

# MEKANISME KOMUNIKASI SEL

**Dr. Rachmat Hidayat, M.Sc**

**Percetakan dan Penerbit**



**Dilarang memperbanyak, mencetak, menerbitkan  
sebagian maupun seluruh buku ini tanpa izin tertulis dari penerbit**

**Ketentuan Pidana**

**Kutipan Pasal 72 Undang-undang Republik Indonesia**

**Nomor 19 Tahun 2002 Tentang Hak Cipta**

1. Barangsiapa dengan sengaja dan tanpa hak melakukan sebagaimana dimaksud dalam pasal 2 ayat (1) atau pasal 49 ayat (1) dan ayat (2) dipidana dengan pidana penjara masing-masing paling singkat 1 (satu) bulan dan/atau denda paling sedikit Rp. 1.000.000,00 (satu juta rupiah), atau pidana penjara paling lama 7 (tujuh) tahun dan/atau denda paling banyak Rp. 5.000.000,00 (lima juta rupiah).
2. Barang siapa dengan sengaja menyiarkan, memamerkan, mengedarkan, atau menjual kepada umum suatu ciptaan atau barang hasil pelanggaran Hak Cipta atau hak terkait sebagaimana dimaksud pada ayat (1) dipidana dengan pidana penjara paling lama 5 (lima) tahun dan/atau denda paling banyak Rp. 500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah)

---

## **MEKANISME KOMUNIKASI SEL**

---

Penulis : Dr. Rachmat Hidayat, M.Sc  
Layout : Tri Septiana Kebela  
Desain Cover : Ismoko

Hak Penerbit pada NoerFikri Palembang  
Anggota IKAPI (No. 012/SMS/13)

**Dicetak oleh NoerFikri Offset**

Jl. Mayor Mahidin No. 142

Palembang – Indonesia ☒ 30126

Telephone : 0711 366625

Fax : 0711 366625

Email : [noerfikri@gmail.com](mailto:noerfikri@gmail.com)

Cetakan I : November 2020

16,24 x 25

x, 196 hlm

Hak Cipta dilindungi Undang-undang pada Penulis

All right reserved

ISBN :978-602-447-614-4

## **KATA PENGANTAR**

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas kuasaNya sehingga penulisan buku ini dapat dilakukan secara lancar tanpa hambatan. Sholawat serta salam semoga senantiasa tercurah kepada Nabi Muhammad SAW atas inspirasi Beliau yang tiada kenal lelah untuk memajukan serta menyelamatkan umat dari keterbelakangan, kejahiliyahan serta kebodohan. Penyediaan buku acuan yang berbahasa Indonesia merupakan sebuah keniscayaan dan teramat penting bagi optimalisasi pendidikan dan penelitian di Indonesia. Buku ini diharapkan dapat membantu para mahasiswa dan peneliti dalam optimalisasi penelitian guna kepentingan pendidikan maupun kepentingan penelitian. Penulis menyadari buku ini masih amat jauh dari kesempurnaan. Masukan dan saran senantiasa kami harapkan demi menyempurnakan buku ini.

Palembang, 25 Oktober 2020

Penulis

## DAFTAR ISI

Halaman Depan .....	i	
Kata Pengantar .....	iii	
Daftar Isi .....	iv	
Mekanisme Komunikasi Sel		
Prinsip Umum Komunikasi Sel .....	3	
Molekul Sinyal Ekstraseluler Mengikat Reseptor Tertentu .....	5	
Molekul Sinyal Ekstraseluler Dapat Beraksi Dari Jarak Pendek Atau Panjang .....	6	
Gap Junctions Memungkinkan Sel Tetangga Untuk Berbagi Informasi Sinyal .....		13
Setiap Sel Diprogram Untuk Menanggapi Kombinasi Spesifik Dari Molekul Sinyal Ekstraseluler .....		14
Berbagai Jenis Sel Biasanya Menanggapi Berbeda Dengan Molekul Sinyal Ekstraseluler Yang Sama .....		16
Nasib Beberapa Sel Berkembang Tergantung Pada Posisinya Dalam Gradien Morfogen .....		18
Sel Dapat Mengubah Konsentrasi Molekul Intraseluler Dengan Cepat Hanya Jika Masa Hidup Molekulnya Pendek .....		19
Sinyal Gas Nitrit Oksida Dengan Secara Langsung Mengatur Aktivitas Protein Tertentu Di Dalam Sel Target .....		22
Reseptor Nuklir Adalah Protein Pengatur Gen Modulasi Ligan .....		25

Tiga Kelas Protein Reseptor Permukaan Sel Terbesar Adalah Reseptor Saluran Ion, Reseptor G-Protein, Dan Reseptor Kopling Enzim .....	31
Reseptor-Reseptor Permukaan-Sel Yang Paling Diaktifkan Menyalurkan Melalui Molekul Kecil Dan Jaringan Protein Pemberian Sinyal Intraseluler .....	33
Banyak Protein Pemberian Intraseluler Berfungsi Sebagai Saklar Molekul Yang Diaktifkan Oleh Fosforilasi Atau Pengikatan Gtp ....	36
Kompleks Sinyal Intraseluler Meningkatkan Kecepatan, Efisiensi, Dan Kekhususan Respons .....	41
Domain Interaksi Modular Memediasi Interaksi Antara Protein Sinyal Intraseluler .....	44
Sel Dapat Menggunakan Berbagai Mekanisme Untuk Merespon Mendadak Terhadap Konsentrasi Bertambah Dari Sinyal Ekstraseluler .....	47
Jaringan Sinyal Intraseluler Biasanya Memanfaatkan Loop Umpan Balik .....	51
Sel Dapat Menyesuaikan Sensitivitasnya Terhadap Sinyal .....	56
Penandaan Melalui G-Protein-Coupled Receptors Self (Gpcr) Dan Mediator Intraseluler Kecil .....	56
Sinyal Relay Protein Trimerik Dari Gpcr .....	61

Beberapa G Protein Mengatur Produksi Amp Siklik .....	64
Cyclic-Amp-Dependent Protein Kinase (Pka) Memediasi Sebagian Besar Efek Cyclic Amp .....	68
Beberapa Protein G Mengaktifkan Jalur Pemberian Sinyal Fosfolipid Inositol Dengan Mengaktifkan Fosfolipase C-B .....	72
Ca <sup>2+</sup> Berfungsi Sebagai Mediator Intraseluler Di Ubiquitous .....	77
Frekuensi Osilasi Ca <sup>2+</sup> Mempengaruhi Respons Sel .....	79
Ca <sup>2+</sup> / Calmodulin-Dependent Protein Kinases (Cam-Kinases) Memediasi Banyak Respon Terhadap Sinyal Ca <sup>2+</sup> Dalam Sel Hewan .....	82
Beberapa Protein G Secara Langsung Mengatur Saluran Ion .....	88
Penciuman Dan Penglihatan Tergantung Pada Gpcr Yang Mengatur Saluran Ion Gerbang Siklik Nukleotida .....	89
Mediator Intraseluler Dan Kaskade Enzimatis Memperkuat Sinyal Ekstraseluler .....	96
Desensitisasi Gpcr Tergantung Pada Fosforilasi Reseptor .....	98
Signaling Melalui Reseptor Permukaan Sel Yang Berpasang Enzim	101
Activated Receptor Tyrosine Kinases (Rtks) Phosphorylate Sendiri	102

Tirosin Terfosforilasi Pada Rtk Berfungsi Sebagai Situs Docking Untuk Protein Pemberian Sinyal Intraseluler .....	106
Protein Dengan Domain Sh2 Berikatan Dengan Tirosin Difosforilasi .....	109
Ras Milik Superfamili Gtpases Monomerik .....	113
Rtk Mengaktifkan Ras Via Adapters Dan Gef's: Bukti Dari Mata Drosophila Yang Berkembang .....	116
Ras Mengaktifkan Modul Pensinyalan Map Kinase .....	119
Protein Perancah Membantu Mencegah Pembicaraan Silang Antara Modul Kinase Map Paralel .....	124
Rho Family Gtpases Secara Fungsional Pasangan Reseptor Permukaan Sel Ke Sitoskeleton .....	126
Pi 3-Kinase Menghasilkan Situs Docking Lipid Di Membran Plasma .....	128
Jalur Persinyalan Pi-3-Kinase – Akt Merangsang Sel Hewan Untuk Bertahan Hidup Dan Bertumbuh .....	131
Jalur Pemberian Sinyal Downstream Yang Diaktifkan Oleh Rtk Dan Tumpang-Tindih Gpcr .....	135
Reseptor Terkait Tirosin-Kinase Bergantung Pada Kinase Tirosin Sitoplasma .....	136

Reseptor Sitokin Mengaktifkan Jalur Pemberian Sinyal Jak – Stat, Menyediakan Jalur Cepat Ke Inti .....	139
Protein Tyrosine Phosphatases Membalikkan Tyrosine Phosphorylations .....	142
Protein Sinyal Dari Tgf $\beta$ Superfamili Bertindak Melalui Reseptor Serine / Treonine Kinase Dan Smads .....	143
Kinase Protein Serin / Treonin Dan Tirosin Secara Struktural .....	147
Kemotaksis Bakteri Bergantung Pada Jalur Pemberian Sinyal Dua Komponen Yang Diaktifkan Oleh Reseptor Terkait Histidin-Kinase	149
Metilasi Reseptor Bertanggung Jawab Untuk Adaptasi Dalam Kemotaksis Bakteri .....	154
Jalur Sinyal Bergantung Pada Proteolisis Yang Diatur Protein Regulasi Gen Laten .....	158
Takik Protein Reseptor Adalah Protein Pengatur Gen Laten .....	159
Protein Wnt Mengikat Reseptor Keriting Dan Menghambat Degradasi B-Catenin .....	163
Protein Hedgehog Mengikat Ke Ditambal, Menghilangkan Penghambatannya Untuk Menghaluskan .....	168
Banyak Stimulus Stres Dan Inflamasi Bertindak Melalui Jalur Sinyal Bergantung Nfkb .....	173

Memberi Sinyal Pada Tanaman .....	178
Multiseluleritas Dan Komunikasi Sel Berkembang Secara Mandiri Pada Tumbuhan Dan Hewan .....	179
Reseptor Serine / Treonine Kinase Adalah Kelas Reseptor Permukaan Sel Terbesar Di Tanaman .....	180
Ethylene Menghalangi Degradasi Protein Pengatur Gen Tertentu Di Inti .....	184
Pengaturan Posisi Pola Pengangkut Auksin Pertumbuhan Tanaman	187
Phytochromes Mendeteksi Cahaya Merah, Dan Cryptochromes Mendeteksi Cahaya Biru .....	190
Referensi .....	194



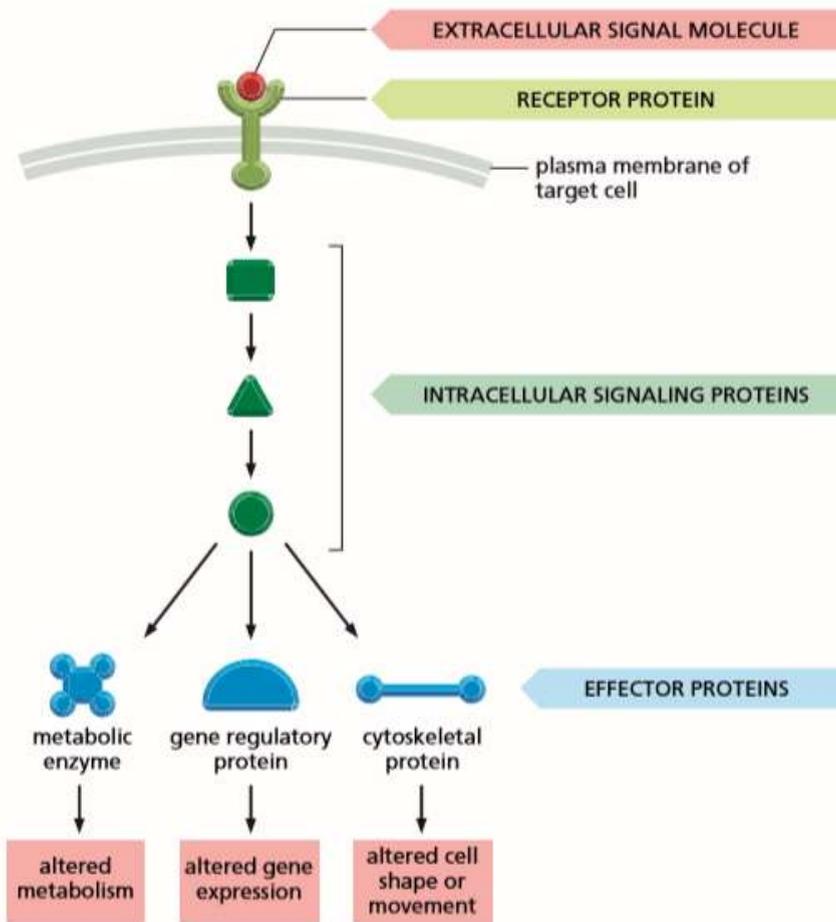
# Mekanisme Komunikasi Sel

Untuk mendapatkan organisme multiseluler, sel harus berkomunikasi, sama seperti manusia harus berkomunikasi jika mereka ingin mengorganisir diri menjadi masyarakat yang kompleks. Dan sama seperti komunikasi manusia melibatkan lebih dari berlalunya suara dari mulut ke telinga, jadi komunikasi sel-sel melibatkan lebih dari transmisi sinyal kimia melintasi ruang antara satu sel dengan yang lainnya. Mekanisme intraseluler yang kompleks diperlukan untuk mengontrol sinyal yang dipancarkan pada jam berapa dan untuk memungkinkan sel penerima sinyal untuk menginterpretasikan sinyal tersebut dan menggunakannya untuk memandu perilakunya. Menurut catatan fosil, organisme multiseluler yang canggih tidak muncul di Bumi sampai organisme uniseluler yang menyerupai procaryote masa kini telah ada selama sekitar 2,5 miliar tahun. Penundaan yang lama mungkin mencerminkan sulitnya mengembangkan sistem bahasa sel hewan, tumbuhan, dan jamur, mesin yang memungkinkan sel-sel yang berbagi genom yang sama untuk berkolaborasi dan mengoordinasikan perilaku mereka, mengkhususkan diri dalam berbagai cara dan mensubordinasikan peluang individu mereka untuk bertahan hidup. kepentingan organisme multisel secara keseluruhan.

Komunikasi antar sel dimediasi terutama oleh **molekul sinyal ekstraseluler**. Beberapa di antaranya beroperasi dalam jarak jauh, memberi sinyal ke sel-sel yang jauh; yang lain hanya memberi sinyal kepada tetangga terdekat. Sebagian besar sel dalam organisme multiseluler memancarkan dan menerima sinyal. Penerimaan sinyal tergantung pada *protein reseptor*, biasanya (tetapi tidak selalu) di permukaan sel, yang mengikat molekul sinyal. Pengikatan mengaktifkan reseptor, yang pada gilirannya mengaktifkan satu atau *lebih jalur pensinyalan intraseluler*. Rantai relai molekul ini terutama *protein pemberi sinyal intraseluler* memproses sinyal di dalam sel penerima dan mendistribusikannya ke target intraseluler yang

sesuai. Target-target ini umumnya adalah protein efektor, yang diubah ketika jalur pensinyalan diaktifkan dan menerapkan perubahan perilaku sel yang tepat. Bergantung pada sinyal dan sifat serta keadaan sel penerima, efektor ini dapat berupa protein pengatur gen, saluran ion, komponen jalur metabolisme, atau bagian dari sitoskeleton di antara hal-hal lain (**Gambar 1**).

Kita memulai bab ini dengan membahas prinsip-prinsip umum komunikasi sel. Kami kemudian mempertimbangkan, pada gilirannya, keluarga utama protein reseptor permukaan sel dan jalur pensinyalan intraseluler utama yang mereka aktifkan. Fokus utama bab ini adalah pada sel-sel hewan, tetapi kami mengakhiri dengan mempertimbangkan fitur khusus komunikasi sel pada tanaman.



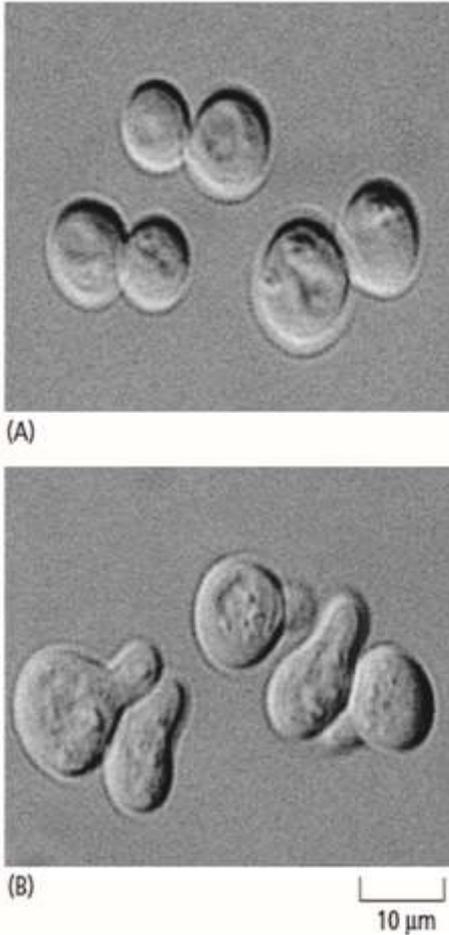
**Gambar 1.** Jalur pensinyalan intraseluler sederhana yang diaktifkan oleh molekul sinyal ekstraseluler.

Molekul sinyal biasanya berikatan dengan protein reseptor yang tertanam dalam membran plasma sel target dan mengaktifkan satu atau lebih jalur pensinyalan intraseluler yang dimediasi oleh serangkaian protein pensinyalan. Akhirnya, satu atau lebih protein pensinyalan intraseluler mengubah aktivitas protein efektor dan dengan demikian perilaku sel.

## PRINSIP UMUM KOMUNIKASI SEL

Jauh sebelum organisme multisel muncul di Bumi, organisme unisel telah mengembangkan mekanisme untuk menanggapi perubahan fisik dan kimia di lingkungan mereka. Ini hampir pasti termasuk mekanisme untuk menanggapi keberadaan sel lain. Bukti berasal dari studi organisme uniseluler saat ini seperti bakteri dan ragi. Meskipun sel-sel ini sebagian besar hidup secara mandiri, mereka dapat berkomunikasi dan mempengaruhi perilaku satu sama lain. Banyak bakteri, misalnya, merespons sinyal kimia yang disekresikan oleh tetangganya dan meningkatkan konsentrasi dengan meningkatnya kepadatan populasi. Proses ini, yang disebut *quorum sensing*, memungkinkan bakteri untuk mengkoordinasikan perilaku mereka, termasuk motilitas mereka, produksi antibiotik, pembentukan spora, dan konjugasi seksual.

Demikian pula, sel-sel ragi berkomunikasi satu sama lain dalam persiapan untuk kawin. Ragi pemula *Saccharomyces cerevisiae* memberikan contoh yang dipelajari dengan baik: ketika individu haploid siap kawin, ia mengeluarkan *faktor kawin* peptida yang memberi sinyal sel-sel dari tipe kawin yang berlawanan untuk berhenti berkembang biak dan bersiap untuk kawin (**Gambar 2**). Fusi selanjutnya dari dua sel haploid dari tipe perkawinan yang berlawanan menghasilkan sel diploid, yang kemudian dapat mengalami meiosis dan sporulat, menghasilkan sel-sel haploid dengan bermacam-macam gen baru (lihat Gambar 21-3B). Perombakan gen melalui reproduksi seksual membantu spesies bertahan hidup dalam lingkungan variabel yang tidak terduga (seperti dibahas pada Bab 21).



**Gambar 2. Sel ragi yang sedang tumbuh merespons faktor perkawinan.** (A) Sel-sel biasanya berbentuk bulat. (B) Menanggapi faktor perkawinan yang disekresikan oleh sel-sel ragi tetangga, mereka mengeluarkan tonjolan terhadap sumber faktor dalam persiapan untuk kawin. (Atas perkenan Michael Snyder.)

Studi tentang mutan ragi yang tidak dapat kawin telah mengidentifikasi banyak protein yang diperlukan dalam proses pensinyalan. Protein ini membentuk jaringan pensinyalan yang mencakup protein reseptor permukaan sel, protein pengikat GTP, dan protein kinase, dan masing-masing kategori ini memiliki kerabat dekat di antara reseptor dan protein pensinyalan intraseluler dalam sel hewan. Namun, melalui duplikasi dan divergensi gen, sistem pensinyalan pada hewan menjadi jauh lebih rumit daripada yang ada di ragi; genom manusia, misalnya, mengandung lebih dari 1500 gen yang menyandikan protein reseptor, dan jumlah protein reseptor yang berbeda semakin meningkat dengan penyambungan RNA alternatif dan modifikasi pasca-translasi.

Sejumlah besar protein sinyal, reseptor, dan protein pensinyalan intraseluler yang digunakan oleh hewan dapat

dikelompokkan ke dalam sejumlah kecil keluarga protein, yang sebagian besar telah sangat dilestarikan dalam evolusi. Lalat, cacing, dan mamalia semuanya menggunakan mesin yang pada dasarnya serupa untuk komunikasi sel, dan banyak komponen kunci dan jalur pensinyalan pertama kali ditemukan melalui analisis mutasi pada *Drosophila* dan *C.elegans*.

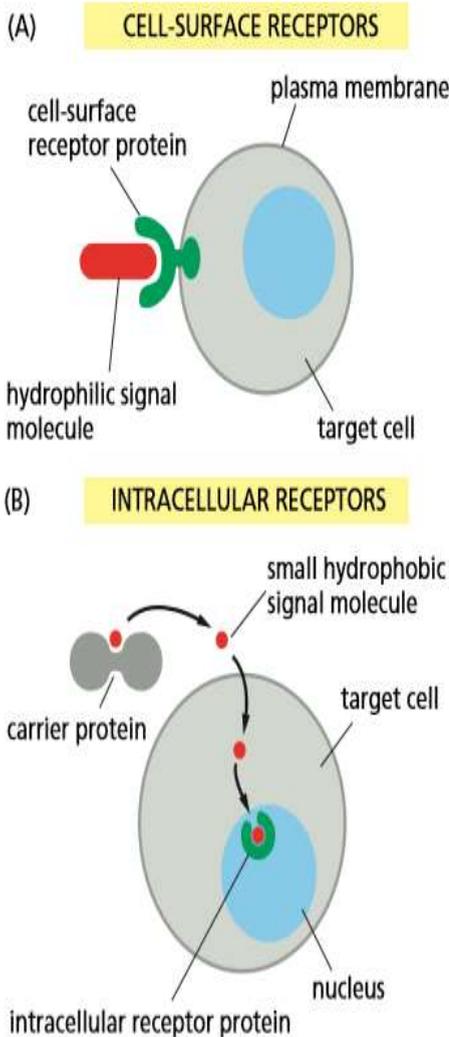
### **Molekul Sinyal Ekstraseluler Mengikat Reseptor Tertentu**

Sel-sel pada hewan multisel berkomunikasi melalui ratusan jenis molekul sinyal. Ini termasuk protein, peptida kecil, asam aminonukleotida, steroid, retinoid, turunan asam lemak, dan bahkan gas terlarut seperti nitrat oksida dan karbon monoksida. Sebagian besar molekul sinyal ini dilepaskan ke ruang ekstraseluler oleh eksositosis dari sel pensinyalan, seperti yang dibahas pada Bab 13. Beberapa, bagaimanapun, dipancarkan oleh difusi melalui membran plasma sel pensinyalan, sedangkan yang lain ditampilkan pada permukaan luar sel dan tetap melekat padanya, memberikan sinyal ke sel lain hanya ketika mereka melakukan kontak. Protein transmembran dapat digunakan untuk pensinyalan dengan cara ini; atau domain ekstraselulernya dapat dilepaskan dari permukaan sel pensinyalan oleh pembelahan proteolitik dan kemudian bertindak dari kejauhan.

Terlepas dari sifat sinyal, *sel target* merespons melalui **reseptor**, yang secara spesifik mengikat molekul sinyal dan kemudian memulai respons dalam sel target. Molekul sinyal ekstraseluler sering bertindak pada konsentrasi yang sangat rendah (biasanya  $\leq 10^{-8}$  M), dan reseptor yang mengenalinya biasanya mengikatnya dengan afinitas tinggi (konstanta afinitas  $K_a \geq 10^8$  liter / mol; lihat Gambar 3–43).

Dalam kebanyakan kasus, reseptor adalah protein transmembran pada permukaan sel target. Ketika protein-protein ini mengikat molekul sinyal ekstraseluler (ligan), mereka menjadi teraktivasi dan menghasilkan berbagai sinyal intraseluler yang mengubah perilaku sel. Dalam kasus lain, protein reseptor berada di dalam sel target, dan molekul sinyal harus masuk ke dalam sel

untuk mengikatnya: ini mensyaratkan bahwa molekul sinyal cukup kecil dan hidrofobik untuk berdifusi melintasi membran plasma sel target (**Gambar 3**).



**Gambar 3. Pengikatan molekul sinyal ekstraseluler ke permukaan sel atau reseptor intraseluler.** (A) Sebagian besar molekul sinyal bersifat hidrofilik dan karenanya tidak dapat melintasi membran plasma sel target secara langsung; sebaliknya, mereka berikatan dengan reseptor permukaan sel, yang pada gilirannya menghasilkan sinyal di dalam sel target (lihat Gambar 1). (B) Beberapa molekul sinyal kecil, sebaliknya, berdifusi melintasi membran plasma dan mengikat protein reseptor di dalam sel target — baik dalam sitosol atau dalam nukleus (seperti yang ditunjukkan di sini). Banyak dari molekul sinyal kecil ini bersifat hidrofobik dan hampir tidak larut dalam larutan berair; karena itu mereka diangkut dalam aliran darah dan cairan ekstraseluler lainnya yang terikat dengan protein pembawa, dari mana mereka berdisosiasi sebelum memasuki sel target.

### Molekul Sinyal Ekstraseluler Dapat Beraksi Dari Jarak Pendek atau Panjang

Banyak molekul sinyal tetap terikat pada permukaan sel pensinyalan dan hanya memengaruhi sel-sel yang menghubunginya (**Gambar 4A**). **Pensinyalan yang bergantung pada kontak** seperti itu sangat penting selama perkembangan dan dalam respon imun. Pensinyalan yang bergantung pada kontak selama pengembangan

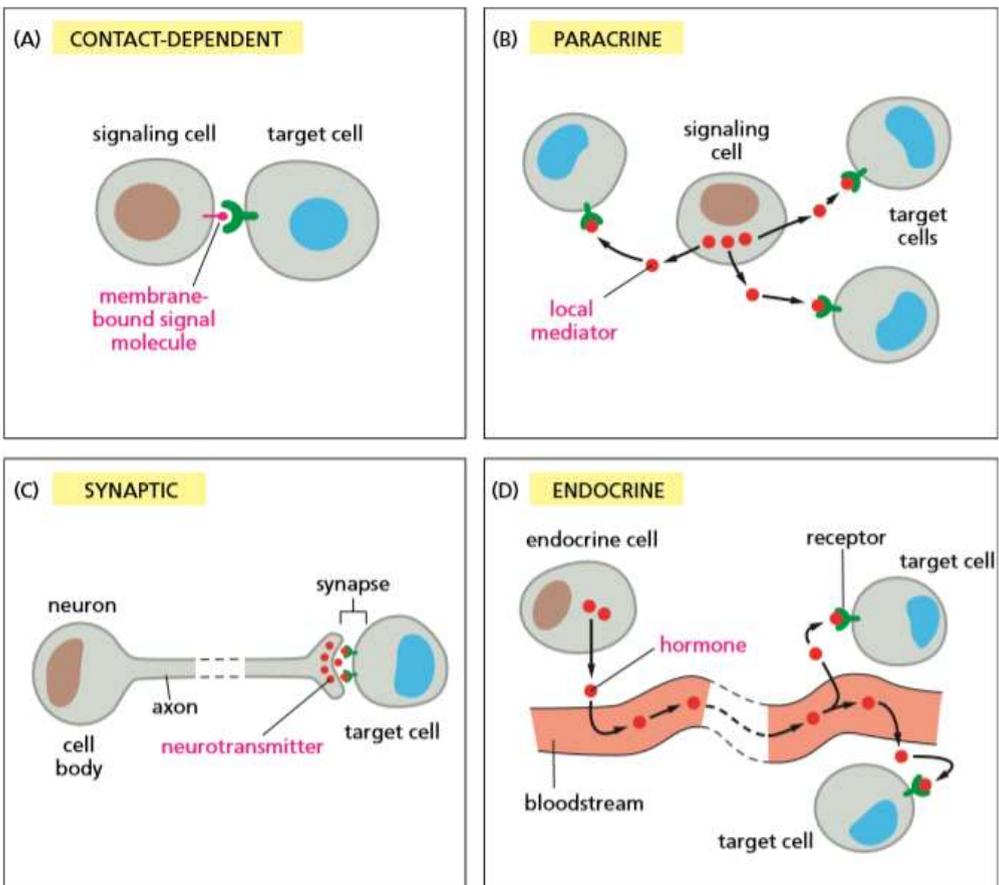
kadang-kadang dapat beroperasi pada jarak yang relatif besar, di mana sel-sel yang berkomunikasi memperpanjang proses panjang untuk melakukan kontak satu sama lain.

Namun, dalam kebanyakan kasus, sel-sel pensinyalan mensekresikan molekul sinyal ke dalam cairan ekstraseluler. Molekul yang disekresikan dapat dibawa jauh untuk bertindak pada sel target yang jauh, atau mereka dapat bertindak sebagai **mediator lokal**, hanya mempengaruhi sel-sel di lingkungan lokal sel pensinyalan. Proses terakhir disebut **pensinyalan parakrin (Gambar 4B)**. Biasanya, sel-sel pensinyalan dan target dalam pensinyalan parakrin memiliki tipe-tipe sel yang berbeda, tetapi sel-sel juga dapat menghasilkan sinyal-sinyal yang mereka respons sendiri: ini disebut sebagai *pensinyalan autokrin*. Sel-sel kanker, misalnya, sering menggunakan strategi ini untuk merangsang kelangsungan hidup dan proliferasi mereka sendiri

Agar sinyal parakrin hanya bertindak secara lokal, molekul yang disekresikan tidak boleh menyebar terlalu jauh; untuk alasan ini mereka sering dengan cepat diambil oleh sel target tetangga, dihancurkan oleh enzim ekstraseluler, atau diimobilisasi oleh matriks ekstraseluler. *Proteoglikan sulfat heparan*, baik dalam matriks ekstraseluler atau melekat pada permukaan sel, sering berperan dalam melokalisasi aksi protein sinyal yang disekresikan. Mereka mengandung rantai samping polisakarida panjang yang mengikat protein sinyal dan melumpuhkan mereka. Mereka juga dapat mengontrol stabilitas protein ini, transpornya melalui ruang ekstraseluler, atau interaksinya dengan reseptor permukaan sel. *Antagonis* protein yang disekresikan juga mempengaruhi jarak di mana protein sinyal parakrin bekerja. Antagonis ini berikatan dengan molekul sinyal itu sendiri atau reseptor permukaan selnya dan menghalangi aktivitasnya, dan mereka memainkan peran penting dalam membatasi kisaran efektif protein sinyal yang disekresikan yang memengaruhi keputusan perkembangan yang dibuat sel embrionik .

Organisme besar, kompleks, multiseluler membutuhkan mekanisme pensinyalan jarak jauh untuk mengoordinasikan perilaku sel di bagian tubuh yang jauh. Jadi, mereka telah

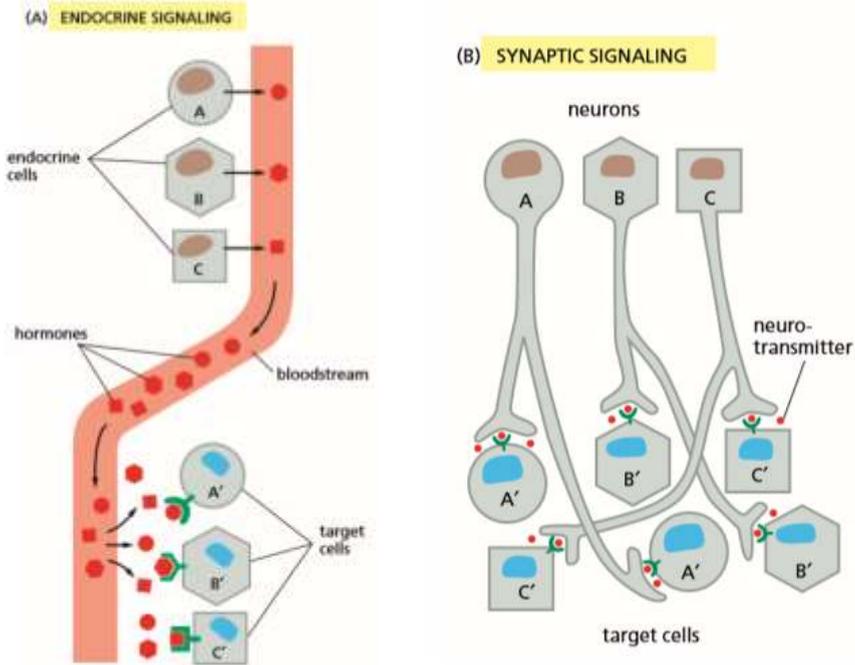
mengembangkan tipe sel yang dikhususkan untuk komunikasi antar sel dalam jarak yang jauh. Yang paling canggih adalah sel-sel saraf, atau neuron, yang biasanya memperpanjang proses percabangan panjang (akson) yang memungkinkan mereka untuk menghubungi sel target jauh, di mana proses berakhir di situs khusus transmisi sinyal yang dikenal sebagai *sinapsis kimia*. Ketika diaktifkan oleh rangsangan dari lingkungan atau dari sel-sel saraf lain, neuron mengirimkan impuls listrik (potensial aksi) dengan cepat di sepanjang aksonnya; ketika impuls seperti itu mencapai sinaps di ujung akson, ia memicu sekresi sinyal kimia yang bertindak sebagai **neurotransmitter**. Struktur sinaps yang terorganisir dengan ketat memastikan bahwa neurotransmitter dikirim secara khusus ke reseptor pada sel target postsinaptik (Gambar 4C). Detail dari proses **pensinyalan sinaptik**.



**Gambar 4. Empat bentuk pensinyalan antar sel. (A)**

Pensinyalan yang bergantung pada kontak mensyaratkan sel berada dalam kontak membran-membran langsung. (B) Pemberian sinyal parakrin tergantung pada sinyal yang dilepaskan ke ruang ekstraseluler dan bertindak secara lokal pada sel tetangga. (C) Pensinyalan sinaptik dilakukan oleh neuron yang mengirimkan sinyal secara elektrik di sepanjang aksonnya dan melepaskan neurotransmitter di sinapsis, yang sering terletak jauh dari badan sel neuron. (D) Pemberian sinyal endokrin tergantung pada sel endokrin, yang mengeluarkan hormon ke dalam aliran darah untuk didistribusikan ke seluruh tubuh. Banyak dari jenis molekul pensinyalan yang sama digunakan dalam pensinyalan parakrin, sinaptik, dan endokrin; perbedaan krusial terletak pada kecepatan dan selektivitas sinyal yang dikirim ke target mereka.

Strategi yang sangat berbeda untuk pensinyalan jarak jauh memanfaatkan **sel endokrin**. Ini mengeluarkan molekul sinyal mereka, yang disebut **hormon**, ke dalam aliran darah, yang membawa molekul jauh dan luas, memungkinkan mereka untuk bertindak pada sel target yang mungkin terletak di mana saja di dalam tubuh (Gambar 4D).



**Gambar 5. Perbedaan antara strategi endokrin dan neuron untuk pensinyalan jarak jauh.**

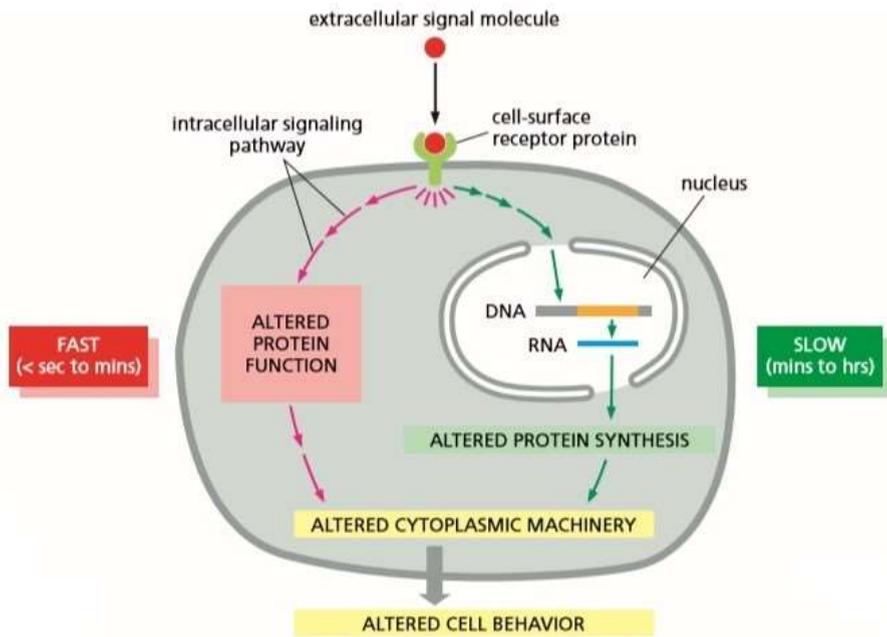
Pada hewan yang kompleks, sel endokrin dan sel saraf bekerja bersama untuk mengoordinasikan aktivitas sel di bagian tubuh yang terpisah secara luas. Sementara sel-sel endokrin yang berbeda harus menggunakan hormon yang berbeda untuk berkomunikasi secara khusus dengan sel-sel target mereka, sel-sel saraf yang berbeda dapat menggunakan neurotransmitter yang sama dan masih berkomunikasi dengan cara yang sangat spesifik. (A) Sel endokrin mensekresi hormon ke dalam darah, dan ini hanya bertindak pada sel target yang membawa reseptor yang sesuai: reseptor mengikat hormon spesifik, yang oleh karenanya sel target "menarik" dari cairan ekstraseluler. (B) Dalam pensinyalan sinaptik, sebaliknya, spesifisitas muncul dari kontak sinaptik antara sel saraf dan sel target spesifik yang ditandakannya. <CTGA> Biasanya, hanya sel target yang berada dalam komunikasi sinaptik dengan sel saraf yang terpapar ke neurotransmitter yang dilepaskan dari terminal saraf (meskipun beberapa neurotransmitter bertindak dalam mode

parakrin, berfungsi sebagai mediator lokal yang memengaruhi banyak sel target di daerah tersebut).

**Gambar 5** membandingkan mekanisme yang memungkinkan sel endokrin dan sel saraf untuk mengkoordinasikan perilaku sel pada jarak jauh pada hewan. Karena pensinyalan endokrin bergantung pada difusi dan aliran darah, ini relatif lambat. Pensinyalan sinaptik, sebaliknya, jauh lebih cepat, juga lebih tepat. Sel-sel saraf dapat mengirimkan informasi jarak jauh dengan impuls listrik yang bergerak dengan kecepatan hingga 100 meter per detik; Setelah dilepaskan dari terminal saraf, neurotransmitter harus berdifusi kurang dari 100 nm ke sel target, sebuah proses yang membutuhkan waktu kurang dari satu milidetik. Perbedaan lain antara pensinyalan endokrin dan sinaptik adalah bahwa, sedangkan hormon sangat terdilusi dalam aliran darah dan cairan interstitial dan oleh karena itu harus mampu bertindak pada konsentrasi yang sangat rendah (biasanya  $<10^{-8}$  M), neurotransmitter diencerkan jauh lebih sedikit dan dapat mencapai tinggi konsentrasi lokal. Konsentrasi *asetilkolin* dalam celah sinaptik dari persimpangan neuromuskuler aktif, misalnya, adalah sekitar  $5 \times 10^{-4}$  M. Sejalan dengan itu, reseptor neurotransmitter memiliki afinitas yang relatif rendah untuk ligan mereka, yang berarti bahwa neurotransmitter dapat memisahkan dengan cepat dari reseptor. untuk membantu menghentikan tanggapan. Selain itu, setelah dilepaskan dari terminal saraf, neurotransmitter dengan cepat dihapus dari celah sinaptik, baik oleh enzim hidrolitik spesifik yang menghancurkannya atau dengan protein transportasi membran spesifik yang memompanya kembali ke terminal saraf atau sel glial yang berdekatan. Dengan demikian, pensinyalan sinaptik jauh lebih tepat daripada pensinyalan endokrin, baik dalam waktu maupun dalam ruang.

Kecepatan respons terhadap sinyal ekstraseluler tidak hanya bergantung pada mekanisme pengiriman sinyal tetapi juga pada sifat respons sel target. Ketika respons hanya membutuhkan perubahan protein yang sudah ada dalam sel, itu dapat terjadi dengan sangat cepat: perubahan alosterik dalam saluran ion gated

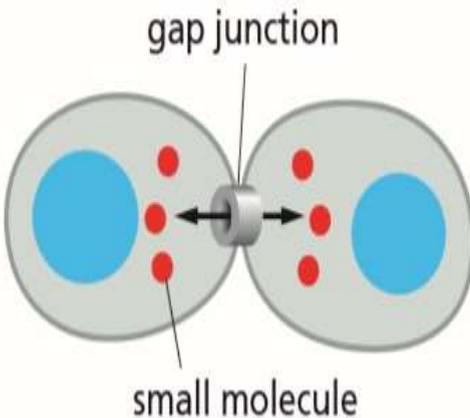
neurotransmitter, misalnya, dapat mengubah potensi listrik membran plasma dalam milidetik, dan respons yang hanya bergantung pada fosforilasi protein dapat terjadi dalam beberapa detik. Ketika respon melibatkan perubahan dalam ekspresi gen dan sintesis protein baru, bagaimanapun, itu biasanya membutuhkan beberapa menit atau jam, terlepas dari cara pengiriman sinyal (**Gambar 6**).



**Gambar 6. Sinyal ekstraseluler dapat bertindak lambat atau cepat untuk mengubah perilaku sel target.** Jenis-jenis tertentu dari respons sinyal, seperti peningkatan pertumbuhan dan pembelahan sel, melibatkan perubahan dalam ekspresi gen dan sintesis protein baru; karena itu mereka terjadi secara perlahan, seringkali dimulai setelah satu jam atau lebih. Respons lain seperti perubahan dalam pergerakan sel, sekresi, atau metabolisme tidak perlu melibatkan perubahan transkripsi gen dan karenanya terjadi jauh lebih cepat, seringkali dimulai dalam hitungan detik atau menit; mereka mungkin melibatkan fosforilasi cepat protein efektor dalam sitoplasma, misalnya. Respons sinaptik yang dimediasi oleh perubahan potensial membran dapat terjadi dalam milidetik (tidak ditampilkan).

## Gap junctions Memungkinkan Sel Tetangga untuk Berbagi Informasi Sinyal

**Gap junctions** adalah saluran sempit berisi air yang secara langsung menghubungkan sitoplasma sel epitel yang berdekatan, serta beberapa jenis sel lainnya (lihat Gambar 19-34). Saluran memungkinkan pertukaran ion anorganik dan molekul kecil yang larut air lainnya, tetapi tidak dari makromolekul seperti protein atau asam nukleat. Dengan demikian, sel-sel yang terhubung oleh gap junction dapat berkomunikasi satu sama lain secara langsung, tanpa harus mengatasi penghalang yang disajikan oleh membran plasma intervening (**Gambar 7**). Dengan cara ini, gap junction menyediakan yang paling intim dari semua bentuk komunikasi sel, singkat jembatan sitoplasma (lihat Gambar 21-31) atau fusi sel.



**Gambar 7. Pensinyalan melalui gap junction.** Sel-sel yang dihubungkan oleh persimpangan celah berbagi molekul kecil, termasuk molekul pensinyalan intraseluler kecil seperti AMP siklik dan  $\text{Ca}^{2+}$ , dan karenanya dapat merespons sinyal ekstraseluler dengan cara yang terkoordinasi.

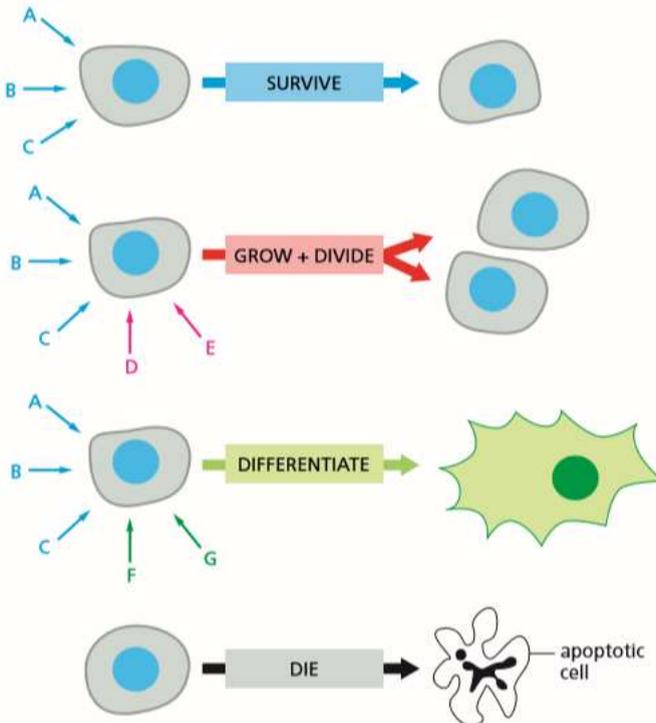
Berbeda dengan mode pensinyalan sel lainnya, gap junctions umumnya memungkinkan komunikasi untuk lewat di kedua arah secara simetris, dan efek khasnya adalah untuk menyeragamkan kondisi dalam sel yang berkomunikasi. Mereka juga dapat menjadi penting dalam menyebarkan efek sinyal ekstraseluler yang bertindak melalui mediator intraseluler kecil seperti  $\text{Ca}^{2+}$  dan siklik AMP (dibahas kemudian), yang dengan mudah melewati saluran junction-junctional. Di hati, misalnya, penurunan kadar glukosa darah melepaskan *noradrenalin* (norepinefrin) dari ujung saraf simpatis. Noradrenalin menstimulasi hepatosit dalam hati untuk

meningkatkan pemecahan glikogen dan melepaskan glukosa ke dalam darah, suatu respons yang tergantung pada peningkatan AMP siklik intraseluler. Namun, tidak semua hepatosit dipersarafi oleh saraf simpatis. Melalui persimpangan gap yang menghubungkan hepatosit, hepatosit diinervasi mentransmisikan sinyal ke yang tidak terinservasi, setidaknya sebagian oleh pergerakan AMP siklik melalui persimpangan gap. Seperti yang diharapkan, tikus dengan mutasi pada gen junction gap utama yang diekspresikan dalam hati gagal memobilisasi glukosa secara normal ketika kadar glukosa darah turun.

### Setiap Sel Diprogram untuk Menanggapi Kombinasi Spesifik dari Molekul Sinyal Ekstraseluler

Sel tipikal dalam organisme multiseluler dapat terpapar ratusan molekul sinyal yang berbeda di lingkungannya. Molekul dapat larut, terikat pada matriks ekstraseluler, atau terikat pada permukaan sel tetangga; mereka bisa bersifat stimulasi atau penghambatan; mereka dapat bertindak dalam kombinasi berbeda yang tak terhitung banyaknya; dan mereka dapat mempengaruhi hampir semua aspek perilaku sel. Sel harus merespons babel sinyal ini secara selektif, sesuai dengan karakter spesifiknya. Karakter ini diperoleh melalui spesialisasi sel progresif dalam perjalanan pengembangan. Sebuah sel dapat merespons satu kombinasi sinyal dengan membedakan, ke kombinasi lain dengan menumbuhkan dan membelah, dan ke yang lain dengan melakukan beberapa fungsi khusus seperti kontraksi atau sekresi. Salah satu tantangan besar dalam biologi sel adalah untuk memahami bagaimana sel mengintegrasikan semua informasi pensinyalan ini untuk membuat keputusan penting membagi, bergerak, membedakan, dan sebagainya. Untuk sebagian besar sel dalam jaringan hewan, bahkan keputusan untuk melanjutkan hidup tergantung pada interpretasi yang benar dari kombinasi spesifik dari sinyal yang diperlukan untuk bertahan hidup. Ketika kehilangan sinyal-sinyal ini (dalam cawan kultur, misalnya), sel mengaktifkan program bunuh diri dan membunuh dirinya sendiri — biasanya dengan *apoptosis*, suatu bentuk kematian sel yang terprogram (**Gambar 8**).

Karena berbagai jenis sel memerlukan kombinasi yang berbeda dari sinyal bertahan hidup, masing-masing jenis sel dibatasi untuk satu set lingkungan tertentu dalam tubuh. Banyak sel epitel, misalnya, membutuhkan sinyal survival dari lamina basal tempat mereka duduk (dibahas dalam Bab 19); mereka mati karena apoptosis jika mereka kehilangan kontak dengan lembar matriks ini.



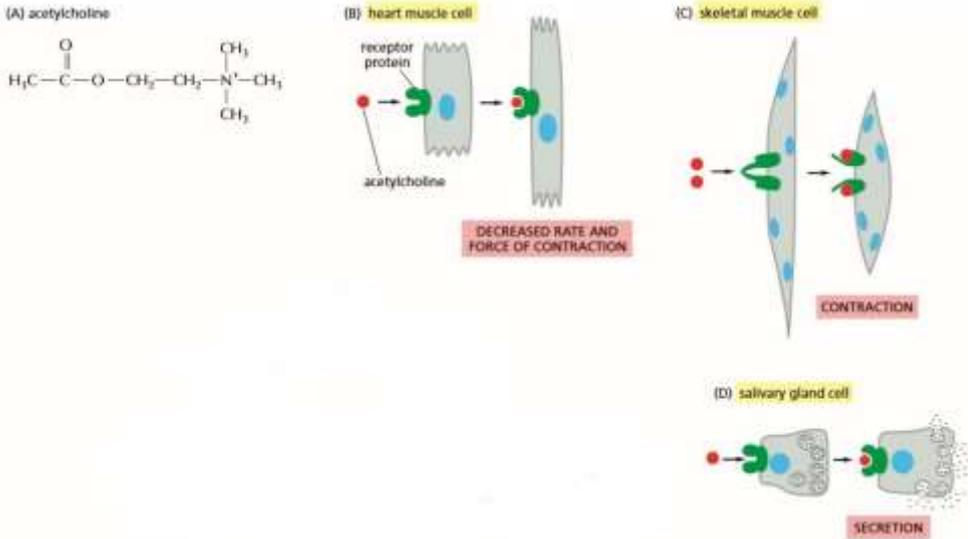
**Gambar 8. Ketergantungan sel hewan pada beberapa molekul sinyal ekstraseluler.** Setiap jenis sel menampilkan satu set reseptor yang memungkinkannya untuk merespon satu set molekul sinyal yang dihasilkan oleh sel-sel lain. Molekul sinyal ini bekerja dalam kombinasi untuk mengatur perilaku sel. Seperti yang diperlihatkan di sini, sel individual sering membutuhkan beberapa sinyal untuk bertahan hidup (*panah biru*) dan sinyal tambahan untuk tumbuh dan membelah (*panah merah*) atau berdiferensiasi (*panah hijau*). Jika kehilangan sinyal kelangsungan hidup yang tepat, sebuah sel akan mengalami bentuk bunuh diri sel yang dikenal sebagai apoptosis. Situasi aktual bahkan lebih kompleks. Meskipun tidak ditunjukkan, beberapa molekul sinyal ekstraseluler bertindak untuk menghambat

ini dan perilaku sel lainnya, atau bahkan untuk menginduksi apoptosis.

Pada prinsipnya, ratusan molekul sinyal yang dibuat hewan dapat digunakan dalam jumlah yang hampir tak terbatas dari kombinasi pensinyalan untuk mengendalikan perilaku beragam selnya dengan cara yang sangat spesifik. Sejumlah kecil jenis molekul sinyal dan reseptor sudah cukup. Kompleksitasnya terletak pada cara sel merespons kombinasi sinyal yang mereka terima.

### **Berbagai Jenis Sel Biasanya Menanggapi Berbeda dengan Molekul Sinyal Ekstraseluler yang Sama**

Respons sel terhadap sinyal ekstraseluler tidak hanya bergantung pada protein reseptor yang dimilikinya, tetapi juga pada mesin intraseluler yang dengannya ia mengintegrasikan dan menafsirkan sinyal yang diterimanya. Dengan demikian, molekul sinyal tunggal biasanya memiliki efek berbeda pada berbagai jenis sel target. Asetilkolin neurotransmitter (**Gambar 9A**), misalnya, menurunkan laju dan kekuatan kontraksi dalam sel otot jantung (**Gambar 9B**), tetapi merangsang sel otot rangka untuk berkontraksi (lihat **Gambar 9C**). Dalam hal ini, protein reseptor asetilkolin pada sel otot rangka berbeda dari pada sel otot jantung. Tetapi perbedaan reseptor biasanya bukan penjelasan untuk efek yang berbeda. Pengikatan molekul sinyal yang sama dengan protein reseptor identik biasanya menghasilkan respons yang sangat berbeda dalam berbagai jenis sel target, seperti dalam kasus pengikatan asetilkolin pada otot jantung dan sel kelenjar ludah (bandingkan **Gambar 9B** dan **D**). Dalam beberapa kasus, ini mencerminkan perbedaan dalam protein pensinyalan intraseluler yang diaktifkan, sedangkan pada yang lain mencerminkan perbedaan dalam protein efektor atau gen yang diaktifkan. Jadi, sinyal ekstraseluler itu sendiri memiliki sedikit kandungan informasi; itu hanya menginduksi sel untuk merespons sesuai dengan keadaan yang telah ditentukan sebelumnya, yang tergantung pada sejarah perkembangan sel dan gen spesifik yang diekspresikannya.



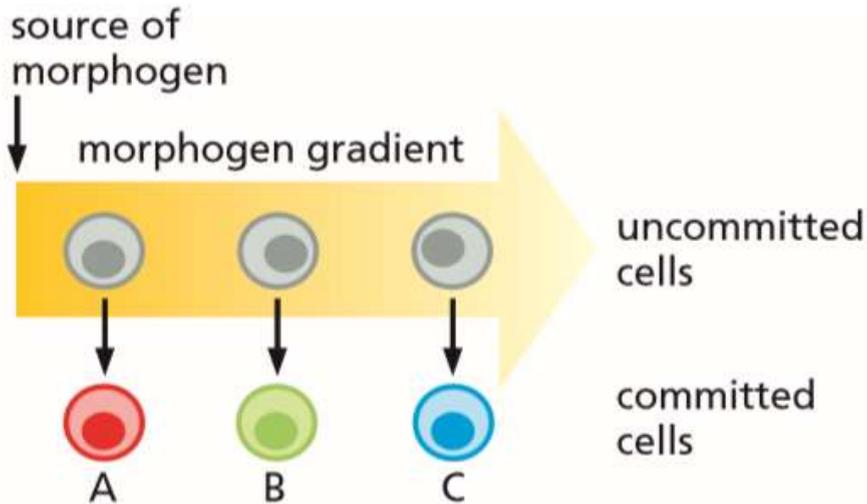
**Gambar 9. Berbagai respons yang diinduksi oleh neurotransmitter acetylcholine.** (A) Struktur kimia asetilkolin. (B – D) Jenis sel yang berbeda dikhususkan untuk merespons asetilkolin dengan cara yang berbeda. Dalam beberapa kasus (B dan C), reseptor untuk asetilkolin berbeda. Dalam kasus lain (B dan D), asetilkolin berikatan dengan protein reseptor yang serupa, tetapi sinyal intraseluler yang dihasilkan diinterpretasikan secara berbeda dalam sel yang dikhususkan untuk fungsi yang berbeda.

