«УТВЕРЖДАЮ»
Декан биологического факультета МГУ

Академик _____ М.П.Кирпичников
«___» _____ 2015 г.

Рабочая программа дисциплины (модуля)

1. Код и наименование дисциплины (модуля): **«Молекулярная эндокринология»**

2. Уровень высшего образования – подготовка научно-педагогических кадров в аспирантуре.

3. Направление подготовки – **06.06.01 Биологические науки**. Направленность (профиль) программы – **Биохимия**.

4. Место дисциплины (модуля) в структуре ООП: вариативная часть ООП (весенний семестр), спецкурс по выбору (читается на кафедре биохимии)

5. Планируемые результаты обучения по дисциплине (модулю), соотнесенные с планируемыми результатами освоения образовательной программы (компетенциями выпускников)

Формируемые компетенции ***(код компетенции)***	**Планируемые результаты обучения по дисциплине (модулю)**
УК-1*: Способность к критическому анализу и оценке современных научных достижений, генерированию новых идей при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях*	***Владеть:*** навыками анализа методологических проблем, возникающих при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях Код **В1 (УК-1)** ***Владеть:*** навыками критического анализа и оценки современных научных

	достижений и результатов деятельности по решению исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях Код **В2 (УК-1)**
УК-2 *Способность проектировать и осуществлять комплексные исследования, в том числе междисциплинарные, на основе целостного системного научного мировоззрения с использованием знаний в области истории и философии науки.*	***Знать:*** методы научно-исследовательской деятельности Код **З1 (УК-2)**
УК-3: *Готовность участвовать в работе российских и международных исследовательских коллективов по решению научных и научно-образовательных задач*	***Владеть:*** технологиями оценки результатов коллективной деятельности по решению научных и научно-образовательных задач, в том числе ведущейся на иностранном языке Код **В2 (УК-3)**
УК-4: *Готовность использовать современные методы и технологии научной коммуникации на государственном и иностранном языке*	***Владеть:*** навыками анализа научных текстов на государственном и иностранном языках Код **В1 (УК-4)** ***Знать:*** стилистические особенности представления результатов научной деятельности в устной и письменной форме на государственном и иностранном языках Код **З2 (УК-4)**
ОПК-1 *Способность самостоятельно осуществлять научно-исследовательскую деятельность в соответствующей профессиональной области с использованием современных методов исследования и информационно-коммуникационных технологий*	***Уметь:*** собирать, отбирать и использовать необходимые данные и эффективно применять количественные методы их анализа

Оценочные средства для промежуточной аттестации по дисциплине (модулю) приведены в Приложении.

6. Объем дисциплины (модуля) составляет Объем дисциплины (модуля) составляет 2 зачетных единицы, всего 72 академических часа, из которых 24 часа составляет контактная работа аспиранта с преподавателем (24 часа занятий лекционного типа) и 48 часов составляет самостоятельная работа аспиранта (выполнение домашних заданий и написание реферата)

7. Входные требования для освоения дисциплины (модуля), предварительные условия:
ЗНАТЬ: неорганическую и органическую химию, физическую химию, биохимию, основы молекулярной биологии, клеточной биологии и физиологии (на уровне программ специалиста/магистра), теоретические и методологические основы биологических научных исследований
УМЕТЬ: вырабатывать на основе рационального анализа экспериментальных результатов свою точку зрения по вопросам гормональной регуляции биохимических процессов и рецептор-зависимых механизмов передачи сигнала в клетке рецепции и внутриклеточной передачи сигнала, в том числе на иностранных языках, при условии соблюдения научной этики и авторских прав.
ВЛАДЕТЬ: современными информационно-коммуникационными технологиями, иностранным языком.

8. Образовательные технологии: классические лекционные технологии.

9. Содержание дисциплины (модуля), структурированное по темам (разделам) с указанием отведенного на них количества академических часов и виды учебных занятий

Наименование и краткое содержание разделов и тем дисциплины (модуля), **форма промежуточной аттестации по дисциплине (модулю)**	**Всего (часы)**	В том числе								
		Контактная работа (работа во взаимодействии с преподавателем), часы из них						**Самостоятельная работа обучающегося, часы** из них		
		Занятия лекционного типа	Занятия семинарского типа	Групповые консультации	Индивидуальные консультации	Учебные занятия, направленные на проведение текущего контроля успеваемости коллоквиумы, практические контрольные занятия и др)*	**Всего**	Выполнение домашних заданий	Подготовка рефератов и т.п.	**Всего**
Принципы нейроэндокринной регуляции. Иерархия между ЦНС, гипоталамусом, гипофизом и секреторными тканями-мишенями в формировании гормонального статуса организма и его биологических реакций. Основные принципы регуляции активности ферментов и метаболических процессов. Аллостерия и регуляция метаболитами. Изменение активности биологических молекул с помощью ограниченного протеолиза на примере внеклеточного протеолиза. Понятие о рецепторах, агонистах и антагонистах. Сродство агониста к рецептору. Селективность агонистов.	**4**	2					**2**	2		**2**

Общая характеристика, разнообразие и классификация гормонов и нейромедиаторов по типу рецепторов, механизмам передачи сигнала в клетку, конечной мишени внутри клетки и временной шкале развития биологических эффектов. Общие механизмы и этапы передачи внешних сигналов внутрь клетки. Поверхностные и внутриклеточные рецепторы как две основных группы известных рецепторов. Методы экспериментальной регистрации белок-белковых взаимодействий и сигнальных процессов в клетке.	**4**	2					**2**	2		**2**
Принципы классификации поверхностных рецепторов. Краткая характеристика трех основных групп лиганд-управляемых ионных каналов. Метаботропные семидоменные мембранные рецепторы, сопряженные с тримерными G-белками. Внутриклеточная передача сигнала. Каскадный принцип, структурная организация большинства сигнальных модулей. Передача сигнала на основе ферментативных реакций: примеры гетеротримерных G-белков, малых ГТФ-аз, протеинкиназ и фосфатаз.	**8**	4					**4**	4		**4**

Фосфорилирование как основной механизм внутриклеточной передачи сигнала. Протеинкиназы и протеинфосфатазы, липидные киназы и фосфатазы, ферменты с двойной специфичностью. Классификация протеинкиназ и протеинфосфатаз по остатку узнавания и модифицикации. Функциональные характеристики и механизм действия сигнальных протеинкиназ на примере прототипной цАМФ-зависимой протеинкиназы (РКА). Доменная организация РКА, молекулярная структура активного центра и субстрат-связывающих участков. Принцип каркасных взаимодействий. Каркасные (скаффолдовые) белки и их роль в увеличении эффективности взаимодействий компонентов сигнальных модулей, их локализации внутри клетки, переадресации сигнала и формировании регуляторных петель обратной связи. Внутриклеточные механизмы гашения сигнала. Десенситизация, даунрегуляция и деградация поверхностных рецепторов как последовательные этапы их выключения. Пример простейшей положительной обратной связи от семидоменных рецепторов с участием фосфолипаз и ионов Ca^{2+}.	**8**	4					**4**	4		**4**

