

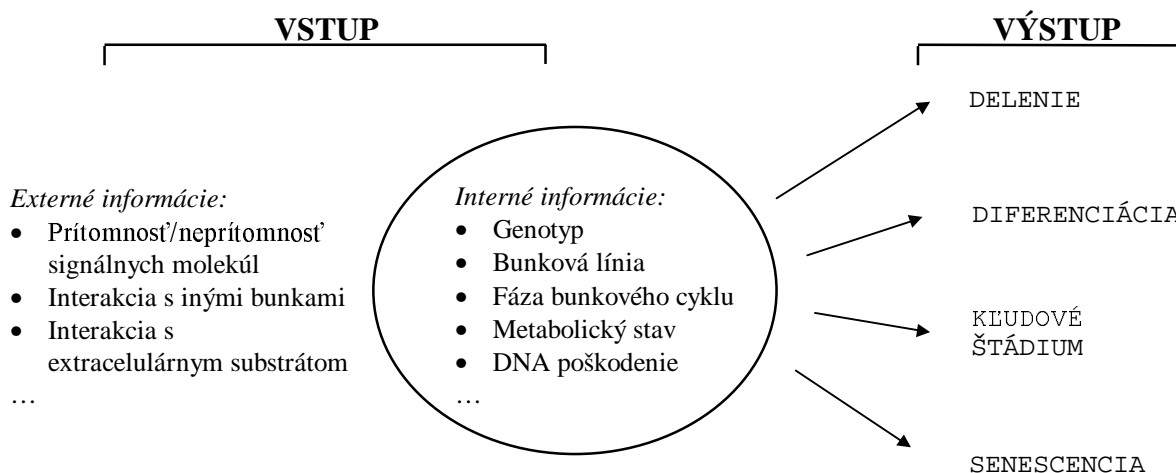
Prenos bunkového signálu: Od lineárnych kaskád k signálnym sieťam.

Lubomír Tomáška

Katedra Genetiky, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského,
Mlynská dolina B-1, 842 15 Bratislava, tomaska@fns.uniba.sk

Vo všetkých typoch buniek plnia signálne proteíny úlohu informačných jednotiek prenášajúcich signál z plazmatickej membrány do cytoplazmy. Kontrolou bunkového správania fungujú signálne dráhy ako nervový systém bunky. Kvalita prostredia je reflektovaná koncentráciou a aktivitou tisícok proteínov, čo v istom zmysle možno považovať za pamäťovú stopu o neustále sa meniacej informácii v bunkovom okolí. V dôsledku vysokej miery prepojenia fungujú systémy interagujúcich signálnych proteínov ako neurónové siete, ktoré sú 'trénované' evolúciou na patričné odpovede na extracelulárne signály. Prepojenie signálnych sietí je založené na difúzii vybraných signálnych molekúl, čo je jedna z príčin ich unikátnych charakteristík v porovnaní s počítačovými modelmi neurónových sietí.

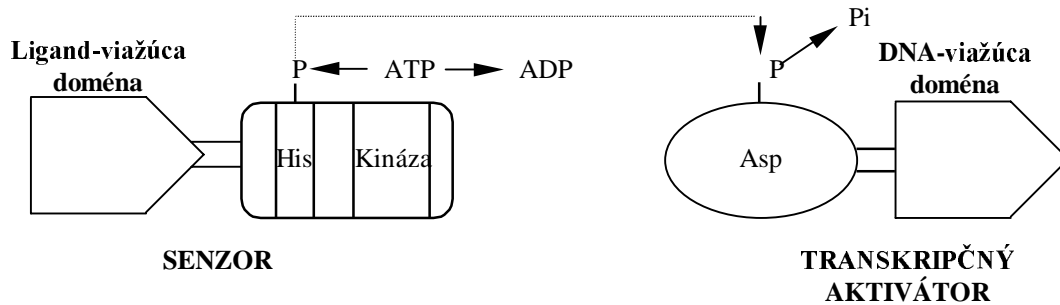
Jednou z esenciálnych podmienok úspešnej bunkovej reprodukcie je schopnosť individuálnych buniek rozpoznať kvalitu vonkajšieho prostredia. Každá bunka je schopná vyhľadávať živiny a brániť sa toxickým substanciami, prípadne bunkovým predátorom. Okrem toho, už aj najtriviálnejšia forma sociálneho života na úrovni mikroorganizmálnych kolónií je podmienená schopnosťou členov bunkového spoločenstva komunikovať medzi sebou a reagovať na signály vysielané svojimi partnermi. Tieto signály sú spracované prostredníctvom bunkových signálnych dráh, ktoré prenášajú signál z vonkajšieho prostredia na efektorové miesto v intracelulárnom priestore. Signály, pod ktorých vplyvom sa bunka nachádza, sú integrované do bunkovej odpovede na úrovni zmien v metabolizme, bunkovej morfológii a génovej expresii, ktoré v konečnom dôsledku vedú k niektorej z viacerých finálnych alternatív (Obr. 1).



Obr. 1. Bunka ako výpočtová jednotka.

Najjednoduchším predstaviteľným prenášačom signálu by bol jednokomponentový systém tvorený napríklad proteínom spájajúcim plazmatickú membránu s cieľovým miestom v bunke. Po naviazaní ligandu na extracelulárnu časť proteínu by bol signál prenášaný konformačnými zmenami proteínu až na miesto určenia (podobne ako v prípade myozínových vlákien v mikrotubuloch). Jednokomponentové signálne systémy sa však z viacerých príčin (niektoré vid' nižšie) v evolúcii neuplatnili. Najtriviálnejším signálnym mechanizmom, ktorý vo veľkej miere využívajú predovšetkým baktérie, je dvojkomponentový (tiež "phosphorelay") systém (Obr. 2). Dvojkomponentový systém je tvorený mebránovým senzorom, ktorého extracelulárna doména má väzobné miesto pre príslušný ligand. Po naviazaní ligandu dochádza k zmene konformácie cytoplazmatickej domény s proteín histidín kinázovou aktivitou (vid' slovník), s následnou autofosforyláciou histidínového zvyšku. Fosforylácia histidínu zvyšuje afinitu senzora k regulačnému proteínu. Výsledkom vzájomnej interakcie je prenos fosfátovej skupiny z histidínu senzora

na aspartát regulátora. To má za následok (i) disociáciu regulátora z komplexu so senzorm a (ii) jeho translokáciu na cieľové miesto v bunke, napríklad na definovanú regulačnú sekvenciu v DNA s následným zapnutím/vypnutím génu, ktorého produkt sa zúčastňuje v bunkovej odpovedi na príslušný ligand (Appleby a kol., 1996).

