

Ser/Thr-specific


Protein Kinases

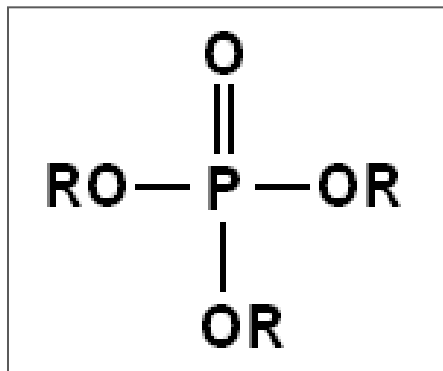
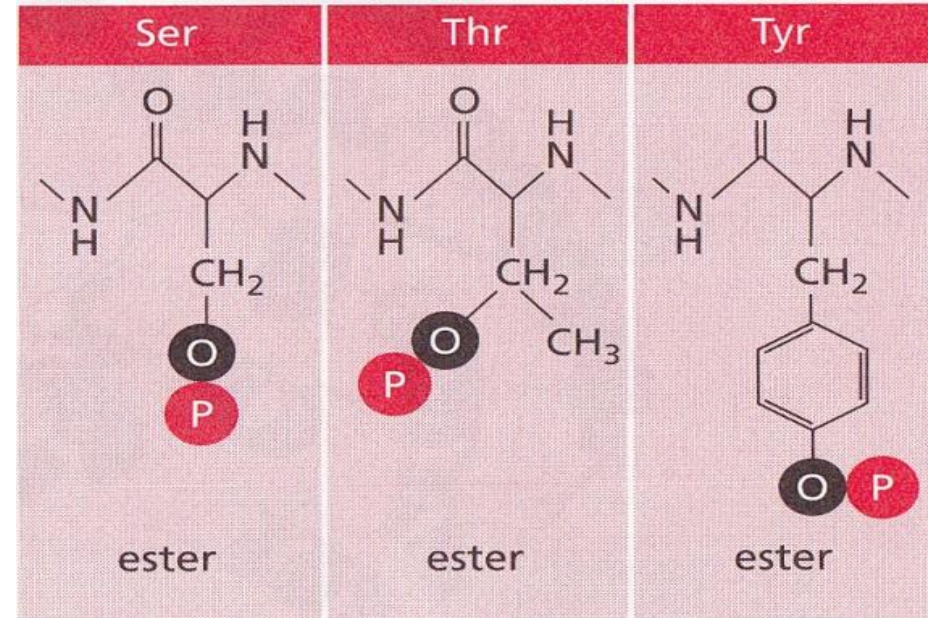
KAI

Protein Phosphatases

Ταξινόμηση των πρωτεϊνικών κινασών με βάση τα αμινοξέα-δέκτες

Οι πρωτεϊνικές κινάσες **Ser/Thr** δημιουργούν ένα φωσφορικό εστέρα με την αλκοολική υδροξυλομάδα R-OH των καταλοίπων Ser και Thr.

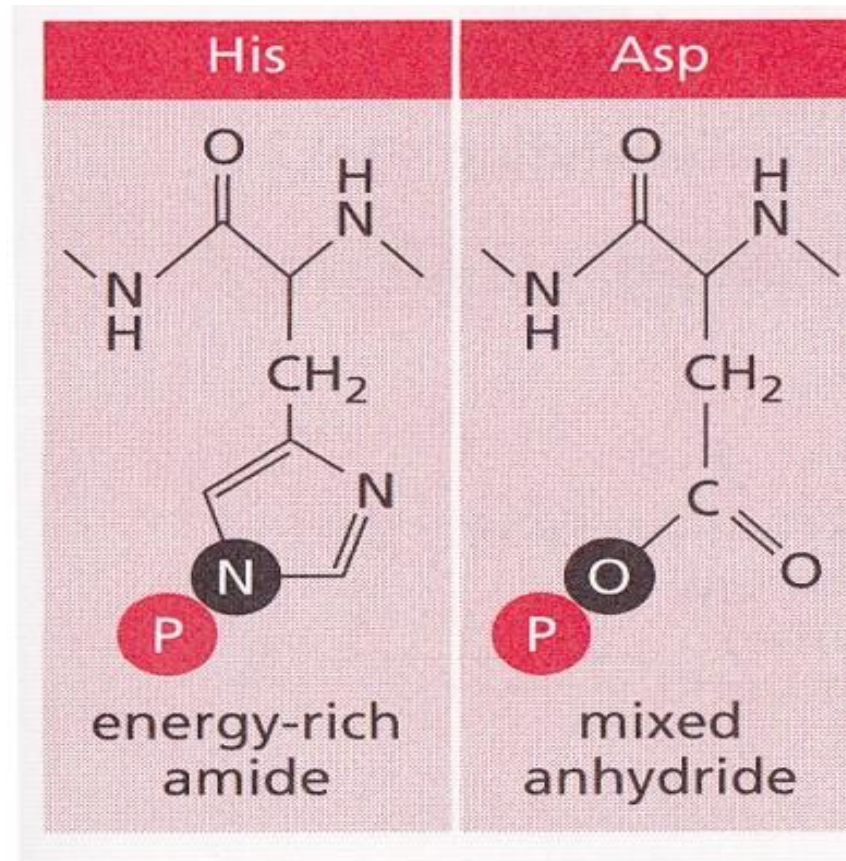
Οι πρωτεϊνικές κινάσες **Tyr** δημιουργούν ένα φωσφορικό εστέρα με τη φαινολική υδροξυλομάδα -OH των καταλοίπων Tyr.



Εστέρας φωσφορικού οξέος
ή φωσφορικός εστέρας

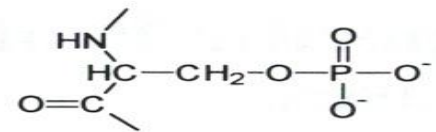
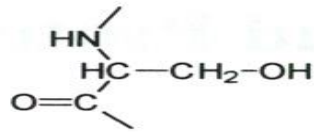
Οι πρωτεϊνικές κινάσες **His** δημιουργούν ένα φωσφορικό αμίδιο με το N της 1^{ης} ή 3^{ης} θέσης της His (R-CO-NH₂). Τα μέλη αυτής της οικογένειας ενζύμων φωσφορυλιώνουν επίσης κατάλοιπα **Lys** και **Arg**.

Οι πρωτεϊνικές κινάσες **Asp** δημιουργούν έναν μεικτό φωσφορο-καρβοξυλικό ανυδρίτη.

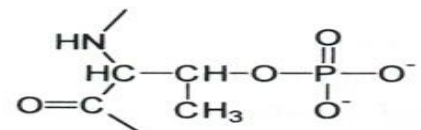
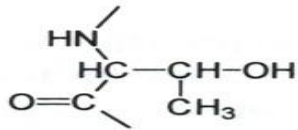


Ταξινόμηση των πρωτεϊνικών κινάσων με βάση τα αμινοξέα-δέκτες

Ser/Thr-specific protein kinases

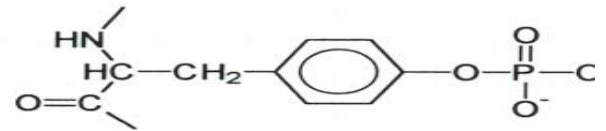
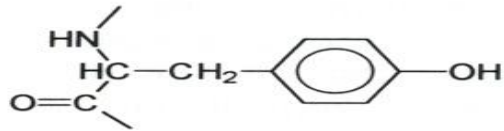


(Krebs, 1959)

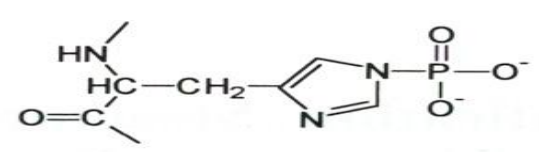
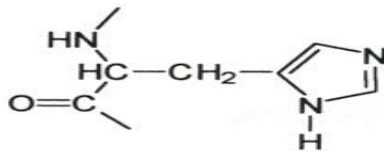


Tyr-specific protein kinases

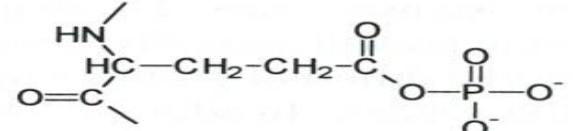
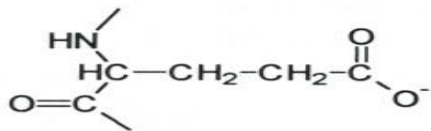
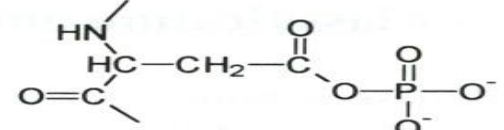
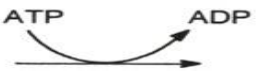
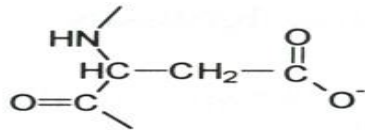
(Erikson, 1979)



His-specific protein kinases



Asp/Glu-specific protein kinases



Στόχοι φωσφορυλίωσης:

1. Ένζυμα
2. Πρωτεΐνες προσαρμογής
3. Σηματοδοτικές πρωτεΐνες
4. Μεταγραφικοί παράγοντες
5. Κανάλια ιόντων
6. Διαμεμβρανικοί υποδοχείς
7. Δομικές πρωτεΐνες
8. Ριβοσωμικές πρωτεΐνες
9. Μεταφέρουσες πρωτεΐνες

Επίδραση:

Αλλαγές στη διαμόρφωση

Δημιουργία θέσεων σύνδεσης για μόρια-τελεστές:

πχ. Tyr-P στο SH2 και PTB

Ser-P στις 14-3-3 Πρωτεΐνες

Ταξινόμηση πρωτεϊνικών κινασών Ser/Thr

1. Πρωτεϊνικές κινάσες AGC

- πρωτεϊνικές κινάσες που ρυθμίζονται από κυκλικά νουκλεοτίδια: PKA, PKG
- πρωτεϊνικές κινάσες που ρυθμίζονται από τη DAG / Ca²⁺: PKC
- PKB ή Akt

2. Πρωτεϊνικές κινάσες που ρυθμίζονται από Ca²⁺/καλμοδουλίνη

- κινάση της γ υπομονάδας της φωσφορυλάσης
- κινάση της ελαφριάς αλυσίδας της μυοσίνης, MLCK
- πρωτεϊνική κινάση II εξαρτώμενη από Ca²⁺/καλμοδουλίνη, CAMKII

3. Ριβοσωμική S6 πρωτεϊνική κινάση

- κινάσες που φωσφορυλιώνουν ειδικά τη ριβοσωμική πρωτεΐνη S6

4. Κινάσες των GPCRs (GRKs)

- κινάση του β-αδρενεργικού υποδοχέα, βARK.

5. Κινάση II της καζεΐνης (η κινάση καζεΐνης πήρε το όνομά της επειδή παρατηρήθηκε ότι η καζεΐνη, η πρωτεΐνη του γάλακτος, είναι ένα καλό υπόστρωμα)

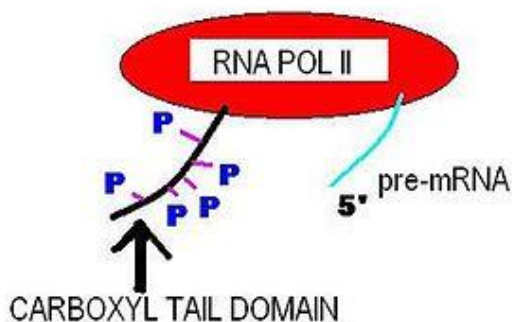
6. Κινάση της συνθάσης του γλυκογόνου

7. Κινάσες CDKs (κυκλινο-εξαρτώμενες κινάσες, τα κεντρικά στοιχεία της ρύθμισης του κυτταρικού κύκλου)

8. Κινάσες που προωθούν τη μίτωση, MAP κινάσες (οι MAP κινάσες συμμετέχουν στη μεταγωγή των σημάτων που προάγουν την αύξηση)

9. Πρωτεϊνικές κινάσες Mos/Raf (οι πρωτεϊνικές κινάσες Mos/Raf επίσης συμμετέχουν στη μεταγωγή των σημάτων των αυξητικών παραγόντων).

Εξειδίκευση των πρωτεϊνικών κινασών Ser/Thr ως προς το υπόστρωμα

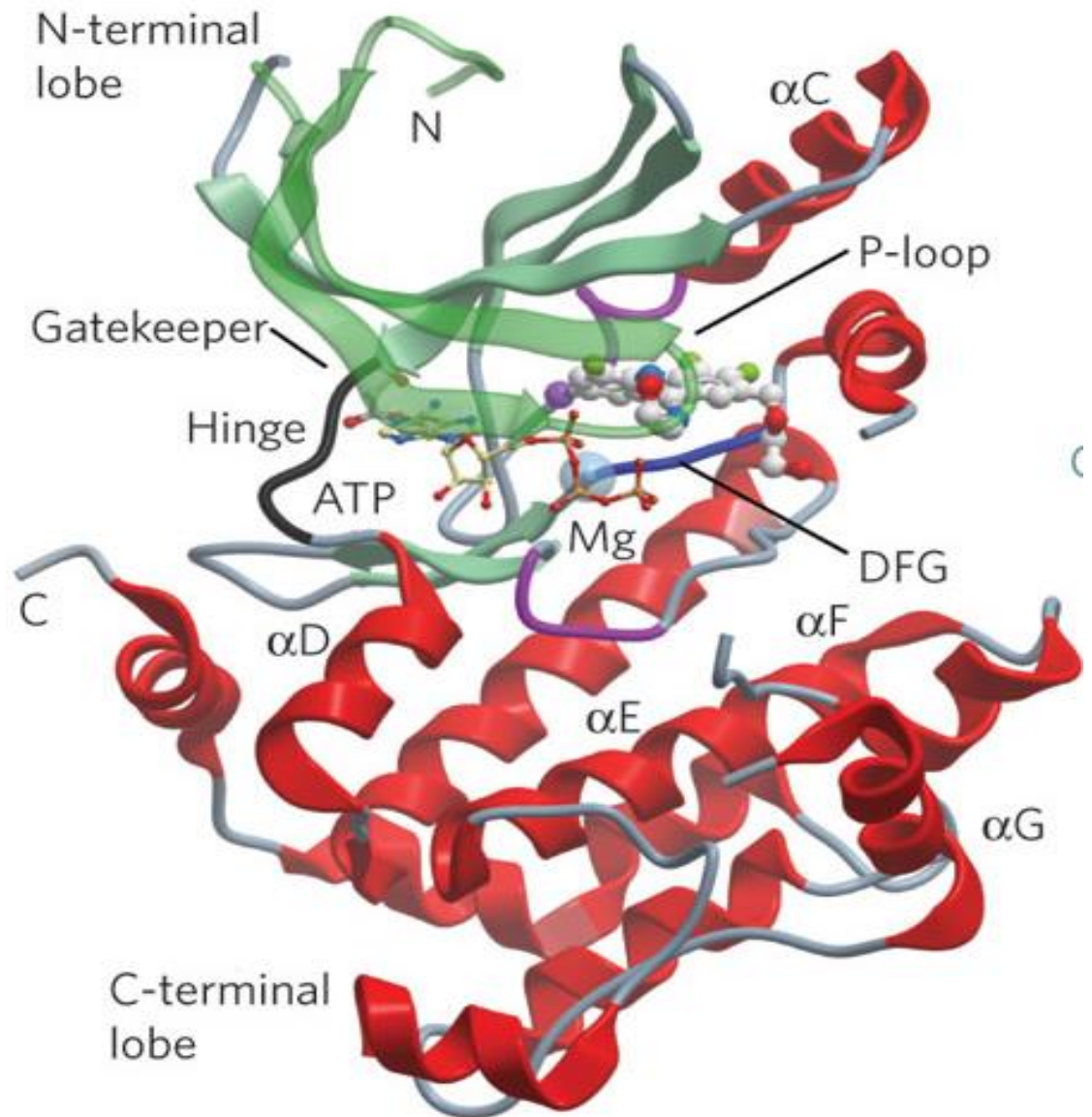


Καθώς υπάρχουν πολλά κατάλοιπα Ser και Thr στις πρωτεΐνες, η ερώτηση που προκύπτει είναι ποιοι παράγοντες καθορίζουν τη θέση φωσφορυλίωσης στην πρωτεΐνη υπόστρωμα. Με τη βοήθεια της στοχευμένης ανταλλαγής αμινοξέων στις πρωτεΐνες-υποστρώματα, τη σύγκριση της αλληλουχίας εκατέρωθεν των θέσεων φωσφορυλίωσης και τη χρήση καθορισμένων πεπτιδίων ως υποστρώματα, αποδείχθηκε ότι η αλληλουχία της γειτονικής περιοχής του καταλοίπου Ser/Thr καθορίζει σημαντικά την εξειδίκευση. Οι διαφορετικές κινάσες Ser/Thr έχουν διαφορετικές απαιτήσεις ως προς τη γειτονική αλληλουχία του καταλοίπου Ser/Thr που φωσφορυλιώνουν, έτσι ώστε κάθε υποοικογένεια να αναγνωρίζει τη δική της κοινή αλληλουχία. Αξίζει να τονιστεί ότι σε μια αλληλουχία φωσφορυλίωσης μπορεί να υπάρχουν πάνω από ένα κατάλοιπα Ser/Thr, καθώς επίσης σε μια πρωτεΐνη-υπόστρωμα μπορεί να υπάρχουν πολλές αλληλουχίες φωσφορυλίωσης καθιστώντας πιθανή την πολλαπλή και συνεργατική φωσφορυλίωση. Ένα παράδειγμα είναι η φωσφορυλίωση της μεγάλης υπομονάδας της RNA πολυμεράσης II, στο C τελικό άκρο της οποίας υπάρχουν 52 επαναλήψεις της επταμερούς αλληλουχίας **Tyr-Ser-Pro-Thr-Ser-Pro-Ser**, η οποία επιπλέον περιέχει 5 πιθανές θέσεις φωσφορυλίωσης.

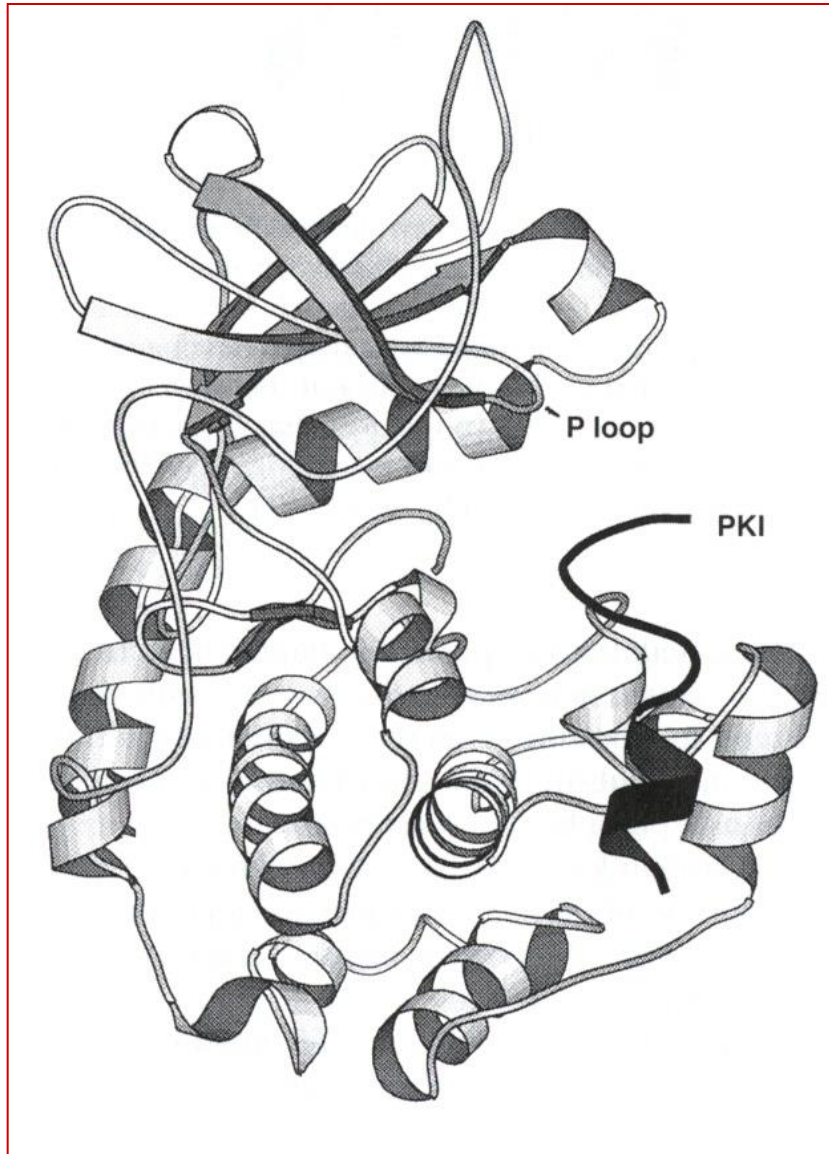
Εκτός από τη γειτονική αλληλουχία της θέσης φωσφορυλίωσης και άλλα δομικά στοιχεία της πρωτεΐνης-υποστρώματος που βρίσκονται μακριά από την αλληλουχία φωσφορυλίωσης και τη θέση σύνδεσης του υποστρώματος συμμετέχουν στη σύνδεση κινάσης/υποστρώματος. Ένα άλλο κύριο στοιχείο που αυξάνει την εξειδίκευση της πρωτεϊνικής κινάσης είναι ο συν-εντοπισμός της κινάσης κοντά στις πρωτεΐνες-υποστρώματα.

Δομή ευκαρυωτικών πρωτεϊνικών κινασών

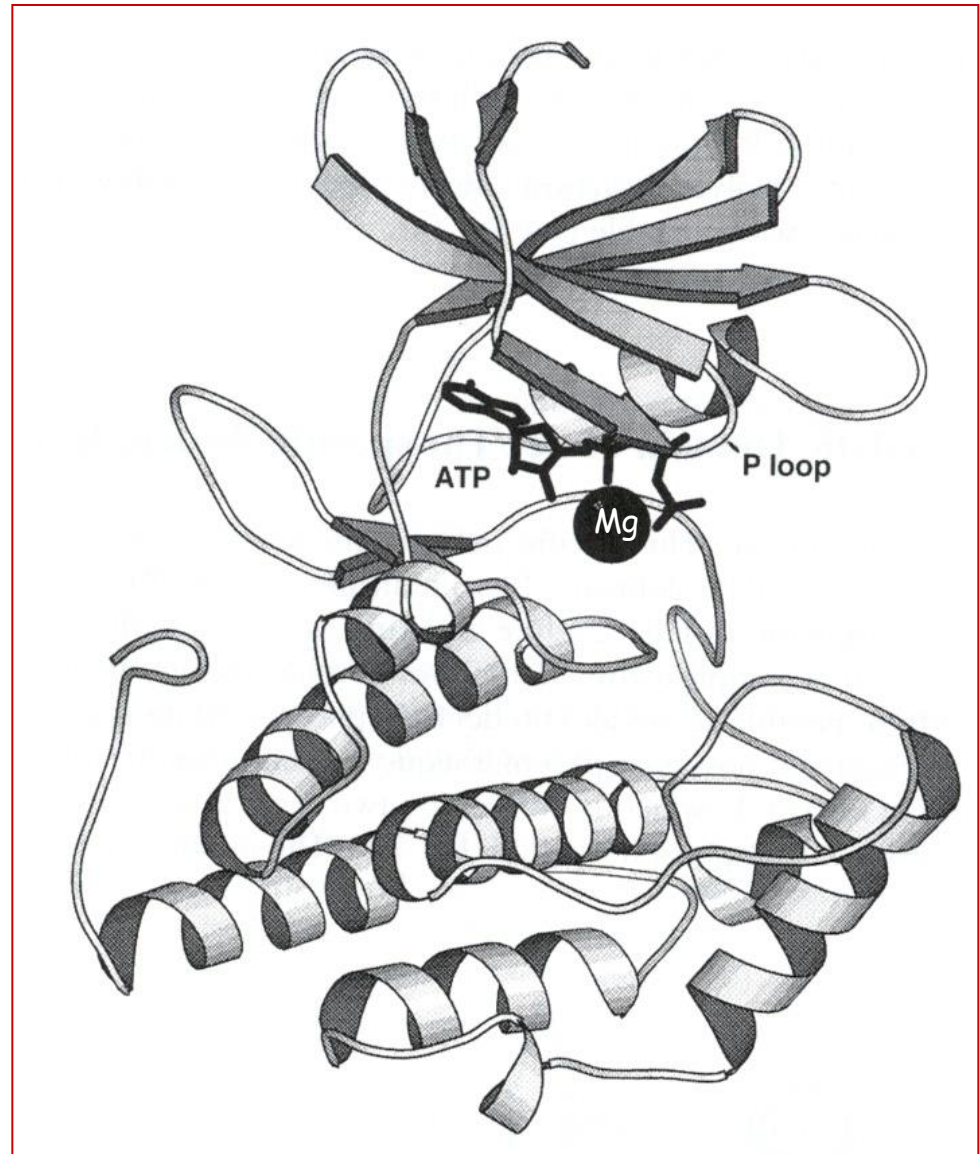
Η καταλυτική περιοχή της πρωτεϊνικής κινάσης A έχει δομή δύο λοβών: ένα μικρότερο λοβό που αποτελείται κυρίως από β-πτυχωτά φύλλα και ένα μεγαλύτερο λοβό που αποτελείται κυρίως από α-έλικες. Μέχρι σήμερα, όλες οι πρωτεϊνικές κινάσες Ser/Thr και Tyr χαρακτηρίζονται από μια παρόμοια περιοχή. Η θέση πρόσδεσης για το πρωτεϊνικό υπόστρωμα και η θέση πρόσδεσης για το ATP εντοπίζονται στη σχισμή ανάμεσα στους δύο λοβούς. Ο συνδετικός κρίκος ανάμεσα στους δυο λοβούς είναι ελαστικός και λειτουργεί ως μεντεσές. Με την πρόσδεση του υποστρώματος και του ATP, οι δύο λοβοί διπλώνουν μαζί, φέρνοντας τη θέση πρόσδεσης του ATP στο εσωτερικό του μορίου, ανάμεσα στους δυο λοβούς. Ένας βρόχος πλούσιος σε Gly βρίσκεται στην περιοχή πρόσδεσης του ATP, με μια κοινή αλληλουχία -Gly-X-Gly-(Phe/Tyr)-Gly-X-Val. Ο βρόχος είναι εύκαμπτος και παίζει ένα σημαντικό ρόλο στην κατάλυση της μεταφοράς φωσφόρου και στην πρόσδεση του ATP.



Δομή της καταλυτικής υπομονάδας της ΡΚΑ και η θέση σύνδεσης του πεπτιδίου ΡΚΙ



Δομή της κινάσης I της καζεΐνης και η θέση σύνδεσης του ATP/Mg²⁺

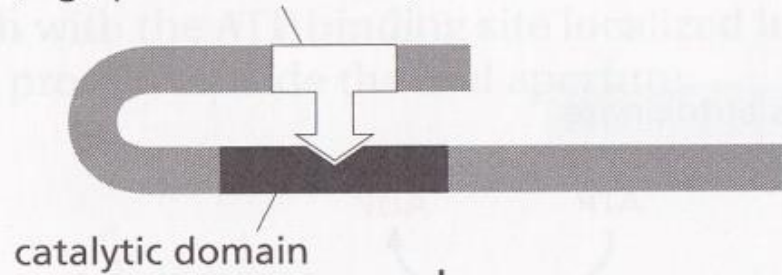


Οι πρωτεϊνικές κινάσες μπορούν να υπάρξουν σε ενεργή και ανενεργή μορφή, και αυτό εξηγεί γιατί μπορούν να παίζουν το ρόλο διακόπτη στα σηματοδοτικά μονοπάτια. Στο μεγαλύτερο διάστημα βρίσκονται στην "off" κατάσταση (κατάσταση χαμηλής ενέργειας) και κάτω από την επίδραση ειδικών σημάτων μεταπίπτουν στην "on" κατάσταση της πλήρους ενεργοποίησης.

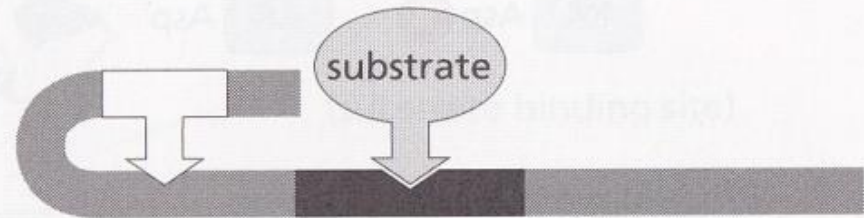
Ρύθμιση της δραστηριότητας των κινασών από Σήματα εισόδου

Ca²⁺ (calmodulin)
cAMP
cGMP
DAG
phospholipids
ceramide
5'-AMP
RNA
DNA
G-proteins
receptors
other regulatory proteins
growth factors, insulin
protein kinases
protein phosphatases

inhibitory sequence
(e.g., pseudosubstrate)



CONFORMATIONAL CHANGE



chaperone
HSP90

activation loop
phosphorylation

INPUT SIGNALS

Ρύθμιση της δραστηριότητας των πρωτεϊνικών κινασών Ser/Thr

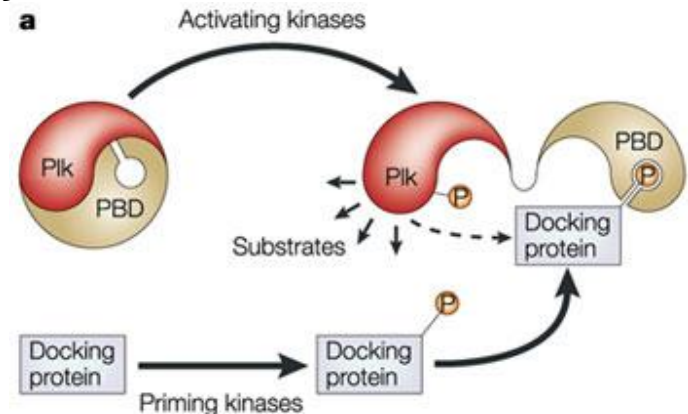
Η σταθεροποίηση στην ανενεργή μορφή των πρωτεϊνικών κινασών ελέγχεται από διάφορους μηχανισμούς:

- Πρόσδεση πρωτεϊνών αναστολέων (πχ. η σύνδεση του αναστολέα p21^{KIP} οδηγεί στην αλλαγή διαμόρφωσης του N-τελικού λοβού της κινάσης μπλοκάροντας τη θέση δέσμευσης του ATP).
- Ανασταλτικές φωσφορυλιώσεις (πχ. της Thr14 και Tyr15 στις CDKs).
- Πρόσδεση ρυθμιστικών υπομονάδων (πχ. τω δύο ρυθμιστικών υπομονάδω στην PKA).
- Αυτο-αναστολή (πχ ένα δομικό στοιχείο, μέρος της ίδιας κινάσης ή μιας ρυθμιστικής υπομονάδας της, δρα ως αυτό-αναστολέας, οδηγώντας σε μια κλειστή διαμόρφωση).

Η μετάπτωση από την ανενεργή στην ενεργή μορφή των πρωτεϊνικών κινασών ελέγχεται από διάφορους μηχανισμούς:

- Πρόσδεση υπομονάδων - ενεργοποιητών (πχ. οι κυκλίνες στις CDKs).
- Σύνδεση δεύτερων διαβιβαστών (πχ. cAMP στις PKAs) με απελευθέρωση των ανασταλτικών ρυθμιστικών υπομονάδων.
- Σύνδεση συμπαραγόντων (πχ Ca²⁺ /καλμοδουλίνη, διακυλογλυκερόλη (DAG), φωσφολιπίδια στις PKCs).
- Φωσφορυλίωση του βρόχου ενεργοποίησης.
- Απο-φωσφορυλίωση ανασταλτικών θέσεων φωσφορυλίωσης.

- Σύνδεση φωσφορυλιωμένου υποστρώματος (πχ. η κινάση polo-like 1 βρίσκεται σε ανενεργή μορφή λόγω ενδομοριακής πρόσδεσης μιας ανασταλτικής περιοχής της, της περιοχής polo box domain (PBD1). Η σύνδεση ενός φωσφορυλιωμένου υποστρώματος στην περιοχή PBD1, αίρει την αναστολή, ενεργοποιώντας την κινάση polo-like.

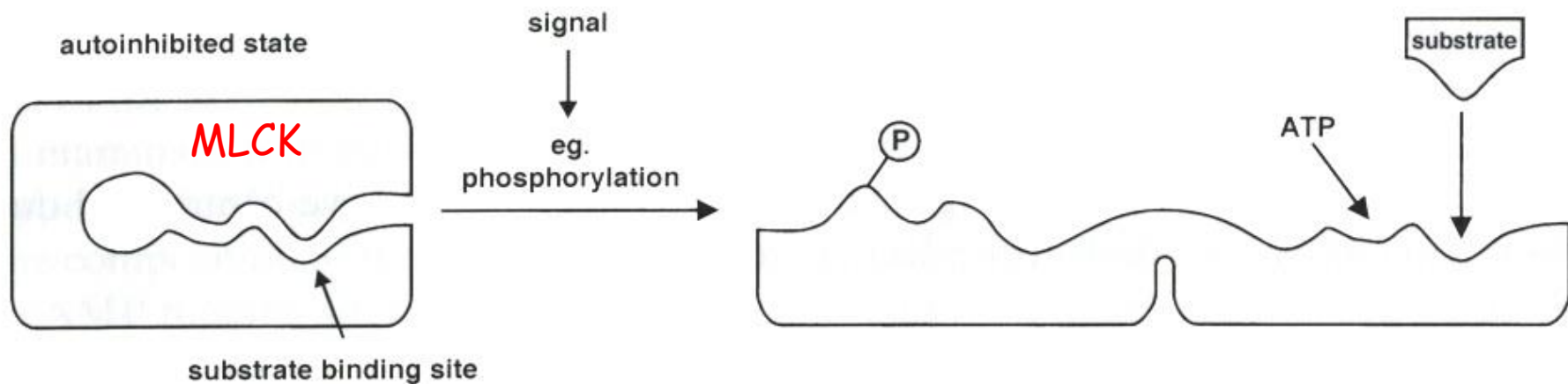


Ο έλεγχος της δραστηριότητας των πρωτεϊνικών κινασών μπορεί να συμβεί σε πολλά επίπεδα:

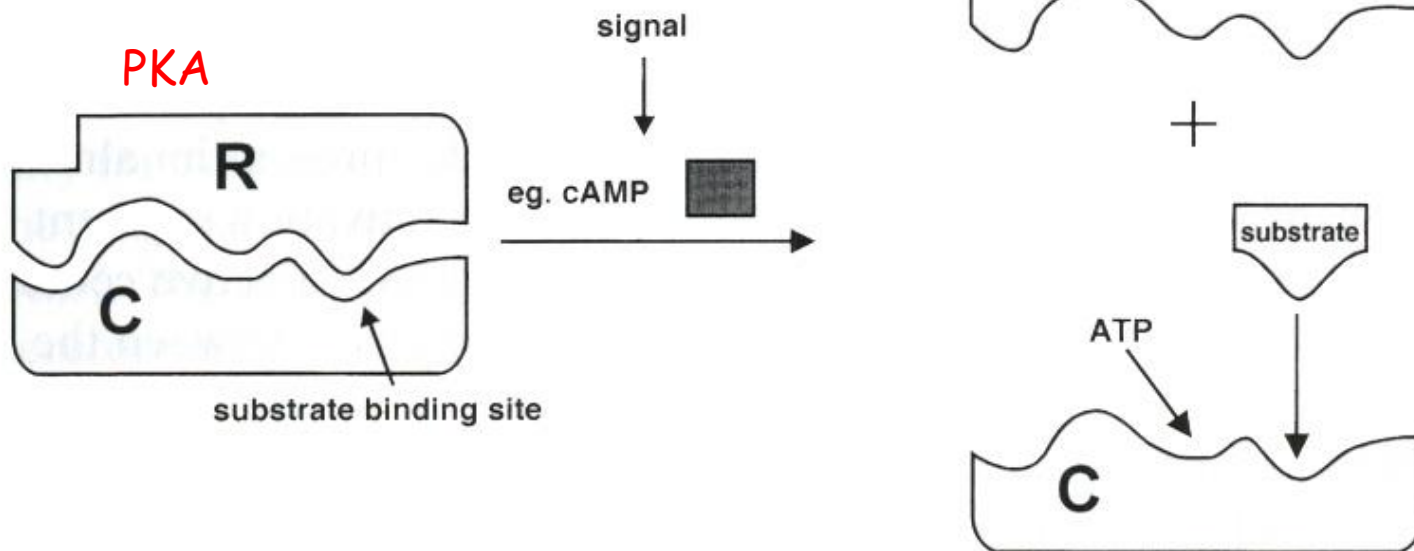
1. Έκφραση της κινάσης ή της ρυθμιστικής υπομονάδας της (ανασταλτικές ή διεγερτικές υπομονάδες, πχ κυκλίνες).
2. Σηματο-επαγόμενη καταστροφή της κινάσης ή της ρυθμιστικής υπομονάδας της, μέσω του συστήματος ουβικουιτίνης-πρωτεόσωμα.
3. Ενεργοποίηση πρωτεϊνικών κινασών που φωσφορυλιώνουν ρυθμιστικές θέσεις (πχ στο βρόχο ενεργοποίησης).
4. Ενεργοποίηση πρωτεϊνικών φωσφατασών που απο-φωσφορυλιώνουν ρυθμιστικές θέσεις.
5. Σηματο-επαγόμενη παραγωγή δεύτερων διαβιβαστών που ενεργοποιούν πρωτεϊνικές κινάσες (cAMP, Ca^{2+} , DAG).
6. Στρατολόγηση της κινάσης στην υποκυτταρική θέση που βρίσκεται το πρωτεϊνικό της υπόστρωμα.

