

Книга не является всеобъемлющим источником сведений о механизмах рецепции и сигналинга у растений, и, возможно, не даст абсолютно всех ответов на вопросы наиболее любознательных читателей. Тем не менее, это учебное пособие может послужить базовой стартовой площадкой для начала освоения все еще мало изученной области биологии — механизмов рецепции и сигналинга у растений.

- **Значение, структура и принципы функционирования сигнальных систем клеток**

Компоненты сигнальных систем
Сущность передачи сигнала
Эффект усиления в сигнальных системах
Транскрипционный каскад
Система убиквитин-опосредованной деградации белков

- **Рецепция внешнего сигнала**

Лиганд-связывающие рецепторы
Световые рецепторы

- **Передача сигнала внутри клетки**

G-белки
Эффекторные молекулы
Вторичные мессенджеры
Фосфолипазы
NO-сигналинг
Нуклеотидциклазные сигнальные системы
Ионы кальция в системе передачи сигнала
Ковалентная модификация сигнальных посредников
Протеиновые киназы
Протеиновые фосфатазы

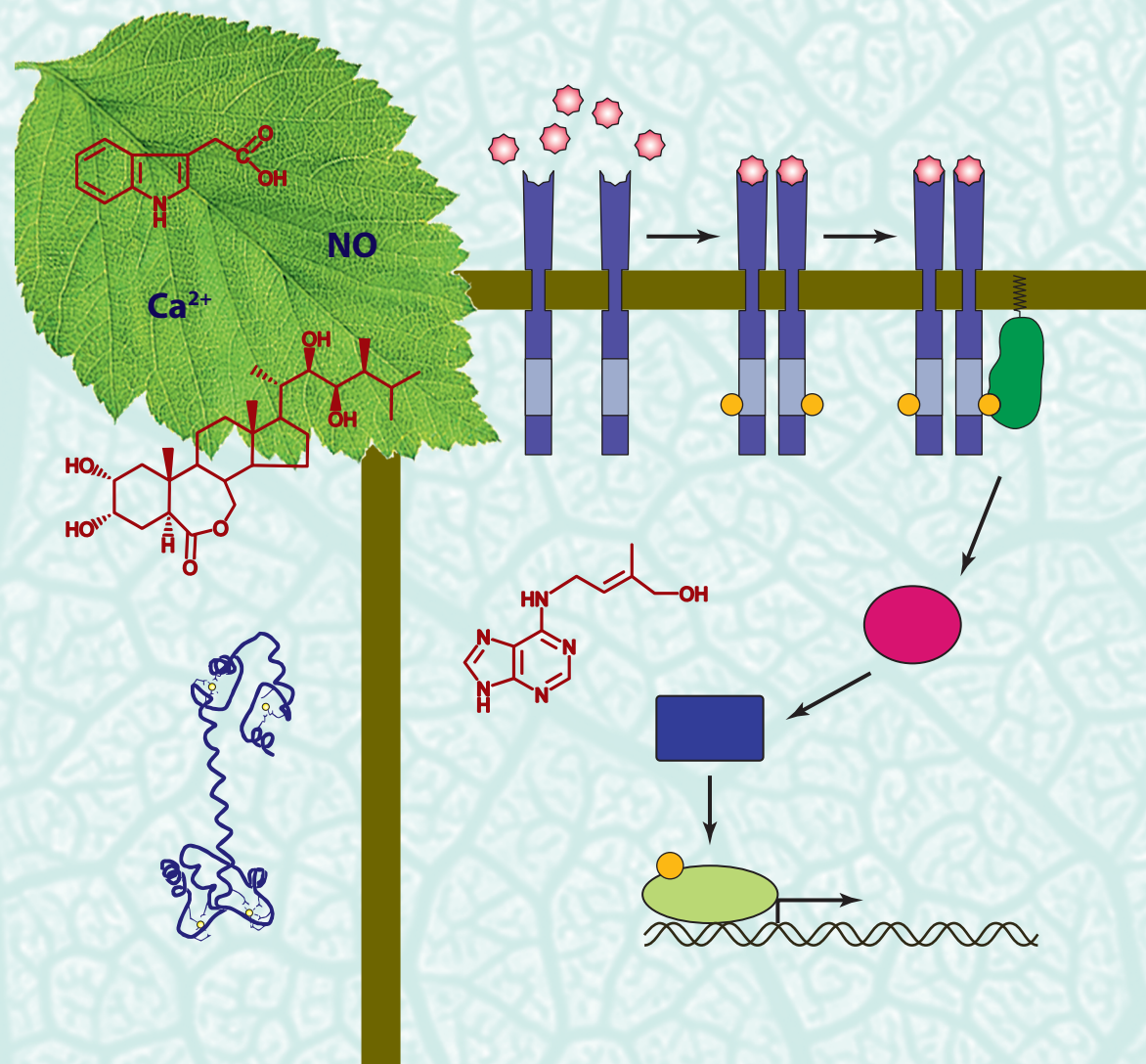
- **Механизмы передачи сигнала растительных гормонов**

Ауксин
Цитокинин
Гиббереллин
АБК
Этилен
Брассиностероиды



Внутриклеточный сигналинг у растений

В. Ю. Джамеев



В. Ю. Джамеев

ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ СИГНАЛИНГ У РАСТЕНИЙ

Учебное пособие

УДК 577.2
ББК 28.070
Д 40

Рецензенты:

Колупаев Ю. Е. — профессор, доктор биологических наук, профессор кафедры ботаники и физиологии растений Харьковского национального аграрного университета имени В. В. Докучаева;

Перский Е. Э. — профессор, доктор биологических наук, зав. кафедрой биохимии Харьковского национального университета имени В. Н. Каразина.

Рекомендовано к печати Ученым советом
Харьковского национального университета
имени В. Н. Каразина
(протокол № 5 от 3.11.14)

Джамеев В. Ю.

Д 40 Внутриклеточный сигналинг у растений: учебное пособие / В. Ю. Джамеев. — Х. : АССА, 2015. — 224 с.