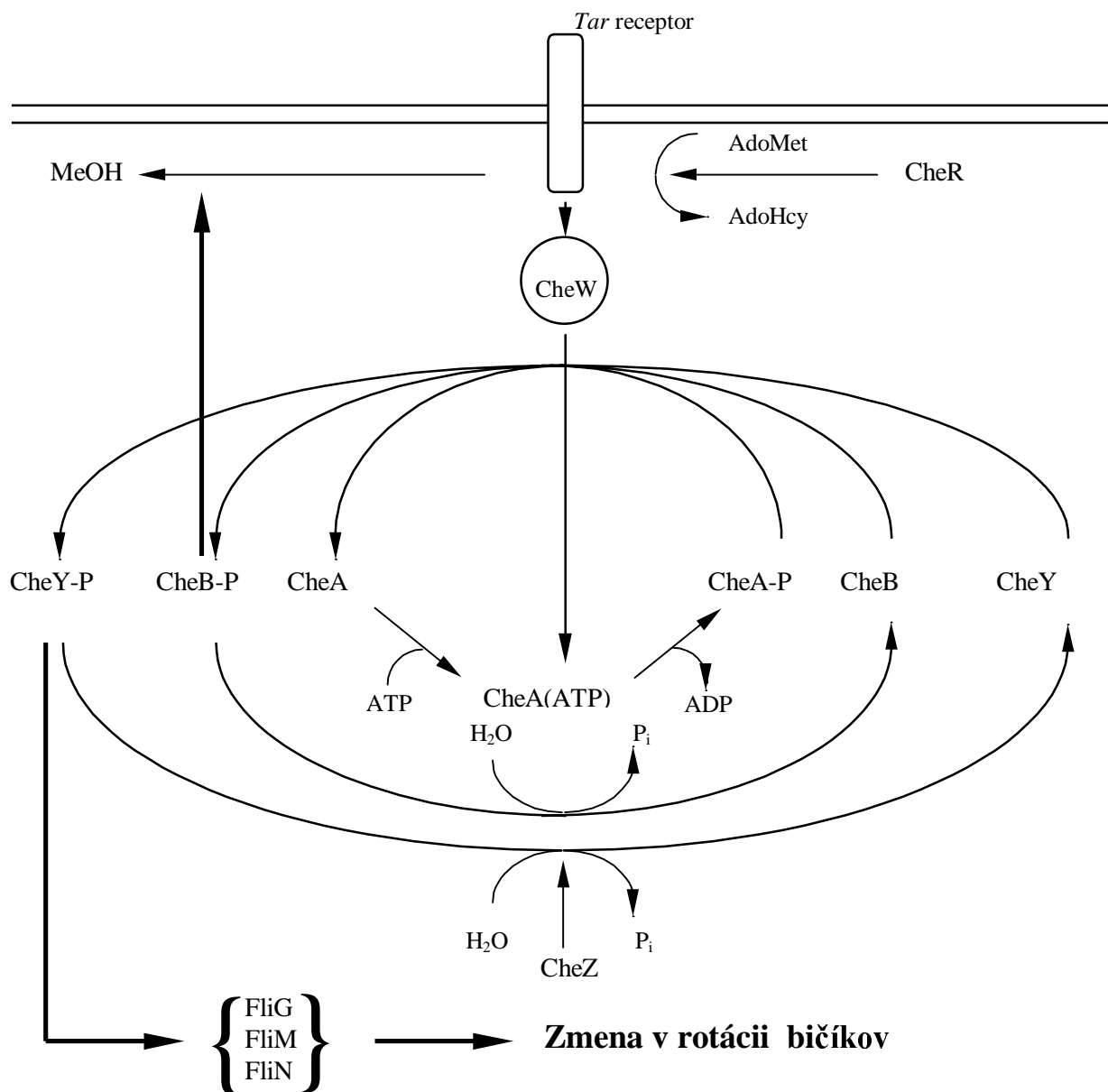


Obr. 2. Dvojkomponentový regulačný systém.

Typickým príkladom dvojkomponentového systému je odpoveď baktérií na zmenené osmotické podmienky prostredia (Parkinson, 1993, Stock a kol., 1990). Na úrovni vonkajšej membrány *Escherichia coli* je komunikácia s prostredím zabezpečená proteínmi porínmi. Expresia génov kódujúcich bakteriálne poriny je pod kontrolou dvojkomponentového systému zloženého z receptorovej proteín histidín kinázy *EnvZ* (senzor) a transkripčného aktivátora *OmpR* (regulátor), ktorého špecificita je závislá od fosforylácie jeho aspartátového zvyšku. Zmena v osmotických podmienkach prostredia vedie k zmene kinázovej aktivity *EnvZ*, čo sa prejaví zmenou v hladine fosforylovaného *OmpR* a teda zmenou v expresii porínových génov. *EnvZ* okrem proteín kinázovej aktivity disponuje aj proteín fosfatázovou aktivitou, ktorá “má na starosti” termináciu signálnej dráhy. Hoci spôsob kontroly bunkovej odpovede na kvalitu vonkajšieho prostredia, založený na dvojkomponentovom systéme je v baktériách pomerne rozšírený, došlo v procese evolučnej adaptácie prokaryotických mikroorganizmov k postupnému narastaniu komplexity založeného na postupnom “pridávaní” ďalších signálnych komponentov a vzniku jednoduchých signálnych kaskád.

Jedným z výsledkov tejto evolučnej skladačky je **Tar signálny komplex** monitorujúci extracelulárnu koncentráciu aspartátu, maltózy, a niektorých repelentov (Obr. 3) (Manson a kol., 1998). *Tar* signálny komplex je jedným z viacerých systémov, ktorý umožňuje baktérii reagovať na zmenu koncentrácie atraktantov, resp. repelentov v prostredí. Výstupom bunkovej odpovede je zmena v rotácii bakteriálnych bičiek, ktorá v konečnom dôsledku vedie k pohybu (chemotaxii) *k*, resp. *od* zdroja príslušnej chemikálie. *Tar* receptor je umiestnený v plazmatickej membráne ako dimér v komplexe so skupinou tzv. *Che* (chemotaxis) proteínov: autofosforylujúcou sa proteín histidín kinázou *CheA*, metylázou *CheR*, metylesterázou *CheB*, proteín fosfatázou *CheZ* a adaptorovým proteínom *CheW*. Malý proteín *CheY*, ktorého aktivita je regulovaná fosforyláciou katalyzovanou proteín kinázou *CheA*, interaguje s *Tar* komplexom tranzientne a plní úlohu sprostredkovateľa medzi *Tar* komplexom a bičkami. Väzba aspartátu na extracelulárnu doménu *Tar* receptora vedie ku konformačným zmenám cytoplazmatickej domény, ktoré sa prejavia (i) na metylácii receptora a (ii) (v kooperácii) s *CheW* k aktivácii *CheA* proteín histidín kinázy. Po autofosforylácii histidínu v *CheA* dochádza k prenosu fosfátu na aspartát *CheY*. Fosforylovaný *CheY* disociuje z *Tar* komplexu a interaguje s proteínovými komponentami bičika (*FliG*, *FliM*, *FliN*), čo má za následok zmenu v jeho rotácii. Proteín fosfatáza *CheZ* defosforyluje *CheY*, čím sa celý regulačný cyklus uzatvára. Terminácia prenosu signálu je realizovaná aj na úrovni demetylácie *Tar* receptora metylesterázou *CheB*, ktorá je (podobne ako *CheY*) aktivovaná fosforyláciou katalyzovanou proteín kinázou *CheA*.

Architektúra *Tar* signálneho systému a jeho porovnanie s *EnvZ-OmpR* dvojkomponentovým systémom naznačuje možný trend v evolúcii komplexných bunkových signálnych dráh: “kostra” *Tar* signálnej dráhy je tvorená autofosforylujúcou sa proteín histidín kinázou (*CheA*) a regulátorom (*CheY*) aktivovaným fosforyláciou aspartátu. Na rozdiel od *EnvZ-OmpR* však funkciu senzora plní separátny proteín (*Tar* receptor), ktorého komunikácia s *CheA* je sprostredkovaná ďalším proteínom (*CheW*). Aj fosfatázová aktivita zodpovedná za termináciu prenosu signálu je reprezentovaná separátnym komponentom (*CheZ*). Modulácia *Tar* signálnej dráhy je okrem fosforylácie/defosforylácie realizovaná na ďalšej úrovni: metyláciou/demetyláciou *Tar* receptora katalyzovanou dvomi ďalšími komponentami (*CheR*, *CheB*) *Tar* komplexu.



Obr. 3. Tar signálny komplex (podľa Stock a kol., 1990).

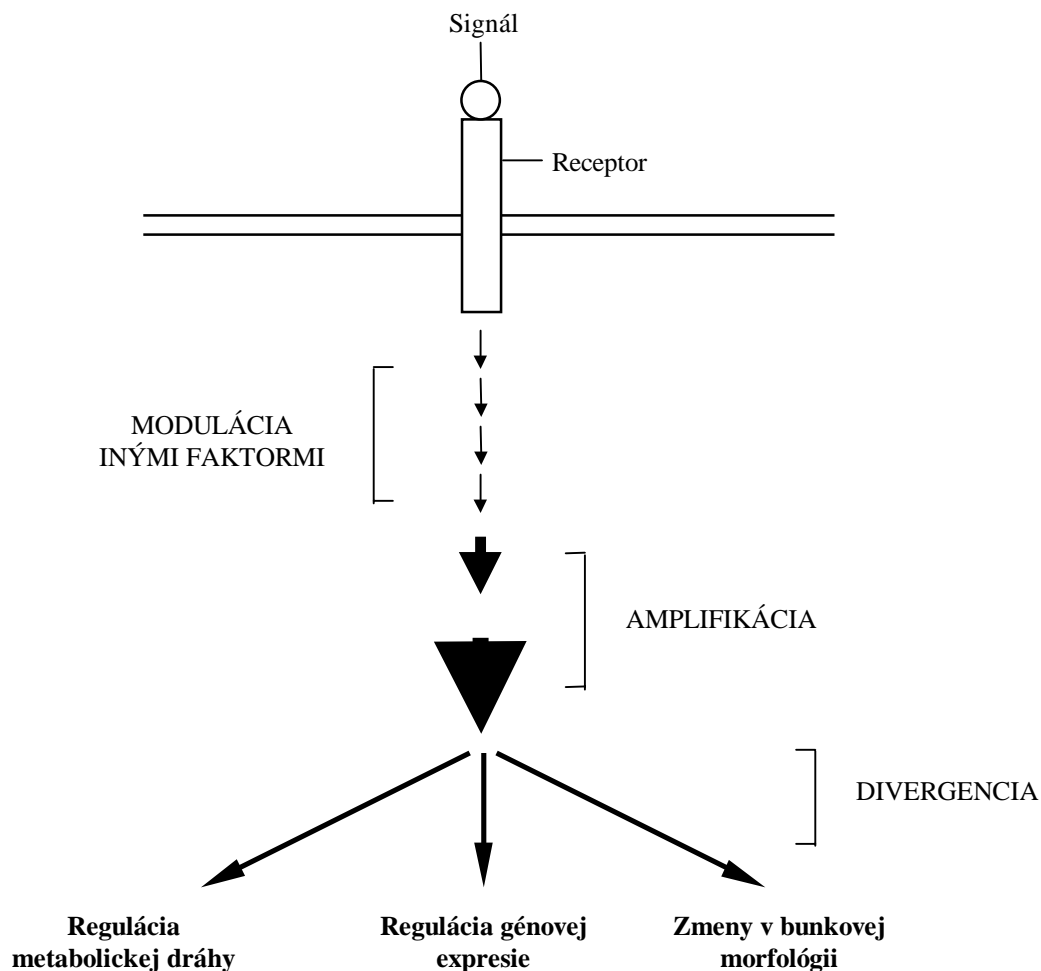
Zvýšená komplexita prostredia, ktorému je (v porovnaní s baktériami) vystavená eukaryotická bunka, viedla k viacerým evolučným adaptáciám na úrovni bunkových signálnych systémov. Ich porovnanie medzi prokaryotickými a eukaryotickými organizmami naznačuje isté trendy v evolúcii bunkových signálnych dráh, napr.:

