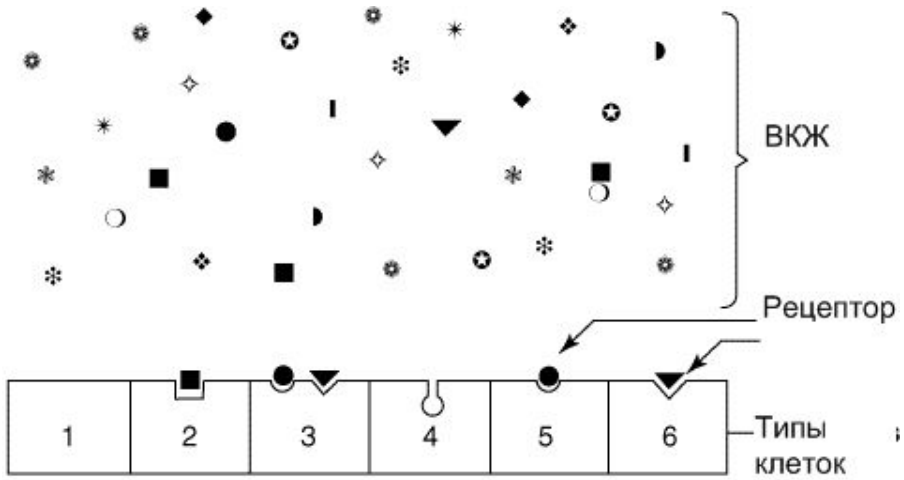
NO – короткоживущий посредник (мессенжер), участвующий в регуляции артериального давления, свертывания крови и проведения нервных импульсов. NO связывается с гуанилатциклазой и активирует образование цГМФ вторичного посредника сигнальных систем клеток.

Свойства сигналов

- **Плейотропия – один и тот же сигнал действует на разные клетки, имеющие разные функции**
- **Избыточность – разные сигналы оказывают одинаковый эффект**
- **Синергичность – сигналы усиливают действие друг друга**
- **Антагонизм – сигналы уменьшают действие друг друга**
- **Каскадная индукция – значительное увеличение эффективности сигнала –одни сигналы индуцируют образование других**

Особенности сигнальной регуляции

Концентрация сигналов во внеклеточной жидкости низкая - от 10^{-15} до 10^{-9} моль/л, а концентрация многих подобных по структуре молекул (стерины, аминокислоты, пептиды, белки) и других молекул во внеклеточной жидкости во много раз больше - от 10^{-5} до 10^{-3} моль/л.



Copyright ©2006 by The McGraw-Hill Companies, Inc.
All rights reserved.

Поэтому клетки - мишени должны уметь не только различать разные сигнальные молекулы , но и отличать их от структурно схожих молекул, присутствующих в 10^{6} -10^{9}-кратном избытке. Такая высокая степень разрешающей способности обеспечивается специальными молекулами узнавания, названными ***рецепторами.***

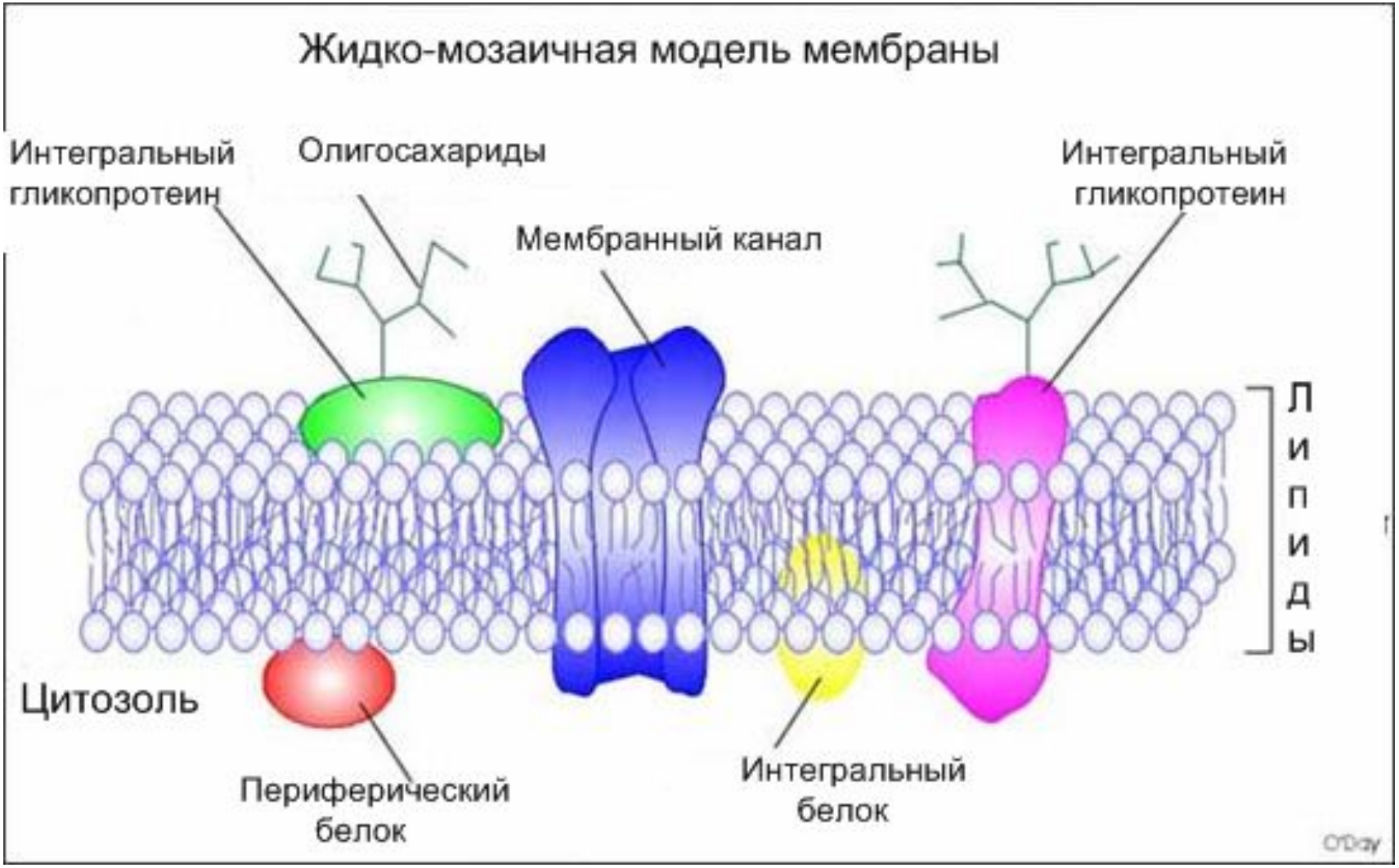
***Рецепторы** можно разделить на две большие группы – рецепторы, встроенные в плазматическую мембрану (наиболее распространенная группа) и внутриклеточные рецепторы (цитозольные и ядерные)*

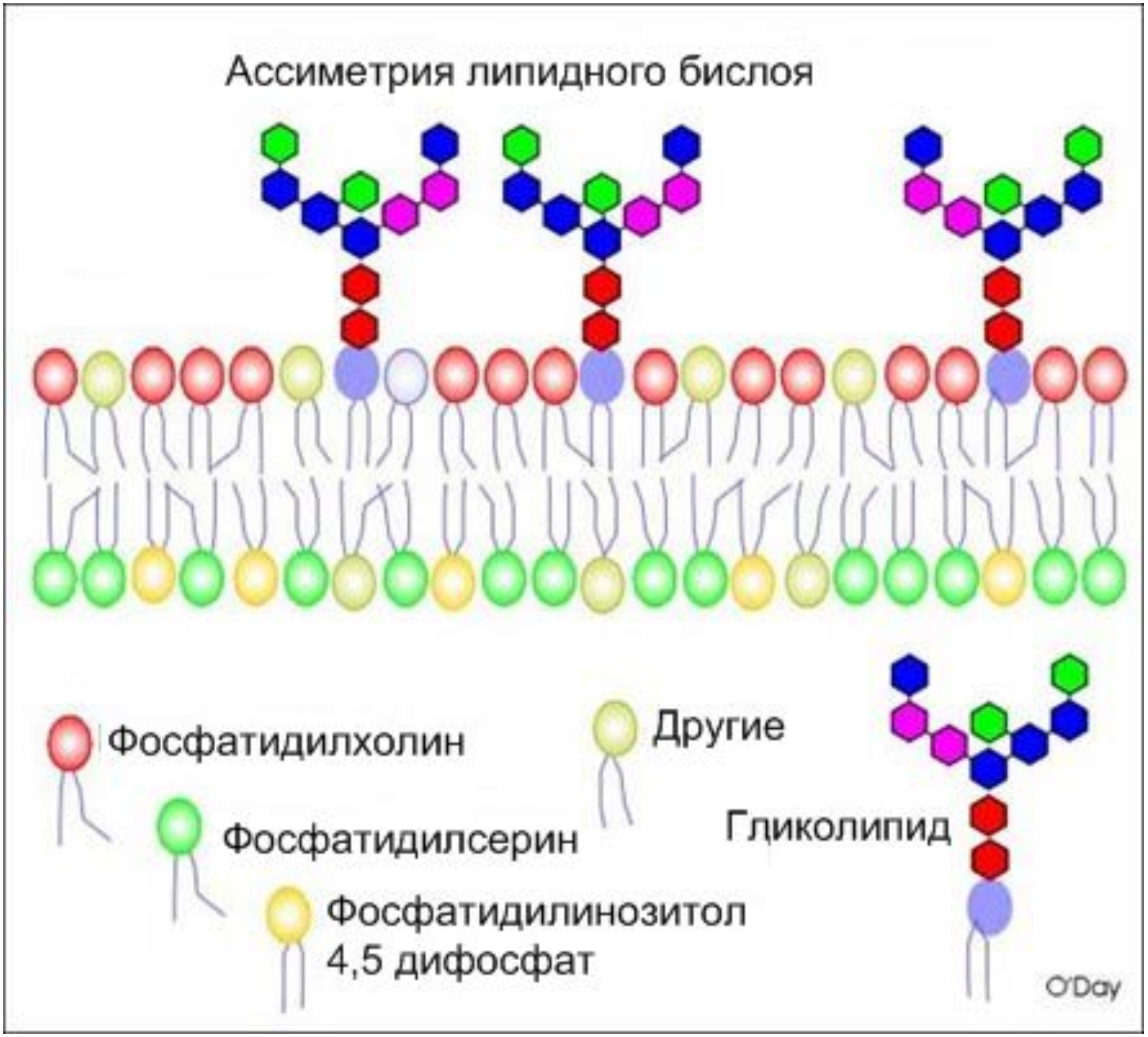
Рецепторы первой группы по способу организации их в мембране разделяют на :

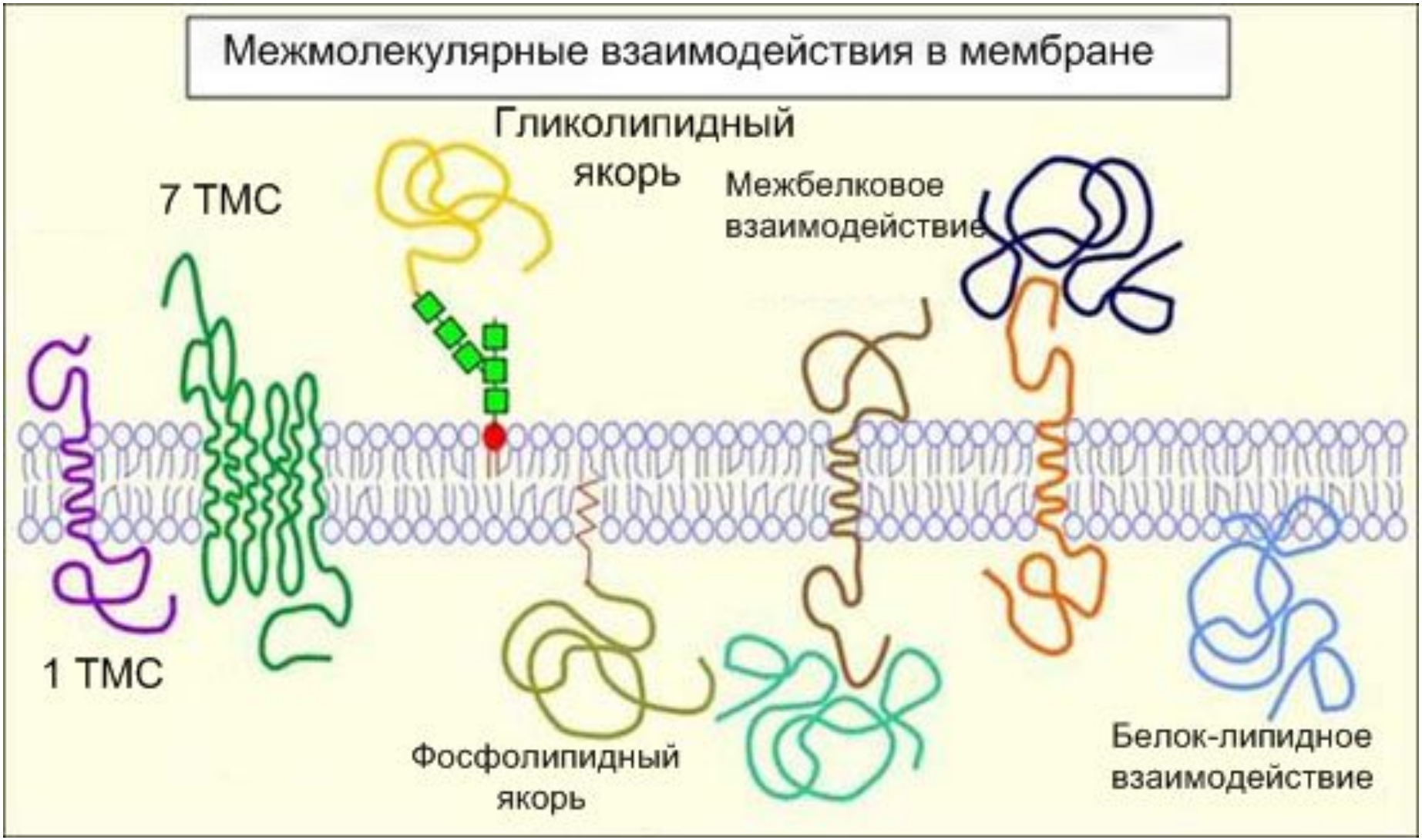
- ***7-ТМС -рецепторы***
- ***1-ТМС-рецепторы(наиболее разнообразная группа)***
- ***Рецепторы - ионные каналы***

Молекулы – рецепторы (R)

