



Studienämnden Kf / Kb

Adressering

För att prot. ska hamna på rätt ställe får de "adresslappar", kallas **Sortings signals**. Känns igen sortings receptors.

~~Sortings~~ **Signal-svans**: Ett slag av dessa signaler. Består av aminosyraseresterna, ofta vid N-terminusen. Vid rätt placering tas svansen för vissa prot. bort av ett **signalpeptidas**.

Signal-sta (signal patch): Signal som tredimensionell konstruktion. Bild 5

KärnPerkKomplex (NPC) och Cellkärnan

Cellkärnan

Trängs genom kärnporer
Omsluts av ett yttre och ett inre cellmembran (nuclear envelope), och bildar ett mellanliggande område, ett lumen (lamina).

Innermembranet får struktur av intermedjära filamenter.

Yttermembranet är liksom lumen sammanklappat med motsvarande i ER. Stora områden klädda med ribosomer.

Trängstrång

Träng. står hela tiden mellan kärnan och cytosolen, av stora och små molekyler. Bild 6

NPC

Har fyra byggstenar: **lolumn-enheter**, som formar bukten, **annulära enheter**, som är centralt placerade, **laminära enheter**, som färankrar till membranet, och **ringenheter**, som formar den mot cytosolen/kärnan riktade sulan. **Fibriller** sprutar på bägge sidor. Kärnsidan är formade som basketkorgar, som förhindrar diffusion av större molekyler.

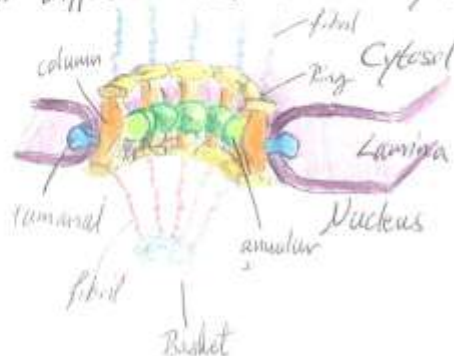


Bild 7



Studienämnden Kf / Kb

Små molekyler kan passera NPC genom fri diffusion, men ju större desto svårare.

17 kDa: Ganska snabb diff.

Större än 60 kDa ^{vikt} ⇒ Aktiv transp. krävs. Bild 8

En NPC byggs upp av ca 50 prot., väger ca 125 kDa.

Det finns ca 3000 - 400 NPCs/kärna.

Nuclear transp. receptors

Stor familj av receptorer, som reglerar transp. in/ut ur kärnan. Ett prot. som ska transp. igenom membranet behöver en signal, som säger att den ska igenom, och en receptor som känner igen signalen.

Nuclear localization signals anger att prot. ska in i kärnan, och känns igen av **nuclear import receptors**.

Nuclear export signals: prot. ska ut, känns igen av **nuclear export receptors**. Bild 9

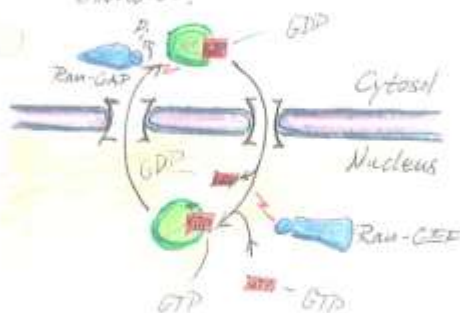
Ran GTPase

Monomersikt GTPase, ett prot. byttestillstånd till GTP/GDP.

Krävs vid utförande av import/export.

Växlar mellan två konformationer, beroende på om GTP/GDP är bundet.

Hjälpprot. hjälper Ran att skifta mellan lägena.



GAP, GTPase activating prot → Ran-GDP

Finns flest av i cytosolen → diff. t. kärnan

GEF, Guanine exchange factor → Ran-GTP

Finns flest av i kärnan → diff. t. cytosol

Transporten görs möjlig av gradient över membranet. Bild 10



Studienämnden Kf / Kb

Cargo loading/unloading

Transp-receptorer kan interagera med fibriller (FG), men ofta bara när de bär ett last-protein. → Diffusion in i kärnan.

I cellkärnan finns hög konc. av Ran-GTP, som binder till transp.-prot.^{receptor}. Om detta släpps lasten.

Ran-GDP binder ej → endast anslutning i kärnan!

När last är släppt kan transp.-prot.^{receptor} med Ran-GTP diffundera ut (utan Ran-GTP ej export!).

Älvs transp kräver energi från hydrolys av GTP.

Bild 12: α -helix i receptorn kan anta ~~flera~~ flera konformationer som respons på bindning av lastprot. och Ran-GTP. Bild 11

Binder till ~~ambingen~~ Ran d. transp. prot.

NFAT transcription factor

Har en export- och en importsignal (bil/från cellkärnan), som är beroende på om defosforylerat/fosforylerat tillstånd, respektive.

Vid låga nivåer av Ca^{2+} stängs NFAT av → cytosol.

I kärnan aktiverar NFAT transkription. Bild 13

Nuclear envelope during cell cycle

Lamina i kärnan fosforyleras, och som en följd depolymeriseras cellkärnan.

Kromosomer separeras. Nuclear envelope byggs upp igen kring kromosomer. Bild 14

Mitochondrier och kloroplaster

Organeller omslutna av dubbelmembran, specialiserade för att syntetisera ATP. Bild 15

Mitochondrier

Signalsekvenser som hänvisar prot. till mitokondrier är alla **amfipatiska** α -helixar, med en **+laddad** på en sida och **hydrofobiska** på andra. →

→ Känns igen av specifika receptorer. Bild 16

Har eget DNA, som syntetiserar några prot. De flesta importeras dock från kärnan.



Studienämnden Kf / Kb

5.3

TOM och TIM-komplex

Protein translocators, som medierar transp. genom mitokondriens membran. Består av många prot.

TOM-komplexet överför prot. genom yttre membranet \Rightarrow Translocase of Outer Membrane. Hjälper till att infoga prot. i yttre memb.

