

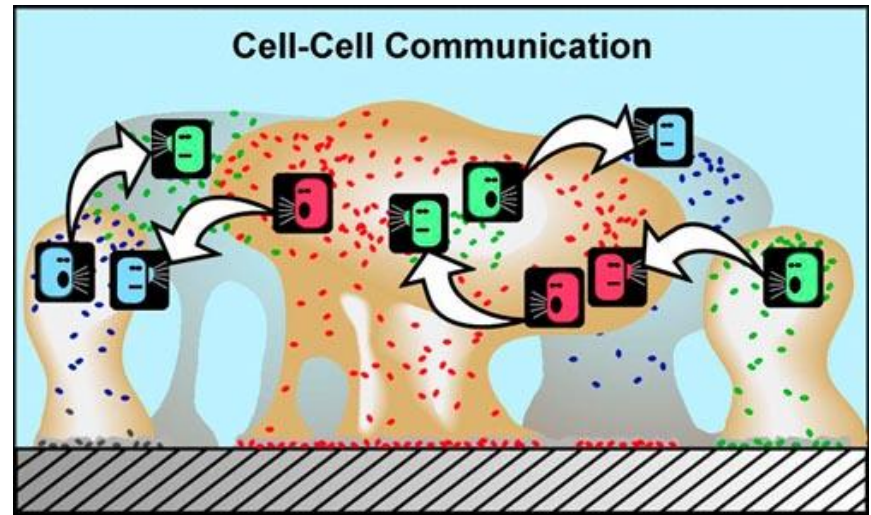
# Šūnu komunikācijas būtība

## Signāla pārnese pamatelementu dzīves cikla īpatnības

Dr. biol. Vita Rovīte  
vita.rovite@biomed.lu.lv

# Lekcijas saturs

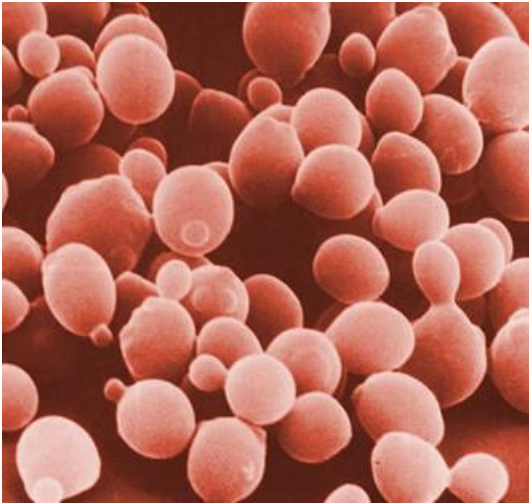
- Šūnu komunikācija
- Signāla pārnese
- Proteīnu sotrēšana un translokācija membrānā
- Ogļhidrātu piesaiste šūnas membrānai



**Šūnu komunikācija**

**Signāla pārnese**

# Kādēļ šūnām vajag komunicēt?



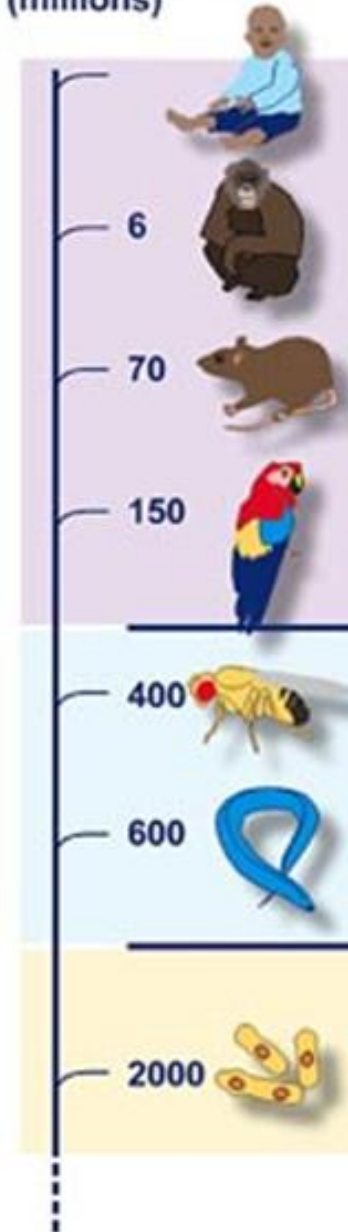
**Atšķirības?**



# Daudzšūnu organismu evolūcija

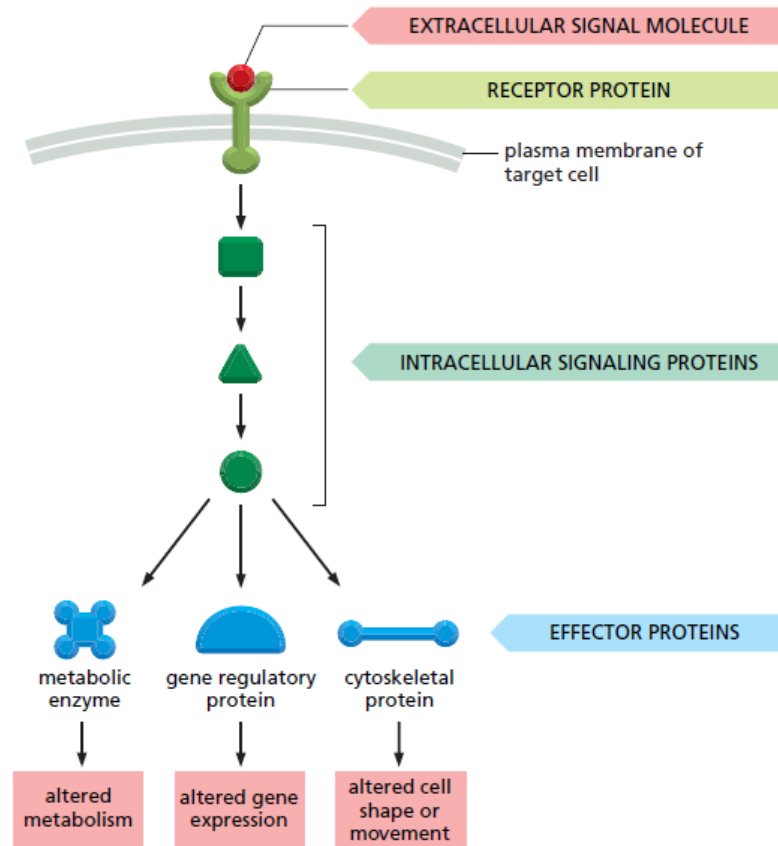
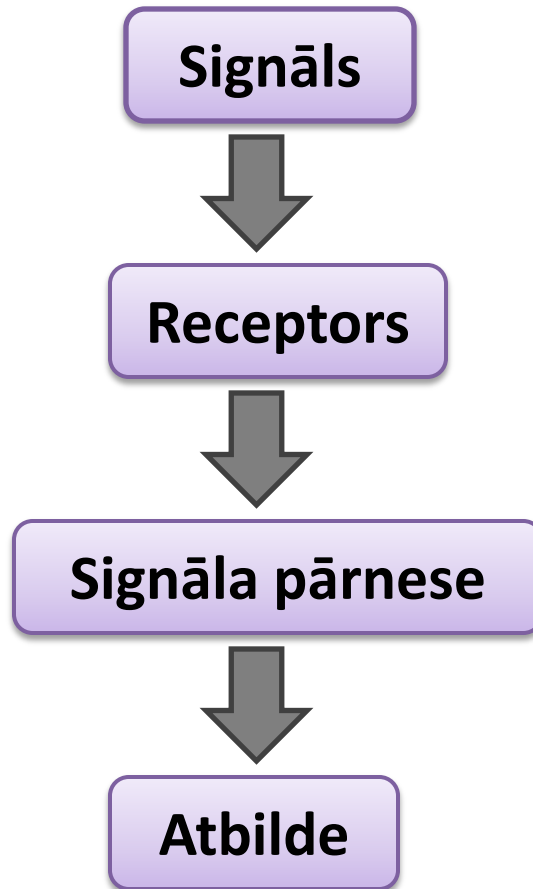
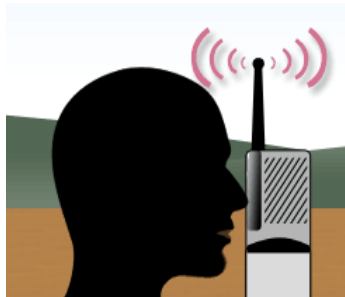
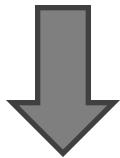
- 50% no *H.sapiens* gēniem homologu, jau bija sastopami kopējā tārpu, kukaiņu un cilvēku priekštečī pirms 600 miljoniem gadu
- Salīdzinot ar raugiem daudzšūnu organismos daudz lielākā skaitā ir sastopami proteīni, kas nodrošina **gēnu regulāciju** un **šūnu mijiedarbību**

Years since a common ancestor (millions)



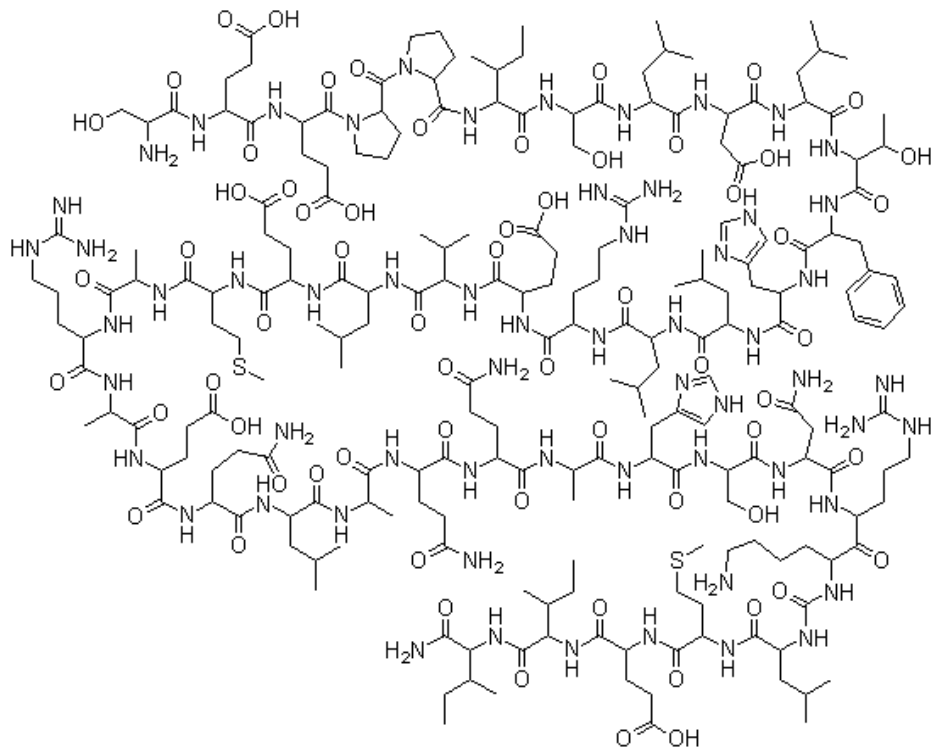
# Komunikācijas pamatelementi

Ārpusšūnas signāls maina šūnas fizioloģisko stāvokli

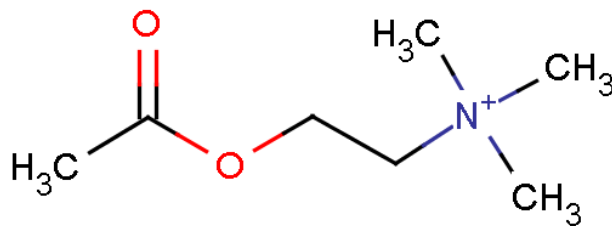
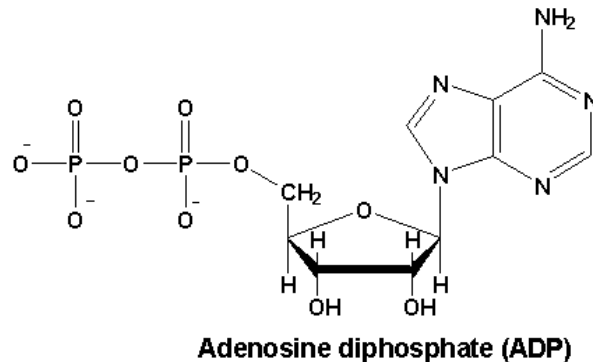


# Signālmolekulas

Proteīni, peptīdi, aminoskābes, nukleotīdi, stereoīdi, retinoīdi, taukskābes un to atvasinājumi, neorganiski savienojumi, izšķīdušas gāzes, fotoni



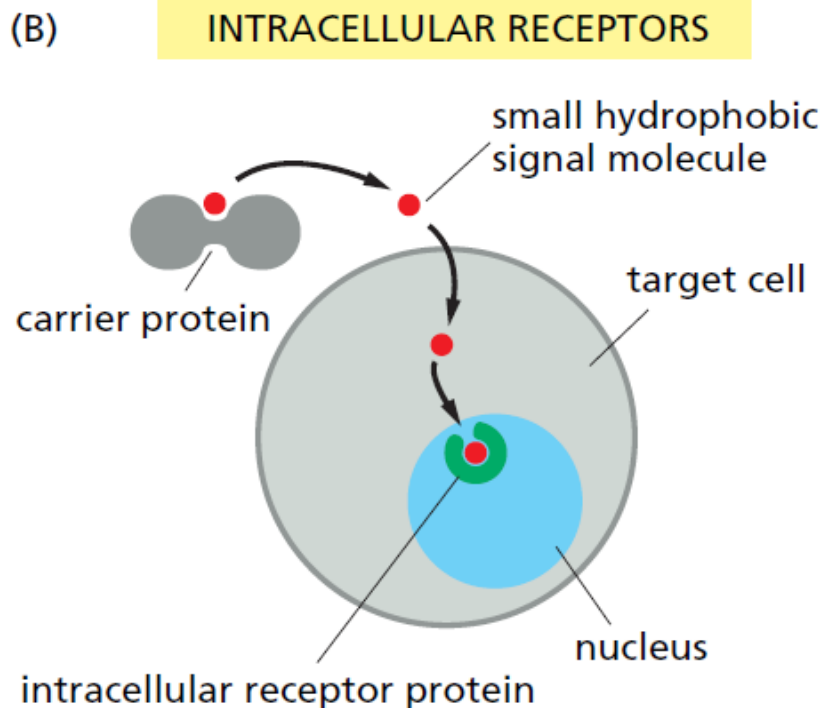
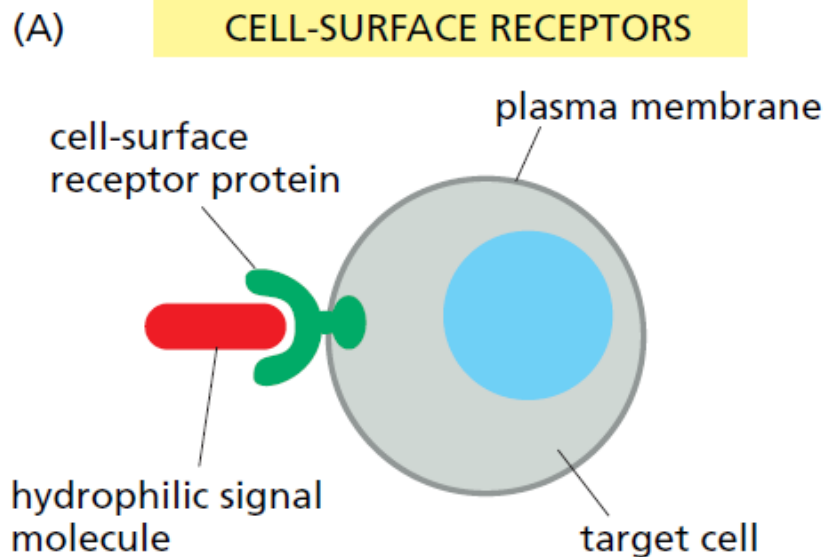
Ser-Glu-Glu-Pro-Pro-Ile-Ser-Leu-Asp-Leu-Thr-Phe-His-Leu-Leu-Arg-Glu-Val-Leu-Glu-Met  
-Ala-Arg-Ala-Glu-Gln-Leu-Ala-Gln-Gln-Ala-His-Ser-Asn-Arg-Lys-Leu-Met-Glu-Ile-Ile-NH<sub>2</sub>



NO

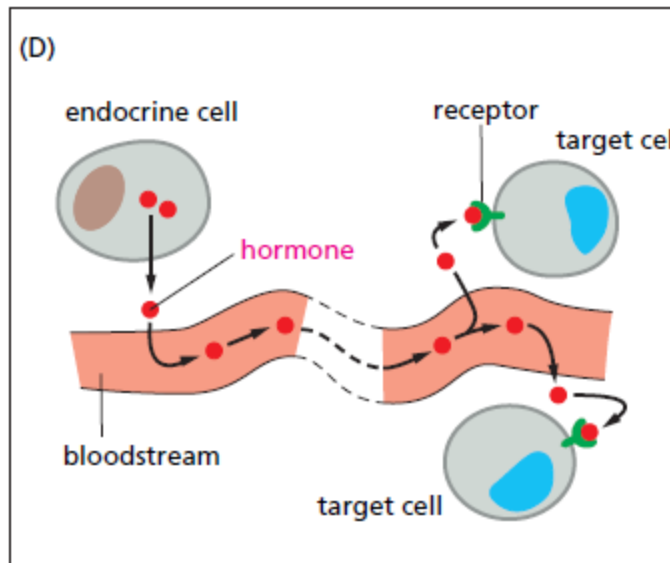
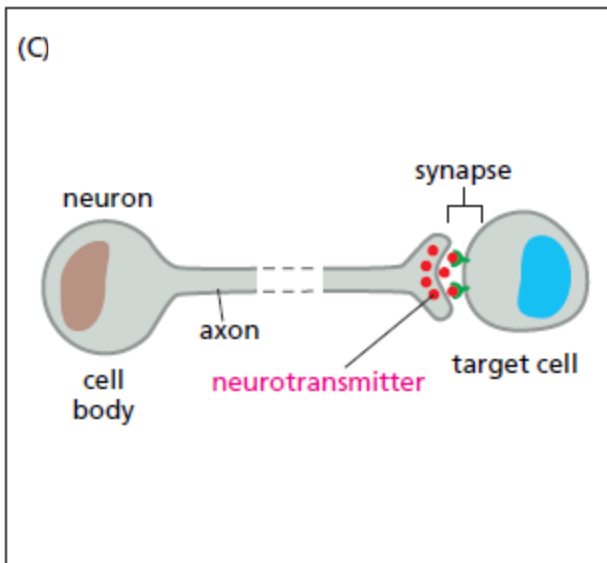
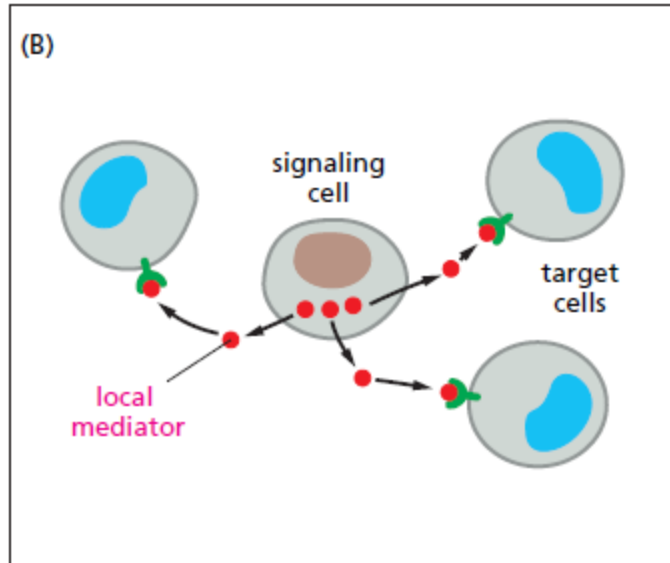
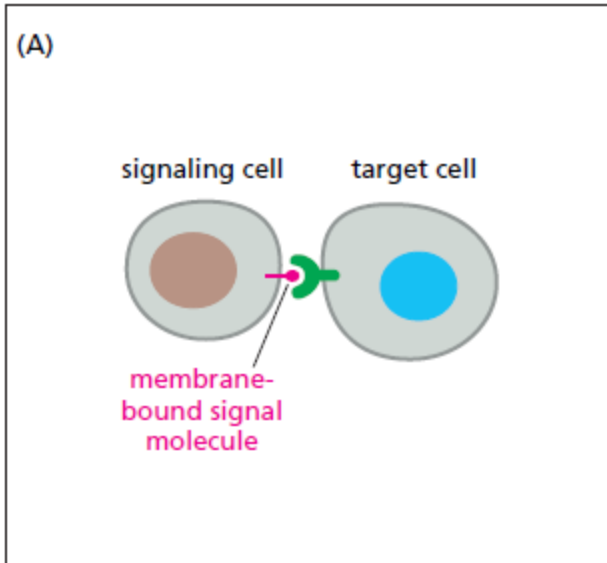
# Ārpusšūnas signāla (liganda) piesaiste

- **Pie šūnas virsmas receptora**  
(hidrofīlas signālmolekulas)
- **Pie iekššūnas receptora**  
(hidrofobas signālmolekulas)





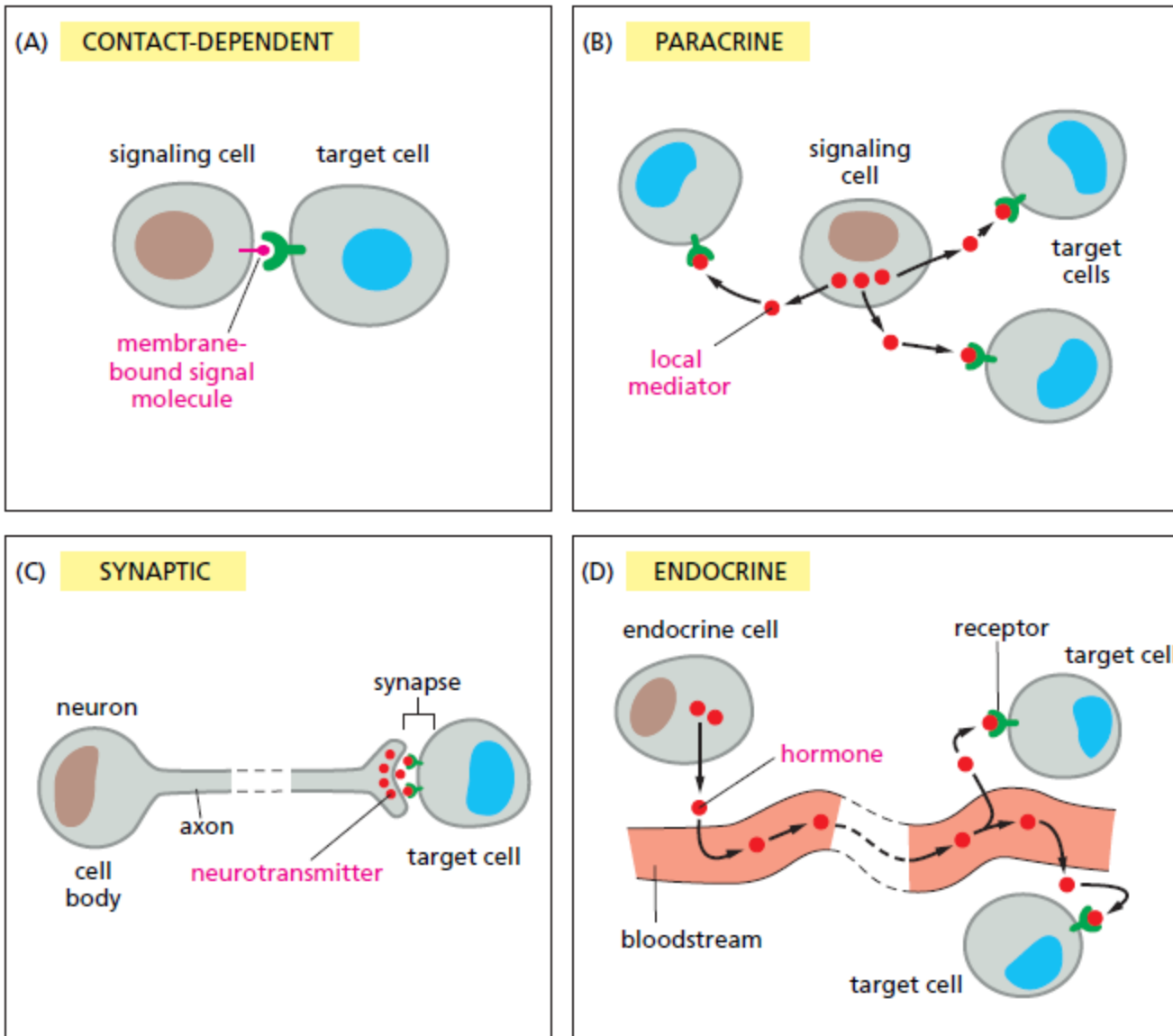
# Šūnu savstarpējā komunikācija



## Signāla pārnese:

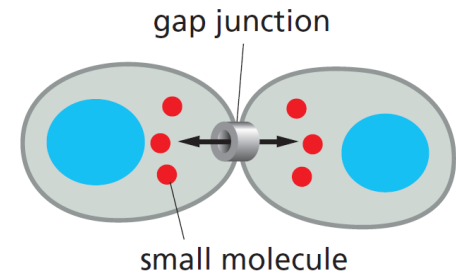
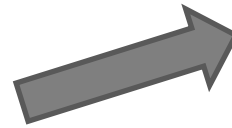
- Sinaptiskā
- Parakrīnā
- Kontaktatkarīgā
- Endokrīnā

# Šūnu savstarpējā komunikācija

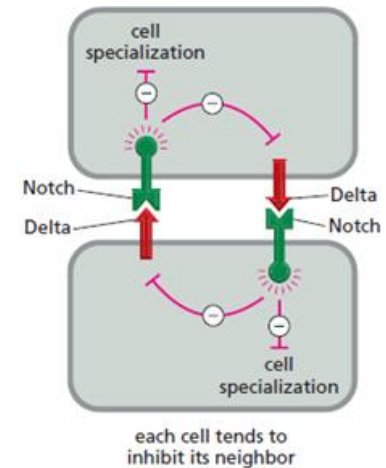
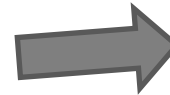


# Šūnu tiešais kontakts

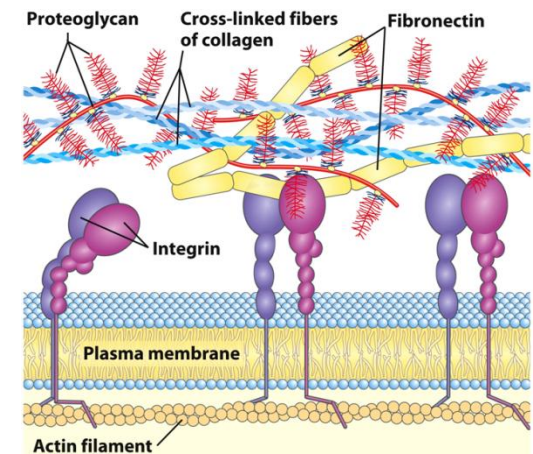
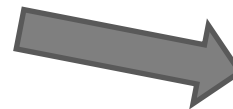
1. *Gap-junction*