Сигнальные каскады, активируемые рецепторами, сопряженными с тримерными G-белками. Общий обзор четырех основных сигнальных цепей. Пространственная организация компонентов хемотактических сигнальных каскадов в клетке, приводящая к формированию внутриклеточного градиента сигнальных молекул, поляризации клетки и хемотаксису. Основные сенсорные системы организма, контролируемые рецепторами, сопряженными с тримерными G-белками. Родопсин как прототипный рецептор этой группы. Расположение в мембране и общая структура зрительной клетки. Однодоменные тирозинкиназные и подобные им мембранные рецепторы. Общая классификация по ферментативной активности, ее наличию или отсутствию. Структура и общая характеристика тирозинкиназных рецепторов. Обзор сигнальных каскадов, запускаемых тирозинкиназными рецепторами. MAP-киназный и PI3-киназный каскады как основные. Механизм активации Src-киназы снятием автоингибирования за счет белок-белковых взаимодействий или ферментативной активации.	**8**	4					**4**	4		**4**

Однодоменные тирозинкиназные и подобные им мембранные рецепторы. Общая классификация по ферментативной активности, ее наличию или отсутствию. Классические тирозинкиназные рецепторы и их лиганды. Множественное тирозиновое фосфорилирование как обязательный элемент в передаче сигнала от тирозинкиназных рецепторов. Обзор сигнальных каскадов, запускаемых тирозинкиназными рецепторами. MAP-киназный и PI3-киназный каскады как основные. Механизм активации Src-киназы снятием автоингибирования за счет белок-белковых взаимодействий или ферментативной активации. MAP-киназные сигнальные каскады. Структура и организация MAP-киназных сигнальных модулей (Erk1/2, p38, JNK, Erk3 и Erk5/7 каскады). PI3-киназный сигнальный каскад как основной регулятор клеточного цикла, выживания и роста, пролиферации и миграции клеток. Механизм активации PI3-киназы с участием тирозинкиназного рецептора и Ras. Роль тирозинкиназных рецепторов в онкогенезе.	**8**	4					**4**	4		**4**

Эндоцитоз тирозинкиназных рецепторов и прямая передача сигнала в ядро клетки. Сравнение с механизмом действия стероидных гормонов. Инсулиновый рецептор как представитель гетеротетрамерных рецепторов, обладающих субъединичной структурой в отсутствие лиганда. Субстрат инсулинового рецептора (IRS) – основной компонент этих каскадов. Рецепторы, ассоциируемые с протеинкиназами, и не обладающие своей ферментативной активностью. Эритропоэтиновый рецептор как типичный представитель этой группы, активирующий транскрипцию генов с участием сигнального каскада JAK-STAT. Интегрины как рецепторы клеточной адгезии и их лиганды – белки внеклеточного матрикса. Строение альфа-бета интегринов, реализация связи цитоскелета с матриксом. Молекулы межклеточной адгезии и их классификация (кадгерины, селектины и N-CAM). E-, V- и T-кадгерины, предполагаемое участие T-кадгеринов в навигации клеток.	**32**	4					**4**	4	24	**28**

Промежуточная аттестация - зачет										
Итого:	**72**	**24**					**24**	**24**	**24**	**48**

10. Учебно-методические материалы для самостоятельной работы аспирантов.
Конспекты лекций, аудио- и видеозаписи лекций, файлы презентаций лекций, основная и дополнительная учебная литература (см. п.11)

11. Ресурсное обеспечение:

Основная литература

1. Авдонин П.В., Ткачук В.А. Рецепторы и внутриклеточный кальций. М.: Наука, 1994.
2. Б.Альбертс, Д.Брей, Дж.Льюис, М.Рэфф, К.Робертс, Дж.Уотсон Молекулярная биология клетки М.Мир, 1994
3. Гусев Н.Б. Движение немышечных клеток и реорганизация актиновых микрофиламентов. Соросовский образовательный журнал 2001, том 7, №7, стр. 9-1
4. Смирнов А.Н. Эндокринная регуляция. Биохимические и физиологические аспекты. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009
5. Ткачук В.А. Введение в молекулярную эндокринологию. М.: Изд-во МГУ, 1983.
6. Bolander F.F., Jr. Molecular endocrinology – 3rd edition. Elsevier Academic Press, 632 pp., 2004

Дополнительная литература

Учебники:

7. Северин Е.С., Кочеткова М.Н. Роль фосфорилирования в регуляции клеточной активности. Москва, Наука, 1985
8. Garrett R.H., Grisham C.M. Biochemistry, 4th Edition, Brooks Cole, 2008.
9. Gomperts B.D., Tatham P.E.R., Kramer I.M. Signal Transduction, Academic Press, 2003.
10. Nelson D.L. Cox M.M. Lehninger Principles of Biochemistry, 4th Edition, W.H. Freeman, 2005.

Обзорные статьи:

11. Bhalla, U.S., Ram, P.T. and Iyengar, R. (2002). MAP kinase phosphatase as a locus of flexibility in a mitogen-activated protein kinase signaling network. Science 297(5583): 1018-23.
12. Gould, G.W. and Lippincott-Schwartz, J. (2009). New roles for endosomes: from vesicular carriers to multi-purpose platforms. Nat Rev Mol Cell Biol 10(4): 287-92.
13. Lefkowitz, R.J. (2007). Seven transmembrane receptors: something old, something new. Acta Physiol (Oxf) 190(1): 9-19.
14. Pawson, T. and Nash, P. (2003). Assembly of cell regulatory systems through protein interaction domains. Science 300(5618): 445-52.
15. Pierce, K.L., Premont, R.T. and Lefkowitz, R.J. (2002). Seven-transmembrane receptors. Nat Rev Mol Cell Biol 3(9): 639-50.
16. Taylor, S.S., et al. (2004). PKA: a portrait of protein kinase dynamics. Biochim Biophys Acta 1697(1-2): 259-69.
17. Tata, J.R. (2002). Signalling through nuclear receptors. Nat Rev Mol Cell Biol 3(9): 702-10.
18. Yaffe, M.B. (2002). Phosphotyrosine-binding domains in signal transduction. Nat Rev Mol Cell Biol 3(3): 177-86.

Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети «Интернет»

- http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21054/

Перечень используемых информационных технологий, используемых при осуществлении образовательного процесса, включая программное обеспечение, информационные справочные системы (при необходимости):

Интернет-браузер, базы данных PubMed (NCBI, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed), Protein Data Bank (Research Collaboratory for Structural Bioinformatics http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do)

Описание материально-технической базы.

Кафедра биохимии биологического факультета МГУ располагает необходимым аудиторным фондом, компьютерами, проекторами и экранами, аудиоаппаратурой.