ISBN 978-617-7312-05-4

В данном учебном пособии излагаются основные сведения о внутриклеточной сигнализации растений. Описаны структура, свойства и особенности функционирования компонентов внутриклеточных сигнальных систем, механизмы рецепции и трансдукции внешних сигналов в растительных клетках. Книга написана на основе лекционного материала к специальному курсу «Внутриклеточные сигнальные системы растений» и предназначена для студентов, обучающихся на биологических факультетах классических университетов, а также в высших учебных заведениях аграрного и педагогического профилей. Пособие может быть также интересным для аспирантов, преподавателей, научных работников и всех увлекающихся биологией.

УДК 577.2
ББК 28.070

ISBN 978-617-7312-05-4

© Джамеев В. Ю., 2015
© ЧП «АССА», 2015

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 7

1. ЗНАЧЕНИЕ, СТРУКТУРА И ПРИНЦИПЫ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ СИГНАЛЬНЫХ СИСТЕМ КЛЕТОК

1.1. Значение сигнальных систем в биологических объектах	8
1.2. Компоненты сигнальных систем	10
1.3. Сущность передачи сигнала	12
1.4. Эффект усиления в сигнальных системах	16
1.5. Транскрипционный каскад	18
1.6. Типы сигнальных механизмов	20
1.7. Дерепрессорные сигнальные механизмы	20
1.8. Система убиквитин-опосредованной деградации белков	22
1.8.1. Этап первый — выбор субстрата	22
Убиквитин и убиквитинирование	22
Убиквитинирующий комплекс	25
Структура SCF-подобной убиквитинирующей лигазы	27
Регуляция активности SCF-лигазы	28
Связывание субстрата с убиквитинирующей лигазой	29
Особенности белков-мишеней убиквитинирующей лигазы	29
1.8.2. Этап второй — деградация субстрата	30
26S протеасома	30
Структура 26S протеасомы	31
Коровая 20S протеасома	32
Регуляторная 19S частица	32
Особенности функционирования 26S протеасомы	33

2. РЕЦЕПЦИЯ ВНЕШНЕГО СИГНАЛА

2.1. Общая характеристика клеточных рецепторов	35
2.1.1. Что такое рецептор?	35
2.1.2. Структурно-функциональные особенности рецепторов	36
Субъединичная и доменная структура	36
Основные механизмы активации рецепторов	37
Функциональная активность	39
2.2. Лиганд-связывающие рецепторы	40
2.2.1. Локализация лиганд-связывающих рецепторов	42
2.2.2. Внешние рецепторы	44
Рецептор-подобные киназы	44

Гистидиновые рецепторные киназы	47
Гибридные гистидиновые киназы	48
Прокариотические двухкомпонентные сигнальные системы	48
Двухкомпонентные многошаговые сигнальные системы растений	50
Этиленовые рецепторы	52
2.2.3. G-белок сопряженные рецепторы (GPCR)	55
G-белок сопряженные рецепторы животных	55
G-белки GPCR-типа (GTG)	56
2.2.4. Рецепторы-каналоформеры	57
2.2.5. Внутриклеточные рецепторы	59
Ядерные рецепторы животных	59
Внутриклеточные рецепторы растений	61
F-box рецепторы	61
Гормон-чувствительные липазы	63
START-домен рецепторы	65
2.3. Световые рецепторы	67
2.3.1. UV-B рецепторы	68
2.3.2. Фототропины	68
Открытие и функции	68
Структура	70
Световая активация	71
2.3.3. Криптохромы	74
Функции	74
Структура и механизм активации	75
2.3.4. Фитохромы	77
Разнообразие и значение фитохромов	77
Структура фитохромов	80
Фотосенсорный район	80
Димеризационный район	82
Активация фитохромов и передача светового сигнала	82
Светозависимые изменения структуры фитохромов	82
Перенос фитохромов в ядро	83
Регуляция активности фитохрома	85
Модуляция активности мишеней фитохрома	85
Краткое описание механизма световой активации фитохрома	86
3. ПЕРЕДАЧА СИГНАЛА ВНУТРИ КЛЕТКИ	
3.1. G-белки	88
3.1.1. Гетеротримерные G-белки	89
3.1.2. Мономерные (малые) G-белки	93
Разнообразие мономерных G-белков	93

Сигнальные мономерные G-белки	94
3.2. Эффекторные молекулы и вторичные мессенджеры	96
3.2.1. Фосфолипазы	97
Фосфолипазы D	99
Фосфолипазы C	102
Полифосфоинозитид-зависимые фосфолипазы C	104
Фосфатидилинозитол и его производные	104
PI-PLC-опосредованный сигналинг	109
Фосфолипазы A ₂	113
Октадеканойдный путь	114
Функции фосфолипазы A ₂	117
Фосфолипазы A ₁ и B, лизофосфолипазы A	118
Взаимодействие фосфолипаз	119
3.2.2. Оксид азота (II) и NO-сигналинг	120
Оксид азота	120
Химические и антиоксидантные свойства NO	121
Пути образования NO	122
Нитрат/нитрит-зависимые ферментативные пути	122
Аргинин-зависимые пути синтеза	124
Нитрит-зависимые неферментативные пути	126
NO-сигналинг	126
Нитрозилирование металлов	127
S-нитрозилирование цистеина	129
Нитрирование тирозина	131
Связь NO и Ca ²⁺ -сигналов	131
3.2.3. Нуклеотидциклазные сигнальные системы	132
Аденилатциклазная система	133
Ферменты аденилатциклазной системы	133
Роль cAMP в регуляция активности протеинкиназы A животных	137
Значение cAMP в регуляции активности катаболитных генов у бактерий	138
cAMP-регулируемые белки растений	140
Гуанилатциклазы и cGMP	141
3.3. Ионы кальция в системе передачи сигнала	143
3.3.1. Структура Ca ²⁺ -связывающих белков	145
3.3.2. Транспортные системы, кодирующие кальциевый сигнал	149
Экстраклеточный транспорт кальция	149
Ca ²⁺ -АТРазы	149
Ca ²⁺ /H ⁺ -антипортеры	151
Индукционное поступление кальция в цитоплазму	151
Потенциал-управляемые каналы	152

