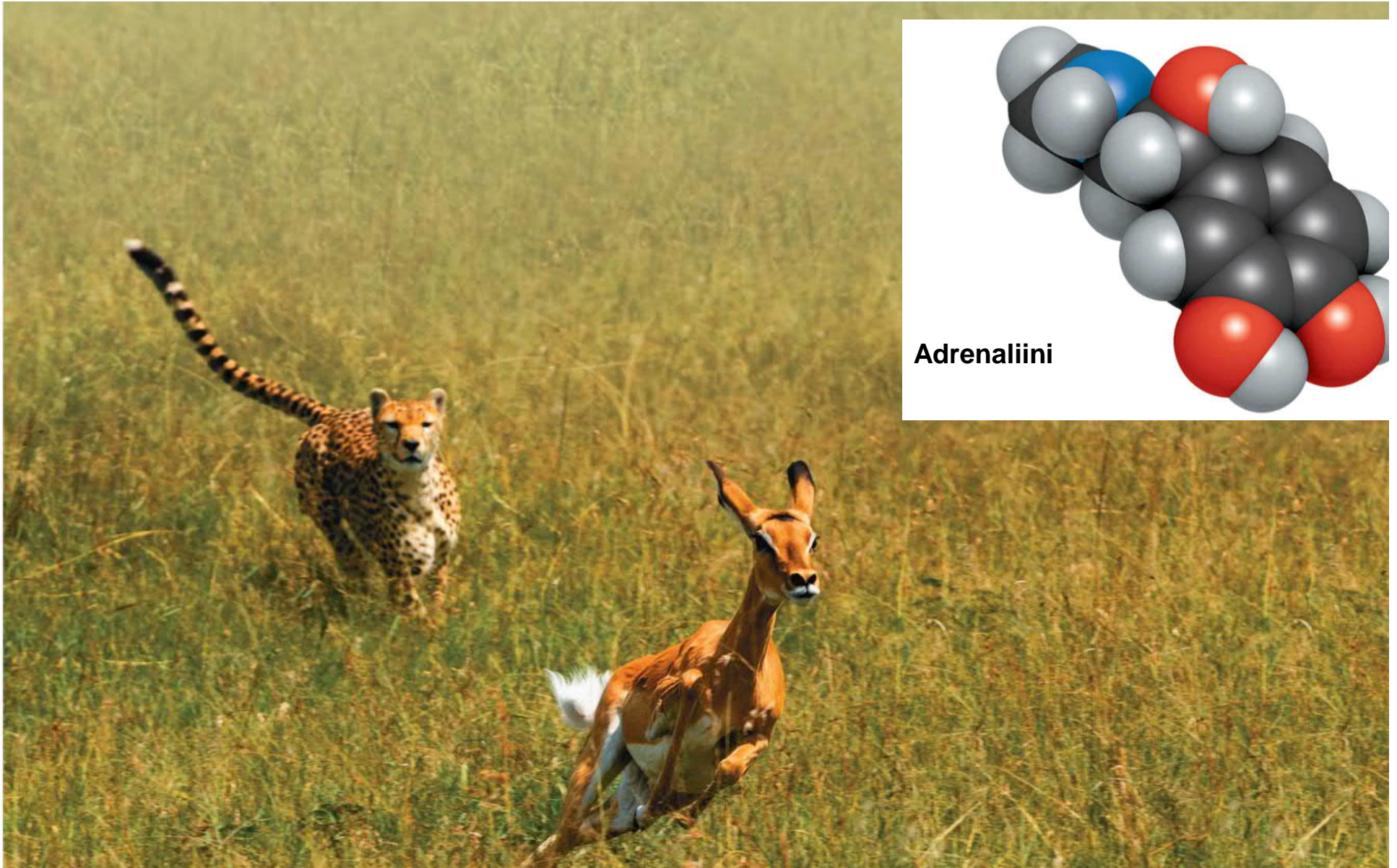


Solu- ja molekyylibiologian perusteet

Signalointi: Informaatio solun ulkopuolelta

Solujen viestintä

- Solut viestivät toistensa kanssa ja saavat informaatiota ympäristöstä
 - Usein kemikaalisia viestimolekyylejä
 - Signaaliprosessoinnissa ei ole "älykästä toimijaa" ainoastaan yksinkertaisia kemiallisia prosesseja
- Samat signaalimolekyylit vaikuttavat erilaisissa prosesseissa
 - Esim. Ca^{2+} hedelmöityksessä, lihaksen supistumisessa, hermovälittäjäaineiden ja hormonien eristyksessä



Adrenaliini

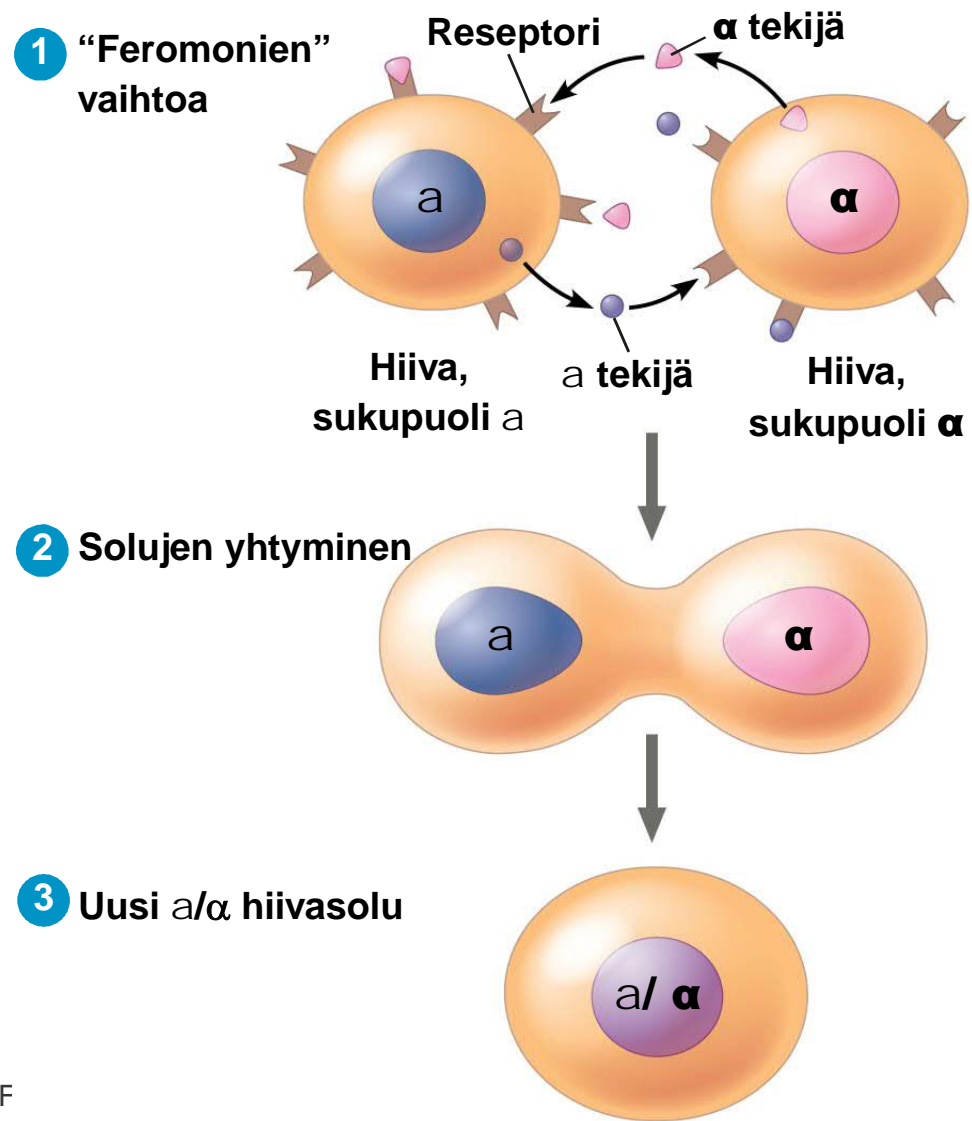
Solunulkoiset signaalit muutetaan solun toiminnaksi

Signaloinnin periaatteet ovat samat kaikilla organismeilla, joten mikro-organismien toiminta antaa yksinkertaisen mallin signaalien toiminnasta



Signaalin evoluutio

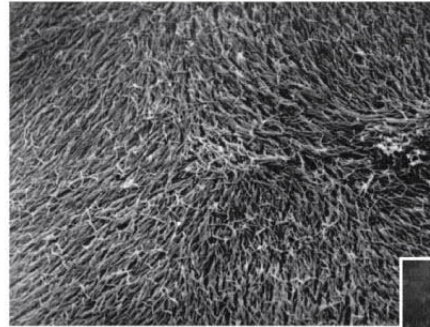
- Hiivalla, *Saccharomyces cerevisiae*, on kaksi sukupuolta, α and a
 - Solut erittävät sukupuolelleen tyypillisiä aineita ja houkuttelevat siten toisiaan
- Signaalinvälitys muuttaa solukalvolla havaitun signaalin solun sisäiseksi toiminnaksi
 - Hiivan ja ihmisen signaalinvälitys pitkälti samanlaista



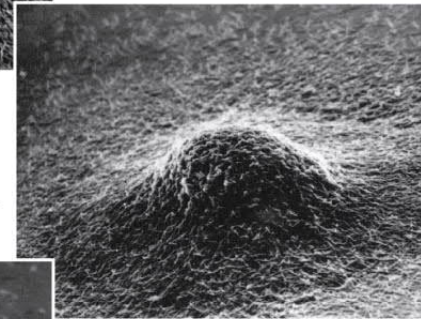
Solujen aistiminen ei rajoitu pelkästään eläimiin

- Samanlaiset molekulaariset mekanismit yhteiseen kantamuotoon
 - Yksisoluisilla alkeistumallisilla ja aitotumallisilla samat prosessit kuin monisoluisilla eliöillä
- Miksi solusignaalit ovat niin tärkeitä mikrobeille?
 - Esim. signaalimolekyylit välittävät tietoa populaation tiheydestä

1 Yksittäisiä
sauvamaisia
soluja

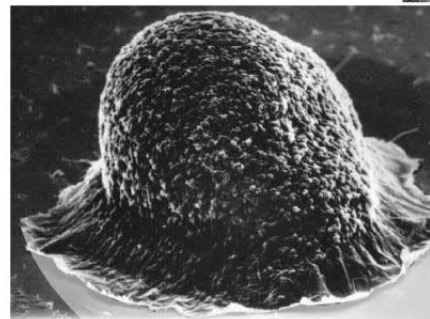


2 Solujen
tiivistyminen



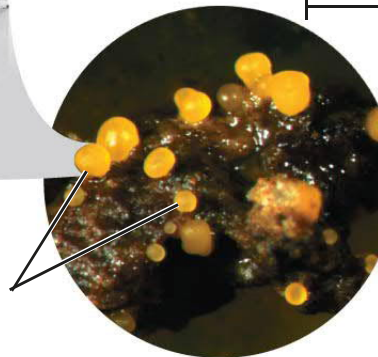
0.5 mm

3 Itiötä
muodostava
itiöemä
(fruiting body)



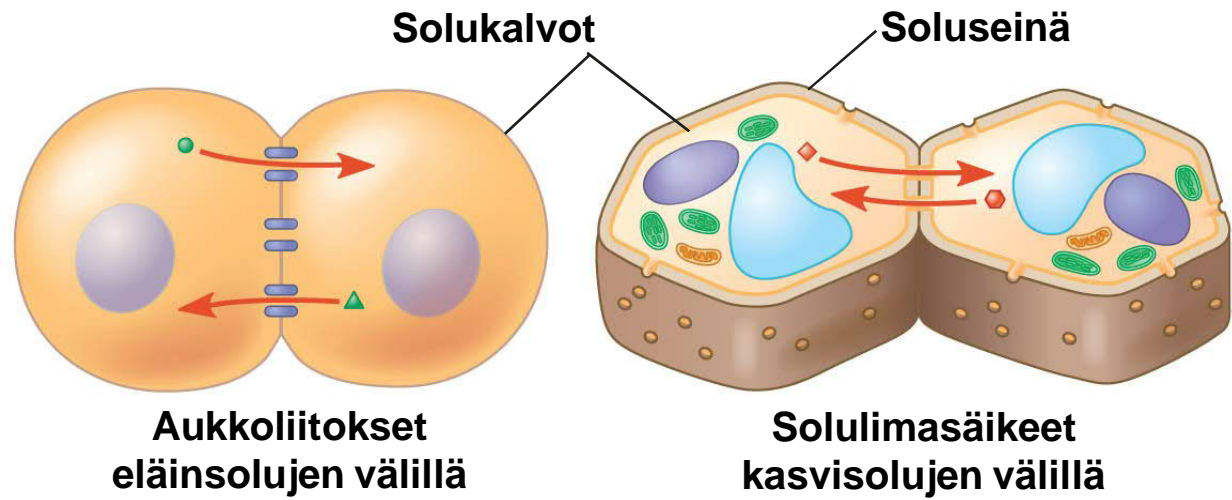
2.5 mm

Itiöemä

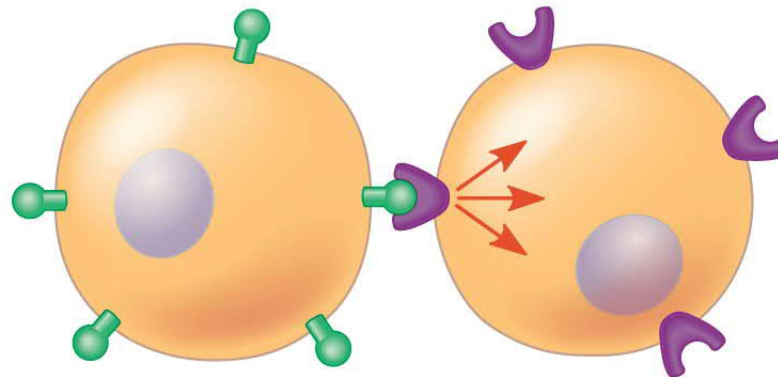


Lyhyen ja pitkän välimatkan signaointi

- Monisoluiset eliöt viestivät erilaisilla signaalimolekyyleillä
 - Perinteinen jako eläimillä hormonaaliseen ja hermostolliseen säätelyyn, vaikka parempi jako on paikallinen ja pitkän välimatkan signaointi.
- Paikalliset signaalit vaikuttavat suoralla solukontaktilla
 - Solulimasäikeet (kasveilla) ja aukkoliitokset (eläimillä)
 - Soluliman säätelijät pääsevät virtaamaan viereisiin soluihin vapaasti



(a) Soluliitokset



(b) Solujen tunnistaminen

Parakriininen viestintä

Mikäli suora yhteys viereiseen soluun puuttuu, kommunikointia läheisiin soluihin (parakriininen viestintä)

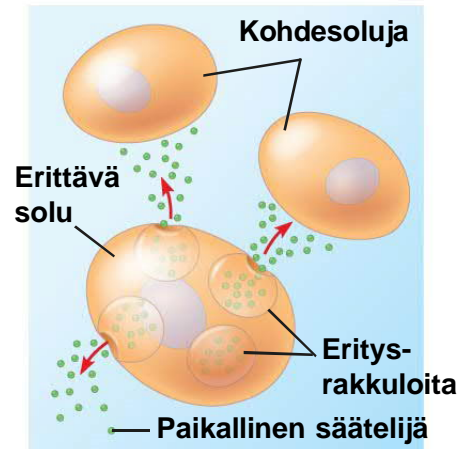
- Kasvutekijät vaikuttava läheisten solujen kasvuun ja jakautumiseen
- Hermosolut viestivät hermovälittäjäaineilla
- Kohdealuetta voidaan rajoittaa viestimolekyylin rakenteella tai molekyyliä sitovilla säätelijöillä
- Huonosti tunnettu kasveilla

Hormonit

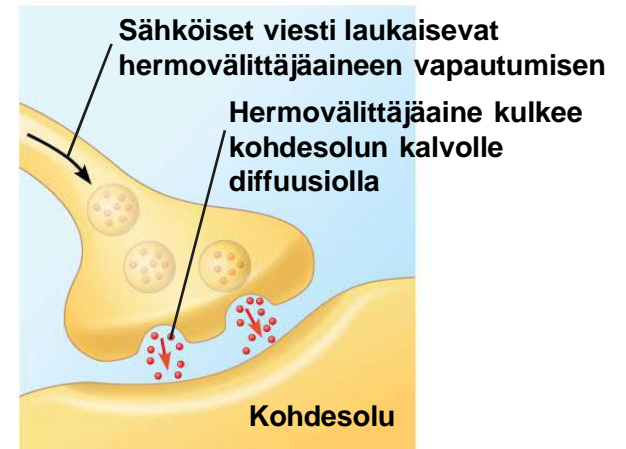
Pitkän matkan viestintä sekä kasveilla että eläimillä toimii hormoneilla

- Eläimillä hormonit eritetään endokriinisistä soluista ('sisäeritteinen'), jotka erittävät viestimolekyylin solun ulkopuolelle
- Hormoni pääsee vaikuttamaan laajalla alueella, mutta vain, jos hormonille on olemassa sopiva reseptori.
- Solut voivat myös toimia autokriinisesti eli säädellä itse itseään

Paikallinen viestintä

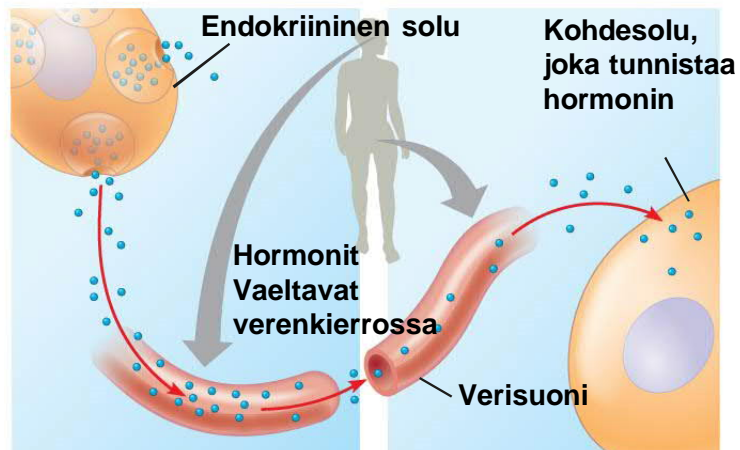


(a) Parakriinen viestintä



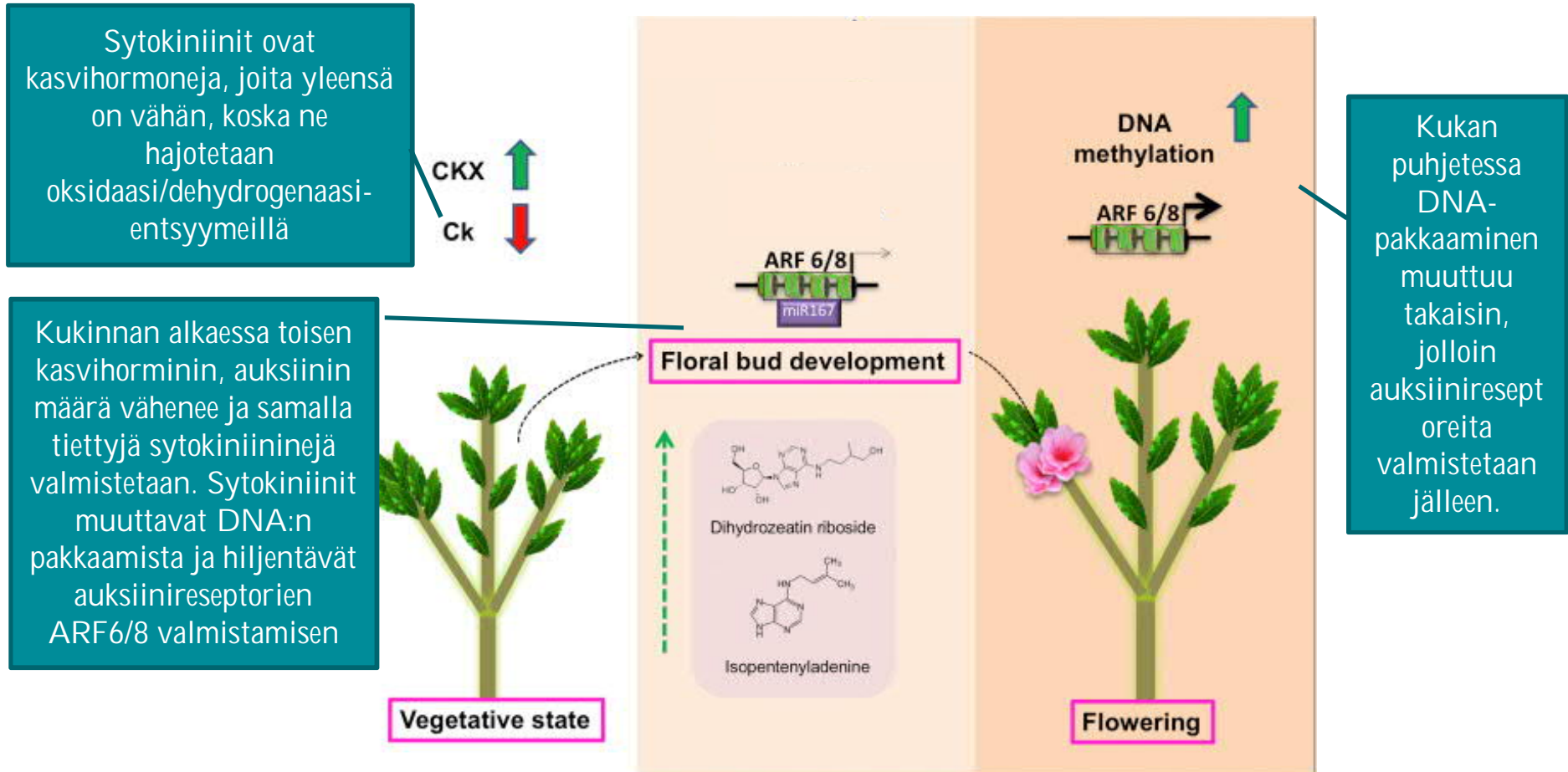
(b) Synaptinen viestintä

Pitkän välimatkan viestintä



(c) Endokriininen (hormonaalinen) viestintä

Signalointi ei ole eläinten yksinoikeus



Kiitos!