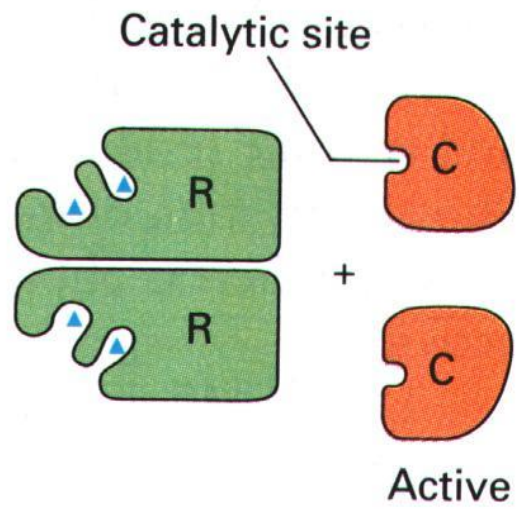
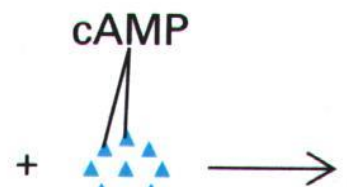
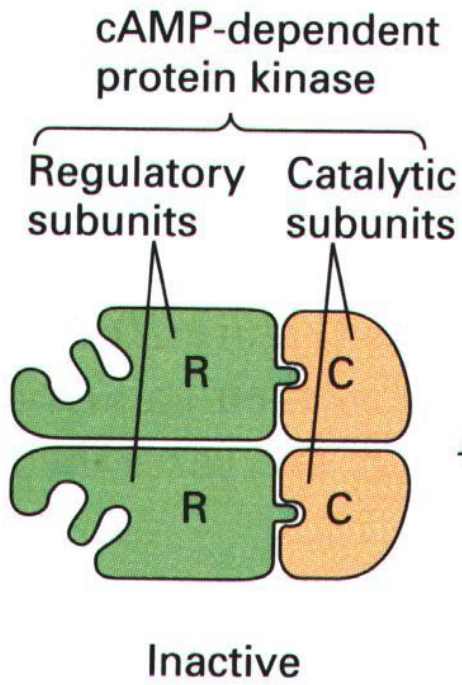
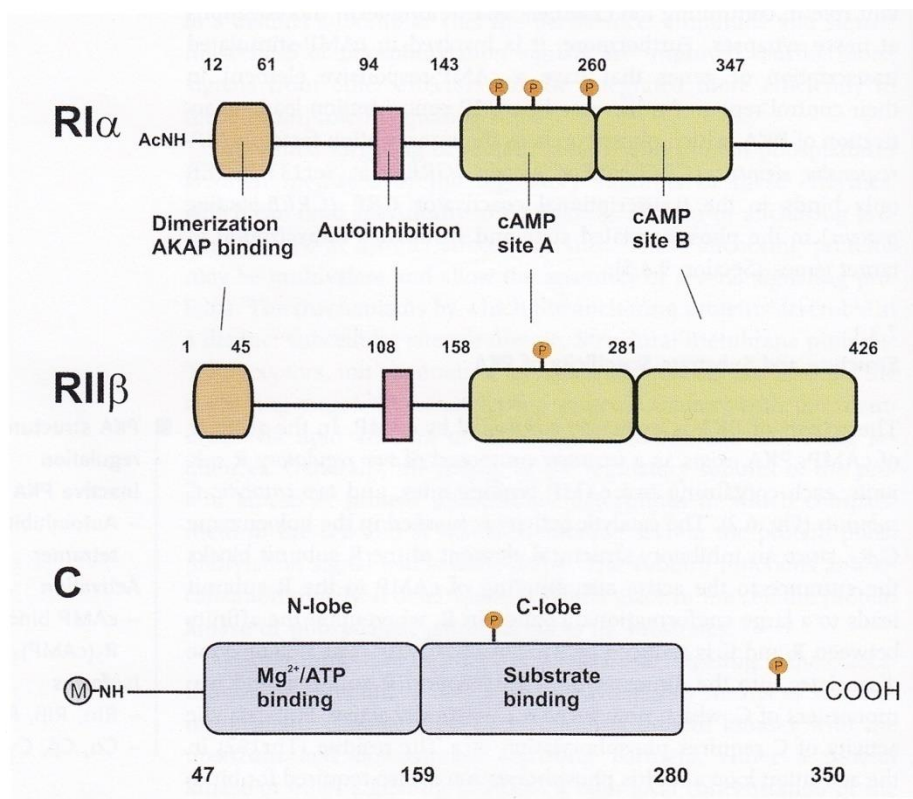
Αυτο-αναστολή και ενεργοποίηση των πρωτεϊνικών κινασών Ser/Thr

a)



b)





RI α - RI β
 RII α - RII β

C - C β - C γ

Neurotransmitter



G

AC

+

cAMP

Protein Kinase A

R C

+

+

+

Feedback Proteins

MAP kinase

P

P

+

+

+

Ser¹³³

CREB

P

Transcriptional Activators

CREB2

P

Transcriptional Repressors

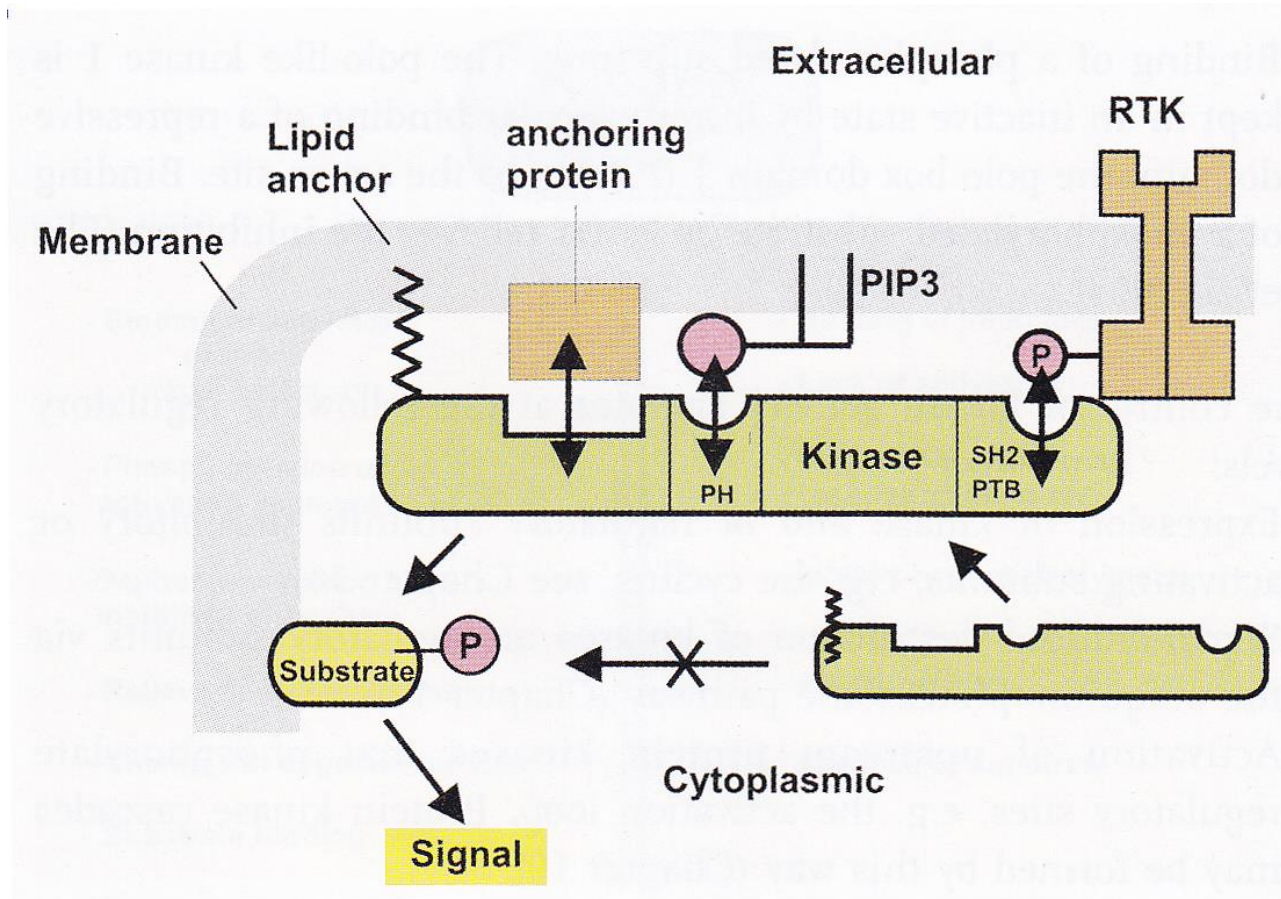
+

cAMP-inducible genes

CRE

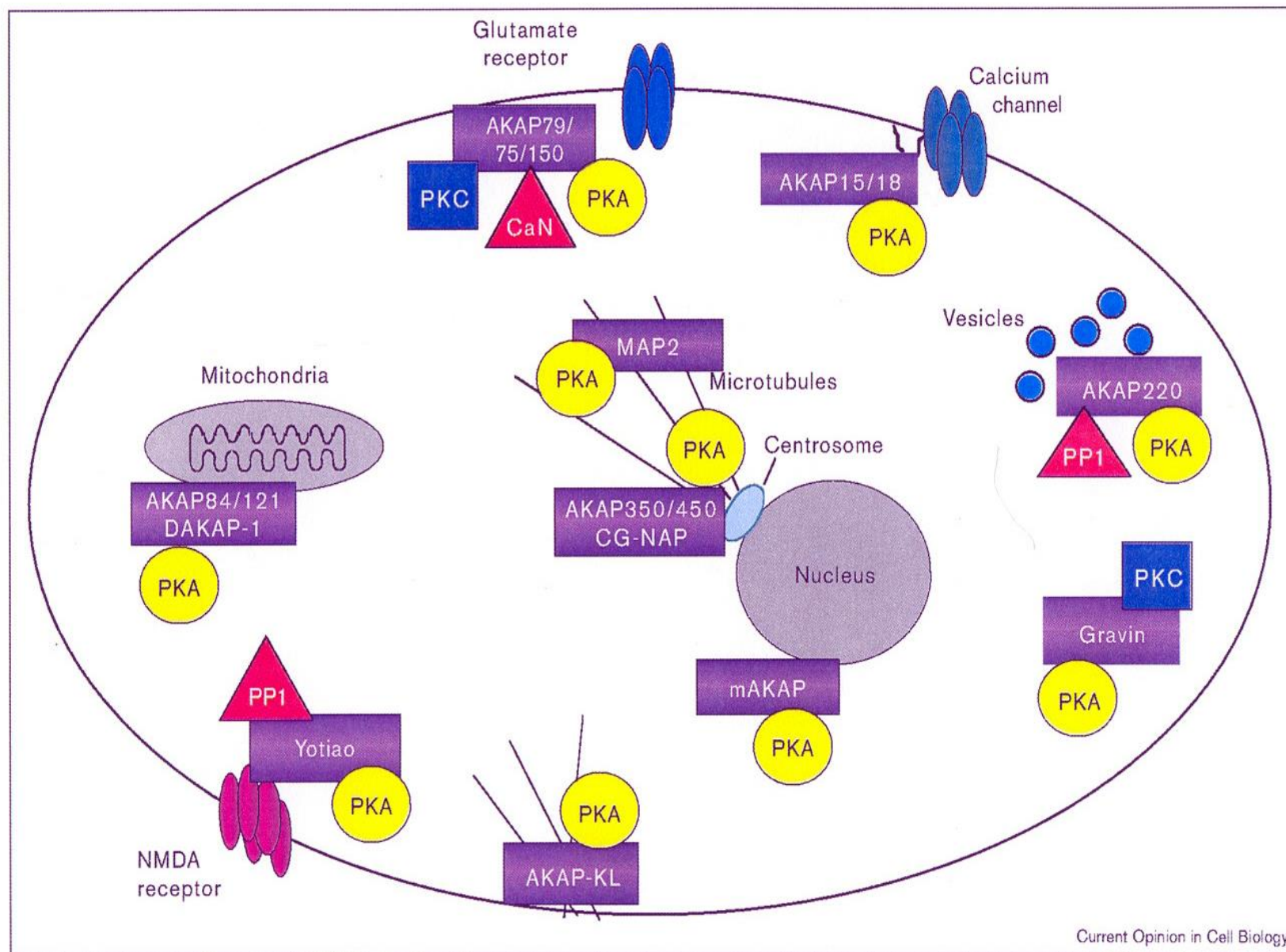
Further gene induction (e.g. memory)

Υποκυτταρικός εντοπισμός των πρωτεϊνικών κινασών



Μια πρωτεϊνική κινάση μπορεί να βρεθεί στη μεμβράνη μέσω της σύνδεσής της σε μια πρωτεΐνη αγκυροβόλιο (anchoring protein), μέσω σύνδεσης της PH δομικής περιοχής της σε λιπίδια της μεμβράνης, μέσω μιας άγκυρας λιπιδίων (lipid anchor) ή μέσω σύνδεσης της SH2 ή PTB περιοχής της με φωσφορυλιωμένες Tyr διαμεμβρανικών υποδοχέων (RTK). Ο συγκεκριμένος υποκυτταρικός εντοπισμός διευκολύνει τη φωσφορυλίωση του υποστρώματος.

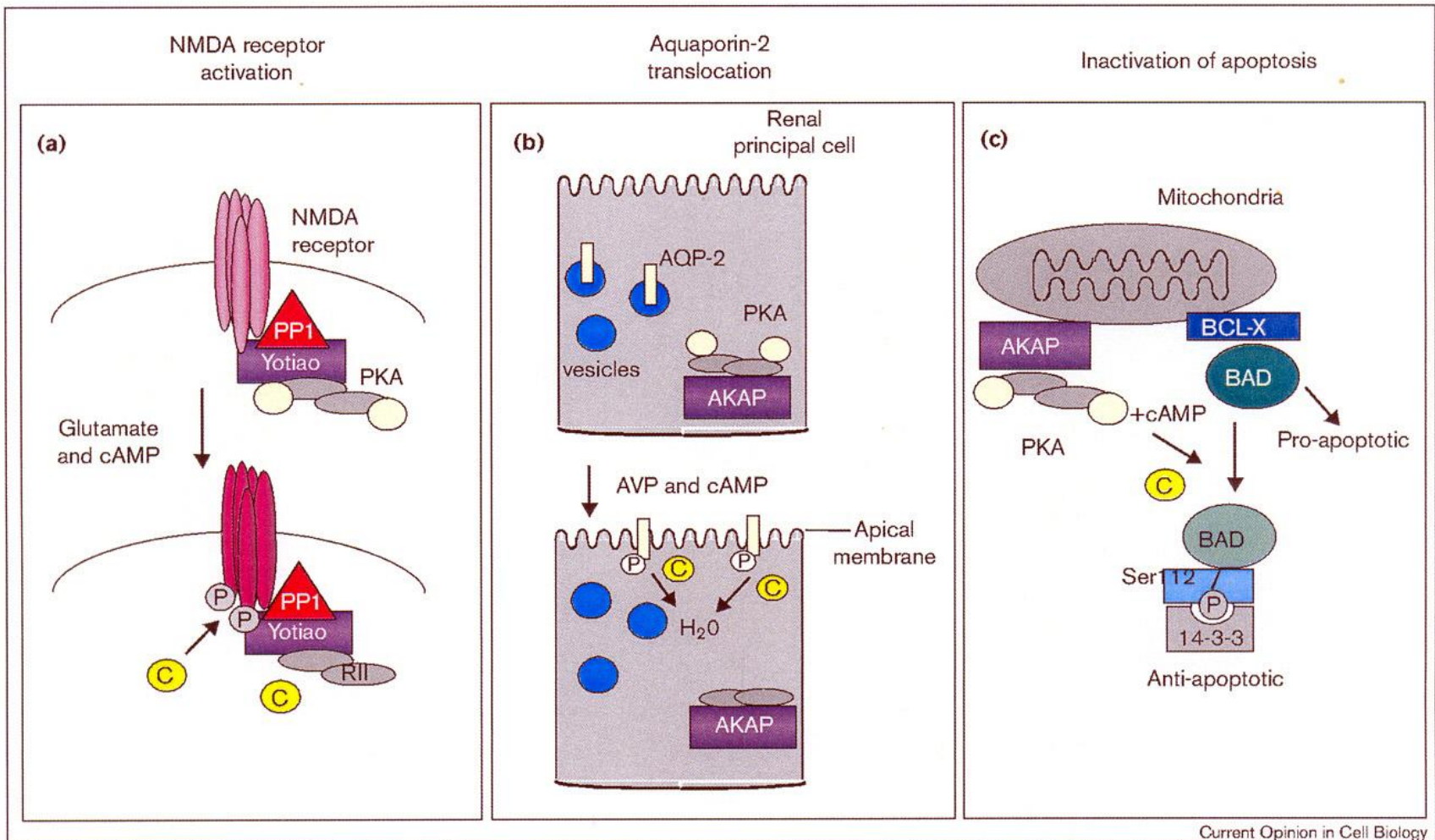
Οι PKA προσδένονται σε διαφορετικού τύπου AKAP (A-kinase anchor proteins), οι οποίες εντοπίζονται συνδεδεμένες σε διάφορα οργανίδια μέσα στο κύτταρο

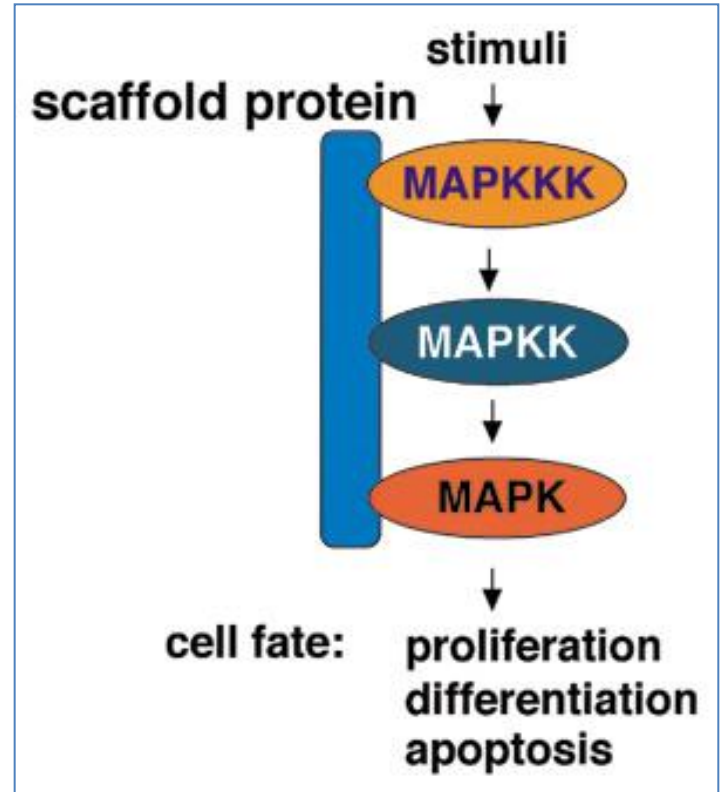
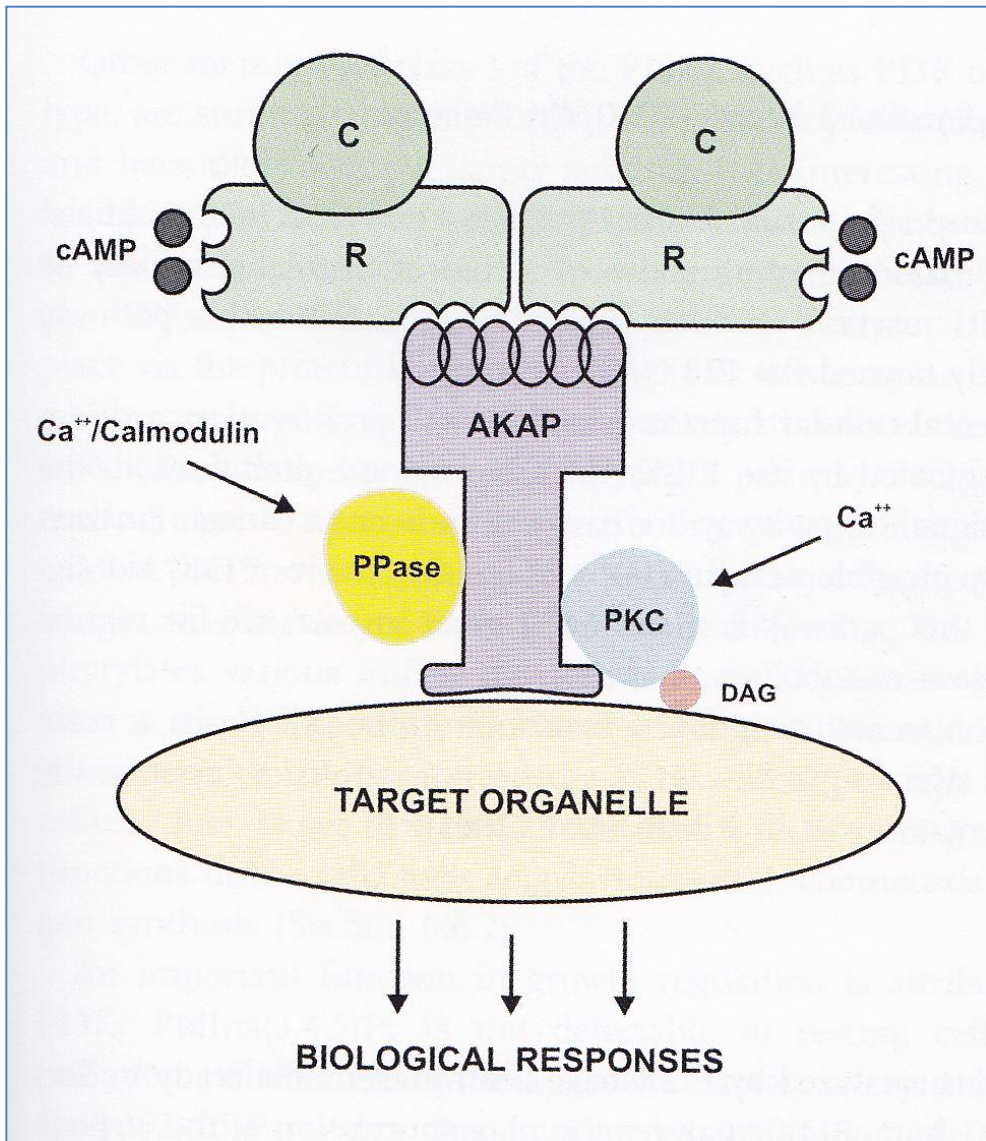


a/ Η AKAP γοττiao φέρνει κοντά την PKA στον υποδοχέα NMDA.

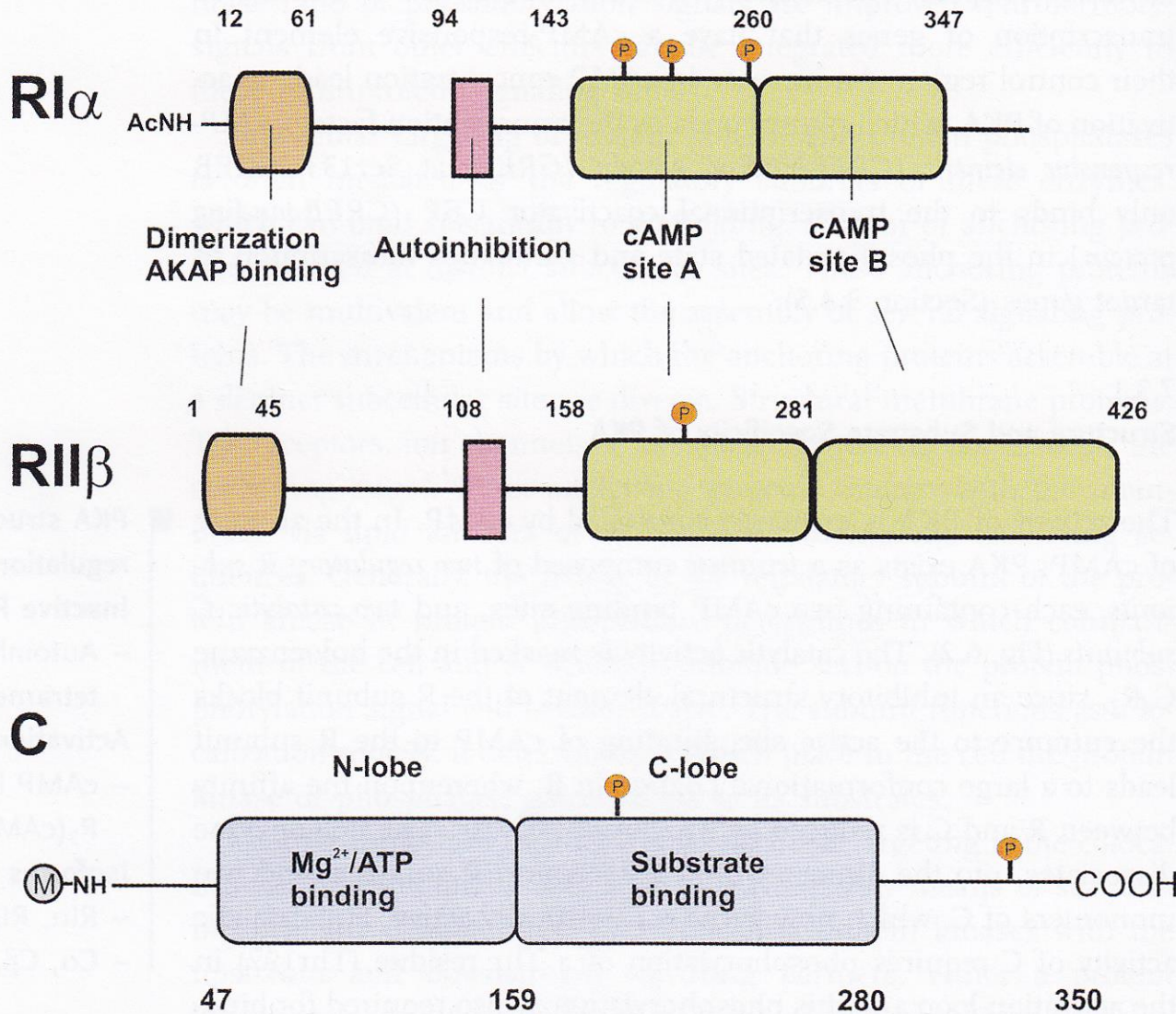
b/ Στα κύτταρα των νεφρικών σωληναρίων, οι PKA, συνδεδεμένες με AKAP, φωσφορυλιώνουν τις υδατοπορίνες-2 επιτρέποντας τη μεταφορά τους στη μεμβράνη.

c/ Οι PKA, συνδεδεμένες μέσω AKAP στα μιτοχόνδρια, φωσφορυλιώνουν τον προ-αποπτωτικό παράγοντα BAD.



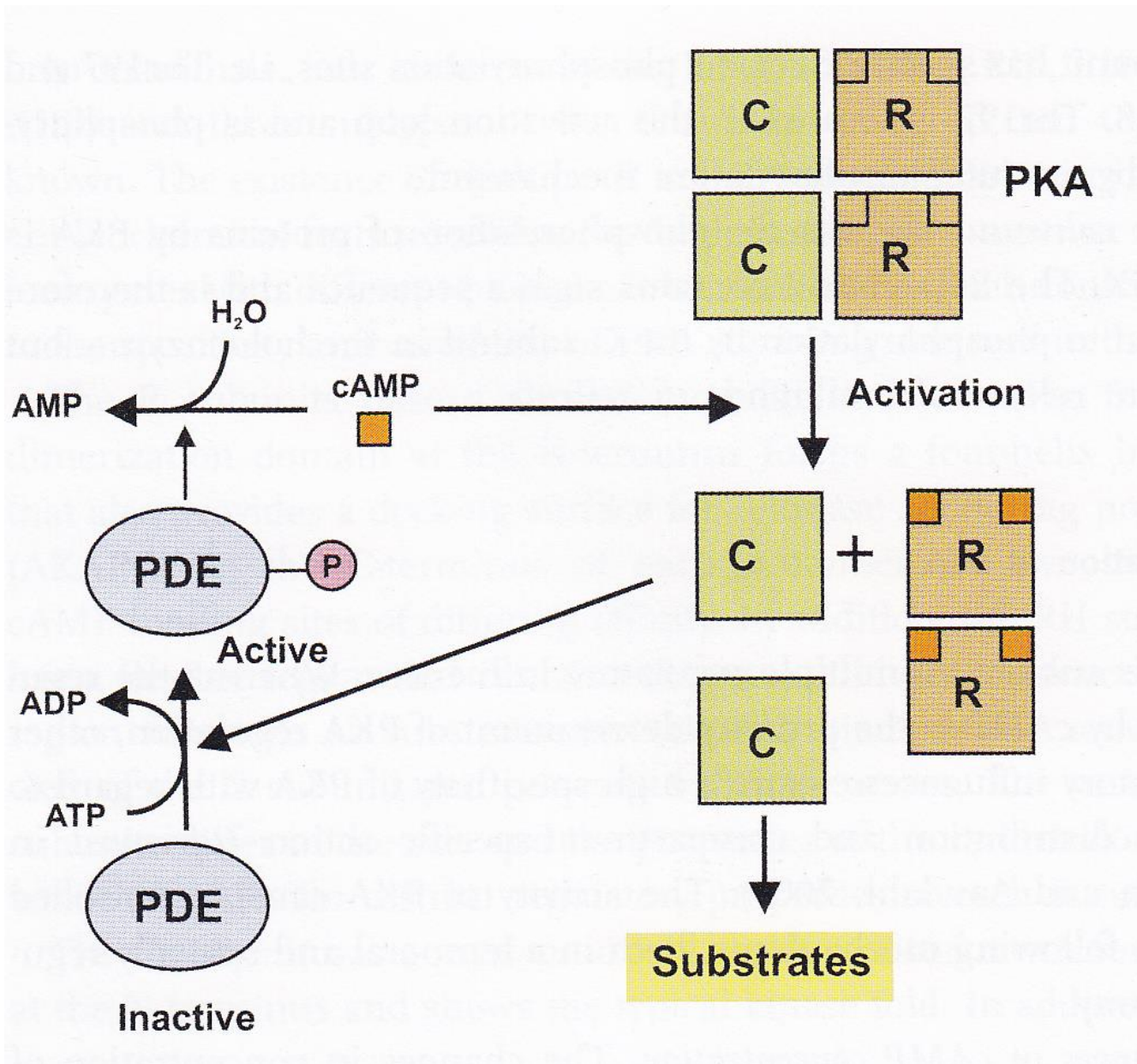


PKA

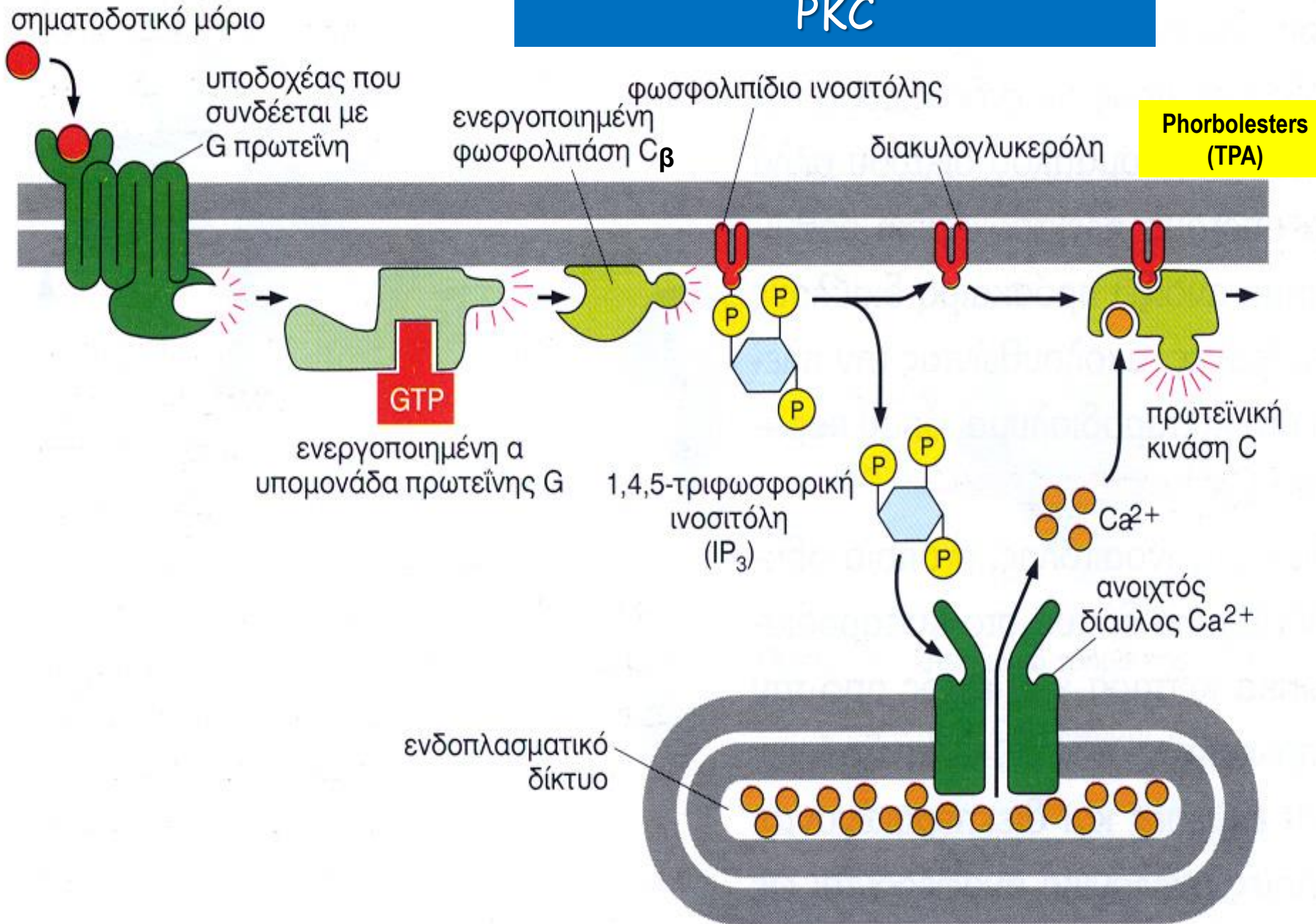


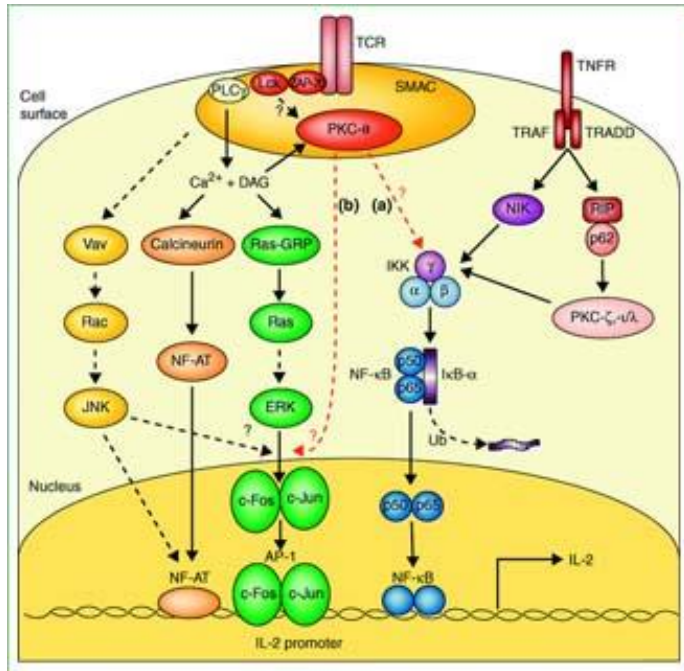
Δομικές περιοχές των υπομονάδων της πρωτεϊνικής κινάσης A. Οι περιοχές των δύο ισομορφών (RI α , RII β) της ρυθμιστικής υπομονάδας και της καταλυτικής (C) της PKA φαίνονται σε γραμμικό σχηματισμό. Στις R υπομονάδες διακρίνονται: η περιοχή διμερισμού στο αμινοτελικό άκρο, η οποία αποτελεί και τη θέση μέσω της οποίας η PKA συνδέεται στις AKAP, οι δύο περιοχές σύνδεσης cAMP (με διαφορετική συγγένεια η καθεμιά) στο καρβοξυτελικό άκρο και η περιοχή αυτο-αναστολής, η οποία συνδέεται στο καταλυτικό κέντρο της υπομονάδας C. Η υπομονάδα C έχει ένα κατάλοιπο μυριστοϊκού οξέος, με άγνωστο ρόλο στο καρβοξυτελικό άκρο της, και τους τυπικούς βρόχους - λοβούς ενεργοποίησης.

Αρνητική ρύθμιση της PKA από φωσφοδιεστεράσες (PDE)

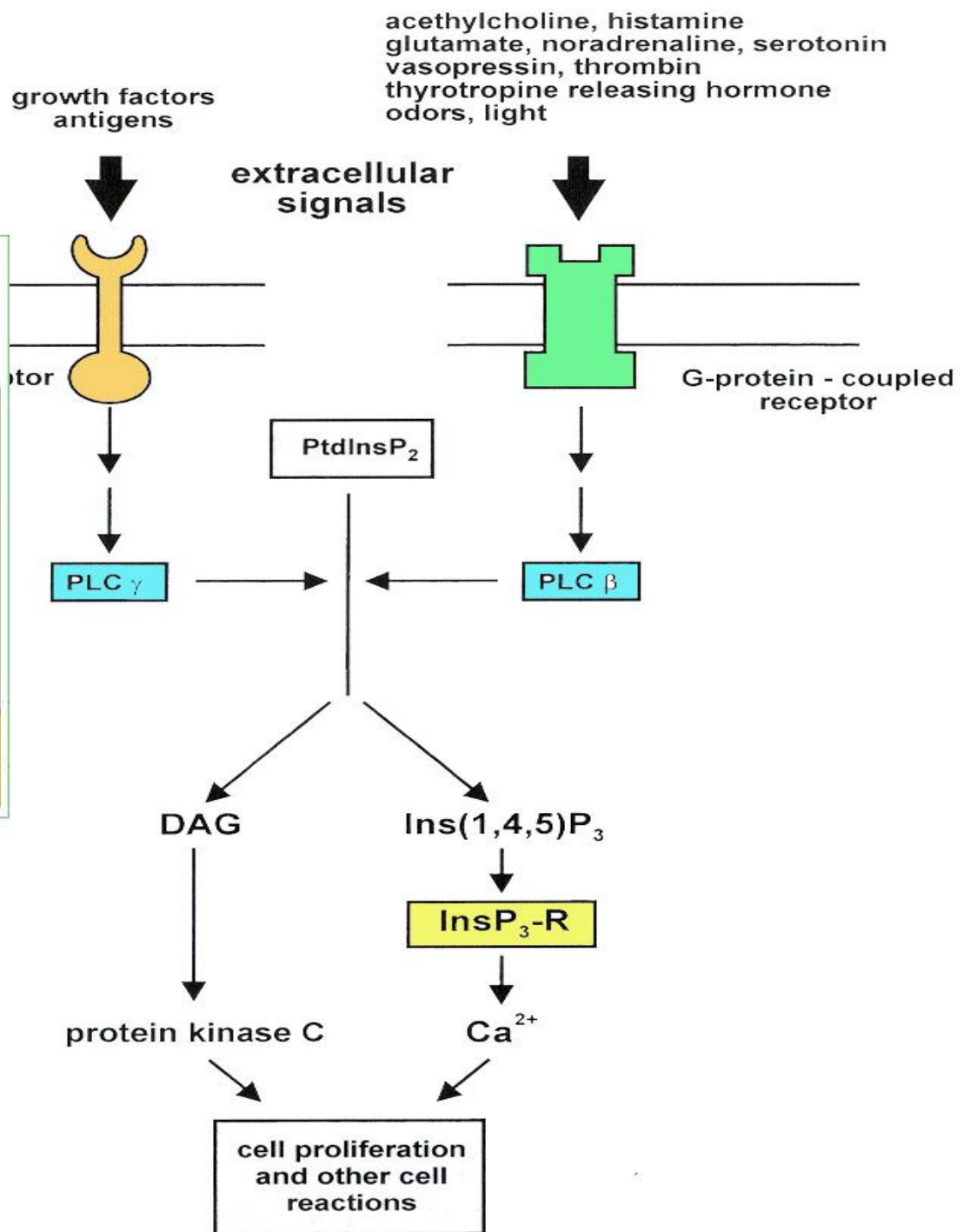


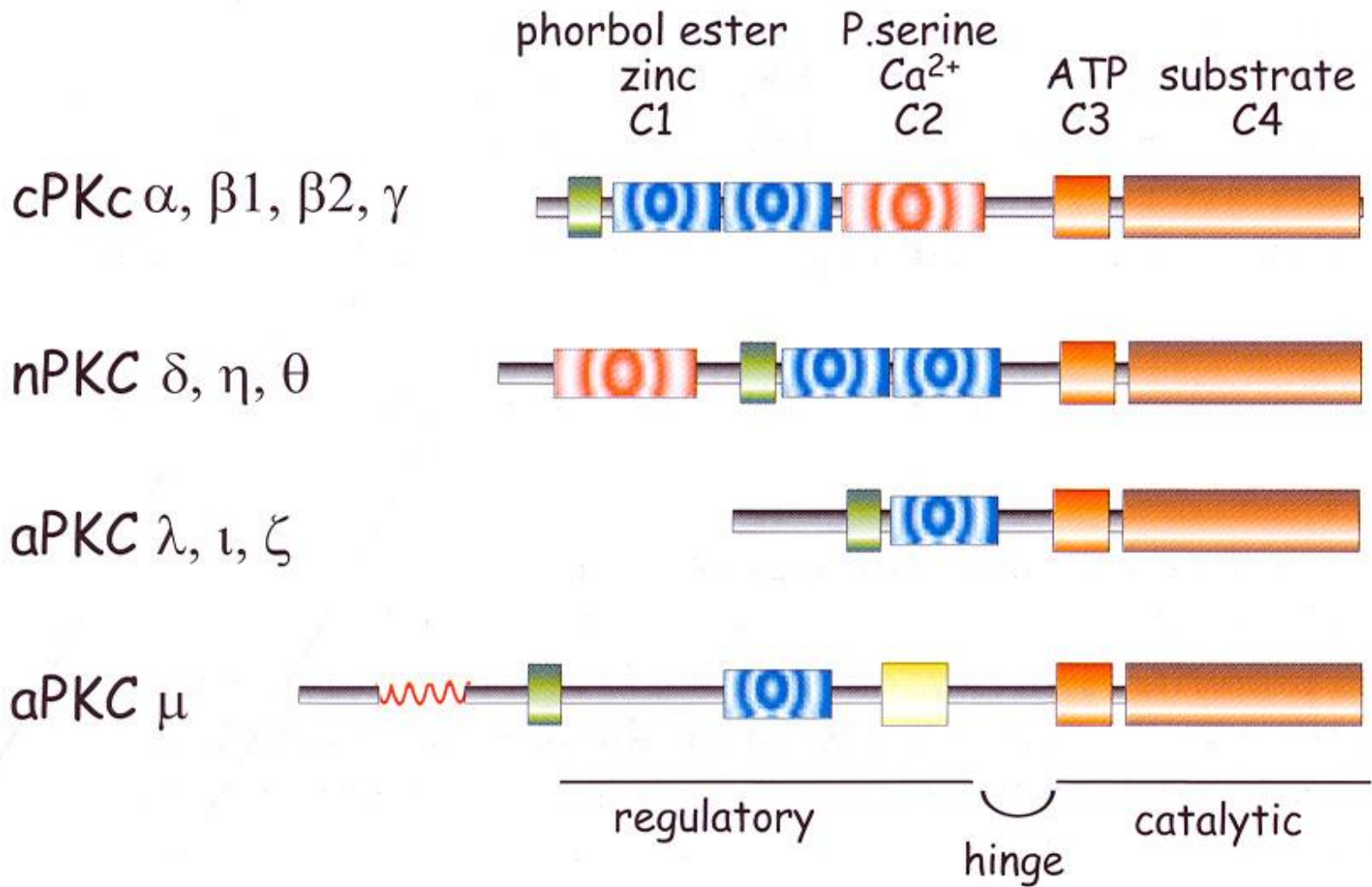
PKC








Central role of PKC- θ in T-lymphocyte activation. Upon TCR stimulation, PKC- θ redistributes to the central SMAC, where it transduces critical activation signals leading to IL-2 production. (a) In mature T cells, PKC- θ is required to couple TCR stimulation to NF- κ B induction upstream of the IKK complex, whereas it is dispensable for TNFR-mediated activation of NF- κ B. (b) PKC- θ is also required for the generation of active AP-1 at a step downstream of the ERK and JNK/MAP-kinase pathways. By connecting the TCR to the NF- κ B and AP-1 families of nuclear transactivators, PKC- θ regulates the ability of peripheral T cells to secrete IL-2 and mount normal proliferative responses upon activation.







 pseudo substrate

 calcium binding domain, C2

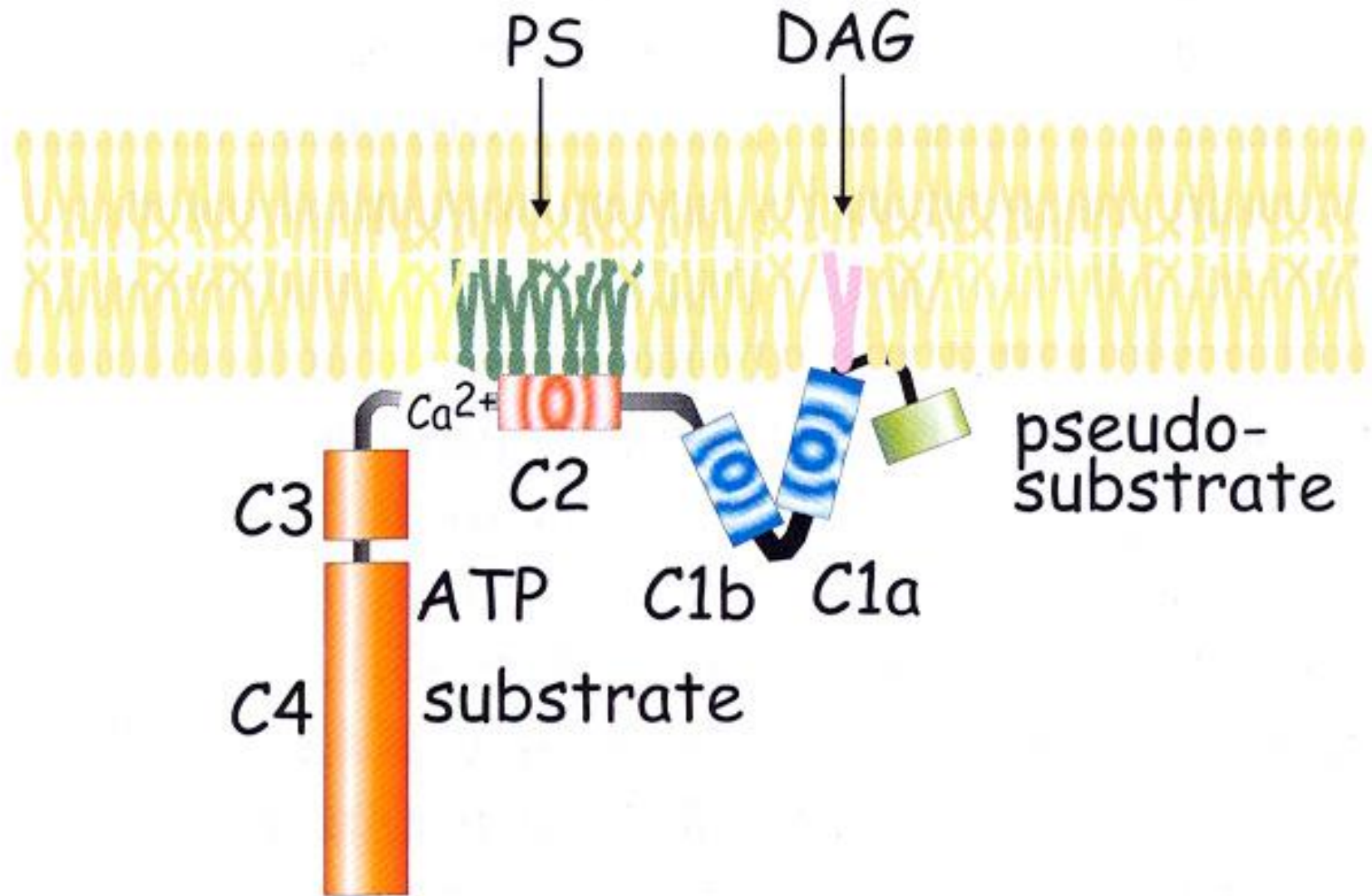
 catalytic domain C3 + C4

 cysteine rich region, C1

 PH domain

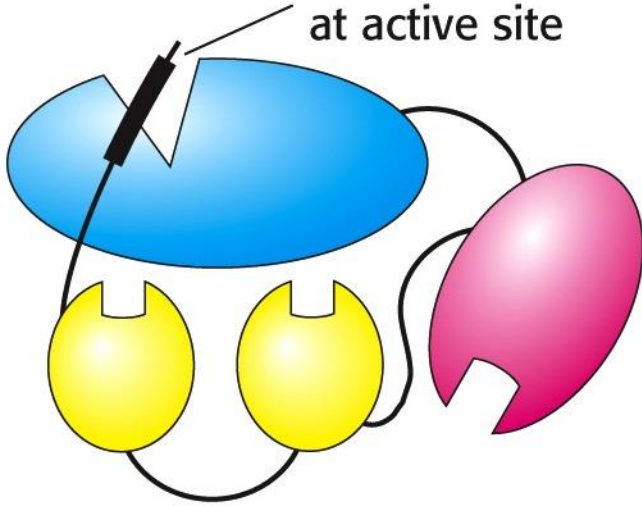
 putative transmembrane domain

PKC



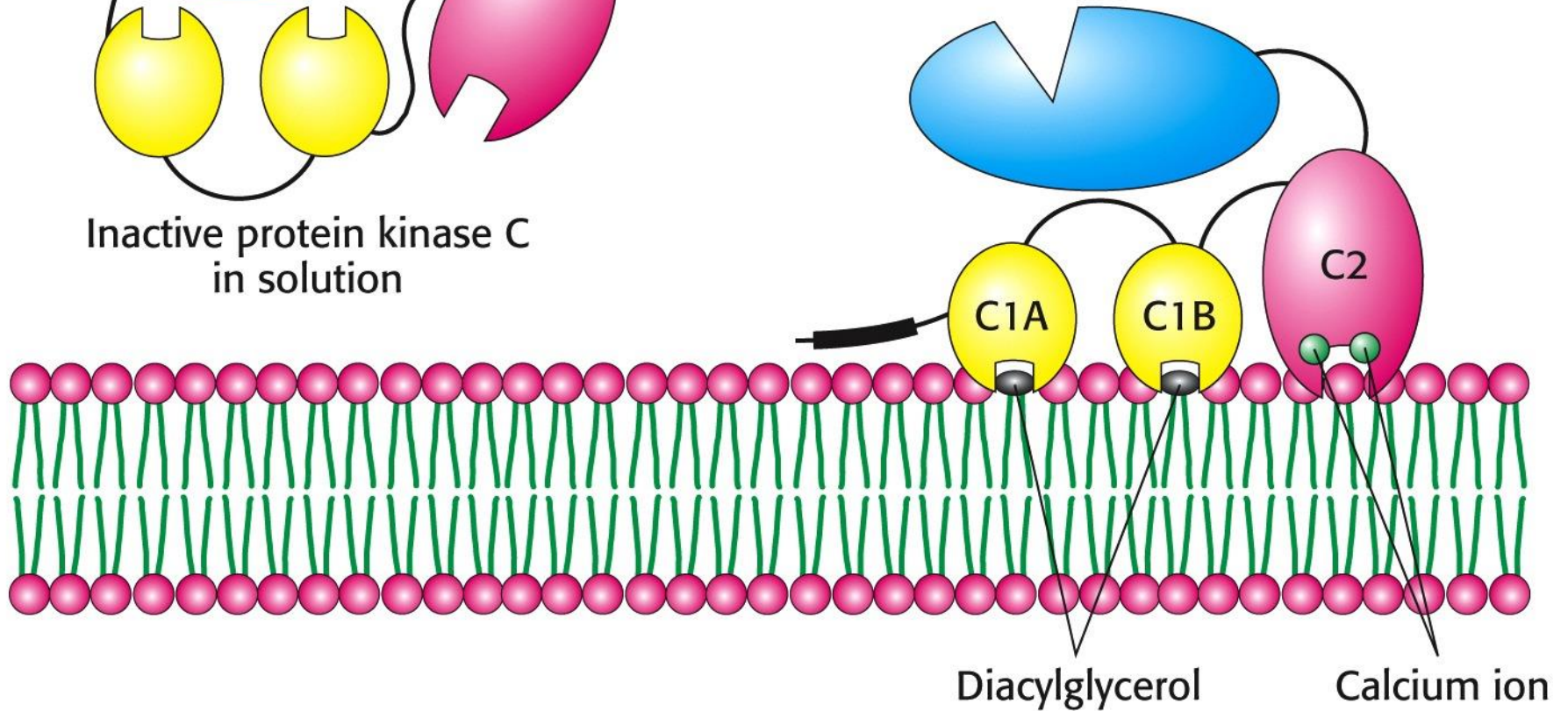
(B)

