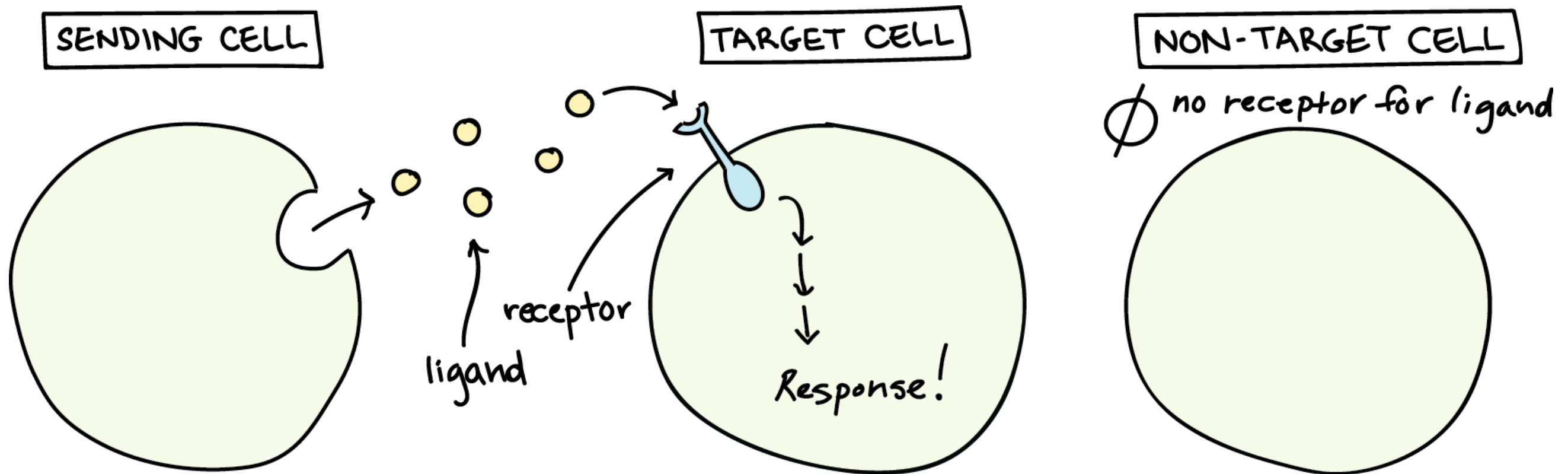


Введение в молекулярную биологию

## Лекция 9. Клеточная сигнализация и коммуникация

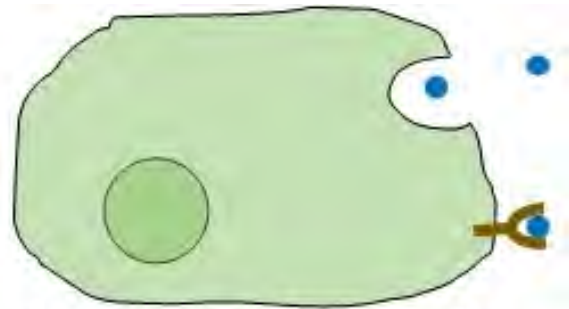
# Клеточная сигнализация: введение



# Типы межклеточной коммуникации

## Autocrine signaling

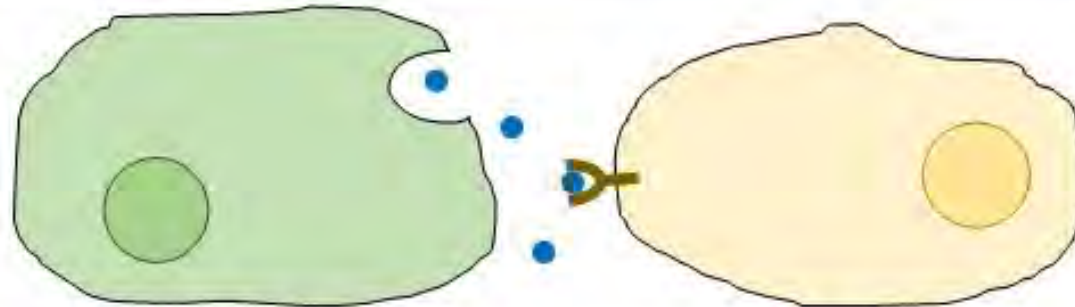
a cell targets itself



Signaling and target cell

## Paracrine signaling

a cell signals a nearby cell

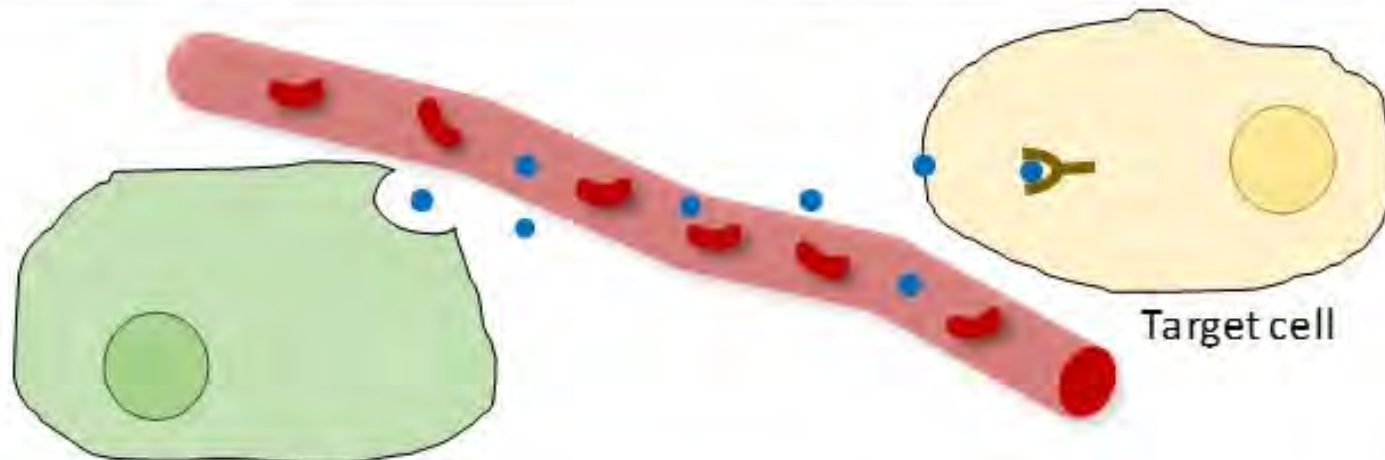


Signaling cell

Target cell

## Endocrine signaling

a cell targets a distant cell through the bloodstream

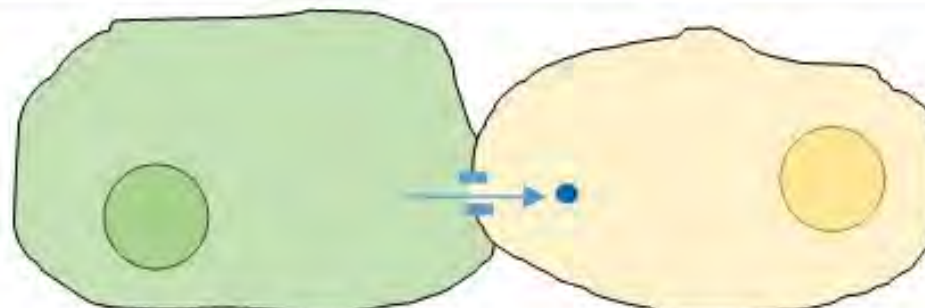


Signaling cell

Target cell

## Direct signaling

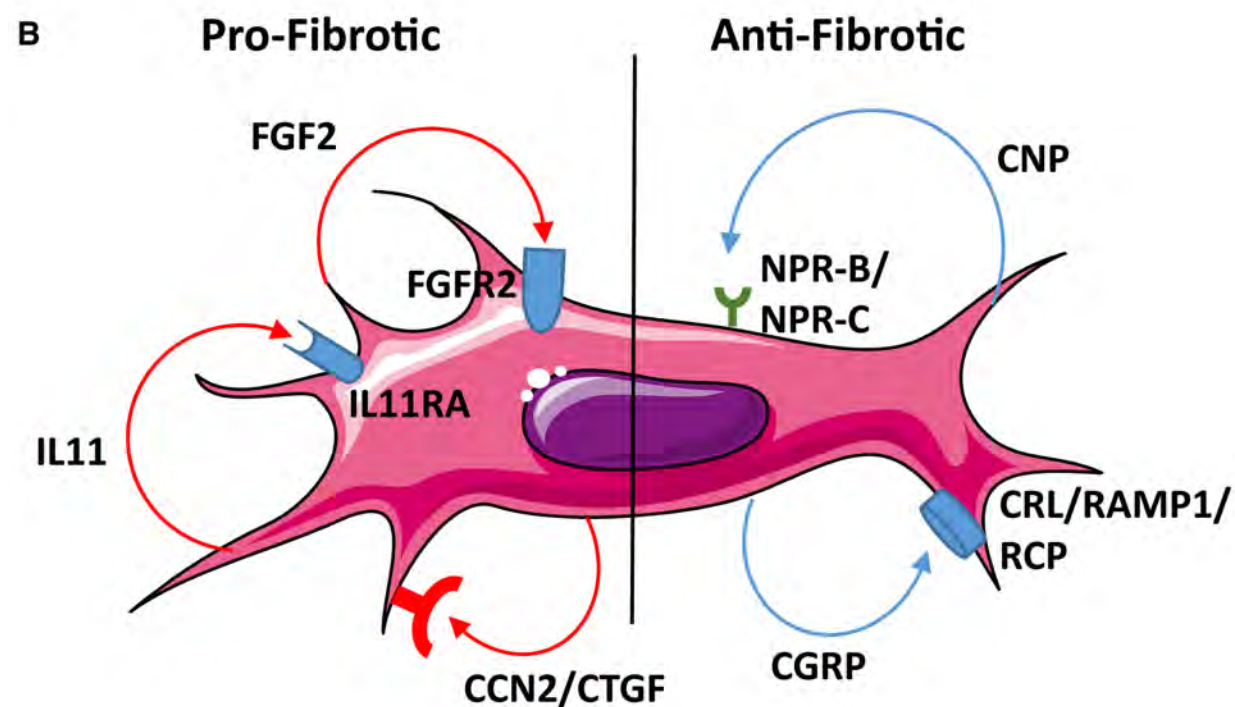
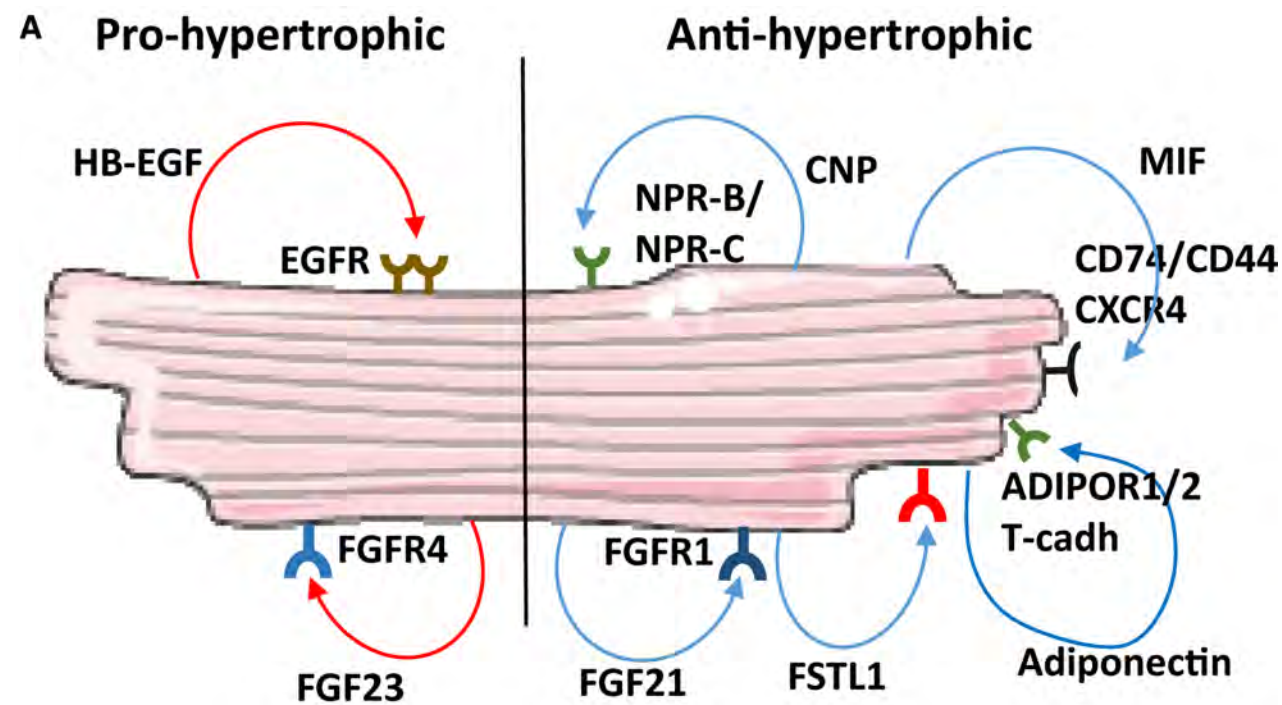
a cell targets a neighboring cell through a gap junction