TIM-komplexet överför genom inre membranet \Rightarrow Translocase of Inner Membrane. Finns i två varianter; TIM22 och TIM23.

TIM23 har även förändring i yttre membran, ~~det är inte samma som TIM22~~. Hjälper till att infoga vissa prot. i inre memb.

Dessa komplex har receptor-komponenter och translocation channel-komponenter. TOM o TIM arbetar samtidigt ~~och~~ Bild 17 tillsammans, men oberoende.

Import

Ett protein transp. genom yttre membran av TOM-komplexet, med **signalselvansen först**, som binder till TIM. Prot. transp. sedan in i komplexet i Mitokondrien, eller infogas i cellmembranet. Bild 18

Energi för transport

Energien kommer ~~från~~ i tre steg

- 1 Att frigöra prot. från transp. prot. vid interagerande med TOM, kräver energi från ATP-hydrolys.
- 2 Överföring genom inre membranet via TIM, kräver elektrokemisk H^+ -gradient.
- 3 Att inha ett prot. (Hsp70) dra igång prot. genom inre membranet, via ATP-beroende konformationsförändring. Bild 19

Bild 20: Olika typer av transp. genom mitokondriens membran.

Kloroplaster

Principen är väldigt lika i mitokondrier och kloroplaster. ~~Principen är~~

Växter kräver signaler som koordinerar mitokondrier o kloroplaster.

Kloroplaster har dessutom en extra delning, **tylakoider**.

Prot. har en extra signalselvans, om de ska transp. dit. Bild 21



Studienämnden Kf / Kb

Peroxisomer

Organeller som skiljer sig från mitokondrier och kloroplaster. Knippas ~~från~~ i sitt tidigaste stadium av från ER och får prot. genom selektiv import från cytosol och ER. Har ett enkelt membran, och inget DNA. Utför oxidativa reaktioner. Kan känna igen signalsekvenser.

Endoplasmatiskt Reticulum (ER)

Organiserad som en nättliknande labryrint. En kontinuerlig yta som avskiljer ett område kallat **ER-lumen**.

Har många viktiga funktioner:

- **Syntetiserar** de flesta organellars **lipider** och **membranprot.**, samt **exporterande prot.**
- Fungerar som **Ca²⁺-lager**, som används för många ~~celler~~^{cellors} (organellers) signalering
- **Glykosylerar** prot. Påbörjas här, fortsätter i Golgi-apparatens

Ribosomer finns i två populationer: på ER och i cytosolen

Rough ER är områden täckta av membranbundna ribosomer.

Smooth ER saknar ribosomer. Områden här där vesiklar knippas av kallas **transitional ER**.

Ribosomer kan bilda "pärlband" på ER-ytan, bundna till ett mRNA, fäst i ER. Ribosomer ~~kan~~ lokaliserar av ER-signalsekvens. Återvänder till cytosol när translation klar. mRNA:t sitter kvar, fäst vid ~~en~~ varierande population av ribosomer. Bild 24, 25

Signal-Recognition Particle (SRP)

ER-signalsekvens bundet till ribosom guidas till ER av **SRP**,

som finns biling ER och i cytosol, och av **SRP-receptor** på ER. Har en hydrofob ficka, som binder till signalsekvens. Har en flexibel gångjärnsfunktion, som vrider sig runt ribosom, och **blockerar** translationen.

SRP-ribosom-komplex binder till SRP-receptor i rough ER. I om detta



Studienämnden Kf / Kb

Figurs SRP och SRP-receptor, varpå translation fortsätter genom en translokator. Ribosom är nu bunden till translokatorn, och polypeptidkedjan överförs. Denna **co-translationella transp** skapar de två populationerna av ribosomer.

Sec61

Proteinkomplex i kärnan har en translokator. Ansvarar för att släppa igenom ~~flera~~ polypeptidkedjor, och ansvarar för öppning av α -helixar kring por, med kort helix-plugg.

Flyttar helix el. öppnas i sidled.

Bild 27

Translokation av löst protein

ER-signal-sekvens fungerar som **start-transfer signal**, som öppnar por. Polypeptid överförs, och signalsekvens klippas av, av signal-peptidas.

Translokator öppnas på två sätt: **öppnar** por, släpper igenom hydrofob del av prot., el **öppnas i sidled** och släpper in hydrofob del i lipidlagret.

ER-syn känns alltså var två ggr, först av SRP därefter av ömlningsställe i por. Bild 28

Transmembranprotein: stop-transfer

Börjar som förra. Start-transfer binder till por, klippas av när övf färdig.

Här finns även **stop-transfer signal**, som avstannar övf. när den når por.

När start-transfer klippats av infogas proteinet i membranet

→ Membranbundet prot.!

Bild 29

Internal signal sequence, orientation

Ett prot. som ska infogas i membran kan komma åt två olika håll, vilket bestäms av laddning hos närliggande (map signalen) aminosyror. + utånför, - inånför.

Bild 30

Multipass membrane proteins

Dessa har en inre start-transfer signal som påbörjar övf, fortsätter tills stop-transfer när translokatorn. **Double-pass**-prot. infogas då i membr., medan **multi-pass** har fler start-/stop-sekvenser som interagerar med andra translokatorer, innan infogning.