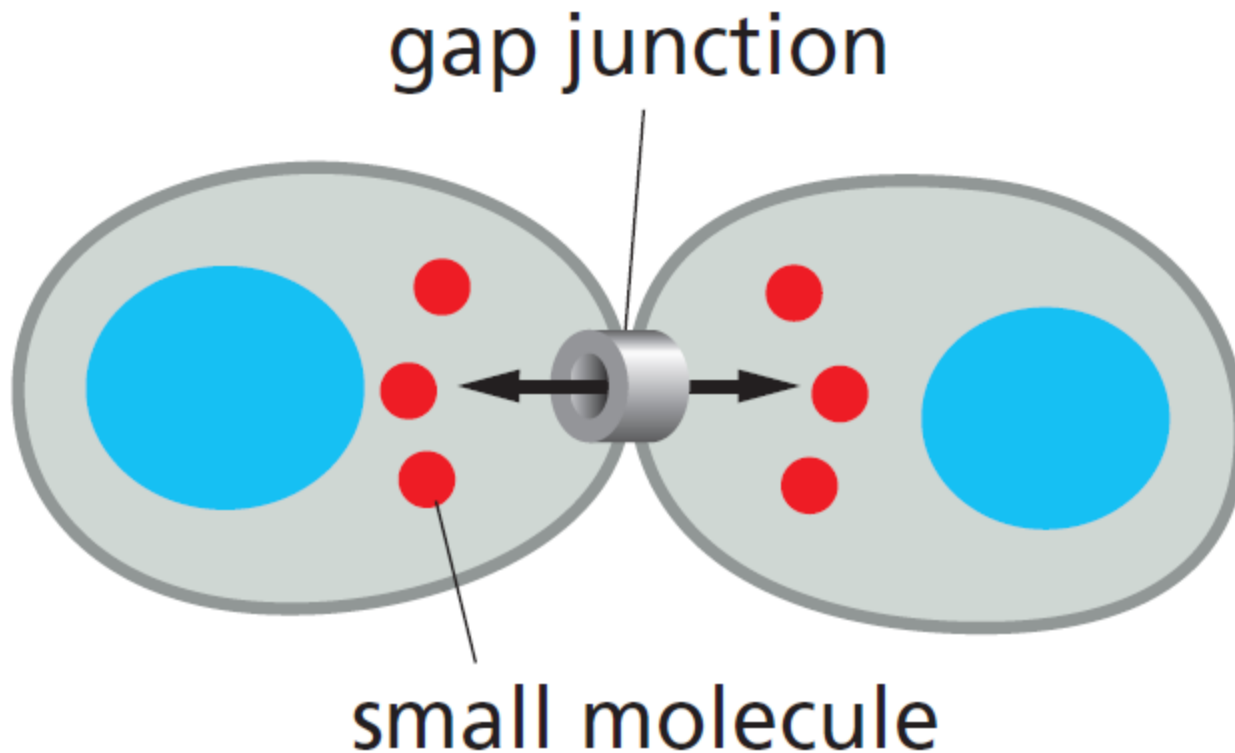
2. Šūnas-šūnas signāla pārnese (Notch)



3. Šūnas-ārpusšūnu matricas signāla pārnese (Integrīni)



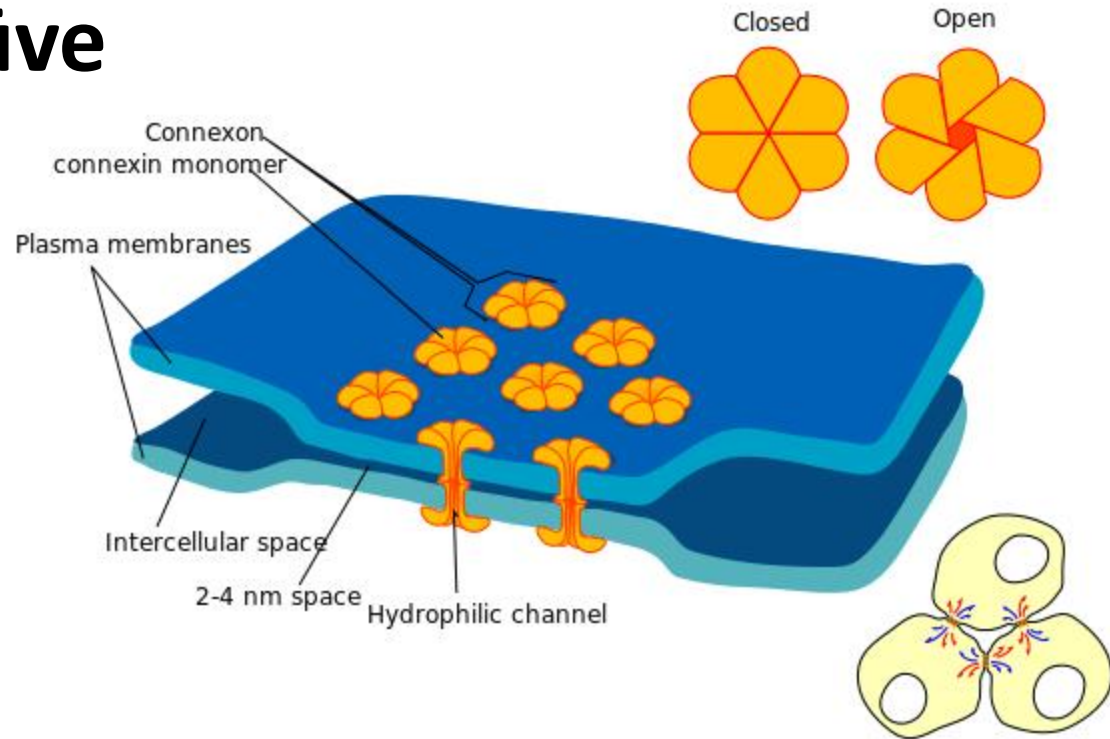
# *Gap-junction*



Šauri kanāli, kas savieno noteikta veida šūnas un veicina neorganisku jonu un mazu ūdenī šķīstošu molekulu transportu ( $\text{Ca}^{2+}$ , cAMP)

# *Gap-junction* uzbūve

Koneksīna monomēri veido **koneksona** kompleksu



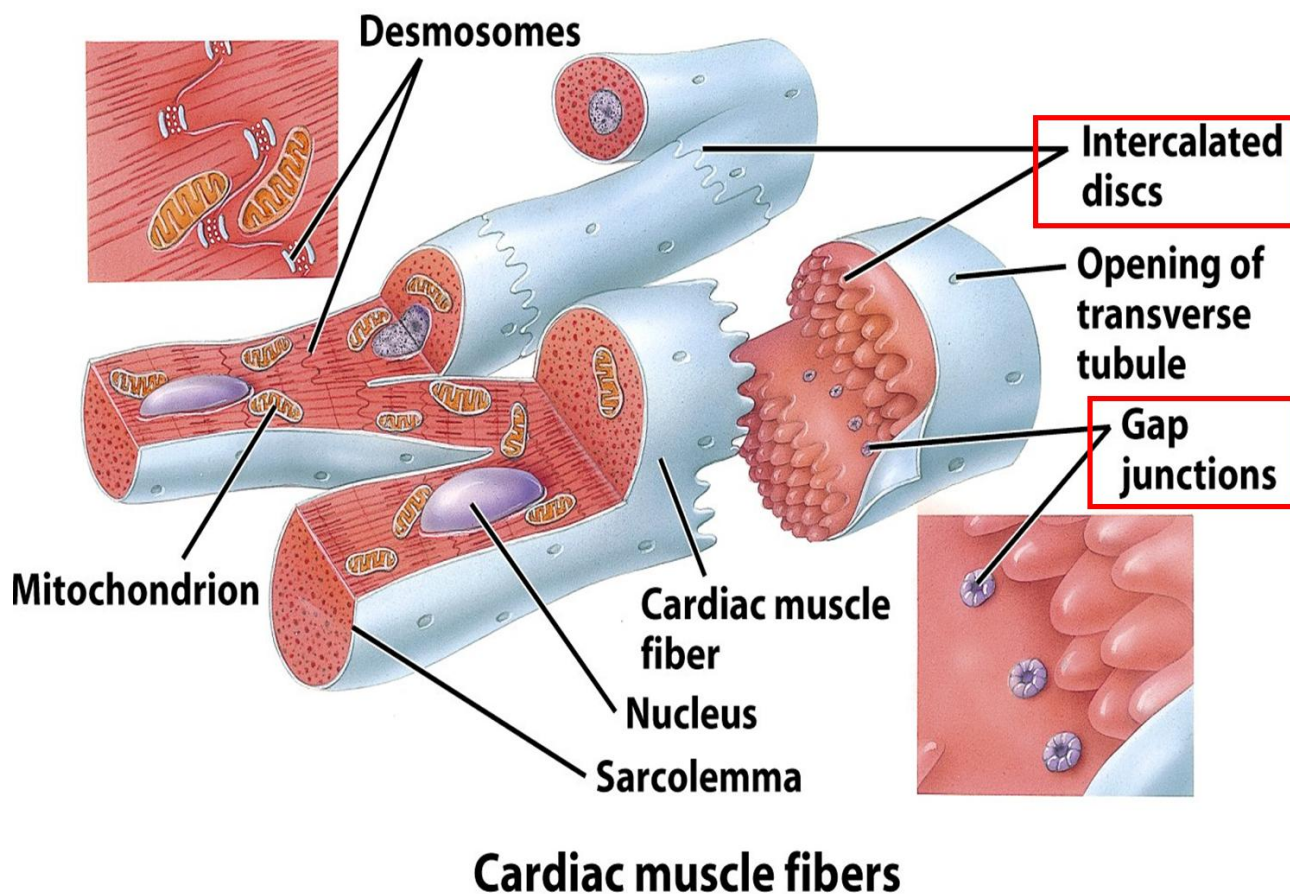
*Gap-junction* var nodrošināt:

- Tiešu elektrisko kontaktu starp šūnām
- Mazmolekulāru sekundāro mesendžeru pārnesi
- Molekulu, kas mazākas par 485 Da pārnesi (bezmugurkaulniekos 1100Da)
- Pārvadāmā signāla nenokļūšanu ārpusšūnas telpā

# *Gap-junction* nodrošina sirds muskuļaudu funkcionalitāti

*Gap-junction* veido savienojumus starp sirds muskuļaudu šūnām nodrošinot  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  un  $\text{Ca}^{2+}$  jonu apmaiņu

*Gap-junction* nodrošina vienotu sirds kontrakciju ritmu atvieglojot depolarizācijas un repolarizācijas procesus

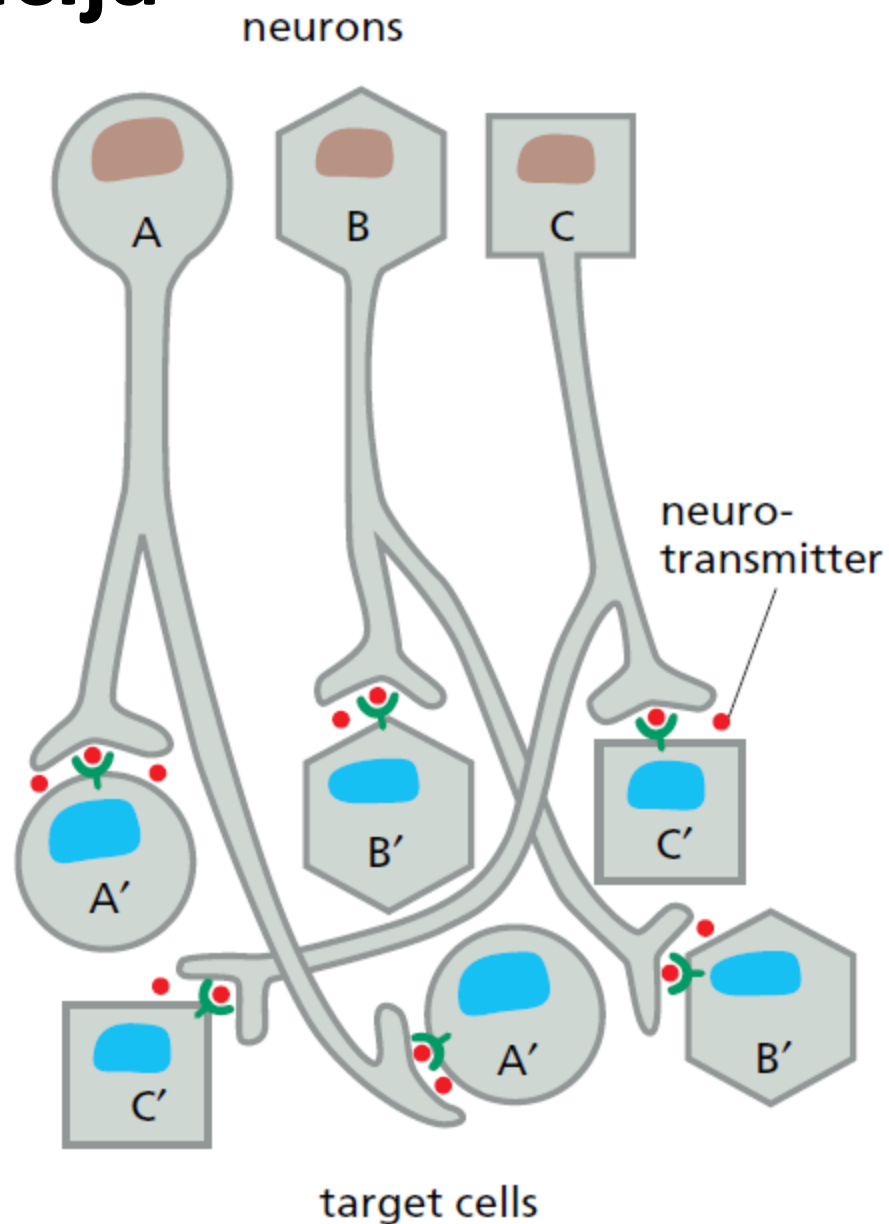


# Sinaptiskā komunikācija

Specifiskumu nodrošina kontakts starp nervu šūnām un mērķšūnām

Tiešais kontakts ar neurotransmiteru nodrošina mērķšūnas fizioloģiskā stāvokļa maiņu

**Ātri!!!**

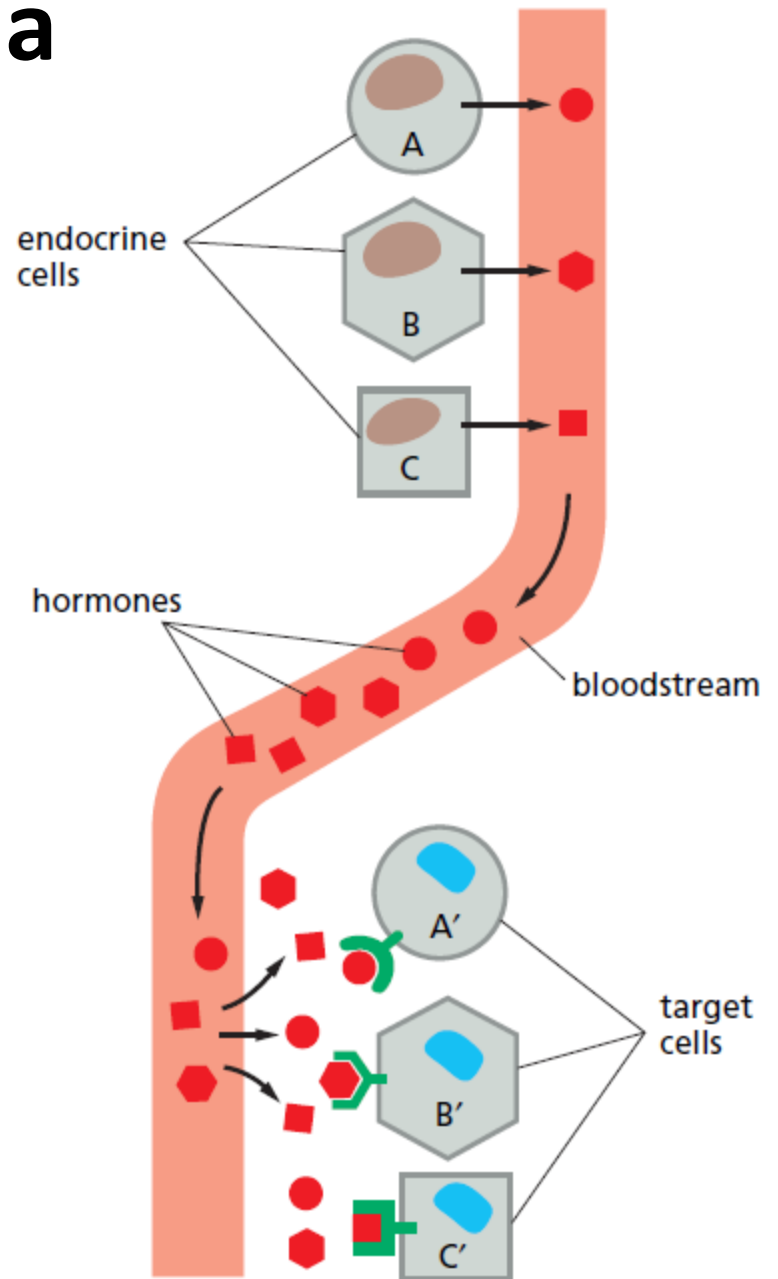


# Endokrīnā komunikācija

Endokrīno šūnu sekretētie hormoni nokļūst asinsritē

Hormonu signālus uztver tikai tās mērķšūnas, kurām ir attiecīgie receptori hormona signālu uztveršanai

**Lēni!!!**

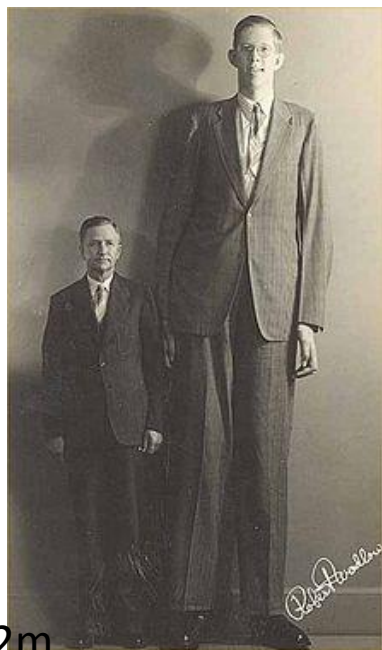




# Pie kā var novest hormonu disbalanss

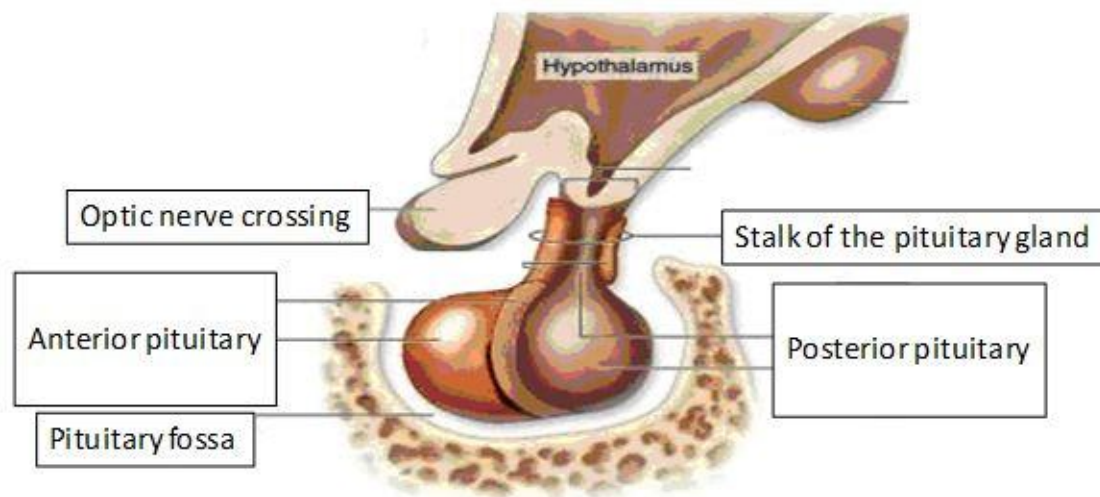
Labdabīgs hipofīzes  
audzējs – **adenoma**

Var novest pie  
nekontrolētas  
hormonu produkcijas



2,72m

Anatomy of Pituitary



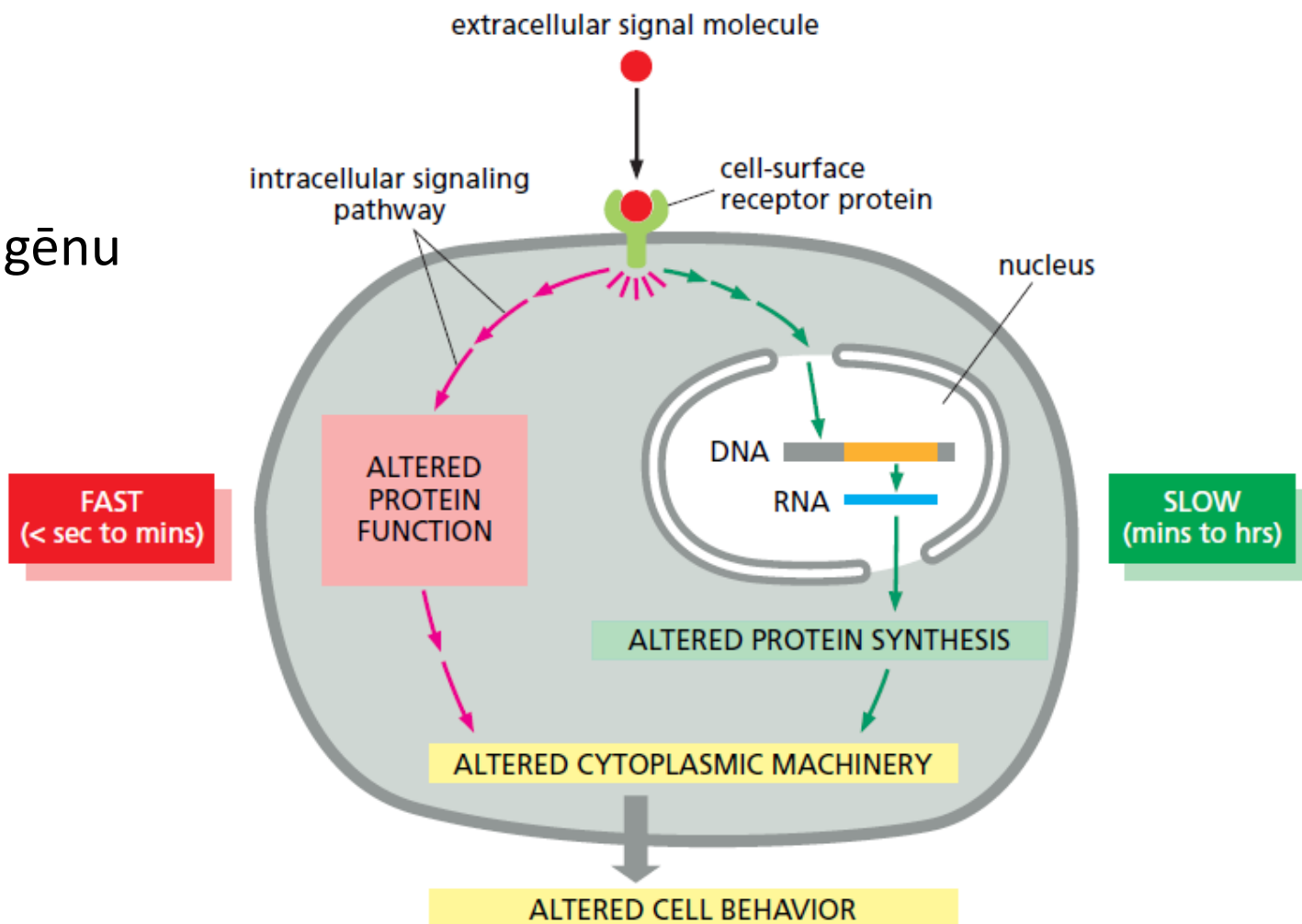
Augšanas h. => gigantisms, endokrīnas,  
kardiovaskulāras saslimšanas

Prolaktīns => piena sekrēcija, reproduktīvo  
funkciju traucējumi

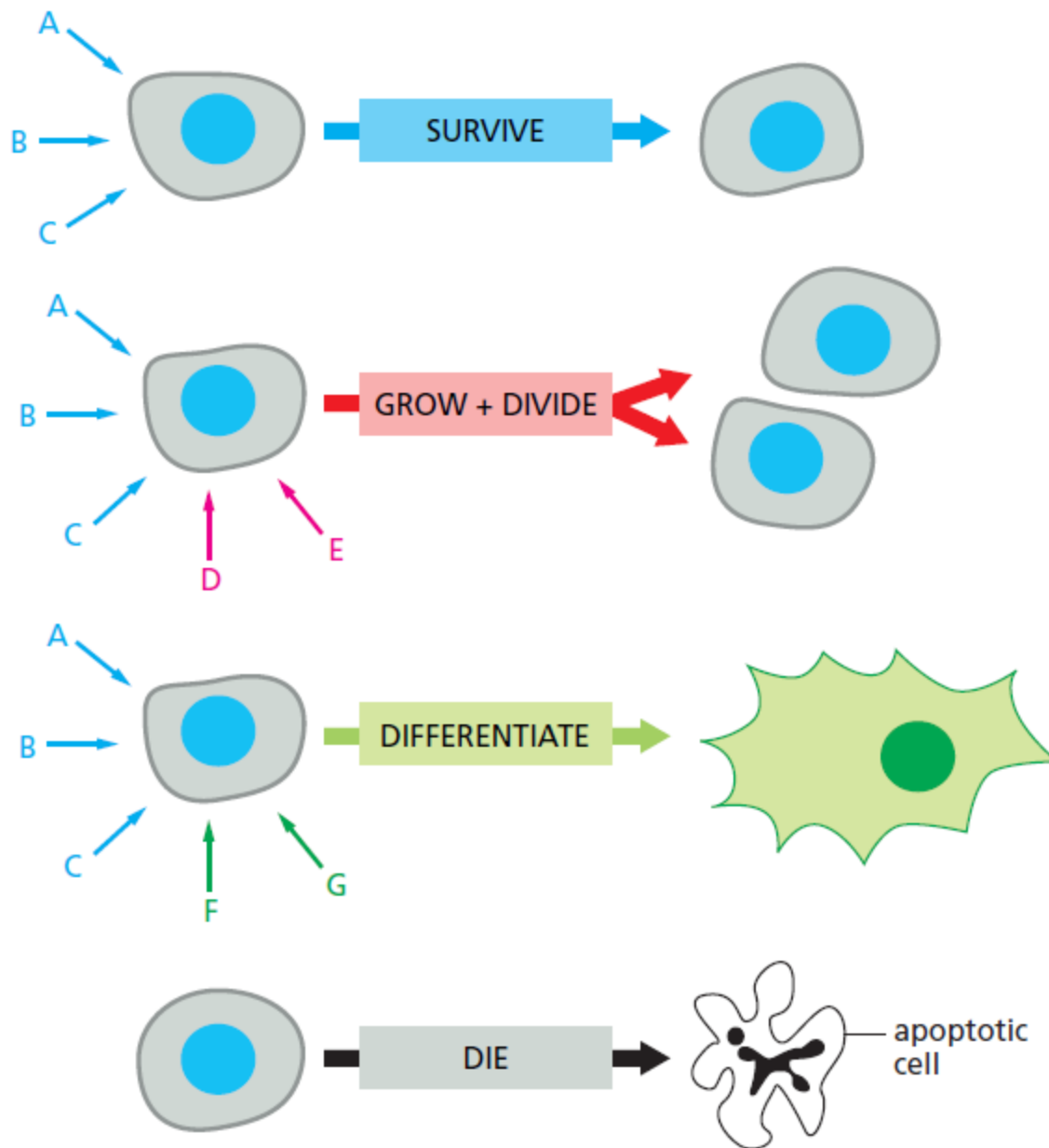
Adrenokortikotropais h. => endokrīnas,  
kardiovaskulāras saslimšanas, psihiski traucējumi  
u.c.