Tantangan memahami bagaimana sel mengintegrasikan, memproses, dan bereaksi terhadap berbagai input yang diterimanya dalam banyak hal analog dengan tantangan memahami bagaimana otak mengintegrasikan dan memproses informasi untuk mengendalikan perilaku. Dalam kedua kasus tersebut, kita perlu lebih dari sekadar daftar komponen dan koneksi dalam sistem untuk memahami bagaimana proses itu bekerja. Sebagai langkah pertama, kita perlu mempertimbangkan beberapa prinsip dasar mengenai cara sel merespons sinyal sederhana dari jenis tertentu.

## Nasib Beberapa Sel Berkembang Tergantung pada Posisinya dalam Gradien Morfogen

Sinyal yang sama yang bekerja pada jenis sel yang sama dapat memiliki efek yang berbeda secara kualitatif tergantung pada konsentrasi sinyal. Respons sel yang berbeda-beda terhadap konsentrasi berbeda dari molekul sinyal yang sama sangat penting dalam perkembangan hewan, ketika sel menjadi berbeda satu sama lain.

Molekul sinyal ekstraseluler dalam kasus ini selama pengembangan disebut **morfogen**, dan, dalam kasus paling sederhana, ia berdifusi keluar dari sumber seluler terlokalisasi (*pusat pensinyalan*), menghasilkan gradien konsentrasi sinyal. Sel-sel yang merespons mengadopsi nasib sel yang berbeda sesuai dengan posisinya dalam gradien: sel-sel yang paling dekat dengan pusat pensinyalan yang menghadapi konsentrasi tertinggi morfogen memiliki jumlah reseptor tertinggi yang diaktifkan dan mengikuti satu jalur perkembangan, sedangkan yang sedikit lebih jauh. ikuti yang lain, dan seterusnya (**Gambar 10**). Seperti yang akan kita bahas nanti, berbagai tingkat aktivasi reseptor menyebabkan perbedaan konsentrasi atau aktivitas satu atau lebih protein pengatur gen dalam nukleus setiap sel, yang pada gilirannya menghasilkan pola ekspresi gen yang berbeda. Selanjutnya, interaksi pensinyalan yang lebih lokal antara sel-sel dalam gradien sering membantu menentukan dan menstabilkan pilihan nasib yang berbeda.



**Gambar 10 Sel mengadopsi nasib yang berbeda tergantung pada posisinya dalam gradien morfogen. Konsentrasi morfogen yang berbeda menginduksi ekspresi dari set gen yang berbeda, menghasilkan nasib sel yang berbeda (ditunjukkan oleh huruf dan warna yang berbeda).**

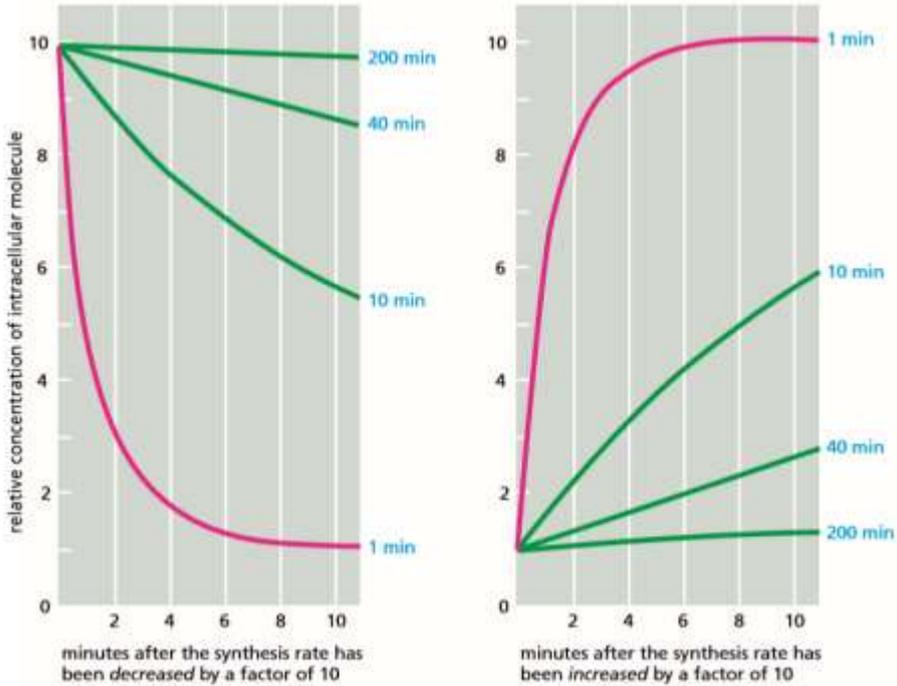
### Sel Dapat Mengubah Konsentrasi Molekul Intraseluler dengan Cepat Hanya Jika Masa Hidup Molekulnya Pendek

Wajar untuk memikirkan sistem pensinyalan dalam hal perubahan yang dihasilkan ketika sinyal ekstraseluler dikirimkan. Tetapi sama pentingnya untuk mempertimbangkan apa yang terjadi ketika sinyal ditarik. Selama pengembangan, sinyal ekstraseluler transien sering menghasilkan efek yang bertahan lama: mereka dapat memicu perubahan dalam perkembangan sel yang bertahan tanpa batas waktu melalui mekanisme memori sel. Namun, pada sebagian besar kasus di jaringan dewasa, respons memudar ketika sinyal berhenti. Seringkali efeknya sementara karena sinyal memberikan efeknya dengan mengubah konsentrasi molekul intraseluler yang berumur pendek (tidak stabil), mengalami pergantian terus menerus. Dengan demikian, setelah sinyal ekstraseluler hilang, pergantian molekul lama dengan yang baru menghapus semua jejak aksi sinyal. Ini mengikuti bahwa kecepatan

sel merespons terhadap penghapusan sinyal tergantung pada tingkat kerusakan, atau pergantian, molekul intraseluler yang dipengaruhi sinyal.

Ini Juga benar, walaupun tidak terlalu jelas, bahwa tingkat pergantian ini dapat menentukan ketepatan respon ketika sinyal ekstraseluler tiba. Perhatikan, misalnya, dua molekul pensinyalan intraseluler X dan Y, yang keduanya biasanya dipertahankan pada konsentrasi 1000 molekul per sel. Sel itu mengukur dan menurunkan molekul Y pada kecepatan 100 molekul per detik, dengan masing-masing molekul memiliki masa hidup rata-rata 10 detik. Molekul X memiliki tingkat turnover yang 10 kali lebih lambat dari Y: ia disintesis dan didegradasi dengan kecepatan 10 molekul per detik, sehingga setiap molekul memiliki masa hidup rata-rata dalam sel 100 detik. Jika sinyal yang bekerja pada sel menyebabkan peningkatan sepuluh kali lipat dalam tingkat sintesis X dan Y tanpa perubahan dalam masa hidup molekul, pada akhir 1 detik konsentrasi Y akan meningkat hampir 900 molekul per sel ( $10 \times 100 - 100$ ), sedangkan konsentrasi X akan meningkat hanya 90 molekul per sel. Faktanya, setelah laju sintesis molekul meningkat atau menurun secara tiba-tiba, waktu yang dibutuhkan molekul untuk bergeser setengah dari yang lama ke konsentrasi kesetimbangannya yang baru sama dengan waktu paruh yaitu, sama dengan waktu yang akan diperlukan untuk konsentrasi turun setengah jika semua sintesis dihentikan (**Gambar 11**).

Prinsip yang sama berlaku untuk protein dan molekul kecil, apakah molekul berada di ruang ekstraseluler atau di dalam sel. Banyak protein intraseluler memiliki waktu paruh pendek, beberapa bertahan hidup kurang dari 10 menit. Dalam kebanyakan kasus, ini adalah protein pengatur utama yang konsentrasinya dikontrol dengan cepat dalam sel oleh perubahan tingkat sintesisnya.



**Gambar 11. Pentingnya pergantian cepat.** Grafik menunjukkan tingkat relatif perubahan yang diperkirakan dalam konsentrasi molekul intraseluler dengan waktu pergantian yang berbeda ketika tingkat sintesis keduanya. (A) menurun atau (B) meningkat tiba-tiba dengan faktor 10. Dalam kedua kasus, konsentrasi molekul-molekul yang biasanya terdegradasi dengan cepat dalam sel (*garis merah*) berubah dengan cepat, sedangkan konsentrasi mereka yang biasanya terdegradasi perlahan (*garis hijau*) berubah secara proporsional lebih lambat. Angka-angka (*berwarna biru*) di sebelah kanan adalah waktu paruh yang diasumsikan untuk masing-masing molekul yang berbeda.

Selanjutnya kita lihat bahwa banyaknya respons sel terhadap sinyal ekstraseluler tergantung pada konversi protein pensinyalan intraseluler dari bentuk tidak aktif menjadi aktif, bukan pada sintesis atau degradasinya. Fosforilasi atau pengikatan GTP, misalnya, biasanya mengaktifkan protein pemberi sinyal. Bahkan dalam kasus-kasus ini, bagaimanapun, aktivasi harus secara cepat dan terus menerus dibalik (dengan defosforilasi atau hidrolisis GTP ke GDP, masing-masing, dalam contoh-contoh ini) untuk

memungkinkan pensinyalan yang cepat. Proses inaktivasi ini memainkan peran penting dalam menentukan besarnya, kecepatan, dan durasi respons.

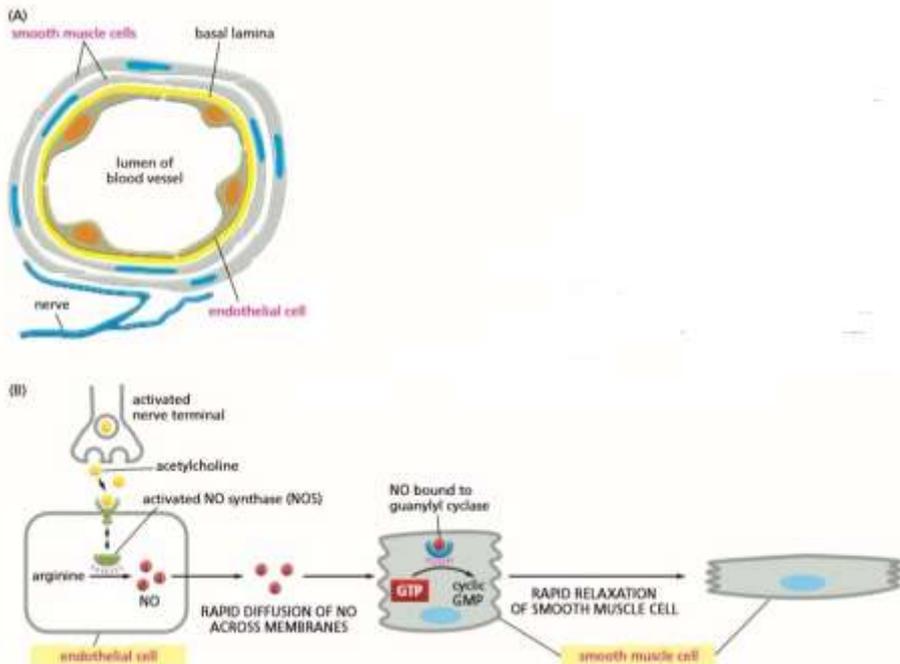
### Sinyal Gas Nitrit Oksida dengan Secara Langsung Mengatur Aktivitas Protein Tertentu di Dalam Sel Target

Sebagian besar bab ini berkaitan dengan jalur pensinyalan yang diaktifkan oleh reseptor permukaan sel. Namun, sebelum membahas reseptor dan jalur ini, kami secara singkat mempertimbangkan beberapa molekul sinyal penting yang mengaktifkan *reseptor intraseluler*. Molekul-molekul ini termasuk oksida nitrat dan hormon steroid, yang kita bahas pada gilirannya. Meskipun sebagian besar molekul sinyal ekstraseluler bersifat hidrofilik dan berikatan dengan reseptor pada permukaan sel target, beberapa di antaranya cukup hidrofobik, cukup kecil, atau keduanya, dapat dengan mudah melewati membran plasma sel target. Begitu masuk, mereka langsung mengatur aktivitas protein intraseluler tertentu. Contoh penting dan luar biasa adalah **gas nitric oxide (NO)**, yang bertindak sebagai molekul sinyal pada hewan dan tumbuhan. Bahkan beberapa bakteri dapat mendeteksi konsentrasi NO yang sangat rendah dan menjauh darinya.

Pada mamalia, salah satu dari banyak fungsi NO adalah untuk melemaskan otot polos. Ini memiliki peran ini di dinding pembuluh darah, misalnya (**Gambar 12A**). Saraf otonom pada dinding pembuluh melepaskan asetilkolin; asetilkolin bekerja pada sel endotel terdekat yang melapisi bagian dalam pembuluh; dan sel-sel endotel merespons dengan melepaskan NO, yang melemaskan sel-sel otot polos di dinding, yang memungkinkan pembuluh melebar. Efek NO pada pembuluh darah ini memberikan penjelasan untuk mekanisme kerja nitrogliserin, yang telah digunakan selama sekitar 100 tahun untuk mengobati pasien dengan angina (nyeri akibat aliran darah yang tidak cukup ke otot jantung). Nitrogliserin dikonversi menjadi NO, yang melemaskan pembuluh darah. Ini mengurangi beban kerja pada jantung dan, sebagai konsekuensinya, mengurangi kebutuhan oksigen otot jantung.

Banyak jenis sel saraf menggunakan NO lebih langsung untuk memberi sinyal kepada tetangga mereka. TIDAK dilepaskan oleh saraf otonom pada penis, misalnya, menyebabkan pelebaran pembuluh darah lokal yang menyebabkan ereksi penis. NO juga diproduksi oleh makrofag dan neutrofil yang diaktifkan untuk membantu mereka membunuh mikroorganisme yang menyerang. Pada tanaman, NO terlibat dalam respons defensif terhadap cedera atau infeksi.

NO dibuat oleh deaminasi asam amino arginin, dikatalisis oleh enzim yang disebut **NO synthases (NOS)** (Gambar 12B). NOS dalam sel endotel disebut *eNOS*, sedangkan yang di sel saraf dan otot disebut *nNOS*. Sel-sel saraf dan otot secara konstitutif membuat *nNOS*, yang diaktifkan untuk menghasilkan NO dengan masuknya  $Ca^{2+}$  ketika sel-sel distimulasi. Makrofag, sebaliknya, membuat NOS lain, yang disebut inducible NOS (*iNOS*) karena mereka membuatnya hanya ketika diaktifkan, biasanya sebagai respons terhadap infeksi.



**Gambar 12 Peran nitrit oksida (NO) dalam relaksasi otot polos di dinding pembuluh darah. (A) Gambar sederhana dari saraf otonom yang menghubungkan pembuluh darah. (B) Asetilkolin yang**

dilepaskan oleh terminal saraf di dinding pembuluh darah mengaktifkan NO sintase dalam sel endotel yang melapisi pembuluh darah, menyebabkan sel endotel menghasilkan NO dari arginin. NO berdifusi keluar dari sel-sel endotel dan ke sel-sel otot polos tetangga, di mana ia berikatan dengan dan mengaktifkan guanylyl cyclase untuk menghasilkan GMP siklik. GMP siklik memicu respons yang menyebabkan sel-sel otot polos rileks, meningkatkan aliran darah melalui pembuluh darah.

Karena NO terlarut mudah melewati membran, ia cepat berdifusi keluar dari sel di mana ia diproduksi dan masuk ke sel tetangga (lihat Gambar 12B). Ia bertindak hanya secara lokal karena memiliki waktu paruh pendek sekitar 5-10 detik di ruang ekstraseluler sebelum oksigen dan air mengubahnya menjadi nitrat dan nitrit.

Dalam beberapa sel target, termasuk sel-sel otot polos, NO secara reversibel berikatan dengan besi di situs aktif *enzim guanylyl cyclase*, menstimulasi enzim ini untuk menghasilkan molekul pensinyalan molekul GMP siklik sinyal intraseluler kecil, yang akan kita bahas nanti. Jadi, *guanylyl cyclase* bertindak baik sebagai reseptor intraseluler untuk NO dan sebagai protein pensinyalan intraseluler (lihat Gambar 12B). TIDAK dapat meningkatkan GMP siklik dalam sitosol dalam hitungan detik, karena tingkat turnover normal GMP siklik yang tinggi: degradasi cepat menjadi GMP oleh *fosfodiester* yang secara langsung menyeimbangkan produksi GMP siklik dari GTP oleh guanylyl cyclase. Obat Viagra dan yang lebih baru Kerabat menghambat GMP fosfodiesterase siklik di penis, sehingga meningkatkan jumlah waktu bahwa tingkat GMP siklik tetap meningkat dalam sel otot polos pembuluh darah penis setelah produksi NO diinduksi oleh terminal saraf lokal. GMP siklik, pada gilirannya, membuat pembuluh darah rileks dan dengan demikian penis ereksi.

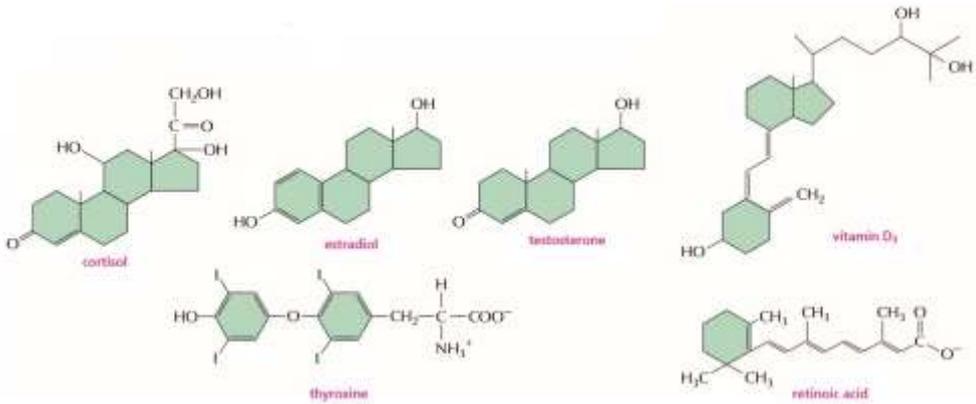
TIDAK juga dapat memberi sinyal sel-sel secara independen dari GMP siklik. Sebagai contoh, ia dapat mengubah aktivitas protein intraseluler dengan kelompok-kelompok tiol nitrosilasi kovalen (-SH) pada sistein spesifik dalam protein.

*Karbon monoksida (CO)* adalah gas lain yang digunakan sebagai molekul sinyal ekstraseluler dan seperti NO dapat bertindak dengan menstimulasi siklase guanylyl. Tetapi, gas-gas ini bukan satu-satunya molekul sinyal yang dapat lewat langsung melintasi membran plasma sel target, seperti yang akan kita bahas selanjutnya.

### **Reseptor Nuklir Adalah Protein Pengatur Gen Modulasi Ligan**

Berbagai molekul sinyal hidrofobik kecil berdifusi langsung melintasi membran plasma sel target dan berikatan dengan reseptor intraseluler yang merupakan protein pengatur gen. Molekul sinyal ini termasuk hormon steroid, hormon tiroid, retinoid, dan vitamin D. Meskipun keduanya sangat berbeda satu sama lain dalam struktur dan fungsinya (**Gambar 13**), mereka semua bertindak dengan mekanisme yang sama. Mereka mengikat protein reseptor intraseluler masing-masing dan mengubah kemampuan protein ini untuk mengontrol transkripsi gen tertentu. Dengan demikian, protein ini berfungsi baik sebagai reseptor intraseluler dan sebagai efektor intraseluler untuk sinyal.

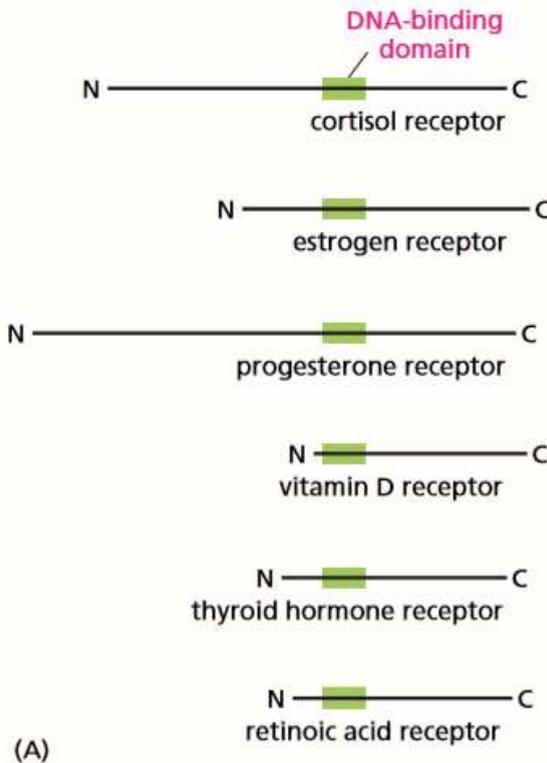
Semua reseptor terkait secara struktural, menjadi bagian dari **superfamili reseptor nuklir** yang sangat besar. Banyak anggota keluarga telah diidentifikasi dengan sekuensing DNA saja, dan ligan mereka belum diketahui; protein-protein ini oleh karenanya disebut sebagai *reseptor nuklir orphan*. Saat ini, lebih dari setengah dari 48 reseptor nuklir yang dikodekan dalam genom manusia adalah orphans, seperti 17 dari 18 di *Drosophila* dan semua 278 di nematoda *C.elegans* (lihat Gambar 4-85). Beberapa reseptor nuklir mamalia diatur oleh metabolit intraseluler daripada oleh molekul sinyal yang disekresikan; *reseptor teraktivasi proliferasi peroksisom (PPARs)*, misalnya, mengikat metabolit lipid intraseluler dan mengatur transkripsi gen yang terlibat dalam metabolisme lipid dan diferensiasi sel lemak. Tampaknya reseptor nuklir untuk hormon berevolusi dari reseptor semacam itu untuk metabolit intraseluler, yang akan membantu menjelaskan lokasi intraseluler mereka.

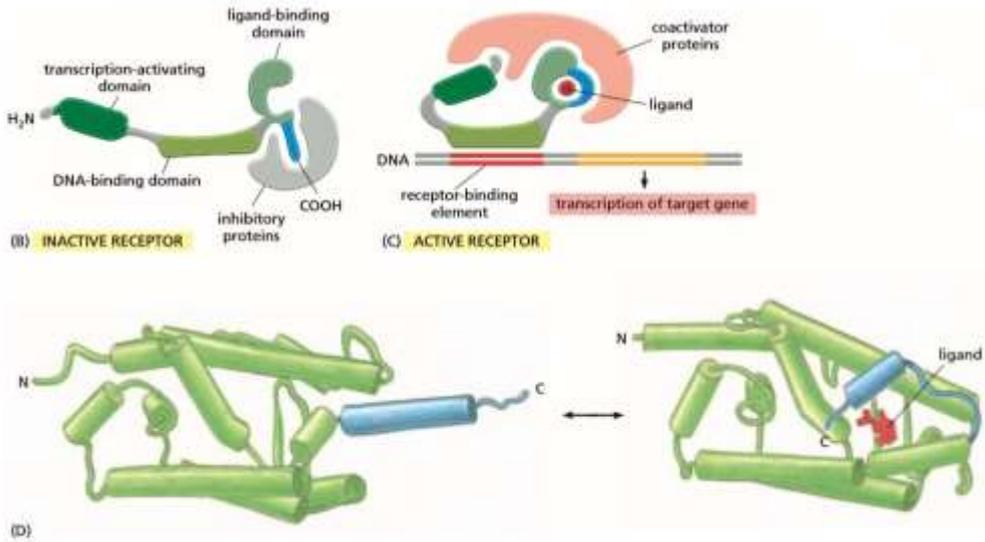


**Gambar 13. Beberapa molekul sinyal nongaseous yang berikatan dengan reseptor intraseluler.** Perhatikan bahwa semuanya kecil dan hidrofobik. Bentuk aktif vitamin D3 terhidrosilasi ditunjukkan. Estradiol dan testosteron adalah hormon seks steroid

**Hormon steroid** yang meliputi kortisol, hormon seks steroid, vitamin D (pada vertebrata), dan hormon molting, *ecdysone* (pada serangga) semuanya terbuat dari kolesterol. *Kortisol* diproduksi di korteks kelenjar adrenal dan memengaruhi metabolisme banyak jenis sel. *Hormon steroid* dibuat di testis dan ovarium, dan mereka bertanggung jawab atas karakteristik seks sekunder yang membedakan pria dari wanita. *Vitamin D* disintesis di kulit sebagai respons terhadap sinar matahari; setelah dikonversi menjadi bentuk aktif di hati atau ginjal, ia mengatur metabolisme  $Ca^{2+}$ , meningkatkan penyerapan  $Ca^{2+}$  di usus dan mengurangi ekskresi di ginjal. *Hormon tiroid*, yang dibuat dari asam amino tirosin, bertindak untuk meningkatkan laju metabolisme banyak jenis sel, sedangkan *retinoid*, seperti asam retinoat, dibuat dari vitamin A dan memiliki peran penting sebagai mediator lokal dalam pengembangan vertebrata. Meskipun semua molekul sinyal ini relatif tidak larut dalam air, mereka dibuat larut untuk transportasi dalam aliran darah dan cairan ekstraseluler lainnya dengan mengikat protein pembawa tertentu, dari mana mereka berdisosiasi sebelum memasuki sel target (lihat Gambar 3B).

Reseptor nuklir mengikat urutan DNA spesifik yang berdekatan dengan gen yang diatur ligan. Beberapa reseptor, seperti yang untuk kortisol, terletak terutama di sitosol dan memasuki nukleus hanya setelah pengikatan ligan; yang lain, seperti reseptor tiroid dan retinoid, terikat pada DNA dalam nukleus bahkan tanpa adanya ligan. Dalam kedua kasus tersebut, reseptor yang tidak aktif biasanya terikat pada kompleks protein penghambat. Ikatan ligan mengubah konformasi protein reseptor, menyebabkan kompleks penghambatan untuk berpisah, sementara juga menyebabkan reseptor mengikat protein koaktivator yang merangsang transkripsi gen (**Gambar 14**). Namun, dalam kasus lain, ikatan ligan dengan reseptor nuklir menghambat transkripsi: beberapa reseptor hormon tiroid, misalnya, bertindak sebagai aktivator transkripsional dengan tidak adanya hormon mereka dan menjadi penekan transkripsi ketika hormon mengikat.





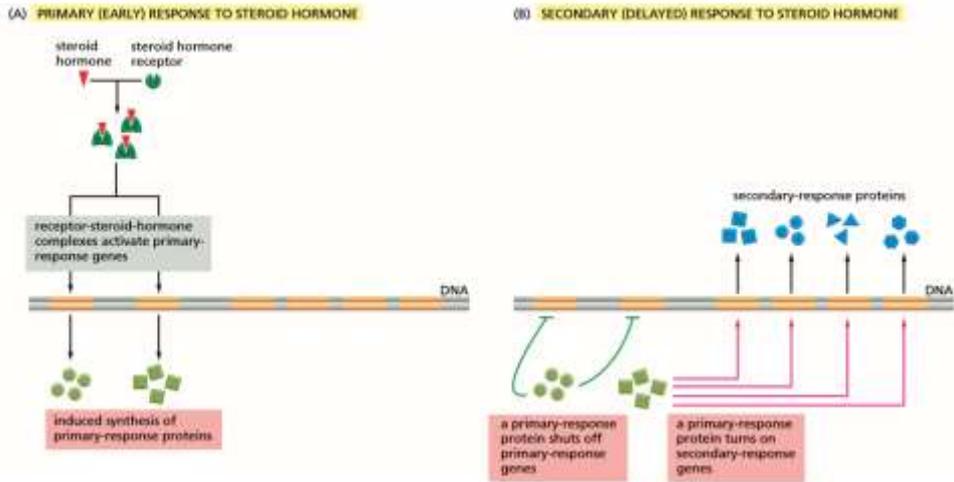
**Gambar 14 Superfamili reseptor nuklir.** Semua reseptor nuklir mengikat DNA sebagai homodimer atau heterodimer, tetapi untuk kesederhanaan kami menunjukkannya sebagai monomer di sini. (A) Semua reseptor memiliki struktur terkait. Di sini, domain pengikatan DNA pendek di setiap reseptor ditunjukkan dalam warna hijau muda. (B) Protein reseptor yang tidak aktif terikat dengan protein penghambat. Eksperimen pertukaran domain menunjukkan bahwa banyak domain pengikatan ligan, pengaktifan transkripsi, dan DNA dalam reseptor ini dapat berfungsi sebagai modul yang dapat dipertukarkan (C) Aktivasi reseptor. Biasanya, pengikatan ligan ke reseptor menyebabkan domain pengikat ligan reseptor menjepit di sekitar ligan, protein penghambat untuk berdisosiasi, dan protein koaktivator untuk mengikat domain pengaktifan transkripsi reseptor, sehingga meningkatkan transkripsi gen. Dalam kasus lain, pengikatan ligan memiliki efek sebaliknya, menyebabkan protein ko-represor berikatan dengan reseptor, sehingga mengurangi transkripsi (tidak diperlihatkan). Meskipun tidak ditampilkan di sini, aktivitas juga dapat dikendalikan melalui perubahan lokalisasi reseptor: dalam bentuk tidak aktif, ia dapat dipertahankan dalam sitoplasma; Ikatan ligan kemudian dapat menyebabkan terbukanya sinyal lokalisasi nuklir yang menyebabkannya diimpor ke dalam nukleus untuk bekerja pada DNA. (D) Struktur tiga dimensi dari domain yang mengikat ligan

dengan ligan terikat (kanan) dan tanpa (kiri). Perhatikan bahwa lueahelix bertindak sebagai penutup yang terkunci ketika ligan (ditunjukkan dalam warna merah) mengikat, menjebak ligan di tempatnya.

Respons transkripsi biasanya berlangsung dalam beberapa langkah. Dalam kasus di mana pengikatan ligan mengaktifkan transkripsi, misalnya, stimulasi langsung sejumlah kecil gen tertentu terjadi dalam waktu sekitar 30 menit dan merupakan *respons utama*, produk protein dari gen ini pada gilirannya mengaktifkan gen lain untuk menghasilkan gen yang tertunda, *respon sekunder*, dan seterusnya. Selain itu, beberapa protein yang dihasilkan dalam respons primer dapat bertindak kembali untuk menghambat transkripsi gen respons primer, sehingga membatasi respons sebuah contoh umpan balik negatif, yang akan kita diskusikan nanti. Dengan cara ini, pemicu hormon sederhana dapat menyebabkan perubahan yang sangat kompleks dalam pola ekspresi gen (**Gambar15**).

Respons terhadap hormon steroid dan tiroid, vitamin D, dan retinoid ditentukan sebanyak oleh sifat sel target maupun oleh sifat molekul sinyal. Banyak jenis sel memiliki reseptor intraseluler yang identik, tetapi sekumpulan gen yang diatur reseptor berbeda di setiap jenis sel. Ini karena lebih dari satu jenis protein pengatur gen pada umumnya harus mengikat gen eukariotik untuk mengatur transkripsinya. Karena itu, reseptor intraseluler dapat mengatur gen hanya jika ada kombinasi yang tepat dari protein pengatur gen

lainnya, dan banyak di antaranya adalah tipe sel spesifik.



**Gambar 15. Contoh respons primer dan sekunder yang diinduksi oleh aktivasi reseptor hormon nuklir.** (A) Respon primer awal dan (B) respon sekunder tertunda. Beberapa protein respons primer mengaktifkan gen respons sekunder, sementara yang lain mematikan gen respons primer. Jumlah aktual gen respons primer dan respons sekunder lebih besar daripada yang ditunjukkan. Obat-obatan yang menghambat sintesis protein menekan transkripsi gen respons sekunder tetapi bukan gen respons primer, sehingga memungkinkan dua kelas respons transkripsi gen ini mudah dibedakan. Gambar tersebut menunjukkan respons terhadap hormon steroid, tetapi prinsip yang sama berlaku untuk banyak ligan lain yang mengaktifkan protein reseptor nuklir.

### DNA

Singkatnya, masing-masing molekul sinyal hidrofobik ini menginduksi serangkaian karakteristik respons pada hewan karena dua alasan. Pertama, hanya tipe sel tertentu yang memiliki reseptor. Kedua, masing-masing tipe sel ini mengandung kombinasi berbeda dari protein pengatur gen spesifik tipe sel lainnya yang berkolaborasi dengan reseptor teraktivasi untuk memengaruhi transkripsi set gen spesifik. Prinsip ini berlaku untuk semua respons sinyal yang bergantung pada protein pengatur gen, termasuk banyak contoh lain yang kita bahas dalam bab ini. Rincian molekuler tentang

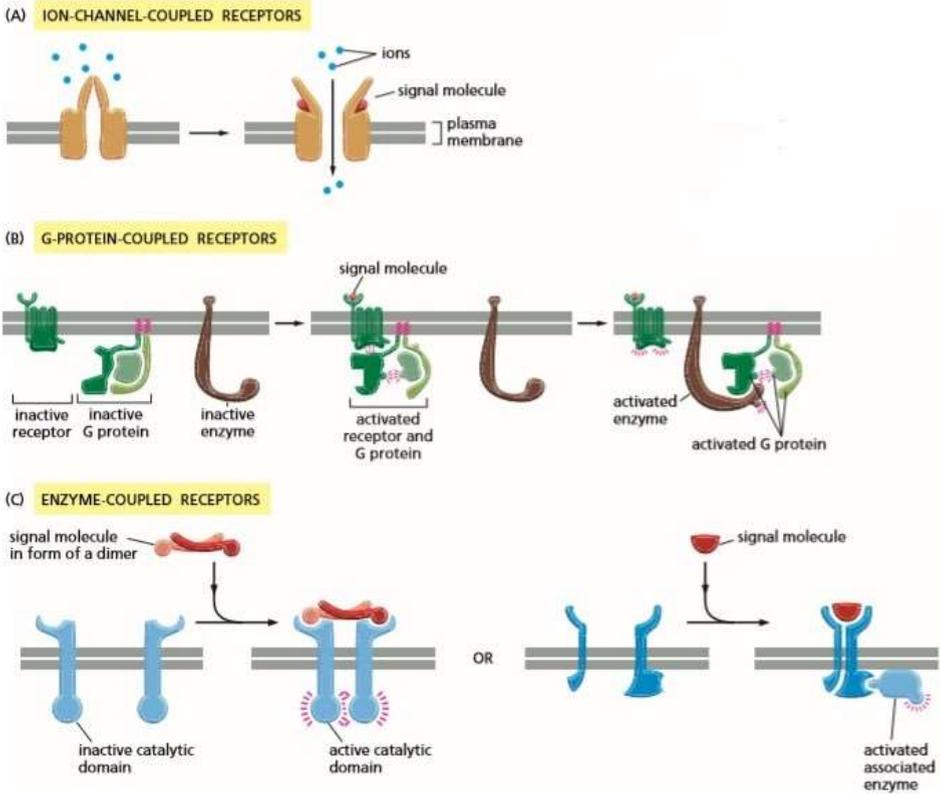
bagaimana reseptor nuklir dan protein pengatur gen lainnya mengontrol transkripsi gen spesifik.

Protein reseptor nuklir kadang-kadang juga hadir di permukaan sel, di mana mereka berfungsi oleh mekanisme yang sama sekali berbeda dari yang baru saja dijelaskan. Dalam sisa bab ini, kami mempertimbangkan berbagai cara di mana reseptor permukaan sel mengubah sinyal ekstraseluler menjadi sinyal intraseluler, suatu proses yang disebut *transduksi sinyal*.

### **Tiga Kelas Protein Reseptor Permukaan Sel Terbesar Adalah Reseptor Saluran Ion, Reseptor G-Protein, dan Reseptor Koping Enzim**

Berbeda dengan molekul sinyal hidrofobik kecil yang baru saja dibahas yang berikatan dengan reseptor intraseluler, sebagian besar molekul sinyal ekstraseluler berikatan dengan protein reseptor spesifik pada permukaan sel target yang mereka pengaruhi dan tidak memasuki sitosol atau nukleus. Reseptor permukaan sel ini bertindak sebagai *transduser sinyal* dengan mengubah peristiwa pengikatan ligan ekstraseluler menjadi sinyal intraseluler yang mengubah perilaku sel target.

Sebagian besar protein reseptor permukaan sel milik salah satu dari tiga kelas, yang ditentukan oleh mekanisme transduksi mereka. **Reseptor-kanal-coupled ion**, juga dikenal sebagai *saluran ion gated-transmitter* atau *reseptor ionotropik*, terlibat dalam pensinyalan sinaptik yang cepat antara sel-sel saraf dan sel-sel target elektrik yang dapat dieksitasi lainnya seperti sel-sel saraf dan otot (**Gambar 16A**). Jenis pensinyalan ini dimediasi oleh sejumlah kecil neurotransmitter yang secara sementara membuka atau menutup saluran ion yang dibentuk oleh protein yang diikatnya, secara singkat mengubah permeabilitas ion membran plasma dan dengan demikian rangsangan sel target pascasinaps. Sebagian besar reseptor yang ditambah saluran ion dimiliki oleh keluarga besar protein transmembran yang homolog dan multipas.



**Gambar 16. Tiga kelas reseptor permukaan sel.** (A) reseptor yang dipasangi saluran ion (juga disebut saluran ion yang dipasangkan dengan pemancar), (B) reseptor berpasangan G-protein, dan (C) reseptor berpasangan enzim. Meskipun banyak reseptor yang ditambah enzim memiliki aktivitas enzimatik intrinsik, seperti yang ditunjukkan di sebelah kiri dalam (C), banyak yang lain bergantung pada enzim terkait, seperti yang ditunjukkan di sebelah kanan di dalam (C).

**Reseptor berpasangan G-protein** bertindak dengan cara tidak langsung mengatur aktivitas protein target terikat-plasma yang terpisah, yang umumnya berupa enzim atau saluran ion. *Protein pengikat GTP trimerik (G protein)* memediasi interaksi antara reseptor teraktivasi dan protein target ini (Gambar 16B). Aktivasi protein target dapat mengubah konsentrasi satu atau lebih mediator intraseluler kecil (jika protein target adalah enzim), atau dapat

mengubah permeabilitas ion membran plasma (jika protein target adalah saluran ion). Mediator intraseluler kecil bertindak pada gilirannya untuk mengubah perilaku protein pensinyalan lain di dalam sel. Semua reseptor yang ditambah protein G milik keluarga besar protein transmembran yang homolog dan multipas.

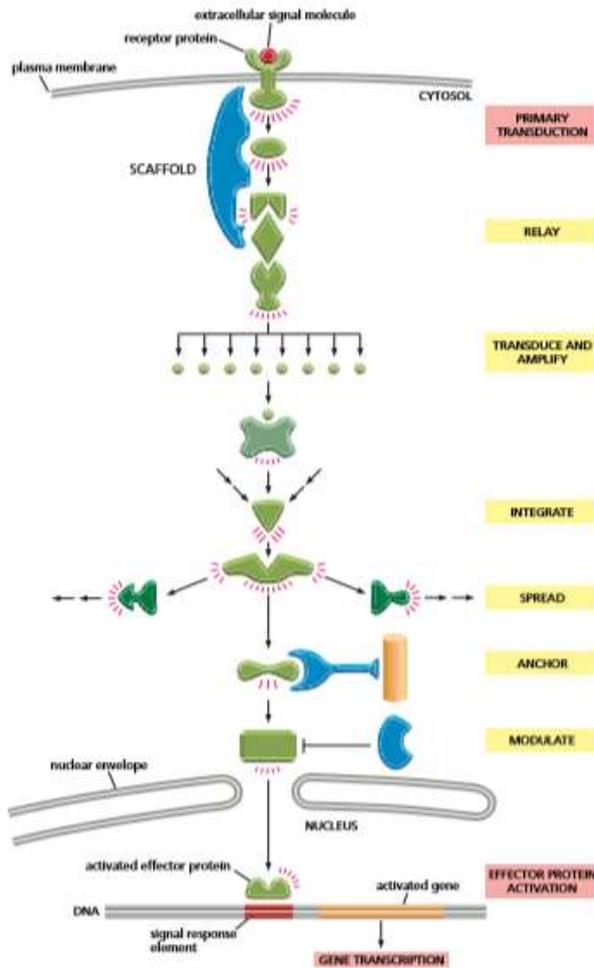
**Reseptor yang berpasangan dengan enzim** berfungsi baik secara langsung sebagai enzim atau berhubungan langsung dengan enzim yang mereka aktifkan (Gambar 16C). Mereka biasanya protein transmembran singlepass yang memiliki situs pengikatan ligand mereka di luar sel dan situs pengikatan katalitik atau enzim di dalamnya. Reseptor berpasangan enzim memiliki struktur heterogen dibandingkan dengan dua kelas lainnya. Namun, sebagian besar adalah protein kinase atau berasosiasi dengan protein kinase, yang memfosforilasi set protein spesifik dalam sel target ketika diaktifkan.

Ada juga beberapa jenis reseptor permukaan sel yang tidak mudah masuk ke dalam kelas-kelas ini tetapi memiliki fungsi penting dalam mengendalikan spesialisasi berbagai jenis sel selama pengembangan dan dalam pembaruan dan perbaikan jaringan. Kami membahas hal ini di bagian selanjutnya, setelah kami menjelaskan bagaimana reseptor berpasangan G-protein dan reseptor berpasangan enzim bekerja. Namun, pertama-tama, kami mempertimbangkan beberapa prinsip umum pensinyalan melalui reseptor permukaan sel, untuk mempersiapkan diskusi terperinci tentang kelas utama reseptor permukaan sel yang mengikutinya.

### **Reseptor-reseptor Permukaan-Sel yang Paling Diaktifkan Menyalurkan Melalui Molekul Kecil dan Jaringan Protein Pemberian Sinyal Intraseluler**

Kombinasi *molekul pensinyalan intraseluler* yang kecil dan besar menyampaikan sinyal yang diterima di permukaan sel oleh reseptor G-protein-coupled atau enzyme-coupled ke bagian dalam sel. Rantai yang dihasilkan dari peristiwa pensinyalan intraseluler pada akhirnya mengubah protein efektor yang bertanggung jawab untuk memodifikasi perilaku sel (lihat Gambar 1).

Molekul pensinyalan intraseluler kecil disebut **mediator intraseluler kecil**, atau **pembawa pesan kedua** ("pembawa pesan pertama" menjadi sinyal ekstraseluler). Mereka dihasilkan dalam jumlah besar sebagai respons terhadap aktivasi reseptor dan sering berdifusi menjauh dari sumbernya, menyebarkan sinyal ke bagian lain dari sel. Beberapa, seperti *AMP siklik* dan  $Ca^{2+}$ , larut dalam air dan berdifusi dalam sitosol, sementara yang lain, seperti *diasilgliserol*, larut dalam lemak dan berdifusi dalam bidang membran plasma. Dalam kedua kasus, mereka meneruskan sinyal dengan mengikat dan mengubah konformasi dan perilaku protein pensinyalan tertentu atau protein efektor.



**Gambar 17. Jalur pensinyalan intraseluler hipotetis dari reseptor permukaan sel ke nukleus.** Dalam contoh ini, serangkaian protein

pensinyalan dan mediator intraseluler kecil menyampaikan sinyal ekstraseluler ke dalam nukleus, menyebabkan perubahan ekspresi gen. Sinyal diubah (ditransduksi), diperkuat, didistribusikan, dan dimodulasi dalam perjalanan. Karena banyak langkah dapat dipengaruhi oleh sinyal ekstraseluler dan intraseluler lainnya, efek akhir dari satu sinyal ekstraseluler tergantung pada banyak faktor yang mempengaruhi sel (lihat Gambar-8). Pada akhirnya, jalur pensinyalan mengaktifkan (atau menonaktifkan) protein efektor yang mengubah perilaku sel. Dalam contoh ini, efektor adalah protein pengatur gen yang mengaktifkan transkripsi gen. Meskipun gambar tersebut menunjukkan protein pensinyalan individu yang melakukan fungsi tunggal, dalam kenyataannya mereka sering memiliki lebih dari satu fungsi; protein scaffold, misalnya, sering juga berfungsi untuk melabuhkan beberapa protein pensinyalan ke struktur intraseluler tertentu.

Sebagian besar jalur pensinyalan ke nukleus lebih langsung daripada yang satu ini, yang tidak didasarkan pada jalur yang dikenal

Molekul pensinyalan intraseluler yang besar adalah protein pensinyalan intraseluler, yang membantu menyampaikan sinyal ke dalam sel dengan cara menghasilkan mediator intraseluler kecil atau mengaktifkan protein pensinyalan atau efektor berikutnya di jalur. Protein-protein ini membentuk jaringan fungsional, di mana setiap protein membantu memproses sinyal dengan satu atau lebih cara berikut saat menyebar pengaruh sinyal melalui sel (**Gambar 17**) :

1. Protein dapat dengan mudah *menyampaikan* sinyal ke komponen pensinyalan berikutnya dalam rantai.
2. Dapat bertindak sebagai *perancah* untuk menyatukan dua atau lebih protein pensinyalan sehingga mereka dapat berinteraksi lebih cepat dan efisien.
3. Ini dapat mengubah, atau *mentransduksi*, sinyal menjadi bentuk yang berbeda, yang cocok untuk melewati sinyal atau merangsang respons sel.
4. Ini dapat *memperkuat* sinyal yang diterimanya, baik dengan memproduksi sejumlah besar mediator intraseluler kecil atau

dengan mengaktifkan banyak salinan protein pensinyalan hilir. Dengan cara ini, sejumlah kecil molekul sinyal ekstraseluler dapat membangkitkan respons intraseluler yang besar. Ketika ada beberapa langkah amplifikasi dalam rantai relai, rantai sering disebut sebagai **kaskade pensinyalan**

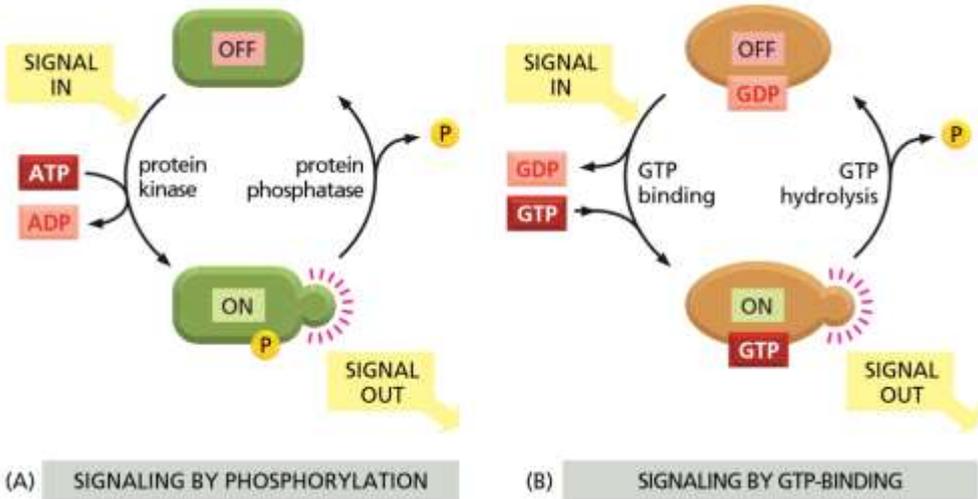
5. Mungkin menerima sinyal dari dua atau lebih jalur pensinyalan dan *mengintegrasikannya* sebelum menyampaikan sinyal ke depan. Sebuah protein yang membutuhkan input dari dua atau lebih jalur pensinyalan untuk menjadi diaktifkan, sering disebut sebagai detektor kebetulan.
6. Ini dapat *menyebarkan* sinyal dari satu jalur pensinyalan ke jalur sinyal yang lain, menciptakan cabang dalam aliran pensinyalan, dengan demikian meningkatkan kompleksitas respons
7. Ini mungkin *berlabuh* satu atau lebih protein pensinyalan dalam jalur ke struktur tertentu dalam sel di mana protein pensinyalan diperlukan.
8. Ini dapat *memodulasi* aktivitas protein pensinyalan lain dan dengan demikian mengatur kekuatan pensinyalan di sepanjang jalur.

Kami telah mempertimbangkan secara lebih terperinci beberapa strategi yang digunakan protein pensinyalan intraseluler dalam memproses sinyal yang diteruskan di sepanjang jalur pensinyalan. Kami menemukan strategi umum ini lagi di bagian selanjutnya dari bab ini, ketika kami membahas kelas reseptor spesifik dan jalur pensinyalan yang mereka aktifkan.

### **Banyak Protein Pemberian Intraseluler Berfungsi sebagai Saklar Molekul yang Diaktifkan oleh Fosforilasi atau Pengikatan GTP**

Banyak protein pensinyalan intraseluler berperilaku seperti saklar molekuler. Ketika mereka menerima sinyal, mereka beralih dari tidak aktif ke konformasi aktif, sampai proses lain mematikannya, mengembalikannya ke konformasi tidak aktif

mereka. Seperti yang kami sebutkan sebelumnya, mematikan sama pentingnya dengan menyalakan. Jika jalur pensinyalan akan pulih setelah mentransmisikan sinyal sehingga dapat siap untuk mengirimkan yang lain, setiap molekul yang diaktifkan di jalur harus kembali ke keadaan semula, yang tidak diaktifkan.



**Gambar 18. Dua jenis protein pensinyalan intraseluler yang bertindak sebagai saklar molekuler.** Meskipun satu jenis diaktifkan oleh fosforilasi dan yang lainnya oleh pengikatan GTP, dalam kedua kasus penambahan gugus fosfat mengubah keadaan aktivasi protein dan penghapusan fosfat mengubahnya kembali. (A) Protein kinase secara kovalen menambahkan fosfat dari ATP ke protein pemberi sinyal, dan protein fosfatase menghilangkan fosfat. Meskipun tidak ditampilkan, beberapa protein pensinyalan diaktifkan oleh defosforilasi bukan oleh fosforilasi. (B) Protein pengikat GTP diinduksi untuk menukar GDP terikatnya dengan GTP, yang mengaktifkan protein; protein kemudian menonaktifkan dirinya sendiri dengan menghidrolisis GTP terikatnya ke GDP.

Dua kelas penting dari saklar molekuler yang beroperasi dalam jalur pensinyalan intraseluler tergantung pada keuntungan atau kerugian kelompok fosfat untuk aktivasi atau inaktivasi mereka, meskipun cara di mana fosfat diperoleh dan hilang sangat berbeda di kedua kelas. Kelas terbesar terdiri dari protein yang diaktifkan atau dinonaktifkan oleh **fosforilasi** (dibahas pada Bab 3).

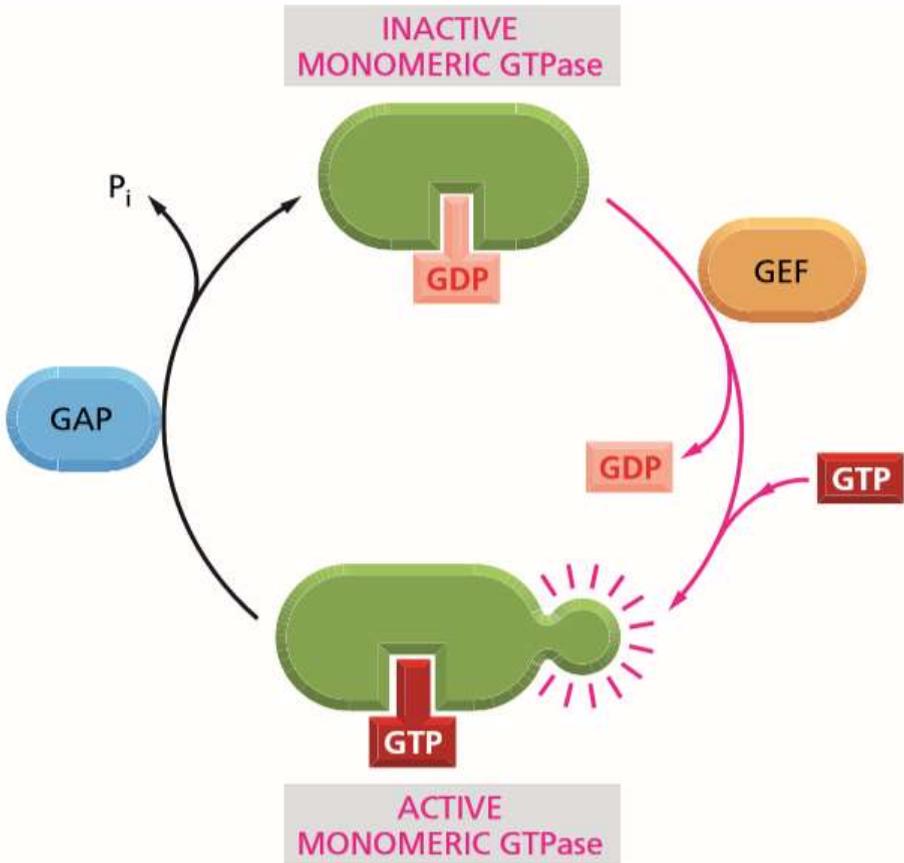
Untuk protein-protein ini, saklar dilemparkan ke satu arah oleh **protein kinase**, yang secara kovalen menambahkan satu atau lebih gugus fosfat ke protein pemberi sinyal, dan ke arah lain oleh **protein fosfatase**, yang menghilangkan gugus fosfat (**Gambar 18A**). Aktivitas protein apa pun yang diatur oleh fosforilasi bergantung pada keseimbangan setiap saat antara aktivitas kinase yang memfosforilasi dan fosfatase yang melakukan defosforilasi. Sekitar 30% protein manusia mengandung fosfat yang menempel secara kovalen, dan genom manusia mengkode sekitar 520 protein kinase dan sekitar 150 protein fosfatase. Diperkirakan bahwa sel mamalia tipikal menggunakan ratusan jenis protein kinase yang berbeda pada satu waktu.

Banyak protein pensinyalan yang dikendalikan oleh fosforilasi itu sendiri adalah protein kinase, dan ini sering disusun menjadi **kaskade fosforilasi**. Dalam kaskade seperti itu, satu protein kinase, diaktifkan oleh fosforilasi, memfosforilasi protein kinase berikutnya dalam urutan, dan seterusnya, meneruskan sinyal ke depan dan, dalam proses itu, memperkuatnya dan kadang-kadang menyebarkannya ke jalur sinyal lain. Dua jenis utama protein kinase beroperasi sebagai protein pensinyalan intraseluler. Sebagian besar adalah **serin / treonin kinase**, yang memfosforilasi protein pada serin dan (lebih jarang) treonin. Lainnya adalah **tirosin kinase**, yang memfosforilasi protein pada tirosin. Kinase sesekali dapat melakukan keduanya.

Kelas penting lainnya dari sakelar molekuler yang berfungsi dengan mendapatkan dan kehilangan gugus fosfat terdiri dari **protein pengikat GTP**. Protein-protein ini beralih antara keadaan "aktif" (memberi sinyal aktif) ketika GTP terikat dan keadaan "mati" ketika GDP terikat. Dalam keadaan "aktif", mereka memiliki aktivitas GTPase intrinsik dan menutup diri dengan menghidrolisis GTP terikat mereka ke GDP (**Gambar 18B**). Ada dua jenis utama protein pengikat GTP. Protein pengikat *GTP trimerik besar* (juga disebut *protein G*) membantu menyampaikan sinyal dari reseptor berpasangan G-protein yang mengaktifkannya (lihat **Gambar 16B**). **GTPase monomerik kecil** (juga disebut *protein pengikat GTP*

*monomerik*) membantu menyampaikan sinyal dari banyak kelas reseptor permukaan sel.