12. Язык преподавания: русский

13. Преподаватель (преподаватели): академик РАН В.А.Ткачук

Приложение

Оценочные средства для промежуточной аттестации по дисциплине (модулю) «Биохимия мышц и биологическая подвижность» на основе карт компетенций выпускников

РЕЗУЛЬТАТ ОБУЧЕНИЯ по дисциплине (модулю)	**КРИТЕРИИ и ПОКАЗАТЕЛИ ОЦЕНИВАНИЯ РЕЗУЛЬТАТА ОБУЧЕНИЯ по дисциплине (модулю), баллы БРС**					**ОЦЕНОЧНЫЕ СРЕДСТВА**
	1,	2	3	4	5	
Владеть: навыками анализа методологических проблем, возникающих при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях Код В1 (УК-1)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- *индивидуальное собеседование, реферат, зачет*
Владеть: навыками критического анализа и оценки современных научных достижений и результатов деятельности по решению исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях Код В2 (УК-1)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- - *индивидуальное собеседование, реферат, зачет*
Знать: методы научно-исследовательской деятельности Код З1(УК-2)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- *индивидуальное собеседование, реферат, зачет*
Владеть:	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- *индивидуальное собеседование, реферат,*

технологиями оценки результатов коллективной деятельности по решению научных и научно-образовательных задач, в том числе ведущейся на иностранном языке Код В2(УК-3)						*зачет*
Знать: стилистические особенности представления результатов научной деятельности в устной и письменной форме на государственном и иностранном языках Код З2(УК-4)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- *индивидуальное собеседование, реферат, зачет*
Владеть: навыками анализа научных текстов на государственном и иностранном языках Код В1(УК-4)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- *индивидуальное собеседование, реферат, зачет*
Уметь: собирать, отбирать и использовать необходимые данные и эффективно применять количественные методы их анализа	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- *индивидуальное собеседование, реферат, зачет*

Фонды оценочных средств, необходимые для оценки результатов обучения

Примеры вопросов к промежуточному контролю (темы рефератов, вопросы для индивидуального собеседования):

1. Принципы и иерархия нейроэндокринной регуляции. Механизмы обратной связи в нейроэндокринной системе. Основные гормоны гипоталамуса и гипофиза.
2. Основные принципы и стратеги регуляции активности ферментов и метаболических процессов.
3. Рецепторы, агонисты и антагонисты. Сродство и селективность, определение связывания гормона с рецептором.
4. Методы измерения связывания лиганда с рецептором. Неспецифическе связывание Скорость ассоциации и диссоциации, сродство, кооперативность.
5. Общая характеристика, разнообразие и классификация гормонов и нейромедиаторов. Две основных группы рецепторов по расположению в клетке.
6. Общая структура и основные характеристики элементов сигнальных каскадов клетки. Характеристика передачи сигнала с участием ферментов и адаптерных белков.
7. Способы достижения селективности и умножения при передаче сигнала. Концепция вторичных посредников, их представители и способ действия.
8. Используемые в лаборатории методы регистрации белок-белковых взаимодействий и сигнальных процессов в клетке.
9. Общая структура и характеристика мембранных рецепторов. Узнавание лиганда рецептором, соответствие лигандов и рецепторов. Общая классификация лигандов.
10. Функциональная и структурно-функциональная классификация поверхностных рецепторов. Сравнительный обзор основных типов мембранных рецепторов.
11. Характеристика основных представителей лиганд-управляемых ионных каналов.
12. Характеристика и основные представители метаботропных 7-доменных мембранных рецепторов, сопряженных с тримерными G-белками.
13. Характеристика и основные представители тирозинкиназных и схожих с ними рецепторов, принципы их классификации.
14. Характеристика и основные представители рецепторов, обладающих внутренней не киназной активностью. Структура и функции гуанилатциклазных рецепторов.
15. Характеристика каскадного принципа внутриклеточной передачи сигналов, общая форма структурно-пространственной организации сигнальных каскадов в клетке.
16. Роль нековалентных взаимодействий в передаче сигнала. Адаптерные белки и взаимодействия. Разнообразие и принципы узнавания последовательностей-мишеней.

17. Роль ферментативных реакций в передаче сигнала. Фосфорилирование как основной механизм. Классификация сигнальных киназ и фосфатаз.
18. Характеристика основных представителей малых ГТФ-связывающих белков группы Ras. ГТФ-азный цикл и его регуляция факторами обмена нуклеотидов.
19. Перекрестные взаимодействия сигнальных каскадов. Сигнальные цепи и сигнальные сети. Использование общих сигнальных цепей и сходимость сигнальных каскадов.
20. Принципы классификации и основные группы протеинкиназ и протеинфосфатаз. Природные белковые ингибиторы фосфатаз, активируемые фосфорилированием.
21. Доменная организация и каталитический механизм прототипной цАМФ-зависимой протеинкиназы. Образование фермент-субстратных и переходных комплексов.
22. Структура активного центра цАМФ-зависимой протеинкиназы. Ключевые элементы вторичной структуры и механизм активации киназ с участием активационной петли.
23. Каркасные (скаффолдовые) белки и взаимодействия. Функции в клетке и основные представители. Роль в переадресации сигнала и формировании обратных связей.
24. Внутриклеточные механизмы гашения внутриклеточного сигнала. Десенситизация, даунрегуляция и деградация поверхностных рецепторов. Механизмы эндоцитоза.
25. Рецептор- и клатрин-зависимый эндоцитоз. Сигналосомы и вторичные сигнальные модули с эндосомальной локализацией. Рециклирование рецепторов.
26. Внутриклеточный траффик эндосомальных везикул, его регуляция Rab-белками. Отличия в регуляции эндоцитоза семидоменных и тирозинкиназных рецепторов.
27. Сигнальные сети и механизмы обратной связи. Примеры и доказательства их автономного функционирования в клетке.
28. Роль карскасных белков и обратных связей в переадресации и длительности сигнала в клетке. Роль пероксида водорода в поддержании активности сигнальных каскадов.
29. Характеристика поверхностных рецепторов, сопряженных с тримерными G-белками. Основные функции и представители, общая классификация этих рецепторов.
30. Топология и ключевые последовательности рецепторов, сопряженных с тримерными G-белками. Взаимодействие этих рецепторов с тримерными G-белками.
31. Характеристика мембранных тримерных G-белков. Разнообразие альфа-субъединиц, их классификация и многообразие формируемых сигнальных сетей.
32. Характеристика четырех основных сигнальных цепей от рецепторов, сопряженных с тримерными G-белками. Рецепторы и каскады, сопряженные с Gq-белками.