Лиганд-управляемые каналы	152
3.3.3. Декодирование Ca^{2+} -сигнала	154
Активация кальмодулин-зависимых белков	155
Модуляция активности транскрипции кальмодулинами . .	156
Модуляция активности белков кальций-зависимыми киназами	157
3.4. Ковалентная модификация сигнальных посредников	160
3.4.1. Значение обратной ковалентной модификации	160
3.4.2. Растительные протеиновые киназы	162
Кальций-зависимые протеиновые киназы	164
SnRK — SNF1-подобные киназы	167
Рецептор-подобные киназы	169
MAP киназы	171
Циклин-зависимые киназы (CDK)	172
Казеиновые киназы CK1 и CK2	174
Семейство GSK3/Shaggy	175
CTR1/Raf-подобное семейство	176
3.4.3. Протеиновые фосфатазы	176
Классификация фосфатаз	177
Серин/треониновые фосфатазы	177
Тирозинные фосфатазы	179
Растительные фосфатазы	181
Разнообразие растительных фосфатаз	181
Значение растительных фосфатаз	182

4. МЕХАНИЗМЫ ПЕРЕДАЧИ СИГНАЛА РАСТИТЕЛЬНЫХ ГОРМОНОВ

4.1. Регуляция транскрипции ауксин-регулируемых генов	185
4.1.1. Регуляторы транскрипции ауксин-регулируемых генов и их доменная структура	185
4.1.2. Участие Aux/IAA и ARF в регуляции экспрессии ауксин-регулируемых генов	186
4.2. Передача цитокининового сигнала	189
4.3. Трансдукция гиббереллинового сигнала	192
4.4. Передача сигнала АБК через START-домен рецепторы . . .	194
4.5. Восприятие и трансдукция этиленового сигнала	195
4.6. Рецепция и трансдукция брассиностероидного сигнала . . .	198

ЛИТЕРАТУРА204

УКАЗАТЕЛЬ ТЕРМИНОВ212

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ219

ВВЕДЕНИЕ

Современные исследования физиологических функций организмов тесно сопряжены с изучением механизмов восприятия и внутриклеточной передачи сигналов. Знание механизмов формирования ответной реакции клеток на воздействие экстраклеточных сигналов принципиально важно для развития представлений о регуляции функциональной и метаболической активности клеток. Это, в свою очередь, необходимо для более глубокого понимания сущности онтогенеза, особенностей взаимодействия организмов с окружающей средой, и природы разнообразных биологических функций живых объектов.

Интенсивное накопление сведений в области клеточного сигналинга привело к появлению значительного количества тематических обзорных статей и монографий. Однако большинство из них можно рекомендовать студентам только в качестве дополнительной литературы, потому что такие источники содержат огромный массив специфических данных, который затрудняет восприятие студентами материала о собственно механизмах внутриклеточной передачи сигналов. Настоящее учебное пособие является попыткой автора систематизировать основные сведения о внутриклеточной сигнализации растений. В книге описаны структура, свойства и особенности функционирования компонентов внутриклеточных сигнальных систем растений, механизмы рецепции и трансдукции внешних сигналов. Учитывая полифункциональность большинства сигнальных посредников, их участие в физиологических процессах детально не рассматриваются.

Книга не является всеобъемлющим источником сведений о механизмах рецепции и сигналинга у растений, и, возможно, не даст абсолютно всех ответов на вопросы наиболее любознательных читателей. Тем не менее, это учебное пособие может послужить базовой стартовой площадкой для начала освоения все еще мало изученной области биологии — механизмов рецепции и сигналинга у растений.

1. ЗНАЧЕНИЕ, СТРУКТУРА И ПРИНЦИПЫ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ СИГНАЛЬНЫХ СИСТЕМ КЛЕТОК

1.1. ЗНАЧЕНИЕ СИГНАЛЬНЫХ СИСТЕМ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТАХ

Живые организмы представляют собой открытые термодинамические системы, которые в значительной степени зависят от внешнего окружения. С одной стороны, среда является источником энергии и строительного материала. Организму необходимо адекватно реагировать на эти источники, чтобы оптимально их использовать. С другой стороны, среда не является стабильной и постоянно изменяется, поэтому может быть фактором дестабилизации. Такие изменения могут иметь как периодический (сезонные, суточные ритмы), так и произвольный характер. Флуктуации внешних условий наблюдаются не только в рамках нормы реакции организма. Экстремальные условия могут нарушить структурную целостность и функциональную активность организма, ставя под угрозу его существование. В любом случае, чтобы минимизировать негативное влияние неблагоприятных условий, организм должен уметь распознавать изменения в окружающей среде и, соответственно, отвечать на них изменением функциональной активности. Такая способность позволяет организму адаптироваться к изменяющимся условиям, а также эффективно регенерировать повреждения, спровоцированные экстремальными условиями.

Способностью распознавать изменения в среде существования обладает не только организм в целом, но и каждая его клетка. При этом внешней (экстраклеточной) по отношению к отдельной клетке является не только окружающая среда как таковая, но и внутренняя среда организма. Пространственно

удаленные друг от друга части многоклеточного организма являются взаимозависимыми и должны функционировать согласовано. Согласованность работы всех частей организма обеспечивается благодаря функционированию сложной системы передачи межклеточных сигналов (химических, электрических). Биологические функции клетки, связанные с онтогенетическим развитием организма и реакцией на изменяющиеся внешние условия, реализуются посредством распознавания экстраклеточного стимула рецептором и дальнейшей активации механизмов передачи внутриклеточных сигналов, которые приводят к формированию ответной реакции клетки на внешние воздействия.

