

Seminar – 10

Provođenje signala

Boris Mildner

Rješenja zadaće 9.

1.	D	13.	D
2.	D	14.	C
3.	C	15.	C
4.	A	16.	B
5.	B	17.	A
6.	D	18.	C
7.	D	19.	A
8.	D	20.	C
9.	D	21.	A
10.	B	22.	D
11.	D	23.	A
12.	A	24.	A

1. Membranski receptorski proteini često se koriste za prijenos informacija iz staničnog okoliša u stanicu. Zbog čega se informacije prenose receptorima?

- a) Signalna molekula nije topljiva u citoplazmi stanice;
- b) Signalna molekula se prenosi u stanicu pomoću receptora;
- c) Signalna molekula je prevelika i/ili pre-polarna da bi mogla prodrijeti kroz staničnu membranu.

2. Vežanje signalne molekule na membranski receptor često rezultira u promjeni koncentracije jedne druge specifične molekule u stanici. Ovu drugu molekulu nazivamo:

- a) Primarnim glasnikom;
- b) Sekundarnim glasnikom;
- c) Gasiteljem signala.

3. Fosforilacija proteina koristi se za regulaciju staničnih aktivnosti. Koji su proteini uključeni u fosforilaciju proteina?

- a) Proteinske kinaze i proteinske fosfataze;
- b) Nukleotid difosfat kinaze i ATP sintaze;
- c) ATP i ADP.

4. Zajednička osobina zmijolikih 7TM receptora je:

- a) U njihovoj strukturi je sedam transmembranskih uzvojnica;
- b) Mogućnost da reagiraju na slične signale;
- c) Zbog homologije ovi receptori naizmjenično prenose različite signale.

5. GTPazna aktivnost G proteina je važna:

- a) G proteini su aktivni samo onda kada je na njih vezan GDP.
- b) Fosfat koji se oslobađa djelovanjem GTPaza važan je sekundarni glasnik;
- c) Djelovanjem GTPaze dolazi do prestanka indukcije početnog signala, odnosno do njegovog gašenja.

6. Hidrolizom fosfatidil-inozitol-bisfosfata ( $PIP_2$ ) pomoću fosfolipaze C nastaju dva sekundarna glasnika:

- a) Diacilglicerol i inozitol-1,4,5-trifosfat;
- b) Diacilglicerol-fosfat i inozitol-4,5-bisfosfat;
- c) Slobodne masne kiseline i molekula u kojoj je zaostao inozitol-4,5-difosfat vezan za fosfat glicerola.

7. Zašto kalcijevi ioni mogu regulirati biokemijske procese u stanici?

- a) Zbog velike koncentracije kalcijevih iona u stanici;
- b) Zbog toga što se kalcijevi ioni vežu za kalmodulin;
- c) Zbog kompeticije s magnezijevim ionima.

8. Koji su od navedenih primarni glasnici?

- a) cAMP i cGMP;
- b) Adrenalin i inzulin;
- c) Arf, Rab, Ran, Ras i Rho.

9. Iako vezanje liganda na 7TM receptore uzrokuje promjenu tercijarne strukture receptora, za jednu drugu vrstu receptora karakteristika je da dimeriziraju nakon što su se za njih vezali ligandi. To nastaje zbog toga što:

- a) Intracelularne domene proteinskih kinaza dolaze u međusobni kontakt koji dovodi do aktivacije kinaza i njihovog međusobnog fosforiliranja;
- b) Intracelularne domene se proteolitički otcjepljuju i djeluju kao sekundarni glasnici;
- c) Konformacija intracelularnih domena se mijenja iz konformacije koja je slabo organizirana u konformaciju koja je jako organizirana.

10. Tumori, bolesti čija je karakteristika nekontrolirani rast stanica, često su povezani s nedostacima u putovima provođenja signala. Koja vrsta proteina je često vrlo aktivna u tumorskim stanicama?

- a) Proteinske kinaze;
- b) Kalmodulin;
- c) G-proteini.

### Zadatak 1.

Prema Vašem znanju i razumijevanju provođenja signala navedite svojstva koja bi tvar trebala posjedovati kako bi se nazvala hormonom.