UNIVERSITY OF
EASTERN FINLAND

uef.fi

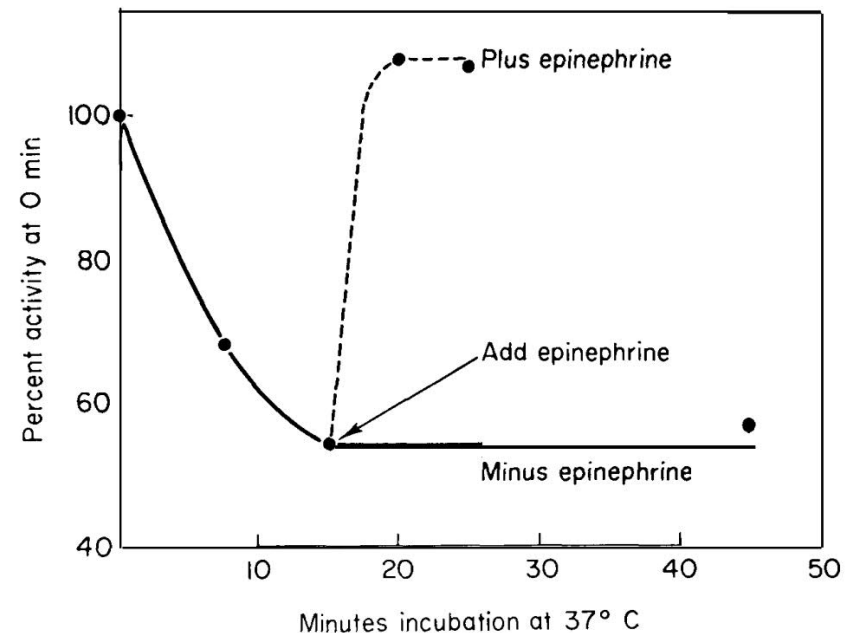


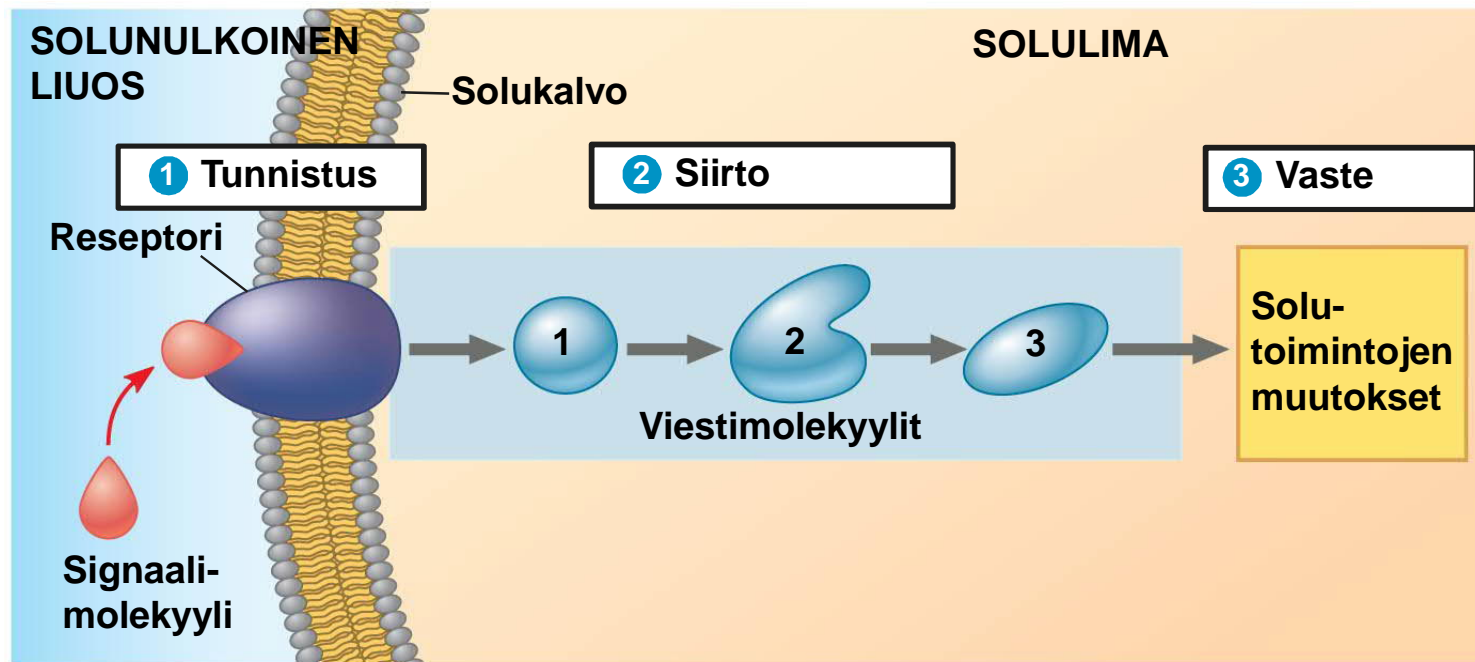
Solu- ja molekyylibiologian perusteet

Signalointi: Signaloinnin vaihteet

Solujen signaloinnin kolme vaihetta

- Earl W. Sutherland sai vuonna 1971 Fysiologian Nobel-palkinnon adrenaliinin signalointireitin selvittämisestä.
 - Samana vuonna kuin Pablo Neruda
- Tiivistä prosessin kolmeen vaiheeseen:
 1. Hormonin tunnistus reseptorilla
 2. Signaalin siirto
 3. Soluvaste/vaikutus

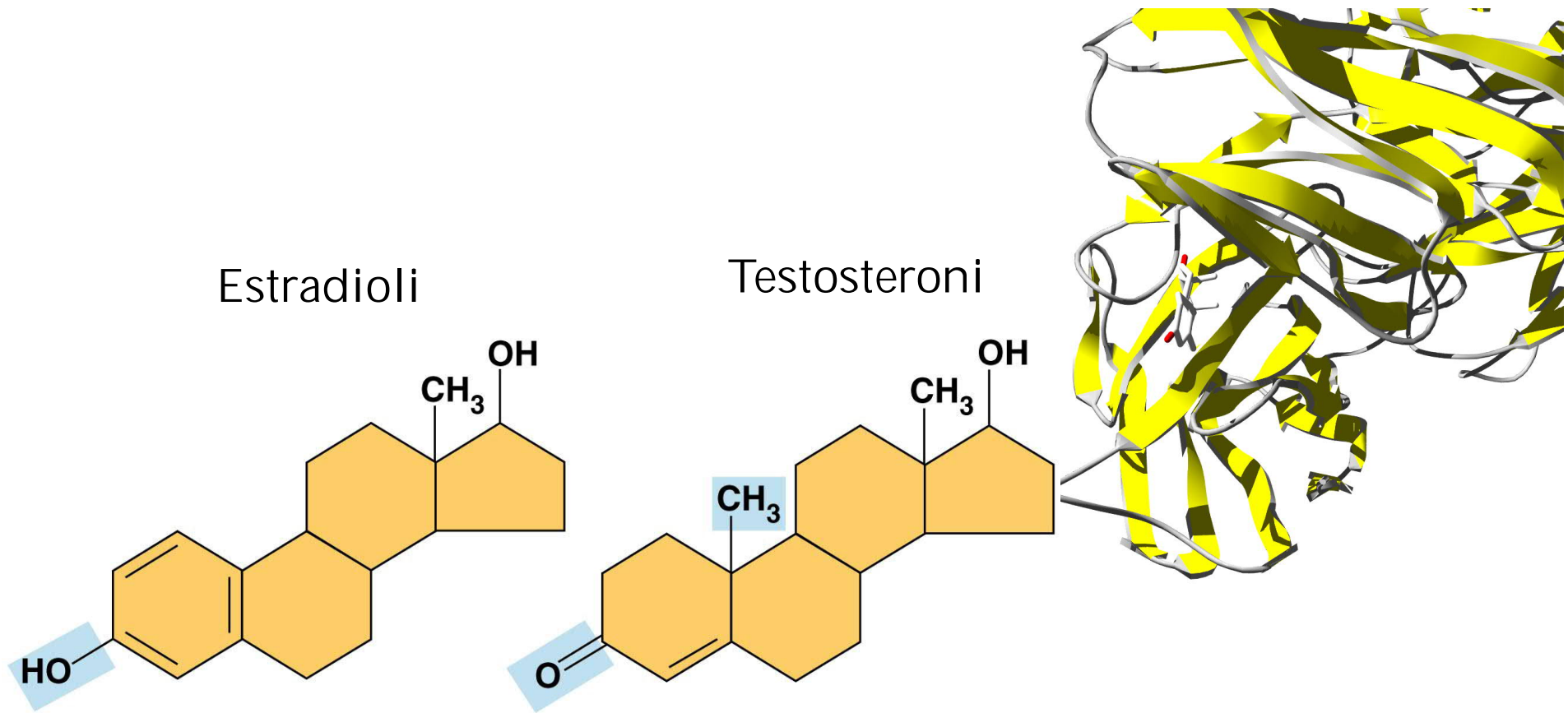




Tunnistus

Solusignaalin tunnistuksessa signaalimolekyyli kiinnittyy reseptoriin ja muuttaa sen rakennetta

- Signaalimolekyylin (ligandin) kiinnittyminen reseptoriin on hyvin spesifiä
 - Perustuu ligandin ja sen kiinnittymispaikan kolmiulotteiseen rakenteeseen
 - Esim. testosteroni ja estrogeeni ovat hyvin toistensa kaltaisia, mutta reseptori tunnistaa ne hyvin toisistaan.
 - Useimmat reseptorit ovat kalvoproteiineja
 - Reseptorin rakenne muuttuu ligandin liittyessä



Reseptorien testaaminen ja siinä käytetty nimitys

Usein reseptorien vaikutusta testataan erilaisilla kemikaaleilla, joiden toivotaan vaikuttavan reseptorin toimintaan

- Agonisti: kemikaali, jolla reseptori saadaan aktivoitua
 - Kilpailevat agonistit sitoutuvat ligandin tilalle
 - Agonisti voi myös lukita reseptorin aktiiviseen tilaan
- Antagonisti: kemikaali, joka estää reseptorin toiminnan (inhibiittori)
 - Kilpailevat antagonistit sitoutuvat ligandin tilalle
 - Voi myös muuten estää toiminnan

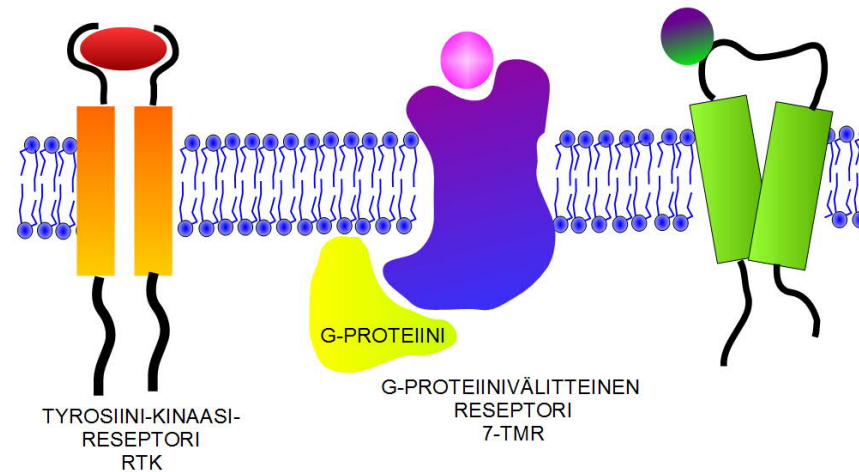
Kiitos!



UNIVERSITY OF
EASTERN FINLAND

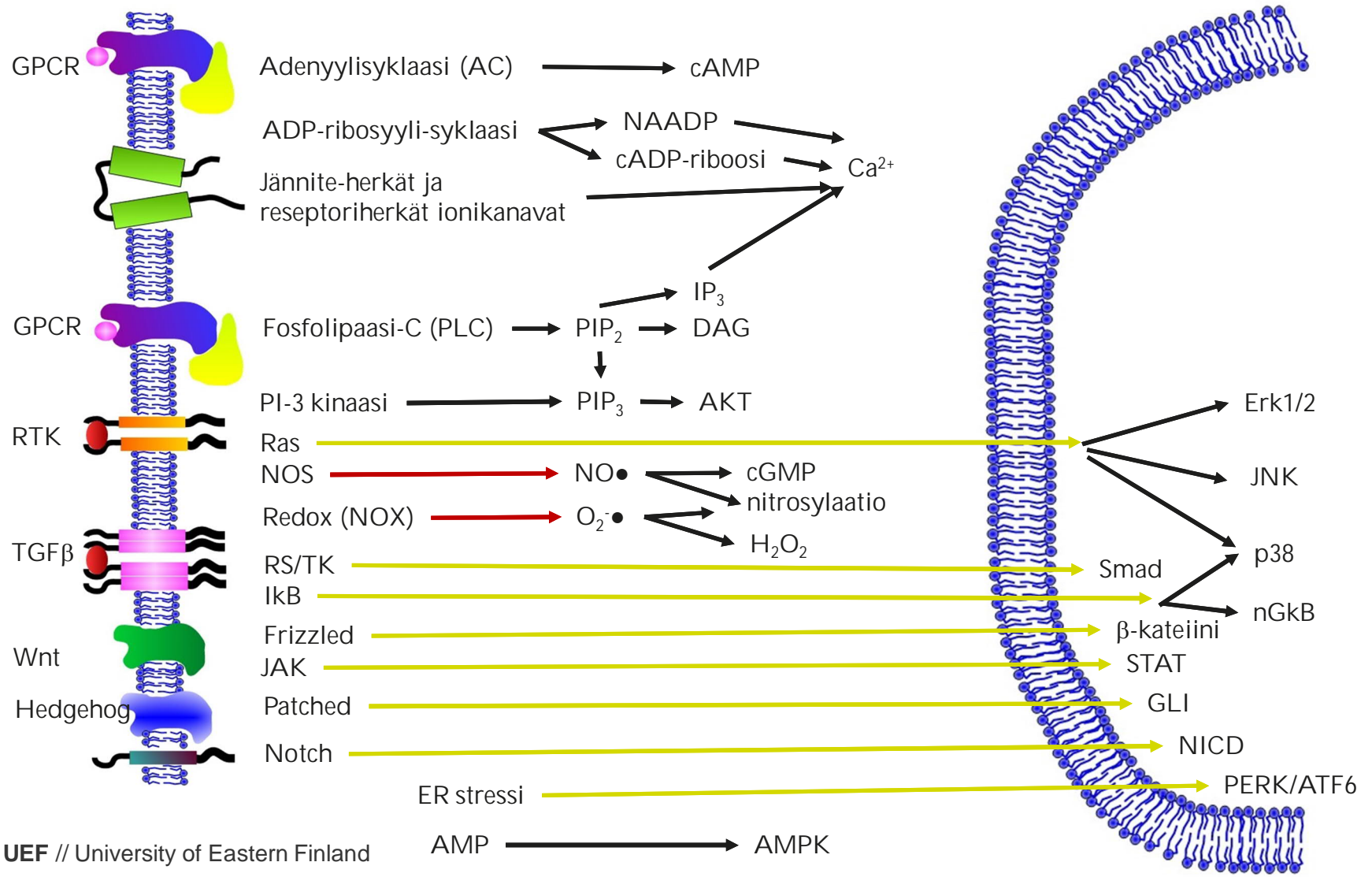
uef.fi





Solu- ja molekyylibiologian perusteet

Signalointi: Solukalvon reseptorit

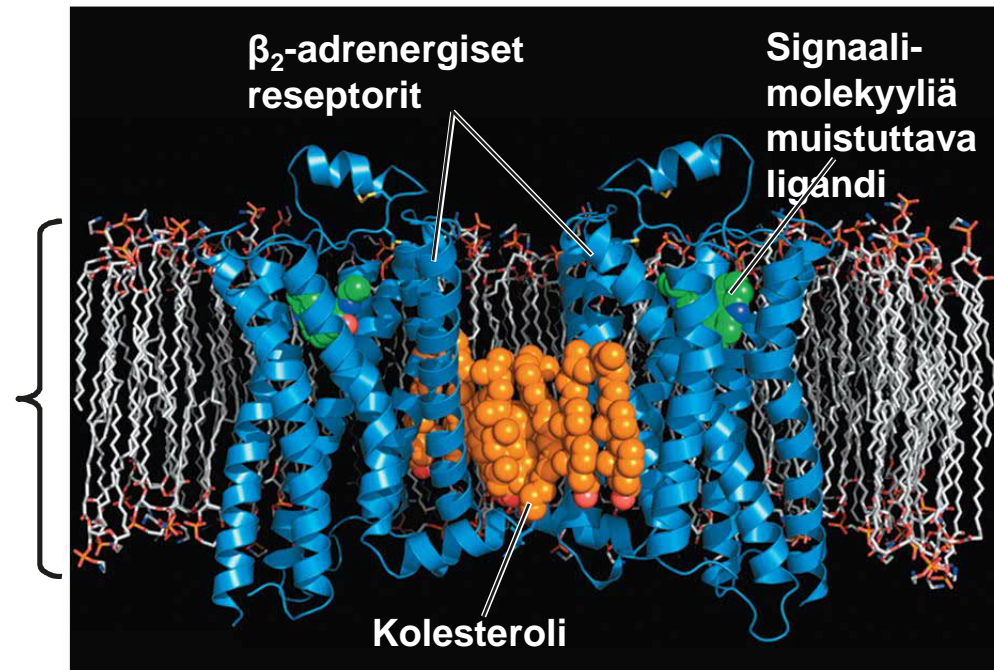


G-proteiini-välitteiset reseptorit

G-proteiinivälitteiset (GPCRs) reseptorit on suurin solukalvon reseptorien joukko.