Protein pengatur spesifik mengontrol kedua jenis protein pengikat GTP. **GTPase-activating protein (GAPs)** menggerakkan protein ke keadaan "mati" dengan meningkatkan laju hidrolisis GTP terikat; GAP yang berfungsi dengan cara ini juga disebut *regulator protein pensinyalan G-protein (RGS)*. Sebaliknya, reseptor berpasangan G-protein mengaktifkan protein G trimerik, dan **faktor pertukaran nukleotida guanin (GEF)** mengaktifkan GTPase monomer, dengan mempromosikan pelepasan GDP terikat sebagai imbalan untuk mengikat GTP. **Gambar 19** mengilustrasikan regulasi GTPase monomer.

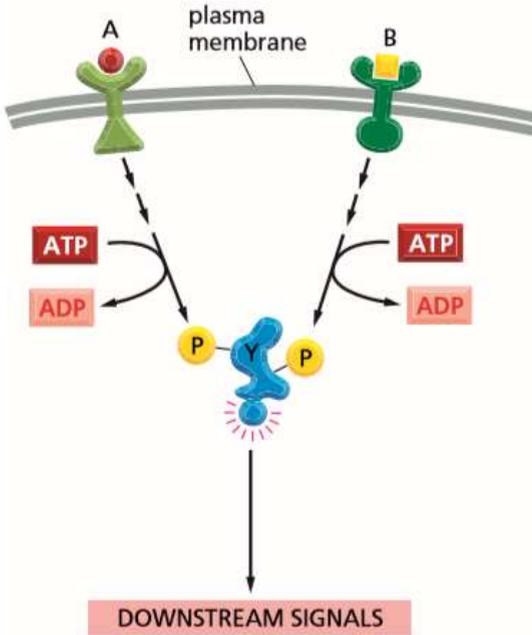


**Gambar 19. Peraturan GTPase monomer.** Protein pengaktivasi GTPase (GAPs) menonaktifkan protein dengan menstimulasi protein tersebut untuk menghidrolisis GTP terikatnya menjadi

GDP, yang tetap terikat erat dengan GTPase yang tidak aktif. Guanine nucleotide exchange factors (GEFs) mengaktifkan protein tidak aktif dengan menstimulasi protein untuk melepaskan GDP-nya; karena konsentrasi GTP dalam sitosol adalah 10 kali lebih besar dari konsentrasi GDP, protein dengan cepat mengikat GTP setelah mengeluarkan GDP dan dengan demikian diaktifkan.

Protein G trimerik dan GTPase monomerik juga berpartisipasi dalam banyak proses lain dalam sel eukariotik, termasuk regulasi lalu lintas vesikular dan aspek pembelahan sel.

Seperti dibahas sebelumnya, kombinasi spesifik sinyal ekstraseluler, daripada satu molekul sinyal yang bekerja sendiri, umumnya diperlukan untuk merangsang perilaku sel yang kompleks, seperti kelangsungan hidup sel dan pertumbuhan dan proliferasi sel (lihat Gambar 8). Karena itu sel harus mengintegrasikan informasi yang berasal dari banyak sinyal jika ingin membuat respons yang sesuai; banyak sel mamalia, misalnya, membutuhkan kedua sinyal yang larut dan sinyal dari matriks ekstraseluler untuk tumbuh dan berkembang biak. Integrasi sebagian tergantung pada *detektor coincidence* intraseluler, yang setara dengan *gerbang AND* dalam mikroprosesor komputer, di mana mereka hanya diaktifkan jika mereka menerima beberapa sinyal konvergen (lihat Gambar 17). **Gambar 20** menggambarkan contoh hipotetis sederhana dari protein semacam itu



**Gambar 20. Integrasi sinyal.** Sinyal ekstraseluler A dan B mengaktifkan jalur pensinyalan intraseluler yang berbeda, yang masing-masing mengarah ke fosforilasi protein Y tetapi di lokasi berbeda pada protein. Protein Y diaktifkan hanya ketika kedua situs ini terfosforilasi, dan karena itu menjadi aktif hanya ketika sinyal A dan B secara bersamaan hadir. Protein semacam itu sering disebut detektor kebetulan.

Namun, tidak semua saklar molekuler dalam jalur pensinyalan bergantung pada fosforilasi atau pengikatan GTP. Kita melihat kemudian bahwa beberapa protein pensinyalan dinyalakan atau dimatikan oleh pengikatan protein pensinyalan lain atau mediator intraseluler kecil seperti AMP siklik atau  $Ca^{2+}$ , atau dengan modifikasi kovalen selain fosforilasi atau defosforilasi, seperti ubiquitylation. Lebih dari itu, tidak semua protein pensinyalan intraseluler bertindak sebagai saklar ketika mereka difosforilasi atau dimodifikasi secara terbalik. Seperti yang akan kita bahas nanti, dalam banyak kasus, kelompok yang ditambahkan secara kovalen hanya menandai protein sehingga dapat berinteraksi dengan protein pensinyalan lain yang mengenali modifikasi.

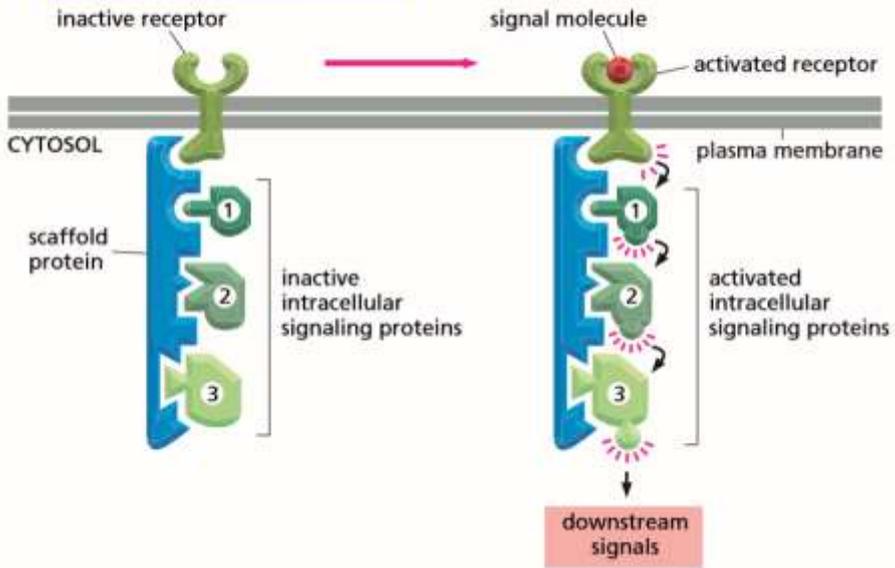
### Kompleks Sinyal Intraseluler Meningkatkan Kecepatan, Efisiensi, dan Kekhususan Respons

Bahkan satu jenis sinyal ekstraseluler yang bekerja melalui satu jenis reseptor permukaan sel sering mengaktifkan beberapa jalur pensinyalan paralel dan dengan demikian dapat memengaruhi berbagai aspek perilaku sel seperti bentuk, gerakan, metabolisme, dan ekspresi gen. Mengingat kompleksitas sistem respons sinyal,

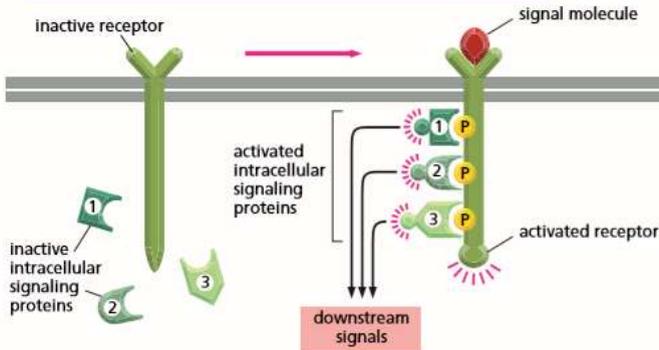
yang sering melibatkan beberapa rantai relai protein pemberi sinyal yang saling berinteraksi, bagaimana sel individu dapat membuat respons spesifik terhadap begitu banyak kombinasi sinyal ekstraseluler yang berbeda? Pertanyaan ini terutama membingungkan karena banyak sinyal terkait erat satu sama lain dan mengikat jenis reseptor yang terkait erat. Jenis protein relai intraseluler yang sama dapat memasang satu subtipe reseptor ke satu set efektor dan subtipe reseptor lainnya ke set efektor lainnya. Dalam kasus seperti itu, bagaimana mungkin untuk mencapai kekhususan dan menghindari cross-talk? Salah satu strategi menggunakan **protein scaffold** (lihat Gambar 17), yang mengikat kelompok-kelompok yang saling berinteraksi protein pensinyalan menjadi *kompleks pensinyalan*, seringkali sebelum sinyal diterima (**Gambar 21A**). Karena perancah memegang protein pensinyalan dalam jarak dekat, komponen dapat berinteraksi pada konsentrasi lokal yang tinggi dan diaktifkan secara berurutan dengan cepat, efisien, dan selektif sebagai respons terhadap sinyal ekstraseluler yang sesuai, menghindari pembicaraan silang yang tidak diinginkan dengan jalur pensinyalan lainnya.

Dalam kasus lain, kompleks pensinyalan hanya terbentuk secara sementara sebagai respons terhadap sinyal ekstraseluler dan cepat membongkar ketika sinyal hilang. Kompleks sementara seperti itu sering berkumpul di sekitar reseptor setelah molekul sinyal ekstraseluler mengaktifkannya. Dalam banyak kasus ini, ekor sitoplasma dari reseptor teraktivasi terfosforilasi selama proses aktivasi, dan asam amino terfosforilasi kemudian berfungsi sebagai tempat dok untuk perakitan protein pensinyalan lainnya (**Gambar 21B**). Dalam kasus lain, aktivasi reseptor mengarah pada produksi molekul fosfolipid yang dimodifikasi (disebut fosfoinositida) dalam membran plasma yang berdekatan, yang kemudian merekrut protein pensinyalan intraseluler spesifik ke daerah membran ini, di mana mereka diaktifkan (**Gambar 21C**).

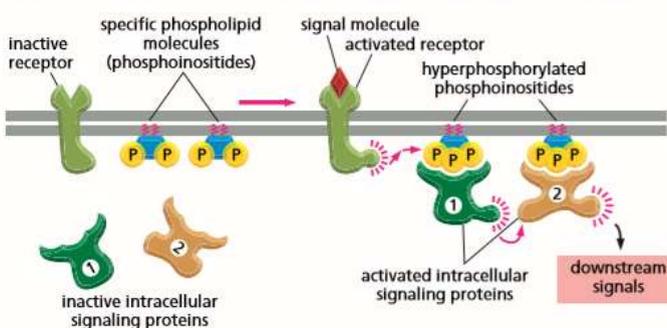
**(A) PREFORMED SIGNALING COMPLEX ON A SCAFFOLD PROTEIN**



**(B) ASSEMBLY OF SIGNALING COMPLEX ON AN ACTIVATED RECEPTOR**



**(C) ASSEMBLY OF SIGNALING COMPLEX ON PHOSPHOINOSITIDE DOCKING SITES**



**Gambar 21. Tiga jenis kompleks pensinyalan intraseluler. (A)** Suatu reseptor dan beberapa protein pensinyalan intraseluler yang

diaktifkan secara berurutan disatukan menjadi kompleks pensinyalan pada reseptor yang tidak aktif oleh protein perancah besar. Dalam kasus lain, kompleks yang dirangkai mengikat reseptor hanya setelah reseptor diaktifkan (tidak ditampilkan). (B) Kompleks pensinyalan berkumpul pada reseptor hanya setelah pengikatan molekul sinyal ekstraselular mengaktifkan reseptor; di sini reseptor teraktivasi memfosforilasi sendiri di beberapa situs, yang kemudian bertindak sebagai situs dok untuk protein pensinyalan intraseluler. (C) Aktivasi reseptor mengarah pada peningkatan fosforilasi fosfolipid spesifik (fosfoinositida) dalam membran plasma yang berdekatan, yang kemudian berfungsi sebagai tempat dok untuk protein pensinyalan intraseluler spesifik, yang sekarang dapat berinteraksi satu sama lain

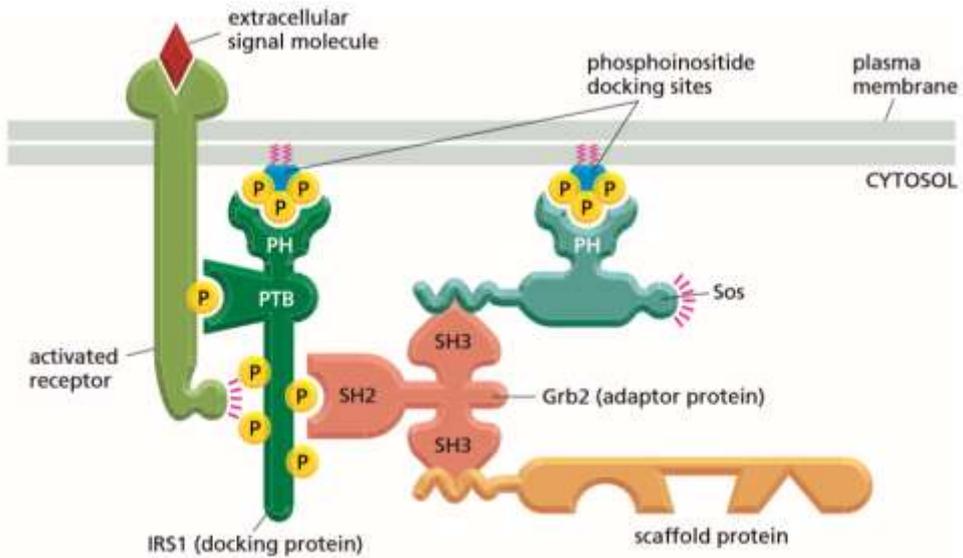
### **Domain Interaksi Modular Memediasi Interaksi Antara Protein Sinyal Intraseluler**

Cukup dengan membawa protein pemberi sinyal intraseluler menjadi berdekatan, terkadang cukup untuk mengaktifkannya. Jadi, *induced proximity*, di mana sinyal memicu perakitan kompleks pensinyalan, biasanya digunakan untuk menyampaikan sinyal dari protein ke protein di sepanjang jalur pensinyalan. Perakitan kompleks pensinyalan seperti itu tergantung pada berbagai **domain interaksi** kecil yang sangat terkonservasi, yang ditemukan dalam banyak protein pensinyalan intraseluler. Masing-masing modul protein kompak ini berikatan dengan motif struktural tertentu dalam molekul protein (atau lipid) lain yang berinteraksi dengan protein pensinyalan. Motif yang dikenali dalam protein yang berinteraksi dapat berupa urutan peptida pendek, modifikasi kovalen (seperti asam amino terfosforilasi atau ubiquitylated), atau domain protein lainnya. Penggunaan domain interaksi modular mungkin memfasilitasi evolusi jalur pensinyalan baru; karena dapat dimasukkan hampir di mana saja dalam protein tanpa mengganggu lipatan atau fungsi protein, domain interaksi baru yang ditambahkan ke protein pensinyalan yang ada dapat menghubungkan protein ke jalur pensinyalan tambahan.

Ada banyak jenis domain interaksi dalam pensinyalan protein. Domain homologi *Src 2 (SH2)* dan *domain pengikat fosfotrosin (PTB)*, misalnya, berikatan dengan tirosin terfosforilasi dalam urutan peptida tertentu pada reseptor teraktivasi atau protein pensinyalan intraseluler. *Src homology 3 (SH3)* domain mengikat urutan asam amino prolin kaya pendek. Beberapa domain *homologi pleckstrin* mengikat kelompok gugus fosfoinositida spesifik yang diproduksi dalam membran plasma sebagai respons terhadap sinyal ekstraseluler; mereka memungkinkan protein tempat mereka berlabuh pada membran dan berinteraksi dengan protein pensinyalan yang direkrut serupa lainnya (lihat Gambar 21C). Beberapa protein pensinyalan hanya terdiri atas dua atau lebih domain interaksi dan berfungsi hanya sebagai **adaptor** untuk menghubungkan dua protein lain bersamaan dalam jalur pensinyalan

Domain interaksi memungkinkan protein pensinyalan untuk saling berikatan dalam beberapa kombinasi spesifik. Seperti bata Lego, protein dapat membentuk rantai linear atau bercabang atau jaringan tiga dimensi, yang menentukan rute yang diikuti oleh jalur pensinyalan. Sebagai contoh, **Gambar 22** menggambarkan bagaimana beberapa domain interaksi berfungsi dalam kasus reseptor untuk hormon *insulin*.

Beberapa reseptor permukaan sel dan protein pensinyalan intraseluler dapat bergabung bersama secara sementara dalam mikrodoman spesifik dalam lipid bilayer membran plasma yang diperkaya dengan kolesterol dan glikolipid (lihat Gambar 10-13). *lipid dalam jumlah besar* ini dapat mempromosikan pensinyalan yang efisien dengan berperan sebagai tempat di mana molekul pensinyalan berkumpul dan berinteraksi, tetapi kepentingannya dalam pensinyalan tetap kontroversial.

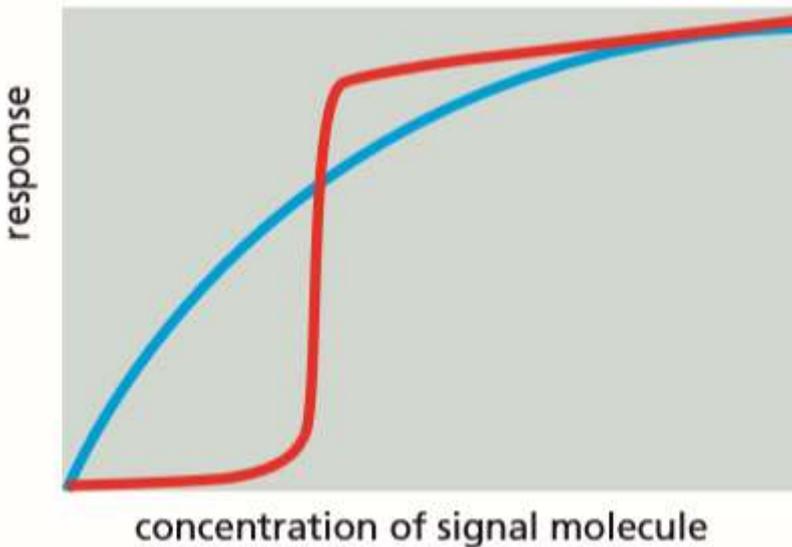


**Gambar 22. Kompleks pensinyalan spesifik yang dibentuk menggunakan domain interaksi modular.** Contoh ini didasarkan pada reseptor insulin, yang merupakan reseptor berpasangan enzim (reseptor tirosin kinase, dibahas kemudian). Pertama, reseptor teraktivasi memfosforilasi sendiri pada tirosin, dan salah satu fosfotirosin kemudian merekrut protein docking yang disebut substrat reseptor insulin1 (IRS1) melalui domain PTB dari IRS1; domain PH IRS1 juga berikatan dengan fosfoinositida spesifik pada permukaan bagian dalam membran plasma. Kemudian, reseptor teraktivasi memfosforilasi IRS1 pada tirosin, dan salah satu fosfotirosin ini merekrut protein adaptor (Grb2) melalui domain SH2 dari Grb2. Selanjutnya, Grb2 menggunakan salah satu dari dua domain SH3 untuk mengikat ke daerah kaya prolin dari protein pengaktif GTPase monomer yang disebut Sos (Ras-GEF, dibahas kemudian), yang juga mengikat fosfoinositida dalam membran plasma melalui domain PH-nya. Grb2 menggunakan domain SH3 lainnya untuk mengikat ke urutan prolinerich dalam protein perancah. Protein scaffold mengikat beberapa protein pensinyalan lainnya, dan tirosin terfosforilasi lainnya pada IRS1 merekrut protein pensinyalan tambahan yang memiliki domain SH2 (tidak diperlihatkan).

Cara lain untuk menyatukan reseptor dan protein pensinyalan intraseluler adalah dengan memekatkannya di wilayah sel tertentu. Contoh penting adalah **silium primer** yang memproyeksikan seperti antena dari permukaan sebagian besar sel vertebrata (dibahas pada Bab 16). Biasanya pendek dan nonmotil dan memiliki mikrotubulus di intinya, dan sejumlah reseptor permukaan dan protein pemberi sinyal terkonsentrasi di sana. Kita akan melihat kemudian bahwa reseptor cahaya dan bau juga sangat terkonsentrasi dalam silia khusus.

**Sel Dapat Menggunakan Berbagai Mekanisme untuk Merespon Mendadak terhadap Konsentrasi Bertambah dari Sinyal Ekstraseluler**

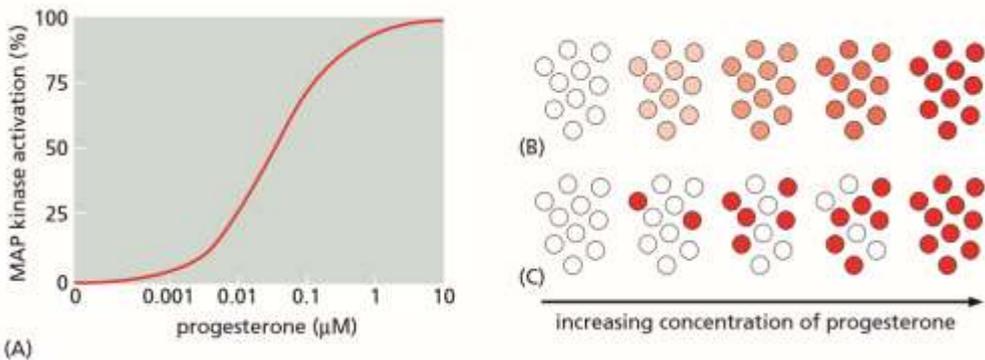
Beberapa respons sel terhadap molekul sinyal ekstraseluler dinilai dengan halus sesuai dengan konsentrasi molekul sinyal. Dalam kasus lain, hubungan antara sinyal dan respons dapat terputus-putus atau tidak ada sama sekali, dengan perubahan mendadak dari satu jenis hasil ke yang lain karena konsentrasi sinyal meningkat di luar nilai tertentu (**Gambar 23**).



**Gambar 23. Respon dinilai dengan halus versus pensinyalan switchlike.** Beberapa respons sel meningkat secara bertahap ketika

konsentrasi molekul sinyal ekstraseluler meningkat (garis biru). Dalam kasus lain, sel yang merespons didorong ke keadaan yang tiba-tiba berbeda ketika kekuatan sinyal meningkat melampaui nilai kritis tertentu (garis merah).

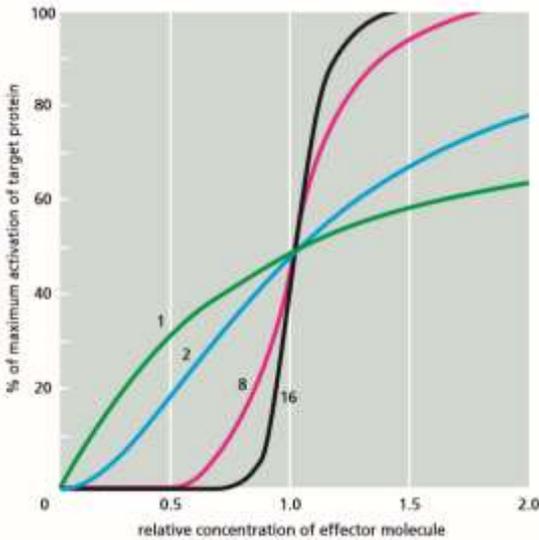
Efek seperti itu sering merupakan hasil dari umpan balik positif dalam sistem respons, seperti yang kita diskusikan di bawah ini. Kedua jenis respons itu umum, dan tidak selalu mudah untuk membedakan di antara mereka. Ketika seseorang mengukur efek suatu sinyal pada seluruh populasi sel, ia mungkin terlihat bertingkat dengan halus, meskipun sel-sel individual mungkin merespons dengan cara semua atau tidak sama sekali tetapi dengan variasi dari sel ke sel dalam konsentrasi sinyal di mana sakelar terjadi; **Gambar 24** menunjukkan contoh.



**Gambar 24 Pentingnya memeriksa sel-sel individu untuk mendeteksi respon all-or-none terhadap peningkatan konsentrasi sinyal ekstraseluler.** Dalam percobaan ini, telur katak yang belum matang (oosit) distimulasi dengan meningkatnya konsentrasi hormon progesteron. Respons dinilai dengan menganalisis aktivasi *MAP* kinase (dibahas kemudian), yang merupakan salah satu protein kinase yang diaktifkan oleh fosforilasi dalam respons. Jumlah *MAP* kinase terfosforilasi (diaktifkan) dalam ekstrak oosit dinilai secara biokimia. Dalam (A), ekstrak populasi oosit terstimulasi dianalisis, dan aktivasi *MAP* kinase terlihat meningkat secara progresif dengan meningkatnya konsentrasi progesteron. Ada dua cara yang mungkin untuk menjelaskan hasil ini: (B) *MAP*

kinase bisa meningkat secara bertahap di setiap sel individu dengan peningkatan konsentrasi progesteron; (C) sebagai alternatif, sel-sel individual dapat merespon dengan cara all-or-nothing, dengan peningkatan bertahap dalam total aktivasi kinase MAP yang mencerminkan meningkatnya jumlah sel yang merespons dengan meningkatnya konsentrasi progesteron. Ketika ekstrak oosit individu dianalisis, ditemukan bahwa sel-sel memiliki jumlah yang sangat rendah atau jumlah yang sangat tinggi, tetapi bukan jumlah menengah, dari kinase teraktivasi, menunjukkan bahwa respon pada dasarnya semua atau tidak sama sekali pada tingkat sel individual. , seperti yang digambarkan dalam (C). (Diadaptasi dari J.E. Ferrell dan E.M. Machleder, *Science* 280: 895-898, 1998. Dengan izin dari AAAS.)

Selain itu, respons yang bertingkat dengan lancar terkadang sangat tergantung pada kekuatan sinyal, memberikan kesan perilaku yang hampir seperti switchlike. Sel menggunakan berbagai mekanisme molekuler untuk mencapai efek seperti itu. Dalam satu mekanisme, lebih dari satu molekul pensinyalan intraseluler harus berikatan dengan protein target hilirnya untuk memicu respons. Seperti yang akan kita bahas nanti, empat molekul dari mediator siklik kecil AMP mediator intraseluler, misalnya, harus terikat secara simultan ke setiap molekul *siklik-AMP-dependen protein kinase* (PKA) untuk mengaktifkan kinase. *Penajaman* respons serupa terlihat ketika aktivasi protein pensinyalan intraseluler membutuhkan fosforilasi di lebih dari satu lokasi. Respons kerja sama seperti itu menjadi lebih tajam karena jumlah molekul yang bekerja sama atau kelompok fosfat meningkat, dan jika jumlahnya cukup besar, responsnya menjadi hampir semua atau tidak sama sekali (**Gambar 25**).



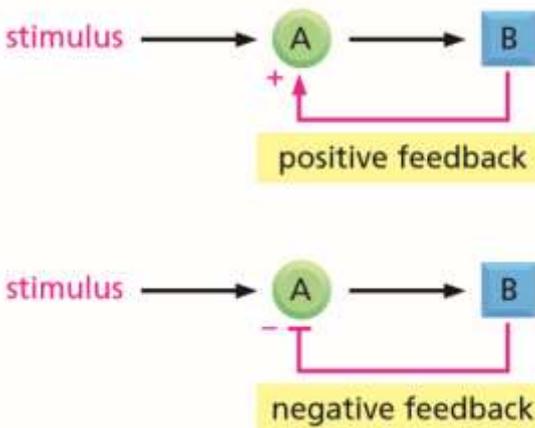
**Gambar 25 Kurva aktivasi untuk protein alosterik sebagai fungsi konsentrasi molekul efektor.** Kurva menunjukkan bagaimana ketajaman respon aktivasi meningkat dengan peningkatan jumlah molekul efektor alosterik yang harus terikat secara bersamaan untuk mengaktifkan protein target. Kurva yang ditunjukkan adalah yang diharapkan, dalam kondisi tertentu, jika aktivasi membutuhkan pengikatan simultan 1, 2, 8, atau 16 molekul efektor

Respons juga dipertajam ketika molekul pensinyalan intraseluler mengaktifkan satu enzim dan, pada saat yang sama, menghambat enzim lain yang mengkatalisis reaksi yang berlawanan. Contoh yang dipelajari dengan baik dari jenis regulasi umum ini adalah stimulasi pemecahan glikogen dalam sel otot rangka yang disebabkan oleh hormon *adrenalin (epinefrin)*. Ikatan Adrenalin pada reseptor permukaan sel yang ditambah protein G meningkatkan konsentrasi intraseluler AMP siklik, yang keduanya mengaktifkan enzim yang meningkatkan pemecahan glikogen dan menghambat enzim yang mendorong sintesis glikogen.

Semua mekanisme ini dapat menghasilkan respons yang sangat curam, tetapi responsnya masih dinilai dengan lancar sesuai dengan konsentrasi molekul sinyal ekstraseluler. Untuk menghasilkan respons benar-benar atau tidak sama sekali, kita perlu mekanisme lain, *umpan balik positif*, seperti yang sekarang kita diskusikan.

## Jaringan Sinyal Intraseluler Biasanya Memanfaatkan Loop Umpan Balik

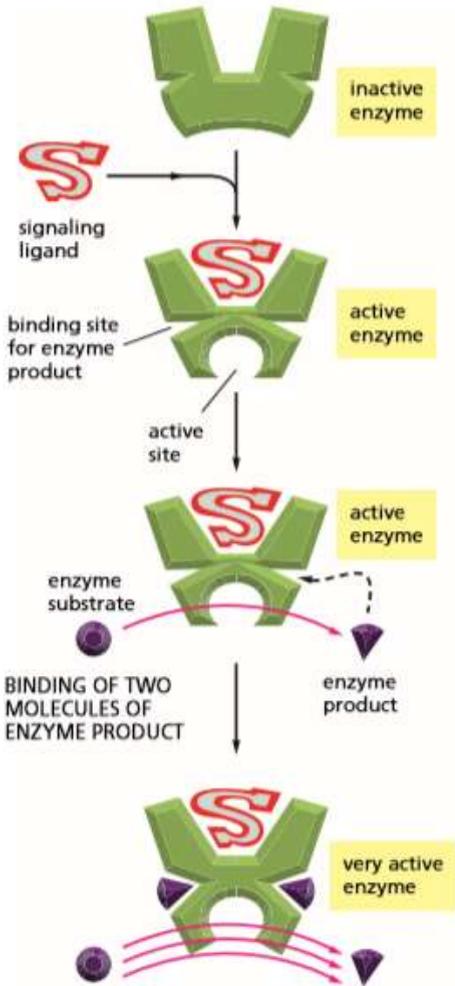
Seperti jalur metabolisme intraseluler (dibahas pada Bab 2), sebagian besar jaringan pensinyalan intraseluler menggabungkan loop umpan balik, di mana output suatu proses bertindak kembali untuk mengatur proses yang sama. Dalam *umpan balik positif*, output merangsang produksinya sendiri; dalam *umpan balik negatif*, output menghambat produksinya sendiri (**Gambar 26**). Putaran umpan balik sangat penting secara umum dalam biologi, dan mereka mengatur banyak proses kimia dan fisik dalam sel. Mereka beroperasi dalam rentang skala waktu yang sangat besar dalam sel, dari milidetik (dalam hal potensi aksi, misalnya lihat Gambar 11–29) hingga berjam-jam (dalam kasus osilasi sirkadian, misalnya lihat Gambar 7–73). Mereka yang mengatur pensinyalan sel dapat beroperasi secara eksklusif di dalam sel target atau melibatkan sekresi sinyal ekstraseluler. Di sini, kami fokus pada loop umpan balik yang beroperasi sepenuhnya di dalam sel target; bahkan loop yang paling sederhana ini dapat menghasilkan efek yang kompleks dan menarik.



**Gambar 26. Umpan balik positif dan negatif.** Dalam contoh-contoh sederhana ini, suatu rangsangan mengaktifkan protein A, yang, pada gilirannya, mengaktifkan protein B. Protein B kemudian bertindak kembali untuk menambah atau mengurangi aktivitas A.

**Umpan balik positif** dalam jalur pensinyalan dapat mengubah perilaku sel yang merespons. Jika umpan balik positif hanya berkekuatan sedang, efeknya hanya akan menajam dan meningkatkan respons terhadap sinyal. Tetapi jika umpan baliknya cukup kuat, itu dapat menghasilkan hasil yang berbeda secara

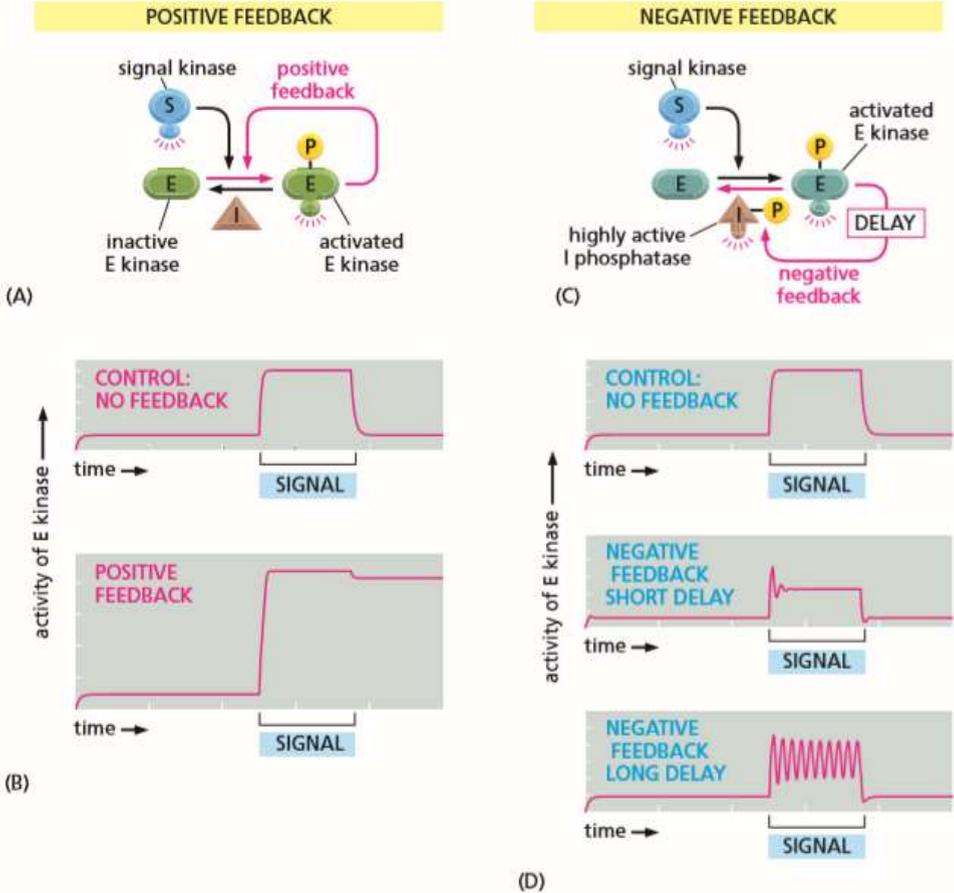
kualitatif: peningkatan kuantitas produk ketika sinyal meningkat di atas nilai kritis, yang mengarah ke tingkat mantap baru produksi yang sangat berbeda dari yang diperoleh ketika sinyal hanya sedikit lebih lemah (**Gambar 27**).



**Gambar 27. Mekanisme umpan balik positif memberikan perilaku seperti saklar.** Dalam contoh ini, molekul pensinyalan intraseluler (ligan) mengaktifkan enzim yang terletak di hilir dalam jalur pensinyalan. Dua molekul produk dari reaksi enzimatik mengikat kembali ke enzim yang sama untuk mengaktifkannya lebih lanjut. Konsekuensinya adalah tingkat sintesis produk yang sangat rendah tanpa adanya ligan. Laju meningkat perlahan dengan konsentrasi ligan sampai, pada tingkat ambang tertentu ligan, cukup produk telah disintesis untuk mengaktifkan enzim dengan cara yang dapat mempercepat dan mempercepat sendiri. Konsentrasi produk kemudian meningkat dengan cepat ke tingkat yang jauh lebih tinggi.

Jenis respon semua-atau-tidak ada ini berjalan seiring dengan properti lebih lanjut: setelah sistem merespons beralih ke tingkat aktivasi yang tinggi, kondisi ini dapat bertahan sendiri dan dapat bertahan bahkan setelah kekuatan sinyal turun kembali di bawah kritisnya nilai. Dalam kasus seperti itu, sistem dikatakan *bistable*: ia dapat eksis dalam kondisi "nonaktif" atau "aktif", dan stimulus sementara dapat membalikkannya dari satu kondisi ke kondisi

lainnya (**Gambar 28A dan B**). Sel menggunakan loop umpan balik positif dari jenis ini untuk membuat keputusan stabil semua atau tidak sama sekali, terutama selama pengembangan, ketika sel di posisi yang berbeda harus memilih antara jalur perkembangan alternatif dalam menanggapi sinyal posisi yang dinilai halus (morfogen), seperti yang dibahas sebelumnya. Melalui umpan balik positif, sinyal ekstraselular transien sering dapat menginduksi perubahan jangka panjang dalam sel dan keturunannya yang dapat bertahan selama masa hidup organisme. Sinyal-sinyal yang memicu spesifikasi sel otot, misalnya, mengaktifkan transkripsi serangkaian gen yang mengkode protein pengatur gen spesifik otot, yang merangsang transkripsi gen mereka sendiri, serta gen yang mengkode berbagai protein sel otot lainnya; dengan cara ini, keputusan untuk menjadi sel otot dibuat permanen (lihat Gambar 7-75). Jenis memori sel ini bergantung pada umpan balik positif adalah salah satu cara dasar di mana sel dapat mengalami perubahan karakter yang langgeng tanpa ada perubahan dalam urutan DNA-nya; dan keadaan yang diubah ini dapat diteruskan ke sel anak. Mekanisme pewarisan seperti itu disebut *epigenetik*, berbeda dengan mekanisme genetik yang melibatkan mutasi DNA, dan mereka dibahas lebih lengkap dalam Bab 7 (lihat Gambar 7-86).



**Gambar 28. Beberapa efek umpan balik sederhana.** Grafik menunjukkan efek yang dihitung dari loop umpan balik positif dan negatif sederhana. Dalam setiap kasus, sinyal input adalah protein kinase aktif (S) yang memfosforilasi dan dengan demikian mengaktifkan protein kinase (E) lainnya; protein fosfatase (I) mengalami defosforilasi dan menonaktifkan E kinase teraktivasi. Dalam grafik, garis merah menunjukkan aktivitas E kinase dari waktu ke waktu; bilah biru yang mendasarinya menunjukkan waktu di mana sinyal input (S kinase diaktifkan) hadir. (A) Diagram dari loop umpan balik positif, di mana E kinase teraktivasi bertindak kembali untuk mempromosikan fosforilasi dan aktivasi sendiri; aktivitas dasar dari dephosphorylates I phosphatase mengaktifkan E pada laju rendah yang stabil. (B) Grafik atas menunjukkan bahwa, tanpa umpan balik, aktivitas E kinase hanya proporsional (dengan jeda pendek) ke tingkat stimulasi oleh S kinase. Grafik bawah

menunjukkan bahwa, dengan loop umpan balik positif, sistemnya dapat dipertahankan (yaitu, ia mampu berada di salah satu dari dua kondisi stabil): stimulasi sementara oleh S kinase mengubah sistem dari keadaan "mati" menjadi "pada" negara, yang kemudian berlanjut setelah stimulus telah dihapus. (C) Diagram dari loop umpan balik negatif, di mana E kinase teraktifasi fosforilasi dan mengaktifkan I fosfatase, dengan demikian meningkatkan laju di mana fosfatase mendeposforilasi dan menonaktifkan inisiasi E kinase terfosforilasi. Grafik teratas menunjukkan, sekali lagi, respons dalam aktivitas E kinase tanpa umpan balik. Grafik lain menunjukkan efek pada aktivitas E kinase dari umpan balik negatif yang beroperasi setelah penundaan pendek atau panjang. Dengan penundaan singkat, sistem menunjukkan respons singkat yang kuat ketika sinyal tiba-tiba berubah, dan umpan balik kemudian mendorong respons kembali ke tingkat yang lebih rendah. Dengan penundaan yang lama, umpan balik menghasilkan osilasi yang berkelanjutan selama stimulus hadir.

Perubahan kecil dalam detail umpan balik dapat secara radikal mengubah cara sistem merespons, bahkan untuk contoh yang sangat sederhana ini; angka tersebut hanya menunjukkan sedikit sampel perilaku yang mungkin.

Berbeda dengan umpan balik positif, **loop umpan balik negatif** menangkalkan efek stimulus dan dengan demikian menyingkatkan dan membatasi tingkat respons, membuat sistem kurang sensitif terhadap gangguan. Namun, seperti umpan balik positif, fenomena yang berbeda secara kualitatif dapat diperoleh ketika umpan balik beroperasi lebih kuat. Umpan balik negatif yang tertunda dengan penundaan yang cukup lama dapat menghasilkan respons yang berosilasi. Osilasi dapat bertahan selama stimulus hadir (Gambar 28C) atau bahkan dapat dihasilkan secara spontan, tanpa perlu sinyal eksternal untuk menggerakkannya (lihat Gambar 22–82). Kemudian dalam bab ini, kita akan menemukan sejumlah contoh perilaku osilasi seperti itu dalam respons intraseluler terhadap sinyal ekstraseluler; semuanya tergantung pada umpan balik negatif.

Jika umpan balik negatif beroperasi dengan penundaan singkat, sistem berperilaku seperti detektor perubahan. Ini memberikan respons yang kuat terhadap suatu rangsangan, tetapi respons itu dengan cepat meluruh bahkan ketika rangsangan itu tetap ada; Namun, jika stimulus tiba-tiba meningkat, sistem merespons dengan kuat lagi, tetapi, sekali lagi, responsnya cepat meluruh. Ini adalah fenomena adaptasi, yang sekarang kita bahas

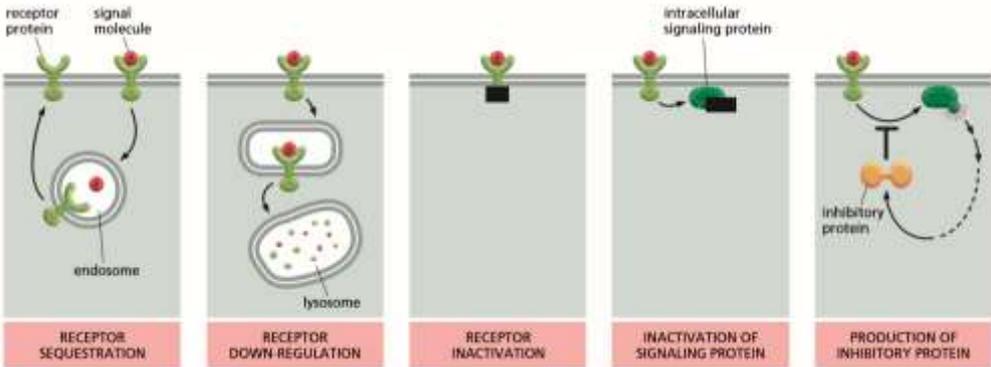
### Sel Dapat Menyesuaikan Sensitivitasnya Terhadap Sinyal

Dalam menanggapi banyak jenis rangsangan, sel dan organisme mampu mendeteksi persentase perubahan sinyal yang sama dalam rentang kekuatan rangsangan yang sangat luas. Sel-sel target mencapai ini melalui proses **adaptasi atau desensitisasi** yang dapat dibalikkan, di mana paparan stimulus yang berkepanjangan mengurangi respons sel terhadap tingkat stimulus tersebut. Dalam **pensinyalan** kimia, adaptasi memungkinkan sel untuk merespons perubahan dalam konsentrasi molekul sinyal ekstraseluler (daripada konsentrasi absolut sinyal) pada rentang konsentrasi sinyal yang sangat luas. Mekanisme yang mendasarinya adalah umpan balik negatif yang beroperasi dengan penundaan pendek: respons yang kuat memodifikasi mesin pensinyalan yang terlibat, sehingga mesin tersebut menyetel ulang dirinya sendiri menjadi kurang responsif terhadap tingkat sinyal yang sama (lihat Gambar 28D, grafik tengah). Namun, karena keterlambatan, peningkatan sinyal yang tiba-tiba dapat merangsang sel lagi untuk waktu yang singkat sebelum umpan balik negatif memiliki waktu untuk memulai.

Desensitisasi terhadap molekul sinyal dapat terjadi dengan berbagai cara. Ini dapat terjadi karena inaktivasi reseptor itu sendiri. Pengikatan molekul sinyal dengan reseptor permukaan sel, misalnya, dapat menginduksi endositosis dan sekuestrasi sementara reseptor dalam endosom. Dalam beberapa kasus, endositosis reseptor yang diinduksi sinyal tersebut mengarah pada penghancuran reseptor di lisosom, suatu proses yang disebut sebagai *reseptor down-regulation* (dalam kasus lain, bagaimanapun, reseptor yang diaktifkan terus memberi sinyal setelah mereka telah endositosis, seperti yang kita diskusikan). Reseptor juga

dapat menjadi tidak peka (tidak aktif) pada permukaan sel — misalnya, dengan menjadi terfosforilasi atau termetilasi — dengan penundaan singkat setelah aktivasi. Desensitisasi juga dapat terjadi di lokasi hilir reseptor, baik dengan perubahan protein pensinyalan intraseluler yang terlibat dalam transduksi sinyal ekstraseluler atau oleh produksi protein penghambat yang menghambat proses transduksi sinyal. Berbagai mekanisme desensitisasi ini dibandingkan pada **Gambar 29**.

Setelah membahas beberapa prinsip umum pensinyalan sel, kita selanjutnya beralih ke reseptor berpasangan G-protein, yang sejauh ini merupakan kelas reseptor permukaan sel terbesar, yang memediasi respons terhadap jenis sinyal ekstraseluler yang paling beragam.



**Gambar 29.** Beberapa cara di mana sel target dapat menjadi peka (d disesuaikan) dengan molekul sinyal ekstraseluler. Mekanisme yang ditampilkan di sini yang beroperasi pada tingkat reseptor sering melibatkan fosforilasi atau ubiquitylation dari protein reseptor. Namun, pada kemotaksis bakteri, yang akan kita diskusikan nanti, adaptasi bergantung pada metilasi protein reseptor.

**Ringkasan**

*Setiap sel pada hewan multisel telah diprogram selama pengembangan untuk merespons serangkaian molekul sinyal ekstraseluler yang diproduksi oleh sel lain. Molekul sinyal bekerja dalam berbagai kombinasi untuk mengatur perilaku sel. Sebagian besar molekul sinyal bertindak sebagai mediator lokal, yang disekresikan dan kemudian dengan*

cepat diambil, dihancurkan, atau diimobilisasi, sehingga mereka hanya bertindak pada sel tetangga. Molekul sinyal lain tetap terikat pada permukaan sel pensinyalan dan memediasi pensinyalan yang bergantung pada kontak. Ada juga dua jenis pensinyalan jarak jauh yang berbeda. Dalam pensinyalan endokrin, hormon yang disekresikan oleh sel endokrin dibawa dalam darah untuk menargetkan sel di seluruh tubuh. Dalam pensinyalan sinaptik, neurotransmitter yang disekresikan oleh akson sel saraf bekerja secara lokal pada sel postsinaptik yang kontak dengan akson.

Pensinyalan sel tidak hanya membutuhkan molekul sinyal ekstraseluler tetapi juga satu set protein reseptor komplementer yang diekspresikan oleh sel target yang secara spesifik mengikat molekul sinyal. Beberapa molekul sinyal hidrofobik kecil, termasuk hormon steroid dan tiroid, berdifusi melintasi membran plasma sel target dan mengaktifkan protein reseptor intraseluler yang secara langsung mengatur transkripsi gen tertentu. Gas terlarut nitrat oksida dan karbon monoksida bertindak sebagai mediator lokal dengan berdifusi melintasi membran plasma sel target dan mengaktifkan protein intraseluler seperti enzim guanylyl cyclase, yang menghasilkan GMP siklik dalam sel target. Tetapi sebagian besar molekul sinyal ekstraseluler bersifat hidrofilik dan tidak dapat melewati membran plasma, *act as signal transducers, converting the extracellular signal into intracellular ones that alter the behavior of the target cell.*

Tiga kelompok terbesar reseptor permukaan sel mentransduksi sinyal ekstraseluler dengan cara yang berbeda. Ion-channel-coupled reseptor adalah saluran ion gated-transmitter yang membuka atau menutup secara singkat sebagai tanggapan terhadap pengikatan neurotransmitter. Reseptor yang berpasangan-G secara tidak langsung mengaktifkan atau menonaktifkan enzim yang terikat membran plasma atau saluran ion melalui protein pengikat GTP trimerik (protein G). Reseptor yang berpasangan dengan enzim bertindak langsung sebagai enzim atau berhubungan dengan enzim, enzim ini biasanya protein kinase yang memfosforilasi reseptor dan protein pensinyalan khusus dalam sel target.

Setelah diaktifkan, reseptor berpasangan G-protein dan reseptor berpasangan enzim menyampaikan sinyal ke interior sel dengan mengaktifkan rantai protein pensinyalan intraseluler. Beberapa protein pensinyalan ini mentransduksi, memperkuat, atau menyebarkan sinyal ketika mereka menyampaikannya, sementara yang lain mengintegrasikan

*sinyal dari jalur pensinyalan berbeda. Beberapa berfungsi sebagai sakelar yang diaktifkan secara sementara oleh fosforilasi atau pengikatan GTP. Kompleks pensinyalan besar terbentuk melalui domain interaksi modular dalam protein pensinyalan, yang memungkinkan protein membentuk jaringan pensinyalan fungsional.*

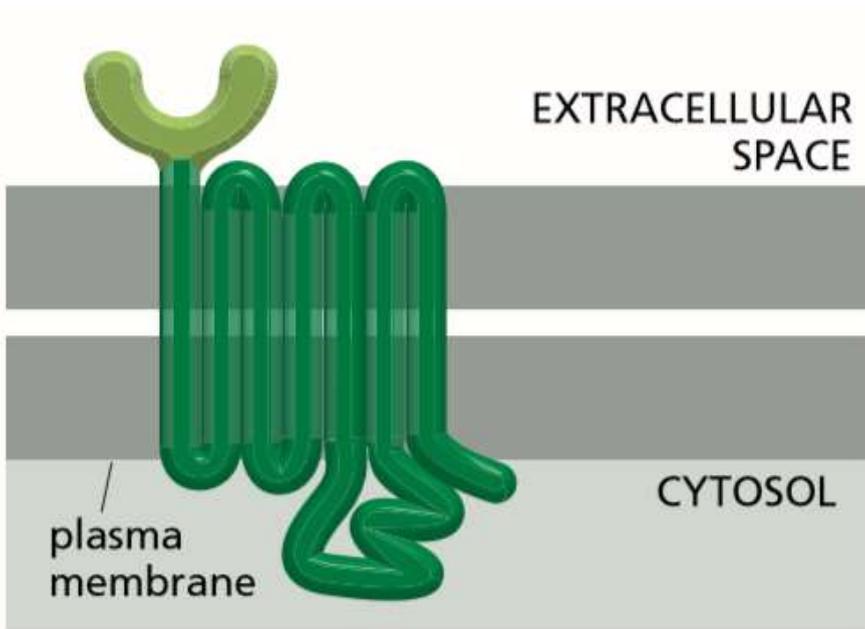
*Sel target menggunakan berbagai mekanisme intraseluler, termasuk loop umpan balik, untuk menyesuaikan cara mereka merespons sinyal ekstraseluler. Loop umpan balik positif dapat membantu sel untuk merespons dengan cara all-or-none untuk peningkatan konsentrasi sinyal ekstraseluler secara bertahap atau untuk mengubah sinyal jangka pendek menjadi respons jangka panjang, atau bahkan ireversibel. Umpan balik negatif yang tertunda memungkinkan sel untuk menurunkan sensitivitas terhadap molekul sinyal, yang memungkinkan mereka untuk merespons perubahan kecil dalam konsentrasi molekul sinyal pada rentang konsentrasi besar.*

## **PENANDAAN MELALUI G-PROTEIN-COUPLED RECEPTORS SELF (GPCR) DAN MEDIATOR INTRASELULER KECIL**

Semua eucaryotes menggunakan reseptor **G-protein-coupled (GPCRs)**. Ini membentuk keluarga terbesar reseptor permukaan sel, dan mereka memediasi sebagian besar respons terhadap sinyal dari dunia luar, serta sinyal dari sel lain, termasuk hormon, neurotransmitter, dan mediator lokal. Indera penglihatan, penciuman, dan rasa kita (dengan kemungkinan pengecualian rasa asam) bergantung padanya. Ada lebih dari 700 GPCR pada manusia, dan pada tikus ada sekitar 1000 yang berkaitan dengan indera penciuman saja. Molekul sinyal yang bekerja pada GPCR memiliki struktur yang beragam sebagaimana fungsinya dan termasuk protein dan peptida kecil, serta turunan dari asam amino dan asam lemak, belum lagi foton cahaya dan semua molekul yang dapat kita cium atau rasa. Molekul sinyal yang sama dapat mengaktifkan banyak anggota keluarga GPCR yang berbeda; misalnya, adrenalin mengaktifkan setidaknya 9 GPCR berbeda, asetilkolin 5 lainnya, dan neurotransmitter serotonin setidaknya 14. Reseptor yang berbeda untuk sinyal yang sama biasanya

diekspresikan dalam jenis sel yang berbeda dan mendapat respons yang berbeda.

Terlepas dari keragaman kimia dan fungsional molekul sinyal yang mengaktifkannya, semua GPCR memiliki struktur yang serupa. Mereka terdiri dari rantai polipeptida tunggal yang berulir bolak-balik melintasi lipid bilayer tujuh kali (**Gambar 30**). Selain orientasi karakteristik mereka di membran plasma, mereka semua menggunakan protein G untuk menyampaikan sinyal ke bagian dalam sel.



**Gambar 30 A G-protein-coupled receptor (GPCR).** GPCR yang mengikat ligan protein memiliki domain ekstraseluler besar yang dibentuk oleh bagian rantai polipeptida yang ditunjukkan dengan warna hijau muda. Domain ini, bersama dengan beberapa segmen transmembran, mengikat ligan protein. Reseptor untuk ligan kecil seperti adrenalin memiliki domain ekstraseluler kecil, dan ligan biasanya mengikat jauh di dalam bidang membran ke situs yang dibentuk oleh asam amino dari beberapa segmen transmembran.

Superfamili GPCR termasuk *rhodopsin*, protein yang diaktifkan cahaya pada mata vertebrata, serta sejumlah besar

reseptor penciuman di hidung vertebrata. Anggota keluarga lainnya ditemukan dalam organisme bersel tunggal: reseptor dalam ragi yang mengenali faktor kawin yang disekresikan adalah contohnya. Sangat mungkin bahwa GPCR yang memediasi pensinyalan sel-sel pada organisme multisel berevolusi dari reseptor sensorik pada nenek moyang eucariotik uniseluler mereka.

