

**КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА**

**О.В. ЦИМБАЛЮК, А.І. ДРАГАН, Г.М. ТОЛСТАНОВА, І.С. ВОЙТЕШЕНКО,  
Т.Л. ДАВИДОВСЬКА, Г.П. ГРАБЧУК, О.Ю. НИПОРКО**

# **Міжклітинні взаємодії**

*Навчальний посібник*

**Київ**

**2023**

**ББК 28.07**

**УДК 615.2+577.3**

**Ц61**

*Затверджено науково-методичною радою  
Київського національного університету імені Тараса Шевченка  
(протокол № 5-23 від 8 червня 2023 року)*

**Рецензенти:**

**Нурищенко Н.Є.** - доктор біологічних наук, професор, професор кафедри біофізики та медичної інформатики Навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка

**Векліч Т.В.** - доктор біологічних наук, старший науковий співробітник відділу біохімії м'язів Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

**Григоренко О.О.** - доктор хімічних наук, доцент, завідувач кафедри органічної хімії хімічного факультету Київського національного університету імені Тараса Шевченка

О.В. Цимбалюк

**Ц61** Міжклітинні взаємодії: [Навчальний посібник] / А.І. Драган, Г.М. Толстанова, І.С. Войтешенко, Т.Л. Давидовська, Г.П. Грабчук, О.Ю. Нипорко. - К., 2023. - 151 с.

**ISBN**

У навчальному посібнику «Міжклітинні взаємодії» розглянуті молекулярні механізми формування міжклітинних взаємодій та здійснення між- і внутрішньоклітинної сигналізації (а також їхню регуляцію і фізіологічне значення) у випадку комунікації між окремими клітинами, між групами клітин і між клітинами та навколишнім середовищем у багатоклітинних організмах (із особливою увагою до цих процесів у організмі людини).

Для студентів вищих навчальних закладів біологічного та фармакологічного профілю, а також всіх зацікавлених міждисциплінарними дослідженнями.

**ISBN**

**УДК 615.2+577.3**

**ББК 28.07**

© О.В. Цимбалюк, А.І. Драган, Г.М.Толстанова, І.С. Войтешенко,  
Т.Л. Давидовська, Г.П. Грабчук, О.Ю. Нипорко 2023

**ПЕРЕЛІК ОКРЕМИХ СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ ТА ПОЯСНЕННЯ ДО НИХ**

| <b>Абревіатура /<br/>позначення<br/>англійською</b>                    | <b>Розшифрування<br/>англійською</b>                         | <b>Абревіатура /<br/>позначення<br/>українською</b>             | <b>Розшифрування<br/>українською та<br/>пояснення</b>  |
|--|--|---|--|
| 5-HT   | 5-<br>hydroxytryptamine<br>(Serotonin)                       | 5-ГТ<br>(серотонін)   | Серотонін, нейротрансмітер   |
| 5-HT <sub>1</sub> Rs,<br>5-HT <sub>2</sub> Rs,<br>5-HT <sub>3</sub> Rs | Subtype 1(2 or 3)<br>of 5-<br>hydroxytryptamine<br>receptors | 5-ГТ <sub>1</sub> ,<br>5-ГТ <sub>2</sub> ,<br>5-ГТ <sub>3</sub> | Рецептори серотоніну підтипів<br>1, 2, 3   |
| 7TM  | Seven-<br>transmembrane<br>(7TM) receptors                   | 7TM   | Рецептори, спряжені з G-<br>протеїнами (метаботропні<br>рецептори)   |
| AA   | Arachidonic acid   | АК  | Арахідонова кислота  |
| aa   | Amino acid   | ак  | Амінокислота (амінокислотний<br>залишок)   |
| AC (ACs)   | Adenylyl cyclase(s)  | АЦ  | Аденілатциклаза – ензим, який<br>каталізує синтез циклічного<br>аденозинмонофосфату з<br>аденозинтрифосфату  |
| AC1-9  | Adenylate cyclase<br>types 1-9                               | АЦ1-9   | Аденілатциклаза типів 1-9  |
| ACh  | Acetylcholine  | АХ  | Ацетилхолін, нейротрансмітер   |
| ADMIDAS  | site adjacent to<br>MIDAS                                    |   | Консервативна амінокислотна<br>послідовність, яка контактує з<br>сайтом MIDAS у молекулах<br>інтегринів  |
| ADP  | adenosine 5'-<br>diphosphate                                 | АДФ   | Аденозин 5'-дифосфат   |
| AGC  | AGC protein kinase<br>s family                               |   | Родина протеїнкіназ, яка об'єднує<br>63 представники еволюційно<br>споріднених серин-треонінових<br>протеїнкіназ (назва походить від<br>найбільш досліджених<br>представників родини – |

**ПРОДОВЖЕННЯ ПЕРЕЛІКУ ОКРЕМИХ СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ ТА ПОЯСНЕННЯ ДО НИХ**

| Абревіатура /<br>позначення<br>англійською | Розшифрування<br>англійською   | Абревіатура /<br>позначення<br>українською | Розшифрування<br>українською та<br>пояснення  |
|--|--|--|---|
|  |  |  | протеїнкіназ А, G і C)  |
| AMP  | adenosine 3',5'-<br>monophosphate  | АМФ  | Аденозин 3',5'-монофосфат   |
| AMPA                                       | $\alpha$ -amino-5-methyl-<br>3-hydroxy-4-<br>isoxazole propionic<br>acid | АМПК                                       | $\alpha$ -аміно-5-метил-3-гідрокси-4-<br>ізоксазол пропіонова кислота –<br>агоніст АМПК родини, яка належить<br>до надродини іонотропних<br>збуджувальних глутаматних<br>рецепторів |
| AP2  | Adaptor protein<br>complex 2   |  | Комплекс адапторного протеїну 2 –<br>мультисубодиничний протеїн, який<br>приймає участь у клатрин-<br>опосередкованому ендоцитозі   |
| ATP  | Adenosine 5'-<br>triphosphate  | АТФ  | Аденозин 5'-трифосфат   |
| BBB  | Blood–brain<br>barrier   | ГЕБ  | Гематоенцефалічний бар'єр   |
| кВ<br>(NF-кВ)                              | Nuclear<br>factor kappa B  |  | Ядерний фактор кВ,<br>транскрипційний фактор  |
| Btk  | Bruton's tyrosine<br>kinase  |  | Нерецепторна тирозинкіназа, яка<br>має ключове значення для<br>передавання сигналу від<br>активованого антигеном рецептора<br>у В-лімфоцитах  |
| Calnuc                                     | Calnuc<br>(nucleobindin)   |  | Головний $Ca^{2+}$ -зв'язувальний<br>протеїн апарату Гольджі, який<br>також міститься і в цитоплазмі; має<br>ділянки взаємодії з субодиницями<br>$G\alpha$ різних типів             |
| CaMK                                       | $Ca^{2+}$ /calmodulin-<br>dependent protein<br>kinase II                 | Ca-КМ-К I,<br>II, III та IV                | $Ca^{2+}$ кальмодулін-залежні<br>протеїнкінази I, II, III та IV,  |
| cAMP                                       | 3',5'-cyclic AMP,  | цАМФ                                       | 3',5'-циклічний аденозин  |

**ПРОДОВЖЕННЯ ПЕРЕЛІКУ ОКРЕМИХ СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ ТА ПОЯСНЕННЯ ДО НИХ**

| Абревіатура /<br>позначення<br>англійською | Розшифрування<br>англійською  | Абревіатура /<br>позначення<br>українською | Розшифрування<br>українською та<br>пояснення  |
|--|---|--|---|
|  | Cyclic AMP,<br>Adenosine 3',5'-<br>cyclic<br>monophosphate                      |  | монофосфат  |
| cGMP                                       | 3',5'-cyclic GMP,<br>Cyclic GMP,<br>Guanosine 3',5'-<br>cyclic<br>monophosphate | цГМФ                                       | 3',5'-циклічний гуанозин<br>монофосфат  |
| Ca <sub>v</sub> 1                          | Ca <sub>v</sub> 1   |  | Протеїн, який містить PDZ-домен<br>через який взаємодіє з<br>нейрональною синтазою оксиду<br>азоту та регулює її активність   |
| Catenin<br>(p120)                          |   |  | Протеїн, який регулює стабільність<br>кадгеринів  |
| chAT                                       | Choline<br>acetyltransferase  |  | Холінацетилтрансфераза  |
| CICR                                       | Calcium-<br>induced calcium<br>release  | КІВК                                       | Кальцій індукване вивільнення<br>кальцію – процес виходу Ca <sup>2+</sup> з<br>ензо(сарко)плазматичного<br>ретикулуму через ріанодин-чутливі<br>Ca <sup>2+</sup> -канали                            |
| CIF  | Cytoplasmic Ca <sup>2+</sup><br>influx factor                                   |  | Фактор входу іонів Ca <sup>2+</sup> у клітину,<br>який в умовах спустошення Ca <sup>2+</sup> -<br>депо забезпечує надходження цих<br>іонів у клітину через специфічні<br>канали із провідністю 3 пС |
| c-Jun                                      | Transcription<br>factor c-Jun   |  | Транскрипційний фактор c-Jun  |
| CNS  | Central nervous<br>system   | ЦНС  | Центральна нервова система  |
| COMT                                       | Catechol-O-<br>methyltransferase  |  | Ензим катехоламін-О-<br>метилтрансфераза, який інактивує  |

**ПРОДОВЖЕННЯ ПЕРЕЛІКУ ОКРЕМИХ СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ ТА ПОЯСНЕННЯ ДО НИХ**

| Абревіатура /<br>позначення<br>англійською | Розшифрування<br>англійською  | Абревіатура /<br>позначення<br>українською | Розшифрування<br>українською та<br>пояснення   |
|--|---|--|--|
|  |   |  | катехоламіни (нейромедіатори, гормони)   |
| CRAC                                       | Calcium release-activated channels  |  | Специфічні Ca <sup>2+</sup> -канали плазматичної мембрани, які активуються при спустошенні Ca <sup>2+</sup> -депо та функціонально забезпечують поповнення їх іонами Ca <sup>2+</sup>            |
| CRACM1                                     | CRAC modulator1   |  | Пороформуюча субодиниця каналів CRAC   |
| c-Yes                                      | Cellular YES proto-oncogene   |  | Онкоген, який кодує тирозинкіназу, що належить до родини Src. Цей ген є клітинним гомологом вірусного онкогену саркоми Yamaguchi   |
| Cys-loop                                   | Cys-loop receptor family  |  | Родина рецепторів, яка належить до надродини ліганд-керованих іонних каналів; до неї, зокрема, належать нікотинові ацетилхолінові рецептори, гліцинові рецептори, серотонінові рецептори та інші |
| DAG  | Diacylglycerol  | ДАГ  | Диацилгліцерол   |
| DAGL                                       | Diacylglycerol lipase   |  | Ліпаза диацилгліцеролу   |
| Dexas1                                     | RASD1, Ras-related protein 1, Dexamethasone-induced Ras-related protein 1 |  | Малий G-протеїн, який належить до надродини Ras; його синтез активується синтетичним глюкокортикоїдом дексаметазоном   |
| DHPR                                       | Dihydropyridine receptor  | ДГПР                                       | Потенціал керований Ca <sup>2+</sup> -канал L-типу, який чутливий до блокування дигідропіридинами  |
| DOCC                                       | Depletion-operated calcium  |  | Ca <sup>2+</sup> -канали, керовані (активовані) виснаженням Ca <sup>2+</sup> -депо   |

**ПРОДОВЖЕННЯ ПЕРЕЛІКУ ОКРЕМИХ СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ ТА ПОЯСНЕННЯ ДО НИХ**

| Абревіатура /<br>позначення<br>англійською | Розшифрування<br>англійською                         | Абревіатура /<br>позначення<br>українською | Розшифрування<br>українською та<br>пояснення   |
|--|--|--|--|
|  | channel  |  |  |
| DOPA                                       | 3,4-<br>dihydroxyphenylal<br>anine                   | ДОФА                                       | Диоксифенілаланін – попередник<br>дофаміну   |
| EF-hand                                    |  |  | Консервативний Ca <sup>2+</sup> -зв'язувальний<br>структурний домен типу спіраль-<br>петля-спіраль з близько 40<br>амінокислотних залишків, який<br>присутній у багатьох протеїнах;<br>вперше ідентифікований у<br>невеликому протеїні парвальбуміні |
| EGF  | Epidermal growth<br>factor                           | ЕФР  | Епідермальний фактор росту -<br>фактор росту, який стимулює<br>проліферацію та диференціацію<br>епідермальних і епітеліальних<br>клітин  |
| ER   | Endoplasmic<br>reticulum                             | ЕР   | Ендоплазматичний ретикулум   |
| ERK,<br>(Erk1,<br>Erk2)                    | Extracellularly<br>regulated kinase                  |  | Підтип серин-треонінових<br>протеїнкіназ, які належать до<br>родини міоген-активованих<br>протеїнкіназ   |
| Eya2                                       | Eyes absent<br>homolog 2                             |  | Тирозинфосфатаза, яка<br>дефосфорилує залишок Tyr-142<br>гістона H2AX, сприяючи зв'язуванню<br>комплексу репарації ДНК   |
| FAD  | Flavin adenin<br>dinucleotide                        | ФАД  | Флавінаденіндинуклеотид  |
| FDA  | The United States<br>Food and Drug<br>Administration |  | Федеральне управління<br>продовольства та медикаментів<br>США – головний орган санітарного<br>нагляду продуктів харчування і<br>медичних препаратів у США, який,   |

**ПРОДОВЖЕННЯ ПЕРЕЛІКУ ОКРЕМИХ СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ ТА ПОЯСНЕННЯ ДО НИХ**

| Абревіатура /<br>позначення<br>англійською  | Розшифрування<br>англійською                                      | Абревіатура /<br>позначення<br>українською  | Розшифрування<br>українською та<br>пояснення   |
|---|---|---|--|
|   |   |   | зокрема, надає дозвіл на використання лікарських засобів, вакцин, біологічно активних добавок та медичних приладів |
| FMN   | Flavin mononucleotide   | ФМН   |  |
| FZD   | Frizzled  |   | Frizzled протеїни – частина родини рецепторів frizzled/smoothened  |
| GABA  | γ-aminobutyric acid   | ГАМК  | γ-аміномасляна кислота, нейротрансмітер  |
| GABA <sub>B1</sub><br>(GABA <sub>B2</sub> ) | γ-aminobutyric acid subtypes B1 (B2) receptor                     | ГАМК <sub>B1</sub><br>(ГАМК <sub>B2</sub> ) | Рецептор до γ-аміномасляної кислоти підтипу B1 (B2)  |
| GABA <sub>A</sub>                           | γ-aminobutyric acid type A receptor                               | ГАМК <sub>A</sub>                           | Рецептор до γ-аміномасляної кислоти типу А   |
| GABA <sub>C</sub> R                         | γ-aminobutyric acid type C receptor                               | ГАМК <sub>C</sub>                           | Рецептор до γ-аміномасляної кислоти типу С   |
| GAIN  | G-protein-coupled receptor (GPCR) autoproteolysis-inducing domain |   | Домен, який характерний для окремих рецепторів плазматичної мембрани, зокрема родини рецепторів адгезії GPCR       |
| Gap1  | GTPase-activating proteins family 1                               |   | Протеїни GAP1 активують малі ГТФ-ази родини Ras (Ras GAPs); до них належать протеїни GAP1m, CAPRI та RASAL         |
| GAPs  | GTPase-activating proteins  |   | Протеїни, які активують протеїни надродини ГТФ-аз  |
| GBB   | Gut-blood barrier   | КСБ   | Кишково-судинний бар'єр  |
| GCs   | Guanylyl cyclases   |   | Гуанілатциклази  |
| GDIs  | GDP-dissociation inhibitors                                       |   | Протеїни, які інгібують дисоціацію ГДФ від ГТФ-азного домена   |

**ПРОДОВЖЕННЯ ПЕРЕЛІКУ ОКРЕМИХ СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ ТА ПОЯСНЕННЯ ДО НИХ**

| Абревіатура /<br>позначення<br>англійською | Розшифрування<br>англійською                            | Абревіатура /<br>позначення<br>українською | Розшифрування<br>українською та<br>пояснення  |
|--|---|--|---|
|  |   |  | протеїнів надродини ГТФ-аз, таким чином утримуючи ці протеїни в неактивному стані   |
| GDP  | Guanosine 5'-diphosphate                                | ГДФ  | Гуанозин 5'-дифосфат  |
| GEF  | Guanine nucleotide exchange factor                      |  | Фактор обміну гуанінових нуклеотидів – стимул, який спричиняє дисоціацію ГДФ від ГТФ-азного домена протеїнів надродини ГТФ-аз, таким чином роблячи можливим зв'язування з ним ГТФ та наступну активацію |
| GEFs                                       | Guanine nucleotide exchange factors                     |  | Фактори обміну гуанінових нуклеотидів   |
| GHRH                                       | Growth hormone-releasing hormone                        |  | Соматоліберин, гормон гіпоталамусу  |
| GIP  | Glucose-dependent insulinotropic peptide                |  | Глюкозо-залежний інсулінотропний поліпептид – гормон тонкого кишечника, який вивільняється після харчування і стимулює вивільнення інсуліну   |
| GIRK                                       | G protein-coupled inwardly-rectifying potassium channel |  | Регульований G-протеїнами K <sup>+</sup> -канал вхідного випрямлення  |
| GLP-1 & GLP-2                              | Glucagon-like peptide-1 & 2                             |  | Глюкагон-подібні пептиди 1 та 2 – гормони (підшлункової залози, кишечника, мозку), які стимулюють вивільнення інсуліну з β-клітин підшлункової залози   |
| GluRs                                      | Glutamate receptors                                     |  | Глутаматні рецептори  |
| GlyRs                                      | Glycine receptors                                       |  | Гліцинові рецептори   |

**ПРОДОВЖЕННЯ ПЕРЕЛІКУ ОКРЕМИХ СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ ТА ПОЯСНЕННЯ ДО НИХ**

| Абревіатура /<br>позначення<br>англійською | Розшифрування<br>англійською   | Абревіатура /<br>позначення<br>українською | Розшифрування<br>українською та<br>пояснення   |
|--|--|--|--|
| GPCR                                       | G-protein-coupled receptor   |  | Рецептор, спряжений з G-протеїном  |
| GPCRs                                      | G-protein-coupled receptors  |  | Див. 7ТМ   |
| GppNHp                                     | Guanosine-5'-<br>( $\beta$ , $\gamma$ ) -<br>imidotriphosphate   |  | Негідролізабельний аналог ГТФ, який використовується у експериментах із вивчення участі ГТФ-аз у передаванні клітинних сигналів  |
| GPS  | GPCR proteolysis site  |  | Консервативний домен молекул GPCRs родини рецепторів адгезії   |
| GRAFS                                      | GRAFS classification system forming the: Glutamate, Rhodopsin, Adhesion, Frizzled/Taste2, and Secretin families of GPCRs |  | Номенклатура класифікації GPCRs на п'ять родин (Glutamate, Rhodopsin, Adhesion, Frizzled/Taste2, Secretin)   |
| Grb2                                       | Growth factor receptor-bound protein-2   |  | Адапторний протеїн, позитивний регулятор сигналізації через надродину малих НТФ-аз Ras (зокрема, залучений до передавання внутрішньоклітинних сигналів від рецепторних тирозинкіназ) |
| GRIN1                                      | Glutamate Ionotropic Receptor NMDA Type Subunit 1  |  | Субодиниця типу 1 іонотропних NMDA-глутаматних рецепторів  |
| GRK<br>(також                              | G protein-coupled receptor kinases   |  | Кінази рецепторів, спряжених з G-протеїнами – родина протеїнкіназ  |

**ПРОДОВЖЕННЯ ПЕРЕЛІКУ ОКРЕМИХ СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ ТА ПОЯСНЕННЯ ДО НИХ**

| Абревіатура /<br>позначення<br>англійською  | Розшифрування<br>англійською                | Абревіатура /<br>позначення<br>українською | Розшифрування<br>українською та<br>пояснення  |
|---|---|--|---|
| GRK2<br>( $\beta$ ARK1),<br>GRK3<br>( $\beta$ ARK2),<br>GRK4,<br>GRK5,<br>GRK6,<br>GRK7,<br>GRKs) |   |  | (належить до групи AGC). Вони активують процес гомологічної десенситизації рецепторів, специфічно фосфорилюючи окремі типи GPCRs  |
| GTP   | Guanosine 5'-triphosphate                   | ГТФ  | Гуанозин 5'-трифосфат   |
| GTP $\gamma$ S  | Guanosine-5'-( $\gamma$ -thio)-triphosphate | eНегідролі                                 | Негідролізабельний аналог ГТФ, який використовується у експериментах із вивчення участі ГТФ-аз у передаванні клітинних сигналів   |
| Habc  |   |  | N-кінцевий регуляторний домен молекули синтаксину (протеїну пресинаптичної мембрани, який приймає участь у синаптичній нейротрансмісії)   |
| Hax-1   | HS-1-associated protein X-1                 |  | Характерний для переважної кількості типів клітин протеїн переважно мітохондріальної локалізації, який приймає участь у регуляції різних клітинних функцій (зокрема, міграції клітин, регуляції мРНК, апоптозу) |
| HD  | Helical domain                              |  | Домен аденілатциклази, який об'єднує трансмембранні $\alpha$ -спіральні фрагменти   |
| HH  | Hedgehog                                    |  | Секретовані сигнальні протеїни родини Hedgehog, які складаються з   |

**ПРОДОВЖЕННЯ ПЕРЕЛІКУ ОКРЕМИХ СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ ТА ПОЯСНЕННЯ ДО НИХ**

| Абревіатура /<br>позначення<br>англійською | Розшифрування<br>англійською          | Абревіатура /<br>позначення<br>українською | Розшифрування<br>українською та<br>пояснення   |
|--|---------------------------------------|--|--|
|  |                                       |  | двох доменів: N-кінцевого 'Hedge' (HhN) та C-кінцевого 'Hog'. Ці протеїни регулюють багато клітинних процесів, зокрема диференціацію ембріональних клітин  |
| ICAM                                       | Intercellular Adhesion Molecule       |  | Молекула міжклітинної адгезії  |
| InsP <sub>3</sub><br>(IP <sub>3</sub> )    | Inositol 1,4,5-trisphosphate          | ІТФ  | Інозитол-1,4,5-трифосфат, вторинний месенджер  |
| IP <sub>3</sub> R                          | Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor | ІТФР                                       | Рецептор інозитол-1,4,5-трифосфату – Ca <sup>2+</sup> -канал ендо(сарко)плазматичного ретикулуму, який активується при зв'язуванні ІТФ   |
| IRS  | Insulin receptor substrate            |  | Внутрішньоклітинний ефекторний протеїн, який фосфорилується активованим інсуліновим рецептором, після чого є місцем докінгу інших протеїнів, залучених у передавання внутрішньоклітинного сигналу при активації інсулінового рецептора |
| JAM  | Junction adhesion molecule            |  | Протеїни родини JAM – представники надродини імуноглобулінів, з'єднувальних молекул адгезії, локалізованих у щільних з'єднаннях поляризованих клітин, плазматичних мембранах лейкоцитів та деяких інших клітин                         |
| Janus                                      | Janus kinase                          |  | Родина не рецепторних тирозинкіназ, які опосередковують передавання сигналів від   |

**ПРОДОВЖЕННЯ ПЕРЕЛІКУ ОКРЕМИХ СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ ТА ПОЯСНЕННЯ ДО НИХ**

| Абревіатура /<br>позначення<br>англійською | Розшифрування<br>англійською  | Абревіатура /<br>позначення<br>українською | Розшифрування<br>українською та<br>пояснення  |
|--|---|--|---|
|  |   |  | рецепторів цитокінів через шлях JAK-STAT  |
| LARG                                       | Leukemia-associated Rho guanine nucleotide exchange factor (RhoGEF12) |  | Протеїн, асоційований гетеротримерними G-протеїнами родини Gα12 та забезпечує його взаємодію з малими ГТФ-азами Rho (для останніх спрацьовує як активатор – GEF)  |
| Lck  | Lymphocyte-specific protein tyrosine kinase                           |  | Нерецепторна тирозинкіназа, яка відіграє ключову роль у активації та регуляції антигенних рецепторів Т-лімфоцитів   |
| LGIC,<br>LICs                              | Ligand-gated ion channels   | ЛКІК                                       | Лігандкеровані іонні канали   |
| LGN  | G-protein-signaling modulator   |  | Протеїни, які модулюють формування веретена поділу; отримали свою назву через присутність у структурі множинних повторів амінокислотних залишків Leucine-Glycine-Asparagine (а у випадку одно літерного позначення амінокислот – LGN) |
| mAC,<br>mACs                               | Membranous adenylyl cyclases  |  | Родина мембранозв'язаних аденілатциклаз, яка об'єднує 9 представників   |
| mAChR,<br>mAChRs                           | Muscarinic acetylcholine receptor                                     |  | Мускаринові (GPCRs) ацетилхолінові рецептори  |
| MadCA<br>M-1                               | Mucosal Vascular Addressin Cell Adhesion Molecule 1                   |  | Молекула адгезії ендотеліальних клітин, яка переважно взаємодіє з β7-інтегрином (α4β7) лейкоцитів, L-селектином і VLA-4 (α4β1) на мієлоїдних клітинах для   |

**ПРОДОВЖЕННЯ ПЕРЕЛІКУ ОКРЕМИХ СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ ТА ПОЯСНЕННЯ ДО НИХ**

| Абревіатура /<br>позначення<br>англійською | Розшифрування<br>англійською                             | Абревіатура /<br>позначення<br>українською | Розшифрування<br>українською та<br>пояснення   |
|--|--|--|--|
|  |  |  | спрямування лейкоцитів у слизову оболонку та запалені тканини  |
| MANT-<br>GTP                               | N-<br>Methylantraniloyl<br>-GTP                          |  | Інгібітор аденілатциклаз,<br>флуоресцентний аналог ГТФ   |
| MAO  | Monoamine<br>oxidase                                     |  | Ензим, який інактивує біологічно<br>активні моноаміни (адреналін,<br>норадреналін, серотонін, мелатонін<br>і подібні молекули)                                     |
| MAPK                                       | Mitogen-activated<br>protein kinase                      | МАПК                                       | Група серин-треонінових<br>протеїнкіназ, які регулюють<br>найбільш важливі клітинні процеси<br>(проліферацію, клітинний стрес,<br>апоптоз, імунну відповідь тощо)  |
| MLCK                                       | Myosin light-chain<br>kinase                             | КЛЛМ                                       | Кіназа легких ланцюгів міозину –<br>фосфорилує регуляторні легкі<br>ланцюги молекули міозину,<br>запускаючи процес скорочення<br>гладеньких м'язів                 |
| MLCP                                       | Myosin light chain<br>phosphatase                        | ФК   | Фосфорилаза кінази легких<br>ланцюгів міозину – дефосфорилує<br>регуляторні легкі ланцюги молекули<br>міозину, запускаючи процес<br>розслаблення гладеньких м'язів |
| MP   | Membrane<br>potential                                    | МП   | Мембранний потенціал   |
| mGluR<br>1–8                               | Metabotropic<br>glutamate<br>receptor(s)<br>subtypes 1-8 |  | Представники родини<br>метаботропних (GPCRs) глутаматних<br>рецепторів   |
| MIDAS                                      | Metal ion<br>dependent<br>adhesion site                  |  | Ділянка у структурі субодиниць<br>рецепторів клітинної адгезії<br>інтегринів, яка координує іон Mg <sup>2+</sup>   |

**ПРОДОВЖЕННЯ ПЕРЕЛІКУ ОКРЕМИХ СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ ТА ПОЯСНЕННЯ ДО НИХ**

| Абревіатура /<br>позначення<br>англійською        | Розшифрування<br>англійською  | Абревіатура /<br>позначення<br>українською | Розшифрування<br>українською та<br>пояснення  |
|---|---|--|---|
| mnAChR  | Muscular nicotinic<br>acetylcholine<br>receptor                                     |  | Нікотиновий (ліганд-керований)<br>ацетилхоліновий рецептор<br>м'язового типу  |
| Munc-18,<br>(також<br>Munc<br>18-1 та<br>Munc-13) | Mammalian<br>homologue of<br>UNC-18<br>(uncoordinated-<br>18), Munc18-1,<br>Munc-13 |  | Протеїни пресинаптичних<br>терміналей, необхідні регуляції<br>докування і екзоцитозу синаптичних<br>везикул                             |
| MUPP1   | Multi-PDZ-<br>domain protein 1  |  | Протеїн, який містить 13 PDZ-<br>доменів та залучений до регуляції<br>цитоскелету клітин та передавання<br>внутрішньоклітинних сигналів |
| nAChR,<br>nAChRs                                  | Muscular nicotinic<br>acetylcholine<br>receptor(s)                                  |  | Нікотиновий (ліганд-керований)<br>ацетилхоліновий рецептор<br>м'язового типу  |
| NCS1  | Neuronal Calcium<br>Sensor 1  |  | Протеїн – нейрональний сенсор<br>кальцію, регулює фосфорилування<br>GPCRs у Ca <sup>2+</sup> -залежний спосіб                           |
| NCX   | Sodium-calcium<br>exchanger   | НКО  | Na <sup>+</sup> /Ca <sup>2+</sup> -обмінник   |
| NADPH   | Nicotinamide<br>adenine<br>dinucleotide<br>phosphate                                | НАДФН                                      | Нікотинамідаденіндинуклеотид-<br>фосфат відновлений   |
| NF-κB   | Nuclear factor<br>kappa B   |  | Транскрипційний фактор  |
| NMDA  | N-methyl-D-<br>aspartate  | НМДК                                       | N-метил-D-аспарагінова кислота –<br>агоніст збуджувальних глутаматних<br>рецепторів одноіменного типу                                   |
| NMDAR<br>(s)                                      | N-methyl-D-<br>aspartate<br>receptor(s)   | НМДА-<br>рецептор<br>(и)                   | Тип глутаматних рецепторів, які<br>селективно активуються НМДА  |

**ПРОДОВЖЕННЯ ПЕРЕЛІКУ ОКРЕМИХ СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ ТА ПОЯСНЕННЯ ДО НИХ**

| Абревіатура /<br>позначення<br>англійською       | Розшифрування<br>англійською                                  | Абревіатура /<br>позначення<br>українською | Розшифрування<br>українською та<br>пояснення  |
|--|---|--|---|
| nnAChR   | Neuronal (neural) nicotinic acetylcholine receptor            |  | Нікотиновий (ліганд-керований) ацетилхоліновий рецептор нервового типу  |
| Norrin   | Norrie disease protein  |  | Фактор росту, який регулює диференціювання і проліферацію нервових клітин, а також ангиогенез; мутація в гені, який кодує Norrin, супроводжується порушенням формування судин ока і спричиняє втрату зору |
| NO   | Nitric oxide  |  | Оксид азоту, медіаторна молекула  |
| NOS<br>(nNOS,<br>nNOS $\mu$ ,<br>iNOS &<br>eNOS) | Nitric oxide synthase (types: nNOS, nNOS $\mu$ , iNOS & eNOS) |  | Синтази оксиду азоту, які класифікуються на типи nNOS, nNOS $\mu$ , iNOS та eNOS  |
| NPY  | Neuropeptide Y  |  | Нейропептид Y – нейропептид, який приймає участь у регуляції різноманітних фізіологічних процесів у нервовій системі  |
| NR1,<br>NR2,<br>NR3                              | NMDA receptor 1, 2, 3   |  | Субодиниці, які утворюють НМДА-чутливі глутаматні рецептори   |
| NTD  | Amino-terminal domain   |  | N-кінцевий домен – частина субодиниці іонотропного глутаматного рецептора   |
| NTF  | Amino-terminal fragment                                       |  | N-кінцевий фрагмент рецепторів класу B GPCRs  |
| NUCB2  | Nucleobindin 2  |  | Нуклеобіндин 2 – Ca <sup>2+</sup> -зв'язувальний протеїн апарату Гольджі у нервових та ендотелійних клітинах; залучений до регулювання  |

**ПРОДОВЖЕННЯ ПЕРЕЛІКУ ОКРЕМИХ СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ ТА ПОЯСНЕННЯ ДО НИХ**

| Абревіатура /<br>позначення<br>англійською                                       | Розшифрування<br>англійською                             | Абревіатура /<br>позначення<br>українською | Розшифрування<br>українською та<br>пояснення   |
|--|--|--|--|
|  |  |  | вивільнення фактора некрозу пухлин з ендотелію судин   |
| P2Y<br>(P2Y1,<br>P2Y2,<br>P2Y4,<br>P2Y6,<br>P2Y11,<br>P2Y12,<br>P2Y13,<br>P2Y14) | P2Y receptors are a family of GPCRs                      |  | Родина рецепторів GPCRs, представники якої активуються пуриновими нуклеотидами (ADP, ATP, UDP, UTP)  |
| p38  | p38 kinase   | кіназа p38                                 | Родина серин-треонінових протеїнкіназ, яка належить до MAP-кіназ   |
| p63-<br>RhoGEF   | Protein of 63-kDa RAS homologue guanine exchange factor  |  | Фактор обміну гуанінових нуклеотидів для RhoA; його активація відбувається при стимулюванні Gα12/13-протеїнів рецепторами надродини GPCRs                                      |
| p115-<br>RhoGEF  | Protein of 115-kDa RAS homologue guanine exchange factor |  | Протеїн із молекулярною масою 115 кДа – фактор обміну гуанінових нуклеотидів для RhoA; його активація відбувається при стимулюванні Gα13-протеїнів рецепторами надродини GPCRs |
| p120-<br>catenin   |  |  | Протеїн, який регулює стабільність кадгеринів  |
| PA   | Phosphatidic Acid  |  | Фосфатидна кислота   |
| PACAP  | Pituitary adenylyl cyclase-activating peptide            |  | Поліпептид, що існує у двох формах (27 і 38 амінокислотних залишків), які активують аденілатциклазу гіпофіза; він активує Gs/Gq-спряжені GPCRs                                 |

**ПРОДОВЖЕННЯ ПЕРЕЛІКУ ОКРЕМИХ СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ ТА ПОЯСНЕННЯ ДО НИХ**

| Абревіатура /<br>позначення<br>англійською | Розшифрування<br>англійською                        | Абревіатура /<br>позначення<br>українською | Розшифрування<br>українською та<br>пояснення  |
|--|---|--|---|
| PATJ                                       | Pals1-associated tight junction                     |  | Протеїн, який містить декілька PDZ-доменів та залучений до формування протеїнових комплексів у цитоплазмі епітеліальних клітин поблизу щільних з'єднань                               |
| Pcp1 & Pcp2                                | Purkinje Cell Protein 1 & 2                         |  | Протеїни, які у значній кількості присутні в клітинах Пуркінє мозочка і біполярних нейронах сітківки у аксональних терміналях і дендритних шипиках                                    |
| PDE  | Phosphodiesterase                                   | ФДЕ  | Фосфодіестерази – ензими, які розривають фосфодієфіриний зв'язок і таким чином інактивують месенджерні молекули циклічних нуклеотидів   |
| PDZ  | PDZ domains (acronym for PSD-95, Discs Large, Zo-1) |  | Невеликі консервативні домени (80 – 110 амінокислотних залишків), які присутні у багатьох протеїнах клітини та забезпечують міжпротеїнові взаємодії                                   |
| PDZ-RhoGEF                                 |   |  | Фактор обміну гуанінових нуклеотидів, який активується GPCRs, спряженими з Gα12/13-протеїнами, та забезпечує активацію малих ГТФ-аз надродини Rho                                     |
| PH   | Pleckstrin-homology                                 |  | Консервативний домен, який отримав назву на честь протеїну плектстрину; цей домен забезпечує здатність протеїнів взаємодіяти з фосфоінозидами мембран, таким чином PH-вмісні протеїни |

**ПРОДОВЖЕННЯ ПЕРЕЛІКУ ОКРЕМИХ СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ ТА ПОЯСНЕННЯ ДО НИХ**

| Абревіатура /<br>позначення<br>англійською | Розшифрування<br>англійською                  | Абревіатура /<br>позначення<br>українською | Розшифрування<br>українською та<br>пояснення  |
|--|---|--|---|
|  |   |  | локалізуються примембранно  |
| PI3-K                                      | Phosphatidylinosit<br>ol 3-kinase             |  | Ензим, який каталізує синтез<br>сигнального ліпиду<br>фосфатидилінозитол-3-фосфату  |
| PI4-K                                      | Phosphatidylinosit<br>ol 4-kinase             |  | Ензим, який каталізує синтез<br>сигнального ліпиду<br>фосфатидилінозитол-4-фосфату  |
| PIP2                                       | Phosphatidylinosit<br>ol 4,5-<br>bisphosphate |  | Фосфатидилінозитол-4,5-дифосфат   |
| PKC  | Protein kinase C                              |  | Протеїнкіназа С, серин-треонінова<br>протеїнкіназа  |
| PLA2                                       | Phospholipase A2                              | ФЛА2                                       | Ензим, який гідролізує молекули<br>фосфоліпідів (у положенні між<br>другим залишком жирної кислоти і<br>гліцеролом) з утворенням<br>арахідонової кислоти і<br>лізофосфоліпиду   |
| PLC  | Phospholipase C                               | ФЛС  | Фосфоліпаза С; під цією назвою<br>об'єднують ензими, які гідролізують<br>молекули гліцерофосфоліпідів по<br>фосфодієфірному зв'язку; у<br>еукаріотів ці ензими гідролізують<br>лише фосфоінозитиди; важливо, що<br>при гідролізі фосфатидил-4,5-<br>дифосфату ФЛС утворює вторинні<br>посередники інозитол-1,4,5-<br>трифосфат і диацилгліцерол |
| PLC-β<br>(PLCβ1,<br>PLCβ2)                 | Phospholipase C-β                             |  | Тип ізоензимів фосфоліпази С -<br>ФЛС-β   |
| PLCδ                                       | Phospholipase C-δ                             |  | Тип ізоензимів фосфоліпази С -<br>ФЛС-δ   |

**ПРОДОВЖЕННЯ ПЕРЕЛІКУ ОКРЕМИХ СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ ТА ПОЯСНЕННЯ ДО НИХ**

| Абревіатура /<br>позначення<br>англійською                 | Розшифрування<br>англійською           | Абревіатура /<br>позначення<br>українською | Розшифрування<br>українською та<br>пояснення   |
|--|--|--|--|
| PLC $\gamma$   | Phospholipase C- $\gamma$              |  | Тип ізоензимів фосфоліпази C- $\gamma$   |
| PLD  | Phospholipase D                        | ФЛД  | Фосфоліпаза D – ензим, який гідролізує фосфатидилхолін з утворенням холіну і фосфатидної кислоти   |
| PM   | Plasma membrane                        | ПМ   | Плазматична мембрана   |
| PNS  | Peripheral nervous system              | ПНС  | Периферична нервова система  |
| PSI  | Acronym for Plexin-semaphorin-integrin |  | Консервативний збагачений цистеїном домен, характерний для позаклітинної частини сигнальних протеїнів, залучених до контактних взаємодій (зокрема, інтегринів) |
| PTB  | Phosphotyrosine Binding                |  | Консервативний домен, який здійснює специфічні протеїн-протеїнові взаємодії, формуючи водневі зв'язки з фосфотирозиновими залишками сусіднього протеїну        |
| PTCH   | Protein patched homolog 1              |  | Трансмембранний протеїн, який є головним рецептором пептиду Sonic hedgehog та селективно репресує транскрипцію генів WNT; гени PTCH - онкосупресори            |
| PtdIns <sub>(4,5)</sub> P <sub>2</sub> (PIP <sub>2</sub> ) | Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate  |  | Фосфатидилінозитол-4,5-дифосфат  |
| Rab3, Rab11  |  |  | Протеїни які належать до надродини малих ГТФ-аз; присутні у пресинаптичних терміналях де   |

**ПРОДОВЖЕННЯ ПЕРЕЛІКУ ОКРЕМИХ СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ ТА ПОЯСНЕННЯ ДО НИХ**

| Абревіатура /<br>позначення<br>англійською | Розшифрування<br>англійською                          | Абревіатура /<br>позначення<br>українською | Розшифрування<br>українською та<br>пояснення   |
|--|---|--|--|
|  |   |  | регулюють динаміку синаптичних везикул (їхнє стикування та рециклізацію)   |
| Radil                                      | Ras-associating and dilute domain-containing protein  |  | Протеїн, який регулює (активує) малу ГТФ-азу Ras   |
| Raf  | Acronym for Rapidly Accelerated Fibrosarcoma          |  | Серин-треонінова протеїнкіназа, яка виконує роль з'єднувальної ланки між мембраноасоційованими малими ГТФ-азами Ras та сигнальним каскадом MAPK/ERK; таким чином є дуже важливим регулятором клітинних процесів проліферації, диференціації, апоптозу і онкогенезу |
| Rap1 - RIAM                                |   |  | Сигнальний процес активації інтегринів, при якому мала ГТФ-аза взаємодіє зі скефолдовим протеїном RIAM   |
| rasGap                                     | GAP1 family of Ras GTPase-activating proteins         |  | Родина протеїнів GAP1 (об'єднує GAP1m, CAPRI, and RASAL), які активуються малими ГТФ-азами Ras   |
| Ras-GTPази                                 |   |  | Надродина малих ГТФ-аз; їхня підвищена активність спостерігається у багатьох типах новоутворень  |
| RH   | Acronym for regulator of G protein signaling homology |  | N-кінцева ділянка, характерна для молекул ензимів GRKs, за рахунок якої відбувається взаємодія з GPCRs   |
| Rho  |   |  | Родина малих ГТФ-аз, яка належить до надродини Ras; представники Rho контролюють велику кількість  |

**ПРОДОВЖЕННЯ ПЕРЕЛІКУ ОКРЕМИХ СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ ТА ПОЯСНЕННЯ ДО НИХ**

| Абревіатура /<br>позначення<br>англійською | Розшифрування<br>англійською          | Абревіатура /<br>позначення<br>українською | Розшифрування<br>українською та<br>пояснення  |
|--|---------------------------------------|--|---|
|  |                                       |  | внутрішньоклітинних сигнальних шляхів   |
| RhoGEF                                     |                                       |  | Фактори обміну гуанінових нуклеотидів малих ГТФ-аз Rho (активація цих факторів відбувається внаслідок стимулювання GPCRs, спряжених з Gα12/13-протеїнами, та забезпечує активацію малих ГТФ-аз надродини Rho) |
| RIM  | Acronym for Rab3 Interacting Molecule |  | Протеїни пресинаптичних мембран, які забезпечують узгоджене близьке розташування Ca <sup>2+</sup> -каналів і ділянок доування синаптичних везикул   |
| ROC  | Receptor-operated channels            |  | Рецептор-керовані іонні канали  |
| ROCC                                       | Receptor-operated calcium channels    |  | Рецептор-керовані Ca <sup>2+</sup> -канали  |
| RRP  | Acronym for readily releasable pool   |  | Частина синаптичних везикул у пресинаптичній терміналі, яка міститься безпосередньо біля активної зони і готова до вивільнення свого вмісту під час збудження мембрани  |
| RyR  | Rianodine receptor                    | PP   | Ca <sup>2+</sup> -канал ендо(сарко)плазматичного ретикулуму, який активується сполукою ріанодином   |
| SH2  | Src Homology 2                        |  | Консервативний домен протеїнів, залучений до сигналіngu тирозинкіназ: цей домен взаємодіє зі специфічними послідовностями протеїнів-мішеней, які містять  |

**ПРОДОВЖЕННЯ ПЕРЕЛІКУ ОКРЕМИХ СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ ТА ПОЯСНЕННЯ ДО НИХ**

| Абревіатура /<br>позначення<br>англійською           | Розшифрування<br>англійською   | Абревіатура /<br>позначення<br>українською | Розшифрування<br>українською та<br>пояснення  |
|--|--|--|---|
|  |  |  | фосфорилбований залишок тирозину  |
| SH3  | Src Homology 3   |  | Консервативний домен протеїнів, залучений до внутрішньоклітинного сигналіngu: цей домен взаємодіє зі специфічними послідовностями протеїнів-мішеней, які містять фрагменти з великою кількістю залишків проліну           |
| SH-PTP2  |  |  | Тирозинова фосфатаза  |
| SMO  | Smoothened   |  | Рецептори надродини GPCRs, які належать до родини рецепторів frizzled/smoothened  |
| SMOC   | Second messengers operated ion channel   |  | Іонний канал, керований вторинними посередниками  |
| SMOCC  | Second messenger-operated calcium channel  |  | Кальцієвий канал, керований вторинними посередниками  |
| SNAP (SNAP-25)                                       | Synaptosomal-Associated Protein  |  | Протеїн активної зони пресинапса, який приймає участь докуванні синаптичних везикул та екзоцитозі нейромедіатора  |
| SNARE (також v-SNAREs, R-SNAREs, t-SNAREs, Q-SNAREs) | Soluble NSF attachment protein receptor (де NSF – N-ethylmaleimide-sensitive factor) |  | Велика група протеїнів, представники якої опосередковують злиття внутрішньоклітинних мембранних структур (органел, везикул); усі вони мають гомологічний цитоплазматичний SNARE домен (SNARE motif); зокрема до протеїнів |

**ПРОДОВЖЕННЯ ПЕРЕЛІКУ ОКРЕМИХ СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ ТА ПОЯСНЕННЯ ДО НИХ**

| Абревіатура /<br>позначення<br>англійською | Розшифрування<br>англійською                      | Абревіатура /<br>позначення<br>українською | Розшифрування<br>українською та<br>пояснення   |
|--|---|--|--|
|  |   |  | SNARE належать: везикулярні SNAREs (v-SNAREs, інша назва R-SNAREs), SNAREs мембранних мішеней (t-SNAREs, інша назва Q-SNAREs)  |
| SOC  | Store-operated channels                           |  | Іонні (кальцієві) канали плазматичної мембрани, керовані спустошенням внутрішньоклітинних кальцієвих депо  |
| SR   | Sarcoplasmic reticulum                            | CP   | Саркоплазматичний ретикулум  |
| Src  |   |  | Тирозинкіназа (родина нерцепторних тирозинкіназ), яка є одним з ключових регуляторів внутрішньоклітинних сигнальних шляхів клітин (проліферації, диференціації, міграції, онкогенезу, виживання) |
| SRP  | Sustained releasable pool або slow-releasing pool |  | Пул синаптичних везикул з тривалим (повільним) вивільненням  |
| STIM                                       | Stromal interaction molecule                      |  | Трансмембранні протеїни-сенсори концентрації Ca <sup>2+</sup> всередині депо   |
| Stat                                       |   |  | Транскрипційний фактор   |
| TGF-β                                      | Transforming growth factor β                      |  | Трансформуючий фактор росту β  |
| TJ   | Tight junction                                    | ЩК   | Щільні контакти  |
| Tm1 – Tm12                                 | Transmembrane 1-12                                |  | Трансмембранні α-спіральні фрагменти молекули аденілатциклази  |
| TRP  | Transient receptor                                |  | Надродина катіонних каналів,   |

**ПРОДОВЖЕННЯ ПЕРЕЛІКУ ОКРЕМИХ СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ ТА ПОЯСНЕННЯ ДО НИХ**

| Абревіатура /<br>позначення<br>англійською  | Розшифрування<br>англійською  | Абревіатура /<br>позначення<br>українською | Розшифрування<br>українською та<br>пояснення  |
|---|---|--|---|
| (TRPC,<br>TRPV,<br>TRPM,<br>TRPM1,<br>TRPM8,<br>TRPN,<br>TRPA,<br>TRPP та<br>TRPML) | potential channels  |  | представники якої<br>характеризуються подібною<br>структурою  |
| TS1R1–3   | Taste receptor<br>T1R1/T1R3   |  | Смакові рецептори, представники<br>класу C надродини GPCRs; фактично<br>виступають у ролі клітинних<br>сенсорів доступності амінокислот                               |
| UPP   | Unprimed vesicle<br>pool  |  | Пул непраймінгованих синаптичних<br>везикул   |
| VAMP  | Vesicle associated<br>membrane protein<br>(synaptobrevin)                   |  | Протеїн родини SNARE<br>синаптобревін   |
| VCAM  | Vascular cell<br>adhesion molecule  |  | Глікопротеїни клітинної поверхні,<br>які належать до надродини<br>імуноглобулінів; цей протеїн типу 1<br>опосередковує адгезію лейкоцитів<br>до ендотеліальних клітин |
| VEGF  | Vascular<br>endothelial growth<br>factor                                    |  | Фактор росту ендотелію судин  |
| VGCCs   | Voltage operated<br>calcium channels<br>(Voltage-gated<br>calcium channels) | ПККК                                       | Потенціалкеровані кальцієві канали  |
| VIP   | Vasoactive<br>intestinal peptide  |  | Вазоактивний інтестинальний<br>пептид – пептидний гормон, який<br>секретують клітини підшлункової   |

**ПРОДОВЖЕННЯ ПЕРЕЛІКУ ОКРЕМИХ СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ ТА ПОЯСНЕННЯ ДО НИХ**

| Абревіатура /<br>позначення<br>англійською | Розшифрування<br>англійською                                      | Абревіатура /<br>позначення<br>українською | Розшифрування<br>українською та<br>пояснення   |
|--|---|--|--|
|  |   |  | залози, кишечника і нервової<br>тканини; активує GPCRs родини<br>секретину   |
| VOC  | Voltage operated<br>channels (Voltage-<br>gated ion channel<br>s) |  | Потенціалкеровані іонні канали   |
| Walker<br>A motif<br>(P-loop)              |   | Мотив<br>Волекера<br>A (P-петля)           | Домен протеїнів, який забезпечує<br>взаємодію з фосфатними групами<br>інших протеїнів; він містить<br>консервативну послідовність<br>амінокислотних залишків<br>[GX4GK(S/T)] |
| WNT  |   |  | Ліпополісахариди родини WNT<br>активують рецептори FZD з родини<br>frizzled/smoothened надродина<br>GPCRs  |
| WW   |   |  | Консервативний домен протеїнів,<br>який взаємодіє з ділянками<br>протеїнів, збагаченими залишками<br>проліну   |
| ZO   | Zonula occludens  |  | Протеїни щільного контакту   |

## ВСТУП

Клітини за допомогою специфічних рецепторних систем здатні сприймати різноманітні сигнали: хімічні (гормони, нейромедіатори, молекули тастантів, одорантів тощо), механічні, фізичні (механічні, світлові, теплові). Зовнішні сигнали клітиною перетворюються у внутрішньоклітинні сигнали, які фактично зводяться до зміни структури, модифікації внутрішньоклітинних молекул, кінцевим наслідком яких є зміни клітинного метаболізму, експресії генів, секреції тощо.

Фундаментальною, принципово важливою для життєдіяльності клітин є їхня комунікація. У одноклітинних еукаріотичних організмів роль сигналів відіграють феромони (секретовані молекули, які сприймаються сусідніми клітинами та координують їх диференціацію, агрегацію та інші перебудови, залежні від сигналів навколишнього середовища). У багатоклітинних організмах комунікація забезпечує формування цілісної системи тканин і органів, кожна клітина яких має свої морфологічні та функціональні особливості, визначальні для нормального функціонування організму. У випадку багатоклітинних організмів міжклітинна комунікація забезпечується гормонами і нейромедіаторами, а також іншими сигнальними молекулами, які можуть секретуватися позаклітинно (дистантні комунікації) або бути частиною плазматичної мембрани (контактні комунікації) (рис. 1). Сигнальні молекули, за рахунок яких активуються зміни в клітині, яка їх сприймає, називають первинні месенджери, ліганди рецепторів клітини (рис. 2). Дистантні комунікації здійснюються за рахунок розчинних лігандів, тоді як контактні взаємодії, які класифікують на типи «клітина-клітина» і «клітина-міжклітинний матрикс», – за рахунок фіксованих лігандів (рис. 1). За участі обох цих загальних типів міжклітинних комунікацій регулюються і координуються різноманітні клітинні процеси: інтенсивність метаболізму біомолекул; синтез та секреція протеїнів міжклітинного матриксу; ріст, поділ і диференціація тканин тощо.

Первинні месенджери можуть бути дрібними молекулами (до прикладу, так звані сигнальні ліпіди, нейромедіатори), досить великими пептидами і протеїнами (зокрема, інсулін і гормони гіпоталамусу), газами (так звані газотранмітери оксид азоту NO, сірководень SH<sub>2</sub>, монооксид вуглецю CO). Більшість первинних месенджерів гідрофільні, але у тому випадку, коли вони є гідрофобними молекулами, вони легко перетинають плазматичну мембрану і активують рецептори всередині клітини.



Рис. 1. Принцип формування дистантних і контактних комунікацій у тканинах багатоклітинних організмів.

Загальний принцип трансдукції гідрофільного сигналу зображено на рис. 2. Вона враховує, що по відношенню до спеціалізованої (сигнальної) клітини, яка синтезує і секретує первинний месенджер, часто є зовнішній тригер (до прикладу, система генетичного годинника в нейроендокринних клітинах центральної нервової системи людини, який здійснює синхронізацію добових коливань окремих гормонів), який запускає процес формування первинного месенджера. Надалі, після вивільнення первинного месенджера з сигнальної клітини, відбувається транспортування сигналу до клітини-мішені (найчастіше – простою дифузією). Після активації рецептора первинним месенджером клітини-мішені (так зване детектування сигналу) відбувається його передавання до цитоплазматичної частини (фактично, внаслідок зміни конформації рецепторного протеїну), перетворення (часто з активацією синтезу активних молекул вторинних месенджерів, які опосередковують біохімічні зміни в клітині та трансформують сигнал у електричну або біохімічну реакцію клітини-мішені. Наразі дуже добре досліджені окремі сигнальні шляхи, характерні для активації окремих клітинних рецепторів. Важливо, що у клітинах відбуваються також процеси, які призводять до термінації сигналу.

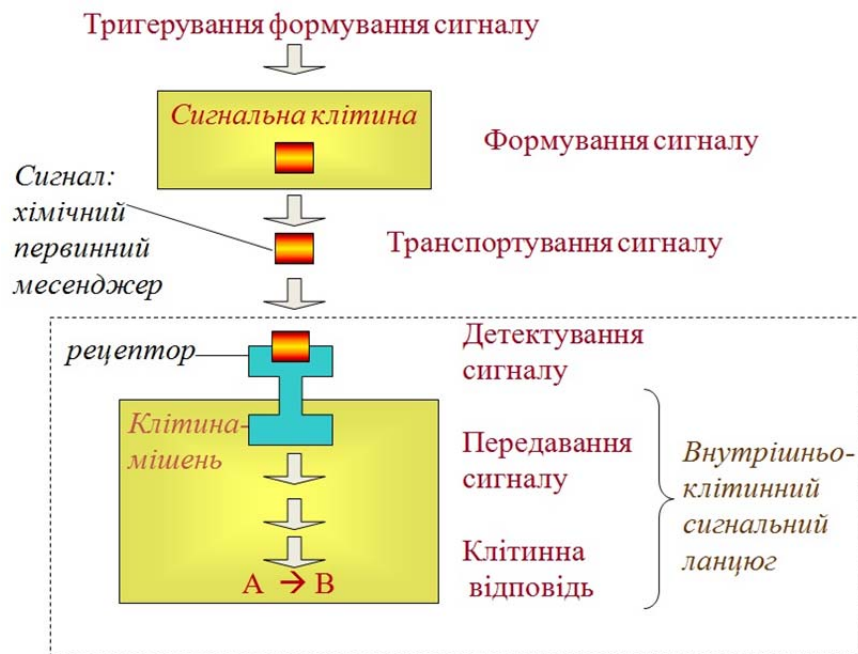


Рис. 2. Загальна схема трансдукції сигналу до клітини та його ампліфікації та перетворення у клітинну відповідь.

Натепер можна зустріти класифікування клітинних рецепторів з різним ступенем деталізації. Найбільш загально ж буде об'єднати їх у два кластери: внутрішньоклітинні рецептори та рецептори клітинної поверхні.

Внутрішньоклітинні рецептори можуть бути надалі розділені на рецепторні транскрипційні фактори (або ядерні рецептори – після зв'язування з лігандами вони вибірково взаємодіють з сайтами ДНК і активують/регулюють експресію генів) та цитозольні ензими, які активуються газотрансмітерами (розчинні гуанілатциклази, активовані молекулами NO та CO, які вільно дифундують через мембрани).

Рецептори клітинної поверхні (трансмембранні рецептори) найбільш загально можна розділити на 4 групи: рецептори, спряжені з гетеротримерними G-протеїнами; іонотропні рецептори; рецептори з ензиматичною активністю; рецептори фіксованих лігандів.

Рецептори, спряжені з гетеротримерними G-протеїнами – це трансмембранні рецептори, внутрішньоклітинна частина яких специфічно контактує з гетеротримерними протеїнами, які володіють внутрішньою ГТФ-азною активністю (G-протеїни). При активації рецептора відбувається зміна конформації його цитоплазматичної частини, яка активує G-протеїн, який далі передає сигнал на ензими, які синтезують молекули вторинних посередників, або на інші важливі протеїни, зокрема іонні канали плазматичної мембрани і внутрішньоклітинних органел. Ця група рецепторів найбільш численна.