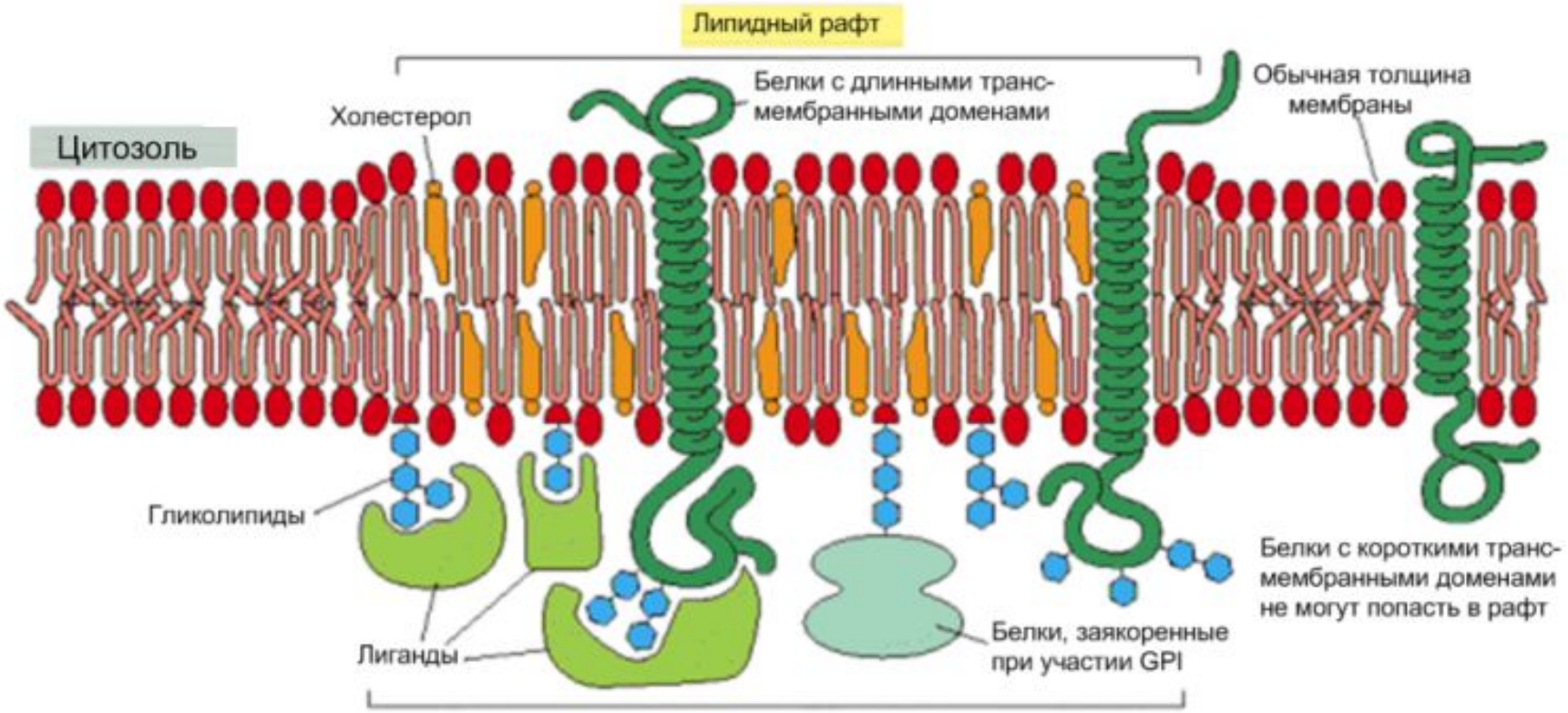
- 1. 7-ТМС-рецепторы или R, ассоциированные с тримерными G-белками
- 2. 1-ТМС -рецепторы
- a) R, не обладающие каталитической активностью, но ассоциированные с цитозольными тирозинкиназами.
- b) R, обладающие каталитической активностью (тирозинкиназы, гуанилатциклазы, протеинфосфатазы, серин/треонин киназы, и др)
- c) R – молекулы клеточной адгезии
- d) R, ассоциированные с процессами протеолиза
- 3.R – лигандзависимые ионные каналы (рецептор ацетилхолина, глутамата и др.)
- 4. Цитозольные и ядерные R.


Жидко-мозаичная модель мембраны
Интегральный гликопротеин
Олигосахариды
Мембранный канал
Интегральный гликопротеин
Липиды
Цитозоль
Периферический белок
Интегральный белок

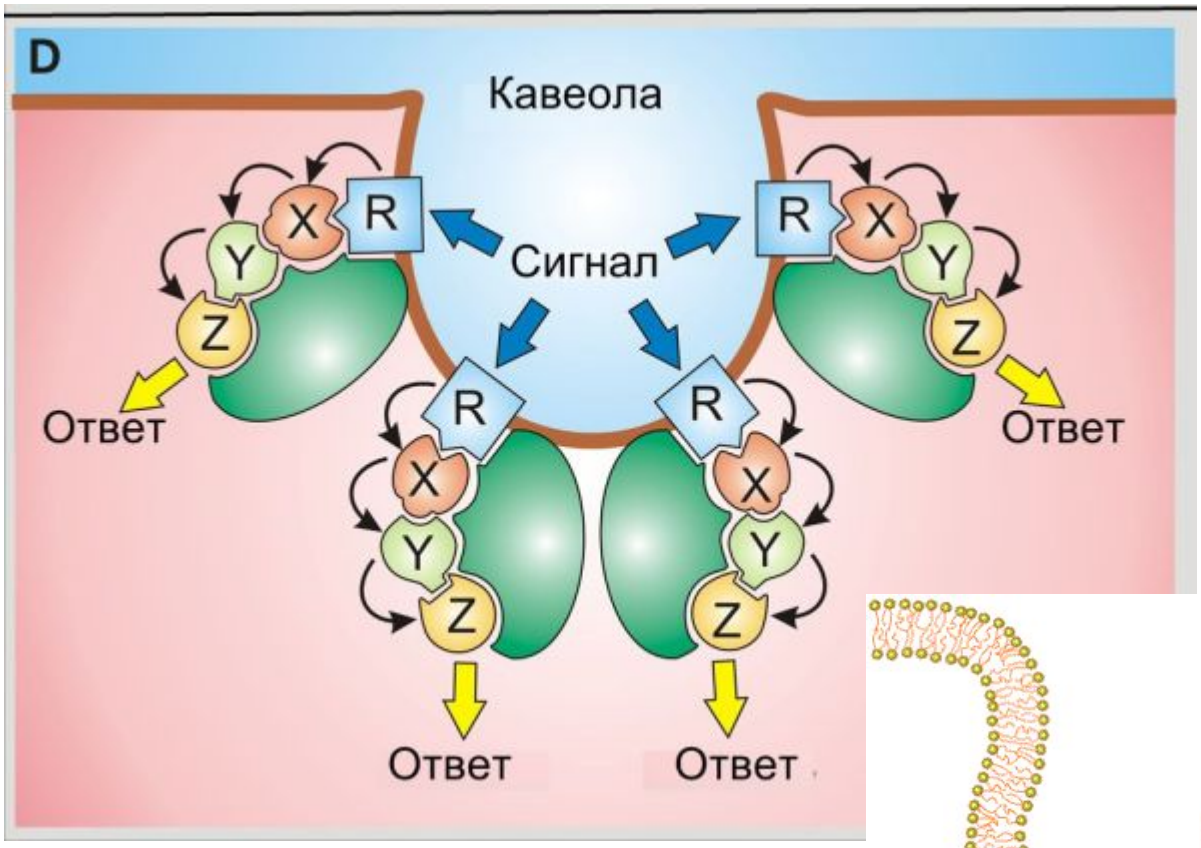

Ассиметрия липидного бислоя
Фосфатидилхолин
Другие
Фосфатидилсерин
Гликолипид
Фосфатидилинозитол
4,5 дифосфат
O'Day


Межмолекулярные взаимодействия в мембране
Гликолипидный якорь
7 ТМС
Межбелковое взаимодействие
1 ТМС
Фосфолипидный якорь
Белок-липидное взаимодействие

Рецепторы встроены в специальные участки мембран: рафты(«плоты»)



Рафты могут быть встроены в кавеолы



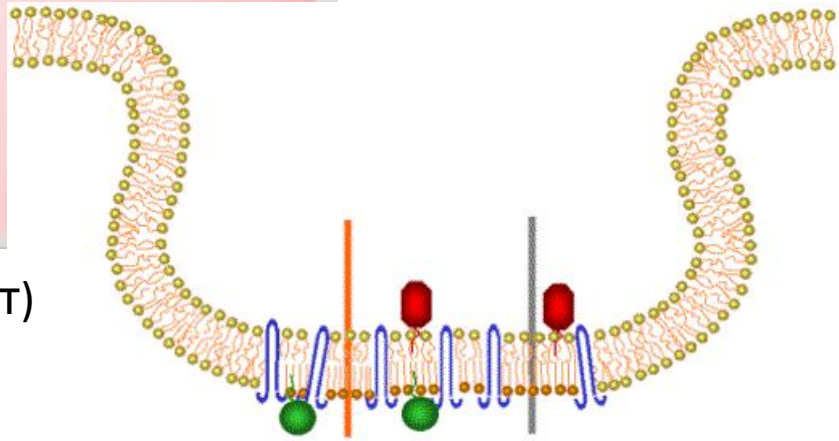
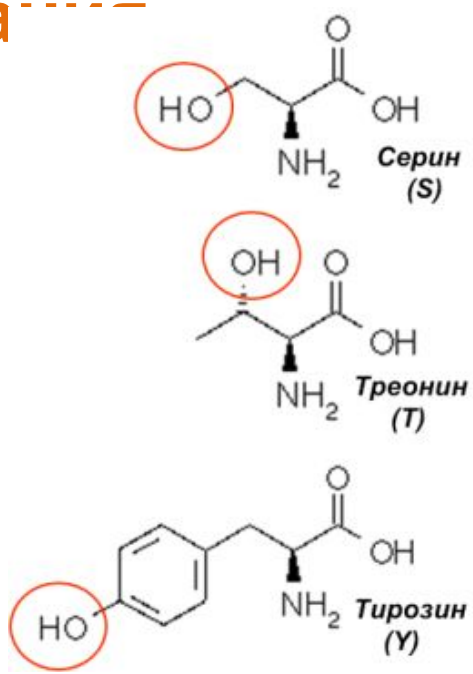
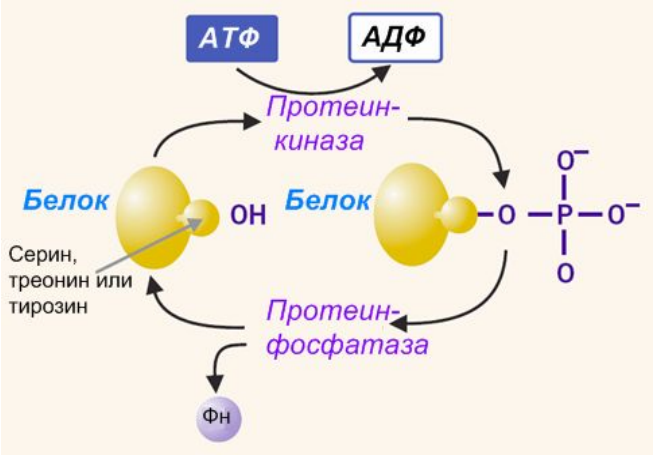


Рис. справа Кавеолин (голубой цвет)

В создании внутриклеточных путей передачи сигнала важную роль играют реакции фосфорилирования

- Фосфорилирование меняет функцию белков путем их аллостерической модуляции или изменяя их способность взаимодействовать с другими молекулами
- Фосфатная группа (PO_4) присоединяется к одной или нескольким аминокислотам белка (наиболее часто Сер, Тре, Тир)
- Ферменты, катализирующие фосфорилирование белков называются протеинкиназами
- Фосфорилирование обратимо – у каждой киназы – своя фосфатаза.





Одна из задач внутриклеточного переноса сигнала – усиление сигнала

У каждого рецептора - как минимум два домена:

•Домен, обеспечивающий специфическое узнавание сигнала

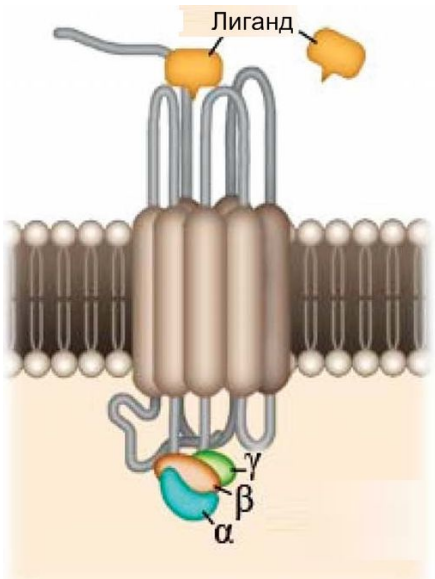
•Домен, обеспечивающий связь с системой усиления сигнала

Механизмы усиления сигнала зависят от типа рецептора:

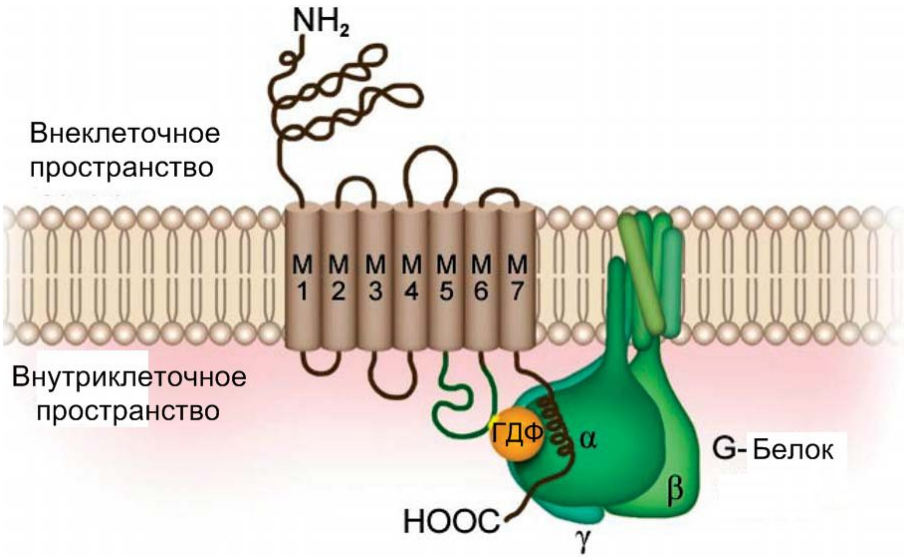
- В системе усиления сигналов **7-ТМС-рецепторами** усиление достигается синтезом небольших молекул- вторичных посредников
- В системе усиления сигналов **1-ТМС-рецепторами** усиление достигается при помощи специальных каскадов ферментов
- В системе усиления сигналов **рецепторами –ионными каналами** усиление достигается увеличением концентрации ионов в цитозоле
- **Ядерные рецепторы** после соединения с сигналами регулируют синтез белков –эффекторов

1. **7-ТМС-рецепторы** или рецепторы, ассоциированные с тримерными G-белками

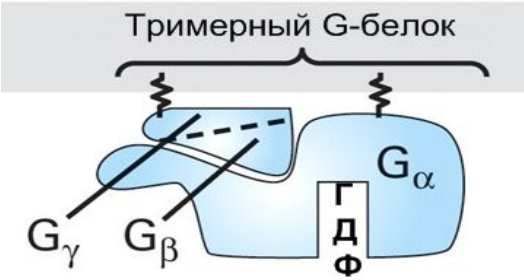
- **Среди мембранных рецепторов это наиболее распространенная группа рецепторов (>1% генома).**
- **Они построены из общей центральной структуры, образованной 7 трансмембранными спиральными доменами.**

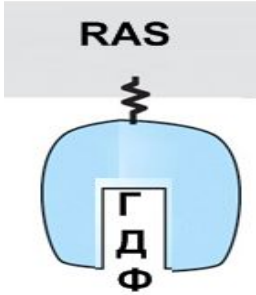


7-ТМС- рецептор в 3D форме



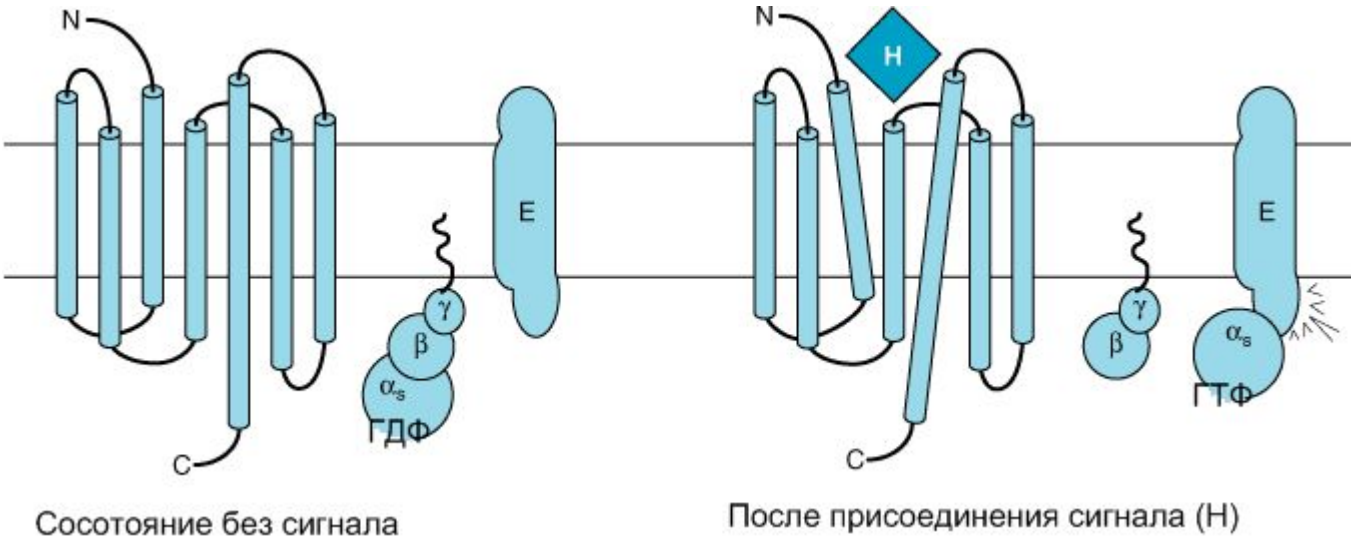
7-ТМС- рецептор в плоскости мембраны





Тримерный белок (α,β и γ)	Мономерный белок(RAS-Rat Sarcome)
При связывании с рецептором меняет ГДФ на ГТФ и диссоциирует на α и βγ субъединицы	Меняет ГДФ на ГТФ при помощи белков GEF(guanine exchange factor) Семейства Ras:Rho,Arf,Rab,Ran
Связывается прямо с рецептором	Непосредственно **не** связывается с рецептором
Участвует в образовании вторичных посредников цАМФ, ДАГ, Ca2+	Участвует в активировании МАПкиназ
Являются ГТФазами, обменивают ГДФ на ГТФ, при этом переходят в активное состояние, специальный белок GAP повышает их ГТФ азную	