G-proteiinivälitteisiä reseptoreita kutsutaan rakenteensa vuoksi 7TM-reseptoreiksi (seitsemän solukalvon läpäisevää α -heliksiä)

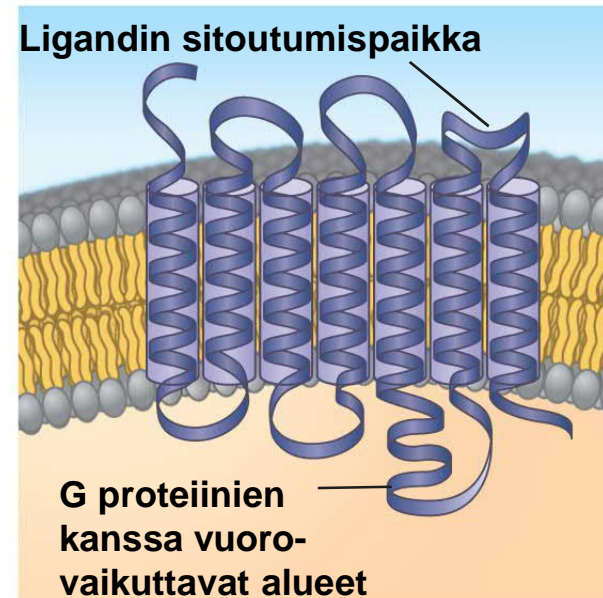
Solukalvo

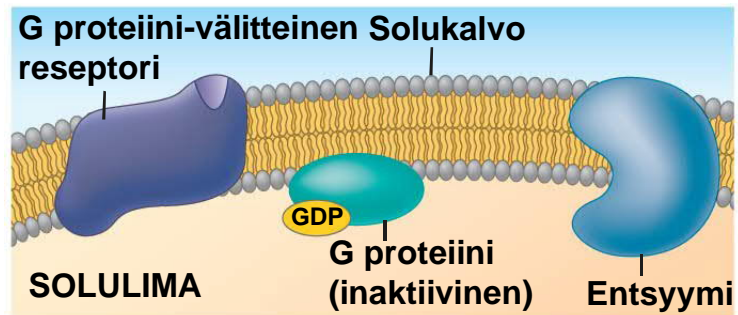


G-proteiini-välitteiset reseptorit

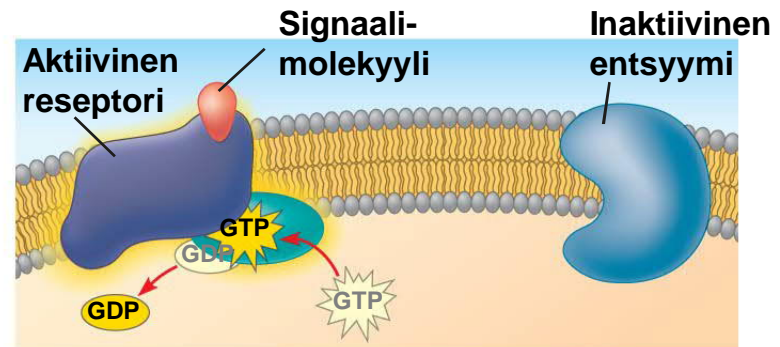
G proteiini-välitteiset reseptorit toimivat G-proteiinien avulla

- G proteiinit sitovat korkeaenergistä GTP:tä
- G proteiineja on paljon erilaisia, mutta ne ovat hyvin samankaltaisia
- 7TM-reseptoreilla on hyvin vaihtelevia toimintoja (feromonit, näkö- ja hajuaisti, adrenaliini)
- Tärkein lääkeaineiden vaikutuskohde.

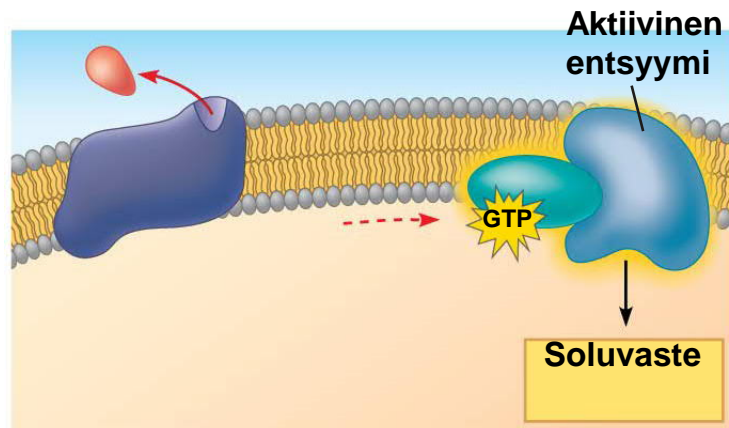




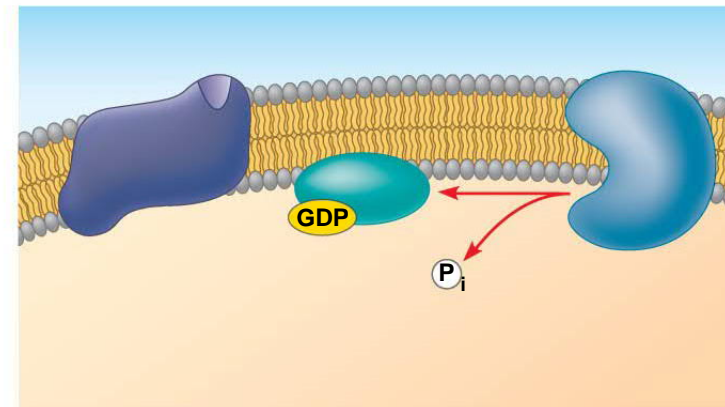
1



2

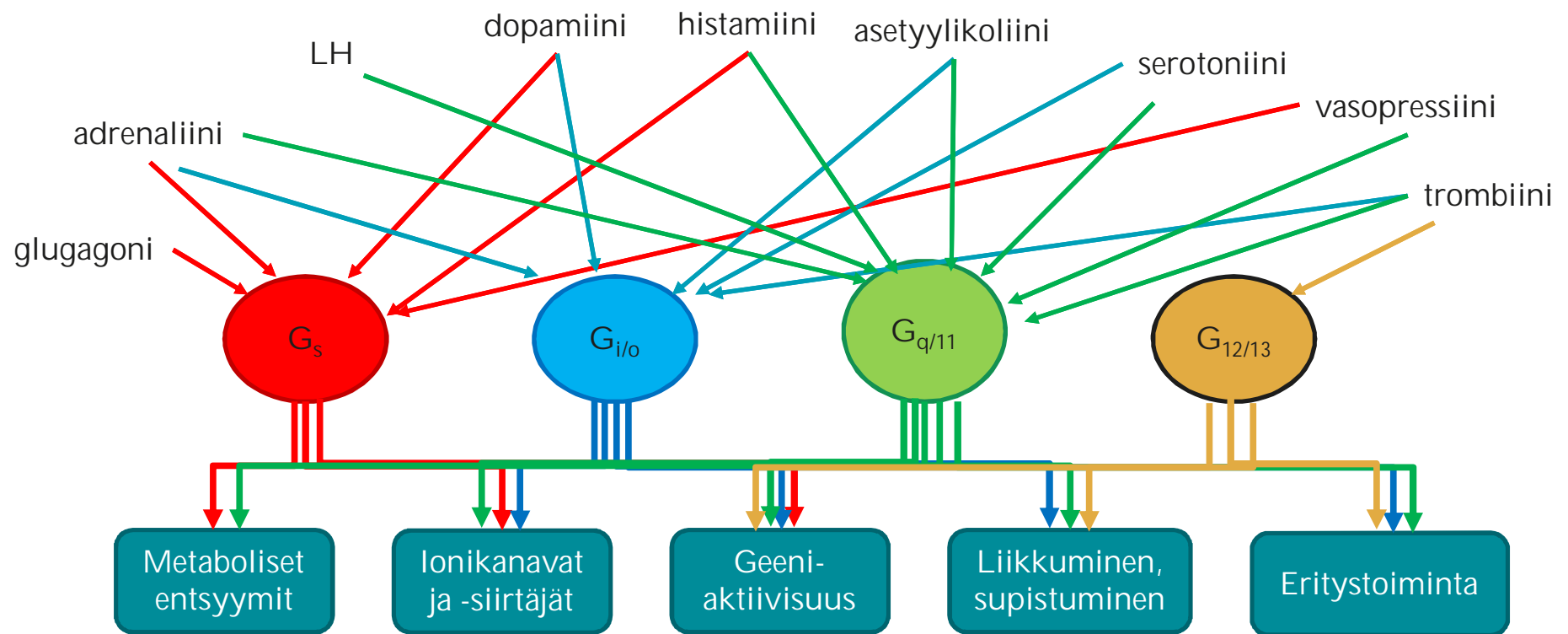


3

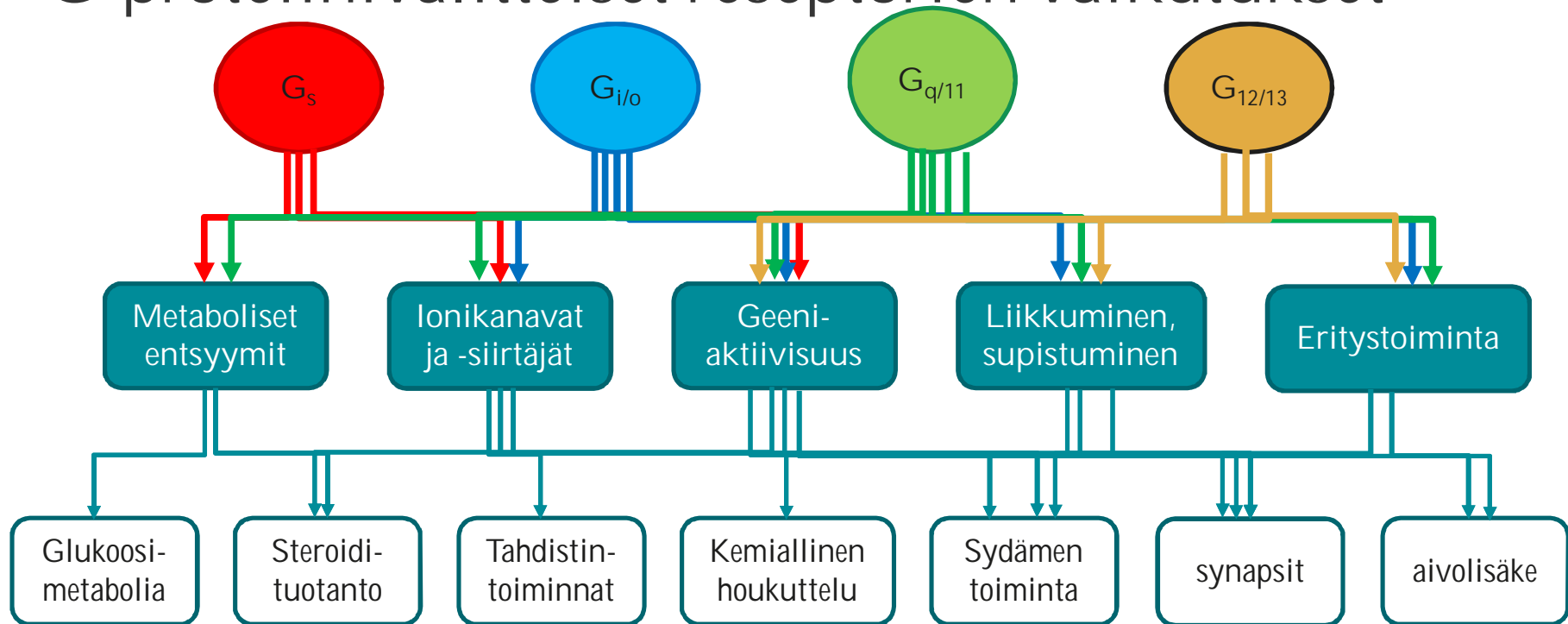


4

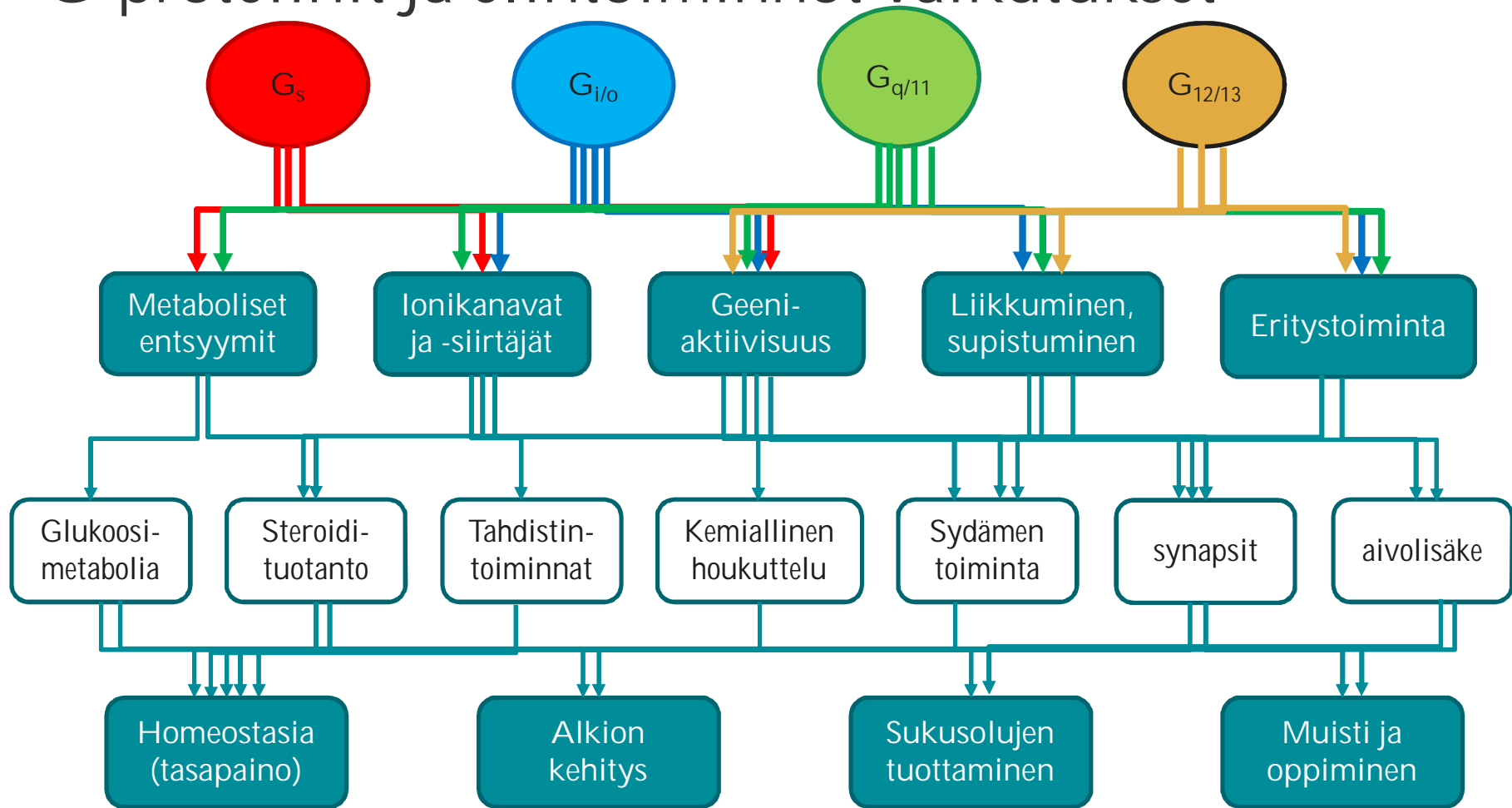
G-proteiinivälitteiset reseptorien 4 luokkaa



G-proteiinivälitteiset reseptorien vaikutukset



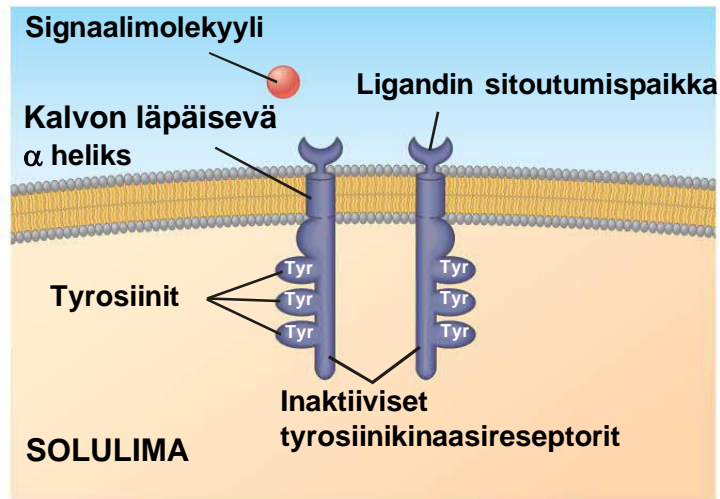
G-proteiinit ja elintoiminnot vaikutukset



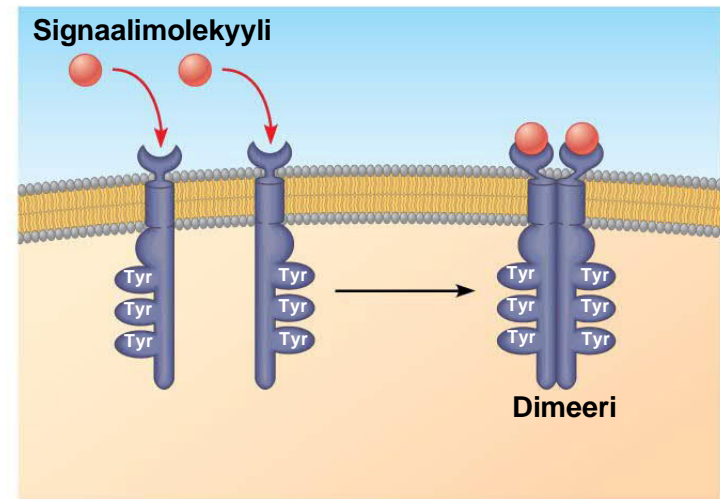
Tyrosiini-kinaasi-reseptorit

Tyrosiinikinaasi-reseptorit (RTK) sijaitsevat solukalvolla ja liittävät tyrosiini-aminohappotähteisiin fosfaattia (fosforyloivat)

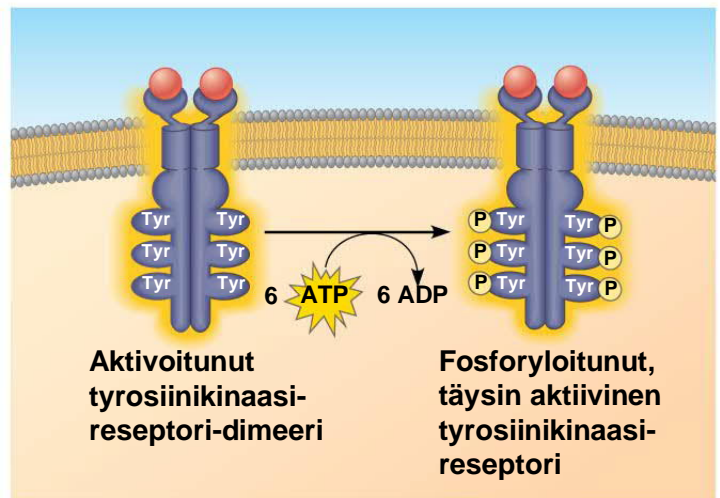
- Voi vaikuttaa useisiin kohteisiin solussa yhtä aikaa: proteiinisynteesi, kromosomien kahdentuminen, tukirangan muutokset
- Ihmisellä 58 RTK:ta
- Kalvolla monomeereinä, dimerisoituvat aktivoituessaan
- Poikkeuksena esim. insuliinireseptori, jossa reseptoriin kiinnittynyt tunnistava alayksikkö
- Vastaavia reseptoreita myös treoniinin ja seriinin fosforylointiin (RS/TK)