Pseudosubstrate binding
at active site



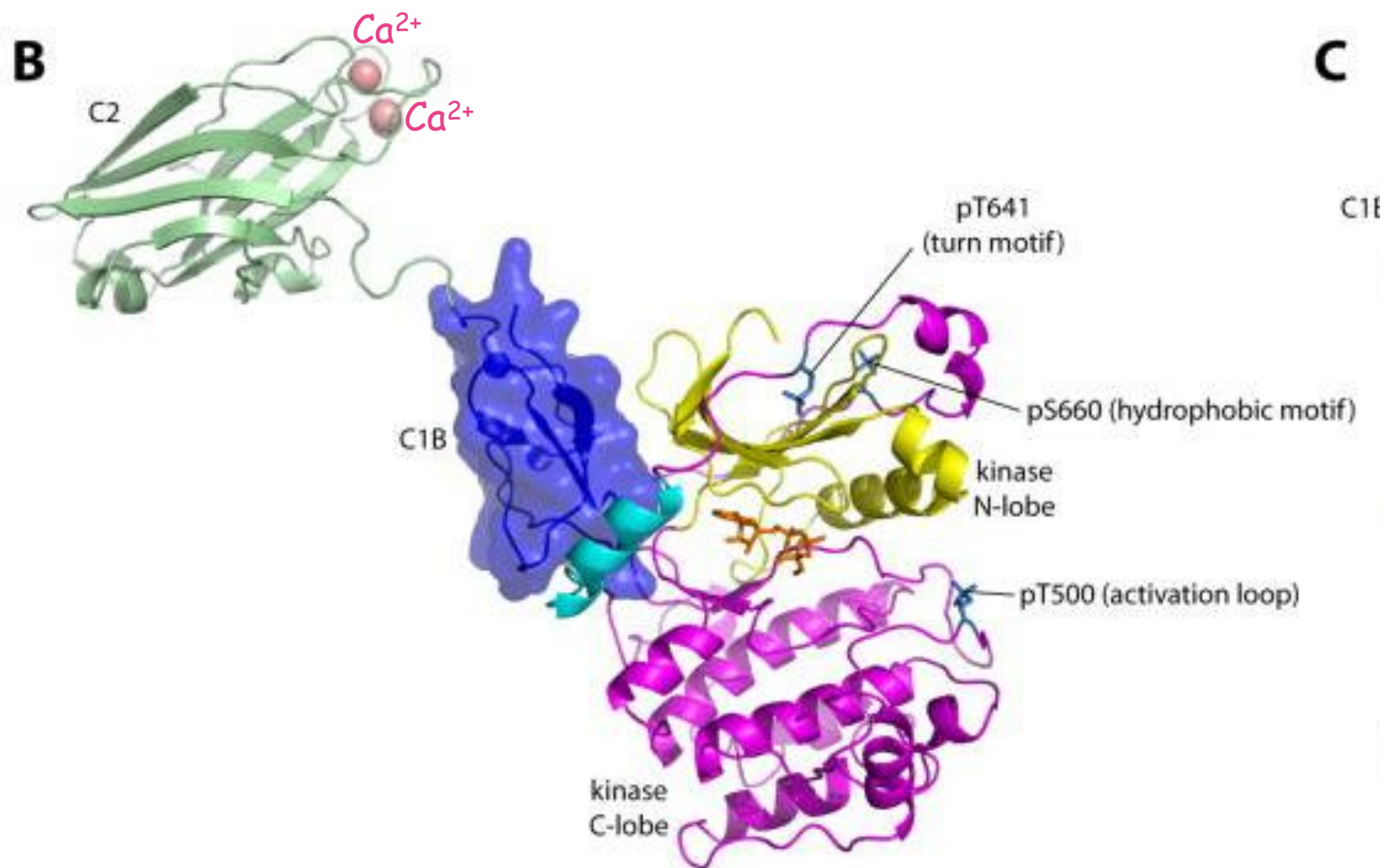
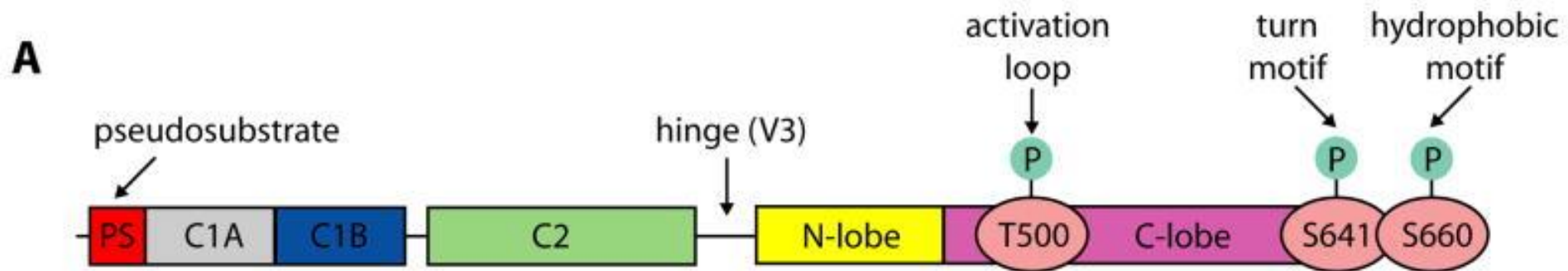
Inactive protein kinase C
in solution

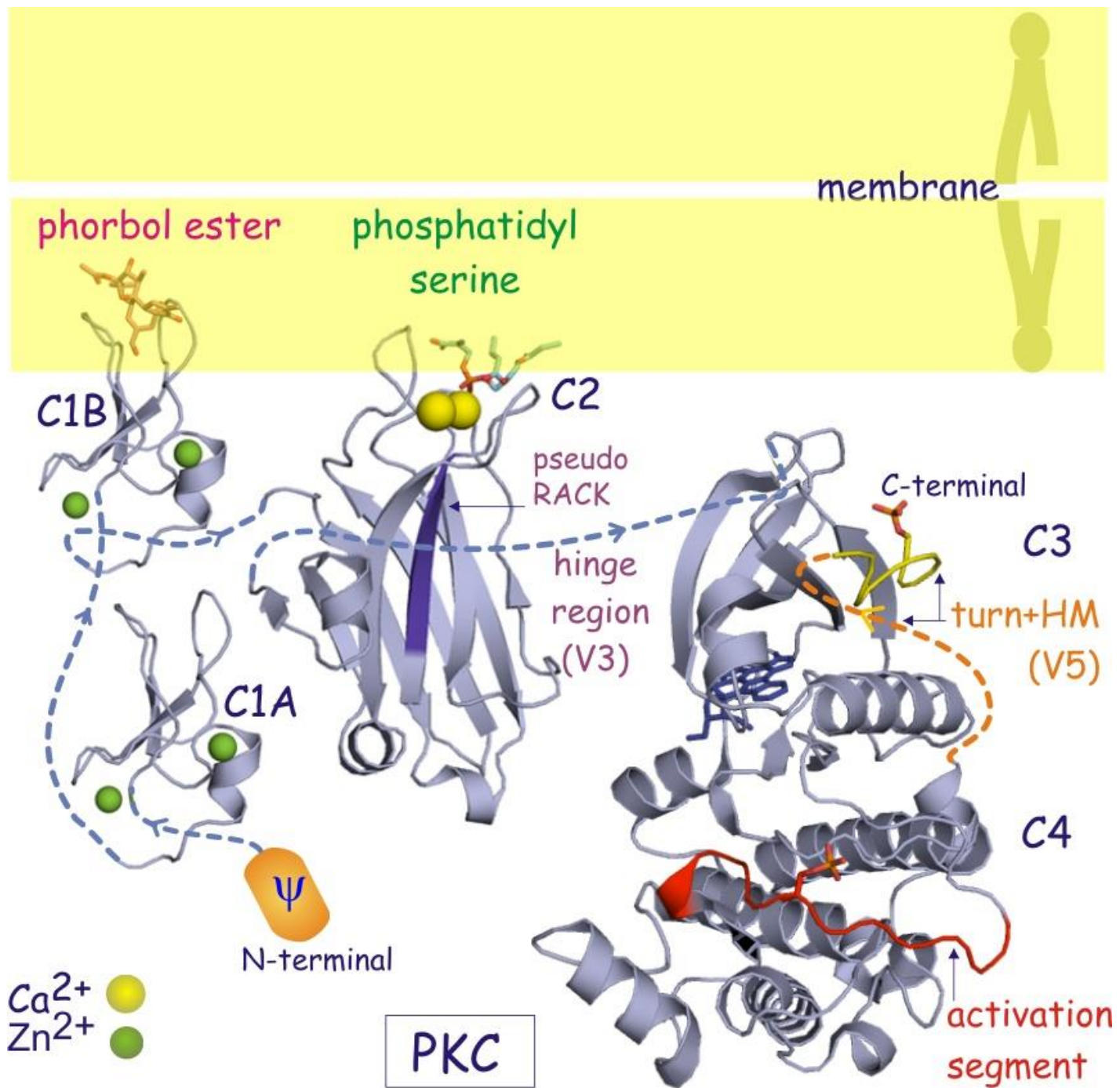
Activated protein kinase C
bound to membrane



Diacylglycerol

Calcium ion





α β_I β_{II} γ δ ε η θ ζ ι μ ν

Διαπερατότητα

Μετανάστευση

Υπερτροφία

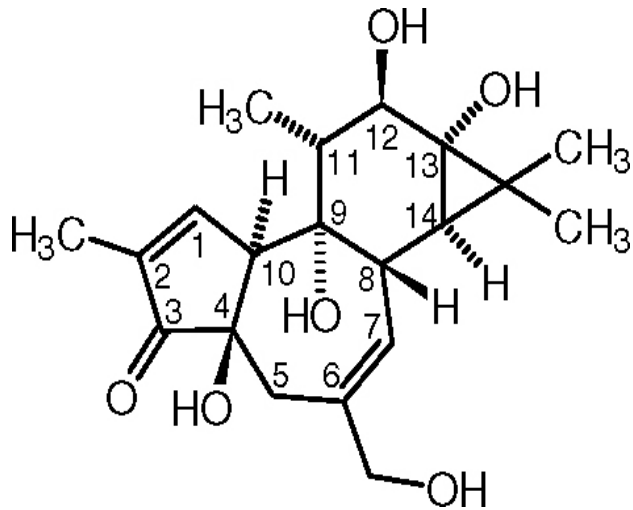
Έκκριση

Σύσπαση

Πολλαπλασιασμός

Απόπτωση

Διέγερση από φορβολεστέρες



Μια ιδιότητα των κλασικών cPKCs και καινούριων nPKCs ισομορφών που είναι ιδιαίτερα πολύτιμη για την ταυτοποίηση και το χαρακτηρισμό τους είναι η ενεργοποίησή τους από προαγωγούς όγκων όπως οι **φορβολεστέρες**. Αυτές οι κινάσες συνδέουν τον προωθητή όγκων, φορβολικό αιθυλεστέρα TPA (tetradecanoyl phorbol acetate), με υψηλή συγγένεια. Ο TPA συνδέεται στην περιοχή C1 οδηγώντας στην προσκόλληση της PKC στη μεμβράνη και στην ενεργοποίηση της δραστηριότητας της κινάσης. Η εξειδικευμένη ενεργοποίηση των PKC από φορβολεστέρες είναι ένα σημαντικό εργαλείο για την απόδειξη της συμμετοχής τους στα μονοπάτια μεταγωγής σήματος.

Προαγωγείς όγκων όπως ο TPA δεν μπορούν από μόνοι τους να προκαλέσουν το σχηματισμό όγκου, αλλά επάγουν τη δημιουργία του όγκου από καρκινογόνες ουσίες, π.χ., βενζοπυρένιο. Η ογκο-προωθητική δράση του TPA, συνδέεται με τη διέγερση της PKC. Καθώς ένας από τους ρόλους των PKC είναι η ρύθμιση του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης, η μη ελεγχόμενη δραστηριότητα της PKC θα μπορούσε να οδηγήσει σε μη επιθυμητή φωσφορυλίωση και έτσι να επιφέρει ανώμαλη ρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού.

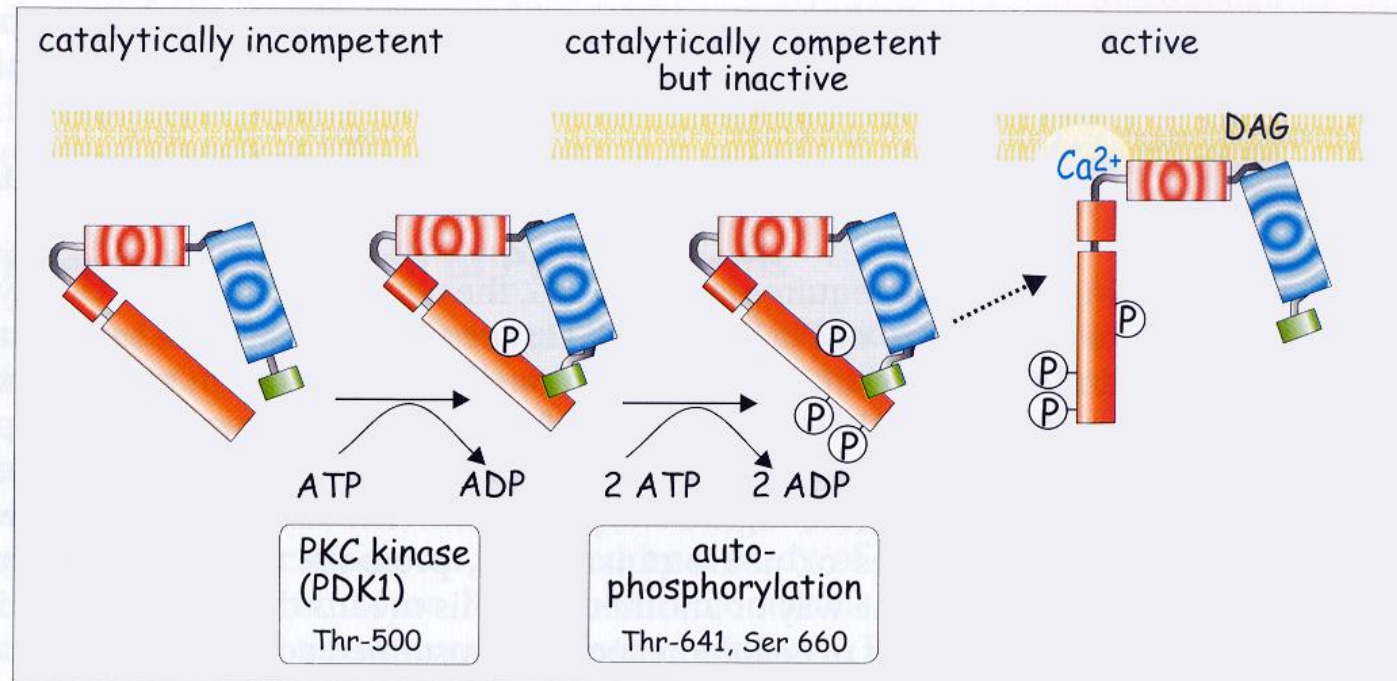
Εκτός από τις PKCs, τα κύτταρα περιέχουν και άλλους υποδοχείς για τους φορβολεστέρες και τη DAG. Στα θηλαστικά, οι πρωτεΐνες αυτές είναι οι α- και β-χιμαιρίνες, οι οποίες δεν έχουν δραστηριότητα κινάσης, και συνδέουν τους φορβολεστέρες και τη DAG με πολύ μεγάλη συγγένεια. Συνεπώς, όλες οι βιολογικές δράσεις των φορβολεστέρων δεν μπορούν να αποδίδονται μόνο στη διέγερση των PKCs.

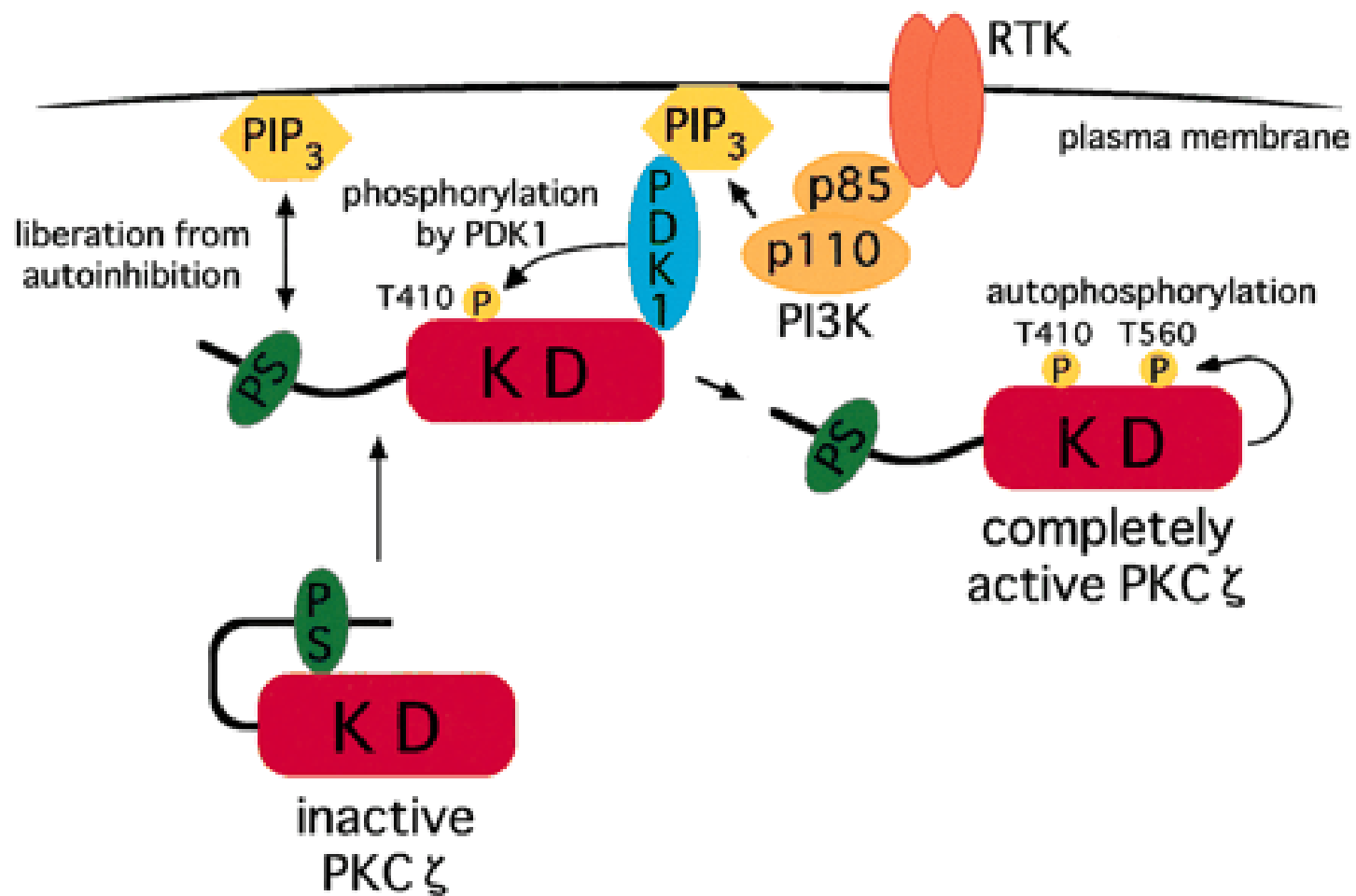
Ενεργοποίηση της PKC από Ca^{2+} , DAG και φωσφολιπίδια σε 4 βήματα

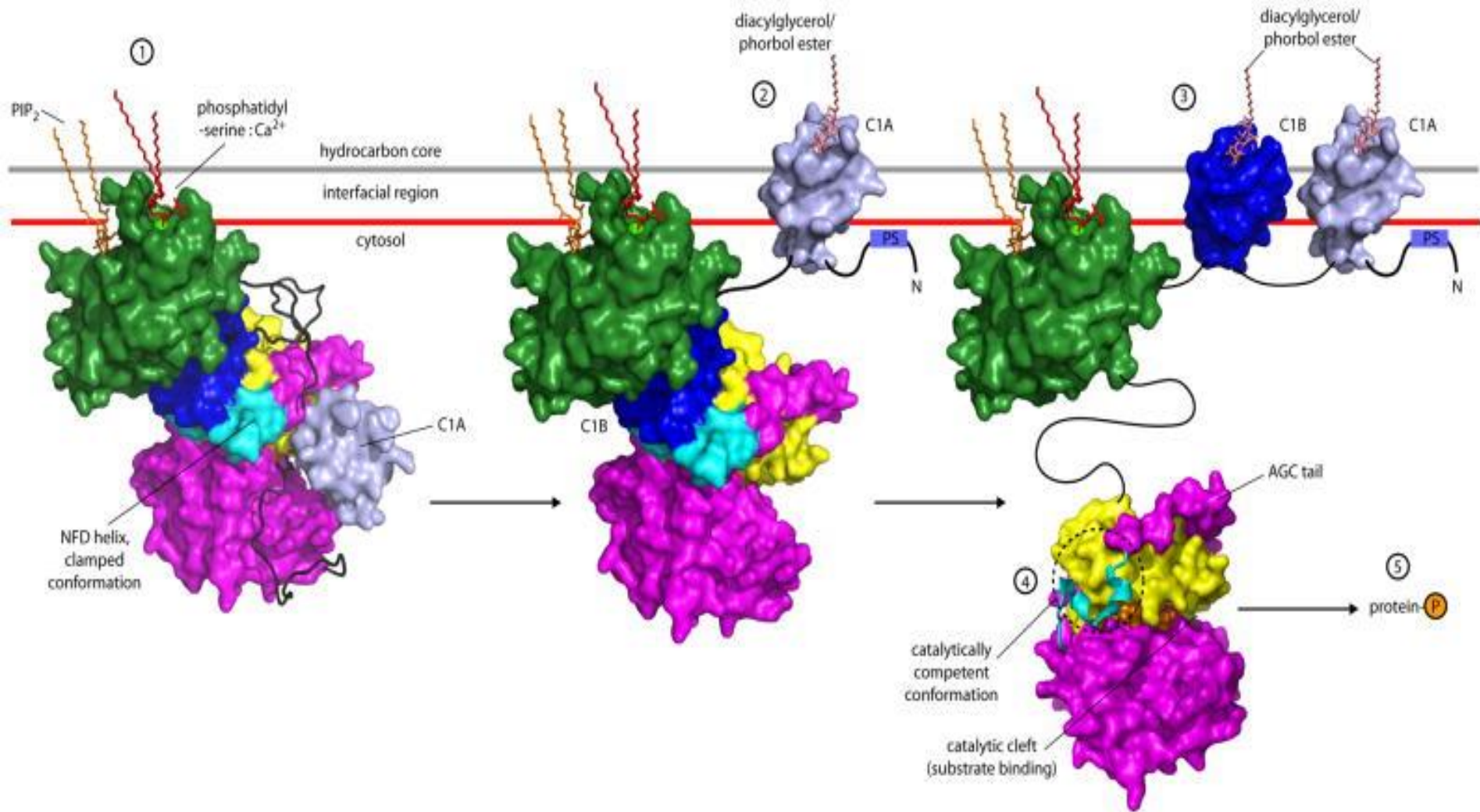
Απουσία των ενεργοποιητών, η καταλυτική περιοχή βρίσκεται σε κατάσταση αυτο-αναστολής από την αλληλουχία ψευδοϋποστρώματος που βρίσκεται στο N-τελικό άκρο της ρυθμιστικής περιοχής. Αυτό το μοτίβο αλληλουχίας βρίσκεται σε όλα τα μέλη της οικογένειας των PKC. Θεωρείται ότι το ενεργό κέντρο αναστέλλεται με κατάληψη από το ψευδοϋπόστρωμα.

Δύο ιδιότητες αποδίδονται στην πρόσδεση των ενεργοποιητών Ca^{2+} , διακυλογλυκερόλη και φωσφολιπίδια (φωσφατιδυλο-σερίνη):

1. Αίρουν την αυτο-αναστολή (λόγω σύνδεσης του ψευδοϋποστρώματος) και σταθεροποιούν τη δομή της PKC, στην οποία το ενεργό κέντρο καθίσταται πλέον προσιτό στο υπόστρωμα.
2. Πρωθούν τη σύνδεση της PKC στη μεμβράνη.







Ο ρόλος του Ca²⁺ και της DAG στην ενεργοποίηση της PKCβII

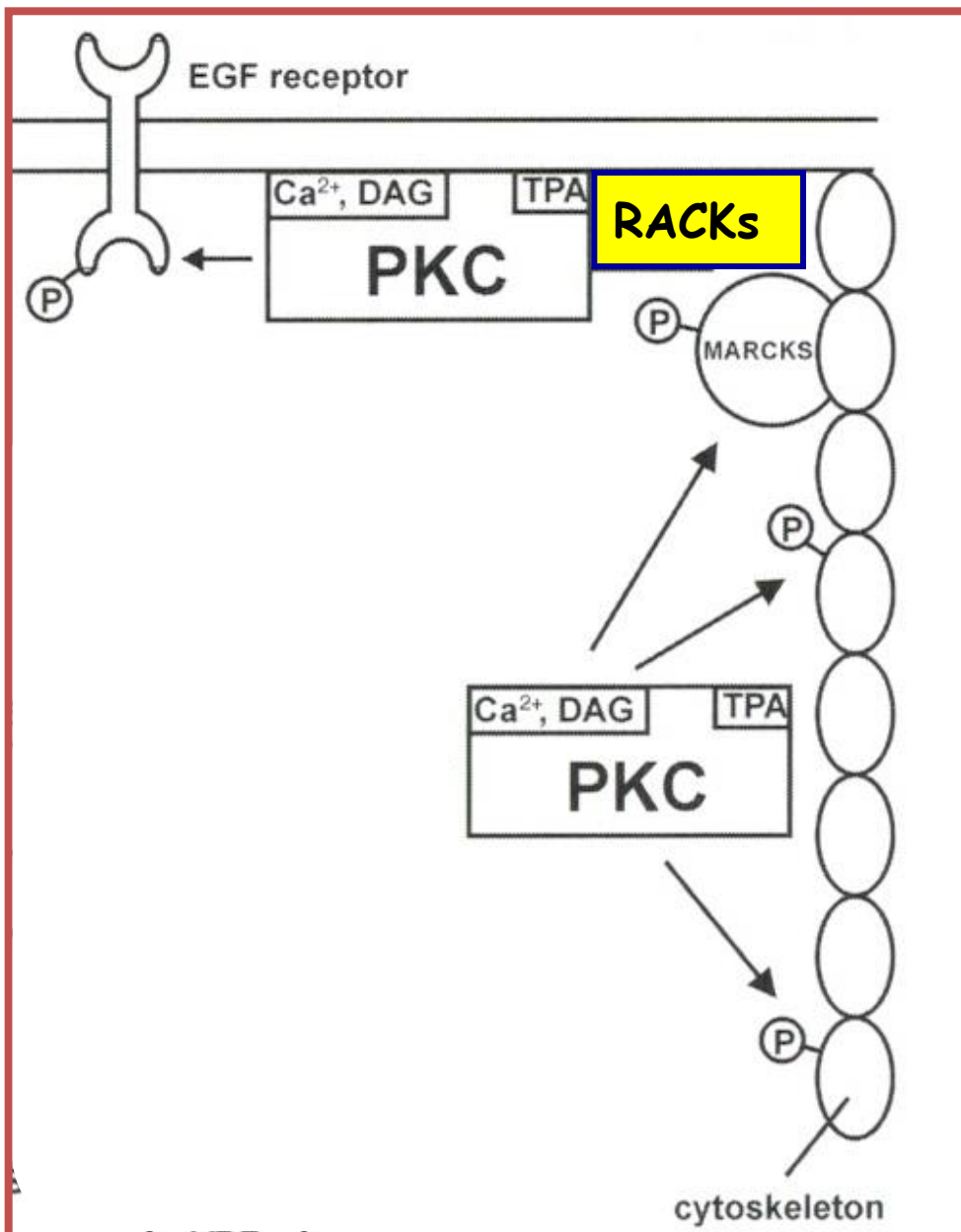
Η PKCβII μεταναστεύει στη μεμβράνη μετά την αύξηση της συγκέντρωσης του Ca²⁺ στο κυτταρόπλασμα. Η σύνδεση του Ca²⁺ στην περιοχή C2 επάγει τη μεταφορά της PKC κοντά στο αρνητικά φορτισμένο φωσφολιπίδιο φωσφατιδυλο-σερίνη, με επιπλέον σύνδεση στα διφωσφορικά (4,5)-φωσφατιδυλο-inosιτίδια της μεμβράνης (1). Στη συνέχεια, η σύνδεση της DAG στο ένα μοτίβο πλούσιο σε κυστεΐνες C1A (2), βοηθάει στην απομάκρυνση του ψευδοϋποστρώματος (PS) από το καταλυτικό κέντρο. Η σύνδεση ενός δεύτερου μορίου DAG στο δεύτερο μοτίβο πλούσιο σε κυστεΐνη C1B ανοίγει τη διαμόρφωση της κινάσης, η οποία είναι τώρα ικανή να φωσφορυλιώσει του στόχους της. Από *Leonard TA, Rózycki B, Saidi LF, Hummer G, Hurley JH., Crystal structure and allosteric activation of protein kinase C βII. Cell. 2011 7;144:55-66.*

RACKS (RECEPTORS FOR ACTIVATED PKC) ΟΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΤΩΝ PKC

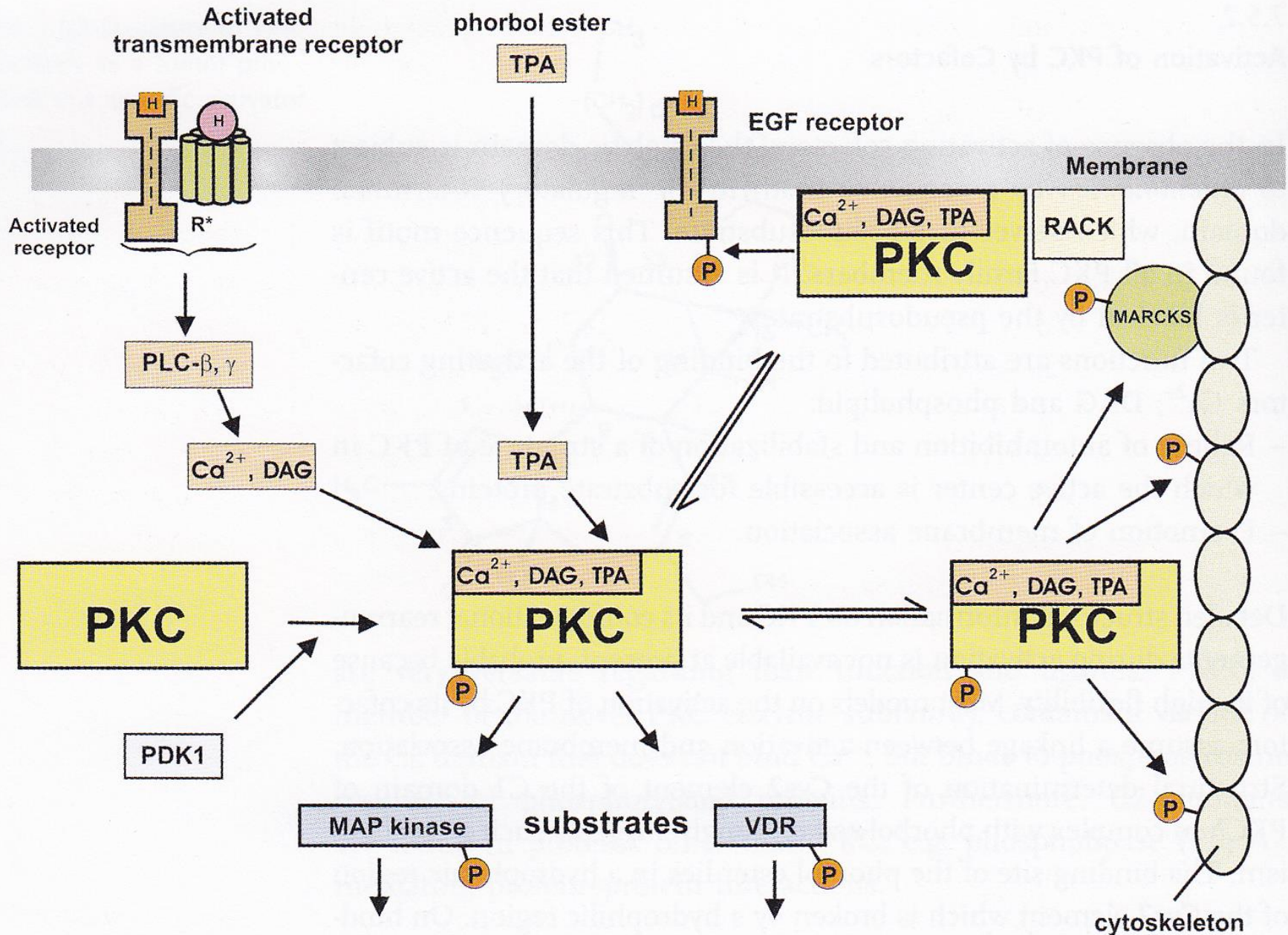
Ένας κύριος ρυθμιστικός μηχανισμός της δράσης των PKCs είναι η ρύθμιση του εντοπισμού τους σε συγκεκριμένες υπο-κυτταρικές θέσεις. Η διέγερση των κυττάρων από φορβολεστέρες ή ορμόνες που ενεργοποιούν τις PLCβ ή PLCγ, επάγουν τη μεταφορά των PKCs από το κυτταρόπλασμα στην πλασματική μεμβράνη, στον κυτταροσκελετό ή στον πυρήνα. Ο διαφορετικός εντοπισμός των ισομορφών των PKCs μεσολαβείται από πρωτεΐνες που συνδέουν τις PKCs, μεταξύ των οποίων οι χαρακτηριστικότερες είναι οι πρωτεΐνες RACKs (Receptors for activated PKCs).

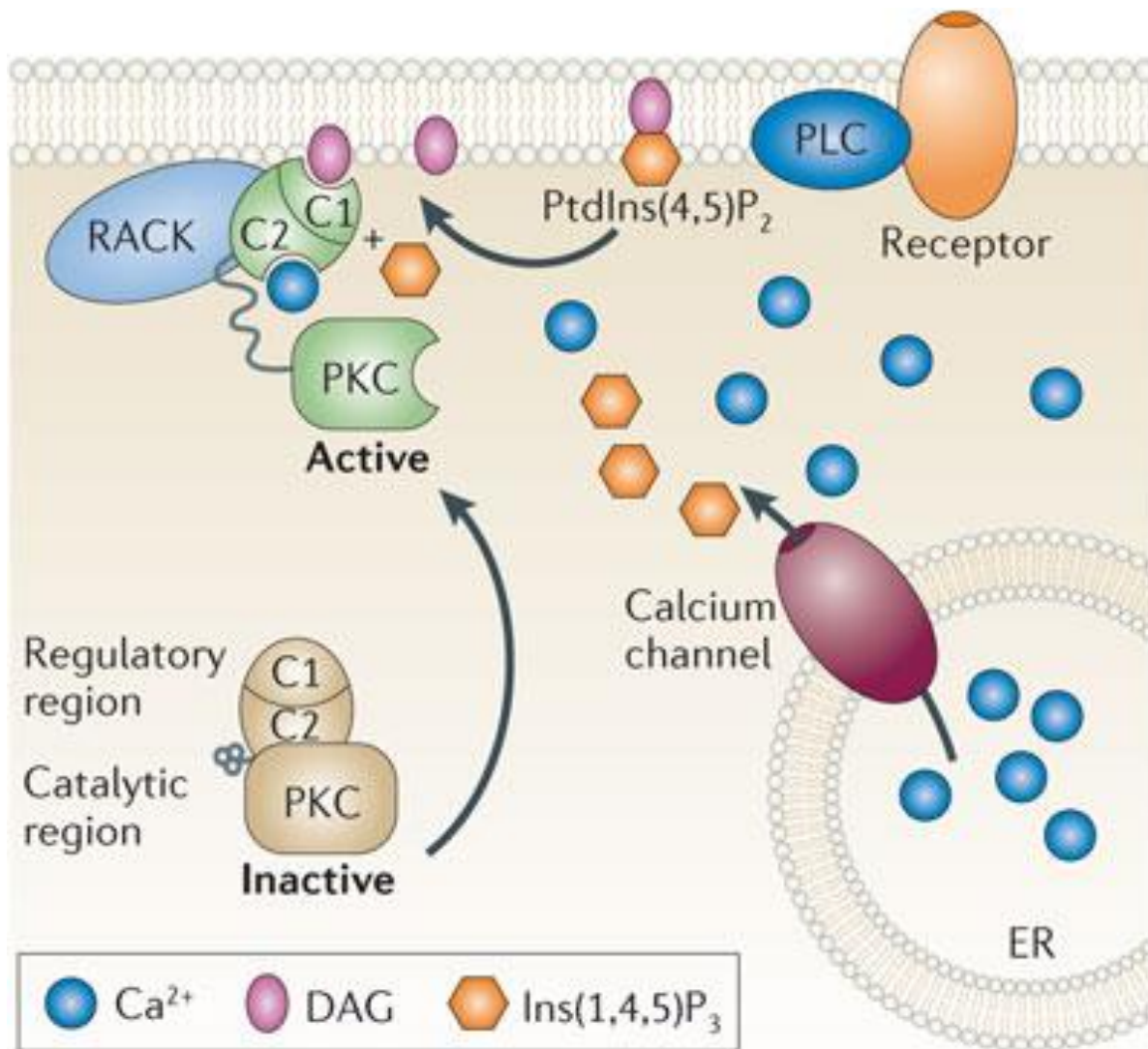
Οι πρωτεΐνες RACKs αλληλεπιδρούν εξειδικευμένα με τις PKCs και τις αγκυροβολούν στη μεμβράνη, οδηγώντας τις κοντά στα υποστρώματά τους. Επιπλέον, υπότυποι των πρωτεϊνών RACKs μεσολαβούν και στην ενδοκυτταρική μεταφορά των PLCs. Συνήθως, η αλληλεπίδραση RACKs / PKCs λαμβάνει χώρα μέσω της περιοχής C2 της PKC.