Механизм работы 7-ТМС рецептора

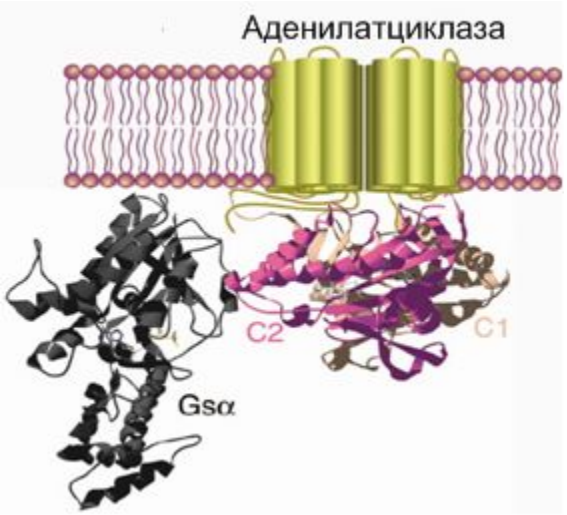


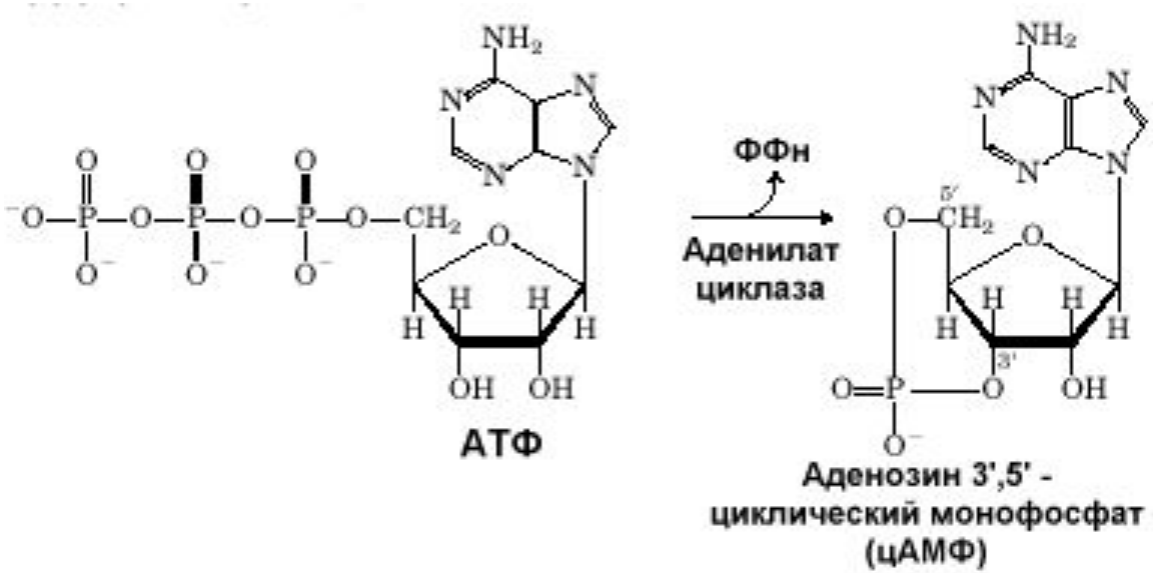
В зависимости от клеток фермент- эффектор (E) – это:

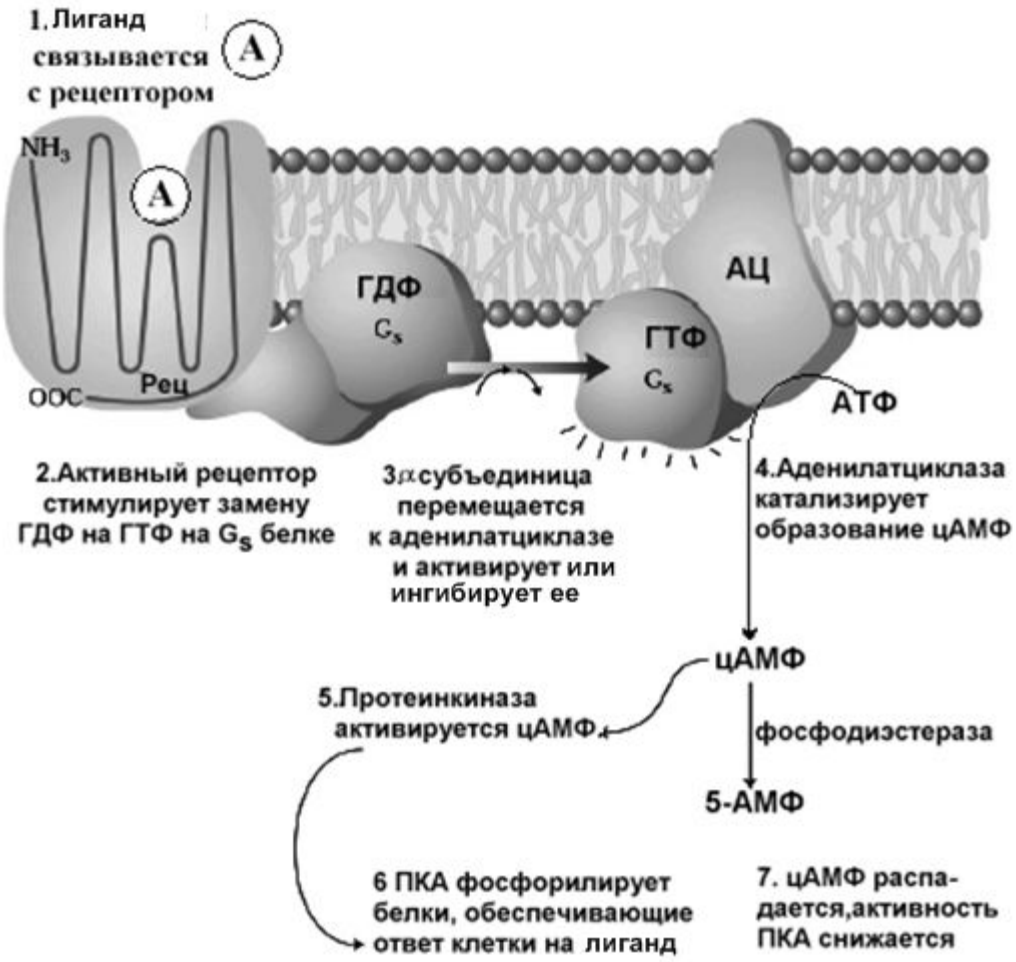
- Аденилатциклаза (G_s) или (G_i)
- Ca^{2+}, Na^{+}, Cl^{-} (G_s) или K^{+} каналы (G_i)
- Фосфолипаза Cβ (G_s)
- цГМФ-фосфодиэстераза (G_s)

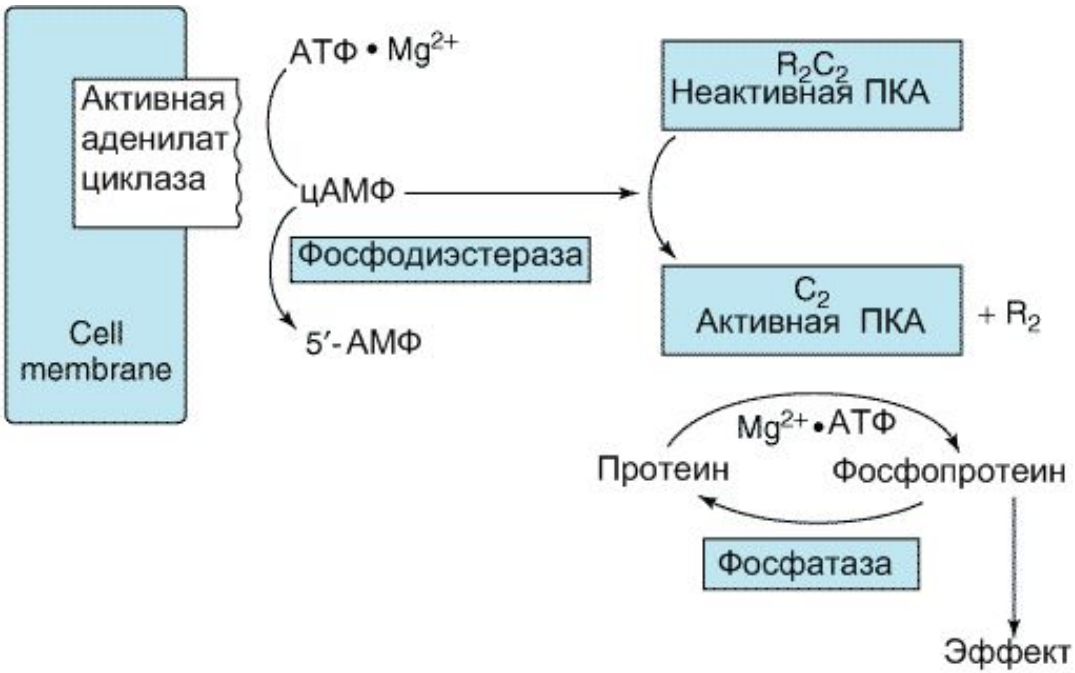
- (G_s) – белок G активирует фермент или канал
- (G_i) - белок G ингибирует фермент или канал

Вариант I E – это аденилатциклаза - мембранный белок, катализирующий образование цАМФ из АТФ. Изменяет свою активность при контакте с α-субъединицей G- белка.





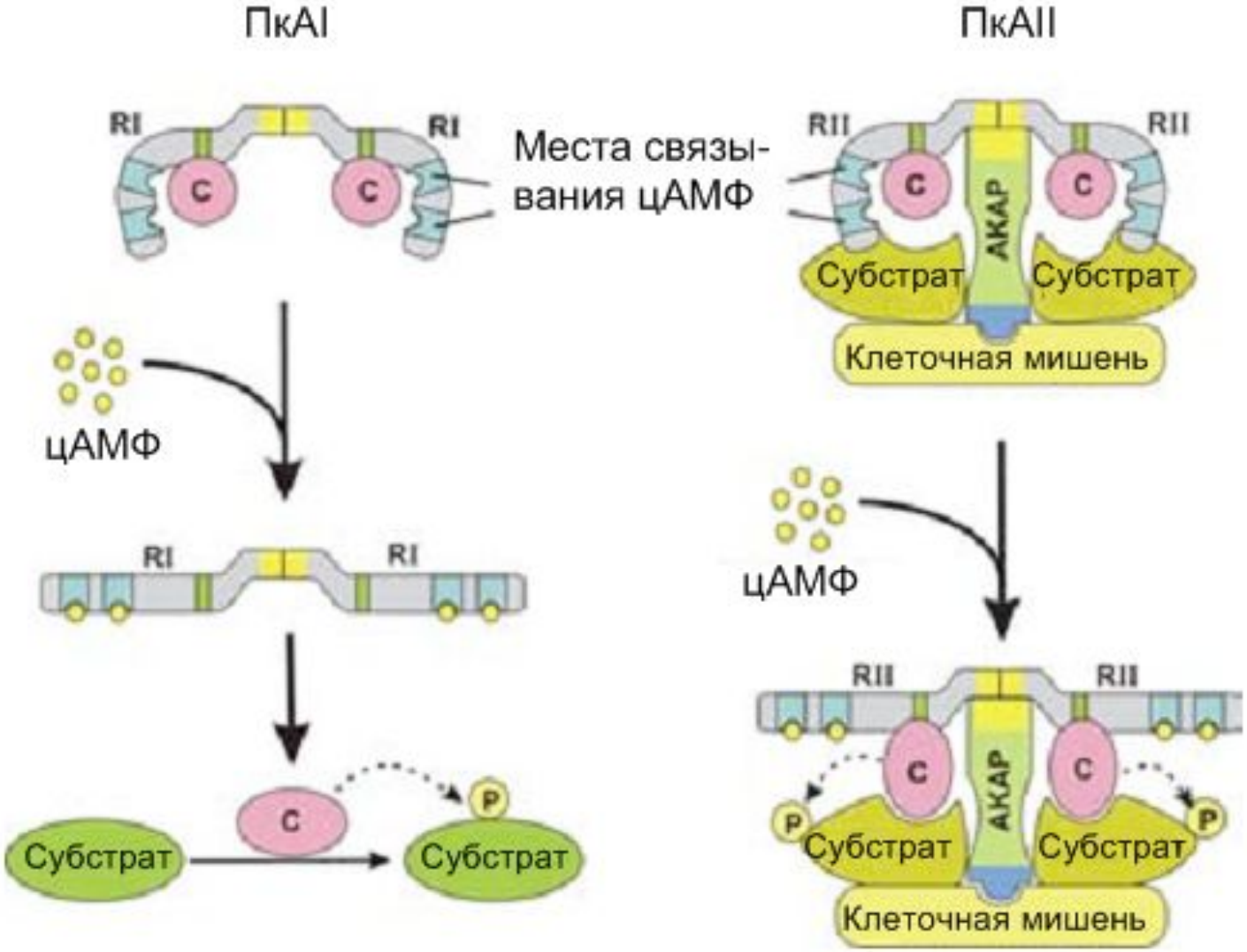

1.Лиганд связывается с рецептором
A
NH3
A
ООС
Рец
ГДФ
Gs
ГТФ
Gs
АЦ
АТФ
2.Активный рецептор стимулирует замену ГДФ на ГТФ на Gs белке
3α субъединица перемещается к аденилатциклазе и активирует или ингибирует ее
4.Аденилатциклаза катализирует образование цАМФ
цАМФ
5.Протеинкиназа активируется цАМФ
фосфодиэстераза
5-АМФ
6 ПКА фосфорилирует белки, обеспечивающие ответ клетки на лиганд
7. цАМФ распадается,активность ПКА снижается