# Šūnas uzvedības maiņa ārpusšūnas signāla ietekmē

- Tiek mainīta proteīnu funkcionalitāte
- Tiek mainīta gēnu ekspresija

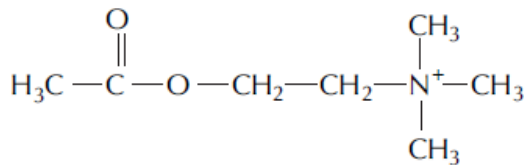


# Dzīvnieku šūnu atkarība no ārējiem signāliem

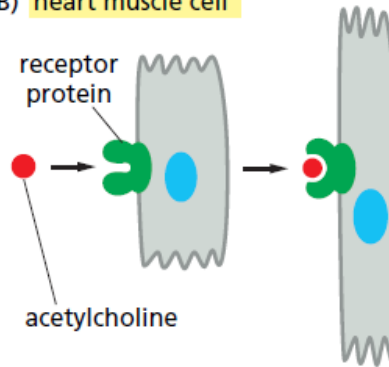


# Atkarībā no mērķaudu specifikas atbildes reakcija uz vienu signālu var būt atšķirīga

(A) acetylcholine

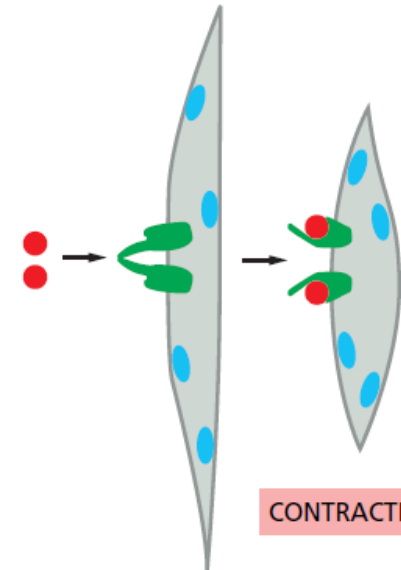


(B) heart muscle cell

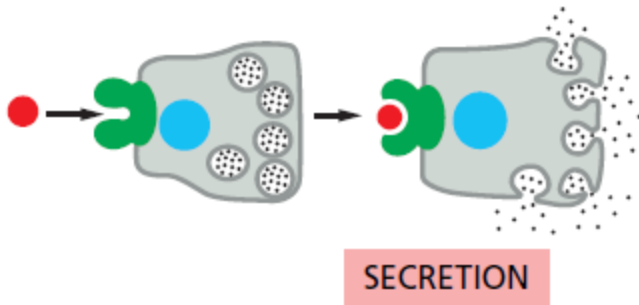


DECREASED RATE AND FORCE OF CONTRACTION

(C) skeletal muscle cell

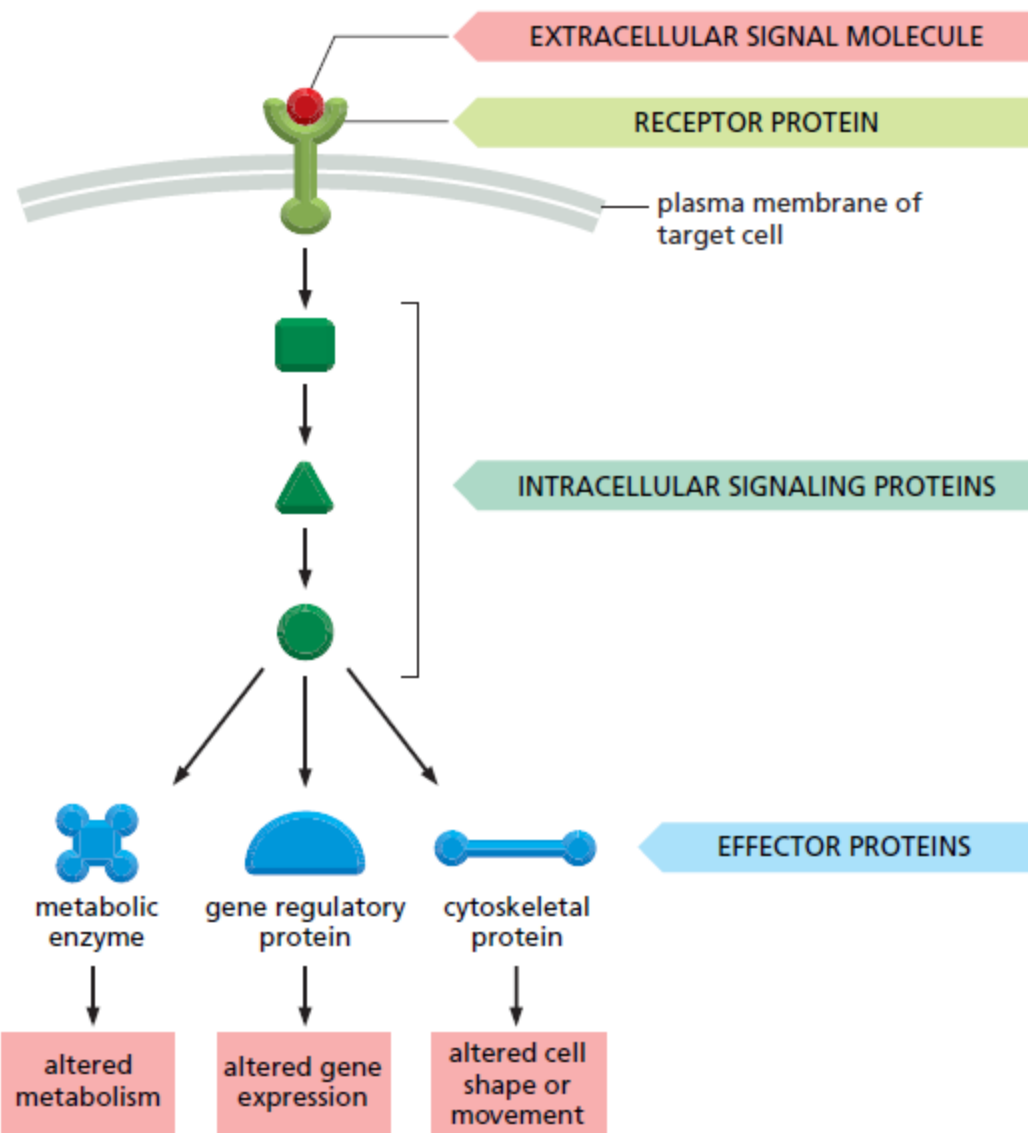


(D) salivary gland cell



# Signāla uztvere un pārnese

Ārpusšūnas signāls maina šūnas fizioloģisko stāvokli

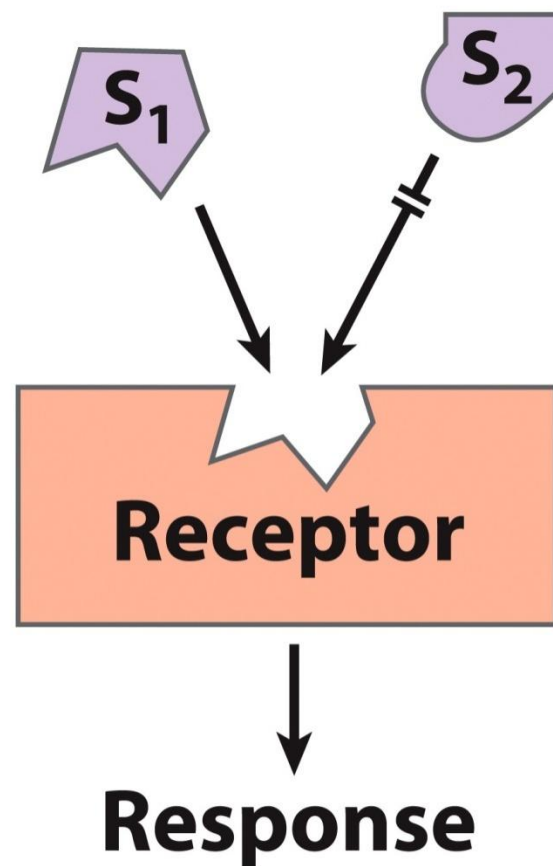


## Lai šūnu komunikācija būtu sekmīga:

- Signālam jābūt specifiskam
- Nepieciešams signālu amplificēt
- Signāla pārnesei jābūt modulārai
- Signāla uztverei jāspēj adaptēties/desensitizēties
- Signāliem jābūt savstarpēji integrējamiem

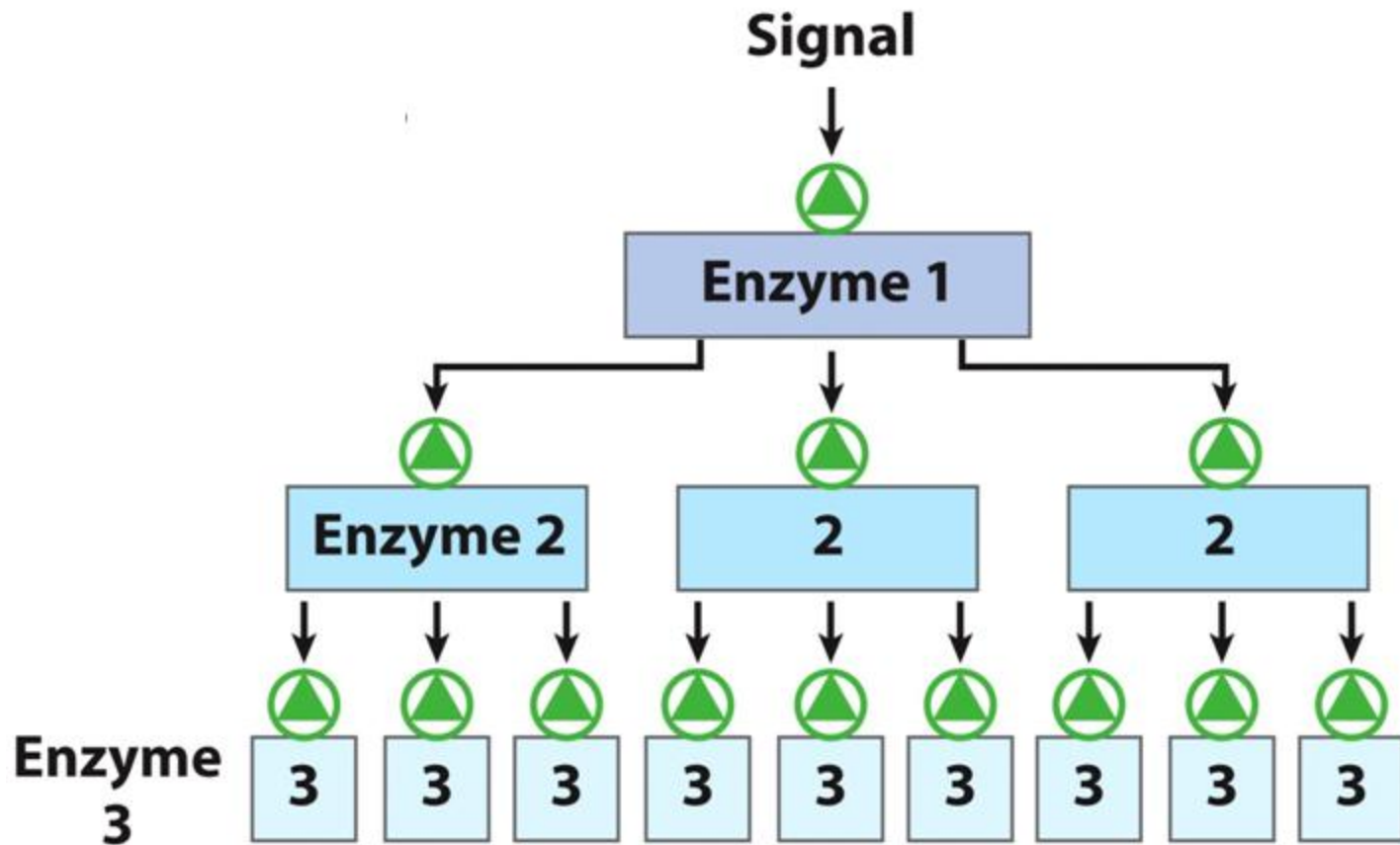
# Signāla specifiskums

- Signālmolekula (**ligands**) specifiski piesaistās pie mērķreceptora
- Citas signālmolekulas šajā vietā nevar piesaistīties
- **Afinitāte** – raksturo liganda spēju saistīties pie mērķproteīna



# Signāla amplifikācija

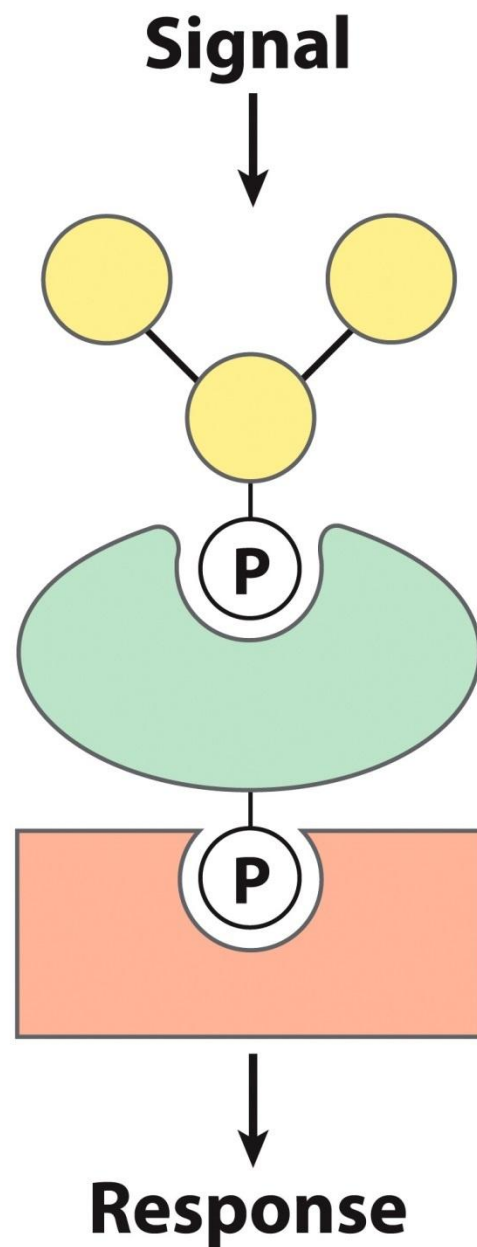
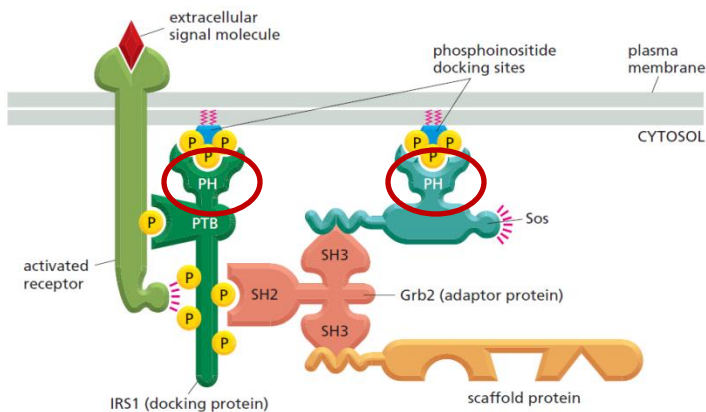
Enzīmu kaskāžu aktivācija noved pie signāla amplifikācijas pieauguma ģeometriskā progresijā





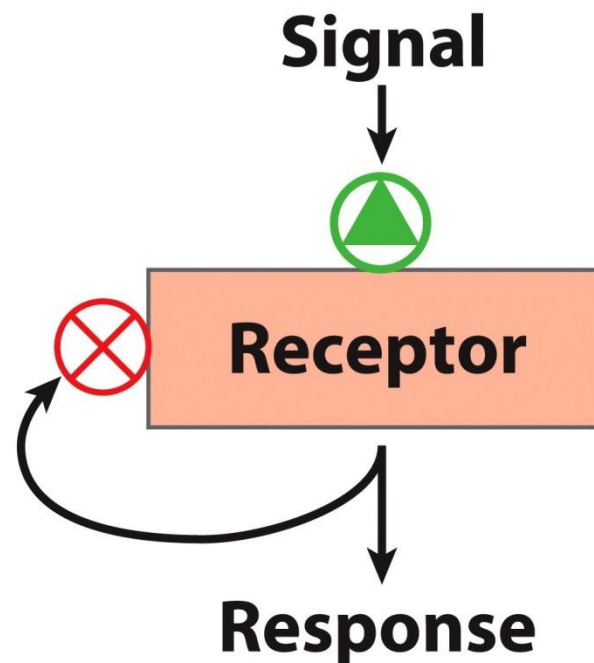
# Signāla pārnese modularitāte

Proteīni ar multivalentu afinitāti veido daudzveidīgus signālkompleksus no savstarpēji maināmām daļām

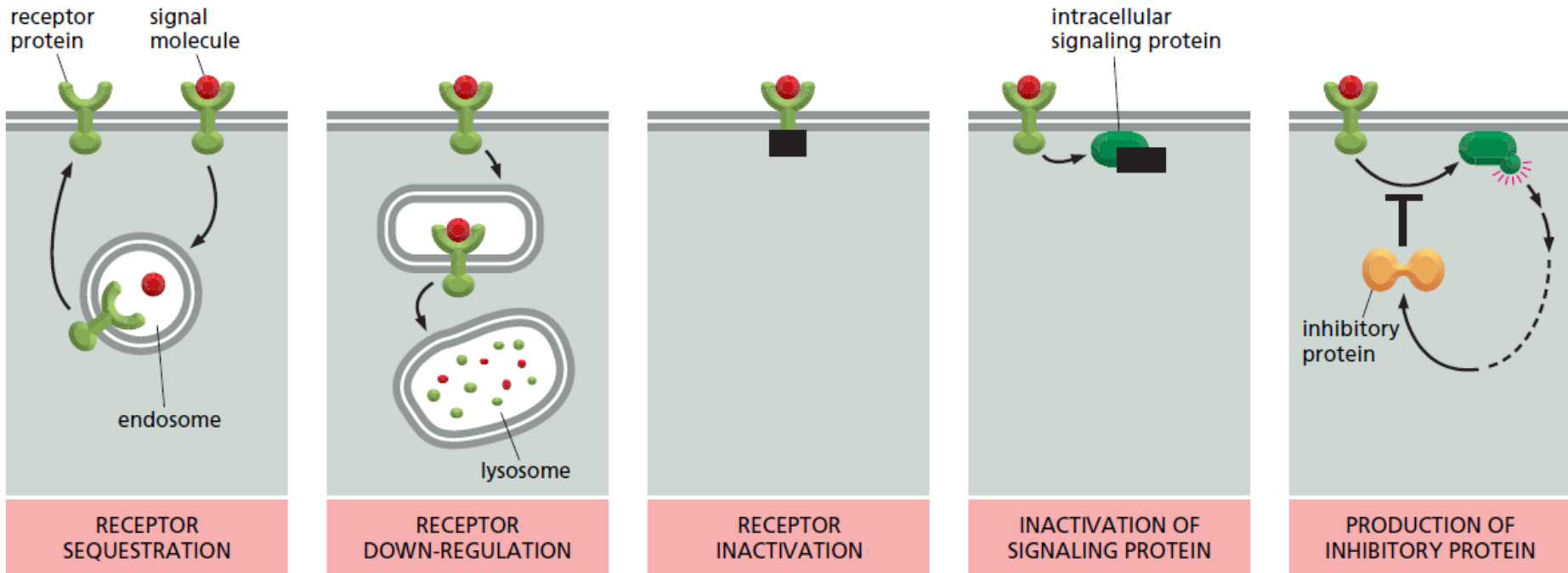


# Signāla desensitizācija/adaptācija

Receptora aktivācija iedarbina atgriezenisko saiti, kas vai nu izslēdz receptoru vai nodrošina tā aizvākšanu no šūnas virsmas

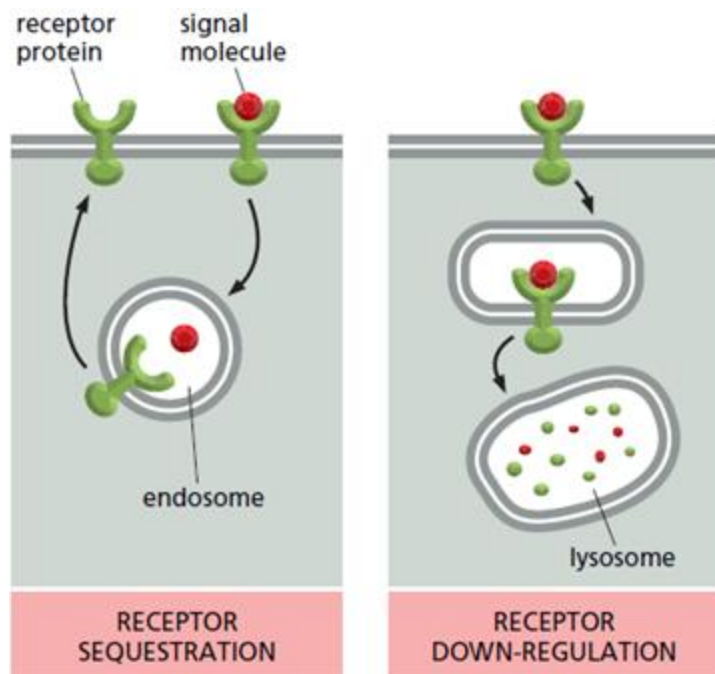


# Signāla desensitizācija/adaptācija



Lielākoties signāla desensitizācijas procesam pamatā ir fosforilēšana vai ubikvitinēšana

# Signāla desensitizācijas veidi



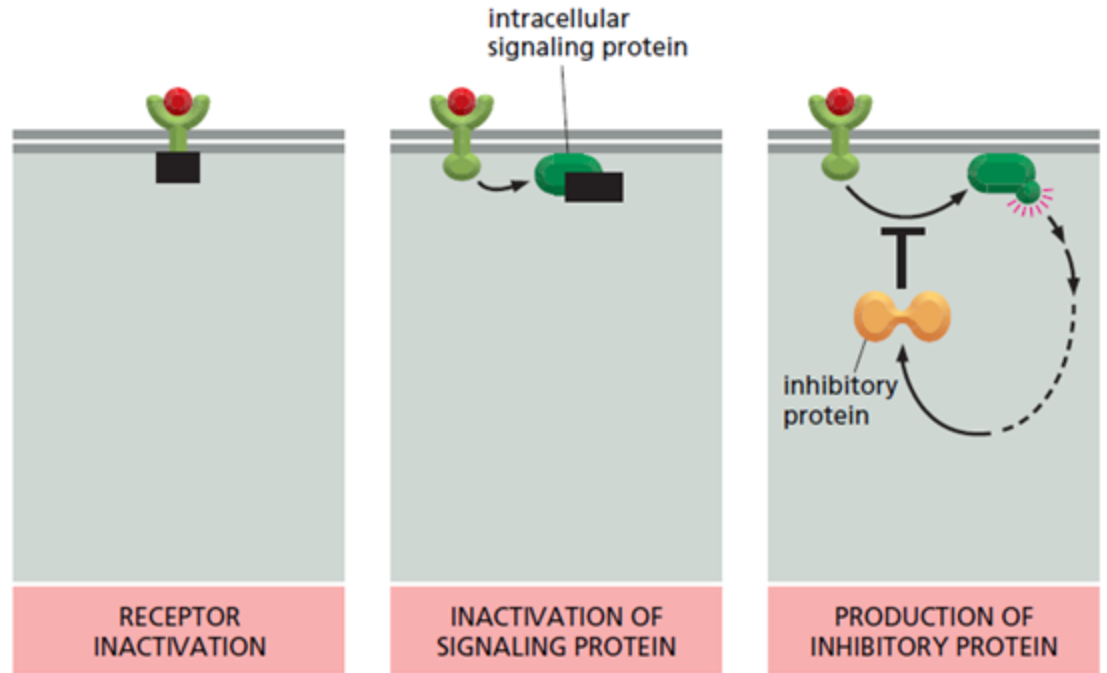
Aktivācija var veicināt receptora internalizāciju endosomās

Receptors tālāk var tikt novirzīts uz degradāciju vai nogādāts atpakaļ šūnas membrānā

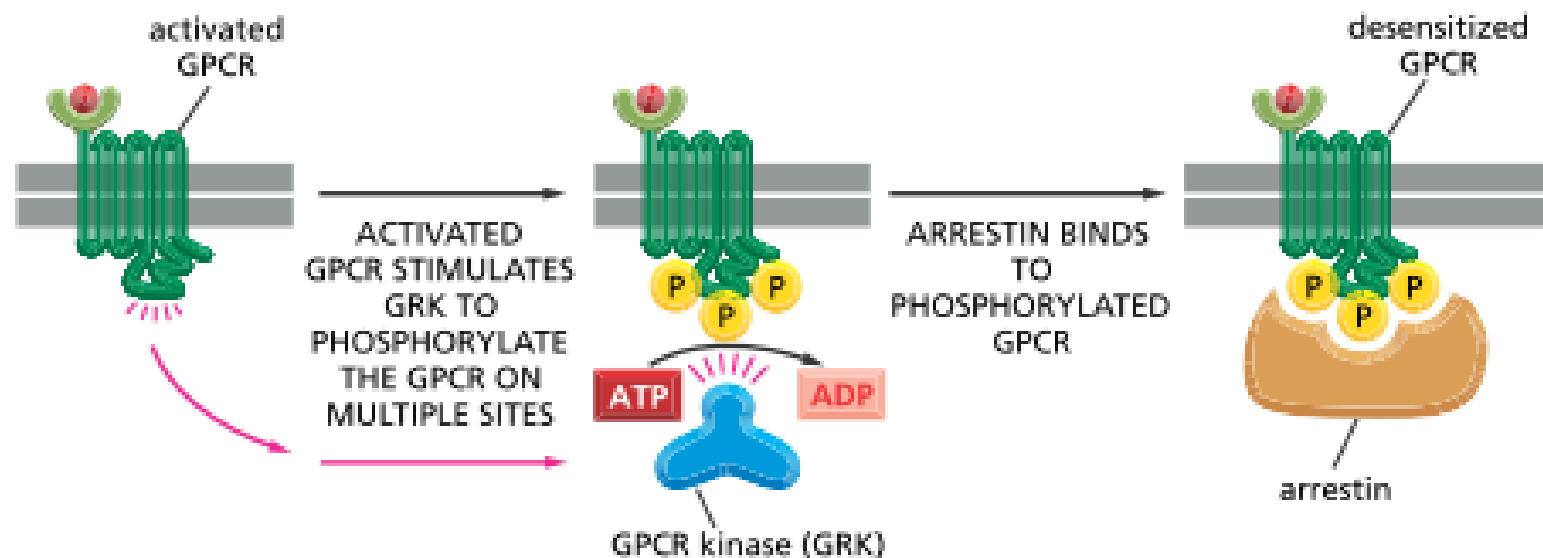
# Signāla desensitizācijas veidi

Receptora inaktivācija var notikt fosforilējot tā iekššūnas rajonus vai iekššūnas signāla proteīnus

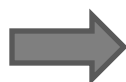
Receptora aktivācija var veicināt tā inhibitoro proteīnu produkciju



# Signāla desensitizācijas piemērs



Receptora  
aktivācija izmaina  
tā iekššūnas  
konformāciju

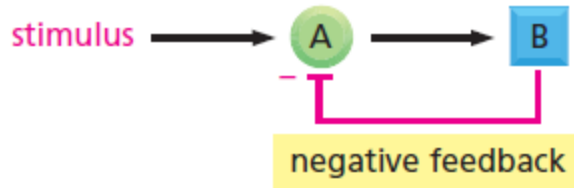
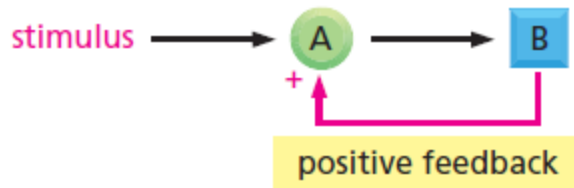


Var piesaistīties  
kināze, kas  
pievieno fosfāta  
grupas noteiktiem  
aminoskābju  
atlikumiem

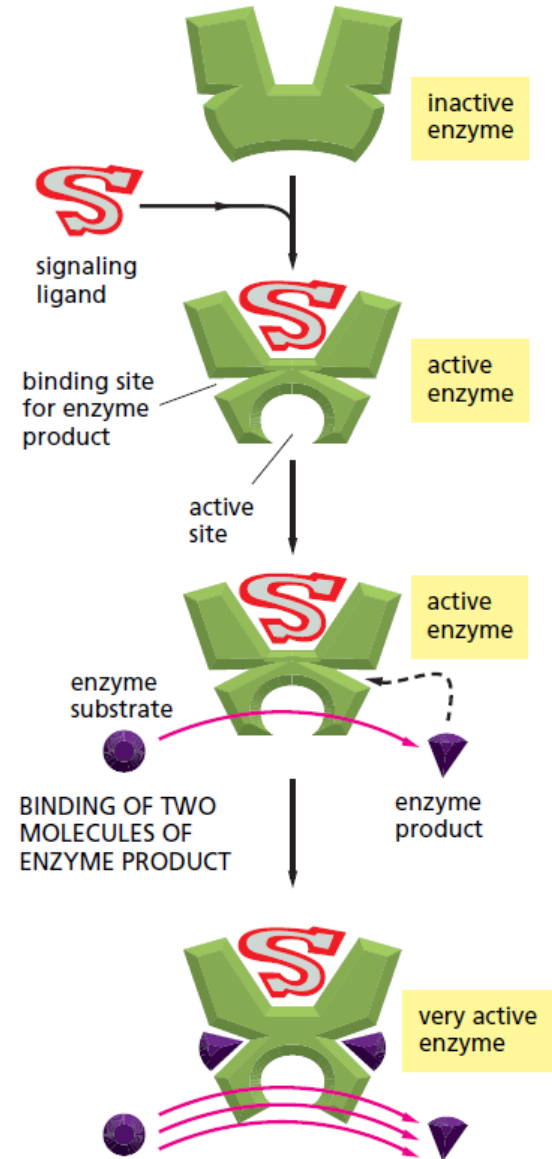


Pie fosfāta  
atlikumiem var  
piesaistīties  
proteīns arestīns,  
kas inaktīvā  
signāla pārnēsā