Іонотропні рецептори поверхні клітини – це іонні канали, які відкриваються коли специфічний трансмітер/ліганд зв'язується з

позаклітинною частиною каналного протеїна. За відсутності трансмітера канал закритий. Перший з іонотропних рецепторів, який був хімічно очищений, клонований і охарактеризований на молекулярному рівні, – нікотинний ацетилхоліновий рецептор; трансмітером, який викликає його активацію, є ацетилхолін. Відкриття каналу, утвореного нікотинним ацетилхоліновим рецептором, спричиняє вхід до клітини іонів  $\text{Na}^+$  та вихід іонів  $\text{K}^+$ . Оскільки електрохімічний градієнт останніх значно вищий, струм іонів  $\text{Na}^+$  домінує і активування рецепторів супроводжується деполяризацією плазматичної мембрани.

Рецептори з ензиматичною активністю – трансмембранні рецептори, або внутрішньоклітинному домену яких притаманна ензиматична активність, або їхня внутрішньоклітинна частина безпосередньо взаємодіє з ензимом. Зазвичай, ця група рецепторів представлена протеїнкіназами (серин-треонінові, тирозинові, гістидинові, аспартатні і глутаматні). До даної групи рецепторів належать також рецептори із протеїнфосфатазною активністю, хоча вони є значно менш поширеними.

## РОЗДІЛ І: РЕЦЕПТОРИ, СПРЯЖЕНІ З ГЕТЕРОТРИМЕРНИМИ G-БІЛКАМИ

### Загальний огляд надродини рецепторів, спряжених із гетеротримерними G-протеїнами та їх сигналіngu

Рецептори, спряжені з гетеротримерними G-білками – найбільший клас мембранних протеїнів у геномі людини та найбільша група клітинних рецепторів, специфічних до більшості гормонів (зокрема, усіх гормонів гіпоталамусу та гіпофізу) і нейромедіаторів (наприклад, серотоніну, ацетилхоліну, дофаміну), а також багатьох хемокінів, окремих ліпідних месенджерів і глікопротеїнів. Представники GPCRs регулюють безліч клітинних процесів, а також вони задіяні в фото-, механо- і хеморецепції. Порушення трансдукції клітинних сигналів за участі GPCRs індукують (або супроводжують) ряд захворювань, таких як серцево-судинні, онкологічні і психічні хвороби, ретинопатії, СНІД тощо. Крім того, більшість фармакологічних лікарських засобів модулюють передавання клітинних сигналів, діючи саме на GPCRs. Варто підкреслити, що крім добре дослідженого сигналіngu, опосередкованого активацією G-протеїнів, GPCRs також активують/регулюють сигнальні шляхи незалежно від G-протеїнів.

GPCRs отримали альтернативні назви «серпентинові» і «7ТМ» в силу ідентичності загальних структурних властивостей їхніх молекул, а саме: єдиний поліпептидний ланцюг, що має сім  $\alpha$ -спіральних трансмембранних сегментів (позначають ТМ). Ланцюг 7 разів перетинає плазматичну мембрану, формуючи 3 внутрішньоклітинні (і) та 3 позаклітинні (е) петлі. N-кінець молекули рецептора міститься у позаклітинному просторі, C-кінець у цитозолі (рис. 3).

Структура трансмембранних сегментів 7ТМ рецепторів виявляє значну подібність – це послідовності з 20 - 25 амінокислотних залишків. Найбільш варіабельними ділянками молекули рецептора є C-кінець, і3-петля (між ТМ5 і ТМ6) та N-кінець. Максимальна варіабельність амінокислотного ланцюга спостерігається в N-кінці рецептора: це або дуже короткий фрагмент (10 - 50 амінокислотних залишків) у випадку рецепторів моноамінів і пептидів, або дуже велика частина (350 і більше амінокислотних залишків) як у рецепторів до глікопротеїнових гормонів та глутаматних рецепторів. Найдовший позаклітинний фрагмент формує N-кінець рецепторів адгезії (понад тисячу амінокислотних залишків). Варто, однак, зазначити, що всі рецептори мають на N-кінці сайт глікозилування (Asn-X-Ser/Thr, де X – будь-яка амінокислота).

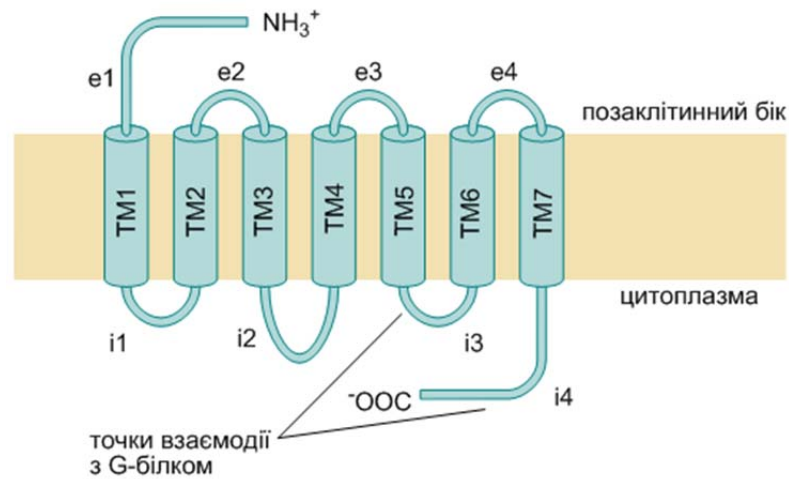


Рис. 3. Схематичне зображення загальної структури рецепторів надродини GPCR. Усі рецептори даної надродини мають схожі структуру та розташування в площині плазматичної мембрани: вони складаються з семи трансмембранних сегментів (TM1 - TM7), чотирьох позаклітинних (e1 - e4) і чотирьох внутрішньоклітинних (i1 - i4) сегментів. С-кінцевий сегмент (i4), сегмент i3 та у деяких рецепторів i2 задіяні у взаємодії з гетеротримерними G-протеїнами.

Одним з перших представників надродини GPCRs, структуру якого було детально досліджено, – родопсин (рецепторна молекула зорового аналізатора) (рис. 4). Цей рецептор спряжений з гетеротримерним G-білком трансдуцином.

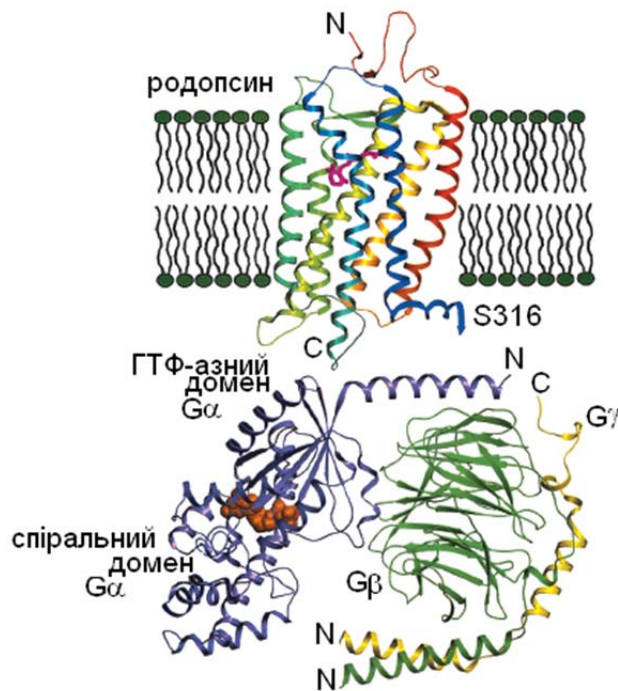


Рис. 4. Взаємне розміщення родопсину і трансдуцину відносно площини мембрани. S316 – С-кінцевий залишок родопсину.

Цікаво, що структурна і функціональна подібність GPCRs протирічить різноманіттю лігандів, які їх активують. Це – і фотони, іони ( $H^+$  і  $Ca^{2+}$ ), невеликі органічні молекули, пептиди та протеїни. Відповідно, було встановлено розташування ліганд-зв'язуючих сайтів для більшості GPCRs (рис. 5). Дрібні органічні молекули зв'язуються всередині ТМ доменів. Сайти зв'язування пептидних гормонів і протеїнів містяться на N-кінці або в позаклітинних фрагментах амінокислотного ланцюга рецептора. Проте розмір ліганда не є визначальним в розташуванні сайту його розпізнавання, наприклад, глікопротеїнові гормони, глутамат і  $Ca^{2+}$  активують свої рецептори, зв'язуючись з їх досить великими N-кінцевими доменами. Припускають, що, алостеричні модулятори GPCRs зв'язуються усередині структури ТМ.

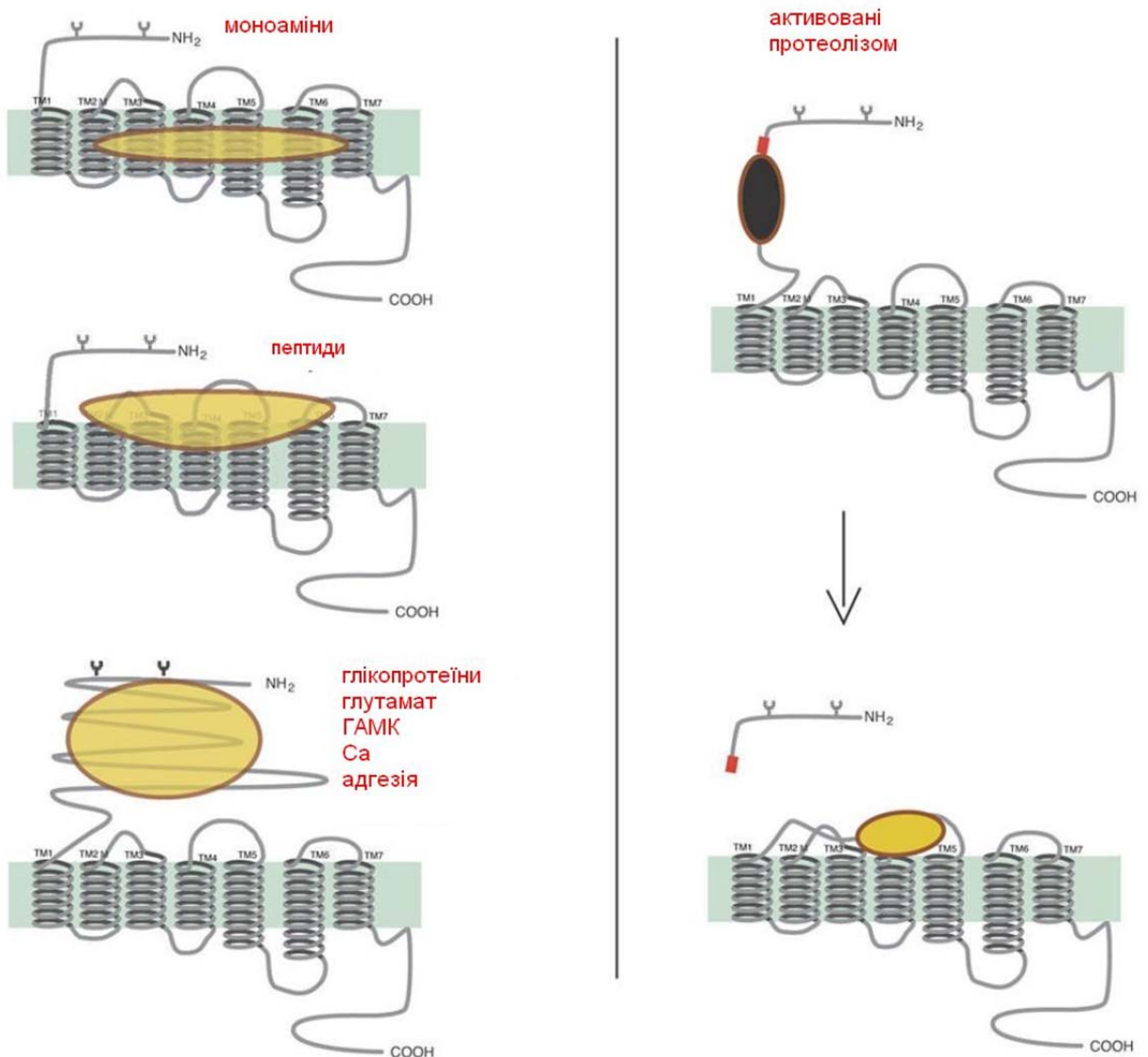


Рис. 5. Схеми, які показують вторинну структуру і сайти зв'язування агоністів різних представників GPCRs.

## Класифікація рецепторів

Як згадувалось вище, GPCRs – найбільш чисельний клас рецепторів. У геномі людини ідентифіковано понад вісімсот генів (для людини на 2021 рік встановлено 826 та передбачено методами біоінформатики 948), які кодують ці рецептори: більшість із них безінтронні. З них найбільша кількість кодує рецептори, які виконують сенсорні функції: нюх (понад 400, передбачена розрахунками кількість 481; усі безінтронні), смак (33; близько 77 % безінтронні), фоторецепцію (10) і сприйняття феромонів (5). Інші близько 350 рецепторів (близько 66 % безінтронні) виконують несенсорні функції, активуючись лігандами різного розміру (від невеликих молекул до великих протеїнів); власне, саме ця частина GPCRs – головна мішень терапевтичних засобів, яка залишається найбільш перспективною для розробки лікарських засобів.

Наразі в науковій літературі можна зустріти декілька схем класифікації GPCRs. Перша схема класифікації (отримала назву номенклатура A-F) була розроблена відповідно до гомології поліпептидного ланцюга молекули рецептора та містила 6 класів: клас А – родопсин-подібні (rhodopsin-like), клас В – родина секретинових рецепторів (secretin receptor family), клас С – метаботропні глутаматні (metabotropic glutamate), клас D – феромонів грибів (fungal mating pheromone receptors), клас Е – рецептори циклічного аденозинмонофосфату (cyclic AMP receptors), клас F – завити/згладжені рецептори (frizzled/smoothened receptors); класи D та Е відсутні у хребетних.

Аналогічною і найбільш поширеною є класифікація GPCRs на п'ять родин, яка базується на їхній структурній подібності: родопсину (родина А), секретину (родина В), глутамату (родина С), адгезії та Frizzled/Taste2.

Альтернативна, більш нова класифікація (отримала назву номенклатура «GRAFS») передбачає поділ GPCRs на п'ять родин та частково перетинається з номенклатурою А- F:

- Родина глутаматних рецепторів (Glutamate family, детальніше: див. к'юар-код) об'єднує 15 представників: метаботропні глутаматні рецептори,  $Ca^{2+}$ -чутливий рецептор, рецептори підродини В до  $\gamma$ -аміномасляної кислоти (ГАМКВ), три самкові рецептори типу 1, рецептори феромонів V2 (ідентифіковані у гризунів, але відсутні у людини).



- Родина родопсин-подібних рецепторів (Rhodopsin family, детальніше: див. к'юар-код) об'єднує 719 рецепторів, лігандами яких є нейромедіатори, гормони, інші невеликі молекули, пептиди; до них відносять нюхові рецептори, фоторецептори (опсини), смакові рецептори



типу 2, п'ять рецепторів феромонів (V1).

- Родина рецепторів адгезії (Adhesion family, детальніше: див. к'юар-код), об'єднує 24 представники. Ця родина філогенетично пов'язана з рецепторами класу В, від яких вони відрізняються наявністю великих позаклітинних N-кінцевих доменів, які автопротеолітично відщеплюються в консервативній ділянці GPS, розташованій в межах домену GAIN.



- Родина рецепторів frizzled/smoothened (frizzled/smoothened receptors, іноді називають frizzled/taste family, детальніше: див. к'юар-код, складається із 10 протеїнів Frizzled (FZD(1-10)) і Smoothened (SMO). Рецептори FZD активуються ліпополісахаридами родини WNT, тоді як SMO опосередковано трансмембранного протеїна Patched (PTCH) активуються протеїнами родини Hedgehog (HH).



Родина рецепторів секретину (Secretin family) людини об'єднує 15 генів. Лігандами цих рецепторів є пептидні гормони, молекули яких складаються з 27-141 амінокислотних залишків, причому 9 рецепторів активуються гормонами, що структурно подібні між собою: глюкагоном, глюкагон-подібними пептидами (GLP-1 та GLP-2), глюкозо-залежним інсулінотропним поліпептидом (GIP), секретином, вазоактивним інтестинальним пептидом (VIP), соматоліберином (GHRH) та поліпептидом, який активує аденілатциклазу гіпофіза (PACAP).

На середину 2021 року актуальною класифікацією GPCRs людини є поділ на 4 класи: А (родопсину), В (секретину та адгезії), С (глутамату) та F (Frizzled) (рис. 6).

Залежно від лігандів, рецептори класу А поділяють на декілька груп: амінергічні, пептидні, протеїнові, ліпідні, мелатонінові, нуклеотидні, стероїдні, алікарбоновокислотні, сенсорні та орфанні.

Рецептори класу В поділяють дві підродини: секретинові (B1, містить 15 рецепторів) та адгезивні (B2, містить 33 рецептора). Підродину адгезивних рецепторів надалі поділяють на 9 підгруп залежно від доменної структури N-кінцевої частини молекули (наявність доменів епідермального фактора росту, кадгерину, імуноглобуліну). Порівняно з іншими GPCRs, рецептори підродини B2 містять домен, який індукує автопротеоліз, мають сайт автопротеолізу (з формуванням N-кінцевого фрагменту – NTF).

Клас С рецепторів людини містить 22 представники, які надалі поділяють на 5 підродин: перша (містить одного представника) – рецептор, чутливий до кальцію (CaSR); друга (містить два представники) – рецептори

ГАМК типу В ( $GABA_{B1}$  та  $GABA_{B2}$ ), третя (містить три представники) – смакові рецептори ( $TS1R1-3$ ); четверта (містить вісім представників) – метаботропні глутаматні рецептори ( $mGluR1-8$ ); п'ята (містить вісім представників) – орфанні рецептори. Важливою структурною відмінністю підродина метаботропних глутаматних рецепторів є наявність великого позаклітинного домену, які забезпечують обов'язку димеризацію молекул рецепторів та утворюють сайт зв'язування ліганду (глутамату).

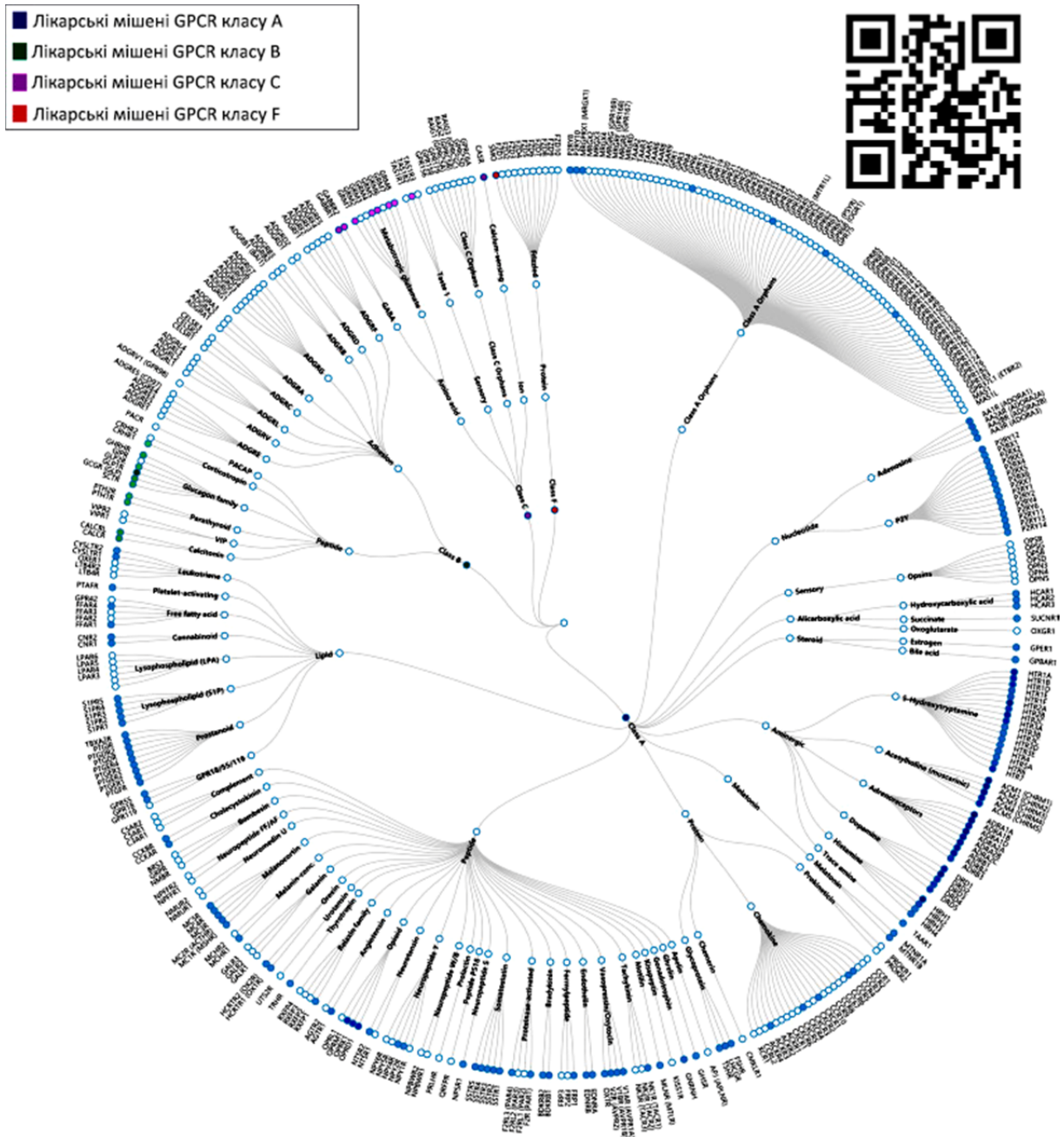


Рис. 6. Філогенетичне дерево GPCRs із вказанням тропних до них схвалених лікарських засобів. Тут позначено: вузол – рецептор, названий відповідно до назви його гену; кольором виділено рецептори, які мають схвалені FDA (на момент червня 2020 року) медичні препарати.

Рецептори класу F (11 представників) мають велике значення для процесів ембріонального і постнатального розвитку організму людини. Представники цього класу є найменш дослідженими, втім досить добре вивчені сигнальні каскади FZD (які об'єднують WNT,  $\beta$ -катенін, Norrin та протеїн 5/6, споріднений з рецептором ліпопротеїдів низької щільності).

### Характеристика гетеротримерних G-білків

Гетеротримерні G-білки належать до надродини регуляторних GTPаз. Регуляторні GTPази – це внутрішньоклітинні білки (понад 100 представників), які зв'язують/гідролізують GTP, запускаючи/вимикаючи цим ключові процеси в клітині.

Гетеротримерні G-протеїни безпосередньо передають сигнали від GPCRs до клітинних ефektorних протеїнів. Ці протеїни складаються з субодиниць  $\alpha$  (з молекулярною масою близько 8 кДа),  $\beta$  (з молекулярною масою близько 36 кДа) та  $\gamma$  (з молекулярною масою 39 - 46 кДа). Субодиниці  $\beta$  і  $\gamma$  тісно пов'язані між собою в комплекс, який може розглядатись як одна функціональна одиниця. G-протеїни функціонують як молекулярні бінарні «перемикачі», біологічна активність яких визначається зв'язаним з активним центром  $\alpha$ -субодиниці нуклеотидом (GTP або GDP).

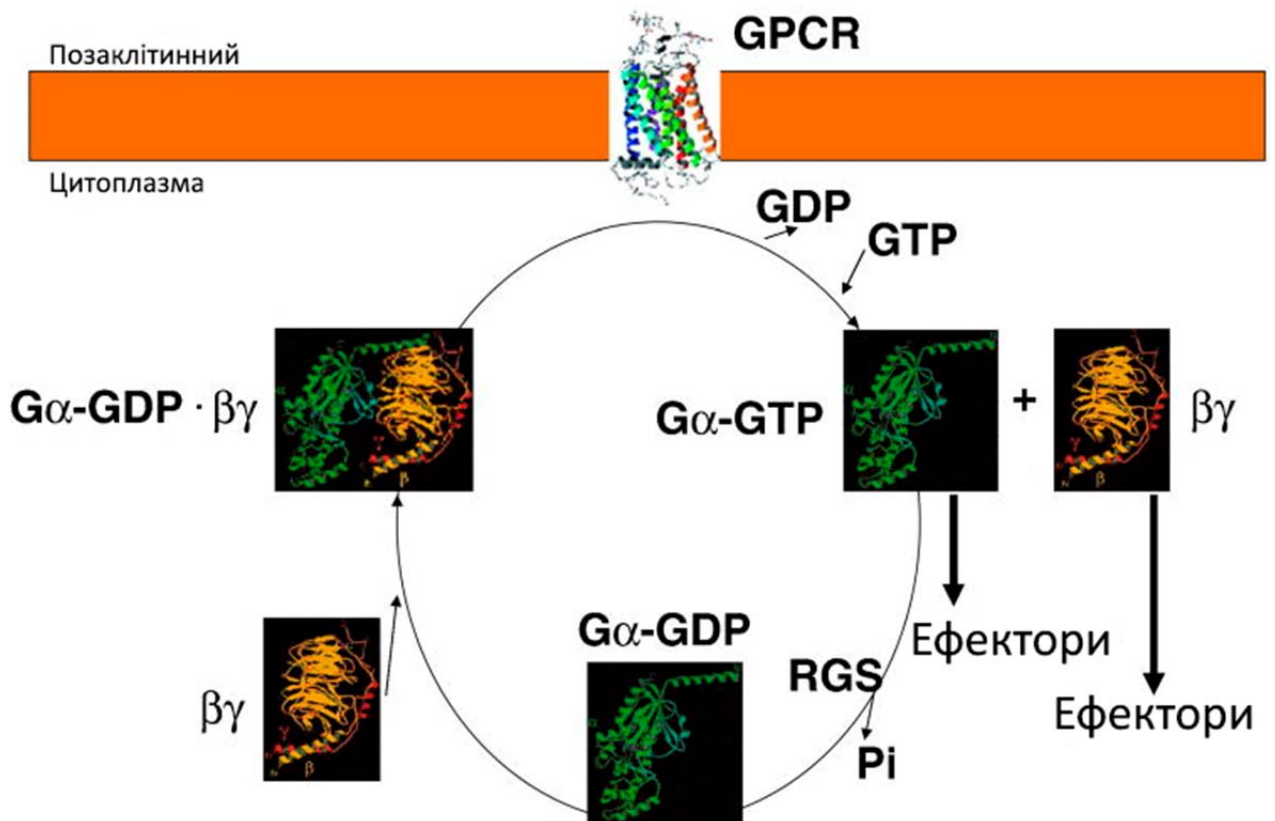


Рис. 7. Цикл гетеротримерного G-протеїну.

Молекули регуляторних GTPаз можуть перебувати у трьох станах: активному («ввімкненому» – зі зв'язаним GTP), порожньому (без зв'язаного нуклеониду, «порожньому») та неактивному («вимкненому» – після гідролізу GTP, зі зв'язаним GDP). Загалом, активування GTPаз відбувається факторами обміну гуанінових нуклеотидів (GEFs) – зокрема, активованим рецептором; гідроліз GTP молекулами GTP модулюється протеїнами двох типів: активаторами GTPази (GAPs) та інгібіторами дисоціації гуанінових нуклеотидів (GDIs).

При зв'язуванні з GPCR молекули агоніста відбувається активація обміну GDP на GTP (рис. 7). Це призводить до зменшення спорідненості  $G\alpha$  та  $G\beta\gamma$  ( $\gamma \sim 50$  разів), та до їхньої дисоціації (фактично, має місце утворення двох функціональних субодиниць ( $G\alpha$  та  $G\beta\gamma$ )). Субодиниці  $G\alpha$  та  $G\beta\gamma$  передають сигнали за різними внутрішньоклітинними шляхами.

Гетеротримерні G-протеїни ідентифікують і класифікують за їх  $\alpha$ -субодиницями. Базуючись на подібностях первинної структури і функціональних побідностей  $G\alpha$  вони групуються у чотири родини:  $G\alpha_s$ ,  $G\alpha_i$ ,  $G\alpha_q$  та  $G\alpha_{12}$  (рис. 8).

До родини  $G\alpha_s$  ( $s$  – від «стимуляція», «stimulation») належать два представники:  $G\alpha_s$  та  $G\alpha_{olf}$ :  $G\alpha_s$  експресуються у більшості типів клітин та  $G\alpha_{olf}$  ( $olf$  – від «нюховий», «olfactory») вибірково експресується у сенсорних нюхових нейронах.

Родина  $G\alpha_i$  ( $i$  – від «інгібіторний», «inhibitory») – найбільш різноманітна, вона об'єднує протеїни:  $G\alpha_{i1}$ ,  $G\alpha_{i2}$ ,  $G\alpha_{i3}$ ,  $G\alpha_o$ ,  $G\alpha_t$ ,  $G\alpha_g$  та  $G\alpha_z$  (рис. 8). Протеїни  $G\alpha_i$  ідентифіковані у більшості типів клітин.  $G\alpha_o$  – високо експресуються в нейронах та мають два сплайс-варіанти ( $G\alpha_{oA}$  та  $G\alpha_{oB}$ ).  $G\alpha_t$  позначається  $t$  від «трансдуцин» («transducin») та має дві ізоформи:  $G\alpha_{t1}$  експресується у паличках сітківки ока та  $G\alpha_{t1}$  – у ковбочках. Протеїн  $G\alpha_g$  ( $g$  – від «гастдуцин», «gastducin») ідентифіковано у клітинах смакових рецепторів.  $G\alpha_z$  вибірково експресується у нейронах і тромбоцитах.

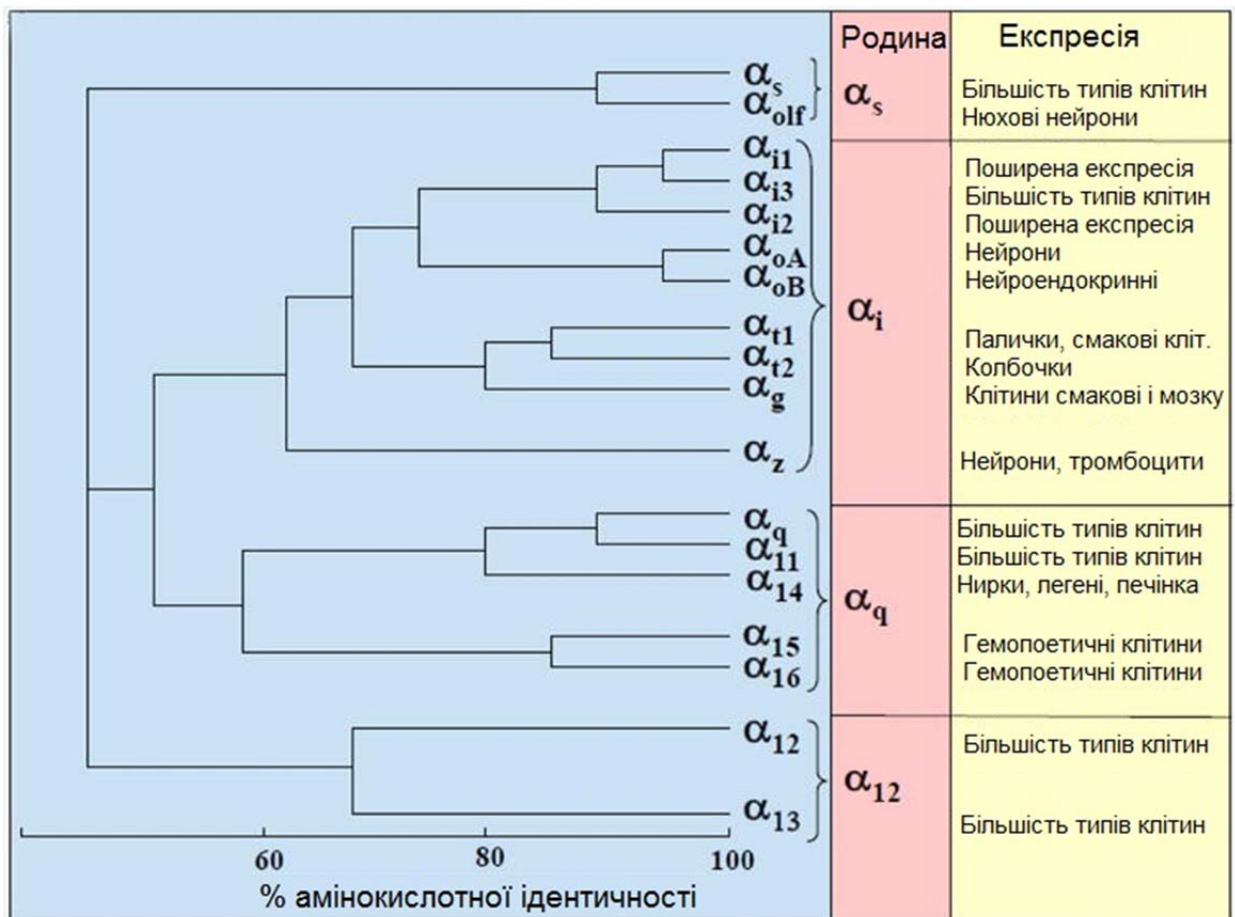


Рис. 8. Філогенетичний зв'язок субодиниць  $G\alpha$  (людини і миші) та їхня експресія.

Родина  $G\alpha_q$  складається з чотирьох протеїнів:  $G\alpha_q$ ,  $G\alpha_{11}$ ,  $G\alpha_{14}$  та  $G\alpha_{16}$ ; у організмі миші еквівалент  $G\alpha_{16}$  – протеїн  $G\alpha_{15}$ . Протеїни  $G\alpha_q$  та  $G\alpha_{11}$  ідентифіковані практично в усіх типах клітин, тому часто позначенням родини є  $G\alpha_{q/11}$ .  $G\alpha_{14}$  ідентифіковано в тканинах окремих органів (переважно у нирках, печінці та легенях), а  $G\alpha_{15/16}$  – виключно в гемо поетичних клітинах.

У родині  $G\alpha_{12}$  ідентифіковано два протеїни –  $G\alpha_{12}$  та  $G\alpha_{13}$ . Вони ідентифіковані у переважній більшості клітин.

Крім  $\alpha$ -субодиниць гетеротримерні G-протеїни містять комплекс субодиниць  $\beta\gamma$ . У геномах людини і миші є п'ять генів, які кодують  $\beta$ -субодиниці (рис. 9), та 12 генів  $\gamma$ -субодиниці (рис. 10). Перші чотири представники  $\beta$ -субодиниць  $G\beta_1$ - $G\beta_4$  дуже подібні між собою (гомологія між ними складає від 80 до 90 %), а всі ці протеїни ідентифікуються практично у всіх типах клітин. Субодиниця  $G\beta_5$  характерна лише для головного мозку; її подібність до інших  $\beta$ -субодиниць становить лише 50 %. Субодиниці  $\gamma$  мають найвищу варіативність (від 20 до 80 %) амінокислотних послідовностей.

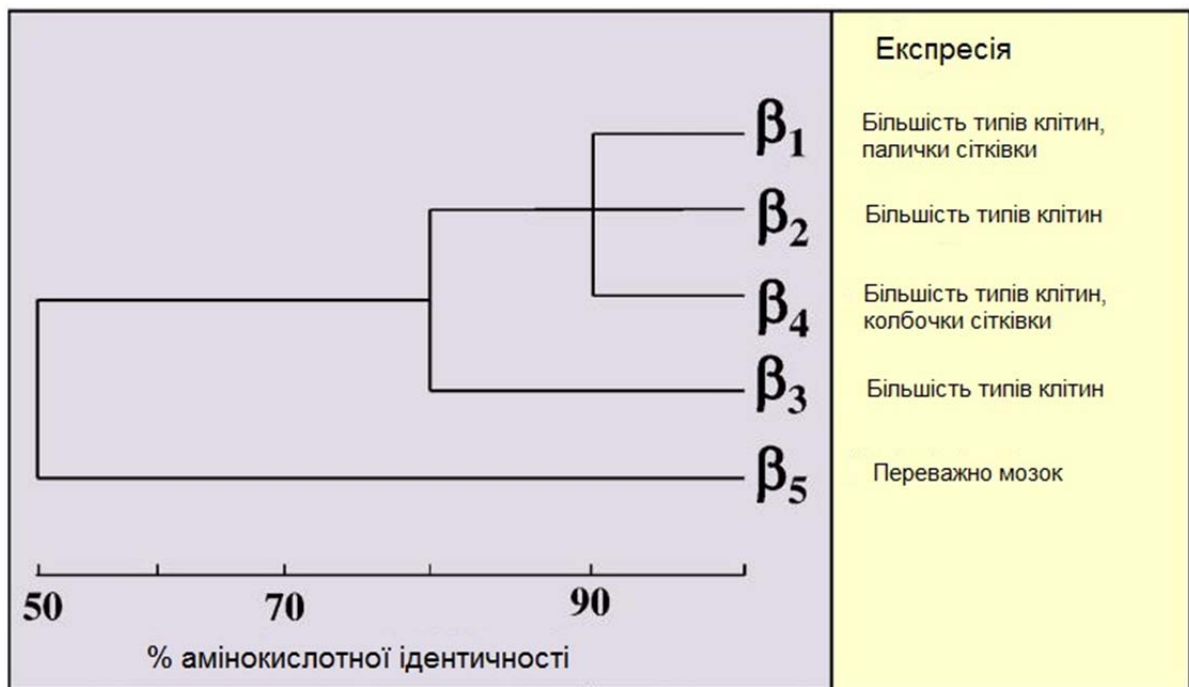


Рис. 9. Філогенетичний зв'язок субодиниць G $\beta$  (людини і миші) та їхня експресія.

Хоча експериментами на ізольованих клітинах показано, що різні комбінації  $\beta$ -субодиниць мають подібну біохімічну активність, експерименти на мишах з делеції генів показали їхню участь у окремих фізіологічних функціях. До того ж розподіл і рівні експресії окремих ізоформ цих субодиниць варіюють в різних тканинах.

Молекула субодиниці G $\alpha$  складається з двох доменів: подібного до Ras-GTPази домену (його інші назви – Ras domain, за гомологією щодо цієї структури протеїну – могомерної цитоплазматичної GTPази Ras; G-domain – домен, головний для зв'язування і гідролізу GTP) та  $\alpha$ -спірального домену; ці домени зв'язані між собою за допомогою лінкерних фрагментів 1 і 2 (для G $\alpha_{i1}$  це послідовності амінокислотних залишків 54 - 58 та 173 - 179, відповідно) (рис. 11). Ras-GTPазний домен складається із п'яти  $\alpha$ -спіральних фрагментів та шести  $\beta$ -стрендів. Спіральний домен побудований з п'яти  $\alpha$ -спіральних структур. У кишені між Ras-GTPазним і  $\alpha$ -спіральним доменами розташовується GTPазний центр.

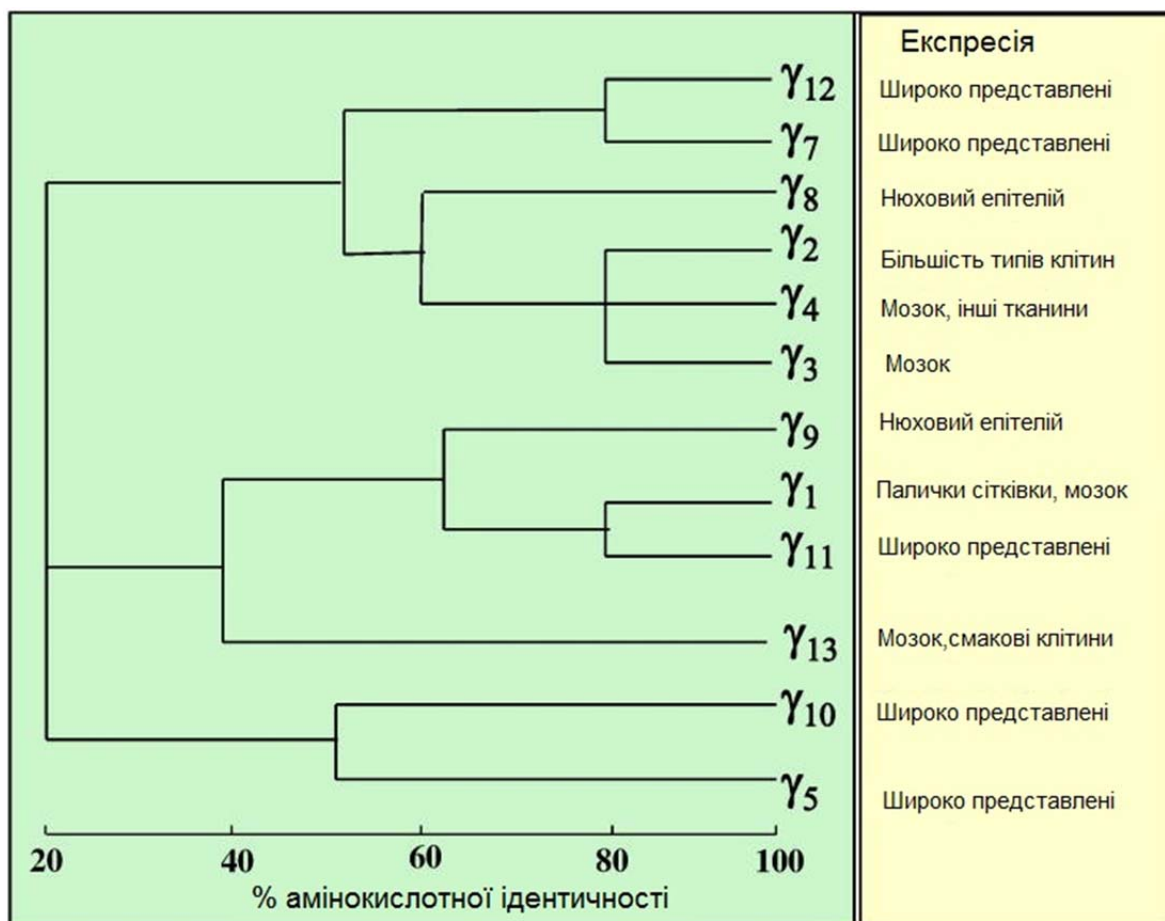


Рис. 10. Філогенетичний зв'язок субдодиниць G $\gamma$  (людини і миші) та їхня експресія.

Нуклеотид-зв'язувальна кишеня G-протеїнів високо консервативна. Безпосередньо зв'язування гуанінових нуклеотидів забезпечується Р-петлею (фрагментом з консенсусною послідовністю амінокислотних залишків [GX<sub>4</sub>GK(S/T)], інша його назва – мотив Walker A (оскільки він був вперше описаний як консервативна ділянка АТФ-зв'язувальних протеїнів науковою групою Волкера); протеїни, які його містять об'єднують у надродину нуклеотидтрифосфатгідролаз, які містять Р-петлю); також у активному центрі GTPази розташовані дві інші консенсусні послідовності амінокислотних залишків [RX<sub>2</sub>T] та [DX<sub>2</sub>G], які зв'язують  $\beta$ - і  $\gamma$ -фосфати гуанінових нуклеотидів та приймають участь у GTPазній реакції. Консервативна послідовність з консервативних амінокислотних залишків [(N/T)(K/Q)XD] зв'язує гуанозин. Також G $\alpha$ - субдодиниці містять три гнучкі ділянки, які отримали назву перемикачі I, II (містить мотив [(N/T)(K/Q)XD]) та III (для G $\alpha_{i1}$  це послідовності амінокислотних залишків 173 - 183, 195 - 215 та 227 - 238, відповідно), вони взаємодіють з  $\beta$ - і  $\gamma$ -фосфатами та координуваним іоном Mg<sup>2+</sup>. Перемикачі змінюють конформацію залежно від зв'язування GTP та його гідролізу; у випадку переходу протеїна у «порожню» конформацію, іон Mg<sup>2+</sup> першим

витісняється з активного центру, внаслідок чого порушуються взаємодії між амінокислотними залишками Р-петлі та фосфатами нуклеотидів.

N-кінцева ділянка (залишки гліцину або метіоніну)  $\alpha$ -субодиниці ковалентно модифікується залишком міристинової та/або пальмітинової жирних кислот, таким чином набуваючи властивості: приєднувати G-білок до плазматичної мембрани; приєднувати  $\alpha$ -субодиницю до специфічних (потрібних) ділянок плазматичної мембрани; регулювати взаємодію  $\alpha$ -субодиниці з рецептором,  $\beta\gamma$ -субодиницями, ефекторними протеїнами клітини.

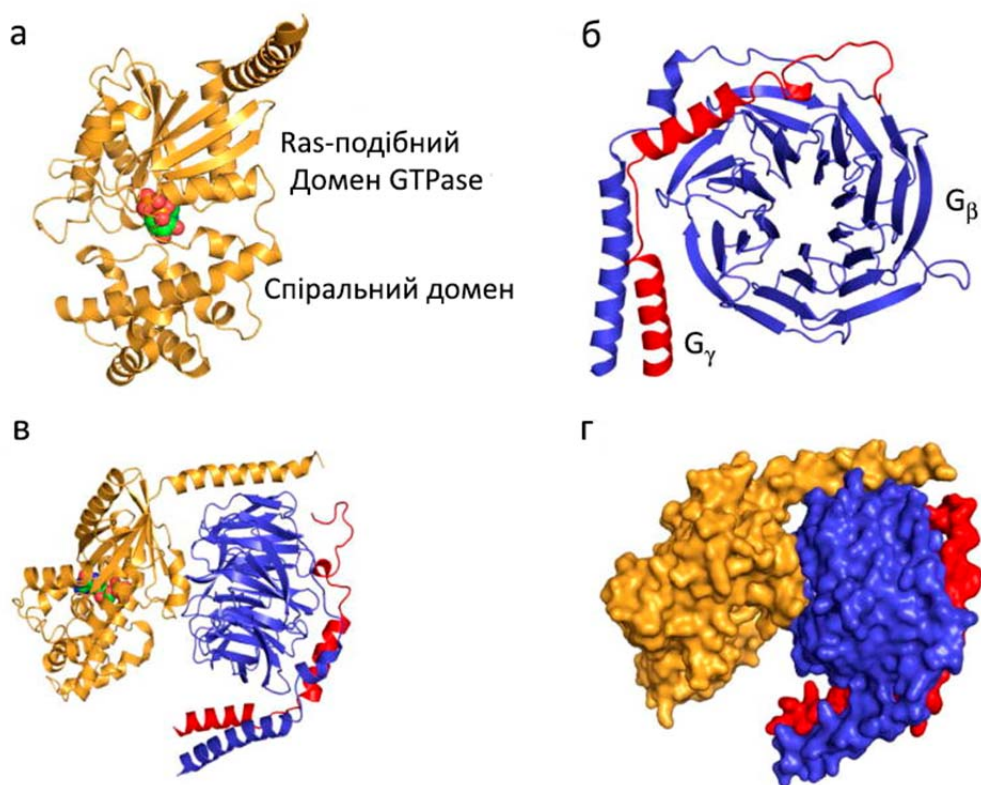


Рис. 11. Кристалічні структури гетеротримерного G-протеїна на прикладі  $G\alpha_{i1}\beta_1\gamma_2$  (кольорами показано: помаранчевим  $\alpha$ -субодиницю, синім  $\beta$ -субодиницю та червоним  $\gamma$ -субодиницю): (а) – схематичне зображення структур комплексу  $G\alpha_{i1}$  з GDP; (б) – схематичне зображення структур комплексу  $\beta\gamma$ -субодиниць; (в) – схематичне зображення структур гетеротримерного комплексу; (г) – візуалізація поверхонь гетеротримерного комплексу.

Молекули G-протеїнів мають дуже високу спорідненість до GDP (у деяких випадках порядку пікомоль), тому для подолання цього бар'єру функціонують GEFs, які знижують цю спорідненість, роблячи можливою взаємодію з GTP (внаслідок суттєво вищої концентрації у цитозолі). На молекулярному рівні GEFs спричиняють збурення в ділянках перемикачів I і II

(рис. 12). У випадку гетеротримерних G-протеїнів роль їх GEFs відіграють GPCRs: їхнє зв'язування з ендogenousними або екзогенними агоністами спричиняє набуття такої конформації, яка впливає на конформацію контактних поверхонь, змінюючи взаємодію з внутрішньоклітинними протеїнами.

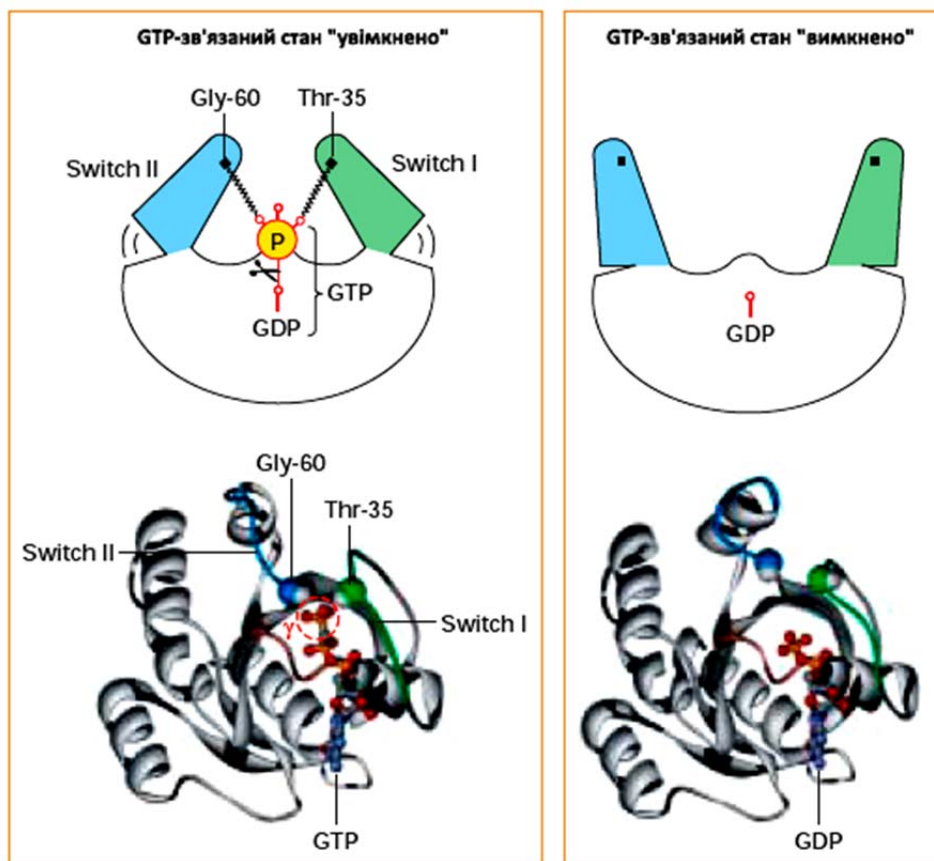


Рис. 12. Схема розташування перемикачів I та II (важливих ділянок активного центру  $G\alpha$ ) у активному центрі G-протеїну та важливі амінокислотні залишки, які стабілізують  $\gamma$ -фосфат GTP; їхнє переміщення при гідролізі GTP.

Усі молекули  $G\beta$  субодиниць містять сім структур типу  $\beta$ -пропелера (WD-40 повторів – амінокислотних послідовностей із залишками триптофан-аспартат, які повторюються кожні 40 амінокислотних залишків та формують малі антипаралельні  $\beta$ -стренди; кожна лопать містить чотири  $\beta$ -структури).

Субодиниці  $G\gamma$  містять два  $\alpha$ -спіральні фрагменти: С-кінцева  $\alpha$ -спіраль обов'язково пренілується (ізоформи  $G\gamma_1$ ,  $G\gamma_8$  і  $G\gamma_{11}$  залишком фарнезилу, а усі інші – групою геранілгеранілому), забезпечуючи заякорення у мембрані комплекс  $G\beta\gamma$ -субодиниць.

### Здійснення сигнал-перетворюючої функції рецепторів

Загальний принцип проведення сигналу через GPCRs можна охарактеризувати простою схемою процесів (рис. 13). Зв'язування рецептора

(R) зі специфічним лігандом призводить до активації рецептора. Активовані рецептори ( $R^*$ ) можуть стимулювати гетеротримерні G-протеїни (комплекс з  $G\alpha$ -GDP та  $G\beta\gamma$ -субодиниць) на внутрішньому боці плазматичної мембрани. Активація G-протеїна викликає дисоціацію GDP з сайту зв'язування на  $\alpha$ -субодиниці і його заміщення на GTP (внутрішньоклітинна концентрація останнього на порядок вища, і також G-протеїн після активації має значно вищу спорідненість саме до GTP). Спорідненість  $G\alpha$ -GTP до комплексу  $G\beta\gamma$  та до рецептора знижена. Активована субодиниця  $\alpha$  та комплекс субодиниць  $\beta\gamma$  дисоціюють і окремо виконують свої функції. Таким чином, активація G-протеїнів призводить до активації ряду систем синтезу вторинних посередників і, як наслідок, ряду внутрішньоклітинних ефектів, які на вищих рівнях організації біологічних систем реалізуються як фізіологічні відповіді.

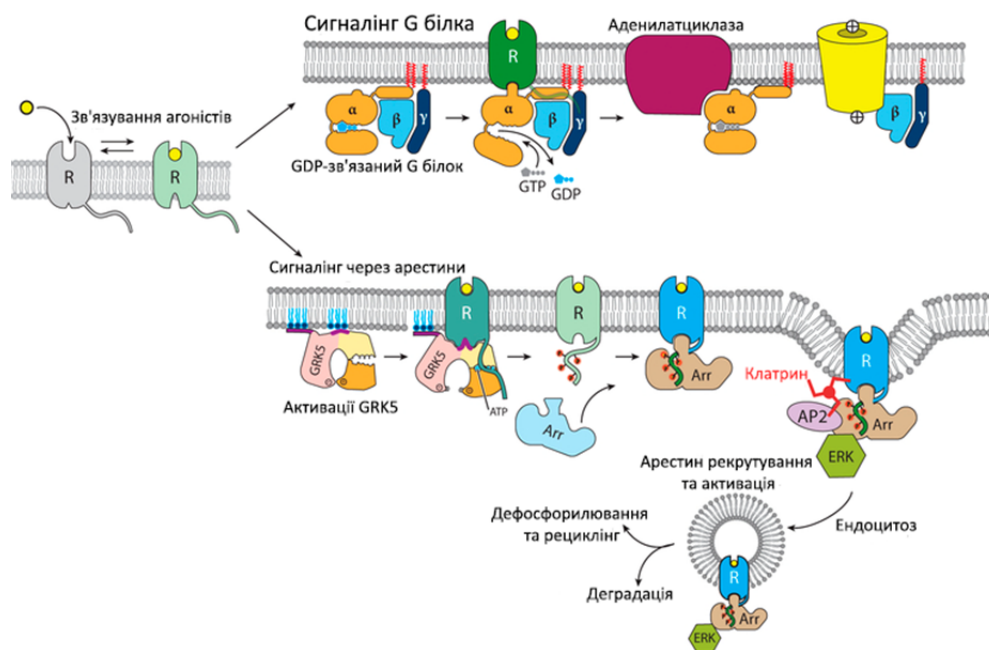


Рис. 13. Схема активації GPCR при зв'язуванні ліганда-агоніста з рецептором (R). Верхня частина схеми ілюструє — класичний шлях активації G-протеїну. Обмін GDP на GTP у  $\alpha$ -субодиниці G-протеїну призводить до дисоціації комплексу гетеротримерного G-протеїну на субодиницю  $\alpha$  і комплекс субодиниць  $\beta\gamma$ ; надалі ці субодиниці взаємодіють з ефекторними протеїнами. Зокрема, і субодиниця  $G\alpha$  стимулює аденилатциклазу, а комплекс субодиниць  $G\beta\gamma$  – модулює іонні канали.

Нижня частина схеми ілюструє здатність активованих GPCR також передавати сигнали через арестини. Селективне фосфорилування C-кінцевої частини GPCR кіназами рецепторів, спряжених з G-протеїнами (GRK), сприяє рекрутуванню до цитоплазматичної частини рецептора протеїну арестина (Arr), що активує взаємодію комплексу клатринового адапторного протеїну 2 (AP2), клатрин-опосередкований ендцитоз та активацію кінази, регульованої позаклітинним сигналом (ERK).

## Внутрішньоклітинні сигнали, опосередковані родинami гетеротримерних G-протеїнів

Натепер добре досліджені окремі клітинні процеси, що спостерігаються після активації гетеротримерних G-протеїнів, та ефекторні протеїни, на які впливають активовані субодиниці (табл. 1, рис. 14).

**Табл. 1. Протеїни, які взаємодіють з субодиницею G $\alpha$**

| Субодиниця G $\alpha$   | Встановлені загальні ефекторні протеїни G-протеїнів | Інші протеїни, які взаємодіють з G-протеїном   |
|---|---|--|
| G $\alpha_s$ і G $\alpha_{olf}$   | Аденілатциклаза (+)                                 | Тубулін, Calnuc, тирозинкіназа Src, аксин  |
| G $\alpha_{i1}$ , G $\alpha_{i2}$ , G $\alpha_{i3}$ , G $\alpha_o$ , G $\alpha_t$ , G $\alpha_g$ і G $\alpha_z$ | Аденілатциклаза (-), фосфодіестераза cGMP (+)       | Calnuc, тирозинкіназа Src, нуклеобіндин 2 (NUCB2), тубулін, LGN, GRIN1, Eya2, Pcp1 та Pcp2                       |
| G $\alpha_q$ , G $\alpha_{11}$ , G $\alpha_{14}$ і G $\alpha_{16}$  | Фосфоліпаза C $\beta$ (+), p63-RhoGEF               | GRK2, актин, тубулін, PI3K, тирозинкіназа Btk, фосфоліпаза C- $\epsilon$ , TRPM8                                 |
| G $\alpha_{12}$ і G $\alpha_{13}$   | P115-RhoGEF, LARG та PDZ-RhoGEF                     | Gap1, rasGap, тирозинкіназа Btk, радиксин, Нах-1, кадгерини, SNAP, p120-catenin, інтегрин $\alpha_{IIIb}\beta_3$ |

*Примітка:* позначено (+) стимулювання, (-) інгібування

Зокрема, представники родин G $\alpha_s$  і G $\alpha_i$  змінюють активність аденілатциклази, відповідно активуючи та інгібуючи синтез циклічного аденозинмонофосфату (сAMP) (рис. 15а та рис. 16). Підвищення внутрішньоклітинної концентрації молекул сAMP, який є вторинним посередником, призводить до активації протеїнкінази А, керованих сAMP іонних каналів, а також ЕРАС (які є GEF для малих GTPаз протеїнів Rap); G-протеїни родини G $\alpha_i$  навпаки здатні інгібувати окремі ізоформи аденілатциклази, спричиняючи зниження концентрації сAMP в клітині.