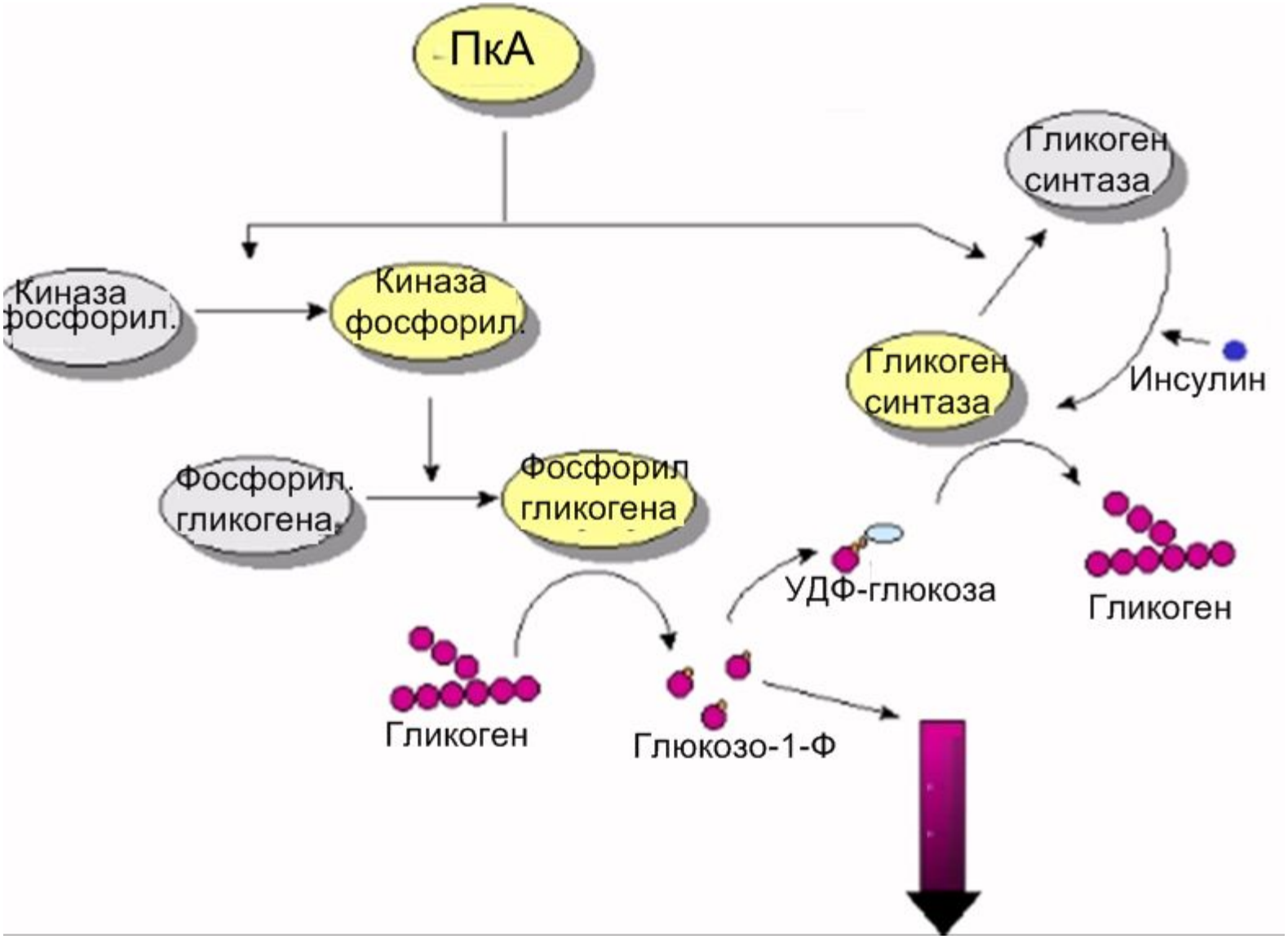


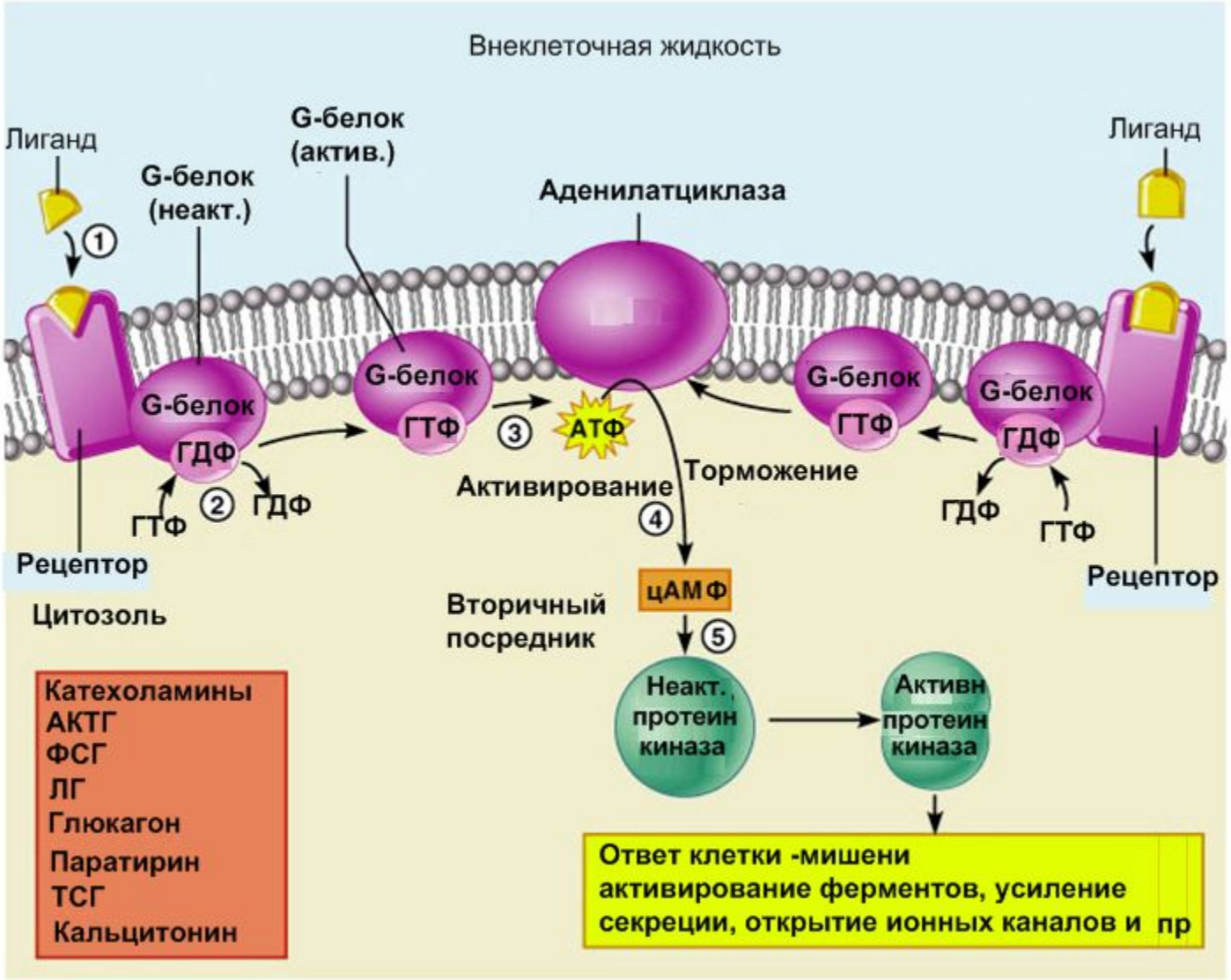
Сигналы, которые **активируют** образование цАМФ:
АКТГ, АДГ, кальцитонин, кортиколиберин, ФСГ, ЛГ, глюкагон, ТСГ, паратирин, адреналин (β-адренэрг. рецепторы) Эти сигналы работают с G(s) белками

Сигналы, которые **тормозят** образование цАМФ:
ацетилхолин, адреналин (α2 адренэрг. рецепторы), ангиотензин II, соматостатин. Эти сигналы работают с G(i) белками

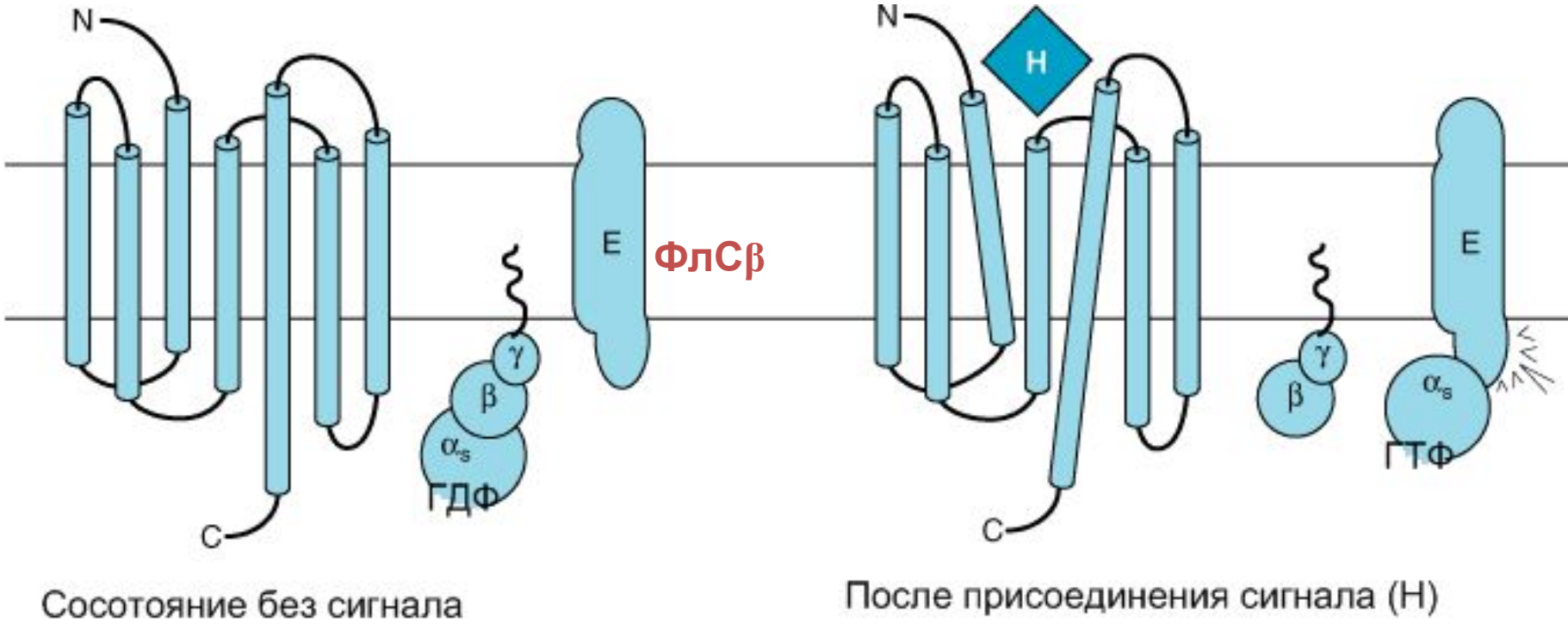
Механизм действия вторичных посредников и еще раз к роли протеинкиназ




ПкА
Гликоген синтаза
Киназа фосфорил.
Киназа фосфорил.
Гликоген синтаза
Инсулин
Фосфорил. гликогена
Фосфорил гликогена
УДФ-глюкоза
Гликоген
Гликоген
Глюкозо-1-Ф

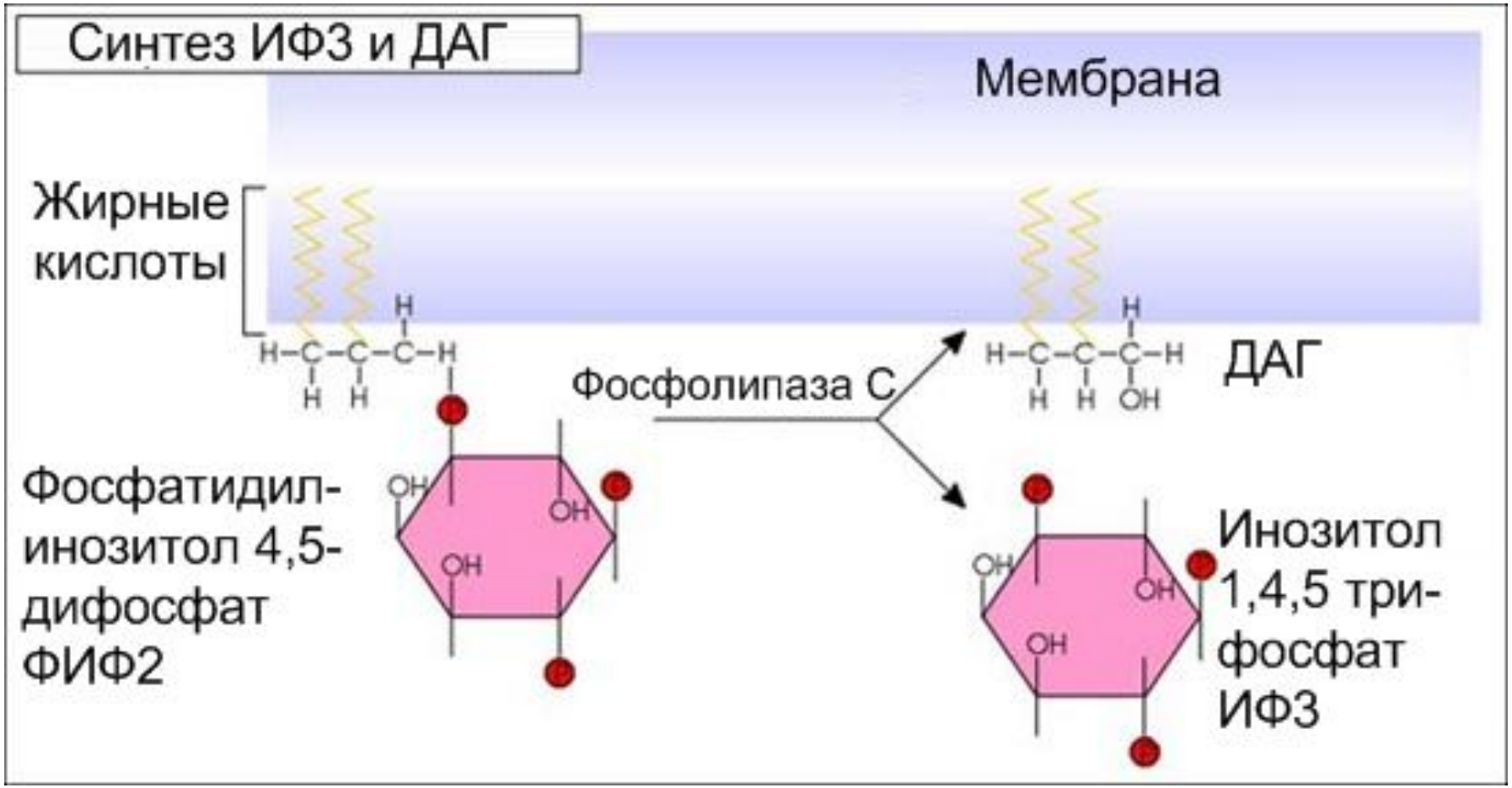

Внеклеточная жидкость
Лиганд
G-белок (неакт.)
G-белок (актив.)
Аденилатциклаза
Лиганд
1
G-белок
ГДФ
G-белок
ГТФ
3
АТФ
G-белок
ГТФ
G-белок
ГДФ
ГТФ
2
ГДФ
Активирование
Торможение
4
ГДФ
ГТФ
Рецептор
Цитозоль
Вторичный посредник
цАМФ
5
Рецептор
Неакт. протеин киназа
Активн протеин киназа
Катехоламины
АКТГ
ФСГ
ЛГ
Глюкагон
Паратирин
ТСГ
Кальцитонин
Ответ клетки -мишени
активирование ферментов, усиление секреции, открытие ионных каналов и пр