Быстрые и медленные реакции. Восприятие экстраклеточного сигнала осуществляется клеточными рецепторами, а затем передается в соответствующие клеточные компартменты к конечным мишеням, от которых зависит функциональная активность клетки. Ответные реакции клетки принято делить на быстрые и медленные (рис. 1). **Быстрые реакции** проявляются практически сразу после восприятия сигнала, поскольку они связаны с изменением активности систем и их компонентов, которые присутствуют в клетке на момент восприятия сигнала. Примером быстрых реакций могут служить изменения интенсивности и направления трансмембранных ионных потоков

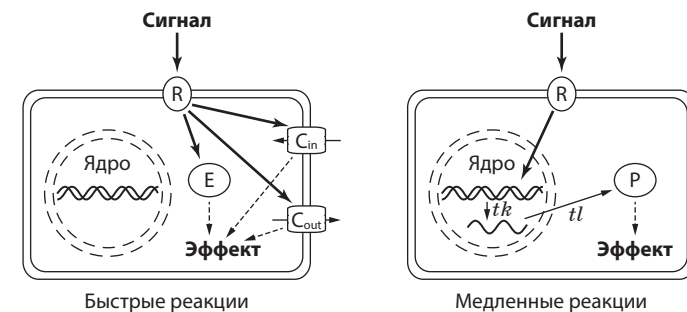


Рис. 1. Быстрые и медленные реакции:

R — рецептор;

E — фермент;

C_{in} — поглощающий канал;

C_{out} — выводящий канал;

P — белок, синтезированный de novo;

tk — транскрипция;

tl — трансляция

и связанных с этим процессов модуляции активности ферментов. **Медленные реакции** зависят от белков, синтезированных *de novo*, то есть они сопряжены с изменением экспрессии генов, поэтому развиваются в течение более длительного времени по сравнению с быстрыми. Изменение набора экспрессирующихся генов осуществляется как за счет модуляции активности предсуществующих транскрипционных факторов, так и синтеза новых транскрипционных регуляторов.

1.2. КОМПОНЕНТЫ СИГНАЛЬНЫХ СИСТЕМ

Системы внутриклеточной трансдукции сигналов состоят из разнообразных компонентов, различающихся по назначению и выполняемым функциям. Основными компонентами сигнальных систем являются рецепторы, эффекторы, вторичные мессенджеры, G-белки, модифицирующие сигнальные ферменты, адаптерные молекулы и конечные мишени.

Рецепторы воспринимают экстраклеточные сигналы и запускают каскадный сигнальный механизм внутри клетки. Клетки обладают разными типами специализированных рецепторов, распознающих определенный вид сигнала.

G-белки — особые сигнальные молекулы, обладающие GTPазной активностью. Способность передавать сигнал зависит от того, какой из нуклеотидов (GDP или GTP) находится в гуаниннуклеотид-связывающем центре.

Эффекторы (или эффекторные молекулы) — это ферменты, катализирующие синтез вторичных мессенджеров. К эффекторам также следует отнести кальциевые каналы и переносчики, от которых непосредственно зависит концентрация ионов кальция в цитоплазме.

Вторичные мессенджеры — это низкомолекулярные органические соединения или ионы, способные обеспечивать передачу сигнала путем аллостерической регуляции сигнальных посредников. Модуляция активности компонентов сигнальной цепи вторичными мессенджерами осуществляется при достижении ими определенной концентрации. На уровне эффекторов обеспечивается усиление сигнала, так как они синтезируют боль-

шое количество вторичных посредников, которые могут активировать множество последующих сигнальных посредников или конечных мишеней.

Адаптерные молекулы — белки, как правило, не обладающие специфической активностью, помимо способности в определенных условиях взаимодействовать одновременно с двумя или более сигнальными посредниками. Взаимодействие осуществляется за счет комплементарных поверхностей. Например, рецептор может воздействовать на эффектор или иную сигнальную молекулу только через адаптерный белок.

Сигнальные молекулы-ферменты обеспечивают посттрансляционную модификацию посредников передачи сигнала. (Следует отличать от эффекторов, которые тоже являются ферментами, но специализируются на синтезе вторичных мессенджеров.) Большинство посттрансляционных модификаций, используемых в сигналинге, имеет обратимый характер. Ведущую роль среди таких сигнальных посредников выполняют протеинкиназы и протеинфосфатазы, обеспечивающие киназно-фосфатазный цикл.

Конечные мишени обеспечивают необходимое функциональное состояние клетки для конкретных условий. В качестве конечных мишеней выступают, например, ферменты или транскрипционные факторы.

Запуск трансдукции сигнала в клетке начинается с рецептора и заканчивается модуляцией активности конечных мишеней. Однако промежуточные компоненты сигнальной системы могут быть представлены широким спектром разнообразных функциональных молекул. Количество и тип компонентов каждой конкретной сигнальной системы в определенной мере специфичны. Например, в некоторых системах могут отсутствовать эффекторы и вторичные мессенджеры, а в других в передаче сигнала могут быть задействованы несколько типов эффекторных молекул, а соответственно, и вторичных посредников, действующих последовательно или параллельно. Наиболее короткая сигнальная цепочка наблюдается в том случае, если рецептор является одновременно конечной мишенью. Например, существуют рецепторы липофильных лигандов, которые одновременно являются транскрипционными факторами.

1.3. СУЩНОСТЬ ПЕРЕДАЧИ СИГНАЛА

Избирательность взаимодействия. Между двумя любыми макромолекулами или микромолекулами возможно взаимодействие. Однако при наличии огромного разнообразия веществ в клетке наблюдается строгая упорядоченность взаимодействий, некая их «осмысленность». Например, каталитическая активность ферментов направлена на специфический субстрат, структурные молекулы укладываются в агрегаты, образуя клеточные структуры, гормоны взаимодействуют с определенными рецепторами и т. д. Подобным образом специфично взаимодействуют друг с другом сигнальные молекулы.

Межмолекулярные взаимодействия осуществляются за счет слабых сил. Чтобы эти силы были эффективными и позволили избирательность взаимодействия, необходимо образование множества связей. Слабые силы, как известно, приобретают максимальные значения, если взаимодействующие группы находятся на соответствующих расстояниях друг от друга. Поверхности взаимодействующих молекул, позволяющие образовывать оптимальное количество слабых связей, называются **комплементарными** (рис. 2).