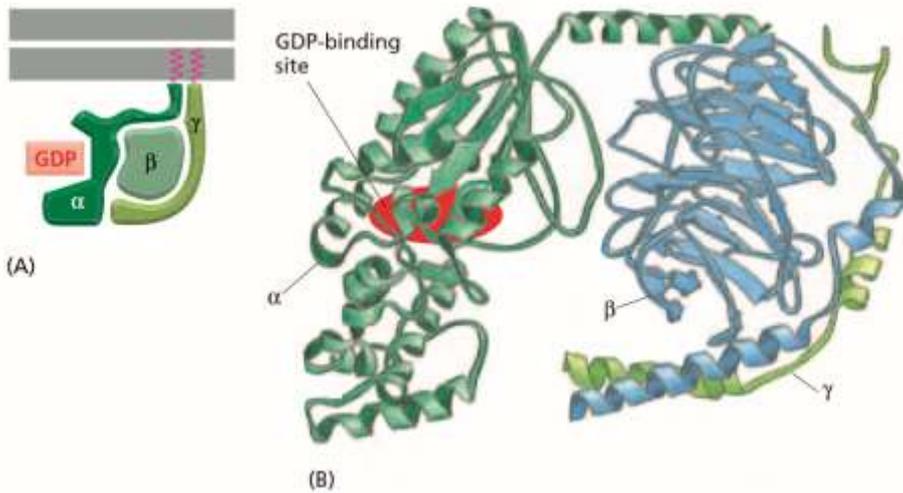
Sungguh luar biasa bahwa sekitar setengah dari semua obat yang diketahui bekerja melalui GPCR atau jalur pensinyalan yang diaktifkan GPCR. Dari ratusan gen dalam genom manusia yang menyandikan GPCR, sekitar 150 menyandikan reseptor anak yatim, yang ligananya tidak diketahui. Banyak dari mereka kemungkinan sasaran untuk obat baru yang masih harus ditemukan.

### Sinyal Relay Protein Trimerik dari GPCR

Ketika molekul sinyal ekstraseluler berikatan dengan GPCR, reseptor mengalami perubahan konformasi yang memungkinkannya mengaktifkan **protein pengikat GTP trimerik (protein G)**. Protein G melekat pada permukaan sitoplasma membran plasma, di mana ia secara fungsional memasang reseptor dengan enzim atau saluran ion dalam membran ini. Dalam beberapa kasus, protein G secara fisik berhubungan dengan reseptor sebelum reseptor diaktifkan, sedangkan pada yang lain hanya mengikat setelah aktivasi reseptor. Ada berbagai jenis protein G, masing-masing spesifik untuk set GPCR tertentu dan untuk set protein target tertentu dalam membran plasma. Mereka semua memiliki struktur yang serupa, dan beroperasi dengan cara yang sama.

Protein G terdiri dari tiga subunit protein  $\alpha$ ,  $\beta$ , dan  $\gamma$ . Dalam keadaan tidak distimulasi, subunit memiliki batas GDP dan protein G tidak aktif (**Gambar 31**). Ketika GPCR diaktifkan, ia bertindak seperti faktor pertukaran nukleotida guanin (GEF) dan  $\alpha$  menginduksi subunit untuk melepaskan GDP terikatnya, memungkinkan GTP mengikat di tempatnya. Pertukaran ini menyebabkan perubahan konformasi besar dalam protein G, yang mengaktifkannya. Awalnya dianggap bahwa aktivasi selalu

menyebabkan trimer terdisosiasi menjadi dua komponen yang diaktifkan  $\alpha$  subunit dan  $\beta \gamma$  kompleks. Namun, sekarang ada bukti bahwa, dalam beberapa kasus setidaknya, perubahan konformasi mengekspos permukaan yang sebelumnya terkubur antara subunit  $\alpha$  dan kompleks  $\beta \gamma$ , sehingga kompleks subunit dan  $\beta \gamma$  masing-masing sekarang dapat berinteraksi dengan target mereka tanpa memerlukan subunit untuk terdisosiasi (**Gambar 32**). Target-target ini adalah enzim atau saluran ion dalam membran plasma yang meneruskan sinyal ke depan.

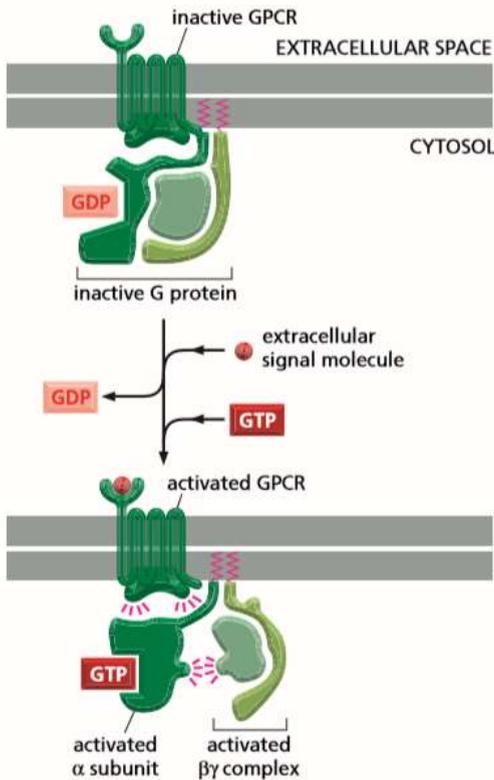


**Gambar 31 Struktur protein G tidak aktif.** (A) Perhatikan bahwa kedua  $\alpha$  dan  $\beta$  subunit secara kovalen telah menempel molekul lipid (merah) yang membantu mengikat mereka ke membran plasma, dan  $\alpha$  subunit memiliki ikatan GDP. (B) Struktur tiga dimensi protein G tidak aktif, berdasarkan transdusin, protein G yang beroperasi dalam transduksi visual (dibahas kemudian).  $\alpha$  subunit berisi domain GTPase dan mengikat ke satu sisi  $\beta$  subunit, yang mengunci domain GTPase dalam konformasi tidak aktif yang mengikat GDP.  $\gamma$  subunit mengikat ke sisi yang berlawanan dari  $\beta$  subunit,  $\beta$  dan  $\gamma$  subunit bersama-sama membentuk unit fungsional tunggal. (B, berdasarkan D. G. Lombricht et al., Nature 379: 311–319, 1996. Dengan izin dari Macmillan Publishers Ltd.)

Subunit  $\alpha$  adalah GTPase, dan begitu ia menghidrolisis GTP terikatnya ke GDP, ia menjadi tidak aktif. Waktu di mana protein G tetap aktif tergantung pada seberapa cepat subunit menghidrolisis

GTP yang terikat. Waktu ini biasanya singkat karena aktivitas GTPase sangat ditingkatkan dengan pengikatan  $\alpha$  subunit dengan protein kedua, yang dapat berupa protein target atau **pengatur spesifik pensinyalan protein G (RGS)**. Protein RGS bertindak sebagai  $\alpha$  subunit-protein pengaktif GTPase (GAPs) spesifik (lihat Gambar 19), dan mereka membantu mematikan respons yang dimediasi Gprotein di semua eucaryotes. Ada sekitar 25 protein RGS yang dikodekan dalam genom manusia, yang masing-masing berinteraksi dengan satu set protein G tertentu.

GPCRs mengaktifkan berbagai jalur pensinyalan intraseluler, termasuk beberapa yang juga diaktifkan oleh reseptor yang ditambah enzim. Namun, pada bagian ini, kami fokus pada jalur yang diaktifkan GPCR yang menggunakan mediator intraseluler kecil.

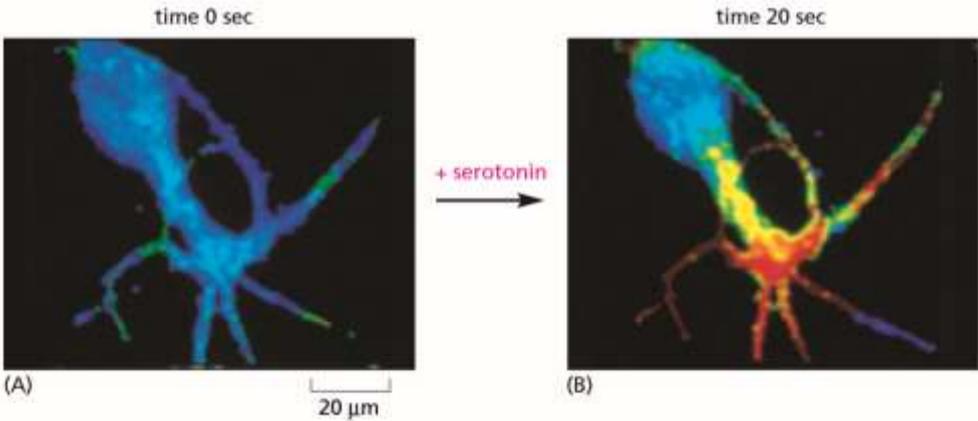


**Gambar 32. Aktivasi protein G oleh GPCR yang diaktifkan.** Pengikatan sinyal ekstraseluler ke GPCR mengubah konformasi reseptor, yang pada gilirannya mengubah konformasi protein G. Perubahan  $\alpha$  subunit dari protein G memungkinkannya untuk menukar GDP nya dengan GTP, mengaktifkan kedua  $\alpha$  subunit dan  $\beta\gamma$  kompleks, yang keduanya dapat mengatur aktivitas protein target dalam membran plasma. Reseptor tetap aktif ketika molekul sinyal eksternal terikat padanya, dan karena itu dapat mengkatalisis aktivasi banyak molekul protein G, yang terlepas dari reseptor setelah diaktifkan (tidak ditampilkan). Dalam beberapa kasus,  $\alpha$  subunit dan  $\beta\gamma$  complex terpisah satu sama lain ketika protein G diaktifkan

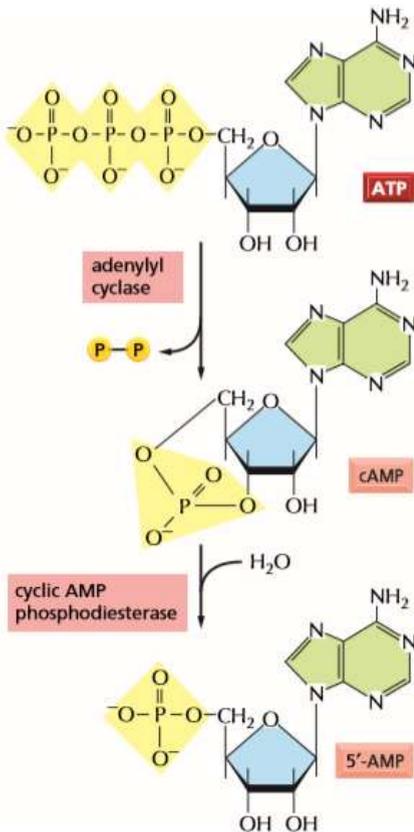
## Beberapa G Protein Mengatur Produksi AMP Siklik

**Cyclic AMP (cAMP)** bertindak sebagai mediator intraseluler kecil di semua sel procaryotic dan hewan yang telah dipelajari. Konsentrasi normalnya dalam sitosol adalah sekitar  $10^{-7}$  M, tetapi sinyal ekstraseluler dapat meningkatkan konsentrasi ini lebih dari dua kali lipat dalam hitungan detik (**Gambar 33**). Seperti yang dijelaskan sebelumnya (lihat Gambar 11), respons cepat semacam itu membutuhkan penyeimbangan sintesis molekul yang cepat dengan pemecahan atau penghilangannya yang cepat. AMP siklik disintesis dari ATP oleh enzim **adenylyl cyclase** yang terikat membran plasma, dan secara cepat dan terus menerus dihancurkan oleh **AMP siklik fosfodiesterase** yang menghidrolisis AMP siklik menjadi adenosin 5'-monofosfat (5' -AMP) (**Gambar 34**).

Banyak sinyal molekul ekstraseluler bekerja dengan meningkatkan konsentrasi AMP siklik, dan mereka melakukannya dengan meningkatkan aktivitas adenylyl cyclase terhadap latar belakang aktivitas fosfodiesterase yang stabil. Adenylyl cyclase adalah protein transmembran multipas besar dengan domain katalitiknya di sisi sitosolik membran plasma. Setidaknya ada delapan isoform pada mamalia, yang sebagian besar diregulasi oleh protein G dan  $Ca^{2+}$ . GPCR yang bertindak dengan meningkatkan AMP siklik digabungkan ke **protein G stimulasi (Gs)**, yang mengaktifkan adenylyl cyclase dan dengan demikian meningkatkan konsentrasi AMP siklik. Protein G lainnya, yang disebut **protein G penghambat (Gi)**, menghambat adenylyl cyclase, tetapi ia bertindak terutama dengan secara langsung mengatur saluran ion (seperti yang akan kita bahas nanti).



**Gambar 33. Peningkatan AMP siklik sebagai respons terhadap sinyal ekstraseluler.** Sel saraf ini dalam kultur merespons neurotransmitter serotonin, yang bertindak melalui GPCR untuk menyebabkan peningkatan cepat dalam konsentrasi intraseluler AMP siklik. Untuk memantau tingkat AMP siklik, sel telah dimuat dengan protein fluorescent yang mengubah fluoresensi ketika mengikat AMP siklik. *Biru* menunjukkan tingkat rendah AMP siklik, *kuning* tingkat menengah, dan *merah* tingkat tinggi. (A) Dalam sel istirahat, tingkat AMP siklik sekitar  $5 \times 10^{-8}$  M. (B) Dua puluh detik setelah penambahan serotonin ke media kultur, tingkat intraseluler AMP siklik telah meningkat menjadi lebih dari  $10^{-6}$  M di bagian sel yang relevan, meningkat lebih dari dua puluh kali lipat. (Dari Brian J. Bacskai et al., Science 260: 222–226, 1993. Dengan izin dari AAAS.)



**Gambar 34. Sintesis dan degradasi AMP siklik.** Dalam reaksi yang dikatalisis oleh enzim adenylyl cyclase, AMP siklik (cAMP) disintesis dari ATP melalui reaksi siklisasi yang menghilangkan dua gugus fosfat sebagai pirofosfat (R-R); pirofosfatase menggerakkan sintesis ini dengan menghidrolisis pirofosfat yang dilepaskan menjadi fosfat (tidak ditunjukkan). AMP siklik berumur pendek (tidak stabil) di dalam sel karena dihidrolisis oleh fosfodiesterase spesifik untuk membentuk 5'-AMP, seperti yang ditunjukkan.

Baik G<sub>s</sub> dan G<sub>i</sub> adalah target untuk beberapa racun bakteri penting secara medis. *Toksin kolera*, yang diproduksi oleh bakteri penyebab kolera, adalah enzim yang mengkatalisis transfer ADP ribosa dari intraseluler NAD<sup>+</sup> ke subunit G<sub>s</sub>. Ribosilasi ADP ini mengubah subunit α sehingga tidak dapat lagi menghidrolisis GTP terikatnya, menyebabkannya tetap dalam keadaan aktif yang menstimulasi adenylyl cyclase tanpa batas. Peningkatan berkepanjangan dalam konsentrasi AMP siklik dalam sel epitel usus menyebabkan pengeluaran besar Cl<sup>-</sup> dan air ke dalam usus, sehingga menyebabkan diare parah yang menjadi ciri kolera. *Racun pertusis*, yang dibuat oleh bakteri yang menyebabkan pertusis (batuk rejan), mengkatalisis ribosilasi ADP dari subunit G<sub>i</sub>, mencegah protein berinteraksi dengan reseptor; Akibatnya, protein G mempertahankan GDP terikatnya dan tidak mampu mengatur protein targetnya. Kedua racun ini banyak digunakan dalam eksperimen untuk menentukan apakah respons yang bergantung pada GPCR sel terhadap sinyal dimediasi oleh G<sub>s</sub> atau G<sub>i</sub>.

Beberapa respon yang dimediasi oleh peningkatan stimulasi AMP siklik dalam  $G_s$  tercantum pada **Tabel 1**. Seperti yang ditunjukkan tabel, jenis sel yang berbeda merespons secara berbeda terhadap peningkatan konsentrasi AMP siklik, dan satu jenis sel sering merespons dengan cara yang sama untuk peningkatan tersebut, terlepas dari sinyal ekstraseluler yang menyebabkannya. Setidaknya empat hormon mengaktifkan adenyl cyclase dalam sel lemak, misalnya, dan semuanya menstimulasi pemecahan trigliserida (bentuk penyimpanan lemak) menjadi asam lemak (lihat Tabel 1).

Individu yang secara genetik kekurangan  $\alpha$  subunit  $G_s$  tertentu menunjukkan respon yang menurun terhadap hormon tertentu. Akibatnya, orang-orang ini menunjukkan kelainan metabolisme, memiliki perkembangan tulang yang tidak normal, dan mengalami keterbelakangan mental.

**Tabel 1. Beberapa Respons Sel yang Diinduksi Hormon yang Dimediasi oleh AMP Siklik**

JARINGAN TARGET	HORMON	TANGGAPAN UTAMA
Kelenjar Tiroid	Hormon Perangsang Tiroid (TSH)	Sintesis dan Sekresi Hormon Tiroid
Korteks Adrenal	Hormon Adrenokortikotropik (ACTH)	Sekresi Kortisol
Indung Telur	Hormon Luteinizing (LH)	Sekresi Progesteron
Otot	Adrenalin	Pemecahan Glikogen
Tulang	Parathormon	Resorpsi tulang
Jantung	Adrenalin	Peningkatan detak jantung dan kekuatan kontraksi

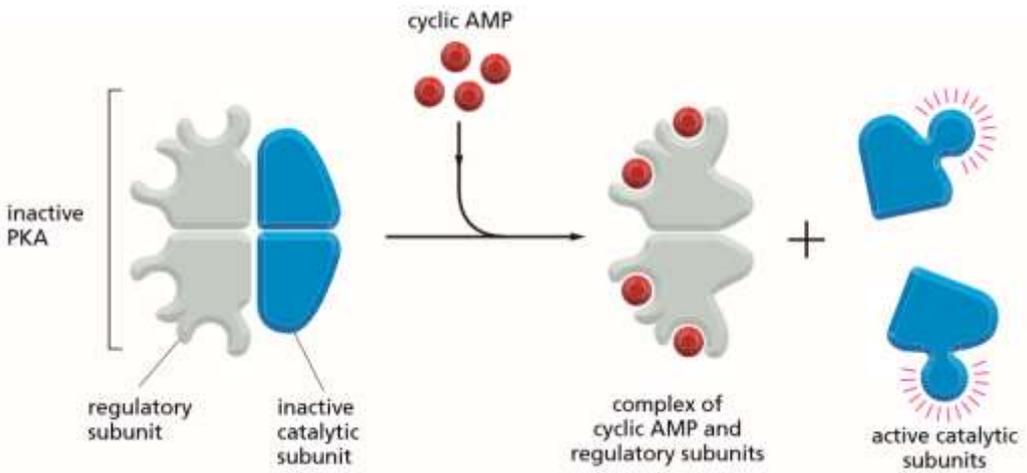
Hati	Glukagon	Glikogen kerusakan
Ginjal	Vasopresin	Resorpsi air
Lemak	Adrenalin, ACTH, Glukagon, TSH	Kerusakan Trigliserida

### Cyclic-AMP-Dependent Protein Kinase (PKA) Memediasi Sebagian Besar Efek Cyclic AMP

Pada sebagian besar sel hewan, AMP siklik memberikan efeknya terutama dengan mengaktifkan **protein kinase** yang bergantung pada **cyclicAMP (PKA)**. Serin atau treonin spesifik fosforilates kinase ini pada protein target terpilih, termasuk protein pensinyalan intraseluler dan protein efektor, dengan demikian mengatur aktivitasnya. Protein target berbeda dari satu jenis sel ke jenis sel lainnya, yang menjelaskan mengapa efek AMP siklik sangat bervariasi bergantung pada jenis sel (lihat Tabel 1).

Dalam keadaan tidak aktif, PKA terdiri dari kompleks dua subunit katalitik dan dua subunit regulasi. Pengikatan AMP siklik ke subunit pengatur mengubah konformasi mereka, menyebabkan mereka terdisosiasi dari kompleks. Subunit katalitik yang dilepaskan dengan demikian diaktifkan untuk memfosforilasi protein target tertentu (**Gambar 35**). Subunit pengatur PKA (juga disebut *A-kinase*) penting untuk melokalisasi kinase di dalam sel: *protein penahan A-kinase khusus (AKAPs)* mengikat baik ke subunit pengatur dan ke komponen sitoskeleton atau membran organel, dengan demikian menambatkan kompleks enzim ke kompartemen subseluler tertentu. Beberapa AKAP juga mengikat protein pensinyalan lainnya, membentuk kompleks yang berfungsi sebagai modul pensinyalan. Sebuah AKAP yang terletak di sekitar inti sel otot jantung, misalnya, mengikat PKA dan fosfodiesterase yang menghidrolisis AMP siklik. Dalam sel yang tidak distimulasi, fosfodiesterase menjaga konsentrasi AMP siklik lokal tetap rendah, sehingga PKA yang terikat menjadi tidak aktif; dalam sel yang terstimulasi, konsentrasi AMP siklik dengan cepat meningkat, membanjiri fosfodiesterase dan mengaktifkan PKA. Di antara

protein target yang memfosforilasi dan mengaktifkan PKA dalam sel-sel ini adalah fosfodiesterase yang berdekatan, yang dengan cepat menurunkan konsentrasi AMP siklik lagi. Pengaturan ini mengubah apa yang mungkin menjadi respons PKA yang lemah dan berkepanjangan menjadi denyut lokal yang kuat, singkat, dari aktivitas PKA.

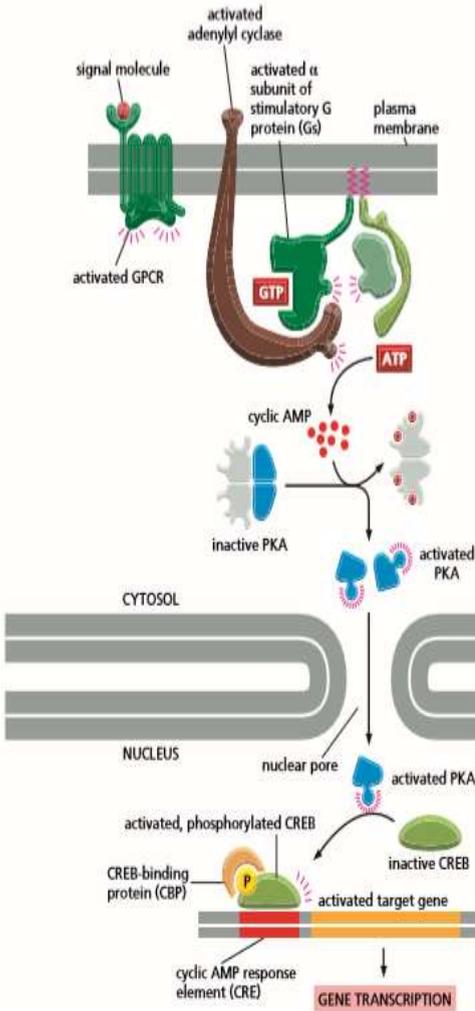


**Gambar 35 Aktivasi cyclicAMP-dependent protein kinase (PKA).**

Pengikatan AMP siklik ke subunit pengatur tetramer PKA menginduksi perubahan konformasi, menyebabkan subunit ini terlepas dari subunit katalitik, sehingga mengaktifkan aktivitas kinase dari subunit katalitik. Pelepasan subunit katalitik membutuhkan pengikatan lebih dari dua molekul AMP siklik ke subunit pengatur di tetramer. Persyaratan ini sangat mempertajam respons kinase terhadap perubahan konsentrasi AMP siklik, seperti yang dibahas sebelumnya (lihat Gambar 25). Sel mamalia memiliki setidaknya dua jenis PKA: tipe I terutama di sitosol, sedangkan tipe II terikat melalui subunit pengatur dan protein penahan khusus ke membran plasma, membran nuklir, membran luar mitokondria, dan mikrotubulus. Dalam kedua jenis, setelah subunit katalitik dibebaskan dan aktif, mereka dapat bermigrasi ke dalam nukleus (di mana mereka dapat memfosforilasi protein pengatur gen), sedangkan subunit pengatur tetap berada di sitoplasma. Struktur tiga dimensi dari domain protein kinase dari subunit katalitik PKA ditunjukkan pada Gambar 3-65.

Sementara beberapa respons yang dimediasi oleh AMP siklik terjadi dalam hitungan detik dan tidak bergantung pada perubahan transkripsi gen (lihat Gambar 33), yang lain bergantung pada perubahan transkripsi gen tertentu dan membutuhkan waktu berjam-jam untuk berkembang sepenuhnya. Dalam sel yang mengeluarkan hormon peptida *somatostatin*, misalnya, AMP siklik mengaktifkan gen yang menyandi hormon ini. Wilayah pengatur gen *somatostatin* mengandung sekuens DNA pendek, yang disebut *elemen respons AMP siklik (CRE)*, yang juga ditemukan di wilayah pengatur banyak gen lain yang diaktifkan oleh siklik AMP. Protein pengatur gen spesifik yang disebut *protein pengikat CRE (CREB)* mengenali urutan ini. Ketika PKA diaktifkan oleh cAMP, itu memfosforilasi CREB pada serine tunggal; CREB terfosforilasi kemudian merekrut koaktivator transkripsi yang disebut *protein pengikat CREB (CBP)*, yang merangsang transkripsi gen target (**Gambar 36**). Dengan demikian, CREB dapat mengubah sinyal AMP siklik pendek menjadi perubahan jangka panjang dalam sel, sebuah proses yang, di otak, dianggap memainkan peran penting dalam beberapa bentuk pembelajaran dan memori.

PKA tidak memediasi semua efek AMP siklik dalam sel. Seperti yang akan kita bahas nanti, di neuron olfaktorius (bertanggung jawab atas indera penciuman), AMP siklik juga secara langsung mengaktifkan saluran ion khusus di membran plasma. Selain itu, di beberapa sel lain, secara langsung mengaktifkan faktor pertukaran nukleotida guanin (GEF) yang, pada gilirannya, mengaktifkan GTPase monomerik yang disebut *Rap1*, yang sering menyebabkan peningkatan adhesi sel melalui aktivasi *integrin permukaan sel*.



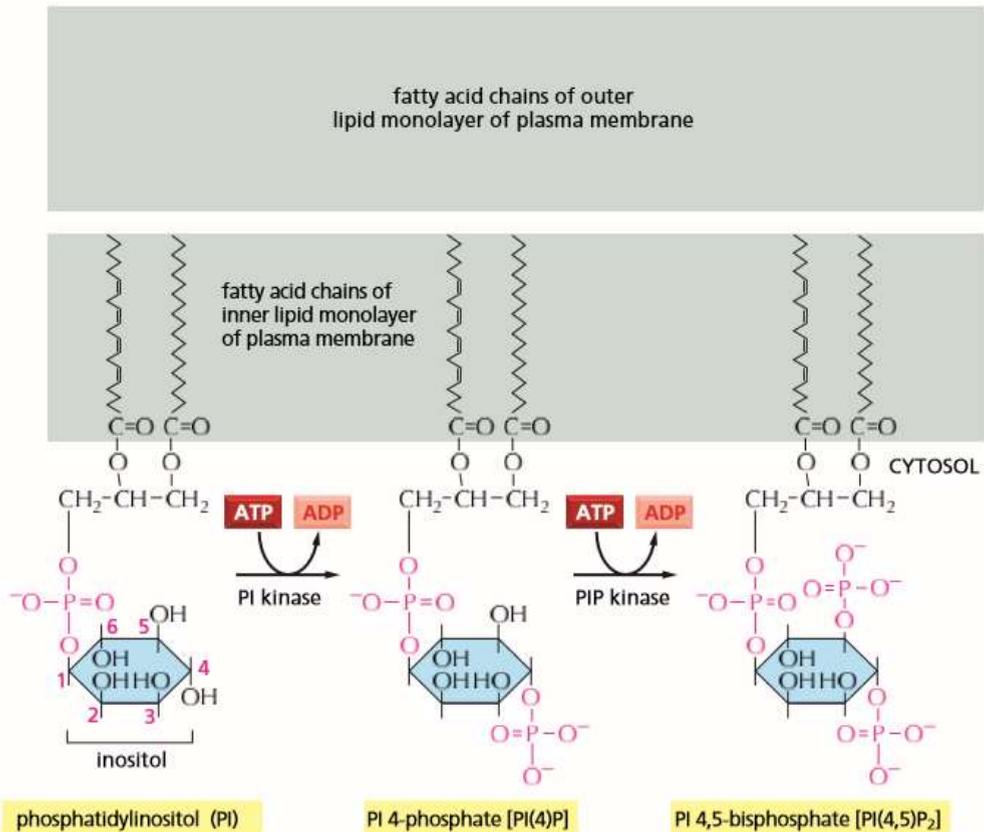
**Gambar 36. Bagaimana peningkatan konsentrasi AMP siklik intraseluler dapat mengubah transkripsi gen.**

**<AGAT>** Pengikatan molekul sinyal ekstraseluler ke GPCR mengaktifkan adenylyl cyclase melalui Gs dan dengan demikian meningkatkan konsentrasi AMP siklik di sitosol. Peningkatan konsentrasi AMP siklik mengaktifkan PKA, dan subunit katalitik yang dilepaskan dari PKA kemudian dapat memasuki nukleus, di mana mereka memfosforilasi protein pengatur gen CREB. Setelah terfosforilasi, CREB merekrut coactivator CBP, yang merangsang transkripsi gen. Dalam beberapa kasus, setidaknya, protein CREB yang tidak aktif terikat ke elemen respons AMP siklik (CRE) dalam DNA sebelum difosforilasi (tidak ditampilkan). Jalur pensinyalan ini mengontrol banyak proses dalam sel, mulai dari sintesis hormon dalam sel endokrin hingga produksi protein yang dibutuhkan untuk induksi memori jangka panjang di otak. Kita akan melihat nanti bahwa CREB juga dapat diaktifkan oleh beberapa jalur pensinyalan lain, terlepas dari cAMP.

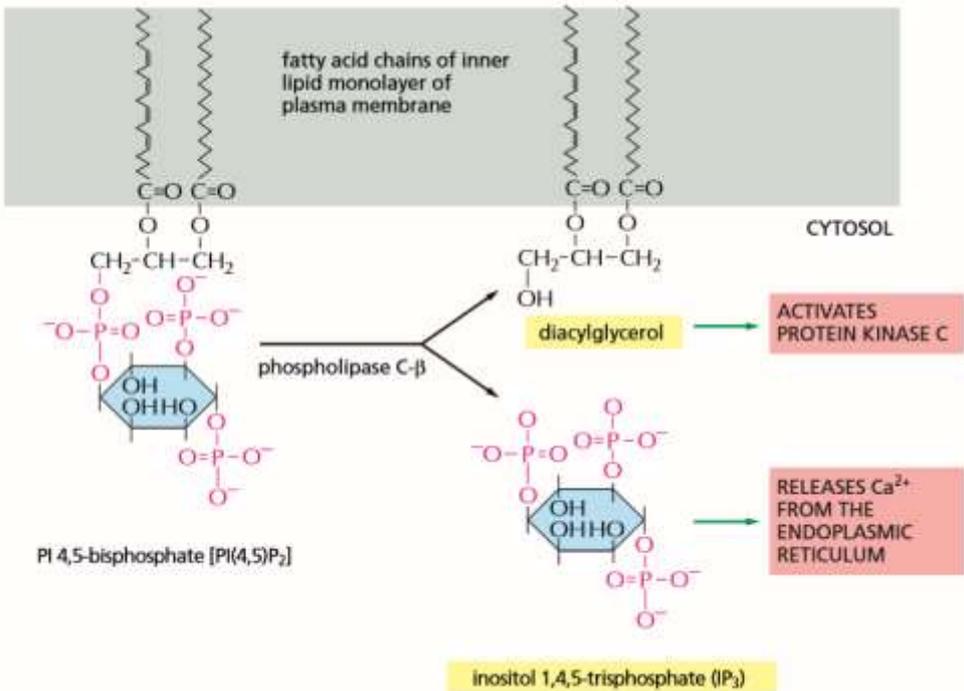
Setelah membahas bagaimana protein G trimerik menghubungkan GPCR dengan adenylyl cyclase, sekarang kita mempertimbangkan bagaimana mereka menggabungkan GPCR yang diaktifkan ke enzim penting lainnya, *fosfolipase C*. Aktivasi enzim ini meningkatkan konsentrasi beberapa mediator intraseluler kecil, termasuk  $Ca^{2+}$ , yang membantu menyampaikan sinyal maju.  $Ca^{2+}$  bahkan lebih banyak digunakan daripada AMP siklik sebagai mediator intraseluler kecil

## Beberapa Protein G Mengaktifkan Jalur Pemberian Sinyal Fosfolipid Inositol dengan Mengaktifkan Fosfolipase C-β

Banyak GPCRs menggunakan efeknya terutama melalui protein G yang mengaktifkan enzim **fosfolipase C-β (PLCβ)** yang terikat pada plasmamembran. **Tabel 2** mencantumkan beberapa contoh tanggapan yang diaktifkan dengan cara ini. Fosfolipase bekerja pada fosforilasi inositol fosfolipid (*fosfoinositida*) yang disebut **fosfatidylinositol 4,5-bifosfat [PI(4,5)P<sub>2</sub>, atau PIP<sub>2</sub>]**, yang terdapat dalam jumlah kecil di setengah bagian dalam membran plasma lipid bilayer (**Gambar 37**). Reseptor yang mengaktifkan jalur pensinyalan inositol fosfolipid ini terutama melakukannya melalui protein G yang disebut **G<sub>q</sub>**, yang mengaktifkan fosfolipase C-β dengan cara yang sama seperti G<sub>s</sub> mengaktifkan adenyllyl cyclase. Fosfolipase yang diaktifkan kemudian membelah PIP<sub>2</sub> untuk menghasilkan dua produk: *inositol 1,4,5-trisphosphate (IP<sub>3</sub>)* dan *diacylglycerol* (**Gambar 38**). Pada langkah ini, jalur pensinyalan terbagi menjadi dua cabang



**Gambar 37. Sintesis PI(4,5)P<sub>2</sub>.** The phosphoinositides PI(4)P dan PI(4,5)P<sub>2</sub> diproduksi oleh fosforilasi fosfatidylinositol (PI) dan PI(4)P, masing-masing. Meskipun ketiga inositol fosfolipid dapat dipecah dalam respon pensinyalan, pemecahan PI(4,5)P<sub>2</sub> yang mendominasi dan paling kritis karena menghasilkan dua mediator intraseluler, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 38 dan 39 . Namun demikian, PI(4,5)P<sub>2</sub> adalah yang paling sedikit melimpah, yang merupakan kurang dari 10% dari total inositol fosfolipid dan sekitar 1% dari lipid di membran plasma. Penomoran atom karbon konvensional dalam cincin inositol ditunjukkan dengan *angka merah* pada molekul PI.



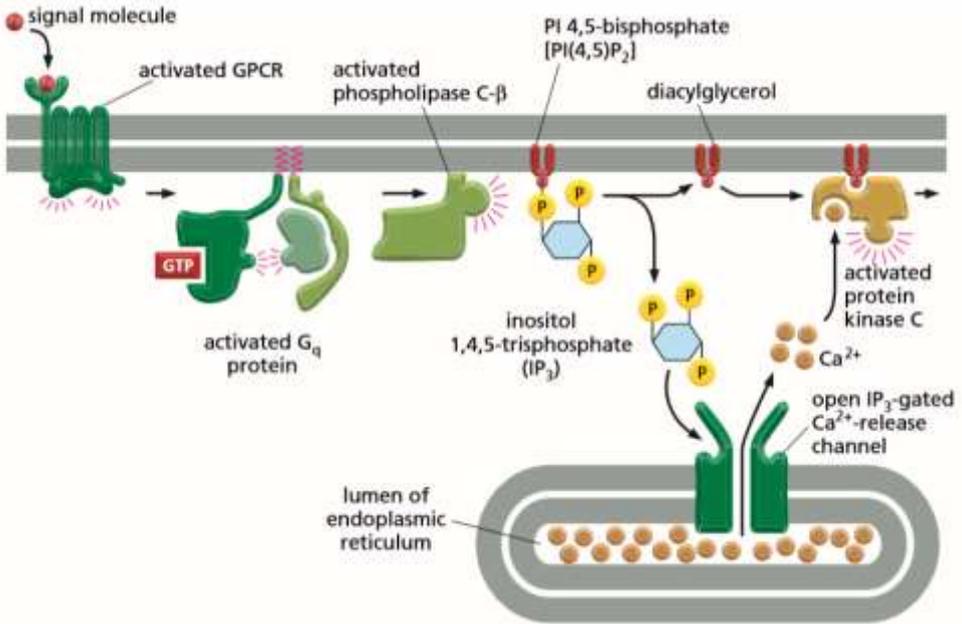
**Gambar 38. Hidrolisis PI(4,5)P<sub>2</sub> oleh fosfolipase C-β.** Dua mediator intraseluler kecil diproduksi langsung dari hidrolisis PIP<sub>2</sub>: inositol 1,4,5-trisphosphate (IP<sub>3</sub>), yang berdifusi melalui sitosol dan melepaskan Ca<sup>2+</sup> dari retikulum endoplasma, dan diasilgliserol, yang tetap di dalam membran dan membantu untuk mengaktifkan enzim protein kinase C (PKC; lihat Gambar 39). Ada beberapa kelas fosfolipase C; ini termasuk kelompok β yang diaktifkan oleh GPCR; seperti yang kita lihat nanti, kelompok γ diaktifkan oleh

kelas reseptor berpasangan enzim yang disebut reseptor tirosin kinase (RTKs).

**Tabel 2. Beberapa Respons Sel di Mana GPCR Mengaktifkan PLC**

Jaringan Target	Molekul Sinyal	Tanggapan utama
Hati	Vasopresin	Pemecahan glikogen
Pankreas	Asetilkolin	Sekresi amilase
Otot Polos	Asetilkolin	Kontraksi otot
Trombosit darah	Trombin	Agregasi trombosit

**Inositol 1,4,5-trisphosphate (IP<sub>3</sub>)** adalah molekul yang larut dalam air yang bertindak sebagai mediator intraseluler kecil. Ia meninggalkan membran plasma dan berdifusi dengan cepat melalui sitosol. Ketika mencapai retikulum endoplasma (ER), ia mengikat dan membuka saluran **pelepasan Ca<sup>2+</sup> berpagar IP<sub>3</sub> (juga disebut reseptor IP<sub>3</sub>)** di membran ER. Ca<sup>2+</sup> yang disimpan di ER dilepaskan melalui saluran terbuka, dengan cepat meningkatkan konsentrasi Ca<sup>2+</sup> di sitosol (**Gambar 39**). Setelah penyimpanan ER Ca<sup>2+</sup> telah habis, mereka diisi ulang dengan aktivasi saluran Ca<sup>2+</sup> yang *dioperasikan dengan penyimpanan* dalam membran plasma dan protein sensor Ca<sup>2+</sup> dalam membran ER, di daerah di mana kedua membran berdekatan.



**Gambar 39. Bagaimana GPCR meningkatkan Ca<sup>2+</sup> sitosol dan mengaktifkan PKC.** GPCR yang diaktifkan menstimulasi PLCβ fosfolipase yang terikat plasmamembran melalui protein G. Bergantung pada isoform PLCβ, itu dapat diaktifkan oleh α subunit G<sub>q</sub> seperti yang ditunjukkan, oleh β γ subunit dari protein G lain, atau keduanya. Dua molekul kurir intraseluler kecil diproduksi ketika PI (4,5) P<sub>2</sub> dihidrolisis oleh PLCβ yang diaktifkan. Inositol 1,4,5-trisphosphate (IP<sub>3</sub>) berdifusi melalui sitosol dan melepaskan Ca<sup>2+</sup> dari ER dengan mengikat dan membuka saluran pelepasan Ca<sup>2+</sup> berpagar IP<sub>3</sub> (reseptor IP<sub>3</sub>) di membran ER. . Gradien elektrokimia yang besar untuk Ca<sup>2+</sup> melintasi membran ini menyebabkan Ca<sup>2+</sup> keluar ke sitosol ketika saluran pelepasan terbuka. Diasilgliserol tetap berada di membran plasma dan, bersama dengan fosfatidilserin (tidak ditunjukkan) dan Ca<sup>2+</sup>, membantu mengaktifkan protein kinase C (PKC), yang direkrut dari sitosol ke permukaan sitosol membran plasma. Dari 10 atau lebih isoform PKC yang berbeda pada manusia, setidaknya 4 diaktifkan oleh diasilgliserol.

Kami membahas nanti bagaimana peningkatan sitosol Ca<sup>2+</sup> menyebarkan sinyal dengan mempengaruhi aktivitas protein

intraseluler sensitif  $\text{Ca}^{2+}$ . Beberapa mekanisme bekerja untuk menghentikan respon awal  $\text{Ca}^{2+}$ : (1)  $\text{IP}_3$  dengan cepat mengalami defosforilasi oleh fosfatase lipid spesifik untuk membentuk  $\text{IP}_2$ ; (2)  $\text{IP}_3$  difosforilasi oleh kinase lipid spesifik untuk membentuk  $\text{IP}_4$  (yang dapat berfungsi sebagai mediator intraseluler kecil lainnya); dan (3)  $\text{Ca}^{2+}$  yang memasuki sitosol dengan cepat dipompa keluar, terutama ke bagian luar sel (lihat Gambar 41).

Pada saat yang sama bahwa  $\text{IP}_3$  yang dihasilkan oleh hidrolisis  $\text{PIP}_2$  meningkatkan konsentrasi  $\text{Ca}^{2+}$  dalam sitosol, produk pembelahan lain dari  $\text{PIP}_2$ , **diacylglycerol**, memberikan efek yang berbeda. Ini juga bertindak sebagai mediator intraseluler kecil, tetapi tetap tertanam di membran plasma, di mana ia memiliki beberapa peran pensinyalan potensial. Ini dapat dibelah lebih lanjut untuk melepaskan asam arakidonat, yang dapat bertindak sebagai sinyal dalam dirinya sendiri atau digunakan dalam sintesis molekul sinyal lipid kecil lainnya yang disebut *eikosanoid*. Sebagian besar jenis sel vertebrata membuat eikosanoid, termasuk *prostaglandin*, yang memiliki banyak aktivitas biologis. Mereka berpartisipasi dalam respons nyeri dan inflamasi, misalnya, dan sebagian besar obat antiinflamasi (seperti aspirin, ibuprofen, dan kortison) bekerja paling tidak sebagian dengan menghambat sintesisnya.

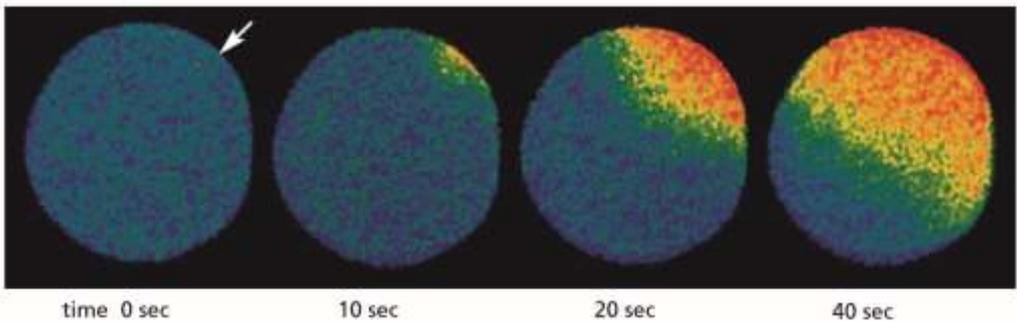
Fungsi kedua diacylglycerol adalah mengaktifkan protein kinase serin / treonin penting yang disebut **protein kinase C (PKC)**, dinamakan demikian karena bergantung pada  $\text{Ca}^{2+}$ . Peningkatan awal  $\text{Ca}^{2+}$  sitosol yang diinduksi oleh  $\text{IP}_3$  mengubah PKC sehingga berpindah dari sitosol ke permukaan sitoplasma membran plasma. Di sana ia diaktifkan oleh kombinasi  $\text{Ca}^{2+}$ , diacylglycerol, dan membran fosfolipid fosfatidilserin bermuatan negatif (lihat Gambar 39). Setelah diaktifkan, PKC memfosforilasi protein target yang bervariasi tergantung pada jenis sel. Prinsip-prinsipnya sama dengan yang dibahas sebelumnya untuk PKA, meskipun sebagian besar protein target berbeda.

Ada berbagai kelas PKCs, hanya beberapa di antaranya (disebut *PKCs konvensional*) yang diaktifkan oleh  $\text{Ca}^{2+}$  dan diacylglycerol; yang lainnya disebut *PKCs atipikal*. PKCs yang berbeda memfosforilasi substrat yang berbeda terutama karena

protein penahan atau perancah yang berbeda menambatkannya ke kompartemen yang berbeda di dalam sel.

### Ca<sup>2+</sup> Berfungsi sebagai Mediator Intraseluler di Ubiquitous

Banyak sinyal ekstraseluler memicu peningkatan konsentrasi Ca<sup>2+</sup> sitosol, tidak hanya yang bekerja melalui protein G. Dalam sel telur, misalnya, peningkatan tiba-tiba konsentrasi Ca<sup>2+</sup> sitosol setelah pembuahan oleh sperma memicu gelombang Ca<sup>2+</sup> yang memulai perkembangan embrio (**Gambar 40**). Dalam sel otot, Ca<sup>2+</sup> memicu kontraksi, dan di banyak sel sekretori, termasuk sel saraf, memicu sekresi. Ca<sup>2+</sup> dapat bertindak sebagai sinyal dengan cara ini karena konsentrasinya dalam sitosol biasanya sangat rendah (~10<sup>-7</sup> M), sedangkan konsentrasinya dalam cairan ekstraseluler (~10<sup>-3</sup> M) dan dalam lumen ER [dan sarcoplasmic reticulum (SR) di otot] tinggi. Jadi, ada gradien besar yang cenderung mendorong Ca<sup>2+</sup> ke dalam sitosol melintasi membran plasma dan membran ER atau SR. Ketika sebuah sinyal membuka saluran Ca<sup>2+</sup> secara sementara di membran ini, Ca<sup>2+</sup> masuk ke dalam sitosol, meningkatkan konsentrasi Ca<sup>2+</sup> lokal 10-20 kali lipat dan mengaktifkan protein respons Ca<sup>2+</sup> yang responsif dalam sel. <CGTC>



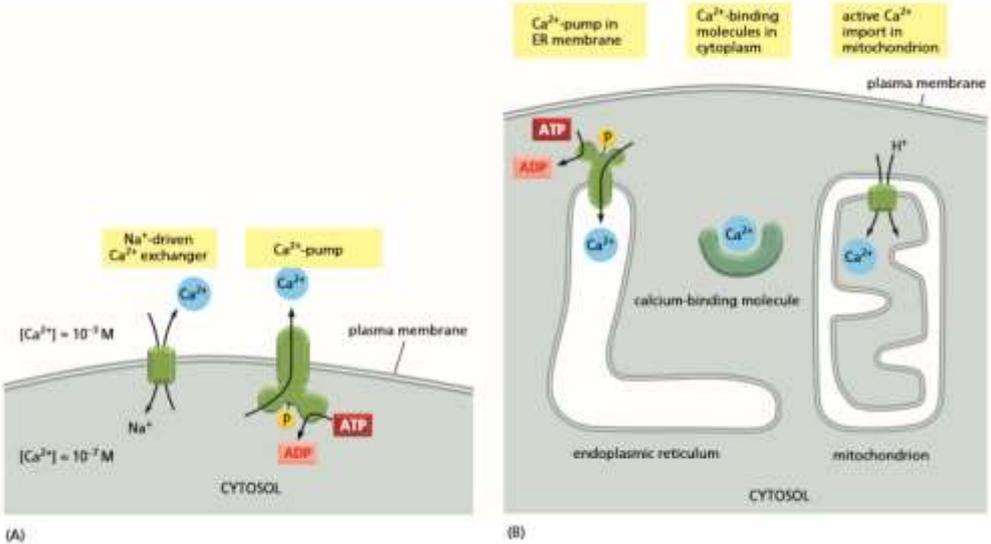
**Gambar 40** Pembuahan sel telur oleh sperma memicu peningkatan Ca<sup>2+</sup> sitosolik. <AGGA> Telur bintang laut ini disuntik dengan pewarna fluoresen sensitif Ca<sup>2+</sup> sebelum dibuahi. Gelombang Ca<sup>2+</sup> sitosolik (*merah*), dilepaskan dari er, menyapu telur dari tempat masuknya sperma (*panah*). Gelombang Ca<sup>2+</sup> ini mengubah permukaan sel telur, mencegah masuknya sperma lain, dan juga memulai perkembangan embrionik (dibahas di Bab 21).

Peningkatan awal  $\text{Ca}^{2+}$  diperkirakan disebabkan oleh bentuk PLC ( $\text{PLC}\zeta$ ) spesifik sperma yang dibawa sperma ke dalam sitoplasma sel telur saat menyatu dengan sel telur;  $\text{PLC}\zeta$  cleaves PI (4,5)  $\text{P}_2$  untuk menghasilkan  $\text{IP}_3$ , yang melepaskan  $\text{Ca}^{2+}$  dari telur ER. (Atas perkenan Stephen A. Stricker.)

$\text{Ca}^{2+}$  dari luar sel memasuki sitosol melalui berbagai saluran  $\text{Ca}^{2+}$  di membran plasma, yang terbuka sebagai respons terhadap ikatan ligand, peregangan, atau depolarisasi membran.  $\text{Ca}^{2+}$  dari ER memasuki sitosol melalui reseptor orryanodine (lihat Gambar 39) atau **reseptor ryanodine** (disebut demikian karena mereka sensitif terhadap tanaman alkaloid ryanodine). Reseptor ryanodine biasanya diaktifkan oleh pengikatan  $\text{Ca}^{2+}$  dan dengan demikian memperkuat sinyal  $\text{Ca}^{2+}$ .  $\text{Ca}^{2+}$  juga mengaktifkan reseptor  $\text{IP}_3$  tetapi hanya di hadapan  $\text{IP}_3$ ; dan konsentrasi  $\text{Ca}^{2+}$  yang sangat tinggi menonaktifkannya. Kami membahas bagaimana  $\text{Ca}^{2+}$  dilepaskan dari retikulum sarkoplasma menyebabkan kontraksi sel otot.

Beberapa mekanisme menjaga konsentrasi  $\text{Ca}^{2+}$  di sitosol rendah dalam sel istirahat (**Gambar 41**). Semua sel eukariotik memiliki pompa  $\text{Ca}^{2+}$  di membran plasma mereka yang menggunakan energi hidrolisis ATP untuk memompa  $\text{Ca}^{2+}$  keluar dari sitosol. Sel-sel seperti sel otot dan saraf, yang menggunakan pensinyalan  $\text{Ca}^{2+}$  secara ekstensif, memiliki protein transpor  $\text{Ca}^{2+}$  tambahan (sebuah penukar  $\text{Ca}^{2+}$  yang digerakkan oleh  $\text{Na}^+$ ) dalam membran plasma mereka yang memasangkan pengeluaran  $\text{Ca}^{2+}$  dengan masuknya  $\text{Na}^+$ . Pompa  $\text{Ca}^{2+}$  dalam membran ER juga memiliki peran penting dalam menjaga konsentrasi  $\text{Ca}^{2+}$  sitosol tetap rendah: pompa  $\text{Ca}^{2+}$  ini memungkinkan ER untuk mengambil sejumlah besar  $\text{Ca}^{2+}$  dari sitosol terhadap gradien konsentrasi yang curam, bahkan ketika kadar  $\text{Ca}^{2+}$  dalam sitosol rendah. Selain itu, pompa  $\text{Ca}^{2+}$  dengan afinitas rendah dan berkapasitas tinggi di dalam membran mitokondria bagian dalam memiliki peran penting dalam membatasi sinyal  $\text{Ca}^{2+}$  dan menghentikannya; ia menggunakan gradien elektrokimia yang dihasilkan melintasi membran ini selama langkah transfer elektron dari fosforilasi oksidatif untuk mengambil  $\text{Ca}^{2+}$  dari sitosol. Peningkatan konsentrasi  $\text{Ca}^{2+}$  yang dihasilkan

dalam mitokondria dapat mengaktifkan beberapa enzim dari siklus asam sitrat, sehingga meningkatkan sintesis ATP dan menghubungkan aktivasi sel dengan produksi energi; peningkatan  $\text{Ca}^{2+}$  mitokondria yang berlebihan, bagaimanapun, menyebabkan kematian sel.



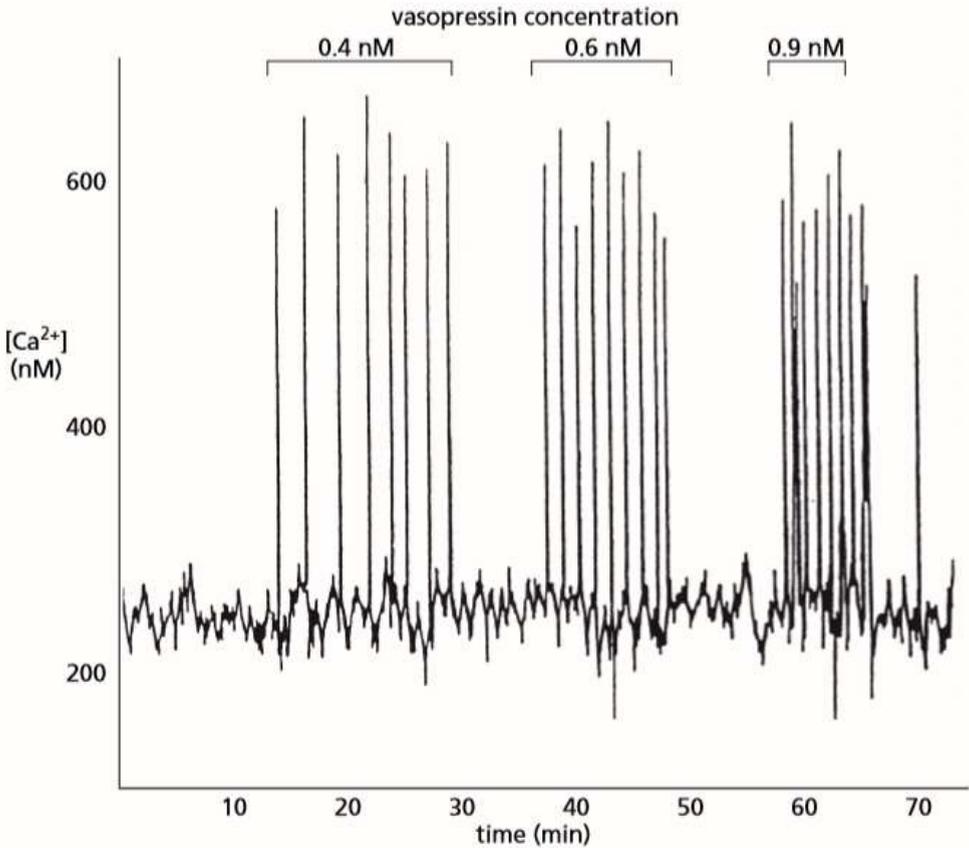
**Gambar 41. Cara utama sel eukariotik mempertahankan konsentrasi  $\text{Ca}^{2+}$  bebas yang sangat rendah dalam sitosolnya. (A)  $\text{Ca}^{2+}$  secara aktif dipompa keluar dari sitosol ke bagian luar sel. (B)  $\text{Ca}^{2+}$  dipompa keluar dari sitosol ke ER dan mitokondria, dan berbagai molekul di dalam sitosol mengikat  $\text{Ca}^{2+}$  bebas dengan erat.**

### Frekuensi Osilasi $\text{Ca}^{2+}$ Mempengaruhi Respons Sel

Peneliti sering menggunakan indikator fluoresen sensitif  $\text{Ca}^{2+}$ , seperti *aequorin* atau *fura-2*, untuk memantau  $\text{Ca}^{2+}$  sitosol dalam sel individu setelah aktivasi jalur pensinyalan fosfolipid inositol. Jika dilihat dalam hal ini cara, sinyal  $\text{Ca}^{2+}$  awal tampak kecil dan terlokalisasi ke satu atau lebih wilayah sel yang terpisah. Puff atau percikan  $\text{Ca}^{2+}$  ini mencerminkan pembukaan lokal saluran individual atau kelompok kecil  $\text{Ca}^{2+}$  di ER. Karena berbagai protein pengikat  $\text{Ca}^{2+}$  bertindak sebagai penyangga  $\text{Ca}^{2+}$  dan membatasi difusi  $\text{Ca}^{2+}$ , sinyal seringkali tetap terlokalisasi di tempat  $\text{Ca}^{2+}$

memasuki sitosol. Jika sinyal ekstraseluler cukup kuat dan persisten, bagaimanapun, sinyal  $\text{Ca}^{2+}$  yang terlokalisasi ini dapat merambat sebagai gelombang  $\text{Ca}^{2+}$  regeneratif melalui sitosol (lihat Gambar 40), seperti potensial aksi di akson. "Lonjakan"  $\text{Ca}^{2+}$  semacam itu sering kali diikuti oleh serangkaian lonjakan lebih lanjut, masing-masing biasanya berlangsung selama beberapa detik (**Gambar 42**). Osilasi  $\text{Ca}^{2+}$  seperti itu dapat bertahan selama reseptor diaktifkan di permukaan sel. Baik gelombang maupun osilasi diperkirakan bergantung, setidaknya sebagian, pada kombinasi umpan balik positif dan negatif oleh  $\text{Ca}^{2+}$ . baik reseptor  $\text{IP}_3$  dan reseptor ryanodine: pelepasan  $\text{Ca}^{2+}$  pada awalnya merangsang lebih banyak pelepasan  $\text{Ca}^{2+}$  dari kedua reseptor, suatu proses yang dikenal sebagai pelepasan  $\text{Ca}^{2+}$  yang *diinduksi  $\text{Ca}^{2+}$* ; tetapi kemudian, karena konsentrasinya cukup tinggi,  $\text{Ca}^{2+}$  menghambat pelepasan lebih lanjut; dan umpan balik negatif yang tertunda ini menimbulkan osilasi (lihat Gambar 28D).