# Atgriezeniskā saite



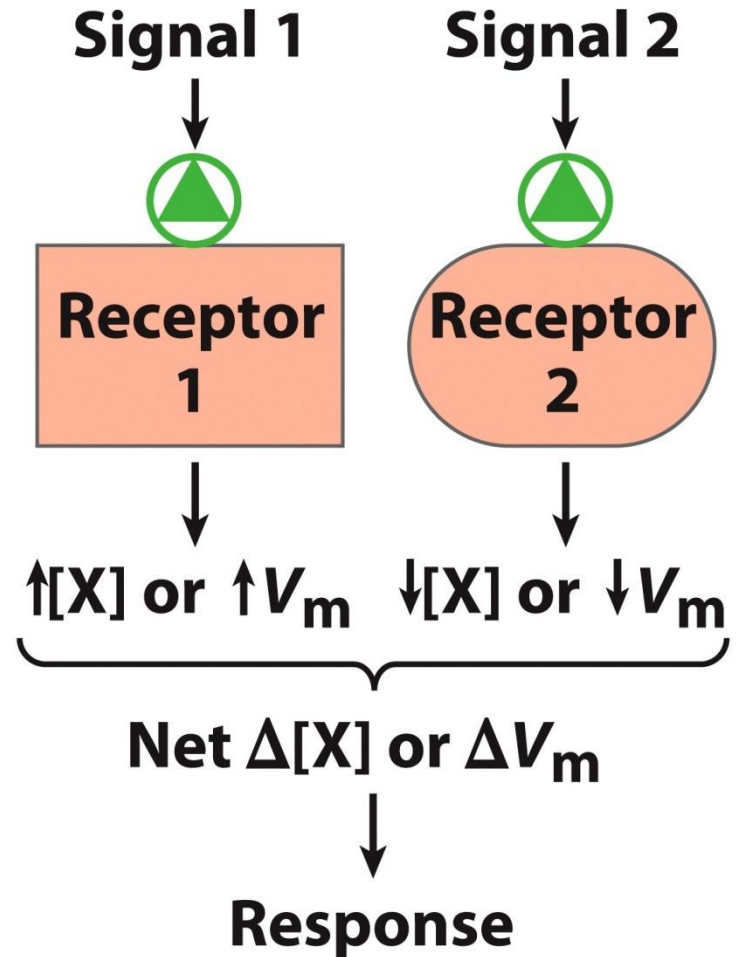
Atgriezeniskā saite var būt gan pozitīva, gan negatīva



Allostēriskā atgriezeniskā saite

# Signālu integrācija

Diviem signāliem ar pretēju metabolisko efektu regulatorais iznākums (šūnas atbilde uz signālu) veidojas no integrēta abu receptoru signāla



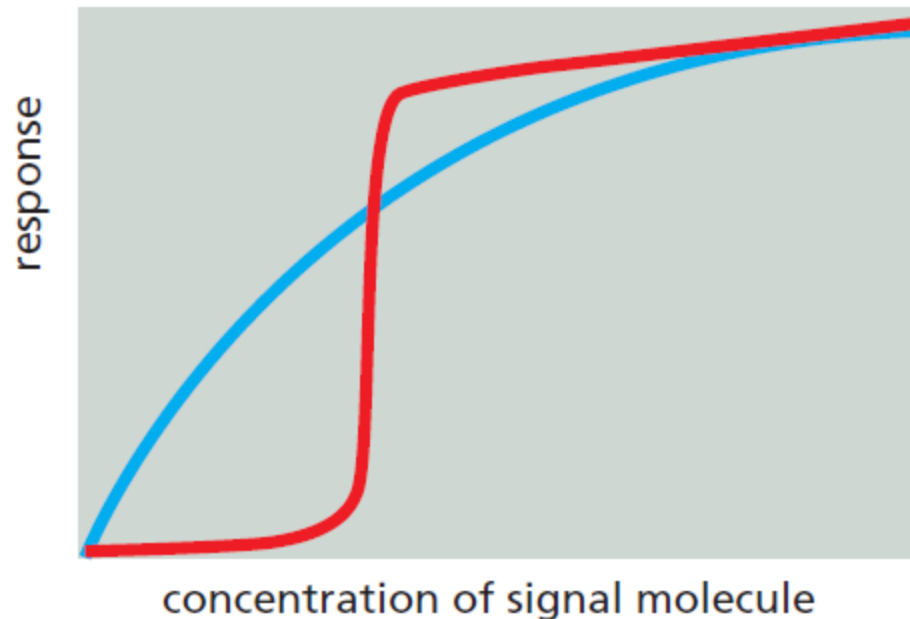
[X] - sekundārā mesendžera X koncentrācija  
 $V_m$  – membrānas potenciāls



# Atbilde uz signālu

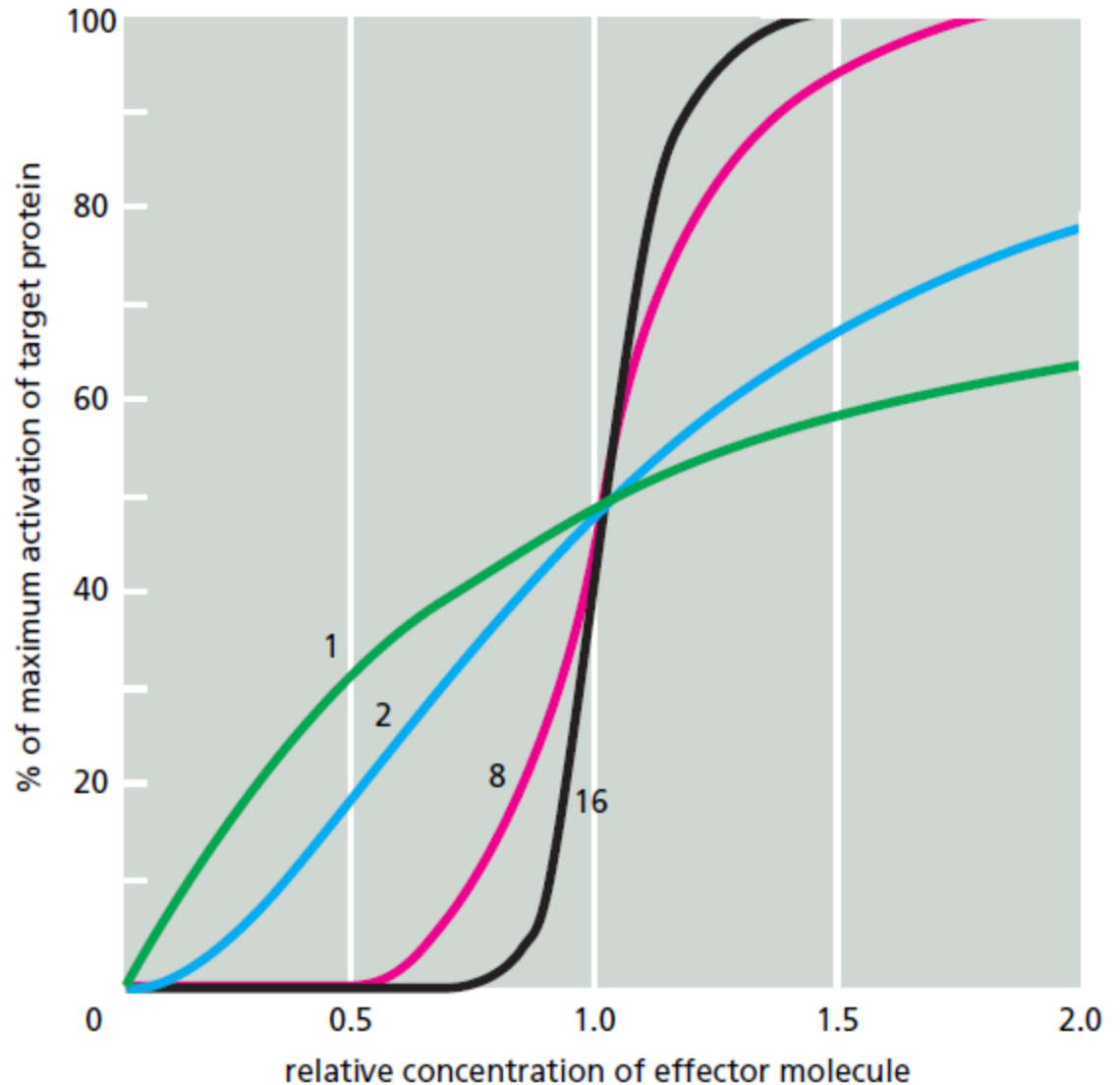
**Graduāls** atbildes pieaugums, veidojas, ja signāla ietekmē atbildes reakcija pieaug pakāpeniski

**Slēdža princips** – pie noteiktas signālmolekulas koncentrācijas veidojas maksimāla atbildes reakcija



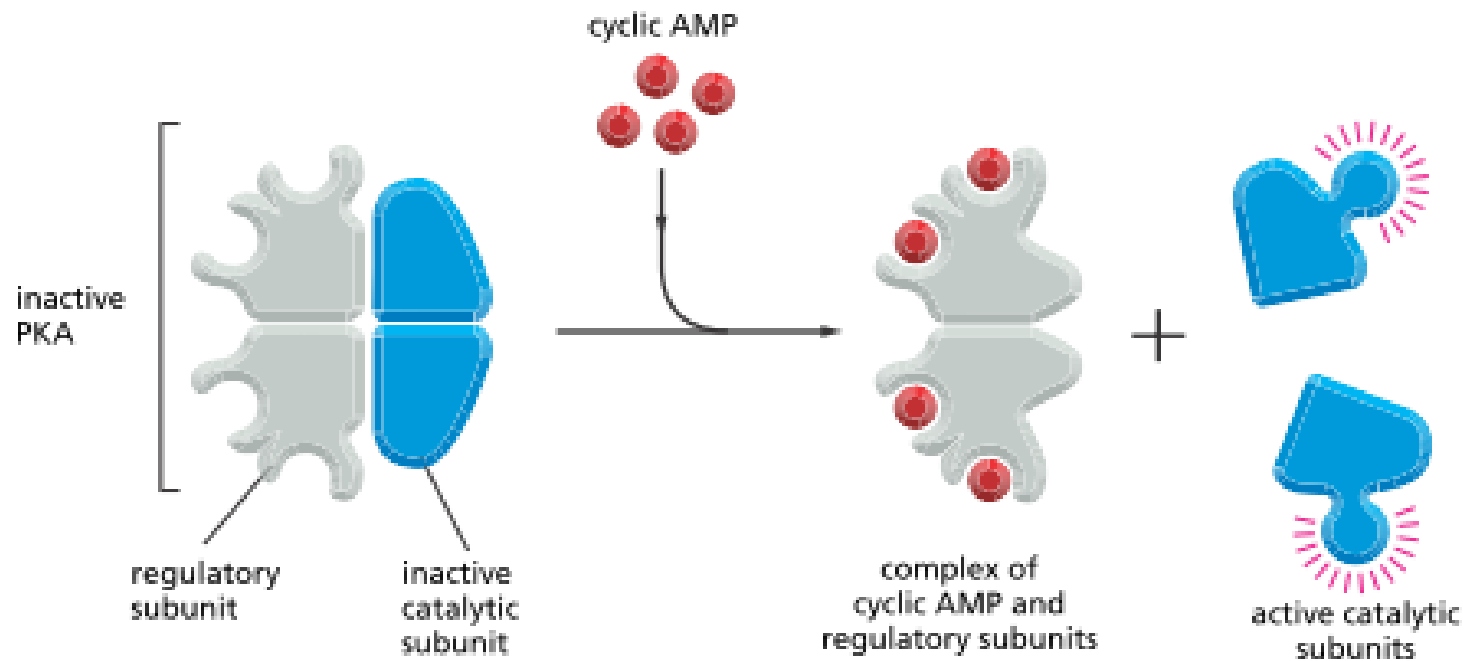
# Atbilde uz signālu

Efektorās molekulas koncentrācija var ietekmēt atbildes reakcijas raksturu



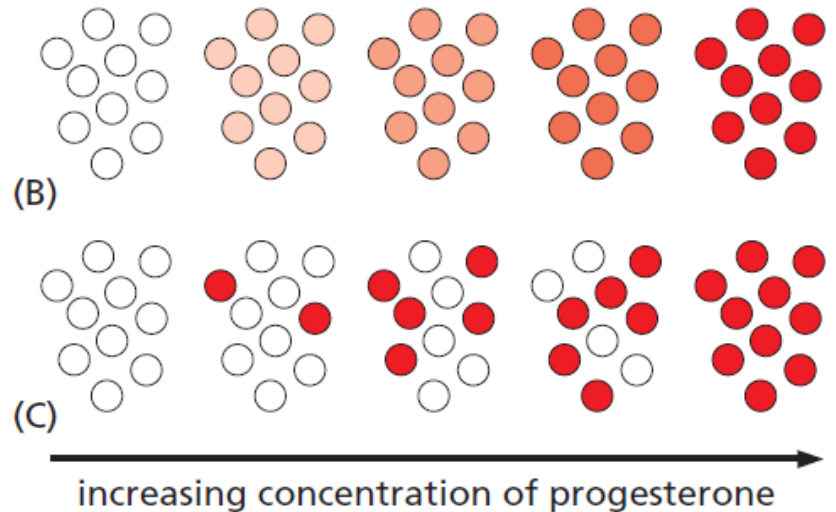
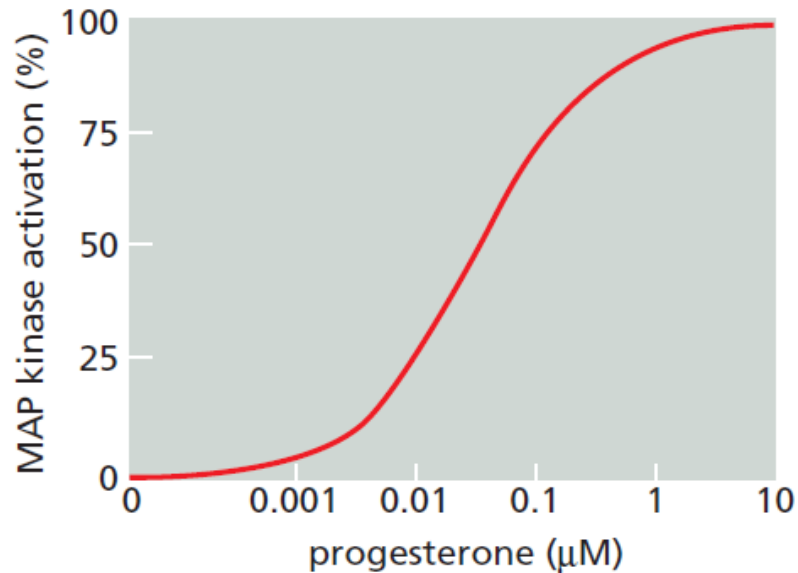
# Slēdža principa realizācija

Proteīnkināzes A aktivācijai nepieciešamas četras cAMP molekulas



# Atbilde uz signālu

Šūnu populācijas pētījumos



(A)

Graduāla vai slēdža principa atbildes reakcija

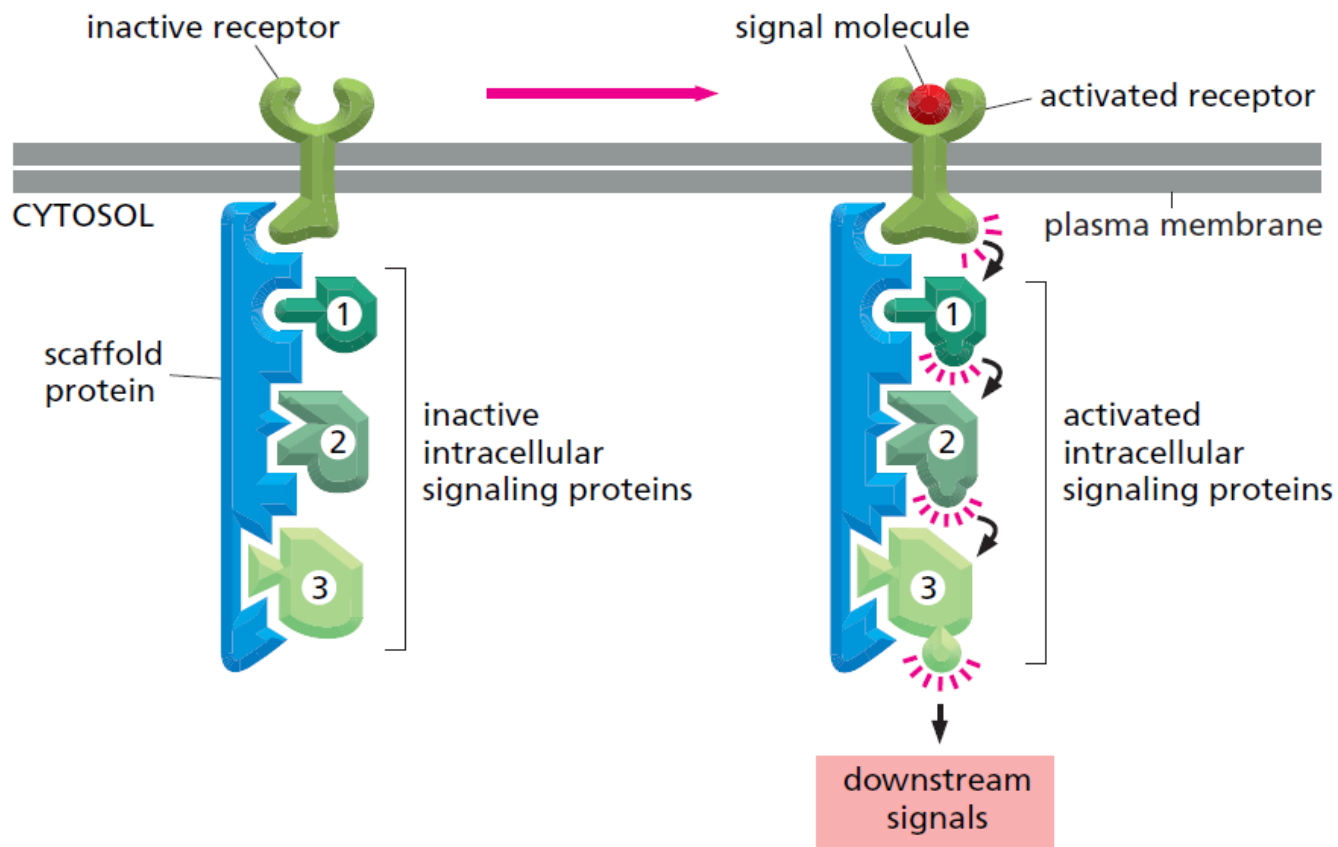
# Signāla pārnese efektivitāte telpā un laikā

Lai visi signālceļā iesaistītie elementi satiktos nepieciešams tos koordinēt



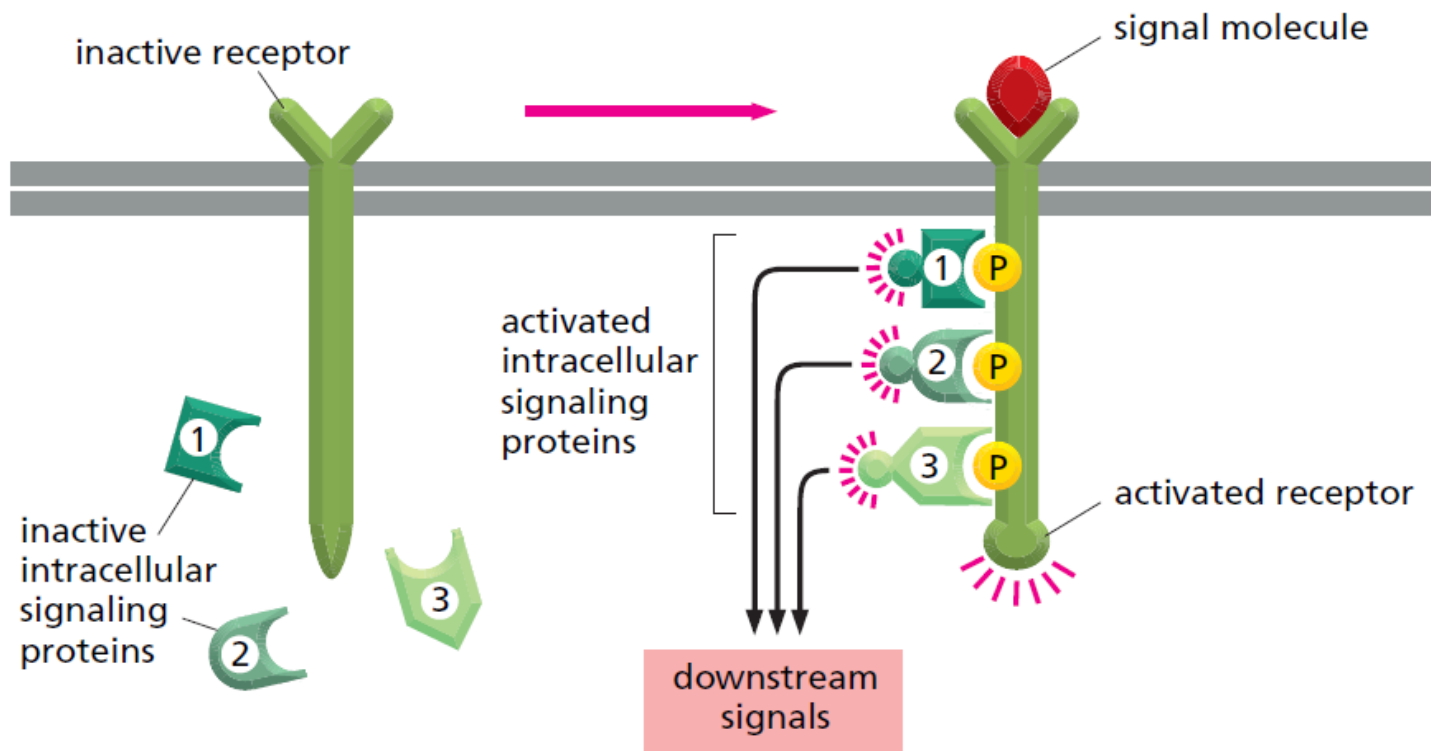
- **Signālkompleksi** ir proteīni, kas palīdz veidot telpā un laikā efektīvāku signāla pārnesei
- **Lipīdspecifiskie membrānu mikrodomēni** (*lipid rafts*) specifiski rajoni šūnas membrānā, kur koncentrējas vairāki membrānas proteīni

# Signālkompleksu darbība



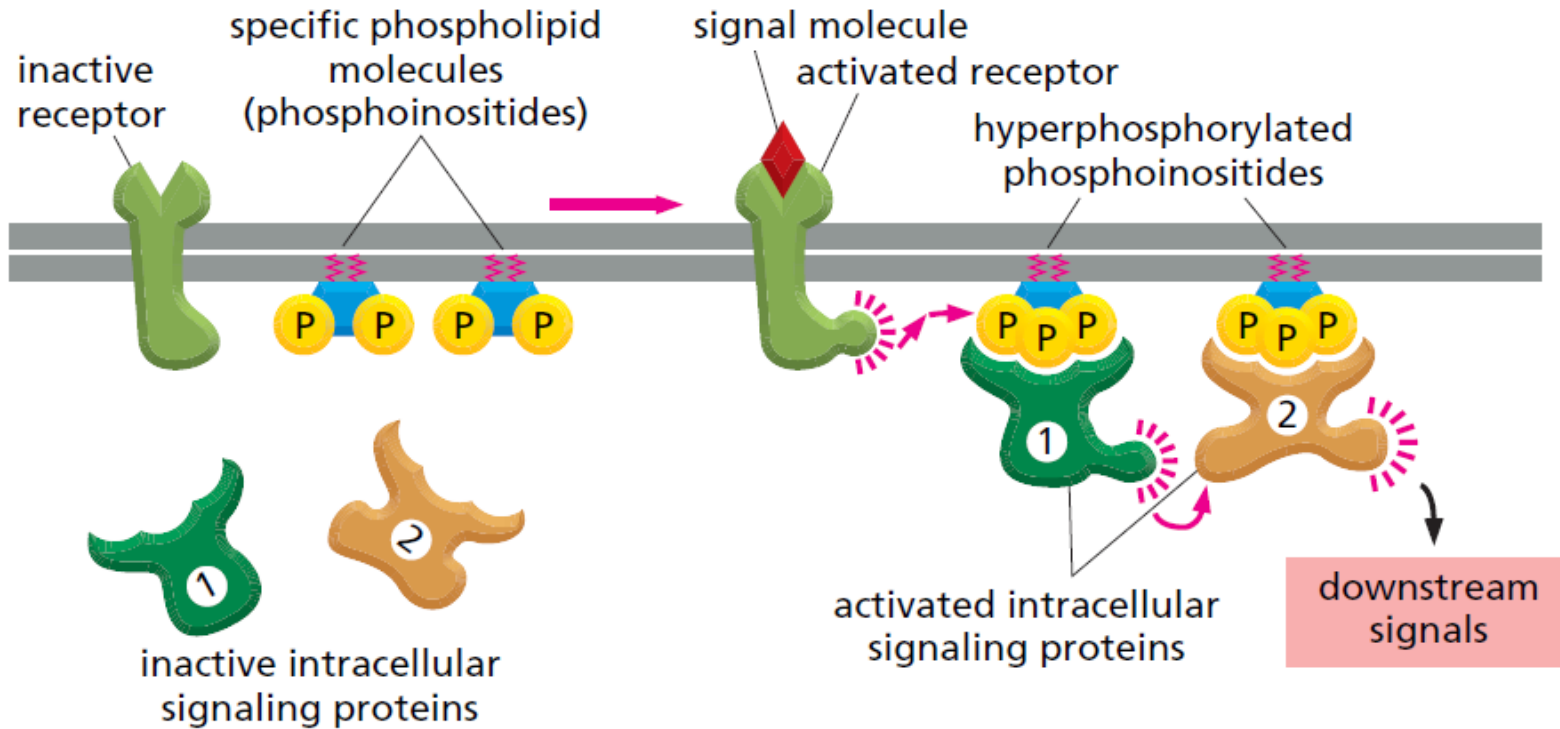
Signālkomplekss var saistīt efektoros proteīnus. Receptoram aktivējoties sākas signālkaskāde, kas noved pie funkcionālām izmaiņām šūnā

# Signālkompleksu darbība



Pēc receptora aktivācijas var tikt saistīti efektorie proteīni un uzsākta signālkaskāde, kas noved pie funkcionālām izmaiņām šūnā

# Signālkompleksu darbība



Receptora aktivācija var novest pie specifiskas fosfolipīdu fosforilācijas, kas pēc tam kalpo efektoro enzīmu piesaistei



# Signālkompleksu darbība

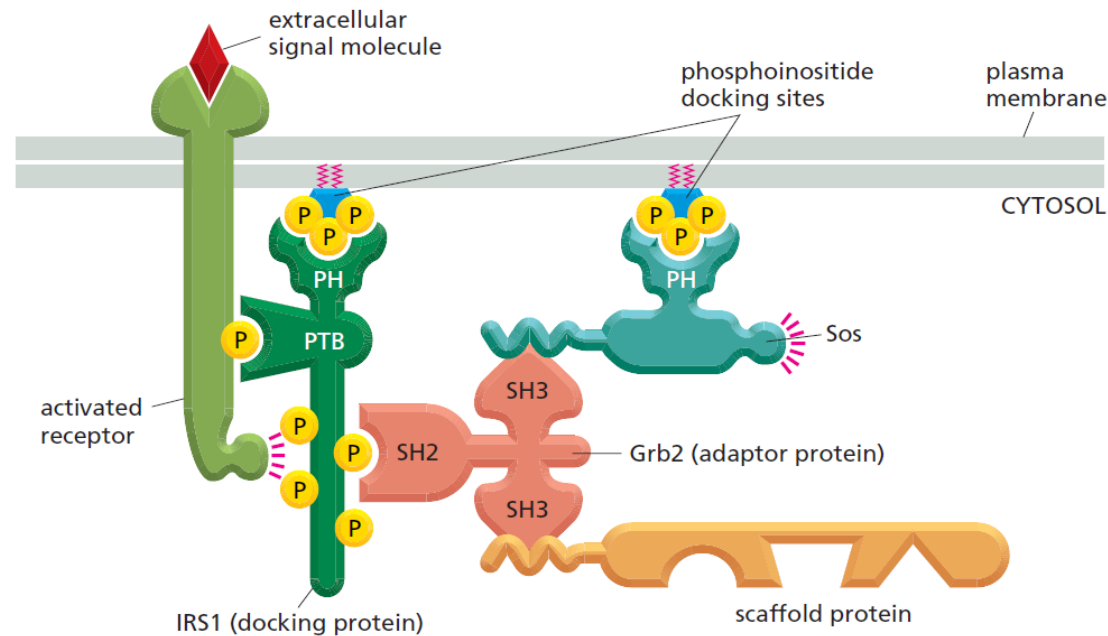
## Adaptorie proteīni var veidot kompleksu kompleksus