Ρύθμιση της πρωτεϊνικής κινάσης C

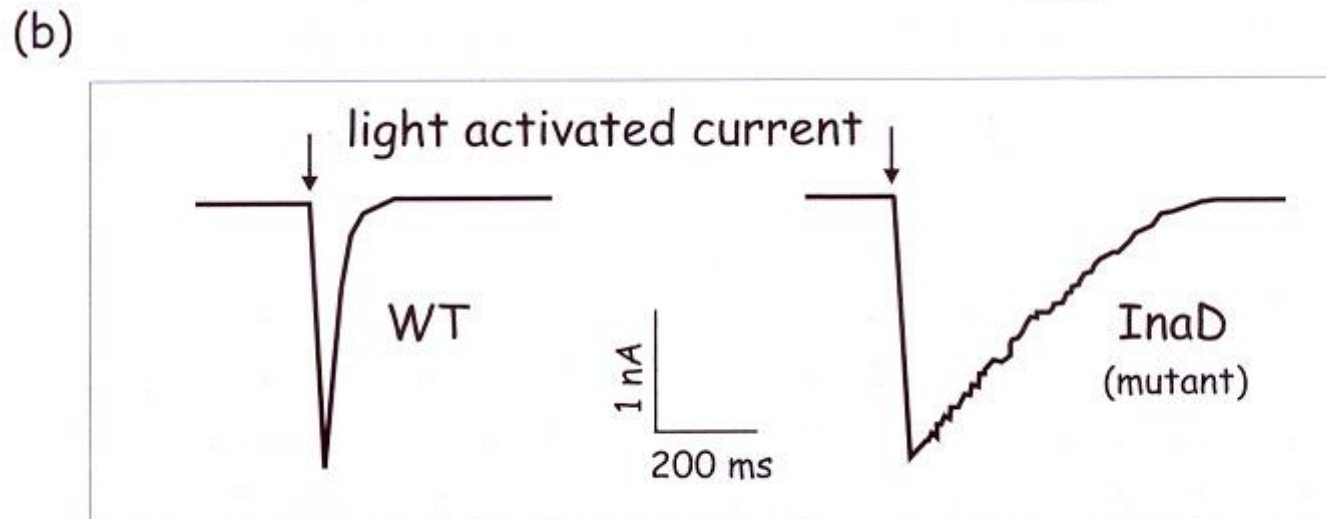
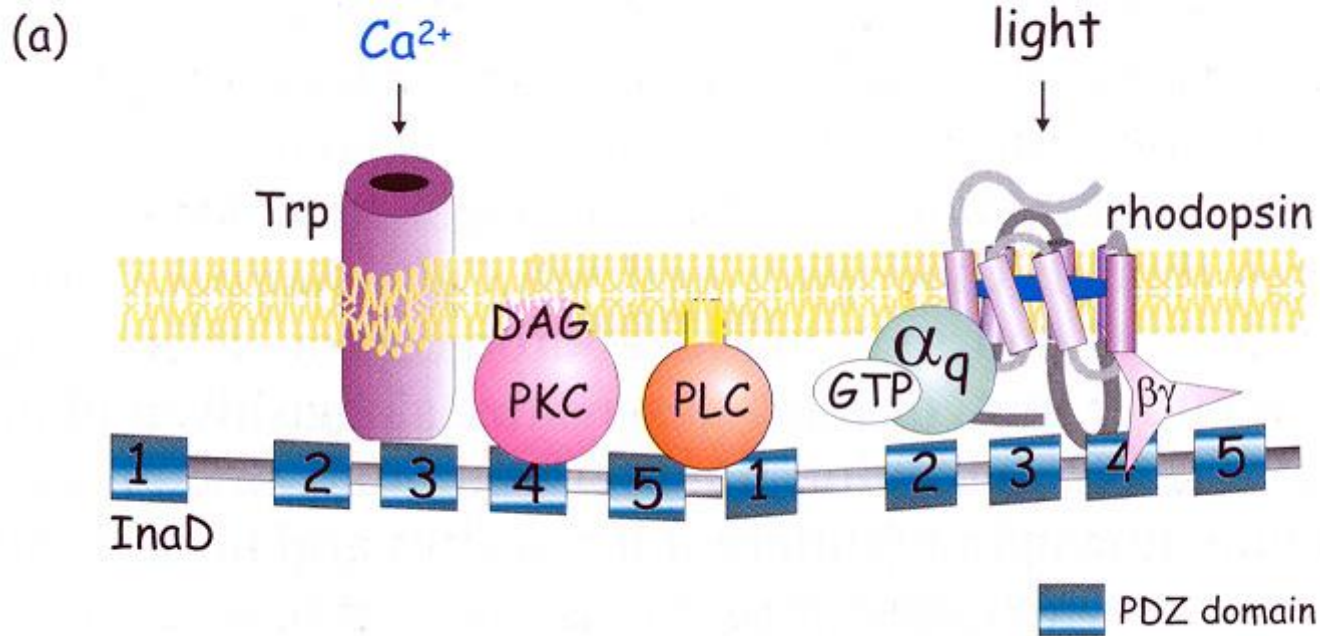


Λειτουργίες και ρύθμιση της πρωτεϊνικής κινάσης C



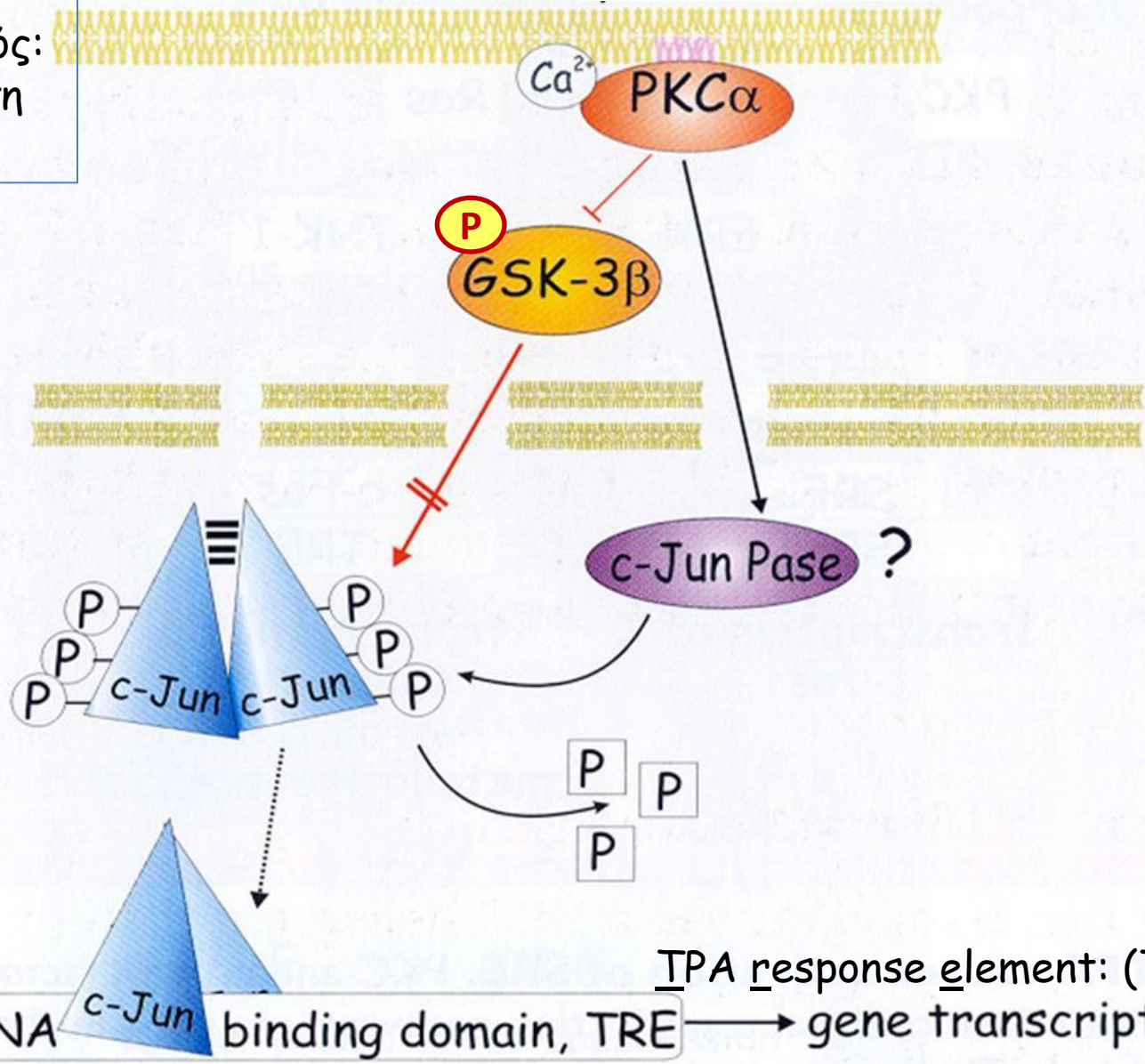


Ένα ζήτημα ζωής και θανάτου: Ο ρόλος των σηματοδοτικών συμπλόκων της PKC στη δράση διαφυγής της μύγας προκειμένου να ξεφύγει



Η PKC και
κυτταρικός
μετασχηματισμός:
η ενεργοποίηση
του TRE

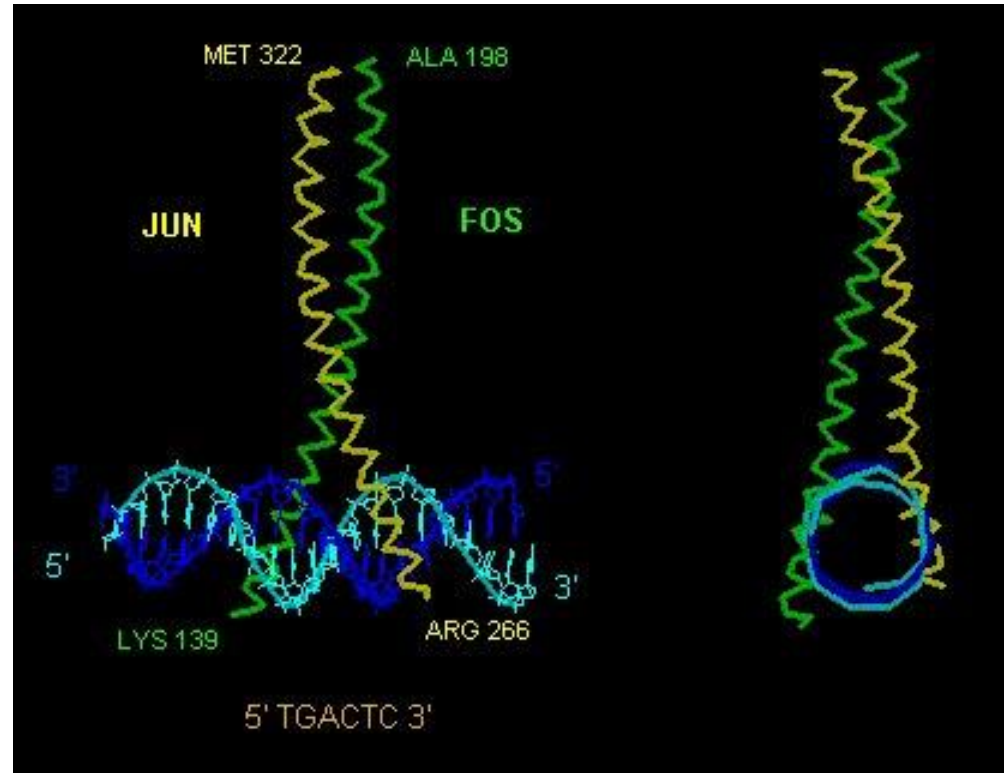
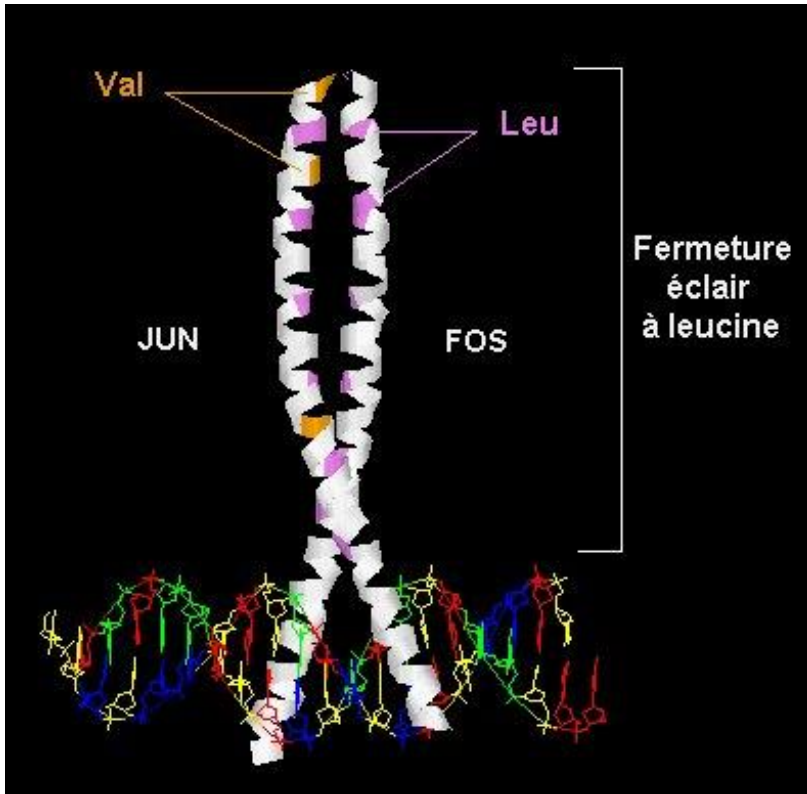
Φορβολεστέρες:
TPA ή PMA



thr231,
ser243,
ser249

AP-1

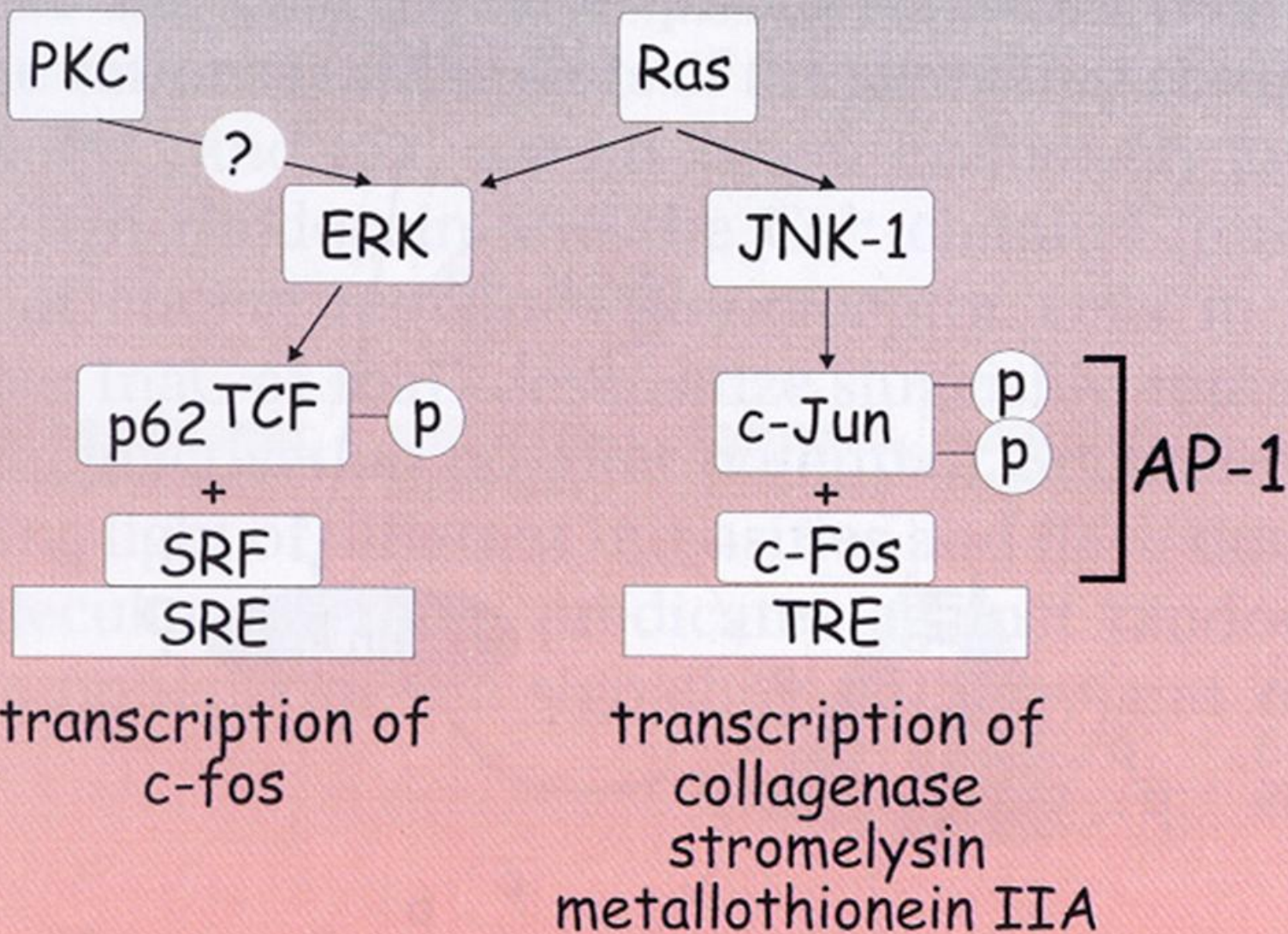
TPA response element: (TRE)
→ gene transcription

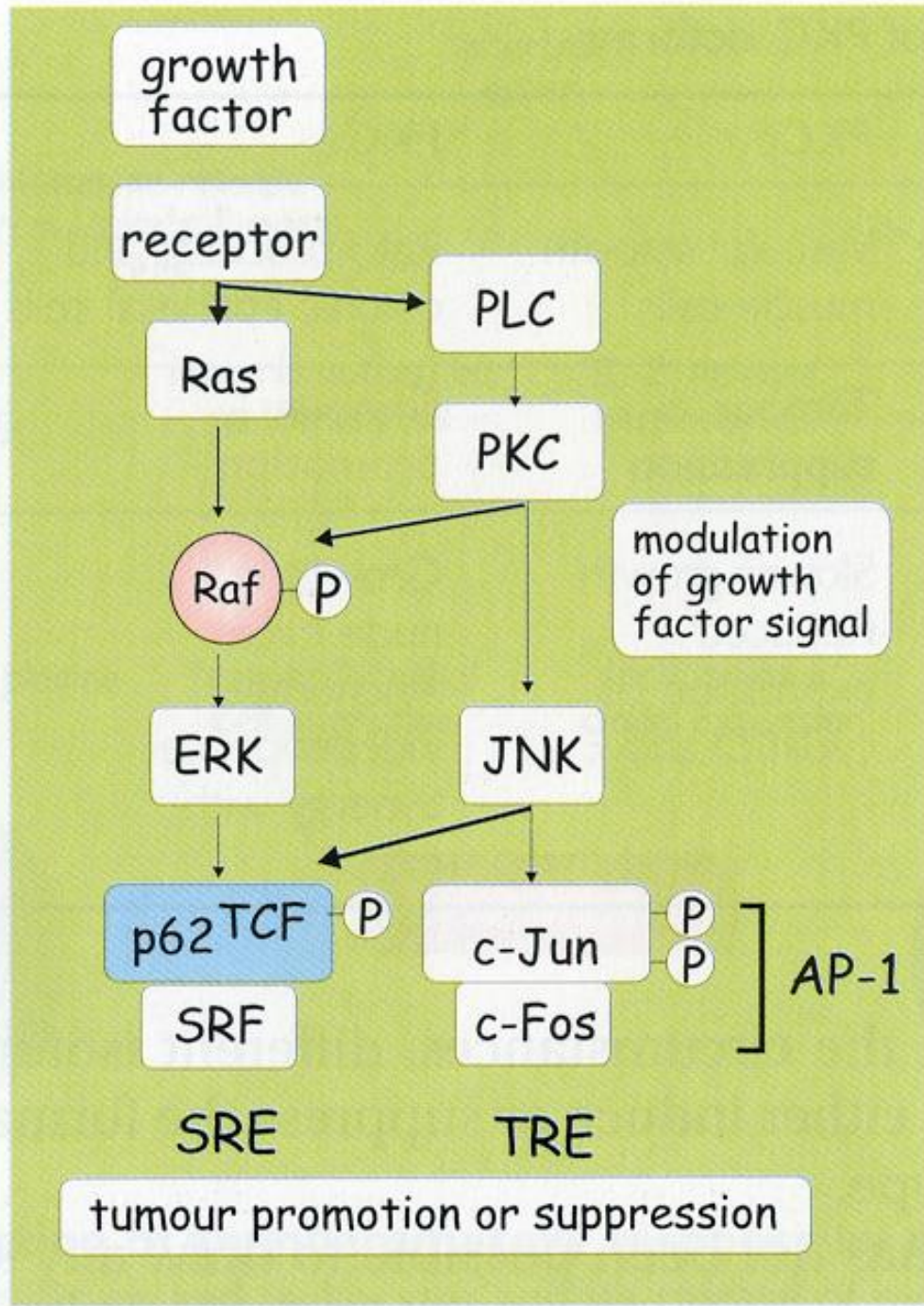


Συνδέονται με ένα φερμουάρ λευκίνης

phorbol ester

growth factors



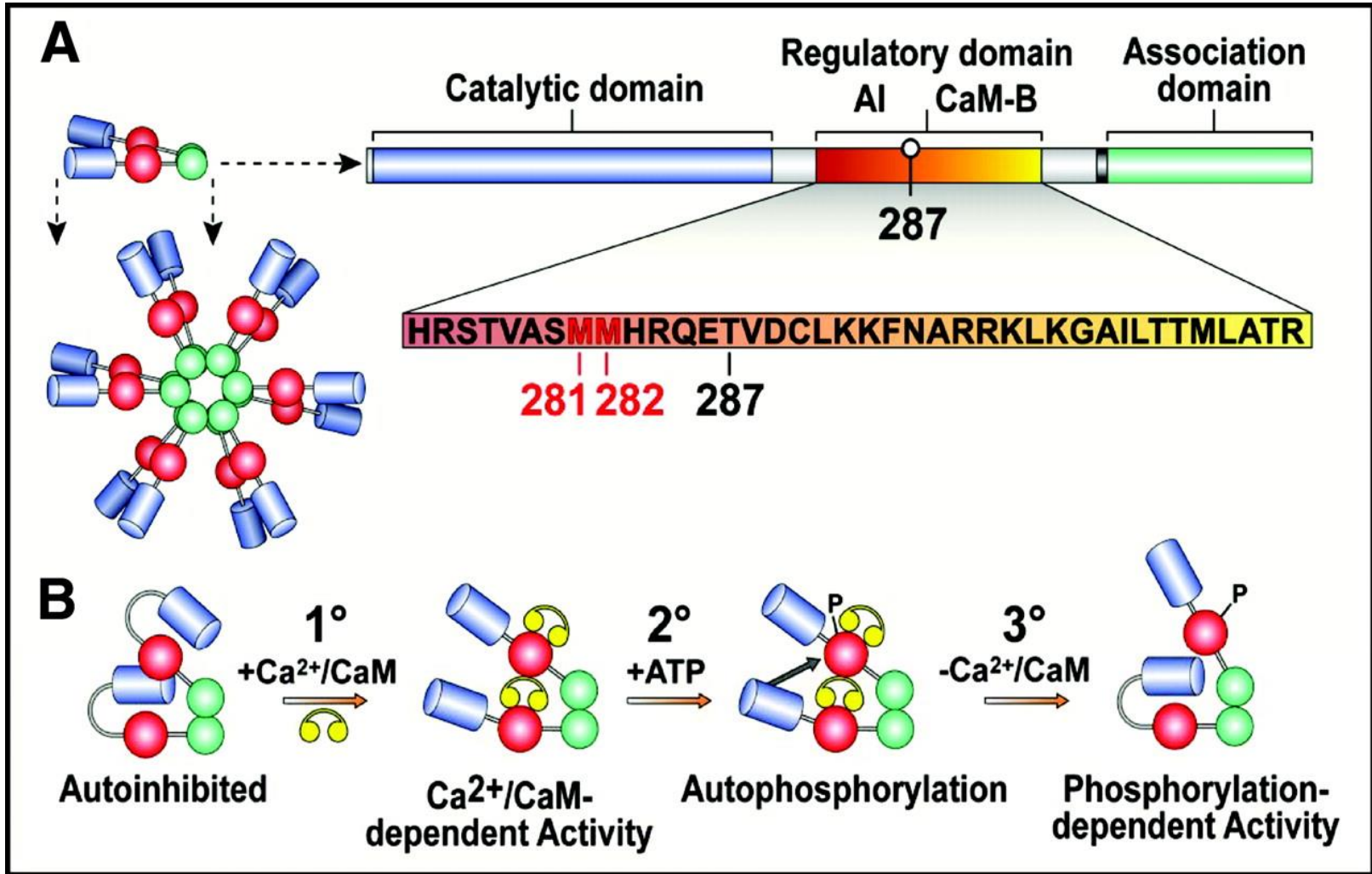


Πρωτεϊνικές κινάσες εξαρτώμενες από το σύμπλοκο Ca^{2+} /καλμοδουλίνη

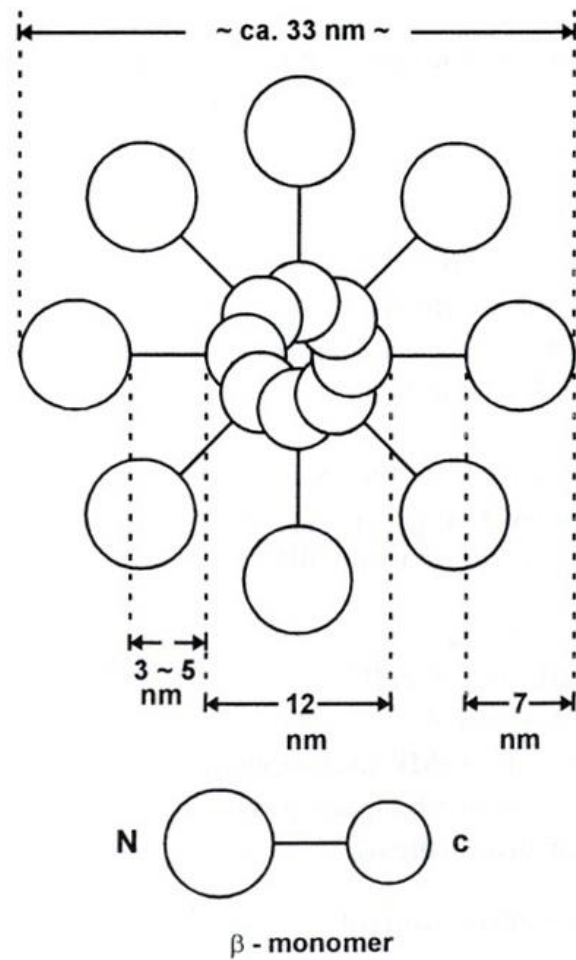
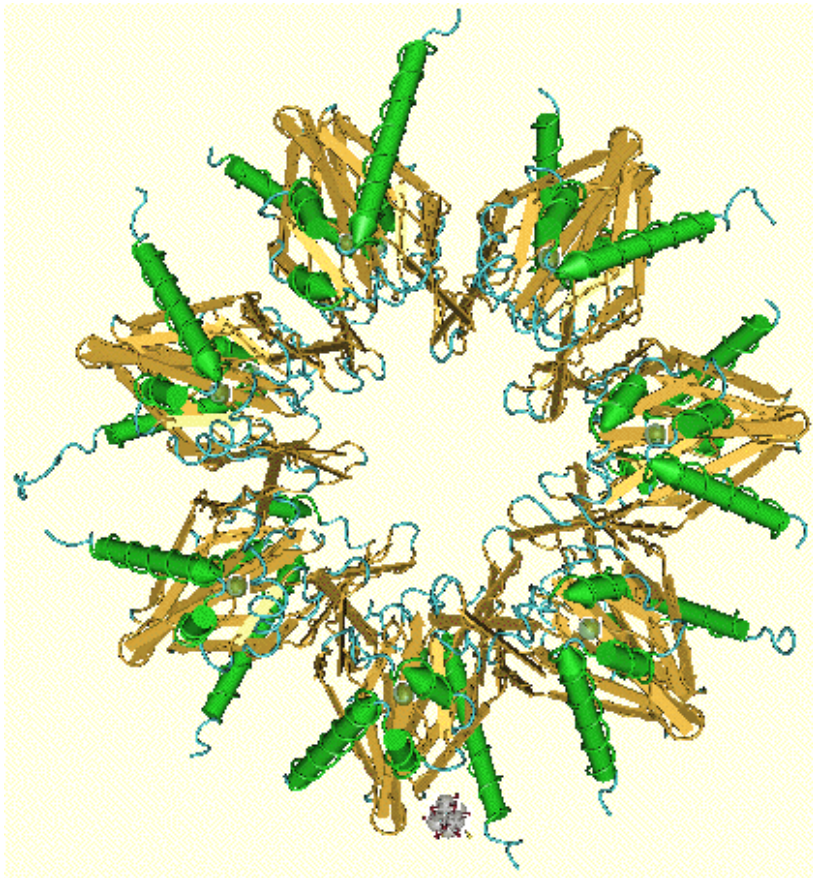
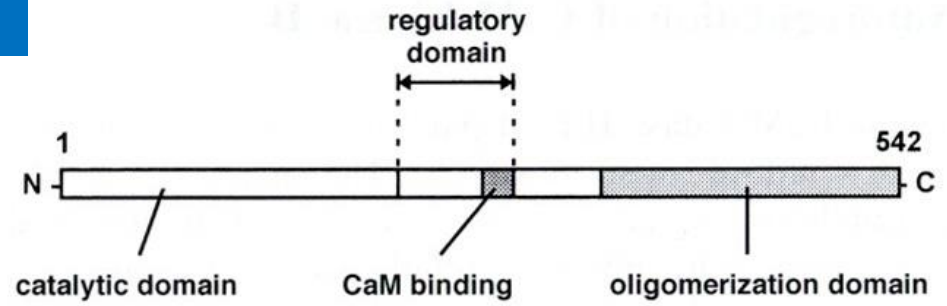
Παραδείγματα υποστρωμάτων των Ca^{2+} /καλμοδουλίνης - πρωτεϊνικών κινασών

Protein	Function
Acetyl CoA carboxylase	biosynthesis of fatty acids
Glycogen synthase	glycogen synthesis
HMG CoA reductase	biosynthesis of cholesterol
NO synthase	biosynthesis of NO
Ca^{2+} channel (N-type)	presynaptic Ca^{2+} influx
Ca^{2+} ATPase (heart)	storage of Ca^{2+}
Synaptogamin	release of neurotransmitters
Ryanodin receptor	release of Ca^{2+}
p56 ^{LCK} tyrosine kinase	activation of T cells
EGFR	growth control
Cyclic nucleotide phosphodiesterase	cAMP and CGMP metabolism
PPA2	hydrolysis of phospholipids
Ribosomal protein S6	protein biosynthesis
CREB	transcription control

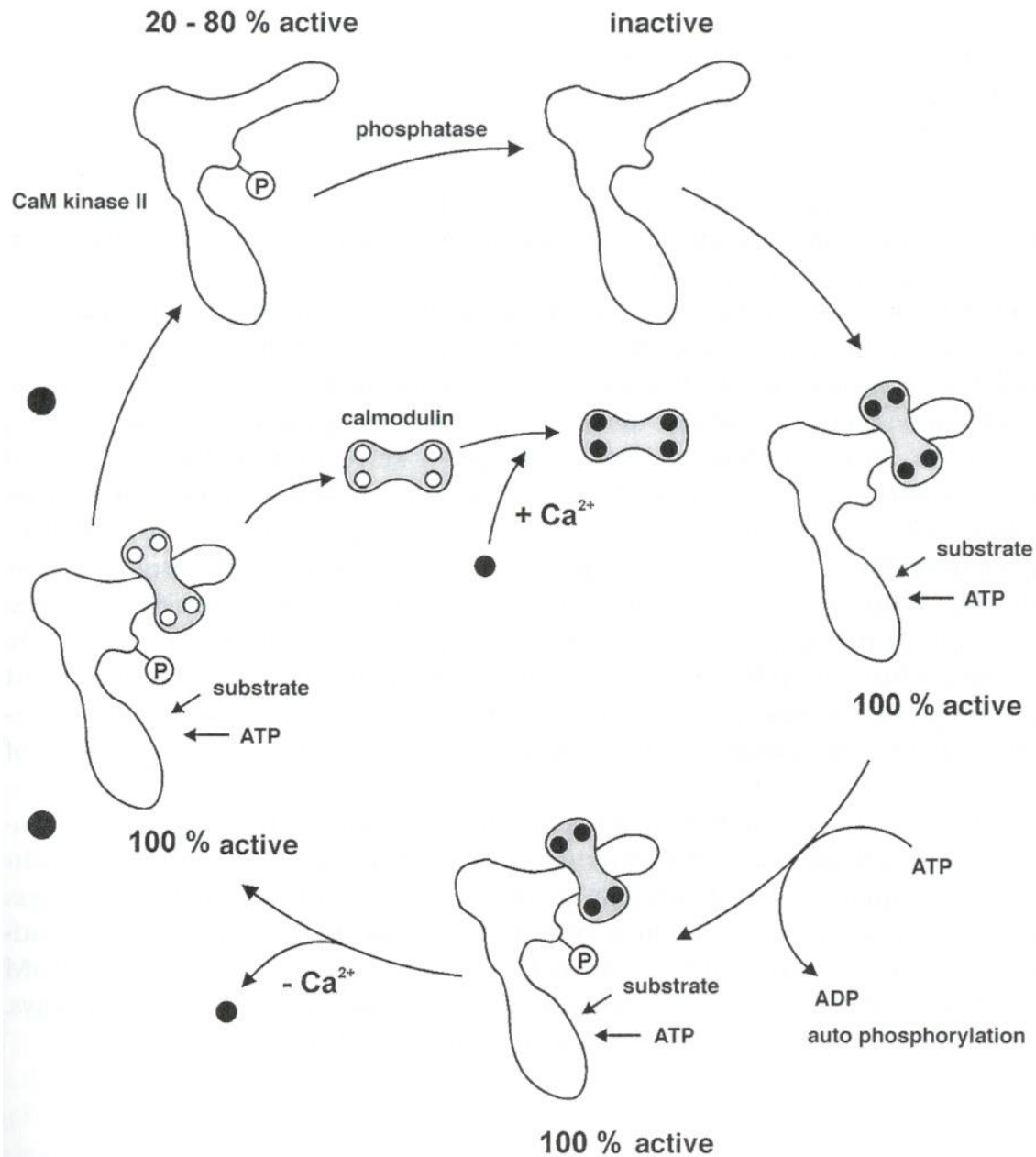
Δομή και λειτουργία της CaMKII

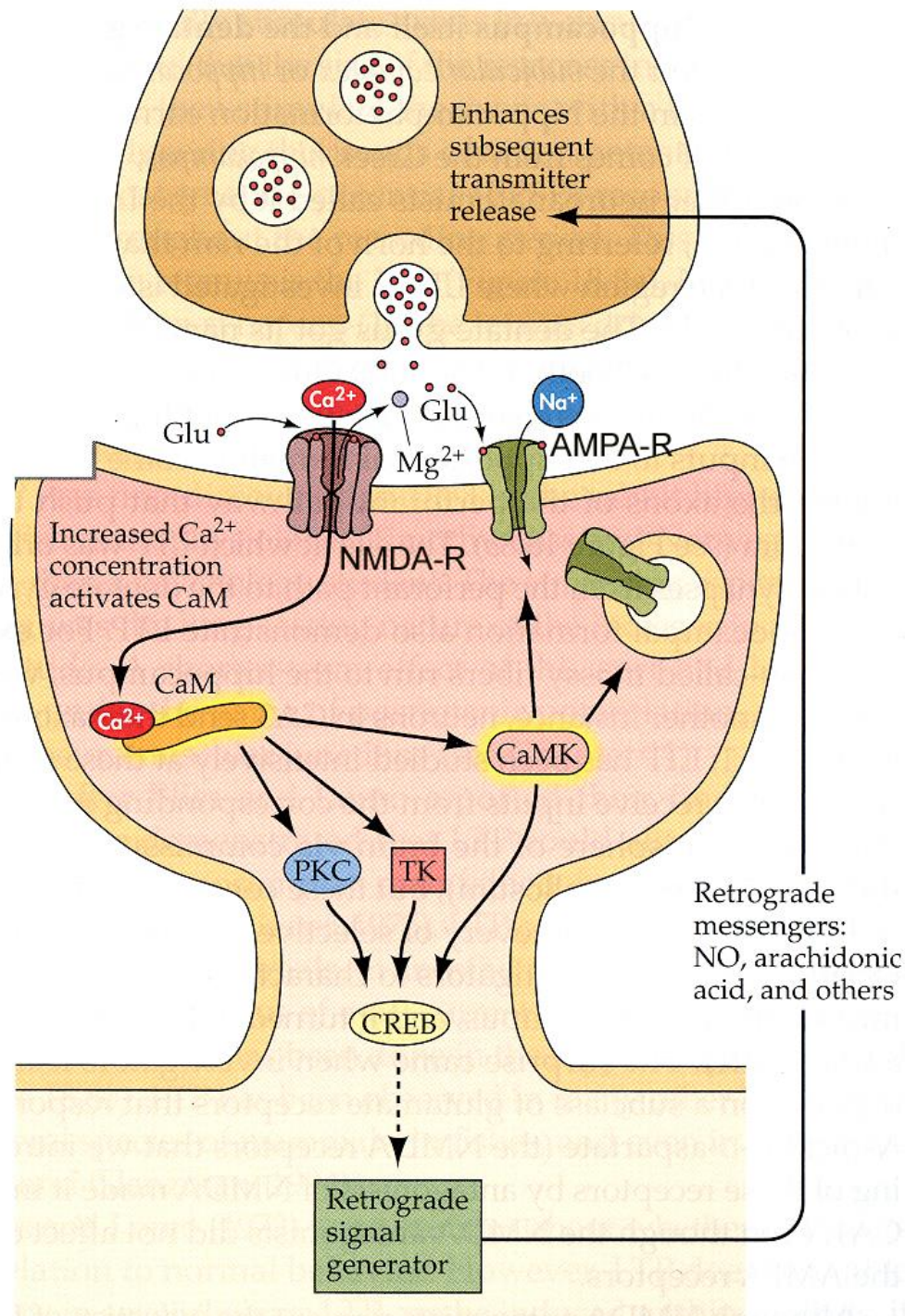


Calcium/Calmoduline protein kinase II

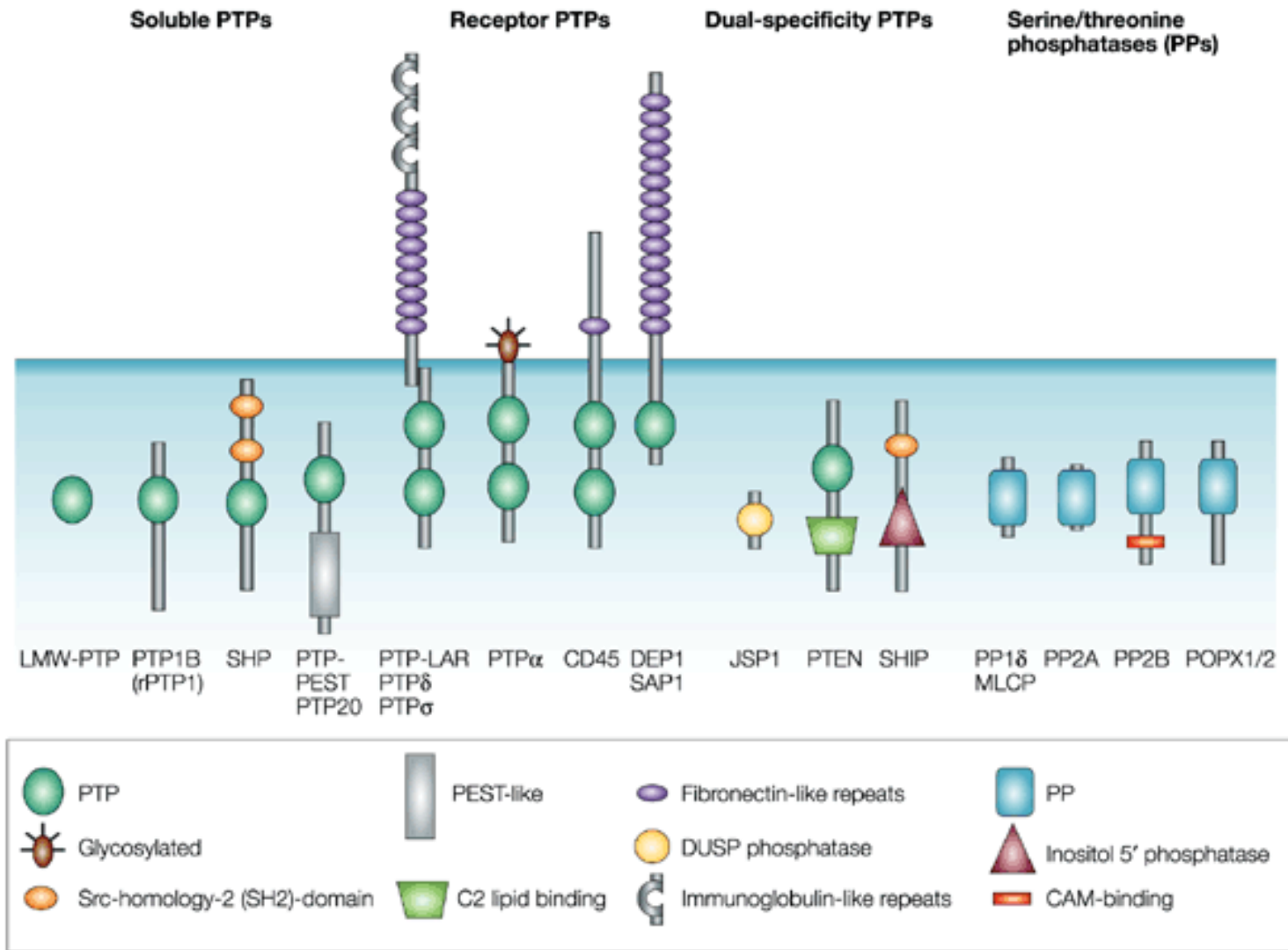


Ρύθμιση της CaM κινάσης II. από το σύμπλοκο Ca²⁺/καλμοδουλίνη και με φωσφορυλίωση





Ο ρόλος της CaMKII στη μνήμη μακράς διάρκειας μέσω της διαδικασίας LTP (long term potentiation). Η ενεργοποίηση των υποδοχέων του γλουταμικού (AMPA και NMDA) οδηγεί στην αύξηση του Ca²⁺. Το Ca²⁺ συνδέεται με την καλμοδουλίνη, ενεργοποιώντας ποικίλους στόχους: την PKC και κινάσες τυροσίνης (TK) που μεταφέρουν το μήνυμα στον πυρήνα μέσω των μεταγραφικών παραγόντων CREB, και την CaMK-II, η οποία φωσφορυλιώνει τους υποδοχείς γλουταμικού AMPA, παρατείνοντας τη διάρκεια της ανοιχτής τους κατάστασης. Από *Rosenzweig et al, Biological Psychology, 2005*.



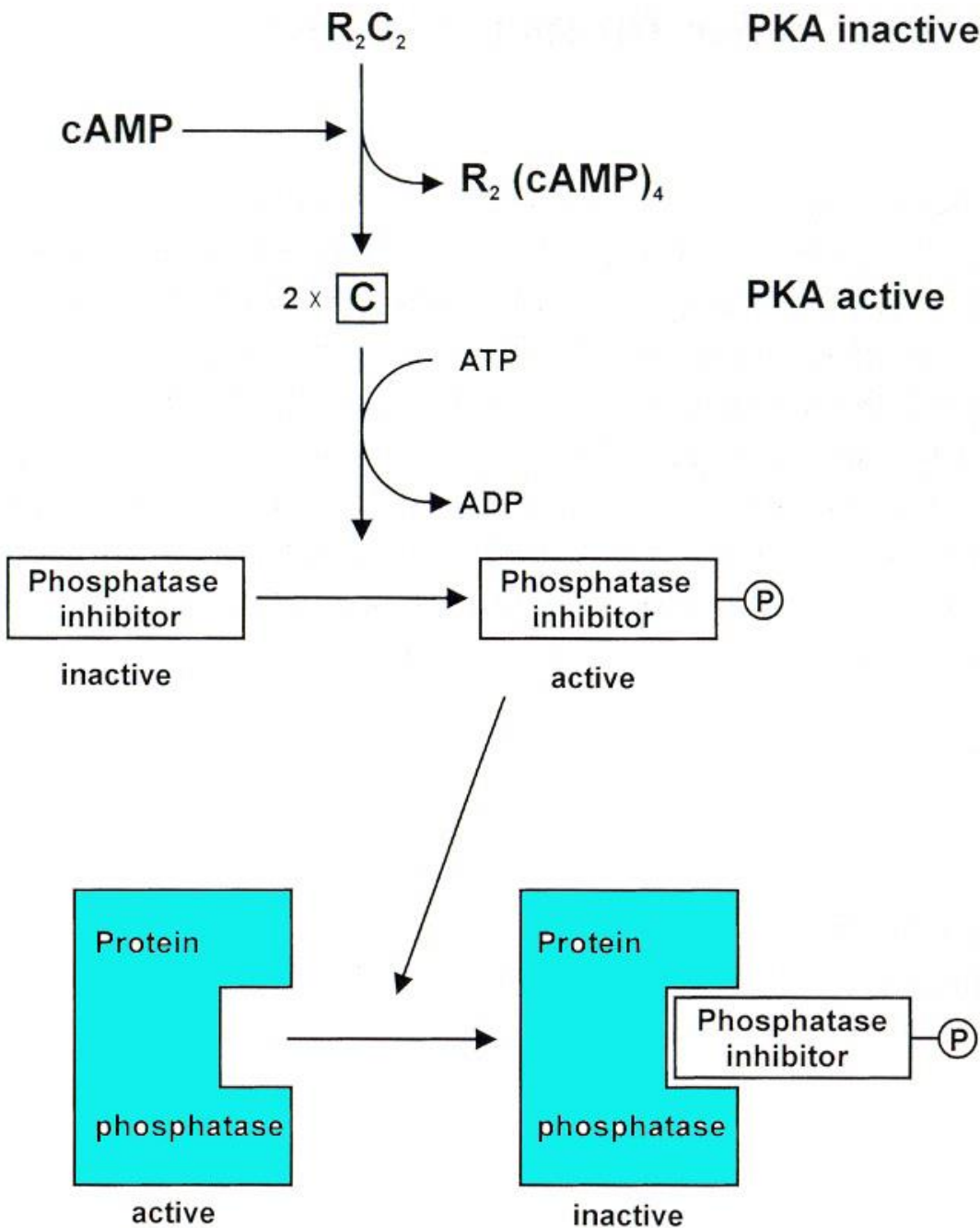
Ταξινόμηση των πρωτεϊνικών φωσφατάσων. Οι φωσφατάσες ανάλογα με τα φωσφορυλιωμένα κατάλοιπα που αποφωσφορυλιώνουν χωρίζονται σε **πρωτεϊνικές φωσφατάσες Tyr (PTPs)**, οι οποίες μπορεί να είναι διαλυτές στο κυτταρόπλασμα, μεμβρανικές με δράση υποδοχέα διπλής εξειδίκευσης (όπως η PTEN), και σε **πρωτεϊνικές φωσφατάσες Ser/Thr (PPs)**, οι οποίες είναι μόνο κυτταροπλασματικές (PP1, PP2A, PP2B). Από *Melinda Larsen, Michel L. Tremblay & Kenneth M. Yamada, Phosphatases in cell-matrix adhesion and migration, Nature Reviews Molecular Cell Biology 4, 700-711 (September 2003).*

Οι φωσφατάσες Ser/Thr ρυθμίζονται κυρίως από τρεις μηχανισμούς:

Φωσφορυλίωση: Στόχοι φωσφορυλίωσης είναι και η καταλυτική και η ρυθμιστική υπομονάδα. Σαν συνέπεια της φωσφορυλίωσης μπορεί να αλλάξει η σύνθεση των υπομονάδων, η καταλυτική δράση και ο υποκυτταρικός εντοπισμός της φωσφατάσης.