- Dvojkomponentový systém je promiskuitným prokaryotickým "spracovateľom kvality prostredia": v genóme *Escherichia coli* bolo identifikovaných 62 génov kódujúcich členov dvojkomponentového systému (Mizuno, 1997). Eukaryotické bunky sa takmer úplne "zbavili" dvojkomponentových systémov, ktoré zrejme nestačili pokryť komunikačné nároky komplexnejších eukaryotických buniek. V prípadoch, kde sa signálny modul tohto

fosforelé zachoval (etylénová signálna cesta rastlín, zmena osmotických podmienok u kvasiniek), bol "skombinovaný" s exkluzívnymi eukaryotickými signálnymi komponentami (Hughes, 1994, Alex a Simon, 1994). V niektorých špecifických prípadoch došlo k vzniku alternatívnych jednoduchých systémov, zodpovedných za spracovanie signálu vyžadujúceho rýchlu bunkovú odpoveď. Príkladom takého systému sú receptory pre niektoré steroidné hormóny, ktoré po väzbe steroidu v cytoplazme (steroidy sú lipofilné molekuly voľne prechádzajúce plazmatickú membránu) prechádzajú do jadra, kde (stále v komplexe s hormónom) rozpoznávajú špecifické regulačné sekvencie génov zúčastnených v bunkovej odpovedi.

- Proteín histidín kinázy, ktoré predstavujú podstatnú časť signálnej mašinerie prokaryotov boli u eukaryotických organizmov nahradené početnou skupinou proteín serín/treonín kináz. Evolúcia mnohobunkových eukaryotov bola okrem toho sprevádzaná vznikom novej skupiny proteín kináz, ktoré sú schopné katalyzovať fosforyláciu tyrozínu príslušných proteínových substrátov.
- Hoci desenzitizácia receptorov je u eukaryotov esenciálnym krokom v prenose bunkového signálu, bol systém metylácie/demetylácie receptora (*Tar* komplex) úplne nahradený alternatívnymi mechanizmami (napr. endocytózou).
- Repertoár signálnych proteínov bol u eukaryotov rozšírený **kvantitatívne** (napr. kvasinka *Saccharomyces cerevisiae* má vo svojom génóme 113 sekvencií kódujúcich proteín kinázy, červík *Caenorhabditis elegans* 300, počet proteín kináz v ľudskom génóme sa odhaduje na 1000; každý tretí proteín v cicavčej bunke je fosforylovaný) aj **kvalitatívne**: Do skupiny eukaryotických signálnych proteínov, ktoré prokaryotické organizmy postrádajú patria napríklad: (i) G-proteíny (viď. slovník), ktoré v signálnych dráhach plnia úlohu molekulárnych spínačov. Ich evolučný pôvod snáď možno hľadať u bakteriálneho translačného faktora EF-Tu, regulovaného analogicky so signálnymi G-proteínmi, ktorého zduplikovaná verzia mohla u prvých eukaryotov prebrať na seba úlohu signálneho proteínu, (ii) fosfolipázy rôznych skupín, ktoré okrem úlohy v metabolizme fosfolipidov, sú zodpovedné za tvorbu prvých, resp. druhých poslov, či (iii) integríny, membránové proteíny interagujúce s extracelulárnou matrix a informujúce bunku o kvalite extracelulárneho substrátu.
- Niektoré komponenty prokaryotických signálnych systémov sa zachovali aj u eukaryotov, zmenil sa však mechanizmus ich účinku. Typickým príkladom je druhý posol cyklický AMP (cAMP), ktorý u baktérií väzbou na proteín, ktorý je súčasťou transkripčného aparátu, priamo ovplyvňuje génovú expresiu; u eukaryotov je jeho primárnym efektorom cAMP-závislá proteín kináza, ktorá sa podieľa na regulácii génovej expzie nepriamo.
- Okrem expanzie signálnych systémov eukaryotov je možné pozorovať aj ich redukciu napríklad v prípade eukaryotických bunkových organel. Mitochondrie, ktoré sú potomkami bakteriálneho endosymbionta pra-eukaryotickej bunky, úplne postrádajú signálne proteíny typu proteín kináz. Analogicky, intracelulárne parazity *Rickettsia prowazekii*, ktoré majú s mitochondriami spoločného predka, majú k dispozícii len fragmenty signálnych systémov α -proteobaktérií (Andersson a kol., 1998). Zdá sa, že podstatná časť signalizácie v eukaryotickej bunke prebieha na úrovni plazmatická membrána-jadro a membránové kompartmenty participujú len na výstupe formulovanom jadrovou centrálou.

Tar signálny systém predstavuje jednoduchú formu signálnej kaskády, v ktorej je senzor a regulátor oddelený skupinou proteínov navzájom ovplyvňujúcich (pozitívne i negatívne) svoju aktivitu, prípadne lokalizáciu. Zvyšovanie počtu a komplexity signálnych kaskád je podstatným trendom v evolúcii eukaryotických komunikačných systémov. Tento trend vyplýval z nárokov eukaryotickej bunky využívajúcej možnosti poskytované signálnymi kaskádami, ako sú (i) amplifikácia umožňujúca rozsiahly efekt niekoľkých molekúl extracelulárneho signálu, (ii) distribúcia signálu umožňujúca paralelné ovplyvnenie niekoľkých bunkových procesov, (iii) integrácia signálov zo „susedných“ signálnych dráh, a (iv) modulácia signálnej dráhy na viacerých úrovniach v závislosti od celkových vonkajších podmienok (Obr. 4).



Obr. 4. Všeobecná schéma bunkovej signálnej kaskády.

Typickým príkladom signálnej kaskády, v ktorej sú reprezentované niektoré charakteristiky špecifické pre eukaryotický signálny systém je **PDGF-závislá signálna dráha**. *PDGF* (platelet-derived growth factor) je proteínový ligand, ktorý sa s vysokou afinitou viaže na membránový receptor, ktorý disponuje *PDGF*-indukovanou proteín tyrozín kinázovou aktivitou (preto je *PDGF* receptor zaradený do veľkej skupiny receptorových proteín tyrozín kináz). Väzba *PDGF* vedie k (i) dimerizácii dovtedy monomerických molekúl receptora a následnému (ii) "zapnutiu" receptorovej proteín kinázovej aktivity v jeho cytoplazmatickej doméne. V rámci receptorového diméru dochádza k vzájomnej fosforylácii receptorových monomérov na viacerých tyrozínových zvyškoch, ktoré súžia ako vysokoafinitné väzobné miesta pre skupinu signálnych proteínov (Tab. 1). Hoci tieto proteíny majú rozdielne biochemické funkcie, majú jednu spoločnú štruktúrnu charakteristiku: všetky majú vo svojej sekvencii približne 100 aminokyselín dlhú SH2 doménu (Src homology domain 2), ktorá je zodpovedná za väzbu na fosforylovaný tyrozín. Prenos signálu je na úrovni receptorového komplexu vypínaný defosforyláciou receptora špecifickými proteín tyrozín fosfatázami. Keďže SH2 domény signálnych proteínov nemajú afinitu k defosforylovaným tyrozínom, komponenty komplexu disociujú, časť z nich môže byť využitá pre tvorbu nového komplexu, časť podlieha endocytóze a následnej proteolýze.

Tabuľka 1.
Proteíny interagujúce s *PDGF* receptorom prostredníctvom SH2 domény.