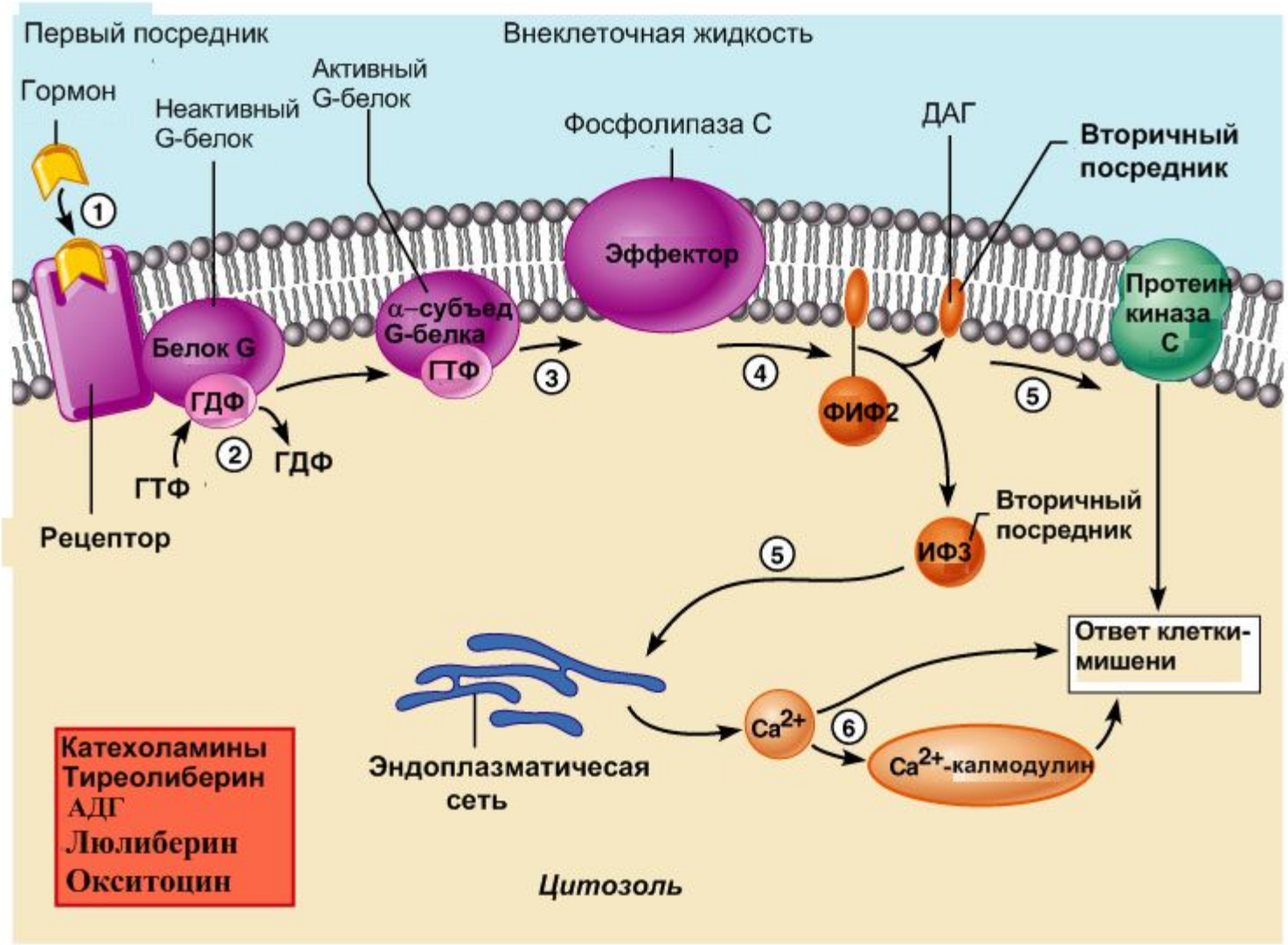
Еще один вариант работы 7 ТМС рецептора

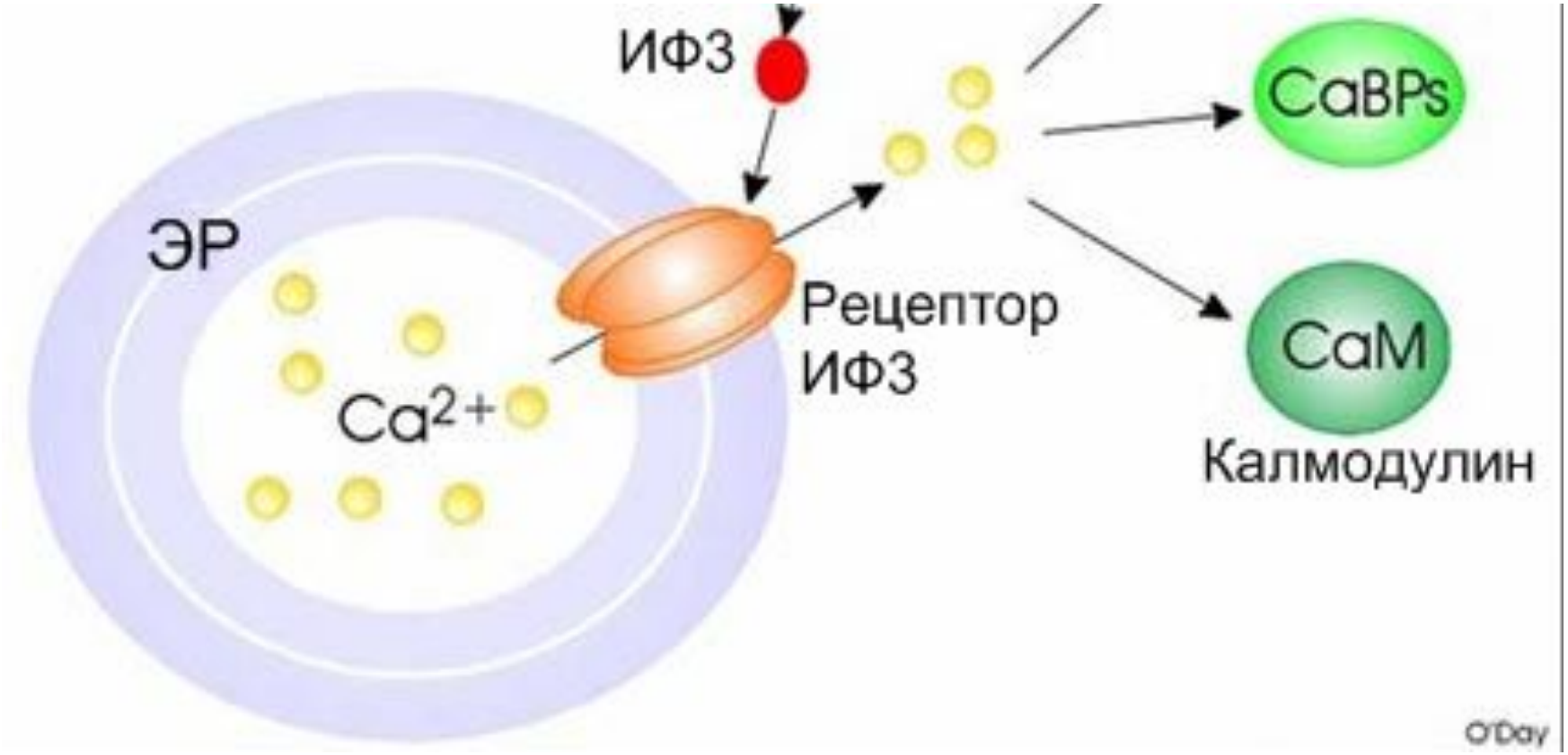


Вариант II E – это фосфолипаза Cβ

Фосфолипаза Cβ -мембранный белок, катализирующий гидролиз фосфатидил инозитолфосфата с образованием ДАГ и инозитол трифосфата (ИФ3). Изменяет свою активность при контакте с α-субъединицей G белка.



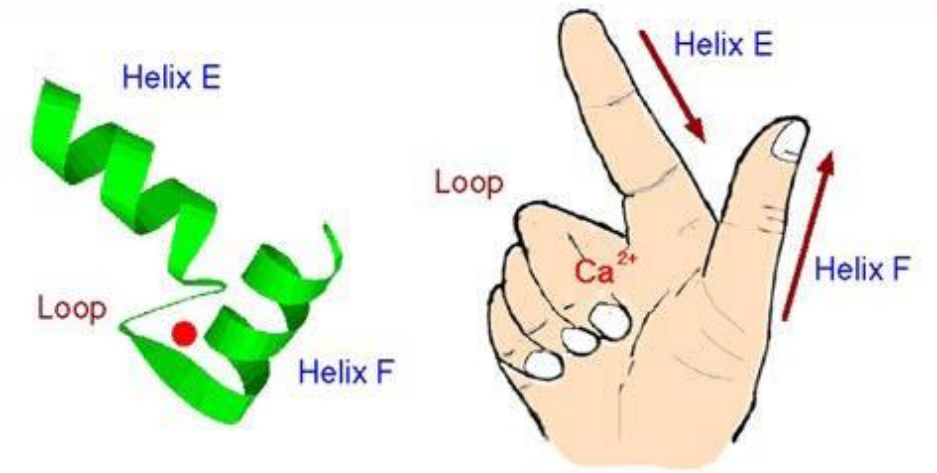

Первый посредник
Внеклеточная жидкость
Гормон
Неактивный G-белок
Активный G-белок
Фосфолипаза С
ДАГ
Вторичный посредник
Эффектор
Белок G
ГДФ
α–субъед G-белка
ГТФ
ГДФ
ГТФ
Рецептор
ФИФ2
Протеин киназа С
Вторичный посредник
ИФ3
Ответ клетки-мишени
Эндоплазматичесая сеть
Ca2+
Ca2+-калмодулин
Катехоламины
Тиреолиберин
АДГ
Люлиберин
Окситоцин
Цитозоль

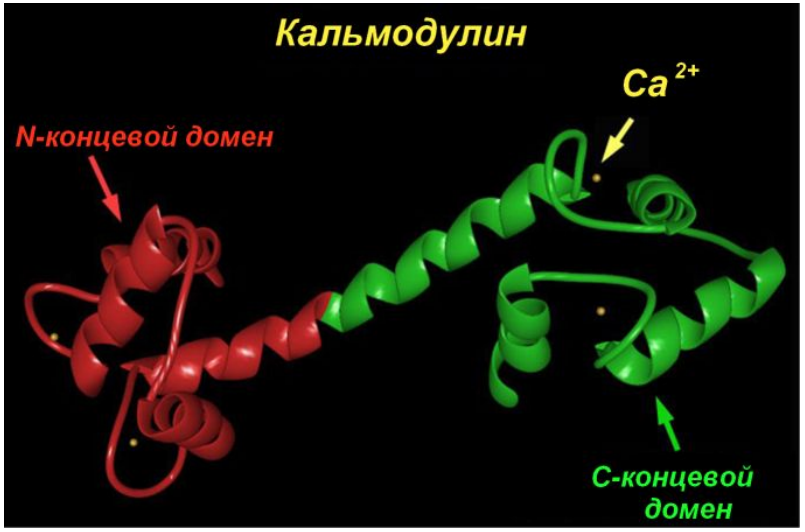


CaBPs- белки, связывающие кальций

EF-hand - белки:

Названы по форме, образуемой E и F α-спиралями Ca^{++}-связывающего домена; высокое сродство к кальцию



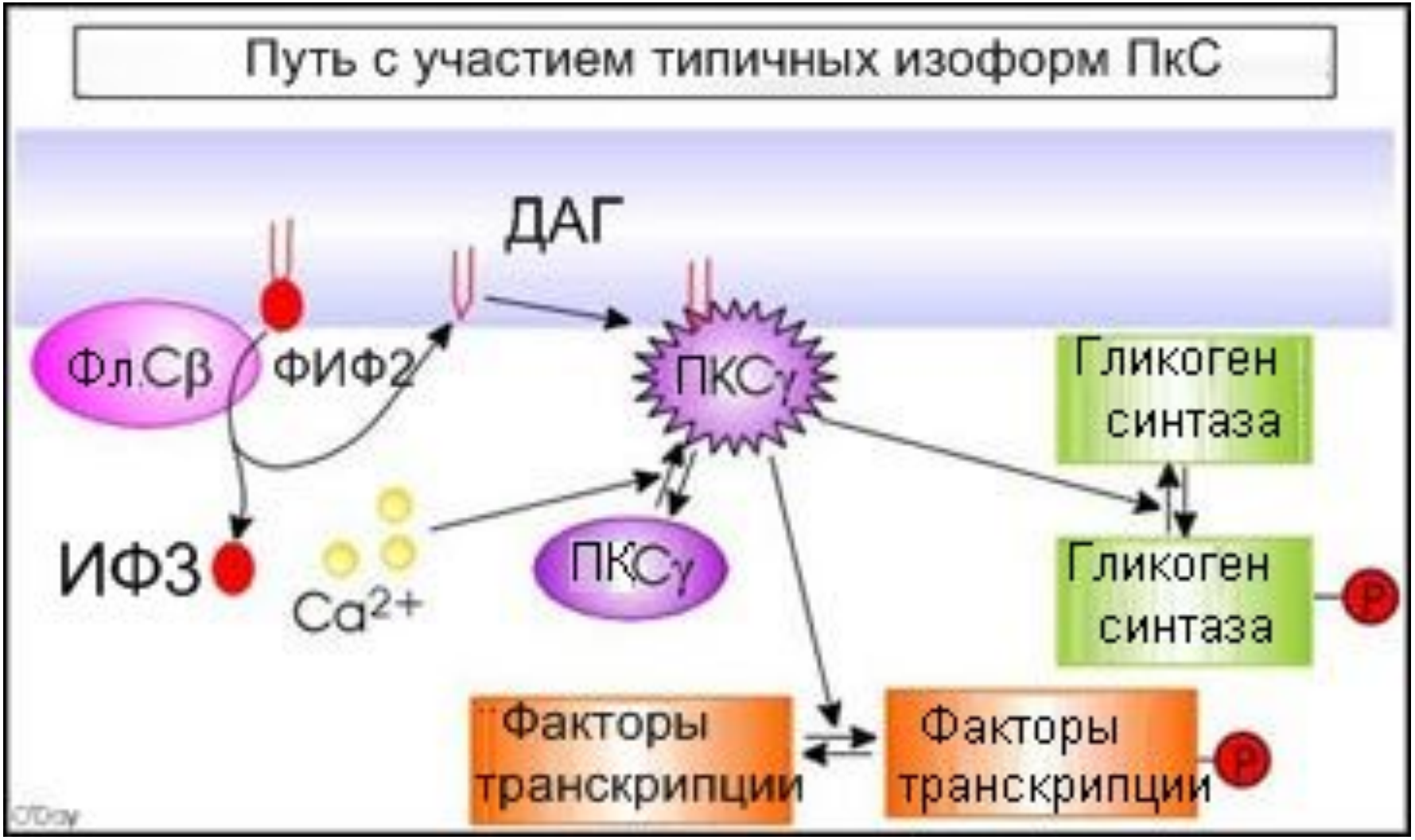


–<u>Кальмодулин</u>: синтезируется всеми клетками; связывает 4 иона Ca^{++}; действует путем активирования или протеинкиназ (CaМК) или протеин фосфатаз (кальциневрин); активирует цАМФ фосфодиэстеразу

–(более 100 разных белков связаны с кальмодулином)

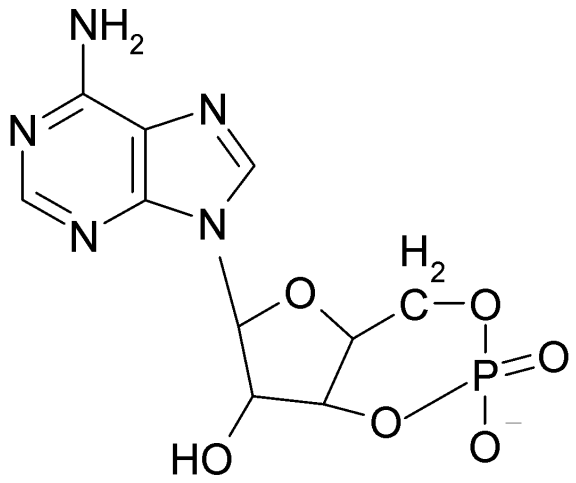
Ферменты, активируемые калмодулином
Аденилатциклаза
Ca^{2+}-зависимая протеинкиназа
Ca^{2+}-Mg^{2+} АТФаза
Ca^{2+}-фосфолипидзависимая протеинкиназа
Фосфодиэстераза циклических нуклеотидов
Некоторые белки цитоскелета
Ионные каналы(L-тип Ca2+ канал)
NO синтаза
Киназа фосфорилазы
Фосфопротеинфосфатаза 2B
Некоторые рецепторы (NMDA-тип глутаматного рецептора)

А что ДАГ?