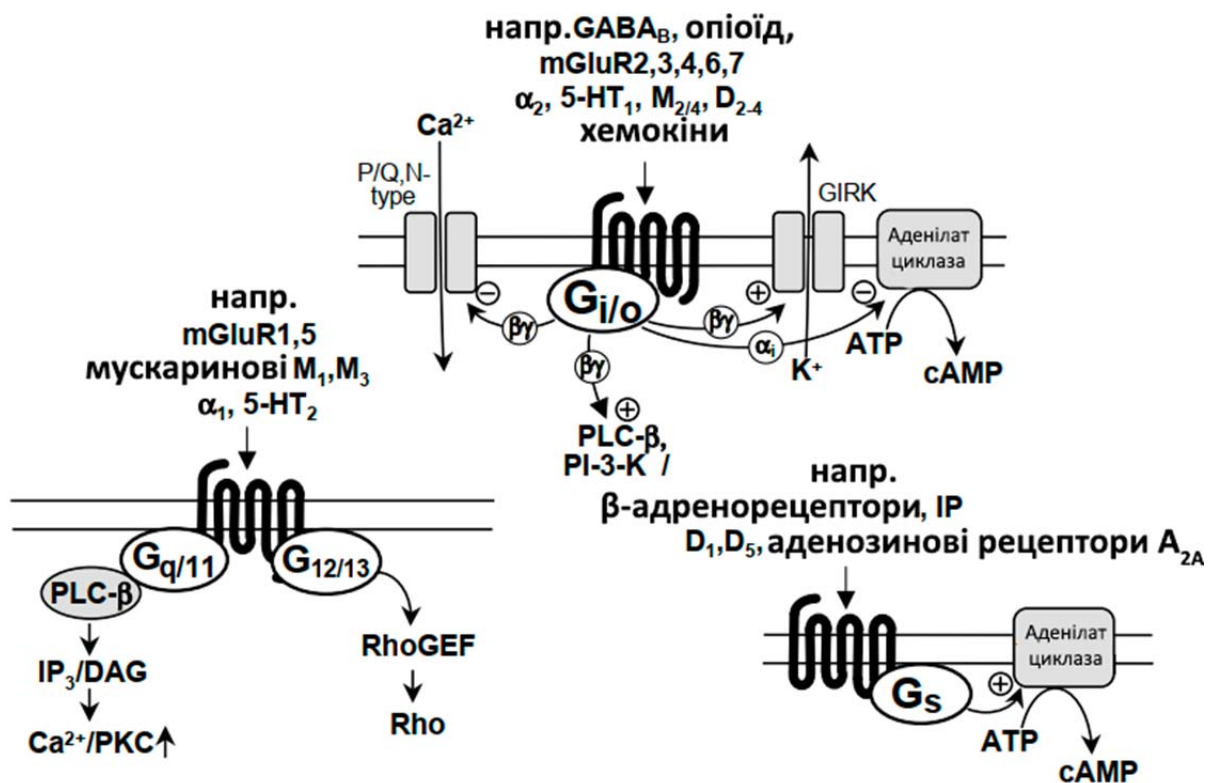


Рис. 14. Канонічні загальні патерни спряження GPCRs-гетеротримерні G-протеїни.

Позначено: adenylyl-cyclase – аденілатциклаза; PLC-β – фосфоліпаза Сβ; PI-3-K – фосфоінозитол 3-кіназа; IP<sub>3</sub> – інозитол-1,4,5-трифосфат; DAG – диацилгліцерол; GIRK – регульований G-протеїнами K<sup>+</sup>-канал вхідного випрямлення; PKC – протеїнкіназа С; P/Q, N-type – потенціалкеровані Ca<sup>2+</sup>-канали P/Q, N типів; RhoGEF – фактор обміну гуанінових нуклеотидів малої GTPази Rho. Типові рецептори, спряжені з певною родиною G-протеїнів: G<sub>i/o</sub> (GABA<sub>B</sub> – рецептори γ-аміномасляної кислоти типу В; opіoid – опіоїдів; mGluR2,3,4,6,7 – метаботропні глутаматні рецептори типів 2,3,4,6,7; α<sub>2</sub> – адренорецептори типу α<sub>2</sub>; 5-HT<sub>1</sub> – 5-гідрокситриптамінові (серотонінові) рецептори типу 1; M<sub>2/4</sub> – мускаринові ацетилхолінові рецептори підтипів 2 і 4; D<sub>2-4</sub> – дофамінові рецептори типів 2-4; хемокінові рецептори), G<sub>q/11</sub> та G<sub>12/13</sub> (mGluR1,5 – метаботропні глутаматні рецептори типів 1, 5; muscarinic M<sub>1</sub>, M<sub>3</sub> – мускаринові ацетилхолінові рецептори підтипів 1 і 3; α<sub>1</sub> – адренорецептори типу α<sub>1</sub>; 5-HT<sub>2</sub> – 5-гідрокситриптамінові (серотонінові) рецептори типу 2), G<sub>s</sub> (β-adrenergic – адренорецептори типу β; IP – рецептори простагландину (простагландину I<sub>2</sub>); D<sub>1</sub>, D<sub>5</sub> – дофамінові рецептори типів 1 і 5; A<sub>2A</sub> – аденозинові рецептори підтипу A<sub>2A</sub>).

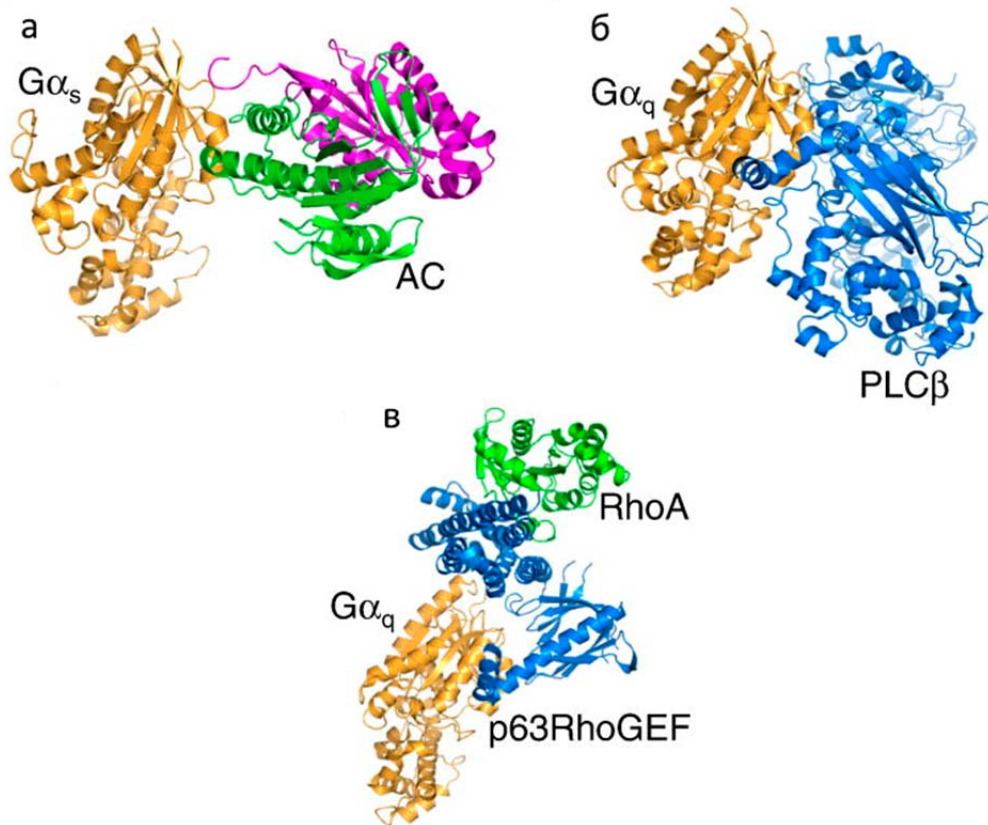


Рис. 15. Кристалічні структури субодиниці  $G\alpha$  (показано помаранчевим кольором) у комплексі з ефекторними протеїнами: (а) взаємодія  $G\alpha_s$  із доменами C1A (фуксії) та CA2 (зелений колір) аденілатциклази (AC); (б) взаємодія  $G\alpha_q$  з фосфоліпазою  $C\beta_3$  (синій колір); (в) взаємодія  $G\alpha_q$  із p63RhoGEF (синій колір) та RhoA (зелений колір).

У випадку протеїнів родини  $G\alpha_q$  відбувається активація ізоформ фосфоліпази  $C\beta_{1-4}$ , яка розщеплює мінорний фосфоліпід плазматичної мембрани фосфатидил-4,5-дифосфат ( $PtdIns_{(4,5)}P_2$ ) з утворенням двох вторинних посередників: інозитол-1,4,5-трифосфат ( $IP_3$ ) та диацилгліцерол (DAG) (рис. 15б та рис. 17). Надалі  $IP_3$  активує  $Ca^{2+}$ -канали ендосаркоплазматичного ретикулуму, запускаючи процеси  $Ca^{2+}$ -сигналу в клітині (рис. 18). DAG залежно або незалежно від  $Ca^{2+}$  (варіює для різних ізоформ) активує протеїнкіназу C.

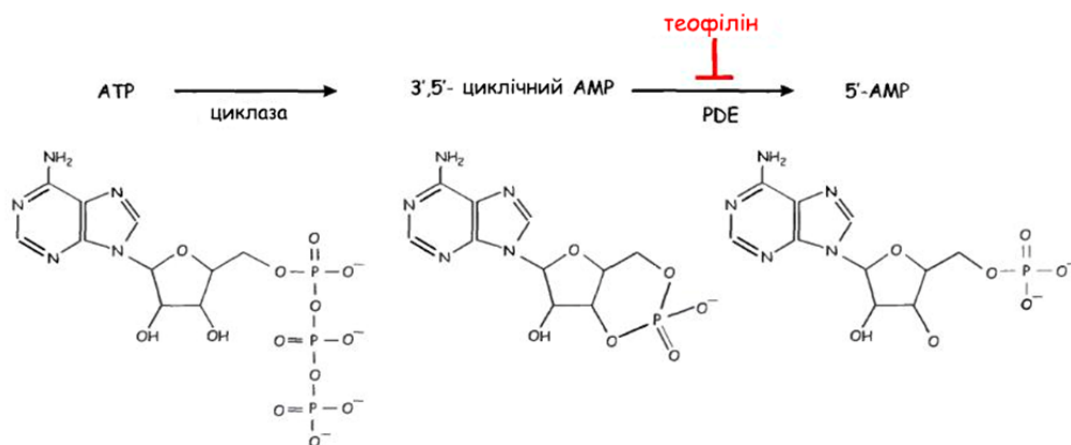


Рис. 16. Схема синтезу циклічного аденозинмонофосфату (сAMP) з АТР аденілатциклазою та його інактивації фосфодіестеразою (інгібітор фосфодіестерази – теофілін).

Протеїни  $G\alpha_{12/13}$  і  $G\alpha_{13}$  (але не  $G\alpha_{12}$ ) здатні напряму підвищувати активність споріднених протеїнів p115RhoGEF та RhoGEF. Для  $G\alpha_{12}$  характерна активація тирозинкіназ родини Btk, а також Gap1, rasGAP, кадгеринів, протеїнів  $\alpha$ -SNAP та p120-catenin.

Крім добре відомих, канонічних сигнальних шляхів G-протеїнів (регуляція активності аденілатциклази та фосфоліпази  $C\beta$ ), досліджені так інші протеїни-мішені цих протеїнів (табл. 1 та 2). Хоча фізіологічні функції таких взаємодій натепер остаточно не встановлені, ймовірно, вони є специфічними для окремих типів клітин.

Табл. 2. Мішені комплексу субодиноць  $\beta\gamma$  гетеротримерних G-протеїнів

| Чітко встановлені ефектори субодиноць $\beta\gamma$   | Інші протеїни, які взаємодіють з комплексом $\beta\gamma$   |
|---|---|
| Аденілатциклаза (+);<br>Фосфоліпаза $C\beta$ (+);<br>Фосфоінозитол-3 кінази;<br>Рецепторні протеїнкінази, спряжені з G-протеїнами;<br>$K^+$ - і $Ca^{2+}$ -канали | Тирозинкінази родини Btk; рецептори $IP_3$ ; кіназа Raf; протеїнкіназа D; деацетилаза пістонів 5; тубулін; F-актин; вінкулін; Rab11; мітофузин1; Radil; протеїн-активатор 1; іонний канал TRPM1 |

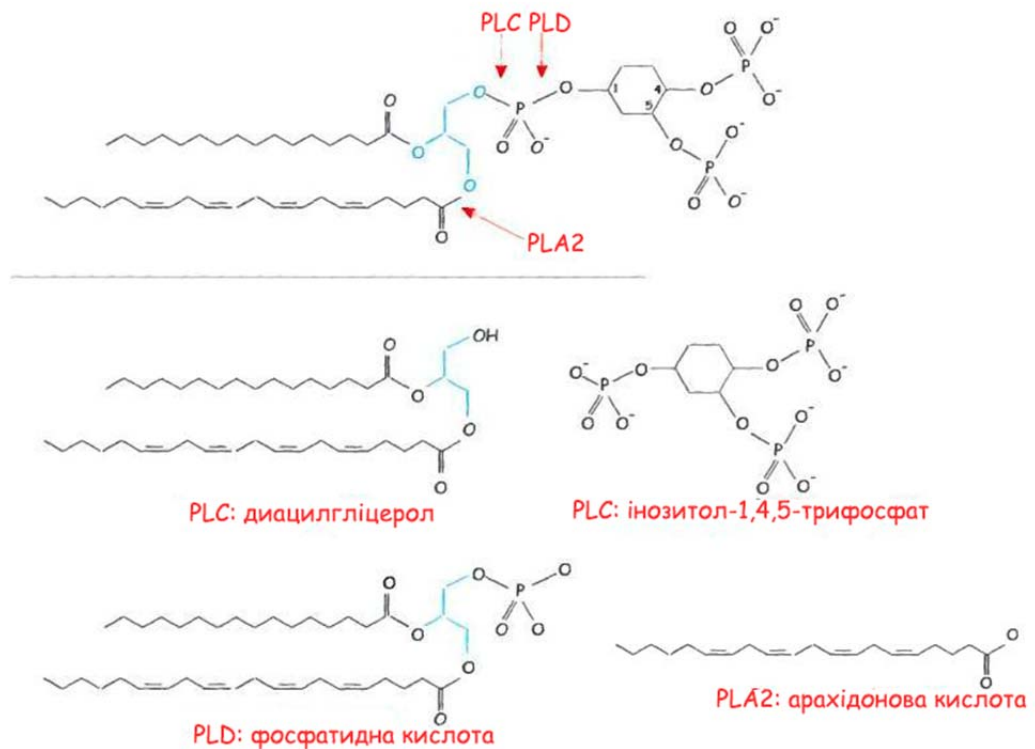


Рис. 17. Фосфатиділінозитол-4,5-дифосфат і продукти його розщеплення фосфоліпазами С (PLC), D (PLD), А2 (PLA2) – вторинні посередники диацилгліцерол, інозитол-1,4,5-трифосфат, фосфатидна кислота та арахідонова кислота.

Найбільш цікаві результати досліджень зі встановлення функцій окремих родин  $G\alpha$  було отримано на моделях мишей з нокаутом відповідних генів. Так, дослідженнями нульових мутацій материнського і батьківського алелів  $G\alpha_s$  встановлено, що такий вибірковий нокаут  $G\alpha_s$  протилежно впливає на енергетичний метаболізм у тканинах. Із материнського алелю  $G\alpha_s$  переважно експресується у проксимальних ниркових каналцях, щитоподібній залозі, гіпофізі та яєчниках.



Добре доведеними фізіологічними і патофізіологічними функціями субодиноць родини  $G\alpha_s$  є: посилення збудження і скорочення (за участі симпатичної частини автономної нервової системи) серцевого м'язу (а також гіпертрофія міокарду), посилення гідролізу тригліцеридів, посилення глікогенолізу і пригнічення синтезу глікогену, посилення синтезу гідрофобних гормонів (естрогенів, прогестерону, альдостерону і кортизолу), посилення секреції тироксину та активація проліферації клітин щитоподібної залози, підвищення реабсорбції іонів  $Ca^{2+}$  у кістковій тканині, пригнічення агрегації тромбоцитів, а також активація секреції рідини. Також  $G\alpha_s$  пов'язують (за до кінця не встановленим механізмом) з активацією приживлення гемопоетичних стовбурових клітин у кістковому мозку.

Надзвичайно цікаві результати були отримані при дослідженні мишей з нокаутом генів, які кодують окремі  $G\alpha_i$ . У кардіоміоцитах  $G\alpha_i$  регулюють провідність потенціалкерованих  $Ca^{2+}$ -каналів L-типу. За делеції одної ізоформи  $\alpha$ -субодиноць цієї родини у серцевому м'язі спостерігається підвищення експресії інших (в нормі мінорних субодиноць  $G\alpha_i$ ). Протеїни  $G\alpha_{i2}$  та  $G\alpha_{i3}$  ізоформо-специфічно регулюють активацію і міграцію макрофагів та процеси аутофагії гепатоцитів.

Загалом, детально встановлено сигналінг, за яким субодиноць  $G\alpha_i$  родини залучені до здійснення різноманітних функцій: сенсорного сприйняття (зір, смак, сприйняття феромонів у вомероназальному органі), процесів розвитку, функціонуванні нирок, регуляції збудливості і скоротливості міокарду, метаболізму ліпідів, хемокін-активованої міграції лімфоцитів, активації тромбоцитів. Також відомо (але внутрішньоклітинні сигнальні шляхи продовжують визначати), що  $G\alpha_i$  залучені до трансформації фібробластів, процесів позиціонування веретена поділу клітин, регуляції діацилгліцеролкінази, міграції клітин та вивільнення нейромедіаторів у синапсах.

Родина  $G\alpha_q$  протеїнів загалом регулює широкий спектр клітино- і тканино специфічних процесів, опосередкованих активацією ізоформ 1-4 фосфоліпаза  $C\beta$ . Також частина ефектів активації цих протеїнів опосередковується активацією малих GTPаз Rho. Протеїни  $G\alpha_q$  залучені до виконання наступних фізіологічних функцій: ембріонального розвитку і скорочувальної функції серцевого м'язу, тону судин, вивільнення гормонів з передньої частки гіпофізу, синаптичну трансмісію клітин Пуркінє, секреція інсуліну  $\beta$ -клітинами підшлункової залози, міграція та активація лейкоцитів, розвиток нервового гребеня, трансформація фібробластів. Миші з нокаутом  $G\alpha_q$  і  $G\alpha_{11}$  мають множинні дефекти розвитку і патології; зокрема, такі тварини мають дефекти розвитку мозочка і, як наслідок, порушення

координації рухів, пороки розвитку серця, гіперпаратиреоз, дефекти розвитку кісток черепа, порушення активації тромбоцитів.

Цікаво, що миші з нокаутом лише  $G\alpha_{12}$  не виявляють патологій розвитку і функціонування внутрішніх органів, тоді як нокаут  $G\alpha_{12}$  і  $G\alpha_{13}$  супроводжується ектопією нейронів кори великих півкуль і мозочка (що вказує на їх необхідність під час розвитку для правильного позиціонування мігруючих нейронів кортикальної пластинки і клітин Пуркіньє). Також ембріони тварин з  $G\alpha_{13}^{-/-}$  гинуть внаслідок нездатності ендотеліальних клітин розвиватись в судинну систему (субодиноці  $G\alpha_{13}$  є необхідними для розвитку кровоносних судин, а у ембріонів з таким нокаутом судини відсутні). Іншими функціями  $G\alpha_{12}$  є активація тромбоцитів, скорочення гладеньких м'язів, активація лейкоцитів, ангиогенез, трансформація фібробластів, проліферація і міграція лейкоцитів та спрямування росту аксонів. Крім того,  $G\alpha_{12}$  залучені до патологічних процесів інвазії пухлинних клітин і метастазування.

Крім  $G\alpha$  внутрішньоклітинну сигнальну функцію виконують субодиноці  $\beta\gamma$  (табл. 2). Так, на тепер доведено, що комплекс  $\beta\gamma$  може регулювати активність окремих ізоформ аденілатциклази і фосфоліпази  $C\beta$ ,  $K^+$ -канали вхідного випрямлення, потенціалкеровані  $Ca^{2+}$ -канали. Також ці субодиноці є необхідними для правильного розміщення осей мітотичного веретена і правильного асиметричного поділу клітин за рахунок регулювання сил натягу мікротрубочок. Цікаво, що оскільки середньостатистично в клітинах найбільше  $G_i$ , протеїни цієї родини вважаються джерелом  $\beta\gamma$ -опосередкованих сигнальних процесів. Важливо, що навіть найменша і найменш варіативна  $\gamma$ -субодиноця відіграє критичне значення для виконання фізіологічних функцій гетеротрименими  $G$ -протеїнами, а нокаут генів окремих тканинспецифічних її ізоформ призводить до дегенерації фоторецепторних клітин сітківки ( $\gamma 1$ ) і порушення реакції на світло ( $\gamma 13$ ), ембріональної летальності внаслідок дефектів серця ( $\gamma 5$ ), порушення вищої нервової діяльності і поведінки ( $\gamma 8$ ) тощо; у всіх випадках нокаут  $\gamma$ -субодиноць супроводжується зниженням кількості  $\alpha$ - і  $\beta$ -субодиноць у клітинах.

### **Активація рецепторів, спряжених з гетеротримерними G-протеїнами**

Як згадувалося вище (рис. 5), сайти активації рецепторів малими молекулами агоністів найчастіше розташовуються в площині плазматичної мембрани і формуються трансмембранними сегментами GPCR. Так, на прикладі  $\beta 2$ -адренорецепторів було детально досліджено конформаційні перебудови структури GPCRs, викликані зв'язуванням молекули агоніста. З'ясувалось, що у стані спокою три з семи трансмембранних фрагментів рецептора розміщені перпендикулярно площині мембрани, орієнтація інших

чотирьох – відрізняється. Сайт зв'язування агоніста (норадреналіну) формується доменами TM6 (Phe290 контактує з бензольним кільцем, Asn293 – зв'яже OH-групу бічного ланцюга агоніста), TM3 (Asp113 зв'яже NH<sup>+</sup>-групу норадреналіну) і TM5 (Ser203, 204, 207 зв'язують OH- групи ароматичного кільця агоніста) (рис. 19).

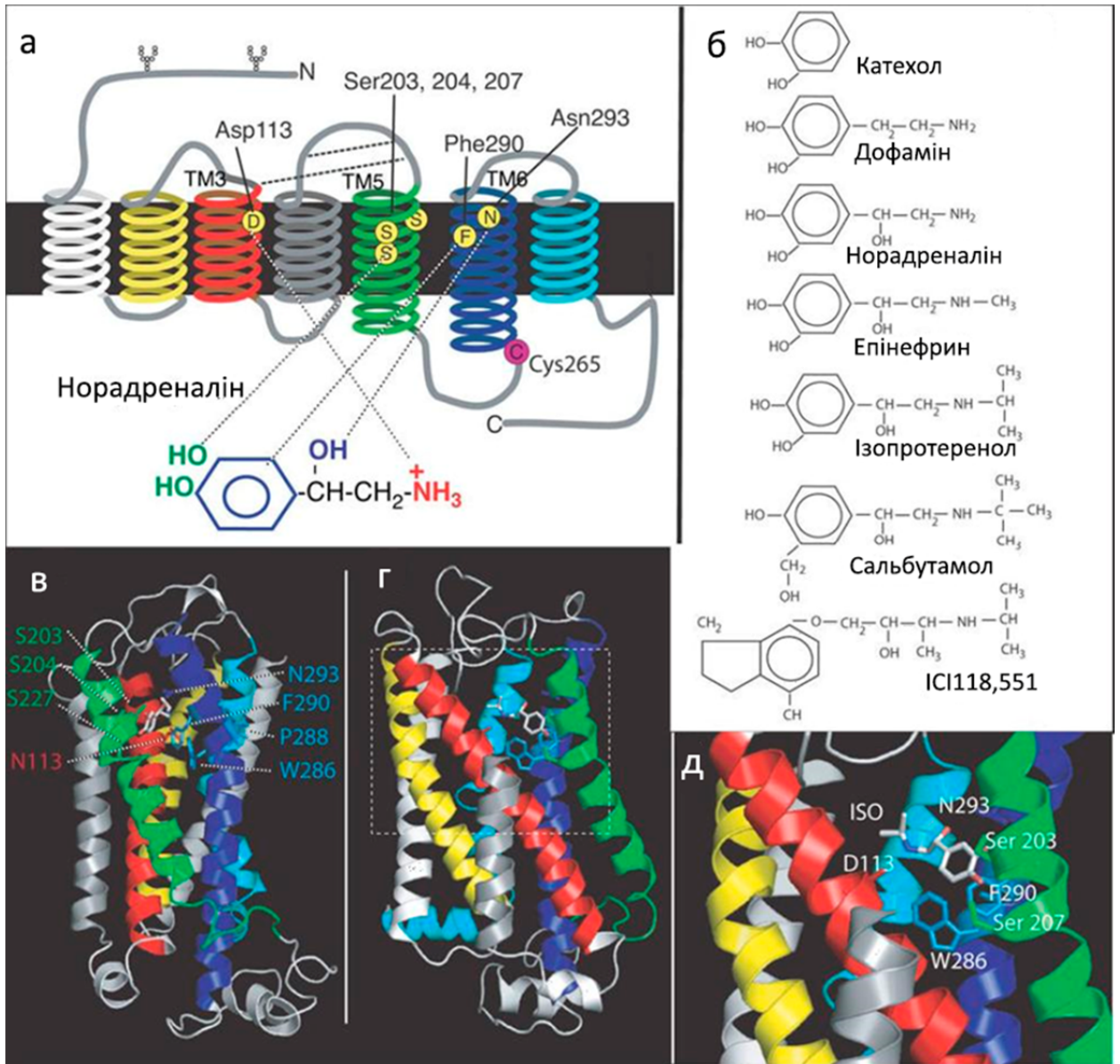


Рис. 19. Структура сайту зв'язування агоністу (норепінефрину) в молекулі β2-адренорецептора. (а): ключові амінокислотні залишки містяться в частинах трансмембранних сегментів TM3, TM5 і TM6. (б): формули лігандів, які взаємодіють з β2-адренорецептором. (в - д): тривимірна реконструкція взаємодії ізопротеренолу (повного агоніста) з β2-адренорецептором.

Процес зв'язування ліганда з рецептором і його індуквана перебудова – процес, який включає декілька стадій з різними характеристичними часами (послідовна модель зв'язування). Стадії активації рецептора і, як наслідок, її ефективність, залежать від специфічності ліганда (рис. 20). Зв'язування вискоелективних лігандів (норадреналіну) викликає послідовне проходження структурних перетворень: утворення першого і другого інтермедіатних станів – швидкі процеси, а перетворення в остаточно активований стан проходить як повільна, лімітуюча фаза.

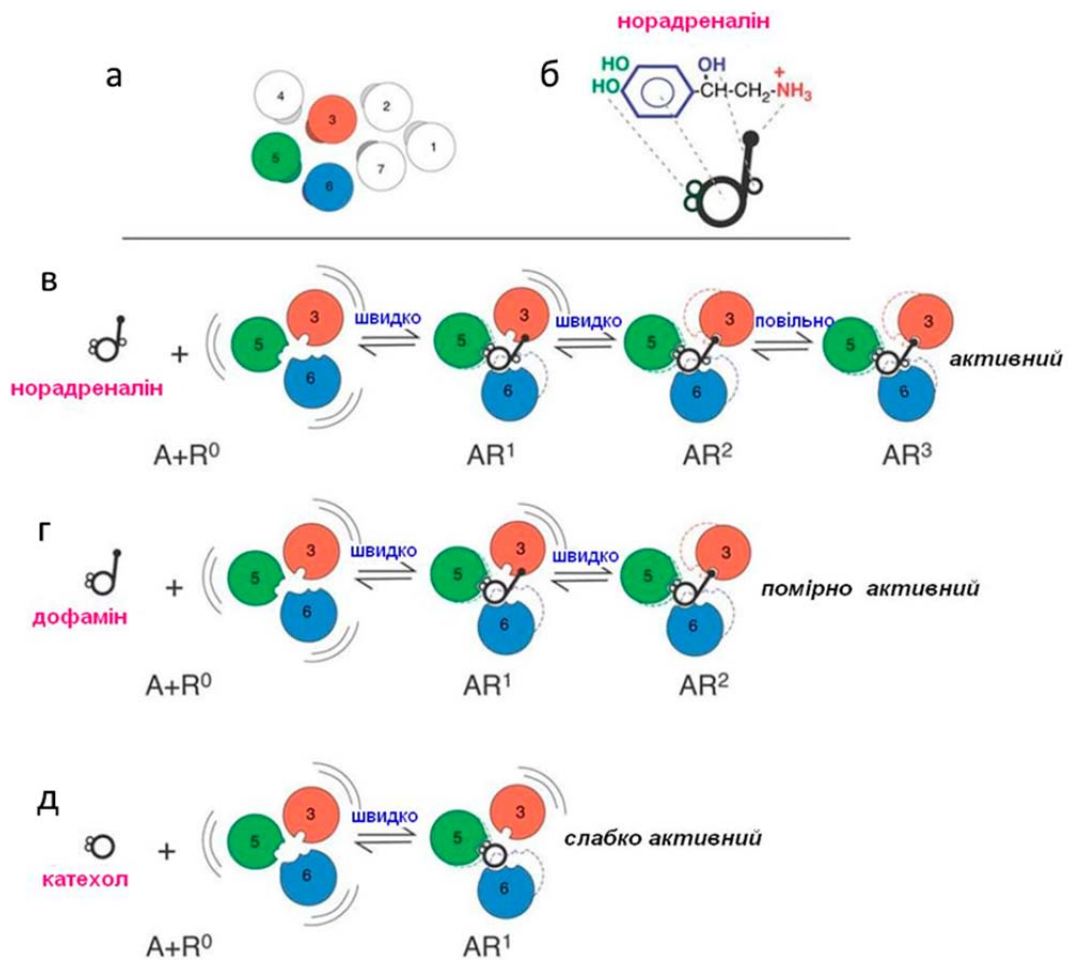


Рис. 20. Послідовна модель зв'язування молекули агоніста з GPCR на прикладі  $\beta$ 2-адренорецептора. (а): розташування трансмембранних (ТМ) доменів  $\beta$ 2-адренорецептора (вигляд з позаклітинного боку); агоніст-зв'язуючі сегменти позначено номерами: 3 – ТМ3, 5 – ТМ5 і 6 – ТМ6. (б): схема, яка зображає структурні компоненти норадреналіну. (в - д): за відсутності ліганда рецептор (R) конформаційно гнучкий. Конформаційний стан R<sup>1</sup> стабілізується взаємодіями між ТМ5, ТМ6 і катехольним кільцем. Перехідний стан R<sup>2</sup> спостерігається, коли Asp113 у ТМ3 зв'язує азот аміногрупи ліганда. Перехід з R до R<sup>2</sup> швидкий. Повільний перехід з R<sup>2</sup> у R<sup>3</sup> забезпечують взаємодії між ОН-групою в молекулі норадреналіну та Asn293 у ТМ6.

Протягом перетворень змінюється розташування в мембрані третього, п'ятого і шостого (ліганд-зв'язуючих) трансмембранних доменів рецептора. При зв'язуванні ліганда з проміжною активністю (дофамін), рецептор проходить тільки перші дві швидкі стадії. Отже, перебудова структури у цьому випадку не завершується порівняно зі зв'язуванням норадреналіну, тому рецептор активується в меншій мірі. Коли рецептор зв'язує ліганд, що має часткову активаційну здатність (наприклад, катехол), спостерігається проходження першої швидкої стадії зміни конформації. В останньому випадку третій домен (ТМ3) не переорієнтовується; результируючий ефект активації – слабкий.

### **Десенситизація рецепторів, спряжених із гетеротримерними G-протеїнами**

Десенситизація (десенсибілізація) рецепторів – це втрата здатності генерувати відповідь внаслідок тривалого впливу ліганда, тобто чутливості системи до дії агоніста при його тривалих впливах. Це явище розвивається, коли рецептори відчують на собі вплив агоністів не мілісекунди, а секунди або хвилини. Наприклад, десенситизація іонотропних нікотинових ацетилхолінових рецепторів регулюється  $\beta$ ,  $\gamma$  і  $\delta$  субодиницями.

Виділяють декілька механізмів, якими може реалізуватись десенситизація GPCRs. По-перше, це процес так званої гомологічної десенситизації (автоінактивування); по-друге, гетерологічна десенситизація при послідовній реалізації шляху передачі сигналу, коли відбувається неселективне зменшення кількості рецепторів; по-третє, зменшення ефективності взаємодії молекул рецепторів з їх G-протеїнами; по-четверте, зміна спорідненості рецепторів до ефекторних молекул шляхом фосфорилування; по-п'яте, ендцитоз рецепторів з поверхні плазматичної мембрани.

Процес гомологічної десенситизації GPCRs зображено на (рис. 5 та рис. 21). Її причиною є довготривала активація рецептора, внаслідок чого формується значна кількість субодиниць активованих гетеротримерних G-протеїнів. Як попередньо згадувалося,  $G_{\alpha}$  діє на специфічні ефекторні молекули (аденілатциклазу, фосфоліпазу  $C\beta$ , іонні канали тощо), тоді як комплекс субодиниць  $\beta\gamma$  має власні протеїни-мішені, зокрема напряду активує специфічні кінази родини кіназ рецепторів, спряжених з G-протеїнами (GRKs).

Специфічною функцією родини кіназ GRK є регуляція чисельності GPCRs у плазматичній мембрані клітин. Ці серин-треонінові протеїнкінази здійснюють фосфорилування у третій внутрішньоклітинній петлі та C-кінці молекули рецептора (рис. 21). Родину кіназ GRK поділяють 3 підродини залежно від їх структурної організації та гомології. До першої підродини

належать родопсинова кіназа GRK1 та GRK7. Друга підродина об'єднує кінази β-адренорецепторів – GRK2 (βARK1) та GRK3 (βARK2). Третя підродина кіназ складається з GRK4, GRK5 та GRK6.

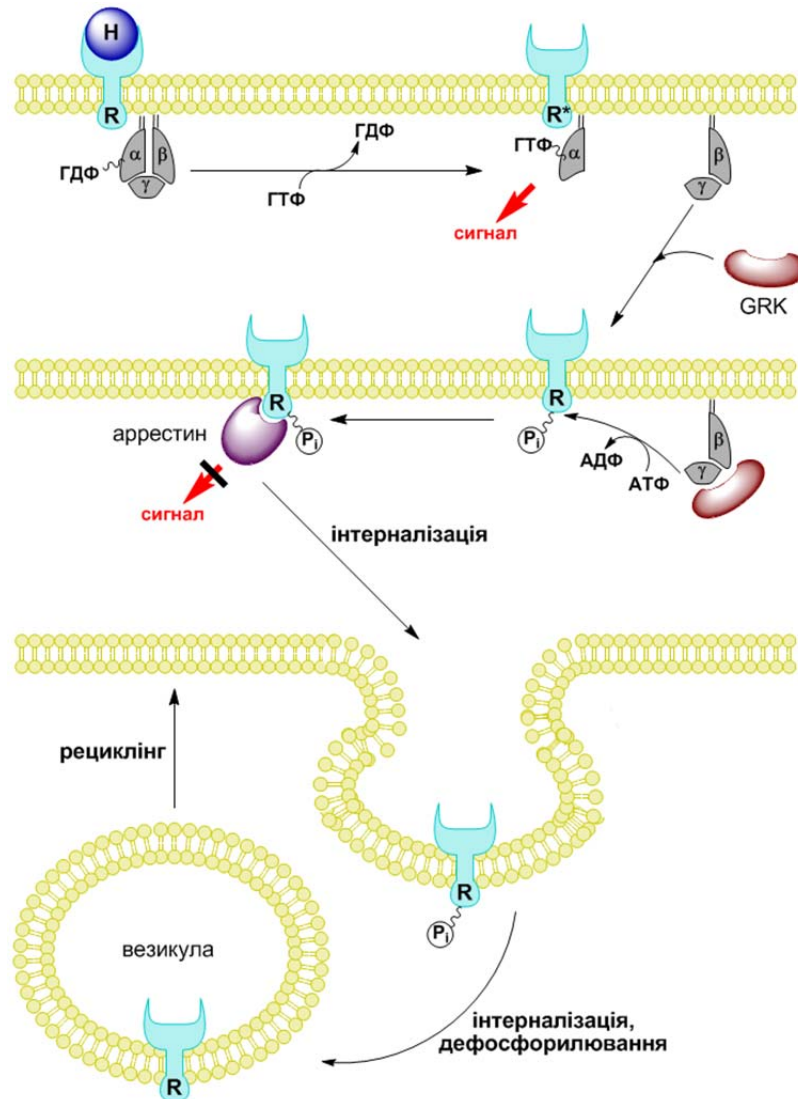


Рис. 21. Схема гомологічної десенситизації GPCRs. Комплекс βγ-субодиниць активованого G-протеїна взаємодіє з кіназою GRK і фіксує її в області мембрани; GRK фосфорилює рецептор, після чого він не здатний проводити сигнал. Фосфорильований рецептор зв'язується з білком арестином це робить можливим транспортування рецептора у везикулі всередину клітини (інтерналізація). Після дефосфорилювання рецептора, можливе його повернення в плазматичну мембрану.

Всі GRKs побудовані з трьох доменів. Центральний, каталітичний домен містить близько 330 амінокислотних залишків. Це – найконсервативніша ділянка GRKs, подібна до усіх інших AGC кіназ (як то протеїнкінази C або A – відповідно PKA і PKC). N-кінцева ділянка (близько 180 амінокислотних залишків) виконує регуляторну функцію за рахунок наявності так званого RH-

домена. С-кінцевий домен найбільш варіабельний. Функція останнього полягає у стабілізації GRK на мембрані.

Впізнавання кіназами GRK субстрату фосфорилювання відрізняється і залежить від узгодженості поверхонь взаємодії кінази і відповідного рецептора. Так, підтипи GRKs 1 і 2 фосфорилюють залишки серину і треоніну, які межують із кислими амінокислотними залишками, а підтип GRK 4 – поряд з лужними амінокислотними залишками.

Кінази GRK специфічно фосфорилюють саме той тип рецепторів (по С-кінцю або третьому цитоплазматичному домену), який активував даний G-протеїн. Фосфорильований G-протеїн отримує здатність зв'язувати внутрішньоклітинний протеїн  $\beta$ -арестин, який запускає ітерналізацію рецептора, процес якої відбувається як послідовність наступних подій:  $\beta$ -арестин зв'язує клатрин та інші протеїни, які забезпечують процес ендцитозу частини мембрани з рецептором; рецептор таким чином потрапляє в ендосому; у ендосомі рецептор або підлягає убіквітуванню з наступною деструкцією у лізосомах, або дефосфорилується і внаслідок рециклізації ендосоми повертається в плазматичну мембрану.

Рівень експресії GRKs і, відповідно, ефективність механізму гомологічної десенситизації рецепторів, в певних тканинах пов'язаний з розвитком ряду захворювань. Зокрема, надлишкова експресія кіназ 2 і 5 родини в тканинах серця супроводжується серцевою недостатністю, гіпертензією та ішемією міокарду. Надлишкова експресія кінази 2 в лімфоцитах та ниркових канальцях призводить до підвищення артеріального тиску і спричиняє гіпертонічну хворобу. Нокаут відповідних генів, що кодують кіназу GRK1, призводить до розвитку дегенеративних хвороб сітківки ока.

Гетерологічна десенситизація метаботропних рецепторів зазвичай ініціюється ефекторними молекулами (PKC і PKA). При тривалій стимуляції рецепторів в клітині накопичуються вторинні посередники (cAMP і DAG), які активують PKA або PKC, які фосфорилюють цитоплазматичні домени рецепторів по залишкам Ser/Thr, десенситизуючи рецептор. Таке фосфорилювання не є специфічним (гетерологічним), тобто фосфорилуватись (і таким чином інактивуватись) можуть рецептори, які не активували даний ефекторний білок (рис. 22а). Наприклад, якщо стимулювати протягом декількох годин рецептор, зв'язаний з  $G_s$ -білком, в його цитоплазматичній частині декілька залишків серину і треоніну буде фосфорильовано протеїнкіназою А (PKA) (рис. 22б). Фосфорильований рецептор може зв'язувати ліганд, але це не викликатиме активації PKA, тобто рецептор є десенситизованим. Особливістю десенситизації у цьому випадку є спрямування фосфорилювання PKA всіх рецепторів, спряжених з  $G_s$ -білком, незалежно від лігандів, що їх активують.

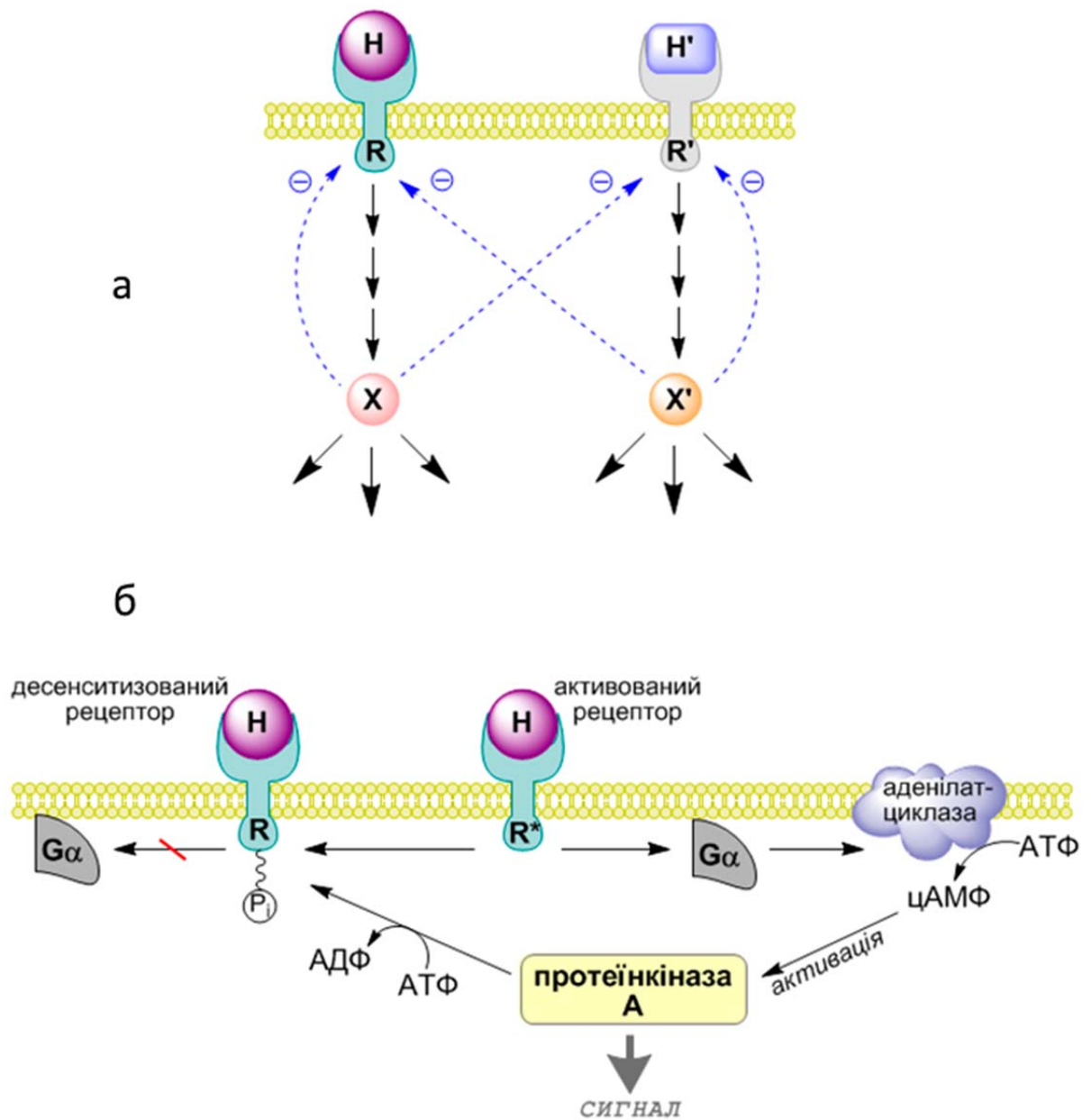


Рис. 22. Схема реалізації гетерологічної десенситизації GPCRs. (а): загальний принцип гетерологічної десенситизації: десенситизація двох рецепторів (R та R') ефекторними кіназами (X та X') може бути направлена як на власний рецептор, так і бути перехресною. (б): есенситизація метаботропних GPCRs через PKA: активована PKA, фосфорилуючи рецептор, десенситизує його (R).

## Окремі ефекторні ензими, регульовані G-протеїнами

Біохімічні дослідження внутрішньоклітинних подій, активованих позаклітинною дією на клітини окремих гормонів, почалися з відкриття cAMP у 1948 році вченими Роллом і Сазерлендом. Тоді вперше було виявлено, що певна група гормонів, зокрема адреналін і глюкагон, індукують підвищення внутрішньоклітинної концентрації cAMP. Пізніше, у 1971 році, було встановлено, що гуанінові нуклеотиди (GTP та GDP) знижують спорідненість до глюкагону, а негідролізабельний аналог GTP (сполука GppNHp) псевдонезворотно активує реакцію утворення cAMP. Також на моделі  $\beta$ -адренорецепторів було з'ясовано, що гуанінові нуклеотиди знижують спорідненість до агоністів, але не антагоністів. Тож за сукупністю цих даних було передбачено, що для передавання сигналу необхідні як мінімум три функціональні компоненти: рецептор гормона, GTP-чутлива структура та аденілатциклаза; тільки пізніше було встановлено, які молекулярні основи знаходяться за цими функціональними компонентами.

Цікаво відмітити, що аналогічне питання щодо молекулярних структур, які активують процеси гормон-залежного (індукованого дією на клітини молекул передсердного натріуретичного пептиду) стосувалося синтезу циклічного гуанозинмонофосфату (cGMP). Було з'ясовано, що в даному випадку весь процес від позаклітинної активації до синтезу реалізується одним протеїном – рецепторною гуанілатциклазою, молекула якої складається з трьох доменів: позаклітинного (ліганд-зв'язувального), трансмембранного та цитоплазматичного (з активністю гуанілатциклази). Врешті, пізніше було з'ясовано, що процеси посилення синтезу cGMP під дією АХ у стінці судин реалізуються за зовсім іншим механізмом та є багатокomпонентним.

Аденілатциклази (ACs) – ензими, характерні для більшості організмів які синтезують cAMP (рис. 16). Натепер ці ензими поділяють на шість неспоріднених класів (позначають I, II, III, IV, V, VI), які виконують спільну функцію, але не мають спільного предка. Ймовірно, надалі ця класифікація буде розширена, оскільки нові ензими з властивостями ACs було ідентифіковано в рослинах. У бактерій cAMP зокрема контролює процеси фототаксису і секреції протеїнів, а в еукаріотичних клітинах cAMP переважно діє як вторинний месенджер, концентрація якого регулюється GPCRs. ACs п'яти класів (I, II, IV, V та VI) характерні для обмеженої кількості прокаріотичних видів та натепер є слабо вивченими. Цікаво, що ACs класу II секретуються рядом патогенних бактерій (зокрема, *Bacillus anthracis* та *Bordetella pertussis*) як токсини, що спричиняють порушення концентрацій молекул cAMP у вражених організмах.

Втім, варто відзначити, що найбільш численний і найбільш різноманітний за структурою і функціями, а також єдиний для тварин – клас III ензимів. Приналежність АСs до класу III визначається наявністю в структурі молекул цих ензимів консервативних каталітичних доменів, подібних до каталітичних доменів GGDEF бактерійних дигуанілатциклаз. Цікаво, що до класу III належать також гуанілатциклази (GCs) еукаріотичних клітин, внутрішньоклітинні функції яких практично повністю відмінні від АСs. Також цікаво, що багато АСs мають менш інтенсивну додаткову функцію GCs.

Надалі більш детально розглянемо властивості АСs класу III. Молекули цих ензимів для функціонування потребують димеризації. Бактерійні АСs класу III – гомодимери, які формують два каталітичні центри на межі розділу субодиниць. Еукаріотичні АСs, як і характерні для людини десять ізоформ ензиму, являють собою так звані псевдогетеродимери, які складаються із двох комплементарних каталітичних блоків-субодиниць, які сформовані з єдиного поліпептидного ланцюга та утворюють один каталітичний центр на межі контакту цих блоків (рис. 23).

Для каталізу особливе значення мають три пари амінокислотних залишків каталітичного центру. По-перше, це пара залишків аспартату координує атом двовалентного металу (атом –  $Mn^{2+}$  або  $Mg^{2+}$ ) – кофактор, який забезпечує нуклеофільну атаку 3'-гідроксильної групи рибози на  $\alpha$ -фосфорильну групу АТФ. Перехідний стан стабілізується другою парою залишків (аргініну і аспарагіну) двох бічних ланцюгів. Третя пара залишків забезпечує вибірковість субстрату реакції: у випадку АСs це лізин і аспартат, які ймовірно зв'язують молекулу АТФ, а в GCs – залишки глутамату і цистеїну або глутамату і серину, які віддають перевагу молекулі GTP.

Клас III поділяють на чотири підкласи (IIIa - IIId): за вищою подібністю далі можна об'єднати підкласи a і b, а також підкласи c і d. Підклас IIIa надалі класифікують на субклади: більшість з них бактерійні, також є дві субклади псевдогетеродимерів циклаз тварин (одна об'єднує більшість еукаріотичних GCs). Підклас IIIa об'єднує лише мембранозв'язані форми, а IIIb – тільки розчинні.

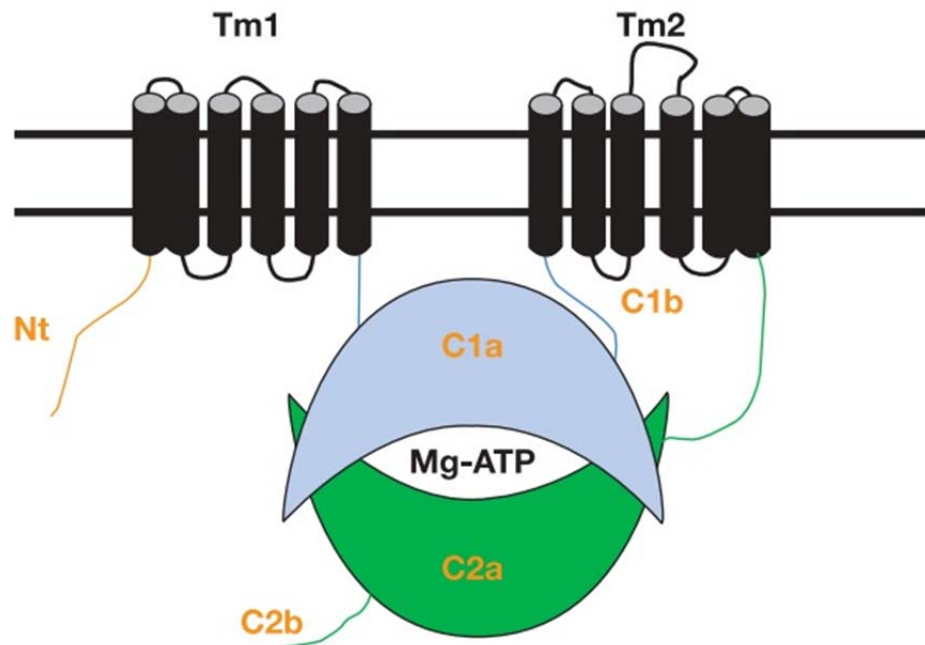


Рис. 23. Схематичне представлення структури молекули мембранозв'язаної аденілатциклази. Молекула АС має п'ять головних доменів: N-кінець (Nt), перший блок із шести трансмембранних фрагментів (Tm1), перший цитоплазматичний домен-петля (C1), другий блок із шести трансмембранних фрагментів (Tm2), другий цитоплазматичний домен-петля (C2). Домени C1 і C2 у свою чергу поділяються на висококонсервативні каталітичні ділянки C1a та C2a, які димеризуючись формують каталітичний сайт (на рисунку його позначено як перекриття C1 і C2), а також менш консервативні домени C1b та C2b.

У організмі людини експресується десять ізоформ АС: дев'ять з них мембранозв'язані (mAC; AC1-9) і одна розчинна. Саме молекули мембранозв'язаних ізоформ приймають участь у сигналінгу GPCRs. Цікаво, що нумерація мембранозв'язаних ізоформ АС формувалася у порядку їхньої ідентифікації та враховує їхні гомології: найбільш подібні між собою три групи – ізоформи 1, 3 і 8, ізоформи 2 і 4, а також ізоформи 5, 6, 7; АС9 відрізняється від усіх інших ізоформ.

Усі mACs мають 12 трансмембранних спіральних сегменти (TM1 - TM12) та два так звані спіральні домени, які зв'язують TM6 та TM12 з каталітичними доменами 1 та 2 (ці домени позначають C1a та C2a відповідно) (рис. 24). Передбачається, менш консервативні домени, які позначаються як C1b та C2b, відіграють специфічну для ізоформ роль в регуляції активності і формуванні третинної (і четвертинної, оскільки молекули АС можуть олігомеризуватися) структури.

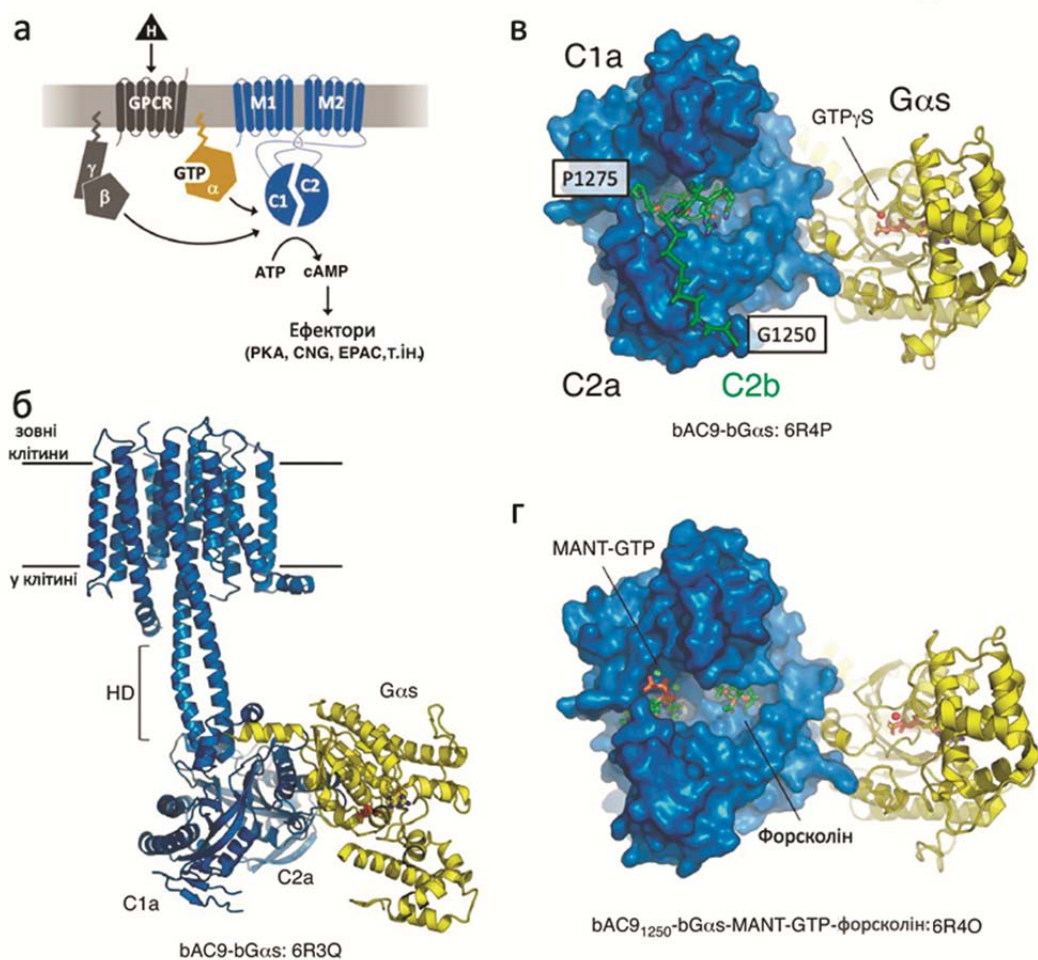


Рис. 24. Модель структури комплексу AC9 з  $G\alpha_s$ . (а): схема шляху GPCR – G-протеїн – активація AC субодиницею  $G\alpha$  – синтез cAMP – дія cAMP на ефекторні протеїни – фізіологічна реакція. (б): реконструкція комплексу AC9 (позначено HD – спіральний домен, C1a та C2a – каталітичні домени) з  $G\alpha_s$  (у активному центрі розташований негідролізабельний аналог GTP –  $GTP\gamma S$ ). (в): вигляд каталітичного сайту AC із цитоплазматичного боку: показано положення оклюзійного пептиду та домену C2b, який зв'язується з активним і алостеричним центрами AC. (г): видалення C2b дозволяє візуалізувати структуру MANT-GTP (флуоресцентний нуклеотид)- і форсколін (необоротний активатор)- зв'язаних з комплексом AC9-  $G\alpha_s$ .