Proteín	Charakteristika	Domény*
<i>PLCγ1</i> a <i>PLCγ2</i>	Fosfolipáza C	2xSH2, SH3, PH
<i>p21ras-GAP</i>	GTPázu aktivujúci proteín	2xSH2, SH3, PH
<i>c-Src</i> , <i>c-Yes</i> , <i>c-Fyn</i>	Proteín-tyrozín kinázy	SH2, SH3
<i>SH-PTP1/HC-PTP/PTP1C</i>	Proteín-tyrozín fosfatáza	2xSH2
<i>SH-PTP2/SYP/PTP1D</i>	Proteín-tyrozín fosfatáza	2xSH2
<i>PI3K</i>	Fosfatidylinozitol-3-kináza, na RTK sa viaže p85 regulačná podjednotka	2xSH2, SH3
<i>VAV</i>	GDP/GTP výmenný faktor (<i>GEF</i>) Adaptor	SH2, 2xSH3, PH
<i>Nck</i>	Adaptor	SH2, 3xSH3
<i>CRK</i>	Adaptor	SH2, 2xSH3
<i>GRB2</i>	Adaptor	SH2, 2xSH3
<i>Shc</i>	Adaptor	SH2, SH3
Tenzín	Cytoskeletárny proteín	SH2
<i>Stat 91</i>	Transkripčný faktor	SH2, SH3
<i>Stat 113</i>	Transkripčný faktor	SH2, SH3
<i>Stat 3</i>	Transkripčný faktor	SH2, SH3
<i>GRB7</i>	<i>p21ras-GAP</i> -príbuzný	SH2, PH
<i>GRB10</i>	?	SH2, PH

*Zoznam signálnych domén vid'. Tab. 2.

SH2 domény sú len jedným z mnohých predstaviteľov skupiny signálnych domén, aminokyselinových sekvencií prítomných v signálnych proteínoch, ktoré im umožňujú vzájomne interagovať a skladať sa do veľkých signálnych komplexov (Tab. 2) (Pawson, 1995).

Signálne domény zrejme zohrávali úlohu aj v tranzícii medzi jedno- a mnohobunkovými eukaryotickými organizmami. Porovnanie genómu červa *Caenorhabditis elegans* s genómom jednobunkovej kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* viedlo k nasledovným zisteniam: (i) oba organizmy majú k dispozícii analogickú sadu metabolických proteínov, tvoriacich podstatnú časť prieniku množín všetkých génov, (ii) prechod k mnohobunkovosti nebol sprevádzaný masívnym nárastom počtu úplne nových signálnych proteínov, (iii) zvyšovanie komplexity signálnych dráh mnohobunkového červa bolo založené na duplikácii už existujúcich génov kódujúcich signálne proteíny, invencii nových signálnych domén, ich amplifikácii a "rozmiešťovaní" do signálnych proteínov, (iv) hoci kvasinka disponuje mnohými typmi signálnych domén, ich počet je pomerne nízky (napr. bol identifikovaný jediný kvasinkový proteín s potenciálnou SH2 doménou (transkripčný faktor Spt6p), úloha SH2 domén ako väzobných miest pre fosfotyrozín je invenciou mnohobunkových organizmov), (v) signálne komponenty, ktoré nie sú prítomné v kvasinkovej bunke patria do skupiny molekúl zodpovedných za realizáciu programovanej bunkovej smrti (napr. kaspázy), komunikáciu s extracelulárnou matrix (napr. integríny), a sprostredkujúcich prenos signálov špecifických pre mnohobunkové organizmy (napr. steroidné hormóny) (Cherwitz a kol., 1998).

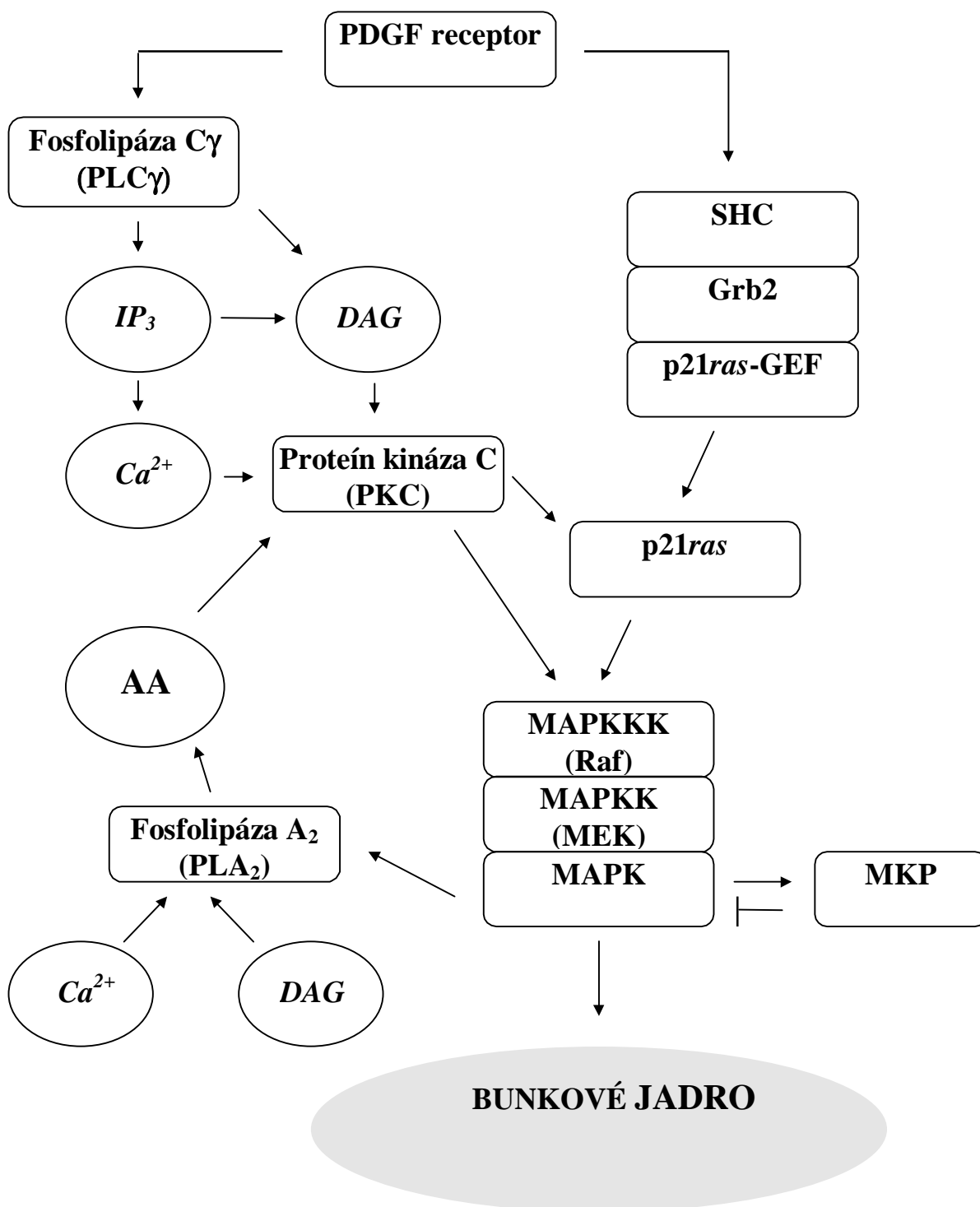
Tabuľka 2.

Signálne domény zúčastnené v proteín-proteínových interakciách pri prenose bunkového signálu.

Doména	Charakteristika	Dĺžka (počet aa)
SH2	<i>Src Homology domain 2</i> , viaže sa na konsenzus sekvencie obsahujúce fosfotyrozín	100
SH3	<i>Src Homology domain 3</i> , viaže sa na konsenzus sekvencie bohaté na prolín	50
PTB	<i>pTyr-binding domain</i> , sekvenčne i štrukturálne odlišná od SH2	200
PH	<i>Plectrin Homology domain</i> , interakcia s fosfolipidmi	50
WW (tiež WWP, Rsp5)	Doména s dvomi konzervovanými tryptofánmi a jedným prolínom (WWP), viaže sa na xPPxY motívy	40
WD-40	WD (Trp-Asp) sekvencie separované 40 amínokyselinami; 1.krát popísané u heterotrimerických G-proteínov	n x 40
PDZ (tiež GLGF, resp. DHR)	Názov derivovaný z mien troch proteínov: PSD-95 (neurálny proteín), DlgA (<i>D. melanogaster</i>), ZO-1, viaže sa na (S/T)XV motív C-konca interagujúcich proteínov	80-90

Jedným z následkov ošetrovania cicavčích buniek *PDGF* je zvýšenie koncentrácie aktívnej formy malej GTPázy p21ras (viď. slovník). Keďže p21ras nemá vo svojej sekvencii SH2 doménu, interaguje s aktivovaným *PDGF* receptorm sprostredkované: proteín *Grb2* (adaptorový proteín zložený z dvoch SH3 a jednej centrálnej SH2 domény, viď. nižšie), sa viaže svojou SH2 doménou na špecifický fosfotyrozín aktivovaného receptora. SH3 domény *Grb2*, ktoré touto interakciou získavajú afinitu k prolín-bohatým oblastiam p21ras-*GEF* (viď. slovník) spôsobujú jeho aktiváciu a následnú akceleráciu výmeny GDP za GTP p21ras. Aktivácia p21ras má za následok spustenie tzv. *MAP*-kinázovej kaskády (*Mitogen Activated Protein kinázy*), série kináz aktivujúcich sa navzájom fosforyláciou špecifických hydroxyl-amínokyselín. *MAP*-kinázová kaskáda je ďalšou evolučnou invenciou signalizácie eukaryotickej bunky. Zaujímavosťou je, že už najjednoduchšie eukaryoty majú k dispozícii niekoľko nezávislých *MAP*-kinázových kaskád, pričom každá z nich sa podieľa na realizácii úplne iného programu. Posledným členom tejto *MAP*-kinázovej signálnej kaskády spúšťanej *PDGF* je *MAP* kináza (tiež *Extracellular Regulated Protein Kinase, ERK*) fosforylujúca viacero proteínov prevažne zo skupiny transkripčných faktorov (napr. *c-Myc, c-Jun, Elk-1*) regulujúcich expresiu špecifických génov tzv. skorej odpovede bunky na mitogénny signál (Marshall, 1994) (Obr. 5).