Seseorang dapat mengikuti efek osilasi  $\text{Ca}^{2+}$  pada protein sensitif  $\text{Ca}^{2+}$  tertentu dengan menggunakan pencitraan waktu nyata dari sel individu yang mengekspresikan protein reporter fluoresen. Misalnya, seseorang dapat menunjukkan bahwa setiap lonjakan  $\text{Ca}^{2+}$  dalam beberapa respons yang diinduksi sinyal akan merekrut PKC secara transien ke membran plasma, di mana ia akan secara sementara memfosforilasi protein reporter.



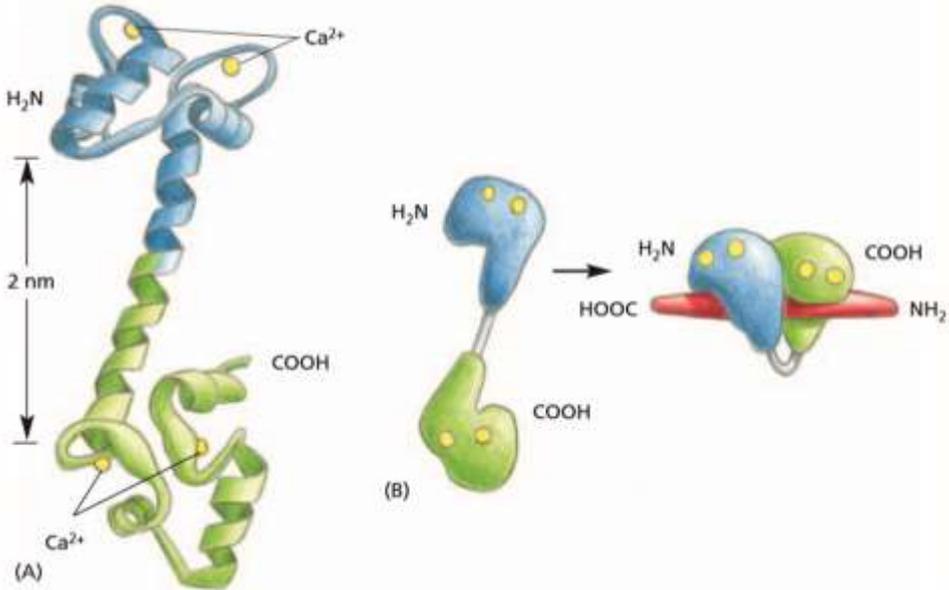
**Gambar 42. Osilasi  $\text{Ca}^{2+}$  yang diinduksi vasopresin dalam sel hati.** Sel diisi dengan  $\text{Ca}^{2+}$ -sensitive protein aequorin dan kemudian terkena peningkatan konsentrasi molekul sinyal peptida vasopresin, yang mengaktifkan GPCR dan dengan demikian PLCb (lihat Tabe 2). Perhatikan bahwa frekuensi lonjakan  $\text{Ca}^{2+}$  meningkat dengan meningkatnya konsentrasi vasopresin tetapi amplitudo lonjakan tidak terpengaruh. Setiap lonjakan berlangsung sekitar 7 detik. (Diadaptasi dari N. Woods, K.S.R. Cuthbertson dan P.H. Cobbold, Nature 319: 600–602, 1986. Dengan izin dari Macmillan Publishers Ltd.)

Frekuensi osilasi  $\text{Ca}^{2+}$  mencerminkan kekuatan stimulus ekstraseluler (lihat Gambar 42), dan frekuensi ini dapat diterjemahkan ke dalam respons sel yang bergantung pada frekuensi. Dalam beberapa kasus, respons yang bergantung pada frekuensi itu sendiri juga berhasil: dalam sel hipofisis yang

mengeluarkan hormon, misalnya, stimulasi oleh sinyal ekstraseluler menginduksi lonjakan  $\text{Ca}^{2+}$  berulang, yang masing-masing dikaitkan dengan ledakan sekresi hormon. Dalam kasus lain, respons yang bergantung pada frekuensi tidak beresilasi: pada beberapa jenis sel, misalnya, satu frekuensi lonjakan  $\text{Ca}^{2+}$  mengaktifkan transkripsi satu set gen, sedangkan frekuensi yang lebih tinggi mengaktifkan transkripsi set yang berbeda. Bagaimana sel merasakan frekuensi lonjakan  $\text{Ca}^{2+}$  dan mengubah responsnya? Mekanismenya mungkin bergantung pada protein sensitif  $\text{Ca}^{2+}$  yang mengubah aktivitasnya sebagai fungsi frekuensi lonjakan  $\text{Ca}^{2+}$ . Protein kinase yang bertindak sebagai perangkat memori molekuler tampaknya memiliki sifat yang luar biasa ini, seperti yang akan kita bahas selanjutnya.

### **$\text{Ca}^{2+}$ / Calmodulin-Dependent Protein Kinases (CaM-Kinases) Memediasi Banyak Respon terhadap Sinyal $\text{Ca}^{2+}$ dalam Sel Hewan**

Berbagai protein pengikat  $\text{Ca}^{2+}$  membantu menyampaikan sinyal  $\text{Ca}^{2+}$  sitosol. Yang paling penting adalah **kalmodulin**, yang ditemukan di semua sel eukariotik dan dapat membentuk sebanyak 1% dari total massa protein. Calmodulin berfungsi sebagai reseptor  $\text{Ca}^{2+}$  intraseluler multiguna, yang mengatur banyak proses yang diregulasi oleh  $\text{Ca}^{2+}$ . Ini terdiri dari rantai polipeptida tunggal yang sangat kekal dengan empat lokasi pengikatan  $\text{Ca}^{2+}$  berafinitas tinggi (**Gambar 43A**). Ketika diaktifkan oleh ikatan  $\text{Ca}^{2+}$ , itu mengalami perubahan konformasi. Karena dua atau lebih ion  $\text{Ca}^{2+}$  harus mengikat sebelum kalmodulin mengadopsi konformasi aktifnya, protein merespon dengan cara yang hampir seperti saklar untuk meningkatkan konsentrasi  $\text{Ca}^{2+}$  (lihat Gambar 25): peningkatan sepuluh kali lipat konsentrasi  $\text{Ca}^{2+}$  biasanya menyebabkan peningkatan lima puluh kali lipat dalam aktivasi kalmodulin.



**Gambar 43 Struktur  $\text{Ca}^{2+}$  / kalmodulin berdasarkan studi difraksi sinar-X dan NMR. <CTTC>** (A) Molekul ini memiliki bentuk halter, dengan dua ujung bulat, yang dapat mengikat banyak protein target. Ujung bulat dihubungkan oleh ahelix yang panjang dan terbuka, yang memungkinkan protein mengadopsi sejumlah konformasi yang sangat berbeda, tergantung pada protein target yang berinteraksi dengannya. Setiap kepala bola memiliki dua domain pengikat  $\text{Ca}^{2+}$ . (B) Perubahan struktural utama dalam  $\text{Ca}^{2+}$  / kalmodulin yang terjadi saat ia berikatan dengan protein target (dalam contoh ini, peptida yang terdiri dari domain pengikatan  $\text{Ca}^{2+}$  / kalmodulin dari protein kinase yang bergantung pada  $\text{Ca}^{2+}$  / kalmodulin). Perhatikan bahwa  $\text{Ca}^{2+}$  / kalmodulin memiliki "pisau lipat" untuk mengelilingi peptida. Ketika mengikat ke target lain, itu dapat mengadopsi konformasi yang berbeda. (A, berdasarkan data kristalografi sinar-X dari YS Babu et al., Nature 315: 37-40, 1985. Dengan izin dari Macmillan Publishers Ltd; B, berdasarkan data kristalografi sinar-x dari WE Meador, AR Means dan FA Quiocho, Science 257: 1251–1255, 1992, dan pada data NMR dari M. Ikura et al., Science 256: 632–638, 1992. Dengan izin dari AAAS.)

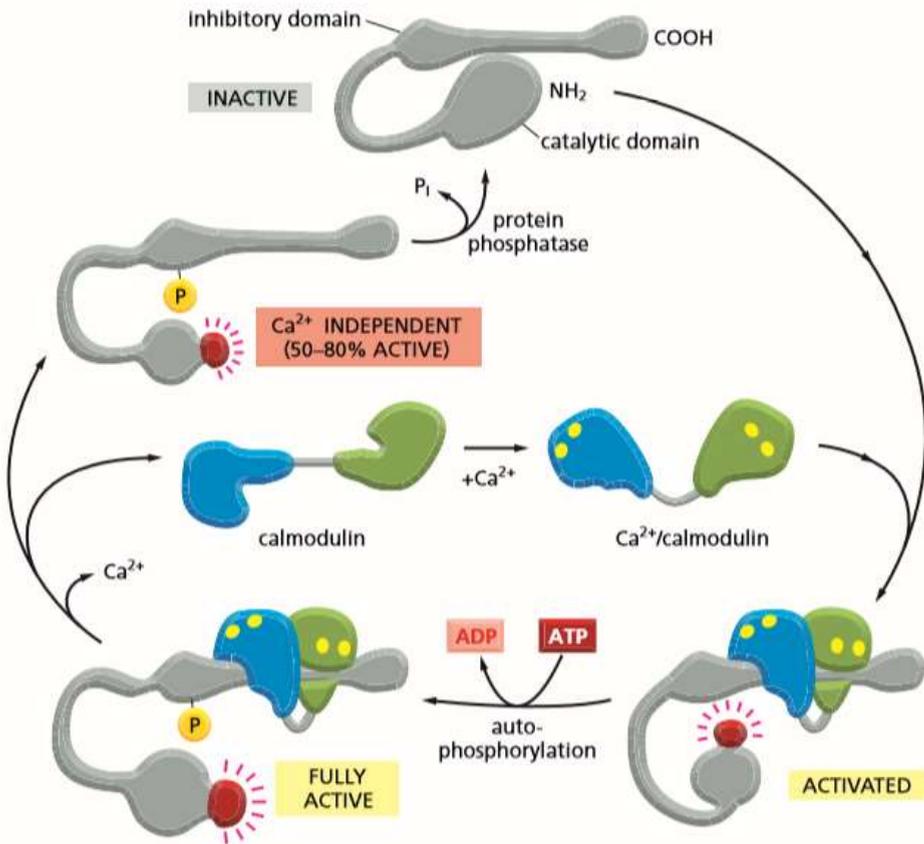
Aktivasi alosterik kalmodulin oleh  $\text{Ca}^{2+}$  analog dengan aktivasi alosterik PKA oleh AMP siklik, kecuali bahwa  $\text{Ca}^{2+}$  / kalmodulin tidak memiliki aktivitas enzimatis itu sendiri melainkan bertindak dengan mengikat dan mengaktifkan protein lain. Dalam beberapa kasus, kalmodulin berfungsi sebagai subunit pengatur permanen dari kompleks enzim, tetapi biasanya pengikatan  $\text{Ca}^{2+}$  malah memungkinkan kalmodulin untuk mengikat berbagai protein target di dalam sel untuk mengubah aktivitasnya.

Ketika molekul  $\text{Ca}^{2+}$  / kalmodulin yang teraktivasi berikatan dengan protein targetnya, kalmodulin selanjutnya mengubah konformasinya, yang sifatnya bergantung pada protein target spesifik (Gambar 43B). Di antara banyak target yang diatur kalmodulin adalah enzim dan protein transpor membran. Sebagai satu contoh,  $\text{Ca}^{2+}$  / kalmodulin mengikat dan mengaktifkan membran plasma pompa  $\text{Ca}^{2+}$  yang menggunakan hidrolisis ATP untuk memompa  $\text{Ca}^{2+}$  keluar dari sel (lihat Gambar 41). Jadi, setiap kali konsentrasi  $\text{Ca}^{2+}$  dalam sitosol meningkat, pompa diaktifkan, yang membantu mengembalikan tingkat  $\text{Ca}^{2+}$  sitosol ke tingkat istirahat.

Banyak efek  $\text{Ca}^{2+}$ , bagaimanapun, lebih tidak langsung dan dimediasi oleh fosforilasi protein yang dikatalisis oleh suatu famili serin / treonin protein kinase yang disebut  **$\text{Ca}^{2+}$  / kinase yang bergantung pada kalmodulin (CaM-kinase)**. Beberapa protein pengatur gen CaM-kinases phosphorylate, seperti protein CREB (lihat Gambar 36), dan dengan cara ini mengaktifkan atau menghambat transkripsi gen tertentu.

Salah satu CaM-kinase yang paling banyak dipelajari adalah **CaM-kinase II**, yang ditemukan di sebagian besar sel hewan, tetapi secara khusus diperkaya dalam sistem saraf. Ini membentuk hingga 2% dari total massa protein di beberapa wilayah otak, dan sangat terkonsentrasi di sinapsis. CaM-kinase II memiliki dua sifat luar biasa yang saling terkait. Pertama, dapat berfungsi sebagai perangkat memori molekuler, beralih ke keadaan aktif saat terpapar  $\text{Ca}^{2+}$  / kalmodulin dan kemudian tetap aktif bahkan setelah sinyal  $\text{Ca}^{2+}$  meluruh. Ini karena kinase memfosforilasi sendiri (proses yang disebut *autofosforilasi*), serta protein sel lainnya, ketika  $\text{Ca}^{2+}$  /

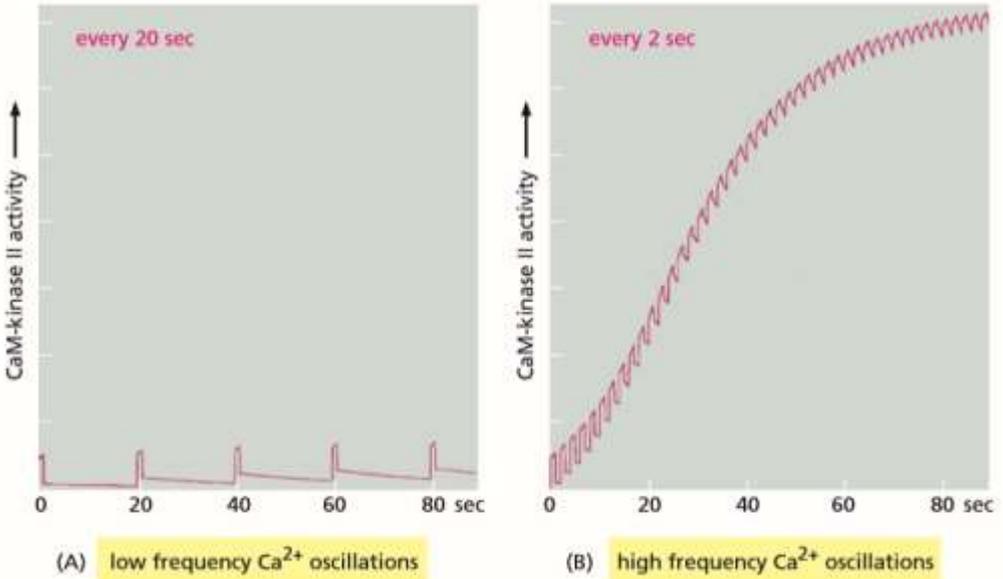
calmodulin mengaktifkannya. Dalam keadaan terautofosforilasi, enzim tetap aktif bahkan tanpa  $\text{Ca}^{2+}$ , sehingga memperpanjang durasi aktivitas kinase di luar dari sinyal  $\text{Ca}^{2+}$  pengaktifasi awal. Enzim mempertahankan aktivitas ini sampai fosfatase protein serin / treonin membanjiri autofosforilasi dan mematikan kinase (**Gambar 44**). Aktivasi CaM-kinase II dengan demikian dapat berfungsi sebagai jejak memori dari denyut  $\text{Ca}^{2+}$  sebelumnya, dan tampaknya memiliki peran dalam beberapa jenis memori dan pembelajaran dalam sistem saraf vertebrata. Tikus mutan yang tidak memiliki bentuk enzim khusus otak memiliki cacat khusus pada kemampuannya untuk mengingat di mana sesuatu berada.



**Gambar 44 Aktivasi bertahap CaM-kinase II.** Enzim adalah kompleks protein besar dari 12 subunit, meskipun, untuk sederhananya, hanya satu subunit yang ditampilkan (berwarna abu-abu). Dengan tidak adanya  $\text{Ca}^{2+}$  / kalmmodulin, enzim menjadi tidak aktif sebagai hasil dari interaksi antara domain hambat dan domain

katalitik. Pengikatan  $\text{Ca}^{2+}$ / kalmodulin mengubah konformasi protein, mengaktifkannya sebagian. Domain katalitik di kompleks memfosforilasi domain penghambatan subunit tetangga, serta protein lain di dalam sel (tidak ditampilkan). Autofosforilasi kompleks enzim (dengan fosforilasi timbal balik subunitnya) mengaktifkan enzim sepenuhnya. Ini juga memperpanjang aktivitas enzim dengan dua cara. Pertama, ia menjebak ikatan  $\text{Ca}^{2+}$  / kalmodulin sehingga tidak terlepas dari kompleks enzim sampai kadar  $\text{Ca}^{2+}$  sitosol kembali ke nilai basal setidaknya selama 10 detik (tidak ditampilkan). Kedua, ia mengubah enzim menjadi bentuk yang tidak bergantung pada  $\text{Ca}^{2+}$  sehingga kinase tetap aktif bahkan setelah  $\text{Ca}^{2+}$ /kalmodulin berdisosiasi darinya. Aktivitas ini berlanjut sampai aksi protein fosfatase mengesampingkan aktivitas autofosforilasi CaM-kinase II.

Sifat luar biasa kedua dari CaM-kinase II mengikuti dari yang pertama, yaitu enzim dapat menggunakan mekanisme memori intrinsiknya untuk bertindak sebagai dekoder frekuensi osilasi  $\text{Ca}^{2+}$ . Sifat ini dianggap sangat penting pada sinapsis sel saraf, di mana perubahan kadar  $\text{Ca}^{2+}$  intraseluler dalam sel postsinaptik sebagai hasil dari aktivitas saraf dapat menyebabkan perubahan jangka panjang dalam efektivitas sinapsik selanjutnya (dibahas pada Bab 11). Ketika CaMkinase II diimobilisasi pada permukaan padat dan terpapar pada protein fosfatase dan pulsa  $\text{Ca}^{2+}$  yang berulang-ulang pada frekuensi berbeda yang meniru yang diamati dalam sel yang dirangsang, aktivitas enzim meningkat tajam sebagai fungsi frekuensi nadi (**Gambar 45**). Selain itu, respon frekuensi dari enzim multisubunit ini bergantung pada komposisi subunit yang tepat, sehingga sel dapat menyesuaikan responnya terhadap osilasi  $\text{Ca}^{2+}$  untuk kebutuhan tertentu dengan menyesuaikan komposisi enzim CaM-kinase II yang dibuatnya.



**Gambar 45. CaM-kinase II sebagai dekoder frekuensi osilasi**

**Ca<sup>2+</sup>.** (A) Pada frekuensi rendah dari lonjakan Ca<sup>2+</sup>, enzim menjadi tidak aktif setelah setiap lonjakan, karena autofosforilasi yang diinduksi oleh ikatan Ca<sup>2+</sup> / kalmodulin tidak mempertahankan aktivitas enzim cukup lama untuk enzim tetap aktif sampai lonjakan Ca<sup>2+</sup> berikutnya tiba. (B) Pada frekuensi lonjakan yang lebih tinggi, bagaimanapun, enzim gagal untuk tidak aktif sepenuhnya antara lonjakan Ca<sup>2+</sup>, sehingga aktivitasnya meningkat dengan setiap lonjakan. Jika frekuensi lonjakan cukup tinggi, peningkatan progresif dalam aktivitas enzim ini akan berlanjut sampai enzim diautofosforilasi pada semua subunit dan karenanya diaktifkan secara maksimal. Meskipun tidak diperlihatkan, begitu subunit-subunitnya cukup terautofosforilasi, enzim tersebut dapat dipertahankan dalam keadaan sangat aktif bahkan dengan frekuensi lonjakan Ca<sup>2+</sup> yang relatif rendah (suatu bentuk memori sel).

Pengikatan Ca<sup>2+</sup>/kalmodulin ke enzim ditingkatkan oleh autofosforilasi CaM-kinase II (bentuk tambahan umpan balik positif), membantu respons enzim terhadap lonjakan Ca<sup>2+</sup> berulang untuk menunjukkan ambang batas yang curam dalam respons frekuensinya, seperti yang dibahas sebelumnya. (Dari P.I. Hanson,

T. Meyer, L. Stryer dan H. Schulman, *Neuron* 12: 943–956, 1994. Dengan izin dari Elsevier.)

### Beberapa Protein G Secara Langsung Mengatur Saluran Ion

Protein G tidak bekerja secara eksklusif dengan mengatur aktivitas enzim yang terikat membran yang mengubah konsentrasi AMP siklik atau  $\text{Ca}^{2+}$  di sitosol. Subunit  $\alpha$  dari satu jenis protein G (disebut  $G_{12}$ ), misalnya, mengaktifkan faktor pertukaran nukleotida guanin (GEF) yang mengaktifkan GTPase monomerik *keluarga Rho*, yang mengatur sitoskeleton aktin.

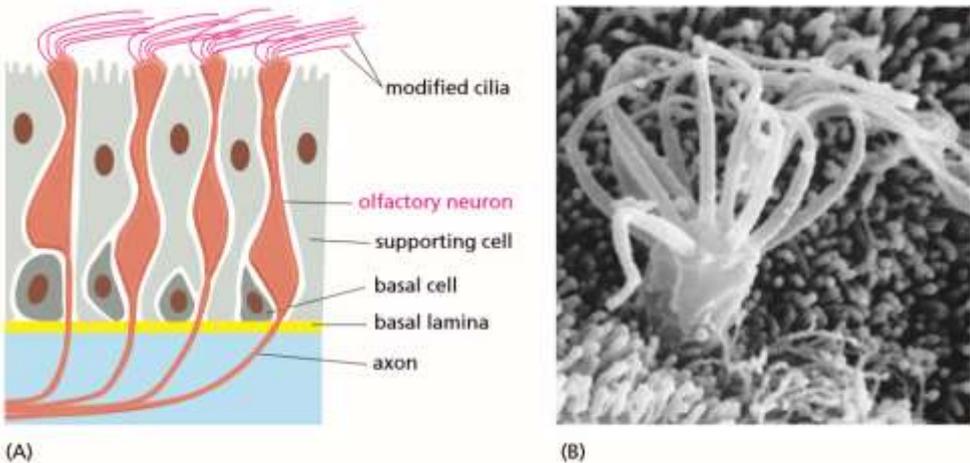
Dalam beberapa kasus lain, protein G secara langsung mengaktifkan atau menonaktifkan saluran ion di membran plasma sel target, dengan demikian mengubah permeabilitas ion dan karenanya rangsangan listrik membran. Sebagai contoh, asetilkolin yang dilepaskan oleh saraf vagus mengurangi kecepatan dan kekuatan kontraksi sel otot jantung (lihat Gambar 9B). Efek ini dimediasi oleh kelas khusus reseptor asetilkolin yang mengaktifkan protein  $G_i$  yang telah dibahas sebelumnya. Setelah diaktifkan,  $\alpha$  subunit  $G_i$  menghambat adenyl cyclase (seperti yang dijelaskan sebelumnya), sedangkan  $\beta \gamma$  subunit mengikat saluran  $\text{K}^+$  di membran plasma sel otot jantung dan membukanya. Pembukaan saluran  $\text{K}^+$  ini membuat lebih sulit untuk mendepolarisasi sel dan dengan demikian berkontribusi pada efek penghambatan asetilkolin pada jantung. (Reseptor asetilkolin ini, yang dapat diaktifkan oleh alkaloid muskarin jamur, disebut *reseptor asetilkolin muskarinik* untuk membedakannya dari reseptor *asetilkolin nikotinat* yang sangat berbeda, yang merupakan reseptor saluran-ion yang digabungkan pada otot rangka dan sel saraf yang dapat diaktifkan oleh pengikatan nikotin, serta dengan asetilkolin).

Protein G lain mengatur aktivitas saluran ion secara kurang langsung, baik dengan merangsang fosforilasi saluran (dengan PKA, PKC, atau CaM-kinase, misalnya) atau dengan menyebabkan produksi atau penghancuran nukleotida siklik yang secara langsung mengaktifkan atau menonaktifkan saluran ion. *Saluran ion berpagar-nukleotida-siklik* ini memiliki peran penting dalam penciuman

(penciuman) dan penglihatan, seperti yang akan kita diskusikan sekarang.

### **Penciuman dan Penglihatan Tergantung pada GPCR yang Mengatur Saluran Ion Gerbang Siklik Nukleotida**

Manusia dapat membedakan lebih dari 10.000 bau yang berbeda, yang mereka deteksi dengan menggunakan neuron reseptor penciuman khusus di lapisan hidung. Sel-sel ini menggunakan GPCR spesifik yang disebut **reseptor olfaktorius** untuk mengenali bau; reseptor ditampilkan pada permukaan silia yang dimodifikasi yang membentang dari setiap sel (**Gambar 46**). Reseptor bekerja melalui AMP siklik. Ketika dirangsang oleh pengikatan bau, mereka mengaktifkan protein G spesifik penciuman (dikenal sebagai Golf), yang pada gilirannya mengaktifkan adenyl cyclase. Peningkatan yang dihasilkan dalam AMP siklik membuka *saluran kation berpagar AMP-siklik*, sehingga memungkinkan masuknya  $\text{Na}^+$ , yang mendepolarisasi neuron reseptor penciuman dan memulai impuls saraf yang berjalan di sepanjang aksonnya ke otak.

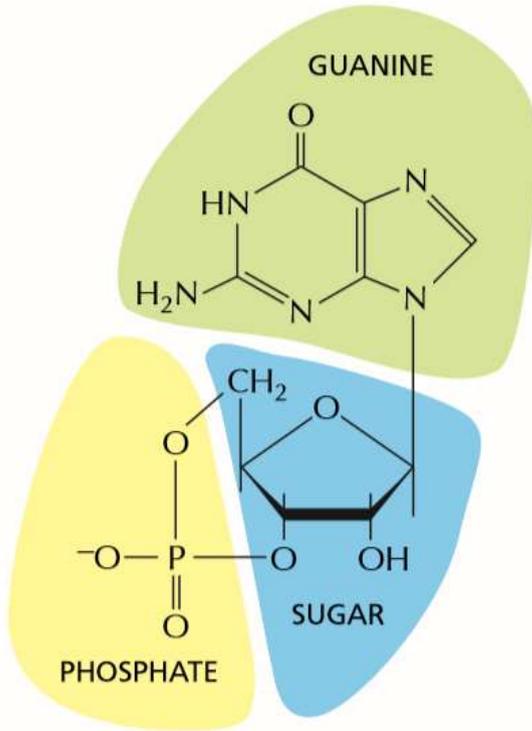


**Gambar 46 Neuron reseptor penciuman.** (A) Bagian epitel olfaktorius di hidung. Neuron reseptor penciuman memiliki silia yang dimodifikasi, yang menonjol dari permukaan epitel dan mengandung reseptor penciuman, serta mesin transduksi sinyal. Akson, yang memanjang dari ujung neuron reseptor yang

berlawanan, menyampaikan sinyal listrik ke otak saat suatu bau mengaktifkan sel untuk menghasilkan potensial aksi. Pada hewan pengerat, setidaknya, sel basal bertindak sebagai sel induk, menghasilkan neuron reseptor baru sepanjang hidup, untuk menggantikan neuron yang mati. (B) Sebuah mikrograf elektron pemindaian silia di permukaan neuron penciuman. (B, dari E.E. Morrison dan R.M. Costanzo, *J. Comp. Neurol.* 297: 1–13, 1990. Dengan izin dari Wiley-Liss.)

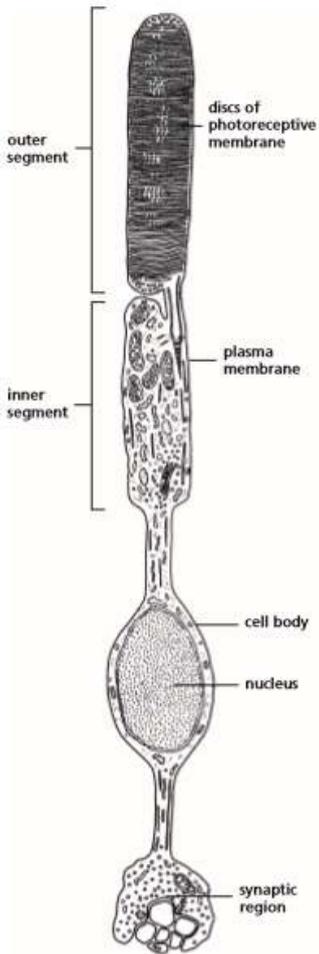
Ada sekitar 1000 reseptor penciuman yang berbeda pada seekor tikus dan sekitar 350 pada manusia, masing-masing dikodekan oleh gen yang berbeda dan masing-masing mengenali satu set bau yang berbeda. Setiap neuron reseptor penciuman hanya menghasilkan satu dari reseptor ini (lihat hal. 453); neuron merespons serangkaian aroma tertentu melalui reseptor spesifik yang ditampilkannya, dan masing-masing aroma mengaktifkan rangkaian karakteristiknya sendiri dari neuron reseptor penciuman. Reseptor yang sama juga membantu mengarahkan akson yang memanjang dari setiap neuron penciuman yang berkembang ke neuron target spesifik yang akan dihubungkannya di otak. Sekumpulan GPCR yang berbeda bertindak dengan cara yang sama untuk memediasi respons terhadap *feromon*, sinyal kimiawi yang terdeteksi di bagian hidung yang berbeda yang digunakan dalam komunikasi antara anggota spesies yang sama. Manusia, bagaimanapun, kekurangan reseptor feromon fungsional.

Penglihatan vertebrata menggunakan proses deteksi sinyal yang rumit dan sangat sensitif. Saluran ion berpagar-nukleotida-siklik juga terlibat, tetapi nukleotida siklik yang penting adalah **GMP siklik (Gambar 47)** daripada AMP siklik. Seperti halnya AMP siklik, sintesis cepat kontinu (oleh *guanylyl cyclase*) dan degradasi cepat (oleh *siklik GMP fosfodiesterase*) mengendalikan konsentrasi GMP siklik dalam sitosol.



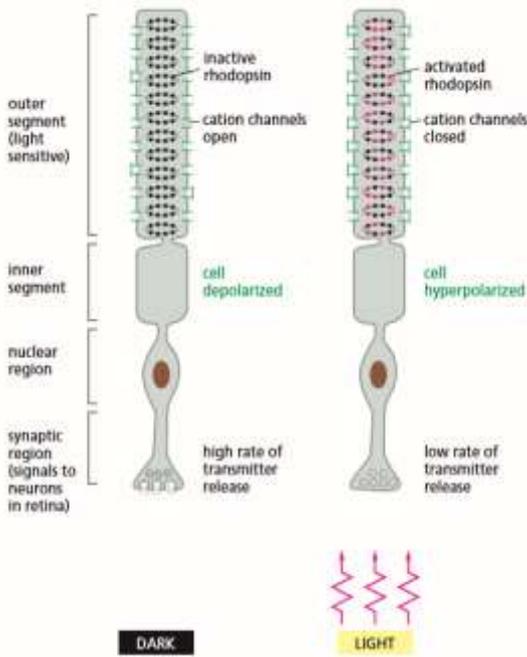
Gambar 47. GMP Siklik

Dalam respons transduksi visual, yang merupakan respons termediasi G-protein tercepat yang dikenal pada vertebrata, aktivasi reseptor yang dirangsang oleh cahaya menyebabkan penurunan daripada peningkatan tingkat nukleotida siklik. Jalur tersebut telah dipelajari dengan sangat baik pada **fotoreseptor batang (batang)** di retina vertebrata. Batang bertanggung jawab atas penglihatan noncolor dalam cahaya redup, sedangkan *fotoreseptor kerucut (kerucut)* bertanggung jawab untuk penglihatan warna dalam cahaya terang. Fotoreseptor batang adalah sel yang sangat terspesialisasi dengan segmen luar dan dalam, badan sel, dan daerah sinaptik di mana batang mengirimkan sinyal kimiawi ke sel saraf retinal (**Gambar 48**). Sel saraf ini menyampaikan sinyal ke sel saraf lain di retina, yang kemudian mengirimkannya ke otak (lihat Gambar 23-16).



**Gambar 48 Sel batang fotoreseptor.** Ada sekitar 1000 disc di segmen luar. Membran cakram tidak terhubung ke membran plasma. Segmen dalam dan luar adalah bagian khusus dari silia primer (dibahas dalam Bab 16); seperti disebutkan sebelumnya dan dibahas kemudian, silia primer meluas dari permukaan sebagian besar sel vertebrata, di mana ia berfungsi sebagai organel pemberi sinyal.

Alat fototransduksi berada di segmen luar batang, yang berisi tumpukan *cakram*, masing-masing dibentuk oleh kantung membran tertutup yang memiliki banyak molekul **rhodopsin** fotosensitif yang tertanam. Membran plasma yang mengelilingi segmen luar mengandung *saluran kation berpagar cyclic-GMP*. GMP siklik yang terikat ke saluran ini membuatnya tetap terbuka dalam kegelapan. Paradoksnya cahaya menyebabkan hiperpolarisasi (yang menghambat pensinyalan sinaptik) daripada depolarisasi membran plasma (yang akan menstimulasi pensinyalan sinaptik). Hiperpolarisasi (yaitu, potensi membran bergerak ke nilai yang lebih negatif dibahas dalam Bab 11) terjadi karena aktivasi molekul rhodopsin yang diinduksi cahaya dalam membran cakram mengurangi konsentrasi GMP siklik dan menutup saluran kation di membran plasma sekitarnya ( **Gambar 49**).



**Gambar 49. Respons sel fotoreseptor batang terhadap cahaya.** Molekul rhodopsin di cakram segmen luar menyerap foton. Penyerapan foton menutup saluran kation di membran plasma, yang menyebabkan hiperpolarisasi membran dan mengurangi laju pelepasan neurotransmitter dari daerah sinaptik. Karena neurotransmitter menghambat banyak neuron retina postsynaptic, iluminasi berfungsi untuk membebaskan neuron dari penghambatan dan dengan demikian, pada dasarnya, menggairahkan mereka.

Rhodopsin adalah anggota keluarga GPCR, tetapi sinyal ekstraseluler yang aktif bukanlah molekul tetapi foton cahaya. Setiap molekul rhodopsin mengandung kromofor yang terikat secara kovalen, retinal 11-*cis*, yang terisomerisasi hampir seketika ke semua transretinal ketika ia menyerap foton tunggal. Isomerisasi mengubah bentuk retinal, memaksa perubahan konformasi pada protein (opsin). Molekul rhodopsin yang teraktivasi kemudian mengubah konformasi dari *G-protein transducin* ( $G_t$ ), menyebabkan transdusin  $\alpha$  subunit untuk mengaktifkan **siklik GMP fosfodiesterase**. Fosfodiesterase kemudian menghidrolisis GMP siklik, sehingga kadar GMP siklik dalam sitosol turun. Penurunan konsentrasi GMP siklik ini menurunkan jumlah GMP siklik yang terikat ke saluran kation membran plasma, memungkinkan lebih banyak saluran yang sensitif terhadap GMP siklik ini untuk ditutup. Dengan cara ini, sinyal dengan cepat berpindah dari membran cakram ke membran plasma, dan sinyal cahaya diubah menjadi yang listrik, melalui hiperpolarisasi membran plasma sel batang.

Batang menggunakan beberapa putaran umpan balik negatif untuk memungkinkan sel dengan cepat kembali ke keadaan diam dan gelap setelah kilatan cahaya persyaratan untuk memahami pendeknya kilatan. Kinase spesifik-rhodopsin yang disebut *rhodopsin kinase (RK)* memfosforilasi ekor sitosol dari rhodopsin teraktivasi pada banyak serin, yang sebagian menghambat kemampuan rhodopsin untuk mengaktifkan transdusin. protein penghambat yang disebut *arrester* kemudian mengikat rhodopsin terfosforilasi, yang selanjutnya menghambat aktivitas rhodopsin. Tikus atau manusia dengan mutasi yang menonaktifkan gen penyandi RK memiliki respons cahaya yang berkepanjangan, dan batangnya akhirnya mati.

Pada saat yang sama saat *arrester* mematikan rhodopsin, protein RGS berikatan dengan transdusin teraktivasi, merangsang transdusin untuk menghidrolisis GTP yang terikat menjadi GDP, yang mengembalikan transdusin ke keadaan tidak aktifnya. Selain itu, saluran kation yang menutup sebagai respons terhadap cahaya bersifat permeabel terhadap  $\text{Ca}^{2+}$ , begitu pula dengan  $\text{Na}^+$ , sehingga ketika ditutup, aliran normal  $\text{Ca}^{2+}$  terhambat sehingga menyebabkan konsentrasi  $\text{Ca}^{2+}$  dalam sitosol turun. Penurunan konsentrasi  $\text{Ca}^{2+}$  menstimulasi guanylyl cyclase untuk mengisi kembali GMP siklik, dengan cepat mengembalikan levelnya ke tempat sebelumnya sebelum lampu dinyalakan. Protein sensitif  $\text{Ca}^{2+}$  tertentu memediasi aktivasi guanylyl cyclase sebagai respons terhadap penurunan kadar  $\text{Ca}^{2+}$ . Berbeda dengan kalmodulin, protein ini tidak aktif bila  $\text{Ca}^{2+}$  terikat padanya dan aktif bila bebas  $\text{Ca}^{2+}$ . Oleh karena itu merangsang siklase ketika kadar  $\text{Ca}^{2+}$  turun mengikuti respon cahaya

Mekanisme umpan balik negatif melakukan lebih dari sekadar mengembalikan batang ke keadaan istirahatnya setelah kilatan cahaya sementara; mereka juga membantu joran untuk *beradaptasi*, menurunkan respons ketika joran terkena cahaya secara terus menerus. Adaptasi, seperti yang telah kita diskusikan sebelumnya, memungkinkan sel reseptor berfungsi sebagai pendeteksi sensitif dari *perubahan* intensitas stimulus pada kisaran tingkat dasar

stimulasi yang sangat luas. Itu sebabnya kita bisa melihat flash kamera di siang hari bolong.

Berbagai protein G trimerik yang telah kita diskusikan dalam bab ini terbagi dalam empat famili utama, sebagaimana diringkas dalam **Tabel 3**.

**Tabel 3. Empat Keluarga Utama Protein G Trimerik \***

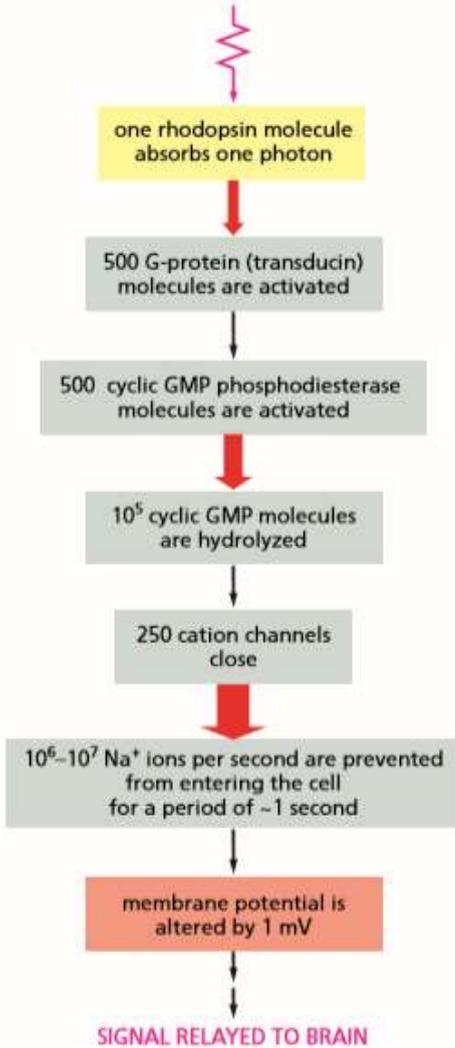
Famili	Beberapa anggota famili	Subunit yang menengahi tindakan	Beberapa fungsi
I	$G_s$	$\alpha$	mengaktifkan adenylyl cyclase, mengaktifkan kanal $Ca^{2+}$
	$G_{olf}$	$\alpha$	mengaktifkan adenylyl cyclase, di neuron sensorik olfaktorius
II	$G_i$	$\alpha$	menghambat adenylyl cyclase
	$G_o$	$\beta\gamma$	mengaktifkan saluran $K^+$
		$\beta\gamma$	mengaktifkan saluran $K^+$ , menonaktifkan saluran $Ca^{2+}$
	$G_t$ (transducin)	$\alpha$ dan $\beta\gamma$ $\alpha$	mengaktifkan fosfolipase C- $\beta$ mengaktifkan fosfodiesterase siklik dalam fotoreseptor batang vertebrata
III	$G_q$	$\alpha$	mengaktifkan fosfolipase C- $\beta$
IV	$G_{12/13}$	$\alpha$	mengaktifkan GTPase

			monomerik keluarga Rho (melalui Rho-GEF) untuk mengatur sitoskeleton aktin
--	--	--	--

**\*Famili ditentukan oleh keterkaitan urutan asam amino dari subunit  $\alpha$ . hanya contoh terpilih yang disertakan. sekitar 20 $\alpha$  subunit dan setidaknya 6 $\beta$  subunit dan 11 $\gamma$  subunit telah dijelaskan pada manusia**

### **Mediator Intraseluler dan Kaskade Enzimatis Memperkuat Sinyal Ekstraseluler**

Terlepas dari perbedaan detail molekuler, jalur pensinyalan intraseluler berbeda yang dipicu GPCR memiliki fitur tertentu dan mematuhi prinsip umum serupa. Mereka bergantung pada rantai relai protein pensinyalan intraseluler dan mediator intraseluler kecil. Berbeda dengan jalur pensinyalan yang lebih langsung yang digunakan oleh reseptor nuklir yang dibahas sebelumnya, rantai relai ini memberikan banyak peluang untuk memperkuat respons terhadap sinyal ekstraseluler. Dalam kaskade transduksi visual, misalnya, satu molekul rhodopsin teraktivasi mengkatalisis aktivasi ratusan molekul transdusin dengan kecepatan sekitar 1000 molekul transdusin per detik. Setiap molekul transdusin teraktivasi mengaktifkan molekul GMP fosfodiesterase siklik, yang masing-masing menghidrolisis sekitar 4000 molekul GMP siklik per detik. Kaskade katalitik ini berlangsung selama sekitar 1 detik dan menghasilkan hidrolisis lebih dari 10<sup>5</sup> molekul GMP siklik untuk satu kuantum cahaya yang diserap, dan menghasilkan penurunan konsentrasi GMP siklik pada gilirannya menutup ratusan saluran kation di membran plasma secara sementara (**Gambar 50**). Hasilnya, sel batang dapat merespons bahkan ke satu foton cahaya dengan cara yang sangat dapat direproduksi dalam waktu dan besarnya.



**Gambar 50. Amplifikasi kaskade katalitik yang diinduksi cahaya pada batang vertebrata.** Panah merah menunjukkan langkah-langkah di mana amplifikasi terjadi, dengan ketebalan panah secara kasar menunjukkan besarnya amplifikasi.

Demikian juga, ketika molekul sinyal ekstraseluler berikatan dengan reseptor yang secara tidak langsung mengaktifkan adenyl cyclase melalui  $G_s$ , setiap protein reseptor dapat mengaktifkan banyak molekul protein  $G_s$ , yang masing-masing dapat mengaktifkan molekul cyclase. Setiap molekul siklik, pada gilirannya, dapat mengkatalisis konversi sejumlah besar molekul ATP menjadi molekul AMP siklik. Amplifikasi serupa beroperasi di jalur pensinyalan inositol fosfolipid. Dengan cara ini, perubahan nanomolar ( $10^{-9}$  M) dalam konsentrasi sinyal ekstraseluler dapat menginduksi perubahan mikromolar ( $10^{-6}$  M) dalam konsentrasi mediator intraseluler kecil seperti AMP siklik atau  $Ca^{2+}$ . Karena mediator ini berfungsi sebagai efektor alosterik untuk mengaktifkan

enzim atau saluran ion tertentu, satu molekul sinyal ekstraseluler dapat mengubah ribuan molekul protein di dalam sel target.

Setiap kaskade yang memperkuat sinyal stimulasi membutuhkan mekanisme penyeimbang pada setiap langkah kaskade untuk mengembalikan sistem ke keadaan istirahatnya saat stimulasi berhenti. Seperti yang ditekankan sebelumnya, respons terhadap rangsangan bisa cepat hanya jika mekanisme penonaktifannya juga cepat. Oleh karena itu, sel memiliki mekanisme yang efisien untuk mendegradasi (dan mensintesis ulang) nukleotida siklik dengan cepat dan untuk menyangga dan menghilangkan  $\text{Ca}^{2+}$  sitosol, serta untuk menonaktifkan enzim dan saluran ion yang merespons setelah diaktifkan. Hal ini tidak hanya penting untuk menonaktifkan tanggapan, tetapi juga penting untuk menentukan keadaan istirahat dari mana tanggapan dimulai.

Setiap protein dalam rantai relai pensinyalan dapat menjadi target regulasi terpisah, termasuk reseptor itu sendiri, seperti yang akan kita bahas selanjutnya.

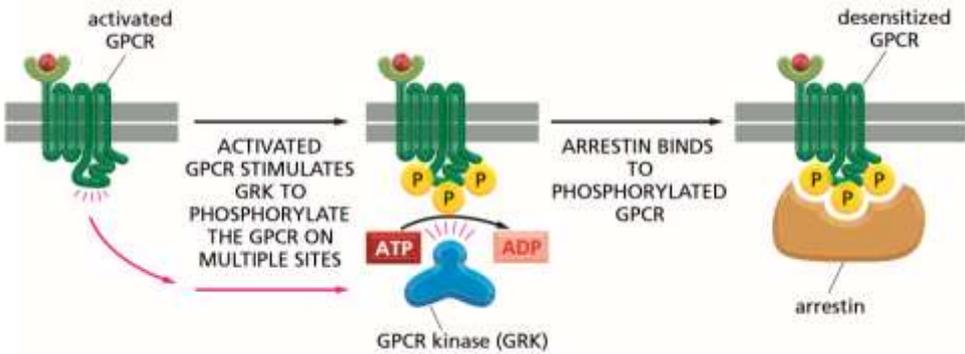
### Desensitisasi GPCR Tergantung pada Fosforilasi Reseptor

Ketika sel target terpapar konsentrasi tinggi ligan perangsang dalam waktu lama, mereka dapat menjadi *tidak sensitif*, atau *beradaptasi*, dalam beberapa cara berbeda. Kelas penting dari mekanisme desensitisasi bergantung pada perubahan kuantitas atau kondisi molekul reseptor itu sendiri.

Untuk GPCR, ada tiga mode umum desensitisasi (lihat Gambar 29): (1) Dalam *inaktivasi reseptor*, mereka menjadi diubah sehingga tidak dapat lagi berinteraksi dengan protein G. (2) Dalam *sekuestrasi reseptor*, mereka untuk sementara dipindahkan ke bagian dalam sel (diinternalisasi) sehingga mereka tidak lagi memiliki akses ke ligannya. (3) Dalam *regulasi penurunan reseptor*, mereka dihancurkan dalam lisosom setelah internalisasi.

Dalam setiap kasus, desensitisasi GPCR bergantung pada fosforilasinya oleh PKA, PKC, atau anggota famili **GPCR kinase (GRKs)**, yang mencakup RK kinase spesifik rhodopsin yang terlibat dalam desensitisasi fotoreseptor batang yang dibahas sebelumnya.

GRK memfosforilasi beberapa serin dan treonin pada GPCR, tetapi mereka melakukannya hanya setelah pengikatan ligan mengaktifkan reseptor, karena reseptor yang diaktifkan secara alosterik mengaktifkan GRK. Seperti halnya rhodopsin, sekali reseptor telah difosforilasi oleh GRK, ia mengikat dengan afinitas tinggi ke anggota dari keluarga protein **arrester** (**Gambar 51**).



**Gambar 51. Peran GPCR kinase (GRK) dan arrester dalam desensitisasi GPCR.** GRK hanya memfosforilasi reseptor yang diaktifkan karena GPCR yang diaktifkanlah yang mengaktifkan GRK. Pengikatan arrester ke reseptor terfosforilasi mencegah reseptor untuk mengikat protein G-nya dan juga mengarahkan endositosisnya (tidak ditunjukkan). Tikus yang kekurangan salah satu bentuk arrester gagal menjadi tidak peka dalam menanggapi morfin, misalnya, membuktikan pentingnya arrester untuk desensitisasi

Arrester terikat dapat berkontribusi pada proses desensitisasi setidaknya dalam dua cara. Pertama, ini mencegah reseptor yang diaktifkan berinteraksi dengan protein G. Kedua, ia berfungsi sebagai protein adaptor untuk membantu memasang reseptor ke mesin endositosis yang bergantung pada clathrin, menginduksi endositosis yang dimediasi reseptor. Nasib kompleks GPCR-arrester yang diinternalisasi bergantung pada protein lain dalam kompleks tersebut. Dalam beberapa kasus, reseptor mengalami defosforilasi dan didaur ulang kembali ke membran plasma untuk digunakan

kembali. Di tempat lain, itu ada di mana-mana dan terdegradasi di lisosom.

Endositosis reseptor tidak selalu menghentikan reseptor dari pensinyalan. Dalam beberapa kasus, arrester terikat merekrut protein pensinyalan lain untuk menyampaikan sinyal ke depan sepanjang jalur baru dari GPCR yang diinternalisasi.

## Ringkasan

*GPCRs dapat secara tidak langsung mengaktifkan atau menonaktifkan baik enzim yang terikat membran plasma atau saluran ion melalui protein G. Ketika reseptor yang diaktifkan menstimulasi protein G, protein G mengalami perubahan konformasi yang mengaktifkan  $\alpha$  subunit dan subunit  $\beta \gamma$  nya, yang kemudian dapat mengatur langsung aktivitas protein target dalam membran plasma. Beberapa GPCRs mengaktifkan atau menonaktifkan adenyl cyclase, sehingga mengubah konsentrasi intraseluler dari AMP siklik mediator intraseluler kecil. Yang lain mengaktifkan fosfolipase C spesifik-fosfoinositida ( $PLC\beta$ ), yang menghidrolisis fosfatidylinositol 4,5-bisfosfat [ $PI(4,5)P_2$ ] untuk menghasilkan dua mediator intraseluler kecil. Salah satunya adalah inositol 1,4,5-trisphosphate ( $IP_3$ ), yang melepaskan  $Ca^{2+}$  dari ER dan dengan demikian meningkatkan konsentrasi  $Ca^{2+}$  dalam sitosol. Yang lain adalah diasilgliserol, yang tetap berada di membran plasma dan membantu mengaktifkan protein kinase C (PKC). Peningkatan kadar AMP atau  $Ca^{2+}$  siklik sitosol mempengaruhi sel terutama dengan menstimulasi protein kinase A (PKA) dan  $Ca^{2+}$  / protein kinase yang bergantung pada kalmodulin (CaMkinases).*

*PKC, PKA, dan CaM-kinase memfosforilasi protein target spesifik pada serin atau treonin dan dengan demikian mengubah aktivitas protein. Setiap jenis sel memiliki kumpulan karakteristik protein targetnya sendiri yang diatur dengan cara ini, memungkinkan sel untuk membuat respons khususnya sendiri terhadap mediator intraseluler kecil. Kaskade pensinyalan intraseluler yang diaktifkan oleh GPCR sangat memperkuat respons, sehingga ribuan molekul protein target diubah untuk setiap molekul ligan pensinyalan ekstraseluler yang terikat pada reseptornya.*

*Respons yang dimediasi oleh GPCR dengan cepat dimatikan saat sinyal ekstraseluler dihapus. Dengan demikian, subunit G-protein  $\alpha$  distimulasi oleh protein targetnya atau RGS untuk menonaktifkan dirinya sendiri dengan menghidrolisis GTP yang terikat menjadi GDP, IP<sub>3</sub> dengan cepat mengalami defosforilasi oleh lipid fosfatase atau terfosforilasi oleh lipid kinase, nukleotida siklik dihidrolisis oleh fosfodiesterase.  $Ca^{2+}$  dengan cepat dipompa keluar dari sitosol, dan protein terfosforilasi terdefosforilasi oleh protein fosfatase. GPCR yang diaktifkan sendiri difosforilasi oleh GRK, sehingga memicu pengikatan arrester. Arrester terikat melepaskan reseptor dari protein G dan meningkatkan endositosisnya, menghasilkan desensitisasi atau pensinyalan lanjutan melalui protein pensinyalan yang direkrut oleh arrester.*

## **SIGNALING MELALUI RESEPTOR PERMUKAAN SEL YANG BERPASANGAN ENZIM**

Seperti GPCR, **reseptor yang digabungkan dengan enzim** adalah protein transmembran dengan domain pengikat ligan pada permukaan luar membran plasma. Alih-alih memiliki domain sitosol yang berasosiasi dengan protein G trimerik, domain sitosolnya memiliki aktivitas enzim intrinsik atau terkait langsung dengan enzim. Jika GPCR memiliki tujuh segmen transmembran, setiap subunit dari reseptor berpasangan enzim biasanya hanya memiliki satu. GPCR dan reseptor yang digabungkan dengan enzim sering mengaktifkan beberapa jalur pensinyalan yang sama, dan biasanya tidak ada alasan yang jelas mengapa sinyal ekstraseluler tertentu menggunakan satu kelas reseptor daripada yang lain

**Ada enam kelas utama dari reseptor yang digabungkan dengan enzim:**

1. *Reseptor tirosin kinase* secara langsung memfosforilasi tirosin spesifik pada dirinya sendiri dan pada sekumpulan kecil protein pensinyalan intraseluler.
2. *Reseptor terkait tirosin-kinase* tidak memiliki aktivitas enzim intrinsik tetapi langsung merekrut kinase tirosin sitoplasma untuk menyampaikan sinyal.