Важливо, що молекули AC множинно, але разом з тим унікально регулюються (табл. 4). Так, субодиниці різних родин G-протеїнів по-різному впливають на активність AC. Зокрема,  $\alpha$ -субодиниця  $G_{i/o}$ -протеїнів безпосередньо інгібує окремі ізоформи AC (AC5), але також комплекс  $\beta\gamma$ -субодиниць, дисоційованих з  $G_{i/o}$ -протеїнів інгібує деякі ізоформи AC (AC1). Інші ізоформи AC (AC2 та AC7) навпаки стимулюються комплексом  $\beta\gamma$ -субодиниць.

**Табл. 4. Поширення ізоформ АСs в організмі людини та їхня регуляція субодинами G-протеїнів та підвищенням концентрації внутрішньоклітинного Ca<sup>2+</sup>**

| Ізоформа | Локалізація в організмі              | Регуляція ефектором  |                       |                            |
|----------|--------------------------------------|--|-----------------------|----------------------------|
|          |                                      | Субмікромолярні концентрації Ca <sup>2+</sup> у цитоплазмі | Комплекс β-субодинами | Субодинами G <sub>αi</sub> |
| 1        | Мозок                                | Активація  | Інгібування           | Інгібування                |
| 2        | Легені, мозок                        | Немає  | Не досліджували       | Немає                      |
| 3        | Нюховий епітелій, підшлункова залоза | Не визначено   | Немає ефекту          | Не досліджували            |
| 4        | Поширена                             | Немає  | Активація             | Немає                      |
| 5        | Серце, смугасте тіло                 | Інгібування  | Немає ефекту          | Інгібування                |
| 6        | Серце, нирки, поширено               | Інгібування  | Немає ефекту          | Інгібування                |
| 7        | Поширена                             | Немає ефекту   | Активація             | Немає                      |
| 8        | Мозок, підшлункова залоза            | Активація  | Не досліджували       | Інгібування                |
| 9        | Гіпофіз, поширена                    | Немає/не досліджували                                      | Не досліджували       | Не досліджували            |
| sAC      | Сім'яники, поширена                  | Немає ефекту   | Немає ефекту          | Немає ефекту               |

*Примітка:* немає – немає такого ефектора в тканині, де експресується дана ізоформа.

Натепер не викликає сумніву, що mACs відіграють принципово важливу роль у виконанні фізіологічних функцій. До прикладу, AC1 і AC8 залучені до реалізації процесів навчання і пам'яті; AC2 і AC4 опосередковують ефекти опіоїдів та сприяють розвитку толерантності до них; AC1 є критичною для сприйняття болю; AC3 асоційована з ожирінням і діабетом; AC5 і AC6 експресуються в серцевому м'язі.

## Фосфоліпаза С $\beta$

Як згадувалося вище, частина представників рецепторів надродини GPCRs спряжена із родиною G<sub>q/11</sub>-протеїнів та опосередковано здатна активувати фосфоліпазу С $\beta$  (PLC $\beta$ ), яка, гідролізуючи PIP<sub>2</sub>, синтезує два різновиди молекул вторинних посередників – розчинного IP<sub>3</sub> та мембранозв'язаного DAG (рис. 17). Втім, натепер є переконливі дані, що PLC $\beta$  є біфункціональним протеїном, що може виконувати декілька функцій залежно від різних клітинних умов: також некаталітично цей протеїн здатний інгібувати трансляцію протеїнів. Тож, розглянемо структуру, властивості та участь PLC $\beta$  у клітинному сигналінгу.

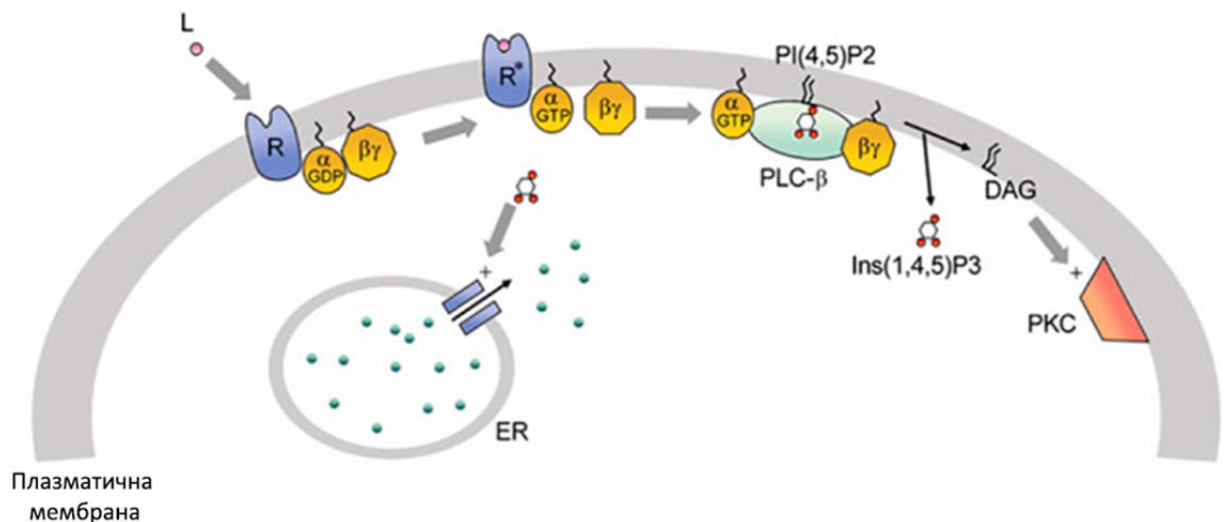


Рис. 25. Схема сигнальної системи G<sub>q</sub>/PLC $\beta$ : ензим може бути одночасно активований як  $\alpha$ -субодиницею G<sub>q</sub>-протеїнів, так і комплексом  $\beta\gamma$ -субодиниць. Активована PLC $\beta$  синтезує вторинні посередники інозитол-1,4,5-трифосфат (Ins(1,4,5)P<sub>3</sub>, який дифундує до ендоплазматичного ретикулуму (ER), де активує відкривання Ins(1,4,5)P<sub>3</sub>-чутливих Ca<sup>2+</sup>-каналів та вихід через них Ca<sup>2+</sup> в цитоплазму) та диацилгліцерол (DAG, який активує протеїнкіназу C, PKC).

Ензим PLC $\beta$  є розчинним, але здатний зв'язуватися з мембранами. Як показано на моделі штучних біліпідних мембран, таке зв'язування є сильним, але досить неспецифічним із коефіцієнтом розподілу від 10 до 100 мкМ; така варіація діапазону спорідненості передбачає тривалість взаємодії PLC $\beta$  з мембраною впродовж 0,1 - 1,0 с. Натепер у модельних дослідженнях показано, що PLC $\beta$  початково зв'язується з мембраною, де він дифундує латерально вздовж мембрани, поки не провзаємодіє із субодиницею G<sub>αq</sub>. PLC $\beta$  є головним ефектором субодиниці G<sub>αq</sub>, а активація G<sub>αq</sub> підвищує афінність зв'язування PLC $\beta$  у 20 - 40 разів. Відомо 4 ізоформи PLC $\beta$  (позначають 1-4), дві з яких (1 та 3) також здатні активуватися комплексом  $\beta\gamma$ -

субодиниць (рис. 25). Висока спорідненість між  $G_{\alpha q}$  і  $PLC\beta$  ( $K_d \sim 1$  нМ) пояснюється тим, що  $G_{\alpha q}$  інтегрується в «кишеню» між доменом C2 та С-кінцевою частиною молекули  $PLC\beta$ .

Як і переважна більшість сигнальних протеїнів,  $PLC\beta$  складається з декількох консервативних доменів (рис. 26а). На N-кінці її молекули знаходиться домен гомології плекстрину (PH-домен), після нього розташовуються два  $Ca^{2+}$ -зв'язувальні домени типу EF-hands, наступним є каталітичний домен, після нього розташовується домен C2 та на С-кінці молекули міститься довгий (близько 400 амінокислотних залишків) coiled-coil домен.

Консервативний PH-домен у різних протеїнах виконує функцію мембранного якоря. Загалом, у фосфоліпазах він специфічно міцно зв'язується з  $PIP_2$ , що забезпечує переміщення молекули ензиму з цитоплазми до плазматичної мембрани, забезпечуючи, по-перше, можливість взаємодії  $PLC\beta$  з  $G_{\alpha q}$  та, по-друге, допомагає більш слабкому сайту зв'язування з  $PIP_2$  у каталітичному домені зробити можливим каталіз.

Цікаво, що, як показано на  $PLC\beta 2$ , у  $PLC\beta$  PH-домен зв'язується з комплексом  $\beta\gamma$ -субодиниць, таким чином, цей комплекс може активувати ензим незалежно від  $G_{\alpha q}$ . Надалі було з'ясовано, що така властивість PH-доменів властива саме  $PLC\beta$ , але не для інших фосфоліпаз.

Консервативні домени C2 отримали свою назву від другої консервативної ділянки у молекулі ПКС та, загалом, відомі як модулі протеїнів, які відповідають за зв'язування з мембранами. Структурно вони являють собою комплекси  $\beta$ -стрендів, які взаємодіють з мембранами за  $Ca^{2+}$ -залежним або  $Ca^{2+}$ -незалежним принципом; щоправда на моделі ізольованих C2-доменів така взаємодія є слабкою, але на рівні інтактного протеїну може бути дійсно відчутною. Цікаво, що у молекулах  $PLC\beta$  (принаймні, ізоформ 1 і 2) C2-домени здатні також зв'язувати неактивні субодиниці  $G_{\alpha q}$ , а у випадку їхньої активації така взаємодія суттєво посилюється. Тож, натепер вважається, що C2-домени забезпечують специфічне зв'язування  $PLC\beta$  із активованою формою  $G_{\alpha q}$ , сприяючи активуючій взаємодії цієї субодиниці з проксимальним С-кінцевим доменом.

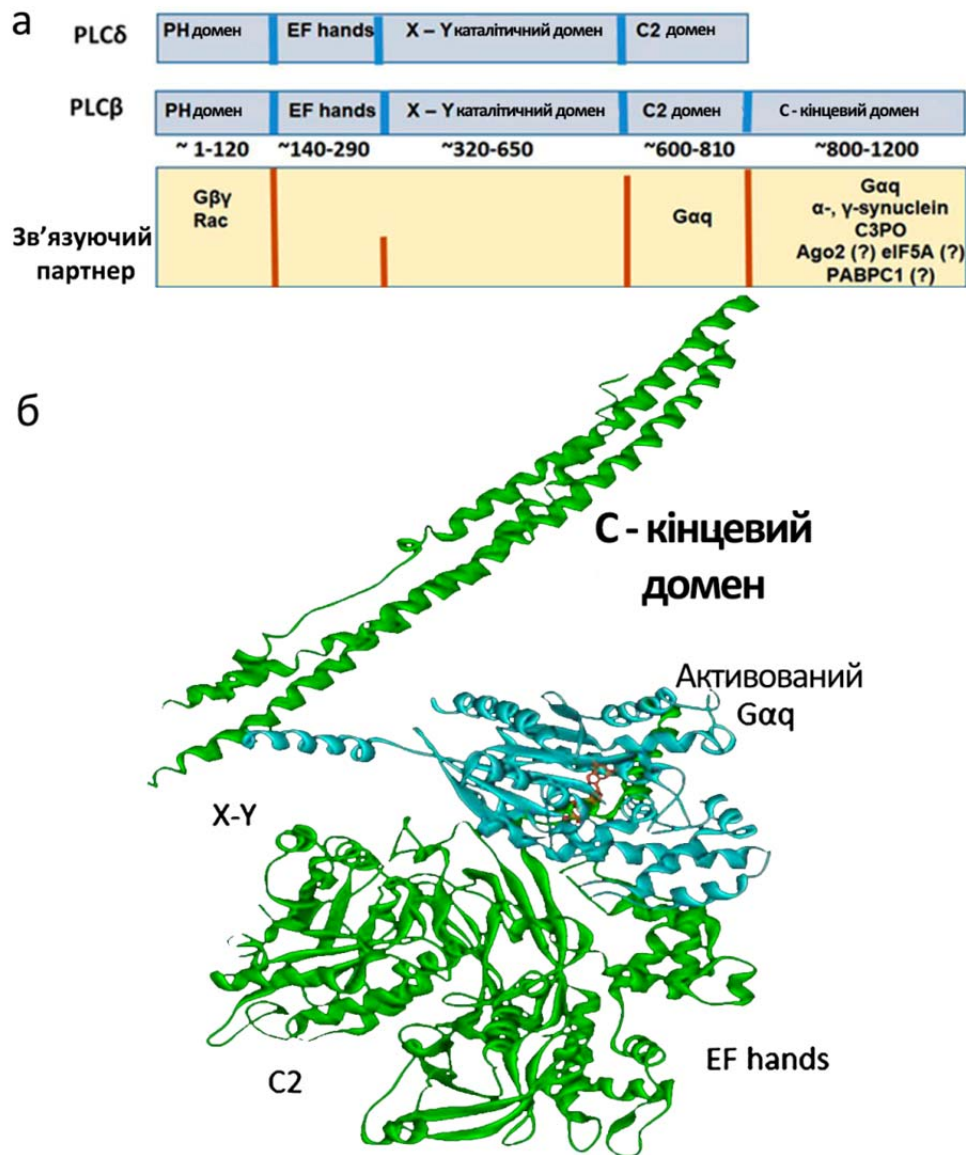


Рис. 26. (а): схема порівняння доменної структури молекул ензимів PLC $\delta$  та PLC $\beta$  з приблизним вказанням амінокислотних залишків, які відповідають доменам, а також ймовірних протеїнів, що взаємодіють з окремими доменами. (б): зроблена на основі вивчення кристалічної структури комплексу PLC $\beta$ 2-G $\alpha_q$  візуалізація формування цього комплексу у ділянці «кишені» між доменами ензиму.

Довгий С-кінцевий домен є характерним саме для ензимів родини PLC $\beta$  та відсутній у інших фосфоліпаз С: саме ця частина молекули дозволяє високоафінно взаємодіяти з G $\alpha_q$  (рис. 26а та б). Структурно цей домен являє собою довгу закручену спіраль, частина якої у проксимальній частині домена формує інгібуючі контакти із каталітичним доменом, які усуваються при зв'язуванні з G $\alpha_q$ . Крім цього, С-кінцевий домен, ймовірно, забезпечує взаємодію PLC $\beta$  з сусідніми протеїнами; до прикладу, показана його

потенційна здатність у молекулі PLC $\beta$  взаємодіяти з протеїнами, які мають консервативний PDZ- домен.

Цікаво, що цей домен є високоваріативним та різні ізоформи PLC $\beta$  мають варіанти сплайсингу в С-кінцевих ділянках молекули; до прикладу, сплайс-варіанти PLC $\beta$ 1 визначають локалізацію молекули – ядерну або поблизу плазматичної мембрани.

У останнє десятиріччя отримано багато даних, які вказують на здатність PLC $\beta$  через С-кінцевий домен взаємодіяти з іншими, не приналежними до «канонічного» шляху активації GPCRs. Гіпотетично така взаємодія передбачена для близько 200 протеїнів, а для окремих з них була також підтверджена експериментально. Зокрема, вона встановлена для добре відомого протеїну, асоційованого з нейродегенеративними захворюваннями, –  $\alpha$ -синуклеїну, а також для ензима – регулятора проліферації циклін-залежної кінази 16 (тут, принаймні в умовах *in vitro*, PLC $\beta$  діє як інгібітор росту і поділу клітин).

### Класифікація і особливості структури мускаринових ацетилхолінових рецепторів

Мускаринові ацетилхолінові рецептори (мускаринові холінорецептори, mAChRs) – представники класу А надродини GPCRs (рис. 27).

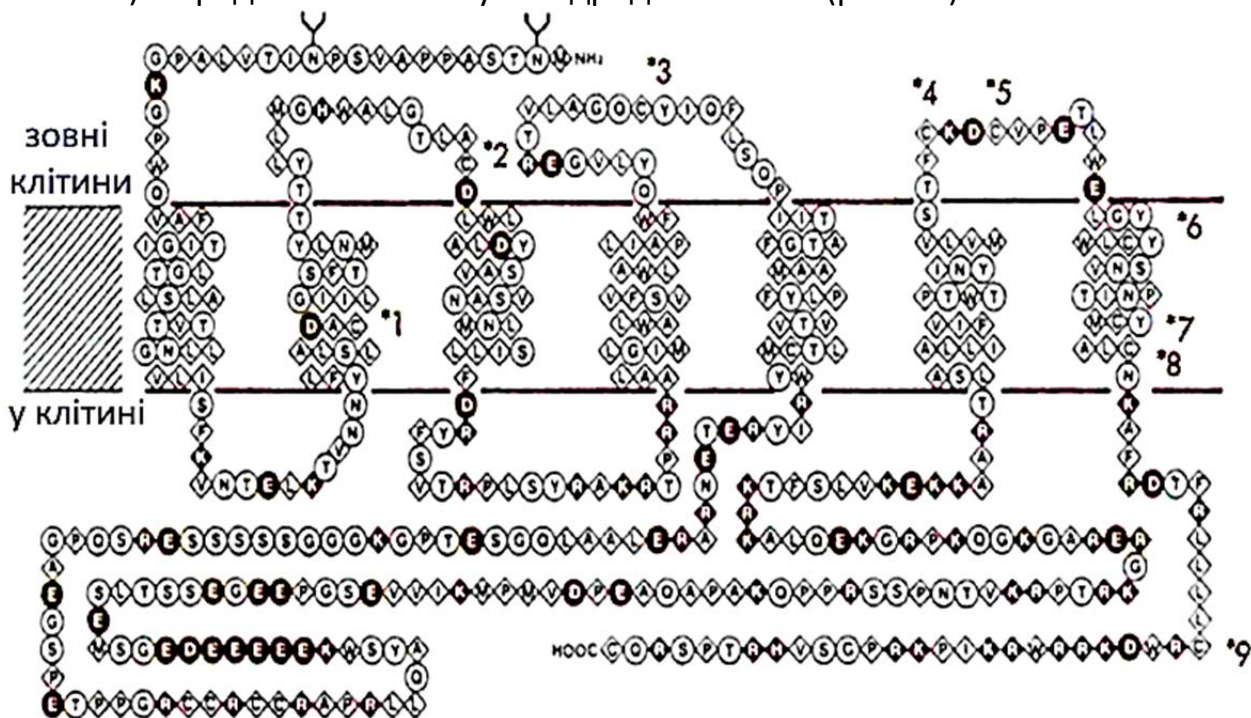


Рис. 27. Топологічна модель молекули mAChR підтипу M1. Тут окремо позначено важливі амінокислотні залишки: заряджені D, E, K, R, H – позначені білими літерами на чорному тлі; залишки цистеїну C – пронумеровані від 1 до 9.

Насьогодні ідентифіковано 5 підтипів mAChRs, які позначають M1, M2, M3, M4 і M5. Усі вони відрізняються від більшості GPCRs наявністю довгої (160 - 240 амінокислотних залишків) третьої внутрішньоклітинної петлі, яка не виконує функцію регуляції G-протеїну. Кожен підтип відрізняється за первинною структурою молекули і кодується окремими генами, що вибірково експресуються в різних тканинах і органах (табл. 5).

Мускаринові холінорецептори присутні у багатьох органах-мішенях автономної нервової системи. M2-холінорецептори переважають у серцевому м'язі, M3-рецептори домінують в екзокринних залозах і містяться (в комплексі з M2-рецепторами) у гладеньких м'язах. Інші підтипи рецепторів також експресуються в цих тканинах, але у значно менших кількостях. У серцевому м'язі активація цих рецепторів спричиняє зменшення частоти і сили скорочень; в шлунково-кишковому тракті і сечовидільній системі – підвищення тону і скоротливості. Мускаринові ацетилхолінові рецептори, активуючись у клітинах слинних і потових залоз, спричиняють посилення секреції. У бронхах, вони забезпечують посилення секреції слизу і спазм. Внутрішньовенні рецептори (в клітинах ендотелію), активуючись, спричиняють вазодилатуючий ефект. У останньому випадку такий ефект на гладенькі м'язи судин забезпечується напрацюванням оксиду азоту в ендотеліоцитах після активації мускаринових холінорецепторів; оксид азоту дифундує в клітини гладеньких м'язів, викликаючи їхнє розслаблення.

**Табл. 5. Основні характеристики підтипів mAChRs**

| Підтип mAChR | Кількість амінокислотних залишків | Родина G-білків                | Деякі тканини із високим рівнем експресії         |
|--------------|-----------------------------------|--------------------------------|---|
| <b>M1</b>    | 460                               | G <sub>q</sub>                 | Кора, гіпокамп                                    |
| <b>M2</b>    | 466                               | G <sub>i</sub> /G <sub>o</sub> | Серце, мозочок                                    |
| <b>M3</b>    | 590                               | G <sub>q</sub>                 | Екзокринні залози, гладенькі м'язи, кора, таламус |
| <b>M4</b>    | 479                               | G <sub>i</sub> /G <sub>o</sub> | Смугасте тіло                                     |
| <b>M5</b>    | 532                               | G <sub>q</sub>                 | Гіпокамп  |

Свою назву ця надродина метаботропних рецепторів отримала від мускарину – алкалоїду отруйного гриба *Amanita muscaria*, який викликав їхню активацію (рис. 28). Початково, після відкриття, надродину класифікували на дві родини M1 і M2, оскільки M1-рецептори селективно

інгібувались антагоністом пірензепіном. Було показано, що M1-рецептори активують фосфоліпазу C, викликаючи синтез вторинного посередника інозитол-1,4,5-трифосфату і вивільнення  $Ca^{2+}$  з внутрішньоклітинних депо. M2-рецептори вважали інгібіторними завдяки здатності пригнічувати синтез цАМФ. Пізніше, було клоновано п'ять підтипів mAChRs, які були пронумеровані в порядку їх відкриття.

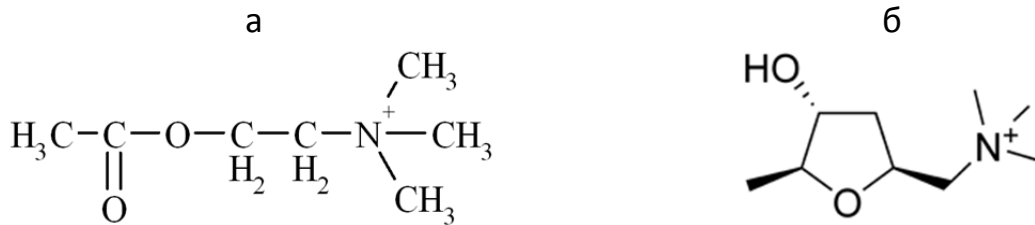


Рис. 28. Структурні формули ацетилхоліну (а) і мускарину (б)

Мускаринові ацетилхолінові рецептори широко поширені в організмі. Залежно від підтипу вони локалізуються у центральних і периферичних нейронах, органах-мішенях парасимпатичної нервової системи – серцевому і гладенькому м'язях, багатьох екзокринних залозах (рис. 29).

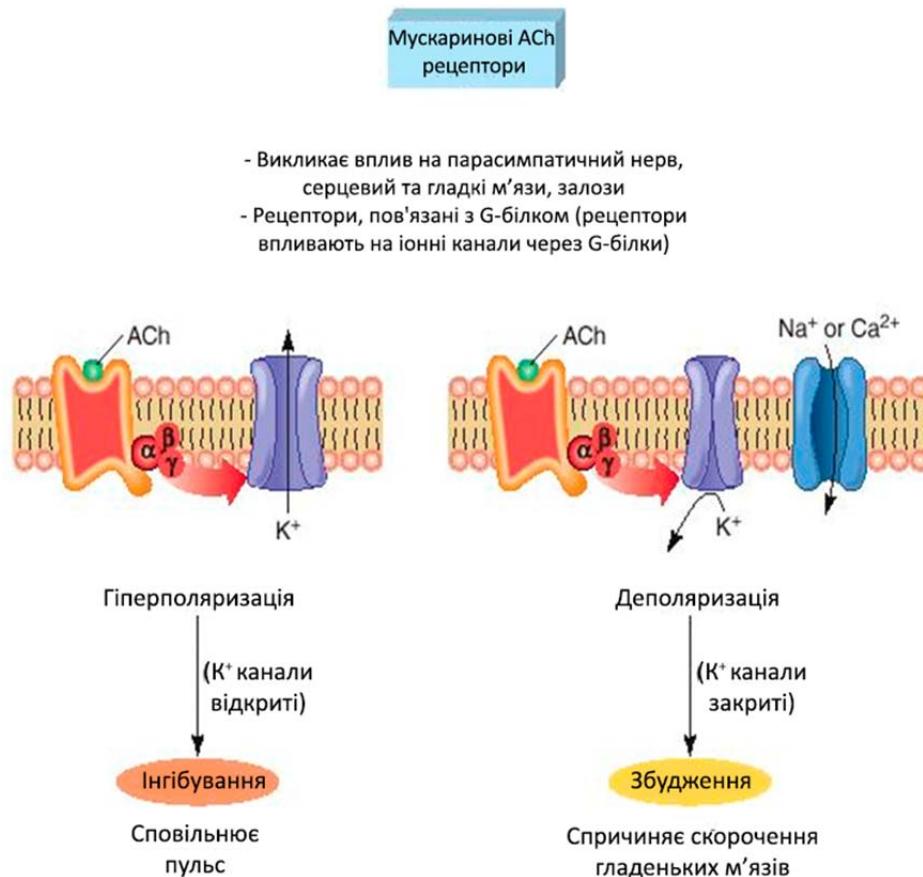


Рис. 29. Приклади фізіологічних ефектів активації мускаринових холінорецепторів.

Як згадувалось вище, mAChRs спряжені з гетеротримерними G-білками, які функціонально пов'язують рецептори відповідних підтипів із різними ефекторними білками – аденілатциклазою, фосфоліпазою C або іонними каналами. При неактивному стані рецептора G-білок містить ГДФ і являє собою неактивний гетеротример з  $\alpha$ ,  $\beta$  і  $\gamma$  субодиниць. Активація рецептора зв'язуванням молекули агоніста спричиняє дисоціацію ГДФ і зв'язування ГТФ в нуклеотид-зв'язуючому сайті  $\alpha$ -субодиниці G-білка. Це призводить до дисоціації субодиниць на  $\alpha$  та комплекс  $\beta\gamma$ ; кожний фрагмент гетеротримерного G-білка взаємодіє з власними ефекторами, регулюючи їхню активність. Гідроліз ГТФ в  $\alpha$ -субодиниці спричиняє реасоціацію субодиниць в гетеротример.

### **Синтез, вивільнення та розщеплення ацетилхоліну**

Ацетилхолін (ACh, AX) – важливий нейротрансмітер, який синтезується і в центральній (ЦНС), і в периферичній нервовій системі (ПНС). Синтез здійснюється у цитоплазмі нейронів ензимом холінацетилтрансферазою (chAT) з ацетилкоензиму А (кінцевого продукту гліколізу в мітохондріях) та холіну. Холін утворюється в печінці з фосфатидилхоліну або при деградації ліпідів. У мозку концентрація холіну досягає 20 мкМ. AX синтезується у сомі нейронів і швидким аксональним транспортом (швидкість близько 19 см/добу) транспортується у нервову терміналь. Період напіврозпаду AX – 12 - 20 діб. У синаптичних терміналях AX міститься у везикулах (концентрація 0,2 - 0,6 М, що відповідає 2000 - 200000 молекул). Також у синаптичних везикулах, які містять AX, збільшена концентрація АТФ так, що співвідношення AX:АТФ становить 5:1 відповідно. Злиття синаптичних везикул із плазматичною мембраною в активній зоні та вивільнення AX є  $\text{Ca}^{2+}$ - залежним процесом (рис. 30, 31).

Ацетилхолін, як і інші нейромедіатори вивільняється із везикул шляхом екзоцитозу. Підготовка везикул у активній зоні пресинапсу є складним багатостадійним процесом. Деполяризація плазматичної мембрани при надходженні потенціалу дії сама по собі не здатна викликати злиття синаптичних везикул і вивільнення їхнього вмісту в синаптичну щілину. Тригером слугує локальне зростання концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  у пресинаптичному закінченні, яке забезпечують потенціалкеровані  $\text{Ca}^{2+}$ -канали.

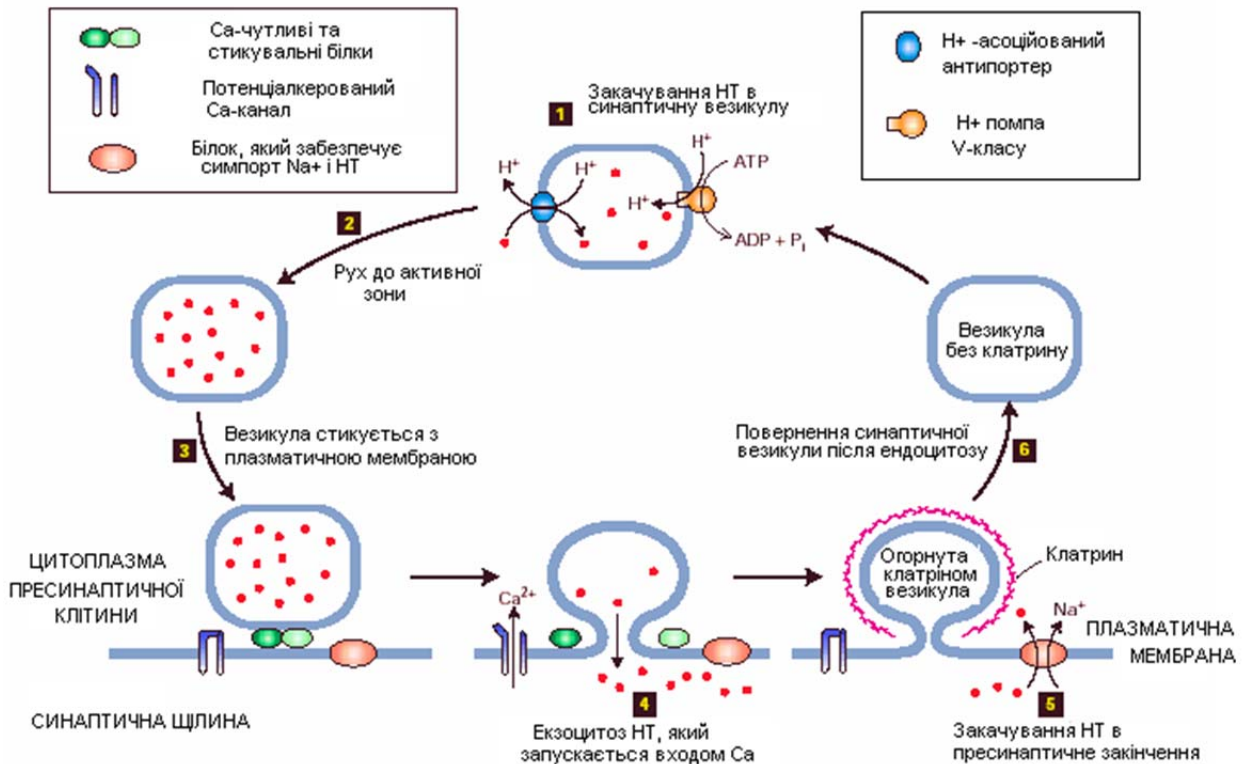


Рис. 30. Цикл нейромедіатора та синаптичних везикул у аксональній терміналі: повний цикл процесу, триває близько 1 хв.

Потенціалкеровані кальцієві канали неоднорідно розташовані в плазматичній терміналі аксонів: вони сконцентровані в активних зонах. Потенціал дії викликає відкриття цих каналів і вхід іонів Ca<sup>2+</sup> з міжклітинного простору до терміналі аксона. Відповідно, вхід Ca<sup>2+</sup> дуже обмежений за площею так, що коли Ca<sup>2+</sup> кластери (мають назву «кальцієвий домен») перекривають площу порядку нм<sup>2</sup>, генеруються так звані нанодомени. Коли кальцієві кластери поширюються на більшу площу, кажуть про мікродомени. Таким чином, локальна концентрація кальцію поблизу везикул швидко зростає з концентрації менше 0,1 мкМ до 1 - 100 мкМ. Іони Ca<sup>2+</sup> зв'язуються з білками, що забезпечують контакт мембрани везикул з мембраною активної зони, спричиняючи злиття мембран та екзоцитоз нейротрансмітера. Процес екзоцитозу обмежений у часі: Ca<sup>2+</sup>-помпа плазматичної мембрани швидко знижує концентрацію кальцію, транспортуючи іони кальцію у позаклітинний простір.

У злитті везикул ключову роль відіграють ряд специфічних везикулярних білків та білків активної зони (рис. 31). Це – білки SNARE комплексу (синаптобревін, SNAP-25 і синтаксин), головний сенсор Ca<sup>2+</sup> білок везикул синаптотагмін, ГТФаза Rab3, регуляторні білки Munc-18, Munc-13, RIM, комплексин та інші.

Білки SNARE – велика група білків, які опосередковують злиття внутрішньоклітинних мембранних структур (органел). Взагалі на сьогодні відомо близько 60 представників родини SNARE, усі вони мають цитоплазматичний домен (SNARE домен) з 60-70 амінокислотних залишків, який забезпечує утворення міцного 4-спірального з'єднання SNARE комплексу. Білки SNARE класифікують на дві групи: 1- везикулярні SNAREs (v-SNAREs, інша назва R-SNAREs), 2- SNAREs мембранних мішеней (t-SNAREs, інша назва Q-SNAREs). Екзоцитоз синаптичних везикул регулюють три білки SNARE – VAMP/синаптобревін (R-SNARE), SNAP-25 (Q-SNARE) та синтаксин1 (Q-SNARE). Синаптобревін – невеликий трансмембранний везикулярний білок (18 кДа), який приймає участь у кінцевій стадії екзоцитозу. SNAP-25 – низькомолекулярний (25 кДа) білок плазматичної мембрани, якому належать 2  $\alpha$ -спіралі з 4-спірального комплексу SNARE. Синтаксин – тридоменний білок плазматичної мембрани. Його доменами є N-кінцевий регуляторний (Habc) домен, комплексоутворюючий SNARE-домен синтаксину та C-кінцевий трансмембранний домен. Habc-домен існує в двох станах – закритій та відкритій конформаціях. Закрита конформація забезпечується білком Munc18-1 і ховає комплексоутворюючий SNARE-домен, таким чином протидіючи формуванню комплексу SNARE. Відкрита конформація Habc-домену забезпечує можливість контакту комплексоутворюючого домену з іншими білками комплексу SNARE.

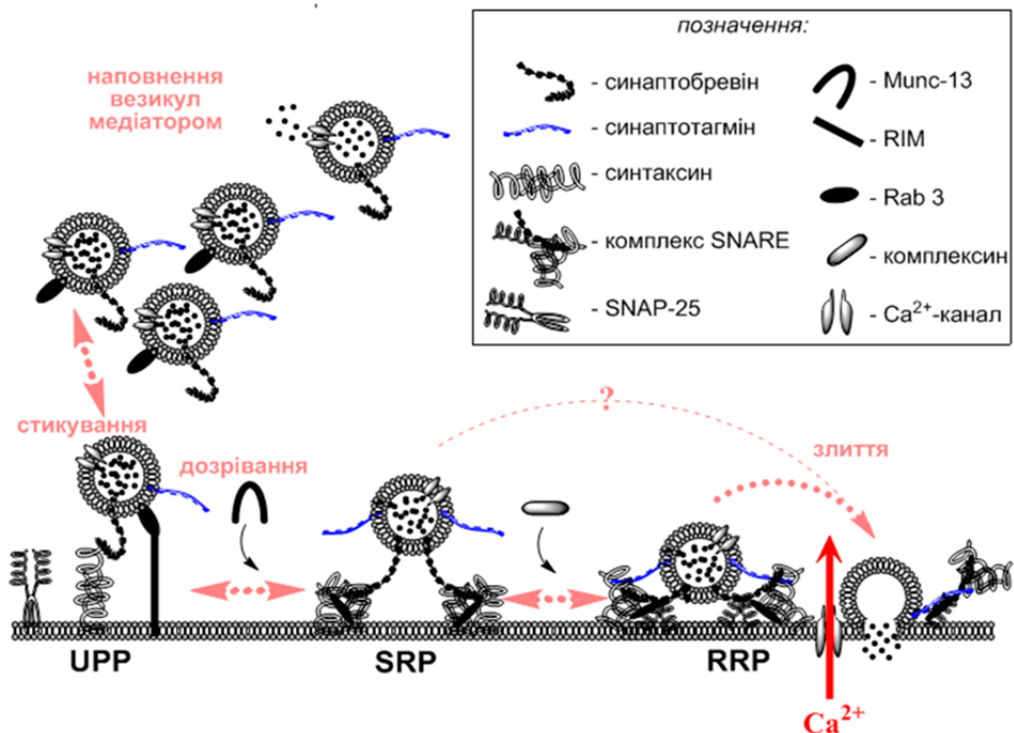


Рис. 32. Послідовні етапи підготовки везикул до злиття та білки, які приймають участь у кожному з них.

Після стикування везикул з мембраною активної зони, вони проходять процес дозрівання. Фактично він забезпечує перехід везикул з UPP в пул безпосереднього вивільнення (SRP та RRP). В основі дозрівання лежить процес формування тримерного SNARE-комплексу із везикулярного синаптобrevіну та мембранних синтаксину і SNAP-25. Комплекс стабілізується взаємодіями типу «застібка-блискавка» між залишками амінокислоти лейцину. На початкових етапах дозрівання N-кінець синтаксину взаємодіє з SNAP-25, формуючи димер. У кінці етапу дозрівання везикул за рахунок приєднання везикулярного синаптобrevіну формується тримерний комплекс. Початково це – транс- SNARE-комплекс, бо якоря білків синтаксину і синаптобrevіну містяться у різних мембранах – активної зони і везикулярній. Потім, після злиття мембран, здійснюється перехід у цис-SNARE-комплекс.

Після вивільнення в синаптичну щілину АХ деградується ферментом ацетилхолінестеразою (рис. 33). Ацетилхолінестераза (3200 кДа) – серинова естераза; вона зв'язана з базальною пластинкою між пре- і постсинаптичними мембранами. Відомо ряд хімічних сполук, які блокують цей фермент: органічні фосфати (зокрема, пестициди), неостигмін, зарин.

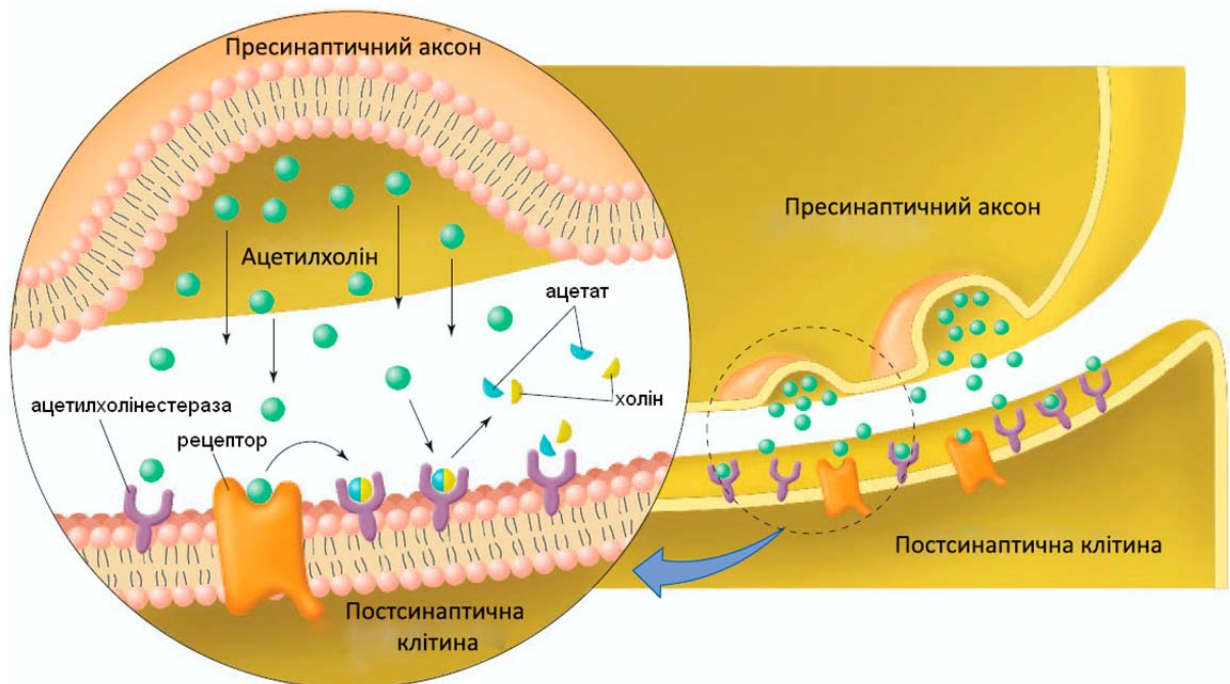


Рис. 33. Дія ацетилхолінестерази. Ацетилхолінестераза, яка розташована на постсинаптичній мембрані, інактивує ацетилхолін.

АХ зв'язується з рецептором у щілині, утвореній трансмембранними фрагментами; сайт міститься в площині плазматичної мембрани. Негативно заряджений залишок аспартату третього трансмембранного домену взаємодіє з негативно зарядженою амонійною групою молекули ацетилхоліну. Експериментами зі специфічних мутацій у трансмембранних

доменах рецепторів було показано, що у процесі зв'язування холінергічних лігандів також задіяні 2, 5, 6 і 7 трансмембранні фрагменти.

Зв'язування агоністів спричиняє активаційні, конформаційні зміни у молекулі рецептора. Ці зміни передаються на G-білок і супроводжуються його активацією. У досліджах зі створення химерних рецепторів (зокрема, з  $M_2$  і  $M_3$ , які зв'язують G-білки різних класів) було виявлено, що головною частиною рецептора, яка відповідає за специфічне зв'язування з G-білком, – проксимальна частина третьої внутрішньоклітинної петлі (i3), тоді як інші внутрішньоклітинні фрагменти рецептора (зокрема, i2) приймають участь у формуванні контакту з агоністом.

### **Функції мускаринових холінорецепторів та механізми їхньої реалізації через вторинні посередники**

У ПНС холінергічними нейронами є: мотонейрони, постгангліонарні парасимпатичні, прегангліонарні симпатичні і парасимпатичні. mAChRs є рецепторами АХ у постгангліонарних парасимпатичних нейронах, а також у органах-мішенях парасимпатичних нейронів (інервують практично всі органи), а також прегангліонарних нейронах де регулюють вивільнення АХ. Нікотинові ацетилхолінові рецептори розташовуються у мотонейронах і прегангліонарних нейронах.

У ЦНС холінергічні нейрони розташовуються у різних ділянках переднього мозку, зокрема у хвостатому ядрі (є інтернейронами, які регулюють збудливість GABA-ергічних нейронів, що конкурують з дофамінергічними нейронами). Тут ацетилхолінові рецептори розташовуються постсинаптично і пресинаптично у нейронах та клітинах глії.

mAChRs у ЦНС залучені до забезпечення процесів концентрації уваги, навчання, пам'яті, регуляції циркадних ритмів, керуванні руховою функцією.

Підтипи mAChRs класифікують на дві групи (рис. 34 та 35) за подібністю поліпептидного ланцюга і схожим сигнальною функцією. Підтипи  $M_1$ ,  $M_3$  і  $M_5$  спряжені з нечутливими до коклюшного токсину  $G_q$ -білками, тобто ефекторним ферментом у їх випадку є фосфоліпаза C $\beta$  (ФЛС $\beta$ , підтипи 1-4), а вторинні посередники, які синтезуються при їх активації – інозитол-1,4,5-трифосфат і діацилгліцерол. Кінцевим виразним ефектом активації цих рецепторів є мобілізація іонів Ca з внутрішньоклітинних депо. Також їхня активація супроводжується стимулюванням ефекторних ферментів – фосфоліпази A $_2$ , фосфоліпази D і тирозинкіназ.

Стимулювання  $M_2$  і  $M_4$  холінорецепторів (рис. 35) призводить до активації чутливих до коклюшного токсину  $G_i$ -білків і, як наслідок, інгібування аденілатциклази. Головним внутрішньоклітинним ефектом при цьому є зниження внутрішньоклітинної концентрації цАМФ. Додатково ці рецептори

здійснюють стимуляцію фосфоліпази A<sub>2</sub>. У випадку, коли ці рецептори надлишково експресуються в клітинах, вони також можуть неспецифічно активувати ФЛСβ (підтипи 2 і 3) субдиничним комплексом G<sub>βγ</sub>.

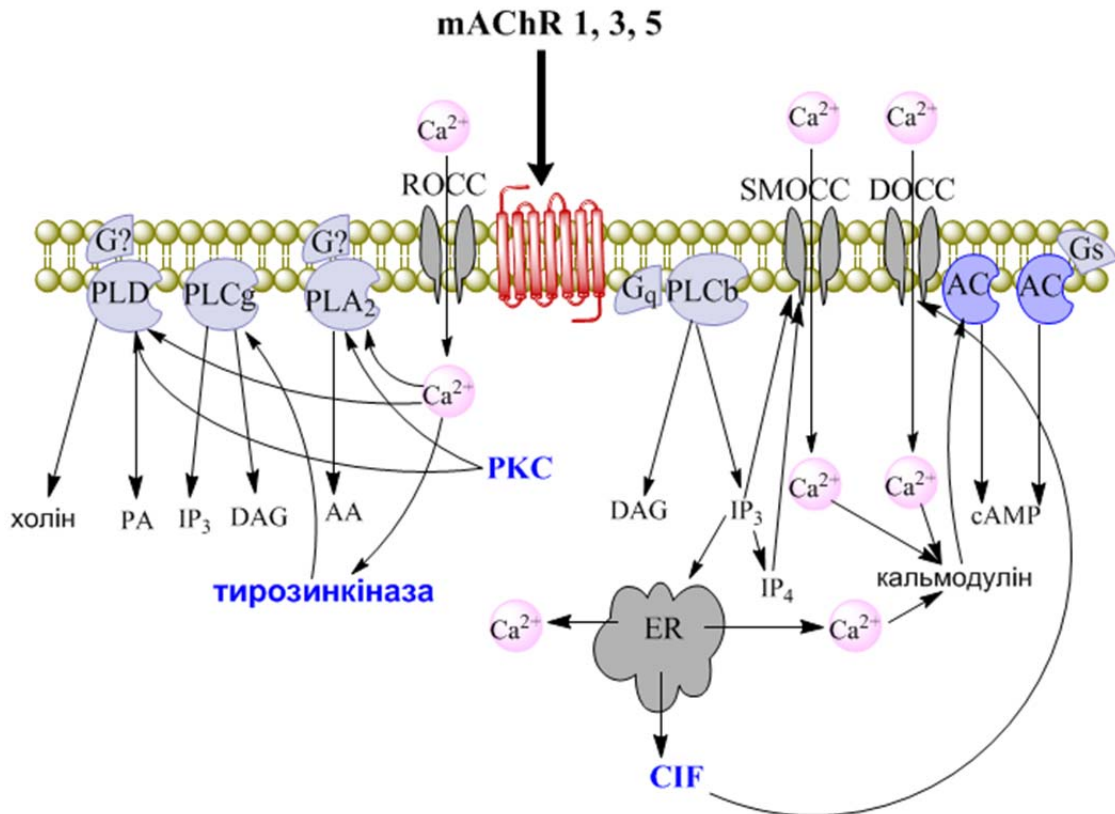


Рис. 34. Сигнальні шляхи, які модулюються мускариновими рецепторами підтипів 1, 3, 5. Їхнє компанування залежить від типу клітин, в яких відбувається активація холінорецепторів. На схемі показано: фосфоліпаза Д (PLD) генерує холін і фосфатидну кислоту (PA) та регулюється входом Ca<sup>2+</sup> і протеїнкіназою С (С, PKC) і, ймовірно, спряжена з не ідентифікованим G-білком (G<sup>?</sup>); фосфоліпаза A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) напрацьовує арахідонову кислоту (AA) та регулюється входом Ca<sup>2+</sup> в клітину і PKC та, ймовірно, спряжена з не ідентифікованим G-білком (G<sup>?</sup>); фосфоліпаза C<sub>γ</sub> (PLC<sub>γ</sub>) напрацьовує інозитол-1,4,5-трифосфат (IP<sub>3</sub>) і діацилгліцерол (DAG) та активується кальцій-залежною тирозинкіназою; рецептор-керовані кальцієві канали (ROCC) регулюються за нез'ясованими точно механізмами; фосфоліпаза C<sub>β</sub> (PLC<sub>β</sub>) спряжені через G<sub>q</sub> і є додатковим джерелом IP<sub>3</sub> і DAG; кальцієві канали, керовані вторинними посередниками (SMOCC) регулюються IP<sub>3</sub>, IP<sub>4</sub> і Ca<sup>2+</sup>; кальцієві канали, керовані виснаженням депо (DOCC) регулюються цитоплазматичним фактором (чи факторами) (CIF); Ca<sup>2+</sup>/кальмодулін- залежні та незалежні аденілатциклази (AC), які синтезують цАМФ. IP<sub>3</sub> стимулює вивільнення Ca<sup>2+</sup> з внутрішньоклітинного депо (чутливої до цього вторинного посередника частини ендоплазматичного ретикулу (ER)).

Мускаринові холінорецептори комплексно регулюють рівень внутрішньоклітинного цАМФ. Так, додатково до головного механізму пригнічення аденілатциклазної активності  $M_2$  і  $M_4$  холінорецепторами, опосередковане  $G_i$ -білками, мускаринові холінорецептори можуть тканинспецифічно збільшувати і зменшувати концентрацію цАМФ залежно від складу внутрішньоклітинних сигнальних білків. Так, асоційовані з  $G_q$ -білками mAChRs у клітинах астроцитомі і щитоподібної залози активують ФЛС, це призводить до збільшення внутрішньоклітинної концентрації іонів  $Ca^{2+}$ , які активують кальцій-кальмодулін чутливу фосфодіестеразу (ФДЕ) і, як наслідок, знижує концентрацію цАМФ (рис. 36). У кардіоміоцитах mAChRs, асоційовані з  $G_i$ -білками, активують NO-синтазу, NO активує гуанілатциклазу. Остання синтезує цГМФ, що стимулює ФДЕ, знижуючи внутрішньоклітинний рівень цАМФ.

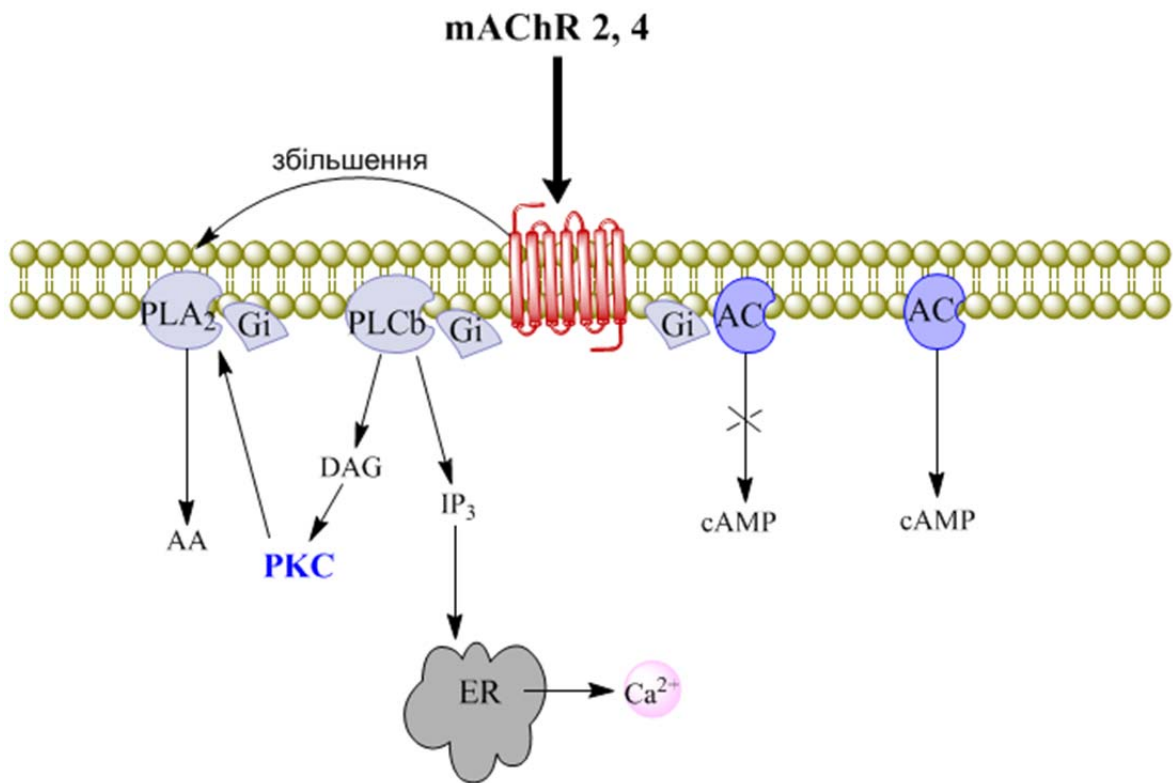


Рис. 35. Сигнальні шляхи, які модулюються мускариновими рецепторами підтипів 2 і 4.  $M_2$  і  $M_4$  рецептори здійснюють посилення активації фосфоліпази A2 (PLA2) через чутливий до коклюшного токсину білок  $G_i$ , а також регулюється протеїнкіназою C (PKC); незначна активація фосфоліпази Cβ (PLCβ)  $G_i$ -білком; інгібування аденілатциклази (AC), опосередковане  $G_i$ -білком; слабе стимулювання AC через  $G_s$ -білок та після блокування  $G_i$ -білка коклюшним токсином.

Також відомо багато шляхів, за якими стимулювання mAChRs призводить до збільшення концентрації цАМФ. Так, коли у великій кількості

експресуються і  $G_i$ -, і  $G_q$ -асоційовані холінорецептори, це супроводжується збільшенням цАМФ за рахунок неспецифічного спряження з  $G_s$ .  $G_q$ -асоційовані mAChRs, підвищуючи рівень  $Ca^{2+}$ , викликають активацію кальмодулін-чутливих аденілатциклаз. У нуховому рецепторі  $G_i$ -спряжені mAChRs можуть забезпечувати  $G\beta\gamma$ -опосередковану активацію аденілатциклаз II та IV типів. І врешті, багато ізоформ аденілатциклаз можуть регулюватись фосфорилуванням цАМФ-залежними протеїнкіназою А (ПКА), протеїнкіназою С (ПКС) і кальмодулін-залежними протеїнкіназами. Ці протеїнкінази також можуть регулювати проведення позаклітинного сигналу, змінюючи ефективність функціонування холінорецепторів шляхом безпосереднього фосфорилування цими протеїнкіназами. Дані літератури також свідчать, що mAChRs (гіпокамп) змінюють рівень фосфорилування залишків тирозину, тобто здатні регулювати активність клітинних тирозинкіназ.

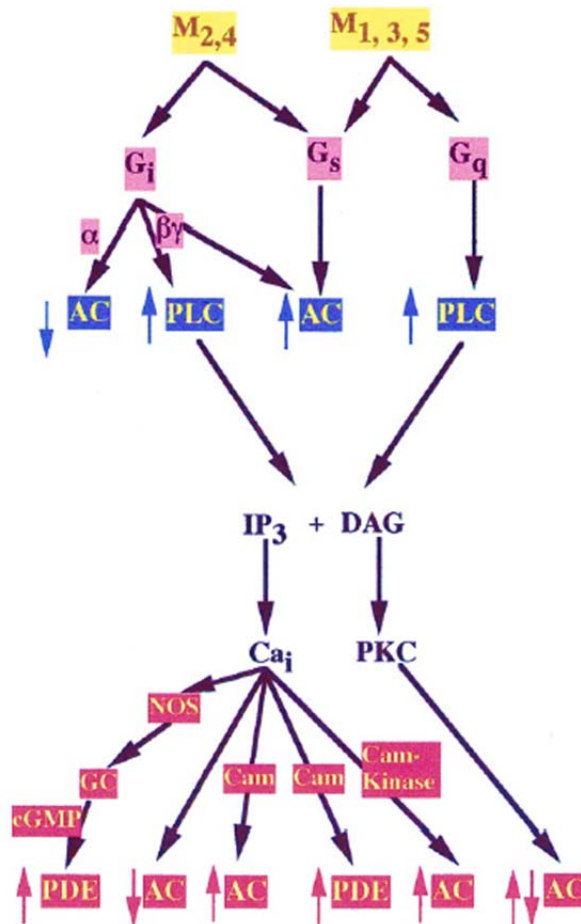


Рис. 36. Схема ефекторних молекул, які задіяні у передаванні сигналу від mAChRs при регуляції внутрішньоклітинної концентрації цАМФ. Домінування тих чи інших шляхів у клітинах залежить від типу клітин, рівня експресії рецепторів, типу рецепторів, комбінації ефекторних молекул, що експресуються в клітинах даного типу.