Detailný popis signálnych dráh realizovaný *PDGF*-závislou, resp. *Tar*-závislou signálnou dráhou umožňuje porovnať oba tieto signálne systémy: (1) aktivácia *PDGF* komplexu prebieha prostredníctvom série za sebou nasledujúcich reakcií (väzba ligandu→dimerizácia→autofosforylácia→väzba signálnych proteínov) a preto bunková odpoveď na *PDGF* je časovo oneskorená (rádovo niekoľko minút). Pre eukaryotickú bunku to však nepredstavuje nevýhodu; na rozdiel od baktérie, ktorá potrebuje odpovedať na prítomnosť atraktantu/repelentu okamžite (prenos signálu z receptora k bičiku trvá približne 0.1 sekundy) (2) nie každý *PDGF* receptor je súčasťou signálneho komplexu, vzhľadom k fyziologickým koncentráciám *PDGF* a počtu molekúl *PDGF* receptora v plazmatickej membráne je len niekoľko percent receptora aktivovaných. Okrem toho, doteraz nie je známe, či individuálne *PDGF* receptory sú v komplexe so všetkými potenciálnymi proteínovými partnermi. Na druhej strane, takmer všetky (90-95%) molekuly *Tar* receptora sú v danom čase vo väzbe s ligandom. V tomto ohľade je zaujímavé, akým spôsobom je baktéria schopná rozlíšiť gradient atraktantu/repelentu v prostredí (Bray a kol., 1998). Z (2) tiež vyplýva, že zatiaľ čo pomer signálnych proteínov k počtu *PDGF* receptorov zďaleka nedosahuje 1, všetky *Tar* receptory sú v ekvimolárnom pomere okupované *Che* proteínovými partnermi. (3) počet výstupov z *Tar*, resp. z *PDGF* komplexu sa dramaticky líši. V prípade *Tar* sú výstupy len dva - zmena v aktivite *CheY*, resp. zmena v aktivite *CheB* - oba tieto výstupy sú určené pre jednu konkrétnu bunkovú odpoveď, zmenu v rotácii bičíkov. *PDGF* komplex naopak generuje množstvo výstupov: spustenie *MAP*-kinázovej kaskády prostredníctvom p21ras je len jednou vetvou rozsiahleho signalizačného pavúka modulujúceho rôzne bunkové aktivity (Obr. 5).



Obr. 5. *PDGF*-závislá signální dráha. *AA*, kyselina arachidónová; *MKP*, MAP kinase phosphatase; *SHC*, proteinový adaptor (ostatné skratky vid' text, resp. slovník)

Napriek uvedeným rozdielom majú *Tar* a *PDGF* signálny systém spoločnú jednu vlastnosť: procesujú signál vo forme signálnych komplexov (Tsunoda a kol., 1998). Signálne komplexy, označované tiež ako signálne kazety, signalozómy, signálne moduly, či transducizómy, fungujú ako počítačové jednotky (Bray, 1995). Každý komplex po obdržaní jedného, prípadne viacerých vstupov generuje jeden alebo viac špecifických výstupov. Existencia signálnych komplexov okrem iného evokuje aj otázky typu: Aký je molekulárny mechanizmus tvorby signálnych komplexov? Prečo bunky využívajú komplexy proteínov na prenos signálu? Prečo sú tieto komplexy asociované s membránou, prípadne cytoskeletom bunky? Prečo sa mnohé receptorové komplexy tvoria len v prípade, keď sú aktívne a disociujú, keď sú neaktívne?

Esenciálna úloha signálnych domén v tvorbe signálnych komplexov bola už uvedená vyššie. V tejto súvislosti je zaujímavá existencia signálnych proteínov (napr. *Grb2*, *Nck*), ktoré sú "poskladané" výlučne zo signálnych domén a slúžia ako **adaptory** medzi jednotlivými členmi signálnych komplexov. Napríklad *Grb2*, zložený z jednej SH2 a dvoch SH3 domén, tvorí "most" medzi aktivovaným receptorom (na ktorý sa viaže SH2 doménou) a malou GTPázou *p21ras* zohrávajúcou úlohu v signálnej ceste kontrolujúcej bunkovú proliferáciu. Podobnú úlohu ako adaptory plnia proteínové "kotvy" - **anchors** (InaDp *Drosophila melanogaster*, alebo Ste5p *Saccharomyces cerevisiae*). Tieto proteíny vytvárajú komplex so signálnymi enzýmami (napr. proteín kinázami) a umožňujú tak "channeling" substrátov (Faux a Scott, 1996). Táto bunková stratégia je analogická s predstavou metabolonu, multienzymatického komplexu umožňujúceho obchádzať problémy spojené s difúziou (napríklad aj v prípade, že celková bunková koncentrácia substrátu je relatívne nízka) (Ovadi a Srere, 1996). Kotviace proteíny plnia okrem toho ešte jednu podstatnú úlohu: kontrolujú počet signálnych komplexov v bunke. Počítačová analýza modelových signálnych komplexov odhalila, že niektoré proteíny (predovšetkým adaptory a proteínové kotvy) inhibujú tvorbu komplexu v prípade, že sú prítomné vo vysokej koncentrácii (Bray a kol., 1997). Model vysvetlil aj paradoxný výsledok analýzy úlohy adaptoru *CheW* v aktivite *Tar* komplexu, kde zvýšená koncentrácia *CheW* v bunkách baktérií mala za následok rovnaký fenotyp ako jeho absencia (Sanders a kol., 1989).

Dimenzia signálnych komplexov pritom nekončí na úrovni individuálnej signálnej dráhy. Dokonca aj *Tar* komplex bol *in vivo* detekovaný v asociácii s ďalšími chemotaktickými receptormi. V eukaryotickej bunke dochádza k vzniku signálnych komplexov, ktoré sú viditeľné v svetelnom mikroskope, čo v istom zmysle im dáva status bunkových organel. Typickým príkladom sú miesta tzv. fokálnych kontaktov, ktoré boli donedávna považované za lokality mechanického uchytenia bunky na extracelulárnu matrix. V skutočnosti sú fokálne kontakty miestom koncentrácie signálnych proteínov asociovaných s bunkovým cytoskeletom, umožňujúcim bunke rozpoznať kvalitu substrátu a podľa nej sa rozhodnúť pre delenie, rast, prípadne diferenciáciu.

Väčšina informácií (enzymatické vlastnosti signálnych proteínov, ich substrátová špecificita, kinetické parametre) o intracelulárnych signálnych dráhach bola odhalená biochemickými technikami. Chemické zmeny sú však len časťou reality: pre pochopenie bunkovej signalizácie sú rovnako dôležité informácie o priestorovom usporiadaní molekúl v bunke, či biofyzikálne (predovšetkým difúzne) parametre. Klasickým problémom biochemických analýz je v tomto ohľade zanedbávanie molekulárneho "crowdingu" a jeho implikácií pre vlastnosti signálnych dráh. Zatiaľ čo koncentrácia makromolekúl v *in vitro* reakčnej zmesi dosahuje rádovo 0.01-1.0 mg/ml, ich koncentrácia v bunke sa pohybuje okolo 300-500 mg/ml. To má za následok (i) dramatické zmeny v rýchlosti difúzie molekúl a (ii) zmeny v tendencii proteínov asociovať. Experimentálne údaje naznačujú, že vnútrobunkové prostredie s vysokou koncentráciou makromolekúl zvyšuje väzobnú afinitu o jeden a viac rádov (Wilf a Minton, 1981).

Zaujímavé je tiež porovnanie kinetických parametrov izolovaného signálneho enzýmu s reálnou situáciou v bunke. ATP-závislý iónový kanál je schopný zmeniť svoju konformáciu 10^4 - 10^6 -krát za sekundu. V informačnom jazyku to znamená, že individuálny proteín prenesie 10^4 bitov za sekundu s energetickým nákladom 1 ATP/bit. Rýchlosť prenosu vo fotoreceptorovej bunke je však 10-krát nižšia a energetické náklady 10^6 -krát vyššie. Z tohto obrovského rozdielu vyplýva, že hlavným výdavkom v prenose signálu nie je registrácia informácie na úrovni konformačnej zmeny proteínu; náklady sú vynaložené predovšetkým na distribúciu a integráciu signálu v rámci signálnej dráhy (Bray, 1998).