33. Механизм действия Gs и Gi белков с участием цАМФ-зависимой протеинкиназы. Механизм патогенного действия холерного и коклюшного токсинов.
34. Различие сигнальных механизмов протеинкиназы А и белков EPAC в регуляции направленной миграции лейкоцитов.
35. Явление хемотаксиса и его регуляция со стороны рецепторов, сопряженных с тримерными Gi-белками, и со стороны тирозинкиназных рецепторов.
36. Обмен фосфатидилинозитолов в мембране клеток. Белки, содержащих PH-домен и специфически связывающие PIP3.
37. Пространственная организация компонентов хемотактических сигнальных каскадов в клетке, обеспечивающая поляризацию и направленное движение клетки.
38. Родопсин как прототипный G-белковый рецептор. Его топология и молекулярный механизм фоторецепции.
39. Механизм действия обонятельных рецепторов, сопряженных с аденилатциклазой и ионными каналами плазматической мембраны.
40. Классификация и механизм действия рецепторов вкуса.
41. Механизмы выключения рецепторов, сопряженных с тримерными G-белками. Функции бета-аррестина и рецептор-ассоциированной протеинкиназы.
42. Общая классификация, разноообразие и характеристика однодоменных тирозинкиназных и подобных им мембранных рецепторов.
43. Структура и общая характеристика тирозинкиназных рецепторов. Классификация, общая функциональная характеристика основных подгрупп и доменная организация.
44. Эволюция тирозинкиназных рецепторов и их лигандов. Повышение специализации и разнообразия в отношении лигандов.
45. Лиганд-зависимая и независимая димеризация при активации тирозинкиназных рецепторов. Роль в онкогенезе. Активация лигандов, функции ADAM-белков.
46. Тирозиновое фосфорилирование в сигнализации от тирозинкиназных рецепторов. Фосфотирозиновый интерактом. Адаптерные белки и их модульные домены.
47. Домены гомологии с c-Src (SH2) и связывания пролин-богатых последовательностей (PTB). Пространственная структура, особенности взаимодействия и специфичность.
48. Обзор сигнальных каскадов, запускаемых тирозинкиназными рецепторами. Механизм активации Src-киназы.
49. Ключевые адаптерные белки тирозинкиназных рецепторов. Механизмы активации Ras-белка. Мультидоменная кооперация. Действие белка SOS.
50. Структура и организация MAP-киназных сигнальных модулей. Факторы, определяющие селективность передачи и умножением сигнала.
51. Консерватизм MAP-киназных каскадов. Механизм активации Raf под действием Ras. Роль каркасных белков в организации каскадов MAP-киназ и переадресации сигнала.
52. Характеристика PI3-киназного каскада и его роли в регуляции клеточного цикла, выживания и роста, пролиферации и миграции клеток.

53. Механизм активации PI3-киназы с участием семидоменных и тирозинкиназных рецепторов. Функции Ras. Множественность изоформ PI3-киназ.
54. Ступенчатый механизм активации протеинкиназы B/Akt – основной мишени PI3-киназного каскада. Переадресация сигнала к комплексу TorC2.
55. Роль сигнальных комплексов TorC1 и TorC2 в регуляции метаболизма, миграции и пролиферации клеток. Механизм действия рапамицина.
56. Роль тирозинкиназных рецепторов в онкогенезе. Механизмы действия основных антираковых препаратов. Использование антител в качестве терапевтических средств.
57. Эндоцитоз тирозинкиназных рецепторов и его роль в сигнализации от тирозин-киназных рецепторов. Функции белка Cbl и вспомогательных белков.
58. Эндосомальный траффик тирозинкиназных рецепторов. Эндосомальный механизм образования внутриклеточного пероксида водорода.
59. Структура и механизм действия инсулинового рецептора. Сигнальные каскады, запускаемые рецептором инсулина и роль белка IRS.
60. Рецепторы фактора роста сосудистого эндотелия и фактора роста фибробластов. Их роль в ангиогенезе. Контролируемые ими сигнальные каскады.
61. Эфрины и эфриновые рецепторы. Прямая и обратная передача сигнала. Навигационная функция этих молекул.
62. Фактор роста гепатоцитов и его рецептор. Роль в регуляции эпителиально-мезенхимального перехода, ветвлении сосудов и метастазировании опухолей.
63. Рецепторы, ассоциируемые с растворимыми тирозинкиназами и сигнальный каскад JAK/STAT. Структура и механизм действия JAK/STAT белков.
64. Интегрины как рецепторы клеточной адгезии. Динамика адгезивных контактов при движении клетки по субстрату, «молекулярный замок». Функции Src и FAK-киназ.
65. Молекулы межклеточной адгезии и их классификация. Строение кадгериновых контактов, функции катенинов и ассоциированных белков.
66. Рецепторы трансформирующего фактора роста бета и их лиганды. Роль в регуляции дифференцировки клеток. Сигнальные каскады с участием SMAD-белков.
67. Внутриклеточные рецепторы. Основные характеристики, классификация и механизм действия.

Темы для беглого устного опроса по окончании указанных разделов

Принципы регуляции и внутриклеточной передачи сигнала

1. Организация внутриклеточных сигнальных систем. Проведение сигнала внутри клетки на основе ферментативных реакций и белок-белковых взаимодействий. Вторичные посредники и их представители. Адаптерные взаимодействия и белки. Сигнальные цепи и "сходимость" сигнальных каскадов.

2. Функции ГТФ-связывающих белков и их классификация. Регуляция ГТФ-азного цикла G-белков и факторы регуляции обмена гуаниловых нуклеотидов. Тримерные G-белки. Разнообразие α, β и γ субъединиц, их классификация по типам сигнальных механизмов, эффекторов и клеточных ответов. Мономерные G-белки и суперсемейство Ras-белков. Перекрестная сигнализация между малыми G-белками.

3. Последовательное фосфорилирование как основной способ каскадной передачи сигнала. Ключевые элементы белковой структуры протеинкиназ на примере цАМФ-зависимой протеинкиназы. Механизм активации и узнавания субстрата. Конформационные изменения, происходящие при связывании субстратов и в процессе катализа. Структурное сходство различных протеинкиназ.

4. Каркасная организация сигнальных каскадов. Каркасные (скаффолдовые) белки, принцип их действия и представители. Роль в компартментализации сигнальных молекул, регуляции проведения сигнала и переключении клеточных ответов.

5. Десенситизация, даунрегуляция, деградация и рециклирование рецепторов. Различные способы удаления активированных рецепторов с поверхности клеток. Функции β-аррестина и белка *Cbl* в эндоцитозе рецепторов. Механизм клатрин-зависимого эндоцитоза. Эндосомальная сортировка рецепторов. Сигналосомы.

Рецепторы

1. Лиганды и рецепторы, агонисты и антагонисты. Сродство агониста к рецептору. Специфичность взаимодействий рецептор-лиганд и перекрестное узнавание. Структура, свойства и классификация клеточных рецепторов. Поверхностные и внутриклеточные, ионотропные и метаботропные рецепторы. Основные типы и подтипы мембранных рецепторов, особенности их структуры.