При формировании структурных агрегатов, представляющих собой статичные комплексы, часто является важным наличие максимального количества слабых связей. Однако при образовании динамичных систем, для функционирования которых принципиальным является не только ассоциация, но и диссоциация молекулярного комплекса, необходимо установить оп-

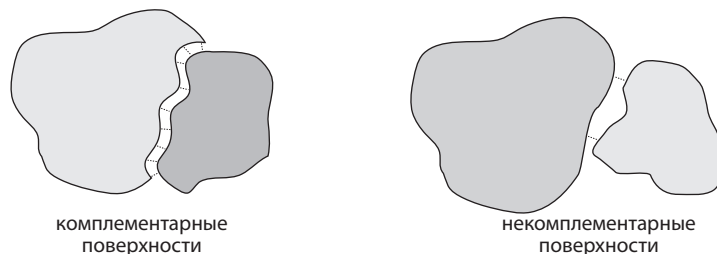


Рис. 2. Комплементарные и некомплементарные поверхности молекул.

тимальное число слабых связей, которое, с одной стороны, позволит специфичность взаимодействия, а с другой, не затруднит диссоциацию.

При специфическом взаимодействии макромолекул наблюдается взаимное влияние их электронных плотностей друг на друга. В результате это приводит к изменению конформации молекул, что непосредственно отражается на их активности.

Механизмы передачи сигнала. В основе передачи сигнала лежит молекулярный механизм, посредством которого изменяется активность сигнальных посредников. Модуляция активности посредников осуществляется разными способами, среди которых наиболее важными являются:

- 1) **взаимное связывание**, определяемое наличием комплементарных поверхностей (например, узнавание гормона рецептором);
- 2) **ковалентная модификация** (введение или отщепление групп; образование или разрыв связей в макромолекулах-компонентах сигнальной цепи);
- 3) **изменение микроокружения** (изменение концентрации ионов, в том числе протонов (рН), и низкомолекулярных органических регуляторов).

Любое из этих воздействий провоцирует изменение конформации макромолекулы-посредника, от которой зависит ее активность. Модуляция активности сигнального посредника определяет его способность воздействовать на последующие компоненты сигнальной цепи (рис. 3). В целом, акт передачи сигнала в рамках одного посредника можно представить в таком виде:

воздействие → изменение конформации →

→ изменение активности

Необходимо заметить, что при восприятии сигнала активность посредника может изменяться в различных направлениях и с различной силой. Это зависит от конкретной сигнальной пары и особенностей их взаимодействия. Активность посредника может градиентно уменьшаться или увеличиваться, а также активироваться из репрессированного состояния (включаться) или, наоборот, ингибироваться (выключаться). (Для описания функционирования гипотетических сигнальных систем и посредников мы будем говорить о модуляции или изменении

активности макромолекул-посредников, так как активация сигнальной системы может быть сопряжена как с активацией, так и с репрессией отдельных компонентов и модулей системы.)

Для низкомолекулярных регуляторов (вторичных мессенджеров), которые опосредуют передачу сигнала между двумя макромолекулами, существенным признаком участия в сигнальном механизме является изменение концентрации.

Макромолекулярные посредники	Низкомолекулярные посредники
• воздействие (принятие сигнала); • изменение конформации; • изменение активности (готовность к передаче сигнала)	• модуляция активности эффекторов или ионных каналов; • изменение концентрации вторичных мессенджеров; • модуляция активности сигнальных посредников

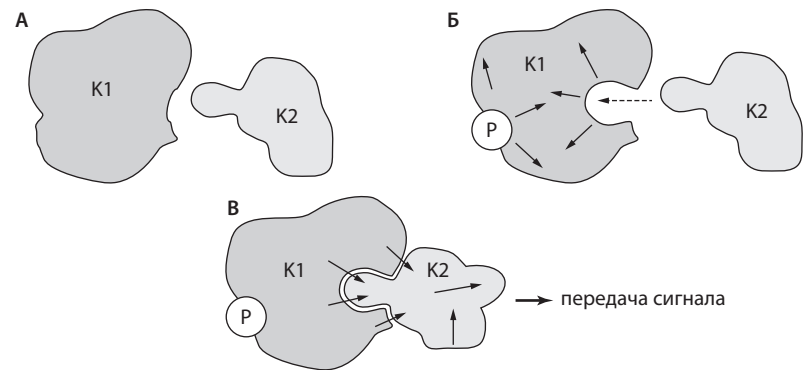


Рис. 3. Передача сигнала:
А — компоненты К1 и К2 не взаимодействуют друг с другом;
Б — ковалентная модификация компонента К1 (фосфорилирование) провоцирует изменение конформации молекулы, в результате чего образуется поверхность, некомплементарная поверхности молекулы компонента К2;
В — компоненты К1 и К2 взаимодействуют: К2 приобретает конформацию, позволяющую взаимодействовать с последующим компонентом сигнальной системы

Трансдукция сигнала от рецептора до конечных мишеней, в которой может быть задействовано множество компонентов, является, по существу, поочередным изменением активности переносчиков сигнала, а в случае вторичных мессенджеров — их концентрации.

Например, рецептор в результате активации приобретает способность взаимодействовать с адаптерным белком, через который он стимулирует эффектор. Эффектор катализирует синтез вторичных мессенджеров, модулирующих активность протеиновых киназ и т. д. Таким образом, каждый сигнальный переносчик влияет на очередной компонент системы трансдукции сигнала, изменяя его функциональное состояние. Причем модуляция активности одного компонента предопределяет изменение активности другого. Последовательное изменение состояния переносчиков сигнала представляет собой каскад реакций, поэтому такой способ передачи внутриклеточных сигналов часто называют **каскадным механизмом** (рис. 4).

При описании сигнальных систем для обозначения относительного положения компонентов часто используется термин **апстрим** (upstream — вверх по течению) и **даунстрим** (downstream — вниз по течению). Все регуляторы, от которых стекается сигнал на конкретный компонент, являются по отношению к нему апстрим сигнальными компонентами. Тогда как регуляторы, на которые передается сигнал, называют даунстрим сигнальными компонентами. Предположим, в сигнальной системе функционируют 5 компонентов и передача сигнала

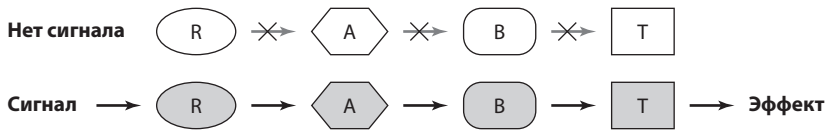


Рис. 4. Каскадный механизм.
Сигнальная система, состоящая из рецептора R, конечной мишени Т и промежуточных компонентов А и В, в отсутствии сигнала пребывает в неактивном состоянии. Стимулирование рецептора соответствующим сигналом приводит к последовательной модуляции активности всех компонентов системы, что в результате приводит к развитию ответной реакции на сигнал (эффект)

осуществляется в направлении $1 \rightarrow 2 \rightarrow 3 \rightarrow 4 \rightarrow 5$. Тогда относительно компонента 3 регуляторы 1 и 2 являются апстрим, а 4 и 5 — даунстрим сигнальными партнерами.