Холінорецептори здатні активувати крім тирозинкіназ також шляхи сигналізації мітоген-активованої протеїнкінази (МАПК). Таким чином, mAChRs контролюють такі процеси, як клітинний ріст, диференціацію та апоптоз. Ці протеїнкіназні каскади забезпечують активацію, зокрема, таких МАПК як Erk1, Erk2, кіназу p38 та c-Jun. Активування або інгібування відповідних сигнальних шляхів залежить від підтипу холінорецепторів та типу клітин.

Наступною ключовою ланкою активованого ацетилхоліном сигнального каскаду є модифікація проникності іонних каналів, що здійснюється шляхом їхнього фосфорилування. Так, наприклад, активація ПКС або зниження активності ПАК може призводити до пригнічення активності, відповідно  $\text{Na}^+$ - та  $\text{Ca}^{2+}$ -каналів. Активація тирозинкінази може регулювати калієві канали.

Інший механізм регуляції активності іонних каналів – безпосередньо вторинними посередниками. Збільшення внутрішньоклітинної концентрації іонів  $\text{Ca}^{2+}$  може потенціювати  $\text{Ca}^{2+}$ -активовані  $\text{K}^+$ -канали. Збільшення рівня цГМФ може активувати чутливі до відповідних циклічних нуклеотидів іонні канали. Також, комплекс  $\beta\gamma$ -субодиниць, який звільняється при дисоціації  $\text{G}_i$ -білків, може взаємодіяти з іонними каналами і активувати їх. Так, у кардіоміоцитах подібним чином активуються калієві канали вхідного випрямлення (через активацію  $\text{M}_2$ -холінорецепторів).

## **Адренорецептори**

Адренорецептори (адренергічні рецептори) – метаботропні рецептори (GPCRs), які опосередковують центральну і периферичну дію нейромедіатора норадреналіну та гормону адреналіну. Ці рецептори поділяють на три головні типи:  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  та  $\beta$ , кожен з яких, у свою чергу розділяють ще на 3 підтипи. Як і класичні метаботропні рецептори, адренорецептори – серпентинові (7ТМ) рецептори, вторинна структура яких має 7  $\alpha$ -спіральных фрагментів, які перетинають площину плазматичної мембрани.

Норадреналін (норепінефрин) – нейромедіатор центральної і периферичної нервової системи. Адреналін (епінефрин) – гормон, який вивільняється з наднирників. Обидві речовини є катехоламінами (рис. 37). Вони відіграють важливу роль в організмі, регулюючи через адренорецептори широкий діапазон фізіологічних систем. Так, активація адренорецепторів катехоламінами, які вивільняються у відповідь на стимуляцію симпатичної автономної нервової системи, спричиняє збільшення частоти серцевих скорочень, зміну тону судин і розслаблення бронхіальних м'язів. У центральній нервовій системі адренорецептори залучені в регуляцію багатьох важливих функцій, зокрема, пам'яті, навчання та реалізації реакції на стрес.

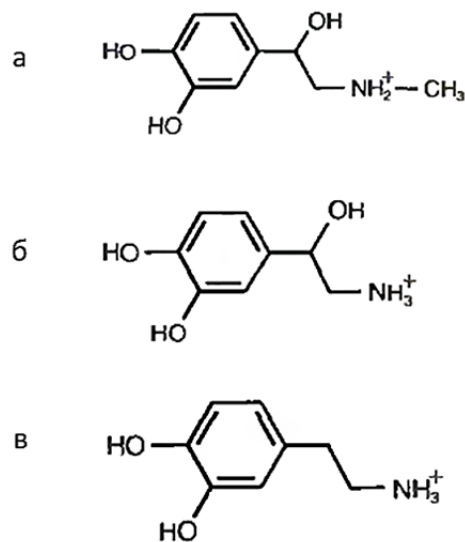


Рис. 37. Структурні формули медіаторів-катехоламінів: (а) – норадреналін, (б) – адреналін, (в) – дофамін.

Синтез зберігання, вивільнення, захоплення і розщеплення катехоламінів. Вихідною речовиною синтезу всіх катехоламінів (норадреналіну, адреналіну та допаміну) в організмі людини є амінокислота тирозин. Власне, тирозин може мати або екзогенне (надходить при харчуванні), або ендогенне походження (утворюється при гідроксилуванні іншої амінокислоти – фенілаланіну). Початковою стадією синтезу є гідроксилування тирозину ферментом тирозингідроксилазою до дигідроксифенілаланіну (ДОФА). Далі ДОФА декарбоксилується до допаміну ферментом ДОФА-декарбоксилазою. Допамін під дією ферменту допамін-β-гідроксилази перетворюється в норадреналін. У останню чергу утворюється адреналін: він синтезується з норадреналіну шляхом метилювання фенілметаноламін-N-метилтрансферазою. У наднирниках спостерігається відносно кількісне переважання адреналіну над норадреналіном у відношенні 5:1.

Ключовим ферментом ланцюга перетворень катехоламінів є фермент тирозингідроксилаза. Цей фермент локалізується в клітинах наднирників та катехолергічних нейронів (переважно в пресинаптичних терміналях). Кофакторами цього ензиму є тетрагідробіоптерин,  $\text{Fe}^{2+}$  і молекулярний кисень. Додатковими модифікаторами тирозингідроксилази є фосфорилази та кінази, зокрема, PKA. Визначально, що за принципом негативного зворотного зв'язку тирозингідроксилаза також регулюється норадреналіном.

Інший важливий фермент у ланцюзі перетворень катехоламінів – допамін-β-гідроксилаза – міститься тільки в адренергічних клітинах і є тут маркерним ферментом. Цей мідь-вмісний фермент розташовується переважно в катехоламін-вмісних везикулах (так званих хромафінних гранулах). Кожна

везикула містить 10 - 15 тисяч молекул норадреналіну. Крім катехоламінів везикули містять АТФ (також і аденозини- та моно фосфат, але у менших кількостях) та іони  $Ca^{2+}$ . Рушійною силою надходження цих речовин до везикул є градієнт рН, який створюється специфічною АТФазою. *In vivo* допамін поглинається везикулами і всередині перетворюється в норадреналін. У наднирниках та окремих зонах мозку норадреналін перетворюється в адреналін.

Існує декілька ключових механізмів інактивації ефектів норадреналіну. Головний шлях – його захоплення назад у пресинаптичну терміналь, яку здійснює специфічний, високоафінний транспортер. Також – для обох катехоламінів властиве ферментативне розщеплення. Норадреналін метаболізується моноаміноксидазою (МАО) і катехол-О-метилтрансферазою (СОМТ) до 3-метокси-4-гідроксифенілгліколя (головним чином) і 3-метокси-4-гідроксиманделевої кислоти (рис. 38). Ці ж ферменти розщеплюють адреналін до 3-метокси-4-гідроксиманделевої кислоти.

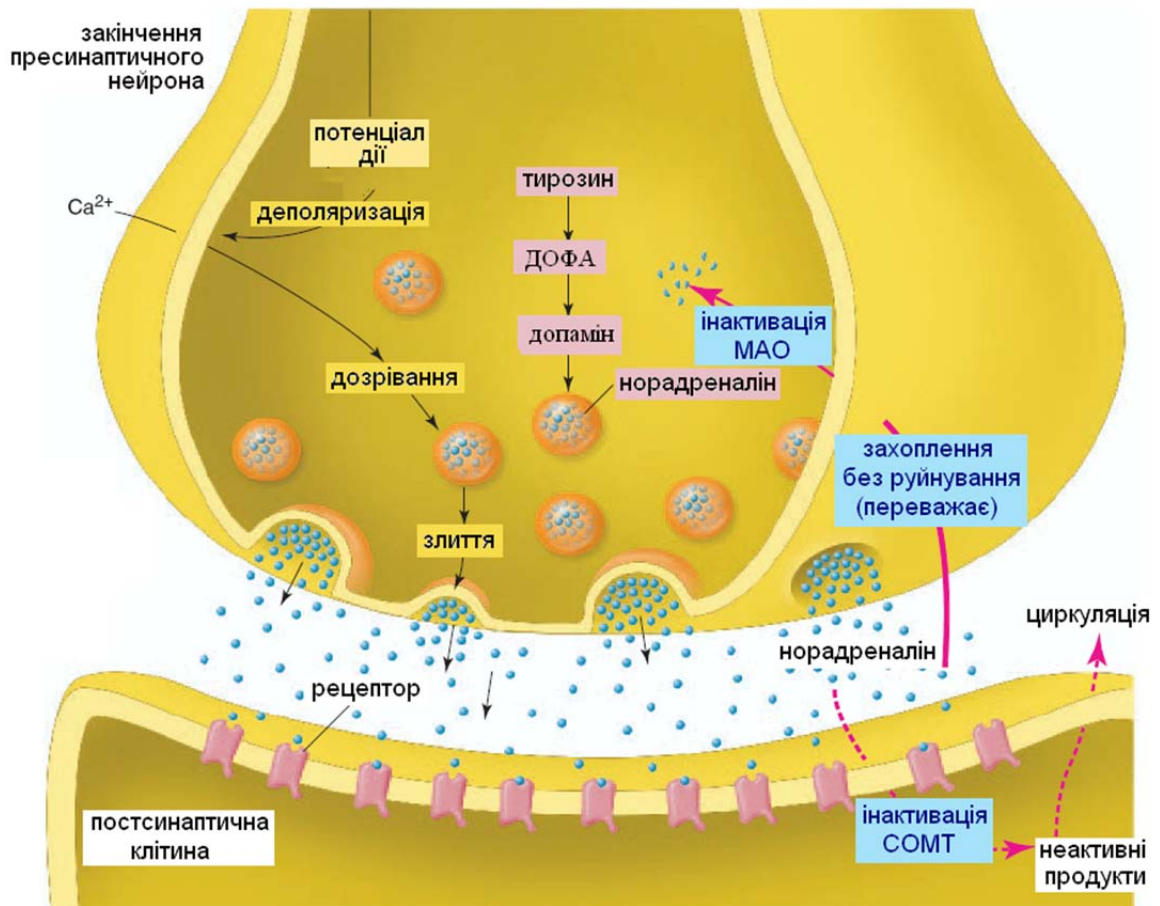


Рис. 38. Синтез, вивільнення і повторне захоплення норадреналіну. Нейромедіатор взаємодіє з відповідними рецепторами на постсинаптичній мембрані. Ферменти, які інактивують катехоламіни: моноаміноксидаза (МАО) та катехол-О-метилтрансфераза (СОМТ).

Класифікація адренорецепторів, їхні фармакологічні та молекулярні особливості. Історично здійснювали поділ адренорецепторів на два головні типи –  $\alpha$  і  $\beta$  – за їхніми фармакологічними характеристиками. У більш пізній період  $\beta$ -адренорецептори розділили на 2 підтипи.  $\alpha$ -адренорецептори розділили на  $\alpha_1$ - і  $\alpha_2$ -підтипи. Перші розташовані на постсинаптичній мембрані, другі – як на пресинаптичній так і постсинаптичній мембранах.

Насьогодні адренорецептори прийнято розділяти на 3 головні типи:  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  та  $\beta$ . Вони, у свою чергу, класифікуються кожен на 3 підтипи.  $\alpha_1$ -адренорецептори мають підтипи  $\alpha_{1A}$ ,  $\alpha_{1B}$  та  $\alpha_{1D}$ ; підтипи  $\alpha_1$ -адренорецепторів:  $\alpha_{2A}$ ,  $\alpha_{2B}$  та  $\alpha_{1C}$ ; підтипами  $\beta$ -адренорецепторів є  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  та  $\beta_3$ . Специфічною і досить показовою особливістю кожного типу адренорецепторів є їхня здатність активувати різні типи G-білків: для  $\alpha_1$  це  $G_q$ , для  $\alpha_2$  –  $G_{i/o}$  та для  $\beta$  –  $G_s$ . Також дуже вдало розділяють адренорецептори, використовуючи відносно селективні агоністи і антагоністи.

$\alpha_1$ -адренорецептори.

Насьогодні відомо 3 генетичні і 4 фармакологічні підтипи  $\alpha_1$ -адренорецепторів. Так, крім  $\alpha_{1A}$ ,  $\alpha_{1B}$  та  $\alpha_{1D}$  форм, які характерні для різних тканин, у судинах було виявлено четвертий фармакологічний підтип ( $\alpha_{1L}$ ), який конформаційно подібний до  $\alpha_{1A}$ . Крім класичних первинних месенджерів адреналіну і норадреналіну,  $\alpha_1$ -адренорецептори активуються рядом хімічних сполук. Показано, що фенілефрин і метоксамін відносно селективні агоністи  $\alpha_1$ -адренорецепторів (також активують і інші типи адренорецепторів, однак із значно нижчою афінністю). Адренорецептори всіх типів у однаковій мірі інгібуються фентоламіном і феноксibenзаміном. Відносно селективними антагоністами  $\alpha_1$ -адренорецепторів є празозин і тамсулозин. Селективними антагоністами цих рецепторів вважають 5-метилурапідил та нігвілдипін.

Структурні особливості адренорецепторів добре вивчені. Рецептори є одиничними поліпептидними ланцюгами, особливості розташування яких відносно площини мембрани варіюються у межах класифікаційних рівнів. Довжина поліпептидного ланцюга  $\alpha_1$ -адренорецепторів становить 446 - 572 амінокислотних залишків. Як типовий метаботропний рецептор, він 7 разів перетинає мембрану, формуючи 3 позаклітинні (i) та 3 внутрішньоклітинні (e) петлі; N-кінець ланцюга розташовується в позаклітинному середовищі, C-кінець – внутрішньоклітинний. Показною особливістю  $\alpha_1$ -адренорецепторів найдовший серед сукупності представників родини C-кінець (137 - 179 амінокислотних залишків) і відносно коротка третя внутрішньоклітинна петля (68 - 73 амінокислотних залишків).  $NH_2$ -кінець поліпептидного ланцюга має різну кількість сайтів глікозилування: 3 – в  $\alpha_{1A}$ - та в  $\alpha_{1B}$ - і жодного – в  $\alpha_{1D}$ -

адренорецепторів. Як і всі метаботропні рецептори, адренорецептори на СООН-кінці мають сайти фосфорилування, які виконують регуляторну функцію, знижуючи або підвищуючи ефективність передачі сигналу, а також задіяні в реалізації процесів десенситизації та рециклінгу рецепторів.

$\alpha_2$ -адренорецептори.

Початково  $\alpha_2$ -адренорецептори поділяли на  $\alpha_{2A}$ - та  $\alpha_{2B}$ - підтипи за різною їхньою спорідненістю до празозину та оксиметазоліну. Насьогодні ж відомо три генетичних та чотири фармакологічних підтипи  $\alpha_2$ -адренорецепторів ( $\alpha_{2A}$ -,  $\alpha_{2B}$ -,  $\alpha_{2C}$ - та  $\alpha_{2D}$ - підтипи, для людини характерні перші два). Синтезовано ряд досить селективних агоністів і антагоністів до цього типу адренорецепторів. Відносно селективні агоністи  $\alpha_2$ -адренорецепторів – клонідин та брімонідин; оксиметазолін – селективний до  $\alpha_{2A}$ - підтипу. Відносно селективними антагоністами до  $\alpha_{2A}$ -адренорецепторів є йохімбін і BRL44408, до  $\alpha_{2B}$ - – празозин і ARC-239 (хоча чутливість  $\alpha_1$ -адренорецепторів до цих сполук є вищою), до  $\alpha_{2C}$ - – рауволсцин.

$\alpha_2$ -адренорецептори утворені поліпептидним ланцюгом з 450-462 амінокислотних залишків. Структурними особливостями цього типу адренорецепторів вважаються відносно довга третя внутрішньоклітинна петля (і3, 148 - 179 амінокислотних залишків) і короткий СООН-кінець (20 - 21 амінокислотних залишків). і3 має множинні сайти фосфорилування кіназами, важливі для реалізації регуляції, десенситизації і рециклінгу рецепторів. Позаклітинний NH<sub>2</sub>-кінець  $\alpha_{2A}$ - та  $\alpha_{2C}$ - адренорецепторів має два сайти глікозилування, тоді як  $\alpha_{2B}$ - не має жодного.

$\beta$ -адренорецептори.

$\beta$ -адренорецептори представлені 3 підтипами рецепторів:  $\beta_1$ -,  $\beta_2$ - та  $\beta_3$  (постульовано також існування  $\beta_4$ ).  $\beta_1$ -рецептори домінують в мембранах кардіоміоцитів та у жировій тканині. Вони однаково чутливі до адреналіну і норадреналіну.  $\beta_2$ -рецептори представлені в мембраних клітин судин, міометрію і дихальних шляхів. Ці рецептори вірогідно більш чутливі до норадреналіну, ніж до адреналіну. Особливістю  $\beta_3$ -рецепторів є їх «атиповість» – нечутливість до класичних антагоністів  $\beta$ -адренорецепторів. Як зазначалось,  $\beta$ -адренорецепторам притаманна різна чутливість до своїх природних активаторів (адреналіну і норадреналіну). Адреналін в 10-100 разів більш специфічний до  $\beta_2$ -підтипу порівняно з  $\beta_1$ -підтипом рецепторів.  $\beta_3$ -адренорецептори значно чутливіші до норадреналіну порівняно з адреналіном. Що стосується хімічно синтезованих активаторів, селективними агоністами до цих рецепторів є ізопротеренол (ізупрел) та антиастматичні препарати тербуталін і салметерол (специфічний до  $\beta_2$ -рецепторів).

Неселективними антагоністами  $\beta$ -адренорецепторів є пропранолол, тимолол, прондолол і калведілол.

Молекула  $\beta$ -адренорецептора являє собою поліпептидний ланцюг з 408 - 477 амінокислотних залишків. Структурними особливостями цієї молекули є відносно (порівняно з іншими типами адренорецепторів) вкорочена і3-петля (54 - 80 амінокислотних залишків) і досить подовжений СООН-кінець (61 - 97 амінокислотних залишків) з багаточисельними сайтами фосфорилування.  $\beta_1$ - рецептори мають один сайт глікозилування, а у  $\beta_2$ - та  $\beta_3$ - рецепторів їх два.

Механізми реалізації специфічних ефектів активації адренорецепторів. Кожний тип адренорецепторів асоційований з гетеротримерними G-білками різних підродин. Так,  $\alpha_1$ -адренорецептори асоційовані з  $G_{q/11}$  гетеротримерними білками. Активація рецепторів цього типу супроводжується, перш за все, активацією фосфоліпази C $\beta$ , яка здійснює гідроліз фосфоінозитолдифосфату (PIP<sub>2</sub>). Внаслідок гідролізу молекули PIP<sub>2</sub> утворюється по одній молекулі вторинних месенджерів – інозитолтрифосфату (IP<sub>3</sub>) і диацилгліцеролу (ДАГ). IP<sub>3</sub>, дифундуючи до внутрішньоклітинних кальцієвих депо, викликає активацію IP<sub>3</sub>- чутливих рецепторів (IP<sub>3</sub>Rs), спричиняючи вивільнення Ca<sup>2+</sup>. Іони Ca<sup>2+</sup>, які також є внутрішньоклітинними посередниками, модифікують сукупність кальційзв'язуючих білків. ДАГ, який є короткоживучою молекулою, активує протеїнкіназу C (ПКС). Іншими мішенями, які є чутливими до активації  $\alpha_1$ -типу адренорецепторів, є Ca<sup>2+</sup>-канали плазматичної мембрани та цитоплазматичні ферменти: фосфоліпаза A<sub>2</sub>, фосфоліпаза D і мітоген-активовані протеїнкінази (МАПК).

У ЦНС різні підтипи  $\alpha_1$ -адренорецепторів локалізовані в окремих зонах мозку. Вони містяться на постсинаптичних мембранах. Активація рецепторів супроводжується стимулюючим ефектом. Рецептори забезпечують синаптичну передачу в спіральних мотонейронах, таким чином приймаючи участь у контролі рухової діяльності. Також  $\alpha_1$ -адренорецептори задіяні в модулюванні вивільнення різних нейротрансмітерів. Функціонування  $\alpha_1$ -рецепторів пов'язане зі здатністю до навчання, сприйняттям нового і поведінкою тварин; чутливістю до наркотиків. Так, нокаутні за  $\alpha_{1B}$ -підтипом рецепторів миші не здатні до навчання; також такі тварини мають знижену чутливість до наркотичних речовин (амфеламінів, кокаїну і морфіну). Гіперекспресія  $\alpha_{1B}$ -підтипу супроводжується дегенеративними змінами мозку на кшталт синдрому Паркінсона.

$\alpha_2$ -адренорецептори асоційовані з  $G_{i/o}$  гетеротримерними білками, таким чином їхня активація спричиняє, перш за все, інгібування аденілатциклази, як наслідок, зниження внутрішньоклітинної концентрації

вторинного посередника – циклічного аденозинмонофосфату (цАМФ). Також, ефектами стимуляції цього типу рецепторів є зміна роботи іон-транспортних систем плазматичної мембрани (активування калієвих каналів, пригнічення або активування  $\text{Ca}^{2+}$ -каналів, активування  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -обмінника) та активування ферментативної активності фосфоліпази С.

На рівні організму  $\alpha_2$ -адренорецептори є надзвичайно важливими, а відсутність усіх трьох підтипів цих рецепторів є несумісною з життям уже на рівні ембріогенезу. У ЦНС розташовані на пресинаптичних мембранах  $\alpha_2$ -адренорецептори, є важливим регулятором вивільнення нейротрансмітерів (принцип негативного зворотного зв'язку).  $\alpha_{2A}$ -рецептори головні регулятори вивільнення норадреналіну, а  $\alpha_{2C}$  і, ймовірно,  $\alpha_{2B}$ -рецептори також забезпечують пресинаптичний контроль в синаптичних нервових закінченнях. *In vivo*  $\alpha_{2A}$ - і  $\alpha_{2C}$ -рецептори відповідно контролюють вивільнення катехоламінів відповідно з симпатичних нервів та наднирників (рис. 39).

Крім функції інгібіторних авторецепторів,  $\alpha_2$ -адренорецептори здатні також регулювати вивільнення інших нейромедіаторів в центральній і периферійній нервовій системі, виступаючи в ролі «гетерорецепторів». У мозку  $\alpha_{2A}$ - і  $\alpha_{2C}$ -рецептори пригнічують вивільнення допаміну і серотоніну.

$\alpha_2$ -адренорецептори також задіяні в регуляції ноцицепції. Так, стимулювання  $\alpha_{2A}$ -рецепторів агоністами супроводжується зниженням сприйняття болю, а  $\alpha_{2B}$ -рецептори відіграють важливу роль в антиноцицептивній дії оксиду азоту. Агоністи  $\alpha_2$ -адренорецептори спричиняють седативний, анальгезивний і гіпнотичний ефекти, що забезпечуються активацією  $\alpha_{2A}$ -рецепторів.

Цей тип адренорецепторів також задіяний в регуляції поведінкових реакцій людини і тварин. Активування  $\alpha_{2C}$ -рецепторів супроводжується інгібуванням обробки сенсорної інформації ЦНС,  $\alpha_{2A}$ - та  $\alpha_{2B}$ -рецепторів – покращенням обробки просторової інформації. Агоністи  $\alpha_{2A}$ -рецепторів мають антиепілептичний ефект, а агоністи  $\alpha_{2C}$ -рецепторів застосовують у терапевтичній практиці для корекції порушень, пов'язаних із посиленими реакціями страху (шизофренія, посттравматичний стрес тощо).

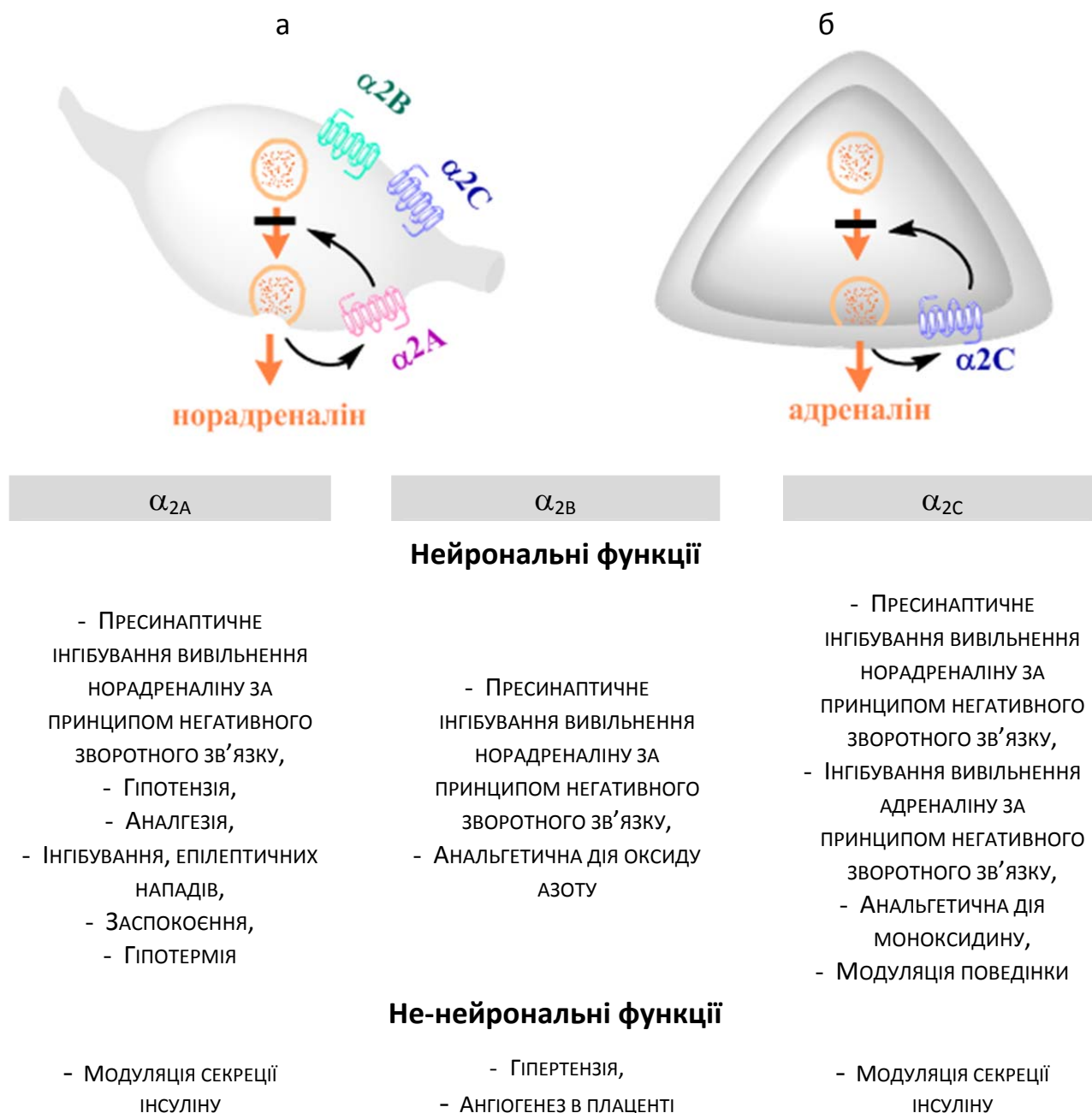


Рис. 39. Механізми регуляції вивільнення катехоламінів у нервових закінченнях (а) та підшлунковій залозі (б) різними підтипами  $\alpha_2$ -адренорецепторів та їхній біологічний ефект.

Ефекти активації  $\beta$ -адренорецепторів опосередковуються стимулюванням  $G_s$ -білків і, як наслідок активацією аденілатциклази та зростанням внутрішньоклітинної концентрації цАМФ. Добре досліджено механізм розслаблення гладеньких м'язів дихальних шляхів при активації цих рецепторів. Циклічний аденозинмонофосфат активує протеїнкіназу А, яка фосфорилує ключові регуляторні білки, задіяні у контролі м'язового тону. Також цАМФ інгібує вивільнення  $Ca^{2+}$  з внутрішньоклітинних депо, знижує

вхід іонів кальцію через плазматичну мембрану і їхнє накопичення внутрішньоклітинними пулами. Відомо, що  $\beta_2$ -агоністи викликають розслаблення гладеньких м'язів дихальних шляхів також через цАМФ-незалежний механізм, зокрема,  $G_{s\alpha}$ -субодиниця на пряму взаємодіє з калієвими каналами, активуючи їх.

Напротивагу  $\alpha_2$ -рецепторам, головна функція яких – контроль вивільнення нейромедіаторів,  $\beta$ -адренорецептори найбільш відомі у зв'язку з їхньою роллю у регуляції функціонування серцево-судинної, дихальної систем, міометрію і периферійного метаболізму. Хоча цей тип також представлений і в мозку (мозочок, таламус, гіпокамп, гіпоталамус тощо). У шишковидній залозі норадреналін вивільняється з симпатичних нейронів, контролюючи добові ритми синтезу мелатоніну. Крім того,  $\beta$ -рецептор-вмісні адренергічні нейрони задіяні в регуляції здатності до навчання, пам'яті, поведінці. Показана також здатність  $\beta$ -адренорецепторів контролювати вивільнення інших нейромедіаторів. У медичній практиці застосовують блокатори  $\beta$ -рецепторів при терапії хронічних мігрень, глаукоми, треморів.

### **Інші представники 7ТМ-рецепторів**

Гістамінові рецептори.

Гістамін – гормон (лужний амін), який секретується багатьма типами клітин (макрофагами, базофілами, нервовими клітинами). У нормальних фізіологічних умовах він діє як місцевий, паракринний гормон, тобто діє на сусідні клітини, розташовані поряд із джерелом вивільнення гістаміну. Також гістамін виконує функцію нейромедіатора, коли після електричного стимулу вивільняється із нервового закінчення і активує оточуючі клітини. Наприклад, гістамін, який забезпечують макрофаги у шлунку, виконує роль регулятора секреції кислоти.

Поряд із фізіологічними функціями, гістамін задіяний у патологічних запальних реакціях. В умовах дії алергену макрофаги починають вивільняти гістамін. Алергічна реакція може бути локальною, як після укусу комахи, або поширюватись на весь організм, як при анафілактичному шоку при ін'єктуванні пеніциліну пеніцилін-алергічним людям.

Рецептори гістаміну – трансмембранні рецептори, які належать до надродини 7ТМ рецепторів. Відомо чотири типи гістамінових рецепторів. ( $H_{1-4}$ ).

$H_1$ -рецептор людини містить 487 амінокислотних залишків; у геномі людини він кодується геном третьої хромосоми. При розташуванні у площині мембрани,  $H_1$ -рецептор формує велику третю цитоплазматичну петлю (208 амінокислотних залишків), яка забезпечує його взаємодію з гетеротримерними білками родини  $G_{q/11}$ . Характерною властивістю молекули

цього рецептора є укорочений С-кінець (17 амінокислотних залишків – у випадку рецептора людини). Активація  $H_1$ -рецептора спричиняє стимулювання фосфоліпази С $\beta$ . Як наслідок, у клітині синтезуються вторинні посередники діацилгліцерол (ДАГ) і інозитол-1,4,5- три фосфат (ІТФ). ІТФ стимулює вивільнення  $Ca^{2+}$  з ендоплазматичного ретикулуму, а ДАГ активує протеїнкіназу С (ПКС). ПКС, фосфорилюючи білки-мішені, активує експресію про-запальних генів та генів, продукти яких стимулюють проліферацію.

$H_1$ -рецептори представлені у багатьох тканинах, зокрема, у гладеньких м'язах (забезпечують скорочення м'язів дихальних шляхів, шлунково-кишкового тракту та судин). У судинах вони опосередковують збільшення проникності, таким чином можлива набрякова реакція.

$H_2$ -рецептор людини складається з 359 амінокислотних залишків; він кодується єдиним екзоном в п'ятій хромосомі. На відміну від  $H_1$ -рецептора, молекула  $H_2$ -рецептора у площині мембрани розташовується так, що має укорочену третю цитоплазматичну петлю (30 амінокислотних залишків) і подовжений С-кінець (близько 70 амінокислотних залишків). Цей рецептор спряжений з  $G_s$ -гетеротримерними білками та стимулює аденілатциклазу. Результатом активації  $H_2$ -рецептора є підвищення синтезу вторинного посередника цАМФ, активація протеїнкінази А (ПКА). Рецептори, розташовані в серці, спричиняють ПКА-залежне посилення частоти і сили скорочень міокарду; у гладеньких м'язах спостерігається цАМФ-опосередковане розслаблення дихальних шляхів та судин; у лімфоцитах має місце  $H_2$ -рецептор-опосередковане пригнічення синтезу антитіл, також – активування проліферації Т-клітин і продукування цитокінів. У деяких типах клітин активування  $H_2$ -рецепторів спричиняє вивільнення  $Ca^{2+}$  із внутрішньоклітинних депо (парієтальні клітини шлунку). У нейронах ці рецептори опосередковують гальмування.

$H_3$ -рецептор людини складається з 445 амінокислотних залишків; він кодується геном двадцятої хромосоми. Геномна структура цього рецептора має інтрони і екзони. Це – конститутивна форма рецептора центральної нервової системи. Молекула цього рецептора має подовжену третю внутрішньоклітинну петлю (142 амінокислотні залишки) і короткий С-кінець (29 амінокислотних залишків).  $H_3$ -рецептор спряжений з  $G_{i/o}$ -гетеротримерним білком, який здатен інгібувати активність аденілатциклази, знижуючи вміст цАМФ у клітині. У центральній нервовій системі ці рецептори локалізуються як на пост-, так і на пресинаптичних мембранах нейронів, забезпечуючи пригнічення вивільнення гістаміну (у гістамін-ергічних нейронах) та інших нейромедіаторів (ацетилхоліну, серотоніну, допаміну і норадреналіну) з пресинаптичної терміналі. На периферії ці рецептори розташовані у венах, серці, бронхах і трахеї.

H<sub>4</sub>-рецептор людини складається із 390 амінокислотних залишків і кодується геном вісімнадцятої хромосоми. Геномна структура цього рецептора має інтрони та екзони. Молекула рецептора має подовжену третю цитоплазматичну петлю (111 амінокислотних залишків) та вкорочений C-кінець (28 амінокислотних залишків). Як і H<sub>3</sub>-рецептор, H<sub>4</sub> також спряжений з G<sub>i/o</sub>-гетеротримерним білком, тобто внутрішньоклітинним ефектом його активації є зниження синтезу цАМФ і пригнічення ПКА. Ці рецептори переважно локалізуються у клітинах імунної системи (клітини кісткового мозку, нейтрофіли, еозинофіли, клітини селезінки і макрофаги).

P2Y-рецептори – трансмембранні білки-рецептори, які належать до надродини 7ТМ-рецепторів, природнім активатором яких є позаклітинні нуклеотиди (АТФ, АДФ, УТФ, УДФ та УДФ-глюкоза). P2Y-рецептори класифікують на підтипи (P2Y1, P2Y2, P2Y4, P2Y6, P2Y11, P2Y12, P2Y13, P2Y14) залежно від різної спорідненості до окремих нуклеотидів, а також за різними G-білками, з якими спряжені ці рецептори. У свою чергу, підтипи об'єднують у три групи відповідно до внутрішньоклітинного сигнального ланцюга, який запускається при активації рецепторів.

З G<sub>q</sub>-білками спряжені P2Y1- (розташовані у тромбоцитах, судинах і мозку; чутливість до окремих нуклеотидів можна подати у вигляді співвідношення: АДФ>АТФ>> УДФ і УТФ), P2Y2- (розташовані в дихальних шляхах, екзокринних залозах, лейкоцитах, судинах і мозку; чутливість до окремих нуклеотидів можна подати у вигляді співвідношення: АТФ = УТФ >> АДФ і УДФ), P2Y4- (розташовані в тонкому кишковому та внутрішньому вусі; чутливість до окремих нуклеотидів можна подати у вигляді співвідношення: для людини – УТФ>> АТФ і АДФ і УДФ та для щура і миші – УТФ = АТФ >> УДФ і АДФ) та P2Y6- (розташовані в дихальних шляхах та сечовому міхурі; чутливість до окремих нуклеотидів можна подати у вигляді співвідношення: УДФ > УТФ > АДФ >> АТФ) рецептори. Відповідно, при активації цієї групи P2Y-рецепторів відбувається активація фосфоліпази С $\beta$ , синтез цим ферментом ДАГ та ІТФ. Кінцевими ланками активації є зростання внутрішньоклітинної концентрації іонів Ca<sup>2+</sup> та ПКС-залежні процеси.

Друга група P2Y-рецепторів об'єднує P2Y12- (розташовані у тромбоцитах і астроцитах мозку; чутливість до окремих нуклеотидів можна подати у вигляді співвідношення: АДФ > АТФ >> УДФ і УТФ), P2Y13- (розташовані в астроцитах мозку; чутливість до окремих нуклеотидів можна подати у вигляді співвідношення: АДФ > АТФ >> УДФ і УТФ) та P2Y14- (розташовані в попередниках білих клітин крові та у стовбурових клітинах; чутливість до окремих нуклеотидів можна подати у вигляді співвідношення: УДФ-глюкоза >> АДФ і АТФ і УДФ і УТФ). Ці рецептори спряжені з гетеротримерними G<sub>i</sub>-білками. Тому найчастіше активація рецепторів даної

групи призводить до інгібування аденілатциклази та зменшення внутрішньоклітинної концентрації цАМФ. Разом з тим, активація цих рецепторів здатна спричиняти стимулювання G-білок регульованих  $K^+$ -каналів та/або пригнічення потенціалкерованих  $Ca^{2+}$ -каналів N-типу.

В окрему групу виділяють P2Y<sub>11</sub>-рецептори, оскільки даний підтип спряжений як з  $G_q^-$ , так і з  $G_s$ -білками. Отже, крім ефектів, опосередкованих збільшенням внутрішньоклітинної концентрації вторинних посередників ДАГ, ІТФ та  $Ca^{2+}$ , при активації P2Y<sub>11</sub>-рецепторів посилюється також синтез цАМФ і спостерігається активація ПКА.

Серотонінові (5-гідрокситриптамінові, 5-НТ) рецептори – представники родини 7ТМ рецепторів та один іонотропний рецептор, природним активатором яких є 5-гідрокситриптамін. Метаботропні рецептори, які належать до родини серотонінових рецепторів, класифікують за структурою та відповідним типом G-білків, з якими спряжені рецептори.

Рецептори 5-НТ<sub>1</sub>- (підтипи 5-НТ<sub>1A</sub>, 5-НТ<sub>1B</sub>, 5-НТ<sub>1D</sub>, 5-НТ<sub>1E</sub> та 5-НТ<sub>1F</sub>) і 5-НТ<sub>5</sub>- (підтипи 5-НТ<sub>5A</sub> і 5-НТ<sub>5B</sub>) спряжені з  $G_{i/o}$ -білком. Відповідно, активація цих рецепторів спричиняє зниження рівня синтезу цАМФ аденілатциклазою. Також, зокрема 5-НТ<sub>1A</sub>-рецептори нейронів (які є авторецепторами) забезпечують активування G-білок регульованих  $K^+$ -каналів, а агоністи цих рецепторів використовують як заспокійливі та седативні лікарські препарати. 5-НТ<sub>1B/1D</sub>-гетерорецептори центральної локалізації виконують функцію регуляторів вивільнення інших нейромедіаторів (ацетилхоліну, норадреналіну, глутамату, допаміну і  $\gamma$ -аміномасляної кислоти. 5-НТ<sub>1B</sub>-рецептори пов'язані з агресивною поведінкою, а 5-НТ<sub>1D</sub>-рецептори – з мігренями.

Рецептори 5-НТ<sub>4</sub>, 5-НТ<sub>6</sub> та 5-НТ<sub>7</sub> спряжені з  $G_s$ -білком, тому активують аденілатциклазу і, як наслідок, їхня активація супроводжується збільшенням синтезу цАМФ. 5-НТ<sub>4</sub>-рецептори локалізовані в окремих зонах мозку (тут модулюють вивільнення інших нейромедіаторів: ацетилхоліну, допаміну,  $\gamma$ -аміномасляної кислоти і 5-НТ) та у периферійних тканинах (у кишечнику спричиняють вивільнення ацетилхоліну і, внаслідок цього, скорочення; в серці – посилення скоротливості). 5-НТ<sub>6</sub>-рецептори локалізуються в окремих зонах мозку. 5-НТ<sub>7</sub>-рецептори також виявлені в мозку; вони особливо суттєво експресуються у таламусі та гіпокампі. Ці рецептори задіяні у регуляції циркадних ритмів та терморегуляції. Знайдений зв'язок між 5-НТ<sub>6</sub>- і 5-НТ<sub>7</sub>-рецепторами та шизофренією.

Рецептори 5-НТ<sub>2A</sub>, 5-НТ<sub>2B</sub> і 5-НТ<sub>2C</sub> спряжені з  $G_{q/11}$ -білками, тому їхня активація супроводжується стимулюванням фосфоліпази С $\beta$ . Цей фермент забезпечує збільшення внутрішньоклітинної концентрації вторинних посередників ДАГ, ІТФ і  $Ca^{2+}$ . 5-НТ<sub>2A</sub>-рецептори локалізуються у кишечнику

(спричиняють скорочення гладеньких м'язів), тромбоцитах (забезпечують агрегацію), в мозку (агоністи цих рецепторів – галюциногени). 5-НТ<sub>2В</sub>-рецептори – переважно периферійні; вони експресуються в кишечнику, серці, нирках та легенях. 5-НТ<sub>2С</sub>-рецептори локалізуються у хориоїдному плетенні (регулюють продукування спинномозкової рідини) і мозку (відповідальні за гіпоактивність та гіпофагію, задіяні у розвитку шизофренії).

Рецептори 5-НТ<sub>3</sub> не спряжені з G-білками; вони належать до надродини іонотропних рецепторів. Структура іонного каналу формується як пентамер (подібно до нікотинного холінорецептора). Активація 5-НТ<sub>3</sub>-рецепторів спричиняє швидку деполяризацію, оскільки ці канали проводять іони Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> і K<sup>+</sup> (неселективні катіонні канали). Ці канали розташовуються на пре- і пост-гангліонарних нейронах автономної нервової системи у шлунково-кишковому тракті та задіяні у реалізації нудоти, блювання та синдрому подразненого кишечника.

## РОЗДІЛ II: ЛІГАНДКЕРОВАНІ ІОННІ КАНАЛИ

Лігандкеровані іонні канали (ЛКІК) або іонотропні рецептори – це рецептори плазматичної мембрани, субодиниці яких об'єднуються з утворенням внутрішнього іонного каналу. Ці канали відкриваються після активації структури зв'язуванням агоністів зі специфічними сайтами рецептора. Отже, це рецептори, активація яких лігандами спричиняє відкривання іонного каналу, при цьому рецептор або міститься на субодиниці іонного каналу, або утворює з каналом комплекс. ЛКІК об'єднують три надродини – Cys-loop надродину (надродина, представники якої містять специфічну цистеїнову петлю – дисульфідний зв'язок між двома залишками цистеїну; також ця надродина має назву нікотиноїдних рецепторів), надродину збуджуючих іонотропних глутаматних рецепторів та надродину іонотропних пуринаргічних рецепторів P2X (табл. 6). При віднесенні рецепторів до певної надродини, іонні канали класифікують за топологією розташування їхніх молекул у мембрані (кількістю трансмембранних фрагментів) і кількістю пороформуючих петель (рис. 40).

Кожна субодиниця представників рецепторів надродини Cys-loop має чотири трансмембранні фрагменти (M1-M4) і жодної пороформуючої петлі. Іонний канал формують п'ять субодиниць (пентаметр). Особливістю представників цієї групи є наявність так званої цистеїнової петлі (Cys-loop) – петлі, утвореної дисульфідним зв'язком між парою цистеїнових залишків на N-кінці молекули (рис. 40a). Кожна субодиниця має спільну топологію: великий позаклітинний домен та чотири трансмембранні фрагменти-домени (M1-M4).

M2-домен кожної субодиниць утворює люмен іонного каналу. Ліганд-зв'язуючу кишеню утворюють структури позаклітинного домену. Є дві короткі петлі, які зв'язують трансмембранні домени M1-M2 та M2-M3, і велика внутрішня петля M3-M4. С-кінець молекули досить короткий; як і N-кінець, він розташований у позаклітинному просторі. Петля між M3 і M4 доменами варіює по довжині і амінокислотному складу.

Субодиниці мають гомологічні амінокислотні послідовності, ідентичність яких біля 70 % у одного й того ж рецептора і 30 - 40 % між субодиницями різних рецепторів. Найбільш консервативні фрагменти молекули – у ліганд-зв'язуючому домені та порі каналу. Однак, ключова відмінність у амінокислотній послідовності макромолекул різних рецепторів полягає у здатності зв'язувати специфічні ліганди та селективно пропускати іони. Селективний фільтр формується амінокислотними залишками внутрішньоклітинної петлі M1-M2.

**Табл. 6. Ієрархія надродини іонотропних рецепторів**

| <b>Надродина</b>                              | <b>Представники надродин</b>                                    |
|---|---|
| Надродина нікотинοїдних рецепторів (Cys-loop) | <i>Родина нікотинοвих рецепторів</i>                            |
|   | Підродина епітеліальних рецепторів                              |
|   | Підродина нейрональних рецепторів, чутливих до α-бунгаротоксину |
|   | Підродина м'язових рецепторів                                   |
|   | Підродина гетерοмерних нейрональних рецепторів                  |
|   | Підродина гетерοмерних рецепторів протостом                     |
|   | <i>Родина серотонінових рецепторів</i>                          |
|   | Родина рецепторів γ-аміномасляної кислоти (ГАМК)                |
|   | Підродина ГАМК <sub>A</sub> -рецепторів                         |
|   | Підродина ГАМК <sub>C</sub> -рецепторів                         |
|   | <i>Родина варіабельних рецепторів агоністів</i>                 |
|   | Підродина ГАМК рецепторів                                       |
|   | Підродина глутаматних рецепторів                                |
|   | Підродина гліцинових рецепторів                                 |
| Надродина збуджуючих глутаматних рецепторів   | <i>Родина збуджувальних глутаматних рецепторів</i>              |
|   | Підродина НМДК рецепторів                                       |
|   | Підродина АМПК рецепторів                                       |
|   | Підродина каїнатних рецепторів                                  |
|   | Підродина каїнат-зв'язуючих білків                              |
|   | Підродина дельта субодиниць                                     |
| Надродина іонотропних пуринорецепторів        | Родина іонотропних пуринорецепторів (P2X)                       |

Основними представниками цієї надродини є рецептори: нікотинοві ацетилхолінові (nAChRs), γ-аміномасляної кислоти А (GABA<sub>A</sub>), гліцинові (GlyRs), серотонінові третього типу (5-HT<sub>3</sub>Rs). З них GABA<sub>A</sub> і GlyRs – головні інгібіторні рецептори у центральній нервовій системі, nAChRs забезпечують синаптичну передачу між нейронами та у нервово-м'язових з'єднаннях. 5-HT<sub>3</sub>Rs виступають в ролі модуляторів вивільнення нейромедіаторів як у центральній, так і периферійній нервовій системі.

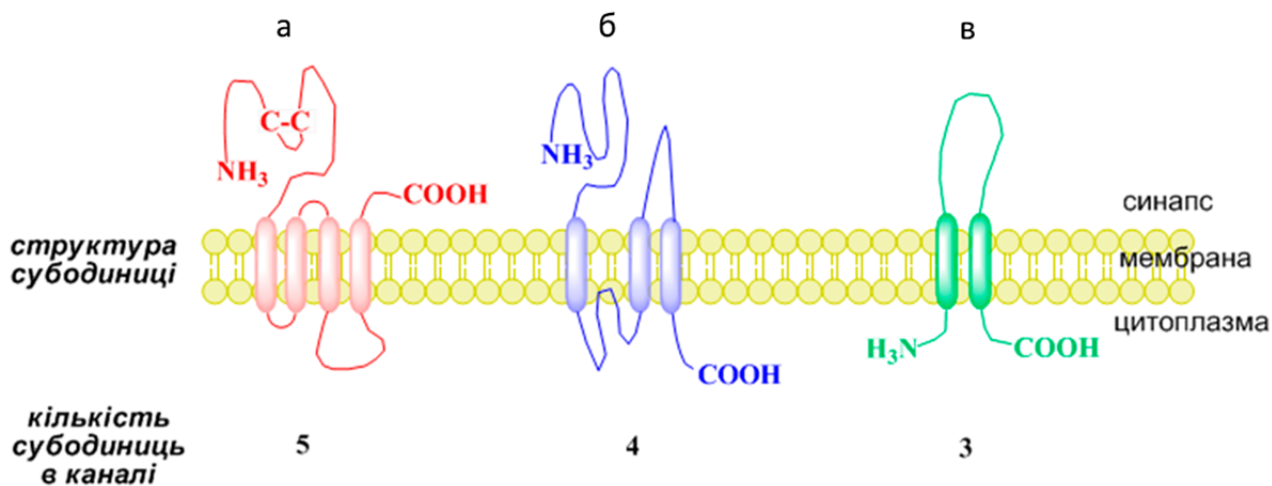


Рис. 40. Схема структури ліганд-керованих іонних каналів: (а) – представник Cys-loop надродини, (б) – представник над родини іонотропних глутаматних рецепторів, (в) – представник P2X пуринорецепторів рецепторів.

Десенситизація іонотропних рецепторів. У випадку, коли тривалий стимул діє на рецептори з інших надродин (не GPCR), також розвивається десенситизація. Розглянемо десенситизацію іонотропних рецепторів на прикладі нікотинового ацетилхолінового рецептора. Відомо, що нікотиновий холінорецептор складається з п'яти субодиниць. За годинниковою стрілкою субодиниці чергуються як  $\alpha\gamma\beta\delta$ . Активація рецептора відбувається після зв'язування двох молекул ацетилхоліну специфічними сайтами, сформованими на межі взаємодії  $\alpha$ - та сусідніх субодиниць. Десенситизація регулюється  $\beta$ -,  $\gamma$ - і  $\delta$ -субодиницями. Видовжені внутрішньоклітинні петлі між третім і четвертим трансмембранними фрагментами фосфорилуються протеїнкіназами А і С. Чим триваліша взаємодія молекул ацетилхоліну з рецептором, тим ймовірніше фосфорилування. Коли молекули ацетилхоліну дифундують із рецептора і канал закривається, повторне зв'язування ацетилхоліну фосфорильованого рецептора не викличе відкриття каналу.

У фізіологічних умовах десенситизація не має суттєвого значення у скорочувальній відповіді м'язу на ацетилхолін, який вивільняється з нервових закінчень. Однак, якщо м'яз обробити інгібіторами холінестерази (фермента, який міститься у синаптичній щілині та здійснює розщеплення молекули ацетилхоліну, спричиняючи термінування стимулу), такими як фосфорорганічні сполуки типу інсектицидів або нервово-паралітичного газу, ацетилхолін буде знаходитись у синаптичній щілині достатньо довго, щоб викликати десенситизацію і, як наслідок, блокувати синаптичну передачу. Що стосується рецепторів у центральній нервовій системі (глутаматні рецептори та рецептори до  $\gamma$ -аміномасляної кислоти), то тут десенситизація

розвивається навіть у нормальних фізіологічних умовах, таким чином регулюючи амплітуду та хід постсинаптичних потенціалів.

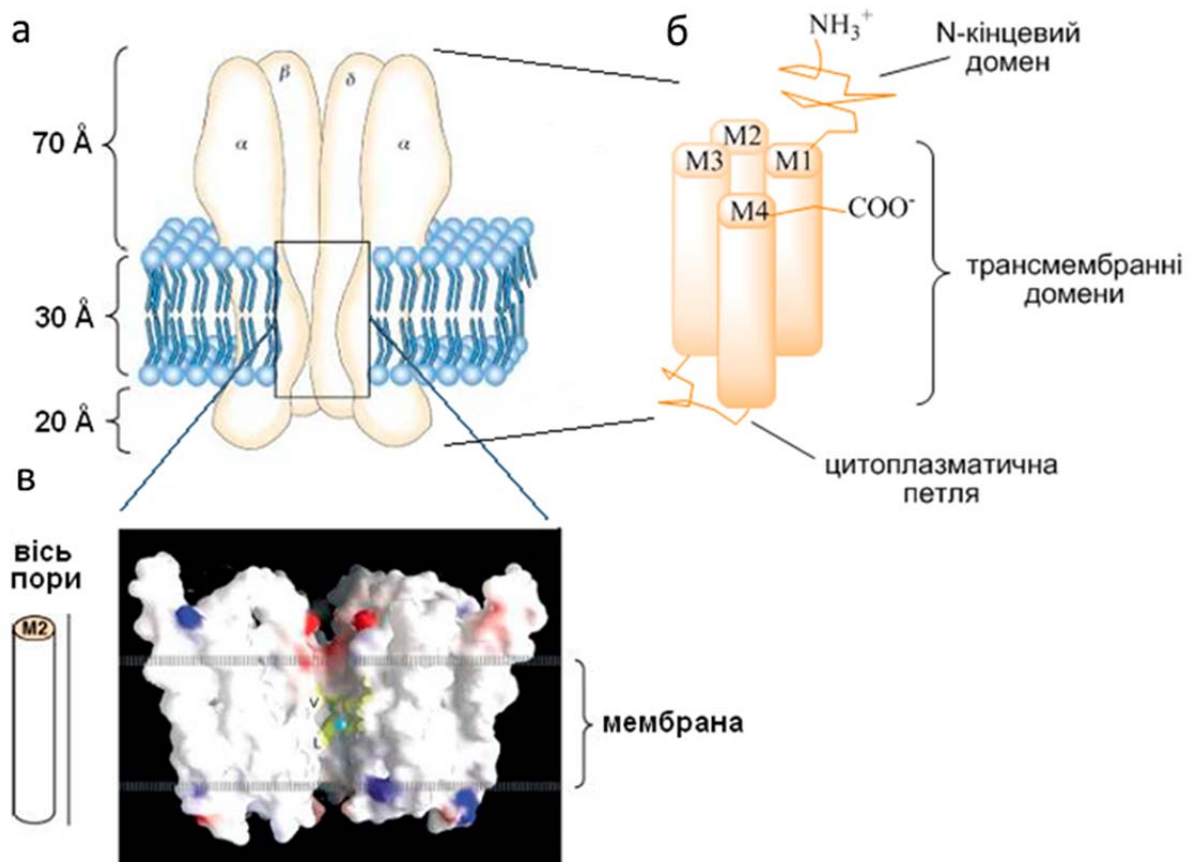


Рис. 41. Нікотинний холінорецептор: (а) – схема розміщення субодиниць рецептора у площині плазматичної мембрани, (б) – розташування трансмембранних доменів субодиниці, (в) – симуляція молекулярної структури рецептора у площині плазматичної мембрани.

Нікотинні рецептори. Класичним прикладом (за структурою і властивостями) Cys-loop рецепторів є нікотинний ацетилхоліновий рецептор (рис. 41), за його назвою представників надродини часто іменують нікотинοїдними рецепторами. Нікотинні ацетилхолінові рецептори м'язового типу (mнAChR) – гетеропентамери зі стехіометрією субодиниць  $\alpha_2\beta\gamma\delta$  (ембріональні) або  $\alpha_2\beta\epsilon\delta$  (дорослий підтип). Молекулярна вага  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\epsilon$ ,  $\delta$  субодиниць відповідно складають 50, 54, 56 та 58 кДа, цілого пентамеру – 268 кДа. За годинниковою стрілкою субодиниці чергуються у пентамері як  $\alpha\alpha\beta\delta$ . Центральна пора рецептора має діаметр близько 2.5 нм, тоді як її селективний фільтр – 2 нм. Середня довжина М-домена – близько 5 нм. Позаклітинна частина рецептора сформована досить довгими (біля 200 амінокислотних залишків) N-кінцями субодиниць і виступає в синаптичну

щілину на 5 - 7 нм (рис. 42). У площині синаптичної щілини на поверхні рецептора містяться два сайти зв'язування ацетилхоліну – на поверхнях взаємодії  $\alpha$ - $\gamma$  ( $\alpha$ - $\epsilon$ ) та  $\alpha$ - $\delta$ . Обидва сайти мають спорідненість до агоніста одного порядку, але у першого сайту вона дещо вища. М2-фрагменти субодиниць формують люмен іонного каналу, який після зв'язування ліганду змінює конформацію і стає проникним для певних іонів.

Внутрішньоклітинна петля між М3- і М4-доменами варіює за довжиною і амінокислотним складом. На цій петлі містяться дві консервативні ділянки фосфорилування протеїнкіназами А і С, яке виконує регуляторну функцію. Шляхом фосфорилування nAChR здійснюють модифікацію рецептора тирозинкінази, кальмодулін-залежна кіназа II, циклін-залежна кіназа 5.