Υποκυτταρικός εντοπισμός: Η εξειδίκευση της φωσφατάσης επιτυγχάνεται εν μέρει και με τον εντοπισμό της σε συγκεκριμένες υποκυτταρικές θέσεις, όπου βρίσκεται το υπόστρωμα. Με τη βοήθεια της ρυθμιστικής υπομονάδας εντοπισμού, η πρωτεϊνική φωσφατάση μπορεί να οδηγηθεί σε ευδιάκριτες υποκυτταρικές περιοχές στις οποίες εντοπίζονται επίσης και τα υποστρώματα της πρωτεϊνικής φωσφατάσης.

Εξειδικευμένοι πρωτεϊνικοί αναστολείς: Υπάρχουν εξειδικευμένοι πρωτεϊνικοί αναστολείς των φωσφατασών Ser/Thr οι οποίοι μπορούν να ελέγξουν τη δράση των πρωτεϊνικών φωσφατασών. Αυτοί οι αναστολείς υπόκεινται και οι ίδιοι σε ρύθμιση π.χ., με φωσφορυλίωση.

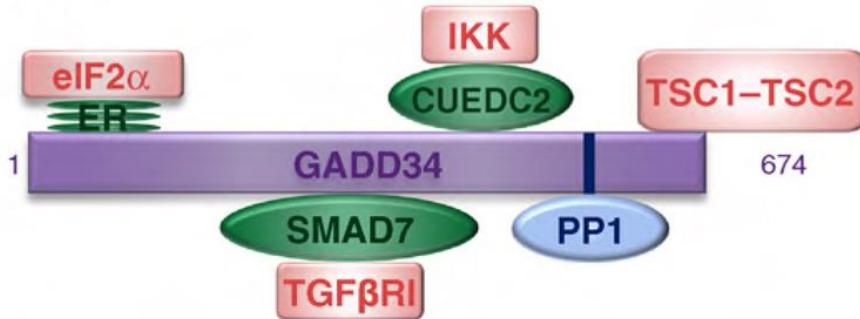


Η ρύθμιση των πρωτεϊνικών φωσφατάσων από πρωτεϊνικούς αναστολείς

Τα υποστρώματα της πρωτεϊνικής κινάσης A περιλαμβάνουν αναστολείς των φωσφατάσων που είναι φωσφορυλιωμένοι από την C υπομονάδα της πρωτεϊνικής κινάσης A. Στη φωσφορυλιωμένη κατάσταση, οι αναστολείς των φωσφατάσων συνδέονται στις πρωτεϊνικές φωσφατάσες και αναστέλλει την ενζυμική της δραστηριότητα.

Πρωτεϊνική Φωσφατάση 1 (PP1)

(a) GADD34



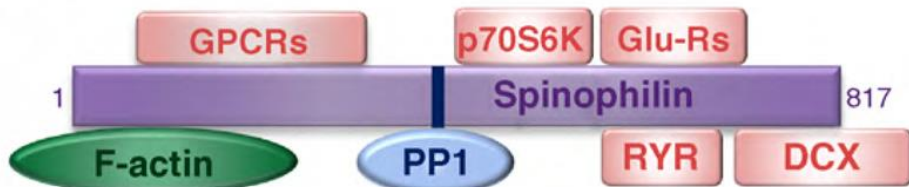
(b) MYPT1



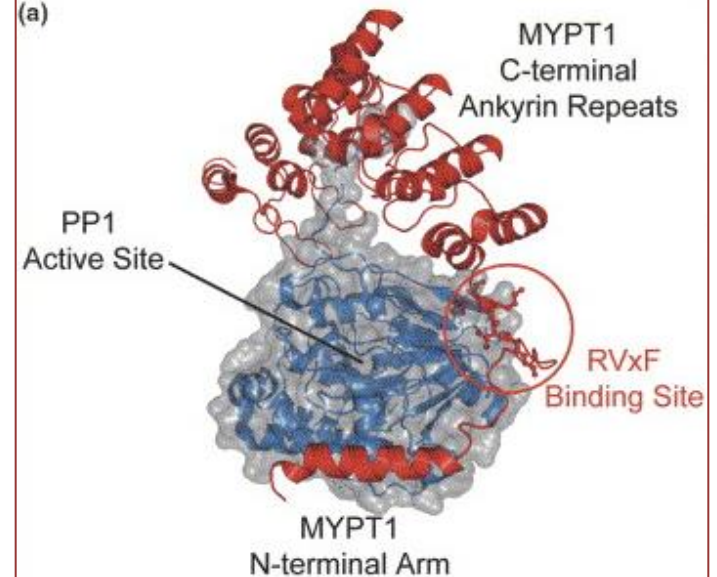
(c) PNUTS



(d) Spinophilin

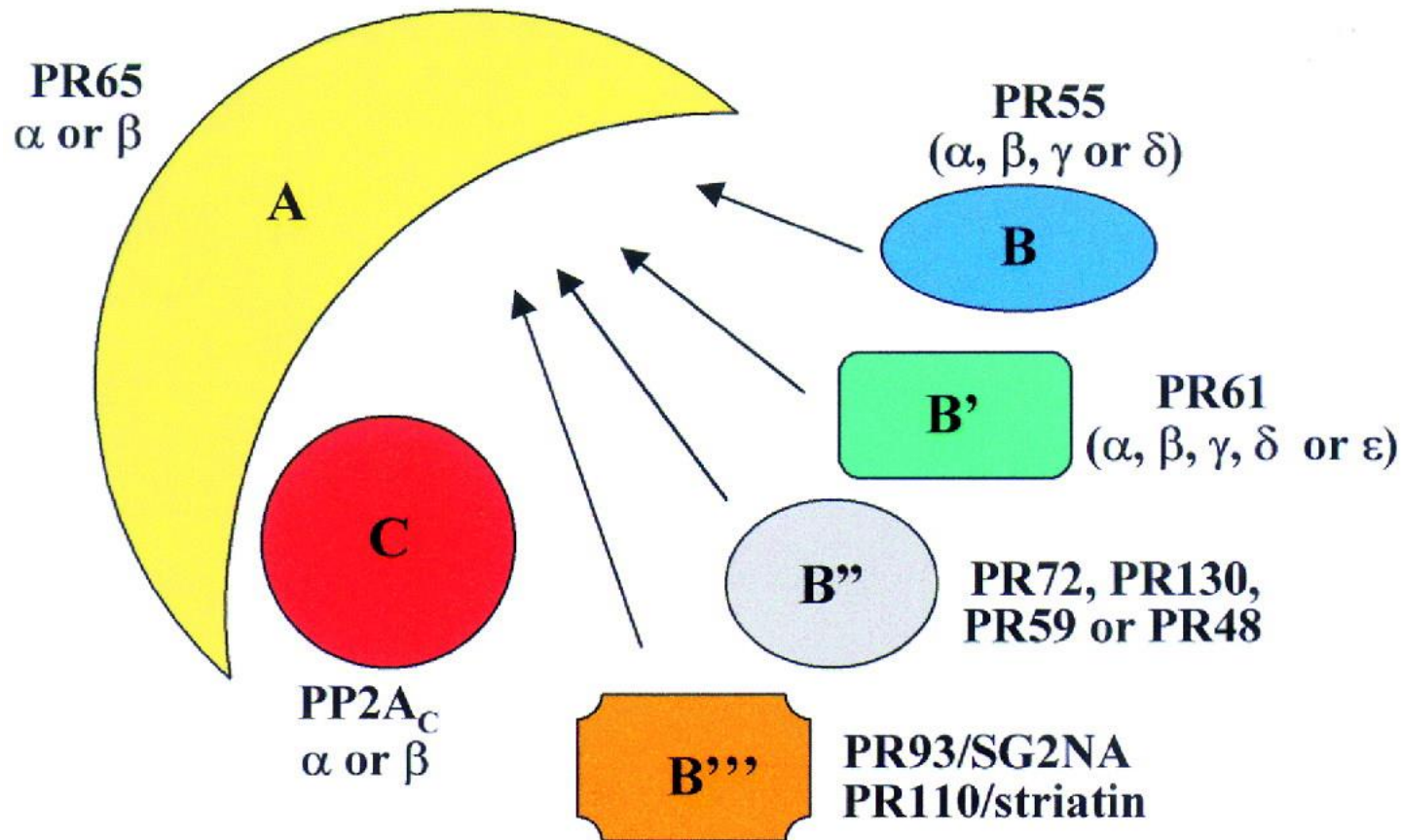


(a)



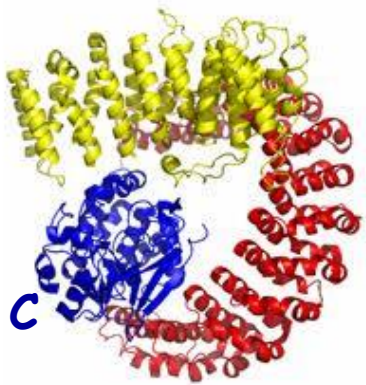
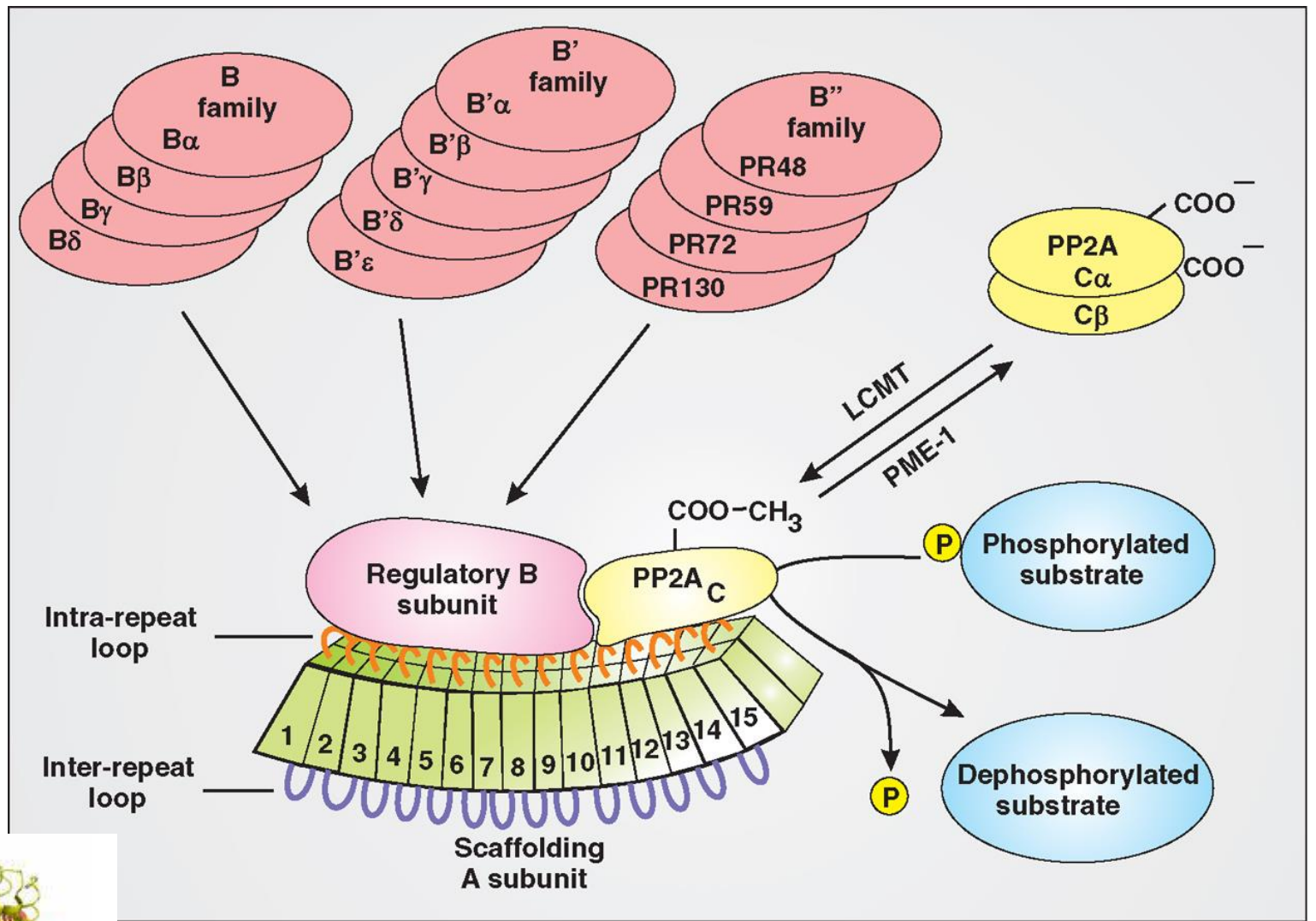
Η πρωτεϊνική φωσφατάση PP1 και οι ρυθμιστικές της υπομονάδες.
 Οι ρυθμιστικές υπομονάδες της PP1 γνωστές και ως PP1-interacting proteins (PIPs) μπορούν να μεταβιβάσουν το εισερχόμενο σήμα στην καταλυτική υπομονάδα. Οι GADD34, MYPT1, PNUTS και spinophilin κατευθύνουν την PP1 σε υποστρώματά της είτε άμεσα (τα υποστρώματά αυτά διακρίνονται με ροζ τετράγωνα) είτε έμμεσα μέσω πρωτεϊνών προσαρμογής (τα υποστρώματά αυτά διακρίνονται με πράσινο οβάλ: ER, CUEDC2, SMAD7, F-actin).

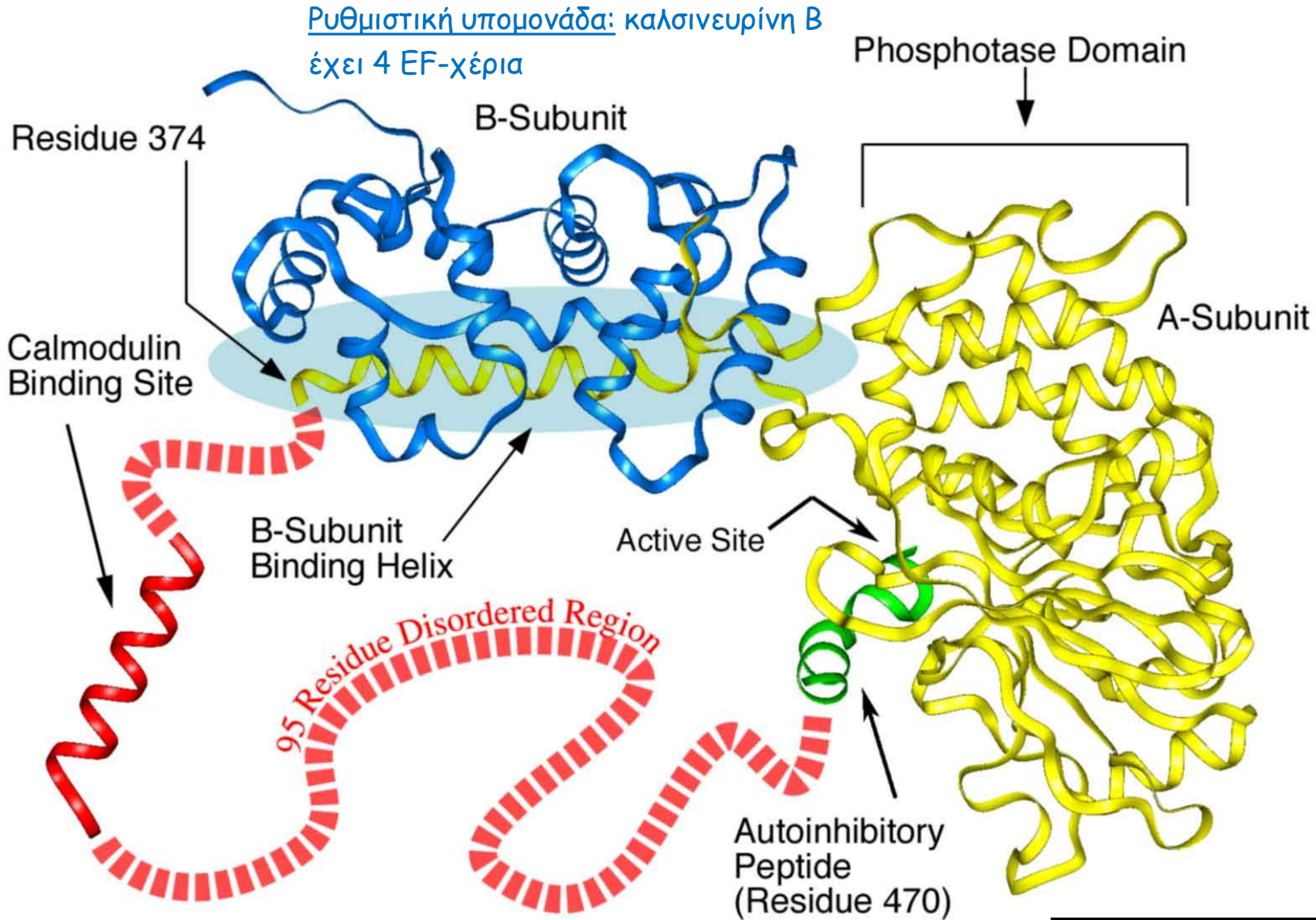
Πρωτεϊνική Φωσφατάση 2A (PP2A) διπλής εξειδίκευσης



Η πρωτεϊνική φωσφατάση PP2A και οι ρυθμιστικές της υπομονάδες

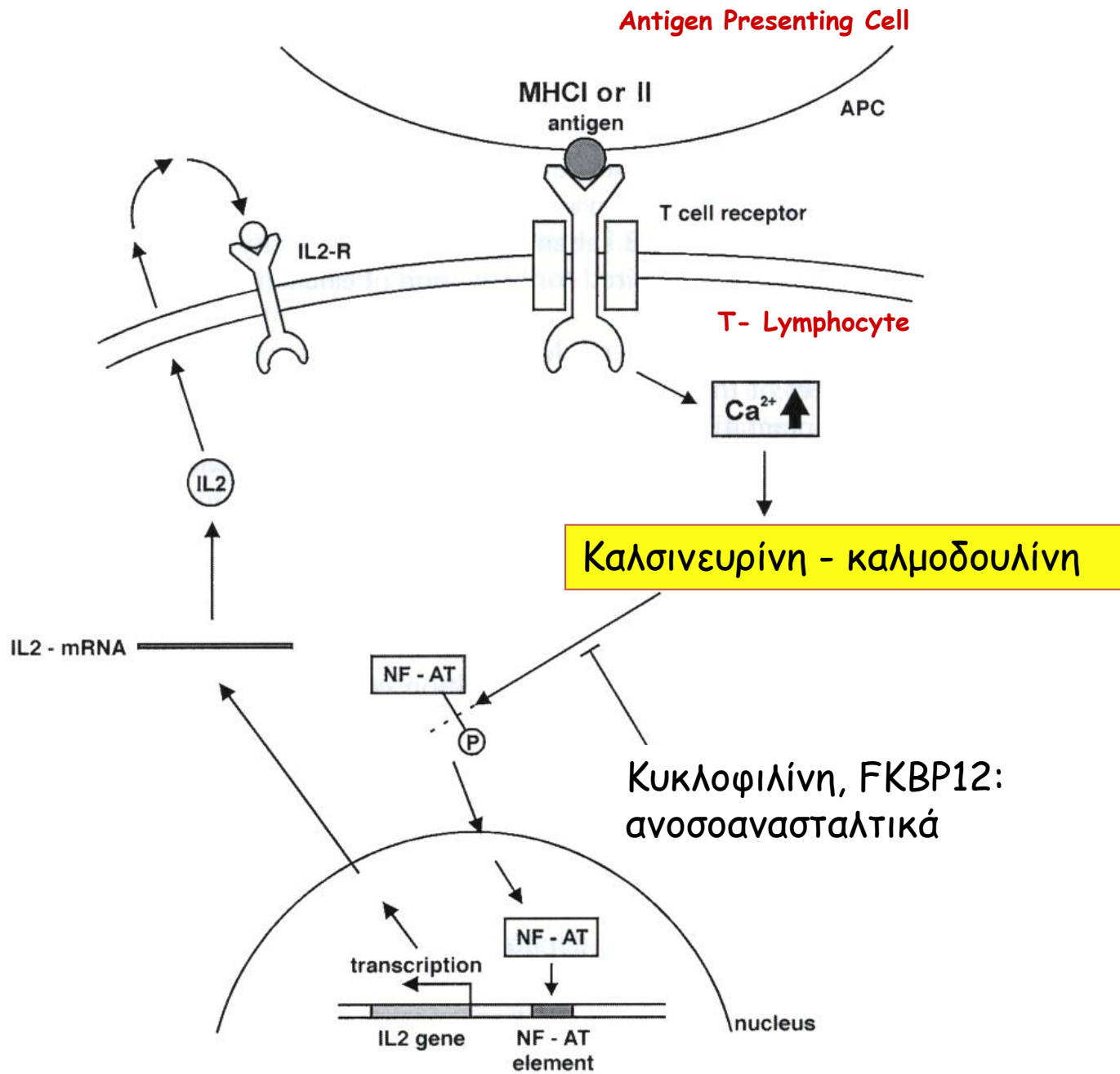
Το ολοένζυμο PP2A αποτελείται από τρεις υπομονάδες, A, B και C. Δεδομένου ότι υπάρχουν δύο ισομορφές της A (α ή β), δύο ισομορφές της C (α ή β), και περίπου 20 διαφορετικές B, οι συνδυασμοί που μπορεί να προκύψουν είναι πολλοί





Καταλυτική υπομονάδα:
καλσινευρίνη Α

Καλσινευρίνη και ενεργοποίηση των Τ-λεμφοκυττάρων

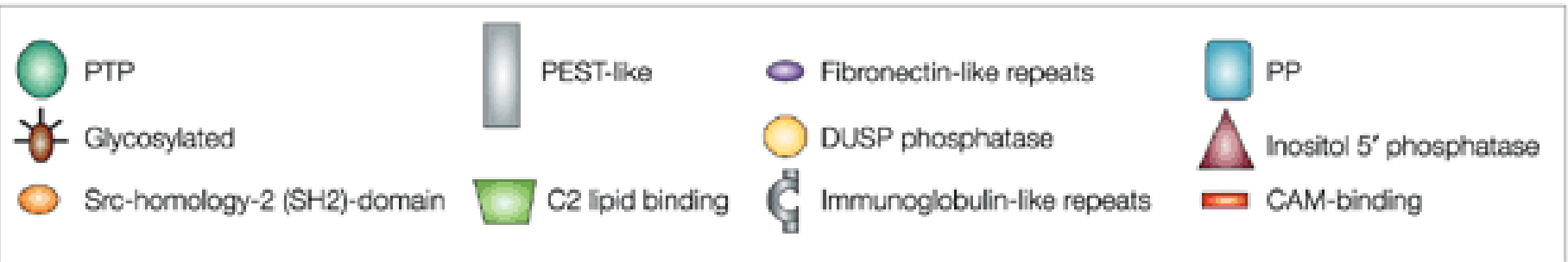
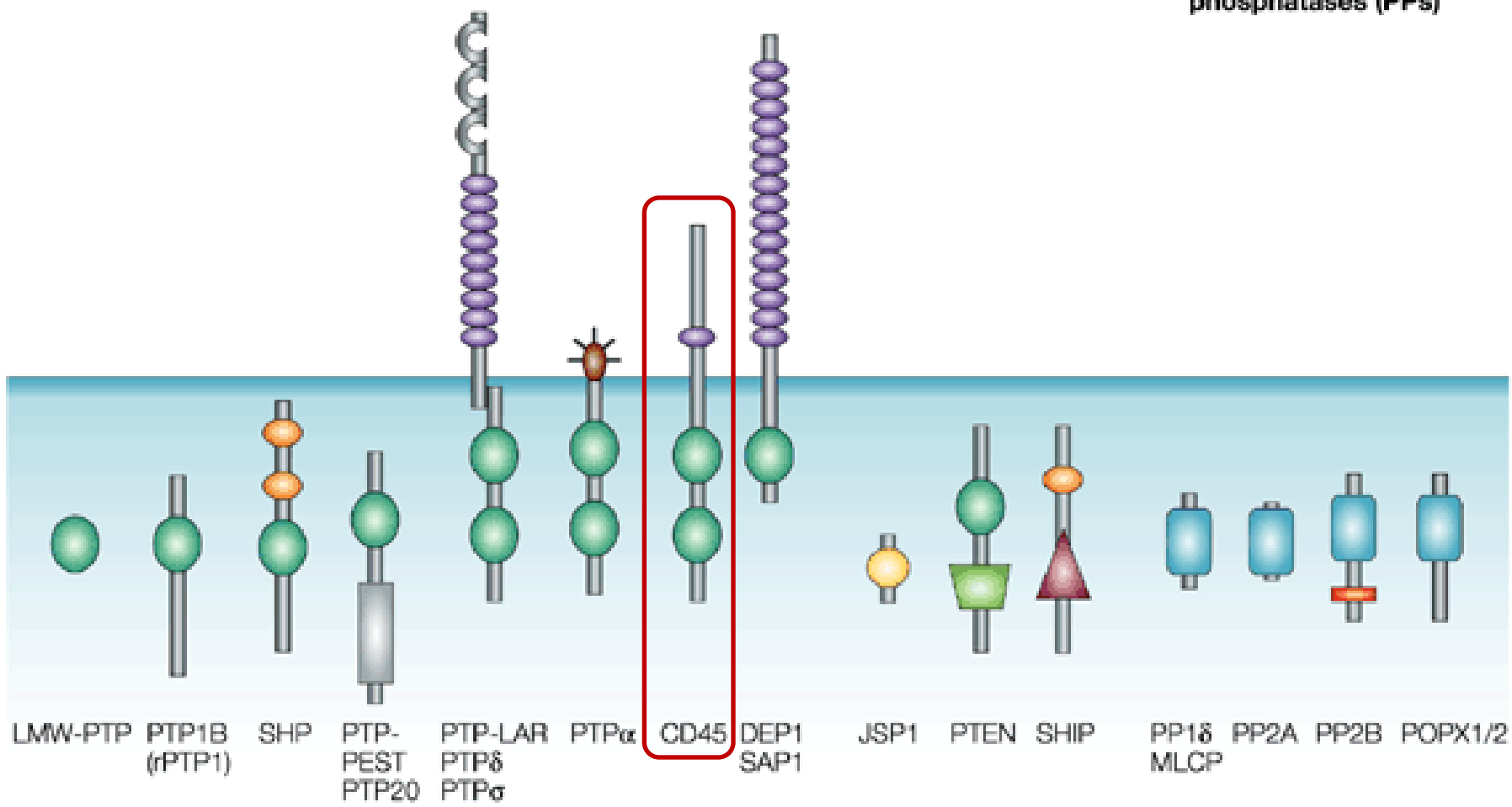


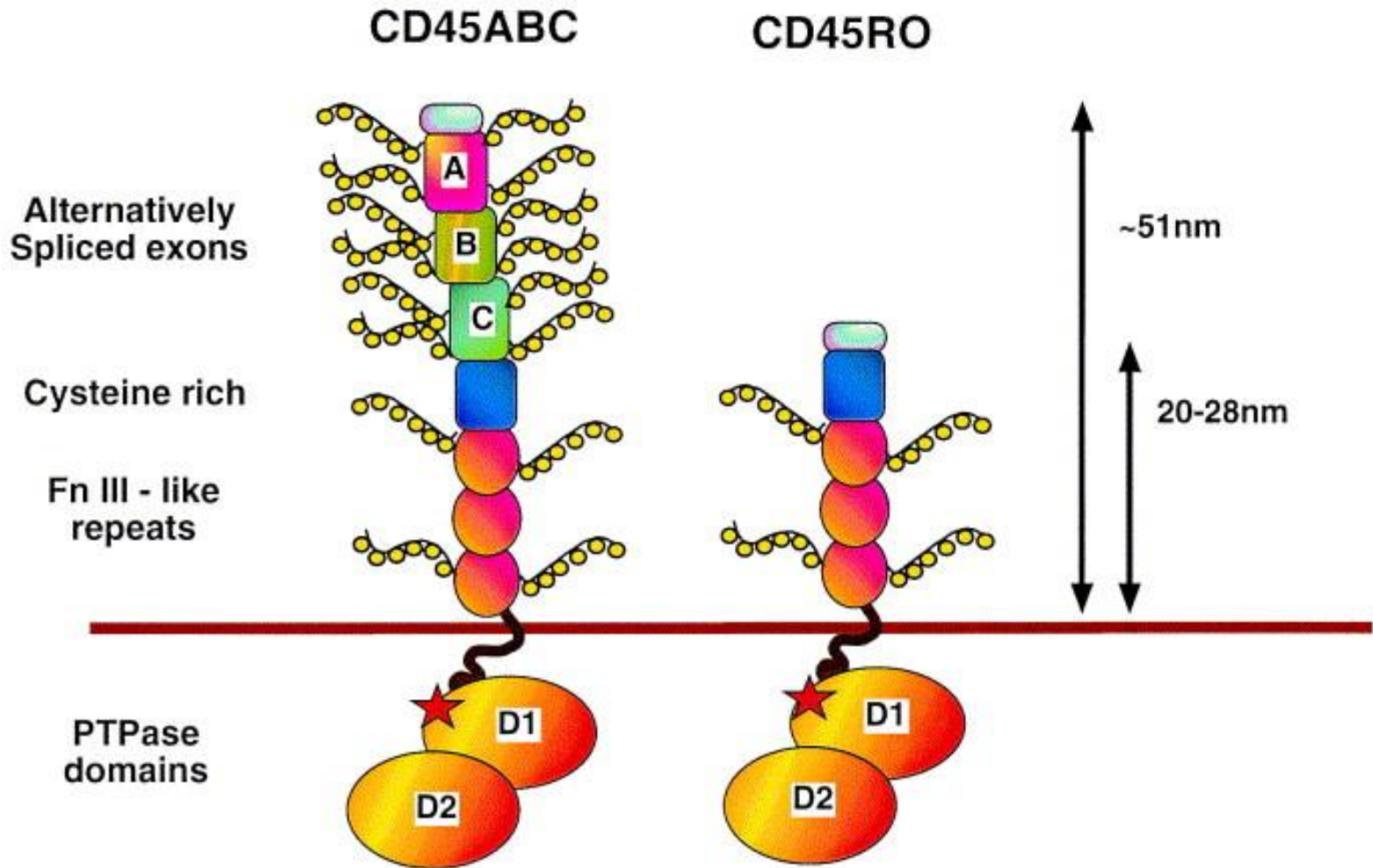
Soluble PTPs

Receptor PTPs

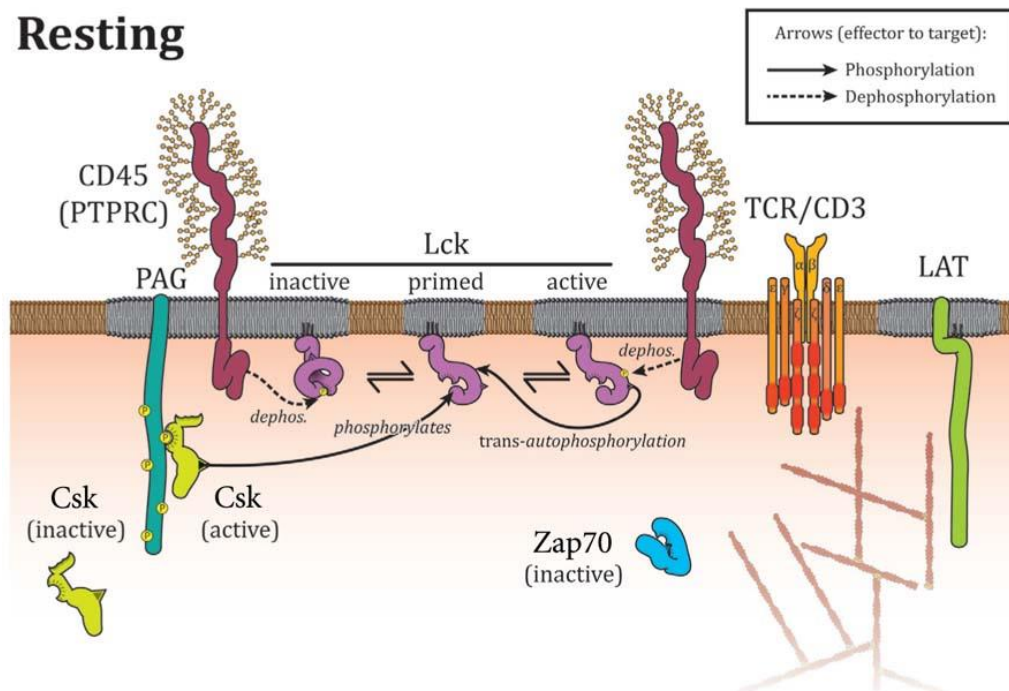
Dual-specificity PTPs

Serine/threonine phosphatases (PPs)

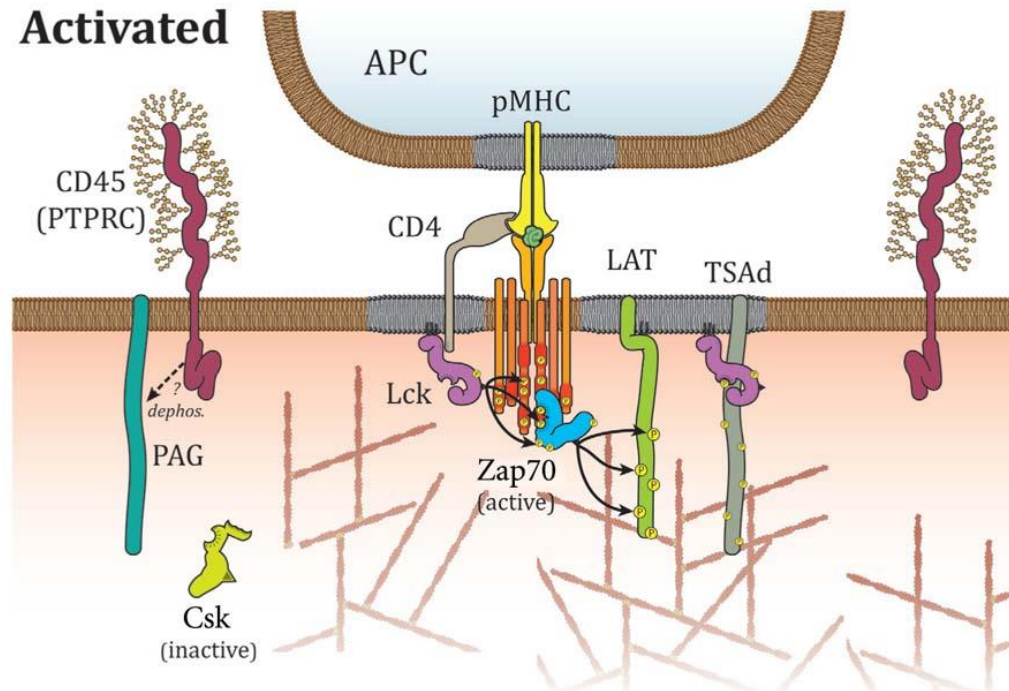




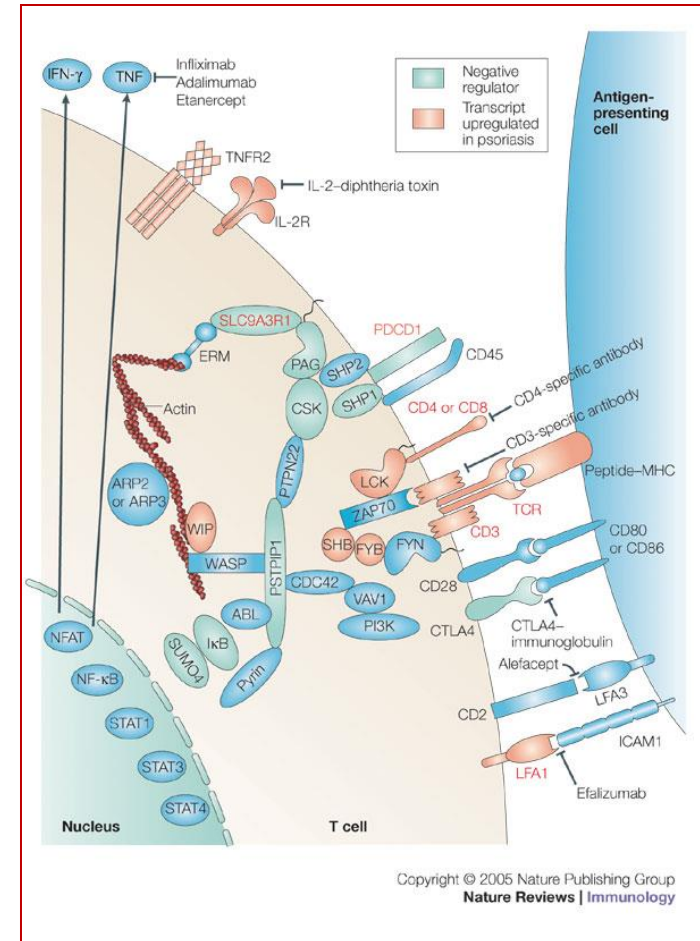
Resting



Activated

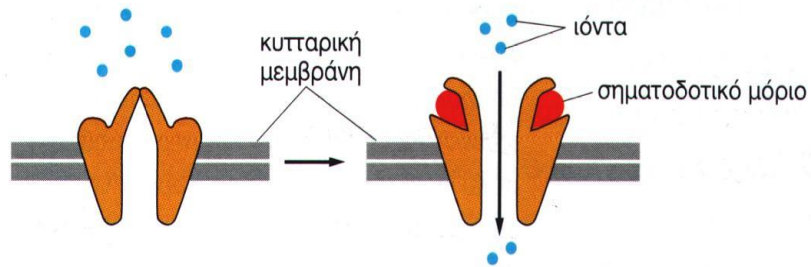


Στα Τ-κύτταρα, η φωσφατάση CD45 αποφωσφορυλιώνει το ανασταλτικό C-τελικό φωσφορυλιωμένο αμινοξύ (Tyr505 (Y505)) της κινάσης Lck.