1. Insulīnam piesaistoties pie receptora, noteikti tā iekššūnas rajoni tiek fosforilēti

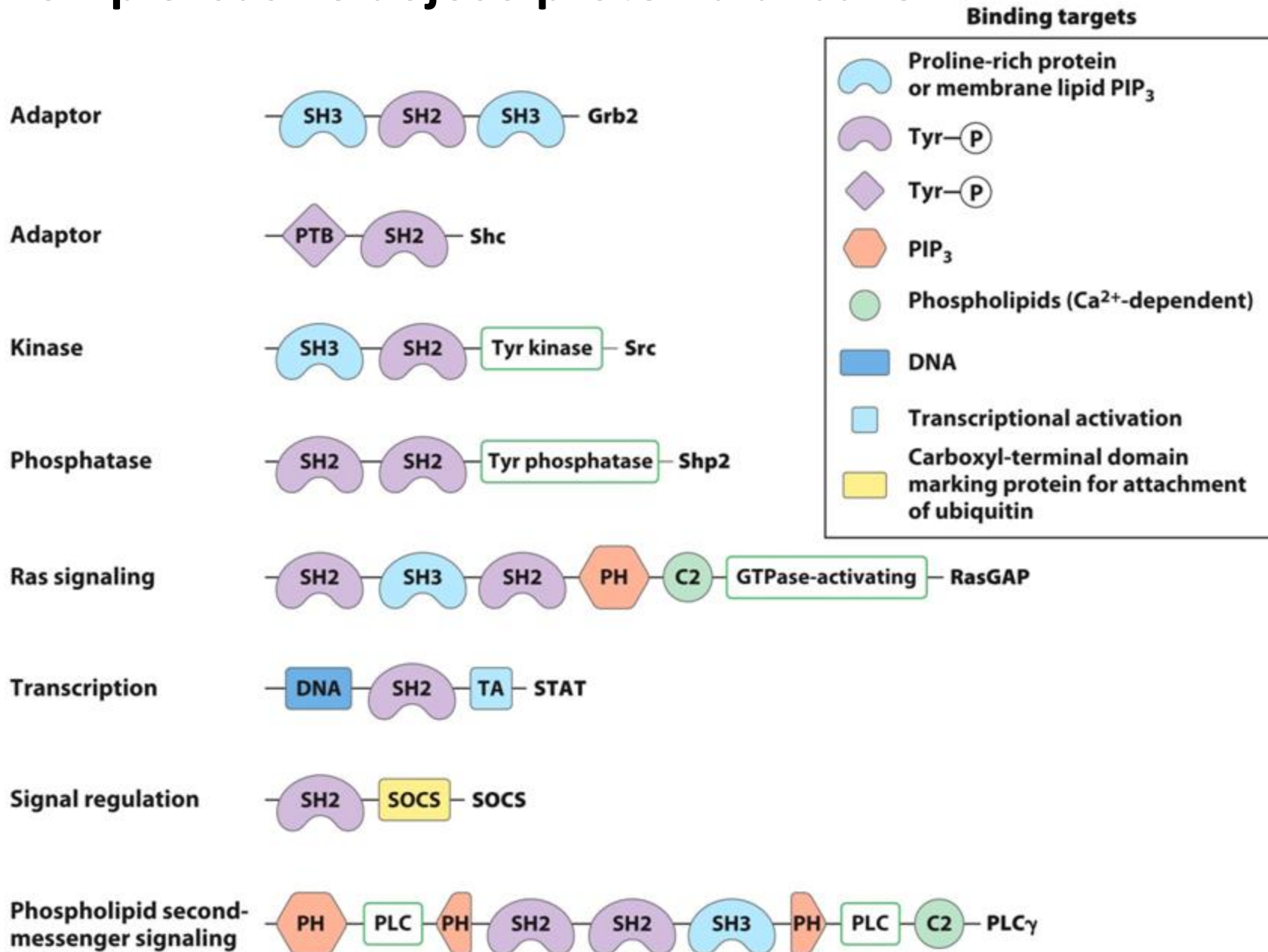
2. Iekššūnas telpā tas piesaista IRS1 proteīna PTB domēnu

3. PH domēns saistās ar inositolfosfāta atlikumiem un fiksē šo proteīnu iekšējā membrānas daļā

4. Tas veicina pārējo signālkompleksa sastāvdaļu piesaisti un turpmāku signālkaskādes aktivāciju



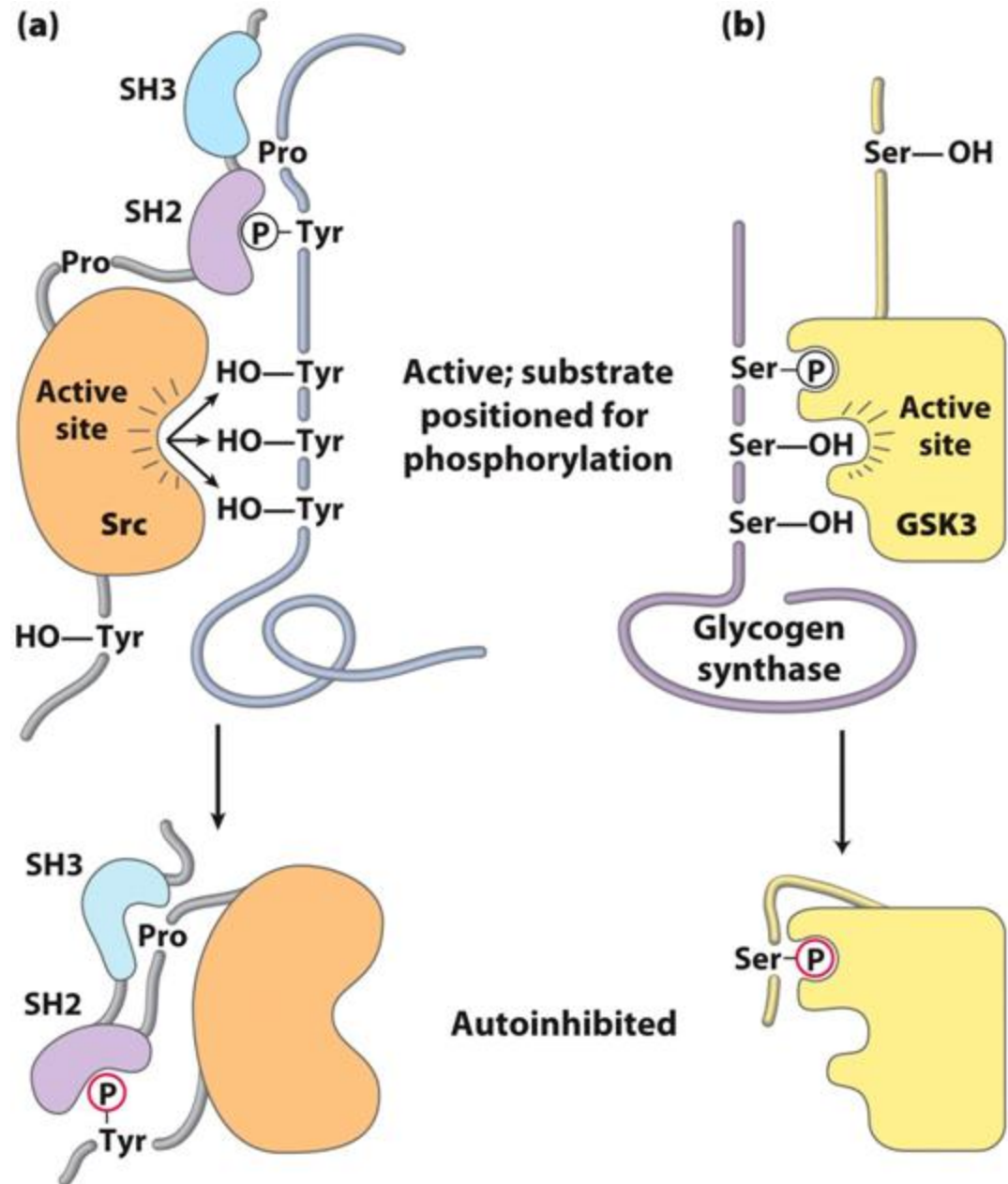
# Signālkompleksus veidojošo proteīnu uzbūve



# Signālkompleksu veidojošo proteīnu:

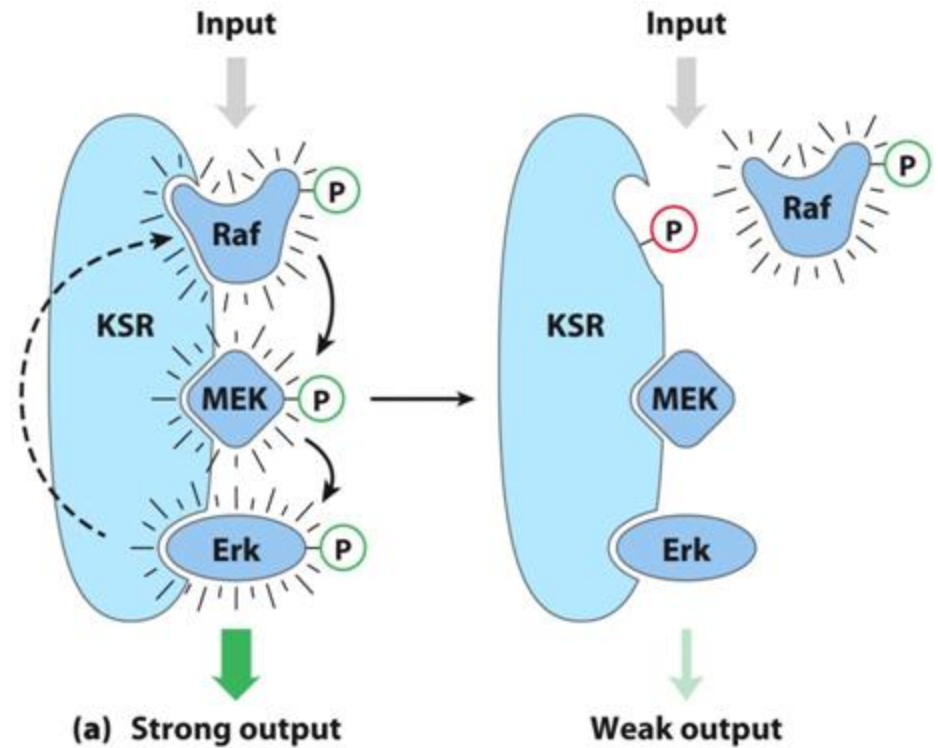
- Aktivā konformācija nodrošina substrāta fosforilāciju

- Neaktīvā konformācija veidojas **autoinhibīcijas** rezultātā (proteīna rajoni mijiedarbojoties veido neaktīvo konformāciju)



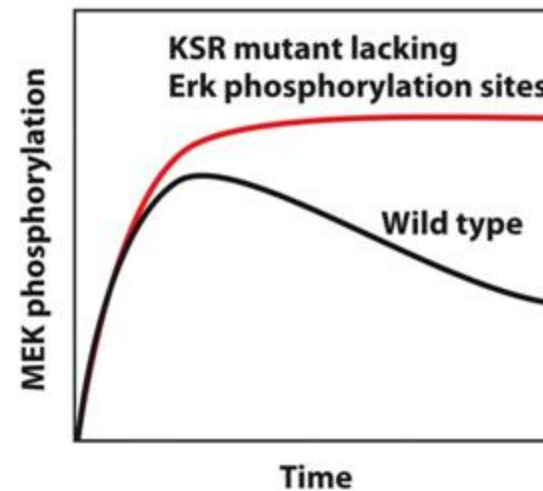
# Signālkompleksu veidojošo proteīnu pētniecība

Noteiktus rajonus proteīnā aizvietojo (mutaģenizējot) iespējams pētīt šo proteīnu reģionu funkcijas



(a) Strong output

Weak output



(b)

Time

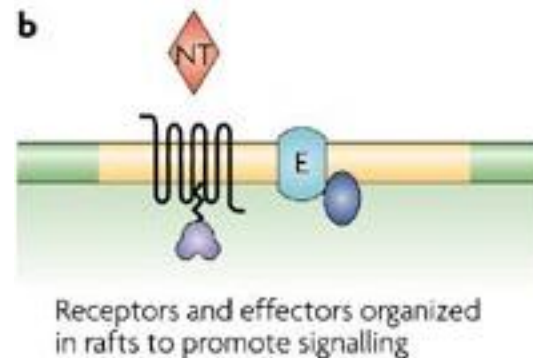
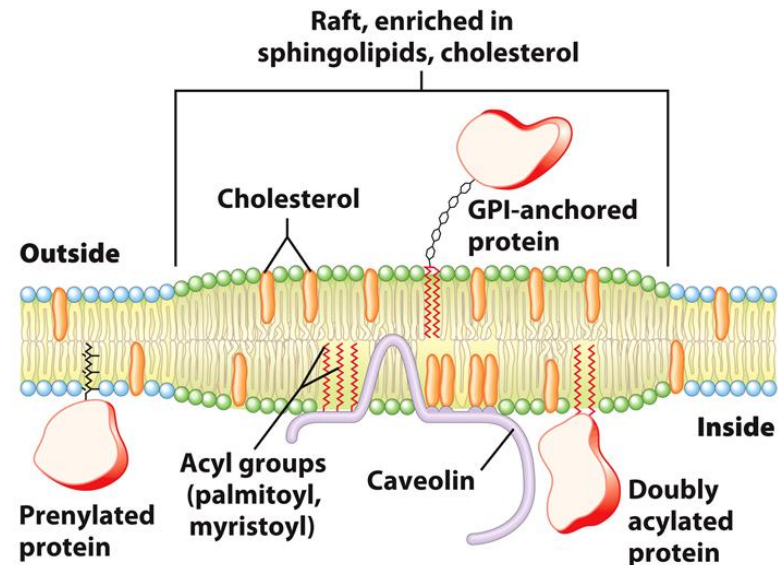
# Lipīdspecifiskie membrānu mikrodomēni (*lipid rafts*)

Īpaši bagāti ar

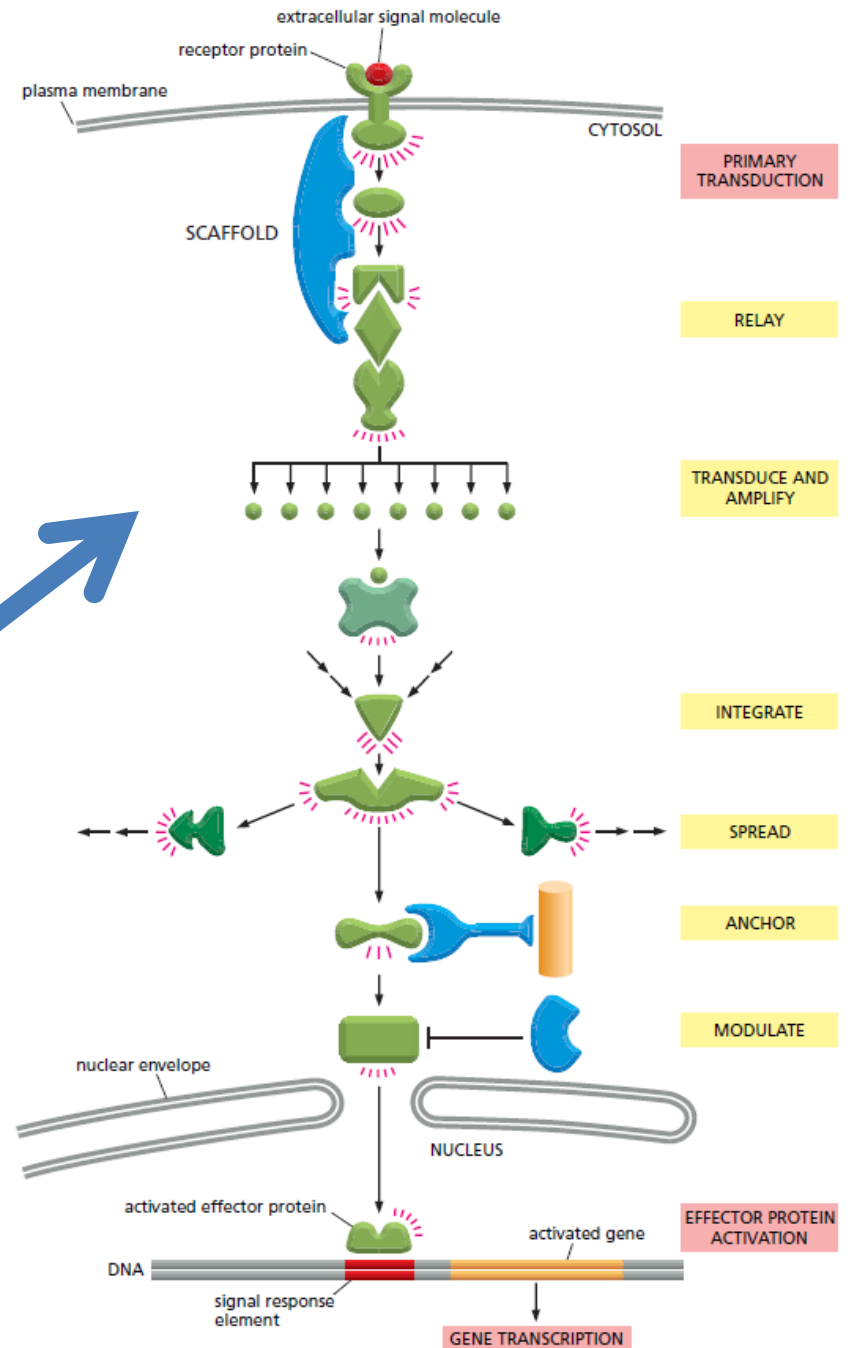
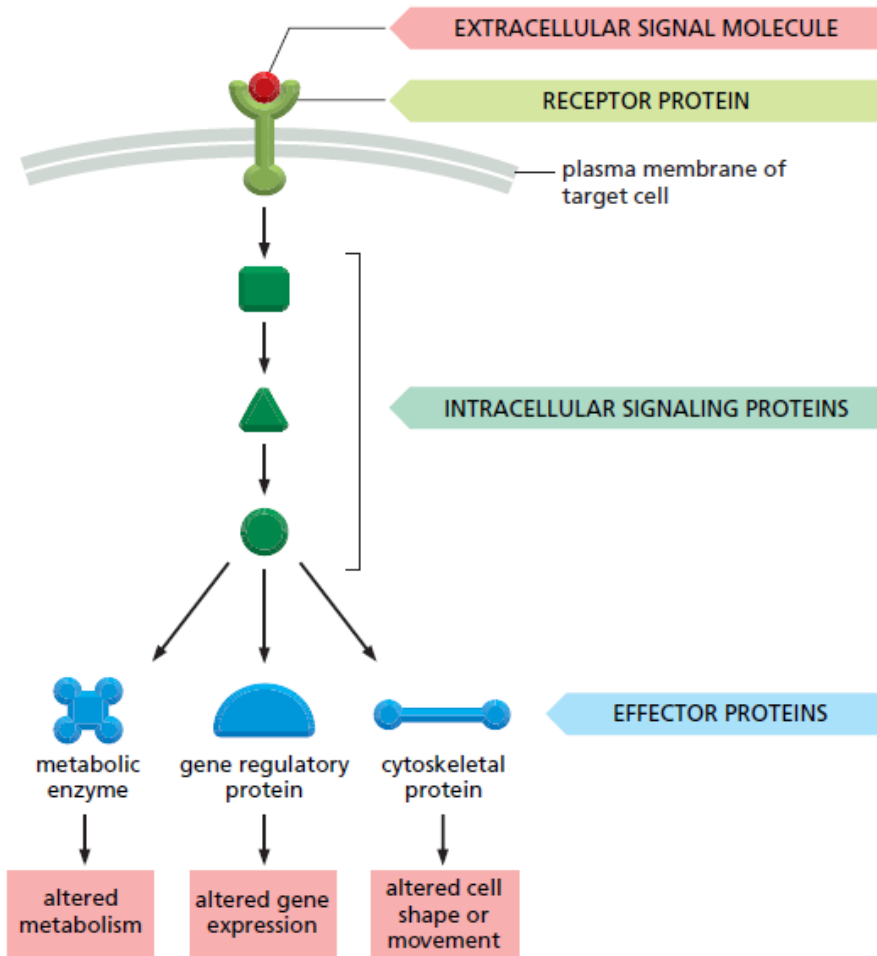
- Piesātinātām taukskābēm piesaistītiem proteīniem
- GPI-saistītiem proteīniem

Signāla pārnese procesā *lipid rafts* nodrošina:

- Signālceļā iesaistīto proteīnu kontakta nodrošināšanu
- Aizsargā no proteīnāžu un fosfotāžu iedarbības



# Signāla uztvere un pārnese



# **Proteīnu sotrēšana un translokācija membrānā**

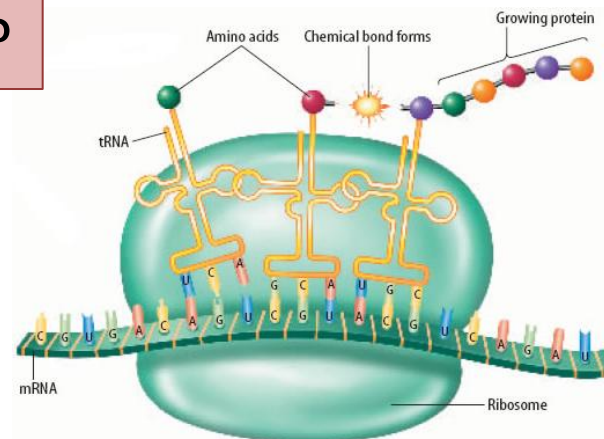
Kādēļ ir nepieciešama proteīnu sortēšana?

## Proteīnu sintēze

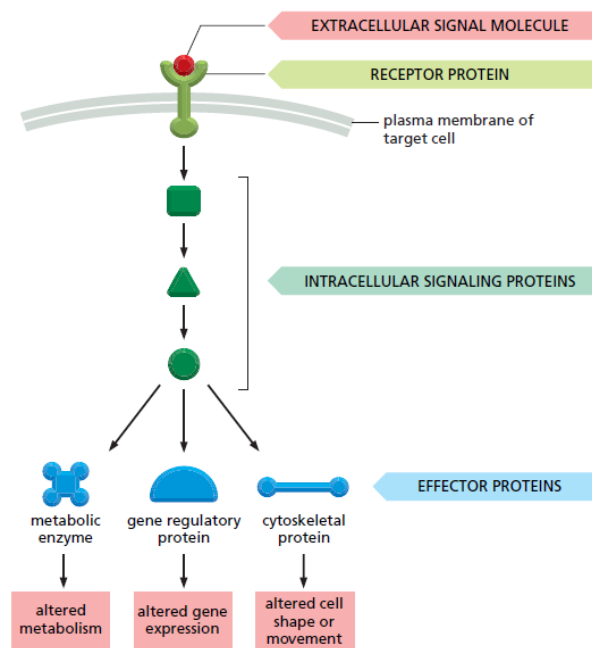


## Proteīnu funkcijas:

- Šūnas citoplazmas proteīni
- Šūnas membrānas proteīni



At the ribosome, the RNA's message is translated into a specific protein.





# Membrānas proteīnu sortēšana šūnā

- 15-60 aminoskābju atlikumus garas **signālsekvences** nodrošina proteīnu sortēšanu šūnā

## Signālsekvences pēc sotēšanas:

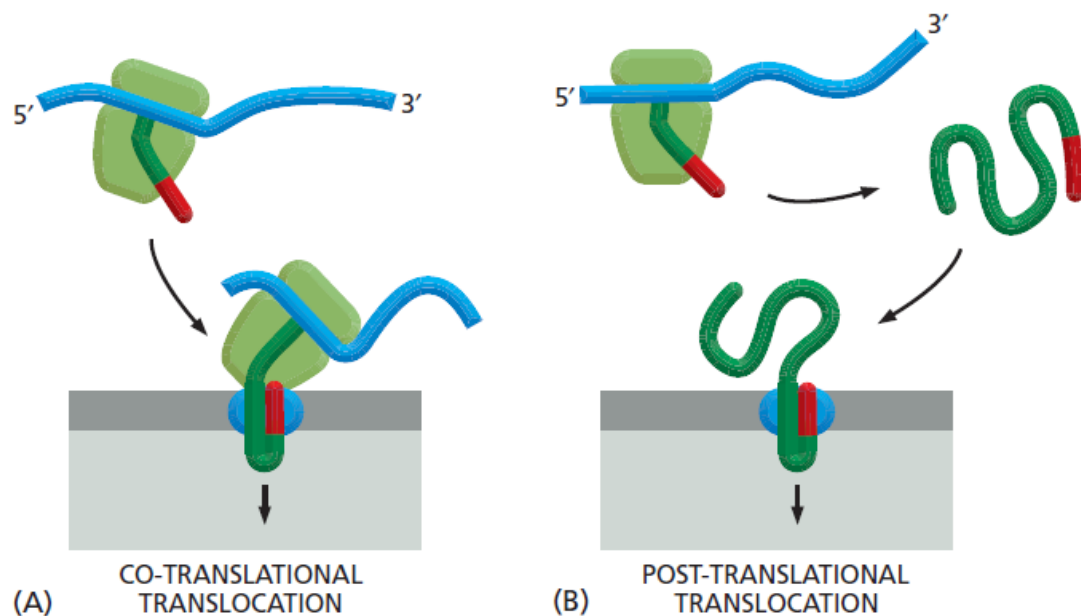
- 1) Signālpeptidāzes var tās nošķelt un gala proteīnā signālsekvence nesaglabājas
- 2) Tās saglabājas proteīnā

FUNCTION OF SIGNAL SEQUENCE	EXAMPLE OF SIGNAL SEQUENCE
Import into nucleus	-Pro-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-
Export from nucleus	-Leu-Ala-Leu-Lys-Leu-Ala-Gly-Leu-Asp-Ile-
Import into mitochondria	+H <sub>3</sub> N-Met-Leu-Ser-Leu-Arg-Gln-Ser-Ile-Arg-Phe-Phe-Lys-Pro-Ala-Thr-Arg-Thr-Leu-Cys-Ser-Ser-Arg-Tyr-Leu-Leu-
Import into plastid	+H <sub>3</sub> N-Met-Val-Ala-Met-Ala-Met-Ala-Ser-Leu-Gln-Ser-Ser-Met-Ser-Ser-Leu-Ser-Leu-Ser-Ser-Asn-Ser-Phe-Leu-Gly-Gln-Pro-Leu-Ser-Pro-Ile-Thr-Leu-Ser-Pro-Phe-Leu-Gln-Gly-
Import into peroxisomes	-Ser-Lys-Leu-COO <sup>-</sup>
Import into ER	+H <sub>3</sub> N-Met-Met-Ser-Phe-Val-Ser-Leu-Leu-Leu-Val-Gly-Ile-Leu-Phe-Trp-Ala-Thr-Glu-Ala-Glu-Gln-Leu-Thr-Lys-Cys-Glu-Val-Phe-Gln-
Return to ER	-Lys-Asp-Glu-Leu-COO <sup>-</sup>

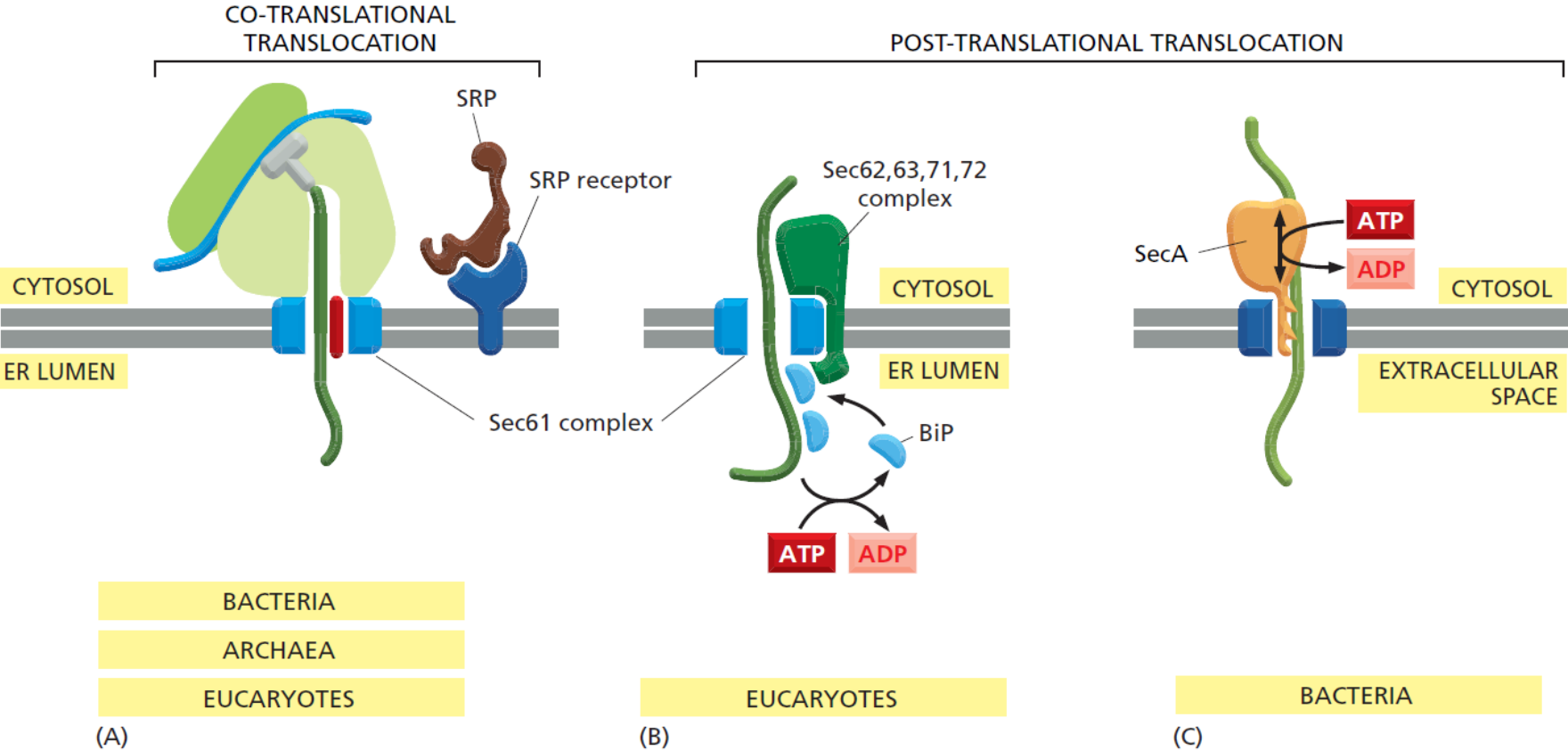
# Membrānas proteīnu sintēze endoplazmatiskajā tīklā