3. *Reseptor serin / treonin kinase* langsung memfosforilasi serin atau treonin spesifik pada dirinya sendiri dan pada protein pengatur gen laten yang berasosiasi dengannya.
4. *Reseptor terkait histidin-kinase* mengaktifkan jalur pensinyalan dua komponen di mana kinase memfosforilasi dirinya sendiri pada histidin dan kemudian segera mentransfer gugus fosforil ke protein pensinyalan intraseluler kedua.
5. *Siklase guanylyl reseptor* secara langsung mengkatalisasi produksi GMP siklik di sitosol, yang bertindak sebagai mediator intraseluler kecil dengan cara yang hampir sama seperti AMP siklik.
6. *Tirosin fosfatase yang menyerupai reseptor* menghilangkan gugus fosfat dari tirosin protein pensinyalan intraseluler spesifik. (Mereka disebut "seperti reseptor" karena ligan dugaannya belum diidentifikasi, sehingga fungsi reseptornya belum terbukti.)

Kami memfokuskan diskusi kami pada empat kelas pertama, dimulai dengan reseptor tirosin kinase, yang paling banyak dari reseptor yang digabungkan dengan enzim.

### Activated Receptor Tyrosine Kinases (RTKs) Phosphorylate Sendiri

Banyak protein sinyal ekstraseluler bekerja melalui **reseptor tirosin kinase (RTKs)**. Contoh penting yang dibahas di tempat lain dalam buku ini termasuk faktor *pertumbuhan epidermal (EGF)*, faktor *pertumbuhan yang diturunkan trombosit (PDGF)*, faktor *pertumbuhan fibroblast (FGF)*, faktor *pertumbuhan hepatosit (HGF)*, *insulin*, faktor *pertumbuhan mirip insulin-1 (IGF1)*, *vaskular faktor pertumbuhan endotel (VEGF)*, faktor *perangsang koloni makrofag (MCSF)*, dan *neurotrofin*, termasuk faktor *pertumbuhan saraf (NGF)*.

Banyak protein sinyal ekstraseluler yang terikat pada permukaan sel juga bekerja melalui RTKs. **Efrins** adalah kelas terbesar dari ligan yang terikat membran, dengan delapan teridentifikasi pada manusia. Di antara banyak fungsinya, mereka

membantu memandu migrasi sel dan akson di sepanjang jalur tertentu selama perkembangan hewan dengan merangsang respons yang menghasilkan daya tarik atau tolakan (dibahas nanti dan di Bab 22). Reseptor ephrins, yang disebut **reseptor Eph**, juga termasuk di antara RTK yang paling banyak, dengan tiga belas gen yang mengkodekannya pada manusia. Efrin dan reseptor Eph tidak biasa karena mereka secara bersamaan dapat bertindak sebagai ligan dan reseptor: pada pengikatan ke reseptor Eph, beberapa ephrins tidak hanya mengaktifkan reseptor Eph tetapi juga menjadi aktif sendiri untuk mengirimkan sinyal ke bagian dalam sel yang mengekspresikan efrin; dengan cara ini, perilaku sel pensinyalan dan sel target diubah. *Pensinyalan dua arah* antara ephrins dan reseptor Eph diperlukan, misalnya, untuk menjaga beberapa kelompok sel yang bertetangga agar tidak bercampur satu sama lain selama perkembangan.

Ada sekitar 60 gen yang mengkodekan RTK manusia. Reseptor ini dapat diklasifikasikan menjadi lebih dari 16 subfamili struktural, masing-masing didedikasikan untuk keluarga komplementer ligan proteinnya. **Gambar 52** menunjukkan sejumlah famili yang beroperasi pada mamalia, dan **Tabel 4** mencantumkan beberapa ligan dan fungsinya. Dalam semua kasus, pengikatan protein sinyal ke domain pengikat ligan di luar sel memungkinkan domain tirosin kinase intraseluler untuk memfosforilasi rantai samping tirosin yang dipilih, baik pada protein reseptor itu sendiri maupun pada protein pensinyalan intraseluler yang kemudian mengikat tirosin terfosforilasi pada reseptor.

**Tabel 4. Beberapa Protein Sinyal Yang Bekerja Melalui RTK**

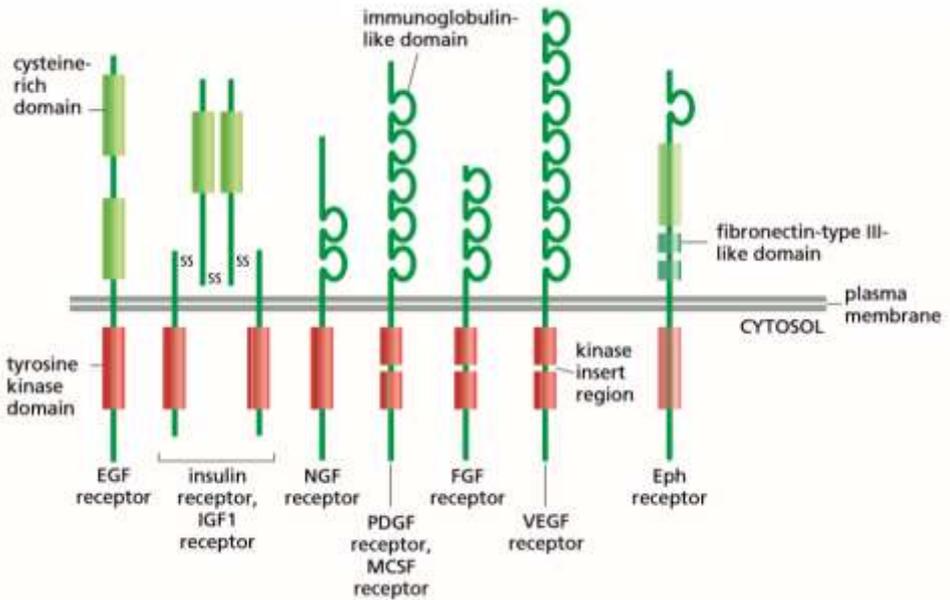
<b>Protein Sinyal</b>	<b>Penerima</b>	<b>Beberapa respon representatif</b>
Faktor pertumbuhan epidermal (EGF)	Reseptor EGF	merangsang kelangsungan hidup sel, pertumbuhan, proliferasi, atau diferensiasi berbagai jenis sel; bertindak sebagai sinyal induktif

dalam pengembangan

Insulin	Reseptor insulin	Merangsang pemanfaatan karbohidrat dan sintesis protein
Faktor pertumbuhan seperti insulin (IGF1 dan IGF2)	Reseptor IGF-1	Merangsang pertumbuhan dan kelangsungan hidup sel di banyak jenis sel
Faktor pertumbuhan saraf (NGF)	Trk A	Merangsang kelangsungan hidup dan pertumbuhan beberapa neuron
Faktor pertumbuhan yang diturunkan trombosit (PDGF AA, BB, AB)	Reseptor PDGF ( $\alpha$ dan $\beta$ )	Merangsang kelangsungan hidup, pertumbuhan, perkembangbiakan, dan migrasi berbagai jenis sel
Faktor perangsang koloni makro (MCSF)	Reseptor MCSF	Merangsang proliferasi dan diferensiasi monosit / makrofag
Faktor pertumbuhan fibroblast (FGF1 hingga FGF24)	Reseptor FGF (FGFR1 – FGFR4, ditambah beberapa isoform masing-masing)	Merangsang proliferasi berbagai jenis sel; menghambat diferensiasi beberapa sel prekursor; bertindak sebagai sinyal induktif dalam perkembangan
Faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF)	Reseptor VEGF	Merangsang angiogenesis

Ephrins (tipe A dan B)	Reseptor Eph (tipe A dan B)	merangsang angiogenesis; sel panduan dan migrasi akson
------------------------	-----------------------------	--

Bagaimana pengikatan ligan ekstraseluler mengaktifkan domain kinase di sisi lain membran plasma? Untuk GPCR, pengikatan ligan dianggap mengubah orientasi relatif beberapa transmembran menjadi  $\alpha$  heliks, sehingga menggeser posisi loop sitoplasma relatif satu sama lain. Namun, sulit untuk membayangkan bagaimana perubahan konformasi dapat menyebar melintasi lapisan ganda lipid melalui satu transmembran  $\alpha$  heliks.



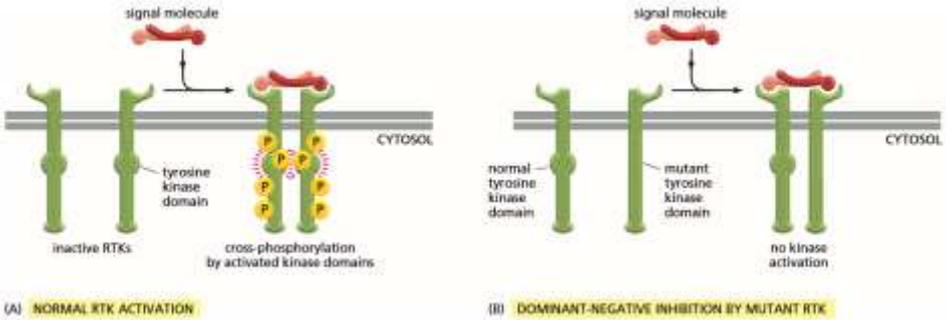
**Gambar 52 Beberapa subfamili RTK.** Hanya satu atau dua anggota dari setiap subfamili yang ditunjukkan. Perhatikan bahwa domain tirosin kinase diinterupsi oleh "wilayah sisipan kinase" di beberapa subfamili. Peran fungsional dari sebagian besar domain kaya sistein, mirip imunoglobulin, dan seperti fibronektin tipe III tidak diketahui. Beberapa ligan untuk reseptor yang ditunjukkan tercantum dalam Tabel 15–4, bersama dengan beberapa tanggapan representatif yang dimediasi.

Sebaliknya, untuk banyak RTK, pengikatan ligan menyebabkan rantai reseptor dimerisasi, menyatukan domain kinase dari dua rantai reseptor (contoh *kedekatan yang diinduksi*, dibahas sebelumnya) sehingga mereka dapat menjadi aktif dan saling fosforilasi satu sama lain pada beberapa tirosin, proses yang disebut sebagai *transautofosforilasi* (**Gambar 53A**).

Karena persyaratan untuk dimerisasi reseptor, relatif mudah untuk menonaktifkan RTK tertentu untuk menentukan kepentingannya bagi respons sel. Untuk tujuan ini, sel ditransfeksi dengan DNA yang mengkodekan bentuk mutan reseptor yang mengalami dimerisasi secara normal tetapi memiliki domain kinase tidak aktif. Ketika diekspresikan pada tingkat tinggi dengan reseptor normal, reseptor mutan bekerja dengan cara negatif yang dominan, melumpuhkan reseptor normal dengan membentuk dimer yang tidak aktif bersamanya (**Gambar 53B**).

### **Tirosin Terfosforilasi pada RTK Berfungsi sebagai Situs Docking untuk Protein Pemberian Sinyal Intraseluler**

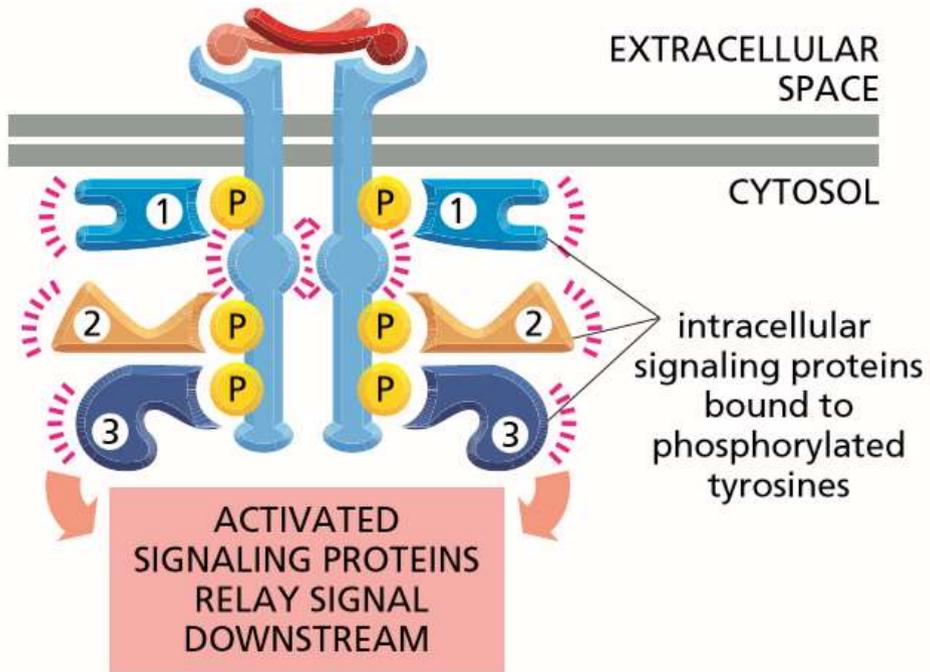
Fosforilasi silang dari ekor sitosol RTK yang berdekatan berkontribusi pada proses aktivasi reseptor dalam dua cara. Pertama, fosforilasi tirosin dalam domain kinase meningkatkan aktivitas kinase enzim. Kedua, fosforilasi tirosin di luar domain kinase menciptakan situs docking afinitas tinggi untuk pengikatan protein pensinyalan intraseluler tertentu. Masing-masing protein pensinyalan berikatan dengan situs terfosforilasi spesifik pada reseptor yang diaktifkan karena mengandung domain pengikat fosfotirosin spesifik yang mengenali ciri-ciri sekitar rantai polipeptida selain fosfotirosin.



**Gambar 53 Aktivasi dan inaktivasi RTK dengan dimerisasi.** (A) Reseptor normal dimerisasi sebagai respons terhadap pengikatan ligan. Dua domain kinase saling memfosforilasi satu sama lain, meningkatkan aktivitas domain kinase, yang sekarang memfosforilasi situs lain pada reseptor. (B) Reseptor mutan dengan domain kinase yang tidak aktif dapat dimerisasi secara normal, tetapi tidak dapat melakukan fosforilasi silang pada reseptor normal dalam dimer. Untuk alasan ini, reseptor mutan, jika ada secara berlebihan, akan memblokir pensinyalan oleh reseptor normal - sebuah proses yang disebut regulasi dominan-negatif. Ahli biologi sel sering menggunakan strategi ini untuk menghambat tipe RTK tertentu dalam sel untuk menentukan fungsi normalnya. Pendekatan serupa dapat digunakan untuk menghambat fungsi berbagai jenis reseptor dan protein pensinyalan intraseluler yang berfungsi sebagai dimer atau oligomer yang lebih besar.

Setelah terikat ke RTK yang diaktifkan, protein pensinyalan dapat dengan sendirinya menjadi terfosforilasi pada tirosin dan dengan demikian diaktifkan. Dalam banyak kasus, bagaimanapun, pengikatan saja mungkin cukup untuk mengaktifkan protein pensinyalan yang berlabuh, dengan menginduksi perubahan konformasi pada protein atau hanya membawanya ke dekat protein yang ada di jalur pensinyalan berikutnya. Dengan demikian, transautofosforilasi berfungsi sebagai sakelar untuk memicu perakitan transien kompleks pensinyalan intraseluler, yang kemudian dapat meneruskan sinyal ke depan, seringkali melalui beberapa rute, ke berbagai tujuan dalam sel (**Gambar 54**). Karena

RTK yang berbeda mengikat kombinasi yang berbeda dari protein pemberi sinyal ini, mereka mengaktifkan respon yang berbeda.



**Gambar 54 Docking protein pensinyalan intraseluler pada fosfotirosin pada RTK yang diaktifkan.** Reseptor yang diaktifkan dan protein pensinyalan terikatnya membentuk kompleks pensinyalan yang kemudian dapat menyiarkan sinyal di sepanjang jalur pensinyalan ganda.

Reseptor insulin dan IGF1 bekerja dengan cara yang sedikit berbeda. Mereka adalah tetramer (lihat Gambar 52), dan ikatan ligan dianggap mengatur ulang rantai reseptor transmembrannya, menggerakkan dua domain kinase berdekatan. Selain itu, sebagian besar lokasi docking fosfotirosin yang dihasilkan oleh pengikatan ligan tidak berada pada reseptor itu sendiri tetapi pada protein penambat khusus yang disebut *substrat reseptor insulin-1 (IRS1)*. Reseptor yang teraktivasi pertama-tama mentransautofosforilasi domain kinase-nya, yang kemudian memfosforilasi IRS1 pada beberapa tirosin, sehingga menciptakan lebih banyak tempat berlabuh daripada yang dapat ditampung pada reseptor itu sendiri

(lihat Gambar 22). Beberapa RTK lain menggunakan protein docking dengan cara yang mirip untuk memperbesar ukuran kompleks pensinyalan.

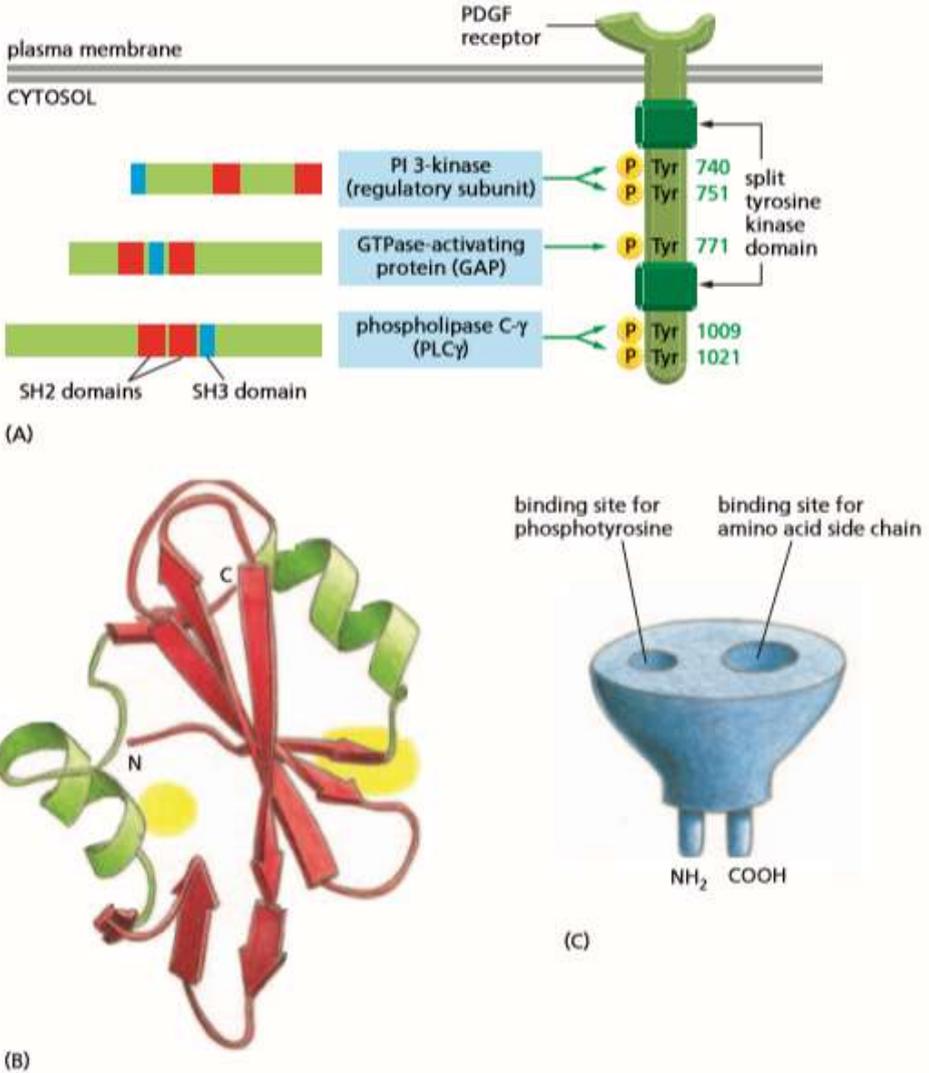
### **Protein dengan Domain SH2 Berikatan dengan Tirosin Difosforilasi**

Seluruh kumpulan protein pensinyalan intraseluler dapat mengikat fosfotirosin pada RTK yang diaktifkan (atau pada protein penambat seperti IRS1). Mereka membantu meneruskan sinyal ke depan, terutama melalui rantai interaksi protein-protein yang dimediasi oleh *domain interaksi modular*, seperti yang dibahas sebelumnya. Beberapa protein berlabuh adalah enzim, seperti **fosfolipase C- $\gamma$  (PLC $\gamma$ )**, yang berfungsi dengan cara yang sama seperti fosfolipase C $\beta$  mengaktifkan jalur pensinyalan fosfolipid inositol yang dibahas sebelumnya sehubungan dengan GPCRs (lihat Gambar 38 dan 39). Melalui jalur ini, RTK dapat meningkatkan kadar Ca<sup>2+</sup> sitosol dan mengaktifkan PKC. Enzim lain yang menempel pada reseptor ini adalah sitoplasma tirosin kinase Src, yang memfosforilasi protein pensinyalan lain pada tirosin. Namun yang lainnya adalah *phosphoinositide 3-kinase* (PI 3-kinase), yang memfosforilasi terutama lipid daripada protein; seperti yang kita bahas nanti, lipid terfosforilasi kemudian berfungsi sebagai tempat berlabuh untuk menarik berbagai protein pemberi sinyal ke membran plasma.

Protein pensinyalan intraseluler yang mengikat fosfotirosin, baik pada RTK yang diaktifkan atau pada protein yang dirangkai padanya, memiliki struktur dan fungsi yang bervariasi. Namun, mereka biasanya berbagi domain pengikatan fosfotirosin yang sangat kekal. Ini bisa berupa **domain SH2** (untuk *wilayah homologi* Src) atau, lebih jarang, *domain PTB* (untuk *pengikatan fosfotirosin*). Dengan mengenali tirosin terfosforilasi spesifik, domain interaksi kecil ini memungkinkan protein yang mengandungnya untuk mengikat RTK yang diaktifkan, serta banyak protein pensinyalan intraseluler lainnya yang telah terfosforilasi sementara pada tirosin (**Gambar 55**). Seperti yang telah dibahas sebelumnya, banyak

protein pensinyalan juga mengandung domain interaksi lain yang memungkinkan mereka untuk berinteraksi secara khusus dengan protein lain sebagai bagian dari proses pensinyalan. Domain ini termasuk domain SH3, yang mengikat motif kaya prolin dalam protein intraseluler (lihat Gambar 22). Ada sekitar 115 domain SH2 dan sekitar 295 **domain SH3** yang dikodekan dalam genom manusia.

Tidak semua protein yang mengikat RTK yang diaktifkan melalui domain SH2 membantu meneruskan sinyal ke depan. Beberapa bertindak untuk mengurangi proses pensinyalan, memberikan umpan balik negatif. Salah satu contohnya adalah *protein c-Cbl*, yang dapat berlabuh pada beberapa reseptor yang diaktifkan dan mengkatalisasi keberadaannya di mana-mana, secara kovalen menambahkan satu molekul ubiquitin ke satu atau lebih situs pada reseptor (disebut *monoubiquityl-asi* untuk membedakannya dari *polubiquitylation*, di mana satu atau rantai ubiquitin yang lebih panjang ditambahkan ke protein). Monoubiquitylation mendorong endositosis dan degradasi reseptor di lisosom contoh regulasi turun reseptor (lihat Gambar 29). Protein endositik yang mengandung *motif interaksi ubiquitin (UIMs)* mengenali RTK monoubiquitylated dan mengarahkannya ke vesikel berlapis clathrin dan, akhirnya, ke lisosom. Mutasi yang menonaktifkan down-regulation RTK yang bergantung pada c-Cbl menyebabkan pensinyalan RTK yang berkepanjangan dan dengan demikian mendorong perkembangan kanker.



**Gambar 55. Pengikatan SH2 yang mengandung protein pensinyalan intraseluler ke reseptor PDGF teraktivasi.** (A) Gambar reseptor PDGF ini menunjukkan lima situs dok fosfotirosin, tiga di daerah sisipan kinase dan dua di ekor terminal-C, di mana tiga protein pemberi sinyal yang ditunjukkan mengikat seperti yang ditunjukkan. Angka di sebelah kanan menunjukkan posisi tirosin dalam rantai polipeptida. Situs pengikatan ini telah diidentifikasi dengan menggunakan teknologi DNA rekombinan untuk memutasi tirosin spesifik di reseptor. Mutasi tirosin 1009 dan 1021 misalnya, mencegah pengikatan dan aktivasi PLC $\gamma$ , sehingga aktivasi reseptor tidak lagi menstimulasi jalur pensinyalan fosfolipid

inositol. Lokasi domain SH2 (*merah*) dan SH3 (*biru*) di tiga protein pensinyalan diindikasikan. (Situs dok fosfotirin tambahan pada reseptor ini tidak ditampilkan, termasuk yang mengikat sitoplasma tirosin kinase Src dan dua protein adaptor.) Tidak jelas berapa banyak protein pemberi sinyal yang dapat mengikat secara bersamaan ke satu RTK. (B) Struktur tiga dimensi dari domain SH2, seperti yang ditentukan oleh kristalografi sinar-x. Kantong pengikat untuk fosfotirosin ditunjukkan dengan warna kuning di sebelah kanan, dan kantong untuk mengikat rantai samping asam amino tertentu (isoleusin, dalam hal ini) ditunjukkan dengan warna kuning di sebelah kiri (lihat juga Gambar 3-39). (C) Domain SH2 adalah modul "plug-in" yang ringkas, yang dapat disisipkan hampir di mana saja dalam protein tanpa mengganggu fungsi atau lipatan protein (dibahas dalam Bab 3). Karena setiap domain memiliki situs yang berbeda untuk mengenali fosfotirosin dan untuk mengenali rantai samping asam amino tertentu, domain SH2 yang berbeda mengenali fosfotirosin dalam konteks urutan asam amino mengapit yang berbeda. (B, berdasarkan data dari G. Waksman et al., *Sel* 72: 779–790, 1993. Dengan izin dari Elsevier.)

Seperti kasus GPCR, endositosis RTK yang diinduksi ligan tidak selalu menurunkan pensinyalan. Dalam beberapa kasus, RTK diendositosis dengan protein pensinyalan terikat dan terus memberi sinyal dari endosom atau kompartemen intraseluler lainnya. Mekanisme ini, misalnya, memungkinkan *faktor pertumbuhan saraf (NGF)* untuk mengikat RTK spesifiknya (disebut TrkA) di ujung akson sel saraf yang panjang dan memberi sinyal ke badan sel dari sel yang sama pada jarak yang jauh. Di sini, memberi sinyal vesikel endositik yang mengandung TrkA, dengan NGF terikat di bagian dalam dan memberi sinyal protein yang berlabuh di sisi sitosol, diangkut di sepanjang akson ke badan sel, di mana mereka memberi sinyal pada sel untuk bertahan hidup.

Beberapa protein pensinyalan hampir seluruhnya terdiri dari domain SH2 dan SH3 dan berfungsi sebagai *adaptor* untuk memasang protein tirosin-terfosforilasi dengan protein lain yang tidak memiliki domain SH2 sendiri (lihat Gambar 22). Protein

adaptor jenis ini membantu memasang RTK yang diaktifkan ke protein pensinyalan penting *Ras*, sebuah GTPase monomer yang, pada gilirannya, dapat mengaktifkan berbagai jalur pensinyalan hilir, seperti yang sekarang kita diskusikan

**Ras Milik Superfamili GTPases Monomerik**

**Superfamili Ras** terdiri dari berbagai famili GTPase monomerik, tetapi hanya famili Ras dan Rho yang menyampaikan sinyal dari reseptor permukaan sel (**Tabel 5**). Dengan berinteraksi dengan protein pensinyalan intraseluler yang berbeda, satu anggota keluarga Ras atau Rho dapat secara terkoordinasi menyebarkan sinyal sepanjang beberapa jalur pensinyalan hilir yang berbeda, dengan demikian bertindak sebagai *pusat pensinyalan*.

**Tabel 5. Superfamili Ras GTPases Monomerik**

FAMILI	BEBERAPA ANGGOTA KELUARGA	BEBERAPA FUNGSI
Ras	H-Ras, K-Ras, N-Ras Rheb Rep1	sinyal relay dari RTK mengaktifkan mTOR untuk merangsang pertumbuhan sel diaktifkan oleh GEF yang bergantung pada AMP-siklik; mempengaruhi adhesi sel dengan mengaktifkan integrin
Rho *	Rho, Rac, Cdc42	menyampaikan sinyal dari reseptor permukaan ke sitoskeleton dan tempat lain
ARF*	ARF1-ARF6	mengatur perakitan mantel protein pada vesikula intraseluler

Rab*	Rab1-60	mengatur lalu lintas vesikel intraseluler
Ran*	Ran	mengatur perakitan spindle mitosis dan transpor inti RNA dan protein

\* Keluarga Rho dibahas di Bab 16, protein ARF dan Rab di Bab 13, dan Ran di Bab 12 dan 17. Struktur tiga dimensi Ras ditunjukkan pada Gambar 3–72.

Ada tiga protein Ras utama yang terkait erat pada manusia (H-, K-, dan N-Ras lihat Tabel 5). Meskipun mereka memiliki fungsi yang sedikit berbeda, mereka dianggap bekerja dengan cara yang sama, dan kami akan menyebutnya sebagai **Ras**. Seperti banyak GTPase monomerik, Ras mengandung satu atau lebih kelompok lipid yang terikat secara kovalen yang membantu mengikat protein ke permukaan sitoplasma membran di mana fungsi protein, yang terutama adalah membran plasma, dari mana ia menyampaikan sinyal ke bagian lain dari sel. Ras sering diperlukan, misalnya, ketika RTK memberi sinyal ke nukleus untuk merangsang proliferasi atau diferensiasi sel, yang keduanya memerlukan perubahan ekspresi gen. Jika seseorang menghambat fungsi Ras dengan injeksi mikro baik antibodi anti-Ras penetral atau bentuk Ras mutan dominan-negatif, respon proliferasi atau diferensiasi sel yang biasanya diinduksi oleh RTK yang diaktifkan tidak terjadi. Sebaliknya, 30% tumor manusia memiliki bentuk Ras mutan hiperaktif, yang berkontribusi pada proliferasi sel kanker yang tidak terkontrol.

Seperti protein pengikat GTP lainnya, Ras berfungsi sebagai sakelar molekuler, berputar di antara dua keadaan konformasi yang berbeda aktif saat GTP terikat dan tidak aktif saat GDP terikat (lihat Gambar 18B). <GAAC> Seperti dibahas sebelumnya untuk GTPase monomerik secara umum, dua kelas protein pensinyalan mengatur aktivitas Ras dengan mempengaruhi transisi antara keadaan aktif dan tidak aktif (lihat Gambar 19). *Faktor pertukaran nukleotida ras guanin (Ras-GEFs)* merangsang disosiasi GDP dan

serapan GTP selanjutnya dari sitosol, sehingga mengaktifkan Ras. *Ras GTPase-Activating Protein (Ras-GAPs)* meningkatkan laju hidrolisis GTP terikat oleh Ras, sehingga Ras tidak aktif. Bentuk mutan hiperaktif dari Ras resisten terhadap stimulasi GTPase yang dimediasi GAP dan terkunci secara permanen dalam keadaan aktif terikat GTP, itulah sebabnya mereka mendorong perkembangan kanker.

Tetapi bagaimana RTK biasanya mengaktifkan Ras? Pada prinsipnya, mereka dapat mengaktifkan Ras-GEF atau menghambat Ras-GAP. Meskipun beberapa GAP mengikat secara langsung (melalui domain SH2-nya) ke RTK yang diaktifkan (lihat Gambar 55A), sedangkan GEF biasanya hanya mengikat secara tidak langsung, kopleng tidak langsung dari reseptor ke Ras-GEF yang mendorong Ras ke status aktifnya. Hilangnya fungsi suatu Ras-GEF memiliki efek yang sama dengan hilangnya fungsi Ras itu sendiri. Aktivasi protein superfamili Ras lainnya, termasuk dari keluarga Rho, juga terjadi melalui aktivasi GEF. GEF tertentu menentukan di mana membran GTPase diaktifkan dan, dengan bertindak sebagai perancah, protein hilir yang diaktifkan GTPase.

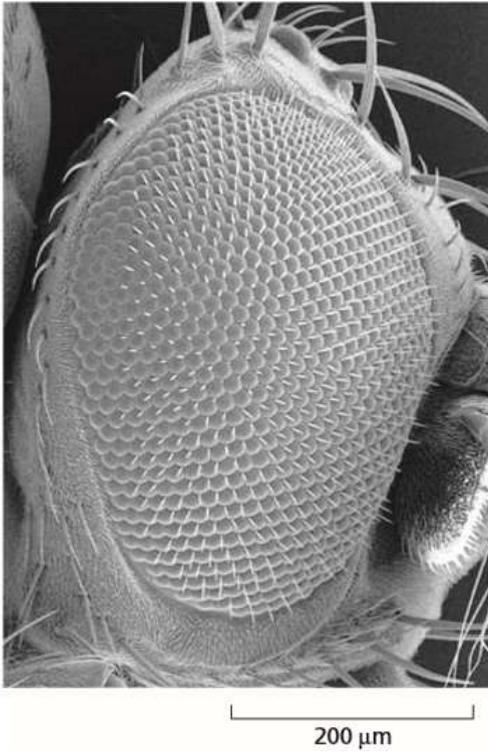
Protein ras dan protein yang mengaturnya telah dilestarikan secara ketat dalam evolusi, dan analisis genetik pada *Drosophila* dan *C. elegans* memberikan petunjuk pertama tentang bagaimana RTK mengaktifkan Ras. Studi genetik perkembangan sel fotoreseptor di mata *Drosophila* sangat informatif

### **RTK Mengaktifkan Ras Via Adapters dan GEFs: Bukti dari Mata *Drosophila* yang Berkembang**

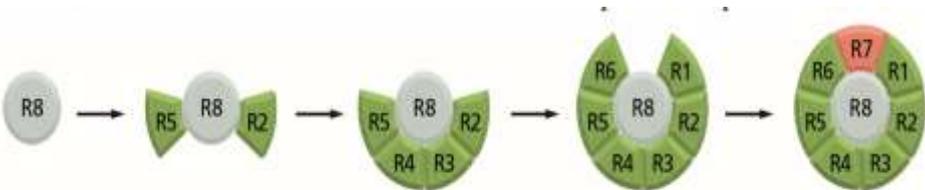
Mata majemuk *Drosophila* terdiri dari sekitar 800 unit identik yang disebut *ommatidia*, masing-masing terdiri dari 8 sel fotoreseptor (R1 – R8) dan 12 sel aksesori (**Gambar 56**). Mata berkembang dari lembaran epitel sederhana, dan sel-sel yang menyusun setiap ommatidium direkrut dari lembaran dalam urutan yang tetap, melalui serangkaian interaksi sel-sel. Dimulai dengan pengembangan fotoreseptor R8, setiap sel yang berdiferensiasi menginduksi tetangganya yang tidak terikat untuk mengadopsi

takdir tertentu dan berkumpul menjadi ommatidium yang sedang berkembang (**Gambar 57**).

Perkembangan fotoreseptor R7, yang diperlukan untuk mendeteksi sinar ultraviolet, telah dipelajari paling intensif, dimulai dengan deskripsi lalat mutan yang disebut *Sevenless (Sev)*, di mana kekurangan R7 adalah satu-satunya cacat yang diamati. Mutan semacam itu mudah dipilih atas dasar kebutaannya terhadap sinar ultraviolet. Mutan semacam itu mudah dipilih atas dasar kebutaannya terhadap sinar ultraviolet. Gen *Sev* normal terbukti menyandikan RTK yang diekspresikan pada sel prekursor R7. Analisis genetik lebih lanjut dari mutan di mana perkembangan R7 diblokir tetapi protein *Sev* itu sendiri tidak terpengaruh menyebabkan identifikasi gen *Bride-of-sevenless (Boss)*, yang mengkode ligan untuk *Sev* RTK. *Boss* adalah protein transmembran tujuh lintasan yang diekspresikan secara eksklusif pada permukaan sel R8 yang berdekatan, dan ketika ia mengikat dan mengaktifkan *Sev*, ia menginduksi sel prekursor R7 untuk berdiferensiasi menjadi fotoreseptor R7. Protein *Sev* juga diekspresikan pada beberapa sel prekursor lain dalam ommatidium yang sedang berkembang, tetapi tidak ada dari sel-sel ini yang bersentuhan dengan R8; oleh karena itu, protein *Sev* tidak diaktifkan, dan sel-sel ini tidak berdiferensiasi menjadi fotoreseptor R7



**Gambar 56. Memindai mikrograf elektron dari mata majemuk *Drosophila*.** Mata terdiri dari sekitar 800 unit identik (ommatidia), masing-masing memiliki lensa terpisah yang memfokuskan cahaya ke delapan sel fotoreseptor di dasarnya. (Atas kebaikan Kevin Moses.)

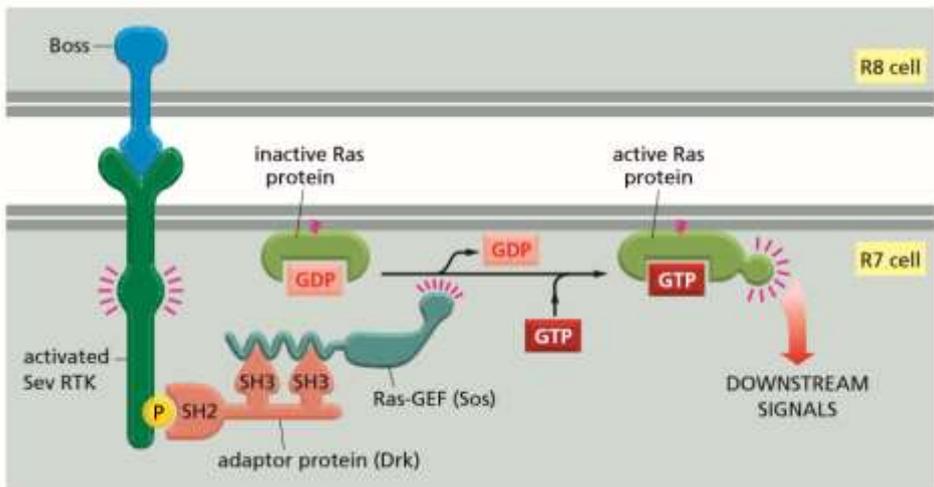


**Gambar 57. Perakitan sel fotoreseptor dalam *Drosophila* ommatidium yang sedang berkembang.** Sel direkrut secara berurutan untuk menjadi fotoreseptor, dimulai dengan R8 dan diakhiri dengan R7, yang merupakan sel fotoreseptor terakhir yang berkembang.

Komponen jalur pensinyalan intraseluler yang diaktifkan oleh Sev dalam sel prekursor R7 terbukti lebih sulit untuk diidentifikasi daripada reseptor atau ligannya karena mutasi yang menonaktifkannya mematikan. Masalahnya diselesaikan dengan melakukan skrining genetik pada lalat dengan protein Sev yang sebagian tidak aktif. Salah satu gen yang diidentifikasi mengkode

protein Ras. Lalat yang kedua salinan Rasgennya dinonaktifkan oleh mutasi mati, sedangkan lalat yang hanya memiliki satu salinan yang tidak aktif akan tetap hidup. Tetapi ketika lalat membawa sebagian protein Sev yang tidak aktif di matanya yang sedang berkembang, mutasi yang tidak aktif pada salah satu salinan gen Ras menyebabkan hilangnya R7. Selain itu, jika salah satu gen Ras menjadi terlalu aktif oleh mutasi, R7 berkembang bahkan pada mutan di mana Sev dan Boss tidak aktif. Temuan ini menunjukkan bahwa Ras bekerja di hilir Sev dan aktivasi dalam sel prekursor R7 diperlukan dan cukup untuk menginduksi diferensiasi R7.

Gen kedua yang diidentifikasi dalam layar genetik ini disebut *Son-of-sevenless* (*Sos*). Ini mengkodekan Ras-GEF, yang diperlukan Sev RTK untuk mengaktifkan Ras. Gen ketiga (disebut *Drk*) mengkodekan protein adaptor, yang memasang reseptor Sev dengan protein Sos; domain SH2 dari adaptor Drk mengikat ke Sev yang diaktifkan, sementara dua domain SH3-nya mengikat ke Sos (**Gambar 58**). Jenis skrining genetik ini, di mana organisme dengan komponen yang sebagian lumpuh dari jalur genetik digunakan untuk mengidentifikasi gen yang mengkode protein lain di jalur tersebut, sekarang telah banyak digunakan di tempat lain dengan sukses besar.



**Gambar 58** Bagaimana Sev RTK mengaktifkan Ras in the fly eye. Aktivasi Sev pada permukaan sel prekursor R7 oleh protein Boss pada permukaan R8 mengaktifkan Ras-GEF Sos melalui protein

adaptor Drk. Drk mengenali tirosin terfosforilasi spesifik pada protein Sev melalui domain SH2 dan berinteraksi dengan Sos melalui dua domain SH3. Sos menstimulasi protein Ras yang tidak aktif untuk menggantikan GDP yang terikat dengan GTP, yang mengaktifkan Ras untuk menyampaikan sinyal ke hilir, mendorong sel prekursor R7 untuk berdiferensiasi menjadi sel fotoreseptor penginderaan UV.

Studi biokimia dan biologi sel telah menunjukkan bahwa penggabungan RTK ke Ras terjadi dengan mekanisme yang serupa pada sel mamalia, di mana protein adaptor disebut **Grb2** dan Ras-GEF juga disebut Sos (lihat Gambar 22). Menariknya, saat mamalia Sos mengaktifkan Ras, Ras bertindak kembali untuk merangsang Sos lebih jauh, membentuk lingkaran umpan balik positif sederhana.

RTK bukan satu-satunya cara untuk mengaktifkan Ras.  $Ca^{2+}$  dan diacylglycerol, misalnya, mengaktifkan Ras-GEF yang ditemukan terutama di otak; Ras-GEF ini dapat menggabungkan GPCR ke aktivasi Ras secara independen dari Sos.

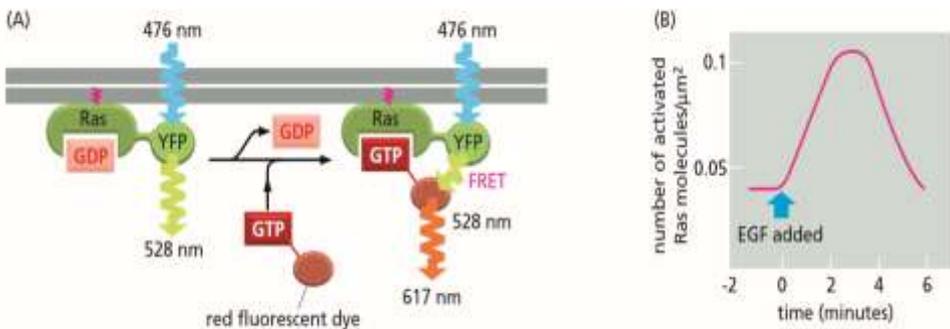
Setelah diaktifkan, Ras mengaktifkan berbagai protein pensinyalan lainnya untuk menyampaikan sinyal ke hilir, seperti yang akan kita bahas selanjutnya.

### **Ras Mengaktifkan Modul Pensinyalan MAP Kinase**

Fosforilasi tirosin dan aktivasi Ras yang dipicu oleh RTK yang diaktifkan biasanya berumur pendek (**Gambar 59**). *Protein fosfatase spesifik tirosin* dengan cepat membalikkan fosforilasi, dan GAP menyebabkan Ras yang diaktifkan untuk menonaktifkan dirinya sendiri dengan menghidrolisis GTP yang terikat menjadi GDP. Untuk merangsang sel untuk berkembang biak atau berdiferensiasi, peristiwa pensinyalan yang berumur pendek ini harus diubah menjadi yang bertahan lebih lama yang dapat mempertahankan sinyal dan meneruskannya ke hilir ke nukleus untuk mengubah pola ekspresi gen. Salah satu mekanisme kunci yang digunakan untuk tujuan ini adalah sistem protein yang disebut *modul protein kinase*

yang diaktivasi oleh mitogen (**modul MAP kinase**) (**Gambar 60**). Ketiga komponen sistem ini bersama-sama membentuk pensinyalan fungsional Modul yang telah sangat dikonservasi, dari ragi hingga manusia, dan digunakan, dengan variasi, dalam banyak konteks pensinyalan yang berbeda.

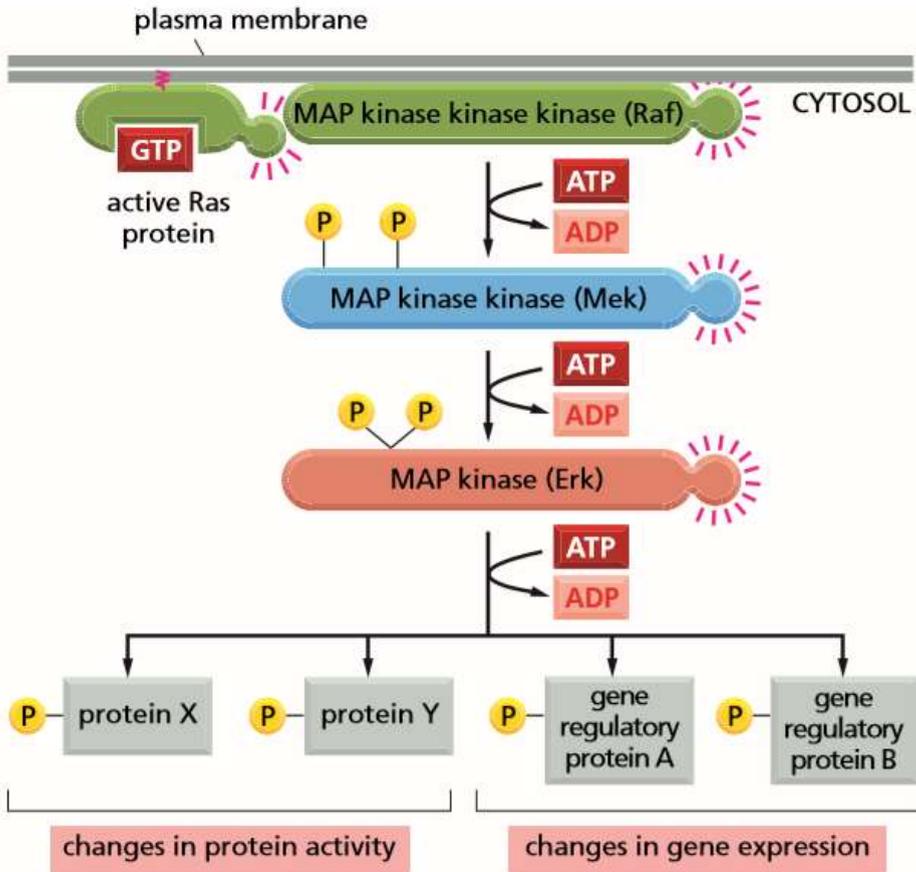
Ketiga komponen tersebut semuanya protein kinase. Kinase terakhir dalam rangkaian disebut hanya MAP kinase (MAPK). Hulu berikutnya dari ini adalah MAP kinase kinase (MAPKK): ia memfosforilasi dan dengan demikian mengaktifkan MAP kinase. Dan di atas itu, menerima sinyal pengaktifan langsung dari Ras, adalah MAP kinase kinase kinase (MAPKKK): ia memfosforilasi dan dengan demikian mengaktifkan MAPKK. Dalam jalur pensinyalan **Ras-MAP-kinase mamalia**, ketiga kinase ini dikenal dengan nama yang lebih pendek: Raf (= MAPKKK), Mek (= MAPKK) dan Erk (= MAPK).



**Gambar 59 Aktivasi transien Ras diungkapkan oleh transfer energi resonansi fluoresensi molekul tunggal (FRET).** (A) Gambar skema dari strategi eksperimental. Sel dari garis sel kanker manusia direkayasa secara genetik untuk mengekspresikan protein Ras yang secara kovalen terkait dengan yellow fluorescent protein (YFP). GTP yang diberi label dengan pewarna fluoresen merah disuntikkan ke dalam beberapa sel. Sel-sel tersebut kemudian distimulasi dengan faktor pertumbuhan epidermal protein sinyal ekstraseluler (EGF), dan molekul fluoresen tunggal Ras-YFP di permukaan bagian dalam membran plasma diikuti oleh mikroskop fluoresensi video dalam sel-sel individu. Ketika molekul Ras-YFP yang berpendar menjadi aktif, ia menukar GDP yang tidak berlabel dengan GTP

yang berlabel fluoresen; lampu kuning-hijau yang dipancarkan dari YFP sekarang mengaktifkan GTP fluoresen untuk memancarkan cahaya merah. Dengan demikian, aktivasi molekul Ras tunggal dapat diikuti dengan emisi fluoresensi merah dari titik fluoresen kuning-hijau pada membran plasma. Seperti yang ditunjukkan pada (B), molekul Ras yang diaktifkan dapat dideteksi setelah sekitar 30 detik stimulasi EGF. Sinyal merah mencapai puncaknya pada 3–4 menit dan kemudian menurun ke baseline selama 6 menit. Karena Ras-GAP ditemukan direkrut ke tempat yang sama di membran plasma dengan Ras, hal ini mungkin memainkan peran utama dalam mematikan sinyal Ras dengan cepat. (Dimodifikasi dari H. Murakoshi et al., Proc. Natl Acad. Sci. U.S.A. 101: 7317–7322, 2004. Dengan izin dari National Academy of Sciences.)

Setelah diaktifkan, MAP kinase merelay sinyal ke hilir dengan memfosforilasi berbagai protein dalam sel, termasuk protein pengatur gen dan protein kinase lainnya (lihat Gambar 60). Erk MAP kinase, misalnya, memasuki nukleus dan memfosforilasi satu atau lebih komponen kompleks regulasi gen. Ini mengaktifkan transkripsi sekumpulan *gen awal langsung*, dinamai demikian karena mereka menyala dalam beberapa menit setelah RTK menerima sinyal ekstraseluler, bahkan jika sintesis protein secara eksperimental diblokir dengan obat-obatan. Beberapa dari gen ini menyandikan protein pengatur gen lain yang menghidupkan gen lain, sebuah proses yang membutuhkan sintesis protein dan waktu yang lebih lama. (Hubungan antara gen awal dan selanjutnya segera mirip dengan hubungan antara gen respon primer dan sekunder yang diaktifkan oleh reseptor inti yang dibahas sebelumnya—lihat Gambar. 15)



**Gambar 60 Modul fosforilasi serin / treonin MAP kinase yang diaktifkan oleh Ras.** Modul tiga komponen dimulai dengan MAP kinase kinase kinase yang disebut Raf. Ras merekrut Raf ke membran plasma dan membantu mengaktifkannya. Raf kemudian mengaktifkan MAP kinase kinase Mek, yang kemudian mengaktifkan MAP kinase Erk. Erk pada gilirannya memfosforilasi berbagai protein hilir, termasuk protein kinase lainnya, serta protein pengatur gen dalam nukleus. Perubahan yang dihasilkan dalam ekspresi gen dan aktivitas protein menyebabkan perubahan kompleks dalam perilaku sel.

Dengan cara ini, jalur pensinyalan Ras-MAP-kinase menyampaikan sinyal dari permukaan sel ke nukleus dan mengubah pola ekspresi gen. Di antara gen yang diaktifkan oleh

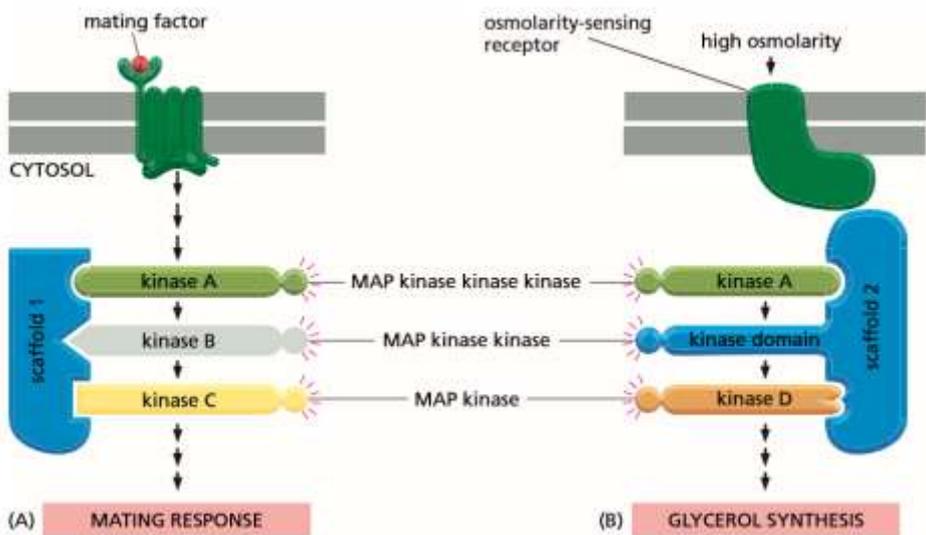
jalur ini adalah beberapa yang merangsang proliferasi sel, seperti gen yang mengkode *G1 cyclins* (dibahas dalam Bab 17).

Sinyal ekstraseluler biasanya mengaktifkan MAP kinase hanya untuk sementara, dan periode di mana kinase tetap aktif mempengaruhi respons. Ketika EGF mengaktifkan reseptornya dalam garis sel prekursor saraf, misalnya, aktivitas Erk MAP kinase memuncak pada 5 menit dan dengan cepat menurun, dan sel-sel kemudian membelah. Sebaliknya, ketika NGF mengaktifkan reseptornya pada sel yang sama, aktivitas Erk tetap tinggi selama beberapa jam, dan sel berhenti berkembang biak dan berdiferensiasi menjadi neuron. Banyak faktor yang dapat mempengaruhi durasi respon pensinyalan, termasuk loop umpan balik positif dan negatif (lihat Gambar 28).

Kinase MAP berpartisipasi dalam loop umpan balik positif dan negatif, yang dapat digabungkan untuk memberikan respons yang bertingkat atau seperti sakelar dan singkat atau tahan lama. Dalam contoh yang diilustrasikan sebelumnya, pada Gambar 24, MAP kinase mengaktifkan loop umpan balik positif yang kompleks untuk menghasilkan respons all-or-none, ireversibel ketika oosit katak distimulasi untuk matang dengan paparan singkat ke progesteron molekul sinyal ekstraseluler. Dalam banyak sel, MAP kinase mengaktifkan loop umpan balik negatif dengan meningkatkan konsentrasi *fosfatase protein spesifitas ganda* yang menghilangkan fosfat dari tirosin dan treonin untuk menonaktifkan MAP kinase (yang difosforilasi pada tirosin dan treonin oleh MAPKK) . Peningkatan hasil fosfatase baik dari peningkatan transkripsi gen fosfatase dan stabilisasi enzim melawan degradasi. Dalam jalur Ras-MAP-kinase yang ditunjukkan pada Gambar 61, Erk juga memfosforilasi dan menonaktifkan Raf, memberikan loop umpan balik negatif lain yang membantu mematikan modul MAP kinase.

## Protein Perancah Membantu Mencegah Pembicaraan Silang Antara Modul Kinase MAP Paralel

Modul pensinyalan MAP kinase tiga komponen beroperasi di semua sel eukariotik, dengan modul berbeda yang memediasi respons berbeda dalam sel yang sama. Pada ragi pemula, misalnya, satu modul memediasi respons terhadap feromon kawin, yang lain merespons kelaparan, dan satu lagi respons terhadap syok osmotik. Beberapa dari modul MAP kinase ini menggunakan satu atau lebih dari kinase yang sama namun berhasil mengaktifkan protein efektor yang berbeda dan oleh karena itu respon yang berbeda. Seperti dibahas sebelumnya, salah satu cara di mana sel menghindari cross-talk antara jalur pensinyalan paralel yang berbeda dan memastikan bahwa setiap respons spesifik adalah dengan menggunakan protein perancah (lihat Gambar 21A). Dalam sel yeast, perancah seperti itu mengikat semua atau beberapa kinase di setiap modul MAP kinase untuk membentuk kompleks dan dengan demikian membantu memastikan spesifisitas respon (**Gambar 61**).