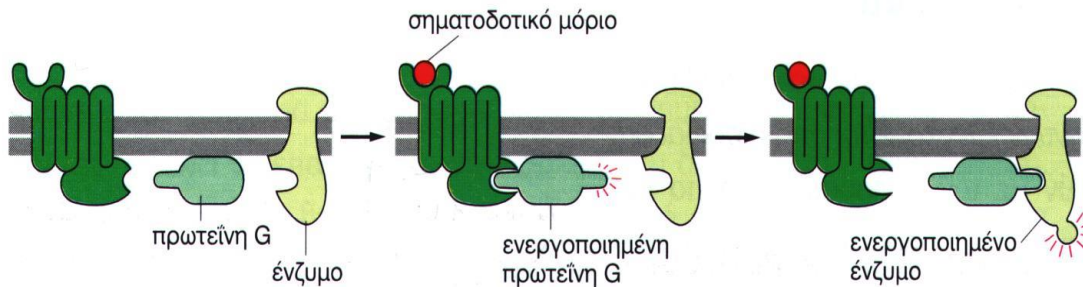


Είδη Υποδοχέων Κυτταρικής Μembrάνης

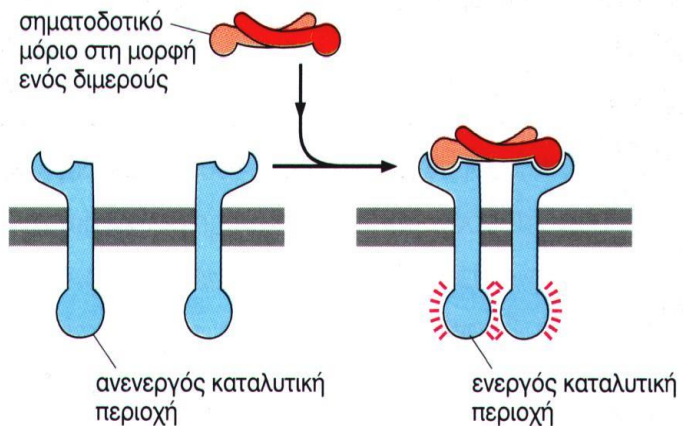
(Α) ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΠΟΥ ΣΥΝΔΕΟΝΤΑΙ ΜΕ ΔΙΑΥΛΟΥΣ ΙΟΝΤΩΝ



(Β) ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΠΟΥ ΣΥΝΔΕΟΝΤΑΙ ΜΕ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ G



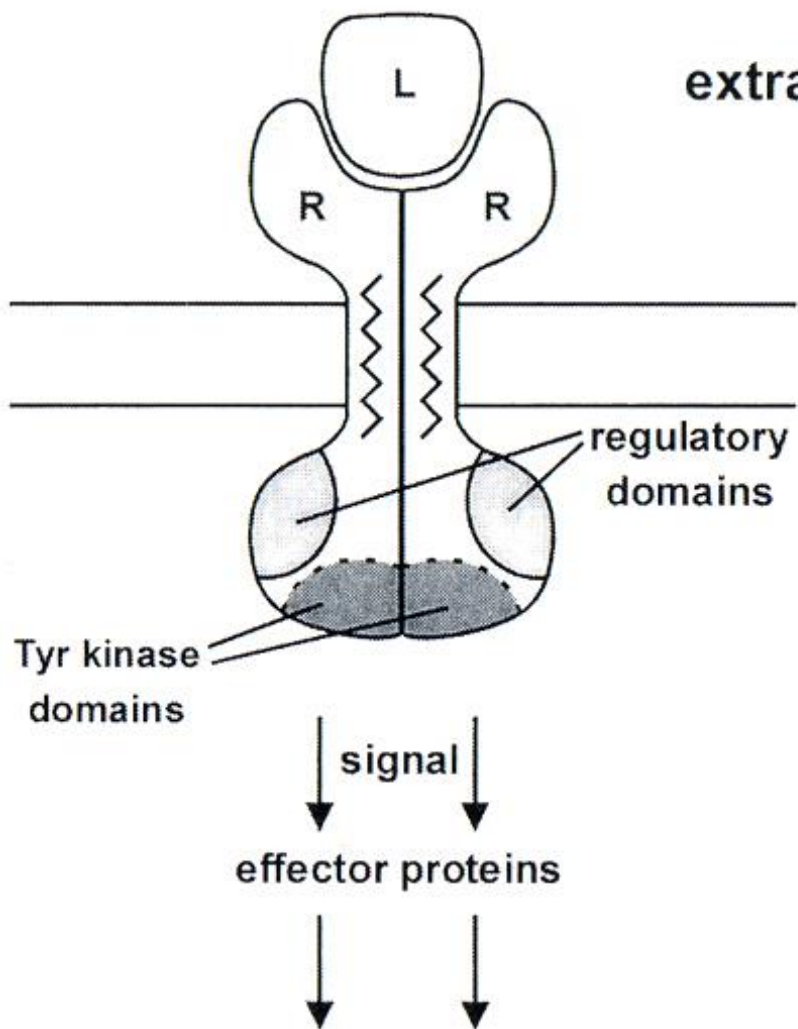
(Γ) ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΠΟΥ ΣΥΝΔΕΟΝΤΑΙ ΜΕ ΕΝΖΥΜΑ



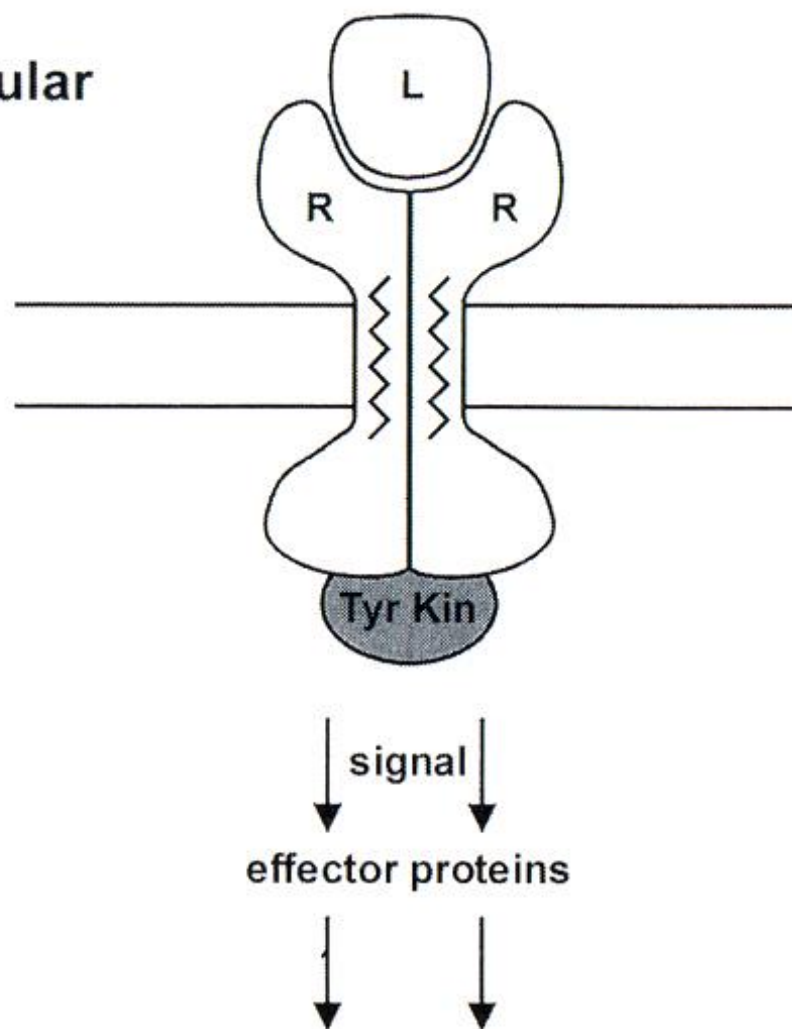
Ρυθμίζουν:

- την κυτταρική διαίρεση,
- τη διαφοροποίηση
- τη μορφογένεση

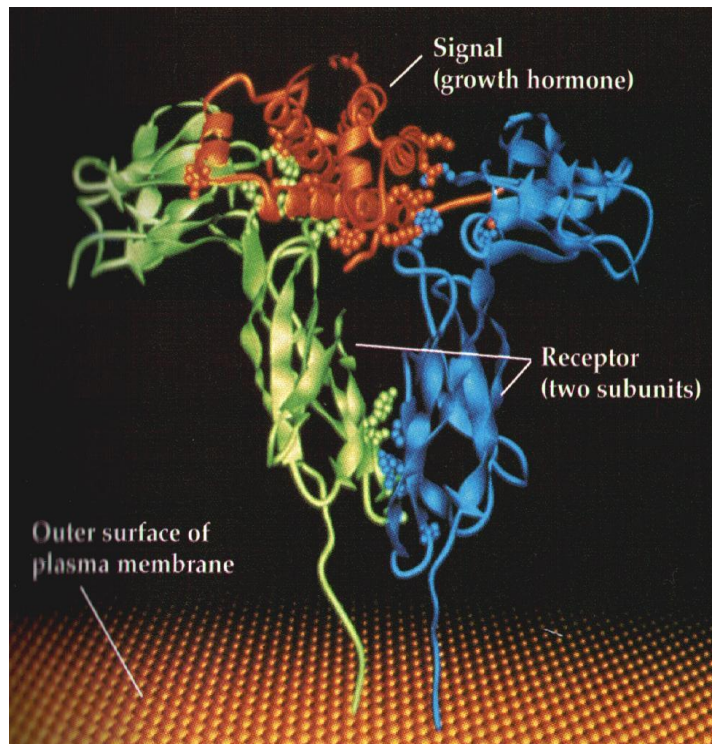
Υποδοχέας κινάση Tyr

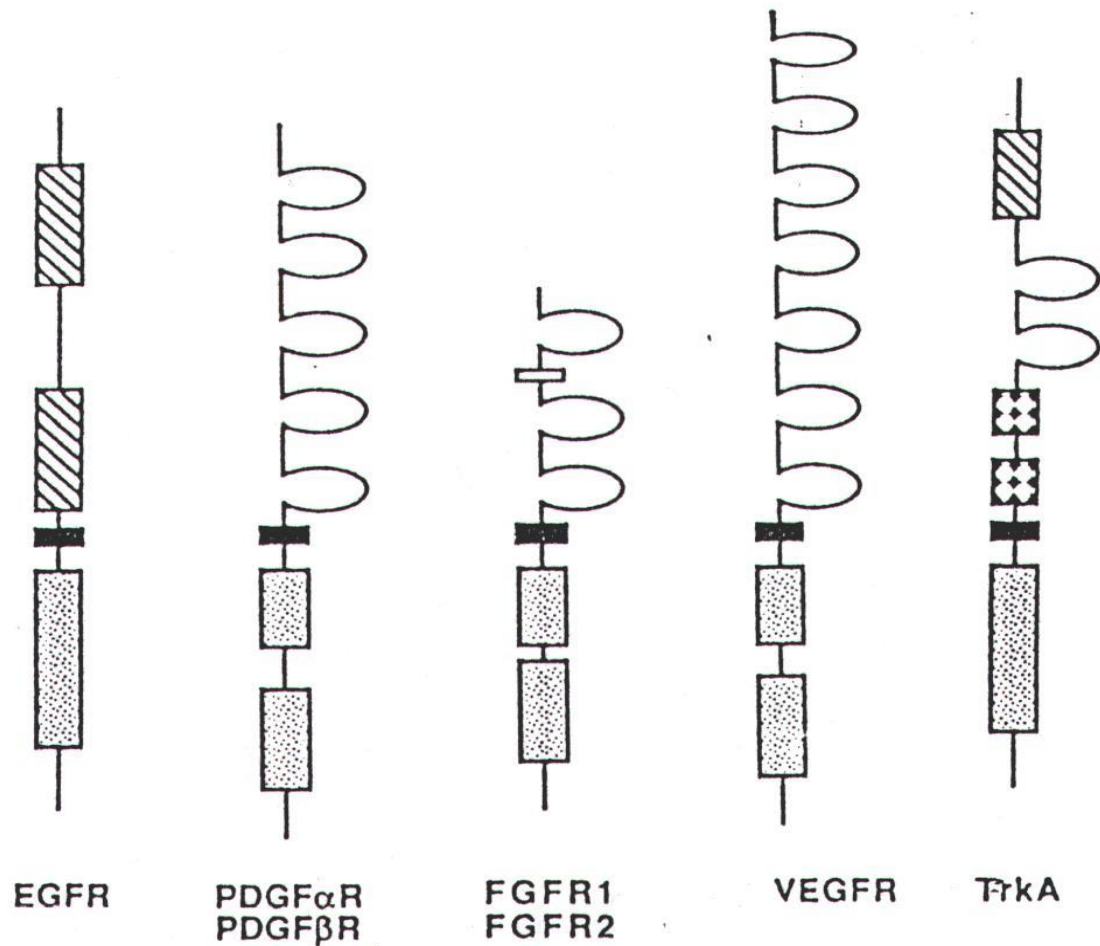






Υποδοχέας συνδεδεμένος με κινάση Tyr

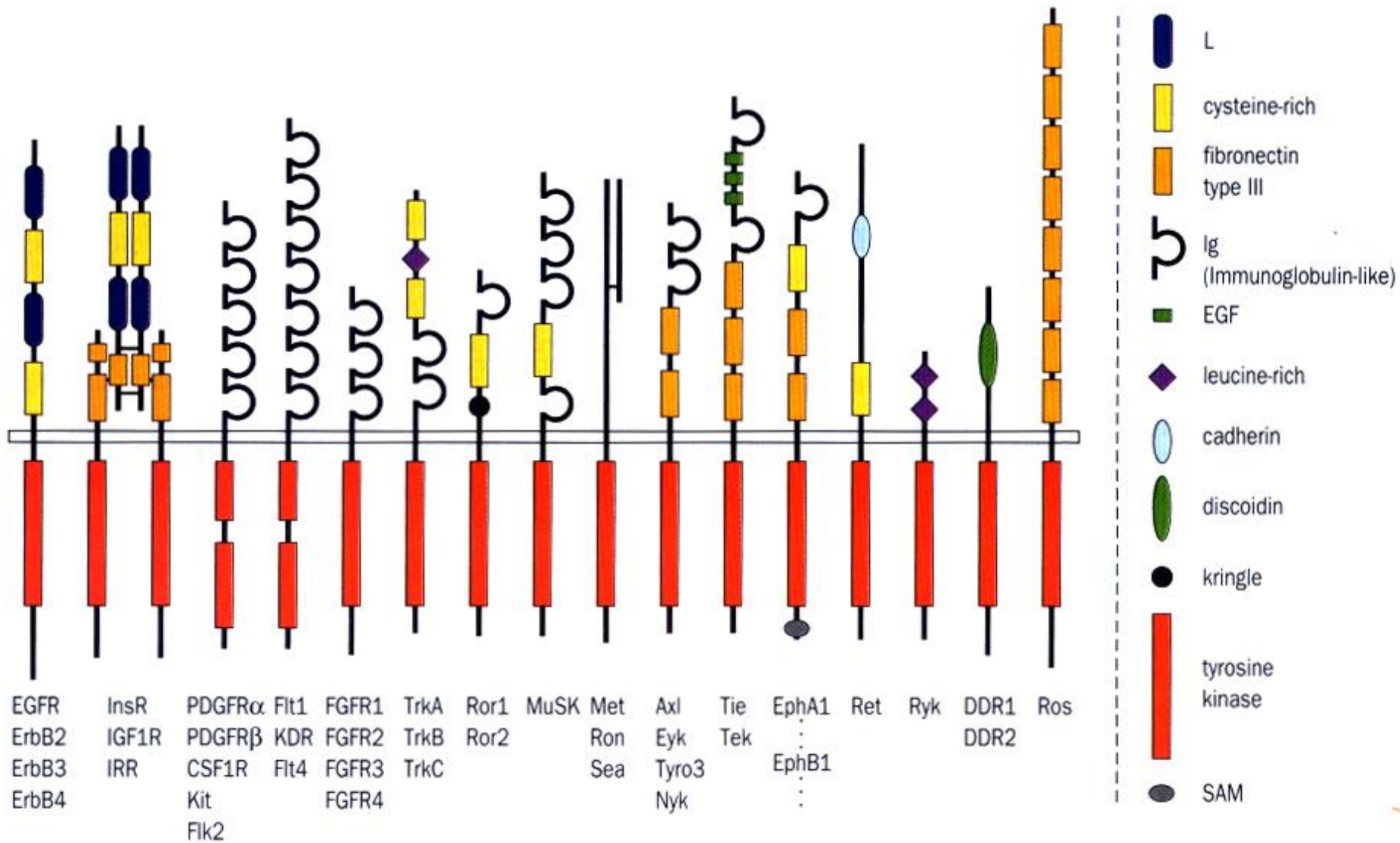


Υποδοχείς με ενδογενή δράση κινάσης Tyr: Receptor Tyrosine kinase (RTK)

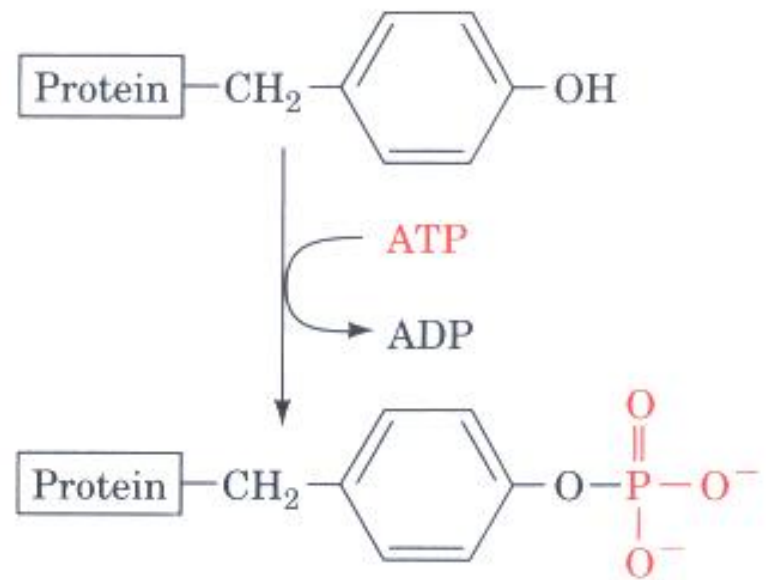
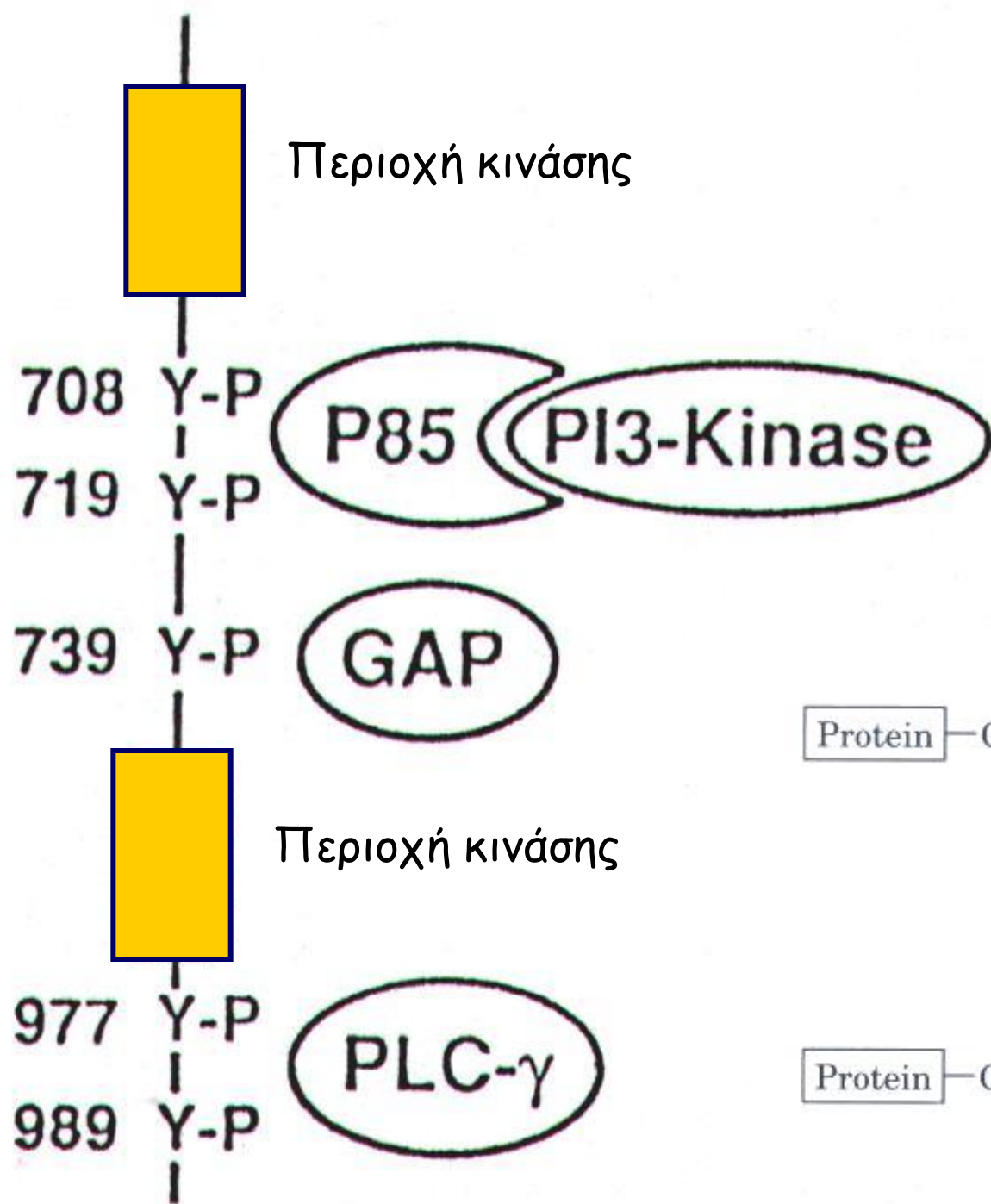


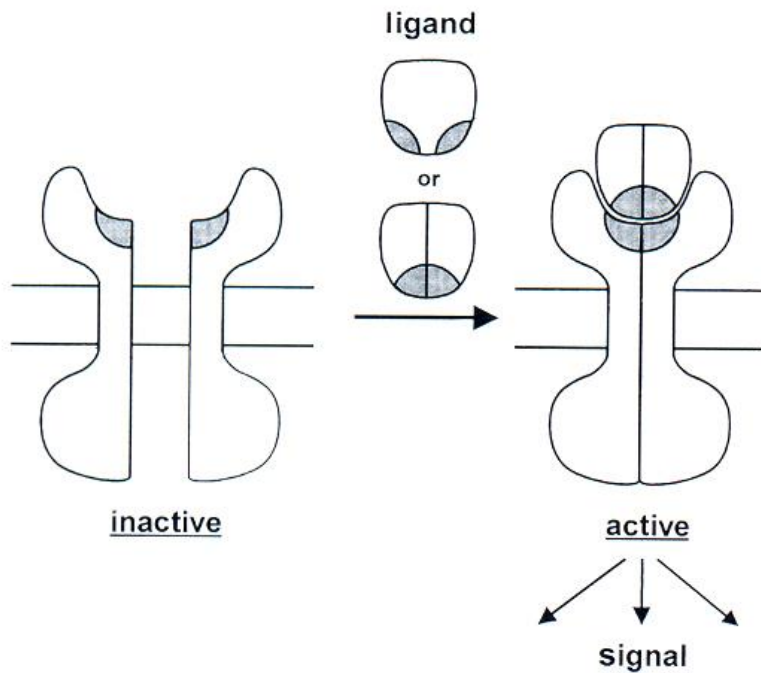


Χαρακτηριστικές οικογένειες μονομερών υποδοχέων κινασών. Διακρίνονται οι περιοχές της κινάσης τυροσίνης (), περιοχές πλούσιες σε κυστεΐνη (), πλούσιες σε όξινα αμινοξέα (), περιοχές χαρακτηριστικές των ανοσοσφαιρινών (ημικύκλια) και της ινωδονεκτίνης τύπου III (). (Από *W.J. Fantl et al, Annu. Rev. Biochem., 1993, 62, 453-481*).

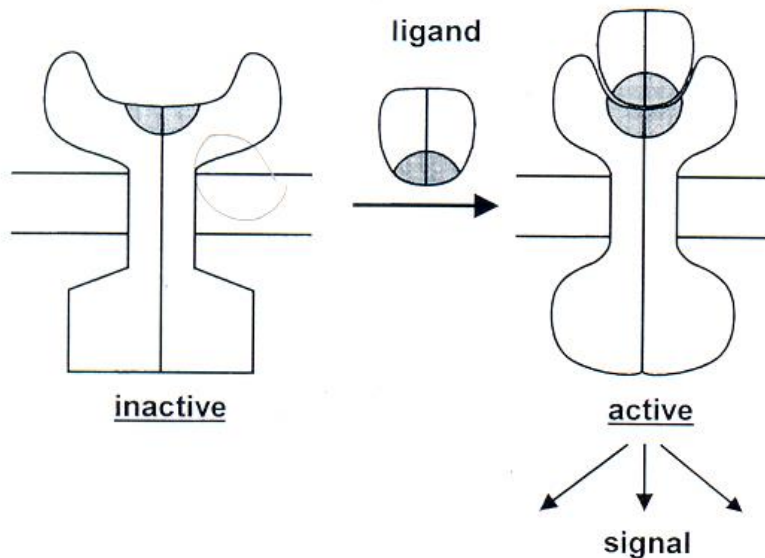


Hubbard, Annu. Review Biochemistry, 2000

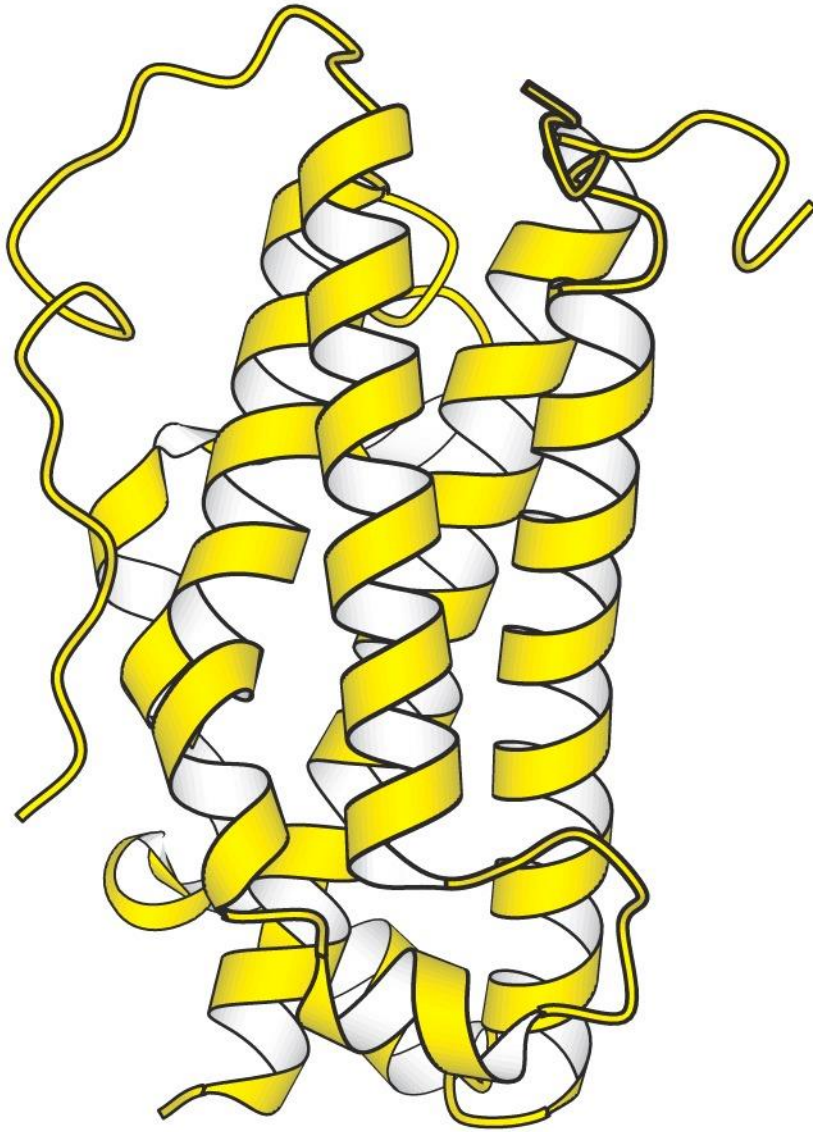




α) Ένας μονομερής ή διμερής προσδέτης με δύο θέσεις πρόσδεσης (bivalent ligand) επάγει το διμερισμό ενός υποδοχέα, ο οποίος απουσία του προσδέτη υπάρχει σε μονομερή μορφή.

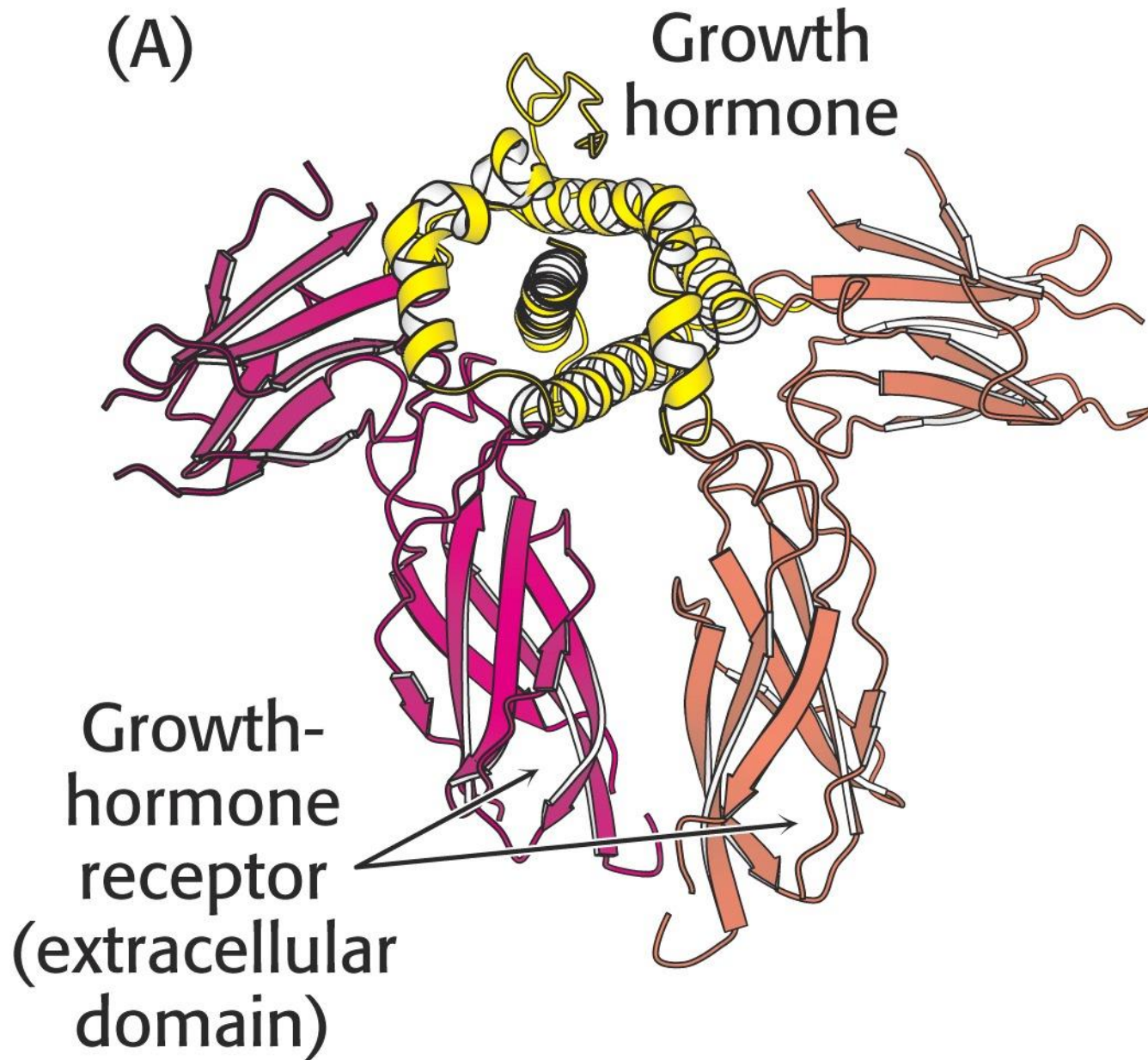


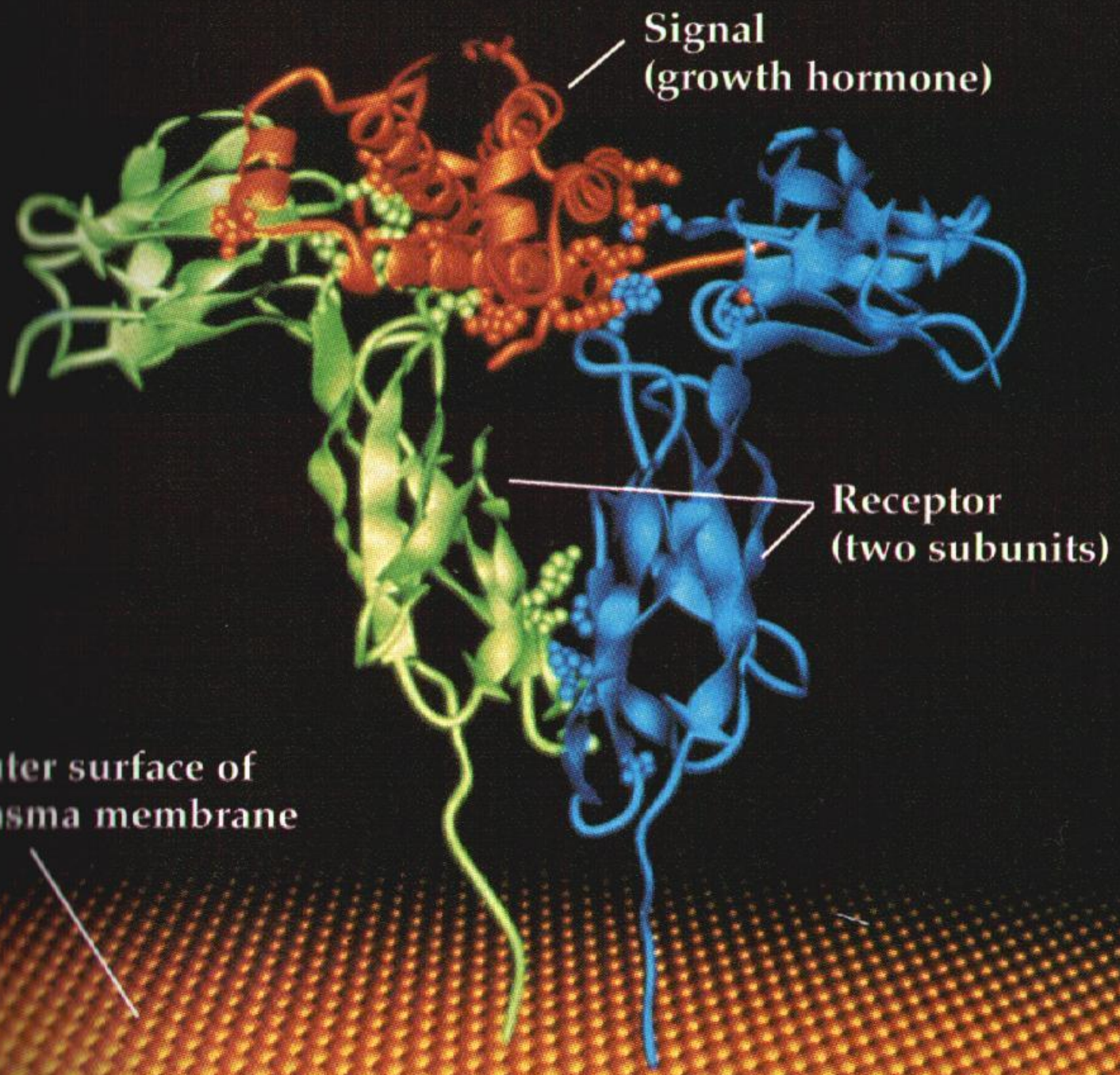
β) Ένας διμερής υποδοχέας ενεργοποιείται με τη σύνδεση του προσδέτη μέσω ενός αλλοστερικού μηχανισμού



Η αυξητική ορμόνη είναι μια μονομερής πρωτεΐνη 217 αα που σχηματίζει δομή συμπαγούς δέσμης 4 ελίκων

Human growth hormone





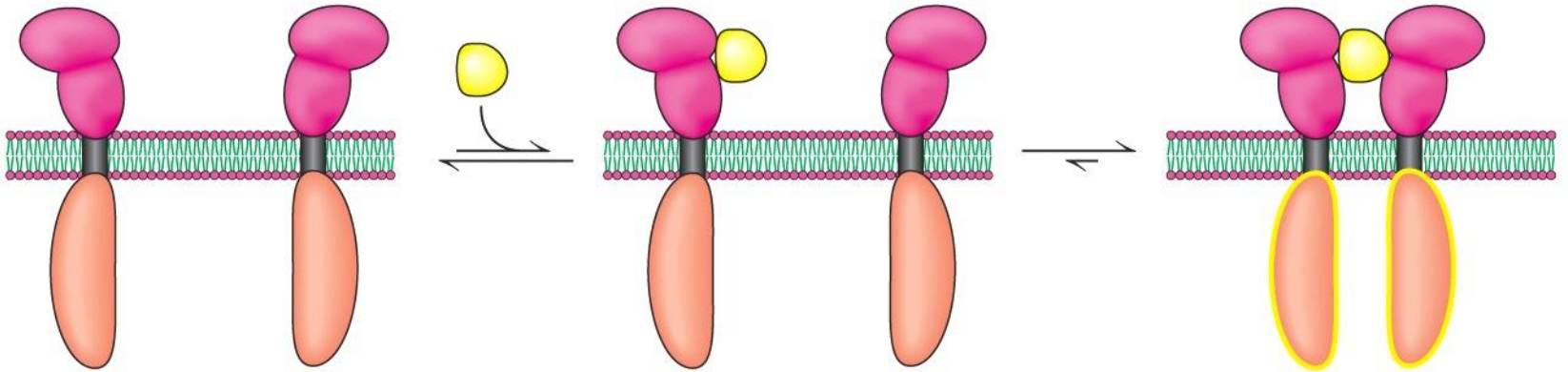
(B)

Extracellular domain

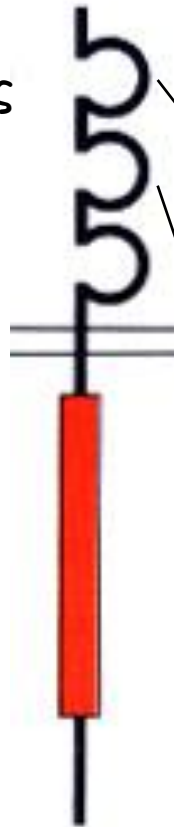
Growth hormone

Intracellular domain

Dimerized receptor (activated)



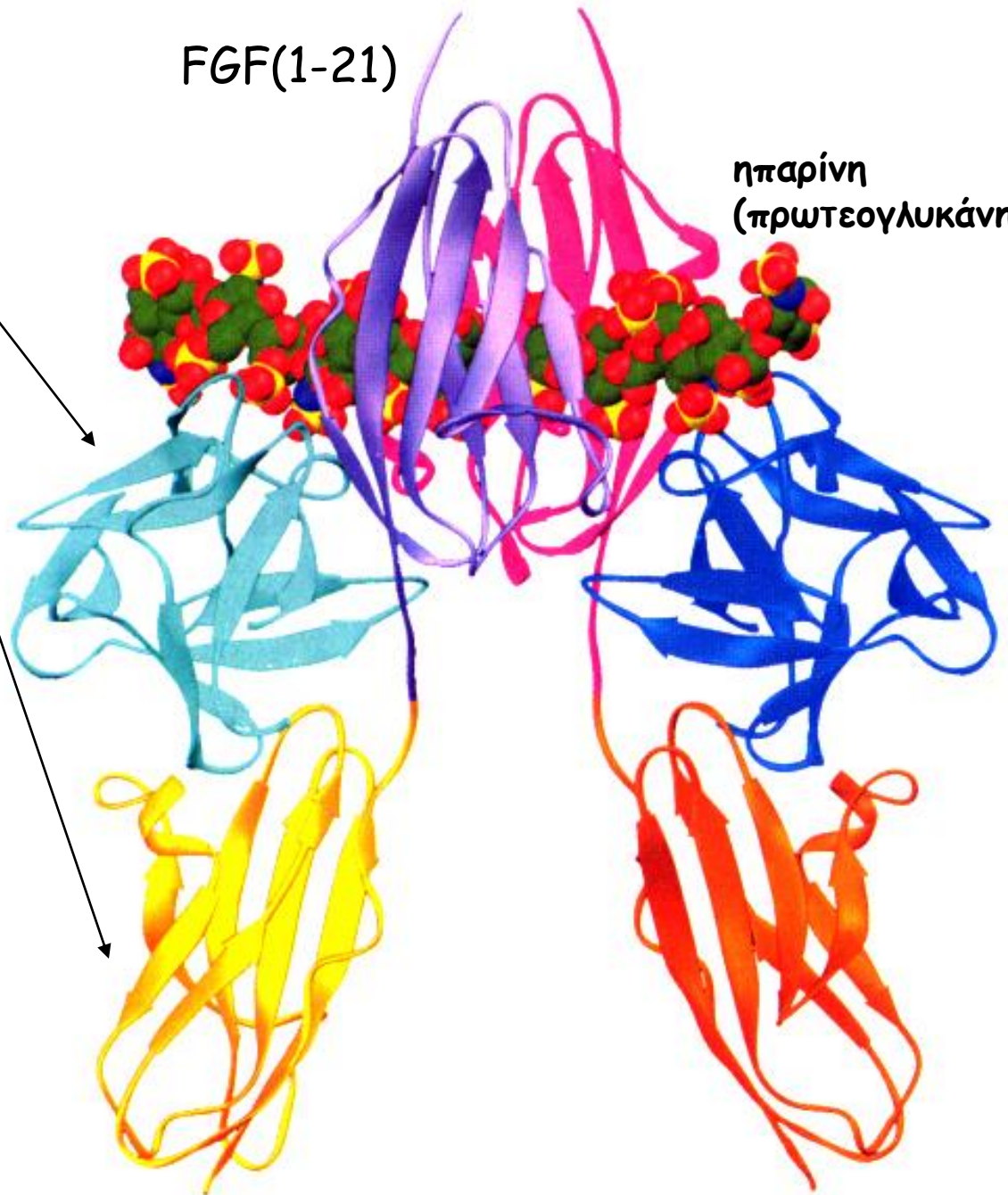
Περιοχές όμοιες
των
ανοσοσφαιρινών

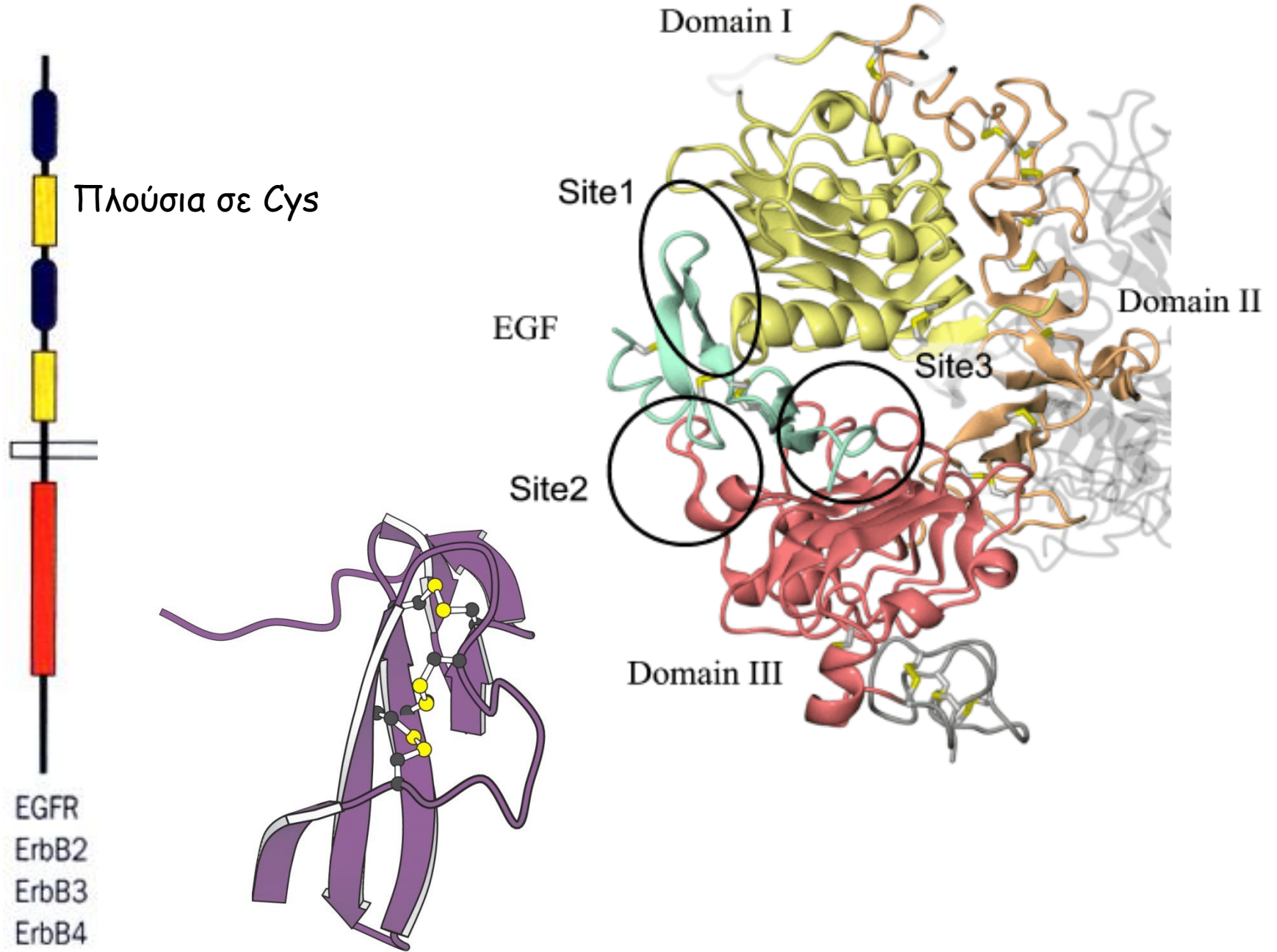


FGFR1
FGFR2
FGFR3
FGFR4

FGF(1-21)

ηπαρίνη
(πρωτεογλυκάνη)