Zīdītāju šūnas lielākoties proteīnu imports endoplazmatiskajā tīklā sākas vēl pirms pilnīgas polipeptīdu ķēdes sintēzes pabeigšanas – **ko-translācija** (*co-translation*)

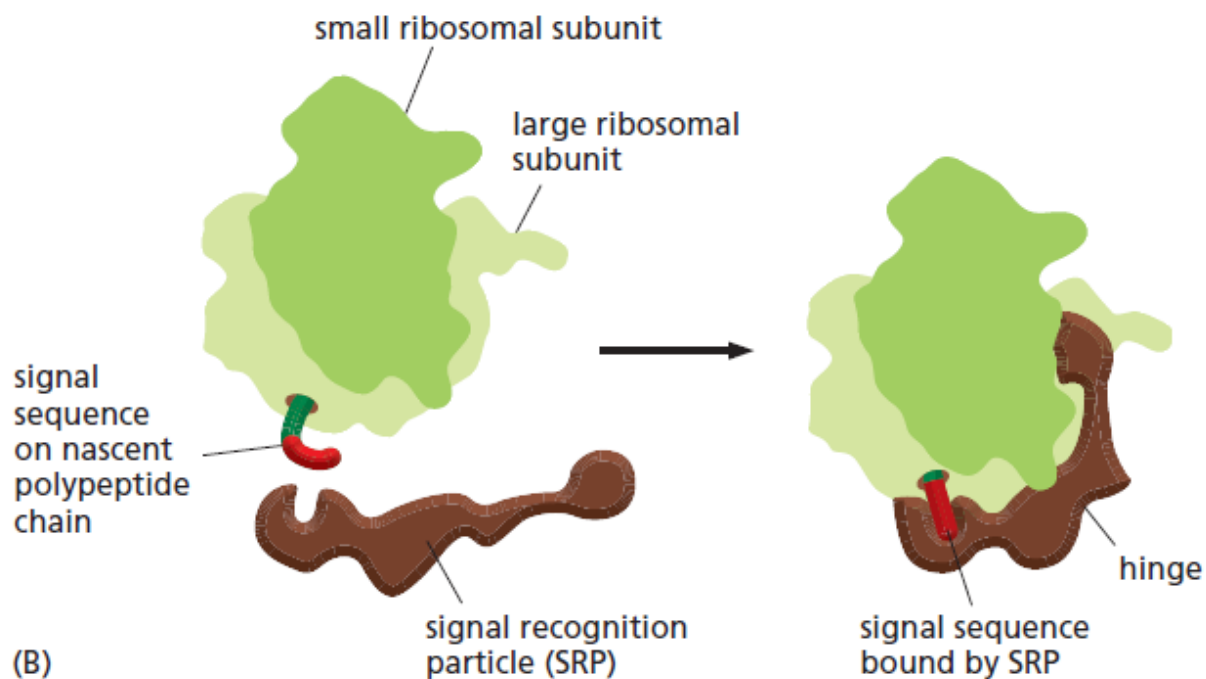
Proteīnu imports šūnas mitohondrijos, hloroplastos, kodolā un peroksisomās ir **post-translācijas** process



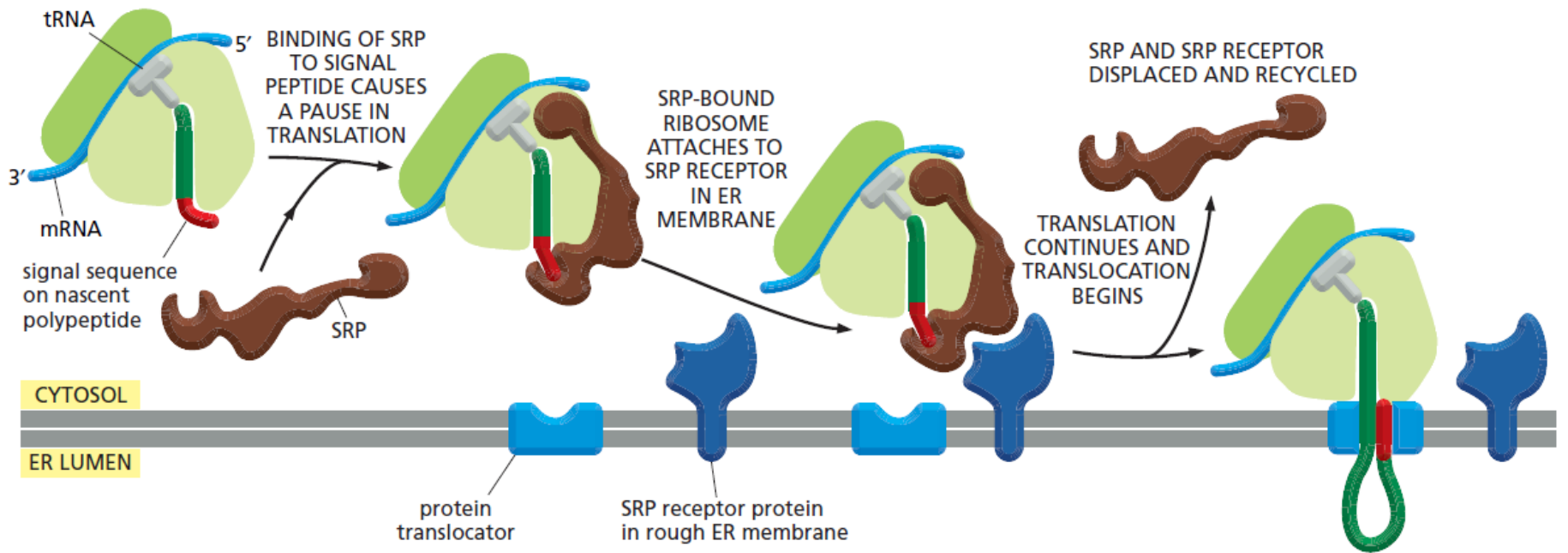
# Proteīnu translokācija membrānā



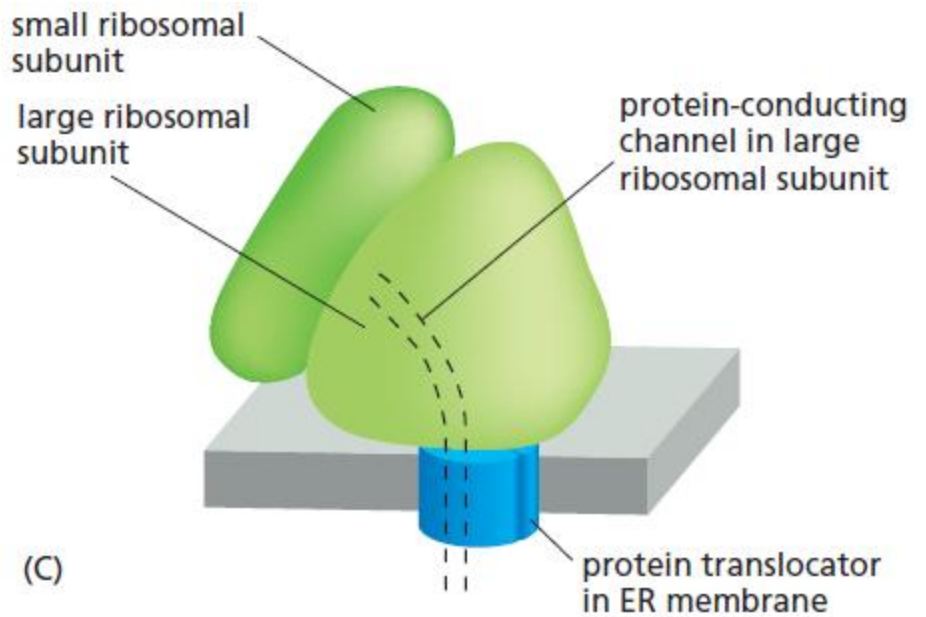
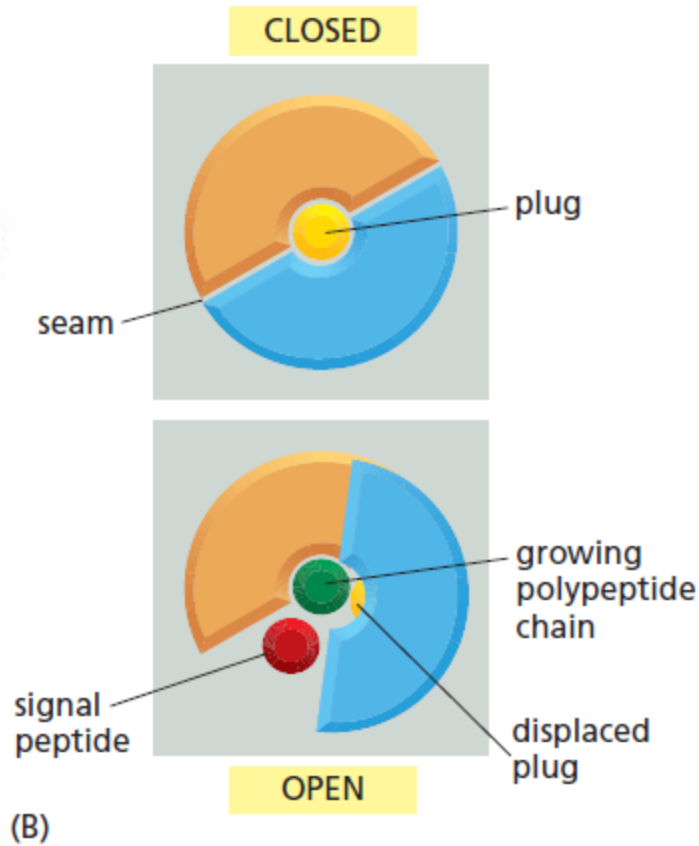
# Signālsekvenci atpazīstošā daļina (*signal-recognition particle*) nodrošina proteīnu sintezējošās ribosomas piesaisti EPT



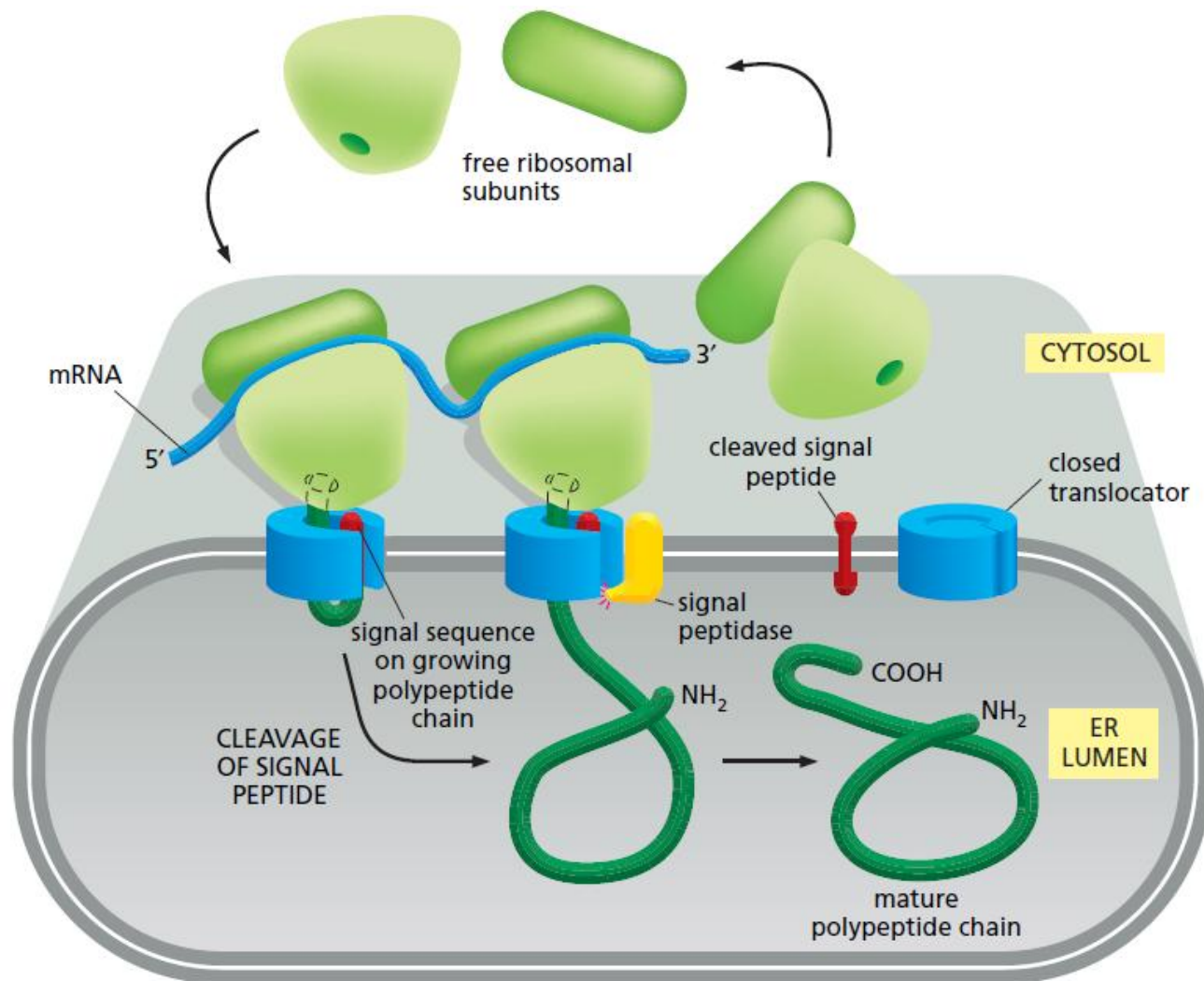
# Signāļsekvenci atpazīstošā daļina (*signal-recognition particle*) nodrošina proteīnu sintezējošās ribosomas piesaisti EPT



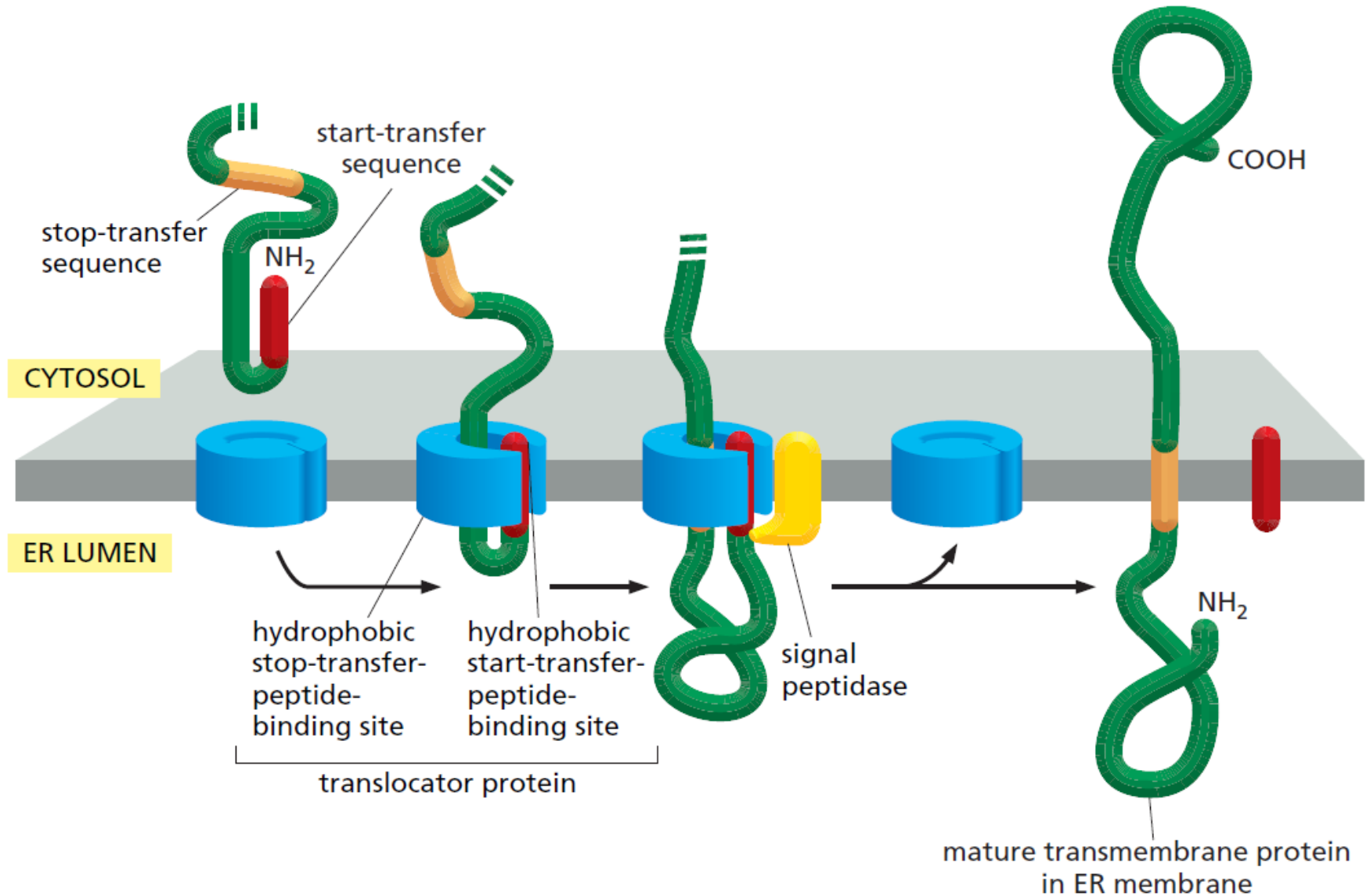
# Polipeptīda ķēdes translokāciju nodrošina – **Sec61** proteīna komplekss



# Ūdenī šķīstošu proteīnu translokācija, šķērsojot šūnas membrānu

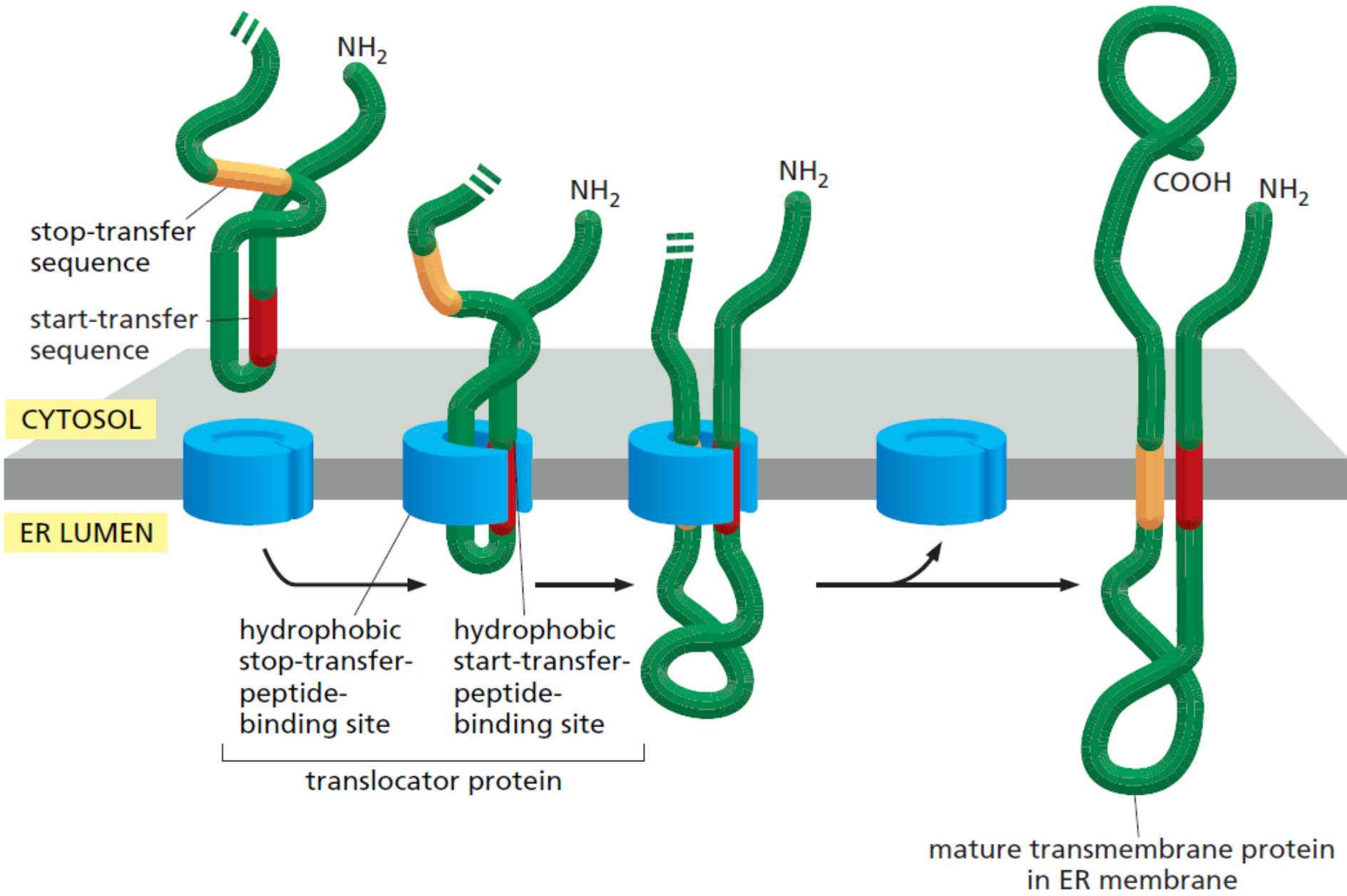


# Transmembrānas proteīna translokācija

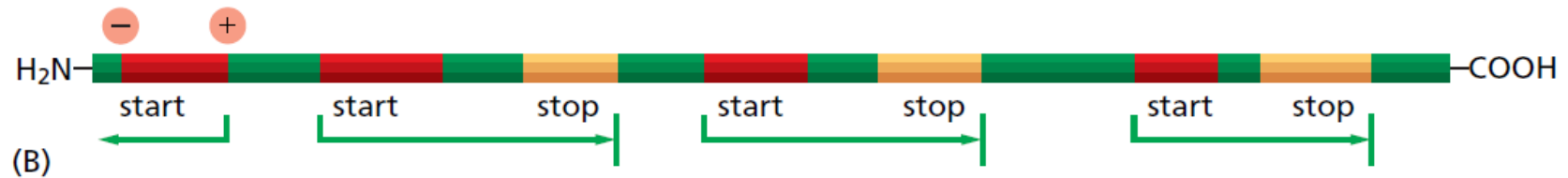
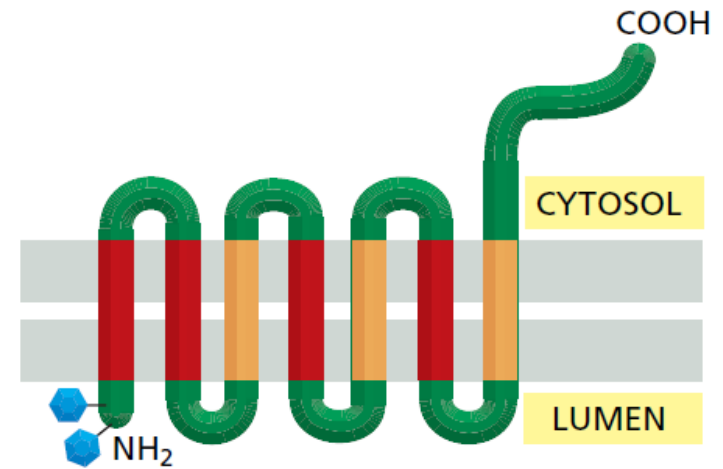
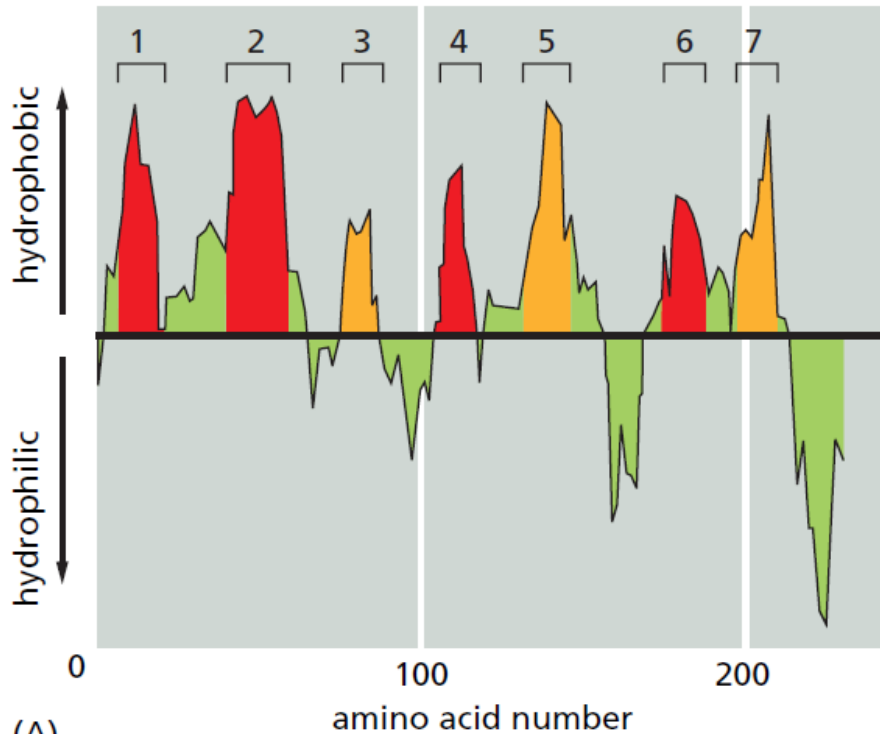