## Zadatak 1.-rješenje

Da se neka tvar klasificira kao hormon, potrebna su sljedeća svojstva:

- a) Kako bi mogla prenositi informacije iz jednog tkiva u drugo, tvar se mora sintetizirati i izlučiti u jednoj vrsti stanica, a biološki efekt mora ispoljavati u drugoj vrsti stanica.
- b) Mora biti sposobna inducirati pojačanje početnog signala.
- c) Mora se moći sintetizirati i izlučiti kao odgovor na neki podražaj, a nakon što podražaj prestane, sinteza (produkcija) tvari mora prestati.
- d) Mora se moći selektivno razgraditi nakon prestanka podražaja.
- e) Dodatak purificirane tvari (hormona) mora izvršiti specifični fiziološki odgovor.
- f) Specifični inhibitori fiziološkog odgovora moraju također biti efikasni u gašenju *in vitro* podražaja.
- g) Specifični receptori hormona moraju postojati i moraju biti mnogobrojniji u tkivu koje je osjetljivo na djelovanje tog hormona.

## Zadatak 2.

Zašto se kanali koje kontroliraju ligandi mogu smatrati receptorima?

### Rješenje zadatka 2.

Kao i ostali receptori, kanali koji se kontroliraju vezanjem liganda vežu ligande koji im onda mijenjaju aktivnost. Npr.  $\text{Ca}^{2+}$  kanal koji se aktivira s  $\text{IP}_3$  zatvoren je tako dugo dok se ne veže  $\text{IP}_3$ .

### Zadatak 3.

Zbog čega je aktivnost GTPaze bitna za funkciju G proteina u stanici?

### Rješenje zadatka 3.

Aktivnost GTPaze gasi signal. Bez takve aktivnosti nakon što se aktivirao, signalni put bi ostao aktivan i ne bi više reagirao na promjene početnog signala.

### Zadatak 4.

Kako bi bili djelotvorni, intracelularni signali moraju se efikasno inaktivirati. Objasnite "gašenje" signala za sljedeće intracelularne glasnike:

- a) G proteine
- b) Cikličke nukleotide
- c) Fosfoproteine
- d) Kalcijeve ione
- e) Inozitol-1,4,5-trisfosfat (IP<sub>3</sub>)
- f) diacilglicerol

#### Zadatak 4.-rješenje

- a) G proteini su aktivni dok je GTP vezan, a inaktiviraju se kada se GTP hidrolizira u GDP i  $P_i$ ;
- b) Ciklički nukleotidi se pretvaraju pomoću fosfodiesteraze u 5'-mononukleotide;
- c) Fosfati se uklanjaju s fosfoproteina pomoću protein-fosfataza;
- d)  $Ca^{2+}$ -ioni se izbacuju iz citoplazme u ekstracelularni prostor ili u intracelularne organele koje pohranjuju  $Ca^{2+}$ -ione (ER, mitohondriji);
- e) Inozitol-1,4,5-trisfosfat može se razgraditi u inozitol i  $P_i$  djelovanjem fosfataza ili se može fosforilirati pomoću kinaze u 1,3,4,5-tetrakisfosfat;
- f) Diacilglicerol se može pretvoriti u fosfatid ili se može hidrolizirati u glicerol i dvije masne kiseline.

#### Zadatak 5.

Objasnite kako mutacije u R (regulatornoj) i C (katalitičkoj) podjedinicama cAMP-ovisne kinaze (PKA) mogu uzrokovati:

- a) Konstantno aktivnu PKA;
- b) Konstantno inaktivnu PKA.



### Zadatak 5.-rješenje

- a) Ako mutacija R podjedinice dovodi do nemogućnosti vezanja R podjedinice na C-podjedinicu, C podjedinica će kontinuirano biti aktivna (neće se nikada inhibirati) te će kontinuirano fosforilirati supstrate.
- b) Ako se mutacijom spriječi vezanje cAMP za R podjedinicu, a da se pri tome ne naruši R-C interakcija, povećane koncentracije cAMP neće dovesti do disocijacije R-C kompleksa te će PKA biti inaktivna.