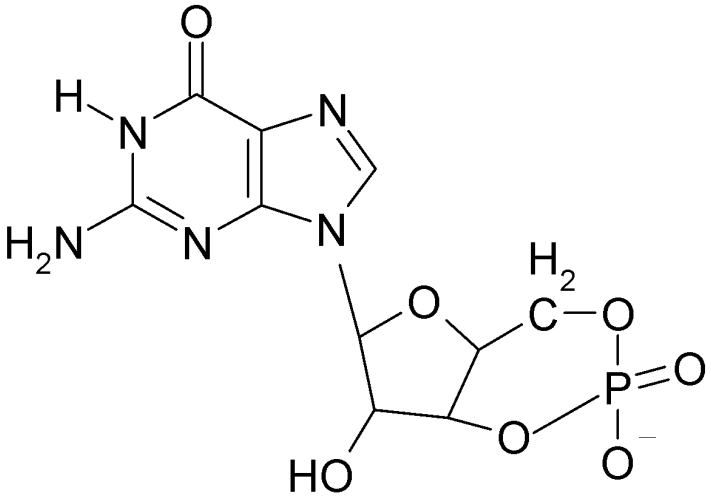


Или может стать субстратом для получения арахидоновой кислоты, необходимой для синтеза простагландинов

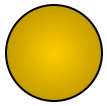
Примеры вторичных посредников, образуемых с участием 7-ТМС рецепторов



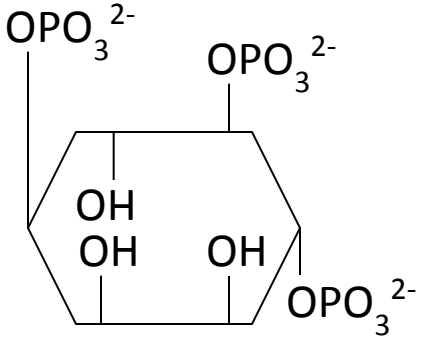
цАМФ



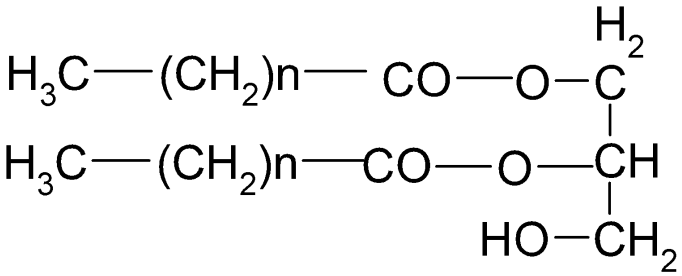
цГМФ



Ca^{2+}



ИзФ

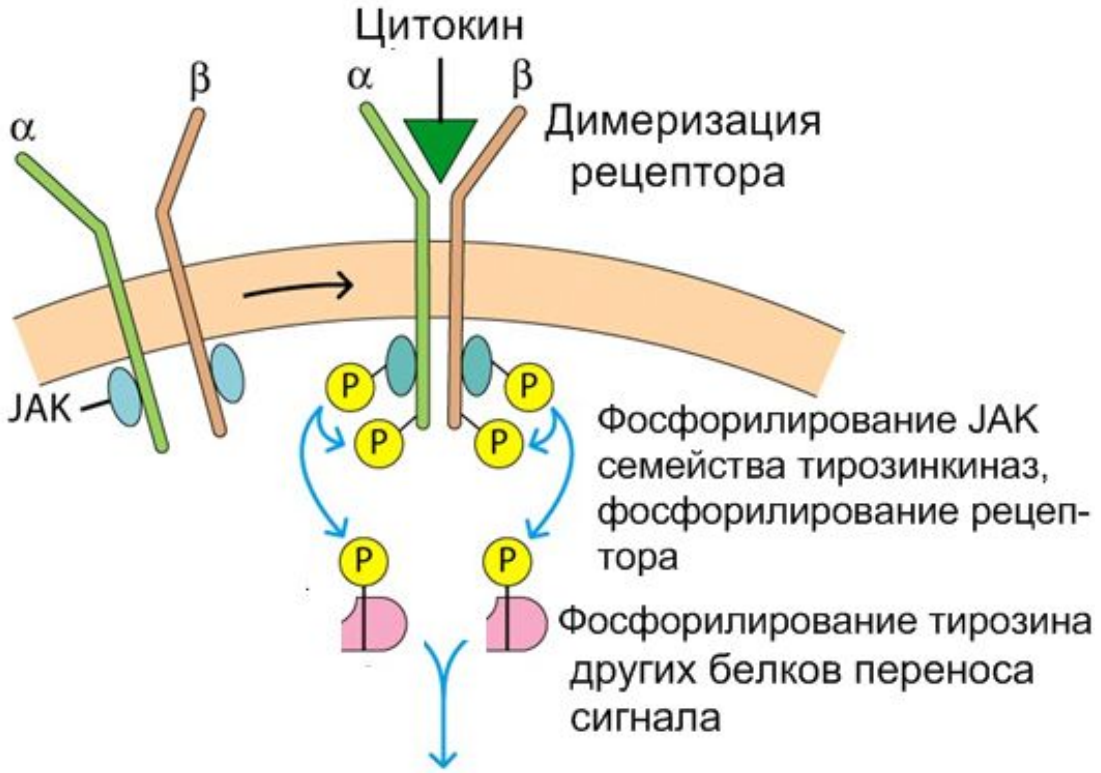


ДАГ

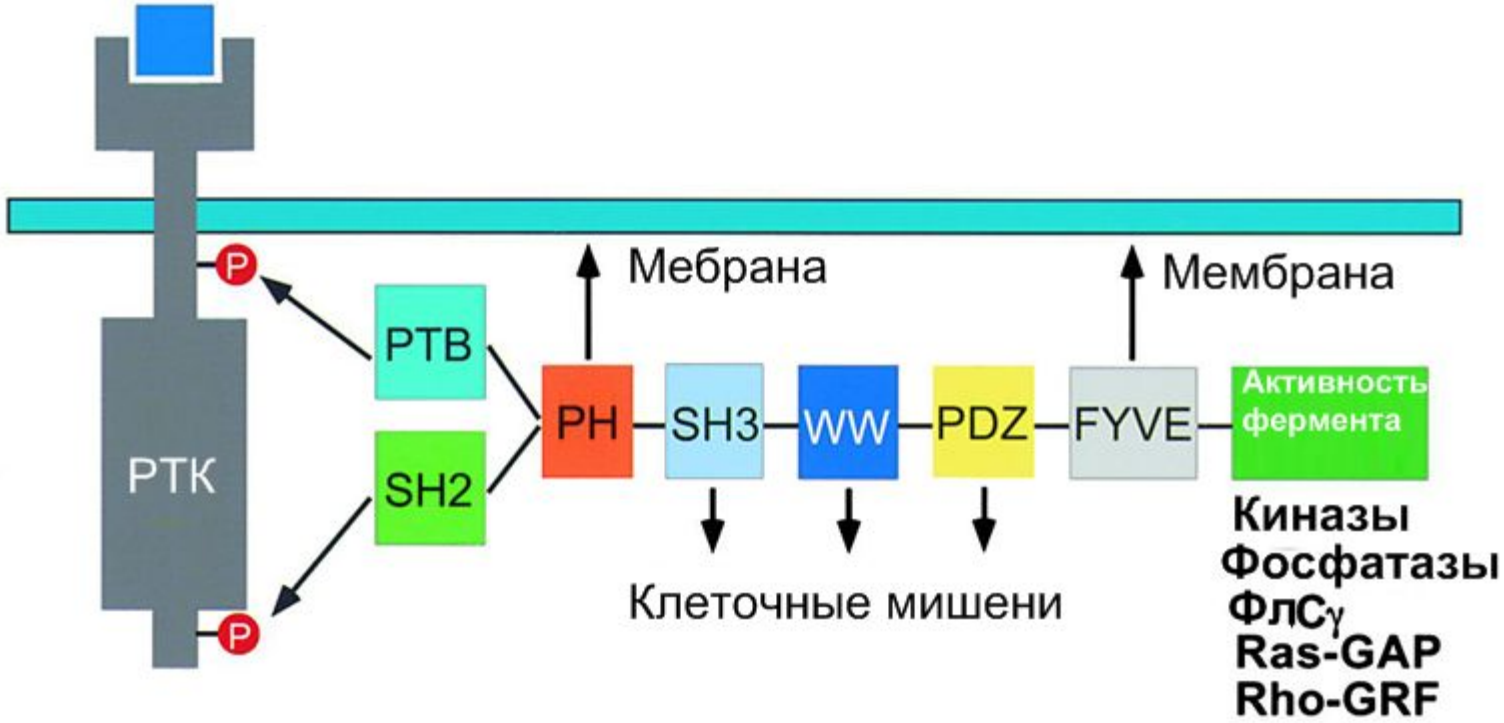
2. 1-ТМС-рецепторы, не обладающие каталитической активностью, но ассоциированные с цитозольными тирозинкиназами

Эти рецепторы открывают серию рецепторов, для которых лиганд –сигнал димеризации – образования димеров. Два рецептора вместе становятся активными участниками переноса сигнала внутрь клетки.

Рецепторы, связывающие внутриклеточные тирозинкиназы уважаемы многими цитокинами

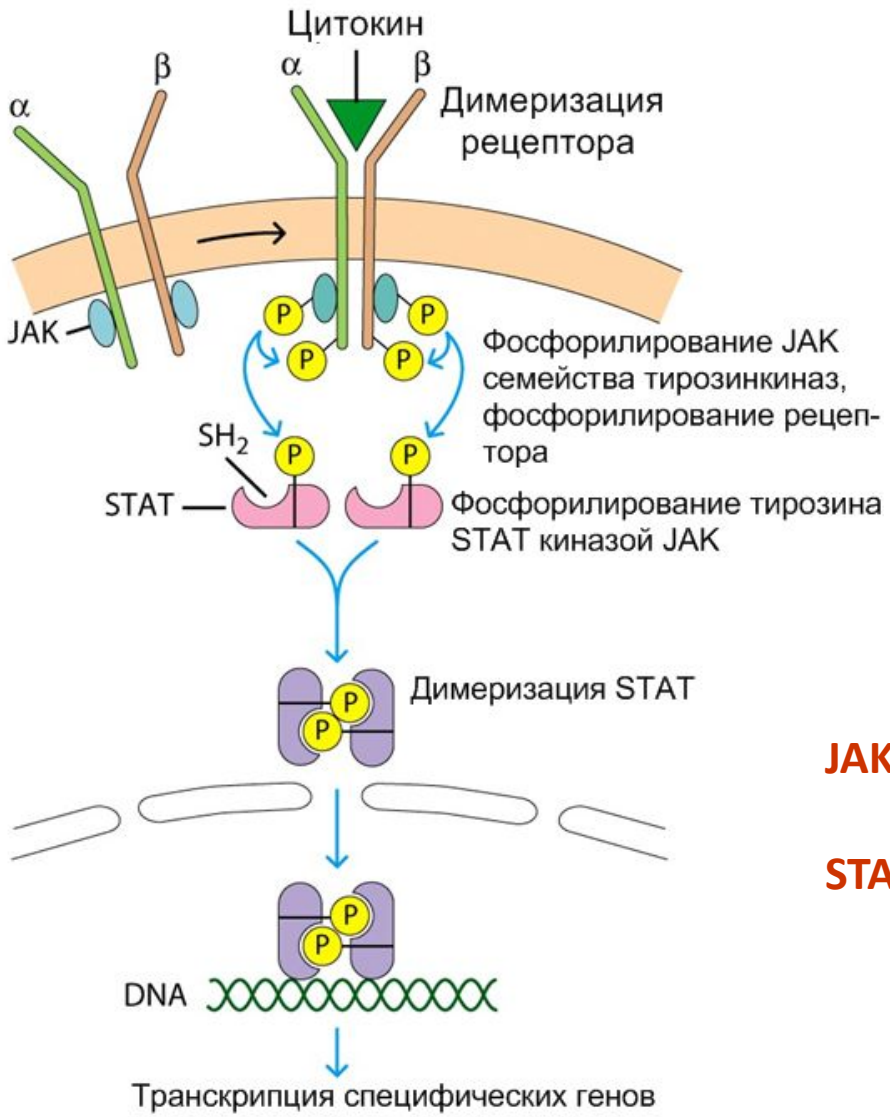


Специальные домены –инструмент связи между молекулами



SH2 и PTB связывают участки с фосфотирозином
SH3 и WW связывают участки богатые пролином
PDZ домен связывается с гидрофобными аминокислотами С-концов
PH связывается с разными фосфатидилинозитолами
FYVE домены связывают фосфатидилинозитол 3-фосфат)

Сигнальный путь с участием цитокина



JAK: Янус киназа

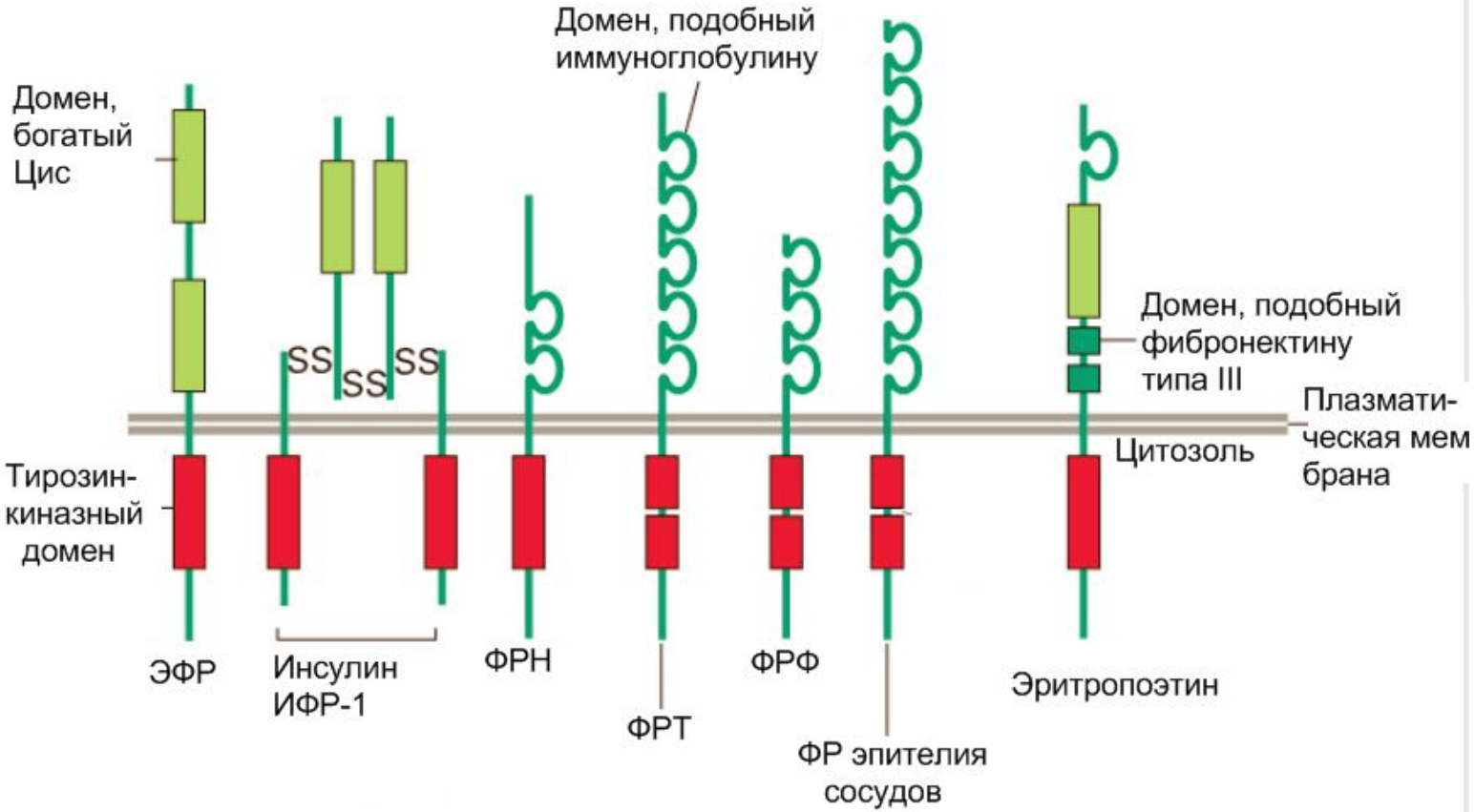
STAT: Signal transducer and activator of transcription