Z uvedeného vyplýva otázka, prečo väčšina signálnych dráh je založená na difúzii, keď táto spôsobuje ich neefektívnosť a energetickú náročnosť. Až na malé výnimky (steroidné hormóny) nefungujú signálne dráhy ako systém založený na princípe 1 receptor (senzor) - 1 efektor (vykonávateľ). Jednoduché signálne systémy totiž postrádajú výhody signálnych kaskád (viď. vyššie), ktoré riešia problémy spojené s difúziou tvorbou signálnych komplexov. Na komunikáciu medzi rôznymi úrovňami signálnej kaskády, resp. na komunikáciu s ďalšími signálnymi dráhami (cross-talk) však nevyhnutne musia využívať niekoľko typov difuzabilných molekúl. Ak však má signálna dráha slúžiť k distribúcii signálu do viacerých cieľových miest v bunke, resp. k jeho amplifikácii, musí

tento zdanlivý luxus zvládnuť. Napríklad v prípade prenosu svetelného signálu v oku si možno ľahko predstaviť, že by fotoreceptor priamo interagoval s efektorovým enzýmom (cGMP-fosfodiesterázou), bez účasti sprostredkovala (heterotrimerický G-proteín). Aktivačný krok by bol nepochybne rýchlejší a efektívnejší. Výstup by však bol neporovnateľne menší: jeden fotón by aktivoval len jediný efektor, na rozdiel od reality využívajúcej G-proteín, v ktorej je jedným fotónom aktivovaných niekoľko tisíc molekúl cGMP-fosfodiesterázy (aktivácia jednej molekuly rodopsínu vedie k hydrolýze rádovo 10^5 molekúl cGMP). Takýmto spôsobom platí bunka cenu v podobe časovej a energetickej investície za svoju senzitivitu.

Topológia a membránová lokalizácia receptorov je logickým dôsledkom ich funkcie molekulárneho senzora. Prečo sú však komplexy signálnych nerekceptorových proteínov väčšinou umiestnené do plazmatickej membrány. Jedným z možných vysvetlení by bola efektívnejšia difúzia v dvojrozmernom priestore membrány: dvojrozmerný priestor poskytuje istotu, že difundujúca molekula "nájde" svoj cieľ v prípade, že má k dispozícii dostatok času. Porovnanie difúzných koeficientov pre malý proteín ($5 \times 10^{-7} \text{ cm}^2 \text{ sec}^{-1}$ v roztoku *versus* $5 \times 10^{-9} \text{ cm}^2 \text{ sec}^{-1}$ v lipidovej dvojvrstve) však toto vysvetlenie nepodporuje. Relevantnejším vysvetlením membránovej lokalizácie signálnych komplexov je, že membrány predstavujú bunkový kompartment vhodný na processing signálov, pretože koncentruje signálne proteíny bezprostredne do miesta prijímania signálu. Pri náraste komplexity v priebehu evolúcie signálnych systémov bolo favorizované pridávanie nových komponentov do blízkosti membrány (množstvo signálnych proteínov je post-translačne opatrených lipidom, ktorý ich ukotvuje do membrány).

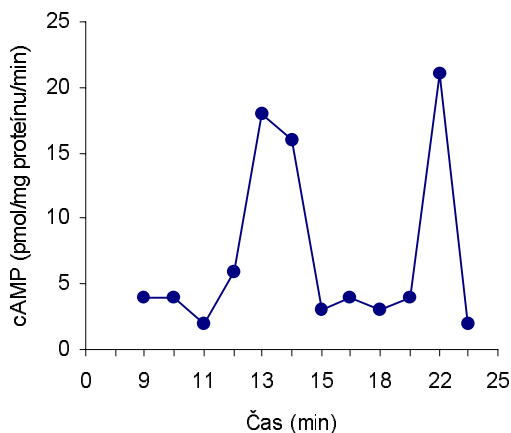
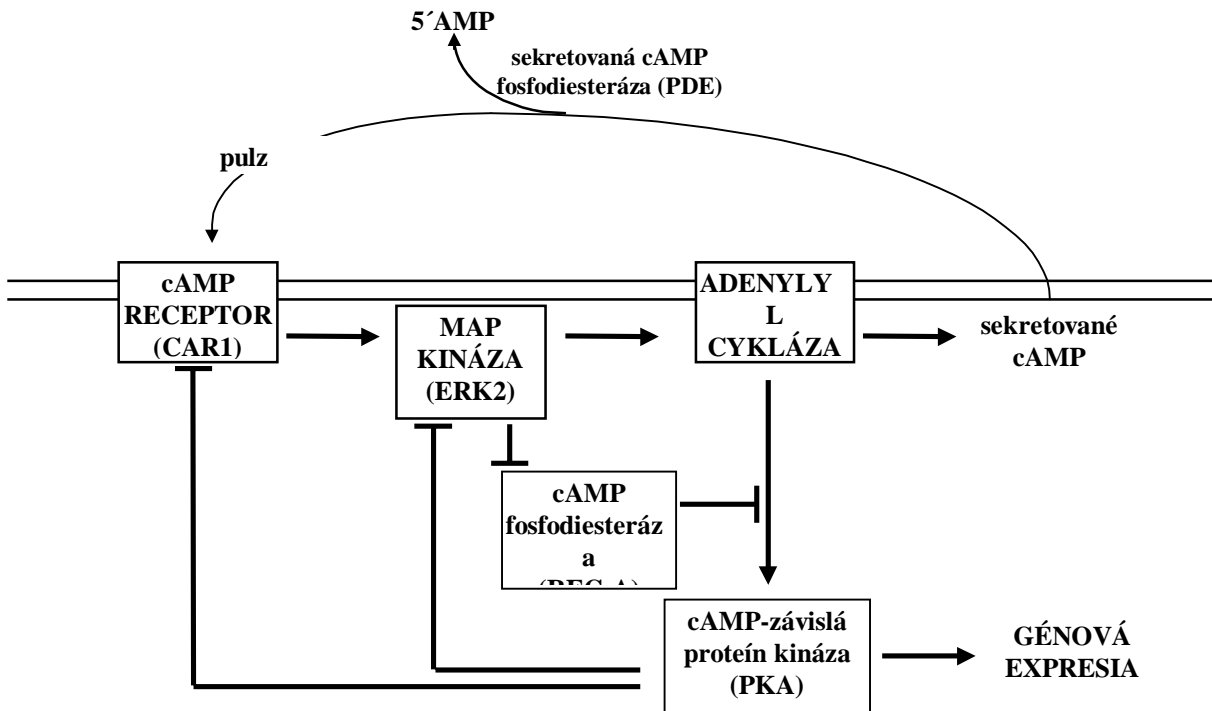
Membránová lokalizácia signálnych komplexov neznamená, že sú tieto štatisticky rozmiestnené po celom bunkovom povrchu. Moderné metódy bunkovej biológie odhalili špecifické miesta v plazmatickej membráne (caveolae) s rozmerom $0.1-1.0 \mu\text{m}^2$, v ktorých sú koncentrované signálne komplexy. Obrázky imunofluorescenčných analýz lokalizácie signálnych komplexov evokujú predstavu plazmatickej membrány ako *senzorického kortexu bunky*: miesto prijímania extracelulárnych signálov a ich spracovanie proteínovou počítačovou mašinériou (Bray, 1995).

Tabuľka 3.
Podobnosť medzi genetickou a elektronickou logikou v počítačových čípoch.
(podľa McAdams a Arkin, 1998)

	Elektronická logika	Genetická logika
Signál	Koncentrácia elektrónov	Koncentrácia proteínov
Distribúcia	Bod → bod (prostredníctvom drôtov, alebo elektricky kódovaných adries)	Bod → bod (prostredníctvom difúzie, prípadne aktívneho transportu kódovaného špecifitou reakcie)
Organizácia	Hierarchická	Hierarchická
Typ logiky	Digitálna, časovaná sekvenčná logika	Analógová, nečasovaná logika
Šum	Inherentný šum v dôsledku diskretných elektrónových javov a vonkajších vplyvov	Inherentný šum v dôsledku diskretných chemických reakcií a vonkajších vplyvov
Pomer signál/šum	Vysoký vo väčšine prípadov	Nízky vo väčšine prípadov
Zmena rýchlosti	Rýchla ($>10^6 \text{ sec}^{-1}$)	Nízka ($<10^{-2} \text{ sec}^{-1}$)

Na základe vyššie uvedeného sa najefektívnejším dizajnom signálnych dráh zdá byť kombinácia signálnych komplexov s voľne difuzabilnými molekulami. Ktoré molekuly sú vhodné na tvorbu komplexov a ktoré na plnenie úlohy difuzabilných signálnych komunikátorov? Odpoveď je možné hľadať v analógii s nervovým systémom (napr. Bhalla a Iyengar, 1999, Bray, 1998, Koshland, 1980). Mnohé oblasti nervového systému majú modulárnu organizáciu. Komunikácia v rámci týchto modulov je realizovaná krátkymi neuritmi, zatiaľ čo prenos informácií medzi individuálnymi modulmi je sprostredkovaný dlhými axónmi. Modulárnymi oblasťami signálnych dráh bunky

sú komponenty signálnych komplexov, v rámci ktorých dochádza ku komunikácii zmenou konformácie, resp. modifikáciou proteínových partnerov. Komunikácia medzi jednotlivými komplexami na väčšie vzdialenosti prebieha pomocou difuzabilných molekúl. Podobne ako elementy modulov neurónových sietí sú komponenty signálnych komplexov koncentrované do tesnej blízkosti, čo im umožňuje koordinovane sa podieľať na spracovaní príslušného signálu. A podobne ako v prípade neurónových sietí predstavuje tento prístup komplementárnu cestu k pochopeniu bunkového signalizačného kódu.