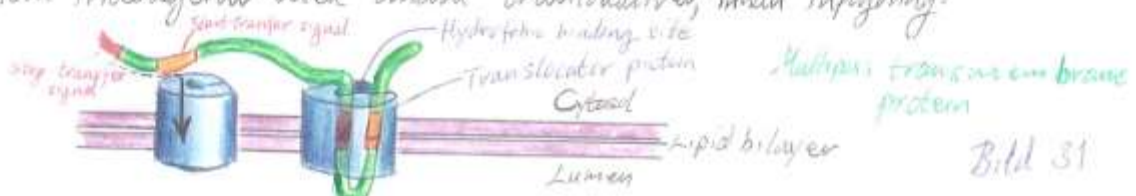


Bild 31



Studienämnden Kf / Kb

Glykosylering

Nästan omedelbart efter sin entré i ER glykosyleras polypeptider (glykosyl)
En oligosackarid öuf. via reaktionen katalyserad av oligosackaryll transferas.
Ej komplett veckade prot. får en modifikation i form av en sockergrupp,
som fungerar som signal för om prot. är färdigveckat el. ej
Calnexin: membr.prot. som veckar prot. Sockergrupp borttaget av
glukosidas → frisläppt → Kontrolleras om färdigveckat av
glykosyltransferas. Om inte transp det tillbaka, annars klart. Bild 33

Felveckat protein

Transp till cytosolen, där de deglykosyleras, märks (med ubiquitin)
och degraderaderas (i proteasomer). Bild 34



Studienämnden Kf / Kb

Cell- och Molekylärbiologi 2

Föreläsning 3, 2009-02-03

Vesicular trafficking

Kap 13

Magnus Helmi

Vesikeltransport

Transport-vesikel är en membranomsluten bärare. Knoppar av från ett membran och smälter ihop med ett annat, bärande membranmaterial och lösta molekyler. Transp. till olika delar av cellen. Lumen hos membransomslutna avdelningar är topologiskt ekvivalenta. Både vid avskjuvning och vid sammanslagning med ett annat membran krävs en fusion av membran, vid avskjuvning initierat från lumen, vid fusion initierat av bida.

För att upprätthålla balansen transp. åt båda håll.

Proteinsynthesen stigen leder från ER → Golgi → Cellytan, med ett led till lysosomer vid sidan av Endocytiska ledet går inåt från plasmamembr.

Bild 1-3

Coated vesicles

Många prot. knoppar av fr. membr. som coated vesicles, som har en bär av prot. som täcker ytan.

Bildande av vesiklar kräver energi, som delvis kommer från prot.

Det finns 3 typer av coat-prot.:

Clathrin - Medierar transp från Golgi och från plasma-membranet.

COPI - Knoppar fr. Golgi, medierar transp. fr. ER och Golgi.

COPII - Knoppar fr. ER, - - - -

Bild 5

Clathrin coat

Är formade som symmetriska nättliknande strukturer. Består av tre stora och tre små polypeptidkedjor.

Bildar spontant glychedvala burar → Kan skapa kraft att lyfta ut membr. med.

Bild 6



Studienämnden Kf / Kb

Formation av clathrin coat

Adaptor prot., som binder membran, rekryterar clathrin och last-receptor, och därigenom medierar selektiva rekryteringen av membran och lastmolekyler.

Vid ansamling av coat böjer sig membr. utåt och skapar en sfärisk vesikel. Clathrin coat släpper kort efter bildande av vesikel. Bild 7

Sparering av membran vid vesikel.

Dynamin är prot. som snör sig runt kvarvarande membranbit. Vid avnyppning fusevas det avskiljda membranet (smälter ihop till septinbälta). Bild 8

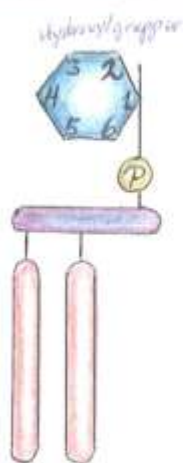
Retromer

Annan variant av coat prot., som bildas på endosomer och släcker tillhållna receptorer till Golgi.

Tre kvan för att coat ska bildas:

- Retromer binder last-receptor
 - " interagerar med ett böjt membran.
 - " binder till fuchsvat fosfatidylinositol-lipid
- Bild 9

Fosfolipider



PI eller PIP, består av mindre än 10% av ett membranfosfolipider.

Kan ha olika kombinationer av 1, 2 el. 3 fosforylerade hydroxylgrupper, vilket ger olika typer.

Används för att märka organeller och Membran-domäner

Bild 10

Formation av COPII

Sar1 är ett coat-rekryterande GTPase, som ansvarar för formation av COPII-coat.



Studienämnden Kf / Kb

Snarl är inaktivt i GDP-form. GEF-prot. i ER-membr. får Snarl att byta GDP \rightarrow GTP \Rightarrow Aktiveras! Prot. blettar nu en amfifila helix, som infogas i membr. Coat-prot.-enheter rekryteras \Rightarrow klumpning inledds. Bild 11

Rab och SNARE

När en vesikel väl är frigjord måste den hitta till rätt målcymbell.

Rab-prot. är monomera GTPaser, som ofta är specifika för transp. mellan två olika membran. (Funktion, som Snarl). 60 olika.

I aktivt GTP-läge är Rab-prot. bundet till membr. (aktiveras av Rab-GEF)

Leads av Rab-effektor till SNARE, som medverkar fusjonen av membran. Bild 12

Rab5-domän

Medverkar infångande av clathrin-coat-vesiklar. På endosommembr.

Rab5-GEF rekryter Rab5 till membr., aktiverar till GTP-form.

Rab5 aktiverar fler Rab5-GEF och aktiverar kinas, som binder Rab5-effektorer. Bild 13

SNARE

Prot. som katalyserar membr.fusion, gör att rätt membr. parar ihop.

V-SNARE hittas på vesiklar, består av en polypeptidkedja.

t-SNARE finns på målmembr., består av två-tre kedjor.

SNARES har konserveriserade helixdomäner.

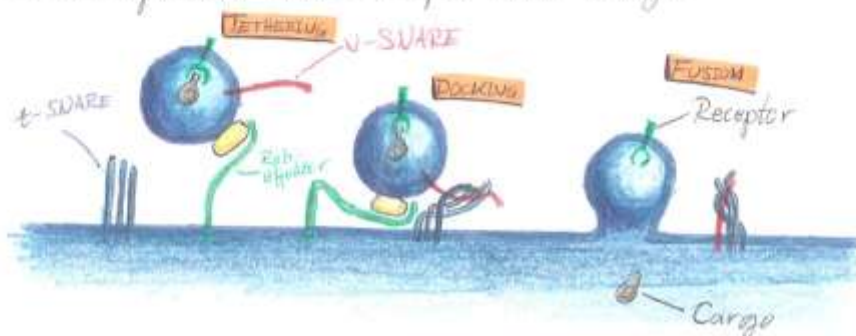
Då v-SNARE interagerar med t-SNARE vrider de sig runt varandra.