3. Рецепторы, обладающие каталитической активностью

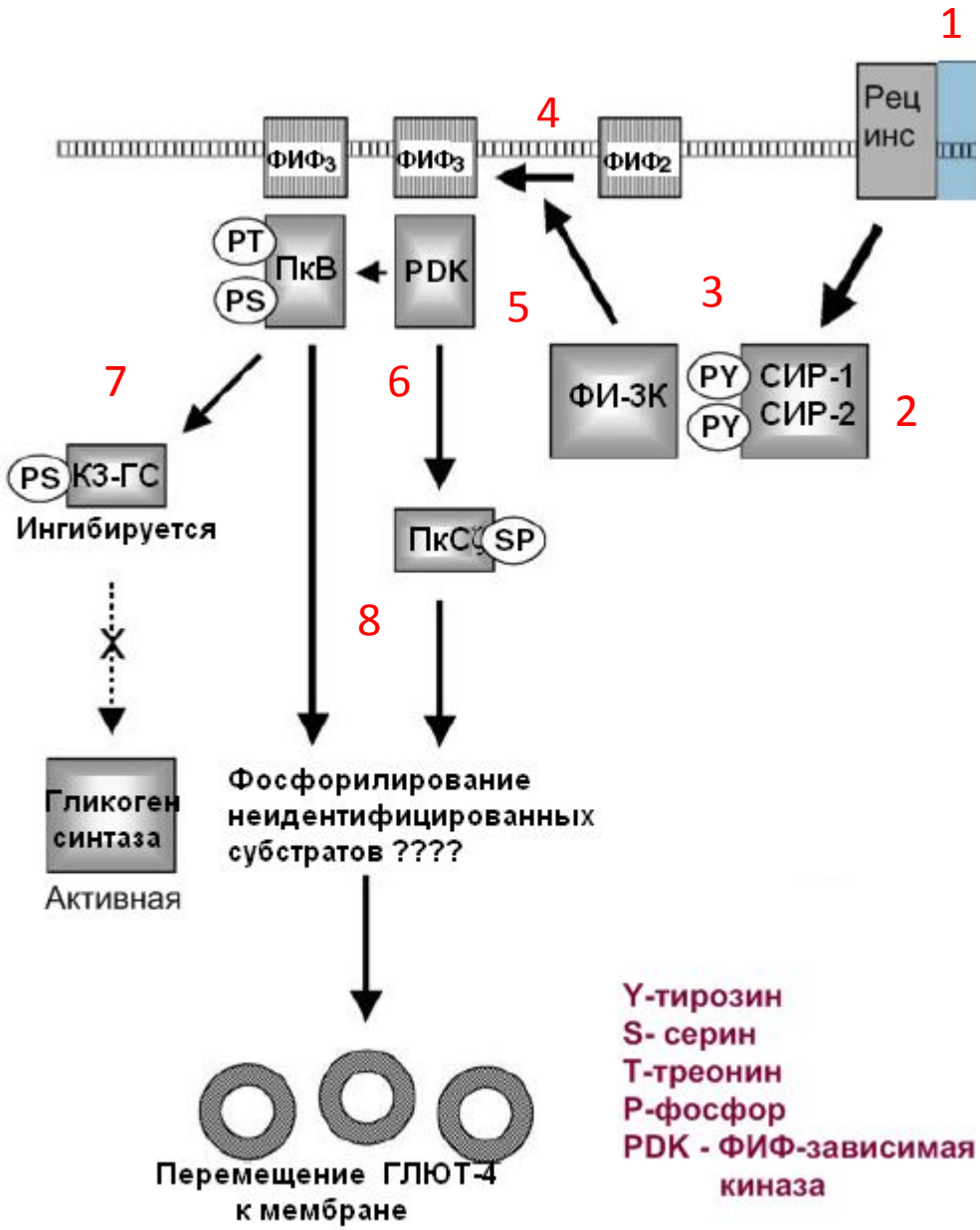
1. Тирозинкиназы: рецепторы, фосфорилирующие тирозины молекул переноса сигнала.
2. Тирозинфосфатазы: рецепторы, удаляющие фосфатные группы, связанные с тирозином. Лиганд их неизвестен.
3. Серин/треонин киназы: рецепторы, фосфорилирующие Сер или Тре молекул переноса сигнала.
4. Гуанилатциклазы : рецепторы, катализирующие образование цГМФ
5. Рецепторы, асоциированные с гистидинкиназой: фофорилируют свой гистидин и затем быстро переносят фосфат на другие молекулы

Рецепторные тирозинкиназы (РТК)

Подобно предыдущему классу эти рецепторы димеризуются (исключение составляют рецепторы инсулина и инсулиноподобных факторов роста (ИФР)



Классы рецепторов тирозинкиназ



1. Соединение с лигандом
2. Фосфорилирование СИР
3. Присоединение ФИ-3К
4. Образование ФИФ3
5. Присоединение PDK
6. PDK фосфорилирует ПкВ и ПкСζ
7. ПкВ фосфорилирует и ингибирует К3-ГС, при этом Гликогенсинтаза становится активной
8. ПкСζ и ПкВ фосфорилируют “неведомые” белки, участвующие в перемещении ГЛЮТ4 к мембране

1.Связывание лиганда активирование тирозинкиназного домена рецептора

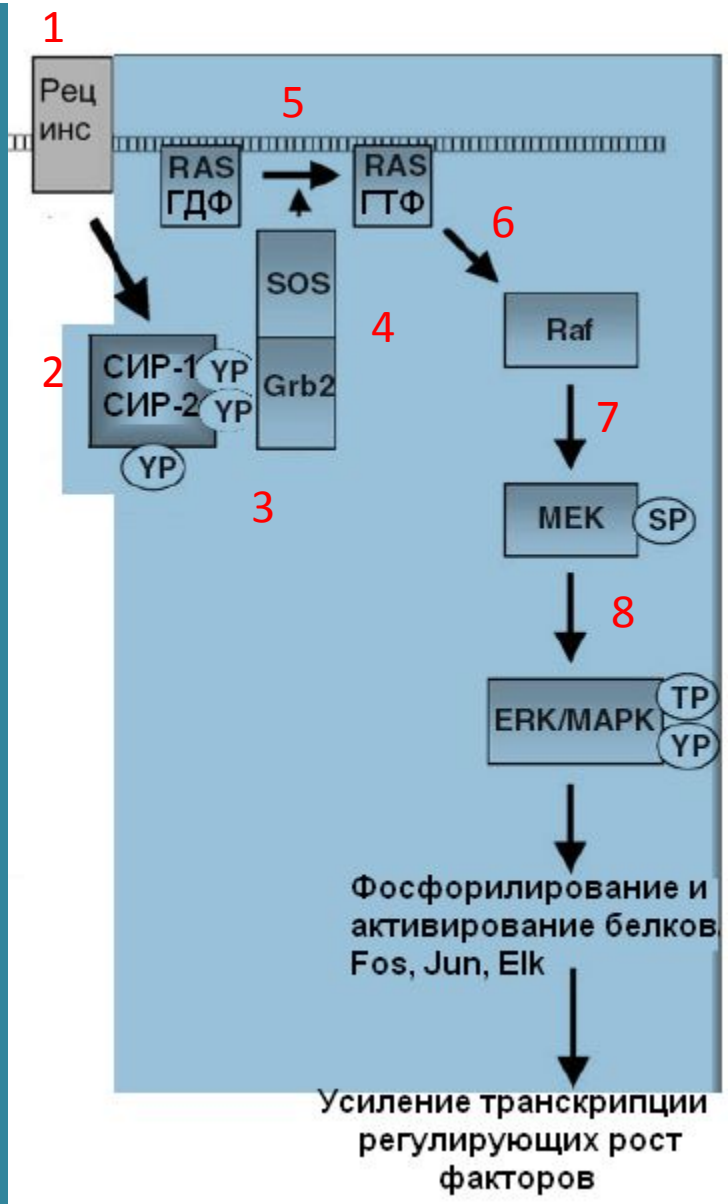
2. Фосфорилирование СИР

3. Присоединение белков, содержащих SH2 и SH3 домены (Grb2 (Growth factor receptor binding protein).

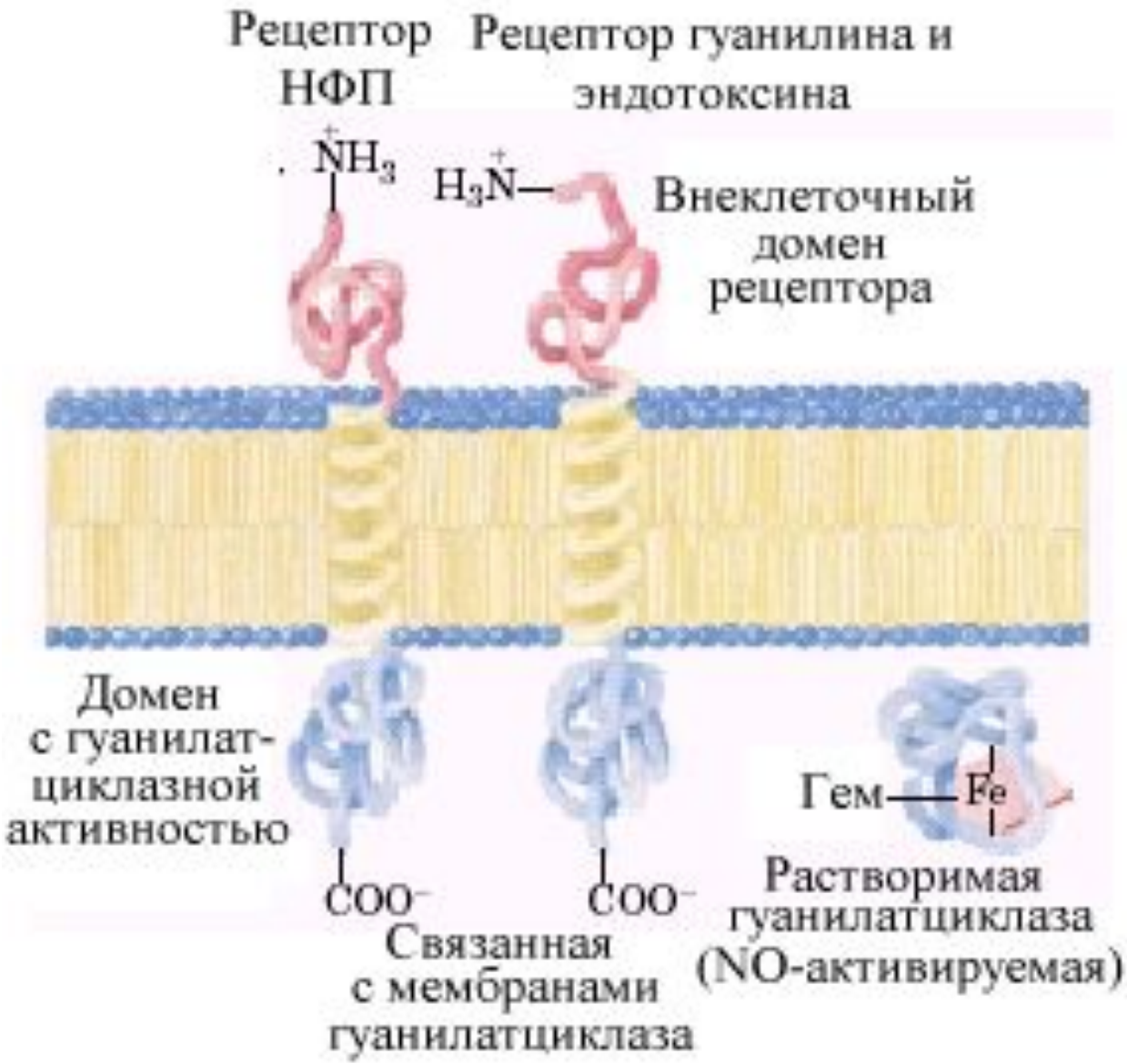
4. Связывание белков GEF(guanine exchange factor) на рис это белок SOS

5. Замена ГДФ на ГТФ

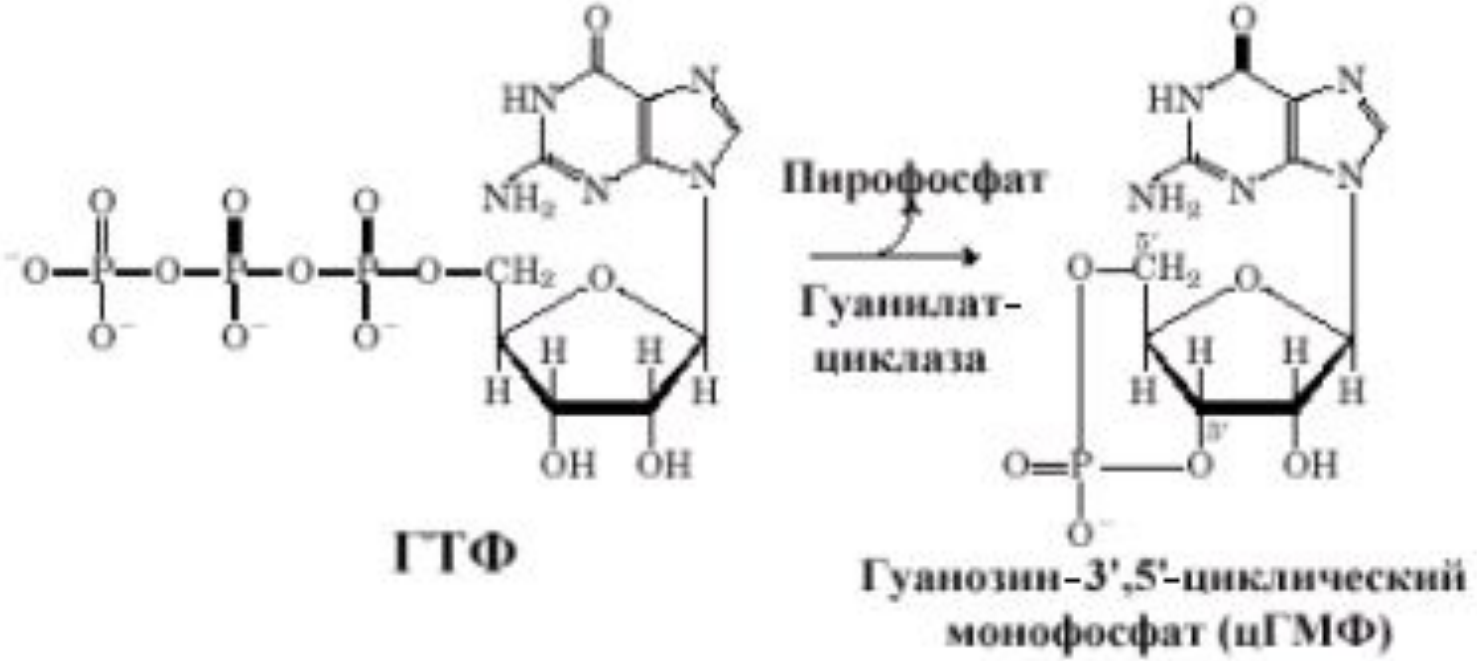
6,7,8- каскад протеинкиназных реакций
Raf - это ККМАПК
MEK – это КМАПК
ERK – это МАПК (митогенами активируемая протеинкиназа)
Этот фермент катализирует фосфорилирование факторов транскрипции, участвующих в механизмах синтеза факторов, регулирующих рост и дифференцировку клеток.