2. Общая структура, функции и классификация GPCRs. Топология рецептора и G-белкового комплекса в клеточной мембране. Характеристика субъединичного состава и ГТФ-азной активности тримерных G-белков. Принцип действия GPCR и последовательные события, происходящие на уровне плазматической мембраны после связывания лиганда с рецептором.

3. Основные типы и свойства тирозинкиназных рецепторов и рецепторов, ассоциирующих с растворимыми протеинкиназами. Димеризация, активация и трансактивация рецепторов. Роль тирозинового фосфорилирования и адаптерных взаимодействий в проведении сигнала внутрь клетки.

4. Рецепторы (меж)клеточной адгезии и узнавания. Поверхностные рецепторы с навигационной активностью. Принцип действия кадгеринов, селектинов, эфринов и интегринов. Разновидности межклеточных контактов. Сопряжение кадгеринов и интегринов с цитоскелетом.

5. Характеристика внутриклеточных ядерных и цитоплазматических рецепторов. Доменная организация и принципы функционирования ядерных рецепторов. Коактиваторы и корепрессоры, механизм активации транскрипции. Орфановые рецепторы.

Внутриклеточные каскады

1. Основные сигнальные модули (каскады) и сигнальные сети, формируемые с участием различных рецепторов и Gs, Gi, Gq и $G_{12/13}$-белков. Регулируемые клеточные реакции. Организация внутриклеточных каскадов с участием аденилатциклазы и фосфолипазы С.
2. Регуляция длительности активации сигнальных каскадов и переадресации сигнала. Сигнальные сети и обратные связи. Внутриклеточные каскады с участием PI3-киназы, фосфоинозитидов и малых G-белков (Ras, Rho). Роль PI3-киназы и фосфатаз PTEN и SHIP в регуляции обмена фосфатидилинозитолфосфатов, хемотаксиса и пролиферации клеток.
3. Передача сигнала от классических тирозинкиназных рецепторов факторов роста и интегринов. "Фосфотирозиновый интерактом" и адаптерные взаимодействия как ключевой механизм. Адаптерные белки, содержащие SH2 и PTB-домены и молекулярные основы функционирования этих структур.
4. Механизмы активации белка Ras. Активация Raf и эффекторных MAP-киназ. Структура MAP-киназных сигнальных каскадов. Каркасная организация MAP-киназных модулей и переадресации сигнала с переключением клеточных ответов.

Передача сигнала от рецепторов эритропоэтина с участием JAK/STAT каскада. Структура JAK и STAT-белков, обеспечивающая их функции по регуляции транскрипции генов. Передача сигнала от рецепторов TGFβ. Структурная организация и функционирование рецепторов BMP/TGFβ. Доменная организация и механизм действия SMAD-белков.

ПРОГРАММА
зачета по спецкурсу «Молекулярная эндокринология»
Аннотация

Спецкурс посвящен основам гормональной регуляции клеток и тканей организма и механизмам внутриклеточной передачи сигнала. Рассматривается организация нейроэндокринной системы организма, взаимосвязь центральной нервной системы с железами внутренней секреции и клетками тканей-мишеней. Вводятся понятия гормонов, нейромедиаторов, рецепторов и лигандов, разбираются примеры тканеспецифичного действия гормонов. Формулируются основные принципы регуляции метаболических процессов в клетке, механизмы рецепции клетками внешних сигналов и базовые принципы внутриклеточной передачи сигнала. Дается функциональная классификация поверхностных клеточных и внутриклеточных рецепторов, а также основных групп мембранных рецепторов и ионных каналов. Подробно разбираются механизмы эстафетной передачи сигнала внутрь клетки за счет ферментативных реакций и белок-белковых взаимодействий, дается структурно-функциональная характеристика ГТФ-связывающих и адаптерных белков, сигнальных протеинкиназ и фосфатаз. На примерах основных физиологических реакций клетки (изменение метаболического статуса, движение, сокращение, хемотаксис, пролиферация, выживание, межклеточные взаимодействия) рассматривается структура и функции основных сигнальных каскадов клетки. Особое внимание уделяется взаимному влиянию сигнальных систем и формированию обратных связей, эндосомальному транспорту рецепторов и связанной с ним роли эндоцитоза в построении вторичных сигнальных каскадов. Дан краткий анализ регуляторных и клеточных механизмов дифференцировки, гематопоэза и поведения стволовых и прогениторных клеток, опухолевой трансформации, ангиогенеза, и протекторной функции эндотелия в сердечно-сосудистой системе.

Лекционный план

Лекция 1.

Принципы нейроэндокринной регуляции. Иерархия между ЦНС, гипоталамусом, гипофизом и секреторными тканями-мишенями в формировании гормонального статуса организма и его биологических реакций. Механизмы обратной связи в нейроэндокринной системе. Основные гормоны гипоталамуса и гипофиза. Механизм действия кортиколиберина. Роль липопротеидов и тропных гормонов в регуляции синтеза стероидных гормонов из холестерина. Механизм образования тироксила и трийодтиронила. Рефлекторный механизм регуляции кровяного давления под действием ангиотензина и альдостерона. Роль ангиотензин-превращающего фермента (АПФ).

Основные принципы регуляции активности ферментов и метаболических процессов. Аллостерия и регуляция метаболитами. Изменение активности биологических молекул с помощью ограниченного протеолиза на примере внеклеточного протеолиза. Регуляция

путем изменения экспрессии индуцибельных изоформ ферментов на примере действия тиреоидных гормонов. Роль ковалентных модификаций, возможные варианты и множественные модификации на примере белков хроматина. Гистоновый код.

Лекция 2.

Понятие о рецепторах, агонистах и антагонистах. Сродство агониста к рецептору. Селективность агонистов по отношению к рецепторам различных типов на примере альфа- и бета-адренэргических рецепторов. Структура основных агонистов этих рецепторов. Концентрационные зависимости связывания гормона с рецептором in vitro и биологического эффекта in vivo. Зависимость суммарного биологического ответа к агонисту от его концентрации в крови и представленности рецепторов в клетках различных тканей. Механизмы регуляции фракции свободных и связанных агонистов в системе циркуляции. Способы измерения концентрации гормонов в крови.

Лабораторные методы измерения связывания лиганда с рецептором в условиях in vitro и в клеточных системах. Преимущество и недостатки стандартных методов Скэтчарда и Лайнуивера-Берка при определении параметров связывания агониста. Специфическое и неспецифическое связывание. Измерение скоростей связывания и диссоциации лиганда. Определение кооперативности связывания лиганда.

Лекция 3.

Общая характеристика, разнообразие и классификация гормонов и нейромедиаторов по типу рецепторов, механизмам передачи сигнала в клетку, конечной мишени внутри клетки и временной шкале развития биологических эффектов. Общие механизмы и этапы передачи внешних сигналов внутрь клетки. Поверхностные и внутриклеточные рецепторы как две основных группы известных рецепторов.