Tvingar membr. närmare varandra, pressar ut H₂O

\rightarrow membr. i kontakt \rightarrow hemifusion (halvfusion) \rightarrow fusion!

För att separera SNARE-komplex krävs energi.

Bild 14





Studienämnden Kf / Kb

Transport från ER till Golgi

Lastning

Vilka prot. som lastas in i vesikel är en selektiv process, många blir alltså rekyterade. Transp. av **COPII**

Lastprot. tros ha transp. signaler på cytosolsidan, som känns igen av **COPII**-komponenter (last-receptorer som **transp. tillhåller till ER** efteråt)

Lösliga lastprot. har signaler som fäster dem till transmembr. lastreceptorer.

Felvikta el. inkomplekta prot. hålls kvar i ER, skickas ej iväg innan syntetiseringen är klar. För att de inte ska skickas för tidigt binds prot. av andra prot. Transp. signal kan också täckas för. Bild 15

Vesikelkluster

Komplex av vesiklar som transp. till Golgi.

Vesiklar som transp. kan fusera genom **homotypisk fusion** (fusion av memb. från samma avdelning). Detta kräver dock **matchande SNAREs**.

När kluster bildas börjar de **knoppa av vesiklar**, för att transp.

tillbaka receptorer mm, för att kunna hämta mer last från ER. Bild 16

Återtransport till ER

KDEL-svans - återtransp.-signal, ~~finns~~ finns på prot. som hör hemma i ER.

KDEL-receptor - receptor som ER-tillhörande prot. måste binda till.

Bär tillbaka prot. i **COPI-coat** vesiklar till ER.

Måste ha **låg affinitet** till KDEL-svans i ER, men **hög affinitet** i Golgi och i vesiklar. **Högre pH → Högre affinitet!** i Golgi
surare. Bild 17

Transport genom Golgi

Golgi stort komplex av platta, membranomslutna avdelningar.

I Golgi fortsätter modifieringar som påbörjades i ER, olika mod. i olika avdelningar

Sortering sker i trans-Golgi.



Studienämnden Kf / Kb

Lysosomer

Från Golgi transport. prot. som ska till lysosomer

Lysosomer är organeller som är fyllda med hydrolytiska enzymer.

Fungerar bäst i sura miljöer. Deras inre hålls surt. Om läckage sker gör enz inte mycket skada, eftersom cytosolen har pH ~7,2.

Är cellens nedbrytningssystem, som bryter ned socker (MC) som tagits upp med fagocytos. Kan även äta upp cellägna organeller mm, för att få byggmaterial till cellen.

Det finns tre vägar som leder nedbrytning i lysosomer:

- Fagocytos
- Endocytos
- Autofagi, cellägna organeller

Bild 21

M6P-signdar

Mannose-6-phosphate. Söchermarkering för att lysosom-tillhörande prot. ska kännas igen.

Känns igen i Golgi av M6P-receptorer, som rebyterar clathrin-coat, som skickas till tidig endosom (som blir lysosom).

Prot. dissocierar från receptor vid lågt pH. Fasttaggrupp klippas bort, för att de g händelserna skickas tillbaka när receptor återtransport i retrovomer-coat, för återanvändning.

Vissa M6 skickas till plasmamembr. för att samla upp förymnda enz. Bild 22

Endocytos

Process genom vilken cellen tar upp malvärdelyster ~~sk~~ och celler genom att innesluta dem i små portioner av plasmamembr.

Pinocytos utförs av nästan alla euk celler. "Celldrickande", tar upp fluider och lösningar.

Fagocytos utförs av specialiserade celler, ex Makrofager ^{ut bildnings} "Cellätande", tar upp stora partiklar, ex MC och döda celler.



Studienämnden Kf / Kb

Fagocyter kan triggas av ex. antikroppar, som binder till infekterande MOs yta.

Vid fagocytos formas **pseudopodier**, utskott, av actin-polymerisering och omorganisering, som respons på modifieringar i memb. När de slutligen bringar partikel är en **fagosom** bildad. Bild 23-24

Receptormedierad endocytos

En sätt för cell att ta upp spec. makromolekyler. Makromolekyler binder **transmembr. receptorprot.** och transp. in i cell i clathrin-coat.

Bild 25.a: Transp. av kolesterolprot. i membranpartiet, **LDL-partikel** (low-density lipoproteins)

Vid upptag av LDL binder dessa till **LDL-receptor**, och innesluts i **coat-vesikel** (coatprot. släpper efter kvaspring). Vesikel fusionerar med tidig endosom, varpå LDL dissocierar fr. receptor. Receptor **sluckas** tillbaka till plasmamemb. LDL → Lysosom → kolesterol frigörs. Bild 25

Endosomala äten

Det finns tre stadier hos endosomer:

- **Tidig endosom**. Material som endocytots ~~fr~~ transp. till dessa. Kan vara unika för spec. domäner i en cell. En del material sluckas tillbaka till memb. för återanvändning, och hamnar där i sin rätta domän.
- **Sen endosom**. Utvecklas fr. tidiga endosomer som transp. mot cellens inre längs med Mt. Utrustas med nya prot. och enz., samt får memb. invaginationer, som formar inre vesiklar.
- Sen endosom bildar (**autolysosomer** och) **lysosomer** genom att fusionera med existerande lysosomer. Bild 26-27

Sortering i Golgiapparat

I trans-Golgi sker sortering av prot. för att de ska hamna på rätt ställe. Kan släckas direkt till sin slutdestination, el. indirekt, ~~släckas~~ om det stöds fel och däröfter släckas rätt med tidiga endosomer.