**Gambar 61 Organisasi dua modul MAP kinase oleh protein perancah dalam ragi pemula.** Ragi tunas memiliki setidaknya enam modul MAP kinase tiga komponen yang terlibat dalam berbagai proses biologis, termasuk dua respons yang diilustrasikan di sini — respons kawin dan respons terhadap osmolaritas tinggi. (A) Respons kawin dipicu saat faktor kawin yang disekresikan oleh ragi jenis

kawin yang berlawanan berikatan dengan GPCR. Ini mengaktifkan protein G, kompleks bg yang secara tidak langsung mengaktifkan MAP kinase kinase kinase (kinase A), yang kemudian meneruskan responsnya. Setelah diaktifkan, MAP kinase (kinase C) memfosforilasi dan dengan demikian mengaktifkan beberapa protein yang memediasi respons kawin, di mana sel ragi berhenti membelah dan bersiap untuk fusi. Tiga kinase dalam modul ini terikat pada protein perancah 1. (B) Dalam respon kedua, sel yeast yang terpapar lingkungan highosmolaritas diinduksi untuk mensintesis gliserol untuk meningkatkan osmolaritas internalnya. Respon ini dimediasi oleh transmembran, osmolarity-sensing, reseptor protein dan modul MAP kinase yang berbeda yang terikat pada protein scaffold kedua. (Perhatikan bahwa domain kinase dari scaffold 2 menyediakan aktivitas MAP kinase kinase dari modul ini.) Meskipun kedua jalur menggunakan MAP kinase kinase kinase yang sama (kinase A, hijau), tidak ada cross-talk di antara keduanya, karena kinase di setiap modul terikat pada protein perancah yang berbeda, dan osmosensor terikat pada protein perancah yang sama dengan kinase tertentu yang diaktifkannya.

Hebatnya, scaffold 1 mampu berfungsi bahkan jika ia dilucuti (oleh rekayasa genetika) dari segala kemampuan untuk menyelaraskan atau mengatur secara alosterik ketiga ikatannya. Perannya tampaknya hanya untuk mendekatkan kinase, sehingga meningkatkan laju di mana mereka bertemu satu sama lain, seperti yang diharapkan untuk percepatan laju reaksi yang disebabkan oleh penambatan protein (lihat Gambar 3-80C).

Sel mamalia juga menggunakan strategi perancah ini untuk mencegah cross-talk antara modul MAP kinase yang berbeda. Setidaknya 5 modul MAP kinase paralel dapat beroperasi di sel mamalia. Modul ini menggunakan setidaknya 12 MAP kinase, 7 MAP kinase kinase, dan 7 MAP kinase kinase kinase. Dua dari modul ini (diakhiri dalam MAP kinase yang disebut JNK dan p38) diaktifkan oleh berbagai jenis tekanan sel, seperti iradiasi UV, kejutan panas, dan stres osmotik, serta oleh sitokin inflamasi; yang lainnya memediasi respons terhadap sinyal dari sel lain.

Meskipun strategi scaffold memberikan presisi dan menghindari cross-talk, ini mengurangi peluang untuk penguatan dan penyebaran sinyal ke berbagai bagian sel, yang memerlukan setidaknya beberapa komponen agar dapat difusif (lihat Gambar 17). Tidak jelas sejauh mana masing-masing komponen tersebut modul MAP kinase dapat memisahkan diri dari perancah selama proses aktivasi untuk memungkinkan amplifikasi, itulah sebabnya kami menyebutnya sebagai modul daripada kaskade.

### Rho Family GTPases Secara Fungsional Pasangan Reseptor Permukaan Sel ke Sitoskeleton

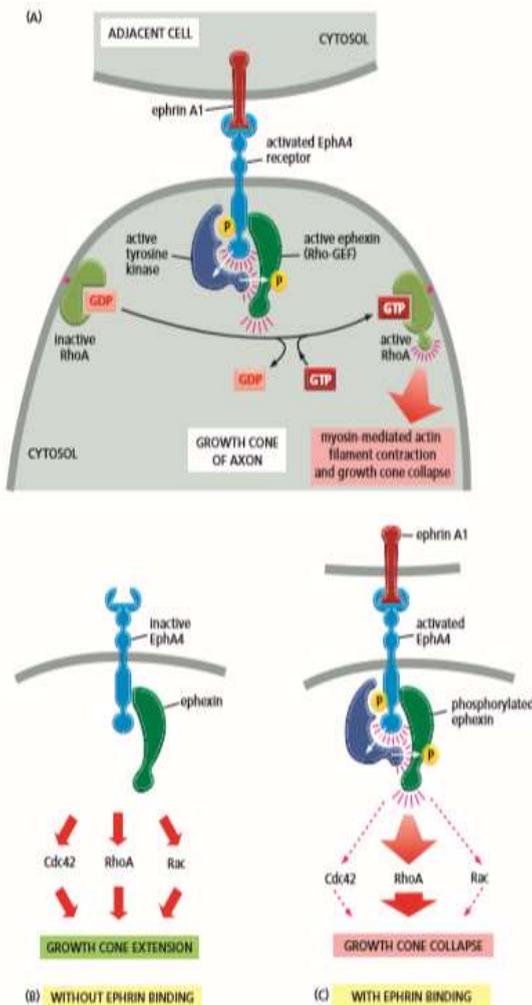
Selain protein Ras, kelas lain dari superfamili GTPase Ras yang menyampaikan sinyal dari reseptor permukaan sel adalah **famili Rho besar** (lihat Tabel 5). GTPase monomer famili Rho mengatur baik sitoskeleton aktin dan mikrotubulus, mengontrol bentuk sel, polaritas, motilitas, dan adhesi; mereka juga mengatur perkembangan siklus sel, transkripsi gen, dan transpor membran. Mereka memainkan peran kunci dalam panduan migrasi sel dan perkembangan akson saraf, memediasi respons sitoskeletal untuk aktivasi kelas khusus reseptor pemandu. Kami fokus pada aspek fungsi keluarga Rho di sini.

Tiga anggota dengan karakteristik terbaik adalah **Rho** itu sendiri, **Rac**, dan **Cdc42**, yang masing-masing mempengaruhi beberapa protein target hilir. Dengan cara yang sama seperti untuk Ras, GEF mengaktifkan dan GAP menonaktifkan GTPases keluarga Rho; ada lebih dari 60 Rho-GEF dan lebih dari 70 Rho-GAP pada manusia. Beberapa GEF dan GAP dikhususkan untuk satu anggota keluarga tertentu, sedangkan yang lain kurang spesifik. Tidak seperti Ras, yang terkait dengan membran bahkan ketika tidak aktif (dengan ikatan GDP), GTPase keluarga Rho yang tidak aktif sering terikat pada *inhibitor disosiasi nukleotida guanin* (GDI) dalam sitosol, yang mencegah GTPases berinteraksi dengan Rho-GEF mereka di selaput plasma.

Meskipun reseptor permukaan sel mengaktifkan Rho GTPases dengan mengaktifkan RhoGEFs, dalam banyak kasus tidak

diketahui bagaimana reseptor mengaktifkan GEF-nya. Salah satu pengecualian adalah *Eph* RTK (lihat Gambar 52) pada permukaan neuron motorik yang membantu memandu ujung akson yang bermigrasi (disebut kerucut pertumbuhan) ke target ototnya. Pengikatan protein *efrin* permukaan sel mengaktifkan reseptor Eph, menyebabkan kerucut pertumbuhan runtuh, sehingga menolaknya dari daerah yang tidak tepat dan menjaganya tetap pada jalurnya. Responsnya bergantung pada Rho-GEF yang disebut *ephexin*, yang secara stabil terkait dengan ekor sitosol reseptor Eph. Ketika pengikatan *ephrin* mengaktifkan reseptor Eph, reseptor tersebut mengaktifkan sitoplasma tirosin kinase yang memfosforilasi *ephexin* pada tirosin, meningkatkan kemampuan *ephexin* untuk mengaktifkan protein Rho RhoA. RhoA yang teraktivasi (RhoA-GTP) kemudian mengatur berbagai protein target hilir, termasuk beberapa protein efektor yang mengendalikan sitoskeleton aktin, menyebabkan kerucut pertumbuhan runtuh (**Gambar 62**).

*Efrin* adalah salah satu *protein pemandu ekstraseluler* dengan karakteristik terbaik, dengan banyak fungsi, baik di sistem saraf maupun di luarnya. Salah satu peran mereka, misalnya, adalah mengarahkan cara akson saraf tumbuh dari mata ke tektum optik sehingga dapat membuat 'peta' saraf bidang visual di otak. Tetapi bimbingan dari pertumbuhan akson adalah masalah yang kompleks, dan jenis lain dari reseptor pemandu juga terlibat. Semua reseptor ini, bagaimanapun, dianggap memandu pergerakan sel dengan mempengaruhi sitoskeleton, dan melakukannya melalui anggota keluarga Rho.



**Gambar 62 Keruntuhan kerucut pertumbuhan dimediasi oleh keluarga Rho GTPases.** (A) Pengikatan protein transmembran ephrin A1 pada sel yang berdekatan mengaktifkan EphA4 RTKs pada kerucut pertumbuhan akson, dengan mekanisme yang diilustrasikan pada Gambar -53A. Phosphotyrosines pada reseptor Eph yang diaktifkan merekrut dan mengaktifkan sitoplasma tirosin kinase untuk memfosforilasi ephexin Rho-GEF terkait reseptor pada tirosin. Ini meningkatkan kemampuan ephexin untuk mengaktifkan keluarga Rho GTPase RhoA. RhoA kemudian menginduksi kerucut pertumbuhan untuk runtuh dengan merangsang kontraksi myosindependen dari sitoskeleton aktin. (B) Ketika ephrin A1 tidak terikat pada reseptor EphA4, ephexin mengaktifkan tiga anggota keluarga Rho yang berbeda (Cdc42, Rac, dan RhoA) secara seimbang, mempromosikan kemajuan maju dari kerucut pertumbuhan. (C) EphrinA1 yang mengikat EphA4 mengubah aktivitas ephexin sehingga sekarang terutama mengaktifkan RhoA, menyebabkan kerucut pertumbuhan runtuh.

Setelah mempertimbangkan bagaimana RTK menggunakan GEF dan GTPase monomerik untuk menyampaikan sinyal ke dalam sel, kami sekarang mempertimbangkan strategi utama kedua yang digunakan RTK yang bergantung pada mekanisme relai intraseluler yang sangat berbeda.

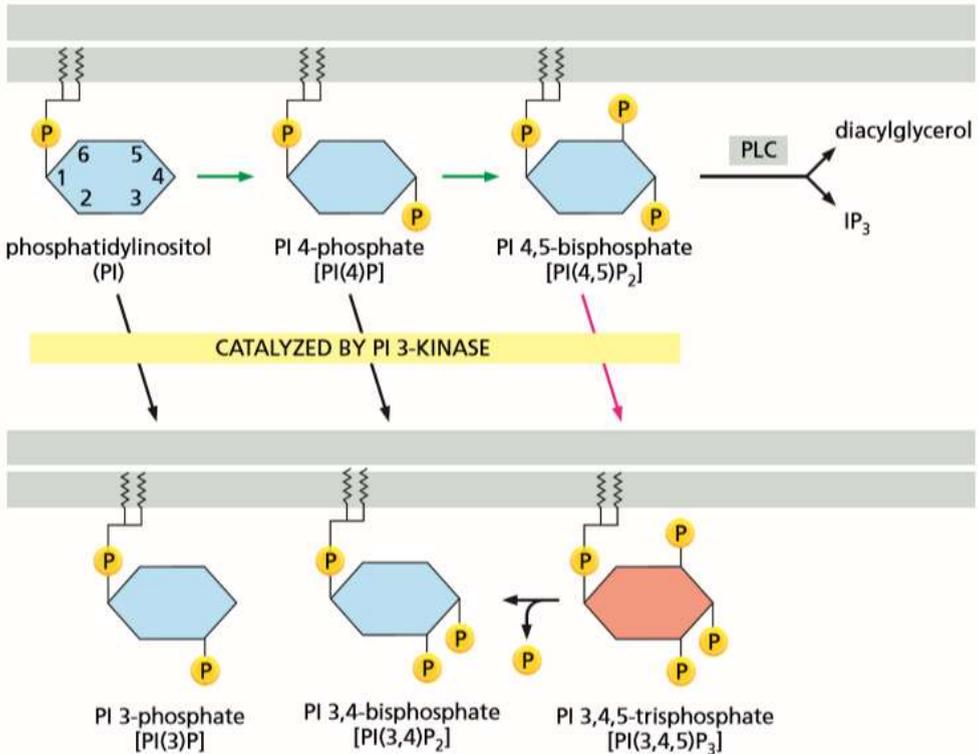
### PI 3-Kinase Menghasilkan Situs Docking Lipid di Membran Plasma

Seperti disebutkan sebelumnya, salah satu protein yang mengikat ekor molekul RTK intraseluler adalah **enzim fosfoinositida 3kinase (PI 3-kinase)** yang terikat membran plasma.

Kinase ini terutama memfosforilasi inositol fosfo lipid, bukan protein, dan RTK dan GPCR dapat mengaktifkannya. Ini memainkan peran sentral dalam mempromosikan kelangsungan hidup dan pertumbuhan sel

*Phosphatidylinositol (PI)* adalah unik di antara lipid membran karena dapat mengalami fosforilasi reversibel di beberapa situs pada kelompok kepala inositol untuk menghasilkan berbagai lipid PI terfosforilasi yang disebut **fosfoinositida** (lihat Gambar 37). Ketika diaktifkan, PI 3-kinase mengkatalisis fosforilasi pada 3 posisi cincin inositol untuk menghasilkan beberapa fosfoinositida (**Gambar 63**). Produksi PI (3,4,5) P<sub>3</sub> paling penting karena dapat berfungsi sebagai tempat berlabuh untuk berbagai protein pensinyalan intraseluler, yang berkumpul menjadi kompleks pensinyalan yang menyampaikan sinyal ke dalam sel dari permukaan sitosol membran plasma (lihat Gambar 21C).

Perhatikan perbedaan antara penggunaan fosfoinositida dan penggunaannya yang dijelaskan sebelumnya, di mana PI (4,5) P<sub>2</sub> dibelah oleh PLC<sub>β</sub> (dalam kasus GPCR) atau PLC<sub>γ</sub> (dalam kasus RTK) untuk menghasilkan IP<sub>3</sub> dan membran yang dapat larut-terikat diasilgliserol (lihat Gambar 38 dan 39). Sebaliknya, PI (3,4,5) P<sub>3</sub> tidak dibelah oleh PLC. Itu dibuat dari PI (4,5) P<sub>2</sub> dan kemudian tetap di dalam membran plasma sampai *fosfatase fosfatida* spesifik mendefosforilasi itu. Yang menonjol di antaranya adalah PTEN fosfatase, yang mendefosforilasi posisi 3 cincin inositol. Mutasi pada PTEN ditemukan pada banyak kanker: dengan memperpanjang pensinyalan oleh PI 3-kinase, mereka mendorong pertumbuhan sel yang tidak terkendali.



**Gambar 63. Pembangkitan situs dok fosfoinositida oleh PI 3-kinase.** PI 3-kinase memfosforilasi cincin inositol pada atom karbon 3 untuk menghasilkan fosfoinositida yang ditunjukkan di bagian bawah gambar (mengalihkannya dari jalur yang mengarah ke IP<sub>3</sub> dan diasilgliserol). Fosforilasi terpenting (ditunjukkan dengan warna merah) adalah dari PI (4,5) P<sub>2</sub> hingga PI (3,4,5) P<sub>3</sub>, yang dapat berfungsi sebagai tempat berlabuh untuk memberi sinyal protein dengan domain PH pengikat PIP<sub>3</sub>. Kinase fosfolipid inositol lainnya mengkatalisis fosforilasi yang ditunjukkan oleh panah hijau.

Ada berbagai jenis PI 3-kinase. Yang diaktifkan oleh RTK dan GPCR termasuk dalam kelas I. Ini adalah heterodimer yang terdiri dari subunit katalitik umum dan subunit peraturan yang berbeda. RTK mengaktifkan kelas Ia PI 3-kinase, di mana subunit pengatur adalah protein adaptor yang mengikat ke dua fosfotirosin pada RTK yang diaktifkan melalui dua domain SH2-nya (lihat Gambar 55A). GPCR mengaktifkan kelas Ib PI 3-kinase, yang memiliki subunit pengatur yang mengikat kompleks βγ dari protein G

trimerik yang diaktifkan saat GPCRs diaktifkan oleh ligan ekstraselulernya. Pengikatan langsung Ras yang diaktifkan juga dapat mengaktifkan subunit katalitik kelas I.

Protein pensinyalan intraseluler berikatan dengan PI (3,4,5) P<sub>3</sub> yang dihasilkan oleh PI 3-kinase teraktivasi melalui domain interaksi spesifik, seperti **domain homologi pleckstrin (PH)** yang disebutkan sebelumnya, pertama kali diidentifikasi dalam pleckstrin protein platelet. Domain PH berfungsi terutama sebagai domain interaksi protein-protein, dan hanya sebagian kecil dari domain tersebut yang berikatan dengan PIP<sub>3</sub>; setidaknya beberapa di antaranya juga mengenali protein terikat membran spesifik serta PIP<sub>3</sub>, yang sangat meningkatkan spesifisitas pengikatan dan membantu menjelaskan mengapa protein pensinyalan dengan domain PH pengikat PIP<sub>3</sub> tidak semuanya berlabuh sama sekali PI (3,4,5) situs P<sub>3</sub>. Domain PH terjadi di sekitar 200 protein manusia, termasuk Ras-GEF Sos yang dibahas sebelumnya (lihat Gambar 22).

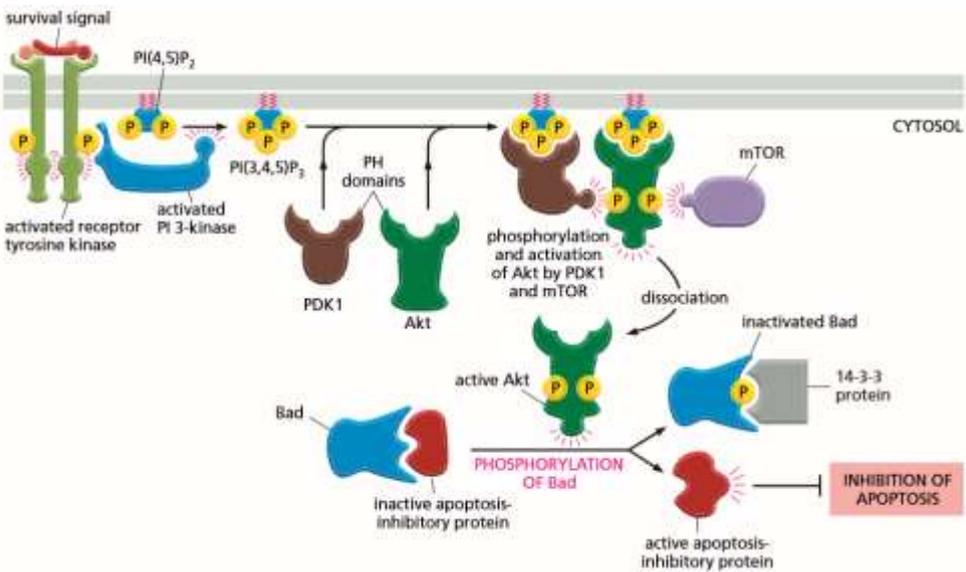
Satu protein yang mengandung domain-PH yang sangat penting adalah protein kinase serin / treonin *Akt*. Jalur pensinyalan *PI-3-kinase-Akt* adalah jalur utama yang diaktivasi oleh hormon *insulin*. Ini juga memainkan peran kunci dalam mempromosikan kelangsungan hidup dan pertumbuhan banyak jenis sel baik pada invertebrata dan vertebrata, seperti yang sekarang kita diskusikan.

### **Jalur Persinyalan PI-3-Kinase – Akt Merangsang Sel Hewan untuk Bertahan Hidup dan Bertumbuh**

Agar organisme multiseluler dapat tumbuh, selnya harus tumbuh (menumpuk massa dan memperbesar). Jika sel membelah begitu saja tanpa tumbuh, mereka akan semakin kecil dan organisme secara keseluruhan akan tetap berukuran sama. Seperti dibahas sebelumnya, sinyal ekstraseluler biasanya diperlukan untuk sel hewan untuk tumbuh dan membelah, serta untuk bertahan hidup (lihat Gambar 8). Anggota dari kelompok protein sinyal *insulin-like growth factor (IGF)*, misalnya, merangsang banyak jenis sel hewan untuk bertahan hidup dan tumbuh. Mereka mengikat RTK tertentu

(lihat Gambar 52), yang mengaktifkan PI 3-kinase untuk menghasilkan PI (3,4,5) P<sub>3</sub>. PIP<sub>3</sub> merekrut dua protein kinase ke membran plasma melalui domain PH mereka—Akt (juga disebut *protein kinase B*, atau PKB) dan protein kinase 1 yang bergantung pada *phosphoinositide* (PDK1), dan ini mengarah pada aktivasi Akt (**Gambar 64**). Setelah diaktifkan, Akt memfosforilasi berbagai protein target di membran plasma, serta di sitosol dan nukleus. Efek pada sebagian besar target yang diketahui adalah menonaktifkannya; tetapi targetnya sedemikian rupa sehingga tindakan Akt ini semuanya bersekongkol untuk meningkatkan kelangsungan hidup dan pertumbuhan sel.

Salah satu efek Akt, misalnya, adalah untuk memfosforilasi protein sitosol yang disebut *Bad*, yang, dalam keadaan nonfosforilasi, meningkatkan kematian sel melalui apoptosis (dibahas dalam Bab 18). Fosforilasi Bad oleh Akt menciptakan situs pengikatan fosforilasi untuk protein perancah yang disebut 14-3-3, yang menyaring Bad yang terfosforilasi dan membuatnya tidak bekerja, sehingga meningkatkan kelangsungan hidup sel (lihat Gambar 64).



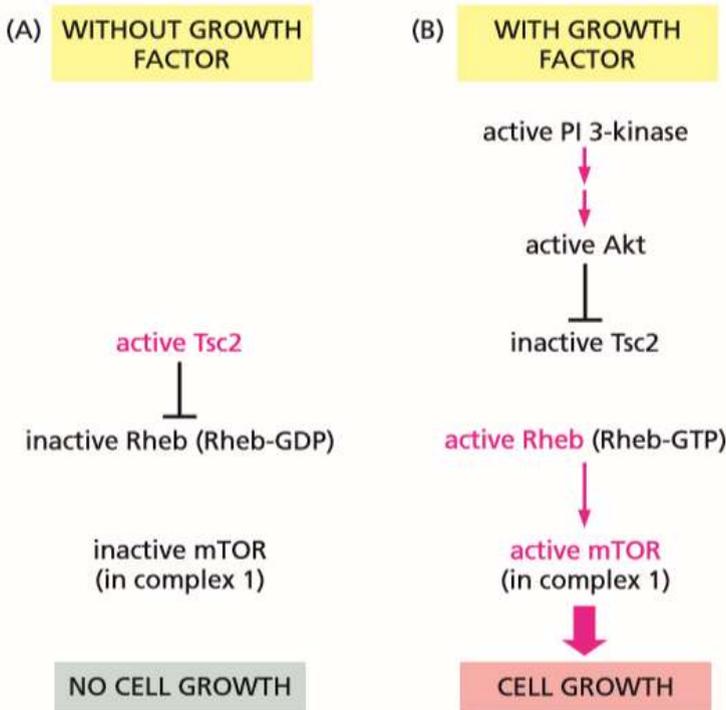
**Gambar 64.** Salah satu cara pensinyalan melalui PI 3-kinase meningkatkan kelangsungan hidup sel. Sinyal kelangsungan hidup ekstraseluler mengaktifkan RTK, yang merekrut dan mengaktifkan

PI 3-kinase. PI 3-kinase menghasilkan PI (3,4,5) P3, yang berfungsi sebagai tempat berlabuh untuk dua serin / treonin kinase dengan domain PH — Akt dan kinase PDK1 yang bergantung fosoinositol — yang didekatkan pada membran plasma. Akt difosforilasi pada serin oleh kinase ketiga (biasanya mTOR), yang mengubah konformasi Akt sehingga dapat difosforilasi pada treonin oleh PDK1, yang mengaktifkan Akt. Akt yang diaktifkan sekarang memisahkan diri dari membran plasma dan memfosforilasi berbagai protein target, termasuk protein jahat

Ketika tidak terfosforilasi, Bad menahan satu atau lebih protein penghambat apoptosis (dari keluarga Bcl2 — dibahas dalam Bab 18) dalam keadaan tidak aktif. Setelah terfosforilasi, Bad melepaskan protein penghambat, yang sekarang dapat memblokir apoptosis dan dengan demikian meningkatkan kelangsungan hidup sel. Seperti yang ditunjukkan, setelah terfosforilasi, Bad mengikat protein sitosol di mana-mana yang disebut 14-3-3, yang membuat Bad tidak bekerja.

**Jalur PI-3-kinase-Akt** memberi sinyal sel untuk tumbuh melalui mekanisme yang lebih kompleks yang bergantung pada protein kinase serin / treonin yang besar yang disebut **TOR** (dinamai sebagai target *rapamycin*, racun bakteri yang menonaktifkan kinase dan digunakan secara klinis) sebagai obat immunosupresan dan anti kanker). TOR awalnya diidentifikasi pada ragi di skrining genetik untuk resistensi rapamycin; dalam sel mamalia, itu disebut **mTOR**. TOR ada dalam sel di dua kompleks multiprotein yang berbeda secara fungsional. Dalam sel mamalia, *mTOR complex 1* mengandung protein *raptor*; kompleks ini sensitif terhadap rapamycin, dan merangsang pertumbuhan sel — baik dengan meningkatkan produksi ribosom dan sintesis protein dan dengan menghambat degradasi protein. Kompleks 1 juga mendorong pertumbuhan sel dan kelangsungan hidup sel dengan merangsang pengambilan nutrisi dan metabolisme. *mTOR complex 2* mengandung protein *ricor* dan tidak sensitif terhadap rapamycin; itu membantu untuk mengaktifkan **Akt** (lihat Gambar 64), dan ini mengatur sitoskeleton aktin melalui GTPases keluarga Rho.

MTOR dalam kompleks 1 mengintegrasikan masukan dari berbagai sumber, termasuk protein sinyal ekstraseluler yang disebut sebagai *faktor pertumbuhan* dan nutrisi seperti asam amino, yang keduanya membantu mengaktifkan mTOR dan mendorong pertumbuhan sel. Faktor pertumbuhan mengaktifkan mTOR terutama melalui jalur PI-3-kinase – Akt. Akt mengaktifkan mTOR di kompleks 1 secara tidak langsung dengan memfosforilasi, dan dengan demikian menghambat, GAP yang disebut Tsc2. Tsc2 bekerja pada GTPase terkait Ras monomer yang disebut **Rheb** (lihat Tabel 15–5, hal. 926). Rheb dalam bentuk aktifnya (Rheb-GTP) mengaktifkan mTOR. Hasil akhirnya adalah Akt mengaktifkan mTOR dan dengan demikian meningkatkan pertumbuhan sel (**Gambar 65**). Kami membahas bagaimana mTOR merangsang produksi ribosom dan sintesis protein di Bab 17 (lihat Gambar 17-65)



**Gambar 65. Aktivasi mTOR oleh jalur pensinyalan PI-3-kinase – Akt.** (A) Dengan tidak adanya faktor pertumbuhan ekstraseluler, Tsc2 (Rheb-GAP) membuat Rheb tidak aktif; mTOR di kompleks I tidak aktif, dan tidak ada pertumbuhan sel. (B) Dengan adanya

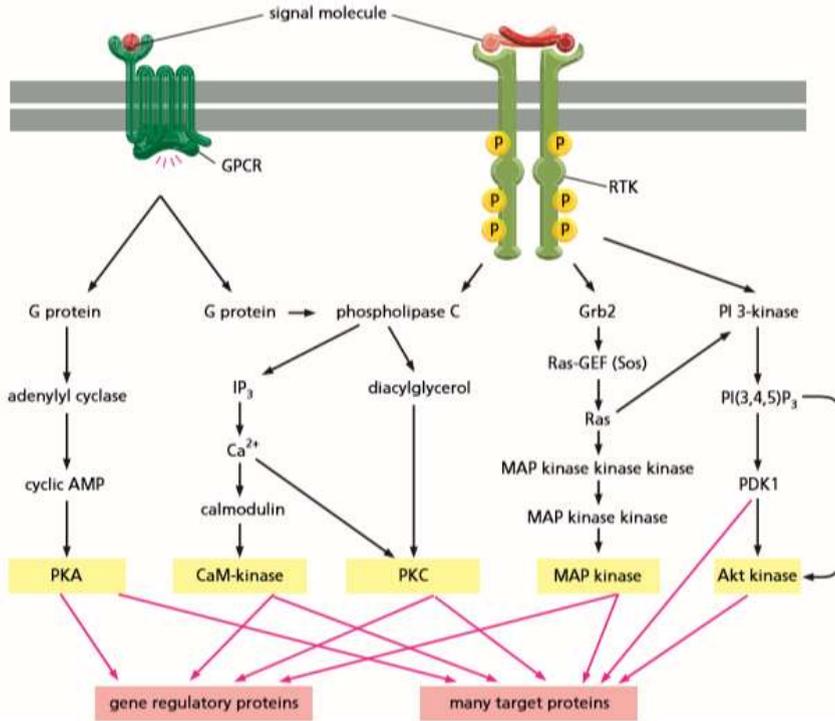
faktor pertumbuhan, Akt mengaktifkan fosforilasi dan menghambat Tsc2, dengan demikian meningkatkan aktivasi Rheb. Activated Rheb (Rheb-GTP) membantu mengaktifkan mTOR di kompleks 1, yang pada gilirannya merangsang pertumbuhan sel. Gambar 64 menunjukkan bagaimana faktor pertumbuhan (atau sinyal kelangsungan hidup) mengaktifkan Akt.

Erk MAP kinase (lihat Gambar 60) juga dapat memfosforilasi dan menghambat Tsc2 dan dengan demikian mengaktifkan mTOR. Dengan demikian, jalur pensinyalan PI-3-kinase – Akt dan Ras – MAP-kinase bertemu pada mTOR di kompleks 1 untuk merangsang pertumbuhan sel.

Tsc2 adalah kependekan dari tuberous sclerosis protein 2, dan merupakan salah satu komponen heterodimer yang terdiri dari Tsc1 dan Tsc2 (tidak ditampilkan); Protein ini disebut demikian karena mutasi pada salah satu gen yang mengkodekannya menyebabkan penyakit genetik tuberous sclerosis, yang berhubungan dengan tumor jinak di otak dan di tempat lain yang mengandung sel-sel besar yang abnormal.

### **Jalur Pemberian Sinyal Downstream yang Diaktifkan Oleh RTK dan Tumpang-tindih GPCR**

Seperti yang disebutkan sebelumnya, RTK dan GPCR mengaktifkan beberapa jalur pensinyalan intraseluler yang sama. Keduanya, misalnya, dapat mengaktifkan jalur fosfolipid inositol yang dipicu oleh fosfolipase C. Selain itu, meskipun keduanya mengaktifkan jalur yang berbeda, jalur yang berbeda dapat berkumpul pada protein target yang sama. **Gambar 66** mengilustrasikan kedua jenis pensinyalan yang tumpang tindih: ini merangkum lima jalur pensinyalan intraseluler paralel yang telah kita diskusikan sejauh ini — satu dipicu oleh GPCR, dua dipicu oleh RTKs, dan dua dipicu oleh kedua jenis reseptor.

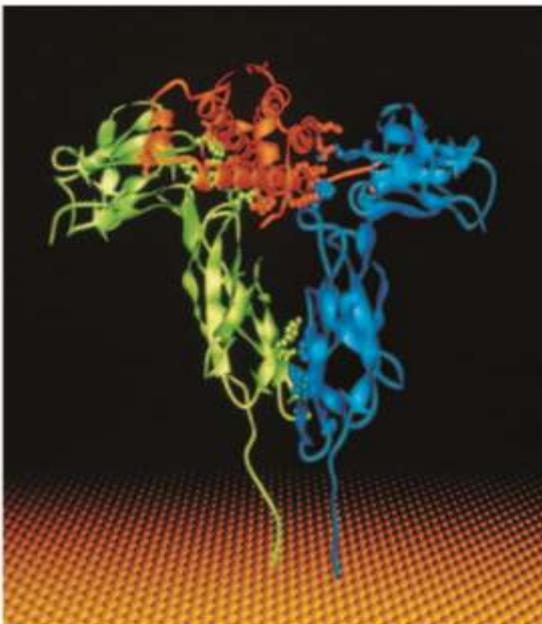


**Gambar 66** Lima jalur pensinyalan intraseluler paralel yang diaktifkan oleh GPCR, RTK, atau keduanya. Dalam contoh hipotesis ini, lima kinase (diarsir kuning) di ujung setiap jalur pensinyalan protein target fosforilat (diarsir merah), banyak di antaranya difosforilasi oleh lebih dari satu kinase. Fosfolipase C yang diaktifkan oleh dua jenis reseptor berbeda: GPCR mengaktifkan PLC $\beta$ , sedangkan RTK mengaktifkan PLC $\gamma$  (tidak ditampilkan). Meskipun tidak ditampilkan, beberapa GPCR juga dapat mengaktifkan Ras, tetapi mereka melakukannya secara terpisah dari Grb2, melalui Ras-GEF yang diaktifkan oleh Ca<sup>2+</sup> dan diacylglycerol.

### Reseptor Terkait Tirosin-Kinase Bergantung pada Kinase Tirosin Sitoplasma

Banyak reseptor permukaan sel bergantung pada fosforilasi tirosin untuk aktivitasnya, namun tidak memiliki domain tirosin kinase. Reseptor ini bekerja melalui **sitoplasma tirosin kinase**, yang berhubungan dengan reseptor dan memfosforilasi berbagai protein

target, sering kali termasuk reseptor itu sendiri, ketika reseptor mengikat ligannya. **Reseptor terkait tirosin-kinase** ini berfungsi dengan cara yang sama seperti RTK, kecuali bahwa domain kinase mereka dikodekan oleh gen terpisah dan secara nonkovalen terkait dengan rantai polipeptida reseptor. Berbagai kelas reseptor termasuk dalam kategori ini, termasuk reseptor untuk antigen dan interleukin pada limfosit, integrin, dan reseptor untuk berbagai sitokin dan beberapa hormon. Seperti RTK, banyak dari reseptor ini adalah dimer yang telah dibentuk sebelumnya (**Gambar 67**) atau dihubungkan silang menjadi dimer dengan pengikatan ligan.



**Gambar 67. Struktur tiga dimensi hormon pertumbuhan manusia terikat pada reseptornya.**

**<CGCT>** Reseptornya adalah homodimer, dan hormon (merah) mengikat masing-masing dari dua subunit yang identik (satu ditampilkan dalam warna hijau dan yang lainnya dengan warna biru), yang mengenali berbagai bagian hormon monomerik. Pengikatan hormon dianggap menyebabkan penataan ulang subunit, yang mengaktifkan sitoplasma tirosin kinase yang terikat erat ke ekor sitosol reseptor (tidak ditampilkan). Struktur yang ditunjukkan ditentukan oleh studi kristalografi sinar-x dari kompleks yang terbentuk antara domain reseptor hormon dan ekstraseluler yang dihasilkan oleh teknologi DNA rekombinan. (Dari A.M. deVos, M. Ultsch dan A.A. Kossiakoff, *Science* 255: 306–312, 1992. Dengan izin dari AAAS.)

Beberapa dari reseptor ini bergantung pada anggota famili terbesar dari famili tirosin kinase sitoplasma mamalia terbesar, *famili Src* (lihat Gambar 3–10 dan 3–69), yang meliputi *Src*, *Yes*, *Fgr*, *Fyn*, *Lck*, *Lyn*, *Hck*, dan *Blk*. Protein kinase ini semuanya mengandung domain SH2 dan SH3 dan terletak di sisi sitoplasma membran plasma, ditahan di sana sebagian oleh interaksinya dengan protein reseptor transmembran dan sebagian lagi oleh rantai

lipid yang terikat secara kovalen. Anggota keluarga yang berbeda dikaitkan dengan reseptor yang berbeda dan fosforilat yang tumpang tindih tetapi kumpulan protein target yang berbeda. Lyn, Fyn, dan Lck, misalnya, masing-masing terkait dengan set reseptor yang berbeda dalam limfosit. Dalam setiap kasus, kinase diaktifkan ketika ligan ekstraseluler berikatan dengan protein reseptor yang sesuai. Src itu sendiri, serta beberapa anggota keluarga lainnya, juga dapat mengikat ke RTK yang diaktifkan; dalam kasus ini, reseptor dan kinase sitoplasma saling merangsang aktivitas katalitik satu sama lain, sehingga memperkuat dan memperpanjang sinyal (lihat Gambar 62). Bahkan ada beberapa protein G (Gs dan Gi) yang dapat mengaktifkan Src, yang merupakan salah satu cara aktivasi GPCR dapat menyebabkan fosforilasi tirosin dari protein pensinyalan intraseluler dan protein efektor.

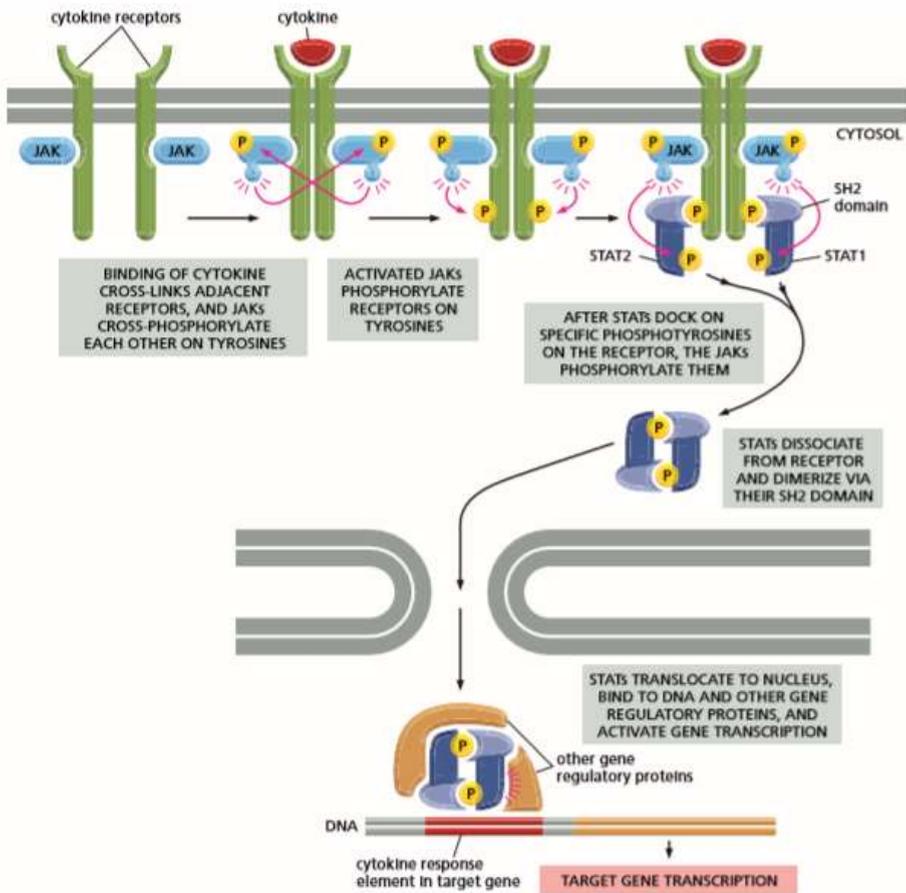
Jenis lain dari sitoplasma tirosin kinase berasosiasi dengan *integrin*, reseptor utama yang digunakan sel untuk mengikat matriks ekstraseluler. Pengikatan komponen matriks ke integrin mengaktifkan jalur pensinyalan intraseluler yang mempengaruhi perilaku sel. Ketika integrin mengelompokkan di lokasi kontak matriks, mereka membantu memicu perakitan sambungan matriks-sel yang disebut *adhesi fokus*. Di antara banyak protein yang direkrut ke dalam persimpangan ini adalah tirosin kinase sitoplasma yang disebut **focal adhesion kinase (FAK)**, yang mengikat ekor sitosol dari salah satu subunit integrin dengan bantuan protein lain. Molekul FAK yang berkelompok saling memfosforilasi satu sama lain, menciptakan situs dok fosfotirosin tempat Src kinase dapat berikatan. Src dan FAK sekarang memfosforilasi satu sama lain dan protein lain yang berkumpul di persimpangan, termasuk banyak protein pemberi sinyal yang digunakan oleh RTK. Dengan cara ini, dua tirosin kinase memberi sinyal ke sel bahwa ia telah melekat pada substrat yang sesuai, di mana sel tersebut sekarang dapat bertahan hidup, tumbuh, membelah, bermigrasi, dan seterusnya.

Kelas reseptor terbesar dan paling beragam yang bergantung pada sitoplasma tirosin kinase untuk menyampaikan sinyal ke dalam sel adalah kelas *reseptor sitokin*, yang akan kami pertimbangkan selanjutnya.

## Reseptor Sitokin Mengaktifkan Jalur Pemberian Sinyal JAK – STAT, Menyediakan Jalur Cepat ke Inti

Keluarga besar **reseptor sitokin** mencakup reseptor untuk berbagai jenis mediator lokal (secara kolektif disebut sitokin), serta reseptor untuk beberapa hormon, seperti *hormon pertumbuhan* (lihat Gambar 67) dan *prolaktin*. **Janus kinases (JAKs)** (setelah dewa Romawi bermuka dua), yang memfosforilasi dan mengaktifkan protein pengatur gen yang disebut **STATs** (transduser sinyal dan aktivator transkripsi). Protein STAT terletak di dalam sitosol dan disebut sebagai *protein pengatur gen laten* karena mereka hanya bermigrasi ke dalam nukleus dan mengatur transkripsi gen setelah diaktifkan.

Meskipun banyak jalur pensinyalan intraseluler mengarah dari reseptor permukaan sel ke nukleus, di mana mereka mengubah transkripsi gen (lihat Gambar 66), **jalur pensinyalan JAK-STAT** menyediakan salah satu rute yang lebih langsung. Reseptor sitokin adalah dimer atau trimer dan secara stabil terkait dengan satu atau dua dari empat JAK yang diketahui (JAK1, JAK2, JAK3, dan Tyk2). Pengikatan sitokin mengubah pengaturan sehingga membawa dua JAKs ke dalam jarak yang dekat sehingga mereka mentransfosforilasi satu sama lain, sehingga meningkatkan aktivitas domain tirosin kinase mereka. JAKs kemudian memfosforilasi tirosin pada reseptor sitokin, membuat tempat berlabuhnya fosfotirosin untuk STAT (**Gambar 68**). Beberapa protein adaptor juga dapat mengikat beberapa situs ini dan beberapa reseptor sitokin ke jalur pensinyalan Ras – MAP-kinase yang dibahas sebelumnya, tetapi ini tidak akan dibahas di sini.



**Gambar 68. Jalur pensinyalan JAK – STAT yang diaktifkan oleh sitokin.** Pengikatan sitokin menyebabkan dua rantai polipeptida reseptor terpisah untuk dimerisasi (seperti yang ditunjukkan) atau mengarahkan kembali rantai reseptor dalam dimer yang telah dibentuk sebelumnya. Dalam kedua kasus tersebut, JAK terkait disatukan sehingga mereka dapat saling silang fosforilasi pada tirosin, memulai proses pensinyalan yang ditunjukkan. Dalam beberapa kasus, reseptor aktif adalah trimer dan bukan dimer

Setidaknya ada enam STAT pada mamalia. Masing-masing memiliki domain SH2 yang menjalankan dua fungsi. Pertama, ini memediasi pengikatan protein STAT ke situs docking fosfotirosin pada reseptor sitokin yang diaktifkan. Setelah terikat, JAKs memfosforilasi STAT pada tirosin, menyebabkan STAT terlepas dari reseptor. Kedua, domain SH2 pada STAT yang dirilis sekarang

memediasi pengikatannya ke fosfotirosin pada molekul STAT lain, membentuk homodimer STAT atau heterodimer. Dimer STAT kemudian berpindah ke nukleus, di mana, dalam kombinasi dengan protein pengatur gen lain, ia mengikat elemen respons DNA spesifik dalam berbagai gen dan merangsang transkripsi mereka (lihat Gambar 68). Menanggapi hormon prolaktin, misalnya, yang merangsang sel payudara untuk memproduksi susu, STAT5 yang diaktifkan merangsang transkripsi gen yang menyandikan protein susu. **Tabel 6** mencantumkan lebih dari 30 sitokin dan hormon yang mengaktifkan jalur JAK-STAT dengan mengikat reseptor sitokin; itu juga menunjukkan JAK dan STAT spesifik yang terlibat.

Sinyal Protein	Reseptor – JAKs terkait	STATS diaktifkan	Beberapa Respon
$\gamma$ -interferon	JAKs1 dan JAKs2	STAT1	mengaktifkan makrofag merangsang produksi susu
$\alpha$ -interferon	Tyk2 dan JAK2	STAT1 dan STAT2	meningkatkan resistensi sel terhadap infeksi virus
Erythropoietin	JAK2	STAT 5	merangsang produksi eritrosit
Prolaktin	JAK1 dan JAK2	STAT5	merangsang produksi susu
Hormon pertumbuhan	JAK2	STAT1 dan STAT5	merangsang pertumbuhan dengan mendorong produksi IGF1
GMCSF	JAK2	STAT5	merangsang

			produksi granulosit dan makrofag
--	--	--	--

Beberapa STAT juga memiliki domain SH2 yang memungkinkan mereka untuk berlabuh ke phosphotyrosine tertentu pada beberapa RTK yang diaktifkan. Reseptor ini dapat langsung mengaktifkan STAT terikat, terlepas dari JAKs. Nematoda *C. elegans* menggunakan STAT untuk memberi sinyal tetapi tidak membuat reseptor JAK atau sitokin, menunjukkan bahwa STAT berevolusi sebelum JAK dan reseptor sitokin.

Umpan balik negatif mengatur tanggapan yang dimediasi oleh jalur JAK-STAT. Selain mengaktifkan gen yang menyandikan protein yang memediasi respons yang diinduksi sitokin, dimer STAT juga dapat mengaktifkan gen yang menyandikan protein penghambat yang membantu mematikan respons. Beberapa protein ini mengikat dan menonaktifkan JAKs terfosforilasi dan reseptor terfosforilasi yang terkait; yang lain mengikat dimer STAT terfosforilasi dan mencegahnya mengikat ke target DNA mereka. Namun, mekanisme umpan balik negatif semacam itu tidak cukup untuk mematikan respons. Inaktivasi JAKs dan STATs yang diaktifkan membutuhkan defosforilasi fosfotirosin mereka.

### Protein Tyrosine Phosphatases Membalikkan Tyrosine Phosphorylations

Di semua jalur pensinyalan yang menggunakan fosforilasi tirosin, fosforilasi tirosin dibalik dengan defosforilasi yang dilakukan oleh **protein tirosin fosfatase**. Fosfatase ini sama pentingnya dalam proses pensinyalan seperti protein tirosin kinase yang menambahkan fosfat. Sementara hanya beberapa jenis subunit katalitik *fosfatase protein serin / treonin* yang bertanggung jawab untuk menghilangkan gugus fosfat dari serin terfosforilasi dan treonin pada protein, ada sekitar 100 protein tirosin fosfatase yang dikodekan dalam genom manusia, termasuk beberapa *fosfatase spesifisitas ganda* yang juga merusak serin dan fosforilasi. treonin.

Seperti tirosin kinase, tirosin fosfatase terjadi dalam bentuk sitoplasma dan transmembran, tidak ada yang secara struktural terkait dengan fosfatase protein serin / treonin. Beberapa bentuk transmembran dianggap bertindak sebagai reseptor permukaan sel, tetapi karena ini belum ditetapkan, mereka umumnya disebut sebagai tirosin fosfatase yang menyerupai reseptor.

Tidak seperti fosfatase protein serin / treonin, yang umumnya memiliki spesifisitas yang luas, kebanyakan tirosin fosfatase menunjukkan spesifisitas yang sangat baik untuk substratnya, menghilangkan gugus fosfat dari hanya fosfotirosin yang dipilih pada subset protein. Bersama-sama, fosfatase ini memastikan bahwa fosforilasi tirosin berumur pendek dan bahwa tingkat fosforilasi tirosin dalam sel istirahat sangat rendah. Namun, mereka tidak secara terus menerus membalikkan efek protein tirosin kinase; mereka sering diatur untuk bertindak hanya pada waktu dan tempat yang tepat dalam respon pensinyalan atau dalam siklus pembelahan sel.

Setelah membahas peran penting fosforilasi tirosin dan defosforilasi dalam jalur pensinyalan intraseluler yang diaktifkan oleh banyak reseptor gabungan enzim, sekarang kita beralih ke kelas reseptor berpasangan enzim yang bergantung sepenuhnya pada fosforilasi serin / treonin. Reseptor serin / treonin kinase ini mengaktifkan jalur pensinyalan yang lebih langsung ke nukleus daripada jalur JAK-STAT. Mereka secara langsung memfosforilasi protein pengatur gen laten yang disebut Smads, yang kemudian berpindah ke nukleus untuk mengaktifkan transkripsi gen.

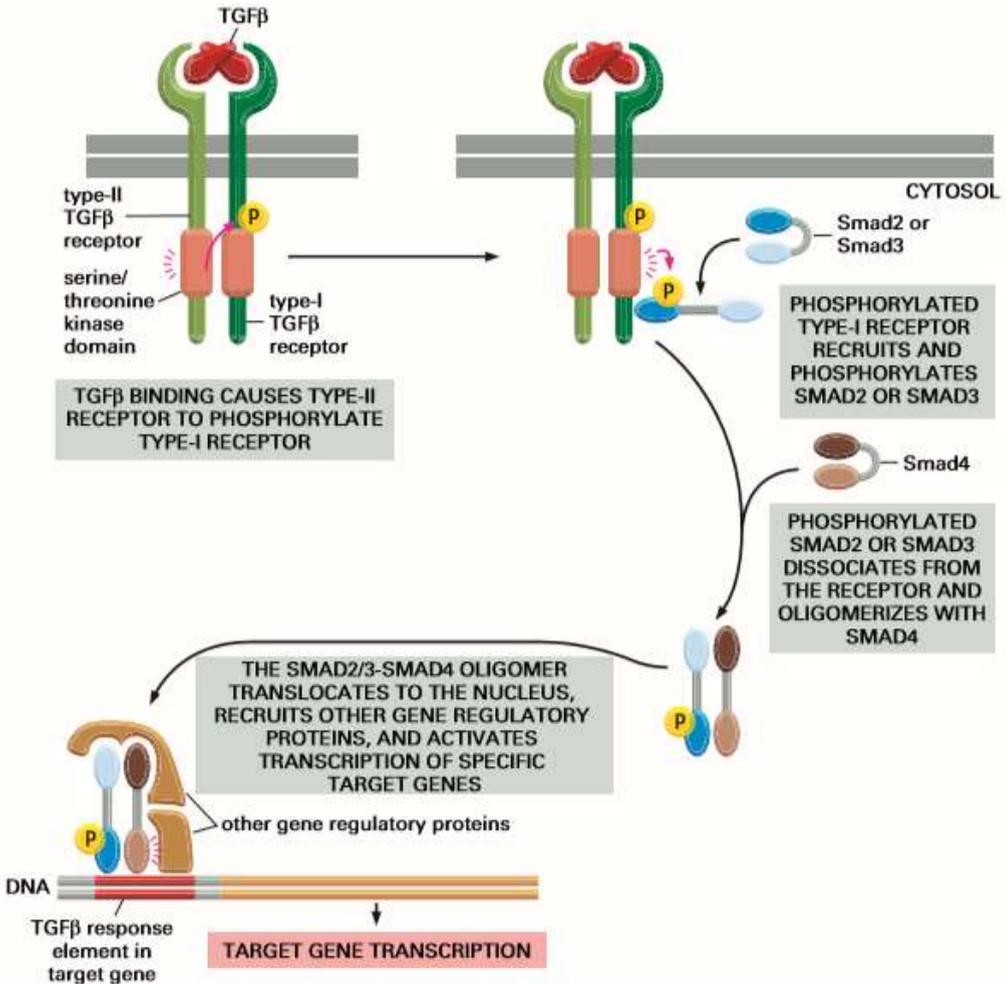
### **Protein Sinyal dari TGF $\beta$ Superfamili Bertindak Melalui Reseptor Serine / Treonine Kinase dan Smads**

**Superfamili transformasi faktor pertumbuhan- $\beta$  (TGF $\beta$ )** terdiri dari sejumlah besar (30-40 pada manusia) protein dimer yang terkait secara struktural, disekresikan,. Mereka bertindak sebagai hormon atau, lebih umum, sebagai mediator lokal untuk mengatur berbagai fungsi biologis pada semua hewan. Selama perkembangan, mereka mengatur pembentukan pola dan mempengaruhi berbagai

perilaku sel, termasuk proliferasi, spesifikasi dan diferensiasi, produksi matriks ekstraseluler, dan kematian sel. Pada orang dewasa, mereka terlibat dalam perbaikan jaringan dan regulasi ketebalan, serta dalam banyak proses lainnya. Superfamili terdiri dari famili TGF $\beta$  / *aktivin* dan famili *bone morphogenetic protein (BMP)* yang lebih besar.

Semua protein ini bekerja melalui reseptor berpasangan enzim yang merupakan protein transmembran singlepass dengan domain serin / treonin kinase di sisi sitosol membran plasma. Ada dua kelas **reseptor serin / treonin kinase** ini *tipe I dan tipe II* yang secara struktural mirip homodimer. Setiap anggota superfamili TGF $\beta$  mengikat kombinasi karakteristik dimer reseptor tipe-I dan tipe-II, membawa domain kinase bersama-sama sehingga reseptor tipe-II dapat memfosforilasi dan mengaktifkan reseptor tipe-I, membentuk kompleks reseptor tetramerik aktif.

Setelah diaktifkan, kompleks reseptor menggunakan strategi untuk menyampaikan sinyal dengan cepat ke nukleus yang sangat mirip dengan strategi JAK-STAT yang digunakan oleh reseptor sitokin. Reseptor tipe-I yang diaktifkan secara langsung mengikat dan memfosforilasi protein pengatur gen laten dari **keluarga Smad** (dinamai setelah dua yang pertama diidentifikasi, Sma di *C. elegans* dan Mad di *Drosophila*). Reseptor TGF $\beta$  / *aktivin* yang teraktivasi memfosforilasi Smad2 atau Smad3, sedangkan reseptor BMP yang teraktivasi memfosforilasi Smad1, Smad5, atau Smad8. Setelah salah satu dari *Smad yang diaktifkan reseptor ini (R-Smads)* telah difosforilasi, ia berdisosiasi dari reseptor dan mengikat ke Smad4 (disebut *co-Smad*), yang dapat membentuk kompleks dengan salah satu dari lima R-Smad. Kompleks Smad kemudian berpindah ke nukleus, di mana ia berasosiasi dengan protein pengatur gen lain dan mengatur transkripsi gen target spesifik (**Gambar 69**). Karena protein mitra dalam nukleus berbeda-beda tergantung pada jenis sel dan keadaan sel, gen yang terpengaruh pun bervariasi.



**Gambar 69. Jalur pensinyalan yang bergantung pada Smad yang diaktifkan oleh TGFβ.** Perhatikan bahwa TGFβ adalah dimer dan Smads terbuka untuk mengekspos permukaan dimerisasi saat mereka terfosforilasi. Beberapa fitur jalur telah dihilangkan demi kesederhanaan, termasuk yang berikut ini. (1) Protein reseptor tipe-I dan tipe-II keduanya dianggap sebagai homodimer. (2) Reseptor tipe-I biasanya terkait dengan protein penghambat, yang berdisosiasi ketika reseptor tipe I difosforilasi oleh reseptor tipe-II. (3) Smads individu dianggap pemangkas. (4) Protein penahan yang disebut SARA membantu merekrut Smad2 atau Smad3 ke reseptor tipe I yang diaktifkan, terutama di endosom, seperti yang dibahas dalam teks.