Obr. 6. Spontánna oscilácia adenylyl cyklázovej aktivity v homogénnej populácii *Dictyostelium discoideum* a komponenty signálnej cesty, ktorá je za ňu zodpovedná (podľa Laub a Loomis, 1998)

Hoci súčasné poznatky o bunkových signálnych dráhach sú založené na výsledkoch biochemických a molekulárno-genetických analýz, narážajú tieto štúdie na isté limitácie pri vysvetľovaní komplexnejších javov spojených s prenosom bunkového signálu. Predstava signálnych proteínov ako výpočtových jednotiek (Bray, 1995) a podobnosť medzi genetickou logikou a elektronickou digitálnou logikou využívanou v počítačových čipoch (McAdams a Arkin, 1998) (Tab. 3) umožňuje simulovať bunkové signálne dráhy *in silico*. Počítačové simulácie signálnych dráh využívajúc kinetické parametre signálnych komponentov získané biochemickými technikami sa

v poslednom období stali účinným nástrojom pre vysvetlenie niektorých zdanlivo paradoxných bunkových signalizačných javov. Zdanlivosť týchto paradoxov vyplýva z faktu, že “klasické” analýzy sú limitované na jednu signálnu dráhu. Pritom z povahy signálnych kaskád je zjavné, že boli okrem iného selektované vďaka svojej schopnosti komunikovať s paralelnými dráhami prostredníctvom spoločných proteínových komponentov, resp. nízkomolekulových druhých poslov (viď. vyššie). Preto žiadna signálna kaskáda nefunguje v bunke izolovane, ale ako integrálna súčasť komplexných signálnych sietí, nie nepodobných sieťam neurónovým. Táto analógia je okrem iného dôvodom, že na analýzu signálnych sietí je používaný software vyvinutý pôvodne pre simuláciu neurónových sietí (Bhalla a Iyengar, 1999).

Elegantným príkladom takéhoto prístupu k riešeniu komplexných problémov bunkovej signalizácie je analýza spontánnej oscilácie v produkcii cAMP bunkami *Dictyostelium discoideum*. Táto améba v podmienkach hladovania vytvára mnohobunkové spoločenstvá, ktoré predstavujú špecifický vývojový program na indukciu ktorého sa podieľa cAMP synchronne sekretované bunkami v približne 10 minútových intervaloch (Loomis, 1996). Biochemická analýza odhalila, že extracelulárne cAMP sa viaže na membránový receptor *CAR1*, čo vedie k prechodnej aktivácii adenyllyl cyklázy a proteín kinázy *ERK2*. Zvýšenie vnútrobunkovej koncentrácie cAMP aktivuje cAMP-závislú proteín kinázu, ktorá fosforyláciou *CAR1*, resp. *ERK2* inhibuje ich aktivitu. Zároveň aktívna frakcia *ERK2* fosforyluje (a aktivuje) vnútrobunkovú fosfodiesterázu *REG-A*, čím dochádza k zníženiu endogénneho cAMP. Koncentrácia externého cAMP je modulovaná sekretorickou fosfodiesterázou (Obr. 6). Počítačová analýza tejto jednoduchšej signálnej siete využíva kinetické parametre jednotlivých komponentov viedla k modelu, ktorý takmer dokonale kopíroval experimentálne získané hodnoty. Každý z komponentov tejto signálnej siete bol nevyhnutný na generovanie oscilácie. Model mal pritom prekvapujúcu „pufrovaciu“ kapacitu: 25-násobná zmena v kinetických konštantách niektorých komponentov mala len nepatrný efekt na frekvenciu oscilácie (Laub a Loomis, 1998).

Labov a Loomisov experiment je len jedným z viacerých pokusov popísať (v mnohých prípadoch “neintuitívne”) správanie molekulárnych sietí, participujúcich v bunkovej signalizácii a regulačných genetických a biochemických programoch (napr. Abouhamad a kol., 1998, Barkai a Leibler, 1997, Bray a kol., 1993, Bray a Lay, 1994, Dusenbery, 1998, Ferrell, 1996, McAdams a Arkin, 1997, McAdams a Arkin, 1998, McAdams a Shapiro, 1995, Spiro a kol., 1997, Tyson, 1996). Aké “výpočtové možnosti” majú proteínové siete? Vyššie bolo popísané, ako pomerne jednoduchý *Tar* komplex baktérií monitoruje kvalitu vonkajšieho prostredia a funguje ako neurónový analóg. Podobne sa dá predstaviť “výpočtové stredisko” embryonálnych buniek pri analýze extracelulárnej matrix a selekcii dráh svojho rastu. Proteínové siete uchovávajú informáciu, ktorá je “imprintom” prostredia na koncentráciu signálnych molekúl v bunke. Táto “pamäťová stopa” komplementuje permanentnú genetickú informáciu kódovanú v DNA a kontroluje krátkodobé správanie buniek v závislosti od podmienok prostredia. Všetky modely biologických sietí majú prirodzene svoje limitácie: kinetické parametre, s ktorými pracujú, sú derivované z biochemických meraní zriadených signálnych proteínov a zanedbávajú efekt molekulárneho crowdingu (viď. vyššie); v modeloch sa neberie do úvahy koncentrácia signálnych komponentov do komplexov, ukotvených v definovanom bunkovom kompartmente, v ktorom môžu byť unikátne, ale zatiaľ ťažko kvantifikovateľné podmienky lokálneho prostredia; atď. Bez ohľadu na tieto limitácie sú modely signálnych sietí vhodným východiskom pre pochopenie vlastností komplexných bunkových signálnych systémov. Adaptácia signálnych sietí je založená na darwinistickom procese generovania variantov a selekcii tých najúspešnejších. Vlastnosti proteínových signálnych sietí, z ktorých niektoré boli spomenuté v tomto texte, vedú k provokatívnej myšlienke, že informácia pre „naučené správanie“ biologických systémov by mohla byť uchovávaná v rámci biochemických reakcií tvoriacich vnútrobunkové signálne dráhy (Bhalla a Iyengar, 1999). Provokácie tohto typu si určite zaslúžia všeobecnú pozornosť odbornej audiencie.

Referencie.

1. Abouhamad, W.N., Bray, D., Schuster, M., Boesch, K.C., Silversmith, R.E., and Bourret, R.B. (1998). Computer-aided resolution of an experimental paradox in bacterial chemotaxis. *J. Bacteriol.* **180**: 3757-3764.
2. Alex, L.A., and Simon, M.I.. (1994). Protein histidine kinases and signal transduction in prokaryotes and eukaryotes. *Trends Genet.* **10**: 133-138.
3. Andersson, S.G.E., Zomorodipour, A., Andersson, J.O., Sicheritz-Pontén, T., Alsmark, U.C.M., Podowski, R.M., Näslund, A.K., Eriksson, A.-S., Winkler, H.H., and Kurland, C.G. (1998). The genome sequence of *Rickettsia prowazekii* and the origin of mitochondria. *Nature* **396**: 133-143.