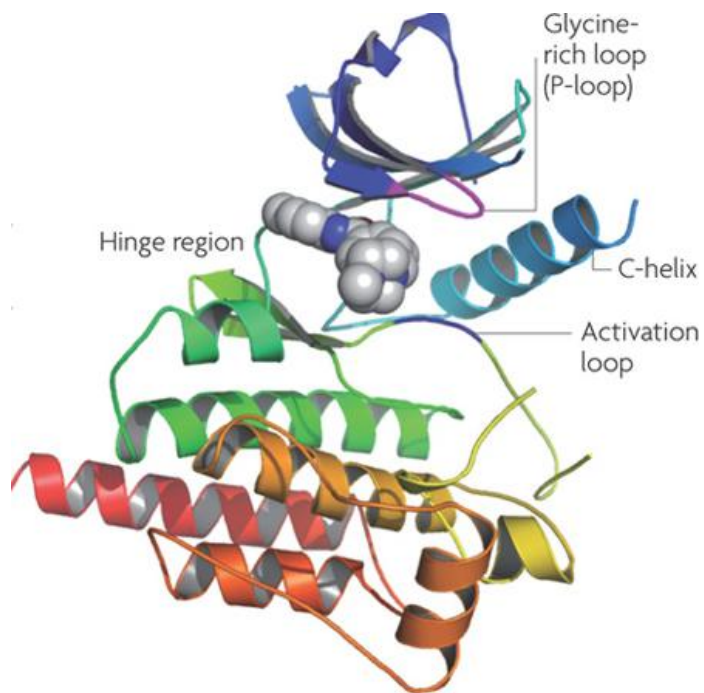
# START un STOP translokācijas sekvenču



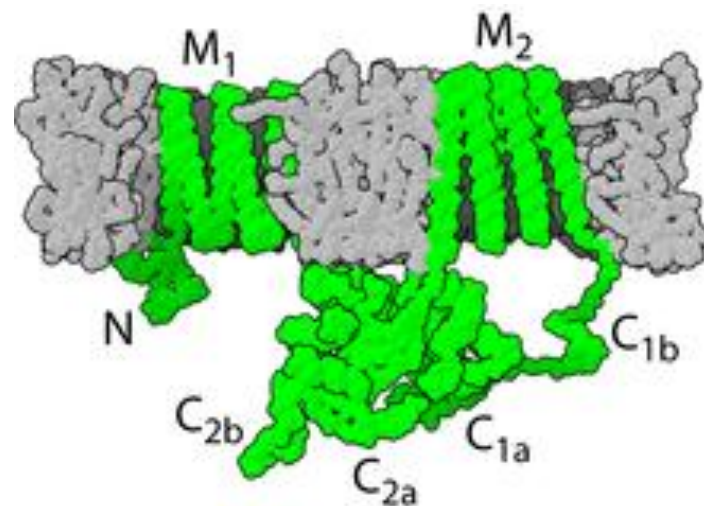
# Transmembrānas proteīna translokācija



**Kuram proteīnam signālsekvences saglabājas un kuram tiek nošķelta?**

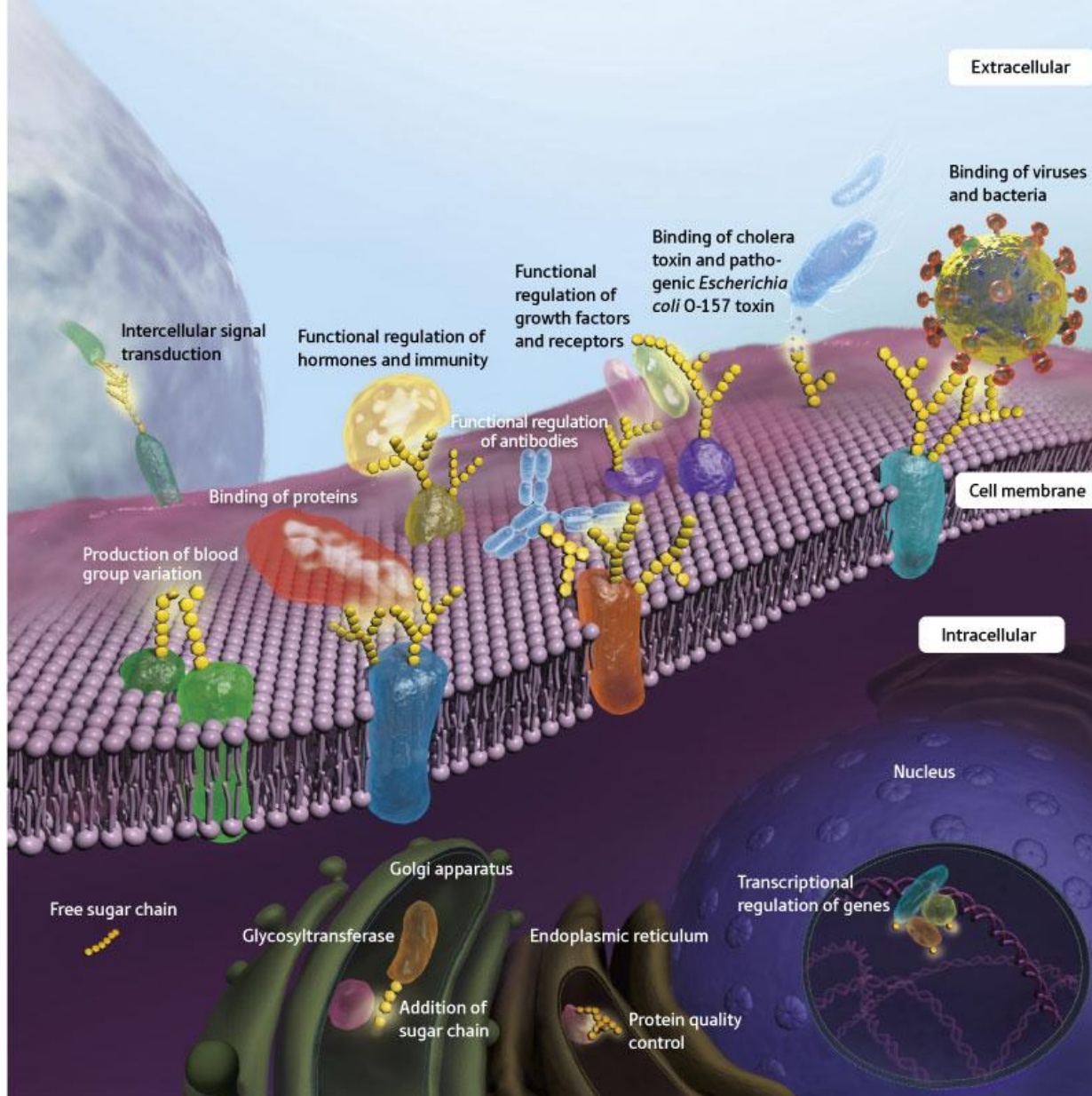


**Proteīnu kināze**



**Adenilil ciklāze**

# Ogļhidrātu piesaiste šūnas membrānai



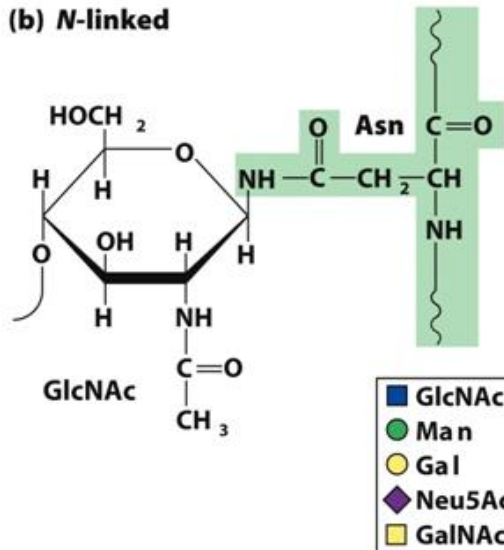
Šūnas virsmas oligosaharīdu pārklājums nodrošina daudzus būtiskus šūnas fizioloģijas aspektus

# Proteīnu glikozilācija

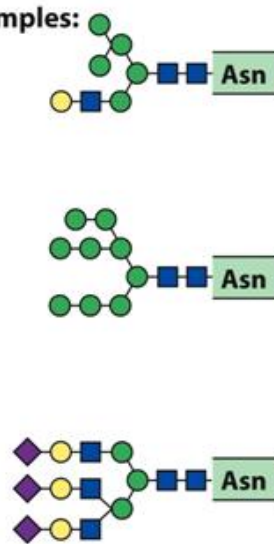
Lielākā daļa proteīnu (gan ūdenī šķīstošie, gan membrānas proteīni), kas tiek sintezēti graudainajā EPT tiek **glikozilēti**

Citosolā sintezētie proteīni reti tiek glikozilēti un to cukura atlikumu modifikācijas ir “vienkāršākas”

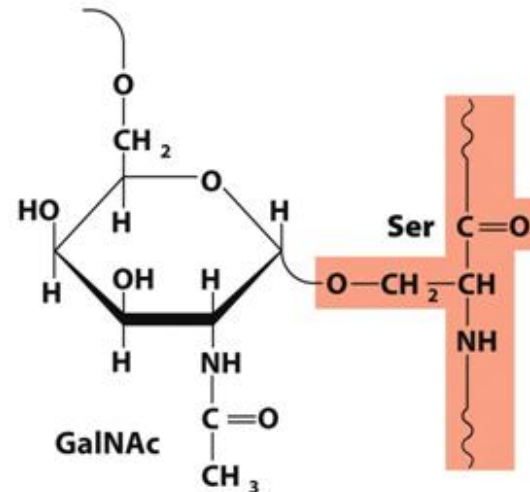
(b) *N*-linked



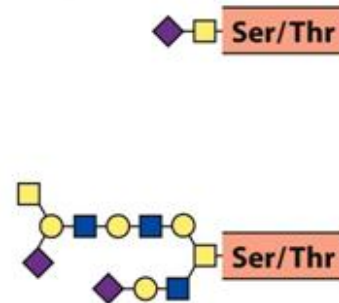
Examples:



(a) *O*-linked



Examples:



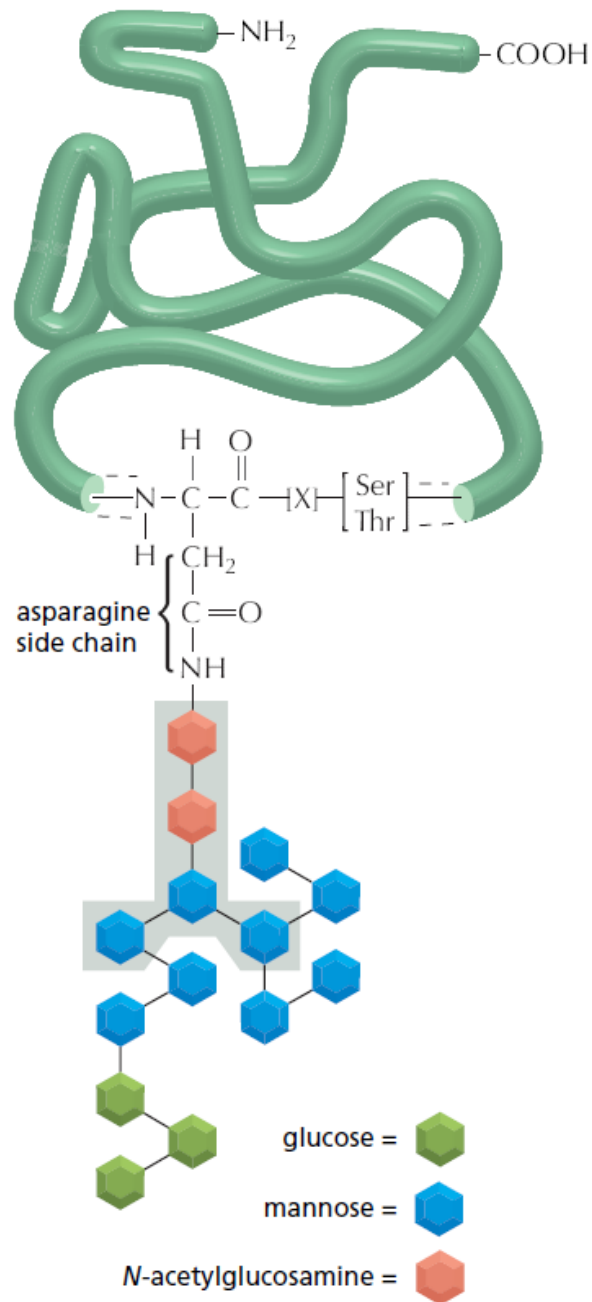
90% no visiem glikozilētajiem proteīniem

# Proteīnu glikozilācija

Ar asparģīnu-saistītie (*N-linked*) prekursorie oligosaharīdi tiek pievienoti proteīniem lielākoties graudainajā EPT

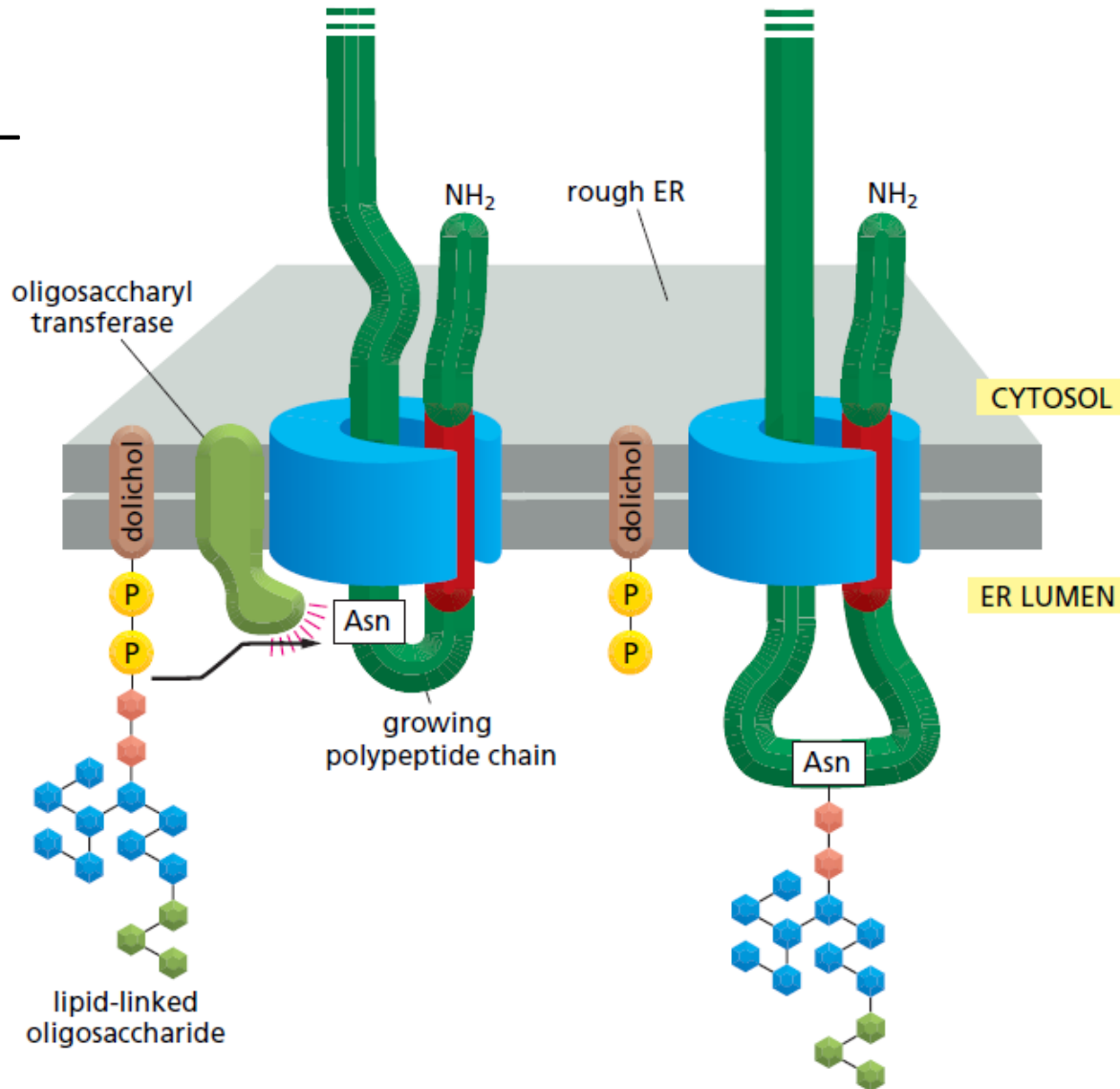
Glikolizēti tiek tikai asparģīni, kas ir **Asn-X-Ser** vai **Asn-X-Thr** (X – jebkura ask. izņemot Pro)

Šādu ask. sekvenču funkcionālo specifiskumu nosaka evolūcijas selektīvais spiediens



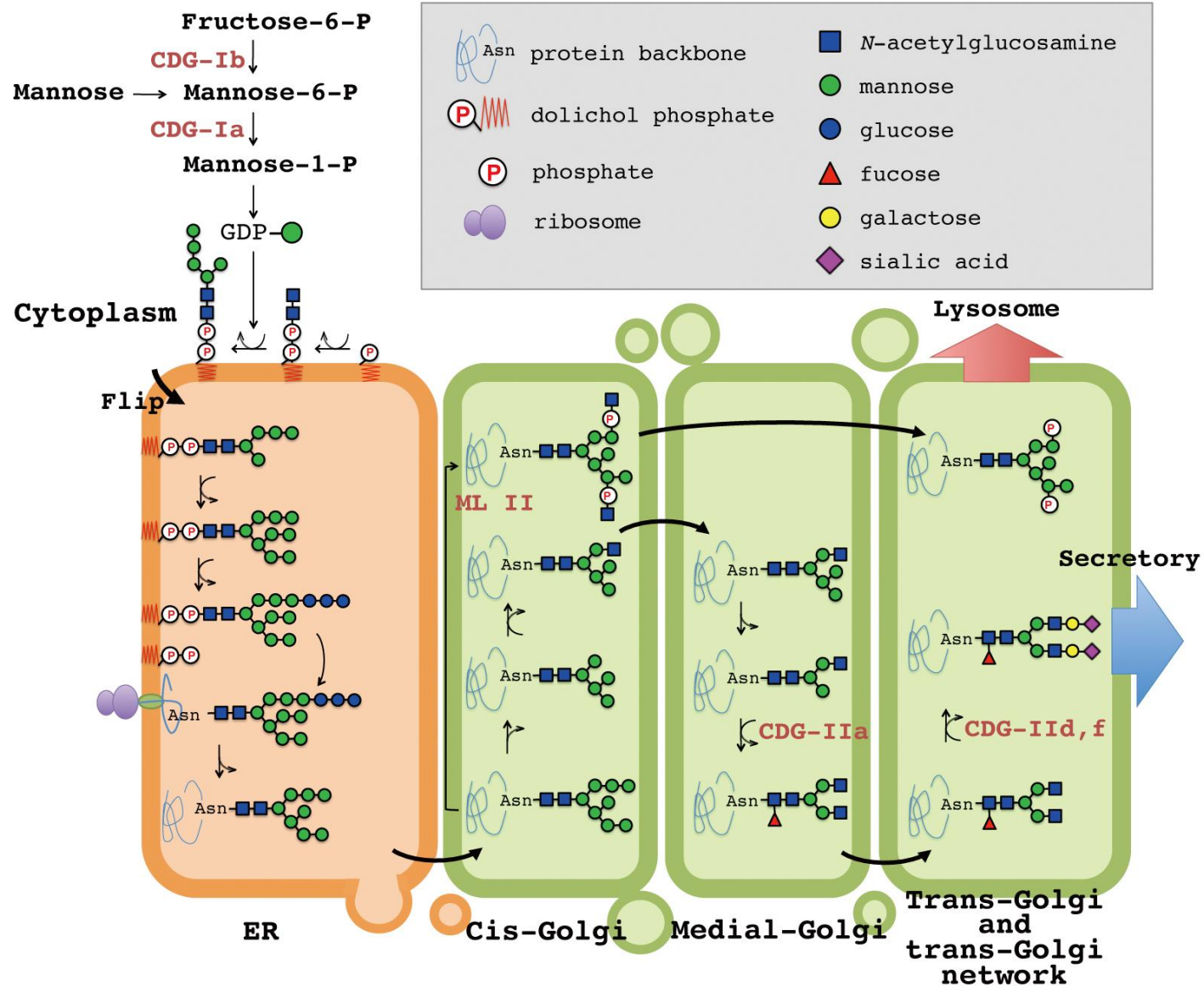
# Proteīnu glikozilācija grEPT

- **Oligosahariltransferāze** – nodrošina oligosaharīdu prekursora piesaisti proteīnam
- **Doliols** – saita prekursoro oligosaharīdu



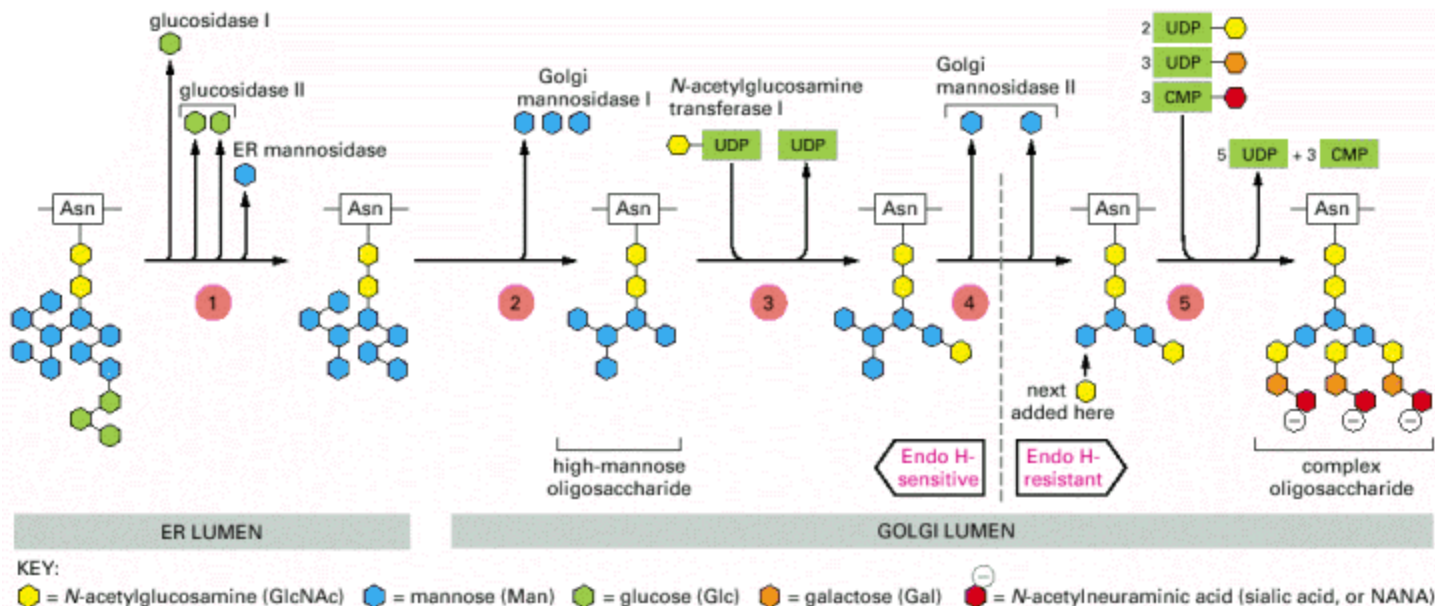
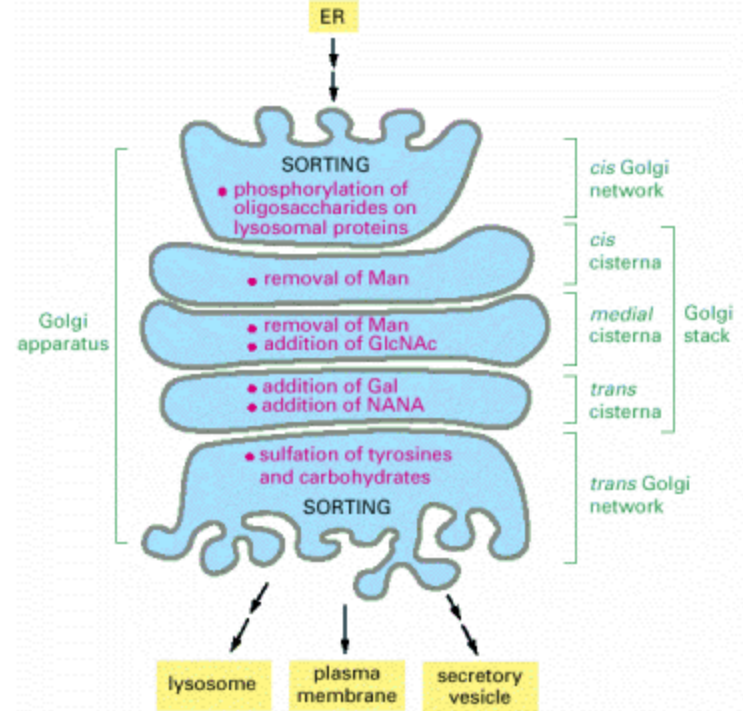


# Oligosaharīdu atlikumu “processings”



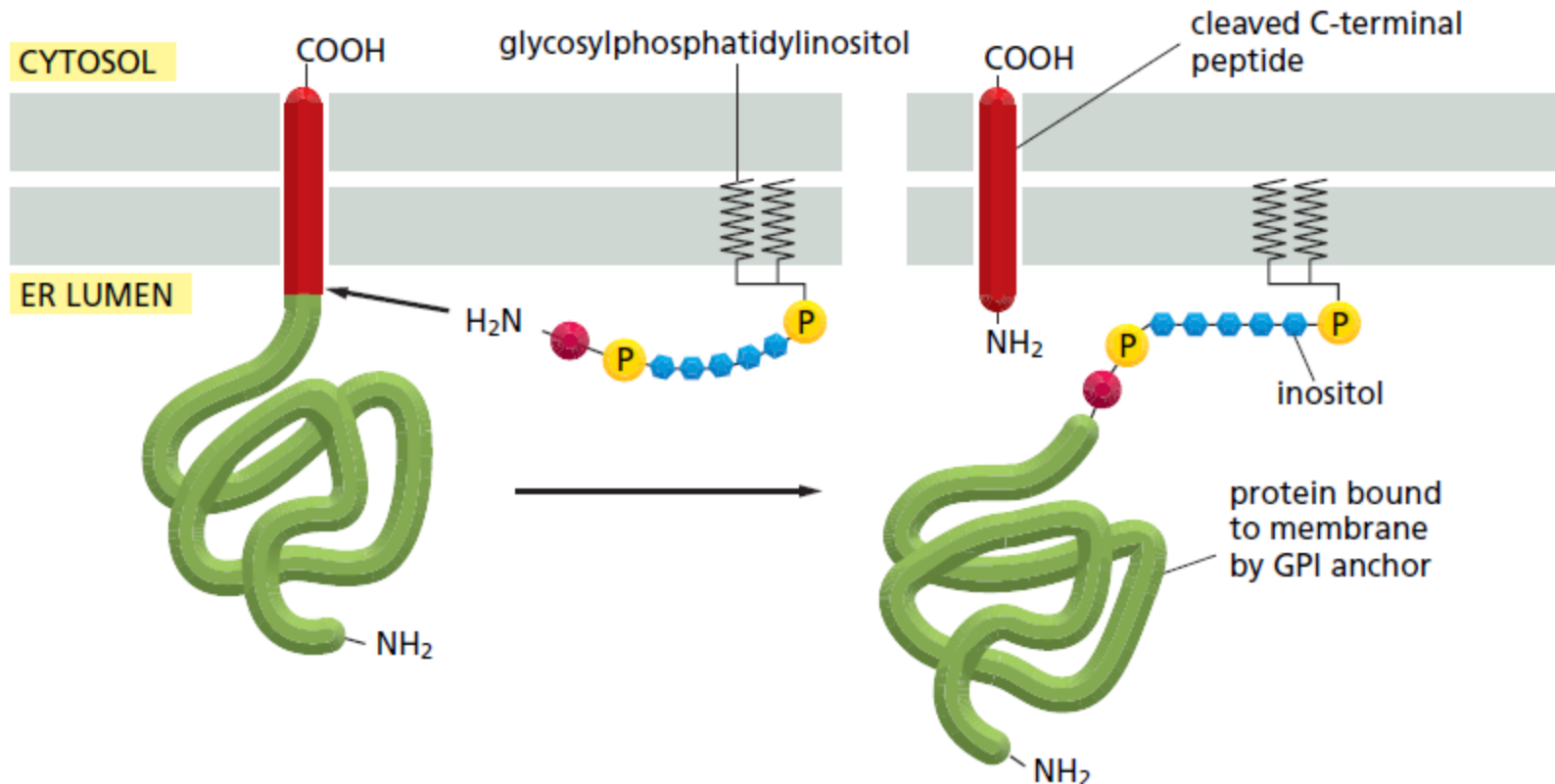
# Oligosaharīdu atlikumu “processings”

Glikozidāzes un glikosiltransferāzes ir enzīmi, kas nodrošina oligosaharīdu procesingu