### Zadatak 6.

Zašto se činjenica da se monomerni hormon veže na dvije identične molekule receptora smatra značajnom?

### Rješenje zadatka 6.

Dva identična receptora moraju prepoznati različite dijelove iste signalne molekule. Dobiva se bolja specifičnost.

### Zadatak 7.

Uobičajeno, brzina difuzije je obratno proporcionalna molekularnoj masi – što znači da je brzina difuzije manjih molekula veća od brzine difuzije velikih molekula. U stanicama, međutim, kalcijev ion difundira sporije od cAMP. Obrazložite!

### Zadatak 7.-rješenje

Difuzija  $\text{Ca}^{2+}$  u stanicama je sporija jer se  $\text{Ca}^{2+}$  ioni vežu za mnoge proteine unutar stanice te time smanjuju mogućnost kretanja  $\text{Ca}^{2+}$  iona. cAMP se ne veže za toliki broj proteina te je zbog toga brzina njegove difuzije veća.

### Zadatak 8.

Pretpostavite da svaki  $\beta$ -adregerični receptor na koji je vezan adrenalin pretvori 100 molekula  $G_{\alpha s}$  u njihov aktivni GTP oblik. Pretpostavite nadalje da svaka molekula aktivirane adenilil ciklaze stvara 1000 molekula cAMP u sekundi. Ako se pretpostavi da receptor aktivira potpun odgovor, koliko će biti proizvedenih molekula cAMP nakon 1s kako se jedna molekula adrenalina vezala za  $\beta$ -adrenergični receptor?

#### Rješenje zadatka 8.

Kako 1 molekula  $G_{\alpha S}$  uzrokuje da se sintetizira 1000 molekula cAMP, 100 molekula  $G_{\alpha S}$  omogućit će sintezu  $100 \times 1000 = 10^5$  molekula cAMP.

#### Zadatak 9.

Kao odgovor na adrenalin koji stimulira  $G_{\alpha S}$ , glukoza se metabolizira u stanicama mišića kako bi se u mišićima sintetizirao ATP. cAMP fosfodiesteraza je enzim koji pretvara cAMP u AMP. Na koji bi način inhibitori cAMP fosfodiesteraze utjecali na metabolizam glukoze u mišićima?

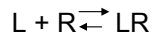
### Zadatak 9.-rješenje

$G_{\alpha s}$  stimulira adenilil ciklazu te nastaje cAMP. cAMP dovodi do metabolizma glukoze. Ako je cAMP fosfodiesteraza inhibirana, koncentracije cAMP ostat će visoke i onda kada završi signalizacija adrenalina te će se metabolizam glukoze (produkcija ATP) nastaviti.

### Zadatak 10.

Pretpostavite da je specifična aktivnost liganda  $10^{12}$  cpm/mmol a da je maksimalno specifično vezanje  $10^4$  cpm/mg membranskog proteina. Količina proteina u  $10^{10}$  stanica iznosi 1 mg. Pretpostavite da se jedan ligand veže po molekuli receptora. Izračunajte broj molekula receptora u stanici.

Rješenje zadatka 10.



Jedna molekula liganda vezana je u LR, pa je  $[L]=[R]=[LR]$

Specifična aktivnost liganda iznosi  $10^{12}$  cpm/mmol, a u  $10^{10}$  stanica (1 mg proteina) vezalo se  $10^4$  cpm/mg proteina. Količina vezanog liganda u  $10^{10}$  stanica je:

$10^{12}/10^{-3} \text{ mol} = 10^4/x$ ,  $x = 10^{-11}$  mol liganda je vezano u  $10^{10}$  stanica.

Ako  $10^{10}$  stanica veže  $10^{-11}$  mol liganda, jedna stanica će vezati:

$10^{-11}/10^{10} = 10^{-21}$  mol liganda.

Avogadrov broj =  $6 \times 10^{23}$  molekula/mol, to će broj receptora jedne stanice biti:  $6 \times 10^{23} \times 10^{-21} = 600$ .