4. Appleby, J.L., Parkinson, J.S., and Bourret, R.B. (1996). Signal transduction via multi-step phosphorelay: not necessarily a road less traveled. *Cell* **86**: 845-848.
5. Barkai, N., and Leibler, S. (1997). Robustness in simple biochemical networks. *Nature* **387**: 913-917.
6. Bhalla, U.S., and Iyengar, R. (1999). Emergent properties of networks of biological signalling pathways. *Science* **283**: 381-387.
7. Bray, D. (1995). Protein molecules as computational elements in living cells. *Nature* **376**: 307-312.
8. Bray, D. (1998). Signalling complexes: Biophysical constraints on intracellular communication. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **27**: 59-75.
9. Bray, D., Bourret, R.B., and Simon, M.I. (1993). Computer simulation of the phosphorylation cascade controlling bacterial chemotaxis. *Mol. Biol. Cell* **4**: 469-482.
10. Bray, D., and Lay, S. (1994). Computer simulated evolution of a network of cell-signalling molecules. *Biophys. J.* **66**: 972-977.
11. Bray, D., and Lay, S.W. (1997). Computer-based analysis of the binding steps in protein complex formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94**: 13493-13498.
12. Bray, D., Levin, M.D., and Morton-Firth, C.J. (1998). Receptor clustering as a cellular mechanism to control sensitivity. *Nature* **393**: 85-88.
13. Chervitz, S.A., Aravind, L., Sherlock, G., Ball, C.A., Koonin, E.V., Dwight, S.S., Harris, M.A., Dolinski, K., Mohr, S., Smith, T., Weng, S., Cherry, J.M., and Botstein, D. (1998). Comparison of the complete protein sets of worm and yeast: orthology and divergence. *Science* **282**: 2022-2028.
14. Dusenbery, D.B. (1998). Fitness landscapes for effects of shape on chemotaxis and other behaviors of bacteria. *J. Bacteriol.* **180**: 5978-5983.
15. Faux, M.C., and Scott, J.D. (1996). Molecular glue: kinase anchoring and scaffold proteins. *Cell* **85**: 9-12.
16. Ferrell, J.E., Jr. (1996). Tripping the switch fantastic: how a protein kinase cascade can convert graded inputs into switch-like outputs. *Trends Biochem. Sci.* **21**: 460-465.
17. Hughes, D.A. (1994). Histidine kinases hog the limelight. *Nature* **369**: 187-188.
18. Koshland, D.E. (1980). Bacterial chemotaxis in relation to neurobiology. *Annu. Rev. Neurosci.* **3**: 43-75.
19. Laub, M.T., and Loomis, W.F. (1998). A molecular network that produces spontaneous oscillations in excitable cells of *Dictyostelium*. *Mol. Biol. Cell* **9**: 3521-3532.
20. Loomis, W.F. (1996). Genetic networks that regulate development in *Dictyostelium* cells. *Microbiol. Rev.* **60**: 135-150.
21. Manson, M.D., Armitage, J.P., Hoch, J.A., and Macnab, R.M. (1998). Bacterial locomotion and signal transduction. *J. Bacteriol.* **180**: 1009-1022.
22. Marshall, C.J. (1996). Ras effectors. *Curr. Opin. Cell Biol.* **8**: 197-204.
23. McAdams, H., and Arkin, A. (1997). Stochastic mechanisms in gene expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94**: 814-819.
24. McAdams, H.H., and Arkin, A. (1998). Simulation of prokaryotic genetic circuits. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **27**: 199-224.
25. McAdams, H.H., and Shapiro, L. (1995). Circuit simulation of genetic networks. *Science* **269**: 650-659.
26. Mizuno, T. (1997). Compilation of all genes encoding two-component phosphotransfer signal transducers in the genome of *Escherichia coli*. *DNA Res.* **4**: 161-168.
27. Ovadi, J., and Srere, P.A. (1996). Metabolic consequences of enzyme interactions. *Cell. Biochem. Funct.* **14**: 249-258.
28. Parkinson, J.S. (1993). Signal transduction schemes of bacteria. *Cell* **73**: 857-871.
29. Pawson, T. (1995). Protein modules and signalling networks. *Nature* **373**: 573-580.
30. Sanders, D.A., Mendez, B., and Koshland, D.E. (1989). Role of *CheW* protein in bacterial chemotaxis: overexpression is equivalent to absence. *J. Bacteriol.* **171**: 6271-6278.
31. Spiro, P.A., Parkinson, J.S., and Othmer, H.G. (1997). A model of excitation and adaptation in bacterial chemotaxis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94**: 7263-7268. (1997).
32. Stock, J.B., Stock, A.M., and Mottonen, J.M. (1990). Signal transduction in bacteria. *Nature* **344**: 395-400.
33. Tsunoda, S., Sierralta, J., and Zuker, C.S. (1998). Specificity in signaling pathways: assembly into multimolecular signaling complexes. *Curr. Opin. Genet. Develop.* **8**: 419-422.
34. Tyson, J.J., Novak, B., Odell, G.M., Chen, K., and Thron, C.D. (1996). Chemical kinetic theory: understanding cell-cycle regulation. *Trends Biochem. Sci.* **221**: 89-96.

35. Wilf, J., and Minton, A.P. (1981). Evidence for protein self-association induced by excluded volume myoglobin in the presence of globular proteins. *Biochim. Biophys. Acta* **670**: 316-322.

SLOVNÍK.

Adaptorový proteín - Proteín, ktorého aminokyselinová sekvencia pozostáva výlučne zo signálnych domén (viď. nižšie) a ktorého hlavnou úlohou je sprostredkovať interakciu dvoch, prípadne viacerých signálnych proteínov.

Autofosforylácia - fosforylácia proteínu jeho vlastnou proteín kinázovou (viď. nižšie) aktivitou.

Cytoskelet - systém proteínových filamentov (aktín, mikrotubuly, intermediárne filamenty), ktorý zodpovedá za morfológiu eukaryotickej bunky.

Druhý posol - (second messenger) Nízkomolekulová látka, generovaná v procese prenosu bunkového signálu, ktorá moduluje aktivitu ďalších členov signálnej dráhy. Najznámejšími predstaviteľmi tejto početnej skupiny sú napr.: cyklický AMP (cAMP), cyklický GMP (cGMP), inozitoltrifosfát (IP₃), diacylglycerol (DAG), Ca²⁺.

Extracelulárna matrix - komplex proteínov (napr. kolagén) a polysacharidov tvoriacich štruktúrny komponent tkanív.

G-proteín - Proteín schopný viazať guanínové nukleotidy (GDP a GTP) a hydrolyzovať GTP na GDP a fosfát (GTPázová aktivita). Aktívnou formou G-proteínu je jeho komplex s GTP. GTPázová aktivita G-proteínu teda umožňuje cyklický charakter jeho regulácie. Na základe štruktúry sa G-proteíny delia na dve skupiny: *Heterotrimerické G-proteíny*, pozostávajú z troch neidentických proteínových podjednotiek (α -, β -, a γ -). α -podjednotka je zodpovedná za väzbu GDP/GTP, resp. GTPázovú aktivitu, β - a γ - podjednotky plnia regulačnú úlohu. *Malé GTPázy* sú monomérickými proteínmi s molekulovou hmotnosťou okolo 21 kDa. GTPázový cyklus malých GTPáz je pod kontrolou niekoľkých regulačných proteínov, aktivujúcich GTPázovú aktivitu (*GTPase activating proteins, GAP*), katalyzujúcich výmenu GDP za GTP v aktivačnej fáze GTPázového cyklu (*GDP/GTP-exchange factors, GEF*), prípadne inhibujúcich disociáciu GDP (*GDP dissociation inhibitors, GDI*).

Fosfolipáza - Enzým katalyzujúci hydrolyzu fosfolipidu v definovanej pozícii. Podľa tejto pozície sú fosfolipázy rozdelené do viacerých typov (fosfolipáza A₁, A₂, C, D). Produkty reakcie katalyzovanej príslušnou fosfolipázou často plnia úlohu prvých i druhých poslov v prenose bunkového signálu.

Proteín kináza - Enzým katalyzujúci transfer terminálnej fosfátvej skupiny z ATP na postranný reťazec proteínového substrátu. Podľa toho, ktorá aminokyselina je proteín kinázou fosforylovaná sú tieto kategorizované na (i) proteín tyrozín kinázy, (ii) proteín serín/treonín kinázy, (iii) proteín kinázy s dvojitou špecificitou (fosforylujúce všetky tri hydroxylaminokyseliny), a (iv) proteín histidín kinázy. Niektoré proteín kinázy sú transmembránovými proteínmi, ktorých extracelulárna časť slúži ako receptor pre špecifický ligand (receptorové proteín kinázy). Počet génov kódujúcich proteín kinázy v cicavčej bunke sa odhaduje na 1000, čo z nich robí jednu z najpočetnejších génových rodín. Najznámejšími predstaviteľmi tejto skupiny enzýmov sú cAMP-závislá proteín kináza (proteín kináza A), Ca²⁺/diacylglycerol-závislá proteín kináza (proteín kináza C), kalmodulín-závislá proteín kináza (CaM-kináza), proteín tyrozín kináza *c-Src* (prvý objavený proto-onkogén), receptorová proteín tyrozín kináza pre epidermálny rastový faktor (EGF receptor).

Proteín fosfatáza - Enzým katalyzujúci odstránenie fosfátvej skupiny z fosforylovanej aminokyseliny príslušného proteínového substrátu. Podobne ako proteín kinázy, delia sa proteín fosfatázy podľa špecificity k jednotlivým fosfo-aminokyselinám (proteín tyrozín fosfatázy, proteín serín/treonín fosfatázy...).

Signálna doména - sekvencia aminokyselín v proteíne, ktorá je vďaka svojim štruktúrnym vlastnostiam schopná plniť úlohu v prenose bunkového signálu. Najznámejším príkladom signálnej domény je SH2 (*Src* homology domain 2), ktorá je schopná vysokoafinitnej väzby na fosforylovaný tyrozín prítomný v definovanej aminokyselinovej sekvencii vybraných signálnych proteínov a tým zabezpečuje tvorbu špecifických signálnych komplexov.