В упрощенном варианте каскадный механизм может быть представлен в виде линейной последовательной передачи сигнала. Однако, на самом деле, чаще всего распространение сигнала в клетке имеет веерный характер, то есть стимуляция одного рецептора модулирует активность, как правило, множества конечных мишеней. Например, под воздействием конкретного гормона в клетке активируется экспрессия целого набора генов.

Кроме того, многие из интраклеточных сигнальных систем тесно взаимосвязаны друг с другом. Взаимодействуя, они могут способствовать взаимному усилению, ослаблению, а также проявлению качественно иного эффекта по сравнению с тем, который проявляется при функционировании этих систем по отдельности. Каскадные механизмы можно представить в виде сигнальной сети, пронизывающей клетку. Сигнальные пути могут быть настолько переплетены и взаимосвязаны, что порой трудно идентифицировать причинно-следственные связи при изучении механизмов трансдукции сигнала.

1.4. ЭФФЕКТ УСИЛЕНИЯ В СИГНАЛЬНЫХ СИСТЕМАХ

Важной характеристикой механизма внутриклеточной передачи сигнала является **эффект усиления**. Благодаря этому свойству клетки способны формировать существенные ответные реакции на воздействие слабых внешних сигналов. **Общий принцип усиливающего эффекта — увеличение количества сигнальных посредников в процессе распространения сигнала.** Усиление сигнала осуществляется только на конкретных участках сигнальной цепи. Если посредники участвуют в передаче сигнала в эквимоллярных количествах, то усиления не происходит. Например, при передаче сигнала путем взаимного связывания одна макромолекула модулирует активность только одной молекулы. Однако если в сигнальном механизме участвуют ферменты, наблюдается усиливающий эффект. Так, эффекторная молекула в результате активации синтезирует мно-

жество вторичных мессенджеров, которые будут регулировать активность значительного количества сигнальных посредников, в том числе конечных мишеней (рис. 5).

На участке усиления сигнала помимо увеличения количества однотипных регуляторных молекул, в сигнальный механизм могут вовлекаться посредники разных типов. Например, такие вторичные мессенджеры, как ионы Ca^{2+} способны модулировать активность нескольких типов сигнальных посредников — ферментов, транскрипционных факторов, ионных каналов и др.

Эффект усиления обеспечивается в результате функционирования следующих процессов:

- синтез вторичных мессенджеров эффекторами;
- посттрансляционная модификация сигнальных макромолекул (киназы, фосфатазы и др.);
- трансляция и транскрипция;
- изменение скорости потока ионов Ca^{2+} через мембрану (Ca^{2+} -каналы и переносчики).

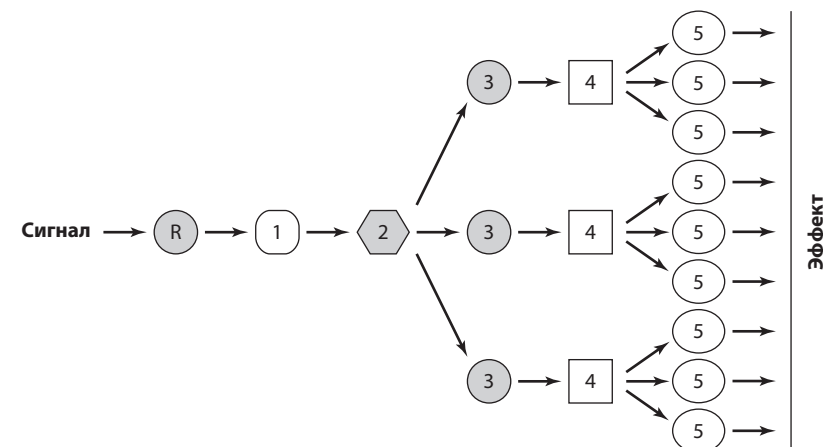


Рис. 5. Эффект усиления в сигнальных системах. Эффект усиления наблюдается на этапе 2–3 и 4–5. Компоненты 2 и 4 модулируют активность множества мишеней. Компоненты 1 и 3 взаимодействуют с компонентами 2 и 4, соответственно, в эквимоллярных количествах

1.5. ТРАНСКРИПЦИОННЫЙ КАСКАД

Развитие ответной реакции на внешние воздействия часто сопровождается активацией генов, кодирующих транскрипционные регуляторы. Вновь синтезированные факторы транскрипции участвуют в регуляции экспрессии второй группы генов. Таким образом, сигнальный механизм может включать в себя не только активацию транскрипционных факторов, но и их синтез. Механизм, включающий несколько последовательных транскрипций, называют **транскрипционным каскадом** (рис. 6).

Транскрипционный каскад представляет собой широко распространенное явление. Группа генов, активность которых изменяется под действием внешнего сигнала в первую очередь, называется **ранними**. Гены, активность которых модулируется вновь синтезированными транскрипционными регуляторами,