Studienämnden Kf / Kb

I vissa polariserade celler är det viktigt att olika membranområders sammansättning upprätthålls, ex. nervceller och epitelceller. Domäner skildas av tight junctions, förhindrar diffusion. Skillnad i domäner beror oftast på selektivitet vid destinationen, föl elimineras, rätt stabiliseras. Bild 28

Golgi delar in prot. i tre klasser:

- Signal-mediad transp. till lysosomer. Märkta m. M6P för spec. vesiklar.
- Signal-mediad transp. till ^{för regulated secretory} secretory vesicles. Mär på liknande sätt.
- Konstitutiv secretory transp. Inte selektiv i opolariserade celler; går direkt till celltan. För polära selektiv. Bild 29

Exocytos

Vesiklar ~~transp.~~ transp. t. plasmamemb. och släpper ut prot. utanför cellen (tillför samtidigt material t. plasmamemb.). ^{utvärter, utvärteriska} Alla celler kann utföra **constitutive secretory pathway**, medan specialiserade har **regulated secretory pathway**. Selektiverade prot. transp. till secretory vesicle. Koncentreras och lagras, tills extracellulär signal stimulerar utsläpp. Bild 30

Prot. packas i rätt vesiklar i trans-Golgi genom selektiv aggregering. Kane. längs rum. Bild 31

Neurterminal

Synaptiska vesiklar, sekretoriska, packade med neurotransmittorer, som medierar signalering.

Aktionspot. får vesiklar att släppa sitt innehåll.

Alla vesiklar finner inte ut sitt innehåll vid varje signal, men för att ändå snabbt få nya vesiklar tillgängliga återanvänds vesiklarna. Först till plasmamemb m. konstitutiv, återbindas m. endocytos, och fylls oftast direkt m. nya ^(reglerad) transmittorer. Bild 32-33



Studienämnden Kf / Kb

Cell- och Molekylärbio 2
Första omg. 7, 2009-02-09
Signaltransduktion I

Kap 15
Magnus Helin

Kommunikation mellan celler sker främst genom extracellulära signalmolekyler.

Signaler tas upp av receptorer främst på ytan, men även inuti cellen.

Receptorn på ytan aktiverar en el. flera intracellulära signalvägar, beroende på intracellulära signaleringsprot. Effekter prot. påverkar förändring av cellens beteende. Bild 1

Liganter och receptorer

Multicellulära organismers celler kommunicerar med hundratals signalmolekyler.

Signal-molekyler, ligander, binder till receptorer; genom vilka cellen ger respons på signalen. De flesta signaler är hydrofoba och binder till receptorer på ytan. Vissa mindre signaler är hydrofoba, och kan diffundera in genom cellmembran och binda receptorer på inidan. Bild 2

Signalering

Fyra former av signalering mellan celler:

- **Kontaktberoende:** Kräver att cellerna mellan vilka sign. går är i kontakt. Liganden sitter på den signalerande cellen.
 - **Parakrin signalering:** Sign. släpps extracellulärt. Lokal form av sign. ^{Autokrin form av denna svarar cellen själv på} tas upp av grannceller, övriga förstörs/inaktiveras.
 - **Synaptisk sign.:** Nervceller öf. sign. elektriskt med aktionspot. och sign. substans i synapser (som transp. i vesiklar och frisätts), substanslöst. Hög lokal konc. av sign. substans, men i receptorer låg affinitet för denna, för att receptorer snabbt ska kunna frigöras. Lång räckvidd.
 - **Endokrin sign.:** Sker mha hormer som transp. in blodet. Har lång räckvidd, och kan svara alla celler i kroppen med rätt receptorer. Låg konc. av sign., men hög affinitet till receptorer. Bild 3, 4
- Synaptisk sign. mer precis map tid och plats.



Studienämnden Kf / Kb

Signaleringsrespons

Hast. för respons av en signal beror på mekanism för sign.överföring och på slag av respons.

Snabb signaleringsrespons sker när responsen endast innebär förändring av prot.funktion och -aktivitet. Tar sek-min. Ex. cellföröelse.

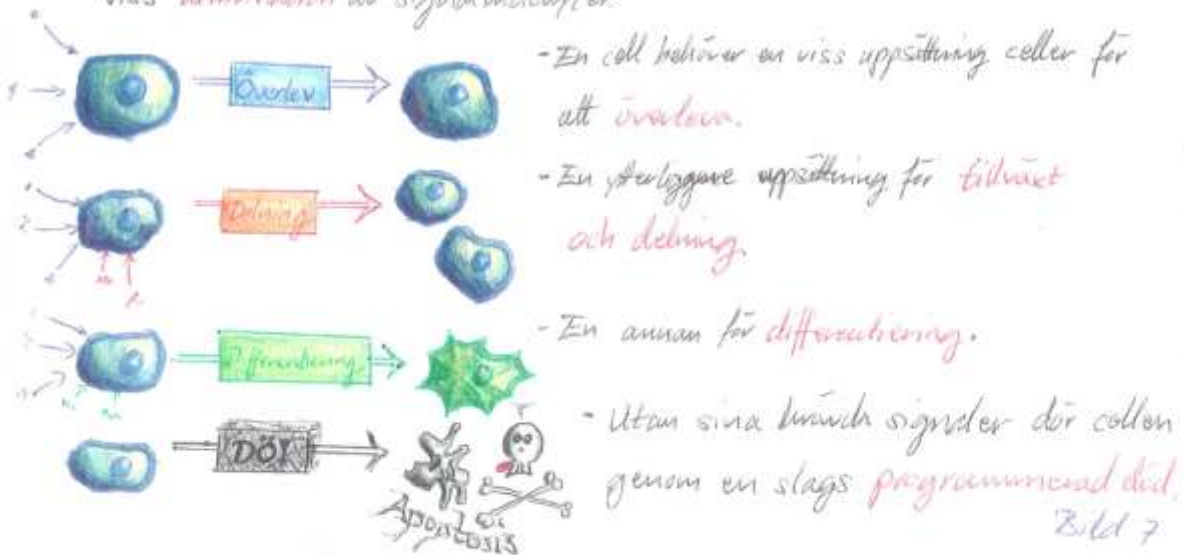
Långsamt signaleringsrespons sker när förändringar av geometri och proteinsyntes. Tar min-timmar. Bild 5

Gap junctions

Smala vattenfyllda porer som direkt kopplar samman cytoplasman hos två celler. Utbyte av organiska joner och små vattenlösliga molekyler kan ske, men inte av makromolekyler. Celler kan utöva direkt-kommunikation. Bild 6

Respons på signalmolekyler

En cell träffas av hundratals signalmolekyler från sin omgivning hela tiden, och den behöver dessa för sin överlevnad. Vårje celltyp behöver en viss **kombination** av signalmolekyler.