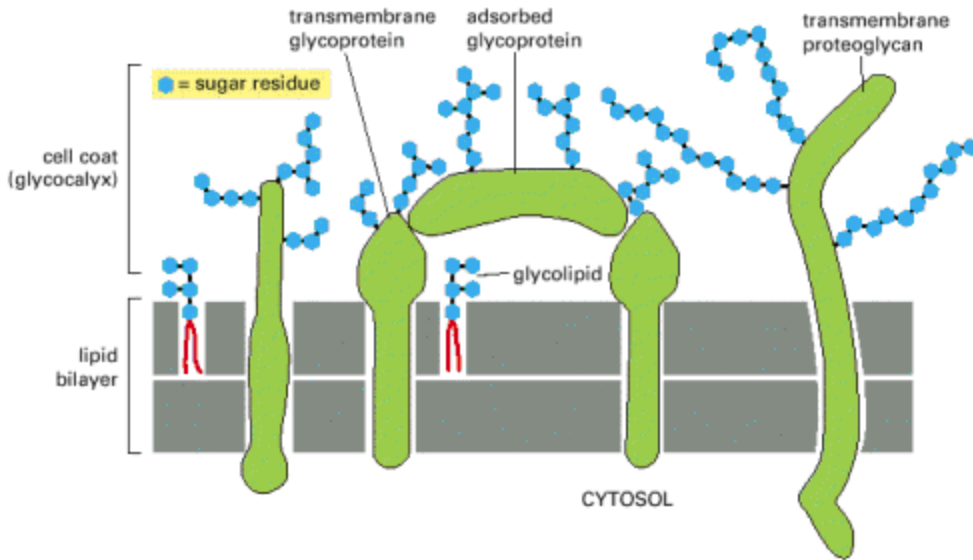


# GPI membrānas proteīni

Glikozilfosfatidilinositol-saistītie membrānas proteīni veidojas EPT



# Šūnu membrānas klāj oligosaharīdi

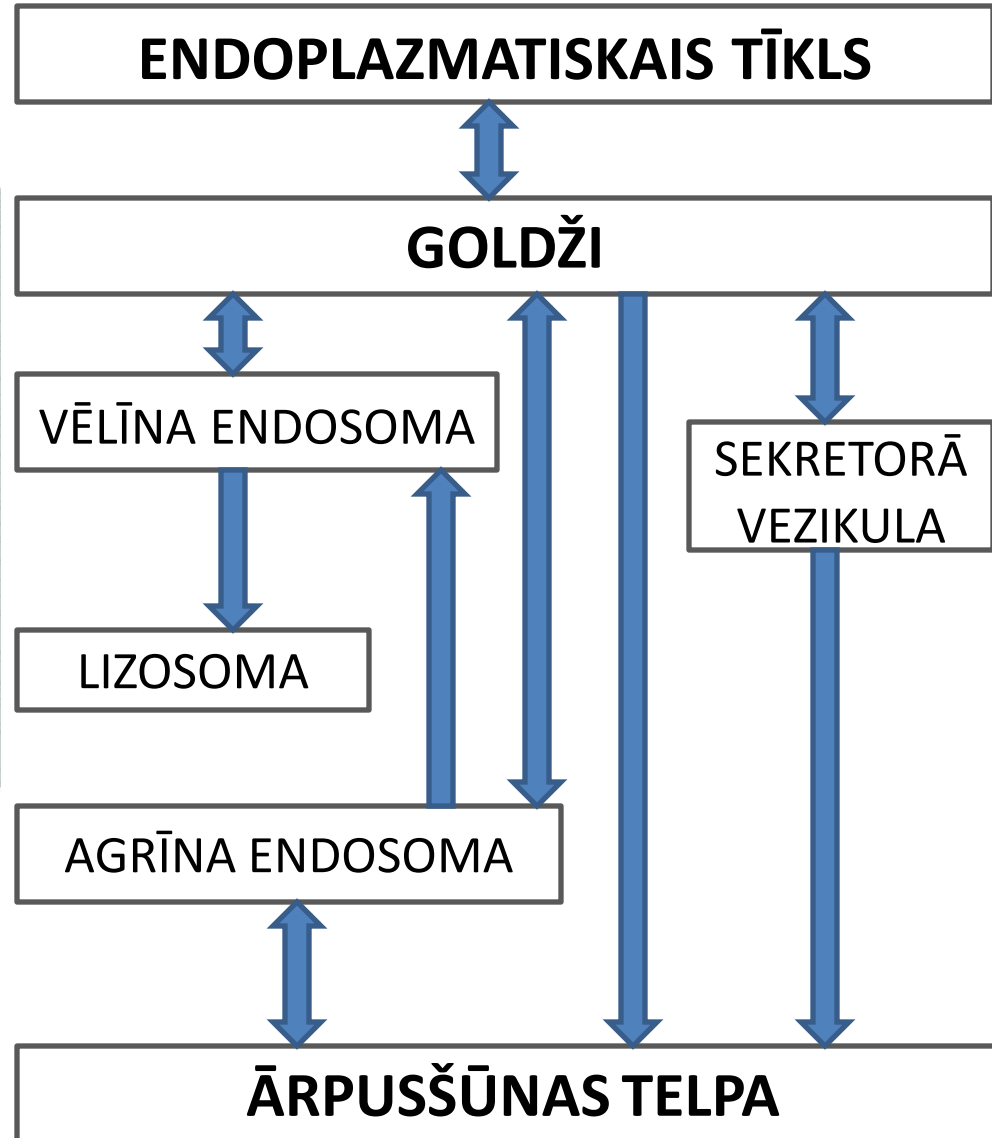
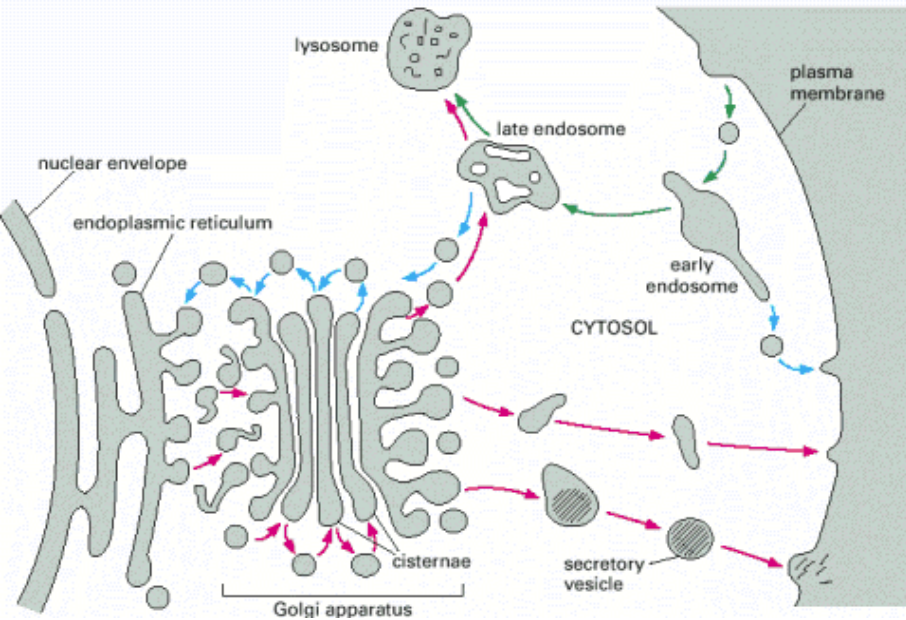


Glikozilētie membrānu proteīni nodrošina šūnu virsmas pārklājumu ar oligosaharīdu atlikumiem

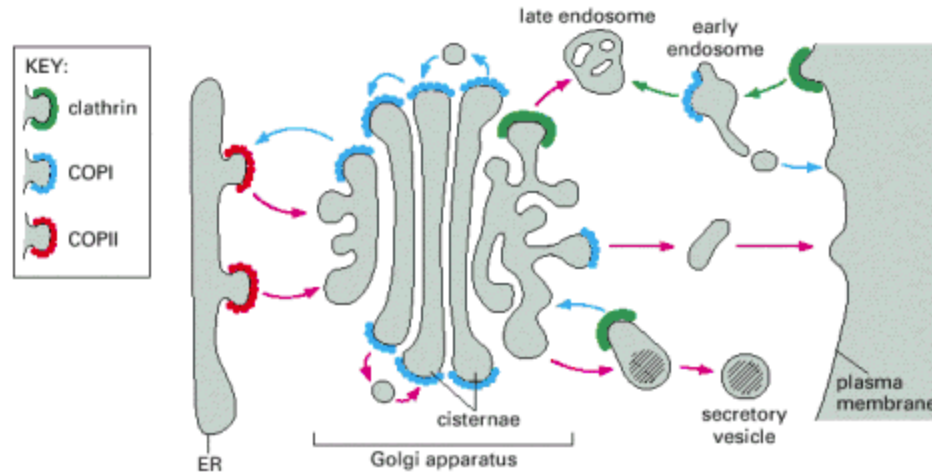
- **Glikoproteīni** un **glikolipīdi** - kovalenti saistīti ar oligosaharīdiem
- **Proteoglikāni** – kovalenti saistīti ar polisaharīdiem

# **Membrānas proteīnu transports uz šūnas virsmu**

# Membrānas proteīnu transports uz šūnas virsmu



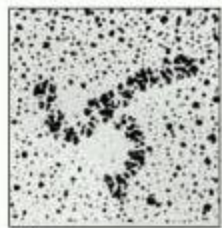
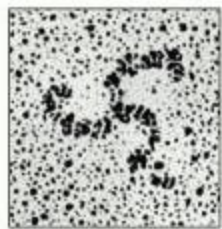
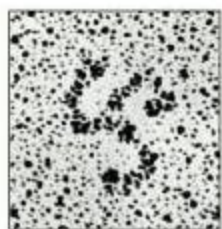
# Proteīniem pārklāto vezikulu aprīte



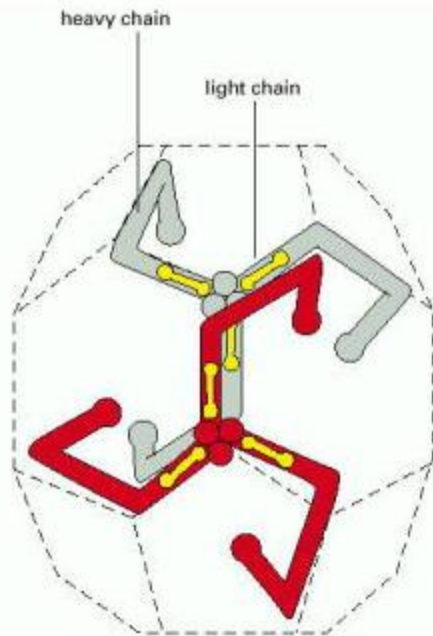
- Ar **klatrīnu** pārklātās vezikulas nodrošina transportu no šūnas virsmas uz Goldži
- Ar **COPI** pārklātās vezikulas atdalās no Goldži un var virzīties gan uz EP, gan plazmatisko membrānu
- Ar **COPII** pārklātās vezikulas virzās no EP uz Goldži

# Klatriņš

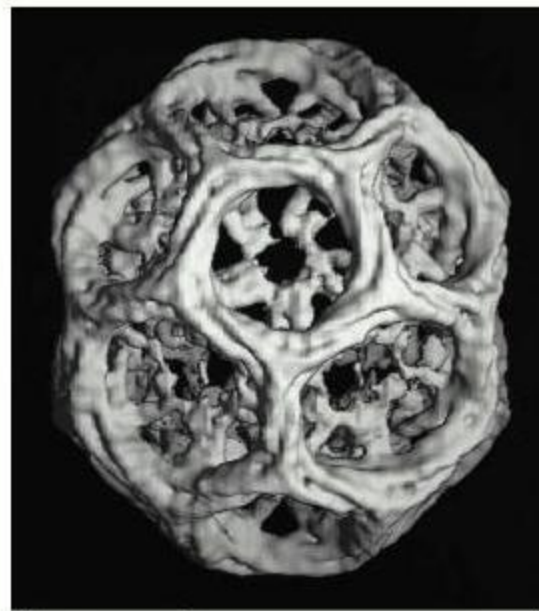
- Klatriņa monomēru veido trīs smagās ķēdes un trīs vieglās ķēdes atzari
- Savijoties kopā šie atzari veido organizētu režģi



(A)



(B)

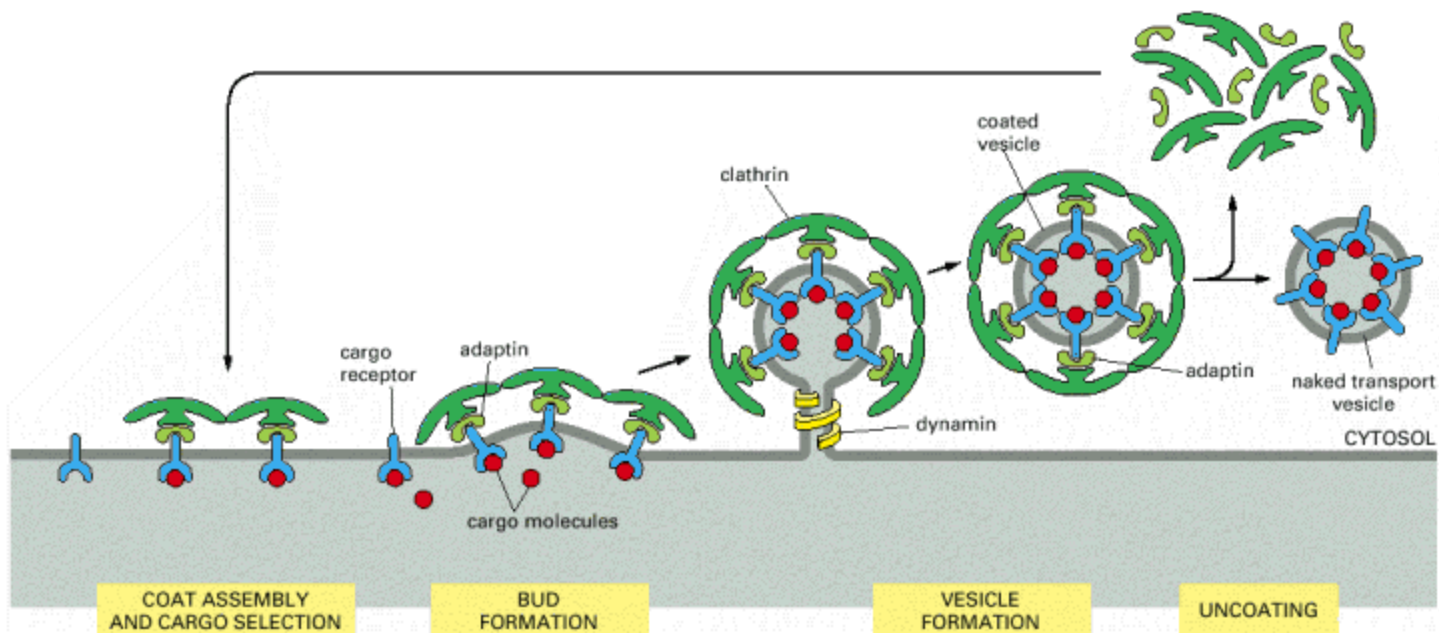


(C)

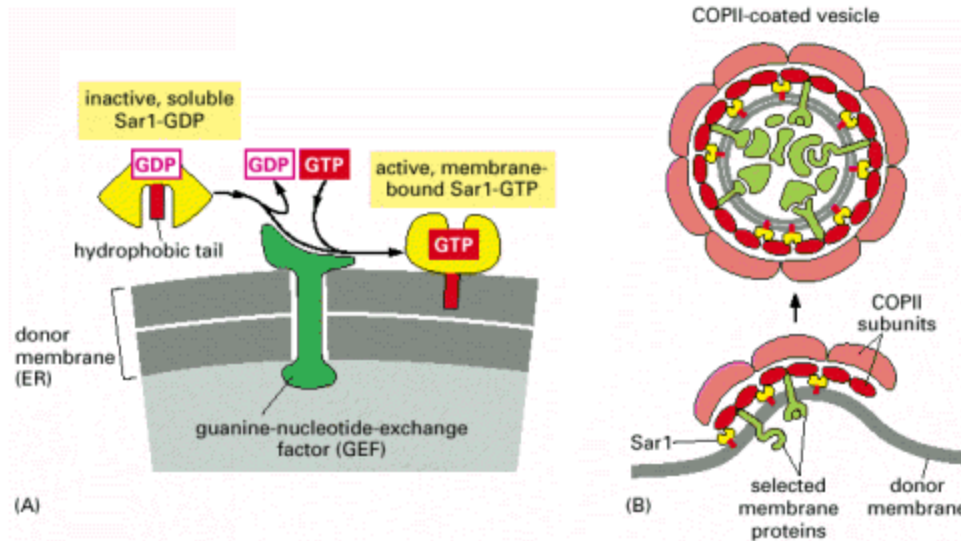
50 nm



- **Transportmolekulu receptori** – specifiski saista transportmolekulas
- **Adaptīni** – saista specifiskus transportmolekulu receptorus ar klatrīnu
- **Diamīni** – veido gredzenveida struktūru ap vezikulas pamatni un veicina atdalīšanos



# COPII pārklātās vezikulas



- Vezikulas apvalku veidojošā GTPāze Sar1 nodrošina membrānas proteīnu saistību ar COPII proteīnu subvienībām
- Saistītā GTP hidrolīze nodrošina vezikulas “demontāžu”

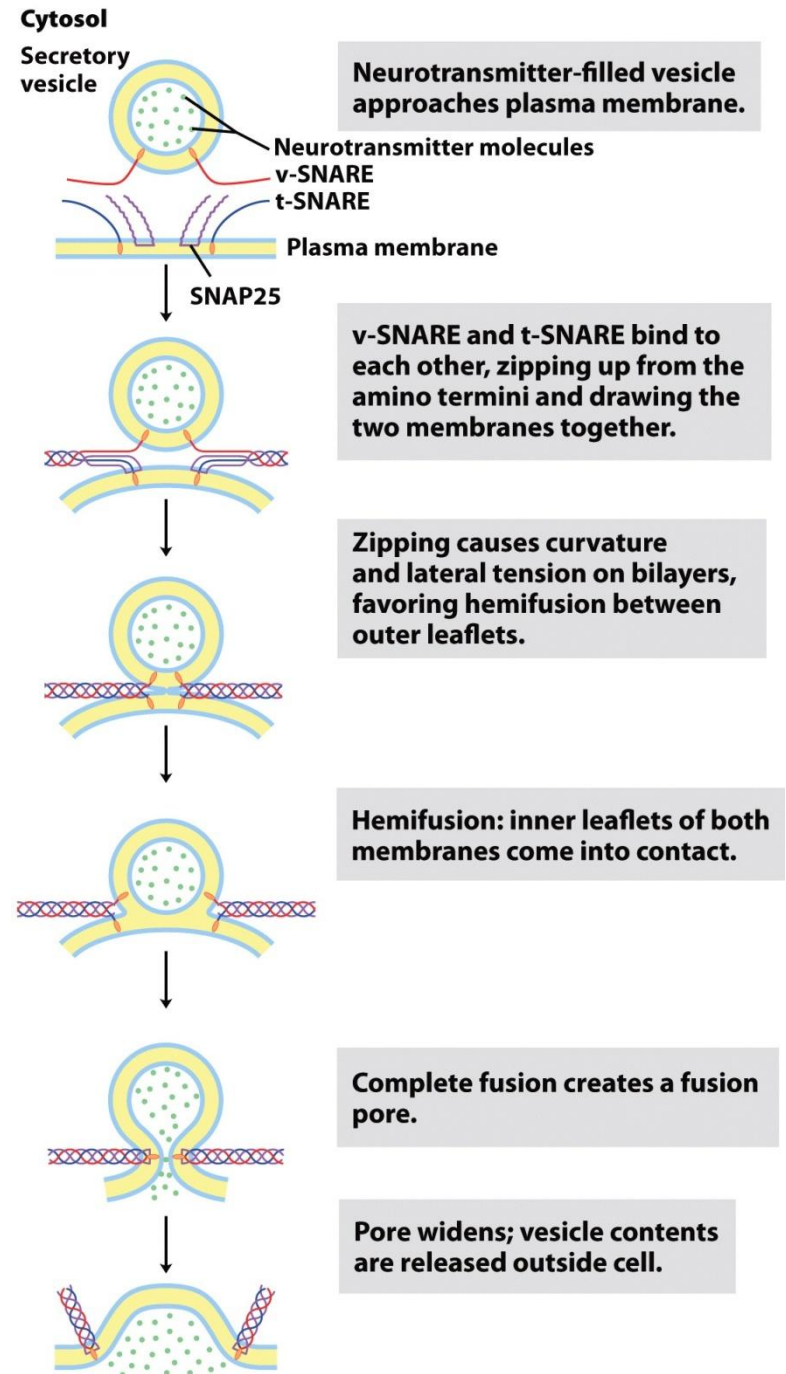
# Vezikulārā transporta koordinēšana

**Rab proteīni** specifiski lokalizēti iekššūnas struktūru membrānās

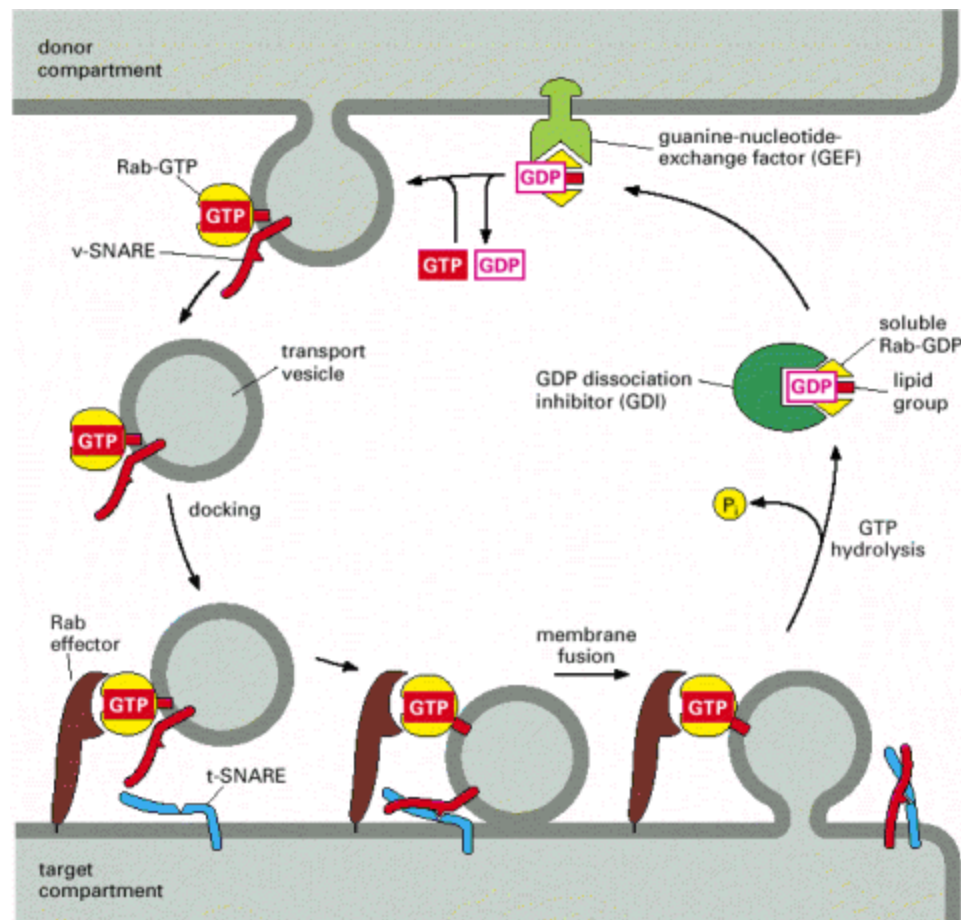
Proteīns	Organela
Rab1	Endoplazmatiskais tīkls un Goldži komplekss
Rab2	<i>cis</i> Goldži tīkls
Rab3A	Sinaptiskās vezikulas, sekretorās granulas
Rab4/Rab11	Pārstrādāšanai domātās endosomas
Rab5A	Plazmatiskā membrāna, ar klatrīnu pārklātās vezikulas, agrīnās endosomas
Rab5C	Agrīnās endosomas
Rab6	Mediālais un <i>trans</i> Goldži tīkls
Rab7	Vēlīnās endosomas
Rab8	Agrīnās endosomas
Rab9	Vēlīnās endosomas, <i>trans</i> Goldži tīkls

# SNARE struktūras

- Katram vezikulas vSNARE ir atbilstošais mērķstruktūras tSNARE
- vezikulas ar dažādiem vSNARE specifiski transportē dažādas transportmolekulas
- tSNARE izvietojums nosaka vezikulas galmērķi

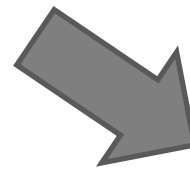


- **Rab proteīni** koordinē, uz kuriem tiks nogādāta
- **SNARE struktūras** nodrošina gan koordinēšanu, gan lipīdu slāņu saplūšanu

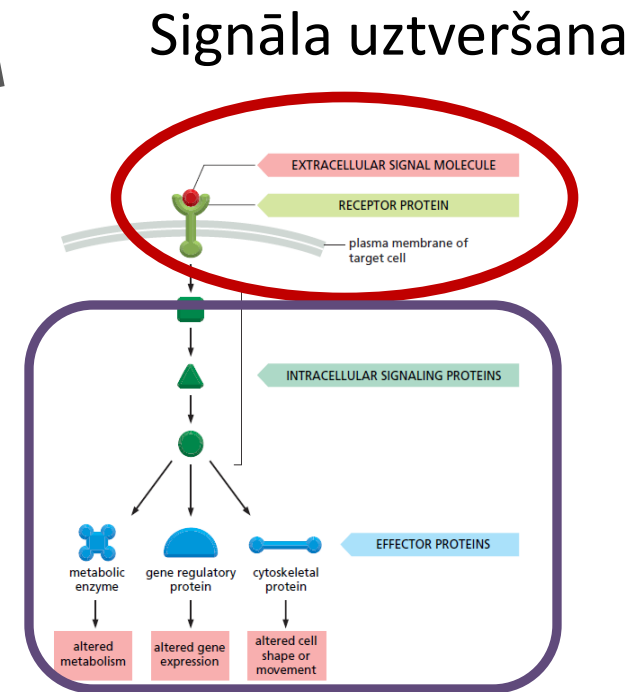


# Šūnu komunikācijas un signāla pārnese veidi

- Ar G proteīnu saistītie receptori
- Enzīmsaistītie receptori
- Receptoru guanililciklāzes
- Ligandu atkarīgie jonu kanāli
- Adhēzijas receptori
- Nukleārie receptori



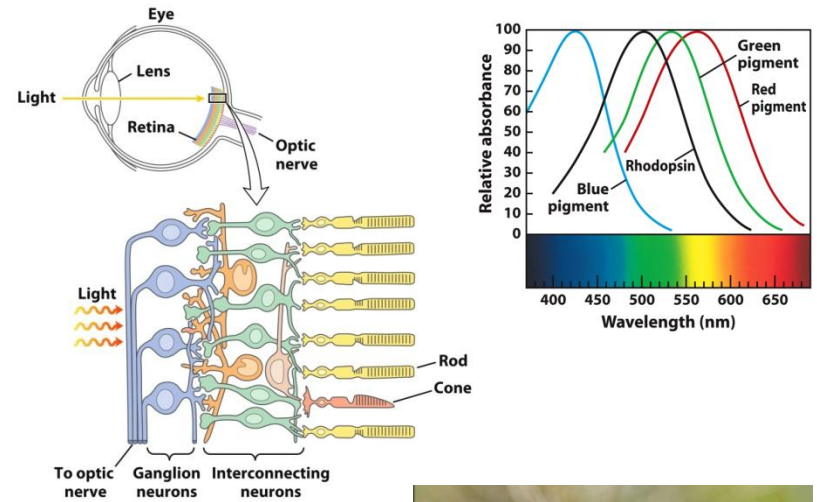
Signāla pārnese



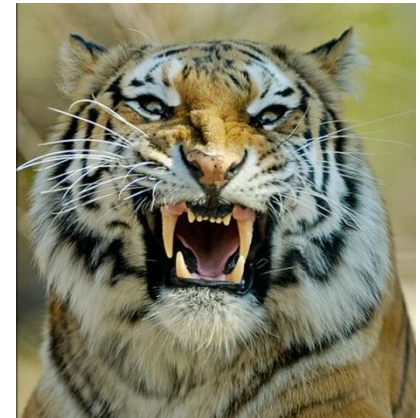
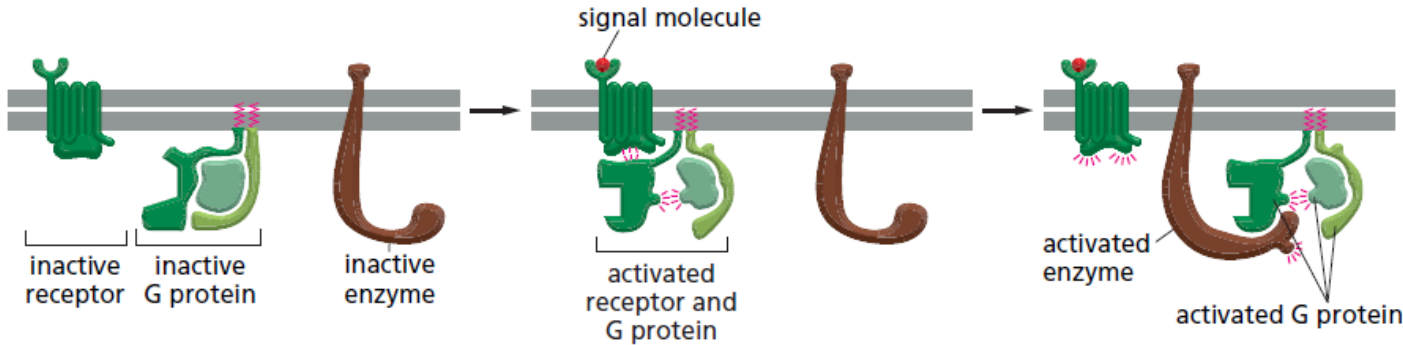
Izmaiņas šūnas funkcionalitātē

# Nākamajā lekcijā

- Ar G proteīnu saistītie receptori
- Enzīmsaistītie receptori



## (B) G-PROTEIN-COUPLED RECEPTORS



## (C) ENZYME-COUPLED RECEPTORS