Принципы рецептор-зависимой передачи сигнала внутрь клетки. Композиция и основные характеристики элементов сигнальных систем – сигнальных каскадов клетки. Рецепторный, мембранный, и цитоплазматический уровни, их общие черты и различия. Два основных молекулярных механизма передачи сигнала с участием ферментативных реакций и белок-белковых взаимодействий за счет адаптерных белков. Понятие о селективности и умножении при передаче сигнала, механизмы их реализации. Понятие о вторичных посредниках, их основные представители и разнообразие способов действия. Эволюционный консерватизм наиболее значимых сигнальных каскадов.

Методы экспериментальной регистрации белок-белковых взаимодействий (FRET, pull-down assay и др.) и сигнальных процессов в клетке (вестерн-блот с использованием фосфоспецифических антител, ингибиторный анализ, генетически модифицированные компоненты).

Уровень рецепции внешних сигналов на поверхности клетки. Общее строение и характеристика мембранных рецепторов. Основы молекулярного узнавания лиганда рецептором, определяющего сродство лиганда к рецептору. Наличие нескольких лигандов для одного рецептора, а также нескольких рецепторов для одного лиганда; взаимная селекция по сродству. Общая классификация лигандов по функциям, их размеру, химической, липидной или белковой природе.

Лекция 4.

Принципы классификации поверхностных рецепторов. Функциональное разделение на ионотропные и метаботропные, структурно-функциональное разделение на основные типы: ионные каналы; семидоменные рецепторы, сопряженные с тримерными G-белками; однодоменные рецепторные тирозиновые киназы и схожие с ними рецепторы; рецепторы с внутренней ферментативной активностью. Наличие метаботропных и ионотропных рецепторов внутри одного типа на примере никотиновых и мускариновых рецепторов к ацетилхолину и пуринэргических рецепторов.

Краткая характеристика трех основных групп лиганд-управляемых ионных каналов. Рецепторы, содержащие Cys-петлю: GABA-рецепторы, глициновые, серотониновые, ацетилхолиновые и ZAC-рецепторы. Глутаматные ионотропные рецепторы: каинатные, AMPA- и NMDA-рецепторы. АТФ-управляемые (пуринэргические) ионотропные рецепторы $P2X_{1\text{-}7}$.

Метаботропные семидоменные мембранные рецепторы, сопряженные с тримерными G-белками. Принцип устройства и трансмембранной организации. Тирозинкиназные и схожие с ними рецепторы, их дальнейшая классификация: рецепторы, обладающие тирозинкиназной активностью; серин/треониновой киназной активностью; привлекающие растворимые цитозольные тирозинкиназы; а также обладающие внутренней, но не киназной, ферментативной активностью. Краткая характеристика последних на примере рецепторов части обонятельных нейронов, обладающих гуанилатциклазной активностью. Мембранная и растворимая цитозольная формы гуанилатциклазных рецепторов.

Лекция 5.

Внутриклеточная передача сигнала. Каскадный принцип, структурная организация большинства сигнальных модулей. Передача сигнала путем нековалентных взаимодействий, на каких этапах каскад как правило реализуется: взаимодействие лиганд-рецептор, в мембране (рецептор-G-белок), на границе мембрана-цитозоль (с примерами белок-белковых и липид-белковых взаимодействий), в цитозоле (взаимодействия адаптерных белков и низкомолекулярных вторичных посредников с их мишенями). Понятие об адаптерных взаимодействиях и модульных белках, их обеспечивающих. Разнообразие адаптерных белков и их модульных доменов: домены узнавания модифицирующих групп, консенсусных белковых последовательностей, фосфолипидов, междоменные взаимодействия.

Передача сигнала на основе ферментативных реакций: примеры гетеротримерных G-белков, малых ГТФ-аз, протеинкиназ и фосфатаз. Текущая номенклатура и представители основных семейств малых ГТФ-связывающих белков суперсемейства Ras (Ras, Rab, Rho, Arf, Ran, Miro), отличия их структуры и функций в клетке. ГТФ-азный цикл и регуляция факторами обмена нуклеотидов (GEF, GAP, GDI).

Принцип перекрестных взаимовлияний сигнальных каскадов (cross-talk). Понятие о сигнальных цепях и сигнальных сетях. Использование общих сигнальных цепей разными рецепторами для достижения биологического эффекта. Принцип сходимости сигнальных каскадов.

Лекция 6.

Фосфорилирование как основной механизм внутриклеточной передачи сигнала. Протеинкиназы и протеинфосфатазы, липидные киназы и фосфатазы, ферменты с двойной специфичностью. Классификация протеинкиназ и протеинфосфатаз по остатку узнавания и модифицикации. Гистидиновые киназы и поэтапная передача сигнала. Основные группы протеинфосфатаз (PP1, PP2A, PP2B, P2C, PTP), особенности их структурной и субъединичной организации. Внутриклеточные белковые ингибиторы фосфатаз, активируемые фосфорилированием, на примере белков CPI17 и PHI-1, регулирующих активность миозиновой фосфатазы.

Функциональные характеристики и механизм действия сигнальных протеинкиназ на примере прототипной цАМФ-зависимой протеинкиназы (PKA). Доменная организация PKA, молекулярная структура активного центра и субстрат-связывающих участков. Ключевые элементы вторичной структуры – P-петля, C-, E- и F-спирали, формирующие активный центр. Молекулярный механизм активации PKA при связывании субстрата, образование фермент-субстратных и переходных комплексов, выявленных с помощью рентгеноструктурного анализа. Роль консервативных аминокислотных остатков Глу-91 и Лиз-72 N-домена в координации катиона и нуклеотида и активационной петли C-домена в связывании белкового субстрата. Участки модификации в активационной петле киназ, регулируемых фосфорилированием. Структурная гомология каталитических доменов разных протеинкиназ и липидных киназ.

Пероксид водорода как новый вторичный посредник и регулятор активности ряда сигнальных протеинкиназ и фосфатаз. Фосфотирозинфосфатазы как основные мишени внутриклеточного пероксида водорода.

Принцип каркасных взаимодействий. Каркасные (скаффолдовые) белки и их роль в увеличении эффективности взаимодействий компонентов сигнальных модулей, их локализации внутри клетки, переадресации сигнала и формировании регуляторных петель обратной связи. Основные представители каркасных белков – белки AKAP, Yotiao, RACK/PICK/STICK, бета-аррестин и миозин-связывающая субъединица фосфатазы PP1.

Лекция 7.

Внутриклеточные механизмы гашения сигнала. Десенситизация, даунрегуляция и деградация поверхностных рецепторов как последовательные этапы их выключения. Удаление рецепторов с мембраны за счет эндоцитоза, общая описание разновидностей эндоцитоза (клатрин- и кавеолин-зависимый, рафтовый эндоцитоз). Механизм рецептор-зависимого эндоцитоза с участием клатрина, динамина, и вспомогательных белков AP-1, HSC-70 и оксилина. Образование сигналосом и формирование вторичных сигнальных модулей с

эндосомальной локализацией. Общая характеристика внутриклеточного траффика эндосомальных везикул. Роль малых ГТФ-аз Rab-семейства и возможность рециклирования рецепторов на плазматическую мембрану.