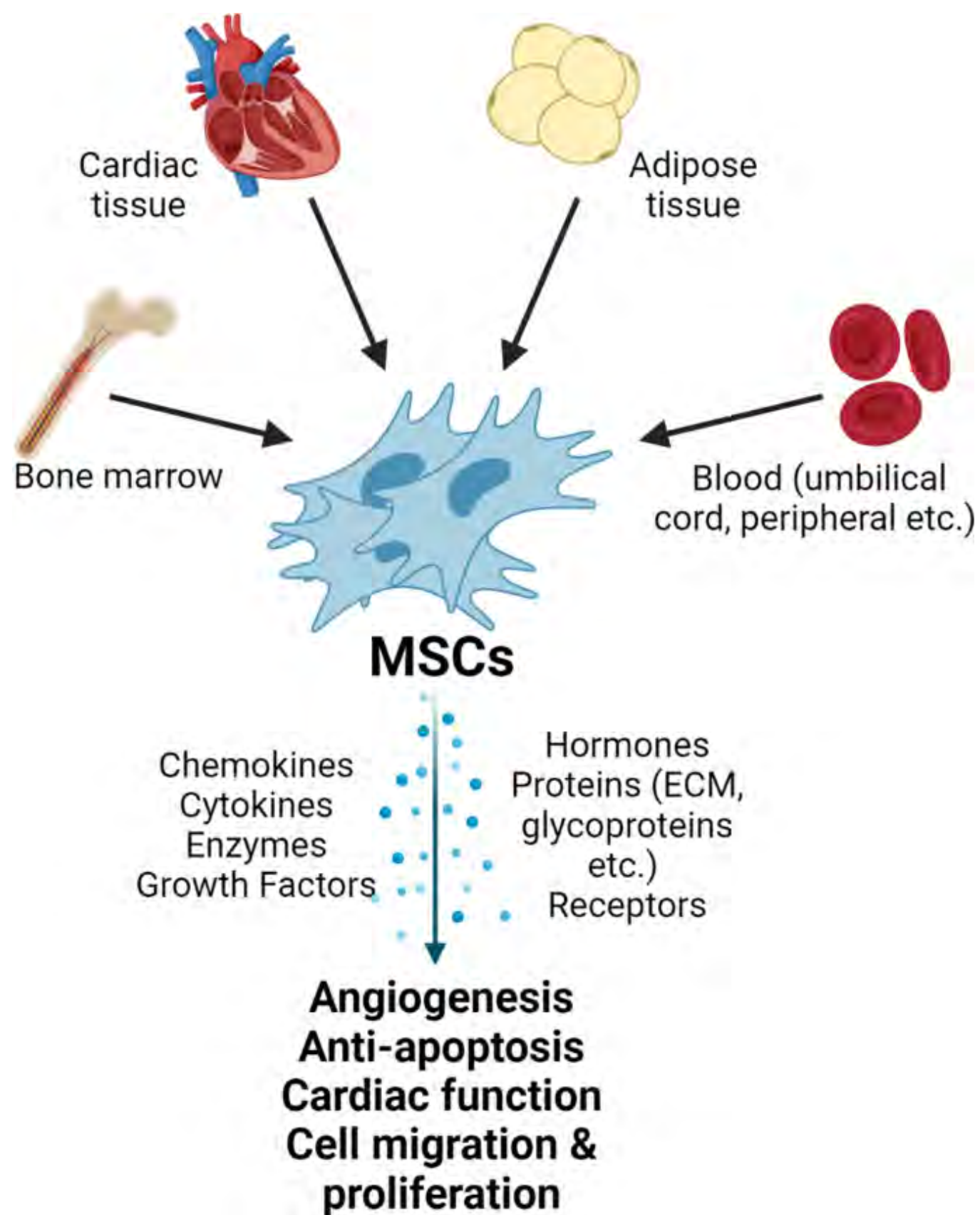
Signaling cell

Target cell

# Автокринная сигнализация

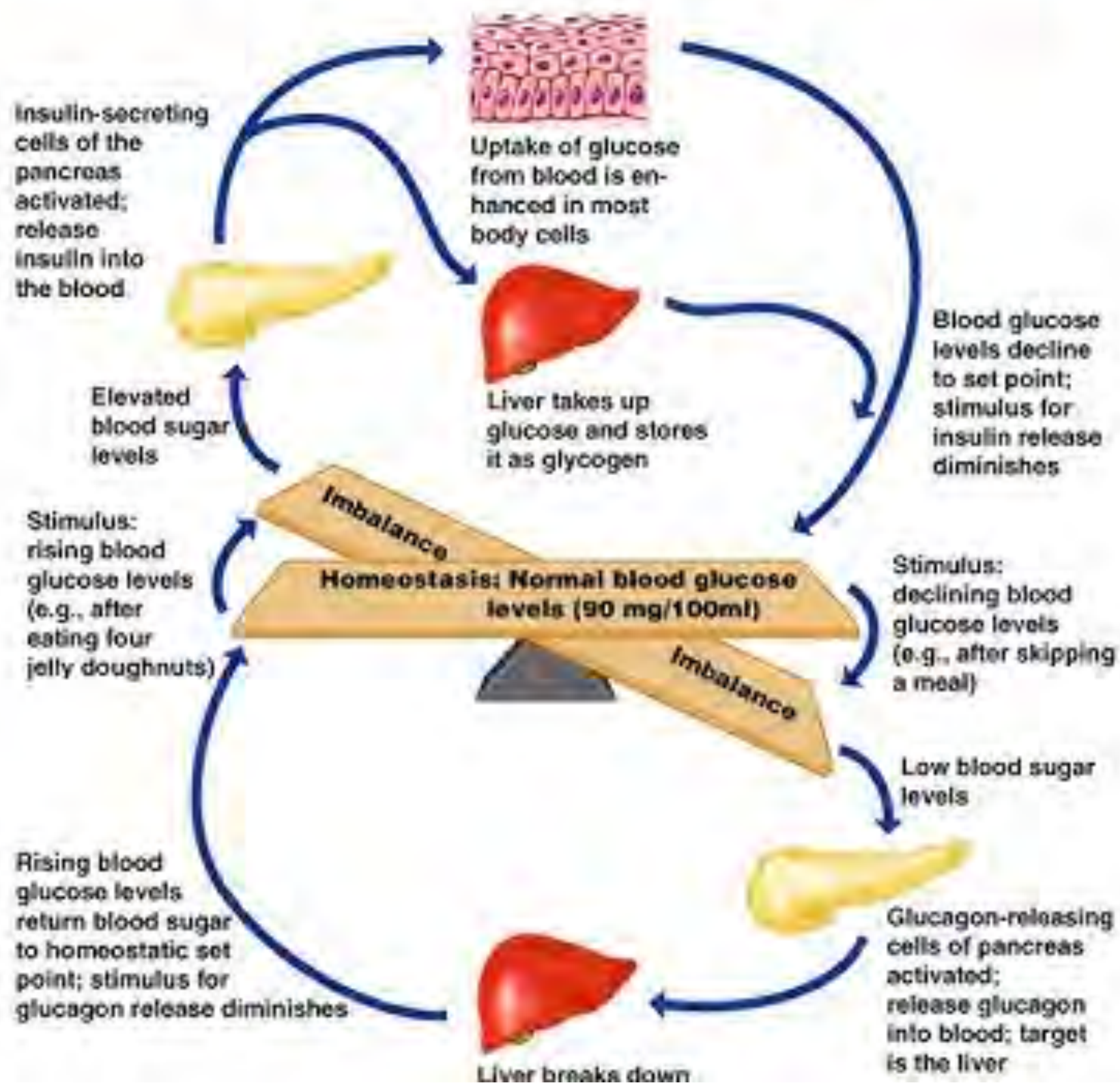


# Паракринная сигнализация

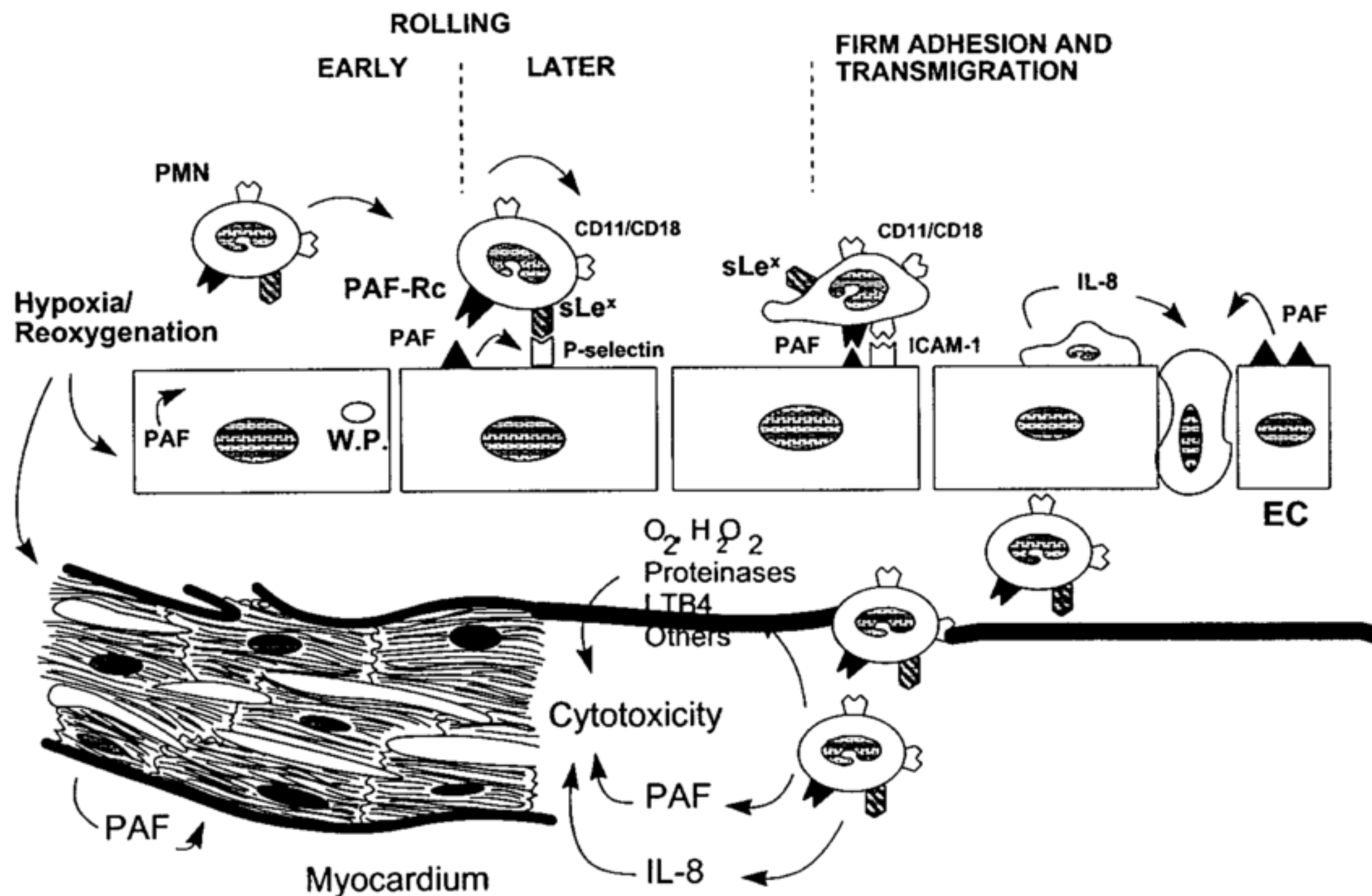




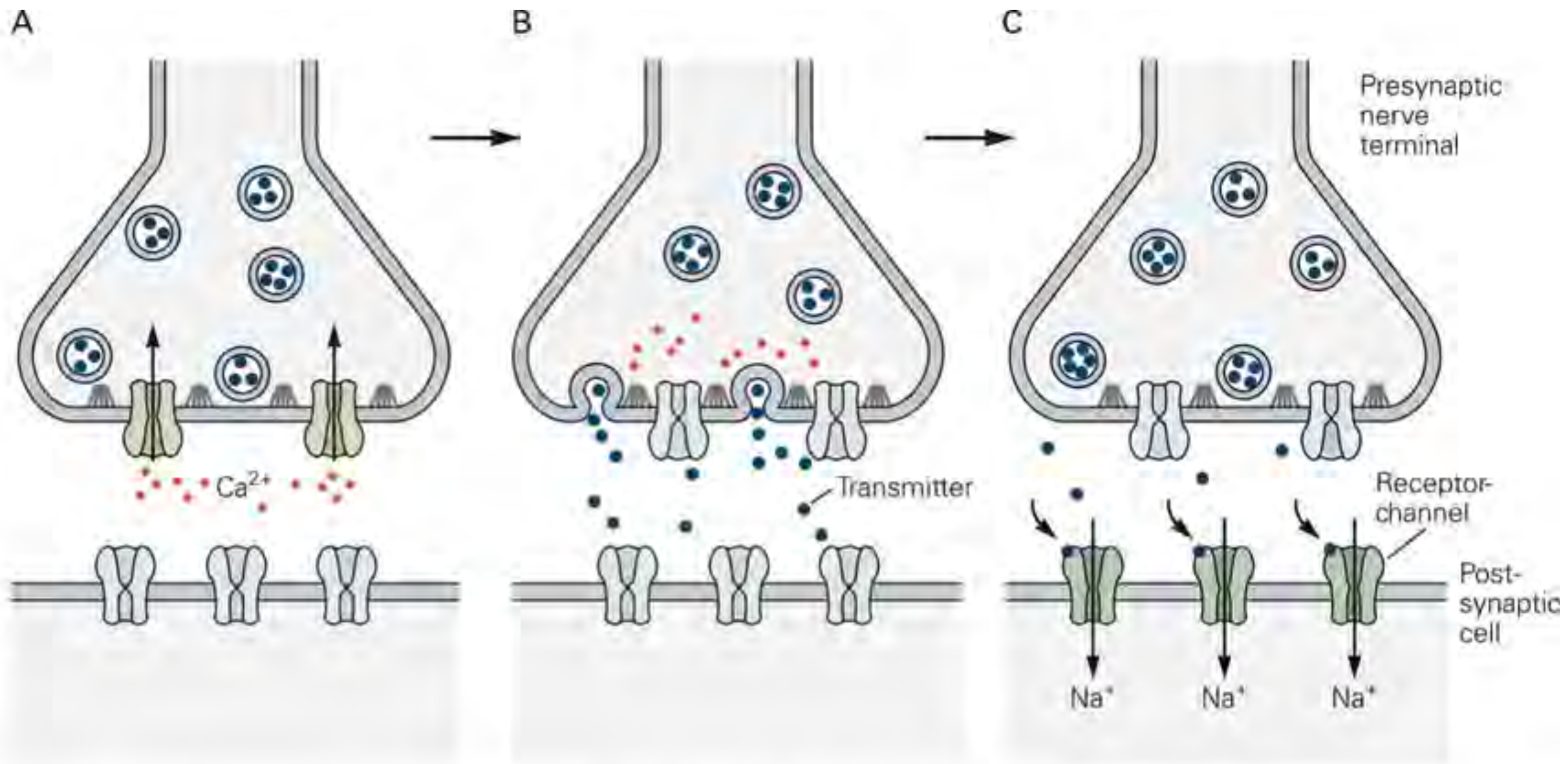
# Эндокринная сигнализация



# Юкстакринная сигнализация



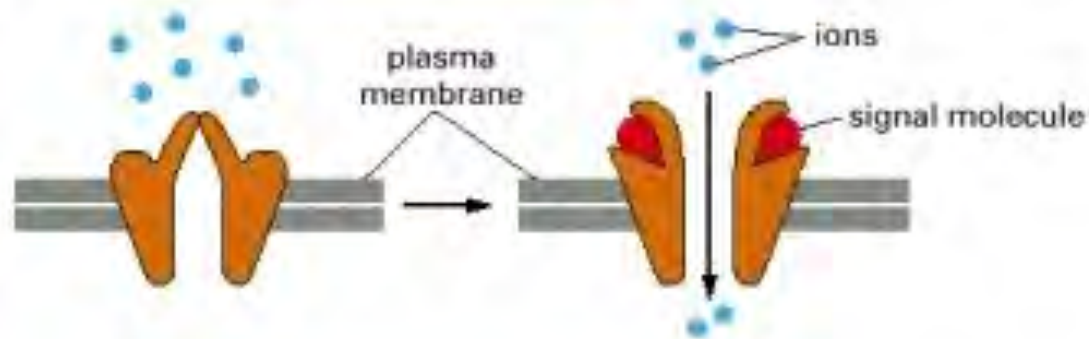
# Синаптическая сигнализация



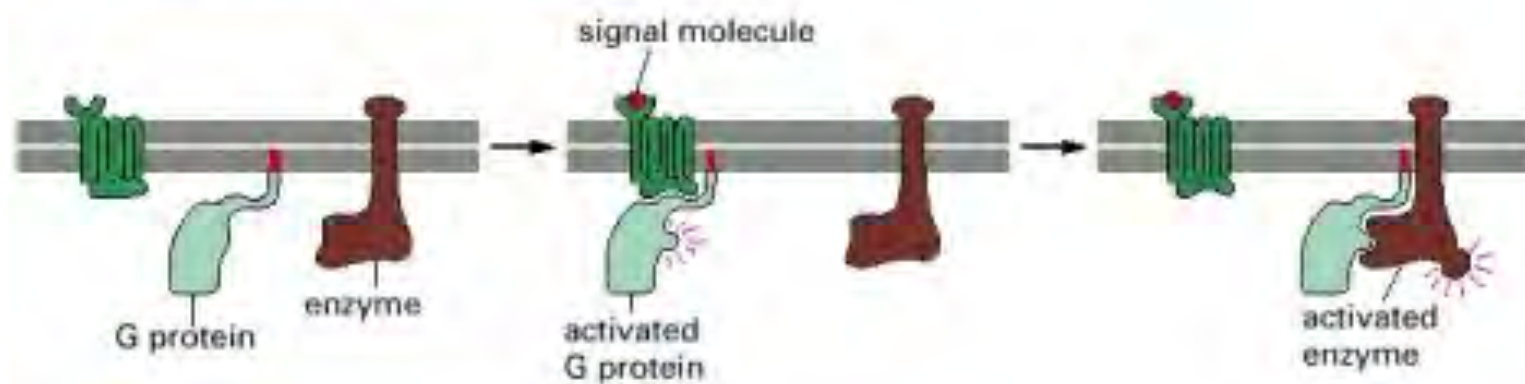


# Мембранные рецепторы

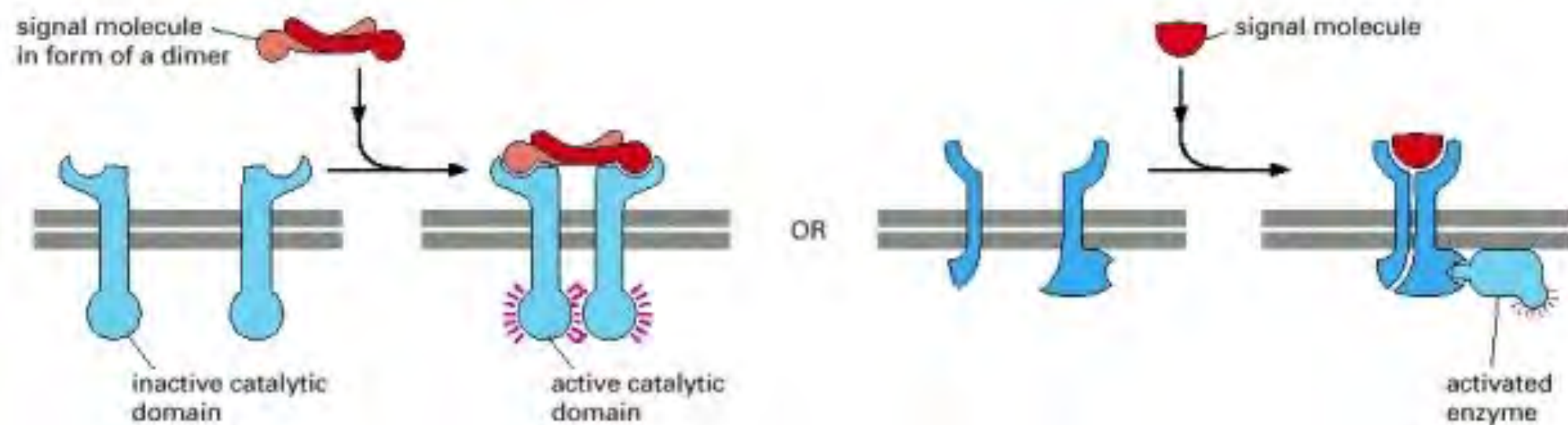
(A) ION-CHANNEL-LINKED RECEPTORS



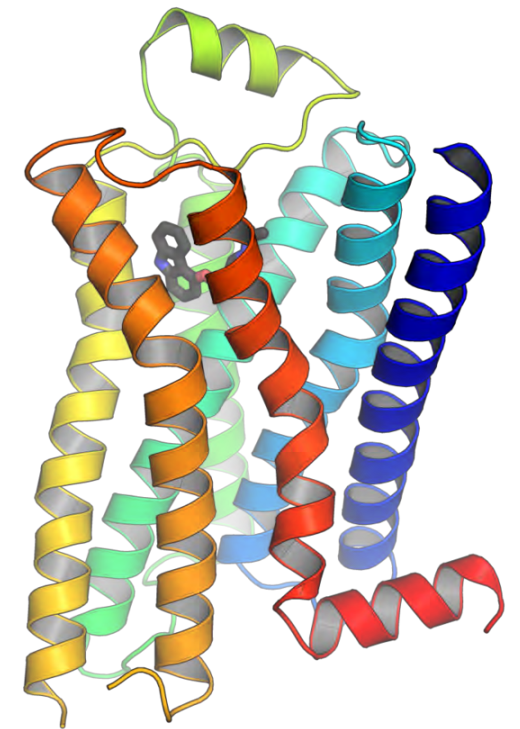
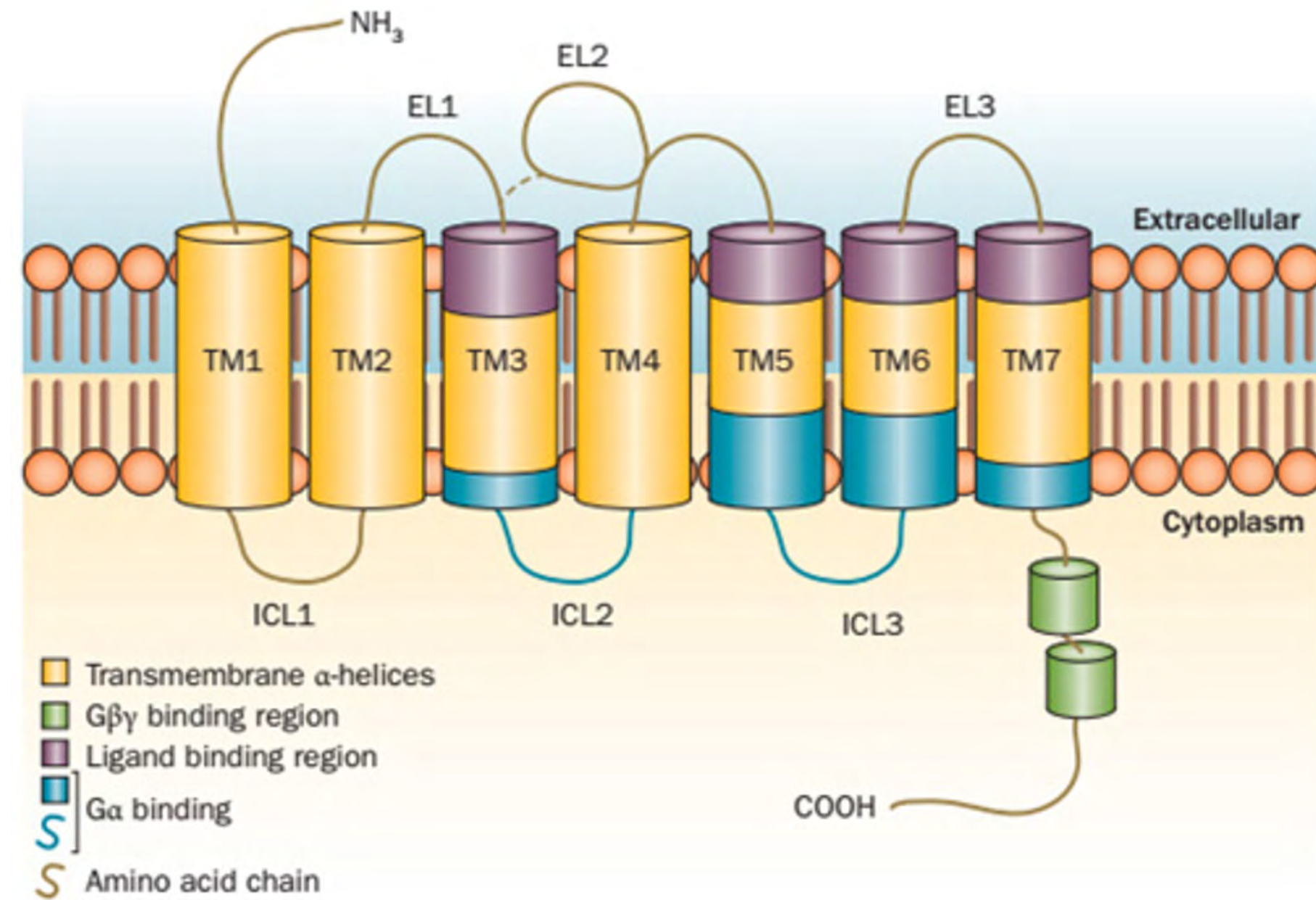
(B) G-PROTEIN-LINKED RECEPTORS



(C) ENZYME-LINKED RECEPTORS

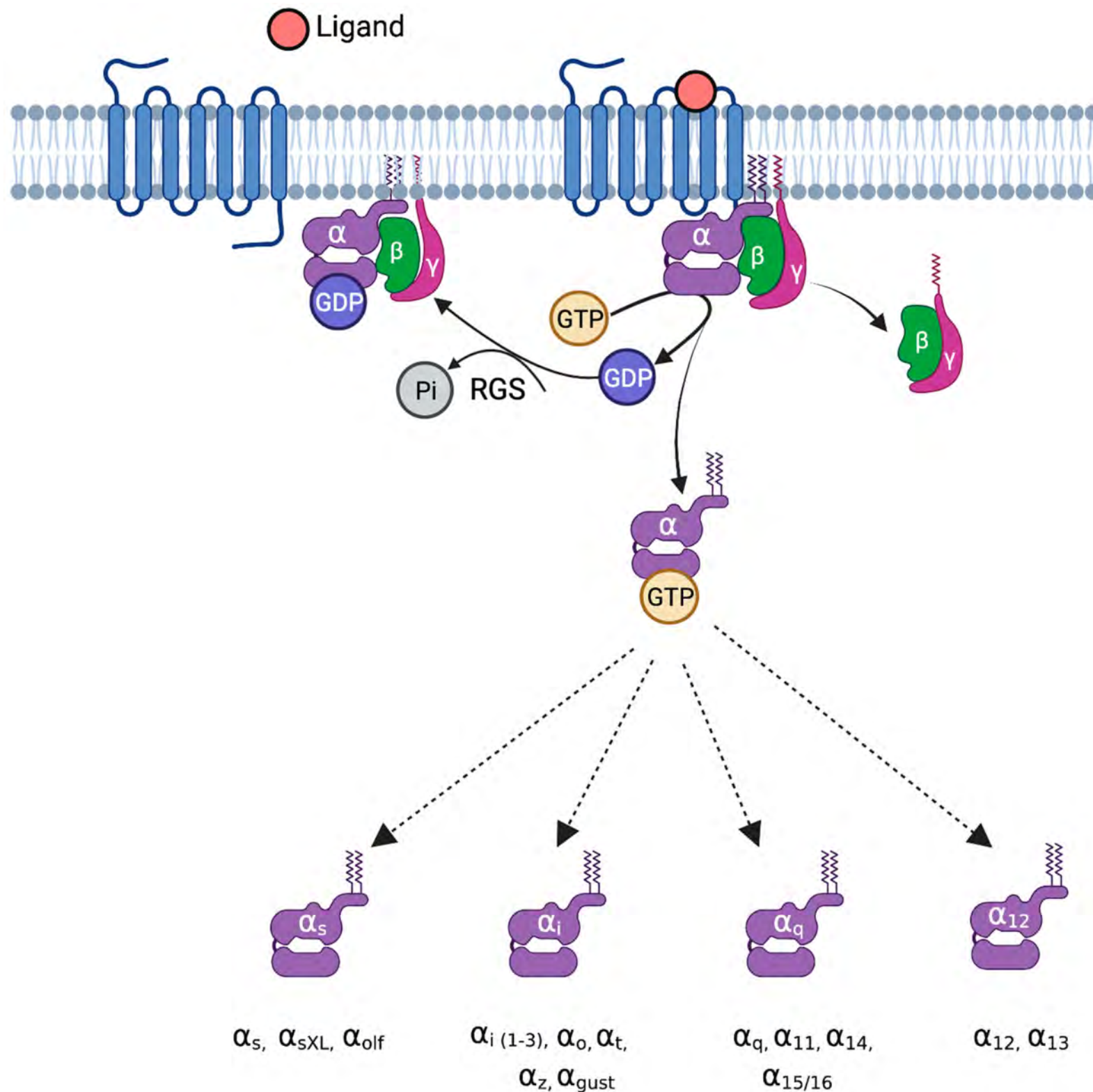


# Структура GPCR



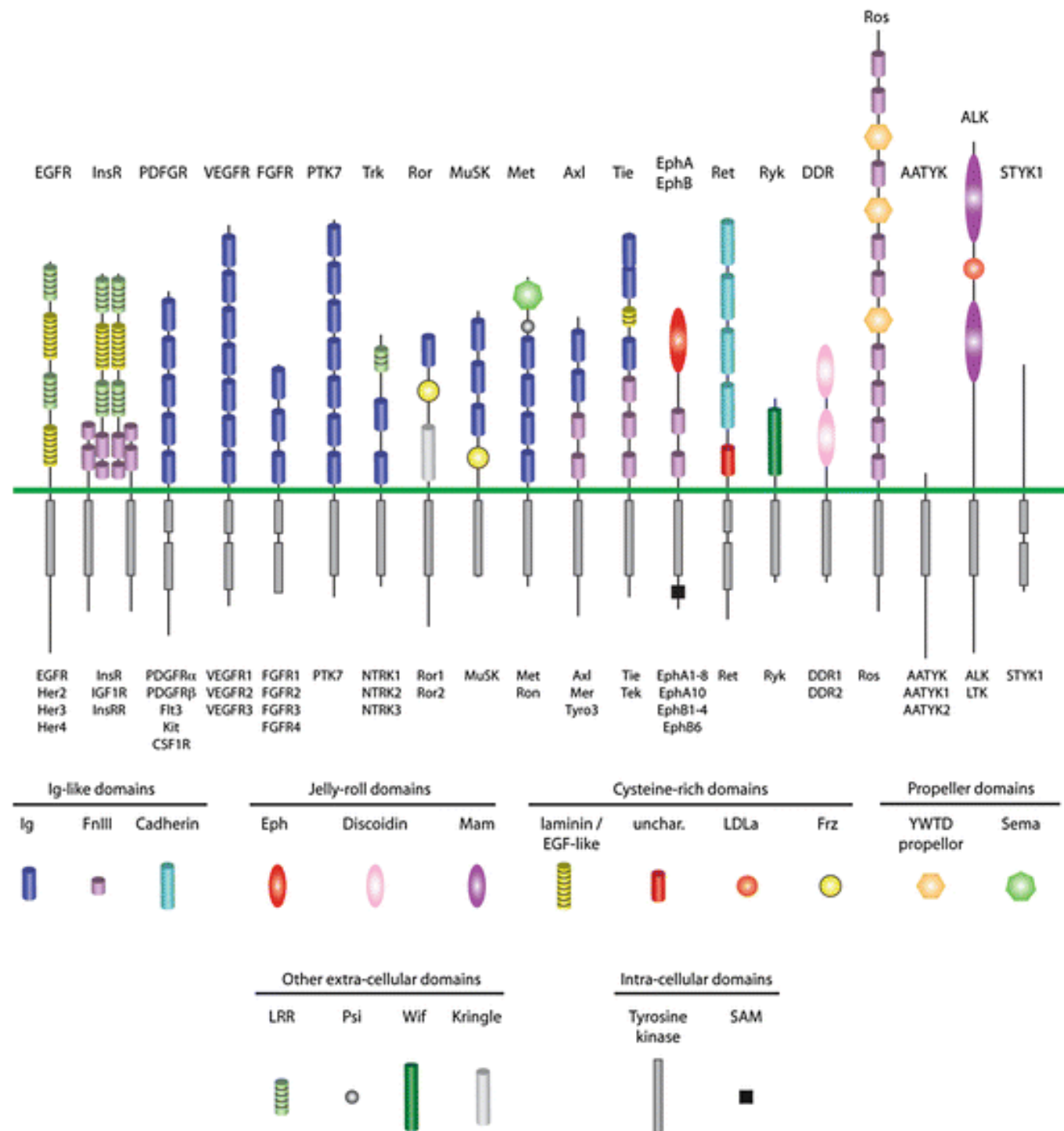