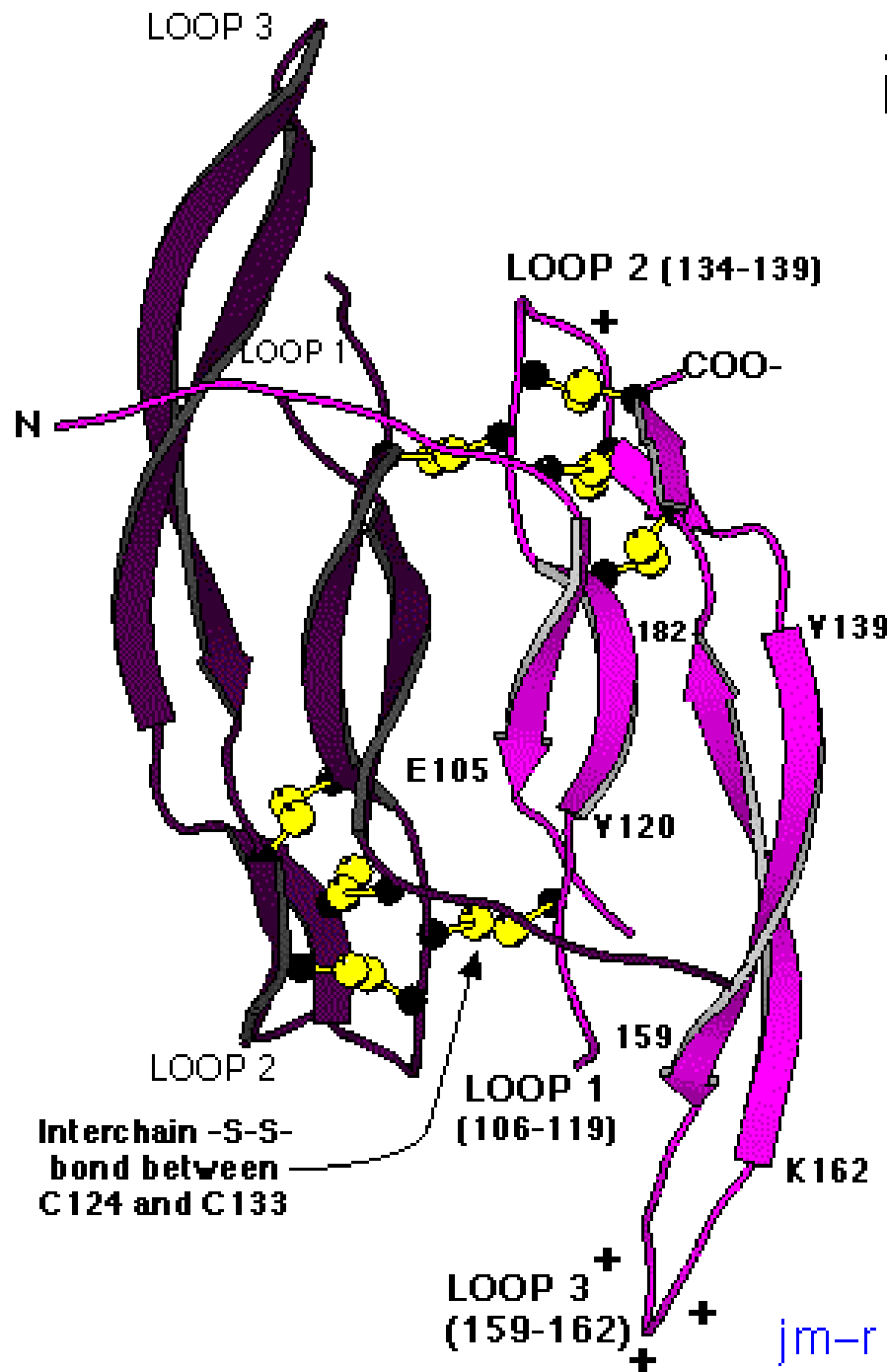
Epidermal growth factor (EGF)

Antiparallel linkage between two PDGF B chains form the B:B homodimer

Based on X-ray
crystallography
(Oefner *et al*),
Brookhaven PDB file
1PDG

Numbering based on
human PDGF-B ORF
where mature B chain is
82-190

Drawing based on
a WWW site
constructed by
Judith Murray-Rust
(Birkbeck College)

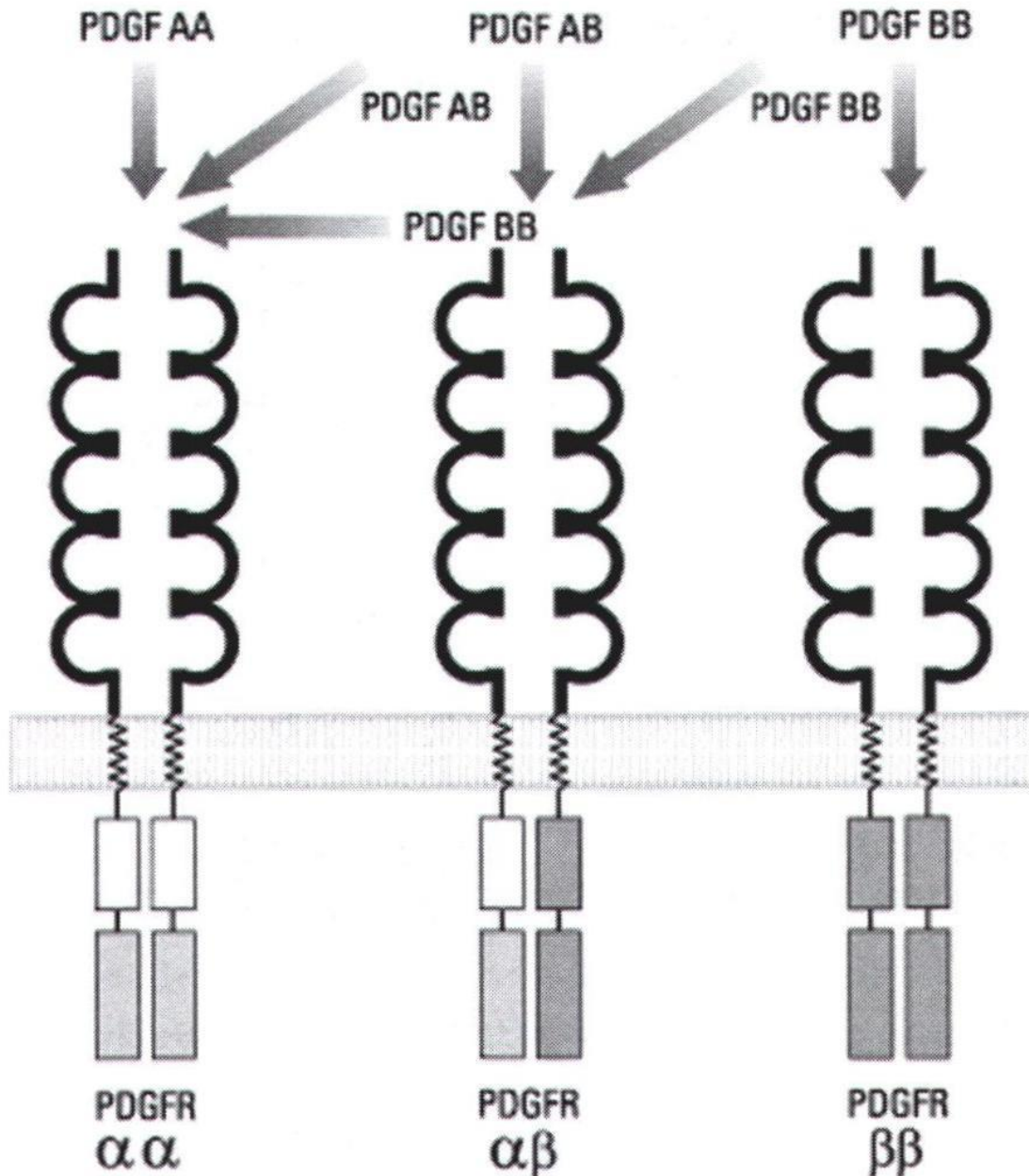


DISULFIDE BOND



jm-r 1995

Σχηματισμός ετεροδιμερών

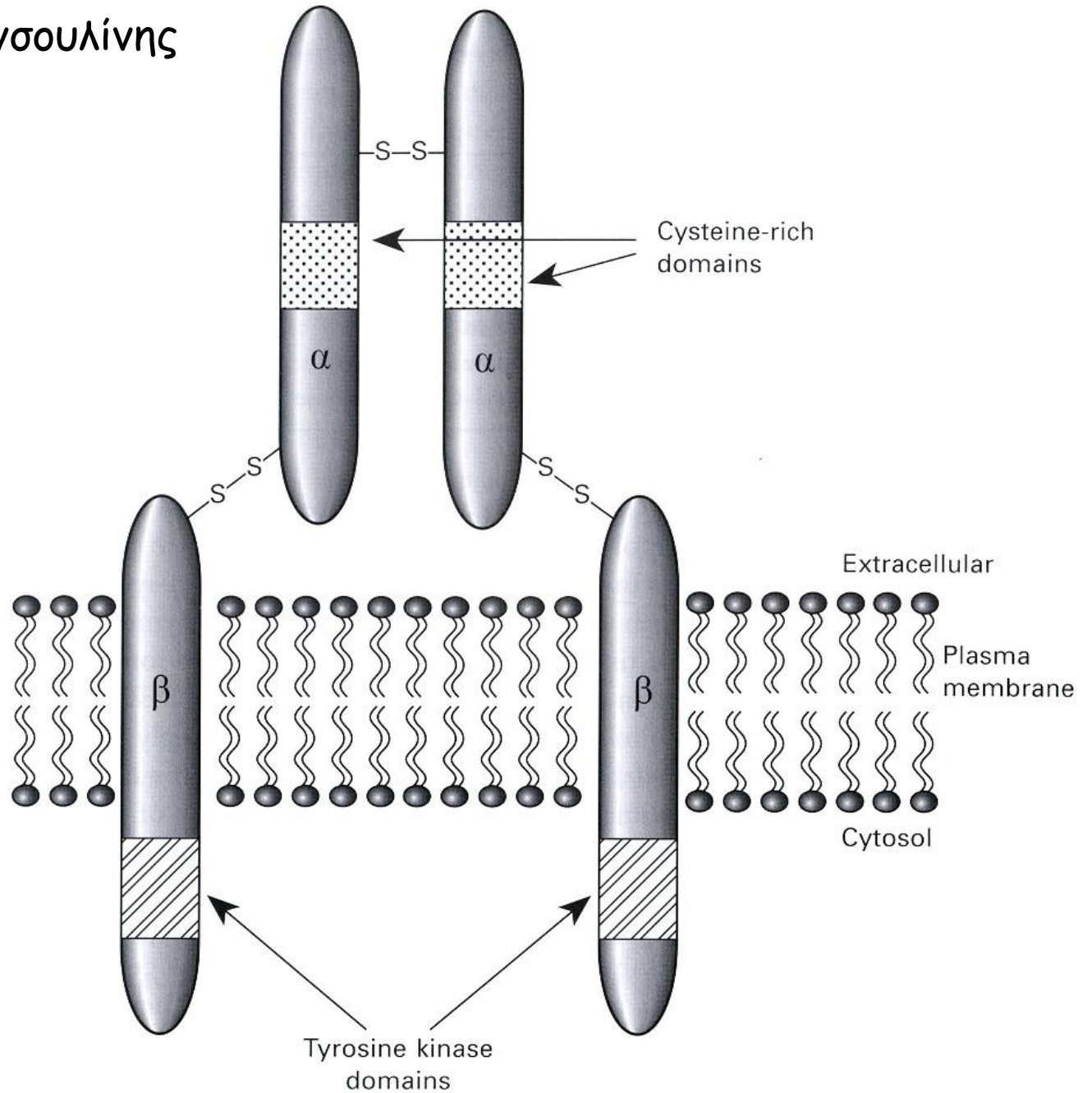


Υπάρχουν δυο υπότυποι του υποδοχέα PDGF, ο α- και ο β-υπότυπος, και σχηματίζονται τα διμερή αα, αβ και ββ.

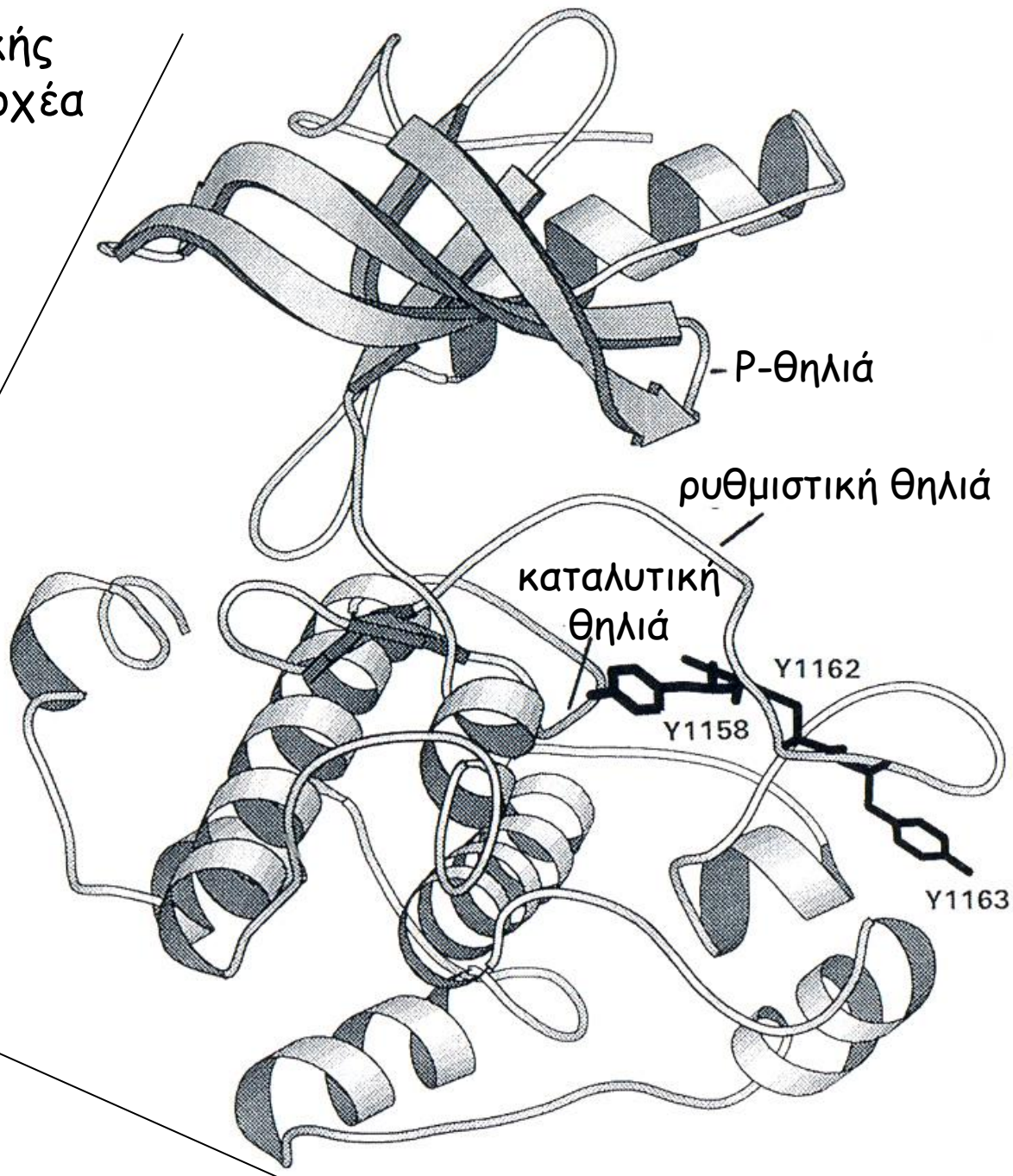
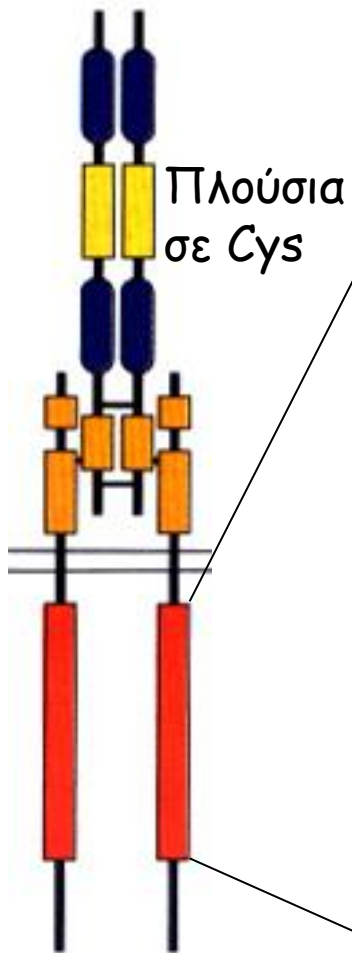
Ο αυξητικός παράγοντας που παράγεται από τα αιμοπετάλια (PDGF: platelet derived growth factor) είναι ένας διμερής αυξητικός παράγοντας, ο οποίος αποτελείται από δυο αλυσίδες, την A και την B και συναντάται στις εξής διμερείς μορφές AA, AB και BB.

Το AA διμερές συνδέεται στον υποδοχέα αα, το AB διμερές συνδέεται στον υποδοχέα αα και αβ, και το BB διμερές συνδέεται σε όλους τους τύπους των PDGF υποδοχέων

Υποδοχέας της ινσουλίνης

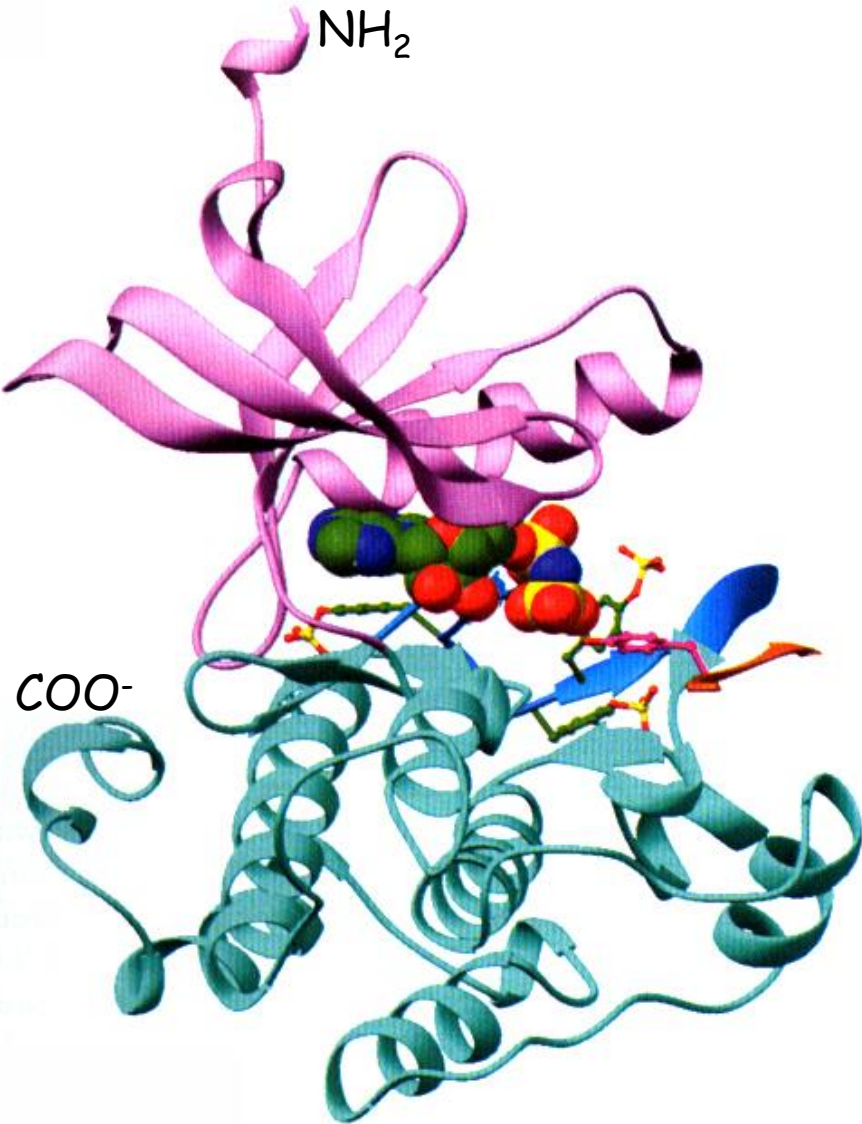


Δομή της καταλυτικής
περιοχής του υποδοχέα
της ινσουλίνης.

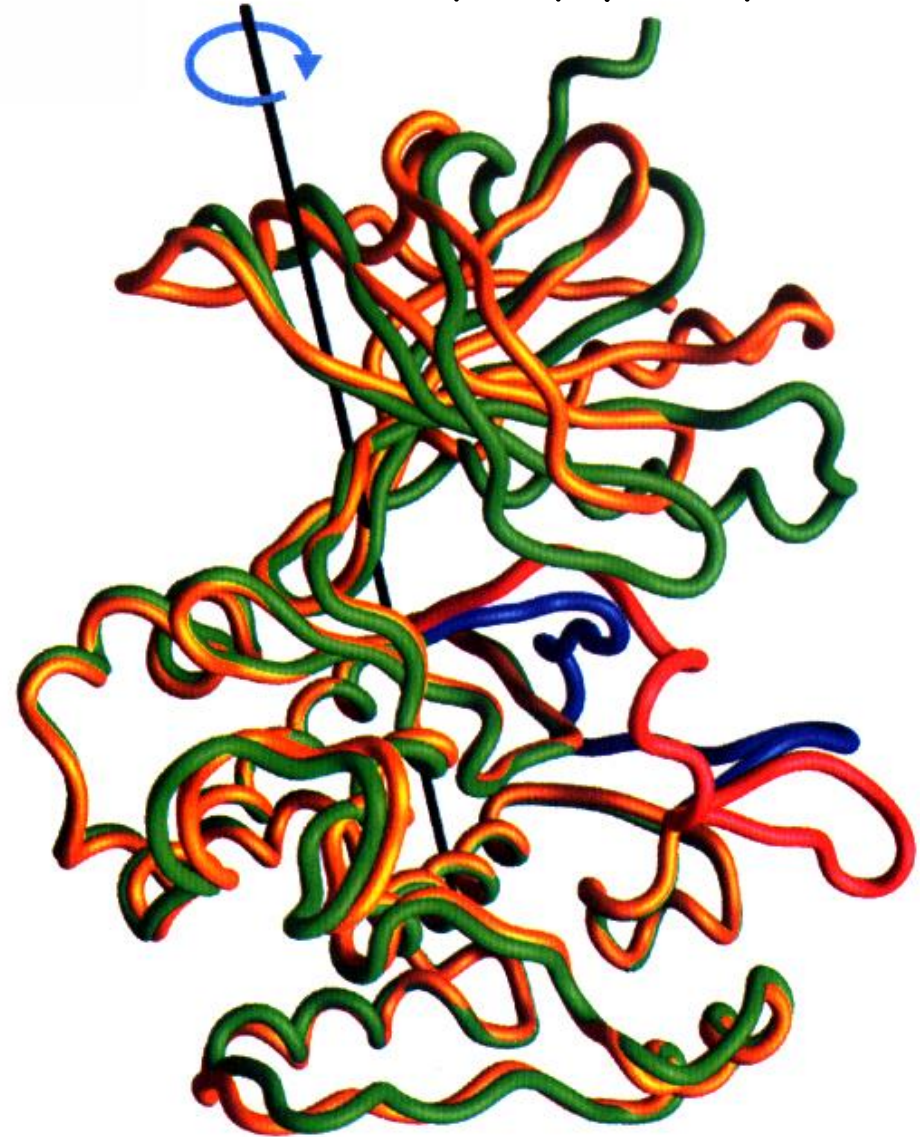


InsR

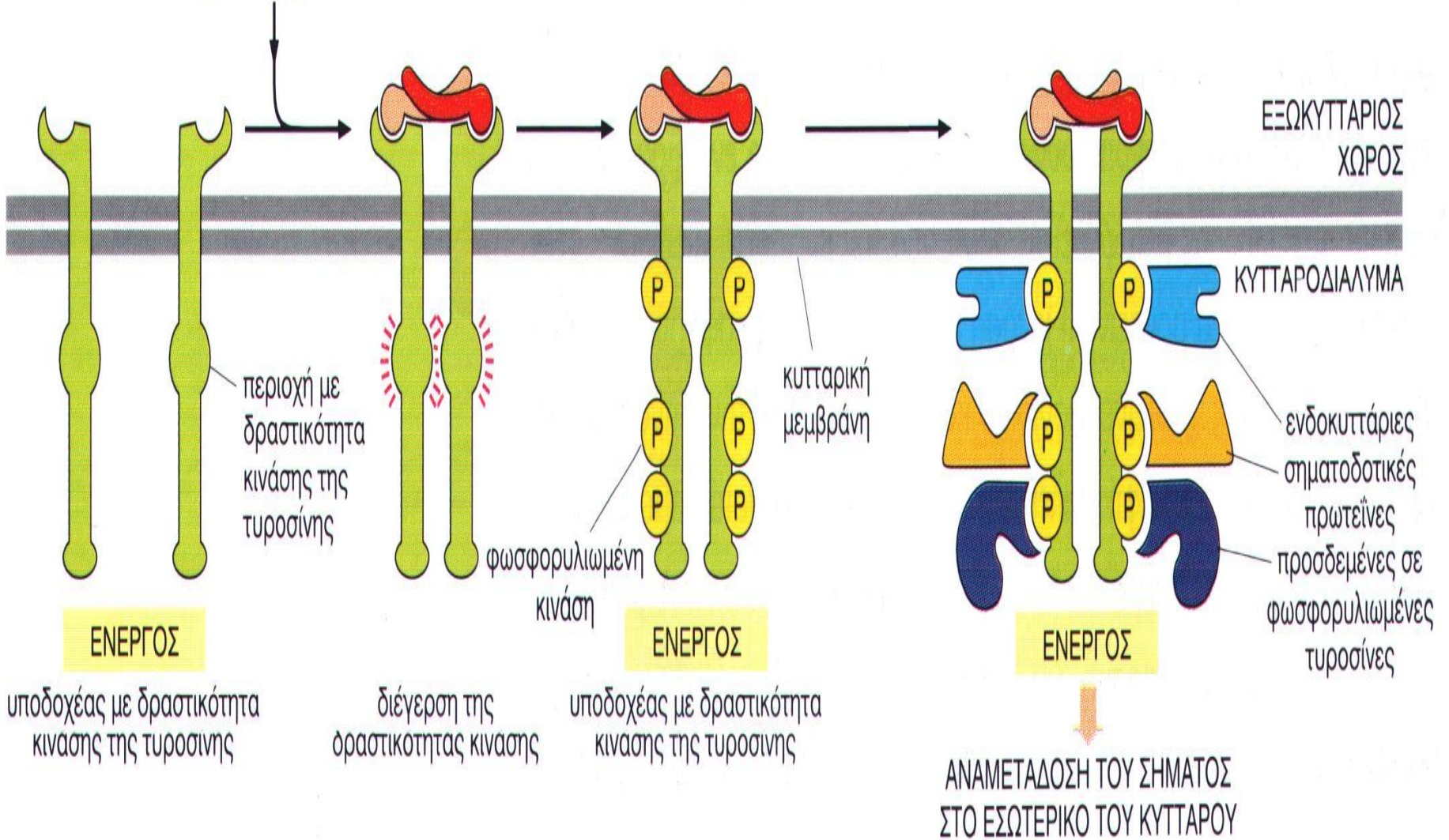
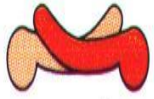
Δομή της καταλυτικής περιοχής του υποδοχέα της ινσουλίνης.

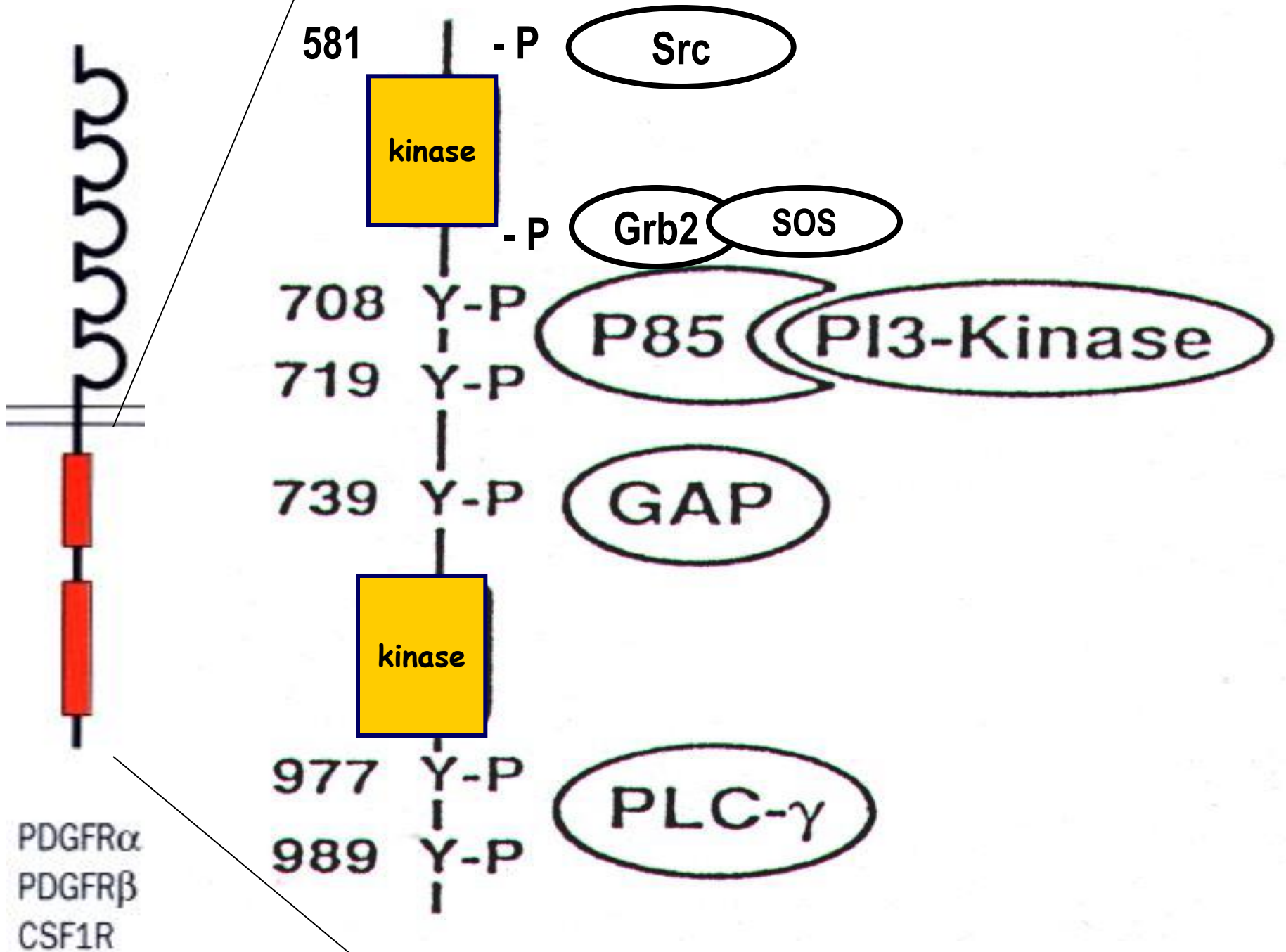


φωσφορυλιωμένη

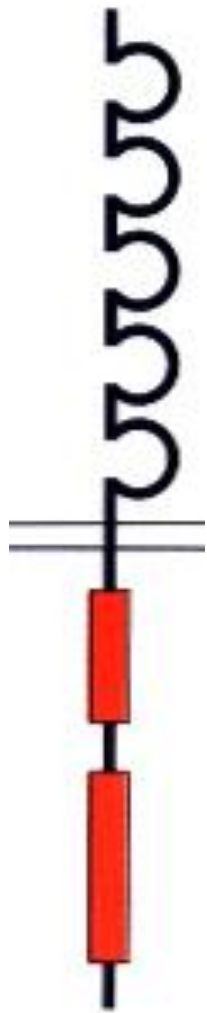


σηματοδοτικό μόριο στη μορφή ενός διμερούς

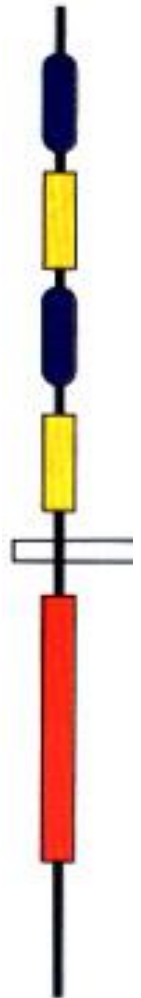
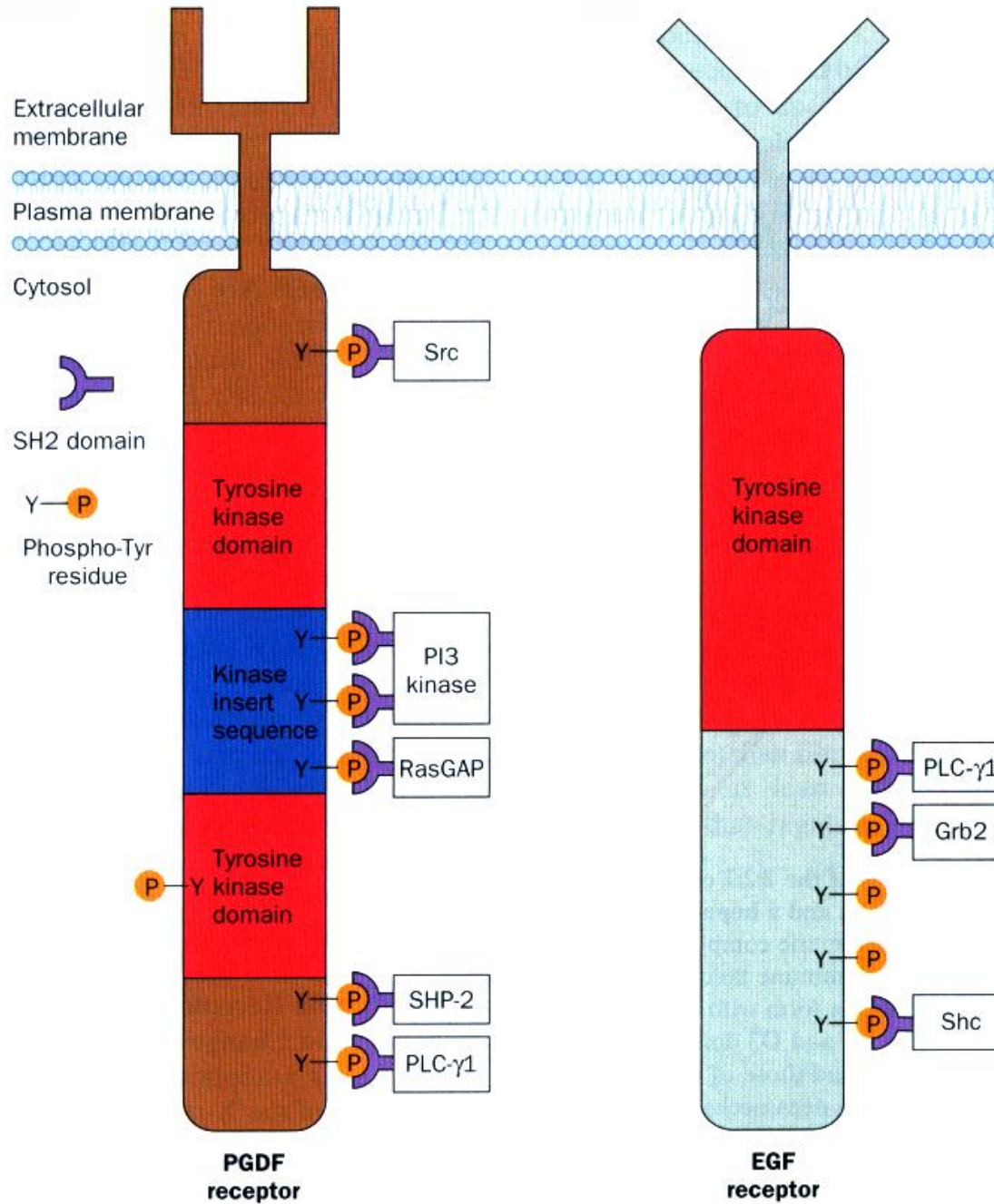




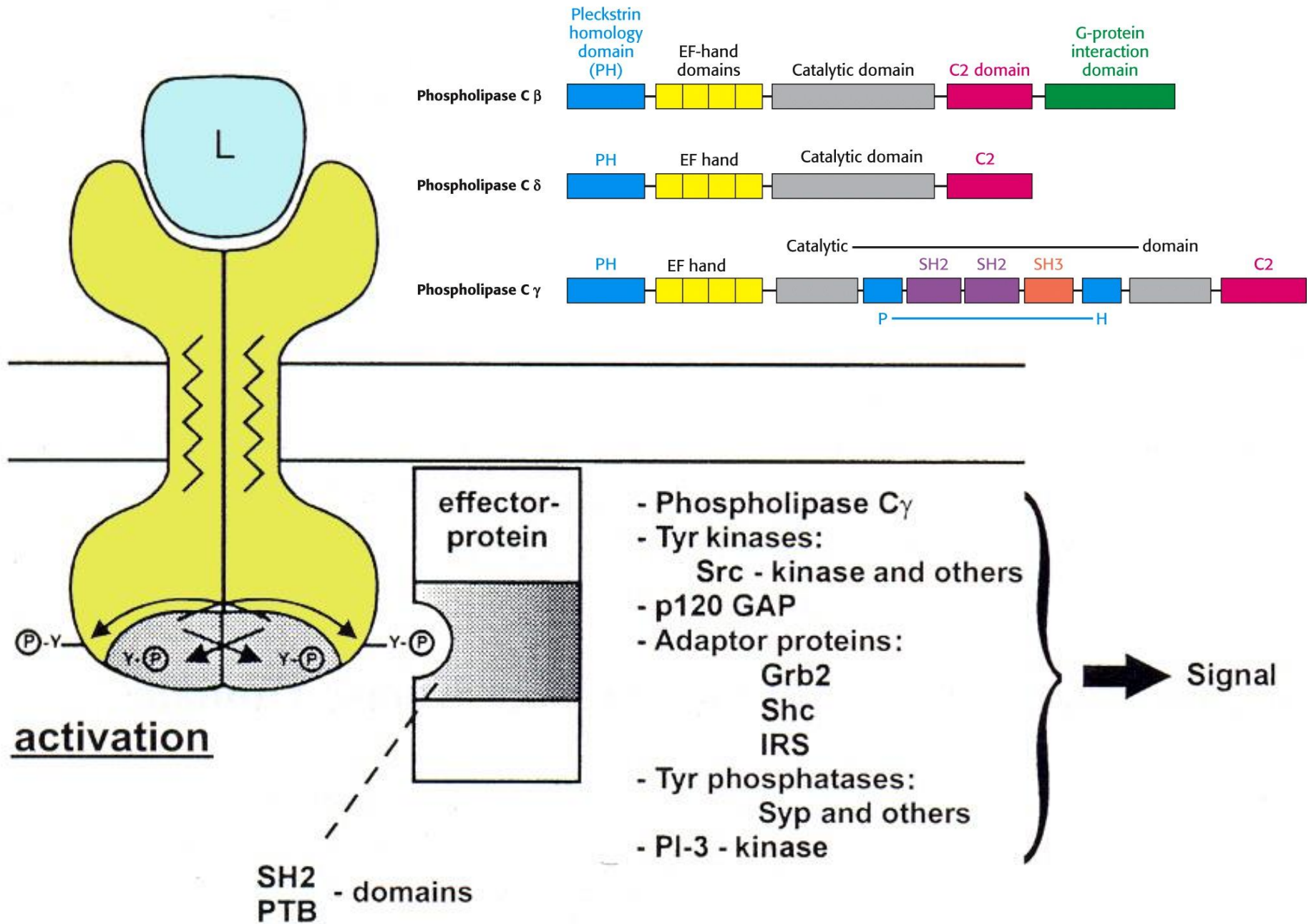
PDGFRα
PDGFRβ
CSF1R

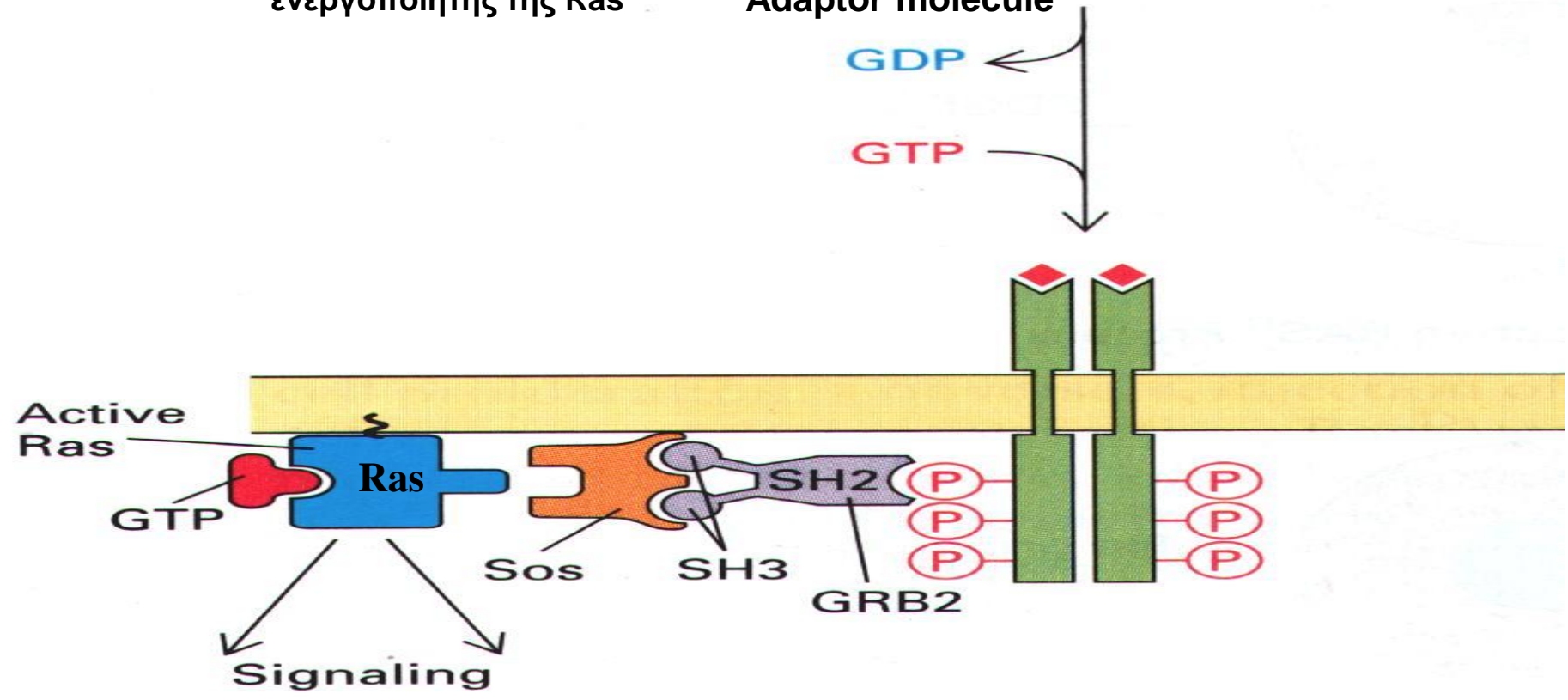
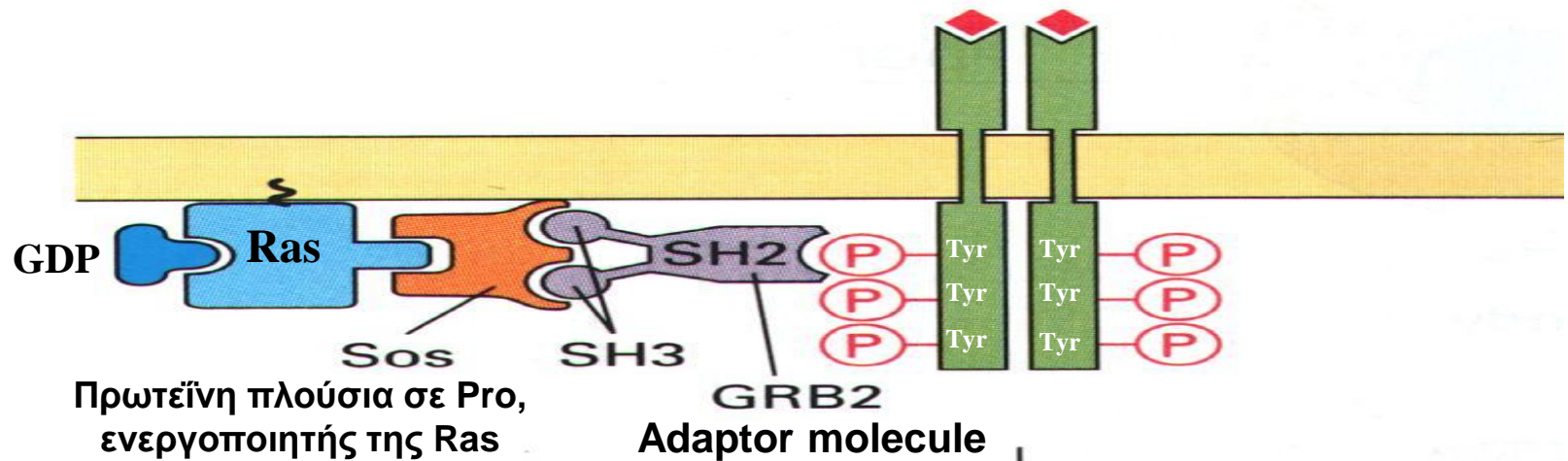