Формирование сигнальных сетей и механизмов обратной связи. Пример простейшей положительной обратной связи от семидоменных рецепторов с участием фосфолипаз и ионов Ca^{2+}. Простая сигнальная сеть от рецептора тромбоцитарного фактора роста с участием MAP-киназного и фосфоинозитидного каскадов. Эксперименты, доказывающие автономное функционирование формируемой ими петли обратной связи. Роль механизмов обратной связи и переадресации сигнала в регуляции его длительности и зависимость клеточного ответа от длительности сигнала. Возможные функции пероксида водорода в поддержании длительности хемотактической сигнализации и динамики псевдоподий в мигрирующей клетке.

Поверхностные рецепторы, сопряженные с тримерными G-белками. Топология рецепторов в мембране, расположение ключевых сигнальных последовательностей в структуре рецепторов. Принцип действия и динамика лиганд-зависимого взаимодействия рецепторов с тримерными G-белками. Обзор функций и представителей этих рецепторов, их общая классификация.

Комплекс мембранных G-белков и его топология в мембране. Субъединичный состав и функциональная характеристика субъединиц тримерных G-белков. Разнообразие альфа-субъединиц, их деление на основные группы (Gs, Gi, Gq, G12/13). Классификация рецепторов по преимущестенному сопряжению с одной из этих групп. Многообразие сигнальных сетей, формируемых мембранными G-белками.

Лекция 8.

Сигнальные каскады, активируемые рецепторами, сопряженными с тримерными G-белками. Общий обзор четырех основных сигнальных цепей. Регуляция аденилатциклазы под действием Gs и Gi белков. цАМФ-зависимая протеинкиназа как классическая мишень этого каскада. Белки EPAC как альтернативная мишень цАМФ. Разные функции PKA и EPAC в регуляции направленной миграции лейкоцитов через эндотелиальный барьер кровеносных сосудов. Явление хемотаксиса и его визуализация с помощью прижизненной видеомикроскопии. Роль рецепторов, сопряженных с тримерными Gi-белками, их бета-гамма субъединиц, и PI3-киназного каскада в хемотаксисе нейтрофилов млекопитающих и свободноживущей амебы Dictyostelium. Обмен фосфатидилинозитолов в мембране клеток с участием PI3-киназы и фосфатаз PTEN и SHIP. Активация белков, содержащих PH-домен и специфически связывающих PIP3 – продукт действия PI3-киназы.

Пространственная организация компонентов хемотактических сигнальных каскадов в клетке, приводящая к формированию внутриклеточного градиента сигнальных молекул, поляризации клетки и хемотаксису. Демонстрация видеофильмов, отражающих роль хемотаксиса в поведенческих реакциях нейтрофилов и клеток Dictyostelium. Механизм действия лизофосфатидной кислоты через рецепторы, сопряженные с G12/13-белками, и малые ГТФ-азы Rho-семейства, вызывающий миграцию лейкоцитов.

Рецепторы, сопряженные с Gq-белками и активация трисфосфоинозитид-зависимого каскада, приводящего к активации протеинкиназы С и повышению внутриклеточного концентрации Ca^{2+}. Краткая демонстрация роли Ca^{2+} в регуляции сокращения мышц.

Механизм патогенного действия холерного и коклюшного токсинов, вызывающих неконтролируемое повышение внутриклеточного цАМФ.

Основные сенсорные системы организма, контролируемые рецепторами, сопряженными с тримерными G-белками. Родопсин как прототипный рецептор этой группы. Рсположение в мембране и общая структура зрительной клетки. Молекулярный механизм фоторецепции, роль цГМФ и фосфодиэстеразы цГМФ. Механизм действия обонятельных рецепторов, сопряженных с аденилатциклазой и ионными каналами плазматической мембраны. Рецепторы вкуса, их классификация и активируемые сигнальные каскады внутри клетки.

Механизмы выключения рецепторов, сопряженных с тримерными G-белками. Функции бета-аррестина и рецептор-ассоциированной протеинкиназы.

Лекция 9.

Однодоменные тирозинкиназные и подобные им мембранные рецепторы. Общая классификация по ферментативной активности, ее наличию или отсутствию. Структура и общая характеристика тирозинкиназных рецепторов. Классификация, общая функциональная характеристика и доменная организация рецепторных тирозиновых киназ основных подгрупп.

Классические тирозинкиназные рецепторы и их лиганды. Эволюция на примере рецептора эпидермального фактора роста. Слияние и дупликация генов, частичная инактивация этих рецепторов как механизм специализации в отношении лигандов. Комбинаторный механизм формирования разнообразия лигандов и их селективного узнавания. Лиганд-зависимая и независимая димеризация как необходимый этап активации этих рецепторов. Роль лиганд-независимой активации в опухолевом генезе. Необходимость протеолитической активации лигандов этих рецепторов, ADAM-белки и их физиологические функции.

Множественное тирозиновое фосфорилирование как обязательный элемент в передаче сигнала от тирозинкиназных рецепторов. Белковые (модульные) домены, отвечающие за связывание непосредственных мишеней с активированными рецепторами. Понятие о фосфотирозиновом интерактоме. Адаптерные белки, содержащие домены гомологии с c-Src (SH2) и взаимодействия с пролин-богатыми последовательностями (PTB). Пространственная структура SH2 и PTB доменов, установленная с помощью рентгеновской кристаллографии. Молекулярные особенности взаимодействия этих структур с фосфотирозиновыми последовательностями рецепторов, определяющие специфичность.

Обзор сигнальных каскадов, запускаемых тирозинкиназными рецепторами. MAP-киназный и PI3-киназный каскады как основные. Механизм активации Src-киназы снятием автоингибирования за счет белок-белковых взаимодействий или ферментативной активации.

Ключевые адаптерные белки рецепторов (Grb2, Shc, SOS). Последовательные молекулярные взаимодействия, приводящие к активации Ras-белка и MAP-киназных каскадов. Многообразие способов активации Ras. Ras как каноническая мишень рецепторов этой группы, мутации этого белка, связанные с онкологией. Мультидоменная кооперация при активации Ras-GEF. Молекулярный механизм активации Ras под действием SOS.

Лекция 10.

MAP-киназные сигнальные каскады. Структура и организация MAP-киназных сигнальных модулей (Erk1/2, p38, JNK, Erk3 и Erk5/7 каскады). Три киназных уровня с высокой селективностью передачи и умножением сигнала, обеспечиваемых консесусным узнаванием субстрата и двойной специфичностью киназ второго уровня. Эволюционный консерватизм MAP-киназных каскадов. Механизм активации Raf под действием Ras как пример сходимости сигнальных путей. Роль белок-белкового и ферментативного механизма в снятии автоингибирования Raf-киназы. Роль каркасных белков (KSR, MP1) в пространственной организации MAP-киназных каскадов. Пример участия каркасных белков Ste5p и Pbs2p/Sho1 в переадресации сигнала внутри MAP-киназных каскадов у дрожжей.