# Механизм GPCR-сигналикации



- **Зрение:** Родопсин в фоторецепторных клетках сетчатки является GPCR, отвечающим за восприятие света.
- **Обоняние:** Большинство обонятельных рецепторов относятся к GPCR и распознают различные запахи.
- **Нейротрансмиттеры:** Рецепторы для серотонина, допамина, адреналина являются GPCR и регулируют настроение, эмоции и стресс.
- **Регуляция сердечной деятельности:** Бета-адренорецепторы контролируют частоту сердечных сокращений и силу сокращений.

# Тирозинкиназные рецепторы (ТКР)



Рецептор эпидермального фактора роста (EGFR): Важен для развития и регенерации тканей.

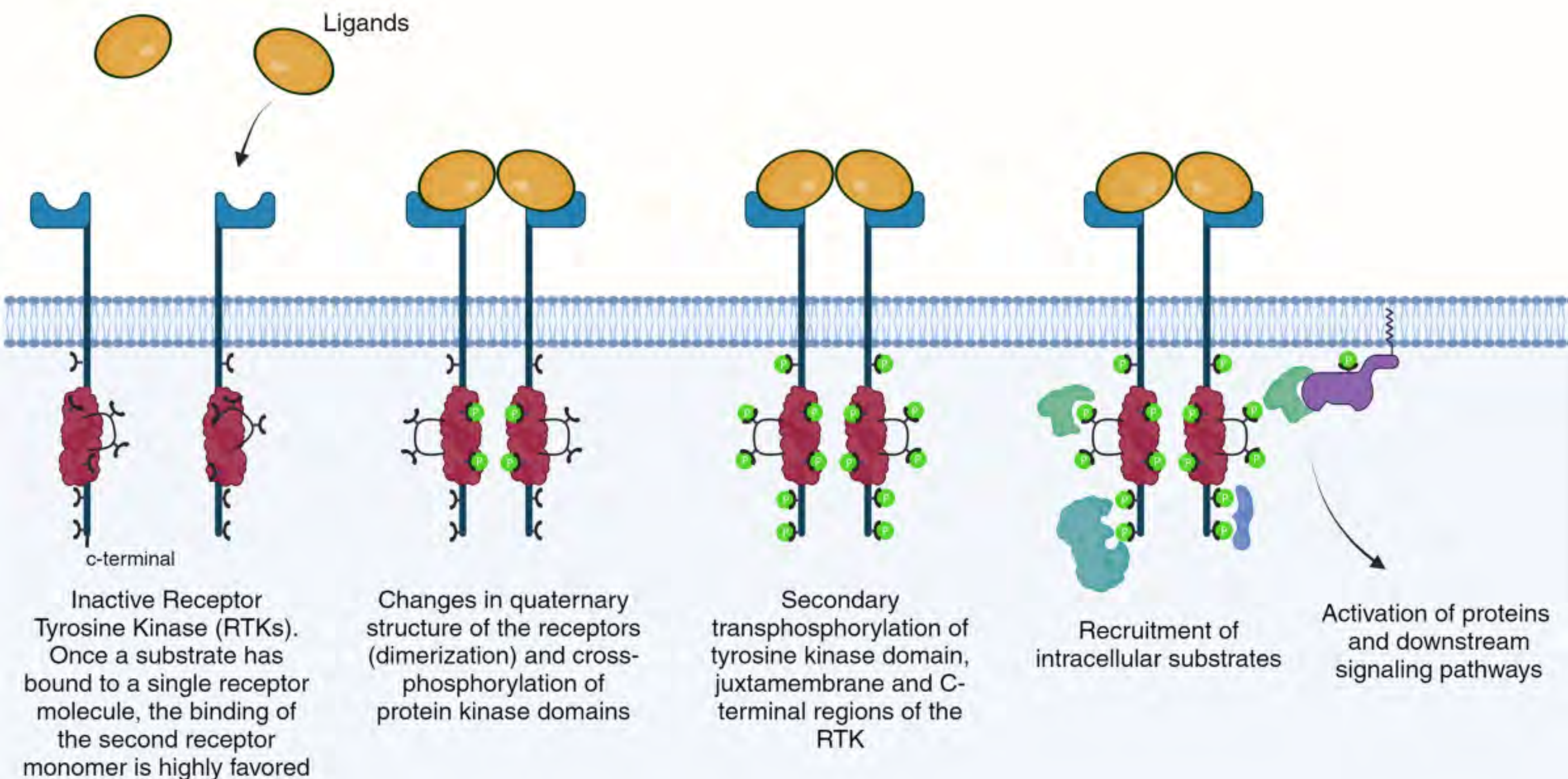
- Рецептор инсулина: Регулирует уровни глюкозы в крови и энергетический метаболизм.