Olika svar på signal

Beroende på receptorer och på inre maskineri, kan en cell ge olika svar på samma sign.

Ex. från synaps avses **acetylcholin** och för (hast. o kraft hos) **ljumt muskelcell** att släppa ut, eller även ist. en **muskelcell** att döva i hop. Bild 8



Studienämnden Kf / Kb

Turnover

Turnover rate står för tiden det tar för en sign. att övervärtas och få respons bland celler.

En del sign. ger utgående prol. syntes, andra ökande. Hur fort det går beror på hast. på prot. omsättning.

Ex.

Molekyl	Konc./cell	konc. Omsättning/s	Genomsnittlig molekyllevningstid
Y	1000	100	10s
X	1000	10	100s

10x ökning av syntes \Rightarrow

$$Y: 1000 + 1000 - 100 = 1900 \text{ molekyl/er/cell efter 1s}$$

$$X: 1000 + 100 - 10 = 1090 \quad - \dots -$$

Bild 9

Mjuk vs strömbrytaraktlig respons

En del celler har en **gradvis ökande** respons med ökande sign.konc.

Andra celler svarar med **allt-eller-ingen**, som en **strömbrytare**. Är ofta följd av positiv feedback. Antal svarande celler ökar med konc. Bild 10

För gradvis ökande måste ibland flera sign. molekyler bindas för att en respons ska induceras. Sådan **cooperativ respons** blir skarpare, ~~och~~ mer strömbrytaraktlig, ju fler molekyler som måste bindas. Bild 11

Feedback loops

Resultatet av en process reglerar samma process kallas feedback loop

Positiv feedback innebär att resultatet stimulerar sin egen process.

I lägre grad ökas responsen på sign., medan i högre grad av positiv feedback kan få kvantiteten av produkt att rusa iväg.

Negativ feedback inhiberar effekten av stimulus.

Ex auto-fosforylering, pos. feed.

Celler har olika funktioner vid varande styrka, samt fördröjning. **Lång fördröjning** kan ge oscillerande effekt.

Ex. neg. feedback: fosfat tar bort fosfatgrupp, inhiberar sign. Bild 12



Studienämnden Kf / Kb

Molekylära strömbrytare

TVÅ viktiga klasser av molekylära strömbrytare:

Aktivering genom **fosforylering** (el. omvänt). Ett **kinas** fosforylerar mha ATP (P från ATP) och aktiverar därigenom. **Fosfatasa** tar bort fosfatgrupp och inaktiverar.

Aktivering vid **GTP-binding**. Dessa prot. aktiveras mha **GAP** (GTPase-aktiverande prot.), som påskyndar hydrolys av GTP till GDP, dess inaktiva läge.

GEF (guanine nucleotide exchange factor) **aktiverar** genom att påskynda frigörelse av GDP i utbyte mot GTP, varpå prot. hamnar i **aktivt läge**.

Bild 13

Kväveoxid (NO) och intracellulära receptorer

Visse signalmolekyler ~~är~~ är små och hydrofoba nog att diffundera genom membran och binda till intracellulära receptorer, ex **NO**.

NO har en **muskelavslappande funktion**. Nervceller i blodkärl ^{avgör} avgör **acetylkinin**, som stimulerar endotelceller i kärlets inne. Dessa avgör **NO**, som diffunderar in i muskelceller (injula), binder receptorer och får ~~muskelcellerna~~ muskelcellerna att släppa av \rightarrow **öppna blodfåror**. Bild 14

Bild 15: Små hydrofoba molekyler som kan diff. in genom membran, o binda till **genreglerande receptorer**. Ex. steroider.

Nukleära receptorer

Inaktiva receptorer binder **inhiberande prot.** Vid bindning av **ligand** dissocieras inhibitor och binder **coaktivator/repressor** som ökar/minskar gentranskription. Bild 16

Transkriptionsrespons sker i flera steg.

Primär respons: Ligand aktiverar transkription.

Sekundär respons: Prot. produktion av generna aktiverar transkr. av andra gener. Bild 17

Receptorer på celltan

Finns i tre huvudklasser



Studienämnden Kf / Kb

Jonkänslkopplade: Involverade i synaptisk sign. mellan neuroner.

G-proteinkopplade: Reglerar aktiviteten hos plasmamembranbundna prot., oftast jonkanal el. enz.

Enzymkopplade: Fungerar som enz. el. associerar direkt med enz. Bild 18

Cellulära signalproteiner

Receptor aktiveras på cellytan, och ger effekter inne i cellen

Intracellulära signalproteiner vidarebefordrar sign. på olika sätt.

Ex. är:

- Prot. släcker vidare till nästa sign. komponent.
- Särlibar på och effektiverar.
- Transformerar sign.
- Producerar sign. i större skala.

Bild 19

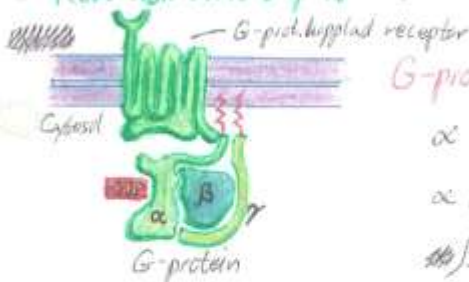
G-proteinkopplade receptorer (GPCRs)

Största familjen av receptorer som sitter på cellens yta, och kan binda många typer av ligander.

Består av en polypeptidkedja som är "fästsydd" i memb. Har sju transmembr. domäner, varav en särskilt stor binder ligand. Använder G-prot. för släcka vidare sign. in i cellen.