PI3-киназный сигнальный каскад как основной регулятор клеточного цикла, выживания и роста, пролиферации и миграции клеток. Механизм активации PI3-киназы с участием тирозинкиназного рецептора и Ras. Множественность изоформ PI3-киназ, их субъединичная организация и роль как регуляторных, так и каталитических субъединиц в рецептор-зависимой активации. PI3-киназа как пример сходимости сигнальных каскадов от тирозинкиназных и G-белковых мембранных рецепторов. Ступенчатый механизм активации протеинкиназы B/Akt – основной мишени PI3-киназного каскада. Фосфолипид-зависимые киназы 1 и 2. Переадресация сигнала к комплексу TorC2. Роль сигнальных комплексов TorC1 и TorC2 в регуляции метаболизма, миграции и пролиферации клеток. Механизм действия рапамицина и его значимость как лекарственного препарата для предотвращения рестеноза после стентирования и аорто-коронарного шунтирования сосудов.

Роль тирозинкиназных рецепторов в онкогенезе: повышенная экспрессия при трансформации клеток, делеции внутри рецепторов и мутации киназного домена, приводящие к гиперактивации контролируемых рецепторами сигнальных путей. Тирозинкиназные рецепторы как главные мишени антираковой терапии. Механизм действия основных антираковых препаратов (эрбитукс, омнитарг, герсептин, гефитиниб, лапатиниб). Использование антител к рецепторам эпидермального фактора роста в качестве терапевтических средств.

Лекция 11.

Эндоцитоз тирозинкиназных рецепторов и прямая передача сигнала в ядро клетки. Сравнение с механизмом действия стероидных гормонов. Роль убиквитинлигазы Cbl в эндоцитозе тирозинкиназных рецепторов и адаптерных белков s80 и YAP в транслокации активного рецептора в ядро. Механизм действия белка Cbl с участием эндофилина и белка CIN85/Ruk. Интерактом Cbl и регуляция его активности в

клетке. Регистрация динамики эндоцитоза рецептора эпидермального фактора роста с использованием флуоресцентных белков и квантовых точек. Эндосомальный механизм образования внутриклеточного пероксида водорода и использование биосенсорной технологии для определения его внутриклеточной динамики. Эндосомальный траффик тирозинкиназных рецепторов.

Другие тирозинкиназные рецепторы: инсулиновый рецептор как представитель гетеротетрамерных рецепторов, обладающих субъединичной структурой в отсутствие лиганда. Сигнальные каскады, запускаемые рецептором инсулина. Субстрат инсулинового рецептора (IRS) – основной компонент этих каскадов. Возможное участие свободных форм кислорода и пероксида водорода в регуляции отдельных компонентов передачи сигнала от инсулинового рецептора. Рецептор фактора роста сосудистого эндотелия (VEGF) и его роль в ангиогенезе. Сигнальные каскады, контролируемые рецептором VEGF. Рецептор фактора роста фибробластов (FGF) и его лиганды во внеклеточном матриксе и на поверхности других клеток. Роль адаптерного белка FRS2 и основные сигнальные каскады, контролируемые рецептором FGF. Эфрины и эфриновые рецепторы: множественность рецепторов и лигандов и роль в межклеточном узнавании и навигации при движении клеток. Прямая и обратная передача сигнала. Фактор роста гепатоцитов (HGF) и его рецептор c-Met. Запускаемые сигнальные каскады и роль в регуляции эпителиально-мезенхимального перехода, ветвлении сосудов и метастазировании опухолей. c-Met как основной маркер стволовых и прогениторных клеток.

Рецепторы, ассоциируемые с протеинкиназами, и не обладающие своей ферментативной активностью. Эритропоэтиновый рецептор как типичный представитель этой группы, активирующий транскрипцию генов с участием сигнального каскада JAK-STAT. Доменная организация и механизм действия Янус-киназ (JAK) и сигнальных активаторов транскрипции (STAT-белков). Роль димерных взаимодействий в этой ветви передачи сигнала. Передача сигнала от рецептора В-клеток с участием цитозольных тирозинкиназ Syk и Btk и фосфатазы SHP-1.

Лекция 12.

Интегрины как рецепторы клеточной адгезии и их лиганды – белки внеклеточного матрикса. Строение альфа-бета интегринов, реализация связи цитоскелета с матриксом. Динамика адгезивных контактов при движении клетки по субстрату: визуализация с помощью химерных конструкций интегри-связывающих и флуоресцентных белков. Формирование интегринами «молекулярного замка», обеспечивающего сопряжение протрузионной активности переднего края и подтягивания за счет сокращения в теле клетки. Разнообразие белков, привлекаемых интегринами и интегриновый интерактом. Src и FAK – основные цитозольные тирозинкиназы, привлекаемые интегринами для запуска сигнала внутрь клетки. Динамическая регуляция образования, созревания и разрушения адгезивных контактов с участием Src-, FAK-киназ и малых Rho-ГТФ-аз.

Молекулы межклеточной адгезии и их классификация (кадгерины, селектины и N-CAM). E-, V- и T-кадгерины, предполагаемое участие T-кадгеринов в навигации клеток. Строение кадгериновых контактов, роль альфа- и бета-катенинов в связи этих контактов с цитоскелетом, функции бета-катенина как транскрипционного фактора при эпителиально-мезенхимальном переходе. Участие других белков (виментина, формина, винкулина и а-актинина) в связывании с цитоскелетом. Формирование и виды различных межклеточных структур (adherens, gup, occluding, tight junctions).

Серин/треонин-киназные рецепторы трансформирующего фактора роста бета (TGF-b) и их лиганды (TGF-b, активины и факторы роста и дифференцировки GDF) как главные регуляторы дифференцировки клеток. Структура и механизм активации рецептора: образование полностью трансмембранных гетеротетрамеров из двух субъединиц I типа (конститутивных киназ) и двух субъединиц II типа (активируемых киназы), специфичных для каждой группы лигандов. Фосфорилирование своих SMAD-белков активируемыми киназами рецепторов, их димеризация с общим и нефосфорилируемым коактиватором SMAD4 и транслокация димеров в ядро и последующее связывание с ДНК.

Внутриклеточные рецепторы. Основные характеристики и классификация на цитоплазматические и ядерные рецепторы I и II типов. Механизм действия с участием HSP-белков, коактиваторов и корепрессоров. Доменная организация ядерных рецепторов, лиганд-связывающий и ДНК-связывающий домены. Аналогия со STAT-белками. Орфановые рецепторы.