- Рецептор тромбоцитарного фактора роста (PDGFR): Участвует в заживлении ран и развитии сосудов.

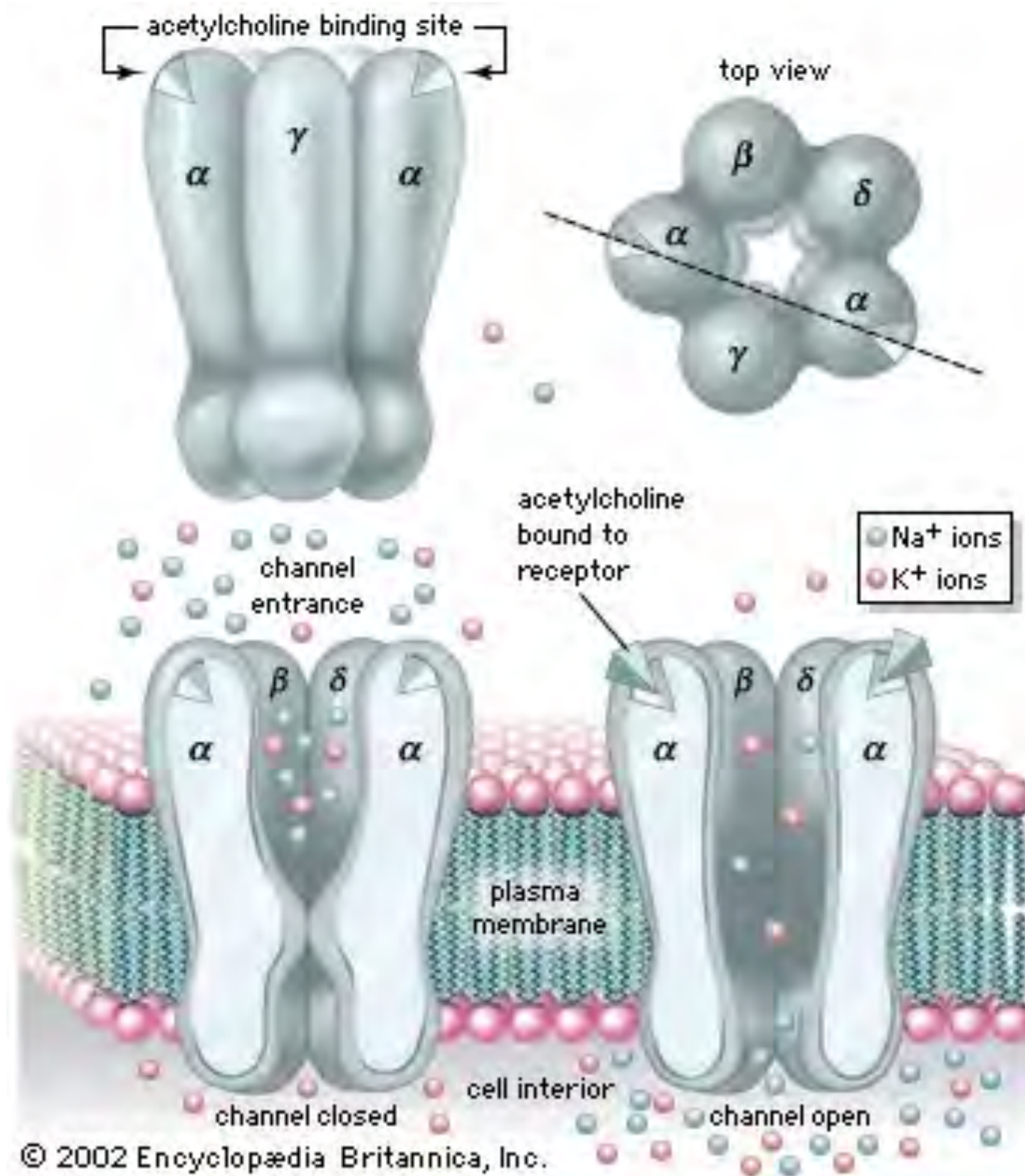
- Рецепторы факторов роста нервов (Trk-рецепторы): Критичны для выживания и функционирования нейронов.



# Активация ТКР



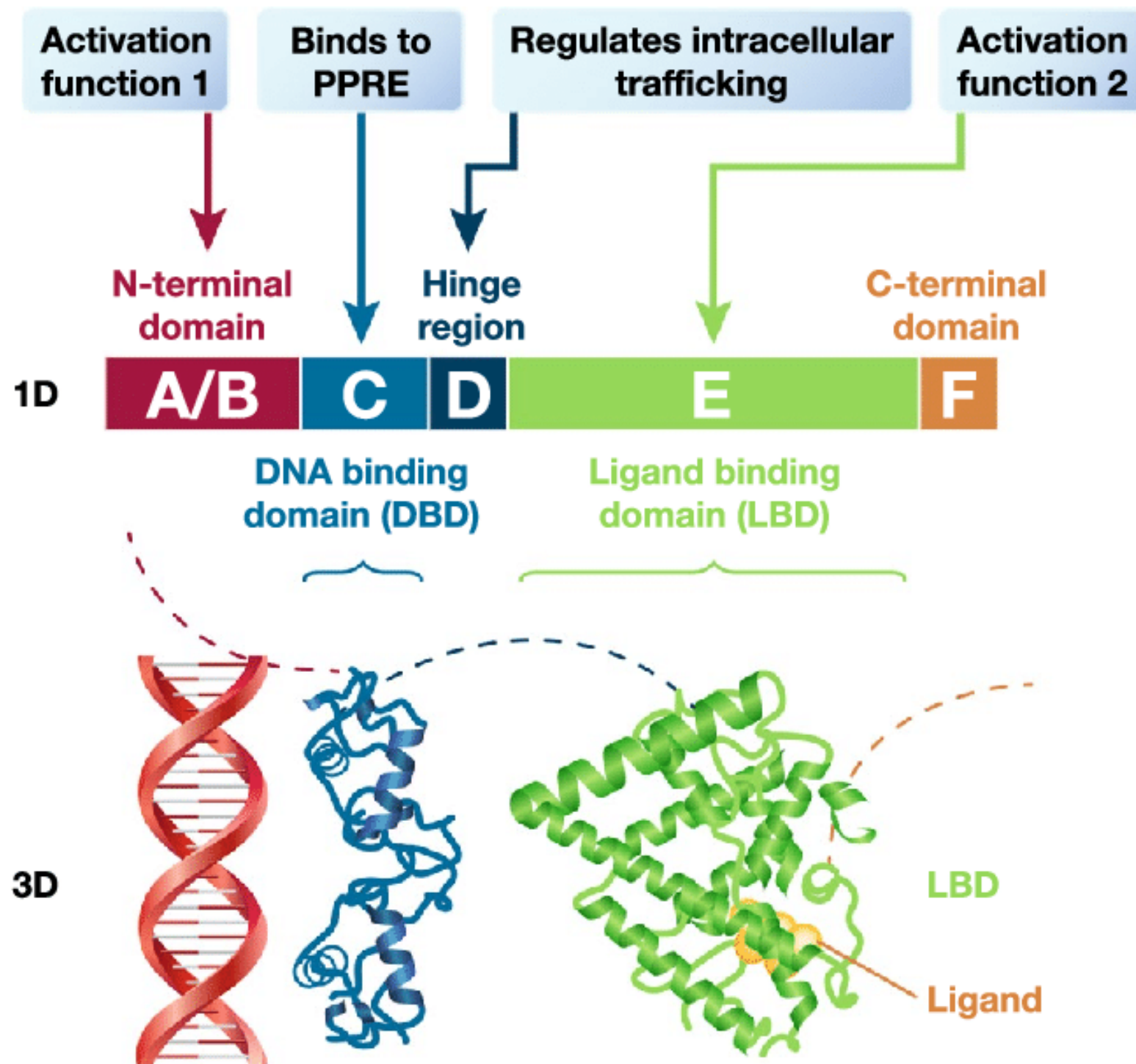
# Ионные каналные рецепторы



- **Никотиновый ацетилхолиновый рецептор (nAChR):** При связывании с ацетилхолином открывает канал для  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ , вызывая деполяризацию мышечной или нейронной мембраны.
- **ГАМК<sub>A</sub>-рецепторы:** Связывают  $\gamma$ -аминомасляную кислоту (ГАМК), открывая канал для  $\text{Cl}^-$ , что приводит к гиперполяризации нейронов и снижению их возбудимости.
- **Глутаматные рецепторы (AMPA, NMDA):** Отвечают на глутамат, основной возбуждающий нейротрансмиттер в ЦНС, регулируя потоки  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  и  $\text{Ca}^{2+}$ .

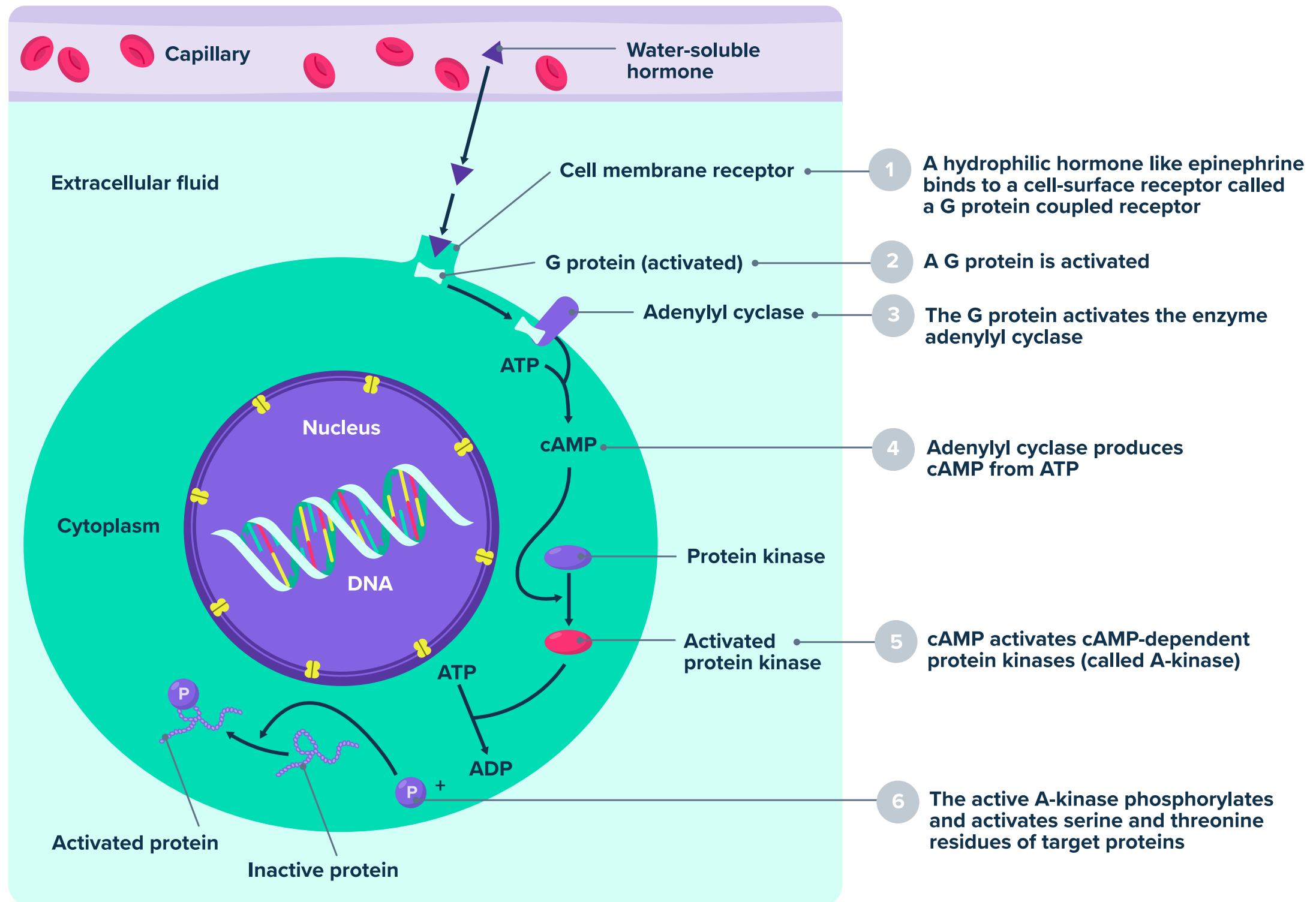


# Внутриклеточные рецепторы



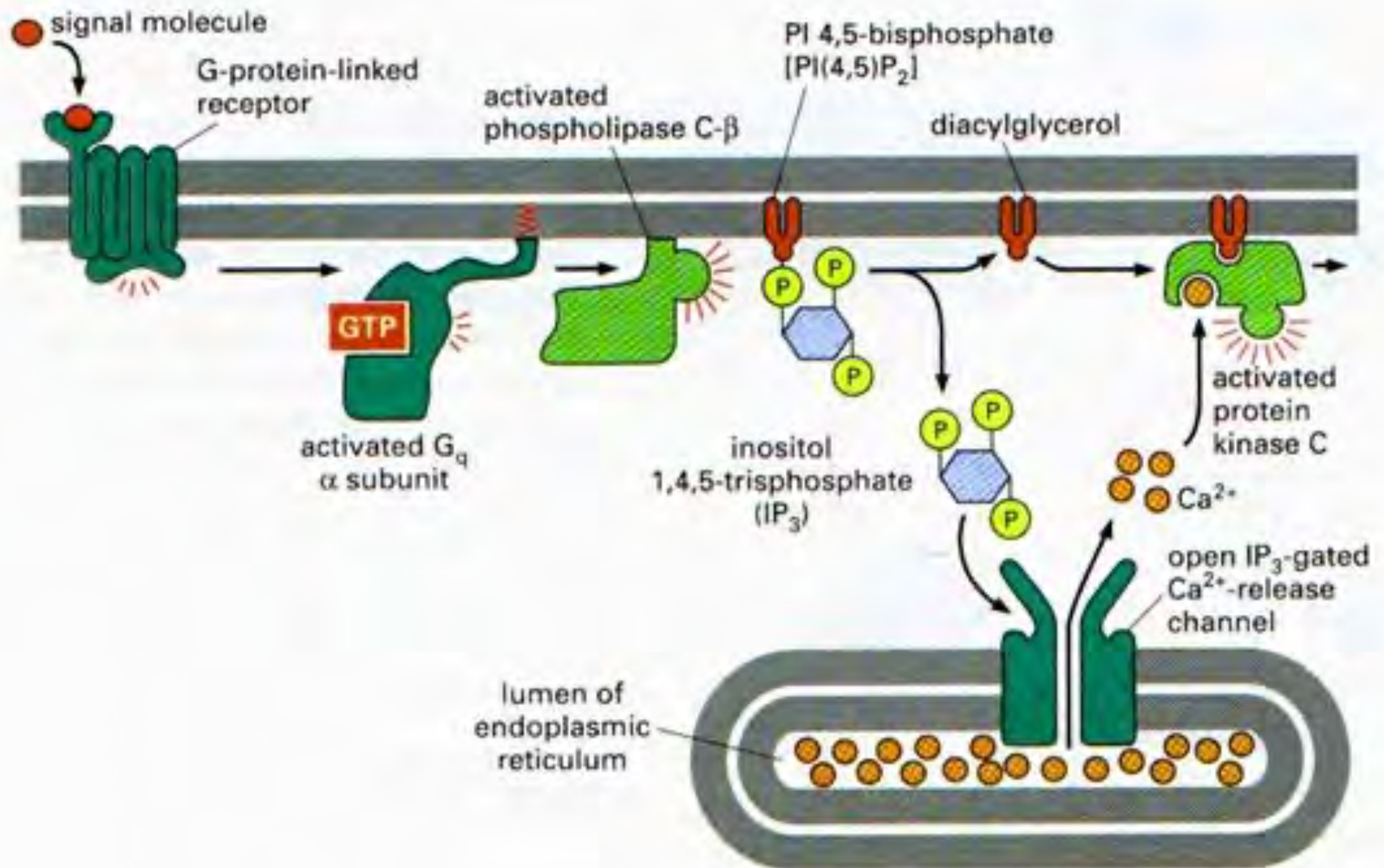
- **Тип I** (стероидные рецепторы):
  - Локализованы в цитоплазме.
  - Образуют гомодимеры.
  - Примеры: эстрогенный рецептор (ER), андрогенный рецептор (AR).
- **Тип II** (нестероидные рецепторы):
  - Постоянно находятся в ядре.
  - Образуют гетеродимеры с ретиноидным X-рецептором (RXR).
  - Примеры: рецепторы тиреоидных гормонов (TR), рецепторы витамина D (VDR).