Bild 20

Heterotrimeriska G-proteiner



G-protein består av tre subenheter: α , β och γ -enheter.

α och γ har en fettsyrafrämring till memb.

α binder till GDP/GTP.

Bild 21

β och γ bildar en funktionell enhet $\beta\gamma$ -komplexet

α och $\beta\gamma$ kan var för sig aktivera nedströms prot.

Aktivering

Om sign. binder GPCR sker konformationsförändring som ~~aktiverar~~ fortsätter till G-prot., byter GDP i α mot GTP, varpå α och $\beta\gamma$ -komplexet aktiveras, och separeras då. \Rightarrow $G\alpha$ och $\beta\gamma$ ~~kan~~ dissocierar från receptorn och kan interagera med sina mål. När α hydrolyserar GTP inaktiveras och associerar åter G-prot. med recepter.



Studienämnden Kf / Kb

G α är ett GTPase, och kan hydrolysera GTP. GPCR fungerar som GEF när det aktiveras och byter GDP mot GTP i x.

G α kan självt hydrolysera GTP, men det går långsamt, varför det får hjälp av RGS (regulator of G-prot. sign.) ett GAP. Bild 22b

Deaktivering

GPCR fosforyleras, varpå bindningsställen för ett blockerande prot.

⇒ GPCR hindras från att binda till G-prot. Bild 23

cAMP

Cyclic AMP (cAMP) är en liten intracellulär mediator.

GPCR (G α) aktiverar enz. adenylyl cyklase, som syntetiserar cAMP från ATP.

cAMP är kortlivad eftersom den inom kort förstörs genom hydrolysis. Bild 24
Aktiverar katalysator PKA, när alla bindningsställen bundna.

cAMP-regulerad transkription

PKA, aktiverad av cAMP binder ett specifikt genreglerande prot., CREB, genom fosforylering.

CREB aktiverar transkriptionsfaktorer i kärnan.

På så vis kan cAMP ge långlivade effekter i cellen. Bild 25

Fosfolipas C β

C β enz. som ^{inombunden}aktiveras av G α och bryter fosfolipider (PIP₂) till IP₃ och diacylglycerol.
IP₃ binder och öppnar kanal i ER ⇒ Ca²⁺ frigörs och ökar Ca²⁺-konc.

i cytosol, där den fungerar som viktig sign. molekyler.

Diacylglycerol i plasmamembr. (bildas efter PIP₂-brytning) plus Ca²⁺ (och fosfatidylserin) aktiverar kinaset PKC, som fosforylerar prot. Bild 26

Bild 27 Vid befruktning av äggcell släpper ER en Ca²⁺-våg, påverkar prot.

Bibehållande av låg Ca²⁺-koncentration

Alla euk. celler har Ca²⁺-pumpar, ATP krävande, för att hålla Ca²⁺-konc.

i cytosolen låg Ca²⁺ används mycket till sign., särskilt hos nerv- och muskelceller. Ca²⁺ pumpas in i ER och mitokondrier, Bild 28 med kopplad transp. och ATP-drivna pumpar.



Studienämnden Kf / Kb

Calmodulin

Calmodulin fungerar som en Ca^{2+} -^{receptor}sensor. Har fyra bindningsställen för Ca^{2+} , med hög affinitet. Minst två Ca^{2+} måste binda för att åstadkomma den konformationsförändring som krävs för aktivering. Calmodulin har ingen egen enzymatisk funktion, utan binder vid aktivering till andra prot., som får aktiverad enz.funktion, el. aktiverar memb.transp.prot. Bild 29

CaM-kinas

- Ca²⁺/Calmodulin-beroende kinas är inaktiverad i frånvaro av Ca²⁺/Calmodulin.
 - Aktiverat Calmodulin binder CaM → konformationsförändring som aktiverar CaM, delvis! Inhibitorisk domän aktiveras. Vid fosforylering → fullt aktivt kinas.
 - Calmodulin släpper CaM, men nya konformationen gör att CaM "kommer ihåg". behåller sitt fosforylerade läge ett tag, och förblir aktivt så länge. Bild 30
- Ca²⁺-oscillationer ökar aktiviteten hos CaM. Bild 31

Lukt och syn beror på GPCR Bild 32-33

Lukt och syn regleras av ~~spec~~ receptorer i form av spec. GPCR



Studienämnden Kf / Kb

Cell- och Molekylärbiologi 2
Föreläsning 8, 2009-08-10
Signal Transduction II

Cellsignaleringskomplex

För att få ordning på sign. omv. signalerings^{prot.} ~~komplex~~, samlar ihop sign. i signaleringskomplex. Finns i olika former:

Scaffold prot., prot. fäst till rec., som för samlar sign. prot. för att kunna interagera mer effektivt.

Receptor aktiverad av fosforylering (autofosforylering).

Fosfomositider, där fosforyleringar skapar bindningsställen. Prot. akt.

varandra → skickar sign. vidare.

Bild 2, 5, 6, 7, 4

Moduler domäner

Kan infogas i ett prot. utan att förstöra. Prot. får då ny domän.

På detta sätt kan sign. komplex skapas. Olika typer:

PH-domän, binder fosfomositider

PTB fosforylerade tyrosiner

SH2 — " —

SH3 prolinrika sekvenser.

Vissa sign. prot. består bara av interaktionsdomäner, dessa prot. kallas adapterer.

Bild 8

Inaktivering av receptorer o sign.

Finns olika tilläggsätt.

Endosomer kan ta upp receptorn, via vesikel. Bland förs de tillbaka, ^{eller förgämliga} bland förstörs de i lysosom.

Direkt inaktivering, rec. blockeras.

Inaktivering av prot. som förmedlar sign. vidare, el. akt. prot. som inhiberar sign. process.

Bild 9

Rec. på cellyta

Jonkanal kopplade, G-prot., enz. kopplade.

Bild 10



Studienämnden Kf / Kb

Enzänkade rec En 21K

Oftast bvara en transmembr. domän.