Канал mнAChR переважно проникний для одновалентних катіонів; проникність  $\text{Ca}^{2+}$  і  $\text{Mg}^{2+}$  відносно  $\text{Na}^+$  становить 0,2. Для поодиноких каналів характерна лінійна вольт-амперна залежність. Провідність поодинокого каналу у випадку ембріонального підтипу mнAChR становить 40 пС, а для дорослого підтипу – 60 пС.

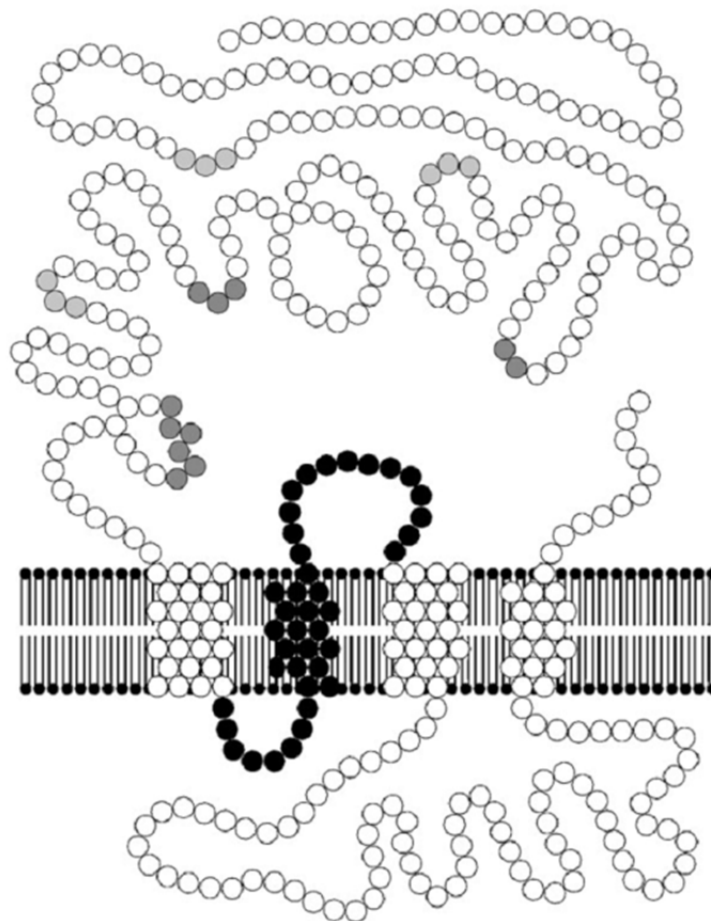


Рис. 42. Структура субодиниці nAChR відносно мембрани: сірі кульки – залишки амінокислот, які приймають участь в утворенні ліганд-зв'язуючого сайту, темні кульки – амінокислотні залишки, задіяні у формуванні пори іонного каналу.

Ліганд-зв'язуючий домен нікотинного ацетилхолінового рецептора має шість дискретних ділянок – петель зв'язування, які формують ліганд-зв'язуючу кишеню. Поверхню кишені утворюють дві сусідні субодиниці – петлі А, В і С (обов'язкові компоненти першої субодиниці) та петлі D, E, F (компоненти сусідньої субодиниці).

Нейрональні нікотинні ацетилхолінові рецептори (nAChRs) можуть формуватись або як гетеропентамери з двох  $\alpha$  ( $\alpha_{2-6}$  та  $\alpha_{10}$ ) та трьох  $\beta$  ( $\beta_{2-4}$ ) субодиниць, або як гомопентамери з  $\alpha$  ( $\alpha_{7-9}$ ) субодиниць. Найчастіше зустрічаються комбінації з субодиниць  $\alpha_4\beta_2$  (мозок),  $\alpha_3\beta_4$  (симпатичні ганглії) та  $\alpha_7$  (пресинаптичні терміналі). nAChRs відносно більш проникні до двовалентних катіонів порівняно з mAChRs: їхня провідність до  $\text{Ca}^{2+}$  порівняно з  $\text{Na}^+$  варіює в межах від 1,5 до 20,0 відносних одиниць. Така значна кальцієва провідність цих каналів забезпечує значний внесок у  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  постсинаптичних холінергічних нейронів.

Хоча nAChRs проникні до катіонів, однак у нейронах моллюсків ідентифіковано нікотинні холінорецептори, які проводять іони хлору.

Серотонінові іонотропні рецептори. Інший представник Cys-loop надродини іонотропних рецепторів – серотонінові рецептори 3 типу (5-HT<sub>3</sub>). Вони формуються субодиницями двох типів – 5-HT<sub>3A</sub> та 5-HT<sub>3B</sub>. 5-HT<sub>3A</sub> субодиниці формують гомопентамерні структури каналів із дуже малою провідністю (<1 пС), причому вони на третину більш проникні для  $\text{Ca}^{2+}$ , ніж для  $\text{Na}^+$ . Для макроскопічних характеристик струму властиве вхідне випрямлення.

При утворенні гетеропентамерного каналу, його властивості дещо інші: провідність поодинокого каналу – 16 пС, а іони натрію на третину більш проникні, ніж  $\text{Ca}^{2+}$ . Вольт-амперна крива виявляє лінійну залежність до +40 мВ.

Рецептори до  $\gamma$ -аміномасляної кислоти типу А (ГАМК<sub>A</sub>, GABA<sub>A</sub>). У ЦНС локалізовані три класи рецепторів до ГАМК: ГАМК<sub>A</sub> та ГАМК<sub>C</sub> іонотропні, ГАМК<sub>B</sub>-рецептори – метаботропні.

ГАМК<sub>A</sub> – представники надродини нікотинних рецепторів переважно проникні до аніонів  $\text{Cl}^-$  і є інгібіторними. Відомо принаймні 16 типів субодиниць цих рецепторів:  $\alpha_{1-6}$ ,  $\beta_{1-4}$ ,  $\delta$  і  $\epsilon$  та  $\gamma_{1-4}$ , інший тип субодиниць –  $\rho_{1-3}$  також властивий для ГАМК<sub>C</sub>. Найчастіше субодиниці комбінуються у пентаметри наступним чином:  $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ ,  $\alpha_2\beta_3\gamma_2$  та  $\alpha_3\beta_x\gamma_2$ . Субодиничний склад ГАМК<sub>A</sub> визначає провідність каналу, яка найчастіше варіює у діапазоні 20 - 40 пС. Вольт-амперна залежність близька до лінійної.

Характерною рисою ГАМК<sub>A</sub>-рецепторів є їхня регуляція шляхом алостеричної модуляції. Ці рецептори містять центри зв'язування до принаймні двох типів модуляторів – бензодіазепінів та барбітуратів.

Бензодіазепіни (наприклад, діазепам і хлордіазепоксид) – відомі транквілізатори та міорелаксанти. Барбітурати, такі як фенобарбітал і секобарбітал, є протисудомними препаратами. Обидва класи речовин діють за рахунок посилення викликаних ГАМК хлорних струмів: перші збільшують частоту відкривання іонних каналів, а барбітурати збільшують час відкритого стану каналу. Барбітурати, як і ГАМК, зв'язуються з  $\alpha$ - і  $\beta$ -субодиницями рецепторів, а бензодіазепіни взаємодіють з  $\gamma 2$ -субодиницею. Афінність і специфічність сайтів зв'язування залежить від властивостей субодиниць, які містять сайт зв'язування та від комбінації субодиниць у рецепторі. Рецептори до ГАМК та до глутамату модулюються також іонами цинку.

ГАМК<sub>C</sub>-рецептори локалізуються, зокрема, в біполярних клітинах сітківки; вони фармакологічно, генетично і функціонально відрізняються від рецепторів класу ГАМК<sub>A</sub>.

ГАМК-ергічні гальмівні синапси характерні для різних зон ЦНС, зокрема у нейронах зорової кори і стовбура мозку, зорової системи (певні типи горизонтальних і амакринових клітин). Вони мають суттєве значення, яке підтверджується експериментами із застосуванням блокаторів ГАМК-рецепторів: у цьому випадку спостерігаються судоми. ГАМК-залежна синаптична трансмісія блокується рядом хімічних речовин, зокрема бікуліном, пентицилліном і пікротоксином.

Гліцинові рецептори. Як і ГАМК, гліцин відкриває хлорні канали і є медіатором гальмівних синапсів. Для рецепторів гліцину (GlyR) клоновано п'ять субодиниць:  $\alpha_{1-4}$  та  $\beta$ . У новонароджених щурів переважає  $\alpha_1$ , пізніше –  $\alpha_2$  підтип субодиниць. Альфа-субодиниці можуть формувати гомопентамери, хоча канали спинного мозку містять  $3\alpha_1$  і  $2\beta$  субодиниці. Провідність поодинокого каналу у випадку GlyRs коливається в межах 10 - 30 пС з багатьма проміжними рівнями. Для поодинокого каналу вольт-амперна характеристика лінійна, хоча макроскопічний струм виявляє властивості вихідного випрямлення. Гліцинова нейротрансмісія фізіологічно важлива; у випадку мутації альфа-субодиниці гліцинових рецепторів спостерігається порушення рухової функції і поведінки тварин.

Надродина іонотропних глутаматних рецепторів (GluRs) об'єднує три родини. Усі три представники надродини активуються амінокислотою L-глутаматом, проте на родини їх було розділено за специфічно різною спорідненістю до синтетичних агоністів  $\alpha$ -аміно-5-метил-3-гідрокси-4-ізоксазол пропіонової кислоти (АМПК, АМРА), N-метил-D-аспартаму (НМДА, NMDA) та каїнату.

Типова субодиниця іонотропного глутаматного рецептора у позаклітинному N-кінцевому фрагменті містить два окремі домени: власне N-кінцевий домен (NTD) та ліганд-зв'язуючий домен (складається з двох часток

S1 і S2). NTD-домен забезпечує функцію асоціації субодиниць. Частки S1 і S2 ліганд-зв'язуючого домена формують щілину сайту зв'язування ліганда (зокрема, L-глутамату). У неактивованому стані щілина між S1 і S2 відкрита; після зв'язування ліганда частки змінюють взаємне положення на кут  $\sim 20^\circ$ , закриваючи щілину. Кожна субодиниця в площині мембрани формує три повноцінні трансмембранні домени та одну пороформуючу послідовність між першим і другим доменами. С-кінцева частина молекули рецептора міститься на внутрішньоклітинному боці. Це – найбільш варіабельна частина молекули. Вона забезпечує специфічну взаємодію рецептора із внутрішньоклітинними рихтувальними білками та білками сигнальних систем, таким чином забезпечуючи внутрішньоклітинну регуляцію активності рецепторів.

Функціональні рецептори утворюються внаслідок асоціації субодиниць в гомо- або гетеротетрамери. Так, AMPA рецептори формують гомо- і гетеротетрамери із субодиниць GluR1-4, для яких відомі альтернативні сплайс-варіанти. Flір експресуються в ембріональних та зрілих тканинах, flор властиві тільки для дорослих організмів. Каїнатні гомо- і гетеротетрамерні рецептори формуються субодиницями GluR5-7 та KA1-2. NMDA-рецептори – гетеротетрамери; їхні субодиниці позначають NR1, NR2 (NR2A-D) або NR3 (NR3A-B). Усього для ссавців відомо 18 субодиниць, що належать до родини іонотропних глутаматних рецепторів (табл. 7).

Структура іонного каналу, утвореного субодиницями глутаматного рецептора, споріднена до структури  $K^+$ -каналів: M2-пороформуюча петля GluR дуже подібна до P-петлі пороформуючого домена  $K^+$ -каналу. Селективний іонний фільтр пори каналу GluR формує коротка  $\alpha$ -спіральна ділянка фрагменту M2.

Усі глутаматні рецептори-канали в однаковій мірі проникні до іонів  $Na^+$  і  $K^+$  (15 - 75 пС). NMDA-рецептори крім того володіють високою проникністю до  $Ca^{2+}$ .

Вольт-амперна характеристика каналів, утвореними збуджуючими глутаматними рецепторами, у певних умовах виявляє вхідне випрямлення: для NMDA-рецепторів це пояснюється блокуванням іонами  $Mg^{2+}$ , для AMPA і каїнатних рецепторів – іонами поліамінів.

**Табл.7. Молекулярні властивості субодиниць іонотропних глутаматних рецепторів**

| Рецептор         | Субодиниці  | Взаємодія субодиниць   | Молекулярна різноманітність / альтернативні ізоформи   |
|------------------|---|--|--|
| <b>AMPA</b>      | GluR1<br>GluR2<br>GluR3<br>GluR4                    | Гомомерна взаємодія можлива для усіх субодиниць, <i>in vivo</i> переважають гетеромери з GluR2         | <ul style="list-style-type: none"> <li>• GluR1–4: flip/flop: 38-амінокислота поблизу M4,</li> <li>• GluR2 і GluR4 – версії з коротким і довгим С-кінцевим фрагментом, <ul style="list-style-type: none"> <li>• GluR2: РНК модифікація в пороформуючому фрагменті (Q/R),</li> </ul> </li> <li>• GluR2 – 4 РНК модифікації в S2-домені (позаклітинний, утворює сайт зв'язування глутамату) (R/G)</li> </ul>                                  |
| <b>Каїнатний</b> | GluR5<br>GluR6<br>GluR7<br>KA1<br>KA2               | Існують гомомерні рецептори з GluR5-7, субодиниці KA1 і KA2 не формують гомомерних каналів             | <ul style="list-style-type: none"> <li>• 4 сплайс-варіанти GluR5 субодиниці з різними версіями С-кінця, <ul style="list-style-type: none"> <li>• GluR5 і 6: РНК модифікація в пороформуючому фрагменті (Q/R),</li> </ul> </li> <li>• 2 сплайс-варіанти GluR6 субодиниці з різними версіями С-кінця,</li> <li>• GluR6: дві РНК модифікації у домені M1,</li> <li>• 2 сплайс-варіанти GluR7 субодиниці з різними версіями С-кінця</li> </ul> |
| <b>NMDA</b>      | NR1<br>NR2A<br>NR2B<br>NR2C<br>NR2D<br>NR3A<br>NR3B | Обов'язкові, найбільш поширені гетеромери NR1/ NR2, також можливі гетеромери NR1/ NR3 та NR1/ NR2/ NR3 | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Сплайс-варіанти NR1 субодиниці з різними версіями N-кінця,</li> <li>• 4 сплайс-варіанти NR1 субодиниці з різними версіями С-кінця,</li> <li>• Усього відомо 8 сплайс-варіанти NR1 субодиниці</li> </ul>   |
| <b>Orphan</b>    | δ1<br>δ2  | Невідомі   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Невідомі</li> </ul>   |

Три родини значно відрізняються між собою часом розвитку десенситизації. AMPA та канатні рецептори десенситизуються при стимуляції 1 - 10 мс. Десенситизація NMDA рецепторів розвивається у часовому діапазоні > 500 мс. Головні фізіолого-кінетичні властивості глутаматних рецепторів наведено у табл. 8.

AMPA рецептори забезпечують найбільший вклад (порівняно з іншими глутаматними рецепторами) у швидку синаптичну передачу в мозку. Цікава властивість цих рецепторів – вони отримують здатність проводити іони  $\text{Ca}^{2+}$  у випадку, коли у формуванні каналу не приймає участь субодиниця GluR2. Такі дані були одержані на модельних системах, оскільки цей тип субодиниці обов'язково присутній у рецепторах мозку *in vivo* (у гетеротетрамері присутні дві такі субодиниці). Відомо, що субодиниця GluR2 обов'язково піддається посттрансляційній модифікації, під час якої незаряджений залишок глютаміну (Q) замінюється на позитивно заряджений аргінін (R). Така заміна змінює заряд пори каналу і саме вона обумовлює нездатність пропускати іони  $\text{Ca}^{2+}$ .

**Табл.8. Загальні біофізичні та кінетичні характеристики іонотропних глутаматних рецепторів**

| Рецептори        | Іони, вхідні                     | Іони, вихідні | Кінетика активації $\tau$ , мс | Час відкритого стану, мс | Час інактивації, мс | Час десенситизації, мс | Провідність поодинокого каналу |
|------------------|----------------------------------|---------------|--------------------------------|--------------------------|---------------------|------------------------|--------------------------------|
| <b>AMPA</b>      | $\text{Na}^+$                    | $\text{K}^+$  | дуже швидка, 0,2 - 0,4         | 0,14 - 3,3               | 0,6 - 1,1           | 0,8 - 8,1              | множинні стани, 4 - 24 пС      |
| <b>NMDA</b>      | $\text{Na}^+$                    | $\text{K}^+$  | дуже швидка, 0,2 - 0,4         | 0,3 - 2,1                | 2,5                 | 1,4 - 9                | множинні стани, 0,2-25 пС      |
| <b>Каїнатний</b> | $\text{Na}^+$ , $\text{Ca}^{2+}$ | $\text{K}^+$  | повільна, 10 - 50              | 0,06 - 8                 | 33 - 4400           | 650 - 750              | множинні стани, 17 - 75 пС     |

AMPA-рецептори володіють швидкою кінетикою і дуже високою ймовірністю відкритого стану каналу (0,4 - 1); вони швидко інактивуються (за рахунок швидкої дисоціації агоніста із сайту зв'язування), швидко десенситизуються (відбувається закривання каналу після зв'язування агоніста на рецепторі) і відновлюють здатність до активації через 100 мс після десенситизації. Залежно від комбінування субодиниць у рецепторі, провідність поодинокого каналу варіює в межах 4 - 24 пС. GluR2-вмісні рецептори характеризуються лінійною вольт-амперною характеристикою, однак при її відсутності струм каналу має властивість вхідного випрямлення (переважає струм при від'ємних значеннях мембранного потенціалу).

Каїнатні рецептори за здатністю проводити лише одновалентні подібні до AMPA-рецепторів, однак їхній відносний внесок у збуджувальну нейротрансмісію невеликий. Як і AMPA-рецептори, канатні рецептори мають

швидку кінетику активації і високу ймовірність відкритого стану каналу (в межах 0,5 - 1), подібний час відкритого стану каналу кінетику інактивації та десенситизації. Однак, ці рецептори мають відносно повільну кінетику глутамат-індукованої десенситизації (майже у 20 разів більш повільна, ніж у AMPA-рецепторів). Деякі кайнатні рецептори мають дуже малу провідність; наприклад, рецептори-гоммери з GluR5 характеризуються провідністю 0,2 пС.

NMDA-рецептори проводять значну кількість іонів  $\text{Ca}^{2+}$ . Вони мають досить специфічні властивості порівняно з іншими іонотропними глутаматними рецепторами: повільну кінетику активації, тривалий час відкритого стану каналу.

Процес активування рецепторів родини NMDARs відносно складно регулюється. Пору каналу, сформованого NMDA-рецептором, блокується позаклітинними іонами  $\text{Mg}^{2+}$  при потенціалі спокою клітини. Магнієве блокування знімається сильною деполяризацією мембрани. Також активність NMDA-рецепторів значно залежить від наявності в позаклітинному середовищі гліцину, який діє як алостеричний модулятор, сприяючи відкриванню каналу глутаматом. Позаклітинна частина цих рецепторів містить дві глобулярні структури – модуляторний та ліганд-зв'язуючий домен. Регуляторний домен зв'язує гліцин, а глутамат взаємодіє з ліганд-зв'язуючим доменом. Для активації цих рецепторів необхідно співпадіння трьох умов: зв'язування глутамату, гліцину та деполяризація мембрани, яка «виштовхне» магній із пори каналу. Тому NMDA-рецептори називають «детекторами співпадіння». Вважається, що таким чином відбувається захист клітини від надлишкового входу кальцію і, відповідно його цитотоксичного ефекту (явище екситотоксичності). Крім вищеназваних амінокислот, слабкий активуючий ефект на NMDA-рецептори справляє аспартат. Що стосується спів-агоніста гліцину, то більш потужною його заміною є D-серин, який синтезується сериновими рацемізазами у нейронах.

Як і інші трансмембранні білки, глутаматні рецептори регулюються специфічним фосфорилуванням і дефосфорилуванням внутрішньоклітинної частини. Антагоністами NMDA-рецепторів є речовини із анестетичним та галюциногенним ефектом. Зокрема, це кетамін, метадон, трамадол. Також погіршують ефективність функціонування цих каналів оксид азоту і етанол, іони  $\text{Zn}^{2+}$  та  $\text{H}^+$ .

У NMDA-рецепторах найчастіше зустрічається комбінація субодиниць 2\*NR1 з 2\*NR2; і саме ці типи субодиниць переважно експресуються. Варто зауважити, що на ранніх етапах розвитку організму переважає NR2A-субодиниця, але у процесі дорослішання відбувається її заміна на NR2B. Цікаво, що останній тип субодиниці забезпечує значно триваліший час

відкритого стану, тобто дозволяє провести до клітини більше іонів  $\text{Ca}^{2+}$ . Присутність субодиниці NR3 пов'язують із відносно пригніченим іонним струмом через канал NMDA-рецептора.

Глутаматергічні синапси мають надзвичайне фізіологічне значення. Вони локалізуються практично у всіх зонах ЦНС. NMDA- і AMPA-рецептори широко представлені у корі великих півкуль і багатьох підкіркових відділах мозку, однак їхнє співвідношення значно варіює.

Важливою властивістю NMDA-рецепторів є їхня здатність проводити кальцієвий струм. У випадку надлишкового входу  $\text{Ca}^{2+}$  спостерігається його цитотоксичний ефект, який обумовлює ряд патологій нервової системи, таких як аноксія, гіпоглікемія, судоми.

Надродина іонотропних пуринорецепторів (P2X) об'єднує ліганд-керовані іонотропні рецептори, які активуються АТФ. Ці рецептори забезпечують нейротрансмісію у синапсах між двома нейронами та між нейроном і гладеньким м'язом, також виконують функцію стимулятора у первинних аферентних терміналях; і врешті, виступають в ролі прозапального активатора в імунних і ендокринних клітинах.

Молекулярна структура іонотропних пуринорецепторів є унікальною: вона не має подібності ні з іншими АТФ-зв'язуючими білками, ні з іншими іонними каналами. Залежно від типу, розмір амінокислотного ланцюга поодинокі субодиниці P2X рецептора варіює від 384 (P2X<sub>4</sub>) до 595 (P2X<sub>7</sub>) амінокислотних залишків. Субодиниці рецепторів (P2X<sub>1-7</sub>) у площині мембрани формують два трансмембранні домени; невеликі N- і C-кінці макромолекули містяться у внутрішньоклітинному просторі. Великий позаклітинний домен рецептора містить сайт зв'язування із АТФ. Його особливістю для всіх представників іонотропних пуринорецепторів є наявність десяти цистеїнових залишків. Пору іонного каналу при взаємодії трьох субодиниць формують другі трансмембранні домени. С-кінець субодиниць P2X рецептора значно варіює, таким чином, що гомологія цієї ділянки амінокислотного ланцюга становить 40 - 55 %.

Функціональні канали – гомо- та гетеро-тримери (принаймні 11 комбінацій). Кожен із типів субодиниць може формувати гомотримерний канал; також можливе комбінування субодиниць двох та трьох типів. Так, P2X<sub>1</sub>, P2X<sub>2</sub>, P2X<sub>3</sub>, P2X<sub>4</sub> і P2X<sub>7</sub> субодиниці утворюють гомомерні канали, а P2X<sub>2</sub> і P2X<sub>3</sub> об'єднуються у функціонально важливий гетеромерний рецептор (P2X<sub>2/3</sub>).

Клітини вивільняють АТФ у різних випадках: разом із норадреналіном та ацетилхоліном при синаптичній трансмісії; з клітин ендотелію судин при гіпоксії (ангіна, інфаркт міокарду); з еритроцитів при їхній механічній

деформації; з пошкоджених і загиблих клітин у місцях запалення та інфікувань.

Іонотропні пуринорецептори властиві для збудливих і незбудливих тканин. Вони функціонують у багатьох органах, зокрема вісцеральних гладеньких м'язах та мозку. На одній клітин можуть локалізуватись P2X рецептори із різних субодиниць, однак загалом можна виділити тканини, в яких певний тип субодиниці є функціонально значущим (табл. 9). Деякі типи P2X-рецепторів локалізуються у катехоламінергічних нейронах мозку, де вони забезпечують пресинаптичну модуляцію за рахунок АТФ, який разом з катехоламінами вивільняється з синаптичних везикул. Також АТФ є головним синаптичним медіатором в периферійних гангліях.

**Табл. 9. Тканинна локалізація та функціональна роль окремих P2X рецепторів**

| <b>Рецептор</b>        | <b>Тканинна локалізація</b>               | <b>Фізіологічна роль</b>                                    | <b>Патології, з якими пов'язаний рецептор</b> |
|------------------------|---|---|---|
| <b>P2X<sub>1</sub></b> | Васкулярні та вісцеральні гладенькі м'язи | Скорочення артеріол, скорочення м'язів сечостатевої системи | Чоловіче безпліддя                            |
| <b>P2X<sub>2</sub></b> | Автономні нейрони                         | Передача імпульсів сигматичної нервової системи             | Не ідентифіковані                             |
| <b>P2X<sub>3</sub></b> | Аферентні нейрони                         | Сенсорні відчуття   | Невропатичні та вісцеральні болі              |
| <b>P2X<sub>4</sub></b> | Епітелій та нейрони мозку                 | Не ідентифіковані   | Не ідентифіковані                             |
| <b>P2X<sub>5</sub></b> | Ембріональні м'язи                        | Не ідентифіковані   | Не ідентифіковані                             |
| <b>P2X<sub>6</sub></b> | Епітелій та нейрони мозку                 | Не ідентифіковані   | Не ідентифіковані                             |
| <b>P2X<sub>7</sub></b> | Імунні клітини                            | Вивільнення інтерлейкіну-1 $\beta$                          | Артрити                                       |

Хоча молекулярна архітектура P2X рецепторів, як згадувалось вище, значно відрізняється від інших іонних каналів, їхні функціональні властивості P2X<sub>1</sub>-P2X<sub>6</sub> рецепторів подібні до інших двох класів рецепторів швидкої збуджуючої синаптичної нейротрансмісії – нікотинних та глутаматних. АТФ зв'язується із ектодоменом P2X рецептора, внаслідок цього протягом декількох мілісекунд змінюється конформація білкових глобул, забезпечуючи

відкриття каналу. Канал – катіон-селективний; таким чином, його відкриття спричиняє деполяризацію плазматичної мембрани. Канали P2X рецепторів у однаковій мірі проникні до Na<sup>+</sup> та K<sup>+</sup> і суттєво – до Ca<sup>2+</sup>. Щодо останнього іону, то кальцієва провідність P2X рецепторів на декілька порядків вища від інших збуджуючих іонотропних рецепторів (нікотинових і глутаматних). У випадку P2X<sub>1</sub> і P2X<sub>3</sub> рецепторів цей струм швидко (протягом декількох сотень мілісекунд) пригнічується внаслідок десенситизації. У випадку інших іонотропних пуринорецепторів десенситизація або взагалі не розвивається, або вона значно більш уповільнена.

P2X<sub>7</sub> рецептори найбільш атипові серед пуринорецепторів. Їхня активація не тільки призводить до катіонного струму; через деякий час після зв'язування АТФ (декілька секунд - хвилин) канал перебудовується так, що дозволяє пропускати молекули до 900 Да. Пізніше спостерігається швидка суттєва перебудова цитоскелету (актинових філаментів), яка візуально супроводжується «кипінням» – блебінгом плазматичної мембрани (ознака апоптозу). Показано, що формування атипової пори і блебінг мембрани пов'язаний з С-кінцевою частиною молекули P2X<sub>7</sub>.

Фізіологічна роль іонотропних пуринорецепторів різноманітна. P2X<sub>1</sub> рецептори широко експресуються у гладеньких м'язах судин, шлунково-кишкового тракту і сечостатевої системи. P2X<sub>2</sub> рецептори переважають у нейронах, які іннервують вищеназвані тканини (симпатична нервова система). У випадку активації P2X<sub>1</sub> рецепторів, АТФ вивільняється разом із норадреналіном. При цьому норадреналін діє на пресинаптичні рецептори, змінюючи ефективність вивільнення власних молекул та АТФ, але не взаємодіє з постсинаптичною мембраною.

АТФ, який діє на терміналі сенсорних нейронів шкіри або язика, забезпечує відчуття болю. Молекулярні дослідження показали, що тут переважають P2X<sub>3</sub> пуринорецептори. Взагалі, шляхи передачі больового відчуття на пре- і пост-синаптичних мембранах містять гомомерні P2X<sub>3</sub> рецептори та гетеромерні рецептори P2X<sub>2/3</sub>. Дійсно, активація ноціцепторних терміналей (через стимулювання АТФ рецепторів P2X<sub>3</sub> та P2X<sub>2/3</sub>) забезпечує збуджуючий сигнал до нейронів спинного мозку. Тут P2X рецептори модулюють подальше проведення больового сигналу. Пресинаптичні P2X<sub>2</sub> рецептори розташовані на збуджуючих (глутаматергічних) та інгібіторних (гліцинових, ГАМК-ергічних) інтернейронах, які можуть активувати. P2X рецептори містяться тут також постсинаптично. Таким чином, на рівні спинного мозку відбувається додаткова модифікація передавання інформації про больові відчуття.

У клітинах імунної системи (моноцитах, макрофагах) активація P2X<sub>7</sub> рецепторів індукує вивільнення із них про-запальних медіаторів (цитокінів), головним з яких є інтерлейкін-1β.

### РОЗДІЛ III: ТРАНСМЕМБРАННІ РЕЦЕПТОРИ, ВНУТРІШНЬОКЛІТИННИЙ ДОМЕН ЯКИХ ВОЛОДІЄ ТИРОЗИНКІАЗНОЮ АКТИВНІСТЮ

Для ссавців відомо більше тисячі трансмембранних білків із кіназною активністю. Тирозин-специфічні протеїнкінази – широко розповсюджені рецептори ПМ, які забезпечують передавання клітині багатьох сигналів від позаклітинного середовища. Наприклад, вони опосередковують регуляцію росту і диференціації клітин. Ліганди, які активують ці рецептори переважно є білковими гормонами, а ті з них, що регулюють поділ клітин, отримали назву фактори росту. Для розвитку багатьох видів пухлин рецепторні тирозинкінази відіграють ключову роль.

Розділяють два типи трансмембранних рецепторів із тирозинкіазною активністю, відповідно до різних специфічних способів активації рецепторних молекул (рис. 43). Перші – рецептори із внутрішньою тирозинкіазною активністю; їхня загальноживана назва – рецепторні тирозинкінази. Їхній внутрішньоклітинний домен володіє ферментативною активністю, яка стимулюється після зв'язування агоніста з позаклітинним сайтом. Таким чином, і ліганд-зв'язуючий, і ензиматичний домени є частиною одного й того ж білка. Друга група рецепторів сама по собі не володіє ферментативною активністю, однак із цитоплазматичного боку ці білки взаємодіють з автономним білком, який власне і має тирозинкіазну активність. Загалом геном людини кодує близько 400 тирозинкіаз, з них 58 генів – рецептор-асоційованих тирозинкіаз.

Структура і функція рецепторних тирозинкіаз. Як згадувалось вище, цей тип рецептрів у внутрішньоклітинній частині молекули містить домен із ферментативною активністю. Після зв'язування ліганду позаклітинним доменом, ініціюється фосфорилування самої молекули тирозинкінази, а також білків-мішеней. Це спричиняє активацію внутрішньоклітинної сигнальної системи і, як наслідок, розвиток біологічної відповіді. Внутрішньоклітинний сигнал може передаватись до ядра клітини, активуючи транскрипцію окремих генів. Рецепторні тирозинкінази також можуть індукувати реорганізацію цитоскелету, зміну міжклітинних контактних взаємодій, опосередковано змінювати метаболізм. Зокрема, таким чином регулюється поділ клітин, їхня диференціація та морфогенез. Лігандами цих рецепторів є фактори росту (ендотеліальний, тромбоцитарний, трансформуючі  $\alpha$  і  $\beta$ , інсуліноподібний, колонійостимулюючий гранулоцитів тощо), інсулін, еритропоетин, інтерлейкін 8, фактор інгібування лейкемії, інтерферони  $\alpha$ ,  $\beta$  і  $\gamma$ , фактор некрозу пухлин.

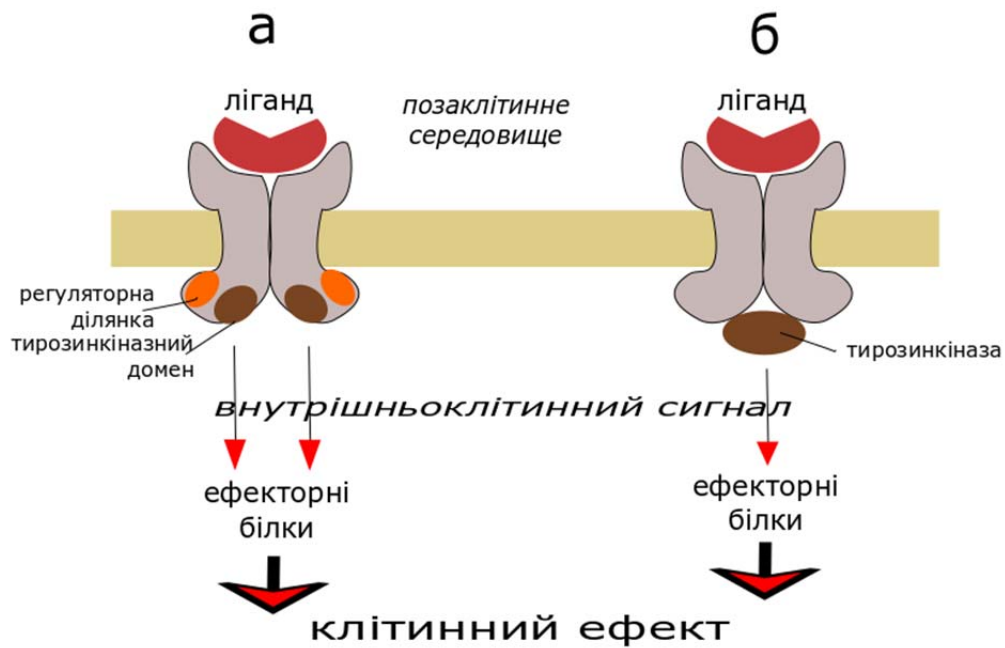


Рис. 43. Схема передавання сигналу від рецепторів із внутрішньою тирозинкіназою (а) та спряженою тирозинкіназою активністю (б). У першому випадку ферментативний домен є структурною частиною рецептора і міститься у цитоплазматичній частині. Молекула рецептора другого типу не володіє ферментативною активністю, але постійно або у певні періоди проведення сигналу цитоплазматичною частиною взаємодіє з тирозинкіназою.

Загальна структура і класифікація. Рецепторні тирозинкінази – трансмембранні білки, які один раз перетинають плазматичну мембрану (один трансмембранний  $\alpha$ -спіральный домен із 25 - 28 амінокислотних залишків). У внутрішньоклітинному боці міститься консервативний тирозинкіназний домен; тут також розташовано регуляторний фрагмент рецептора, який підлягає автофосфорилуванню, а також фосфорилується і дефосфорилується іншими кіназами та фосфатазами. У позаклітинному боці міститься ліганд-зв'язуючий домен, причому ця частина рецептора найбільш варіабельна. Тут може спостерігатись повторення цистеїн-збагачених ділянок або імуноглобулін-подібна структура. Також, у деяких рецепторів, має місце димеризація, яку забезпечують міжмолекулярні контакти у позаклітинних доменах.

Більш ніж сто рецепторних тирозинкіназ ссавців було класифіковано на родини (близько 20 родин), які отримали назву залежно від лігандів, що їх активують. Підродини класифікують за структурою позаклітинних ліганд-зв'язуючих доменів.

Зв'язування ліганда і активація. Активація рецепторів із внутрішньою тирозинкіназою активністю відбувається внаслідок зв'язування позаклітинних лігандів. Останнє спричиняє олігомеризацію рецепторів. Таким чином, має місце двостадійний процес активації: після зв'язування ліганда відбувається взаємодія та перехресне фосфорилування рецепторних молекул, а вже після цього рецепторні молекули фосфорилують білки-мішені по залишкам тирозину (рис. 44). Ліганд-опосередкована зміна олігомерної структури рецепторів – загальна особливість трансмембранного передавання сигналів за участю рецепторних тирозинкіназ. Подібним чином здійснюється сигналізація також через рецептори, асоційовані з тирозинкіназою, однак у цьому випадку процес є більш складним внаслідок багатоконпонентності рецепторів.

Відомо принаймні два механізми, за якими зв'язування лігандів впливає на олігомеризацію рецепторних тирозинкіназ. По-перше, ліганд може мати два сайти зв'язування на рецепторній молекулі, таким чином об'єднуючи рецептори у димер. У цьому випадку неактивний рецептор буде міститись в мономерній формі. По-друге, рецепторні молекули можуть існувати у попередній асоціації, але не бути повноцінним димером, як, наприклад, рецептор інсуліну; тоді активація лігандом здійснюється за алостеричним механізмом. Тобто зв'язування із лігандом спричиняє зміну конформації обох тирозинкіназних доменів димеру, роблячи можливим фосфорилування.

Ліганди тирозинкіназ переважно мультивалентні. Численні сайти зв'язування ліганду роблять можливою контактувати із двома (або більше) молекулами рецептора. У деяких випадках ліганд сам є димером (наприклад, тромбоцитарний фактор росту – димерний білок, субодиниці якого з'єднані дисульфідним зв'язком). Інші ліганди (епітеліальний фактор росту, фактор росту фібробластів, гормон росту людини) існують як мономери. Контакт між цими лігандами і відповідними рецепторами відбувається у співвідношенні 1:2 таким чином, що одна молекула ліганда нековалентно і нееквівалентно взаємодіє з молекулами тирозинкінази, з'єднаними у димер. Тирозинкіназні рецептори також здатні утворювати гетеродимери; таким чином забезпечується зміна сигнальних шляхів, які активуються димерними комбінаціями. Прикладом гетеродимерів є комплекси з  $\alpha$ - і  $\beta$ -субтипів рецептора тромбоцитарного фактора росту.

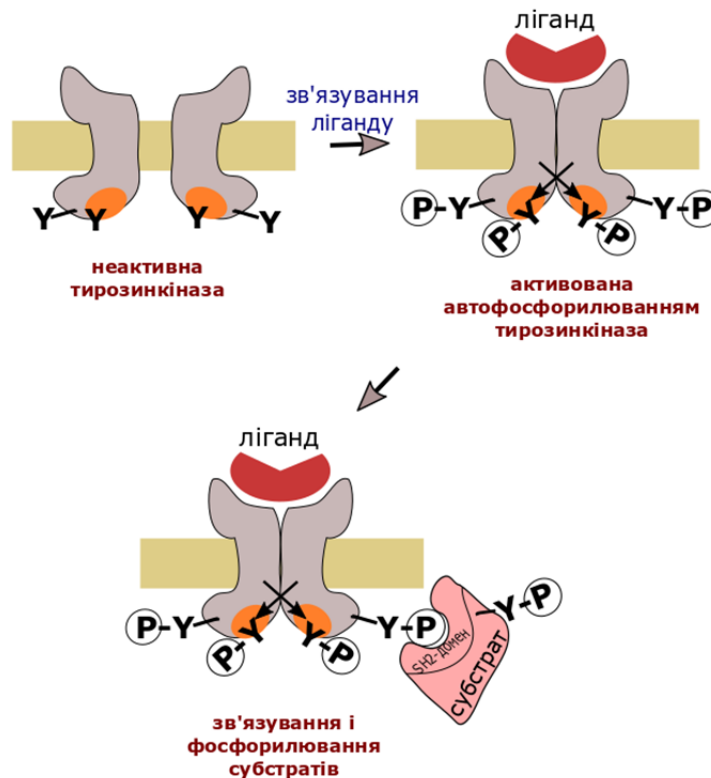


Рис. 44. Схема активації рецепторних тирозинкіназ: зв'язування позаклітинного ліганду призводить до зближення субодиниць рецептора, їхнього перехресного активаційного фосфорилування тирозинових залишків; фосфорилування внутрішньоклітинних ділянок робить можливим зв'язування молекул субстрату (за рахунок специфічних консервативних доменів) та їхнє фосфорилування; фосфорильовані субстрати забезпечують подальше передавання внутрішньоклітинних сигналів.

Структура і активація тирозинкіназного домену. Умовою активації рецепторної тирозинкінази є автофосфорилування цитоплазматичного домену. Відомо декілька залишків тирозину, по яким відбувається це фосфорилування. Вони містяться або у ферментативному центрі, або поблизу нього. Загалом прийнято вважати, що фосфорилування здійснюють сусідні субодиниці олігомеру (перехресне). Таке автофосфорилування може виконувати дві функції: по-перше, підвищення кінзної активності власного рецептора і, по-друге, створення сайту зв'язування рецептора з білками-мішенями, зокрема, через SH2- і РТВ-доменани.

Детально вивчено структуру тирозинкіназного домену в інсуліновому рецепторі людини. Інсуліновий рецептор має структуру  $\alpha_2\beta_2$ :  $\alpha$ -субодиниці розташовуються позаклітинно і з'єднані з  $\beta$ -субодиницями через дисульфідні зв'язки. Саме  $\beta$ -субодиниця містить трансмембранний фрагмент і цитоплазматичну частину із каталітичним доменом. Після зв'язування

інсуліну відбувається активація тирозинкіназного домену та фосфорилювання цитоплазматичної частини рецептора по семи залишкам тирозину: два з цих залишків розташовані поблизу трансмембранного фрагменту, ще три в самому тирозинкіназному домені та останні два – в С-кінцевій частині молекули. Дві  $\beta$ -субодиниці інсулінового рецептора розташовані так, щоб стерично було можливим взаємне фосфорилювання. Автофосфорилювання спричиняє активацію тирозинкінази. Потім фосфорилюється ефекторний білок – субстрат інсулінового рецептора (IRS), який, у свою чергу, слугує місцем докінгу інших білків. Було встановлено, що тирозинкіназний домен інсулінового рецептора має структуру, подібну до каталітичного домену серин-треонінових протеїнкіназ. Він складається з двох часток: меншої N-кінцевої і більшої – С-кінцевої. У більшій частці міститься залишок аргініну, який виконує ключову функцію в процесі перенесення фосфатного залишку під час каталізу. Петля між частками виконує регуляторну роль. Активаційний сегмент більшої частки містить важливий залишок тирозину (Tyr1162); він фосфорилюється під час автофосфорилювання. У неактивованому рецепторі Tyr1162 орієнтований у напрямку каталітичного центру, блокуючи АТФ-зв'язуючий сайт. Варто зазначити, що роль автофосфорилювання Tyr1162 у процесі відкривання цього сайту тільки гіпотетична, оскільки за даних умов АТФ тут виявлено не було. Разом із тим, цей тирозиновий залишок високо консервативний (обов'язковий для усіх рецепторних тирозинкіназ), що свідчить про його ключову роль в автоактивації рецепторів.

Припускають, що каталітичний домен може існувати у двох конформаційних станах: неактивному та активному. У неактивному стані активаційний сегмент лежить в активному центрі домена, а при його активації виходить поза межі. Таким чином, стають доступними сайти зв'язування АТФ і білка-мішені. За цією гіпотезою саме фосфорилювання Tyr1162 забезпечує перехід каталітичного домену із неактивного в активований стан.

Ефекторні білки рецепторних тирозинкіназ. Тирозинкінази забезпечують передавання внутрішньоклітинного сигналу, фосфорилюючи білки-субстрати по залишкам тирозину.

Як згадувалось вище, автофосфорилювання рецепторних тирозинкіназ має подвійний результат: фосфорильовані залишки тирозину безпосередньо поблизу активного центру сприяють підвищенню кіназної активності самого рецептора, а ті залишки, які розташовані на периферії молекули, є основою сайтів зв'язування ефекторних білків. Білки-мішені містять специфічні домени (SH-домени) або домени зв'язування фосфотирозину (Src, фосфоліпаза C $\gamma$ ). Фосфорильовані кіназами білки можуть самі володіти кіназною активністю, або виконувати роль триггеру, передаючи сигнал на інші кіназні каскади

(наприклад, MAP-кіназний). Найважливіші ефекторні молекули рецепторних тирозинкіназ: субодиниця p85 фосфоінозитол-3-кінази, фосфоліпаза C<sub>γ</sub>, нерцепторні тирозинкінази родини Src, білок p120 сигнального каскаду Ras, адапотрний білок Grb2, тирозинова фосфатаза SH-PTP2. Таким чином, альтернативне фосфорилування внутрішньоклітинного домена тирозинкіназ забезпечує широке розгалуження внутрішньоклітинної сигналізації за участі даного рецептора (рис. 45).

Специфічна взаємодія між фосфорильованими залишками активованого рецептора і SH-доменом ефекторного білка залежить від властивостей конкретного білка-мішені, наприклад, у випадку фосфоліпази C<sub>γ</sub> відбувається її фосфорилування; фосфоінозитол-3-кіназа внаслідок взаємодії з активованим рецептором змінює конформацію; комплекси із Grb2 – транслюкуються до плазматичної мембрани.

Особливості білкових модулів, які взаємодіють з тирозинкіназами. Клітини використовують певну кількість висококонсервативних білкових модулів, за допомогою яких відбувається збирання різних елементів сигнальних каскадів. Такі модулі – пептидні домени усередньому з 60-100 амінокислотних залишків, притаманні функціонально різним білкам. Найважливіші модулі: SH2- та PTV-, SH3-, PH-, PDZ-, WW-домени.

SH2-домени – одні з найбільш досліджених білкових модулів із регуляторною функцією. Вперше цей фрагмент було описано як частину тирозинкінази Src, тому він отримав назву SH. Src – перша досліджена тирозинкіназа; початково її дослідили у ретровірусах птахів, які індукували саркому, а пізніше було встановлено, що цей фермент притаманний для нормальних клітин ссавців.

SH2-домен виконує функцію специфічного впізнавання фосфотирозинових залишків. Оточення фосфорильованого залишку тирозину забезпечує специфічне впізнавання і різну спорідненість до окремих SH2-вмісних субстратів. Дійсно, SH2-домени розділяють принаймні на п'ять класів (1A, 1B, 2, 3 та 4).

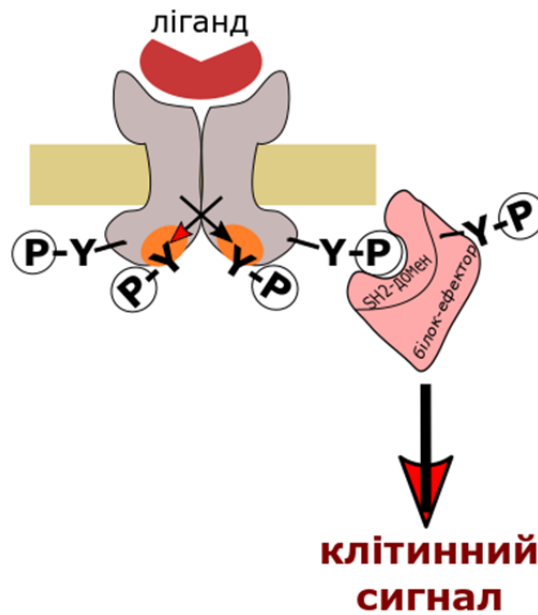


Рис. 45. Активація перехресним автофосфорилуванням субодиниць рецепторних тирозинкіназ спричиняє взаємодію із ефекторними білками, зокрема, з: фосфоліпазою  $C_2$ , цитоплазматичними тирозинкіназами, тирозинфосфатазами фосфоінозитол-3-кіназами і скефолдними білками.

SH2-домени класу 1A. Прикладами ефекторних білків, що містять SH2-домен класу 1A є тирозинкінази Src та Lck. Ключовою амінокислотою цих доменів є високо консервативний амінокислотний залишок аргініну ( $Arg^{\beta 5}$ ), який контактує з негативним зарядом фосфорильованого тирозину. За специфічність зв'язування між фосфорильованим тирозинкіназним рецептором та SH2-доменом відповідають амінокислотні залишки рецептора, які межують із фосфотирозином. Це – залишок ізолейцину у позиції +3; він високоспецифічно зв'язується із кишенею SH2-домену. Отже, специфічне впізнавання між SH2-доменом Src кінази та рецепторною тирозинкіназою відбувається при умові співпадіння фосфотирозину та ізолейцину, які розділені двома амінокислотними залишками.

SH2-домени класу 3. Інший надзвичайно важливий внутрішньоклітинний фермент, який містить SH2-домен (саме класу 3) – фосфоліпаза  $C_2$ . Сайт зв'язування цього домену характеризується високою гідрофобністю. Це – витягнута ділянка із 5-6 амінокислотних залишків, на С-кінці якої розташовується фосфотирозин.

Функції взаємодії фосфотирозин-SH2. Взаємодія між фосфотирозином та SH2-доменами забезпечує передавання сигналу від трьох різних типів трансмембранних рецепторів. По-перше, це рецепторні тирозинкінази як, наприклад, рецептор фактора росту тромбоцитів. Також – рецептори Т-клітин, які також є рецепторними тирозинкінази і після зв'язування ліганда

автофосфорилуються по залишкам тирозину. І, по-третє, рецептори цитокінів та інтерферонів. У цьому випадку внутрішньоклітинний сигнальний ланцюг забезпечує активацію транскрипційних факторів Stat і протеїнкінази Janus.

Також SH2-домени виконують суто структурну функцію, оскільки забезпечують утримування ефекторних SH2-вмісних білків поблизу плазматичної мембрани поряд із їхніми білками-мішенями та субстратами.

Інша роль взаємодії фосфотирозин-SH2 – можливість фосфорилування ефекторного білка і, таким чином, зміна його структури та функціонального стану. Наприклад, фосфорилування SH2-вмісної фосфатази Src робить можливим зв'язування останньої із адапторним білком Grb2, який також містить SH2-домен.

Іншою функцією зв'язування SH2-домену з активованою тирозинкіназою є підвищення активності ефекторного білка. Наприклад, така алостерична активація спостерігається для PI3-кінази та фосфоліпази C $\alpha$ . Механізм такої активації до кінця не з'ясований, але передбачають, що він полягає у фосфорилуванні. Так, у випадку нерцепторної тирозинкінази Src, яка містить центральний SH2-домен, коли фосфорилувати залишок тирозину (Tyr527), може відбутись пригнічення активності Src. При взаємодії фосфотирозину 527 із власним SH2-доменом, фермент змінює конформацію, каталітичний домен виявляється замкнутим. Src кіназа автоінгібується.

РТВ. Інший фосфотирозин-зв'язуючий домен – РТВ. Цього типу домени переважно властиві білкам, які виконують приєднувальні та адаторні функції. Наприклад, адапторна молекула Shc, яка містить SH2-домен класу 3 і додатково – РТВ. РТВ-домени впізнають фосфотирозинові залишки, які містяться поряд зі специфічними амінокислотними послідовностями (у напрямку N-кінця). Хоча і SH2-, і РТВ-домени є фосфотирозин-зв'язуючими білками, вони мають різну структуру.

SH3-домени. Інші консервативні послідовності, задіяні у тирозинкіназних сигнальних шляхах – SH3-домени. Вони були також ідентифіковані в білках цитоскелету. Особливістю структури SH3-доменів є поліпроліновий фрагмент, який містить 10 залишків проліну та формує лівозакручену поліпролінову спіраль типу II з кроком 3 амінокислотні залишки на виток. Ліганди, які зв'язуються з SH3-доменами, мають консервативну амінокислотну послідовність [X-P-p-X-P], де P – два обов'язкові залишки проліну, X – будь-які амінокислоти та p – найчастіше пролін. Обов'язкові залишки проліну зв'язуються із гідрофобними кишнями SH3-домену. Цікаво, що така взаємодія може відбуватись в обох напрямках. Різні SH3-домени мають змінну специфічність до поліпролінових фрагментів. Як і SH2-, SH3-домени забезпечують утримання білкових модулів.

## РОЗДІЛ IV: МЕХАНІЗМИ СИГНАЛІЗАЦІЇ ЗА ДОПОМОГОЮ ГАЗОТРАНСМІТЕРІВ: ОКСИД АЗОТУ

Сигналізація за участю оксиду азоту. Оксид азоту, моноксид вуглецю, сірководень та активні форми кисню об'єднують у групу газоподібних аутокринних/паракринних медіаторів (газотрансмітерів). Ці речовини мають ряд спільних фізико-хімічних властивостей. Так, всі газотрансмітери ліпід-розчинні, не мають специфічних депо для зберігання та шляхів захоплення і інактивації. Вони рівномірно дифундують у межах клітини їхнього синтезу та у сусідні клітини та їхнє поширення обмежується досить коротким часом життя цих молекул. Специфічність ефектів газотрансмітерів залежить тільки від вмісту та властивостей певних ферментів тих клітин на які діють молекули газів.

Вільні радикали, зокрема оксид азоту (NO) та моноксид вуглецю (CO), відіграють важливу роль у регуляції та підтриманні багатьох функцій організму, зокрема у контролі розслаблення гладеньких м'язів та адгезії тромбоцитів.

Клоновано і охарактеризовано 3 ізоформи NO-синтази (NOS): нейрональна – nNOS, індуцибельна – iNOS та ендотеліальна – eNOS. У багатьох тканинах експресуються одна або декілька ізоформ NOS: nNOS та eNOS базово експресуються клітинами, а їхня активність регулюється внутрішньоклітинною концентрацією  $Ca^{2+}$ , у той час як експресія iNOS в макрофагах стимулюється цитокінами, ліпополісахаридами та іншими імунологічно активними агентами. Експресія iNOS регулюється на транскрипційному і посттранскрипційному рівнях внутрішньоклітинними сигнальними шляхами, які включають транскрипційний фактор NF- $\kappa$ B та мітоген-активовані протеїнкінази.

Мономер синтази відносно міцно контактує із шістьма кофакторами: 6(R)-5,6,7,8-тетрагідро-L-біоптеріном ( $BH_4$ ), флавін аденін динуклеотидом (ФАД), флавін мононуклеотидом (ФМН), гемом, нікотинамід аденін динуклеотид фосфатом (НАДФН), кальмодуліном та іонами  $Ca^{2+}$  (рис. 46).

Активна форма NOS є димером, хоча коли прийняти до уваги активацію нейрональної та ендотеліальної форм кальмодуліном, то, у випадку цих ізоформ, прийнятно також іменувати її тетрамером: два мономери синтази, кожен із яких асоційований з комплексом  $Ca^{2+}$ /кальмодулін. Для взаємодії iNOS з кальмодуліном іонів кальцію не потрібно. За здатністю активуватись кальмодуліном з або без іонів  $Ca^{2+}$  розділяють індуцибельну ( $Ca^{2+}$ -незалежна, iNOS) та конститутивні ( $Ca^{2+}$ -залежні, eNOS та nNOS) форми NO-синтаз.

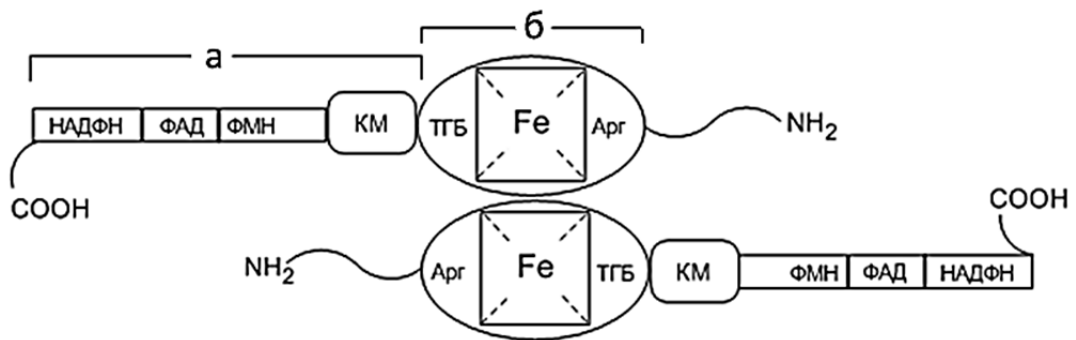


Рис. 46. Структура активної форми NO-синтази: (а) – регуляторний домен; (б) – синтазний домен.

Кожен мономер синтази оксиду азоту складається з редуктазного, кальмодулін-зв'язуючого та оксигеназного доменів. Редуктазний домен містить флавінові кофактори ФАД і ФМН. ФАД – первинний акцептор електронів з НАДФН, далі електрони транспортуються на гем оксигеназного домена. Оксигеназний домен містить сайти зв'язування гему, L-аргініну та  $\text{NH}_4$ . Зв'язування комплексу  $\text{Ca}^{2+}$ -кальмодулін молекулою NOS спричиняє її конформаційні зміни, які роблять можливим транспорт електронів із НАДФН на гем оксигеназного домену. Це створює умови для проходження реакції між L-аргініном та  $\text{O}_2$ .

Ферменти NOS синтезують NO з амінокислоти L-аргініну, потребуючи для цього, як зазначалось,  $\text{O}_2$  і НАДФН (рис. 47). Швидкість синтезу NO залежить від концентрації вільного L-аргініну та кофактора  $\text{NH}_4$ . Механізм реалізації невідомий, але дослідження показали, що навіть без L-аргініну NOS продукує радикали кисню та пероксид водню. Окислення НАДФН без L-аргініну супроводжується транспортом електронів флавіновими кофакторами, подібно до окисних реакцій мітохондрій.