# Сигнальный путь cAMP

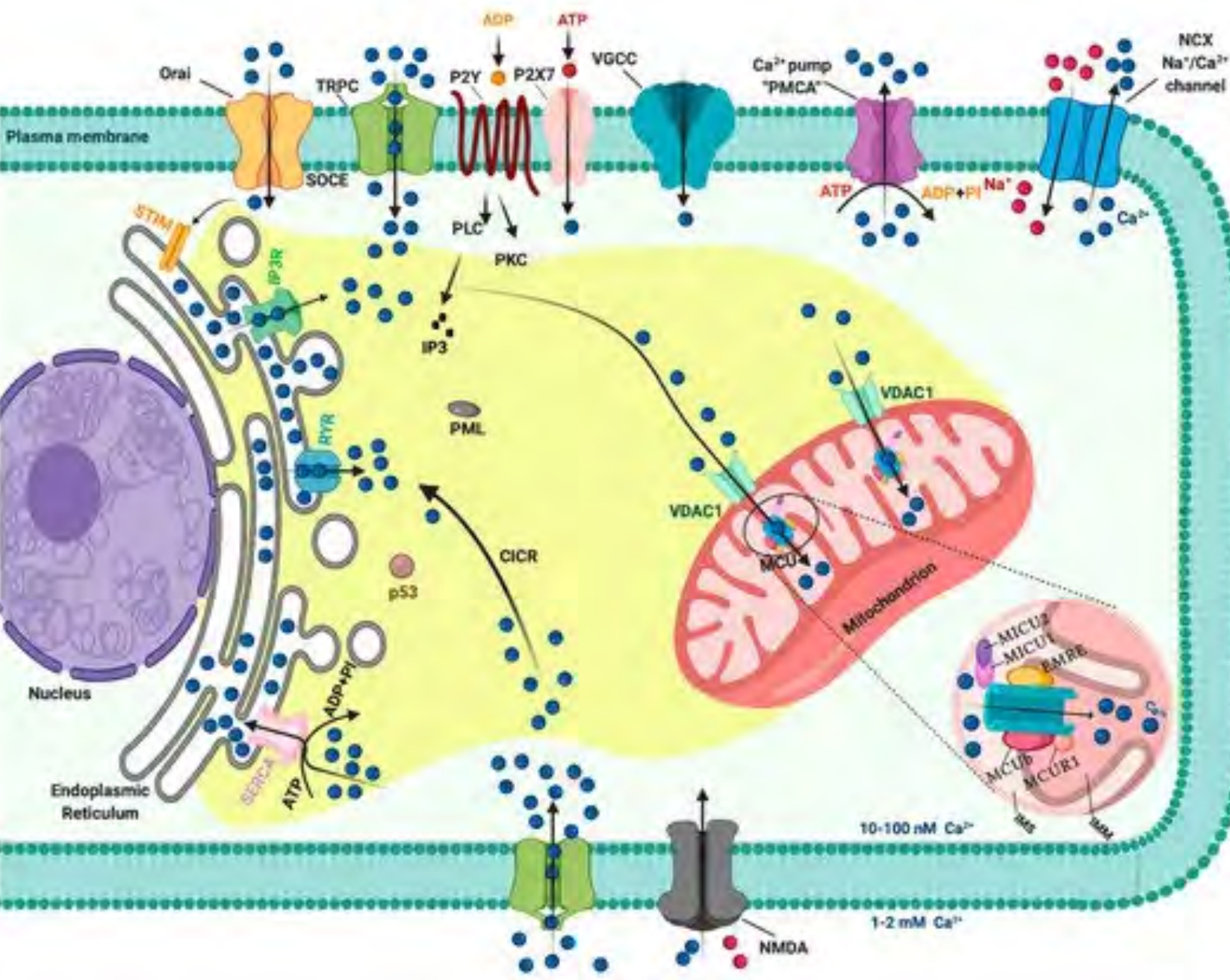




# Путь IP3 и DAG



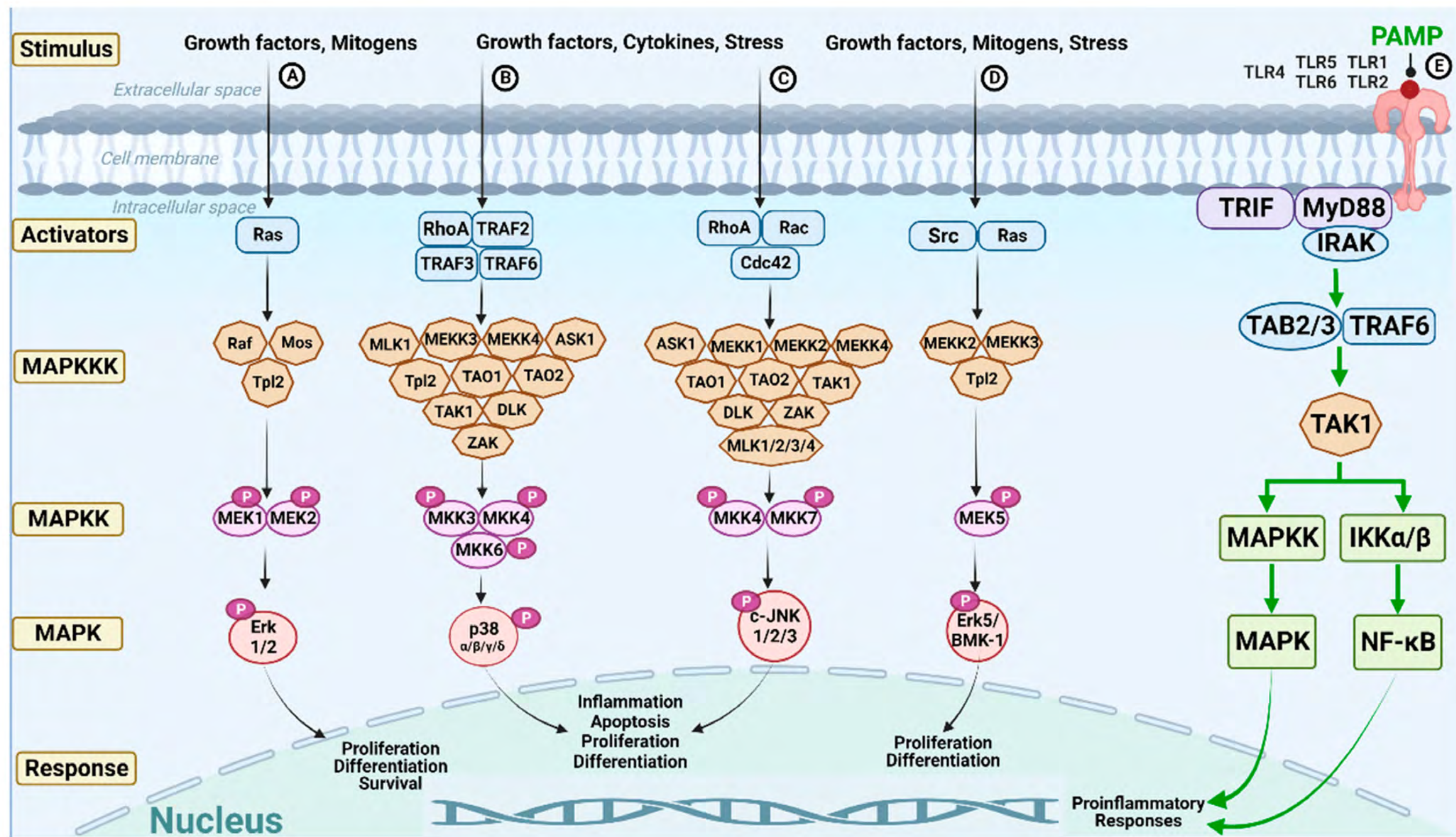
# Регуляция кальциевых сигналов



- **Мышечное сокращение:** Ca<sup>2+</sup> связывается с тропонином в скелетных и сердечных мышцах, инициируя взаимодействие актина и миозина.
- **Нейротрансмиссия:** Вход Ca<sup>2+</sup> в пресинаптические терминалы вызывает экзоцитоз синаптических везикул с нейромедиаторами.
- **Секреция гормонов и ферментов:** Кальциевые сигналы регулируют экзоцитоз в эндокринных и экзокринных клетках.
- **Клеточная пролиферация и дифференцировка:** Ca<sup>2+</sup> влияет на циклин-зависимые киназы и другие факторы, контролируя клеточный цикл.