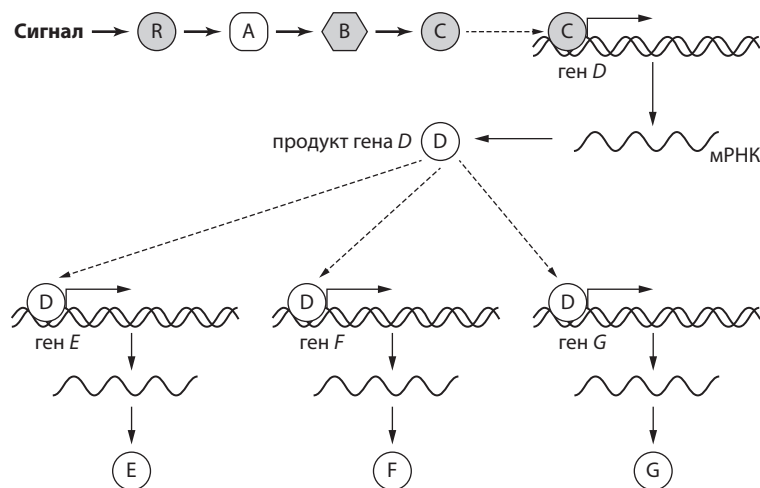


Рис. 6. Транскрипционный каскад. Внешний сигнал, воспринимаемый клеточным рецептором R через компоненты A и B передается на транскрипционный фактор C, который активирует экспрессию гена D, кодирующего транскрипционный фактор D. Транскрипционный фактор D стимулирует транскрипцию генов E, F и G, которые кодируют белки E, F и G

называются **поздними**. Большинство ранних генов являются регуляторными. Они кодируют транскрипционные регуляторы, компоненты убиквитинирующей системы и другие регуляторные белки. Продукты ранних генов во многом определяют образец экспрессии поздних генов, от которых непосредственно зависит функциональная активность клетки.

Регуляторный механизм, задействующий последовательный синтез нескольких групп транскрипт-факторов, на первый взгляд, может показаться медленнодействующим и громоздким. Тем не менее, это необходимо для осуществления регуляции генной экспрессии с позиции максимальной экономичности процессов. При изменении условий, как правило, активируются и репрессируются множественные гены. Обеспечить моментальную модуляцию сразу всех необходимых генов достаточно сложно, так как для этого нужно значительное количество транскрипционных факторов и компонентов сигнальных систем, активирующих эти транскрипт-факторы. Причем синтез и тех, и других молекул необходимо поддерживать на определенном уровне в неиндуктивных условиях. Поддержание в рабочем состоянии многочисленных сигнальных систем, обеспечивающих прямую активацию большого количества генов, невыгодно для клетки. Система регуляции путем последовательной активации синтеза нескольких транскрипционных факторов требует минимальных затрат на постоянное поддержание сравнительно небольшого количества сигнальных систем. Кроме того, синтез факторов регуляции транскрипции в результате активации каскадных механизмов оказывает усиливающий эффект. Активация экспрессии одного гена приводит к неоднократной транскрипции, причем каждый образованный транскрипт после сплайсинга может служить матрицей для синтеза множества молекул белка. Существенное повышение количества регуляторных белков оказывает значительный эффект на развитие ответной реакции клетки. Таким образом, **каскадная система регуляции, включающая последовательную активацию экспрессии генов, кодирующих транскрипционные факторы, дает незначительную задержку во времени, однако является экономичной и способствует усилению сигнала.**

GSK3-подобные киназы 175

- BIN2 175, 176, 200–202

G-белки 10, 56, 57, 83, 88–96, 134, 135, 171, 176

- гетеротримерные 56, 57, 88–92, 134, 167
- мономерные 88, 89, 93–96, 176
 - Arf 93, 94
 - Rab 93, 94, 95
 - Ran 83, 93, 94
 - Ras 89, 93, 94, 176
 - Rho 93, 94
 - ROP (Rho of plants) 93

G-белки GPCR-типа (GTG) 56–57

G-белок сопряженные рецепторы (GPCR) 55, 56, 90

Н

H⁺-АТРаза 151

HPt домен см. гистидиновая фосфотрансфераза

М

MAP киназы

- MAPK 171, 172, 183, 184
- MAPKK 171, 172, 183
- MAPKKK 171, 176

Н

NO-синтаза 124, 125

Р

PLA₁ см. фосфолипаза A₁

PLA₂ см. фосфолипаза A₂

PLB см. фосфолипаза B

PLC см. фосфолипаза C

PLD см. фосфолипаза D

С

SNF1-подобные киназы (SnRK) 167–169

- SnRK1 167, 168, 182
- SnRK2 66, 167–169, 183, 194, 195

START-домен рецепторы 65, 66

S-нитрозилирование цистеина 126, 129, 130

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

Значение, структура и принципы функционирования сигнальных систем клеток

1. Значение сигнальных систем в биологических объектах.
2. Быстрые и медленные реакции.
3. Компоненты сигнальных систем.
4. Молекулярные основы передачи внутриклеточных сигналов.
5. Каскадные механизмы.
6. Апстрим и даунстрим компоненты сигнальных систем.
7. Эффект усиления в сигнальных системах.
8. Значение процессов транскрипции и трансляции в трансдукции сигнала.
9. Транскрипционный каскад.
10. Типы сигнальных механизмов.
11. Дерепрессорные сигнальные механизмы.
12. Система убиквитин-опосредованной деградации белков.
13. Убиквитин и убиквитин-подобные белки.
14. Значение убиквитинирования белков.
15. Убиквитинирующий комплекс.
16. Структура SCF-подобной убиквитинирующей лигазы.
17. Регуляция активности SCF-лигазы.
18. Связывание субстрата с убиквитинирующей лигазой.
19. Особенности белков-мишеней убиквитинирующей лигазы.
20. Структура 26S протеасомы.
21. Коровая 20S протеасома.
22. Регуляторная 19S частица.
23. Особенности функционирования 26S протеасомы.

Рецепция сигнала

1. Клеточные рецепторы.
2. Разнообразие типов рецепторов.
3. Структурно-функциональные особенности рецепторов.
4. Субъединичная и доменная структура рецепторов.