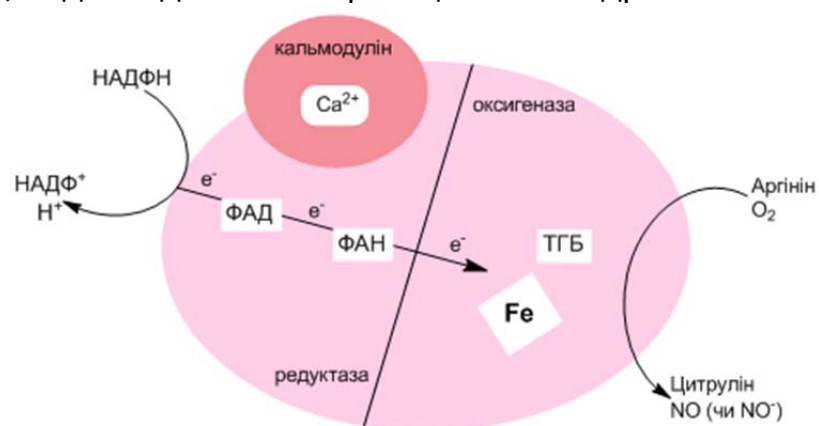


Рис. 47. Схема синтезу оксиду азоту на прикладі конститутивної форми NO-синтази.

Насьогодні відомо про зв'язок NO та NOS із великою кількістю фізіологічних механізмів і патологічних процесів, серед яких апоптоз, ангиогенез, перестальтика кишкови́ка, сечовипускання, розмноження, скорочення скелетних м'язів, транспорт  $\text{Ca}^{2+}$  із ендоплазматичного ретикулума, метаболізм глюкози, розвиток та підтримання структури і функції серця.

nNOS. Нейрональна NO-синтаза (nNOS, NOSI, NOS1, ncNOS) експресується у популяціях нейронів, які розвиваються, та зрілих нервових клітинах. Також виявлено експресію nNOS в інших типах клітин, зокрема, у кардіоміоцитах і клітинах скелетних м'язів. Рівень експресії регулюється вторинними месенджерами та комплексом  $\text{Ca}^{2+}$ -кальмодулін. Відомо декілька сплайс-варіантів ізоформ нейрональної NO-синтази, які визначають синтез 4 різних пептидів, два із яких мають PDZ-домени, що забезпечують утримання ферменту на специфічних внутрішньоклітинних структурах (nNOS $\alpha$ , nNOS $\mu$ ) та два інші локалізуються у цитоплазмі (nNOS $\beta$ , nNOS $\gamma$ ).

eNOS. Ендотеліальна конститутивна NOS (eNOS, NOS3, NOSIII, ecNOS) – головна, превалююча ізоформа NOS, яка експресується у серцево-судинній системі. Ця ізоформа отримала свою назву тому, що переважно представлена у ендотеліальних клітинах судин і тут виконує свою головну функцію – регуляцію тону́су судин і перфузію тканин. Також ця ізоформа NOS локалізована і у інших тканинах, зокрема, у скелетних м'язах. Регуляція конститутивних форм синтази, комплексна і жорстко здійснюється шляхом оборотного, нековалентного кальцій-залежного зв'язування кальмодуліну. Мембраноасоційована ізоформа синтази. Для посилення специфічності реакції синтаз на  $\text{Ca}^{2+}$ , NOS локалізовані у певних субклітинних доменах. Таким чином NOS реагують на вивільнення іонів кальцію саме із певних кальцієвих пулів. Допоміжні механізми регуляції даної ізоформи синтази забезпечується, зокрема, фосфорилуванням серин, треонін- та/або тирозинкіназами.

iNOS. Напротивагу ключовому механізму регуляції ізоформ конститутивної NOS (eNOS та nNOS), індуцибельна NOS (iNOS, NOSII, NOS2) визначена як  $\text{Ca}^{2+}$ -незалежна. Ця ізоформа не якориться у мембранах і локалізована в цитозолі. Її експресія індукується запальними процесами, а головною функцією цієї синтази є реагування на запалення шляхом напрацювання  $\text{O}_2^-$ .

Шляхи активації NOS. Різна локалізація ізоформ (у цитоплазмі або на мембрані) передбачає відмінності у шляхах активації NOS (рис. 48). Перший шлях передбачає такий розвиток подій: зв'язування медіаторів на іонотропних рецепторах спричиняє активацію та відкриття каналів, а також надходження іонів Ca із позаклітинного середовища. Цей  $\text{Ca}^{2+}$ , у свою

чергу, викликає кальцій-індуковане вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  з ендоплазматичного ретикулума. Він утворює комплекс із кальмодуліном; цей комплекс активує NOS.

Другий шлях – активація через метаботропні рецептори: активований G-білок дисоціює на  $\alpha$ -субодиницю і комплекс  $\beta\gamma$ -субодиниць, які зв'язуються з мембраною і дифундують до ефекторів-мішеней – мембранозв'язаних форм NOS, аденілатциклази, фосфоліпаз A та C $\beta$  та цГМФ фосфодіестерази. За один цикл активації рецептора у деяких випадках активується більше тисячі G-білків.

Фізичні властивості оксиду азоту. NO – неорганічний, безбарвний, відносно стабільний газ, розчинний у воді та ліпідах. Він легко дифундує та проникає через мембрани, не здатний до накопичення. Наявність неспареного електрона в NO, пояснює його високу реактивну здатність. Оксид азоту легко вступає у хімічні реакції не тільки в цитозолі, але й за межами клітини. NO активно реагує з киснем ( $\text{O}_2$ ) і з супероксидними радикалами, тіолами, металами, ферментами; він інактивується до неактивних іонів нітрату ( $\text{NO}^{-2}$ ) та нітриту ( $\text{NO}^{-3}$ ).

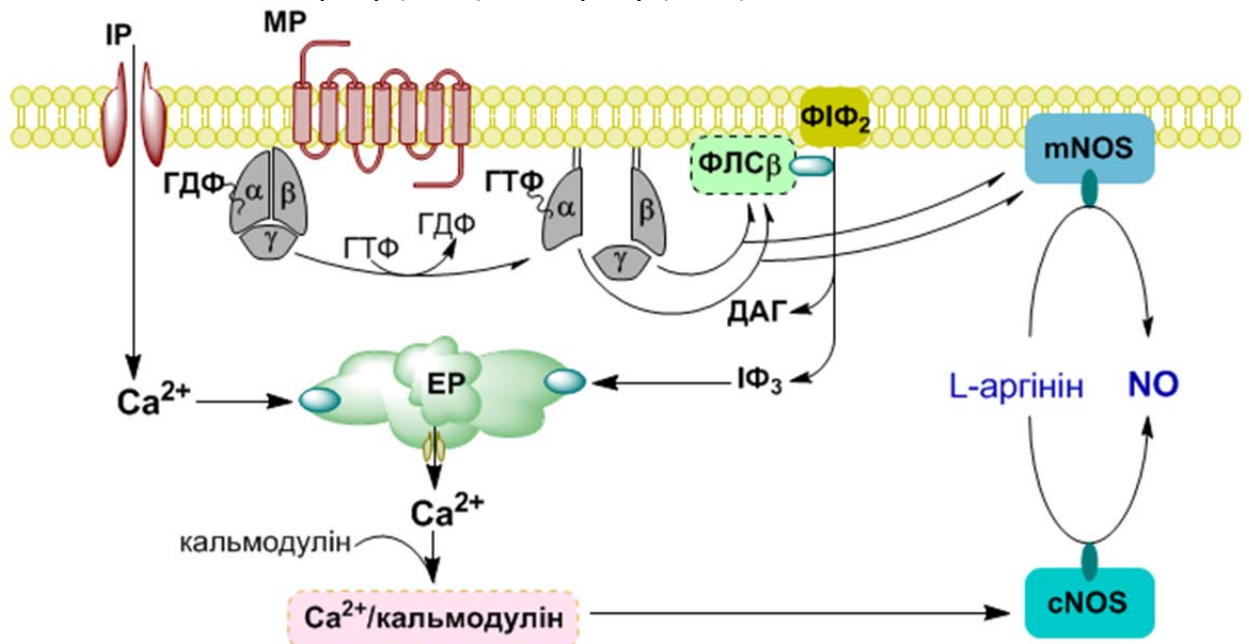


Рис. 48. Шляхи активації NOS.

Висока дифузійність NO пояснює його здатність швидко поширюватись по клітині та за її межі, проникаючи у сусідні клітини. Коефіцієнт дифузії NO складає  $3.3 \cdot 10^{-5} \text{ см}^2/\text{с}$ .

Біологічний ефект NO, який напрацьовується різними ізоформами синтаз, відрізняється в різних тканинах. Детально вивчено процеси регулювання судинного тонусу NO, який синтезується eNOS (рис. 49). У цьому випадку важливість рівня синтезу NO обумовлюється регуляцією тиску крові

та перфузії тканин. Внаслідок стимулювання ацетилхоліном мускаринових рецепторів на ендотеліоцитах судин відбувається активування ФЛС, напрацювання  $IP_3$  і вивільнення  $Ca^{2+}$  із внутрішньоклітинних депо. Іони кальцію зв'язуються із кальмодуліном та активують NOS, стимулюючи синтез NO. NO дифундує у сусідні гладеньком'язові клітини і стимулює гуанілатциклазу. Гуанілатциклаза – внутрішньоклітинний фермент, який синтезує цГМФ. цГМФ, будучи вторинним посередником, активує цГМФ-залежну протеїнкіназу. У результаті фосфорилування кальцієвих і калієвих каналів та кальцієвих насосів, змінюється їхнє функціонування. Цей ланцюг призводить до зниження внутрішньоклітинної концентрації іонів кальцію і, як наслідок, розслаблення гладеньких м'язів судин. За даним принципом працюють лікарські препарати, які містять хімічні сполуки-донори оксиду азоту, зокрема, нітрогліцерин.

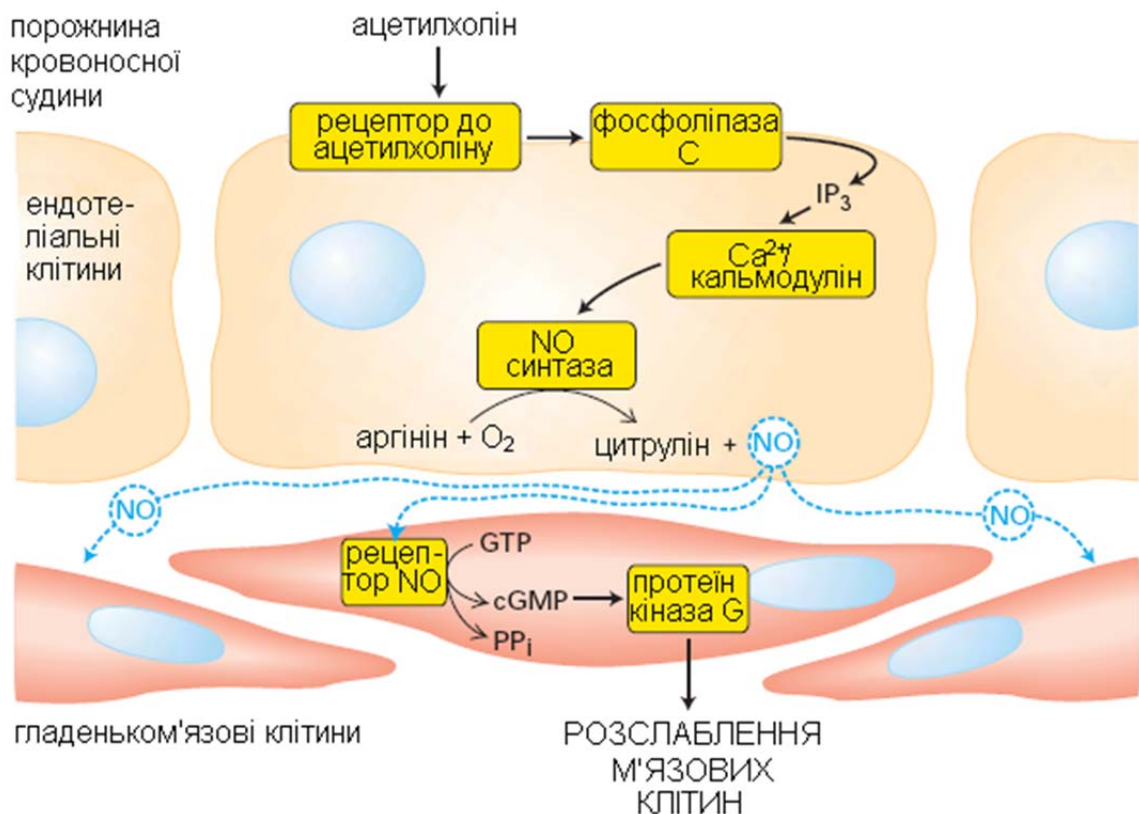


Рис. 49. Механізм розвитку вазорелаксації, який спричиняється синтезом NO у ендотеліальних клітинах судинної стінки.

Нейрональна форма NOS експресується у ЦНС, а NO виконує медіаторну функцію. Тут NOS пов'язана із глутаматними рецепторами NMDA типу. Іони  $Ca^{2+}$ , які надходять через ці іонотропні канали, зв'язуються з кальмодуліном у комплекс, який, активує NOS. Механізм реалізації ефекту NO у мозку, як і у випадку гладеньких м'язів судин, пов'язаний із активацією гуанілатциклази (рис. 50). Надлишковий синтез NO у мозку справляє

нейротоксичний ефект і забезпечує певний внесок у розвиток неврологічних захворювань. Трансгенні миші з відсутньою nNOS стійкі до ішемії мозку. Активність NOS також дуже важлива для функціонування холінергічних нервових мереж, зокрема великих півкуль мозку.

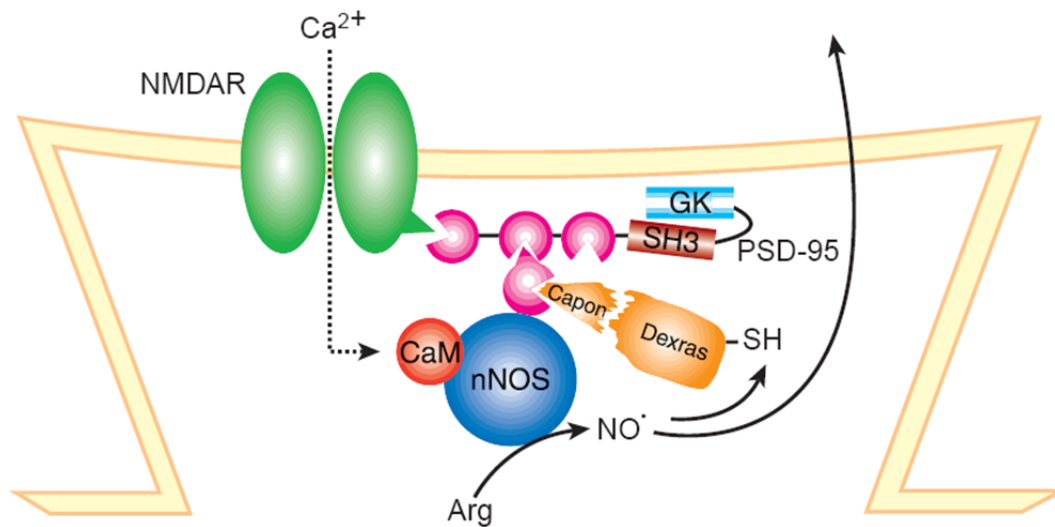


Рис. 50. Білкові взаємодії у глутамінергічних синапсах, які регулюють синтез оксиду азоту (NO) NO-синтазою нейронального типу.

Цікаво здійснюється контроль синтезу NO у серці. Тут присутні дві ізоформи синтази – eNOS та nNOS. Ендотеліальна NOS розташована в кавеолах, де вона специфічно компартментизується з  $\beta$ -адренорецепторами і потенціалкерованими Ca<sup>2+</sup>-каналами L-типу (ПККК). Активація  $\beta$ -адренорецепторів спричиняє стимулювання ПККК (спрацьовує ланцюг:  $\beta$ -адренорецептор – аденілатциклаза – цАМФ – PKA) і, як наслідок вхід Ca<sup>2+</sup> з позаклітинного простору. При стимулюванні ж поряд розташованої eNOS спостерігається NO-викликане пригнічення ПККК: по-перше, цГМФ-залежна протеїнкіназа фосфорилує ПККК, інгібуючи його функцію, а, по-друге, цГМФ активує фосфодіестеразу 2, яка розщеплює цАМФ. Таким чином, стимулювання eNOS спричиняє пригнічення скорочення кардіоміоцитів, викликане активацією  $\beta$ -адренорецепторів. І навпаки, nNOS $\mu$ , яка локалізується на мембрані саркоплазматичного ретикулуму, стимулює скоротливість. nNOS $\mu$  кластеризується з Ca<sup>2+</sup>-каналами внутрішньоклітинних кальцієвих депо – ріанодиновими рецепторами (PP, детальна характеристика дана у наступному розділі). Ймовірний механізм дії NO у цьому випадку, як передбачають, не залежить від цГМФ. Найімовірніша гіпотеза покладає, що NO, який синтезує ця ізоформа NOS, на пряму взаємодіє з PP, викликаючи S-нітрозилування вільних тіолових груп каналу. Це призводить до активації вивільнення Ca<sup>2+</sup> з CP. Отже, активування двох форм NOS у серцевому м'язі спричиняє протилежні ефекти (рис. 51).

Дійсно, дослідження мутантних мишей із відсутніми певними формами NOS показали різнонаправлені зміни функціонування серця. nNOS-нокаутні миші характеризувались відносно нормальним функціонуванням серцево-судинної системи, тоді як eNOS-нокаутні миші мали підвищений кров'яний тиск, підвищену частоту серцевих скорочень і збільшені камери лівого шлуночка серця. До того ж, у перших мишей спостерігалось пригнічення іонотропної відповіді на стимуляцію  $\beta$ -адренорецепторів, а у другої групи – навпаки її посилення. Цікаво, що миші, нокаутні за обома ізоформами NOS, мали переважно прояви відсутності nNOS. Таким чином, у серцевому м'язі нейрональна ізоформа NOS домінує.

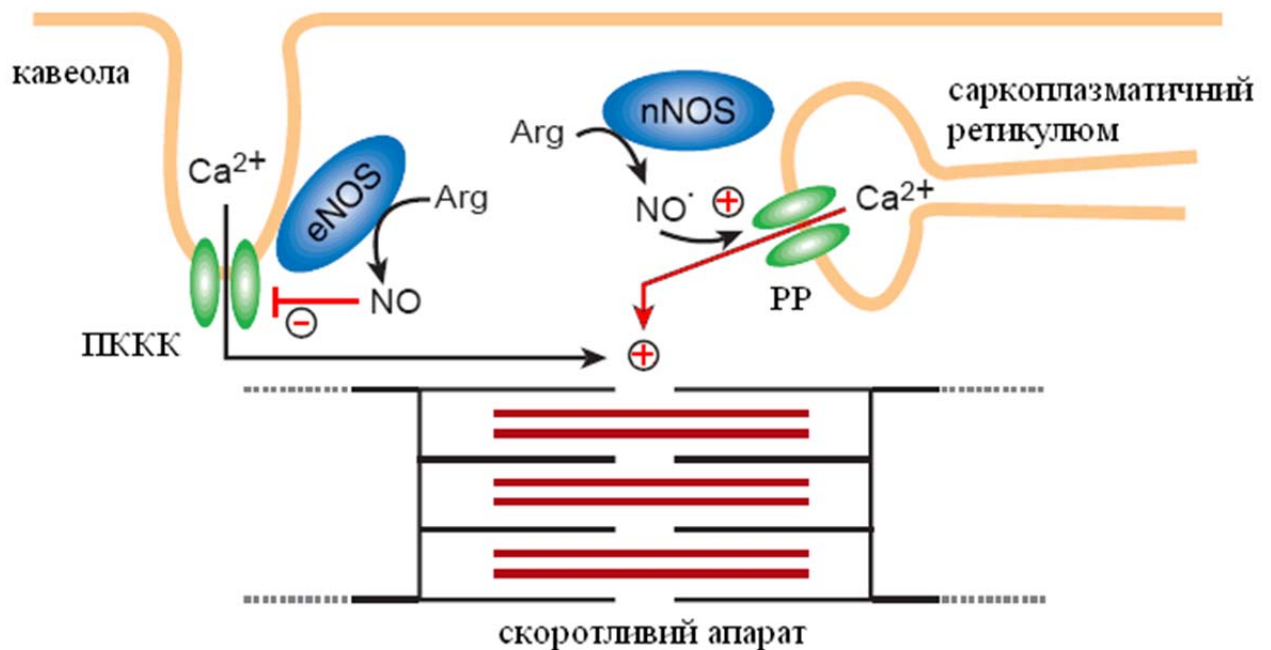


Рис. 51. Протилежна дія NO у клітині серцевого м'яза. NO, синтезований eNOS, інгібує потенціалкеровані  $\text{Ca}^{2+}$ -канали L-типу (ПККК), пригнічуючи скорочення. Навпаки, NO, синтезований nNOS, стимулює вихід  $\text{Ca}^{2+}$  з саркоплазматичного ретикулуму через ріанодинові рецептори (PP) і посилює скорочення.

Моноксид вуглецю (CO) – інша газоподібна субстанція, який може функціонувати як нейромедіатор. Він синтезується ендотелії кровоносних судин, нюховому епітелії, у нейронах мозку та нейронах кишечника при перетворенні гему в пігмент білівердін. Властивості CO подібні до оксиду азоту. Як і NO, моноксид стимулює продукування цГМФ. Було експериментально доведено, що CO може спричиняти адаптацію в олфакторних нейронах, тобто ця молекула задіяна у регуляції нюхової чутливості. Передбачається також, що іншою функцією CO у ЦНС є

нейроендокринна регуляція в гіпоталамусі. CO спричиняє вазодилатацію. У кишечнику CO та NO викликають розслаблення гладеньких м'язів.

## РОЗДІЛ V: КАЛЬЦІЄВИЙ СИГНАЛ

Одним з головних і універсальних регуляторів функціонування клітини є іонізований кальцій. Він визначає оптимальне проходження процесів поділу, росту та диференціації клітини, її адгезії. У збудливих тканинах  $\text{Ca}^{2+}$  регулює секрецію (ендокринні залози), скоротливість (м'язи) і вивільнення нейромедіаторів (нейрони). Різноманітність функцій іонів кальцію полягає у його здатності передавати регуляторні сигнали за рахунок зв'язування зі специфічними  $\text{Ca}^{2+}$ -чутливими білками (рис. 52).

Між позаклітинним і внутрішньоклітинним просторами існує значний градієнт концентрації іонів кальцію:  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  у стані спокою становить 50 - 100 нМ,  $[\text{Ca}^{2+}]_o$  – у межах мікромолярних концентрацій. Надходження на поверхню клітини збуджувального сигналу (внаслідок зв'язування гормонів або нейромедіаторів із відповідними рецепторами) викликає транзиторне зростання  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  на декілька порядків відносно базальної концентрації. Процес збільшення  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  забезпечується шляхами його входу із позаклітинного простору (через  $\text{Ca}^{2+}$ -канали) та вивільненням з внутрішньоклітинних депо (ендоплазматичний ретикулум). Важливою умовою нормального функціонування клітин є швидке зниження концентрації  $\text{Ca}^{2+}$ ; це забезпечується системами активного транспорту ( $\text{Ca}^{2+}$ -помп плазматичної мембрани, ендоплазматичного ретикулуму і мітохондрій,  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмінника тощо).

Шляхи збільшення внутрішньоклітинної концентрації іонів кальцію. Загалом можливо виділити два шляхи збільшення внутрішньоклітинної концентрації іонів  $\text{Ca}^{2+}$ : надходження із позаклітинного простору та звільнення з внутрішньоклітинних депо.

У обох випадках це – енергонезалежні процеси. У свою чергу, відомо 5 систем, які гіпотетично можуть забезпечувати надходження кальцію до клітини з зовнішнього боку (рис. 53). Це – потенціалкеровані канали; канали, керовані вторинними посередниками; ємнісний вхід  $\text{Ca}^{2+}$  через канали, керовані спустошенням внутрішньоклітинних кальцієвих депо; рецепторкеровані канали та  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмінник. Внутрішньоклітинними кальцієвими депо є ендоплазматичний (саркоплазматичний) ретикулум та мітохондрії. Щоправда, важливість останніх полягає скоріше у здатності швидко відкачувати іони  $\text{Ca}^{2+}$  з клітини і перерозподіляти їх відносно інших депо. Також цей іон значно накопичується в ядрі.

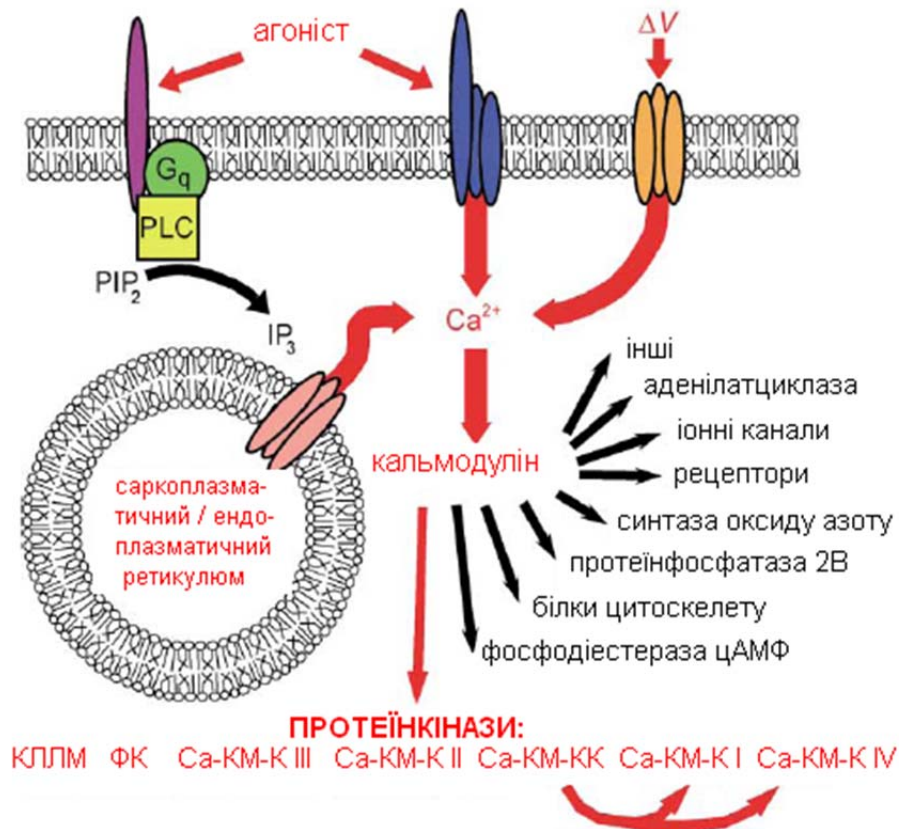


Рис. 52. Модуляція концентрації та мішені внутрішньоклітинного кальцію.  $\text{Ca}^{2+}$  входить до клітини через лігандкеровані та потенціалкеровані канали плазматичної мембрани та/або вивільняється із ендоплазматичного (саркоплазматичного) ретикулуму. На схемі показано інозитолтрифосфатні рецептор-канали у внутрішньоклітинному кальцієвому депо.

Виділено ключові мішені іонізованого кальцію: протеїнкінази, які фосфорилують безліч внутрішньоклітинних білків, канали, рецептори і окремі ферменти, функціонування яких регулюється зв'язуванням  $\text{Ca}^{2+}$ .

Позначено: КЛЛМ – кіназа легких ланцюгів міозину; ФК – фосфорилаза кінази; Ca-КМ-К I, II, III та IV –  $\text{Ca}^{2+}$ -кальмодулін-залежна протеїнкінази I, II, III та IV, відповідно;  $\text{PIP}_2$  – фосфатидилінозитол-4,5-дифосфат;  $\text{IP}_3$  – інозитол-1,4,5-трифосфат; PLC – фосфоліпаза C;  $\text{G}_q$  – G-білок;  $\Delta V$  – деполяризація.

Потенціалкерований вхід Ca. У збудливих клітинах (нейрони, м'язові і секреторні клітини) при зв'язуванні відповідних Ca-мобілізуючих ефекторів (нейротрансмітерів, гормонів, факторів росту) відбувається деполяризація плазматичної мембрани, яка активує потенціалкеровані кальцієві канали. Насьогодні відомо 6 типів потенціалкерованих  $\text{Ca}^{2+}$ -каналів: L, T, N, P, Q та R.

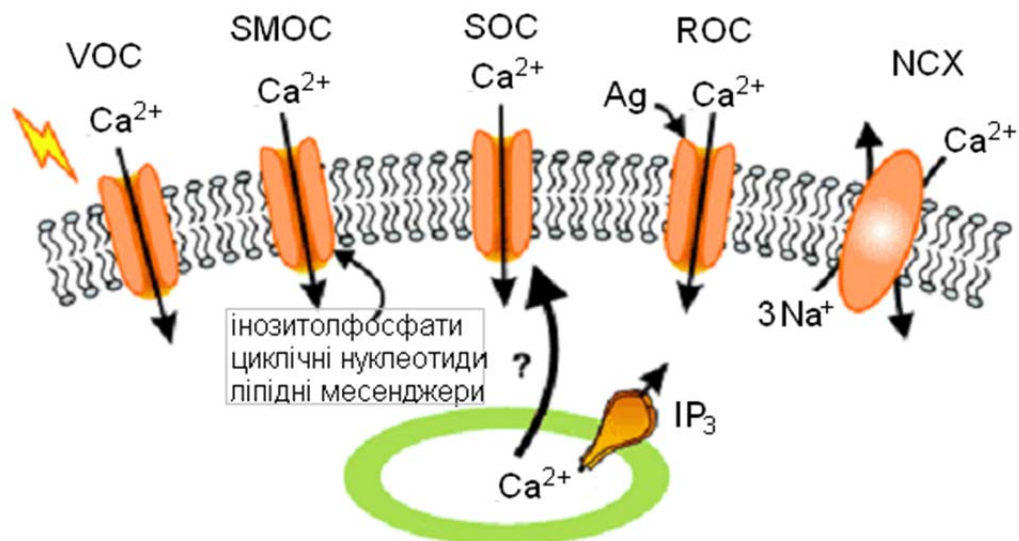


Рис. 53. Шляхи надходження іонів кальцію із позаклітинного простору: потенціалкервані канали (VOC); канали, кервані вторинними посередниками (SMOC); канали, кервані спустошенням внутрішньоклітинних кальцієвих депо (SOC); рецептор-кервані канали (ROC) та  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмінник (NCX). Також показано внутрішньоклітинне депо Ca та його інозитолтрифосфатний рецептор ( $\text{IP}_3$ ).

Найбільш поширені  $\text{Ca}^{2+}$ -канали скелетних м'язів та ендокринних залоз – L-типу. Саме вони забезпечують активацію процесів м'язового скорочення та секреції гормонів. Їх було так названо від «long-lasting» – «довго живучий»; ці канали активуються при високих потенціалах на мембрані ( $> -10$  мВ) та мають дуже повільну кінетику інактивації. L-канали, які активуються при більш низьких значеннях мембранного потенціалу, характерні для нейронів та клітин-пейсмейкерів серцевого м'язу. Часто канали L-типу також називають дигідропіридин-чутливими, оскільки частина білкового комплексу каналу вибірково зв'язує блокатори групи 1,4-дигідропіридинів (так званий дигідропіридиновий рецептор, ДГПР або DHPR), наприклад ніфедипін. Крім дигідропіридинів, L-канали блокуються також хімічними сполуками груп фенілалкіламінів (верапаміл) та бензотіазепінів.

Канали T-типу активуються при незначній деполяризації, характеризуються швидкою потенціал-залежною кінетикою інактивації. Канали N-типу активуються при високих (вище  $-20$  мВ) потенціалах і досить швидко інактивуються. Канали P-типу активуються потенціалами вище  $-50$  мВ і дуже повільно інактивуються. Потенціалкервані  $\text{Ca}^{2+}$ -канали Q- та R-типів – активуються при значній деполяризації плазматичної мембрани.

Ємнісний вхід Ca. Найважливіший шлях надходження іонів  $\text{Ca}^{2+}$  в незбудливі клітини – так званий ємнісний вхід. Процес надходження іонів

кальцію через специфічні канали (SOC або CRAC) активується кальцієм, який вивільняється з внутрішньоклітинних депо (EP). Відповідно, цей специфічний кальцієвий струм у світовій науковій літературі отримав назву  $\text{Ca}^{2+}$  release-activated calcium current ( $I_{\text{CRAC}}$ ) або вхід  $\text{Ca}^{2+}$ , активований спустошенням  $\text{Ca}^{2+}$ -депо. Насьогодні процес ємнісного входу кальцію досліджено частково. За останніми даними, у депо, розташованими близько до плазматичної мембрани, містяться трансмембранні білки-сенсори рівню кальцію всередині депо – STIM. У ссавців ідентифіковано два гомологи STIM – STIM1 та STIM2. Нокаутність тварин по STIM1 призводить до значного пригнічення ємнісного входу  $\text{Ca}^{2+}$ , тоді як аналогічна втрата STIM2 функціонально непомітна. Насьогодні загальноприйнята думка, що молекули STIM1 контактують із каналами SOC.

STIM1 – трансмембранний білок (EP і ймовірно, ПМ) із молекулярною масою близько 77 кДа, який один раз перетинає площину мембрани. Якщо розглядати STIM1 відносно площини мембрани EP, то С-кінцевий фрагмент молекули розташований у цитоплазмі, а N-кінцевий звернений в порожнину кальцієвого депо. Внутрішній N-кінцевий домен молекули STIM1 містить сенсор кальцію (фрагмент EF-hand), тому при зміні концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  змінює конформацію, передаючи сигнал-збурення безпосередньо на канал SOC, спричиняє його відкриття і розвиток  $I_{\text{CRAC}}$  (рис. 54). С-кінцевий фрагмент STIM1 має серин/пролін- та лізин-збагачені домени. Молекули STIM1 здатні олігомеризуватись, тому деякі дослідники передбачають, що ідентичні молекули STIM1 EP і ПМ контактують.

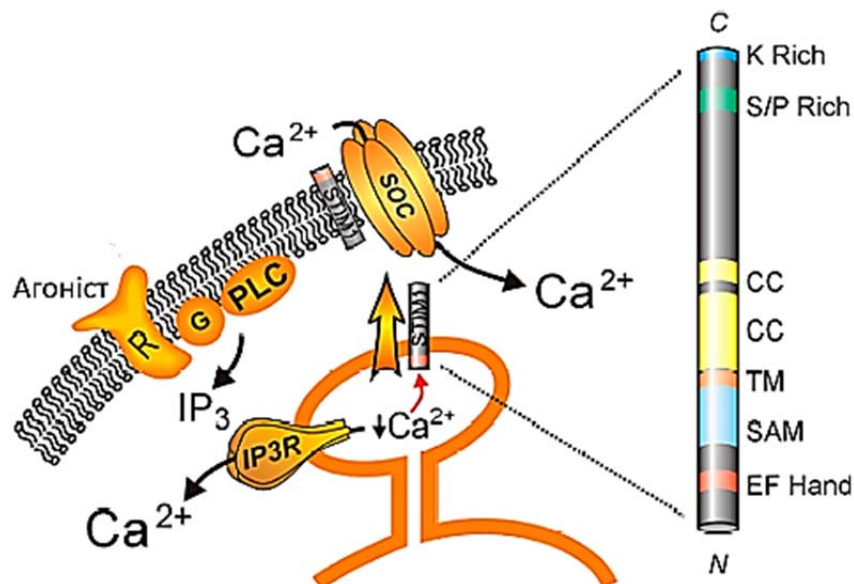


Рис. 54. Механізм активації ємнісного входу іонів  $\text{Ca}^{2+}$  до клітини. Окремо показано структуру молекули STIM1.

Відомо, що канали SOC кодуються генами, споріденими з *trp* дрозофіли. Родина TRP-каналів ссавців об'єднує сім підродин (TRPC, TRPV, TRPM, TRPN, TRPA, TRPP та TRPML), багато із них є неселективними  $\text{Ca}^{2+}$ -проникними каналами. Активність деяких з них (TRPC3, TRPV5, TRPV6, TRPM2 і TRPM7) регулюється позитивними або негативними змінами внутрішньоклітинної концентрації іонів  $\text{Ca}^{2+}$ . Функціональний TRP-канал складається із чотирьох субодиниць (гомо- або гетеротетрамер). Будова тетраметра визначає розмір пори і, відповідно, її селективність. Струм через ці канали не активується деполяризацією, але виявляє залежність від мембранного потенціалу (МП). Максимальна амплітуда струму спостерігається при негативних значеннях МП, а при +60 мВ відбувається повна інактивація.

Пороформуюча субодиниця каналів CRAC – CRACM1. CRACM1 є досить дрібним білком (32.7 кДа), що, ймовірно, має чотири трансмембранні домени. Дослідження показали, що CRACM1 контактує з STIM1. Шляхом молекулярних реконструкцій встановлено, що така взаємодія посилює  $I_{\text{CRAC}}$  у 50 - 100 разів (до фізіологічних показників). Численні дослідження останніх років показали, що молекули CRACM1 утворюють множинні комплекси, що, як передбачають, має важливе значення в умовах *in vivo* при формуванні каналів CRAC.

Внутрішньоклітинні депо Са. Важливе значення у регуляції концентрації іонів кальцію в клітині відіграє ендоплазматичний (саркоплазматичний) ретикулум (ЕР). Усереднені дані свідчать, що у ЕР концентрація  $\text{Ca}^{2+}$  знаходиться на рівні 30 - 300 мкМ. Кальцієва ємність цього внутрішньоклітинного депо значно варіює у різних клітинах. Мембрани ЕР містять тетрамерні рецептори-канали двох типів – інозитол-1,4,5-трифосфат-чутливі (ІТФР,  $\text{IP}_3\text{R}$ ) та ріанодинові (РР,  $\text{RyR}$ ) рецептори. Ці канали структурно подібні, у всіх випадках їх формують чотири субодиниці. На відміну від широко поширених у різних тканинах ІТФР, РР переважно властиві для збудливих тканин. І РР, і ІТФР регулюються оточуючою концентрацією кальцію в цитозолі; вони є чутливими до дії багатьох регуляторних ферментів. Зокрема, їх фосфорилує  $\text{Ca}^{2+}$ /кальмодулін-залежна кіназа II та дефосфорилує фосфатаза кальціневрин.

Відкриття ІТФР викликає вторинний посередник інозитол-1,4,5-трифосфат, який утворюється після розщеплення фосфатиділінозитол-4,5-дифосфату фосфоліпазою С. Оптимальна концентрація ІТФ для активації струму через ці канали становить 0.5 - 1 мкМ.

У всіх випадках рецептори формуються чотирма субодиницями (гомтетрамери). Відомо три ізоформи субодиниці ІТФР: ІТФР1 представлені у мозку, серцевому, гладеньких і скелетних м'язах та лімфоцитах. Головне

специфічне місце локалізації ІТФР2 – мозочок. Рецептори третього типу (ІТФР3) ідентифіковані в епітелії кишечника. Електробіофізичні дослідження показали, що канали, сформовані з різних ізоформ ІТФР мають схожі властивості кальцієвого струму.

Амінокислотний ланцюг кожної із субодиниць тетрамеру (понад 2000 амінокислотних залишків) шість разів перетинає мембрану ендоплазматичного ретикулу, формуючи шість трансмембранних фрагментів, та має великий N-кінцевий цитоплазматичний домен (рис. 55). П'ятий і шостий трансмембранний фрагменти субодиниць звернені у пору каналу. У цитоплазматичному домені знаходиться рецептор ІТФ. Також, ця частина рецептора виконує регуляторну функцію шляхом численних модифікацій протеїнкіназами (ПКА, ПКС і ПКГ усі активують) та за рахунок зв'язування із поліненасиченими жирними кислотами. Здатність проводити іони  $\text{Ca}^{2+}$  через ІТФ залежить також від внутрішньоклітинного рН: залуження супроводжується активацією. Цікавою фармакологічною особливістю ІТФ є дзвіноподібна залежність кальцієвої провідності від внутрішньоклітинної концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  та АТФ. У випадку концентрації  $\text{Ca}^{2+}$ : спостерігається активація виходу цього іону з ЕР до 600 нМ, а вищі викликають пригнічення. Аналогічно, цитоплазматична АТФ до 500 мкМ активує вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  через ці канали, а вищі концентрації – пригнічують.

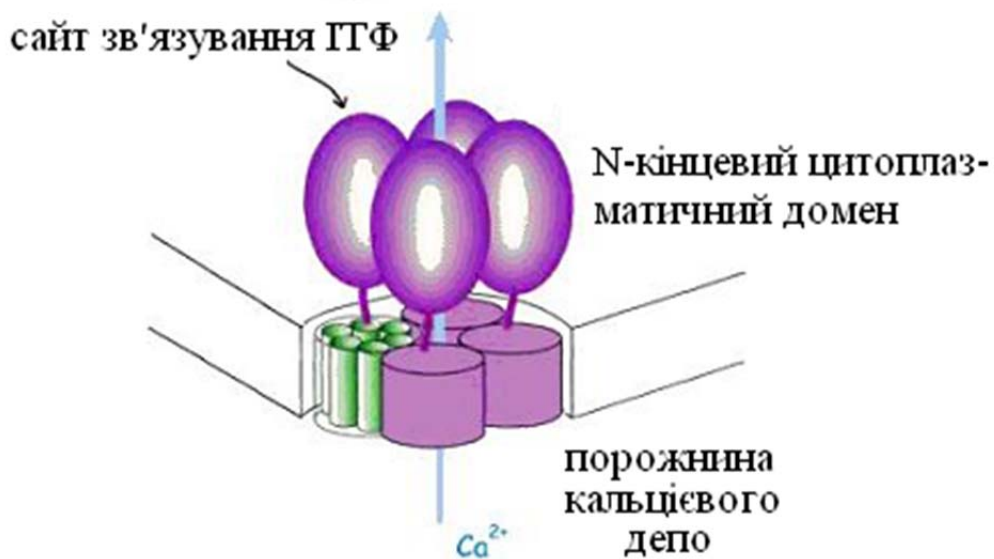


Рис. 55. Схема розташування інозитол-1,4,5-трифосфат-чутливого рецептора (ІТФР) у мембрані ендоплазматичного ретикулу.

Варто зазначити, що різні ізоформи ІТФР по-різному регулюються іонами  $\text{Ca}^{2+}$ , кальмодуліном та фосфорилуванням кіназами. Фізіологічне значення таких відмінностей полягає у варіюванні часових і амплітудних характеристик кальцієвих сигналів, які реалізуються за участі різних ІТФР.

Інші кальцієві канали ER – ріанодинові рецептори. Відомо три ізоформи субодиниць, здатних формувати РР. Як і ІТФР, ці канали – гомотетрамери. Рецептори першої ізоформи (РР1 або RyR1) характерні для скелетних м'язів та волокон Пуркінє. Особливістю РР1-вмісних клітин є розміщення ER безпосередньо під плазматичною мембраною. Як наслідок – така морфологічна особливість забезпечує безпосередній контакт між РР та потенціал-чутливими субодиницями білкових комплексів  $\text{Ca}^{2+}$ -каналів. РР2 (або RyR2) ідентифіковані у клітинах серцевого м'язу та деяких ділянках мозку; на відміну від РР1, вони не формують білок-білкових контактів зі структурами плазматичної мембрани. РР3 (або RyR3) – більш широко та неспецифічно поширені. Ці рецептори властиві, зокрема, для клітин гладеньких м'язів, мозку і деяких незбудливих тканин.

Гомологічність субодиниць РР різних ізоформ становить біля 70 %. На електронних фотографіях РР виглядають як чотирилишник з діаметром біля 50 нм. Дійсно, функціональний ріанодиновий рецептор – гомотетрамер (більше 2,2 мДа). Амінокислотний ланцюг кожної субодиниці РР (у середньому 565 кДа, близько 5000 амінокислотних залишків) чотири-шість разів перетинає мембрану ER (С-кінцевий домен), а її N-кінцева частина формує великий домен, направлений у цитоплазматичний простір. С-кінцеві домени чотирьох субодиниць рецептора формують пору каналу (близько 1 - 2 нм у діаметрі), при відкритті якого спостерігається повертання трансмембранних фрагментів на чотири градуси відносно N-кінцевого домену.

Свою назву РР отримав після відкриття здатності ріанодину (рослинного алкалоїду) впливати на кальцієвий струм через рецептори цього типу. Ефект ріанодину неоднорідний: низькі концентрації (5 - 50 нМ) активують РР, тоді як вищі – пригнічують. Також активує РР та підвищена концентрація іонів  $\text{Ca}^{2+}$  (0,5 - 1,5 мкМ) у цитоплазмі. Здатність до активування виходу кальцію через РР показана і для інших речовин: для АТФ у мілімолярних (1 - 5 мМ), для ІТФ – у мікромолярних концентраціях. Важливою властивістю РР є їхня чутливість до кофеїну, який у мілімолярних концентраціях спричиняє вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  з ER.

Ріанодинові рецептори поперечно-посмугованих м'язів є ключовою ланкою електро-механічного спряження при збудженні. Як було згадано вище, РР1 безпосередньо контактують із білковим комплексом  $\text{Ca}^{2+}$ -каналів плазматичної мембрани у зоні тріад. При деполяризації плазматичної

мембрани клітин скелетних м'язів спостерігається зміна конформації PP1, яка спричиняє вихід  $\text{Ca}^{2+}$  з депо. У випадку серцевого м'язу, кальцій, який входить через  $\text{Ca}^{2+}$ -канали плазматичної мембрани, активує PP2, спричиняючи  $\text{Ca}^{2+}$ -індуковане вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  (KIBK, CICR) із CP. PP3 також здатні активуватись за механізмом KIBK.

Ca-зв'язуючі білки. Роль універсального внутрішньоклітинного посередника кальцій виконує завдяки взаємодії з ключовими внутрішньоклітинними білками. У клітині можна виділити три ключові групи  $\text{Ca}^{2+}$ -зв'язуючих білків. По-перше, це  $\text{Ca}^{2+}$ -зв'язуючі білки ендоплазматичного ретикулуму. Яскравими прикладами цих білків є кальретикулін та кальсеквестрин (останній присутній у CP). Друга група об'єднує  $\text{Ca}^{2+}$ -зв'язуючі білки, які містять консервативний домен – EF-фрагмент. Найбільш відомий представник даної групи – кальмодулін. І, врешті, третя група –  $\text{Ca}^{2+}$ /фосфоліпід-зв'язуючі білки, такі як анексини та специфічний білок синаптичних везикул синаптотегмін. Для молекул останньої групи властива присутність ще одного консервативного домена – C2.

Однак, також варто зазначити, що у клітинах крім EF- та C2-доменів є інші структури, здатні зв'язувати  $\text{Ca}^{2+}$ . Так, наприклад, молекули анексинів мають кальцій-зв'язуючу петлеподібну структуру. Також здатність до зв'язування  $\text{Ca}^{2+}$  мають кальцієві канали та помпи, у структурі яких відсутні вищезгадані домени.

$\text{Ca}^{2+}$ -зв'язуючі білки ендоплазматичного ретикулуму (ER) володіють високою ємністю і низькою афінністю до іонів кальцію. Це – невеликі глікопротеїни. Кальретикулін (молекулярна вага 47 кДа) розташовується в ER та цитоплазмі. У ER, зв'язуючи  $\text{Ca}^{2+}$  у співвідношенні 20 іонів на одну молекулу кальретикуліну, він виконує безпосередньо роль накопичувача кальцію. Поза межами депо цей білок має більш різноманітні властивості: забезпечує модифікацію функції ядерних рецепторів, опосередковує адгезію клітин до фібротектину та вхід  $\text{Ca}^{2+}$  через ПМ, викликаний зв'язуванням інтегринів із фібронектином. Кальсеквестрин – кислий білок, одна молекула якого зв'язує 34 іони  $\text{Ca}^{2+}$ . Він розміщується у термінальних цистернах CP поблизу RyR і забезпечує швидкий викид кальцію у процесі електромеханічного спряження.

Велика група (більше, ніж 600 представників) важливих внутрішньоклітинних білків містить EF-hands домен. Свою назву цей консервативний фрагмент одержав від назв двох доменів (E та F) білка парвальбуміну, у якому він вперше був виявлений. Константа дисоціації домену варіює у межах  $10^{-7}$  -  $10^{-5}$  М. Безпосередній сайт зв'язування  $\text{Ca}^{2+}$  EF-hands домену сформований петлею з 12 амінокислотних залишків, серед яких ключову роль виконують аспартатні та глутаматні залишки. Ця петля

оточена двома  $\alpha$ -спіралями так, що виникає структура типу спіраль-петля-спіраль. Зазвичай у білках присутні так звані EF-hand: наприклад, у кальмодуліні є чотири таких домени (рис. 56).



Рис. 56.  $\text{Ca}^{2+}$ -індуковані конформаційні перебудови у молекулі кальмодуліну: можливість виконання функції (на прикладі комплексу кальмодуліну із кіназою легких ланцюгів міозину).

Кальмодулін – головний  $\text{Ca}^{2+}$ -зв'язуючий білок тваринних клітин. Це – невеликий (17 кДа) кислий білок, який складається з одного, переважно  $\alpha$ -спірального, амінокислотного ланцюга. На кінцях молекули кальмодуліну розташовані чотири (по два з кожного боку) EF-hands домени. Спорідненість до кальцію кожного окремого сайту відносно невелика ( $10^{-6}$  -  $10^{-5}$  М), але загалом вони виявляють позитивну кооперативність. Кальмодулін присутній у всіх клітинах у великих кількостях. Так, у нейронах він становить близько 1 % від загальної кількості клітинних білків. У комплексі з  $\text{Ca}^{2+}$  кальмодулін отримує здатність із високою спорідненістю ( $K_d$  близько  $10^{-9}$  М) зв'язуватись з білками-мішенями (понад 100), змінюючи їхню активність. Комплекс  $\text{Ca}^{2+}$ /кальмодулін часто виступає у ролі регуляторного фактора у

мультисубодиничних внутрішньоклітинних комплексах (NOS, аденілатциклаза, кіназа легких ланцюгів міозину, фосфодіестераза тощо).

Також серед групи білків з EF-hand доменом варто згадати тропонін С (його вважають ізоформою кальмодуліну). Крім буферної ролі, білки з EF-hand доменом виконують численні ключові внутрішньоклітинні функції. Функціональність цих білків об'єднана навколо спільної властивості бути кальцієвим сенсором. Після зв'язування  $\text{Ca}^{2+}$  їхня поверхня стає більш гідрофобною та ділянки поблизу EF-hand домену змінюють конформацію і отримують здатність зв'язуватись зі своїми мішенями.

Третя група  $\text{Ca}^{2+}$ -зв'язуючих білків клітини містять консервативний фрагмент – С2-домен. Класичними прикладами білків, функціонування яких забезпечується С2-доменом, є фосфоліпаза С $\beta$  та синаптоагмін. С2-домен одержав свою назву від другого консервативного (second conserved) регуляторного домену протеїнкінази С $\beta$ . Цей домен складається із близько 130 амінокислотних залишків, які формують жорстку структуру з антипаралельних  $\beta$ -складок. Безпосередньо за зв'язування  $\text{Ca}^{2+}$  відповідає ділянка С2-домена, утворена трьома крайовими петлями. Дві петлі мають п'ять аспартатних залишків, важливих для формування  $\text{Ca}^{2+}$ -зв'язуючої кишені. Один С2-домен захоплює три іони кальцію. Як згадувалось вище, крім здатності зв'язувати  $\text{Ca}^{2+}$ , С2-домен забезпечує взаємодію білка з мембранами, а точніше із негативно зарядженими фосфоліпідами (фосфатидилсерином, фосфатидилінозитолом та поліфосфоінозитидами). Виникнення цієї взаємодії можна описати такою послідовністю подій: крім негативно заряджених амінокислотних залишків, бічні структури С2-домена переважно сформовані позитивно-зарядженими амінокислотними залишками; після зв'язування  $\text{Ca}^{2+}$  негативний заряд нейтралізується, загальний поверхневий заряд білка змінюється і С2-домен отримує змогу взаємодіяти із фосфоліпідами. Тобто у цьому випадку іони кальцію діють як електростатичний перемикач.

## РОЗДІЛ VI: КОНТАКТНІ МІЖКЛІТИННІ ВЗАЄМОДІЇ

Контактні міжклітинні взаємодії забезпечують механічні контакти між клітинами у тканинах, регулюють тканинний гомеостаз, забезпечують бар'єрну функцію тканин, регулюють проліферацію та міграцію клітин. У випадках порушень цих взаємодій розвиваються різноманітні аномалії тканин, які характерні, зокрема при вроджених патологіях і злоякісних новоутвореннях.

Епітеліальні міжклітинні з'єднання. Епітеліальні тканини мають найбільш виражені міжклітинні контакти. Тому варто розглянути міжклітинні контактні взаємодії на прикладі епітеліїв: кишечника (одношарового) і шкіри (епідермісу, багатшарового). Для епітеліальних тканин характерні три типи з'єднань: щільні контакти (tight junction), адгезивні контакти (adherens junction) та десмосоми (desmosomes). Ці взаємодії підтримують гомеостаз у тканинах, регулюючи їхню структурну цілісність, дифузію іонів і низькомолекулярних речовин, бар'єр від проникнення мікроорганізмів, а також проліферацію і міграцію клітин.

Окремі гістогематичні бар'єри характеризуються особливостями гістологічної структури та існуючих міжклітинних контактних взаємодій. Так, гематоенцефалічний бар'єр (ГЕБ) формується за участі ендотелійних клітин, які знаходяться у тісному контакті з перицитами, причому клітини обох типів секретують компоненти базальної мембрани, якою вони вкриті. Перицити рекрутуються в судини на ранніх етапах ембріонального розвитку та разом із ендотеліоцитами стабілізують ГЕБ; перицити та епітеліоцити формують судинну частину ГЕБ. Астроцити продукують компоненти іншого різновиду міжклітинного матриксу – паренхіматозної мембрани. Кінцеві ніжки астроцитів контактують із судинною частиною ГЕБ та з нейронами, сприяючи дозріванню ГЕБ та формуючи нейроваскулярну складову ГЕБ. Ендотелійні клітини в ГЕБ мають низьку піноцитозну активність, не мають фенестрації та пов'язані між собою складними неперервними щільними контактами в апікальних частинах клітин. Тож, крім виключень окремих ділянок, ГЕБ фактично непроникна для низькомолекулярних речовин, пропускаючи метаболіти до 500 Да.

У кишечника кишково-судинний бар'єр (КСБ) складається з капілярів, асоційованих із перицитами та кишковими гліальними клітинами. Припускають, що у КСБ кишкові гліальні клітини є функціональним аналогом астроцитів у ГЕБ; на користь цього свідчать дані досліджень з трансплантації кишкової глії до пошкодженого спинного мозку, коли така операція спричиняла прискорення відновлення судинної мережі у місці пошкодження та індукцію властивостей ГЕБ. Кишковий ендотелій розташований під шаром

епітелію, таким чином не ускладнюючи абсорбтивну функцію стінки кишечника. Між перицитами, епітеліальними та ентерогліальними клітинами утворюються щільні та адгезивні контакти, а верхня межа такого молекулярного фільтру КСБ є 4 кДа.