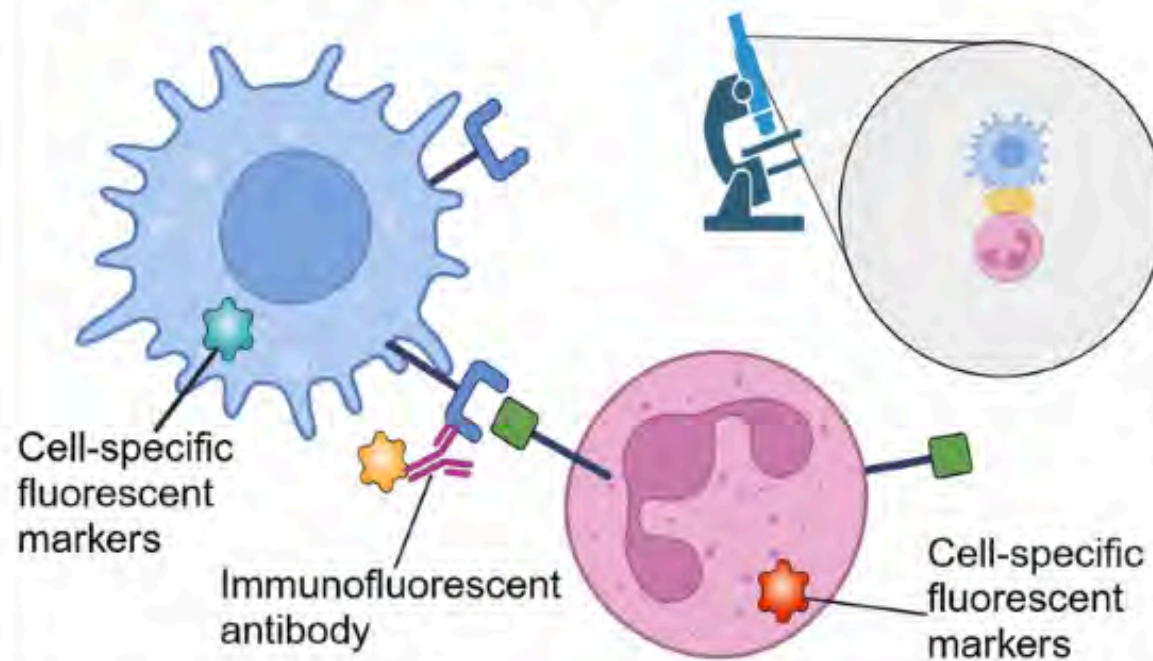
# МАРК-сигнальный путь



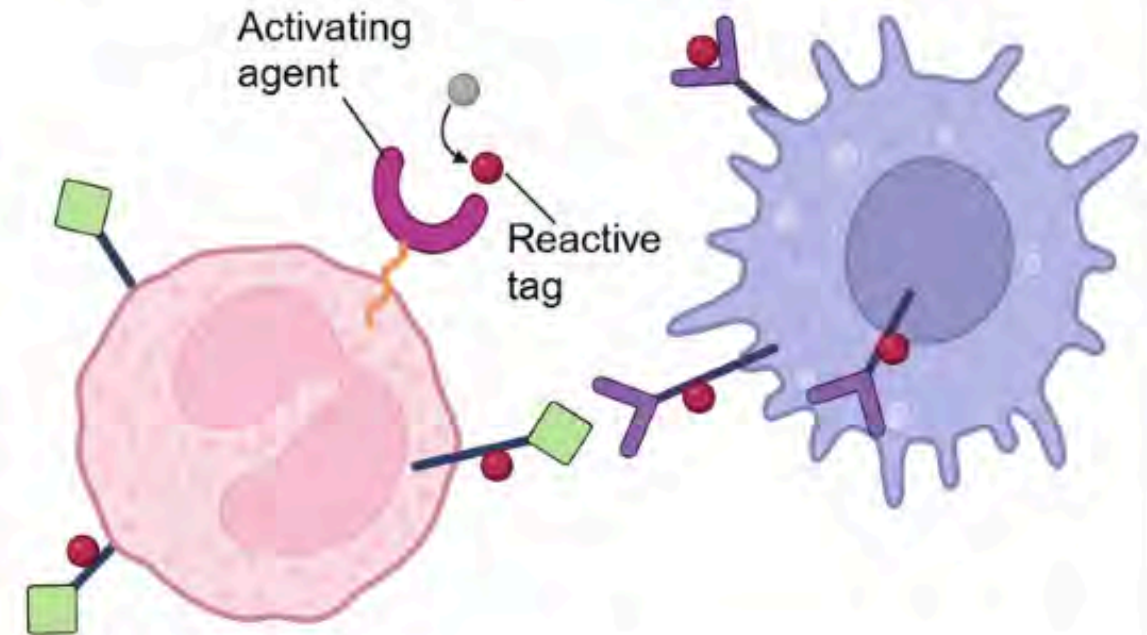


# Методы анализа

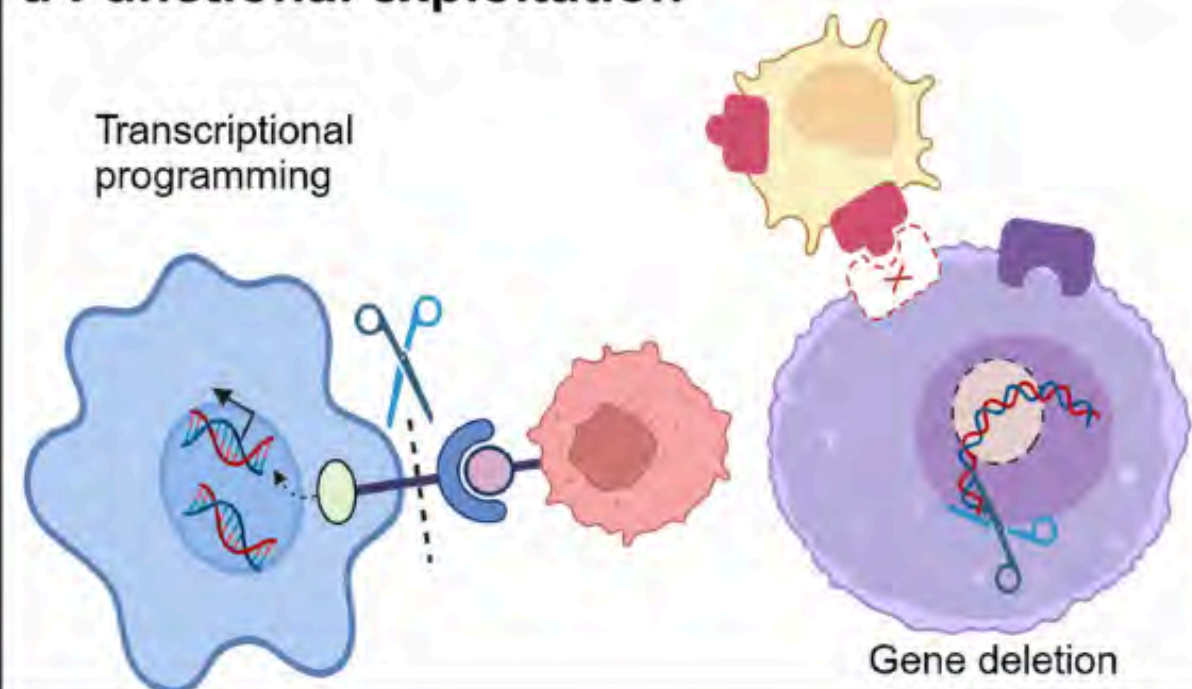
## a Microscopy imaging



## b Chemical tagging

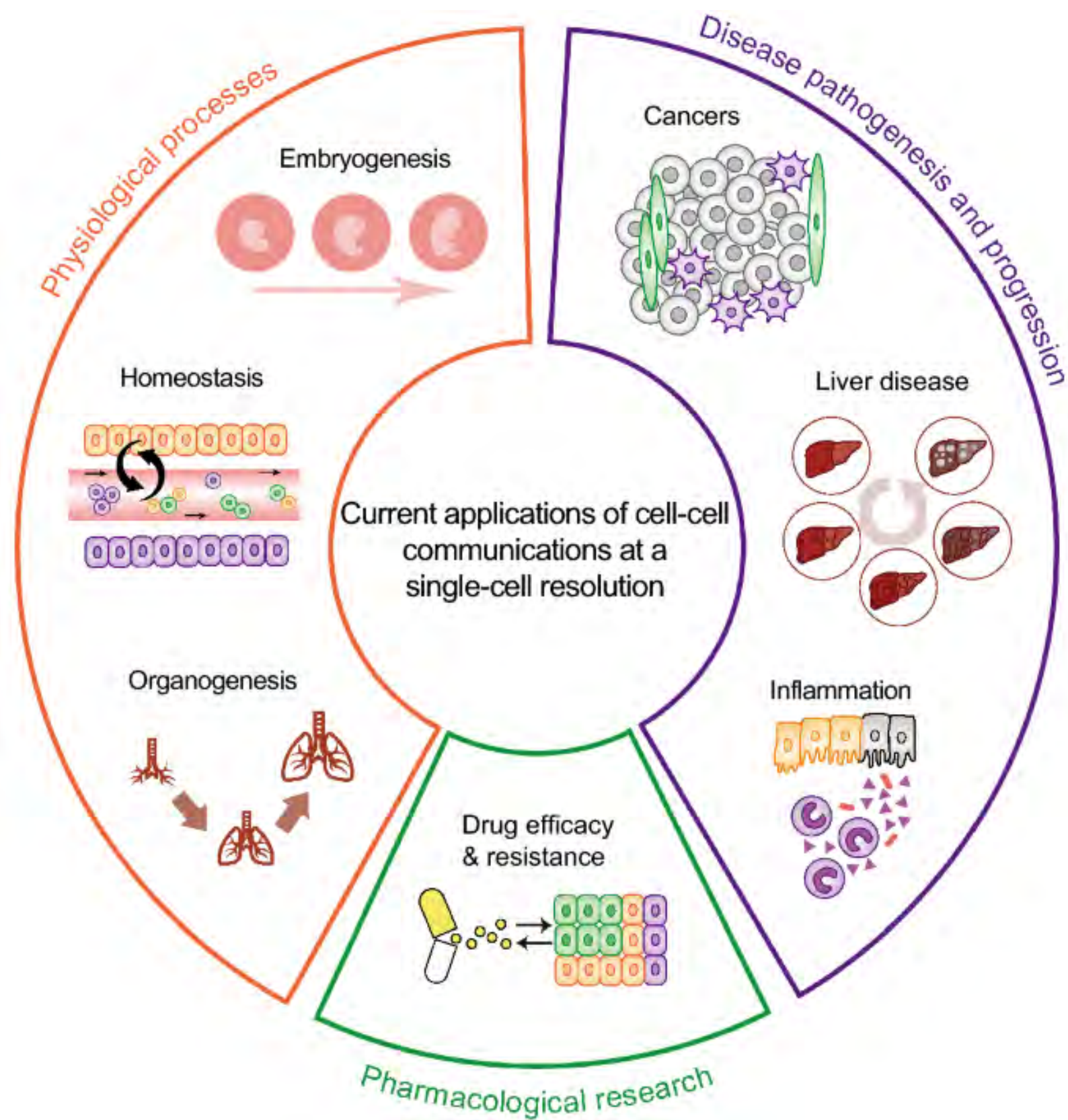


## d Functional exploitation



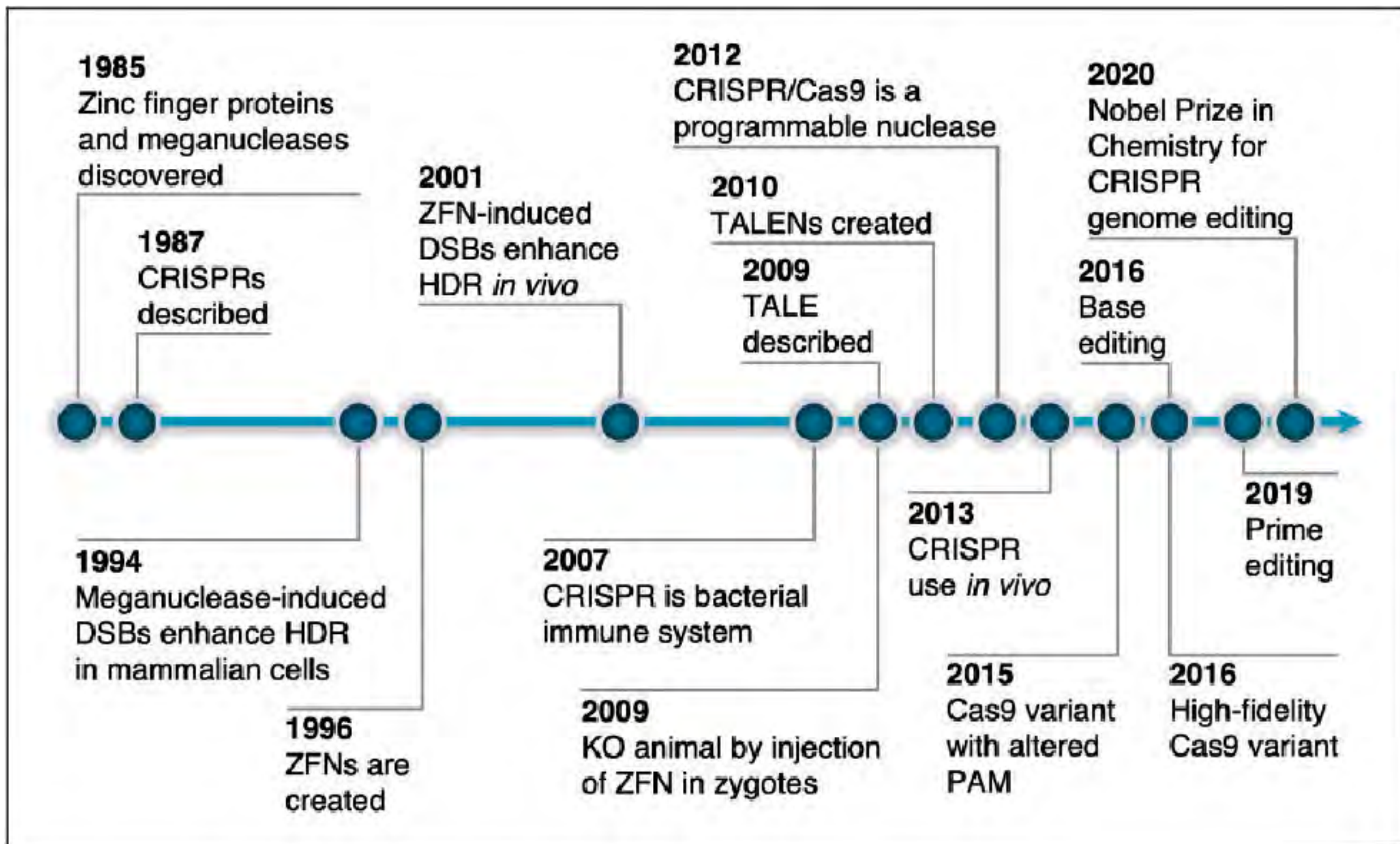


# Роль в медицине



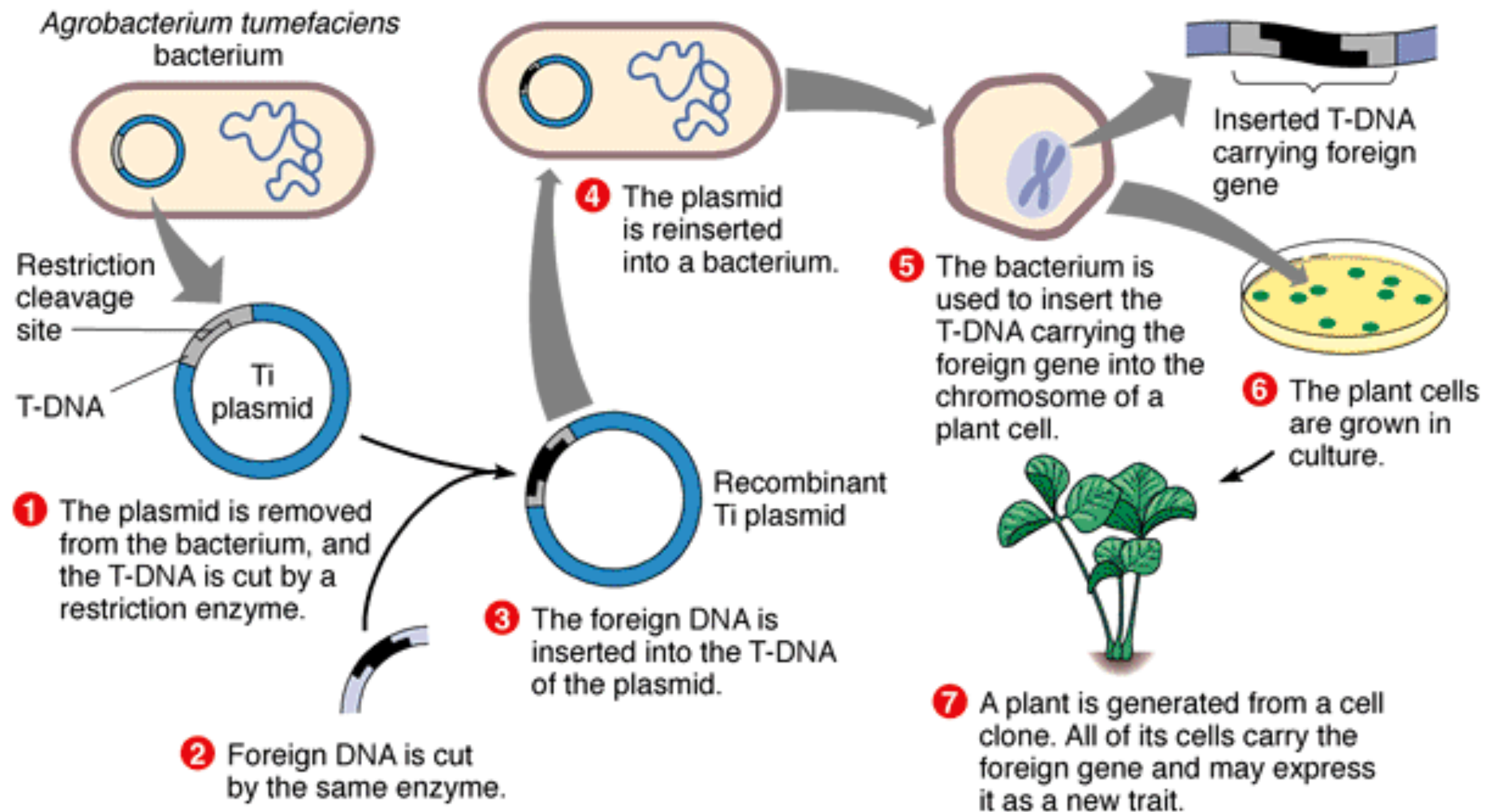
# Редактирование генома

# История редактирования генома



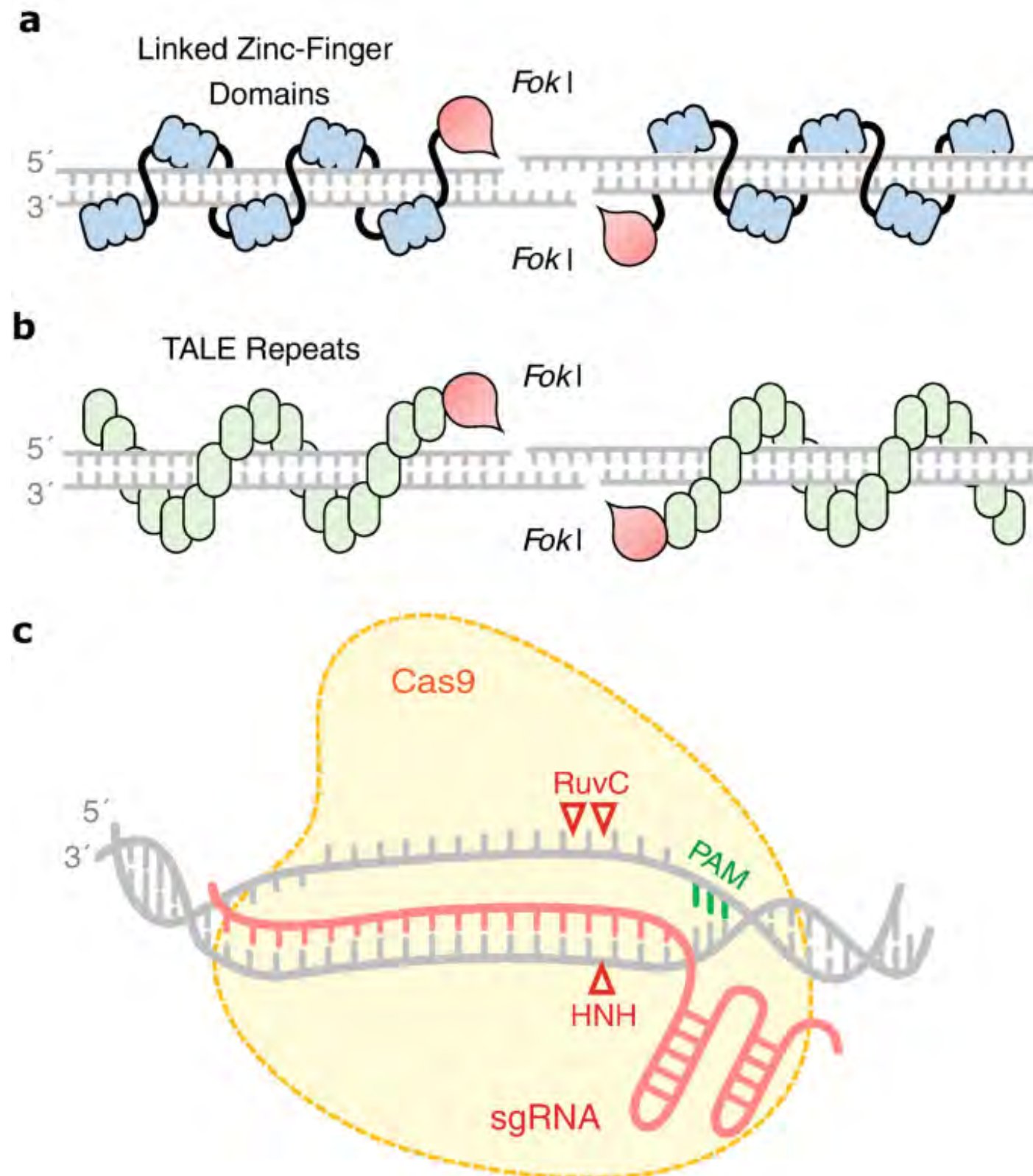


# Традиционные методы генетической модификации





# Инструменты редактирования генома

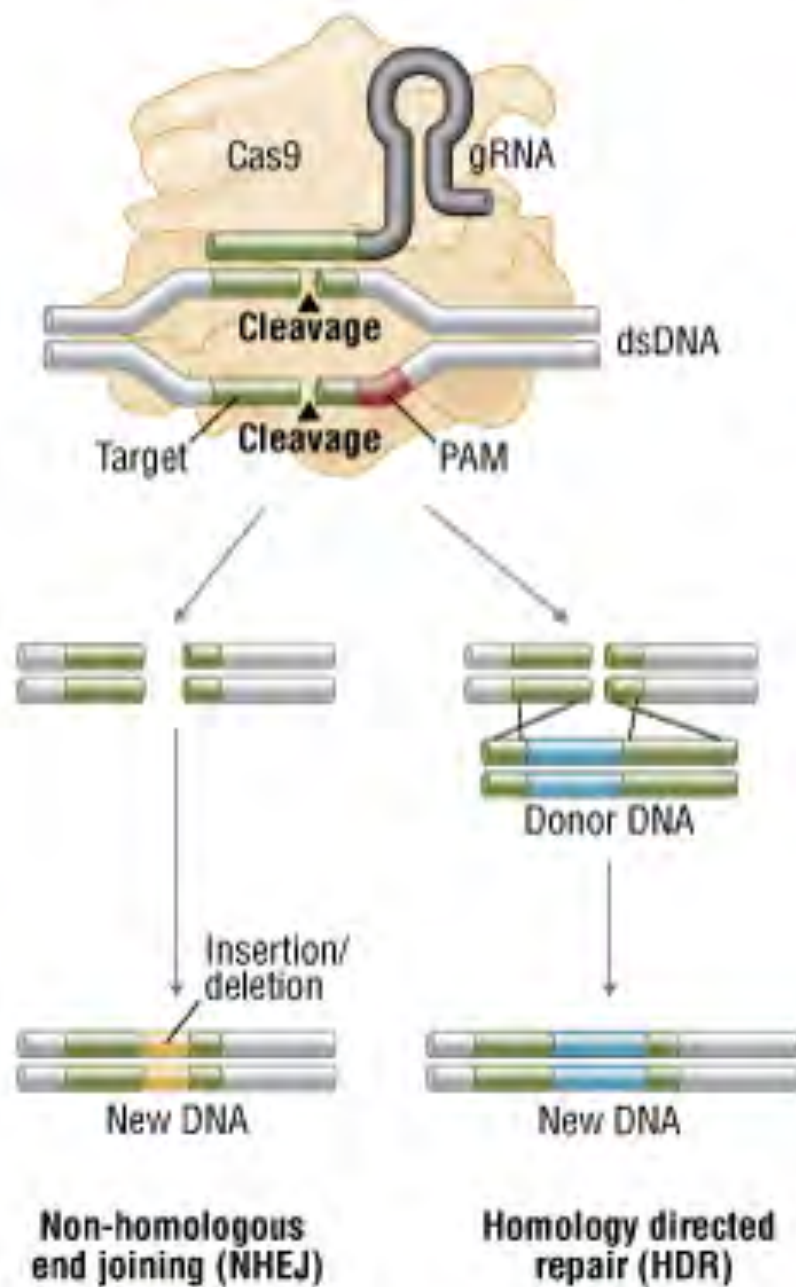


# Сравнение технологий редактирования

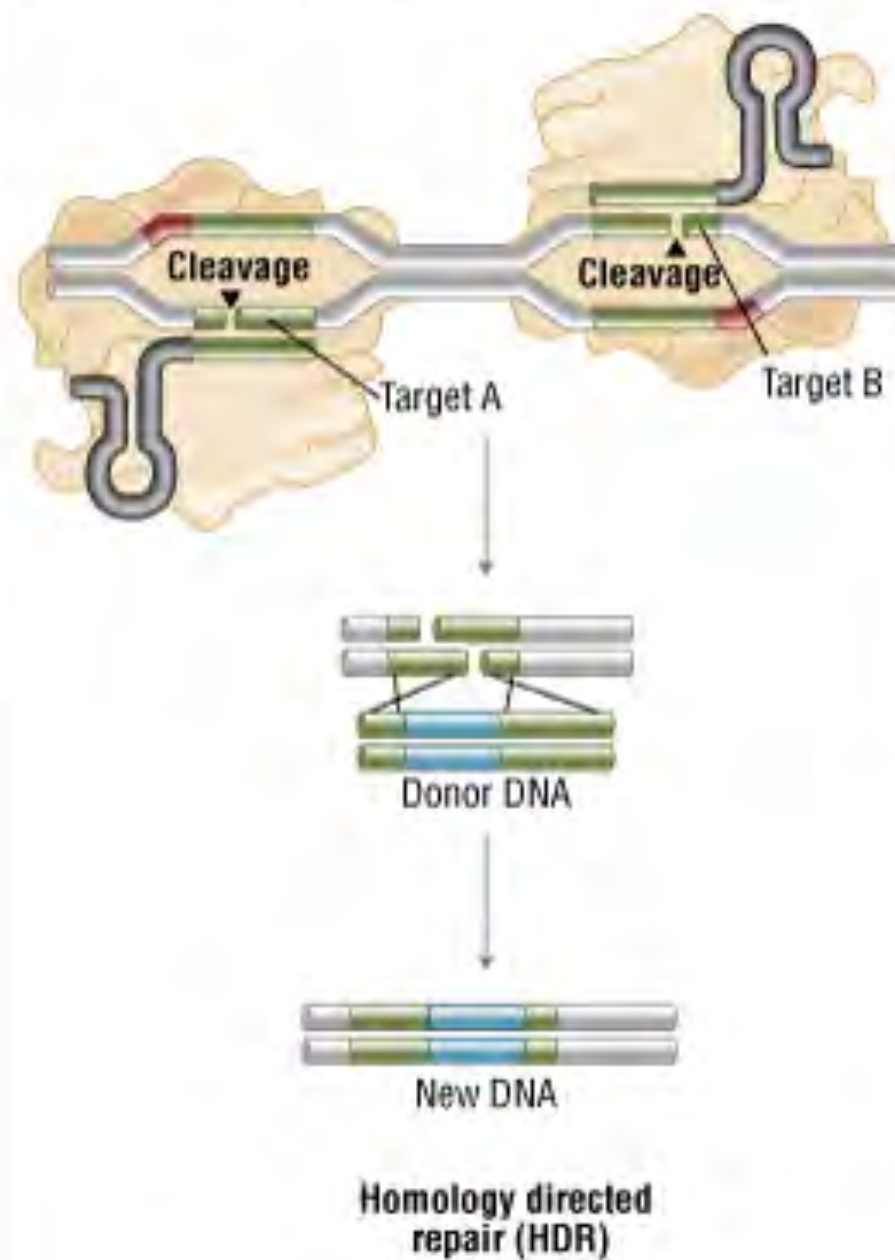
| Factors                 | ZFN   | TALEN                           | CRISPR/Cas9             |
|-------------------------|---|---------------------------------|-------------------------|
| Nuclease construction   | significant                                   | significant                     | simple                  |
| <i>In vitro</i> testing | significant                                   | significant                     | simple                  |
| Target-efficient        | limiting factor                               | average                         | good                    |
| Off-target-efficient    | high  | low                             | low                     |