Fung. antingen som en z själva el. assisterar direkt till enz.

Ligand-domän på utsida, katalytisk på insida. Bild 11

Aktivering

Sker genom dimensering. Bindning av ligand gör att två kinasdomäner förs samman. De fosforylerar då varann varpå en z. alt. är aktiverad. Bild 12

Fosforylering kan skapa bindningsställen, dit prot. kan binda
=> Sign.komplex. Bild 13

Src ("Src")

peptidbindande moduler

Har två domäner, SH2 o -3. Hålls vid membr på ytsida av interagering m prot. och av kovalenta bindn. med lipidkedjor.

För alt. bvaras att fosfat tas bort, och att spec. prot. binder SH3. Bild 14

SH2

Mha dessa domäner kan prot. binda till prot. som har fosforylerade tyrosiner. Plug-in-modul, kan infogas utan att störa. Har en domän för en aminosyrakedja, en för fosfotyrosin. Ser ut som ett tryne. Bild 15

Bidrar till org. av cign vid akt. av viss rec.

Ras Förankrad i membr. av kovalent bundna lipidgrupper.

GTPase, akt. när GTP bundet. Med GTP -> ~~loop~~ loop trycks ut o helix expanderas, Ras kan då interagera RasGEF o GAP hjälper till att reglera. MAP-kinasbinder

Viktig i cellsign. stimulerar fosforyleringskaskader. Bild 16
Bild 17: Flugans fosfatrogen har symorvar som hämmar igen olika typer av tyros



Studienämnden Kf / Kb

MAP-kinas

Aktivitet hos Ras hörtillvad \rightarrow sign. konverteras till mer långlivade.

Ras aktiverar MAP-kinas-kinas-kinas, som akt. MAP-kinas-kinas, som akt. MAP-kinas; en MAP-kinasbaskad släcker på detta vis vidare sign.

Fäst har sex olika förekomponermoduler i MAP-kinas

Finns olika typer av sign. som ~~ger~~ orsakar MAP-baskader, ex förökning, svält o osmoschock. Bild 19

PI-kinas

Fosforylerar fosfolipider. Generar fosforylerade PI-lipider, fosfosätrider. Bild 20

RTK aktiveras av sign., aktiverar i sin tur PI₃-kinas

\rightarrow fosforylering av olika prot. Effekten har oftast inhiberande verkan, men verkar oftast för att mediera tillväxt o överlevnad.

Ex. i visst fall frigörs apoptosinhibitor \rightarrow Cellen överlever Bild 21

Signaler

Det finns olika signvägar som har samma mål. Vissa mål kräver sign. via olika vägar för full akt.

JAK-STAT

Fungerar både som rec. o sign. prot.

JAK (Janus-kinas) är ett tyrosinkinase. När ligand binden ^{På cytokin-rec.}

för två JAK sammnan \rightarrow fosforylerar varandra

\rightarrow Rekruterar STAT. ^{Två!} STAT dissocierar, binder till varandra, varpå de transkriberas t. kärna \rightarrow transkr. Bild 23

SMAD

Genreglerande prot., fosforyleras o akt. av TGF β . Dissocierar

när akt., bildar komplex m. prot. \rightarrow transkriberas till

kärnan o reglerar transkr. av spec. gener. Bild 24



Studienämnden Kf / Kb

Träskampens sign. - hist.

Bild 25: Bakt. kemotaxi; ~~bakt.~~ flageller driver förflyttning

Flagell motors → framryckning

Hii-linas motors → trembling

Receptorer känner av om konc. attraktivt/repulsivt eller

Rec. binder linas i cytosände. Fosforyl. örf till reglerande prot. → Reglerar flagell.

Proteolys för sign.

Vid utveckling av celler utgår nya celler från en spec. form.

När en cell "väljer" ett visst utvecklingsstadium sign. andra celler, för att de inte ska välja samma öde, genom att inhibera denna väg

Kontaktberoende sign. där ligand ~~Delta~~ Delta binder rec. Notch ^{hos} grannceller. Bild 26

Sign. mellan Notch o Delta kräver proteolytisk ^{klippning} där aminosyrahedjan bryts. När D. bundet till sker klippning på in o utsida ^{cell} cell. N. på insida migrerar t. cellkärna → inhiberande transkr. faktor.

Viktig roll i utv. av Hzeimors.

Bild 27

Wnt kinaskomplex

Aktiverar olika intracellulära ~~sig~~ sign.vägar. En väg reglerar β -catenin, genomreglerande prot. Utan WNT degraderas β -catenin. Bild 28

Hedgehog-siga.

Genomreglerande prot. I frånvaro av Hedgehog bryts vissa prot. genom proteolys → transkriberas t. kärna o fung. som transkr.-repressorer.

I närvaro av hedgehog rekryteras o frisätts prot. → transl. till cellkärna o aktiverar transkr. Bild 29



Studienämnden Kf / Kb

NFKB

Genreglerande prot. Hålls inaktivt av inhibitor, som släpps på sign.

från rec. genom fosforylering. → Frigörs, aktiverar gentranskr.

Transkr. i mofablar inhibitorer → negativ feedback loop, kortlivad.

Oscillerande effekt om hög ligandnivå under lång tid. Bild 30

Bild 31: Signalering i växt.

Auxin

Växthormon.

1) frånvaro inhiberas aux.beroende transkr.

närvaro, binder ligandkomplex, som märker prot. för nedbrytning.

→ transkr. kan genomföras.

Bild 32

Tyrosinkinaser

Många rec. på cellytan är beroende av tyrosin fosforylering

för sin akt., men har ingen tyrosinkinasedomän. Ågerar

genom cyto. tyrosinkinaser, som associerar m. rec.

Fungerar mycket likt RTK

Serin/Tyrosinkinaser

Domän på TGF β -rec., som fosforylerar prot.

Histidinkinaser

Histidinkinaser associerade kemotaxi-receptorer ågerar genom detta

lämnas. Vid bindning av repellerande fosforylerar rec. sig

själv på histidin → skickar vidare för att få flagell att

byta riktning.