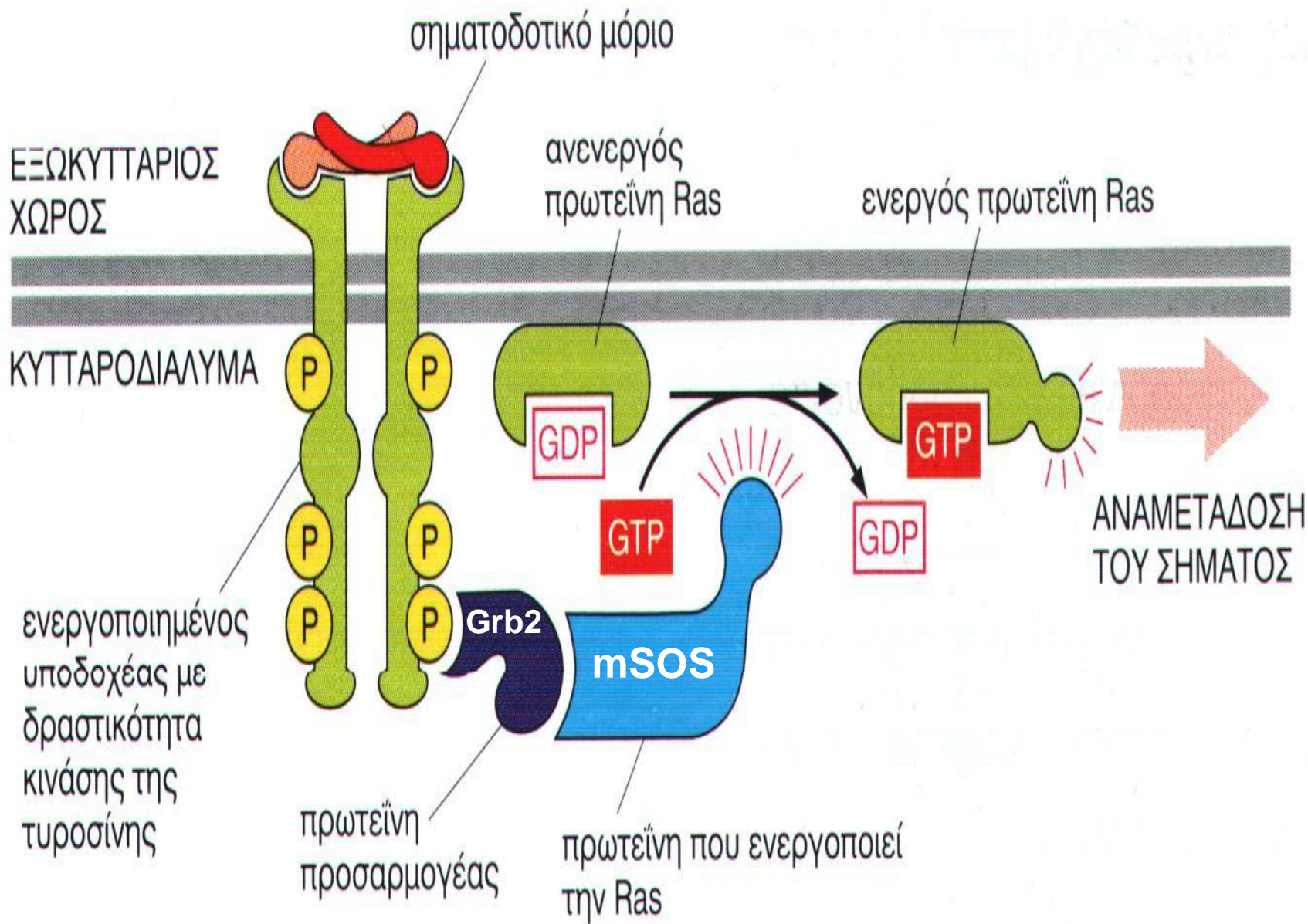
PDGFR α
 PDGFR β
 CSF1R

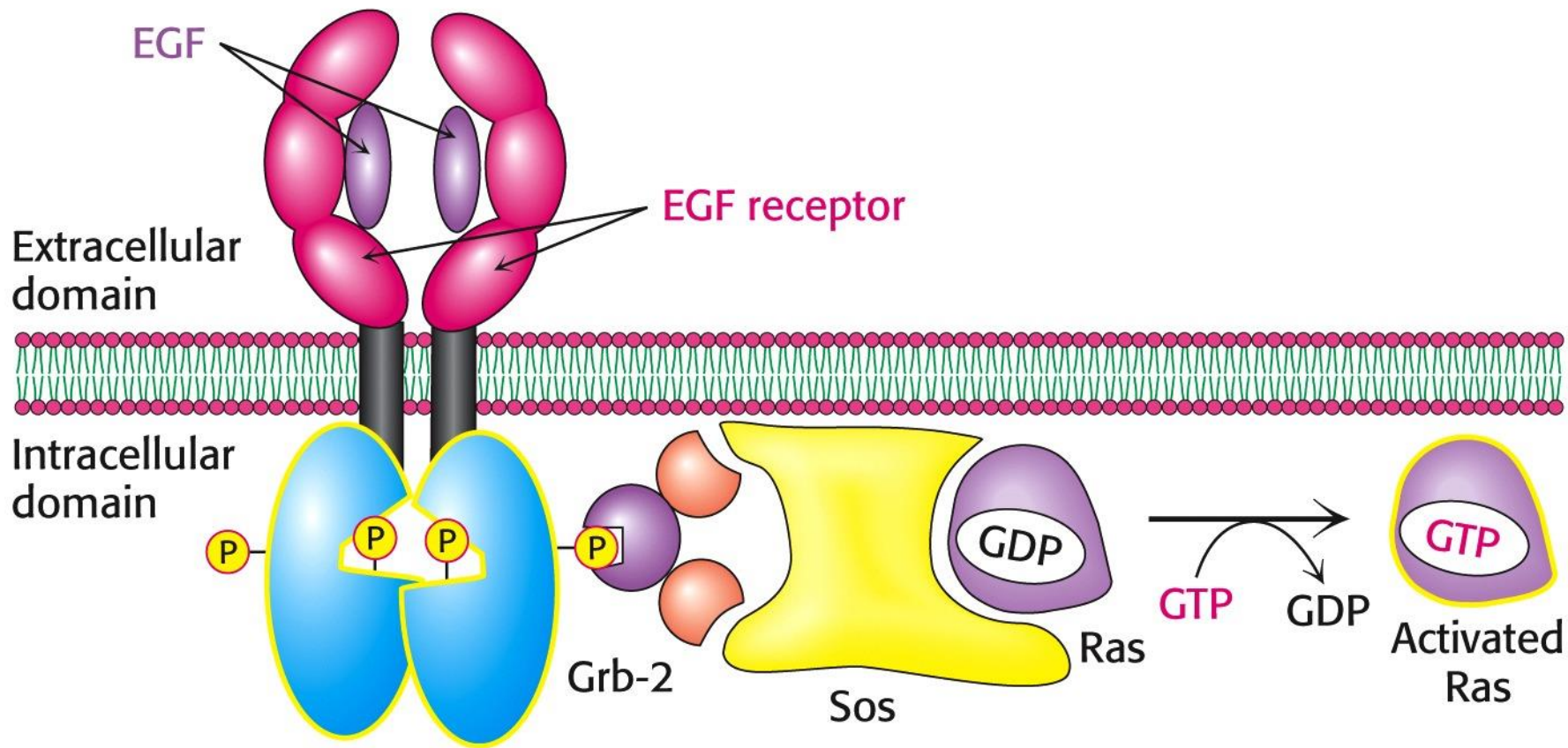


EGFR
 ErbB2
 ErbB3
 ErbB4







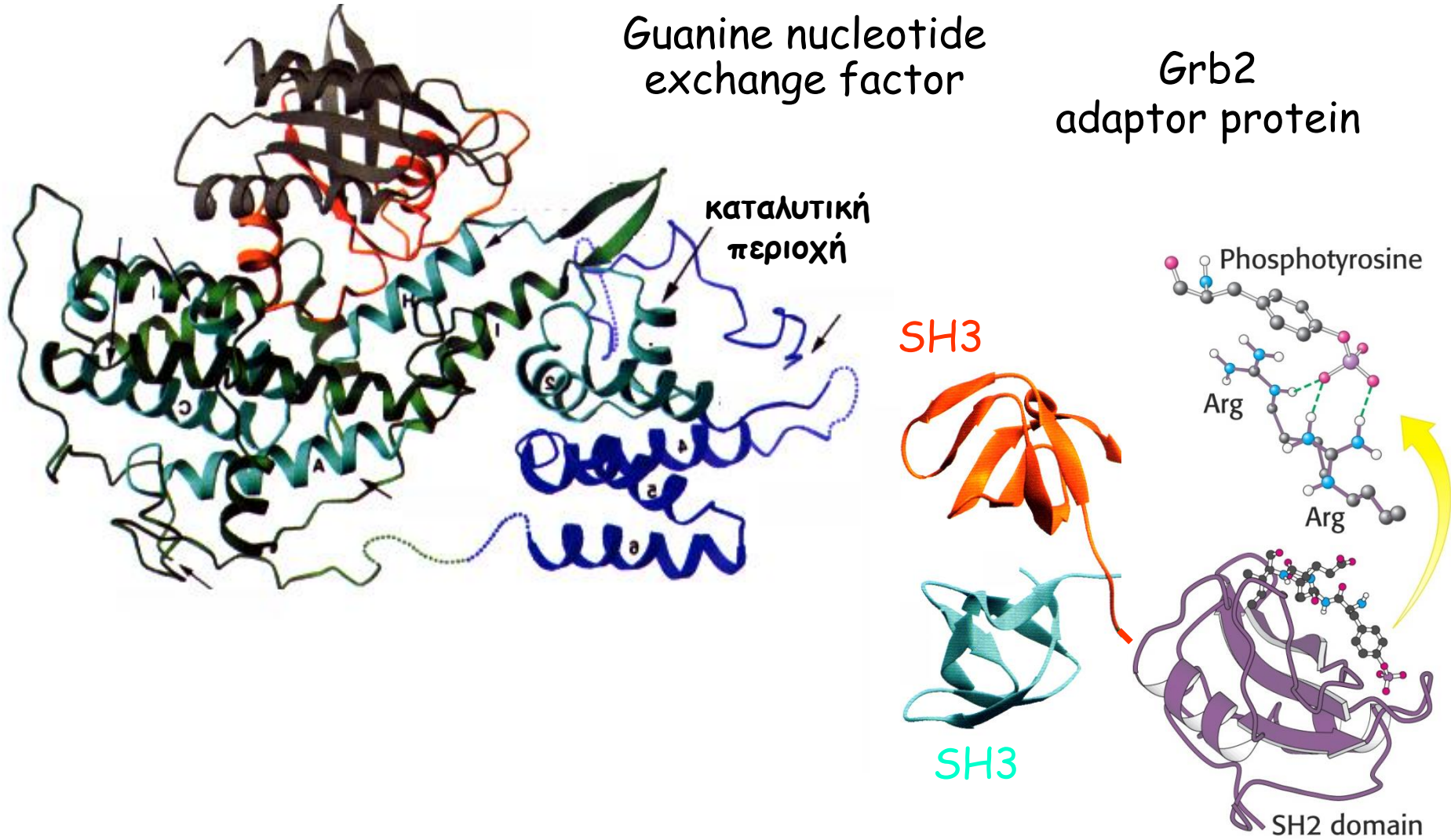


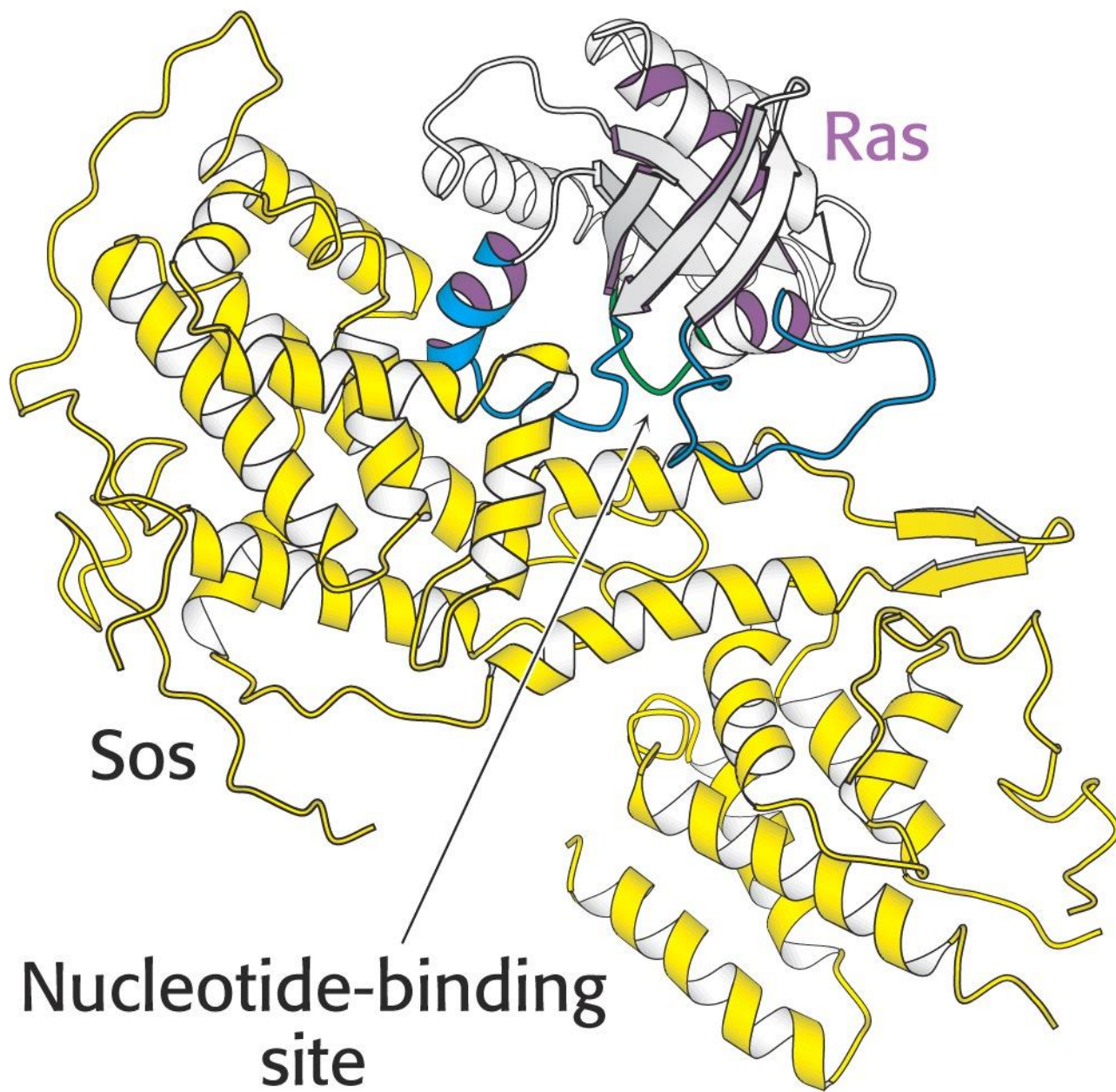
Ras
GTPase

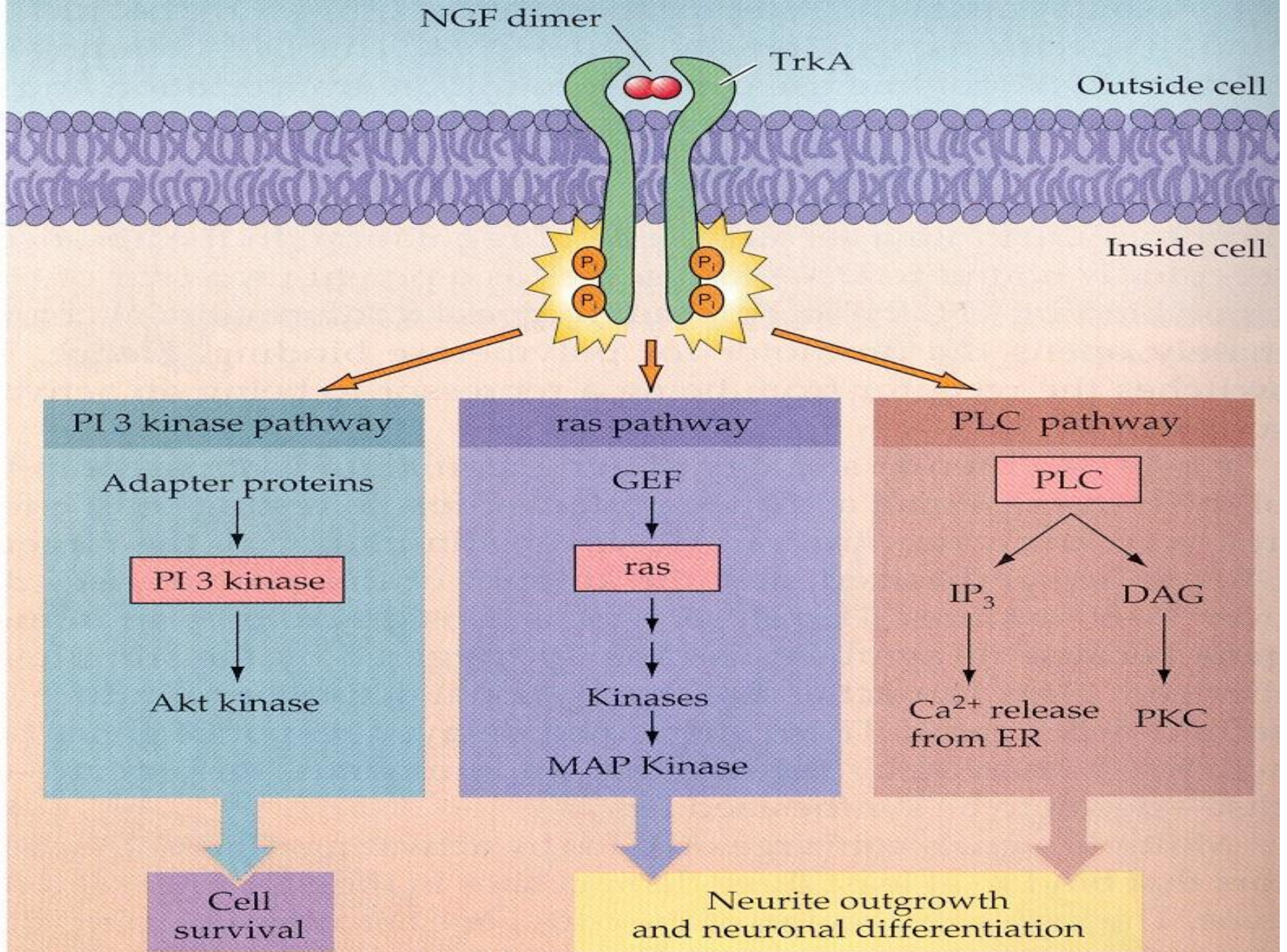
Sos

Guanine nucleotide
exchange factor

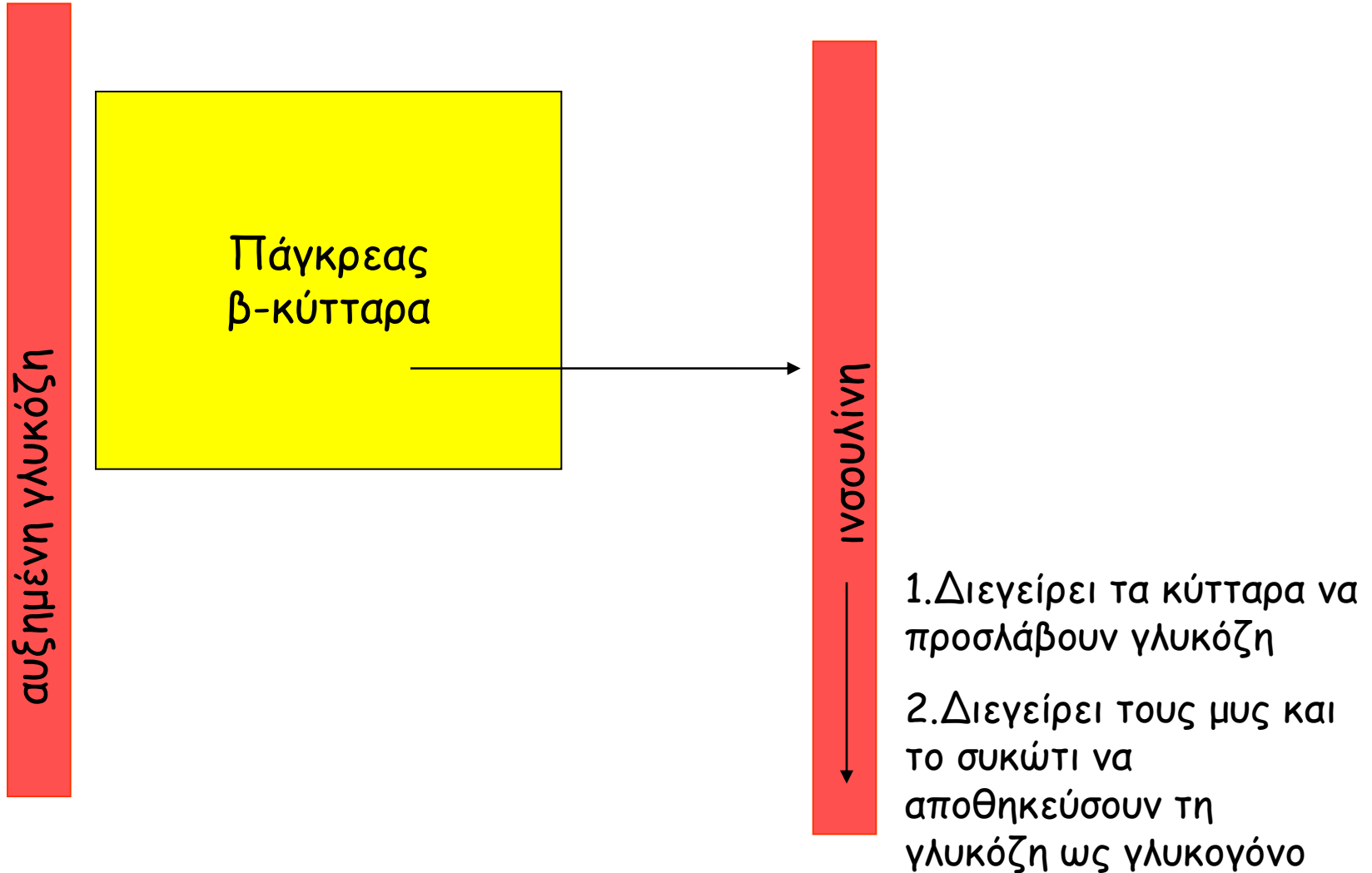
Grb2
adaptor protein

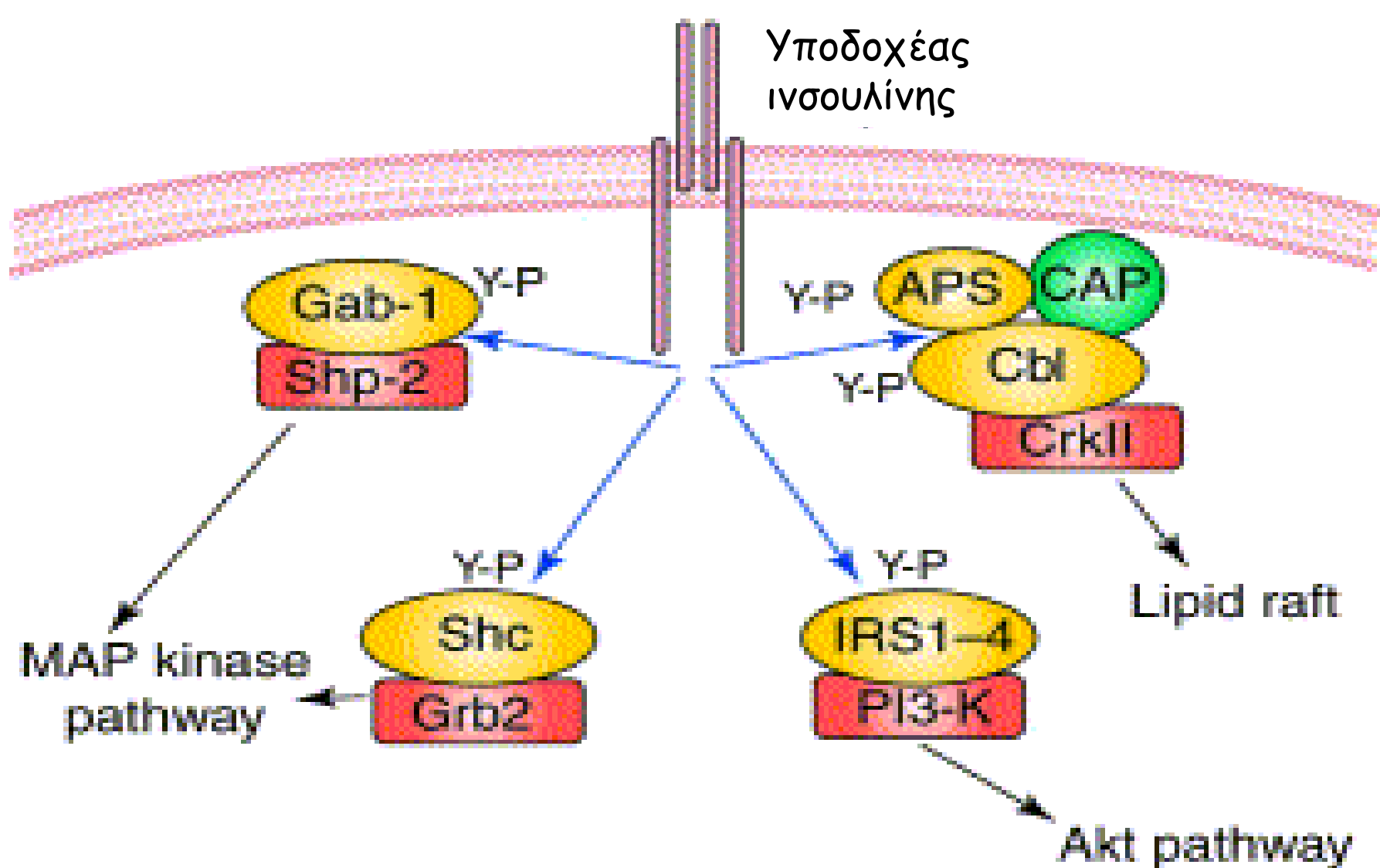


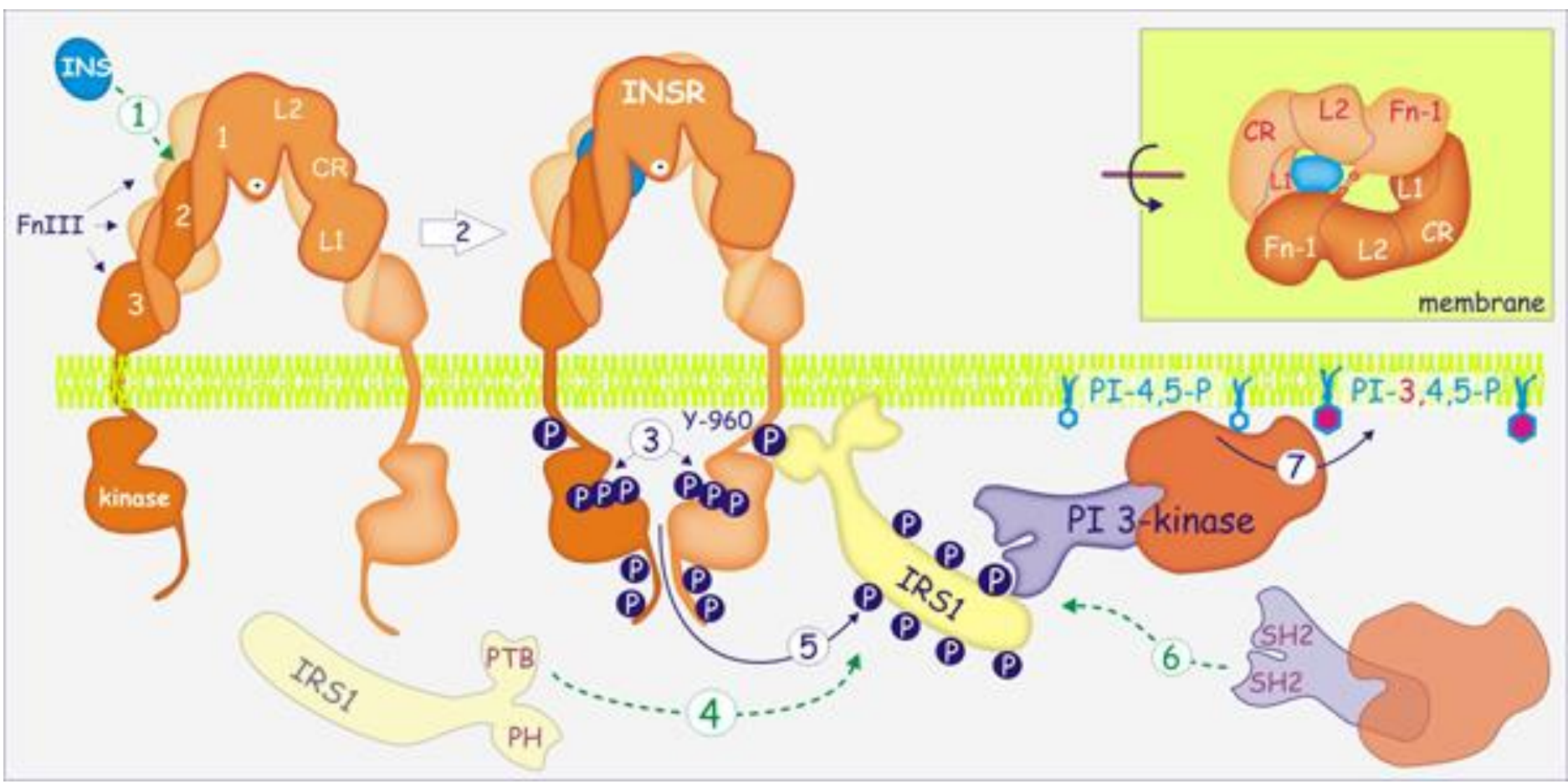


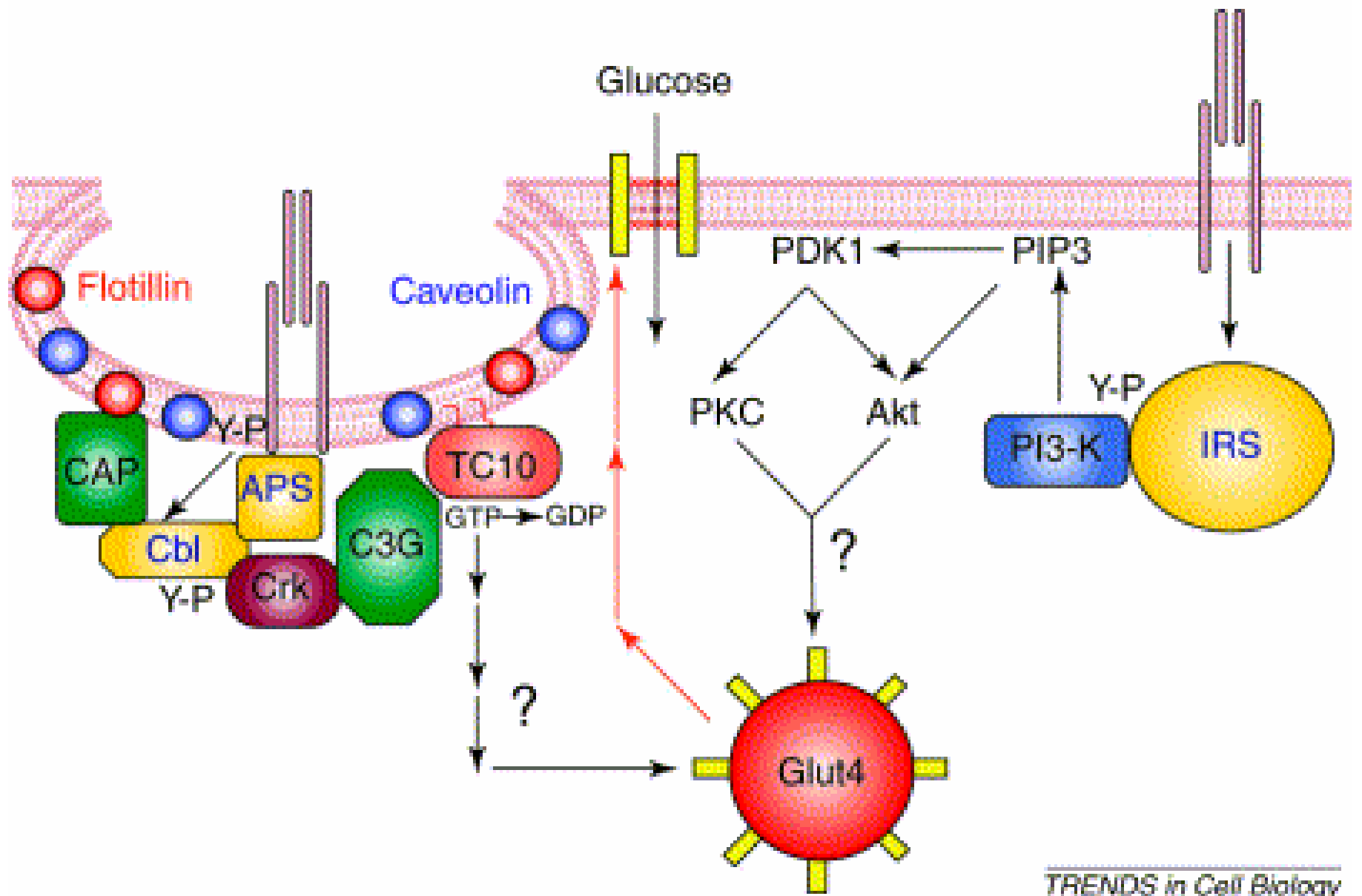


Μεταγωγή σήματος μέσω του υποδοχέα ινσουλίνης

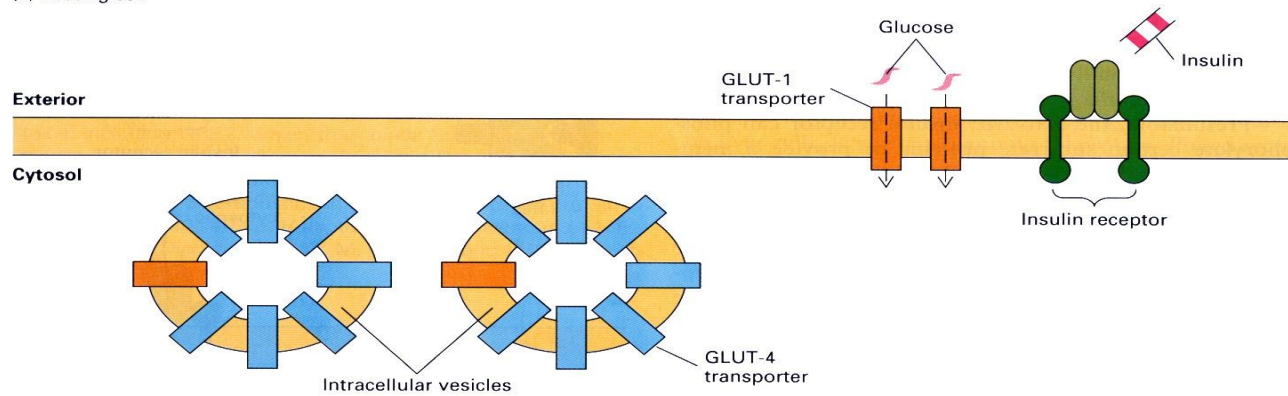




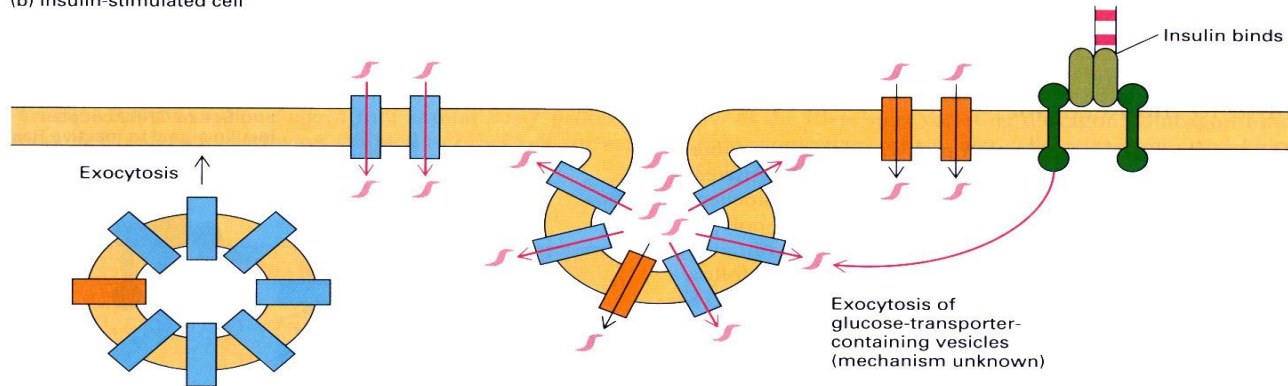




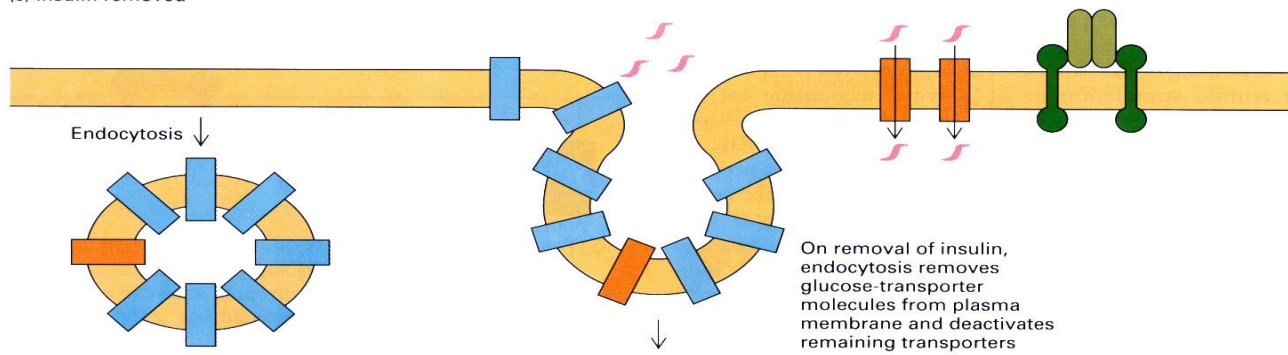
(a) Resting cell

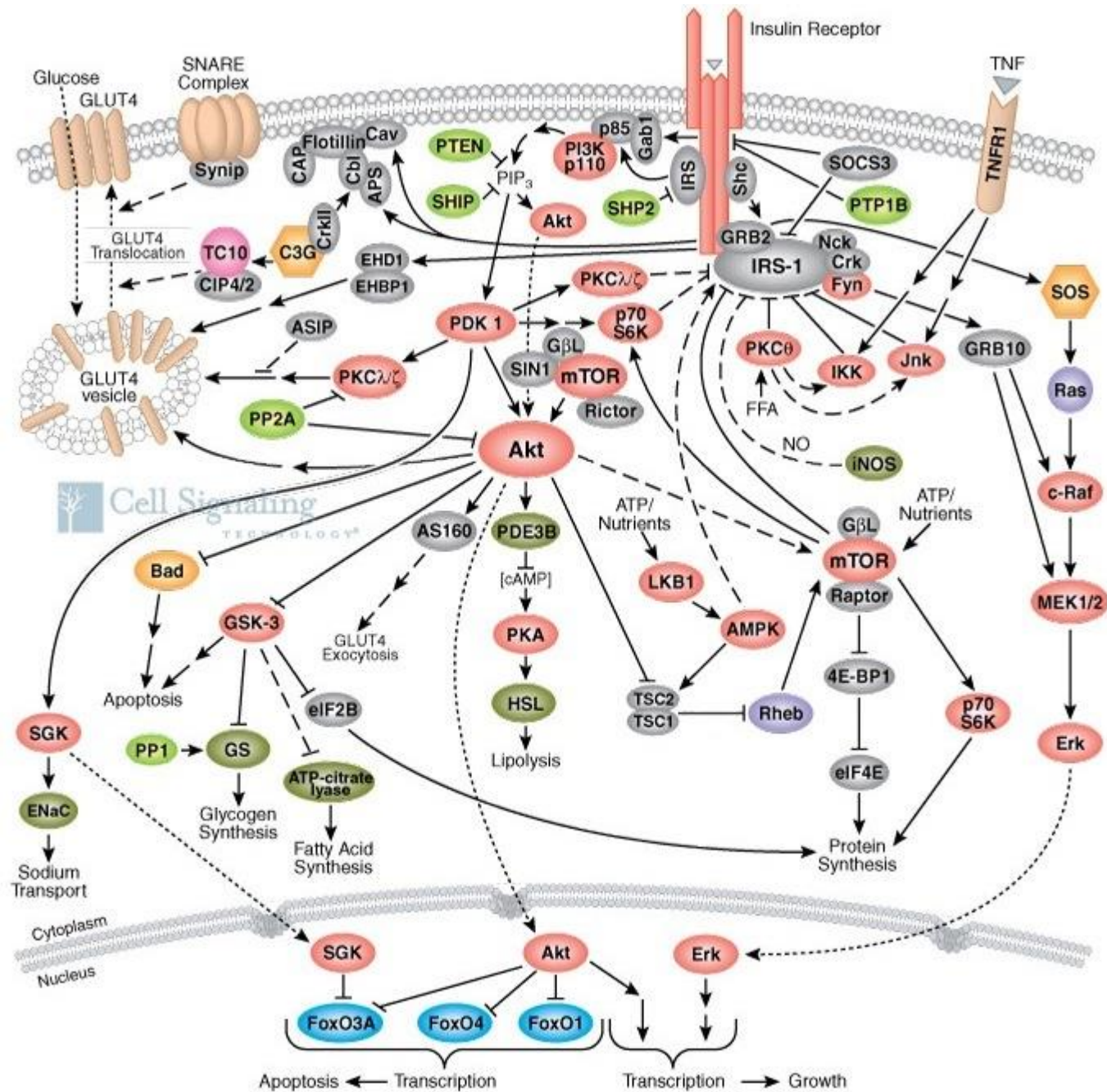


(b) Insulin-stimulated cell



(c) Insulin removed





Cell Signaling
TECHNOLOGY

Apoptosis ← Transcription Transcription → Growth