Гуанилатциклазы-бывают мембраносвязанны ми и растворимыми (цитоплазматически ми)



НФП-натрий уретический фактор предсердий



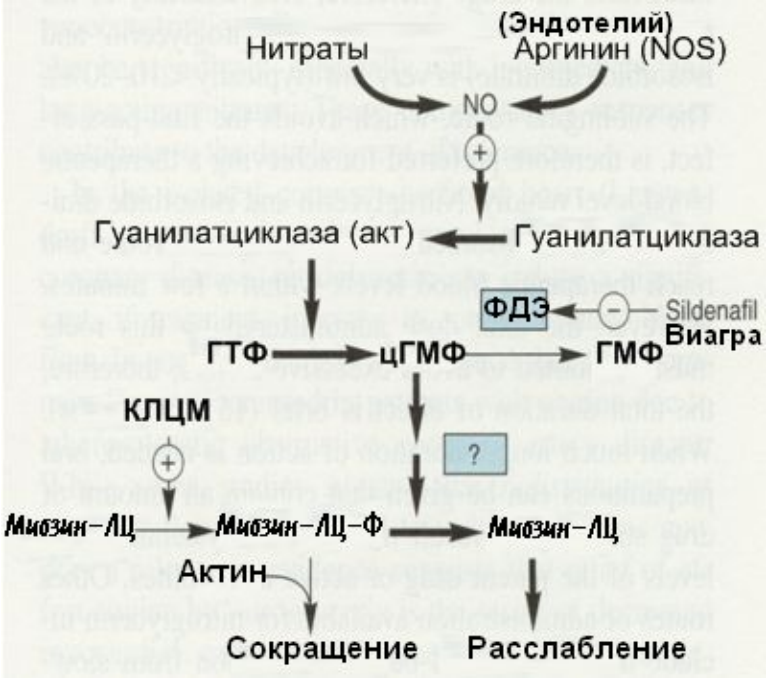
Цитоплазматическая гуанилататциклаза:

Активируется NO

Катализирует образование цГМФ (кишечник, гладкие мышцы сосудов)

цГМФ стимулирует цГМФ-зависимые протеинкиназы (ПкG)

Активность останавливается гидролизом цГМФ и дефосфорилированием субстратов ПкG



4.Ядерные и цитозольные рецепторы

Ядерные рецепторы – факторы транскрипции (TF)

- опосредуют изменение транскрипции в ответ на многие внеклеточные сигналы
- **формируют короткий сигнальный путь**
  липофильная сигнальная молекула→ TF→ ответ (изменение транскрипции)
- **для классических стероидных гормонов**:
  секреция железой → транспорт по крови→ клетка-мишень → диффузия в клетку → связывание с рецептором → активирование → ответ
- **Классифи**

I.Высокое сродство к лиганду
Лиганды: гормоны и витамины

ER α,β	Эстрогены
PR	Прогестерон
AR	Андрогены
GR	Глюкокортикоиды
MR	Минералокортикоиды

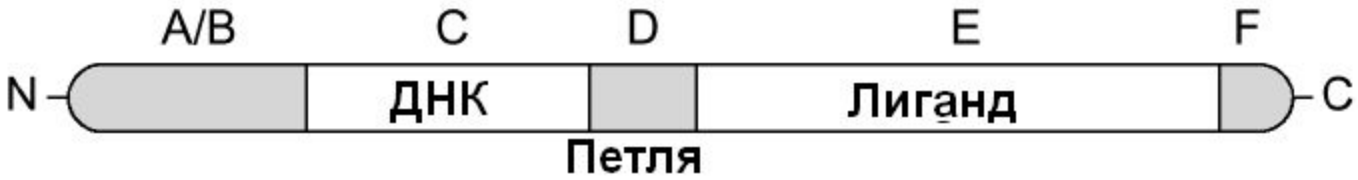
II Низкое сродство к лиганду
Лиганды: пищевые липиды

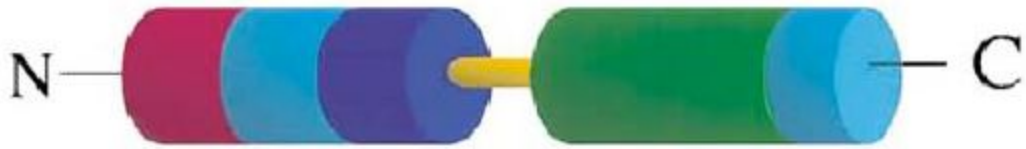
RXR α,β,γ	Ретиноевая кислота (9-cis)
PPAR α,β,γ	Эйкозаноиды
LXR α,β	Оксистеролы
FXR	Желчные кислоты
PXR/SXR	Прегнаны
CAR	Андростаны

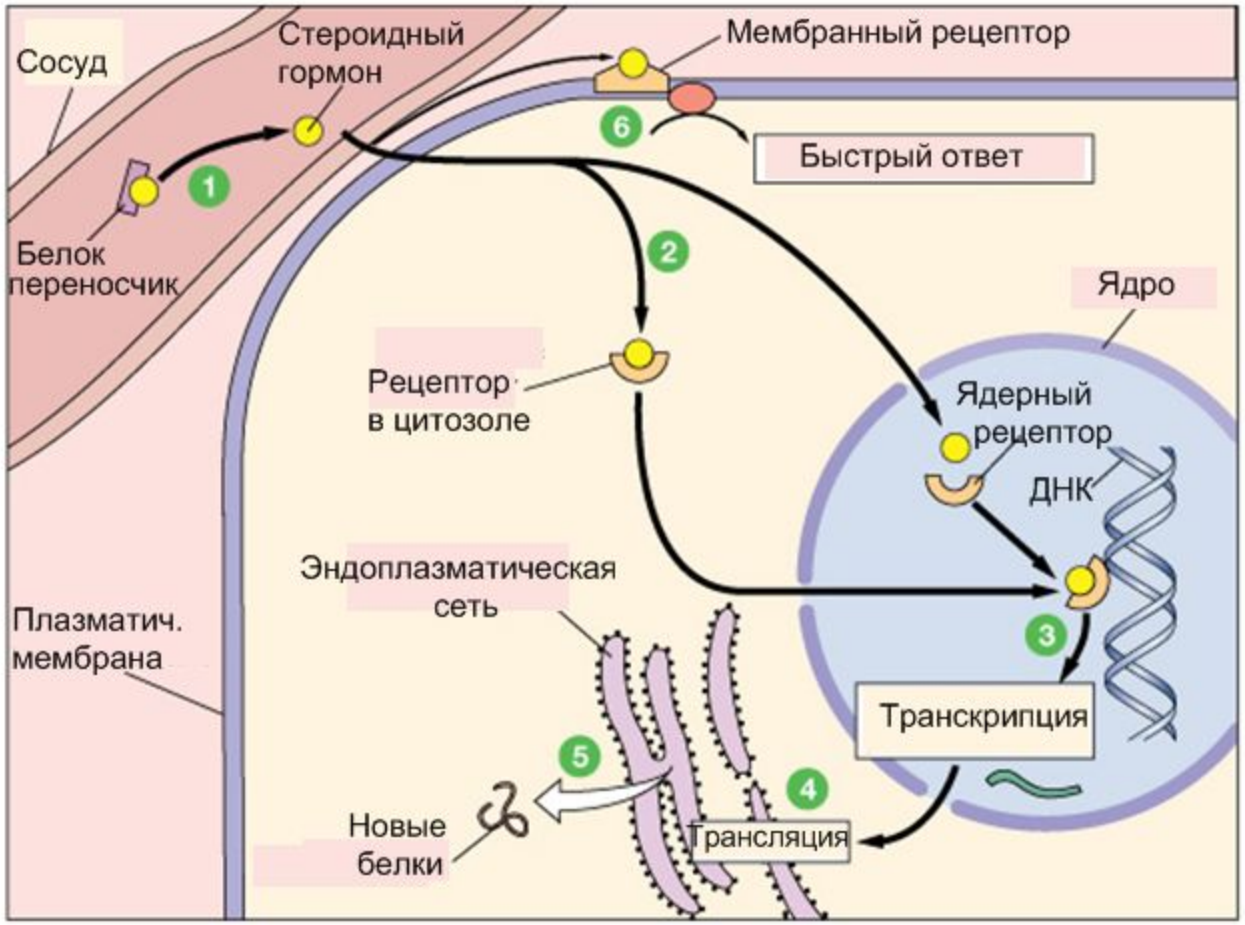
RAR α,β,γ	Ретиноевая кислота (all)
TR α,β	Гормоны щитовидной жел
VDR	Витамин D

III.Лиганд неизвестен
(orphan-receptors)

ROR α,β,γ
ERR α,β,γ
RVRα,β,γ
GCNF
TR 2,4
HNF-4

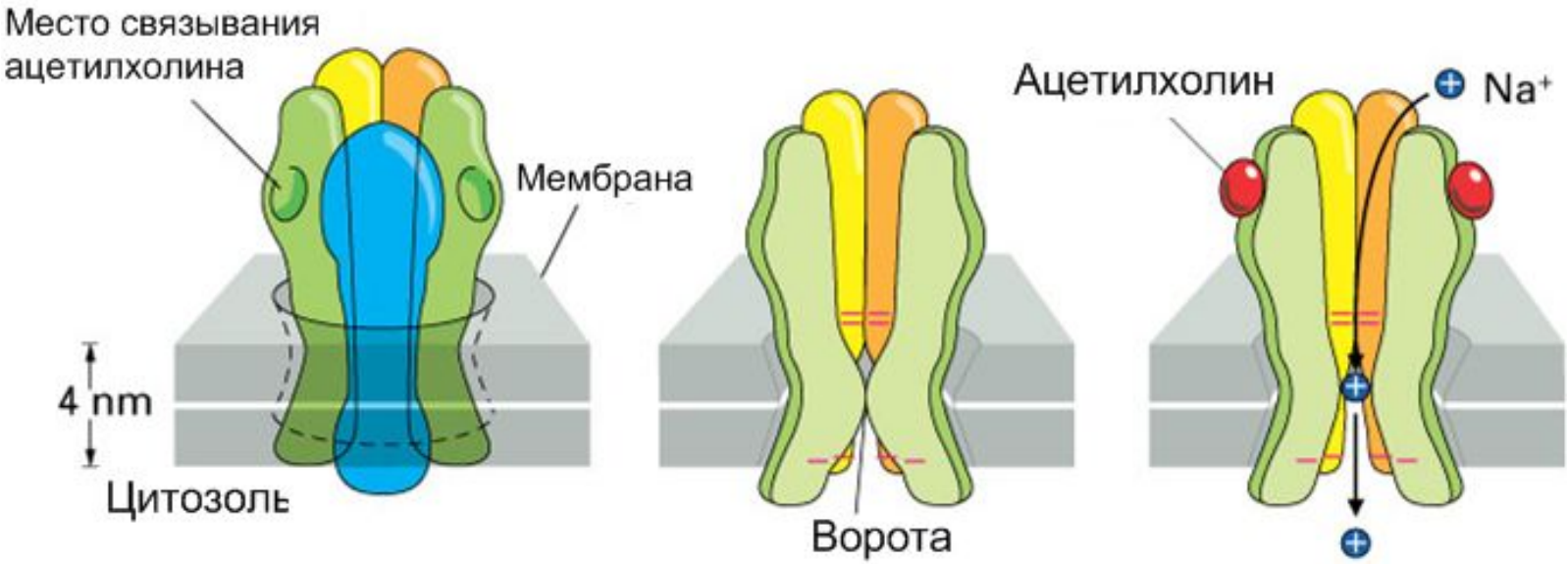






1. Стероидные гормоны в крови связаны с белками. Только свободный гормон проникает в клетку
2. Различают ядерные и цитозольные рецепторы стероидных гормонов
3. Комплекс гормон-рецептор связывается с ДНК и активирует или репрессирует ген (гены)
4. После транскрипции и-РНК перемещается в цитозоль
5. Трансляция обеспечивает клетку необходимыми белками
6. Некоторые стероидные гормоны действуют и через мембранные рецепторы и систему вторичных посредников (быстрый ответ)

5 . Рецепторы – лигандзависимые ионные каналы



Строение рецептора | Закрытая конформация | Открытая конформация

Химический сигнал ==>Электрический сигнал

7. Рецепторы – молекулы клеточной адгезии

Обеспечивают прямое взаимодействие между клетками

- I. ***Замыкающие (плотные) контакты***
- **II. *Прикрепительные соединения***
- **1. с актиновыми филаментами (адгезионные контакты)**
- **а) между клетками (например, адгезионные пояса)**
- **б) между клетками и матриксом (например, фокальные контакты)**
- **2. С промежуточными филаментами**
- **а) между клетками (десмосомы)**
- **б) между клетками и матриксом (полудесмосомы)**
- **III. *Коммуникационные соединения***
- **1. Щелевые контакты**
- **2. Химические синапсы**

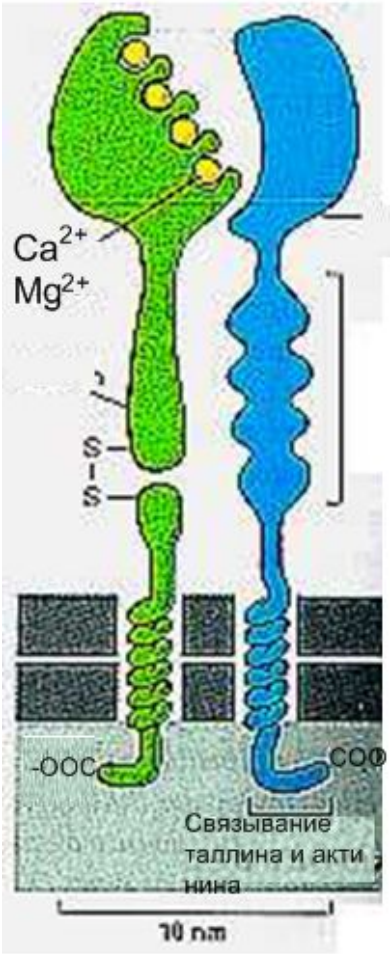
Клетки связываются и общаются при помощи CAM(cell adhesion molecules) молекулы межклеточной адгезии

Различают

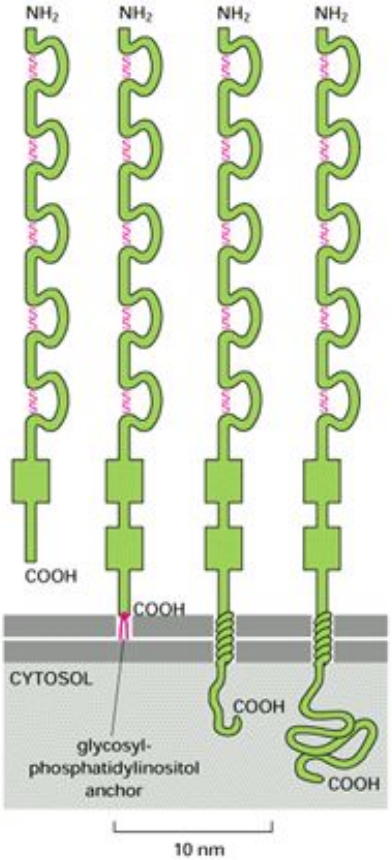
)Ca^{2+} - зависимые CAM: кадгерины, селектины, интегрины

) 2)Ca^{2+} - независимые CAM

Кадгерин



Интегри
н



Са независимые CAM

Интегрины обеспечиают

СИГНАЛИЗАЦИЮ ИЗ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ СРЕДЫ:

Внеклеточныый домен связывается с лигандом
(ММ или САМ)

□

Конформационные изменения цитозольного домена (хвост)

□

Взаимодействие цитоскелета и сигнальных молекул.
фосфорилирование,экспрессия генов

и

СИГНАЛИЗАЦИЮ ИЗ КЛЕТКИ:

Молекулярный сигнал

□

Конформационные изменения цитозольного домена

□

Конформационные изменения внеклеточного лигандсвязывающего участка

□

Изменение сродства к лиганду

Механизмы выключения переноса сигналов

- Секвестрация рецепторов
- Модификация рецепторов (фосфорилирование)
- Инактивация белков участвующих в переносе (фосфатазы)
- Белки- «реле»
- Изменение концентрации вторичных посредников
- Образование белков ингибиторов
- Взаимодействие между различными сигнальными путями

Большая часть участников регулируются по принципу обратной связи

Группа	Тип рецептора	Другие свойства	Гормоны класса
I	Внутрикле точный	липофилы	Стероидные гормоны; простагландинJ2
IIA ⊕	Поверхнос ть клетки	цАМФ	АКТГ, АДГ (почки), CRH, CT, FSH, GHRH, β-адрен.катехоламины, глюкагон, ЛГ ПТ, ТСГ
IIA		цАМФ	α_2-адренэрг катехол,опиоиды,соматостатин
IIB		$IФ_3/Ca^{2+}$ ДАГ	α_1-адренэрг катехоламины, АДГ (артериолы), ангиотензин II, GnRH, окситоцин, TRH
IIC		РТК	EGF, FGF, инсулин, IGF-I, PDGF, др. факторы роста
IIC′		Раствор. JAK-тир киназы	эритропоэтин,ГР, Прл
IID		цГМФ	ANP