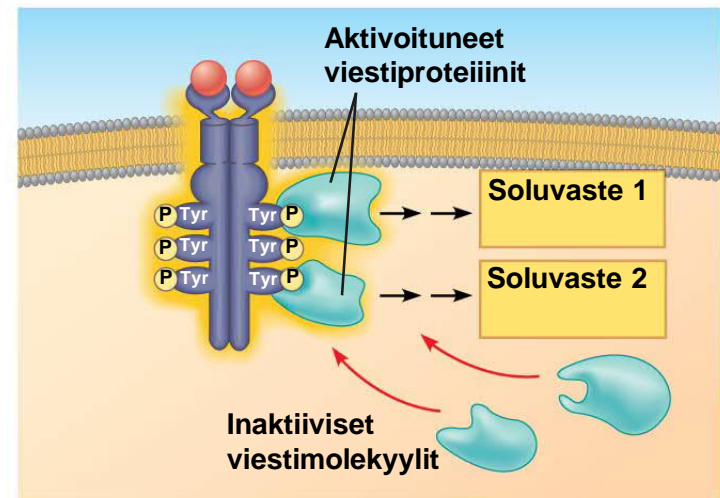
1



2



3

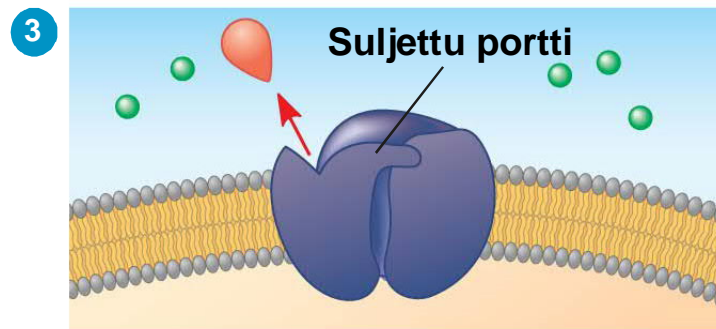
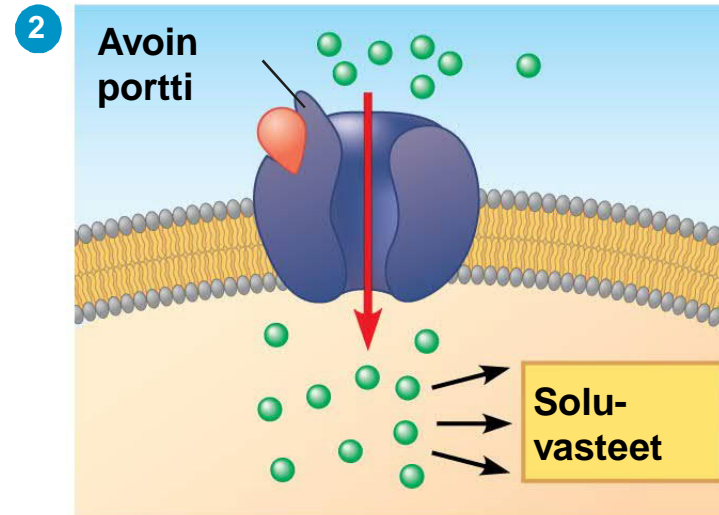
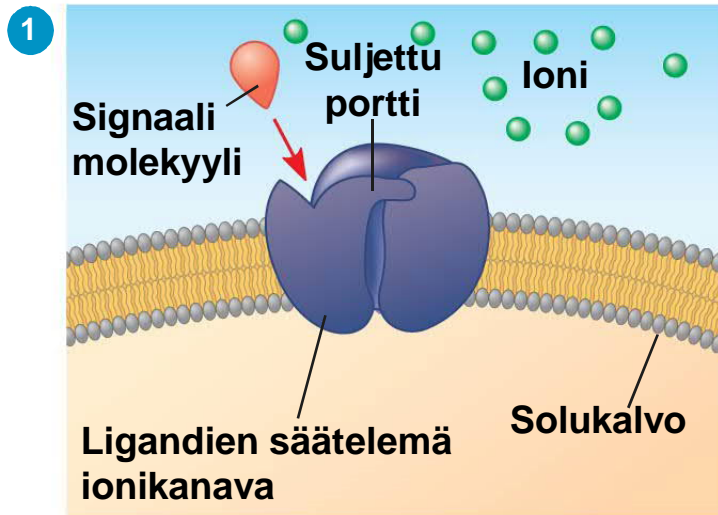


4

Ligandien säätelemät ionikanavat

Ligandien säätelemät ionikanavat antavat nopeimman vasteen soluissa

- Reseptorin aktivoituminen avaa kanavan, jolloin ionit pääsevät virtaamaan soluun/ulos soluista
- Ionien virtaus vaikuttaa solukalvon jännitteeseen ja solunsisäisiin prosesseihin
- Esim. hermolihasliitoksen asetyylikoliini säätelee luustolihasen supistumista

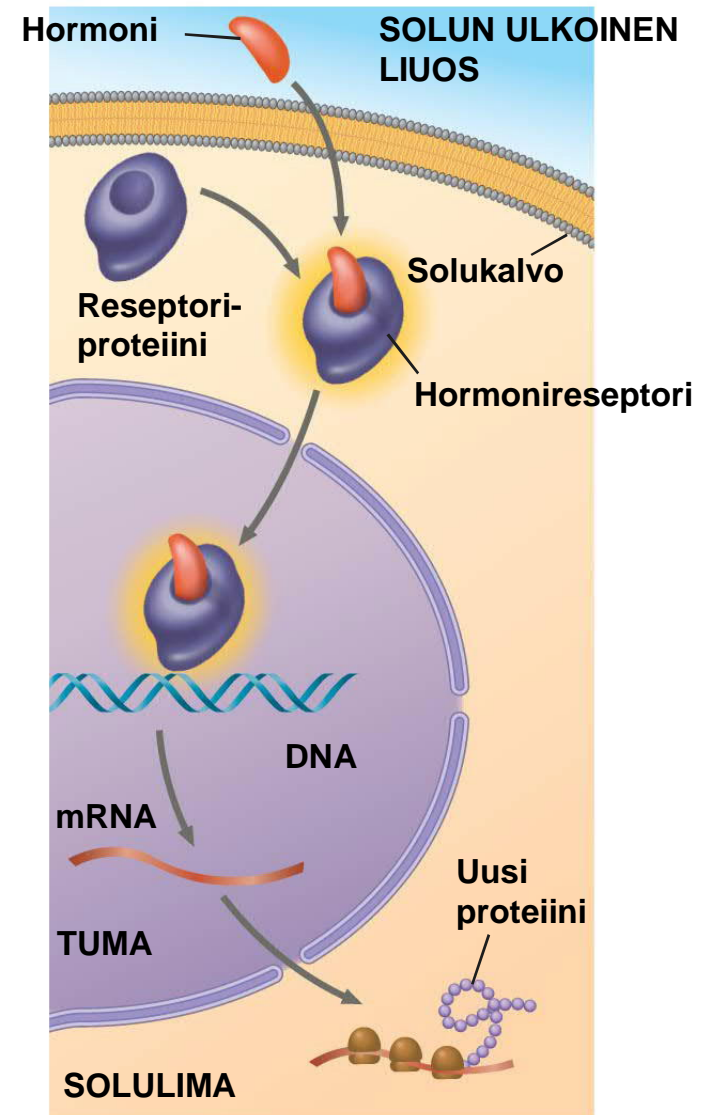


Solunsisäiset reseptorit

Solukalvon lisäksi reseptoreita löytyy sekä solulimasta että tumasta.

Ainoastaan pienet tai rasvaliukoiset kemikaalit voivat aktivoida solunsisäisiä reseptoreita (steroidit, tyroksiini, D-vitamiini) – näistä ainoastaan tyroksiini vaikuttaa aina tumassa.

Aktivoitunut reseptori voi toimia joko suoraan transkriptiotekijänä tai säädellä muiden transkriptiotekijöiden toimintaa (vaikutuksena geeniaktiivisuuden muutokset)



Kiitos!



UNIVERSITY OF
EASTERN FINLAND

uef.fi





Solu- ja molekyylibiologian perusteet

Signalointi:

Toisiolähetit ja signaalinvälitys

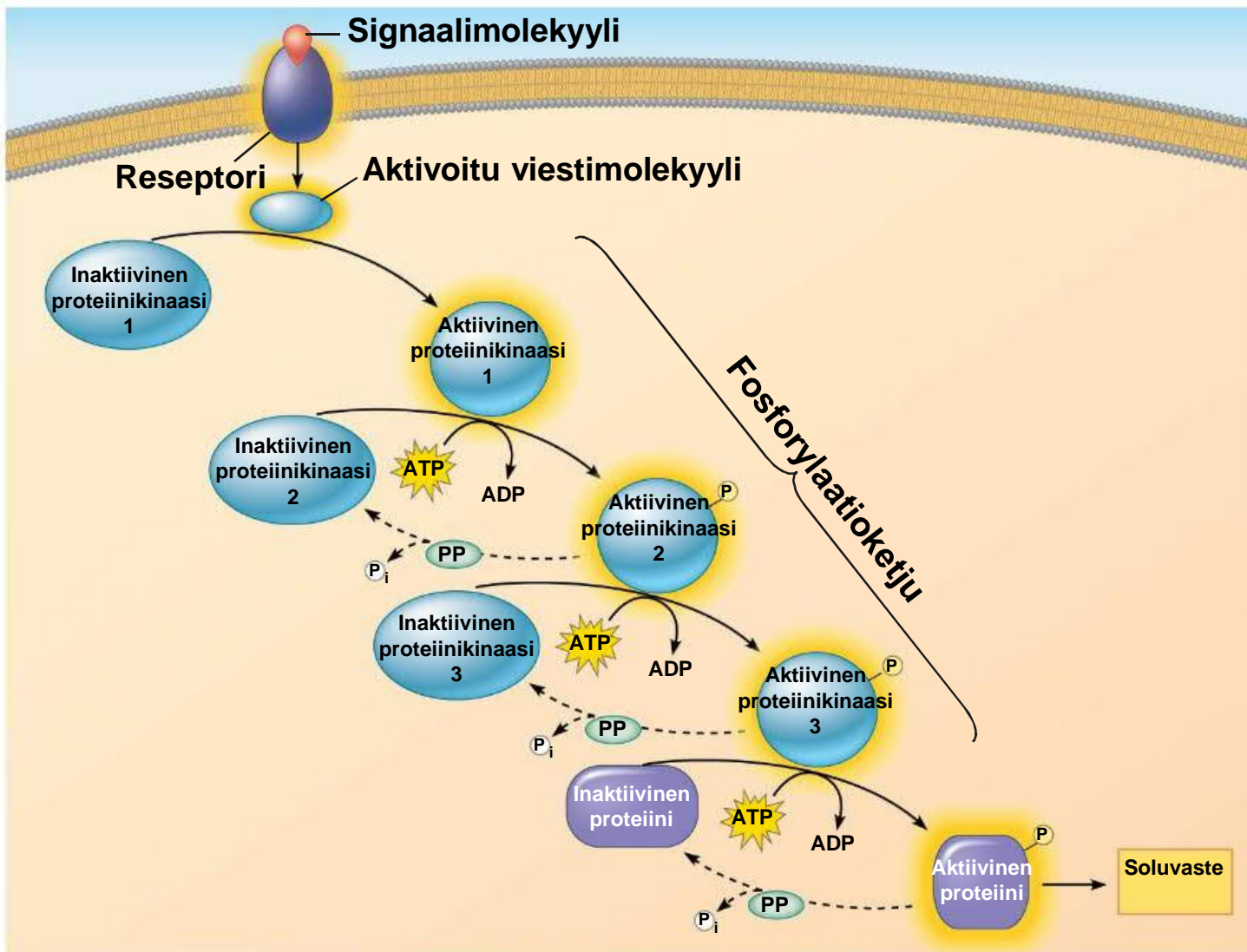
Signaalinvälitys – viestin vienti reseptorilta soluvasteisiin

- Harvoissa tapauksissa ligandin liittyminen saa aikaan suoran vaikutuksen solussa
 - Esim. Hermovälittäjäaineen laukaisema jännitteenmuutos soluissa
- Yleensä reseptorin aktivointia seuraa useiden signaalinviejien ketju ennen vastetta
 - Esim. Ach-reseptori → kalvon depolarisaatio → $[Ca^{2+}]_i$ kasvu → luustolihasen supistuminen
- Signaaliketju voimistaa viestiä, minkä lisäksi soluvasteet voivat erikoistua viestinviejien muutoksilla

Proteiinien fosforylointi ja defosforylointi

Proteiinien aktiivisuuden säätely fosfaatin lisäämisellä ja poistamisella on hyvin tavallinen menetelmä

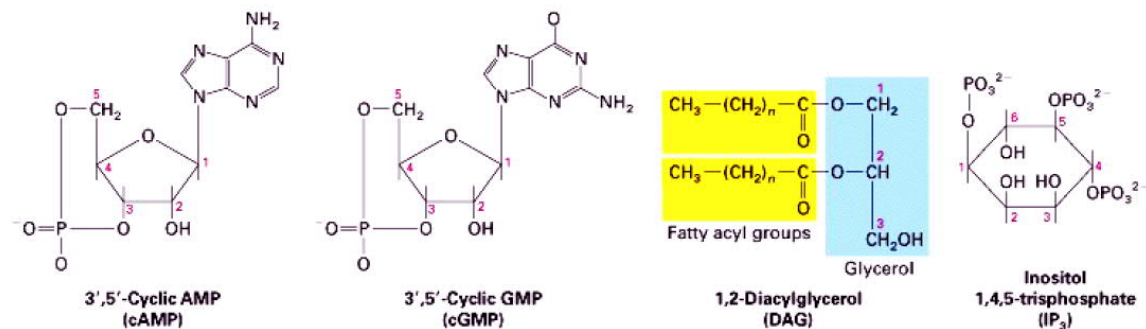
- Proteiinikinaasit ottavat fosfaatin ATP:ltä ja laittavat sen osaksi kohdeproteiinia (fosforylaatio)
- Proteiinifosfataasit poistavat fosfaatin (defosforylaatio)
- Usein kohdeproteiini on itse kinaasi, jolloin puhutaan fosforylaatioiden ketjusta (kaskadista)
- Kinaaseista tyypillisimpiä ovat PKC, PKA ja PKG, joita niitäkin tunnetaan useita. Lisäksi on suuri joukko erilaisia proteiinikinaaseja, jotka tunnistaa yleensä lyhenteen K-kirjaimesta.



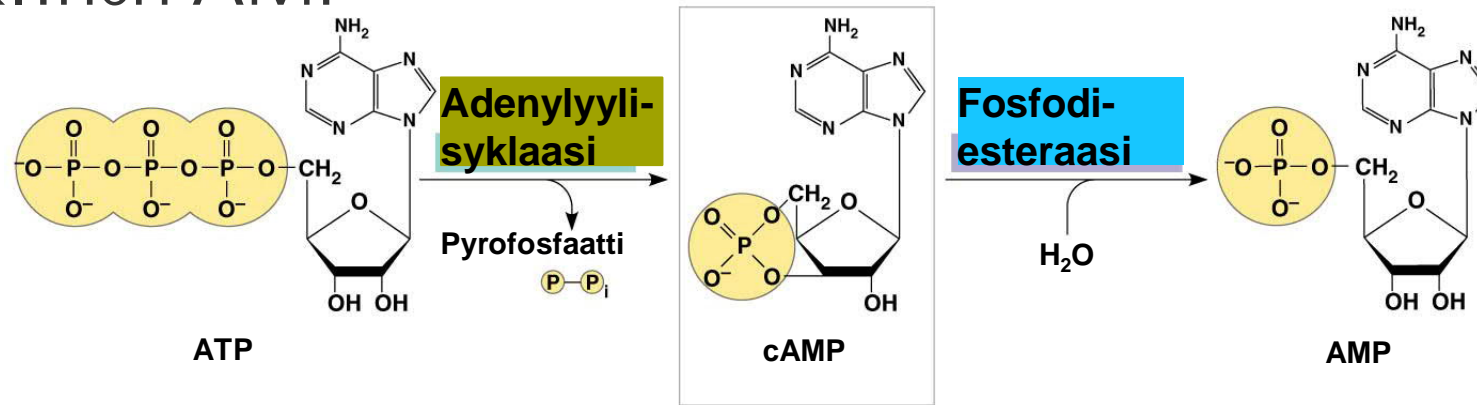
Solun pienet molekyylit ja ionit toimivat toisiolähetteinä

Toisiolähetit ovat pieniä vesiliukoisia molekyylejä ja ioneja, jotka siirtyvät helposti solussa diffuusiolla

- Toisiolähetit eivät ole proteiineja
- Toimivat sekä 7TM että tyrosiinikinaasireptorien viestinviejinä
- Esim. Syklinen AMP, syklinen GMP, Ca^{2+} , DAG, IP_3