5. Основные механизмы активации рецепторов.
6. Функциональная активность рецепторов.
7. Основные свойства лиганд-связывающих рецепторов.
8. Локализация лиганд-связывающих рецепторов.
9. Внешние рецепторы.
10. Рецептор-подобные киназы.
11. Гистидиновые рецепторные киназы.
12. Бактериальные гистидиновые рецепторные киназы.
13. Гибридные гистидиновые киназы.
14. Регуляторы ответа А и В-типа.
15. Гистидиновые фосфотрансферазы.
16. Прокариотические двухкомпонентные сигнальные системы.
17. Двухкомпонентные многошаговые сигнальные системы растений.
18. Причины усложнения эукариотических двухкомпонентных систем.
19. Структура и механизм функционирования этиленовых рецепторов.
20. G-белок сопряженные рецепторы (GPCR).
21. G-белок сопряженные рецепторы животных.
22. G-белки GPCR-типа (GTG).
23. Рецепторы-каналоформеры.
24. Внутриклеточные рецепторы.
25. Ядерные рецепторы животных I и II классов.
26. Внутриклеточные рецепторы растений.
27. F-box рецепторы.
28. Гормон-чувствительные липазы.
29. START-домен рецепторы.
30. Разнообразие и особенности световых рецепторов.
31. Хромофory фоторецепторов и спектры поглощения.
32. Фототропины.
33. Функции, контролируемые фототропинами.
34. Структура фототропинов.
35. Механизм световой активации фототропинов.
36. Криптохромы.
37. Функции и формы криптохромов.
38. Структура и механизм активации криптохромов.
39. Фитохромы.

40. Разнообразие и значение фитохромов.
41. Фотоконверсия фитохромов.
42. Группы фитохром-зависимых ответов.
43. Фотолabile и фотостабильные фитохромы.
44. Структура фитохромов. Доменный состав фотосенсорного и димеризационного районов.
45. Активация фитохромов и передача светового сигнала.
46. Светозависимые изменения структуры фитохромов.
47. Перенос фитохромов в ядро.
48. Регуляция активности фитохрома.
49. Модуляция активности мишеней фитохрома.

Передача сигнала внутри клетки

1. G-белки. Разнообразие и функции.
2. Гетеротримерные G-белки. Структура и цикл активации.
3. Мономерные (малые) G-белки.
4. Разнообразие мономерных G-белков.
5. Сигнальные мономерные G-белки.
6. Цикл активации мономерных G-белков.
7. Эффекторные молекулы и вторичные мессенджеры.
8. Фосфолипазы, их типы и сайты расщепления субстрата.
9. Фосфолипазы D, особенности катализа.
10. Механизм активации фосфолипазы D и передача сигнала.
11. Фосфолипазы C. Классификация и характеристика групп.
12. Полифосфоинозитид-зависимые фосфолипазы C.
13. Фосфатидилинозитол и его производные.
14. PI-PLC-опосредованный сигналинг.
15. Инозитолфосфаты, диацилглицерол и их роль в сигналинге.
16. Фосфолипазы A₂, их типы и функции.
17. Октадеканойдный путь.
18. Значение оксипинолов в передаче сигналов. Жасмонаты.
19. Функции фосфолипазы A₂.
20. Фосфолипазы A₁ и B, лизофосфолипазы A.
21. Взаимодействие фосфолипаз.
22. Оксид азота (II) и NO-сигналинг.
23. Химические и антиоксидантные свойства NO.
24. Пути образования NO.

25. Нитрат/нитрит-зависимые ферментативные пути синтеза NO.
26. Аргинин-зависимые пути синтеза NO.
27. Нитрит-зависимые неферментативные пути образования NO.
28. NO-сигналинг.
29. Нитрозилирование металлов.
30. S-нитрозилирование цистеина.
31. Нитрование тирозина.
32. Связь NO и Ca^{2+} -сигналов.
33. Нуклеотидциклазные сигнальные системы.
34. Аденилатциклазная регуляторная система.
35. Ферменты аденилатциклазной системы.
36. Роль cAMP в регуляции активности протеинкиназы A животных.
37. Значение cAMP в регуляции активности катаболитных генов у бактерий.
38. cAMP-регулируемые белки растений.
39. Гуанилатциклазы и cGMP
40. Ионы кальция в системе передачи сигнала.
41. Функциональные модули кальций-зависимого сигнального механизма.
42. Структура Ca^{2+} -связывающих белков.
43. Особенности структуры Ca^{2+} -связывающего центра.
44. Кальбиндин и кальмодулин.
45. Транспортные системы, кодирующие кальциевый сигнал.
46. Экстраклеточный транспорт кальция.
47. Ca^{2+} -АТФазы ER-типа и автоингибируемые.
48. Механизм переноса ионов кальция Ca^{2+} -АТФазами.
49. $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -антипортеры.
50. Индуцированное поступление кальция в цитоплазму.
51. Потенциал-управляемые каналы.
52. Лиганд-управляемые каналы.
53. Декодирование Ca^{2+} -сигнала.
54. Активация кальмодулин-зависимых белков.
55. Модуляция активности транскрипции кальмодулинами.
56. Модуляция активности белков кальций-зависимыми киназами.
57. Ковалентная модификация сигнальных посредников.

58. Киназно-фосфатазный цикл.
59. Растительные протеиновые киназы.
60. Кальций-зависимые протеиновые киназы.
61. Кальций-кальмодулин-зависимые киназы.
62. Кальций-зависимые киназы (кальмодулин-подобный домен протеин-киназы).
63. CBL-взаимодействующие протеиновые киназы.
64. Кальцинейрин В подобные белки.
65. SnRK — SNF1-подобные киназы.
66. Рецептор-подобные киназы. Группы RLK.
67. MAP киназы (MAPKKK, MAPKK, MAPK).
68. Циклин-зависимые киназы (CDK).
69. Казеиновые киназы CK1 и CK2.
70. Семейство GSK3/Shaggy.
71. CTR1/Raf-подобное семейство.
72. Протеиновые фосфатазы.
73. Классификация фосфатаз.
74. Серин/треониновые фосфатазы.
75. Тирозиновые фосфатазы.
76. Растительные фосфатазы.
77. Разнообразие растительных фосфатаз.
78. Значение растительных фосфатаз.

Механизмы передачи сигнала растительных гормонов

1. Регуляция транскрипции ауксин-регулируемых генов.
2. Регуляторы транскрипции ауксин-регулируемых генов и их доменная структура.
3. Участие Aux/IAA и ARF в регуляции экспрессии ауксин-регулируемых генов.
4. Передача цитокининового сигнала.
5. Трансдукция гиббереллинового сигнала.
6. Передача сигнала АБК через START-домен рецепторы.
7. Восприятие и трансдукция этилена.
8. Рецепция и трансдукция брассиностероидного сигнала.