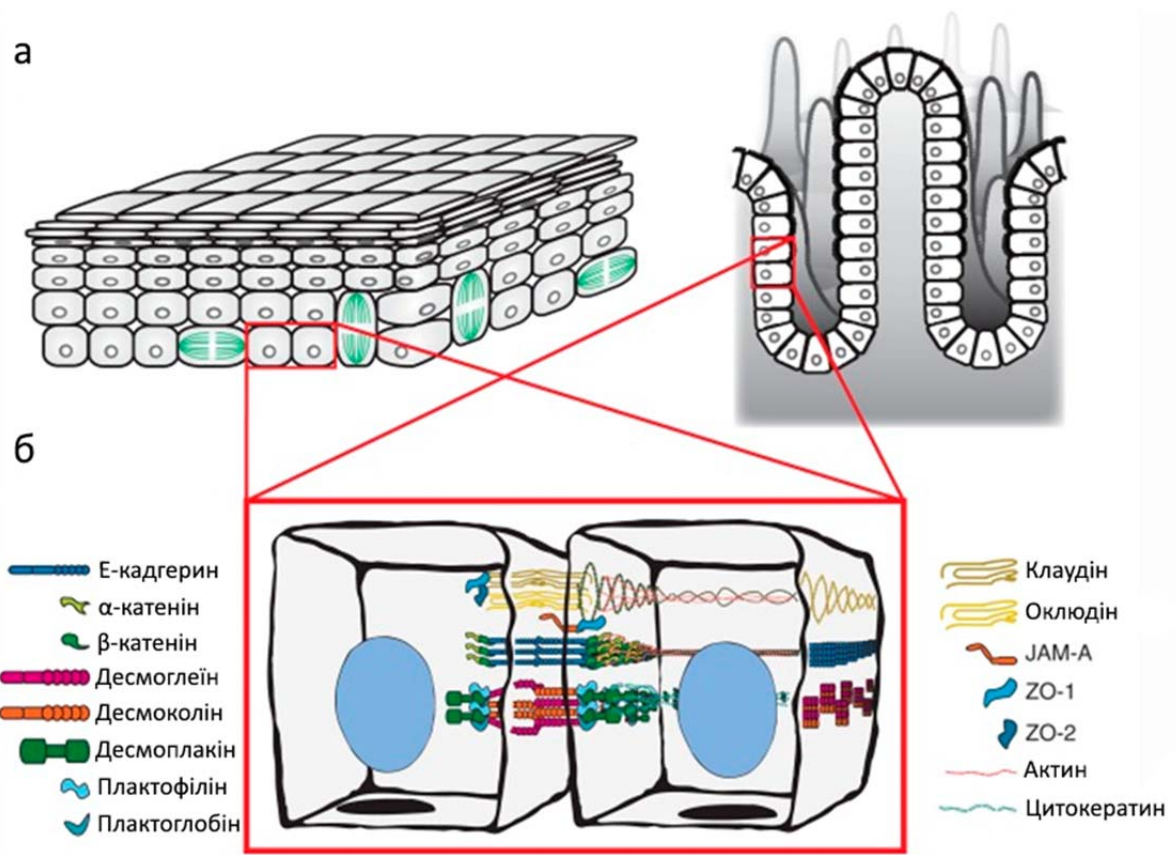


Рис. 56. Тканинна організація і склад клітинних контактів у двох різних епітеліях (кишечнику і епідермісі): (а) – епідерміс (зліва) організований як багат шаровий епітелій, а епітелій кишечника (справа) одношаровий. (б) – склад і просторова організація адгезивних міжклітинних з'єднань в епітеліальній тканині. Щільний контакт розташовується в апікальній ділянці клітини та складається з трансмембранних протеїнів клаудіну та оклюдіну (, а також адапторних протеїнів ZO-1 та ZO-2, які безпосередньо контактують із актиновим цитоскелетом. Адгезивні контакти локалізовані у латеральних мембранах. Вони переважно складаються із трансмембранного протеїну E-кадгерину і адапторних протеїнів β-катеніну і α-катеніну, які безпосередньо взаємодіють із актиновим цитоскелетом клітини. Десмосоми (на рисунку проілюстровано лише одну десмосому, хоча вони у значній кількості локалізуються вздовж латеральної мембрани) складаються з трансмембранних протеїнів десмоколіну і десмоглеїну, а також адапторних протеїнів плактоглобіну, плактофіліну та десмоплакіну, які безпосередньо взаємодіють із проміжними філаментами цитокератину.

Щільні контакти. У ссавців міжклітинні з'єднання типу щільних контактів (ЩК) розташовуються на вершині латеральної мембрани. Фактично ЩК оточують кожну клітину, формуючи протеїнове ущільнення, яке регулює дифузію іонів і розчинних речовин між клітинами (парацелюлярний шлях). ЩК мають дві взаємовиключаючі загальні функції: огороження (попереджує змішування мембранних протеїнів між апікальною та базолатеральною мембранами епітеліоцитів) та воріт (контролюючи парацелюлярне транспортування низькомолекулярних речовин та іонів).

ЩК складаються з двох родин трансмембранних протеїнів: клаудіну та оклюдіну, які формують між клітинами гомотипові комплекси (клаудін-клаудін та оклюдін-оклюдін) (рис. 56).

Оклюдін – трансмембранний протеїн із молекулярною масою ~65 кДа (62 - 82 кДа), який 4 рази перетинає плазматичну мембрану (рис. 57а). Існує дві ізоформи оклюдіну, які утворюються внаслідок альтернативного сплайсингу мРНК і мають спільний розподіл у тканинах.

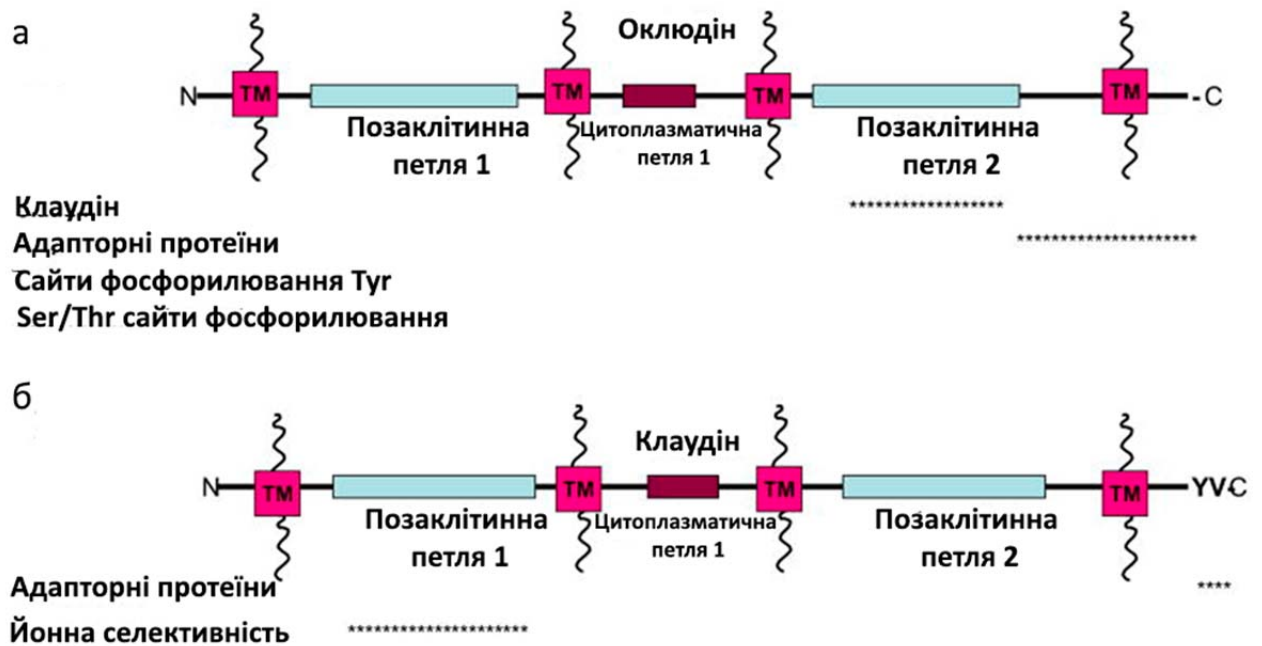


Рис. 57. Схематичне представлення доменної структури трансмембранних протеїнів щільного з'єднання оклюдіну (а) та клаудіну (б). Вказано їхні протеїни-партнери до відповідних доменів, а ділянки зв'язування позначено зірочками.

Локалізація оклюдіну в ЩК3 регулюється фосфорилуванням. Цей протеїн має множинні сайти фосфорилування залишків тирозину, серину і треоніну; також він чутливий до дії лужної фосфатази. Оклюдін є мішенню дії багатьох фосфатаз і кіназ. Нефосфорильований оклюдін локалізується у базолатеральній мембрані клітин, а також цитоплазматичних везикулах, тоді

як фосфорильований – формує ЩК. Цікаво, що на тлі низької концентрації  $Ca^{2+}$  відбувається протеїнкіназа С-залежне збільшення кількості фосфорильованих молекул оклюдіну та їхня локалізація у ЩК. Аналогічно, посилення ЩК спостерігається під дією нерцепторної тирозинкінази c-Yes. Серин/треонін-фосфатаза 2A спричиняє зменшення кількості фосфорильованих молекул оклюдіну.

Позаклітинні домени оклюдіну сприяють локалізації цього протеїну в ЩК. Друга позаклітинна петля молекули оклюдіну взаємодіє з клаудіном та з'єднувальною молекулою адгезії (JAM).

Хоча оклюдін є важливим протеїном ЩК, миші з його нокаутом життєздатні, а їхні епітеліальні тканини мають збережену бар'єрну функцію.

Клаудіни – родина трансмембранних протеїнів ЩК із молекулярною масою 18 - 27 кДа, яка наразі нараховує 27 представників; втім, натепер ідентифіковані транскрипти нових клаудінів, тож, ймовірно остаточна кількість протеїнів цієї родини є більшою. Клаудіни не мають структурної подібності з оклюдіном, однак їхні молекули також чотири рази перетинають площину плазматичної мембрани (рис. 57б).

N- і C-кінці молекули клаудіну локалізовані цитоплазматично: N- дуже короткий (близько 7 амінокислотних залишків) та не має суттєвих функцій, тоді як C-кінець високоваріативний (21 - 63 амінокислотних залишків) і є визначальним для стабілізації клаудінів та їхнього внутрішньоклітинного транспортування. На основі довжини C-кінцевого домена клаудіни поділяють на «класичні» і «некласичні». Класичні клаудіни (з -1 по -9, -14, -17, -19) – структурно подібні, з коротким C-кінцевим доменом, а некласичні клаудіни (-10, -11, -12, -15, -16, -18, -21, -24) мають довгий C-кінець, яким вони взаємодіють із адапторними цитоплазматичними протеїнами. У клаудінів (-1, -2, -4, -5 і -16) C-кінцевий домен може бути фосфорильований, а його фосфорильовання різними протеїнкіназами контролює функцію ЩК. До прикладу, у випадку фосфорильовання (за 207 залишком треоніну) клаудіну-5 протеїнкіназою A спостерігається зниження бар'єрної функції ендотелія мозку, але аналогічне фосфорильовання в ендотелії легень спричиняє підвищення його проникності. Також фосфорильовання залишків серину та треоніну C-кінцевого домену клаудіну-5 внаслідок активації сигналу Rho/ROCK спричиняє збільшення проникності ГЕБ мозку. Також важливо, що у окремих клаудінів C-кінець молекули містить PDZ-зв'язувальний фрагмент, важливий для взаємодії із адапторними протеїнами ZO-1/2/3, PATJ и MUPP1.

Перша позаклітинна петля клаудінів (складається з 42 - 56 амінокислотних залишків) містить високо консервативний сигнатурний фрагмент, важливий для функції у ЩК. Також ця петля відповідальна за селективність заряду і величину проникності парацелюлярного шляху для

іонів. До прикладу, ця частина молекули клаудіну-4 має заміну діаміномонокарбонних амінокислот на моноамінодикарбонів, що призводить до збільшення проникності катіонів, тоді як для клаудіну-15 у цій петлі має місце протилежна заміна амінокислотних залишків та домінування аніонної провідності.

Дуже важливими є функції клаудінів – поєднання герметизації та каналних властивостей у ЩК. Ці протеїни контролюють парацелюлярну проникність для іонів, молекул води та більш крупних молекул, фактично формуючи канали. До прикладу, клаудін-2 утворює канали для одновалентних неорганічних катіонів і молекул води, клаудін-7 формує  $\text{Na}^+$ -канали та клаудін-12 –  $\text{Ca}^{2+}$ -канали; для клаудіну-15 показані властивості  $\text{Na}^+$ -каналу із блокуванням переміщення іонів  $\text{Cl}^-$ .

Тканиноспецифічна експресія клаудінів пов'язана з формуванням гістогематичних бар'єрів (зокрема, гематоенцефалічного, ретинального, плацентарного та кишково-судинного), а її порушення призводить до індукції ряду патологій, зокрема хвороби Альцгеймера, розсіяного склерозу, шизофренії, ішемічного інсульту, запалення та порушення прохідності кишечника тощо. Наразі не викликає сумнівів, що саме патерни експресії клаудінів відіграють надзвичайно важливу роль у варіативності проникності гістогематичних бар'єрів.

У центральній нервовій системі та сітківці ключовим клаудіном є клаудін-5, де він може формувати гомофільні контакти, або взаємодіяти із клаудінами -3 та -1; нокаут клаудіну-5 є летальним на ранніх етапах ембріогенезу. У тонкому кишечнику людини експресуються клаудіни: 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 12 та 15. У епідермісі експресуються клаудіни 1, 4 та 7.

Клаудіни -1, -2 і -7 – найбільш поширені тканинні клаудіни, які регулюють взаємодію між клітинами та позаклітинним матриксом через взаємодію із молекулами інтегринів у фокальних адгезивних контактах. У патологічних умовах у випадку метастатичних клітин вони сприяють їхній адгезії. Також із наявністю розвитку новоутворень корелює поява молекул клаудінів (-1, -2, -3) в ядрі: такі випадки зафіксовані у клітинах раку товстого кишечника і молочної залози, аденокарциноми легень, меланому, карциноми щитоподібної залози та раку едометрія.

### **Інтегрини: структура, активація та участь в міжклітинній комунікації**

Інтегрини – конститутивні рецептори клітинної адгезії, які забезпечують прикріплення клітин до міжклітинного матриксу, а також залучені до спеціалізованих міжклітинних взаємодій. Ці великі гетеродимерні трансмембранні протеїни зв'язують протеїни цитоскелету із міжклітинним

матриком та є необхідними для існування багатоклітинних організмів, фактично утримуючи клітини в тканинах.

Інтегрини є рецепторами до більшості протеїнів міжклітинного матриксу, забезпечуючи двостороннє передавання сигналів до цитоплазми із позаклітинного простору та навпаки з внутрішнього середовища клітини назовні. Інтегрини виконують ряд життєво важливих функцій онтогенезу організму, регулюючи проліферацію, диференціювання і міграцію клітин. Що стосується патологій, то з інтегринами пов'язані зміна адгезивних та інвазивних властивостей пухлинних клітин.

Структура. Інтегрини складаються з двох нековалентно зв'язаних  $\alpha$ - і  $\beta$ -субодиниць. Натепер у хребетних ідентифіковано 18 ізоформ  $\alpha$ -субодиниць, та 8 ізоформ  $\beta$ -субодиниць, які формують 24 гетеродимери, які відрізняються різною експресією в тканинах і властивостями зв'язування. У середньому кожна  $\alpha$ -субодиниця містить близько 1000 амінокислотних залишків та  $\beta$ -субодиниця – близько 750 амінокислотних залишків.

Структура  $\alpha$ -субодиниці інтегринів.  $\alpha$ -субодиниця складається з трьох доменів: внутрішньоклітинного, трансмембранного і позаклітинного. Внутрішньоклітинний домен малий (15 - 77 амінокислотних залишків) та дуже варіює, містячи тільки одну консервативну послідовність GFFXR у проксимальній ділянці плазматичної мембрани; він забезпечує контакт  $\alpha$ -субодиниці інтегрину з протеїнами цитоскелету.

Трансмембранний домен (структурно є  $\alpha$ -спіраллю) один раз перетинає плазматичну мембрану та є консервативним. Цікаво, що зближення трансмембранного домену  $\alpha$ -субодиниці з подібним структурним доменом  $\beta$ -субодиниці характерне для неактивного інтегрину.

Великий позаклітинний домен у свою чергу складається із декількох частин-доменів: на N-кінці поліпептидного ланцюга розташований  $\beta$ -пропелер, який складається з семи лопатей-повторів із 60 амінокислотних залишків. Останні з трьох або чотирьох лопатей пропелера містять також домени EF-hand, що зв'язують іони  $\text{Ca}^{2+}$  на нижньому боці лопатей з боку ліганд-зв'язувальної поверхні: хелатування  $\text{Ca}^{2+}$  алостерично модулює спорідненість зв'язування лігандів інтегрину.

У дев'яти із вісімнадцяти ізоформ  $\alpha$ -субодиниці також між 2 і 3 лопатями  $\beta$ -пропелера міститься I-домен (інша назва A-домен) – послідовність із близько 200 амінокислотних залишків. I-домен – це згортка Росмана з п'яти  $\beta$ -стрендами, які оточені сімома  $\alpha$ -спіралями. Цікаво, що I-домен вперше з'явився у хордових, тож повністю відсутній у безхребетних. Цей домен характерний для інтегринів  $\beta$ 2-підродини, колаген-зв'язувальних інтегринів  $\beta$ 1-підродини ( $\alpha$ 1,  $\alpha$ 2,  $\alpha$ 10 та  $\alpha$ 11), а також  $\alpha$ E-субодиниці, яка утворює гетеродимер  $\alpha$ E $\beta$ 7. Зв'язування ліганду відбувається через ділянку I-

домена, яка координує іон  $Mg^{2+}$  (так званий сайт MIDAS). I-домени, які здатні взаємодіяти із колагенами, також містять спіраль  $\alpha C$ , яка сприяє цій взаємодії.

Загалом  $\beta$ -пропелер також забезпечує димеризацію  $\alpha$ - і  $\beta$ -субодиниць молекули інтегрину, яка відбувається внутрішньоклітинно перед транспортом на поверхню клітини. Цікаво, що зазвичай у клітинах існує надлишок  $\beta$ -субодиниць, а  $\alpha$ -субодиниці визначають кількість інтегринових рецепторів, які з'являться на поверхні клітини, оскільки поодинокі  $\alpha$ - і  $\beta$ -субодиниці в плазматичну мембрану не вбудовуються.

Крім  $\beta$ -пропелера (фактично домен-голівка)  $\alpha$ -субодиниця містить домени, які формують «ногу»: стегно, гомілку-1, гомілку-2 (рис. 58).

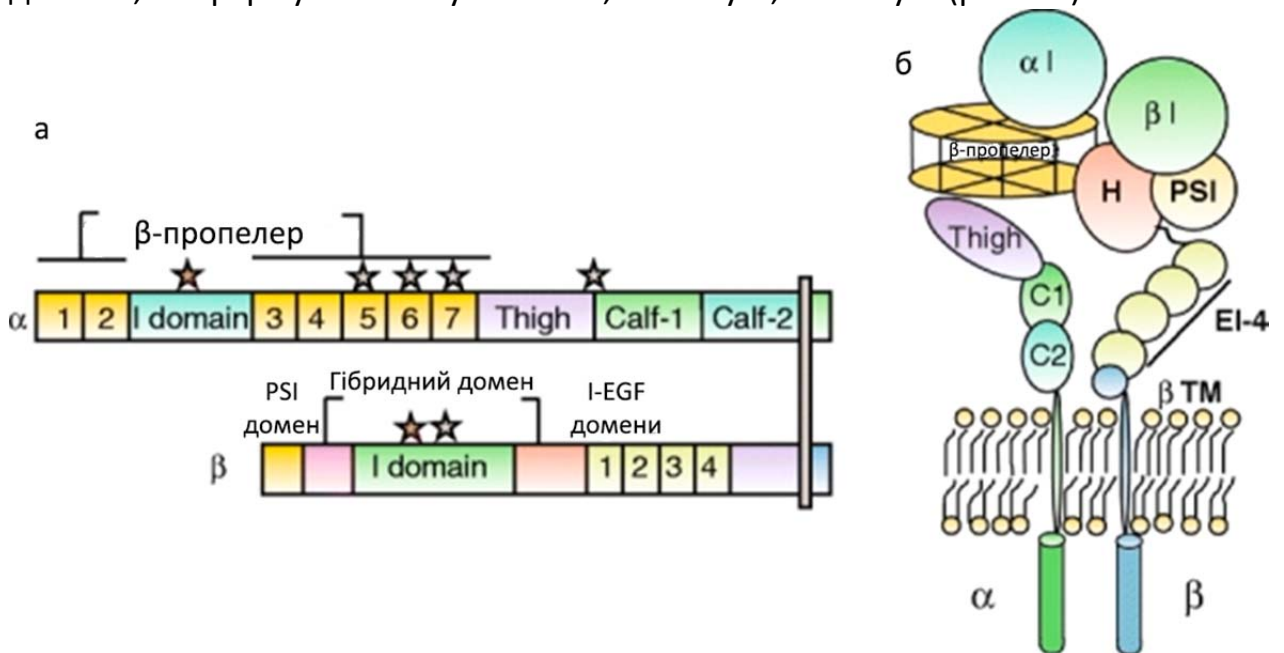


Рис. 58. Схематична будова інтегрину, який містить  $\alpha I$ -домен. Дев'ять із вісімнадцяти ізоформ  $\alpha$ -субодиниці інтегрину містять  $\alpha I$ -домен, але у всіх ізоформах  $\beta$ -субодиниці міститься  $\beta I$ -домен: (а) – схема розташування доменів у субодиницях інтегрину; зірочками показані сайти зв'язування двовалентних іонів; (б) – схема розташування доменів інтегрину, вбудованого у плазматичну мембрану. Домени  $\alpha$ -субодиниці:  $\beta$ -пропелер з  $\alpha I$ -доменом, стегно, гомілка-1, гомілка-2; домени  $\beta$ -субодиниці: домен плекстрин-семафорин-інтегрин – PSI, чотири гомологічні домени до епідермального фактора росту – EGF.

$\beta$ -субодиниця інтегрину містить сім доменів: домен гомології плекстрин-семафорин-інтегрин (PSI), гібридний домен,  $\beta I$ -домен та чотири збагачених цистеїном повтори епідермального фактора росту (EGF).

$\beta I$ -домен координує іон  $Mg^{2+}$  за рахунок присутньому тут сайту MIDAS. Поряд з сайтом MIDAS розташовується ділянка ADMIDAS, яка також має іон-

зв'язувальну ділянку: у випадку формування координаційного зв'язку з  $\text{Ca}^{2+}$  перехід інтегрину в активну форму інгібується, а при координуванні  $\text{Mn}^{2+}$  – навпаки активується.

Цитоплазматичний фрагмент  $\beta$ -субодиниці містить послідовності  $\text{NPX/Y}$ , які дозволяють зв'язувати протеїни з РТВ-доменами. Такі контакти  $\beta$ -субодиниці з цитозольними протеїнами регулюють зміни загальної конформації інтегрину (перехід із неактивної в активну форму і навпаки).

За ліганд-зв'язувальними властивостями та субодиничним складом інтегрини об'єднують у підгрупи (рис. 59). Характеристики  $\alpha$ - і  $\beta$ -субодиниць інтегринів людини наведено у табл. 10 та 11 відповідно. Інтегрини, які містять у своєму складі субодиниці  $\beta 1$ ,  $\beta 2$  та  $\alpha \nu$ , – найбільш великі групи.

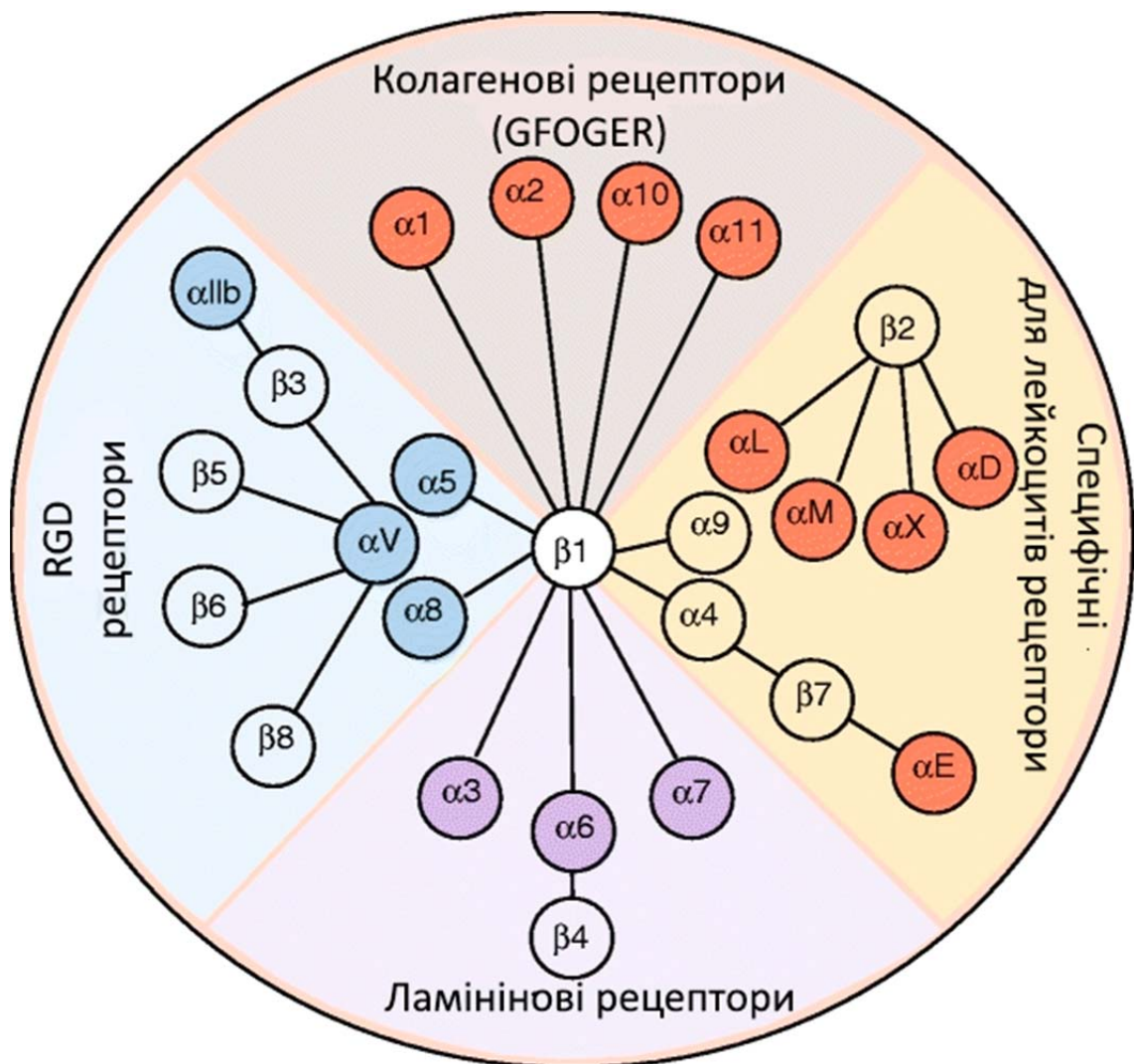


Рис. 59. Підгрупи родини інтегринів вищих хребетних та характерні для них пари гетеродимерів  $\alpha$ - і  $\beta$ -субодиниць.

Табл. 10. Характеристики  $\alpha$ -субодиниць інтегринів людини

| №  | Інтегрин                             | Властивості $\alpha$ -субодиниці                            | Розщеплення | $\alpha$ I | Прототипний ліганд                    |
|----|--------------------------------------|---|-------------|------------|---------------------------------------|
| 1  | $\alpha$ 1 $\beta$ 1 (CD49a, VLA1)   | 1151 ак   |             | +          | Колагени                              |
| 2  | $\alpha$ 2 $\beta$ 1 (CD49b, VLA2)   | 1181 ак   |             | +          | Колагени                              |
| 3  | $\alpha$ 3 $\beta$ 1 (CD49c, VLA3)   | 1151 ак, сплайс варіанти $\alpha$ 3A та $\alpha$ 3B         | +           |            | Ламініни                              |
| 4  | $\alpha$ 4 $\beta$ 1 (CD49d, VLA4)   | 1038 ак   |             |            | Фібронектин VCAM-1                    |
| 5  | $\alpha$ 5 $\beta$ 1 (CD49e, VLA5)   | 1049 ак   | +           |            | Фібронектин (RGD)                     |
| 6  | $\alpha$ 6 $\beta$ 1 (CD49f, VLA6)   | 1073 ак, сплайс варіанти $\alpha$ 6A та $\alpha$ 6B         | +           |            | Ламініни                              |
| 7  | $\alpha$ 7 $\beta$ 1                 | 1137 ак, сплайс варіанти X1, X2, $\alpha$ 7A та $\alpha$ 7B | +           |            | Ламініни                              |
| 8  | $\alpha$ 8 $\beta$ 1                 | 1025 ак   | +           |            | Фібронектин, вітронектин, нефронектин |
| 9  | $\alpha$ 9 $\beta$ 1                 | 1035 ак   |             |            | VEGF                                  |
| 10 | $\alpha$ 10 $\beta$ 1                | 1167 ак   |             | +          | Колагени                              |
| 11 | $\alpha$ 11 $\beta$ 1                | 1188 ак   |             | +          | Колагени                              |
| 12 | $\alpha$ L $\beta$ 2 (CD11a)         | 1170 ак   |             | +          | ICAM-1, -2, -3, -5                    |
| 13 | $\alpha$ M $\beta$ 2 (CD11b)         | 1153 ак   |             | +          | iC3b, фібриноген                      |
| 14 | $\alpha$ X $\beta$ 2 (CD11c)         | 1163 ак   |             | +          | iC3b, фібриноген                      |
| 15 | $\alpha$ D $\beta$ 2 (CD11d)         | 1162 ак   |             | +          | ICAM-3, VCAM-1                        |
| 16 | $\alpha$ IIb $\beta$ 3 (CD41, GpIIb) | 1039 ак   | +           |            | Фібриноген, фібронектин               |
| 17 | $\alpha$ 6 $\beta$ 4                 |   | +           |            | Ламініни                              |
| 18 | $\alpha$ v $\beta$ 1 (CD51)          | 1048 ак   | +           |            | Фібронектин, вітронектин              |

| №  | Інтегрин                          | Властивості $\alpha$ -субодиниці | Розщеплення | $\alpha I$ | Прототипний ліганд                  |
|----|-----------------------------------|----------------------------------|-------------|------------|-------------------------------------|
| 19 | $\alpha v \beta 3$                |                                  | +           |            | Вітронектин, фібронектин, фібриоген |
| 20 | $\alpha v \beta 5$                |                                  | +           |            | Вітронектин                         |
| 21 | $\alpha v \beta 6$                |                                  | +           |            | Фібронектин, TGF- $\beta$           |
| 22 | $\alpha v \beta 8$                |                                  | +           |            | Вітронектин, TGF- $\beta$           |
| 23 | $\alpha E \beta 7$ (CD103, HML-1) | 1178 ак                          | +           | +          | E-кадгерин                          |
| 24 | $\alpha 4 \beta 7$                |                                  |             |            | MadCAM-1, фібронектин, VCAM-1       |

Примітки: VCAM – молекула адгезії судинних клітин, TGF- $\beta$  – трансформуючий фактор росту  $\beta$ , ICAM – молекула міжклітинної адгезії.

Взаємодія інтегринів із лігандами. Інтегрини взаємодіють з широким спектром лігандів, багато протеїнів міжклітинного матриксу та поверхні клітин можуть вибірково зв'язувати лише декілька інтегринів. Загалом взаємодія лігандів із інтегринами реалізується між кислими фрагментами протеїнів-лігандів та катіон-зв'язувальною ділянкою інтегрину. Комбінації інтегрин-ліганд можна поділити на чотири головні класи залежно від характеру міжмолекулярної взаємодії. Так, всі п'ять інтегринів  $\alpha v$ , два інтегрини  $\beta 1$  (комплекси з  $\alpha 5$  і  $\alpha 8$ ) та  $\alpha 11 \beta 3$  впізнають сайт із присутнім у ньому трипептидом RGD. RGD зв'язується на межі між  $\alpha$ - і  $\beta$ -субодиницями, при цьому лужний залишок розташовується у кишені  $\beta$ -пропелеру  $\alpha$ -субодиниці, а кислий залишок формує координаційний зв'язок з катіоном  $\beta 1$ -домену. RGD-зв'язуючі інтегрини здатні впізнавати велику кількість протеїнів міжклітинного матриксу та розчинних позаклітинних протеїнових лігандів, втім ці взаємодії мають різну афінність.

Інтегрини  $\alpha 4 \beta 1$ ,  $\alpha 4 \beta 7$ ,  $\alpha 9 \beta 1$ , чотири представники підродини  $\beta 2$  та  $\alpha E \beta 7$  розпізнають споріднені послідовності лігандів:  $\alpha 4 \beta 1$ ,  $\alpha 4 \beta 7$ ,  $\alpha 9 \beta 1$  контактують лігандами, які мають консервативний кислий трипептид LDV. Цей фрагмент розпізнається аналогічно до трипептиду RGD на ділянці контакту між  $\alpha$ - і  $\beta$ -субодиницями; залишок аспартату D формує з катіоном  $\beta$ -субодиниці координаційний зв'язок. Інтегрини підродини  $\beta 2$  впізнають сайти лігандів гомологічні LDV-фрагментів і також реалізують взаємодію із лігандом подібним чином, але головну роль у ній відіграє I-домен  $\alpha$ -субодиниці;

залишок глутамату Е формує із катіоном  $\beta$ -субодиниці координаційний зв'язок.

Чотири інтегрини з  $\alpha$ -субодиницями, які містять I-домен ( $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\alpha 10$  і  $\alpha 11$ ) та формують гетеродимери з  $\beta 1$ -субодиницями утворюють окрему підродину інтегринів, які зв'язують ламінін/колаген. У даному випадку контактна поверхня колагену містить фрагмент GFOGER, у якому критично важливий координаційний зв'язок із катіоном  $\beta$ -субодиниці інтегрину забезпечує залишок глутамату Е. Що стосується ламініну, контактну ділянку в його молекулі формують карбоксильний кінець  $\gamma$ -ланцюга та частина G-доменів  $\alpha$ -субодиниці.

**Табл. 11. Характеристика  $\beta$ -субодиниць інтегринів людини**

| <b><math>\beta</math>-субодиниця інтегрину</b> | <b>Характеристики</b>  | <b>Примітки</b>  |
|--|--|--|
| $\beta 1$ (CD29, GpIIa)                        | 798 ак, сплайс варіанти $\beta 1A$ , $\beta 1B$ , $\beta 1C$ та $\beta 1D$ | Сплайс варіанти $\beta 1B$ та $\beta 1C$ не характерні для миші, мінорні варіанти з невідомою функцією |
| $\beta 2$ (CD18)                               | 769 ак   |  |
| $\beta 3$ (CD61, GpIIIa)                       | 788 ак, сплайс варіанти $\beta 3A$ , $\beta 3B$ та $\beta 3C$              | Сплайс варіант $\beta 3A$ домінуючий   |
| $\beta 4$ (CD104, TSP-180)                     | 875 ак, сплайс варіанти $\beta 4A-E$                                       |  |
| $\beta 5$                                      | 799 ак, сплайс варіанти $\beta 5A$ та $\beta 5B$                           | Обидва сплайс-варіанти виконують подібні функції   |
| $\beta 6$                                      | 788 ак   |  |
| $\beta 7$ (LPAМ-1, $\beta P$ )                 | 798 ак   |  |
| $\beta 8$                                      | 769 ак   |  |

Врешті, три інтегрини  $\beta 1$  ( $\alpha 3$ ,  $\alpha 6$  та  $\alpha 7$ ) та інтегрин  $\alpha 6\beta 4$  є високоселективними рецепторами ламініну. Цікаво, що у цьому випадку активний сайт ліганду не має вираженої гомології.

Структурні перебудови інтегринів при активації лігандами. Інтегрини, будучи рецепторами клітинної адгезії, здатні динамічно реагувати на позаклітинне оточення. Передавання внутрішньоклітинних сигналів інтегринами обумовлюється їхньою здатністю ініціювати збірку та перебудову сигнальних протеїнових комплексів у цитоплазмі клітини. Утворення сигнальних протеїнових комплексів може індукуватися інтегринами двома шляхами: по-перше, внаслідок кластеризації інтегринових рецепторів та, по-друге і головним чином, внаслідок зміни конформації

рецепторів; в обох цих випадках відбуваються суттєві зміни ефективності ліганд-рецепторних взаємодій.

Молекули інтегринів можуть перебувати у трьох станах: зігнуто-закритій (неактивній конформації, при якій стерично неможлива взаємодія з лігандом), розігнуто-закритій (проміжній конформації із низькою спорідненістю до ліганду) та розігнуто-відкритій (активній конформації інтегрину із високою спорідненістю до ліганду) (рис. 60). Активація молекули інтегрину, під час якої відбувається її масштабна перебудова, індукується внутрішньоклітинними адаптерними протеїнами таліном та кінділіном). На дистальних і проксимальних кінцях цитоплазматичного домену  $\beta$ -субодиниці інтегрину розташовуються сайти зв'язування цих цитозольних протеїнів. Зокрема, ідентифіковано послідовність амінокислот TTV/STF  $\beta$ -субодиниці, яка зв'язує димер кінділіну, причому прикладання сили до інтегринів підвищує міцність взаємодії їхніх молекул з кінділіном. Важливо, що взаємодія молекули інтегрину з цитозольними адаптерними протеїнами призводить до стабілізації цього рецептора у високоафінному стані. Фактично це є ситуація, яка обумовлює передачу сигналів напрямку від внутрішньоклітинних протеїнів до позаклітинного оточення.

У ділянках фокальної адгезії активні та неактивні молекули інтегринів формують нанокластери (рис. 61). В окремих нанокластерах чітко містяться або лише активні, або лише неактивні молекули. Передавання сигналу через молекули інтегринів у напрямку цитозоль > позаклітинне середовище, яке сприяє зв'язуванню позаклітинних лігандів, забезпечується взаємодією протеїнів таліну та кінділіну із проксимальними і дистальними ділянками  $\beta$ -субодиниці; це призводить також до кластеризації.

Варто підкреслити, що активація інтегринів – тонко налаштований процес. Так, опосередкована таліном активація молекули інтегрину за відсутності діючої сили забезпечує ступінчасту регуляцію активації інтегрину навіть у алостерично стабілізованому високоафінному стані. І навпаки, прикладання до молекули інтегрину сили з боку цитоскелету через адапторні протеїни або зв'язування ліганду стабілізує інтегрин у розігнуто-відкритій активній конформації, забезпечуючи, таким чином надчутливу відкриту конформацію. Як наслідок, до прикладу, на поверхні імунних клітин, які перебувають у стані спокою, розташовуються лише 0,1 - 0,9 % активних молекул інтегринів.

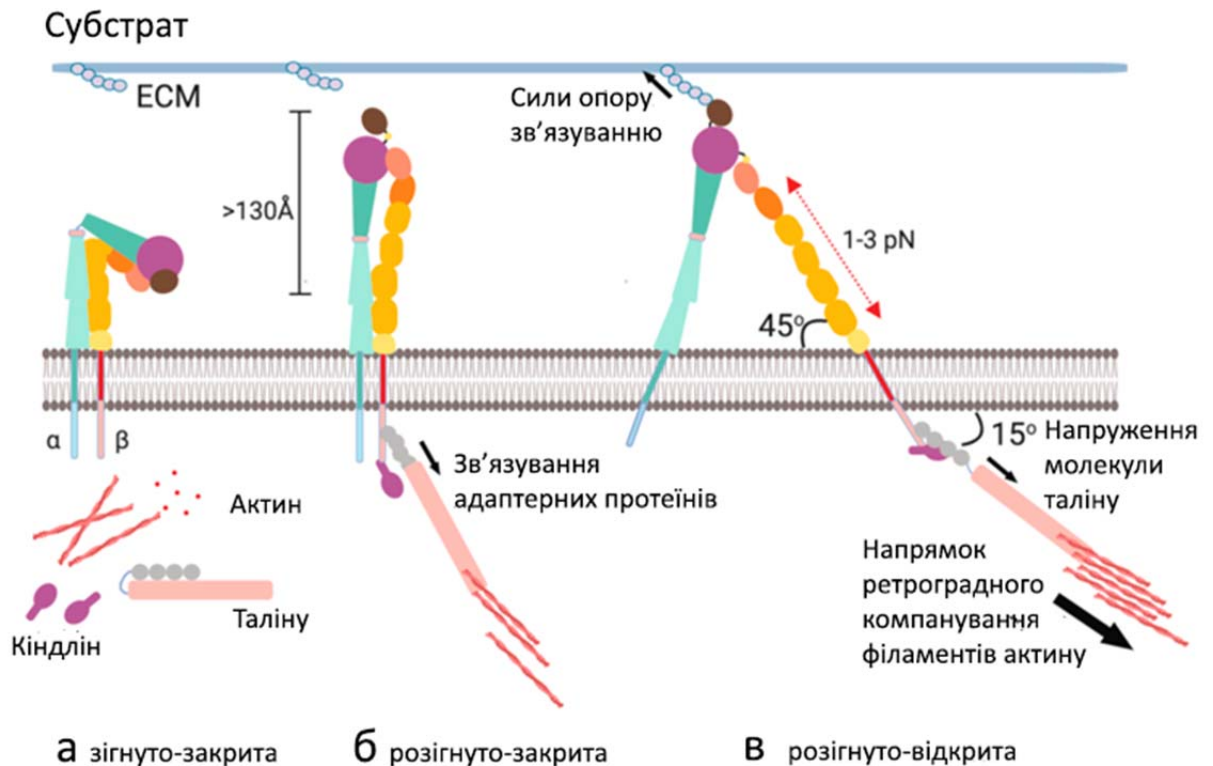


Рис. 60. Структурно-функціональні властивості молекули інтегрину. Молекули інтегринів можуть перебувати у трьох станах: (а) зігнуто-закрита (неактивна конформація, при якій інтегрин не взаємодіє із лігандом); (б) розігнуто-закрита (проміжна конформація із низькою спорідненістю до ліганду, яка може виникати при зв'язуванні цитозольних адаптерних протеїнів таліну та/або кіндліну); (в) розігнуто-відкрита – активна конформація інтегрину, яка можлива при одночасному зв'язуванні ліганду та внутрішньоклітинних адаптерних протеїнів, які контактують із актиновим цитоскелетом. Зв'язування внутрішньоклітинних адаптерних протеїнів з інтегрином призводить до його переходу в подовжену (розігнуту) конформацію, коли довжина молекули збільшується на понад 1,3 нм: сили опору зв'язуванню ліганду та адаптерів (тонкі чорні стрілки) створюють напруження на інтегрин 1-3 пН (позначено двонаправленою стрілкою). Напрямок ретроградного компанування філаментів актину (товсті чорні стрілки) створює напруження молекули таліну та обумовлює його розташування під кутом 15° відносно площини плазматичної мембрани. Це, в свою чергу, обумовлює нахил β-субодиниці інтегрину під кутом ~45° відносно площини плазматичної мембрани. Таким чином, кути розташування β-субодиниці інтегрину та філаментів актину стають практично однаковими, сили, які діють на інтегрин, зрівноважуються та стабілізують його у конформації із високою спорідненістю до ліганду.

Внутрішньоклітинні адапторні та сигнальні протеїни діють як регулятори талін-опосередкованої активації інтегринів. Так, сигнальний каскад Rap1-RIAM активує зняття автоінгібування зігнуто-закритої конформації молекули інтегрину. Навпаки, протеїни, які містять SH3- і аніринові домени, пригнічують талінову активацію.

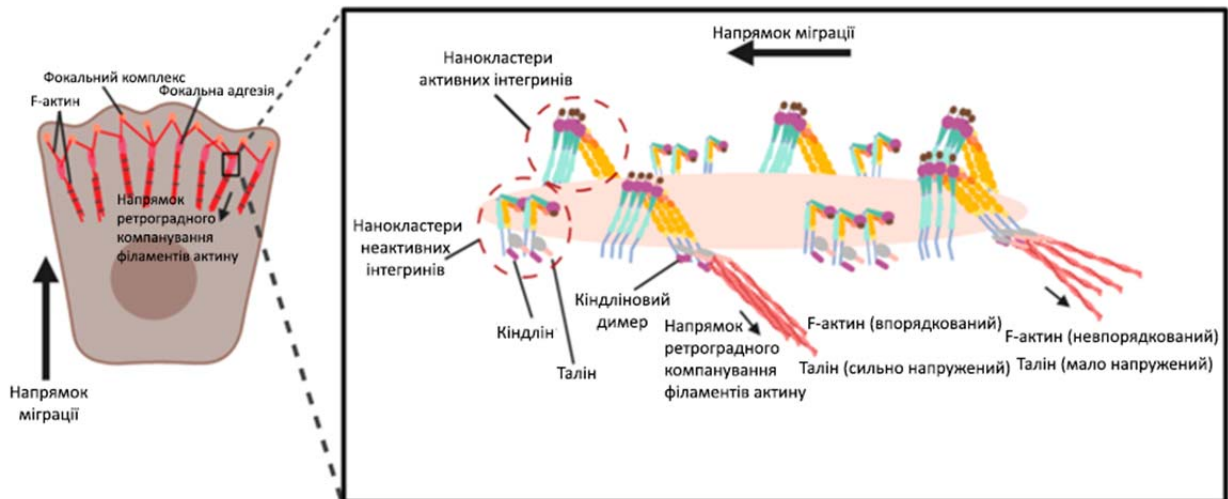


Рис. 61. Молекулярна організація структур інтегринів у ділянках фокальної адгезії.

Фізіологічна роль інтегринів у окремих тканинах організму. Механосенсорне сприйняття інтегринів є фактично ключовим регулятором фізіологічних процесів на тканинному рівні. Так, як показано на прикладі ембріогенезу *Xenopus*, підвищена механічна жорсткість мезодерми запускає колективну міграцію нервового гребеня при розвитку ембріонів. Також показано, що при ембріогенезі *Drosophila amniosera* інтегрини регулюють апікальні сили, які протидіють натягу апікальної мембрани, забезпечуючи досягнення їхнього балансу, необхідного для дорсального закриття.

Також механосенсорне сприйняття інтегринів відіграє ключову роль у серцево-судинній системі. Так, сили стискання, які здійснюють еритроцити на тромбоцити у капілярній мережі, забезпечують механічний сигнал (через  $\alpha IIb\beta 3$ -інтегрини) для активації інтегринів, забезпечуючи активацію адгезію тромбоцитів. Аналогічно реалізується передавання ангіокринних сигналів (через  $\beta 1$ -інтегрини) при механічному розтягуванні ендотелію судин, при перфузії печінки; це сприяє виживанню гепатоцитів, їхній проліферації та регенерації печінки.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Цимбалюк О.В., Толстановна Г.М., Войтешенко І.С., Грабчук Г.П., Давидовська Т.Л., Нипорко О.Ю., Науменко А.М. Молекулярна фармакологія. Навчальний посібник. Київ, Видавництво ЦП "КОМПРИНТ" 2019 р., 216 с.
2. Krauss G. Biochemistry of Signal Transduction and Regulation. Fifth, Completely Revised Edition / Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2014. - 845 p.
3. Byrne J.H., Heidelberger R., Waxham M.N. FROM MOLECULES TO NETWORKS. An Introduction to Cellular and Molecular Neuroscience. THIRD EDITION / Elsevier Inc., 2014. - 692 p.
4. Lodish H., Berk A., Kaiser C.A., Krieger M., Bretscher A., Ploegh H., Amon A., Scott M.P. MOLECULAR CELL BIOLOGY. SEVENTH EDITION / W. H. Freeman and Company, New York, 2013. - 1247 p.
5. Pollard T., Earnshaw W., Lippincott-Schwartz J., Johnson G. Cell Biology. 3rd Edition / Elsevier, 2017. - 882 p.
6. Textbook of receptor pharmacology / edited by John C. Foreman, Torben Johansen. — 2nd ed. - CRC Press, 2003. - 302 p.
7. Hammond, C. Cellular and molecular neurophysiology. Third edition. - Amsterdam: ELSEVIER, 2008. - 405 p.
8. Внутрішньоклітинна кальцієва сигналізація: структури і функції / П.Г. Костюк, О.П. Костюк, О.О. Лук'янець – Київ, "Наукова думка", 2010, – 175 с.
9. Шуба Я.М. Основи молекулярної фізіології іонних каналів, Київ., Наукова Думка, 2010, 448 с
10. <https://www.biochemistry-dnu.dp.ua/wp-content/downloads/metodichki/molek-mekh-mizkl-kom-ushakova.pdf>
11. Yang, D., Zhou, Q., Labroska, V., Qin, S., Darbalaei, S., Wu, Y., Yuliantie, E., Xie, L., Tao, H., Cheng, J., Liu, Q., Zhao, S., Shui, W., Jiang, Y., & Wang, M. W. (2021). G protein-coupled receptors: structure- and function-based drug discovery. *Signal transduction and targeted therapy*, 6(1), 7. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-00435-w>.
12. Weis, W. I., & Kobilka, B. K. (2018). The Molecular Basis of G Protein-Coupled Receptor Activation. *Annual review of biochemistry*, 87, 897–919. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060614-033910>
13. Cooper D. M. (2003). Regulation and organization of adenylyl cyclases and cAMP. *The Biochemical journal*, 375(Pt 3), 517–529. <https://doi.org/10.1042/BJ20031061>.

14. Offermanns S. (2003). G-proteins as transducers in transmembrane signalling. *Progress in biophysics and molecular biology*, 83(2), 101–130. [https://doi.org/10.1016/s0079-6107\(03\)00052-x](https://doi.org/10.1016/s0079-6107(03)00052-x).
15. Syrovatkina, V., Alegre, K. O., Dey, R., & Huang, X. Y. (2016). Regulation, Signaling, and Physiological Functions of G-Proteins. *Journal of molecular biology*, 428(19), 3850–3868. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2016.08.002>.
16. Jackson, L., Qifti, A., Pearce, K. M., & Scarlata, S. (2020). Regulation of bifunctional proteins in cells: Lessons from the phospholipase C $\beta$ /G protein pathway. *Protein science : a publication of the Protein Society*, 29(6), 1258–1268. <https://doi.org/10.1002/pro.3809>.
17. Haga T. (2013). Molecular properties of muscarinic acetylcholine receptors. *Proceedings of the Japan Academy. Series B, Physical and biological sciences*, 89(6), 226–256. <https://doi.org/10.2183/pjab.89.226>.
18. Bassler, J., Schultz, J. E., & Lupas, A. N. (2018). Adenylate cyclases: Receivers, transducers, and generators of signals. *Cellular signalling*, 46, 135–144. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2018.03.002>.
19. Scarlata S. (2019). The role of phospholipase C $\beta$  on the plasma membrane and in the cytosol: How modular domains enable novel functions. *Advances in biological regulation*, 73, 100636. <https://doi.org/10.1016/j.jbior.2019.100636>.
20. Khannpnavar, B., Mehta, V., Qi, C., & Korkhov, V. (2020). Structure and function of adenylyl cyclases, key enzymes in cellular signaling. *Current opinion in structural biology*, 63, 34–41. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2020.03.003>.
21. Textbook of medical physiology. Arthur C. Guyton, John E. Hall, 11th ed. 2006. – 1116 p.
22. Alexander, S. P. H., Christopoulos, A., Davenport, A. P., Kelly, E., Mathie, A., Peters, J. A., Veale, E. L., Armstrong, J. F., Faccenda, E., Harding, S. D., Pawson, A. J., Sharman, J. L., Southan, C., Davies, J. A., & CGTP Collaborators (2019). THE CONCISE GUIDE TO PHARMACOLOGY 2019/20: G protein-coupled receptors. *British journal of pharmacology*, 176 Suppl 1(Suppl 1), S21–S141. <https://doi.org/10.1111/bph.14748>.
23. Milligan, G., & Kostenis, E. (2006). Heterotrimeric G-proteins: a short history. *British journal of pharmacology*, 147 Suppl 1(Suppl 1), S46–S55. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706405>.
24. Offermanns S. (2003). G-proteins as transducers in transmembrane signalling. *Progress in biophysics and molecular biology*, 83(2), 101–130. [https://doi.org/10.1016/s0079-6107\(03\)00052-x](https://doi.org/10.1016/s0079-6107(03)00052-x).
25. Kankanamge, D., Tennakoon, M., Karunarathne, A., & Gautam, N. (2022). G protein gamma subunit, a hidden master regulator of GPCR signaling. *The*

- Journal of biological chemistry*, 298(12), 102618.  
<https://doi.org/10.1016/j.jbc.2022.102618>.
26. Delmas, P., Coste, B., Gamper, N., & Shapiro, M. S. (2005). Phosphoinositide lipid second messengers: new paradigms for calcium channel modulation. *Neuron*, 47(2), 179–182.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2005.07.001>.
  27. Давидовська Т.Л., Цимбалюк О.В., Грабчук Г.П. Войтешенко І.С. Нипорко О.Ю., Федоренко Т.В. Науменко А.М. Латишенко Л.А. Фізика біосистем у формулах, термінах, схемах. Київ, Видавництво ЦП "КОМПРИНТ" 2017 р., 210 с.
  28. Garcia, M. A., Nelson, W. J., & Chavez, N. (2018). Cell-Cell Junctions Organize Structural and Signaling Networks. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 10(4), a029181.  
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a029181>
  29. Campbell ID, Humphries MJ. Integrin structure, activation, and interactions. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2011 Mar 1;3(3):a004994. doi: 10.1101/cshperspect.a004994. PMID: 21421922; PMCID: PMC3039929.
  30. Barczyk M, Carracedo S, Gullberg D. Integrins. *Cell Tissue Res*. 2010 Jan;339(1):269-80. doi: 10.1007/s00441-009-0834-6. Epub 2009 Aug 20. PMID: 19693543; PMCID: PMC2784866.
  31. Michael M, Parsons M. New perspectives on integrin-dependent adhesions. *Curr Opin Cell Biol*. 2020 Apr;63:31-37. doi: 10.1016/j.ceb.2019.12.008. Epub 2020 Jan 13. PMID: 31945690; PMCID: PMC7262580.
  32. Hartsock, A., & Nelson, W. J. (2008). Adherens and tight junctions: structure, function and connections to the actin cytoskeleton. *Biochimica et biophysica acta*, 1778(3), 660–669.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2007.07.012>.
  33. Scalise, A. A., Kakogiannos, N., Zanardi, F., Iannelli, F., & Giannotta, M. (2021). The blood-brain and gut-vascular barriers: from the perspective of claudins. *Tissue barriers*, 9(3), 1926190.  
<https://doi.org/10.1080/21688370.2021.1926190>.
  34. Kobilka BK, Deupi X. Conformational complexity of G-protein-coupled receptors. *Trends Pharmacol Sci*. 2007 Aug;28(8):397-406. doi: 10.1016/j.tips.2007.06.003. Epub 2007 Jul 13. PMID: 17629961.
  35. Deupi X, Kobilka B. Activation of G protein-coupled receptors. *Adv Protein Chem*. 2007;74:137-66. doi: 10.1016/S0065-3233(07)74004-4. PMID: 17854657.
  36. Gomperts B.D., Tatham P.E.R., Kramer I.M. *Signal Transduction*, 1st Edition, Academic Press; 2003, 440 p.

37. Sukumaran P, Nascimento Da Conceicao V, Sun Y, Ahamad N, Saraiva LR, Selvaraj S, Singh BB. Calcium Signaling Regulates Autophagy and Apoptosis. *Cells*. 2021 Aug 18;10(8):2125. doi: 10.3390/cells10082125. PMID: 34440894; PMCID: PMC8394685.
38. Bootman MD. Calcium signaling. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2012 Jul 1;4(7):a011171. doi: 10.1101/cshperspect.a011171. PMID: 22751152; PMCID: PMC3385957.
39. Carafoli E, Krebs J. Why Calcium? How Calcium Became the Best Communicator. *J Biol Chem*. 2016 Sep 30;291(40):20849-20857. doi: 10.1074/jbc.R116.735894. Epub 2016 Jul 26. PMID: 27462077; PMCID: PMC5076498.
40. Lundberg JO, Weitzberg E. Nitric oxide signaling in health and disease. *Cell*. 2022 Aug 4;185(16):2853-2878. doi: 10.1016/j.cell.2022.06.010. PMID: 35931019.
41. Leo F, Hutzler B, Ruddiman CA, Isakson BE, Cortese-Krott MM. Cellular microdomains for nitric oxide signaling in endothelium and red blood cells. *Nitric Oxide*. 2020 Mar 1;96:44-53. doi: 10.1016/j.niox.2020.01.002. Epub 2020 Jan 3. PMID: 31911123; PMCID: PMC7295034.
42. Mutchler SM, Straub AC. Compartmentalized nitric oxide signaling in the resistance vasculature. *Nitric Oxide*. 2015 Sep 15;49:8-15. doi: 10.1016/j.niox.2015.05.003. Epub 2015 May 28. PMID: 26028569; PMCID: PMC4545383.
43. Mujoo K, Krumenacker JS, Murad F. Nitric oxide-cyclic GMP signaling in stem cell differentiation. *Free Radic Biol Med*. 2011 Dec 15;51(12):2150-7. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.09.037. Epub 2011 Oct 6. PMID: 22019632; PMCID: PMC3232180.

## ЗМІСТ

|            |  |     |
|------------|--|-----|
|            | ПЕРЕЛІК ОКРЕМИХ СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ ТА ПОЯСНЕННЯ ДО НИХ                                       | 3   |
|            | Вступ  | 27  |
| РОЗДІЛ I   | РЕЦЕПТОРИ, СПРЯЖЕНІ З ГЕТЕРОТРИМЕРНИМИ G-БІЛКАМИ   | 31  |
| РОЗДІЛ II  | ЛІГАНДКЕРОВАНІ ІОННІ КАНАЛИ  | 91  |
| РОЗДІЛ III | ТРАНСМЕМБРАННІ РЕЦЕПТОРИ, ВНУТРІШНЬОКЛІТИННИЙ ДОМЕН<br>ЯКИХ ВОЛОДІЄ ТИРОЗИНКІНАЗНОЮ АКТИВНІСТЮ | 106 |
| РОЗДІЛ IV  | МЕХАНІЗМИ СИГНАЛІЗАЦІЇ ЗА ДОПОМОГОЮ ГАЗОТРАНСМІТЕРІВ:<br>ОКСИД АЗОТУ                           | 114 |
| РОЗДІЛ V   | КАЛЬЦІЄВИЙ СИГНАЛ  | 122 |
| РОЗДІЛ VI  | КОНТАКТНІ МІЖКЛІТИННІ ВЗАЄМОДІЇ  | 132 |
|            | ЛІТЕРАТУРА   | 146 |

**Навчальне видання**

**ЦИМБАЛЮК** Ольга Володимирівна

**ДРАГАН** Анатолій Іванович

**ТОЛСТАНОВА** Ганна Миколаївна

**ВОЙТЕШЕНКО** Іван Сергійович

**ДАВИДОВСЬКА** Тамара Леонідівна

**ГРАБЧУК** Галина Петрівна

**НИПОРКО** Олексій Юрійович

**Міжклітинні взаємодії**

*Навчальний посібник*