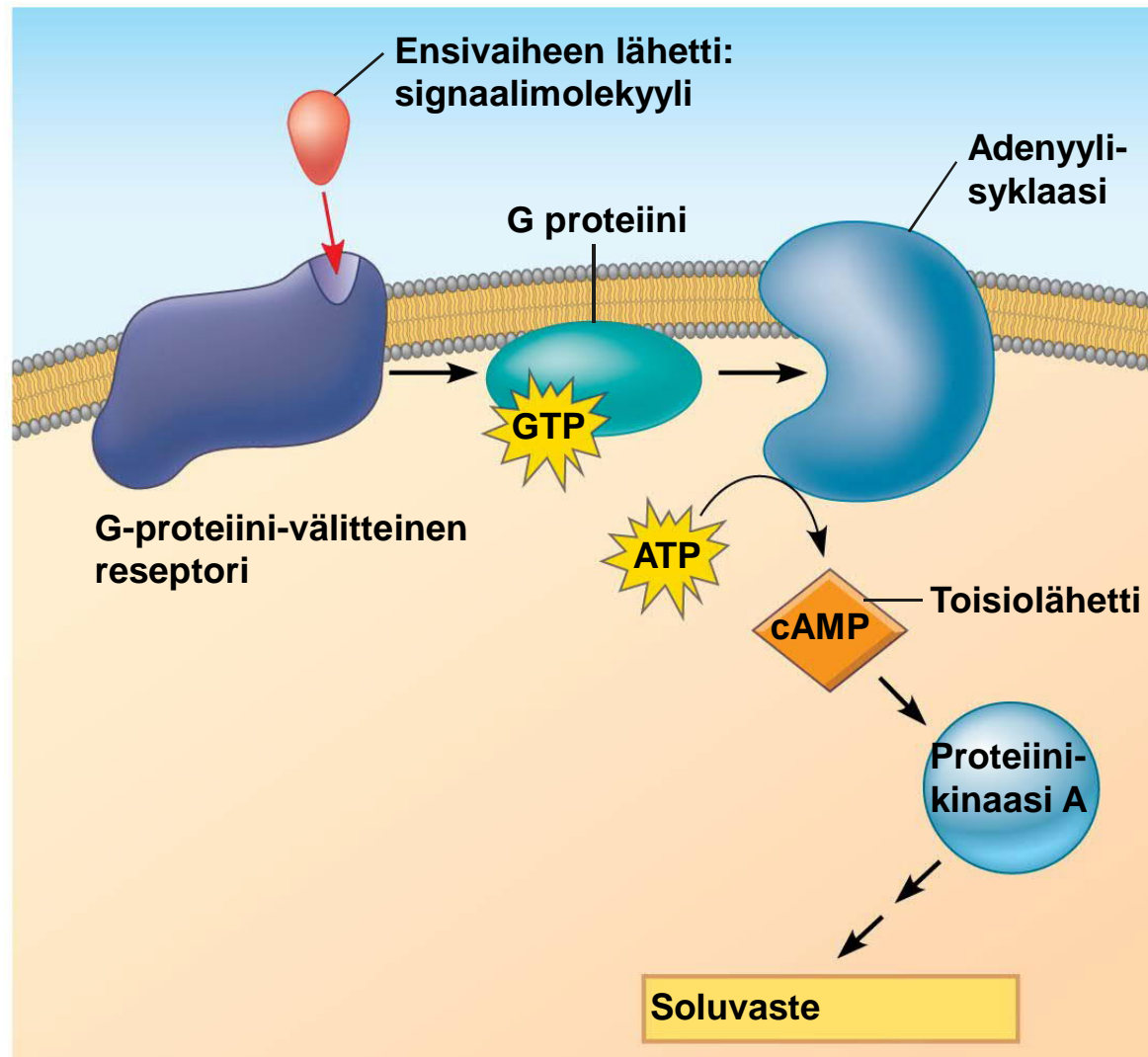


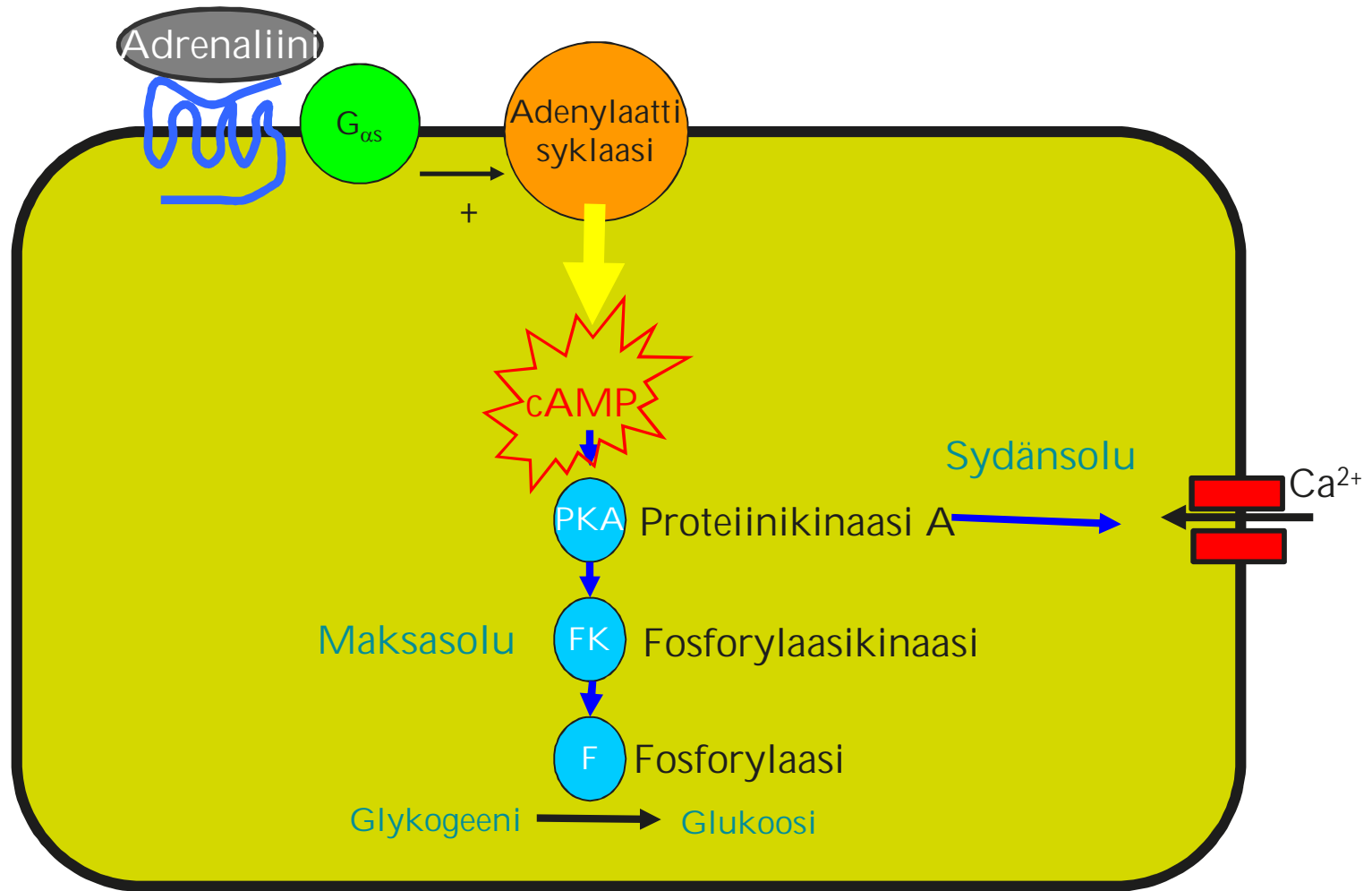
Syklinen AMP

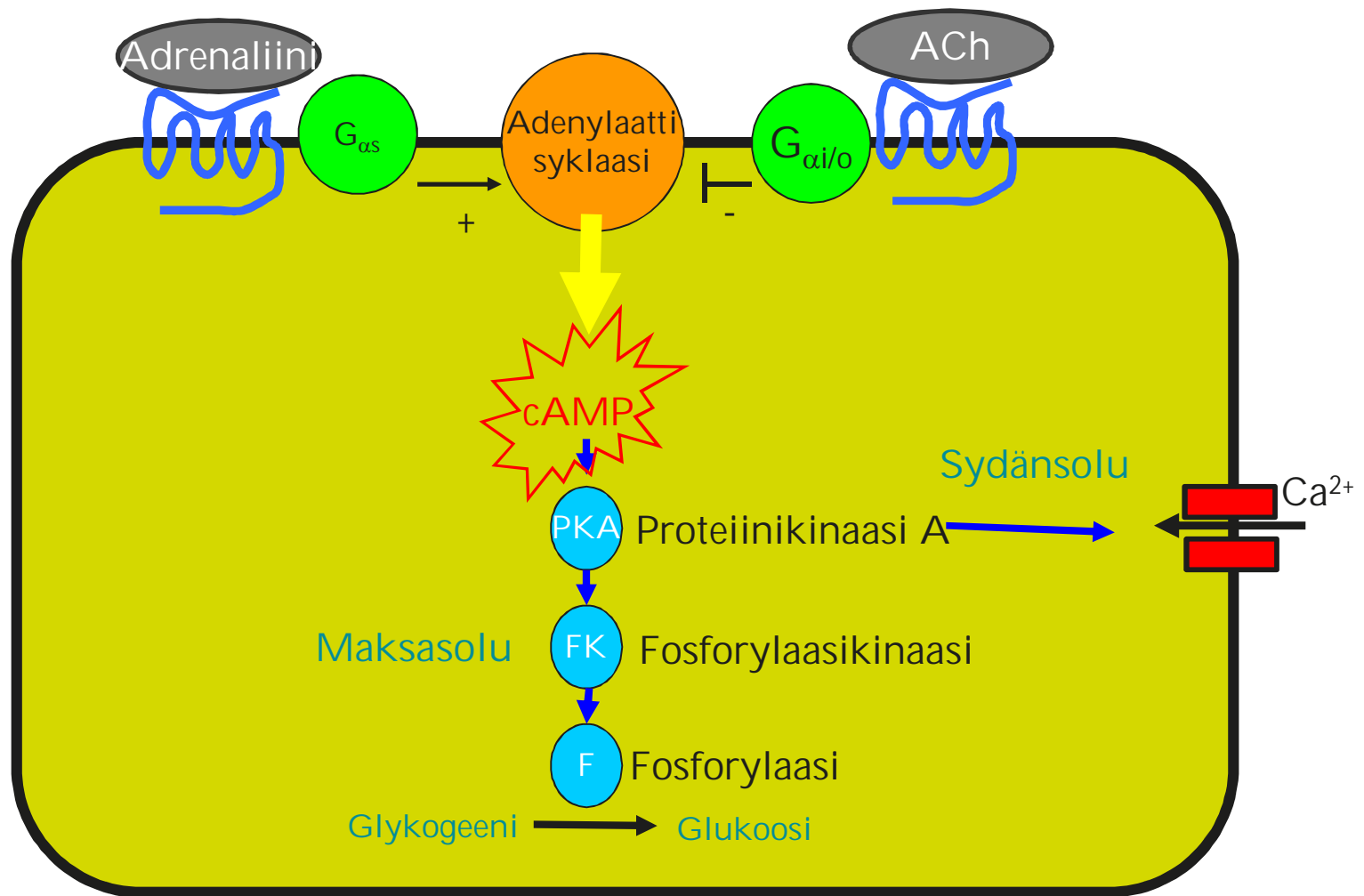


Syklinen AMP (cAMP) muodostetaan ATP:stä solukalvolla adenylyylisyklaasilla ja se voidaan helposti hajottaa AMP:ksi.

- Säädely G-proteiineihin liittyvillä reseptoreilla
 - Aktivoivat $G_{\alpha S}$ ja inhiboivat $G_{\alpha i/o}$
- Vaikutuskohteita esim. PKA, ionikanavat







Kiitos!



UNIVERSITY OF
EASTERN FINLAND

uef.fi





Solu- ja molekyylibiologian perusteet

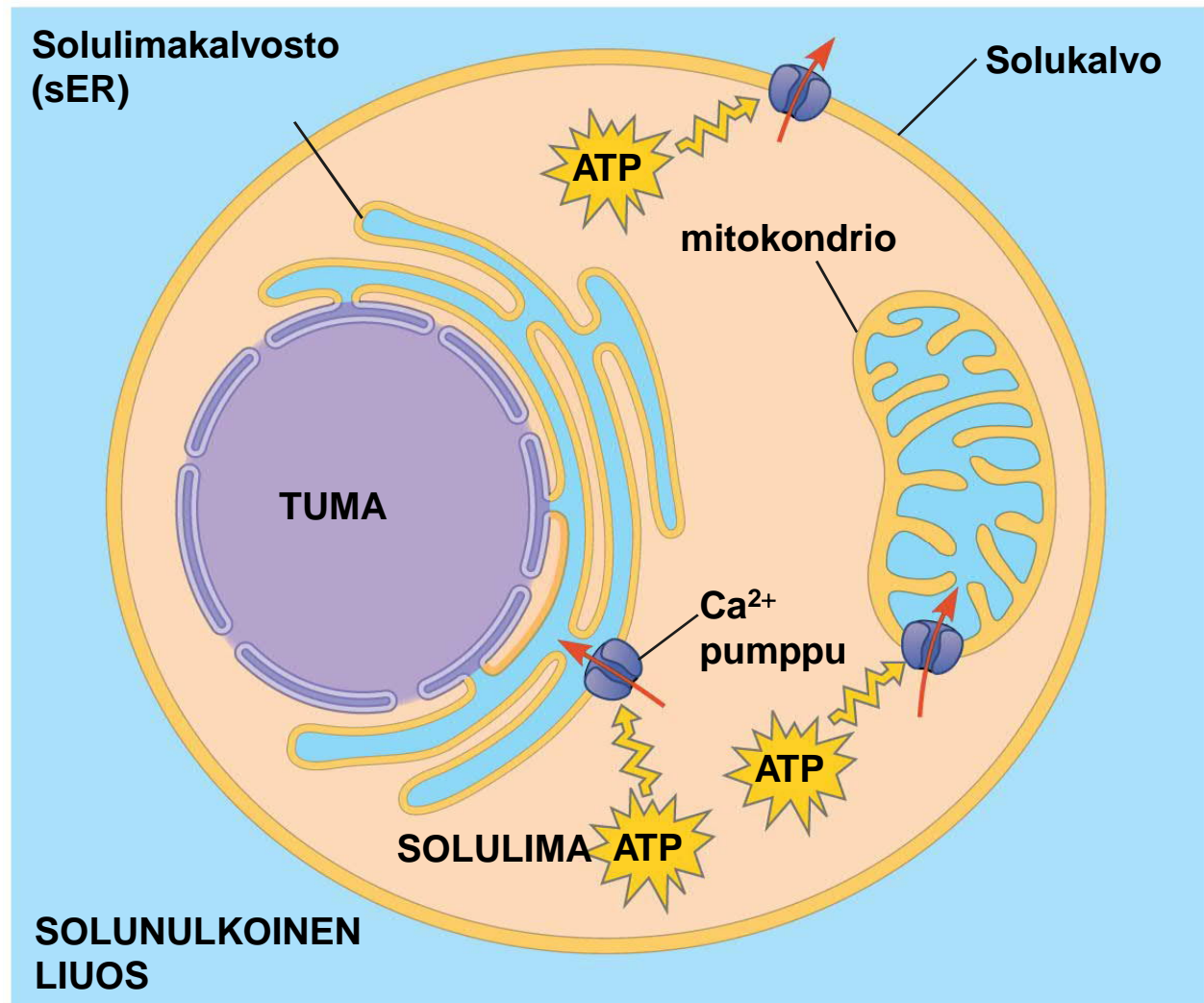
Signalointi:

Kalsium signaalinvälityksessä

Kalsium toisiolähehtinä

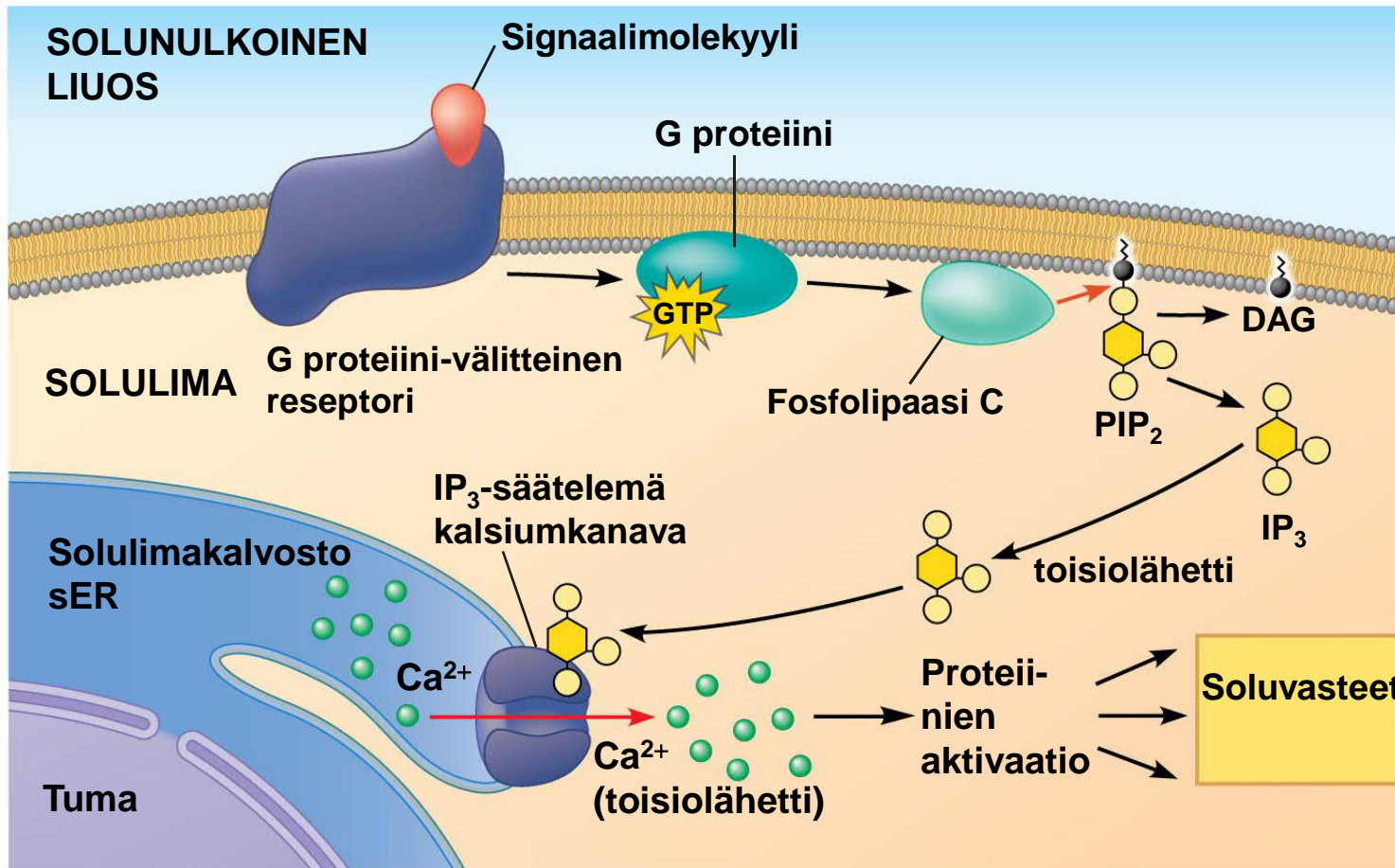
Solunsisäinen kalsium (Ca^{2+}_i) toimii tärkeänä toisiolähehtinä lähes kaikissa soluissa.

- Solun ulkopuolisen liuksen ja soluliman välillä 20,000-kertainen ero vapaan kalsiumin määrässä
- $[\text{Ca}^{2+}]_i$ säädellään siirtämällä varastoihin (solunsisäisiin rakkuloihin) ja sitomalla proteiineihin. Siirtäminen ATP:n energialla (Ca^{2+} -ATPaasit).



Kalsiumia voidaan säädellä inositolitriposfaatilla (IP₃)

- Solunsisäistä kalsiumia voidaan säädellä reseptoreilla monin tavoin
 - kalsiumia välittämät ligandiherkät ionikanavat (esim. kapsaisiini-reseptori)
 - cAMP vaikuttaa etenkin PKA:n välityksellä jänniteherkkien kalsiumkanavien toimintaan.
- Kuitenkin tärkein reitti lienee kahden toisiolähetin vaikutus: inositolitriposfaatti (IP₃) ja diasyyloglyseroli (DAG)
 - Toisiolähetit syntyvät fosfolipidien leikkauksen tuloksena
 - IP₃ vaikuttaa kalsiumin vapautumiseen DAG proteiinikinaasi C:hen

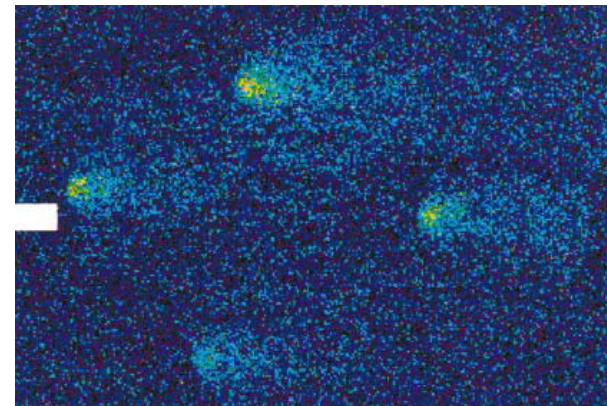
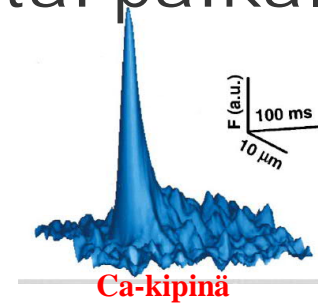


Vapautunut kalsium nostaa soluliman kalsium- pitoisuutta joko koko solussa tai paikallisesti

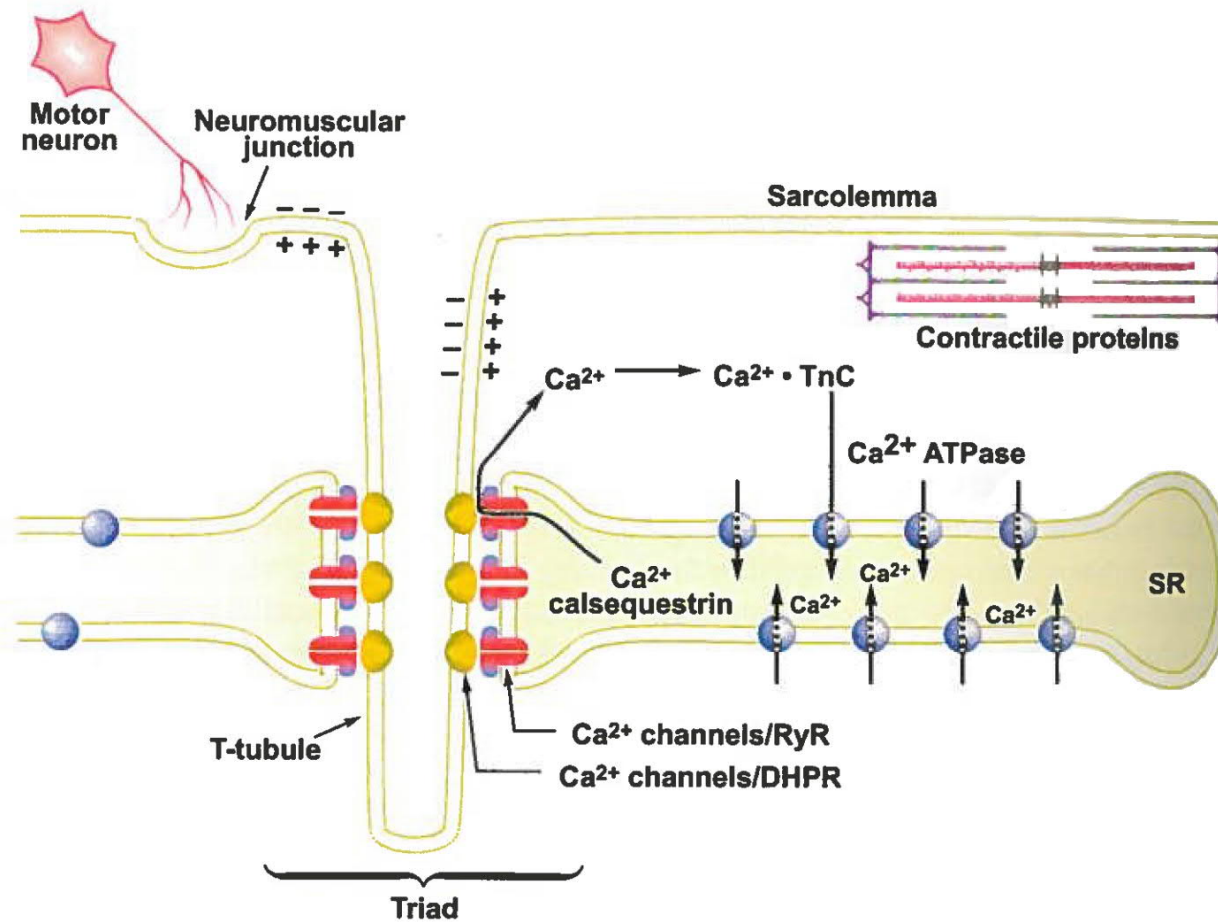
Vapautunut kalsium sidotaan nopeasti kalsium-kalmoduliiniin tai siirretään takaisin varastoihin

Seurauksena $[Ca^{2+}]_i$:n ohimenevä nousu (transientti).