| Target site choose      | limited                                       | limited                         | unlimited               |
| Multiple gene mutations | limited                                       | limited                         | unlimited               |
| Designed component      | protein                                       | protein                         | RNA                     |
| Essential components    | zinc finger proteins +<br>FokI fusion protein | TALE and FokI<br>fusion protein | guid RNA + Cas9 protein |
| Time consumption        | long (7–15 days)                              | long (5–7 days)                 | short (1–3 days)        |
| Cost                    | high  | high                            | low                     |

# Механизм действия CRISPR-Cas9

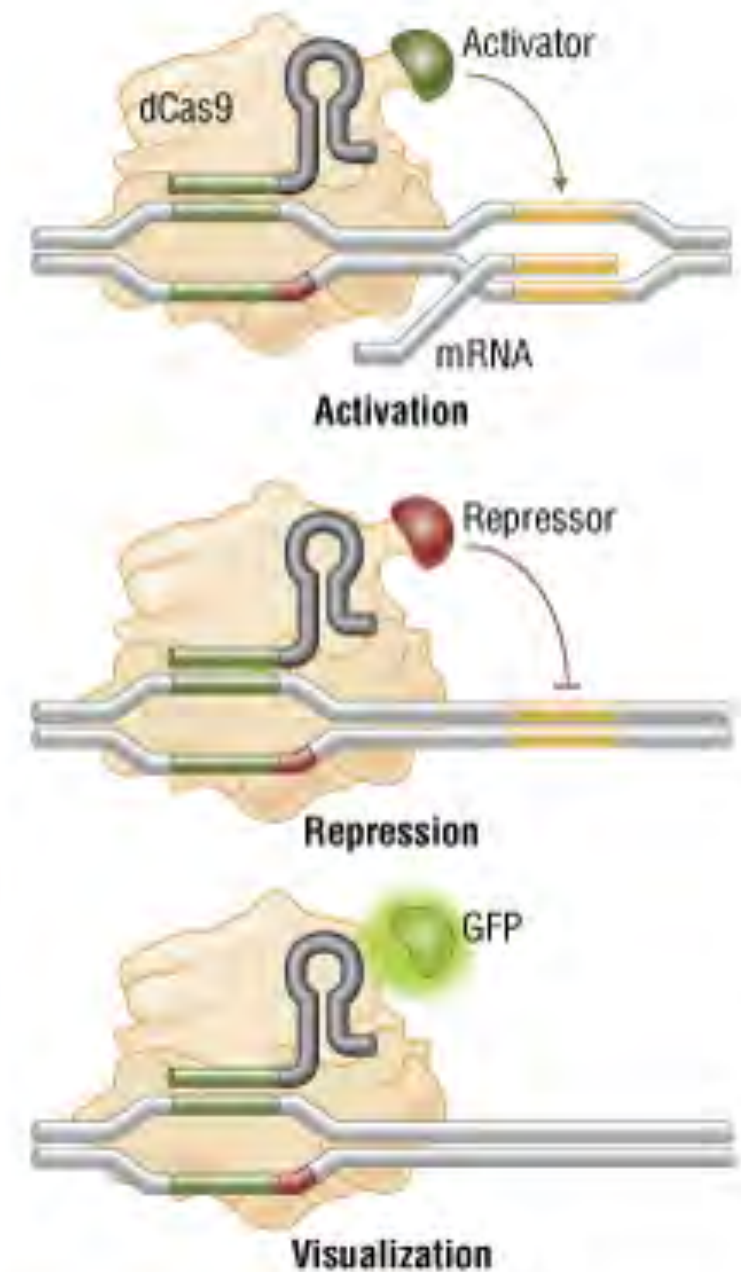
A. Genome Engineering With Cas9 Nuclease



B. Genome Engineering By Double Nicking With Paired Cas9 Nickases



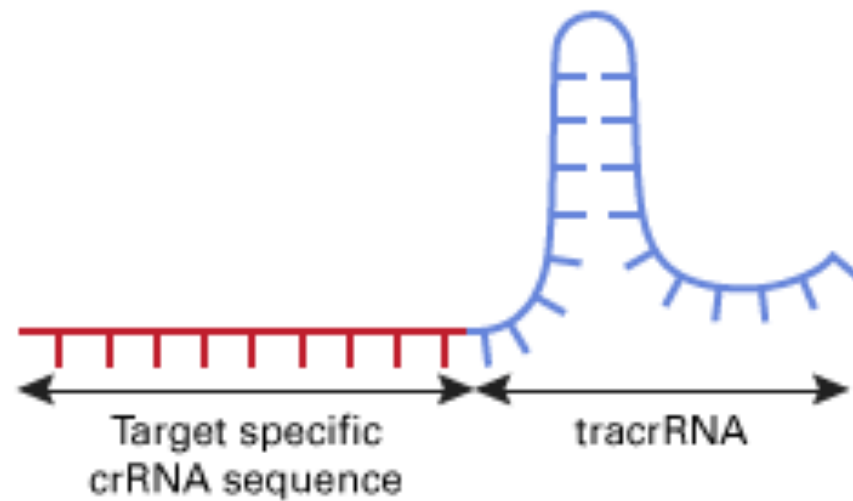
C. Localization With Defective Cas9 Nuclease



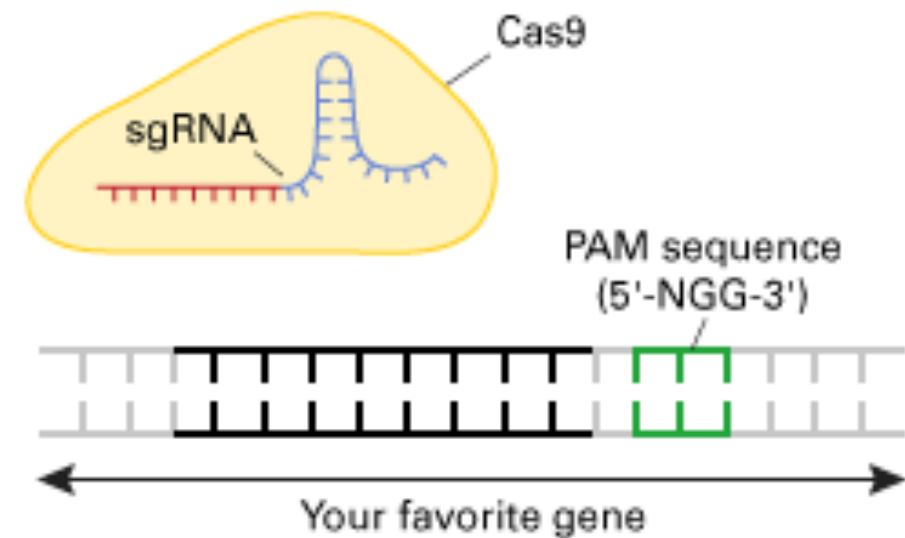


# Дизайн направляющих РНК

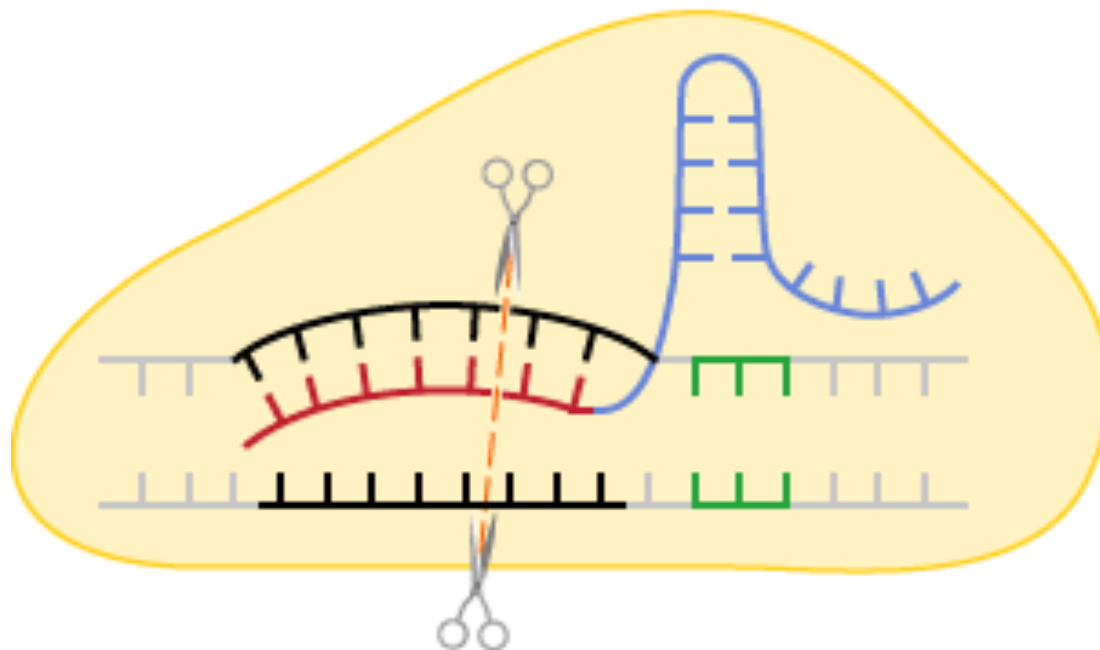
## 1 sgRNA (single guide RNA)



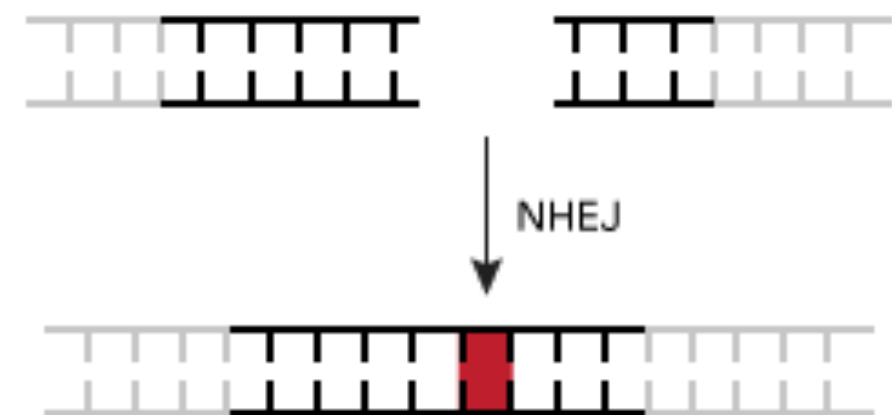
## 2 sgRNA + Cas9 protein



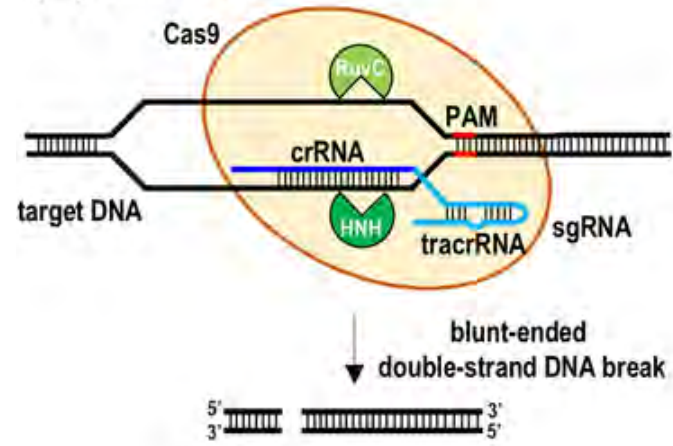
## 3 Target specific cleavage



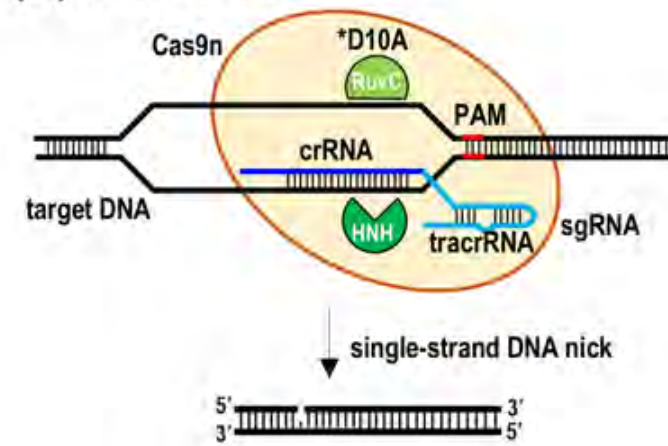
## 4 Cellular error-prone repair "knocks out" gene