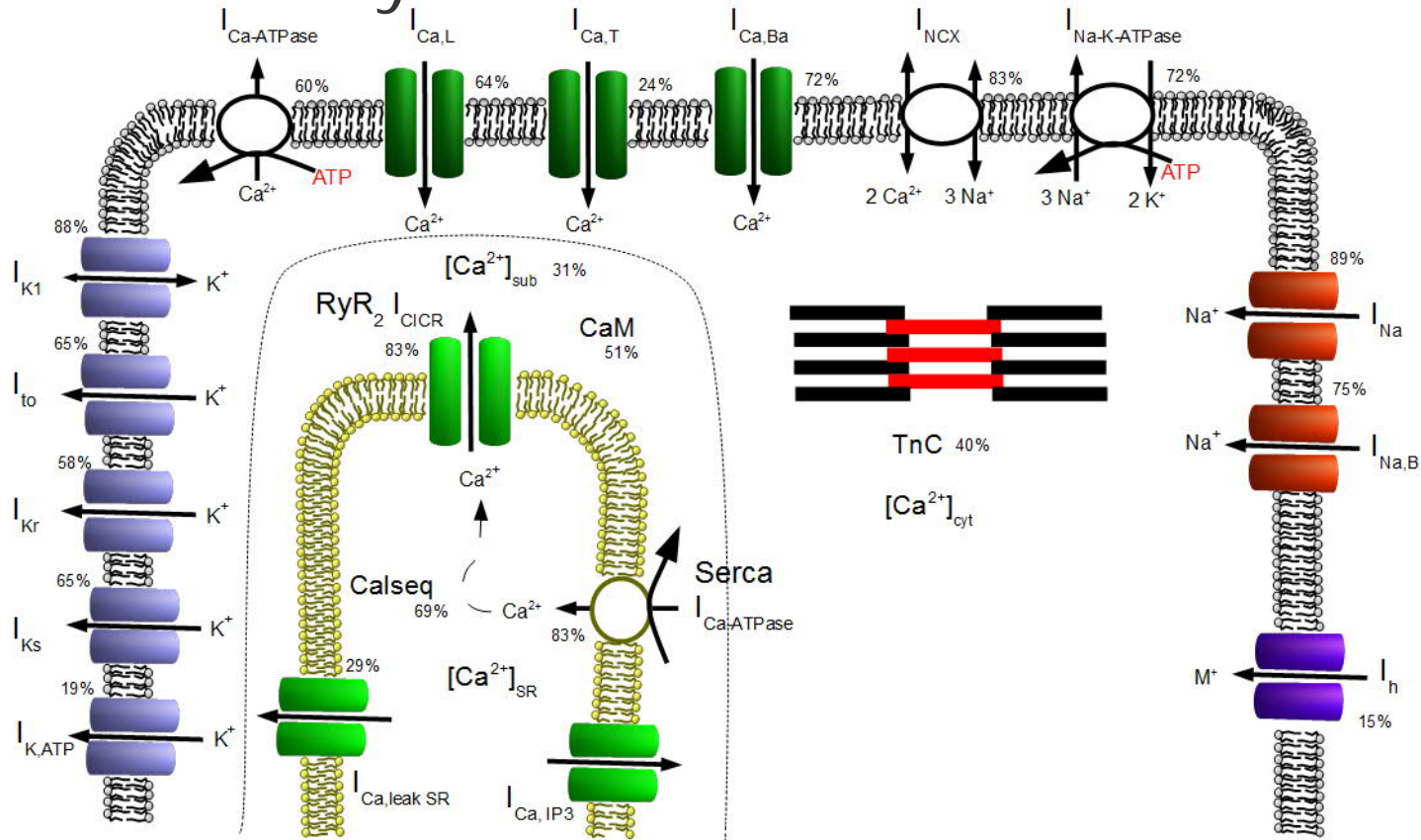
Kalsium voi muuttua myös paikallisesti yksittäisen kalsiumkanavan aktivoitumisen seurauksena.

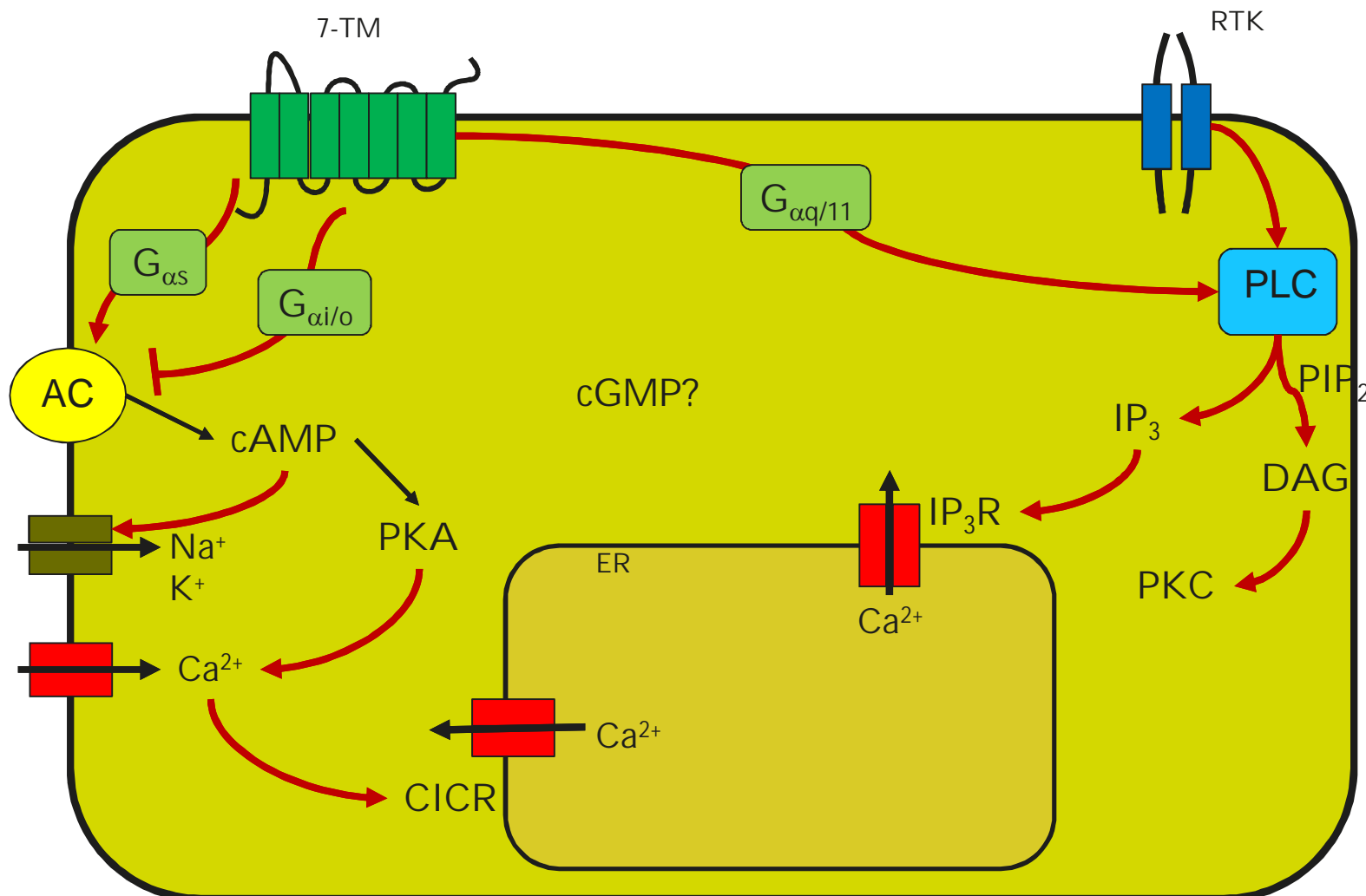


Kaikki Ca^{2+} muutokset eivät johdu IP_3 :sta...



...mutta se on hyvä ottaa aina huomioon.





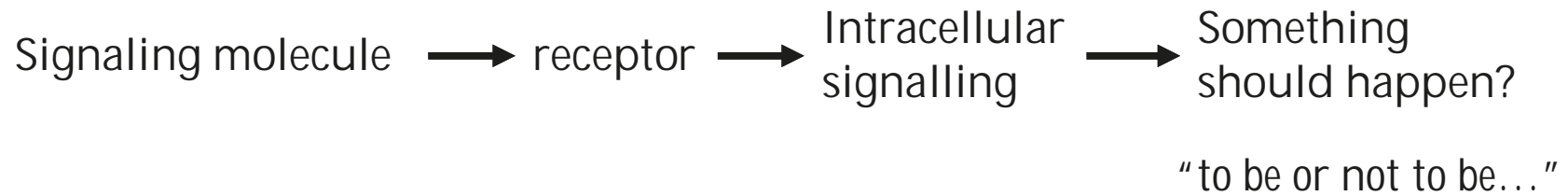
Kiitos!



UNIVERSITY OF
EASTERN FINLAND

uef.fi





Solu- ja molekyylibiologian perusteet

Signalointi: Signaloinnin vaikutukset

Solusignaalien vaikutukset solulimassa ja geeniaktiivisuudessa

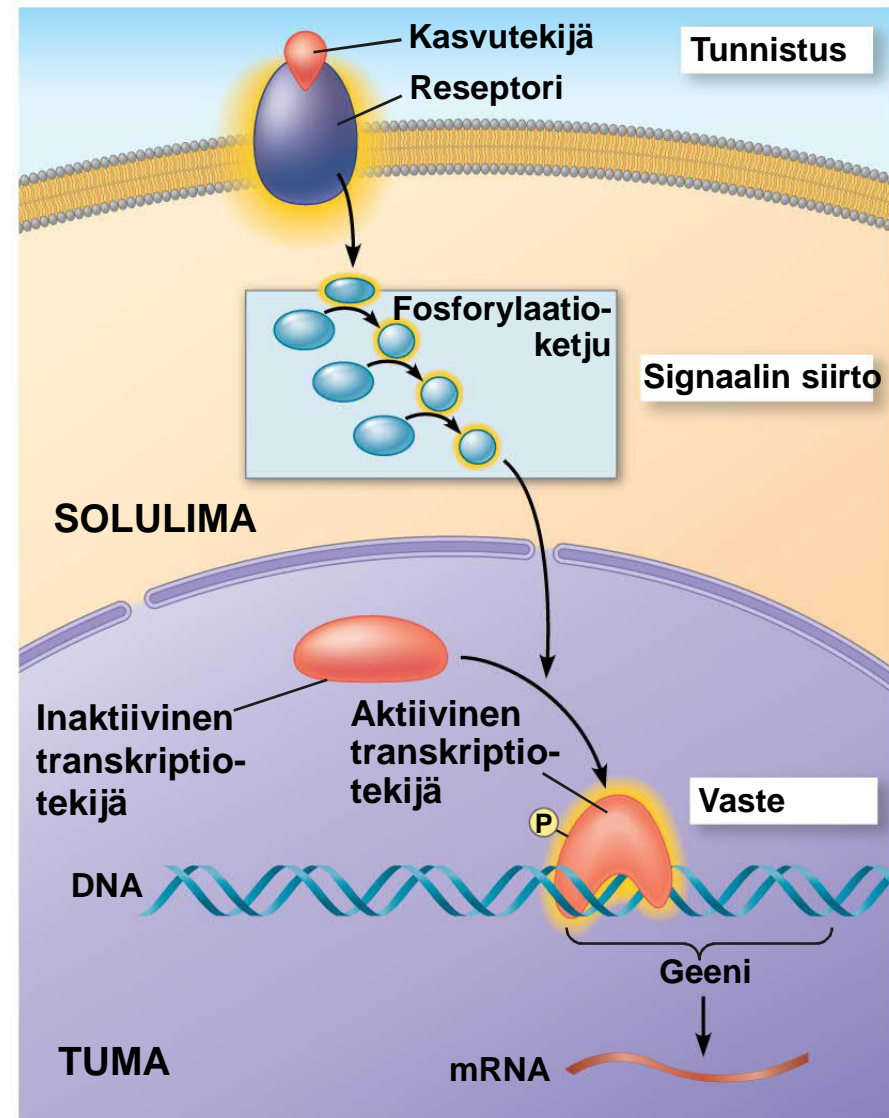
Solun lopullinen vaste reseptorin aktiivisuudelle voi toimia joko solulimassa tai tumassa

- Tumassa vaikutuksena geeniaktiivisuuden säätely
- Solulimassa entsyymiaktiivisuuden muutokset (ionikanavien aktiivisuus, solun metabolian säätely, solusykli jne)
- Välivaiheet vahvistavat signaalia voimakkaasti

Muutamit signaalimolekyylit vaikuttavat reseptoreihin suoraan tumassa, mutta usein kalvo-reseptorin ja geeniaktiivisuuden säätelyn välissä on useita välivaiheita (signaalin siirtoa).

Vaikka siirto olisi tehokas, kuluu siihen aikaa ja energiaa. Miksi välivaiheita ylläpidetään?

- Saadaanko tehokkaampi vaste?
- Saadaanko erikoistuneempi vaste?



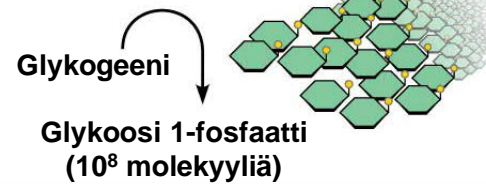
Tunnistus

Adrenaliinin liittyminen 7-TM-reseptoriin
(1 molekyyli)

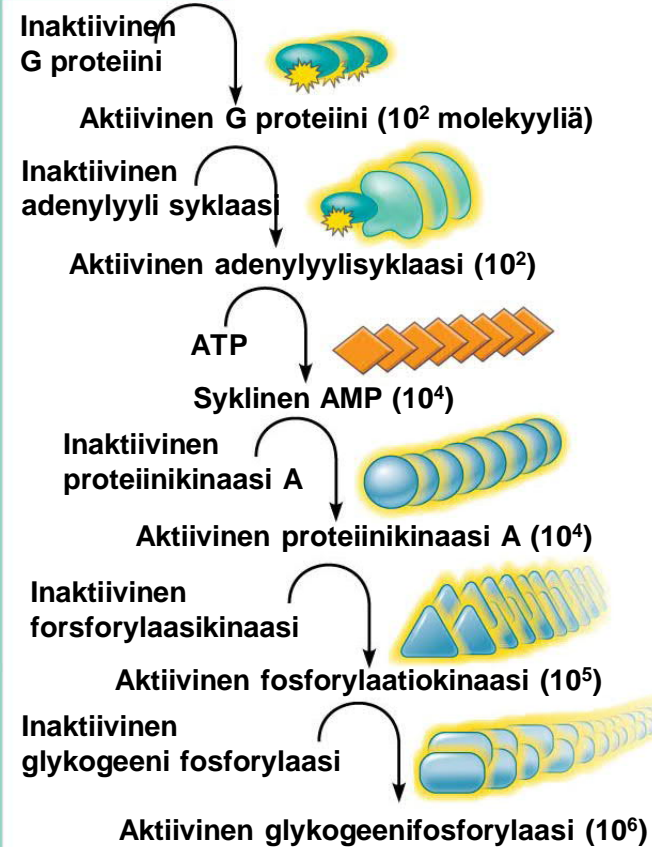


Siten yksi adrenaliinimolekyyli vapauttaa 100 miljoonaa glukoosimolekyyliä

Vaste



Signaalin siirto



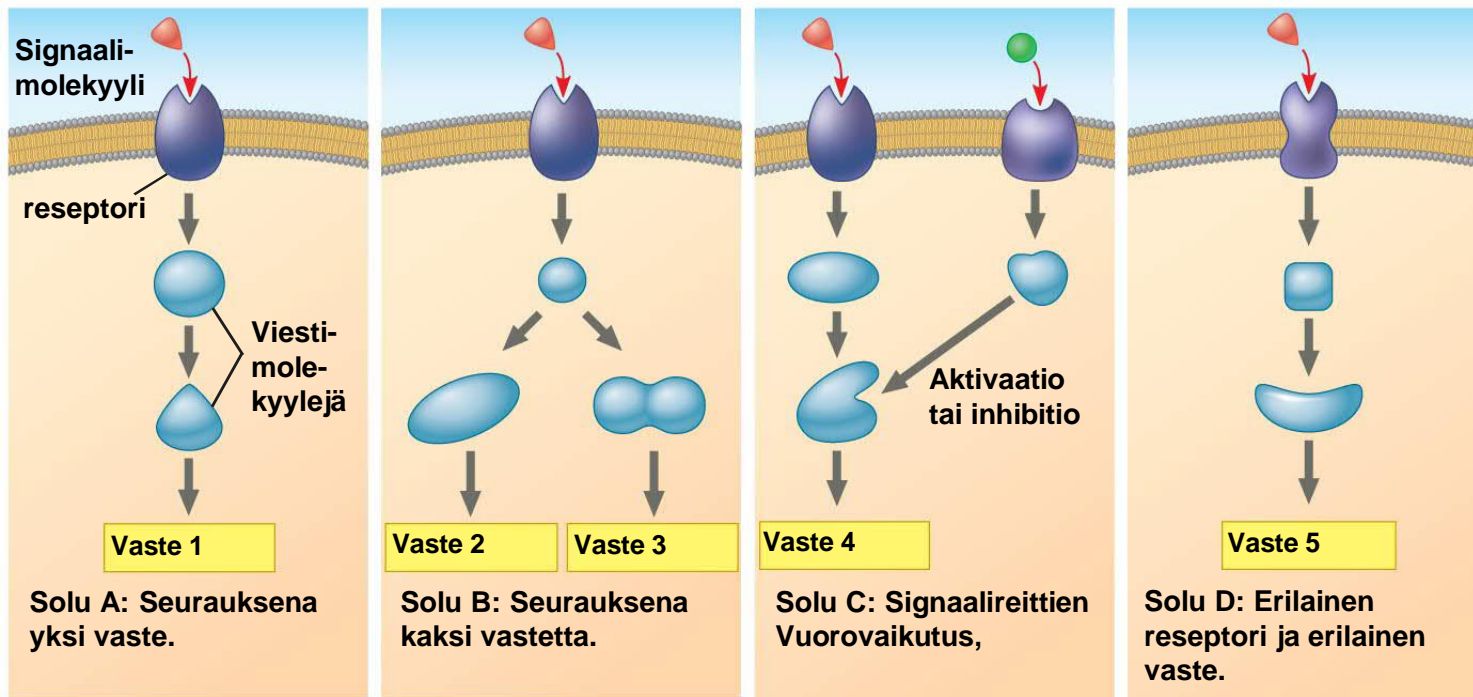
Soluvasteen säätely

Säätelytapa	
Signaalin voimistaminen	Usein signaaliketjussa monia vaiheita, jotka vaikuttavat yhdessä
Vasteen spesifisyys	Millainen viestiketju, sellainen vaste
	Mitä muita signaaliketjuja on tapahtumassa?
Tukiproteiinit ym vasteen tehostajat	Ovatko signaaliketjun komponentit samassa paikassa?
Signaalin lopetus	

Miksi solut reagoivat eri tavoin samoihin säätelijöihin?

Solujen vaste riippuu niissä esiintyvistä proteiineista

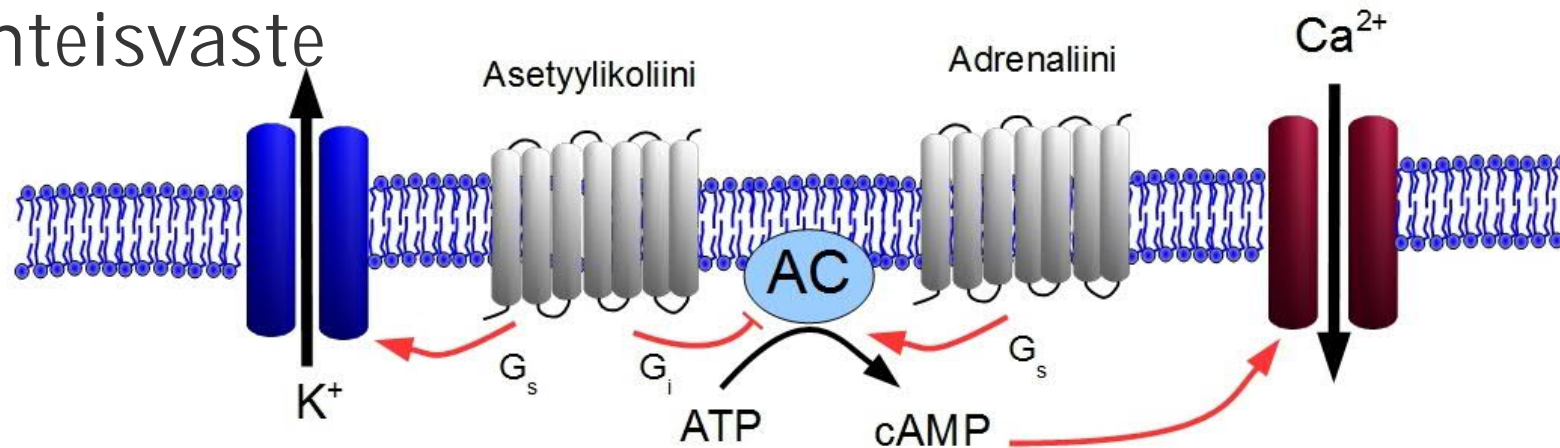
- Reseptori voi olla erilainen, jolloin se laukaisee eri signaalireitin
- Signaalireitissä voi olla eroja, jolloin vasteita voi olla eri määrä tai ne voivat muuten olla erilaisia
- Signaalireitit eivät toimi yksin vaan niihin vaikuttaa muiden signaalireittien toiminta



Reseptorien vaihtelu: Ach-reseptorit (AChR)

Reseptori	Kudos	Mekanismi	
Muskariinireseptorit	M1	Aivot, rauhaset	PLC
	M2	Aivot, sydän	G _i
	M3	Aivot, sileä lihas, rauhaset	PLC
	M4	Aivot, silmä, rinta, perna, kives	G _i
	M5	Aivot,	PLC
Nikoriinireseptorit	a1-e-a1-b1-d	Luustolihas (aikuinen)	Ionikanava
	a1-g-a1-b1-d	Luustolihas (sikiö)	Ionikanava
	(a7)5	Aivot, kehittyvä lihas	Ionikanava
	a3-b4-a3-b4-b4 a3-b2-a3-b4-a5	Hermotumake	Ionikanava
	a4-b2-a4-b2-b2	Aivot	Ionikanava
	(a9)5	Sisäkorva	Ionikanava

Yhteisvaste



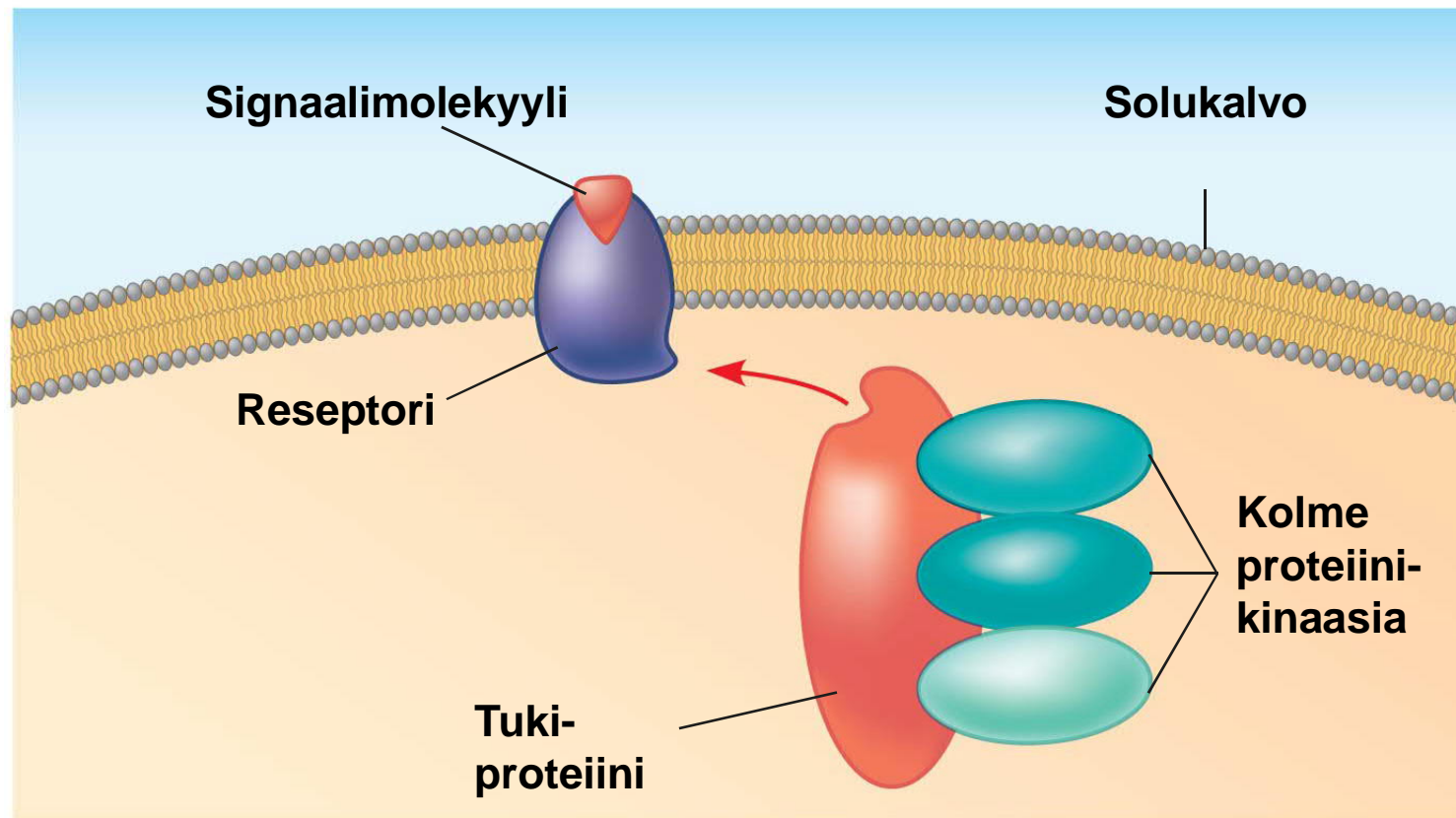
Usein solut reagoivat yhtäaikaisesti useisiin säätelijöihin

- Esim. sympaattinen ja parasympaattinen säätely vaikuttaa sydämessä jatkuvasti:
 - Adrenaliini sitoutuu β -adenergiseen ja asetyylikoliini muskariini-reseptoriin (7TM-reseptoreita) ja vaikuttavat cAMP:n määrään
 - Syketaajuus riippuu K⁺ ja Ca²⁺ kanavien aktiivisuudesta

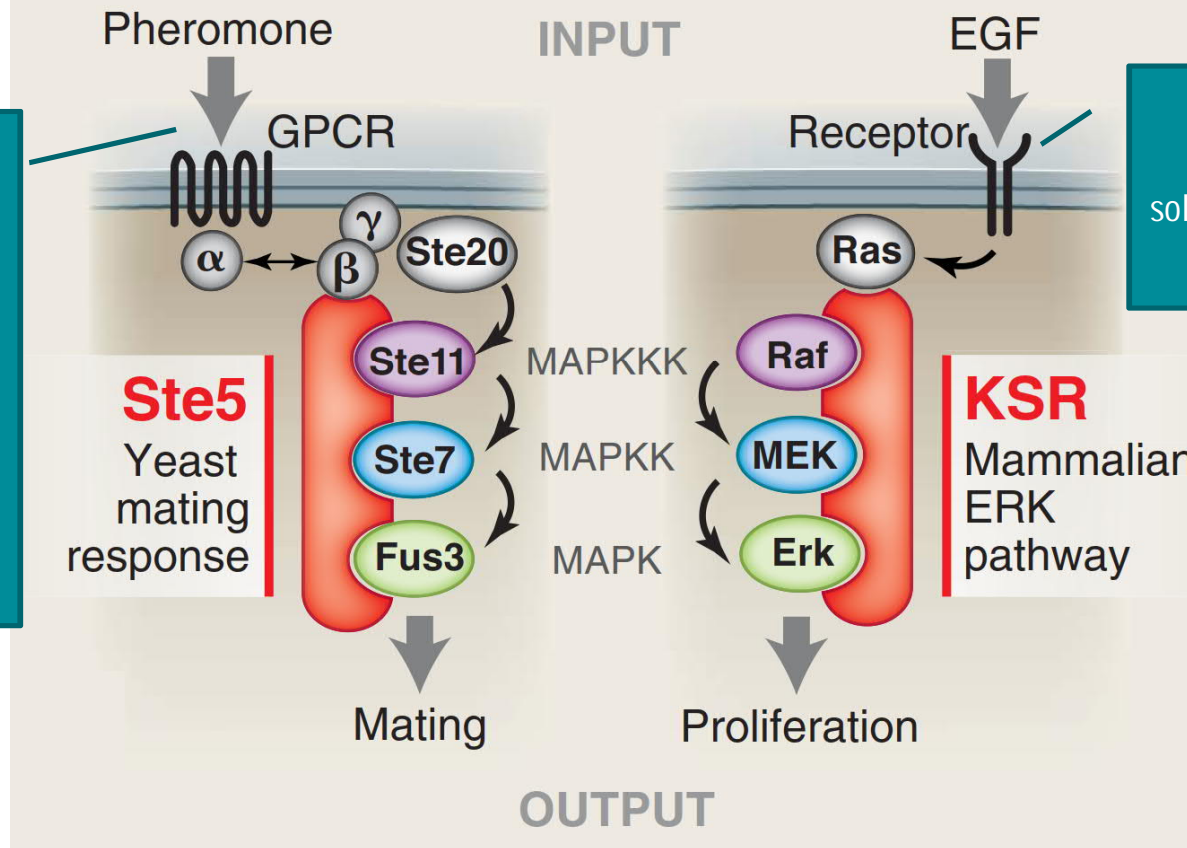
Signaalien tehostaminen: tukiproteiinit nopeuttavat signaalinvälitystä

Jokaisessa solussamme on n. miljardi erilaista proteiinia ja niistä 10% osallistuu signaalinsiirtoon

- Tukiproteiinit (Scaffolding proteins) ovat suuri ja heterogeeninen joukko, jotka sitovat erilaisia proteiineja yhteen
 - Esim. proteiinikinaasiketjun komponentit ovat valmiiksi vierekkäin, jolloin reaktio tehokasta
 - Voivat vaikuttaa myös muuten reaktion etenemiseen
 - Voi toimia myös tehokkaana palautejärjestelmänä



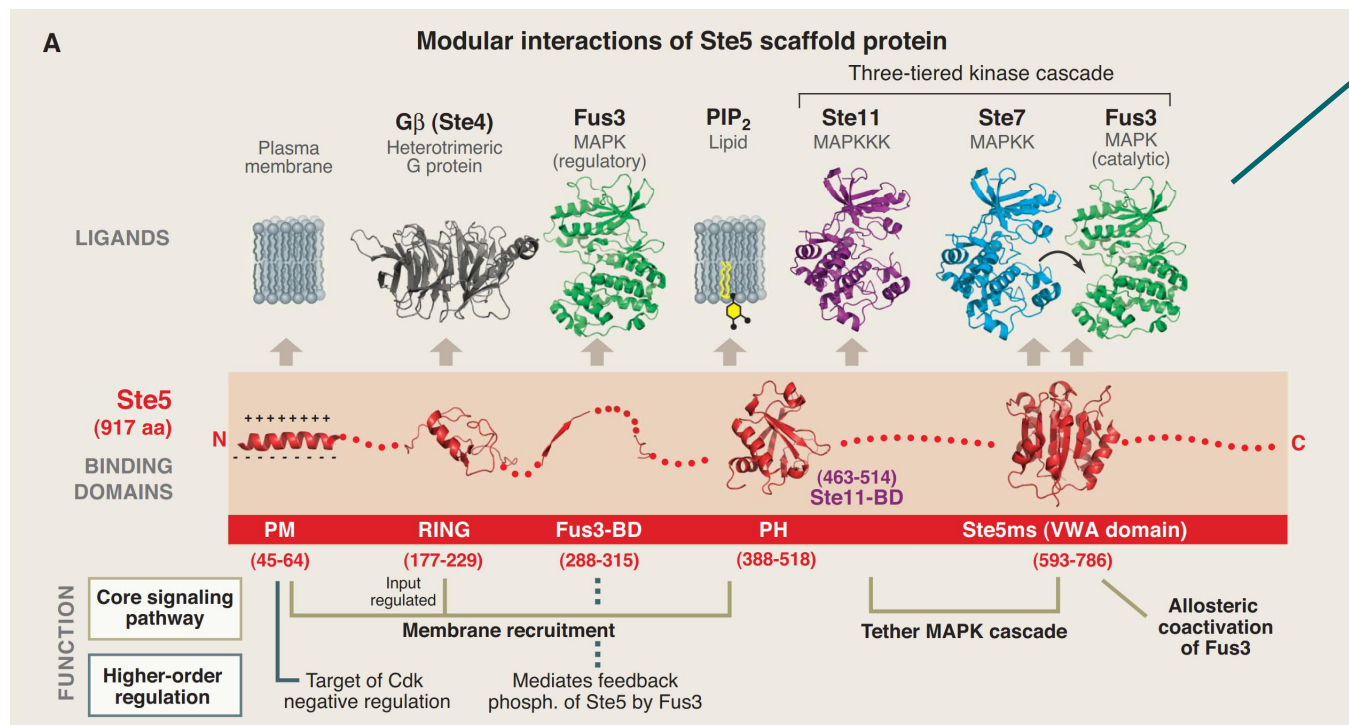
Intracellular signaling scaffolds



Endotermaalinen kasvutekijä vaikuttaa solujen jakautumiseen Ras-Ras signaalintireittiä

Hiivasolut aistivat ympäristöä G-proteiinivälitteisellä reseptorilla, joka vaikuttaa yhteen liittyneiden signaalintimolekyylien kautta perimänvaihtoon

Tukiproteiinit kiinnittyvät myös muihin rakenteisiin



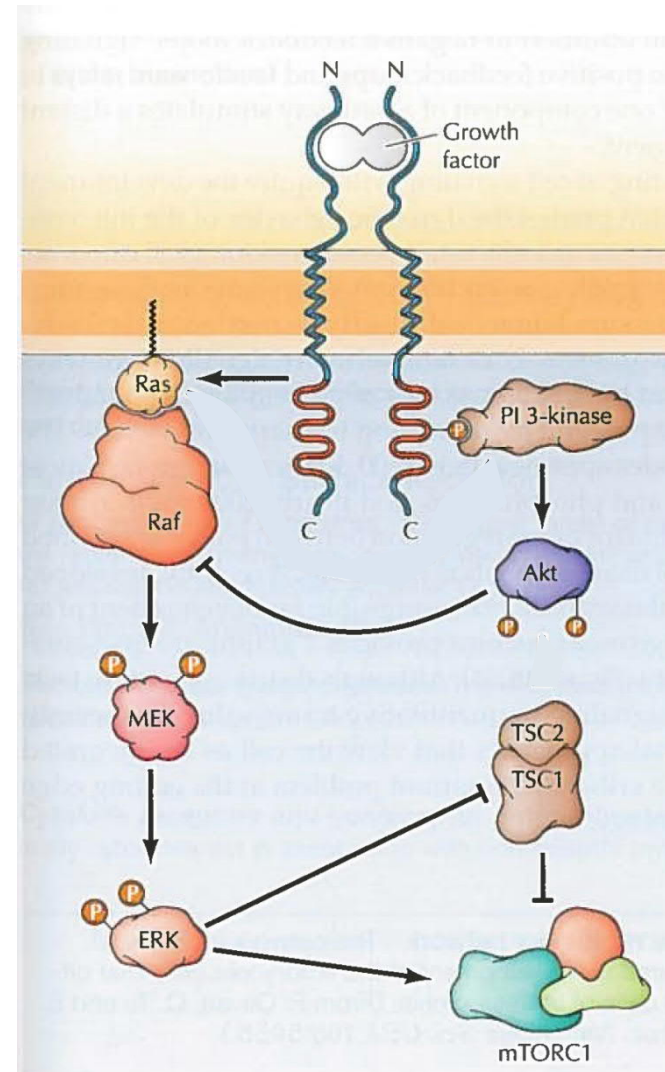
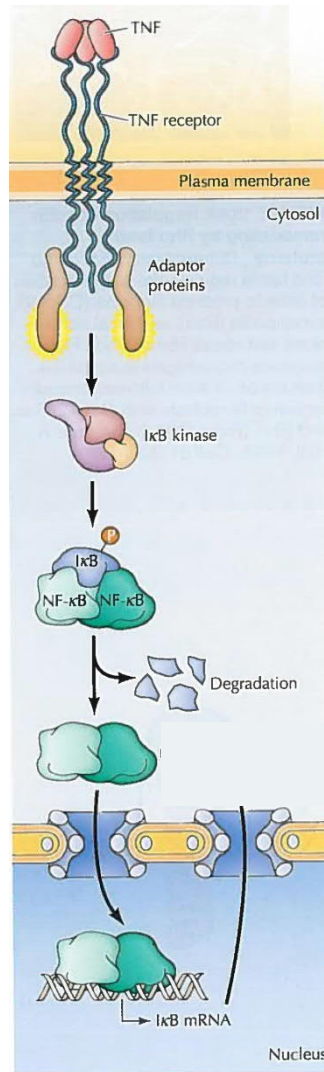
Hiivan tukiproteiini Ste5 liittää toisiinsa G-proteiinin, solukalvon, säätelevän Fus3 proteiinin sekä kolmen kinaasin ketjun

Signaalin lopetus

- Signaalien inaktivointi on vähintään yhtä tärkeää kuin aktivointi
 - Esim. koleratoksiini muuttaa suoliston epiteelissä G-proteiinin toimintaa
 - G-proteiini ei pilko GTP:tä GDP:ksi, jolloin proteiini on jatkuvasti aktiivinen. Seuruksena korkea [cAMP] ja suolojen erityys suolistoon, mistä aiheutuu lopulta ripuli.
- Signaalia voidaan rajoittaa joko yleisesti tai aktiivisesti
 - GTPaasit (GTP), fosfodiesteri (cAMP), fosfataasit (fosforylointi)
 - Palautejärjestelmät (feedback)

Negatiivinen palaute (itsesääntely) voi tapahtua usealla tavalla. Palaute saadaan vaikuttamalla signaalireitin sisällä (esim. apoptoosia aiheuttavan TNF-reitti).

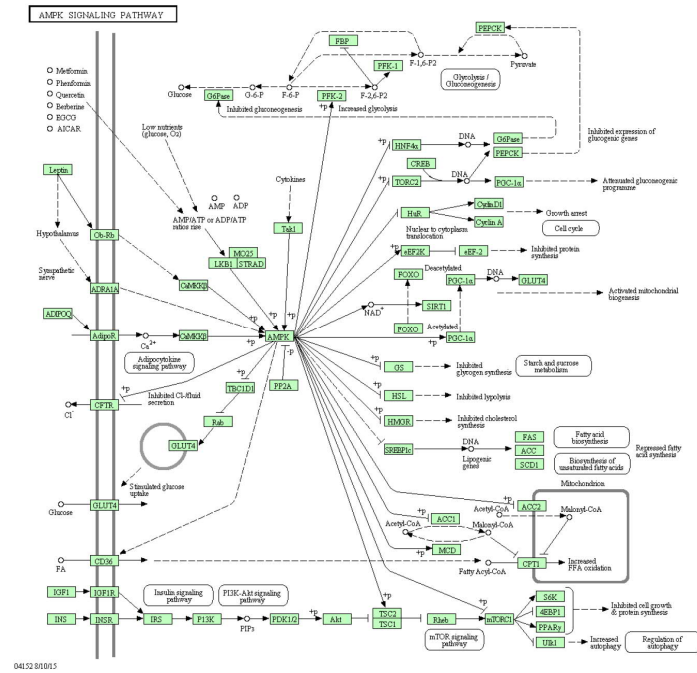
Signaali voi myös aktivoida useita signaalireittejä (esim. kasvutekijän vaikutus)



Signaalireittejä ei tarvitse osata ulkoa

Signalointi vaikuttaa helposti hyvin monimutkaiselta. Kuitenkin niiden tarkastelu on hyvää aivojumppaa ja auttaa ymmärtämään monien biologisten prosessien mekanismeja.