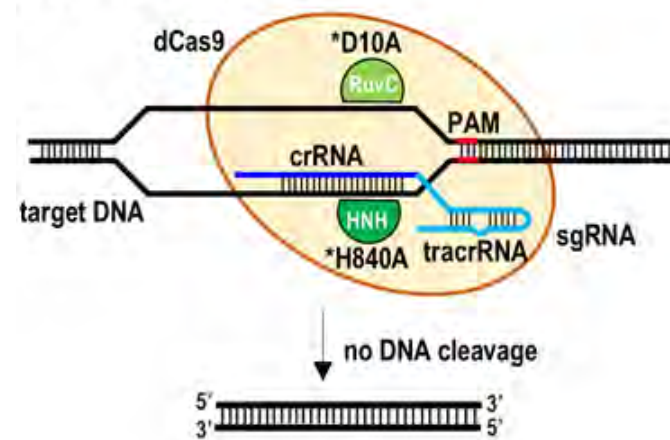
**(A)** CRISPR/Cas9



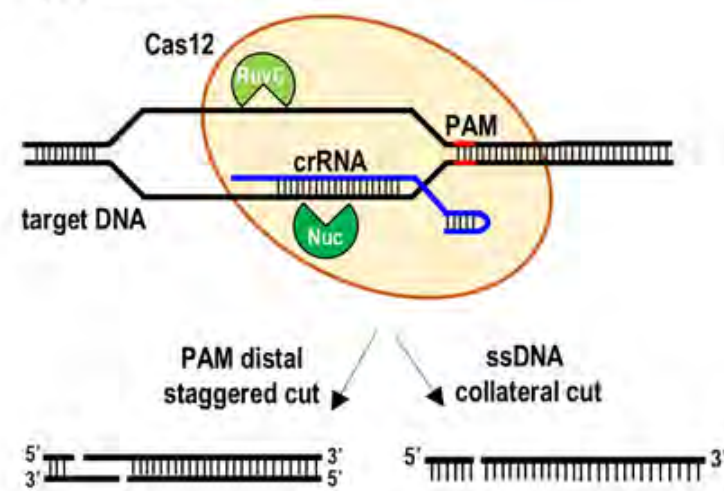
**(B)** CRISPR/Cas9n



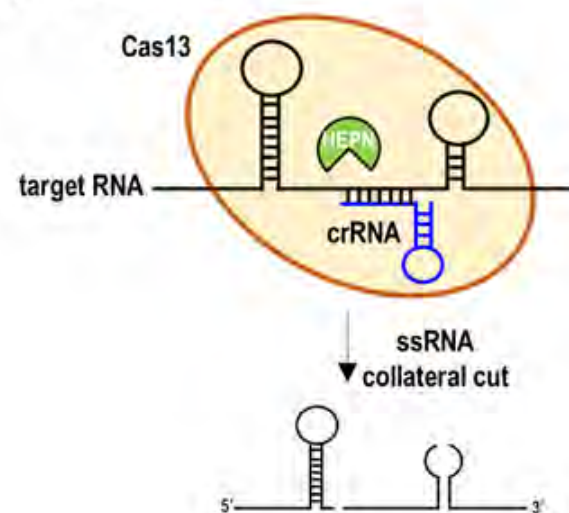
**(C)** CRISPR/dCas9



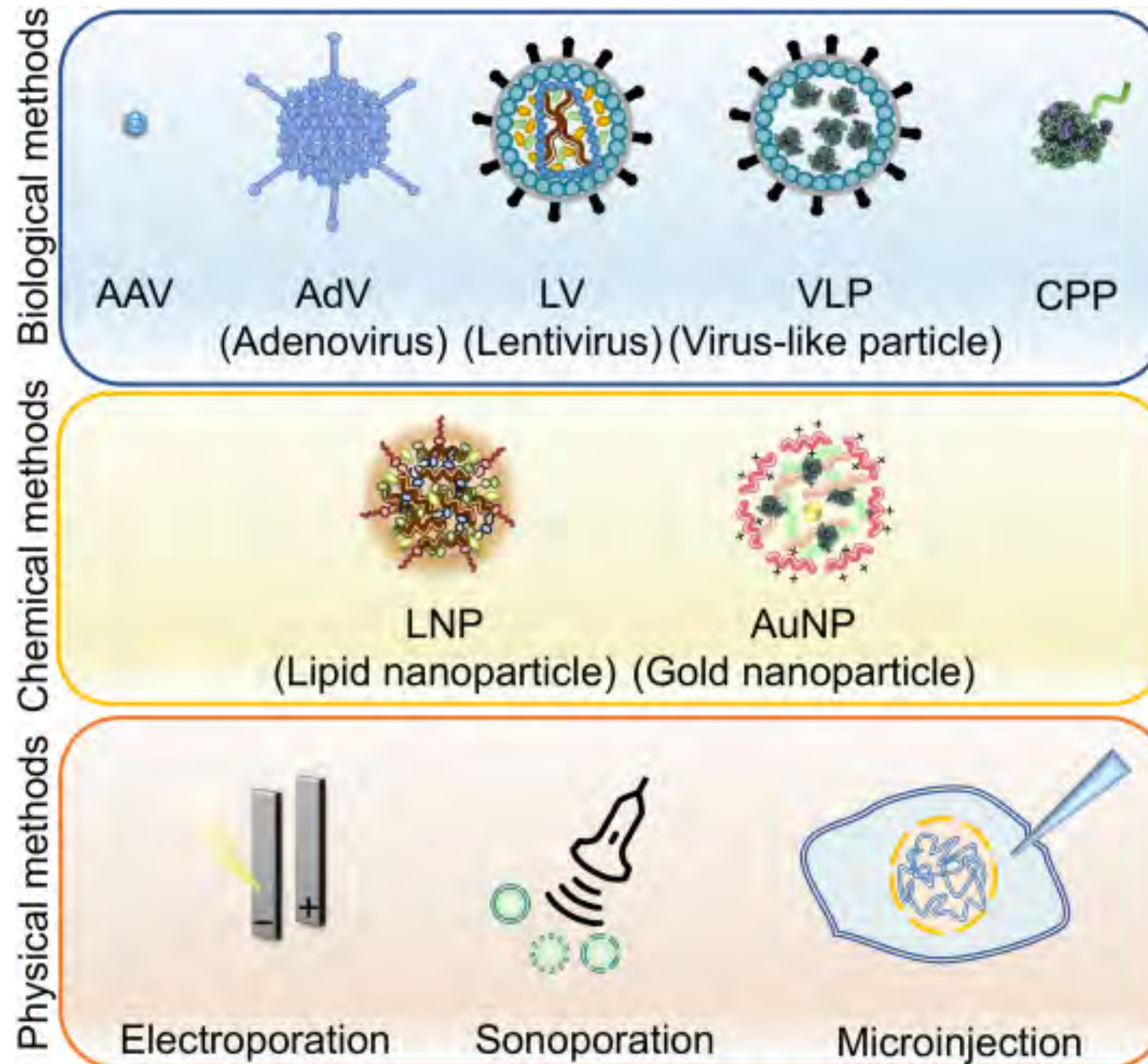
**(D)** CRISPR/Cas12



**(E)** CRISPR/Cas13

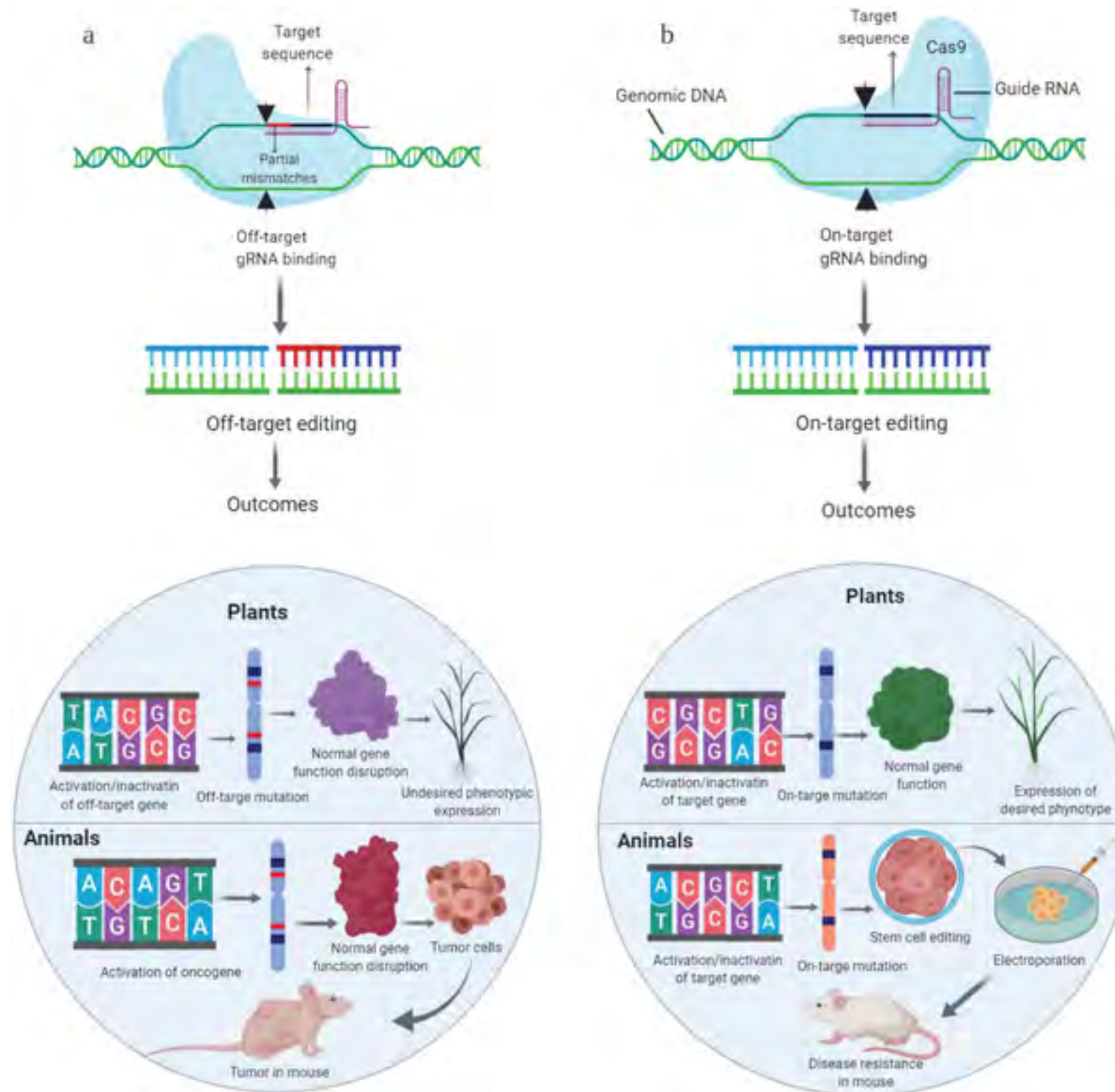


# Методы доставки инструментов редактирования





# Точность и офф-таргет эффекты



# Этические аспекты редактирования генома

## SOMATIC GENE EDITING

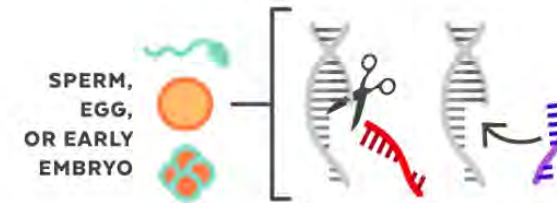
VS.

## GERMLINE GENE EDITING

### EDIT



Somatic therapies target genes in specific types of cells (blood cells, for example).



Germline modifications are made so early in development that any change is copied into all of the new cells.

### COPY

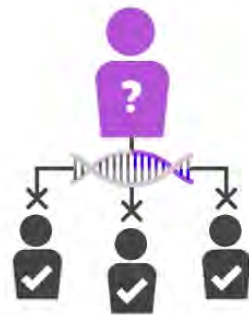


The edited gene is contained only in the target cell type. No other types of cells are affected.

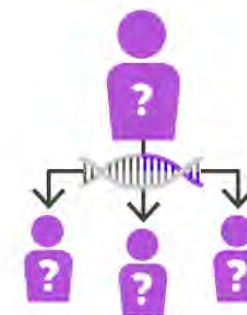


The edited gene is copied in every cell, including sperm or eggs.

### RISKS



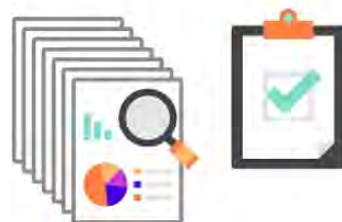
Any changes, including potential off-target effects, are limited to the treated individual.



If the person has children, the edited gene is passed on to future generations.

### NEXT GENERATION

### CONSENSUS



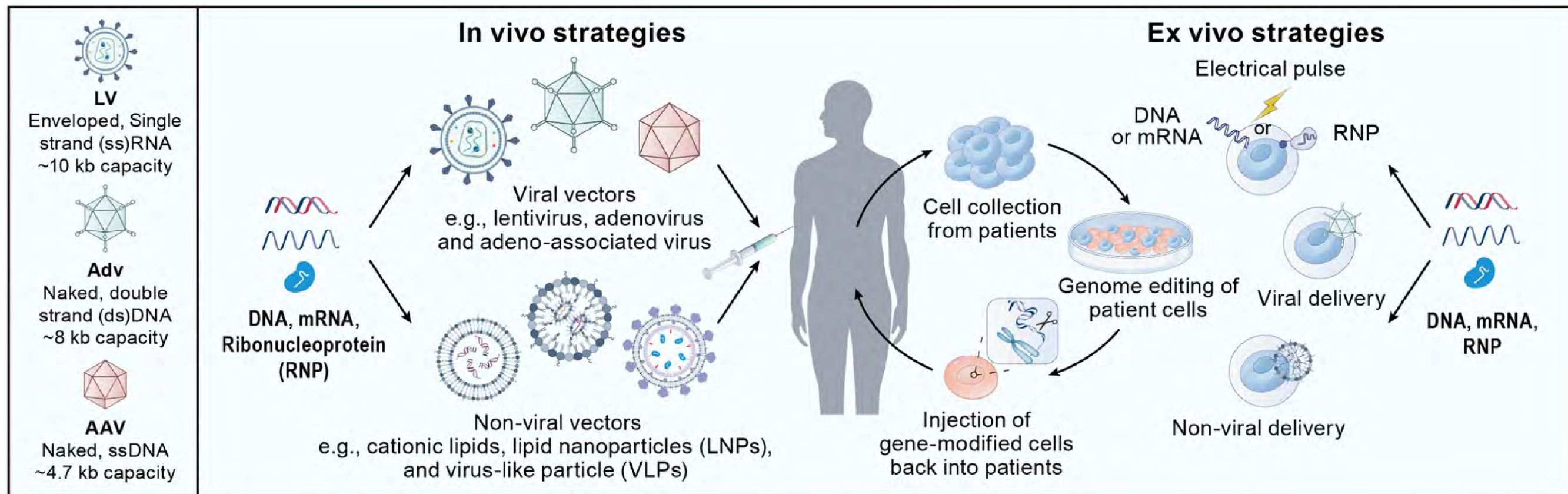
Somatic cell therapies have been researched and tested for more than 20 years and are highly regulated.



Human germline editing is new. Heritability of germline changes presents new legal and societal considerations.









# Редактирование генома в медицине





# Редактирование генома в сельском хозяйстве

| Crop   | Trait   | Edited genes  | Stage |
|--|---|---|-------|
|  Banana   | Disease resistance (BXW, Fusarium wilt, BSV)            | <i>DMR6</i> , BSV sequences                                 | 3,1   |
|  Cassava  | Disease resistance (BB)                                 | <i>SWEET</i> gene promoters                                 | 3     |
|  | Food safety (cyanide-free)                              | Linamarin synthase  | 3     |
|  | Quality (waxy starch)                                   | <i>GBSS1</i>  | 3     |
|  Maize  | Disease resistance (MLN)                                | <i>C6 QTL</i>   | 1     |
|  | Weed resistance ( <i>Striga</i> )                       | Strigolactone   | 3     |
|  Potato | Disease resistance (PVY <sup>a</sup> , late blight)     | <i>eIF-4E</i> , <i>StDMR6-1</i> ,<br><i>StCHL1</i>          | 2     |
|  Rice   | Disease resistance (BLB, RHB)                           | <i>SWEET</i> gene promoters,<br><i>AGO4</i> , <i>STV11</i>  | 4,3   |
|  | Food safety (low arsenic and cadmium)                   | <i>OsNRAMP5</i> , <i>OsPT8</i> ,<br><i>LS1</i> , <i>LS2</i> | 3     |
|  | Nitrogen remobilization, and methane emission reduction | Unpublished   | 3     |
|  | Insect resistance <sup>a</sup> (BPH)                    | BPH resistance alleles                                      | 2     |
|  Wheat  | Disease resistance (rusts, mildew) <sup>a</sup>         | <i>Lr67</i> and others                                      | 3     |

# Вопросы и обсуждение