Tunnetut signalointireitit eri eliöille löytyvät esim. KEGG-tietokannasta, www.genome.jp/kegg/



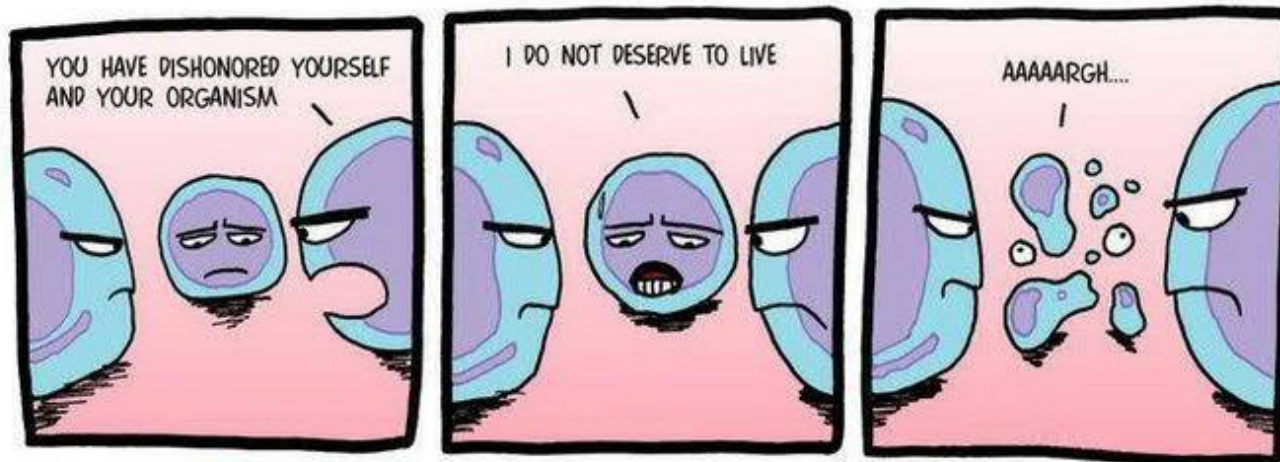
Kiitos!



UNIVERSITY OF
EASTERN FINLAND

uef.fi





APOPTOSIS
cellular
harakiri
© 2010

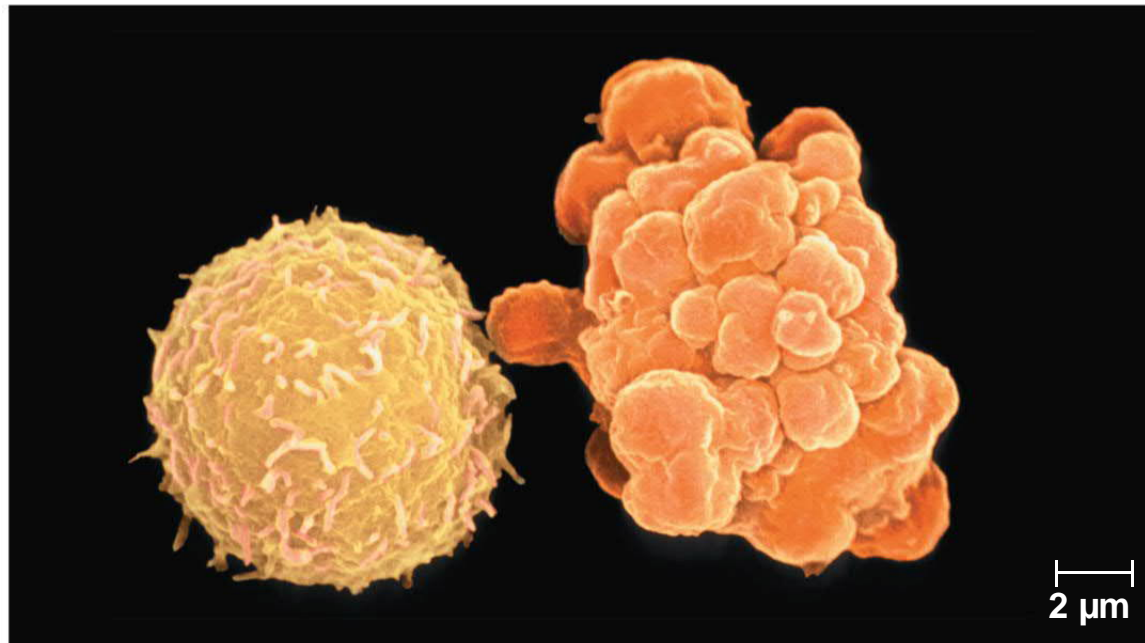
Solu- ja molekyylibiologian perusteet

Signalointi: Ohjelmoitu solukuolema

Ohjelmoitu solukuolema

Infektoituneet, vaurioituneet tai muuten hävitettäväksi määräytyt solut hajoavat ohjelmoidulla solukuolemalla

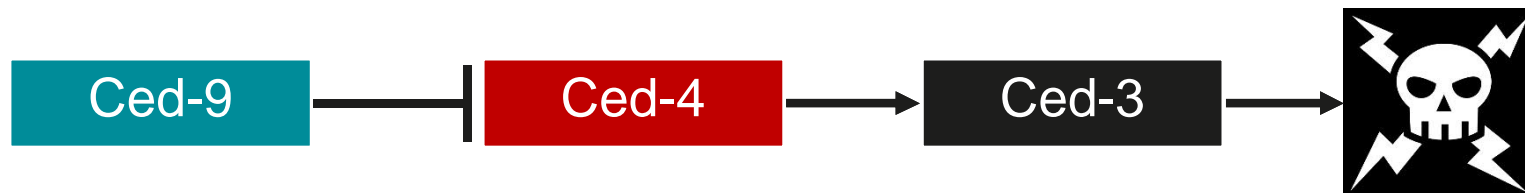
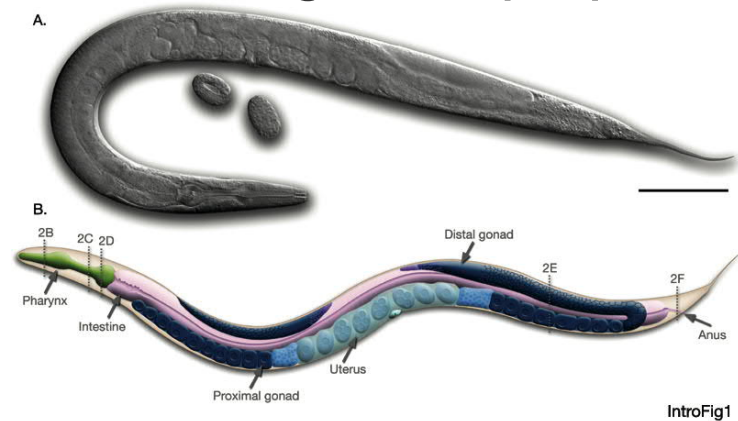
- Apoptoosissa DNA ja soluorganellit pilkotaan hallitusti, solu hajotetaan pieniksi paloiksi
- Vaihtoehtona nekroosi, jossa hajoaminen hallitsematonta ja usein seurauksena läheisten solujen vauriot.
- Ohjelmoidussa solukuolemassa (apoptoosissa) yhdistyy useita solusignaalintireittejä

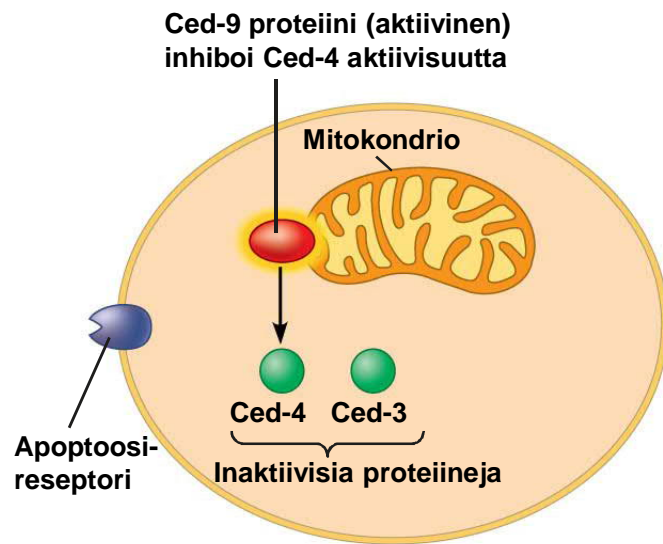


Normaali ja apoptinen ihmisen valkosolu

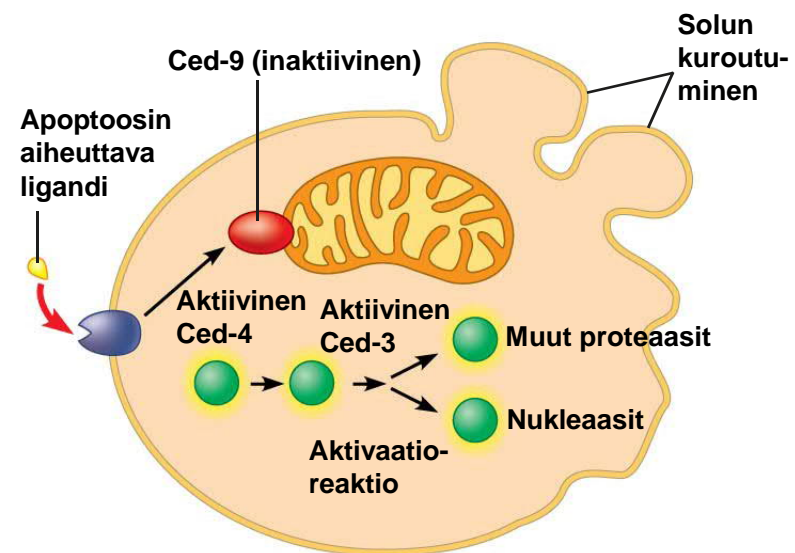
Sukkulamadon *Caenorhabditis elegans* apoptoosi

- Erilaiset tekijät laukaisevat ohjelmoidun solukuoleman
- Yksinkertainen sukkulamato, joka koostuu alle 1000 solusta on helppo esimerkki
- Ced-9 säätelee Ced-3:a, joka tuhoaa solun





(a) Normaali toiminta



(b) Kuoleman signaali

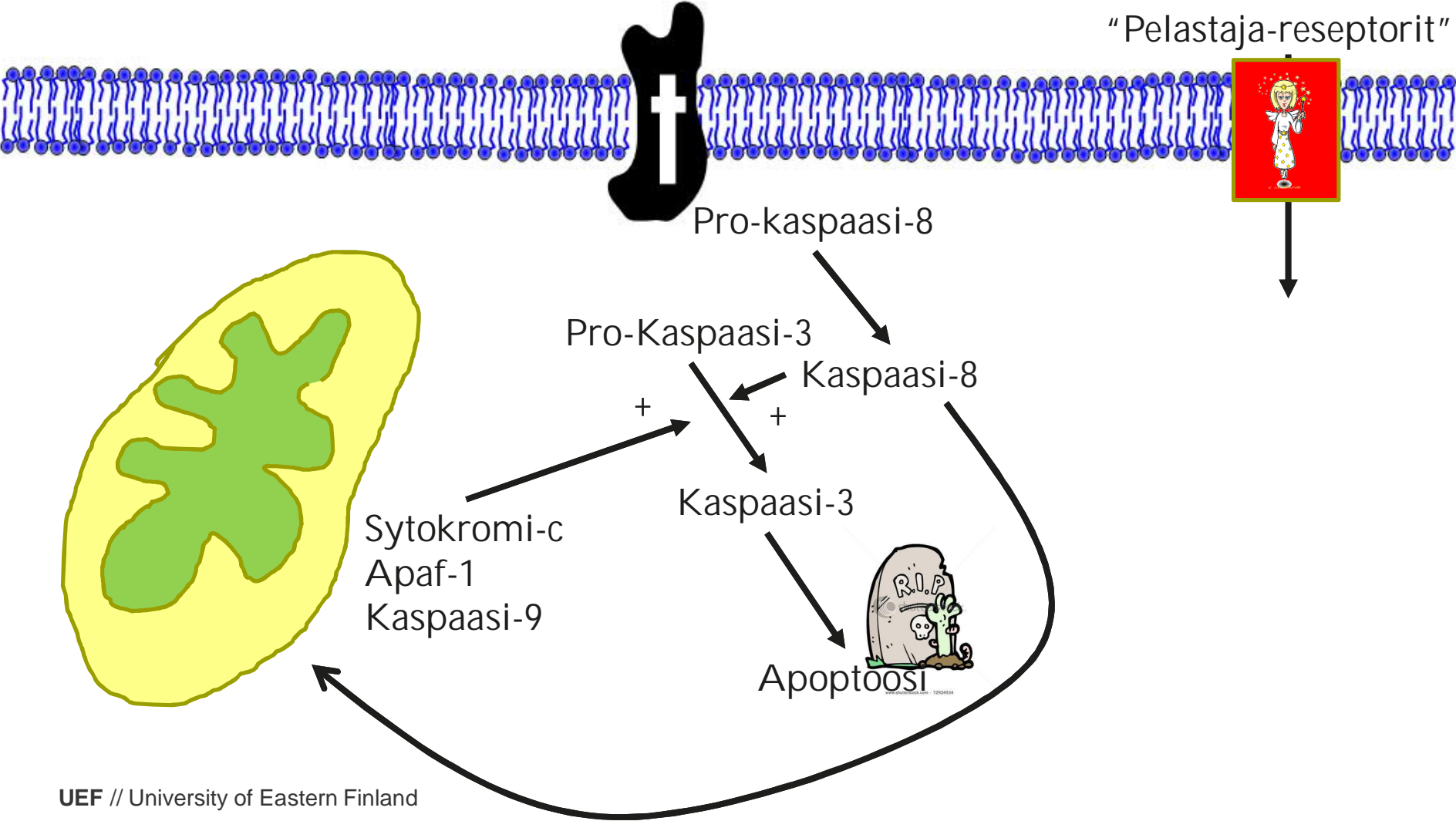
Apoptotoosi nisäkkäillä

Ihmisellä ja muilla nisäkkäillä tunnetaan n. 15 kaspasi-entsyymiä, jotka vastaavat sukkulamadon ced-proteiineja

- Apoptoosi voidaan käynnistää joko solun ulkopuolelta tai solun sisältä
 - Interleukiinit, kasvutekijät, kuoleman käynnistäjät
 - Solustressi, korkea $[Ca^{2+}]_i$, solujakautumisen ongelmat
- Mitokondrion entsyymit tärkeässä roolissa apoptoosin säätelyssä
 - Vain neljä proteiinia voi estää apoptoosin

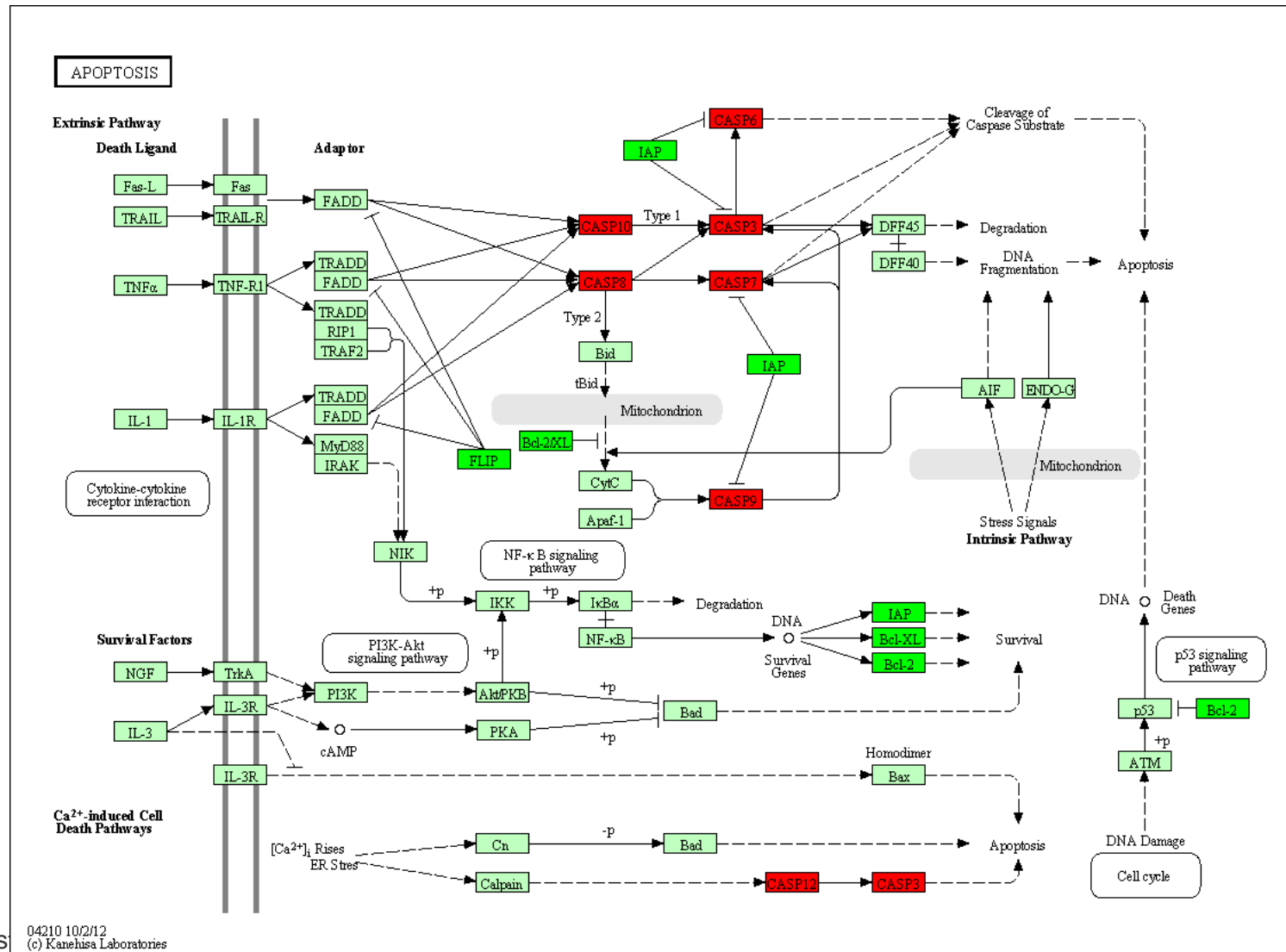
"Kuolema-reseptorit"

"Pelastaja-reseptorit"

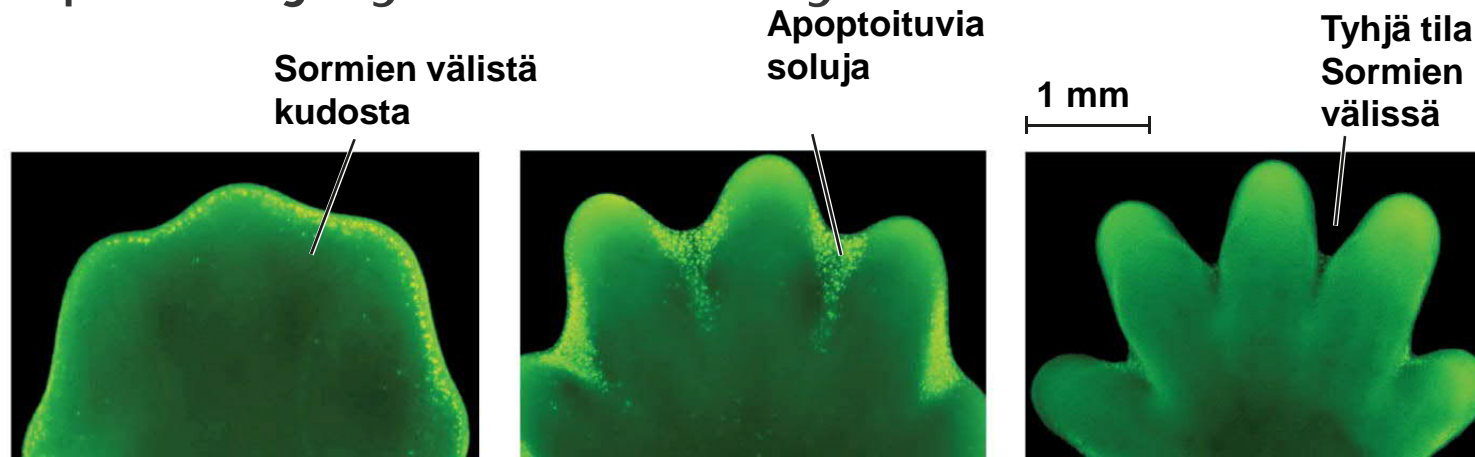


Ihmissolujen apoptoosi on erittäin monimutkainen prosessi, jossa mitokondrioilla on merkittävä rooli.

Signaalinsiirtoon osallistuu useita kinaaseja, jotka säätelevät toistensa aktiivisuutta.



Apoptoosi ja yksilönkehitys



Apoptoosi on välttämätön osa monisoluisen eliön toiminnassa

- Kudokset rakentuvat solujen jakautumisella ja "tarpeettomien" osien poistamisella
- Apoptoosi on viereisille soluille nekroosia parempi vaihtoehto

Kiitos!



UNIVERSITY OF
EASTERN FINLAND

uef.fi