Reseptor TGF $\beta$  teraktivasi dan ligan terikatnya diendositososis oleh dua rute berbeda, satu mengarah ke aktivasi lebih lanjut, dan yang lainnya mengarah ke inaktivasi. Rute aktivasi tergantung pada vesikel berlapis clathrin dan mengarah ke endosom awal, di mana sebagian besar aktivasi Smad terjadi. Protein penahan yang disebut **SARA** (untuk *jangkar Smad untuk aktivasi reseptor*) memiliki peran penting dalam jalur ini; itu terkonsentrasi di endosom awal dan mengikat kedua reseptor TGF $\beta$  yang diaktifkan dan Smads, meningkatkan efisiensi fosforilasi Smad yang dimediasi reseptor. Rute inaktivasi tergantung pada *caveolae* dan mengarah ke ubiquitylation reseptor dan degradasi di proteasom.

Beberapa anggota keluarga TGF $\beta$  berfungsi sebagai morfogen bergradasi selama perkembangan, memicu respons yang berbeda dalam sel yang sedang berkembang tergantung pada konsentrasi morfogen. Konsentrasi ekstraseluler yang efektif sering diatur oleh protein penghambat yang disekresikan yang mengikat langsung ke molekul sinyal dan mencegah mereka mengaktifkan reseptornya pada sel target. *Noggin dan chordin*, misalnya, menghambat BMP, dan *folistatin* menghambat aktivin. Beberapa dari inhibitor ini, serta sebagian besar anggota keluarga TGF $\beta$  itu sendiri, disekresikan sebagai prekursor tidak aktif, yang diaktivasi oleh pembelahan proteolitik ekstraseluler.

Selama respon pensinyalan, Smads terus menerus berpindah antara sitoplasma dan nukleus: mereka terdefosforilasi dalam nukleus dan diekspor ke sitoplasma, di mana mereka dapat difosforilasi ulang oleh reseptor yang diaktifkan. Dengan cara ini, efek yang diberikan pada gen target mencerminkan konsentrasi sinyal ekstraseluler dan waktu terus bekerja pada reseptor permukaan sel (seringkali beberapa jam). Sel yang terpapar morfogen dengan konsentrasi tinggi, atau untuk waktu yang lama, atau keduanya, akan mengaktifkan satu set gen, sementara sel yang menerima paparan lebih rendah atau lebih sementara akan mengaktifkan set lain.

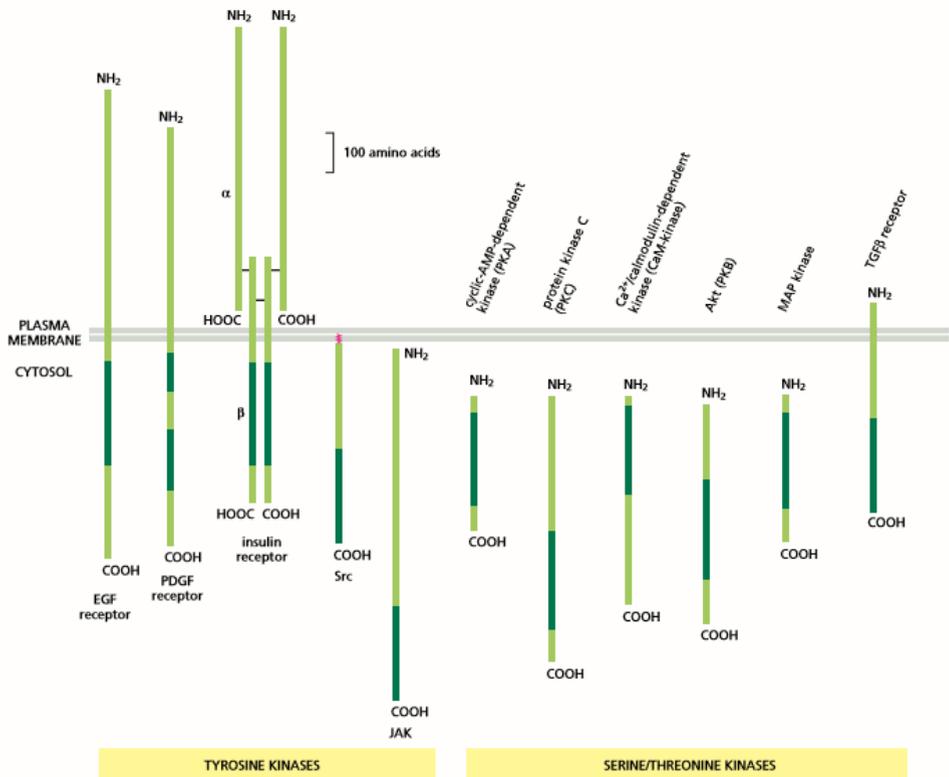
Seperti jalur JAK – STAT, umpan balik negatif mengatur jalur Smad. Di antara gen target yang diaktifkan oleh kompleks Smad

adalah gen yang menyandikan *Smads penghambat*, baik Smad6 atau Smad7. Smad7 (dan mungkin Smad6) mengikat reseptor yang diaktifkan dan menghambat kemampuan pensinyalannya setidaknya dalam tiga cara: (1) ia bersaing dengan R-Smads untuk mengikat situs pada reseptor, menurunkan fosforilasi R-Smad; (2) itu merekrut ligase ubiquitin yang disebut *Smurf*, yang mana-mana reseptor, yang mengarah ke internalisasi dan degradasi reseptor (itu karena Smurf juga ada di mana-mana dan mempromosikan degradasi Smads sehingga mereka disebut *faktor regulasi ubiquitylation Smad*, atau Smurfs); dan (3) merekrut protein fosfatase yang mendefosforilasi dan menonaktifkan reseptor. Selain itu, penghambat Smads mengikat co-Smad, Smad4, dan menghambatnya, baik dengan mencegah pengikatannya ke R-Smads atau dengan mempromosikan kemana-mana dan degradasi.

Meskipun reseptor serine / treonine kinase beroperasi terutama melalui jalur Smad yang baru saja dijelaskan, mereka juga dapat mempengaruhi jalur pensinyalan intraseluler lainnya. Sebaliknya, protein pensinyalan di jalur lain dapat memfosforilasi Smads dan dengan demikian memengaruhi pensinyalan di sepanjang jalur Smad.

### **Kinase Protein Serin / Treonin dan Tirosin Secara Struktural**

Semua jalur pensinyalan yang diaktifkan oleh GPCR dan reseptor yang digabungkan dengan enzim yang telah kita diskusikan sejauh ini bergantung pada protein kinase spesifik serin / treonin, protein kinase spesifik tirosin, atau keduanya. Kinase ini semuanya terkait secara struktural, seperti yang diringkas pada **Gambar 70**.



**Gambar 70 Beberapa protein kinase dibahas dalam bab ini.** Ukuran dan lokasi domain katalitiknya (hijau tua) ditampilkan. Dalam setiap kasus domain katalitik memiliki panjang sekitar 250 asam amino. Semua domain ini serupa dalam urutan asam amino, menunjukkan bahwa mereka semua berevolusi dari kinase primordial yang sama (lihat juga Gambar 3-66). Perhatikan bahwa semua tirosin kinase yang ditunjukkan terikat pada membran plasma (JAK terikat oleh hubungannya dengan reseptor sitokin — lihat Gambar-68), sedangkan sebagian besar kinase serin / treonin berada dalam sitosol.

Kompleksitas membingungkan dari beberapa jalur pensinyalan lintas peraturan dan putaran umpan balik yang telah kita diskusikan bukan hanya jalinan sembarangan, tetapi sistem yang sangat berkembang untuk memproses dan menafsirkan massa sinyal yang menimpa sel hewan. Seluruh jaringan kontrol molekuler, yang mengarah dari reseptor di permukaan sel ke gen di dalam nukleus, dapat dilihat sebagai perangkat komputasi; dan,

seperti perangkat komputasi lainnya, otak, ia menghadirkan salah satu masalah tersulit dalam biologi. Kami dapat mengidentifikasi komponen dan menemukan cara kerjanya secara individual. Kita dapat memahami bagaimana himpunan bagian kecil dari komponen bekerja bersama sebagai modul regulasi, seperti yang telah kita lihat. Namun, jauh lebih sulit untuk memahami bagaimana sistem bekerja secara keseluruhan. Ini bukan hanya karena sistemnya rumit; itu juga karena cara perilakunya sangat bergantung pada rincian kuantitatif dari interaksi molekuler, dan untuk kebanyakan sel hewan kita hanya memiliki informasi kualitatif kasar.

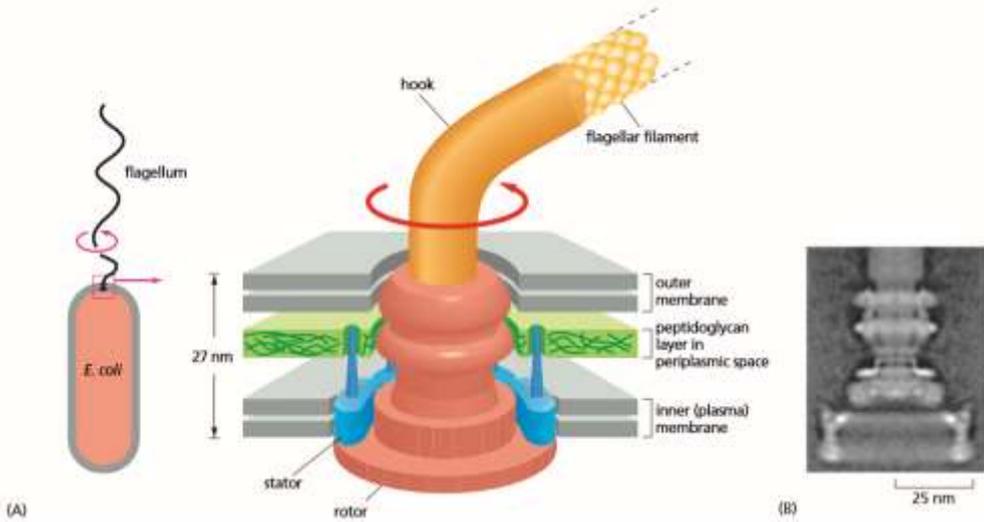
Dalam sel bakteri, jalur pensinyalan lebih sederhana, dan informasi kuantitatif yang tepat jauh lebih mudah diperoleh. Oleh karena itu, dimungkinkan untuk memberikan penjelasan rinci tentang bagaimana sistem pensinyalan lengkap bekerja, setidaknya untuk satu perilaku sel bakteri tertentu dan sinyal yang mengendalikannya. Kami membahas di sini salah satu contoh, di mana bakteri merespons sinyal lingkungan yang dikirim melalui reseptor berpasangan enzim yang lagi-lagi merupakan kinase, tetapi dari jenis yang tidak terkait dengan yang telah kita diskusikan sejauh ini.

### **Kemotaksis Bakteri Bergantung pada Jalur Pemberian Sinyal Dua Komponen yang Diaktifkan oleh Reseptor Terkait Histidin-Kinase**

Seperti yang ditunjukkan sebelumnya, banyak mekanisme yang terlibat dalam pensinyalan kimiawi antar sel pada hewan multiseluler diduga telah berevolusi dari mekanisme yang digunakan oleh organisme uniseluler untuk merespons perubahan kimiawi di lingkungan mereka. Faktanya, kedua jenis organisme tersebut menggunakan beberapa mediator intraseluler yang sama, seperti nukleotida siklik dan  $Ca^{2+}$ . Di antara reaksi organisme uniseluler yang paling dipelajari terhadap sinyal ekstraseluler adalah respons kemotaksisnya, di mana pergerakan sel diorientasikan ke arah atau menjauh dari sumber beberapa bahan kimia di lingkungan. Kami menyimpulkan bagian ini pada reseptor yang digabungkan dengan enzim dengan penjelasan singkat tentang

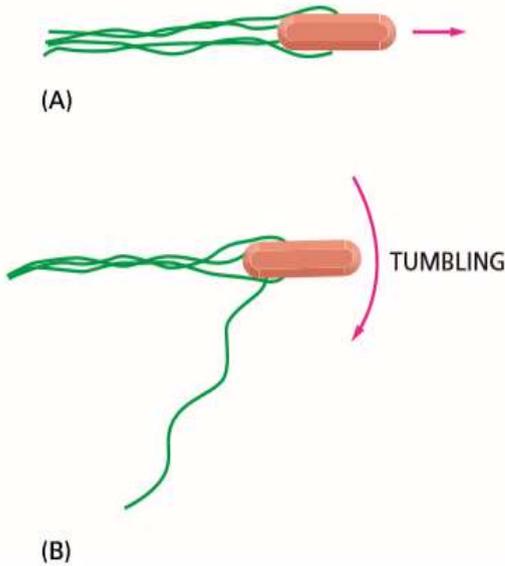
**kemotaksis bakteri**, yang memberikan ilustrasi yang sangat dipahami dengan baik tentang peran penting adaptasi dalam respons terhadap sinyal kimia. Respons kemotaksis ini dimediasi oleh reseptor terkait **histidin-kinase** yang mengaktifkan *jalur pensinyalan dua komponen*, yang juga digunakan oleh ragi dan tumbuhan, meskipun tampaknya bukan oleh hewan.

Bakteri motil seperti *E. coli* akan berenang menuju konsentrasi nutrisi (*atraktan*) yang lebih tinggi, termasuk gula, asam amino, dan peptida kecil, dan menjauh dari konsentrasi yang lebih tinggi dari berbagai bahan kimia berbahaya (penolak). Mereka berenang menggunakan empat hingga enam flagela, yang masing-masing dipasang dengan kait pendek dan fleksibel di dasarnya ke cakram protein kecil yang tertanam di membran bakteri. Disk ini adalah bagian dari motor kecil yang menggunakan energi yang disimpan dalam gradien transmembran  $H^+$  untuk berputar dengan cepat dan memutar flagel heliks (**Gambar 71**). Karena flagela pada permukaan bakteri memiliki “kidal” intrinsik, arah rotasi yang berbeda memiliki efek yang berbeda pada pergerakan. Flagela menghabiskan sebagian besar waktu berputar berlawanan arah jarum jam, yang menarik semua flagela menjadi satu bundel yang koheren, sehingga bakteri berenang secara seragam ke satu arah. Dengan tidak adanya stimulus lingkungan, setiap detik atau lebih, satu atau lebih motor secara transien berbalik arah sehingga flagel yang terpasang keluar dari bundel, menyebabkan bakteri jatuh secara kacau tanpa bergerak maju (**Gambar 72**). Urutan ini menghasilkan pola karakteristik gerakan di mana renang mulus dalam garis lurus terganggu oleh perubahan arah yang tiba-tiba dan acak yang disebabkan oleh jatuh.



**Gambar 71. Motor flagela bakteri. (A) Gambar skema struktur.**

Flagel dihubungkan dengan pengait yang fleksibel. Pengait dipasang pada serangkaian cincin protein (ditunjukkan dengan warna oranye), yang tertanam di membran luar dan dalam (plasma). Cincin-cincin itu membentuk sebuah rotor, yang berputar dengan flagel pada lebih dari 100 putaran per detik. Rotasi didorong oleh aliran proton melalui cincin luar protein, stator (biru), yang tertanam di membran dalam dan ditambatkan ke lapisan peptidoglikan. Stator juga mengandung protein yang bertanggung jawab untuk mengalihkan arah rotasi. (B) Motor flagela yang direkonstruksi dari gambar mikroskopis banyak elektron. (A, berdasarkan data dari T. Kubori et al., *J. Mol. Biol.* 226: 433–446, 1992, dengan izin dari Academic Press, dan NR Francis et al., *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 89 : 6304–6308, 1992, dengan izin dari National Academy of Sciences; B, dari D. Thomas, DG Morgan dan DJ DeRosier, *J. Bacteriol.* 183: 6404–6412, 2001. Dengan izin dari American Society for Microbiology.)

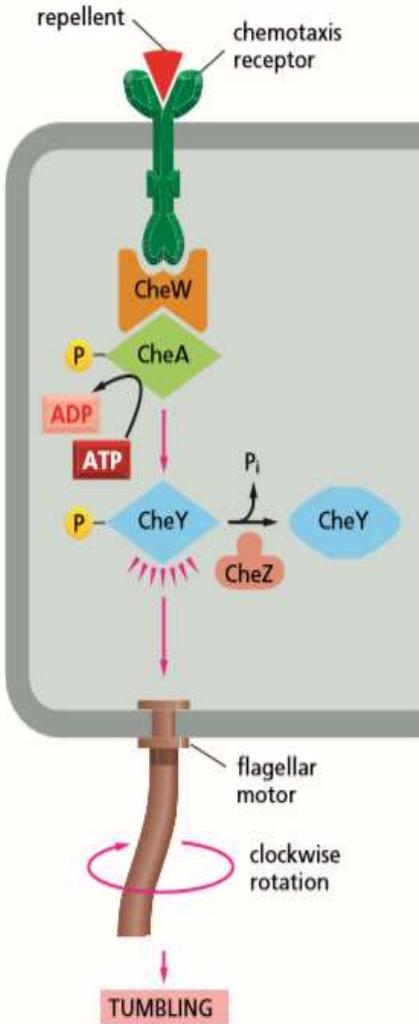


**Gambar 72. Posisi flagela pada *E. coli* selama berenang.** (A) Ketika flagela berputar berlawanan arah jarum jam (seperti yang terlihat saat melihat ke dalam sel dari flagel), mereka ditarik bersama menjadi satu bundel, yang bertindak sebagai baling-baling untuk menghasilkan renang yang mulus. (B) Ketika satu atau lebih motor berbalik arah, flagel yang terpasang terlepas dari bundel, menyebabkan bakteri jatuh.

Perilaku berenang normal bakteri dimodifikasi oleh atraktan atau repelan kemotaktik, yang mengikat protein reseptor tertentu dan mempengaruhi frekuensi jatuh dengan menambah atau mengurangi waktu yang berlalu antara perubahan berturut-turut dalam arah rotasi flagela. Ketika bakteri berenang ke arah yang menguntungkan (menuju konsentrasi atraktan yang lebih tinggi atau menjauh dari konsentrasi pengusir nyamuk yang lebih tinggi), mereka lebih jarang jatuh daripada saat mereka berenang ke arah yang tidak menguntungkan (atau ketika tidak ada gradien). Karena periode berenang yang mulus lebih lama ketika bakteri bergerak ke arah yang menguntungkan, ia secara bertahap akan berkembang ke arah itu — menuju atraktan atau menjauh dari pengusir nyamuk.

**Reseptor kemotaksis** terkait histidin-kinase memediasi respons ini. Reseptor biasanya adalah protein transmembran dimer yang mengikat atraktan dan repelan spesifik di luar membran plasma. Ekor sitoplasma reseptor secara stabil dikaitkan dengan histidin kinase *CheA* melalui protein adaptor *CheW* (**Gambar 73**). Pengikatan penolak mengaktifkan reseptor, sedangkan pengikatan atraktan menonaktifkan reseptor; sebuah reseptor tunggal dapat mengikat salah satu jenis molekul, dengan konsekuensi yang berlawanan. Pengikatan penolak ke reseptor mengaktifkan *CheA*, yang memfosforilasi dirinya sendiri pada histidin dan segera

mentransfer gugus fosforil ke asam aspartat pada protein pengatur respons *CheY*. *CheY* terfosforilasi berdisosiasi dari reseptor, berdifusi melalui sitosol, mengikat motor flagela, dan menyebabkan motor berputar searah jarum jam, sehingga bakteri tumbang. *CheY* memiliki aktivitas fosfatase intrinsik dan mendefosforilasi dirinya sendiri dalam proses yang sangat dipercepat oleh protein *CheZ* (lihat Gambar 73).



**Gambar 73 Jalur pensinyalan dua komponen yang memungkinkan reseptor kemotaksis untuk mengontrol motor flagela selama kemotaksis bakteri.** Histidin kinase *CheA* terikat secara stabil ke reseptor melalui protein adaptor *CheW*. Reseptor dan protein terkait semuanya berkerumun di salah satu ujung sel (lihat Gambar-74). Pengikatan repellent meningkatkan aktivitas reseptor, yang menstimulasi *CheA* untuk memfosforilasi dirinya sendiri pada histidin. *CheA* dengan cepat mentransfer gugus fosforil berenergi tinggi yang terikat secara kovalen langsung ke regulator respons *CheY* untuk menghasilkan *CheY*-fosfat, yang kemudian berdifusi, mengikat ke motor flagela, dan menyebabkan motor berputar searah jarum jam, yang mengakibatkan terguling. Pengikatan suatu atraktan memiliki efek sebaliknya: ia menurunkan aktivitas reseptor dan oleh karena itu menurunkan fosforilasi *CheA* dan *CheY*, yang menghasilkan rotasi flagela berlawanan arah jarum jam dan renang yang mulus. *CheZ* mempercepat autodefosforilasi *CheY*phosphate, dengan demikian menonaktifkan *CheY*. Masing-masing intermediet terfosforilasi meluruh dengan waktu paruh kurang dari satu detik, memungkinkan bakteri merespon dengan sangat cepat terhadap perubahan lingkungannya (lihat Gambar-11).

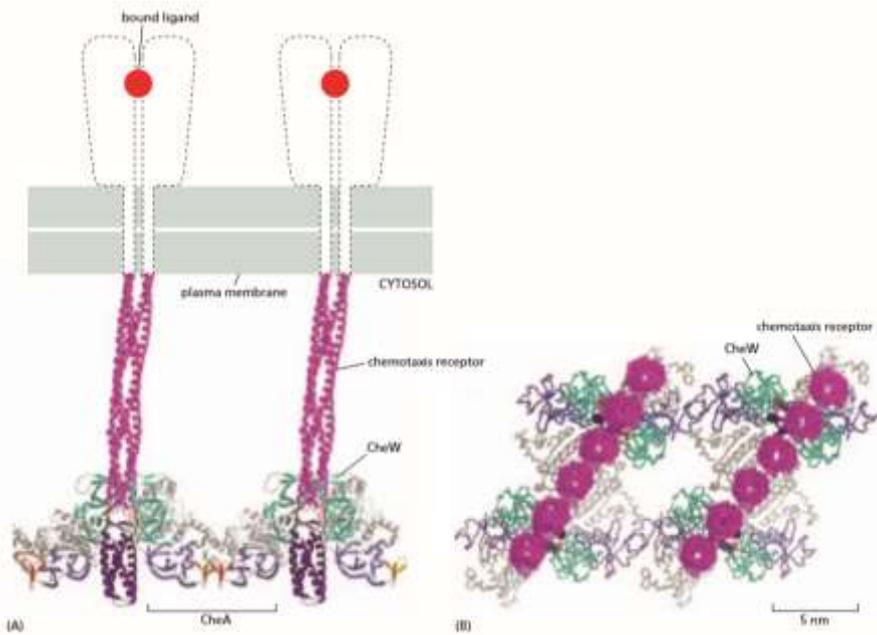
## Metilasi Reseptor Bertanggung Jawab untuk Adaptasi dalam Kemotaksis Bakteri

Perubahan frekuensi tumbling sebagai respons terhadap peningkatan konsentrasi atraktan atau repelan terjadi dalam waktu kurang dari satu detik, tetapi hanya bersifat sementara. Bahkan jika tingkat ligan yang lebih tinggi dipertahankan, dalam beberapa menit, bakteri *beradaptasi (tidak peka)*, dengan stimulus yang meningkat. Adaptasi adalah bagian penting dari respons, karena memungkinkan bakteri untuk membandingkan lingkungannya saat ini dengan lingkungannya di masa lalu dan dengan demikian merespons *perubahan* konsentrasi ligan daripada tingkat kondisi mapan.

Adaptasi dimediasi oleh metilasi kovalen (dikatalisasi oleh *metil transferase*) atau demetilasi (dikatalisasi oleh *metilase*) dari reseptor kemotaksis, yang mengubah daya tanggapnya terhadap pengikatan ligan sebagai akibat dari modifikasi kovalen. Ketika sebuah atraktan berikatan dengan reseptor kemotaksis, contohnya, ia memiliki dua efek: (1) Ini menurunkan kemampuan reseptor untuk mengaktifkan CheA, yang mengakibatkan penurunan kecepatan jatuh. (2) Perlahan (selama beberapa menit) mengubah reseptor sehingga dapat dimetilasi oleh metil transferase, yang mengembalikan kemampuan reseptor untuk mengaktifkan CheA ke tingkat aslinya. Jadi, reseptor yang tidak termetilasi tanpa ligan terikat memiliki aktivitas yang sama dengan reseptor termetilasi dengan ligan terikat, dan frekuensi tumbuhnya bakteri oleh karena itu sama dalam kedua kasus.

Setiap dimer reseptor memiliki delapan situs metilasi, dan jumlah situs yang dimetilasi meningkat dengan meningkatnya konsentrasi atraktan (karena setiap reseptor menghabiskan waktu lebih lama dengan ikatan ligan pada konsentrasi yang lebih tinggi). Ketika atraktan dihilangkan, metilase mendemetilasi reseptor. Meskipun tingkat metilasi reseptor berubah selama respon kemotaksis, tetap konstan setelah bakteri beradaptasi karena keseimbangan yang tepat tercapai antara tingkat metilasi dan demetilasi. Sebuah model sederhana tentang bagaimana pengikatan ligan dan metilasi dapat bekerja dalam kemotaksis bakterial

mengusulkan bahwa baik metilasi reseptor dan pengikatan repelan mengencangkan struktur reseptor multisubunit dan protein pensinyalan yang terkait, sehingga meningkatkan pensinyalan dan tumbling; sebaliknya, demetilasi reseptor dan ikatan atraktan melonggarkan struktur kompleks, sehingga mengurangi pensinyalan dan tumbling. Diperkirakan bahwa sensitivitas respons ini sangat meningkat dengan efek kooperatif yang dihasilkan dari pengelompokan ekor sitoplasma dari reseptor yang berdekatan dalam membran (**Gambar 74**).



**Gambar 74** Sebuah model struktural untuk pengelompokan reseptor kemotaksis dalam membran plasma bakteri. Dua reseptor berkerumun ditampilkan. Masing-masing adalah homodimer, dan ekor yang panjang dari masing-masing sitoplasma  $\alpha$  heliks dua subunit terlipat kembali. Jadi, setiap subunit menyumbang dua heliks ke bundel empat heliks. domain, ditentukan dengan teknik yang dikenal sebagai resonansi spin elektron berdenyut, telah diintegrasikan dengan struktur protein tiga dimensi yang diketahui untuk menghasilkan model yang ditunjukkan. Pengelompokan kompleks reseptor-CheA-CheW ke dalam array jenis ini memungkinkan interaksi kooperatif antara kompleks yang berdekatan, sangat meningkatkan sensitivitas proses pensinyalan.

(A) Tampilan struktur tepat di bawah membran plasma bakteri. Domain ekstraseluler reseptor digambar secara skematis. (B) Pandangan dari struktur yang sama melihat ke dalam dari membran plasma. (Diadaptasi dari S.Y. Park et al., Nat. Struct. Biol. 13: 400–407, 2006. Dengan izin dari Macmillan Publishers Ltd.)

Semua gen dan protein yang terlibat dalam kemotaksis bakteri kini telah diidentifikasi, dan interaksinya telah diukur dengan beberapa detail. Oleh karena itu, tampaknya ini akan menjadi sistem pensinyalan pertama yang sepenuhnya dipahami dalam istilah molekuler. Bahkan dalam jaringan pensinyalan yang relatif sederhana ini, bagaimanapun, simulasi berbasis komputer diperlukan untuk memahami bagaimana sistem tersebut bekerja sebagai jaringan terintegrasi. Jalur pensinyalan sel akan menyediakan area investigasi yang sangat kaya untuk generasi baru ahli biologi komputasi, karena properti jaringan jalur ini tidak dapat dipahami tanpa alat komputasi yang kuat.

Seperti disebutkan sebelumnya, ada beberapa protein reseptor permukaan sel yang tidak cocok dengan tiga kelas utama yang telah kita diskusikan sejauh ini — gabungan saluran ion, gabungan G-protein, dan gabungan enzim. Pada bagian selanjutnya, kami mempertimbangkan reseptor permukaan sel yang mengaktifkan jalur pensinyalan yang bergantung pada proteolisis untuk mengatur aktivitas protein pengatur gen laten. Jalur ini memiliki peran yang sangat penting dalam perkembangan hewan dan dalam pembaruan dan perbaikan jaringan.

## Ringkasan

*Ada berbagai kelas reseptor yang digabungkan dengan enzim, termasuk reseptor tirosin kinase (RTK), reseptor terkait tirosin-kinase, reseptor serin / treonin kinase, dan reseptor terkait histidin-kinase. Dua kelas pertama sejauh ini adalah yang paling banyak pada mamalia.*

*Ikatan ligan ke RTK menginduksi reseptor untuk melakukan fosforilasi silang domain sitoplasma mereka pada beberapa tirosin. Transautofosforilasi ini merangsang kinase dan menghasilkan satu set*

*fosfotirosin yang berfungsi sebagai tempat berlabuh untuk satu set protein pensinyalan intraseluler, yang mengikat melalui domain SH2 (atau PTB) mereka. Salah satu protein pensinyalan berfungsi sebagai adaptor untuk memasang beberapa reseptor yang diaktifkan ke Ras-GEF (Sos), yang mengaktifkan Ras GTPase monomer; Ras, pada gilirannya mengaktifkan modul pensinyalan MAP kinase tiga komponen, yang mengirimkan sinyal ke nukleus dengan memfosforilasi protein pengatur gen di sana. Protein pensinyalan penting lainnya yang dapat berlabuh pada RTK yang diaktifkan adalah PI 3-kinase, yang memfosforilasi fosfoinositida spesifik untuk menghasilkan situs berlabuh lipid di membran plasma untuk memberi sinyal protein dengan domain PH pengikat fosfoinositida, termasuk serin / treonin protein kinase Akt (PKB), yang memainkan peran kunci dalam pengendalian kelangsungan hidup dan pertumbuhan sel. Banyak kelas reseptor, termasuk beberapa RTKs, mengaktifkan GTPase monomerik keluarga Rho, yang secara fungsional memasang reseptor ke sitoskeleton.*

*Reseptor terkait tirosin-kinase bergantung pada berbagai kinase tirosin sitoplasma untuk aksinya. Kinase ini termasuk anggota famili Src, yang berasosiasi dengan banyak jenis reseptor, dan kinase adhesi fokal (FAK), yang berasosiasi dengan integrin pada adhesi fokal. Tirosin kinase sitoplasma kemudian memfosforilasi berbagai protein pemberi sinyal untuk meneruskan sinyal ke depan. Keluarga reseptor terbesar di kelas ini adalah keluarga reseptor sitokin. Ketika dirangsang oleh ikatan ligan, reseptor ini mengaktifkan JAK sitoplasma tirosin kinase, yang memfosforilasi STAT. STAT kemudian dimerisasi, berpindah ke nukleus, dan mengaktifkan transkripsi gen tertentu. Reseptor serin / treonin kinase, yang diaktivasi oleh protein sinyal dari superfamili TGF $\beta$ , bertindak serupa: mereka secara langsung memfosforilasi dan mengaktifkan Smads, yang kemudian di oligomerisasi dengan Smad lain, berpindah ke nukleus, dan mengaktifkan transkripsi gen.*

*Kemotaksis bakteri diatur oleh jalur pensinyalan yang dipahami dengan sangat baik. Ini diatur oleh reseptor kemotaksis terkait histidin-kinase, yang mengaktifkan jalur pensinyalan dua komponen. Ketika diaktifkan oleh penolak, reseptor kemotaksis merangsang histidin kinase terkait memfosforilasi sendiri pada histidin dan kemudian mentransfer gugus fosforil ke protein pengatur respons, yang menyampaikan sinyal ke*

*motor flagela untuk mengubah perilaku berenang bakteri. Traktan memiliki efek berlawanan pada kinase ini dan karenanya pada renang. Respon ini sangat bergantung pada adaptasi reseptor, yang dimediasi oleh metilasi reseptor reversibel.*

## **JALUR SINYAL BERGANTUNG PADA PROTEOLISIS YANG DIATUR PROTEIN REGULASI GEN LATEN**

Kebutuhan sinyal antar sel tidak pernah lebih besar dari pada selama perkembangan hewan. Setiap sel dalam embrio harus dipandu sepanjang satu jalur perkembangan atau lainnya menurut sejarahnya, posisinya, dan karakter tetangganya. Pada setiap langkah dalam jalur, ia harus bertukar sinyal dengan tetangganya untuk mengoordinasikan perilakunya dengan mereka, memastikan jumlah dan pola yang benar dari jenis sel yang berbeda di setiap jaringan dan organ. Sebagian besar jalur pensinyalan yang telah dibahas secara luas digunakan untuk tujuan perkembangan ini, mengendalikan kelangsungan hidup sel, pertumbuhan, proliferasi, adhesi, spesifikasi, diferensiasi, dan migrasi.

Namun, ada jalur pensinyalan lain yang setidaknya sama pentingnya dalam mengendalikan proses perkembangan tetapi menyampaikan sinyal dengan cara lain dari reseptor permukaan sel ke bagian dalam sel. Beberapa jalur ini bergantung pada proteolisis yang diatur untuk mengontrol aktivitas dan lokasi protein pengatur gen laten, yang memasuki nukleus dan mengaktifkan transkripsi gen target spesifik hanya setelah mereka diberi isyarat untuk melakukannya. Meskipun protein STAT dan Smad yang dibahas sebelumnya juga merupakan protein pengatur gen laten, mereka diaktifkan oleh fosforilasi sebagai respons terhadap sinyal ekstraseluler daripada oleh degradasi protein yang sangat selektif. Jalur pensinyalan yang menggunakan protein pengatur gen laten menyediakan, sebagai fungsi utamanya, jalur linier yang relatif langsung dimana sinyal ekstraseluler dapat mengontrol ekspresi gen, yang mungkin mengapa mereka begitu umum digunakan selama perkembangan, terutama untuk mengontrol keputusan nasib sel.

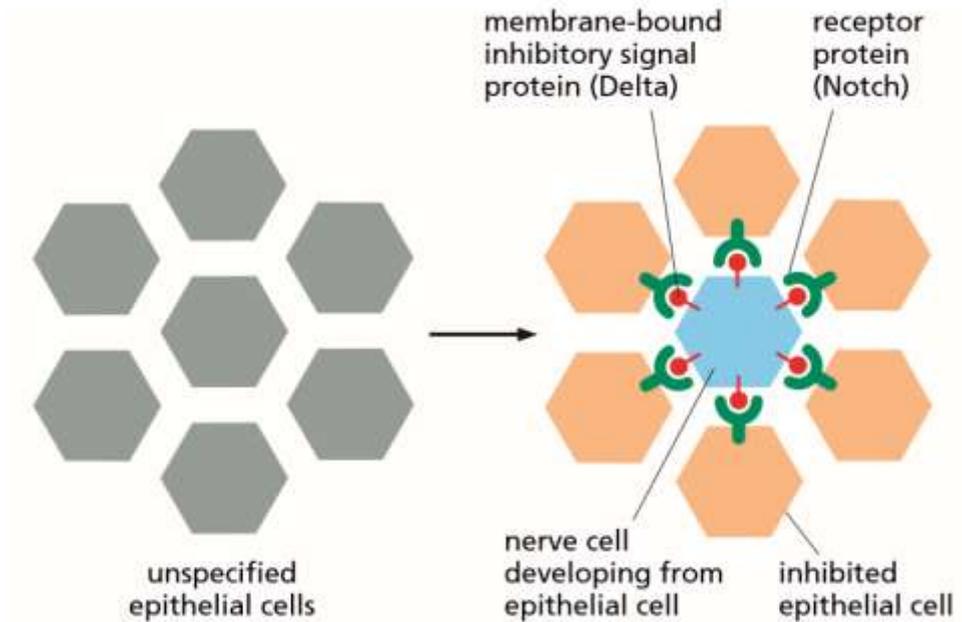
Meskipun sebagian besar jalur yang kita diskusikan dalam bagian ini ditemukan melalui studi genetika di *Drosophila*, jalur tersebut telah dilestarikan secara ketat dalam evolusi dan digunakan berulang kali selama pengembangan jaringan dan hewan yang berbeda, mereka juga memiliki peran penting dalam banyak proses perkembangan yang berlanjut di jaringan dan organ dewasa, di mana sel-sel baru terus diproduksi.

Kami membahas empat jalur pensinyalan di bagian ini: yang dimediasi oleh protein reseptor *Notch*, yang diaktifkan oleh protein Wnt yang disekresikan, yang diaktifkan oleh protein *Hedgehog* yang disekresikan, dan jalur yang mengaktifkan protein pengatur gen laten NFκB. Semua ini jalur memiliki peran penting dalam perkembangan hewan, dan kami membahas peran sentral dari Notch, Wnt, dan Hedgehog signaling dalam perkembangan embrio.

### **Takik Protein Reseptor Adalah Protein Pengatur Gen Laten**

Pensinyalan melalui protein reseptor Notch mungkin merupakan jalur pensinyalan yang paling banyak digunakan dalam perkembangan hewan. Ia memiliki peran umum dalam mengontrol pilihan takdir sel dan mengatur pembentukan pola selama perkembangan sebagian besar jaringan, serta dalam pembaharuan jaringan secara terus menerus seperti lapisan usus. Namun, ini paling dikenal karena perannya dalam produksi sel saraf di *Drosophila*, yang biasanya muncul sebagai sel tunggal yang terisolasi di dalam lembaran epitel sel prekursor. Selama proses ini, ketika sel prekursor berkomitmen untuk menjadi sel saraf, ia memberi sinyal kepada tetangga terdekatnya untuk tidak melakukan hal yang sama; sel yang terhambat berkembang menjadi sel epidermis. Proses ini, disebut *inhibisi lateral*, bergantung pada mekanisme pensinyalan yang bergantung pada kontak yang diaktifkan oleh protein sinyal transmembran jalur tunggal yang disebut **Delta**, ditampilkan pada permukaan sel saraf masa depan. Dengan mengikat protein reseptor Notch pada sel tetangga, sinyal Delta ke tetangga tidak menjadi saraf (**Gambar 75**). Ketika proses pensinyalan ini rusak, tetangga sel saraf juga berkembang sebagai sel saraf, menghasilkan neuron yang

sangat banyak dengan mengorbankan sel epidermis, yang mematikan.



**Gambar 75. Penghambatan lateral yang dimediasi oleh Notch dan Delta selama perkembangan sel saraf di *Drosophila*.** Ketika sel-sel individu di epitel mulai berkembang sebagai sel saraf, mereka memberi sinyal kepada tetangga mereka untuk tidak melakukan hal yang sama. Penghambatan, pensinyalan tergantung kontak ini dimediasi oleh ligan Delta, yang muncul di permukaan sel saraf masa depan dan mengikat protein reseptor Notch pada sel tetangga. Di banyak jaringan, semua sel dalam cluster awalnya mengekspresikan Delta dan Notch, dan persaingan terjadi, dengan satu sel muncul sebagai pemenang, mengekspresikan Delta dengan kuat dan menghalangi tetangganya untuk melakukan hal yang sama (lihat Gambar 22–60). Dalam kasus lain, faktor tambahan berinteraksi dengan Delta atau Notch untuk membuat beberapa sel rentan terhadap sinyal penghambatan lateral dan yang lainnya tidak responsif terhadapnya.

Pensinyalan antara sel yang berdekatan melalui Notch dan Delta (atau ligan Deltalike) mengatur pilihan nasib sel di banyak

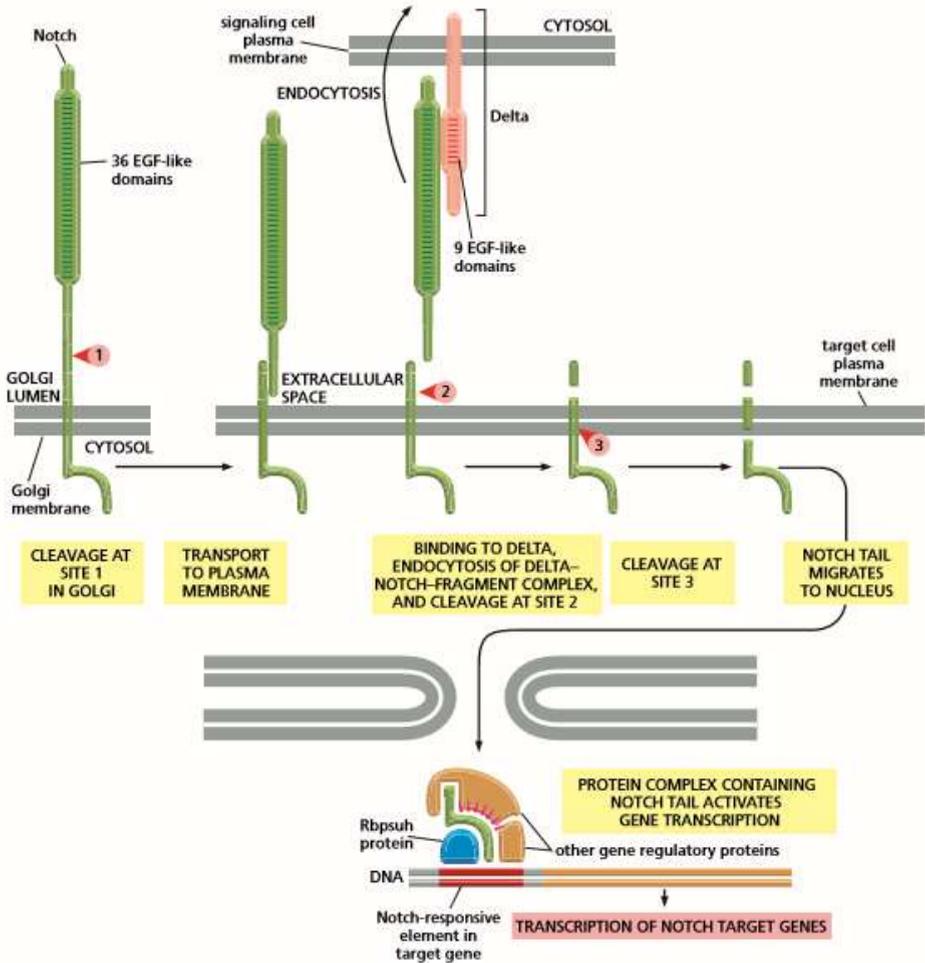
jaringan dan hewan. Seringkali, ia memediasi penghambatan lateral untuk mengontrol pembentukan campuran jenis sel yang terdiferensiasi di dalam jaringan, seperti pada sistem saraf lalat. Dalam beberapa kasus lain, bagaimanapun, itu bekerja dengan cara yang berlawanan, mempromosikan daripada menghambat nasib sel tertentu dan mendorong sel tetangga untuk berperilaku serupa. Hampir tidak ada perilaku sel perkembangan yang tidak diatur oleh Notch signaling di satu jaringan atau lainnya

Notch adalah protein transmembran jalur tunggal yang membutuhkan pemrosesan proteolitik agar berfungsi. Ini bertindak sebagai protein pengatur gen laten dan menyediakan jalur pensinyalan paling sederhana dan paling langsung yang diketahui dari reseptor permukaan sel ke nukleus. Ketika diaktifkan oleh pengikatan Delta pada sel lain, protease yang terikat plasmamembrane membelah ekor Sitoplasma dari Notch, dan ekor yang dilepaskan berpindah tempat ke dalam nukleus untuk mengaktifkan transkripsi dari satu set gen respon Notch. Fragmen ekor Notch bekerja dengan mengikat protein pengikat DNA, mengubahnya dari represor transkripsi menjadi aktivator transkripsi. Kita akan melihat bahwa jalur pensinyalan Wnt dan Hedgehog menggunakan strategi yang sama untuk mengalihkan penekan transkripsi menjadi penggerak transkripsi untuk mengatur nasib sel. Kumpulan gen yang diatur oleh Notch signaling bervariasi tergantung pada jaringan dan keadaan, meskipun target utama di sebagian besar sel adalah anggota keluarga gen, yang dikenal (pada mamalia) sebagai gen *Hes*, yang mengkode protein pengatur gen penghambat. Dalam sistem saraf, misalnya, produk dari *gen Hes* memblokir ekspresi gen yang diperlukan untuk diferensiasi saraf.

Reseptor Notch mengalami tiga langkah pembelahan proteolitik berturut-turut, tetapi hanya dua langkah terakhir yang bergantung pada pengikatan Delta. Sebagai bagian dari biosintesis normalnya, ia dibelah dalam badan Golgi untuk membentuk heterodimer, yang kemudian diangkut ke permukaan sel sebagai reseptor yang matang. Pengikatan Delta ke Notch menginduksi pembelahan kedua di domain ekstraseluler, dimediasi oleh protease ekstraseluler. Pembelahan akhir segera mengikuti, memotong ekor

sitoplasma dari reseptor yang diaktifkan (**Gambar 76**). Perhatikan bahwa, tidak seperti kebanyakan reseptor, aktivasi Notch tidak dapat diubah; setelah diaktifkan oleh pengikatan ligan, protein tidak dapat digunakan lagi.

Pembelahan akhir ekor Takik ini terjadi tepat di dalam segmen transmembran, dan dimediasi oleh kompleks protease yang disebut  $\gamma$ -sekretase, yang juga bertanggung jawab atas pembelahan intramembran berbagai protein lain. Salah satu subunit esensial adalah **Presenilin**, disebut demikian karena mutasi pada gen yang mengkodekannya sering menjadi penyebab onset dini, penyakit Alzheimer familial, suatu bentuk demensia presenile. Kompleks protease diperkirakan berkontribusi pada penyakit ini dan bentuk lain dari penyakit Alzheimer dengan menghasilkan fragmen peptida ekstraseluler dari protein saraf transmembran; fragmen-fragmen tersebut menumpuk dalam jumlah yang berlebihan dan membentuk agregat protein yang gagal melipat yang disebut plak amiloid, yang dapat melukai sel-sel saraf dan berkontribusi pada degenerasi dan kehilangannya.



**Gambar 76. Pengolahan dan aktivasi Notch oleh pembelahan proteolitik.** Panah merah bernomor menunjukkan situs pembelahan proteolitik. Langkah pemrosesan proteolitik pertama terjadi dalam jaringan trans Golgi untuk menghasilkan reseptor Takik heterodimer yang matang yang kemudian ditampilkan pada permukaan sel. Pengikatan Delta, yang ditampilkan pada sel tetangga, memicu dua langkah proteolitik berikutnya: kompleks Delta dan subunit Notch yang terikat diendositkan oleh sel pengekspresian Delta, mengekspos situs pembelahan ekstraseluler di subunit Notch transmembran . Perhatikan bahwa Notch dan Delta berinteraksi melalui domain serupa EGF yang berulang.

Ekor Notch yang dilepaskan bermigrasi ke nukleus, di mana ia mengikat protein Rb/sup dan mengubahnya dari represor transkripsi menjadi aktivator transkripsi.

Baik Notch dan Delta adalah glikoprotein, dan interaksinya diatur oleh glikosilasi Notch. *Keluarga Fringe* dari glikosiltransferase, khususnya, menambahkan gula ekstra ke oligosakarida terkait-O di Notch, yang mengubah spesifisitas Notch untuk ligan-nya. Ini telah memberikan contoh pertama dari modulasi pensinyalan ligan-reseptor oleh glikosilasi reseptor diferensial.

### **Protein Wnt Mengikat Reseptor Keriting dan Menghambat Degradasi $\beta$ -Catenin**

**Protein Wnt** adalah molekul sinyal yang disekresikan yang bertindak sebagai mediator dan morfogen lokal untuk mengontrol banyak aspek perkembangan pada semua hewan yang telah dipelajari. Mereka ditemukan secara independen pada lalat dan tikus: pada *Drosophila*, gen tanpa sayap (*Wg*) awalnya muncul karena perannya sebagai morfogen dalam perkembangan sayap, sedangkan pada tikus, gen *Int1* ditemukan karena itu mempromosikan perkembangan tumor payudara ketika diaktifkan oleh integrasi virus di sebelahnya. Kedua gen ini mengkode protein Wnt. Wnt tidak biasa sebagai protein yang disekresikan karena memiliki rantai asam lemak yang terikat secara kovalen pada N-terminusnya, yang meningkatkan ikatannya ke permukaan sel. Ada 19 Wnts pada manusia, masing-masing memiliki fungsi yang berbeda, tetapi sering tumpang tindih.

Wnts dapat mengaktifkan setidaknya tiga jenis jalur pensinyalan intraseluler: (1) Jalur *Wnt /  $\beta$ -catenin* (juga dikenal sebagai jalur *Wnt kanonik*) berpusat pada protein pengatur gen laten  $\beta$ -catenin. (2) Jalur polaritas planar mengoordinasikan polarisasi sel dalam bidang epitel yang sedang berkembang dan bergantung pada GTPases keluarga Rho. (3) Jalur *Wnt /  $Ca^{2+}$*  menstimulasi peningkatan  $Ca^{2+}$  intraseluler, dengan konsekuensi seperti yang telah kami jelaskan sebelumnya untuk jalur lainnya. Ketiga jalur ini

dimulai dengan pengikatan Wnts ke reseptor permukaan sel **keluarga Frizzled**, yang merupakan protein transmembran tujuh jalur yang strukturnya menyerupai GPCR. Ada tujuh reseptor seperti itu pada manusia. Ketika diaktifkan oleh pengikatan Wnt, protein Frizzled merekrut protein perancah **Disheveled**, yang diperlukan untuk menyampaikan sinyal ke ketiga jalur pensinyalan. Kami fokus di sini pada jalur pertama

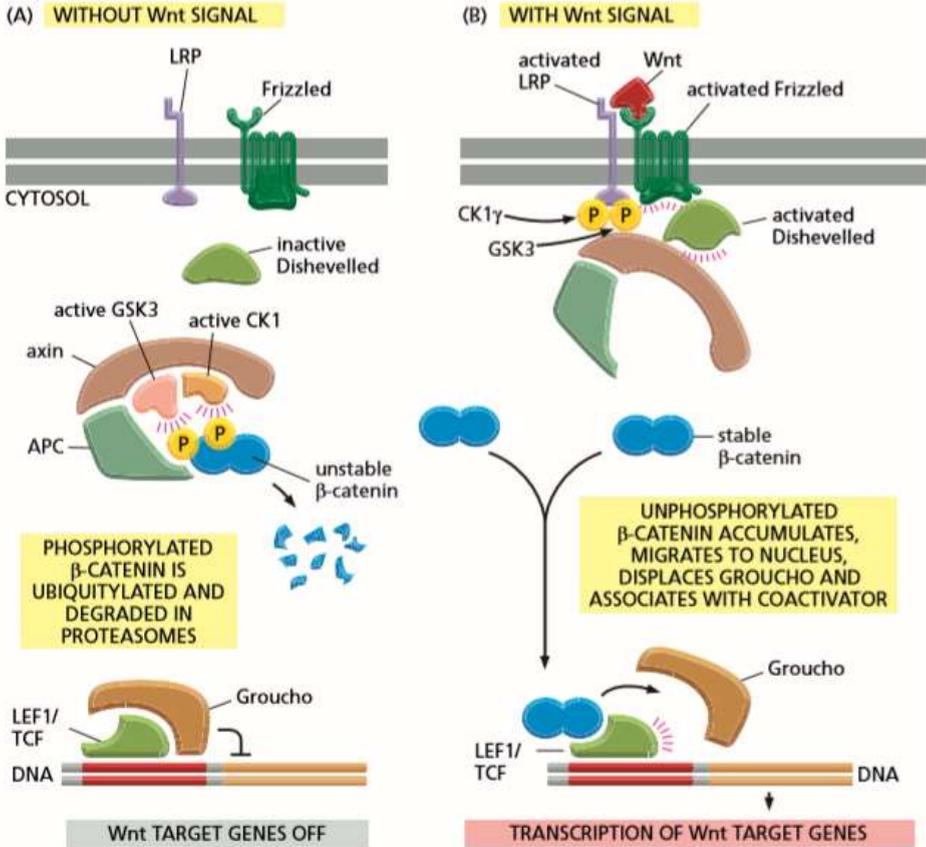
**Jalur Wnt /  $\beta$ -catenin** bekerja dengan mengatur proteolisis dari protein multifungsi  **$\beta$ -catenin** (atau *Armadillo* pada lalat), yang berfungsi baik dalam adhesi sel-sel (dibahas dalam Bab 19) dan dalam regulasi gen. Dalam jalur ini (tetapi tidak di jalur Wnt lainnya), Wnts bekerja dengan mengikat baik protein Frizzled dan protein ko-reseptor yang terkait dengan **protein reseptor lipoprotein densitas rendah (LDL)** dan oleh karena itu disebut **protein terkait reseptor LDL (LRP)**. Dalam sel epitel, sebagian besar  $\beta$ -catenin sel terletak di persimpangan sel-sel adherens, di mana ia terkait dengan cadherin, yang merupakan protein adhesi sel-sel transmembran. Beta-catenin di persimpangan ini membantu menghubungkan cadherin ke sitoskeleton aktin. Dalam sel epitel dan nonepitel,  $\beta$ -catenin yang tidak terkait dengan cadherin dengan cepat terdegradasi di dalam sitoplasma.

Degradasi  $\beta$ -catenin sitoplasma bergantung pada *kompleks degradasi* protein yang besar, yang mengikat  $\beta$ -catenin dan menjauhkannya dari nukleus sambil mendorong degradasinya. Kompleks ini mengandung paling tidak empat protein lain: serin / treonin kinase yang disebut *kasein kinase 1 (CK1)* memfosforilasi  $\beta$ -catenin pada serin, mempersiapkannya untuk fosforilasi lebih lanjut oleh serin / treonin kinase lain yang disebut *glukogen sintase kinase 3 (GSK3)*; fosforilasi akhir ini menandai protein untuk ubiquitylation dan degradasi cepat dalam proteasom. Dua protein perancah yang disebut axin dan *Adenomatous polyposis coli (APC)* menahan kompleks protein bersama-sama (**Gambar 77A**). APC mendapatkan namanya dari penemuan bahwa gen yang mengkodekannya sering bermutasi menjadi tumor jinak (adenoma) pada usus besar; tumor memproyeksikan ke dalam lumen sebagai polip dan akhirnya bisa menjadi ganas. (APC ini jangan disamakan dengan Anaphase

Promoting Complex, atau APC, yang memainkan peran sentral dalam degradasi protein selektif selama siklus sel — lihat Gambar 17-20A.)

Pengikatan protein Wnt ke reseptor Frizzled dan LRP menyatukan kedua reseptor untuk membentuk kompleks. Dalam proses yang kurang dipahami, dua protein kinase, GSK3 dan kemudian CK1 $\gamma$ , memfosforilasi ekor sitosol dari reseptor LRP, memungkinkan ekor LRP untuk merekrut dan menonaktifkan akson, sehingga mengganggu kompleks degradasi dalam sitoplasma. Dengan cara ini, fosforilasi dan degradasi  $\beta$ -catenin dihambat, memungkinkan  $\beta$ -catenin yang tidak terfosforilasi berangsur-angsur terakumulasi dan berpindah ke nukleus, di mana hal itu mengubah pola transkripsi gen (Gambar 77B).

Dengan tidak adanya pensinyalan Wnt, gen yang responsif terhadap Wnt dibungkam oleh kompleks penghambat protein pengatur gen. Kompleks ini mencakup protein dari keluarga *LEF1 / TCF* yang terikat ke protein co-represor dari keluarga *Groucho* (lihat Gambar-77A). Menanggapi sinyal Wnt,  $\beta$ -catenin memasuki nukleus dan mengikat protein LEF1 / TCF, menggantikan Groucho.  $\beta$ -catenin sekarang berfungsi sebagai koaktivator, menginduksi transkripsi gen target Wnt (lihat Gambar-77B). Jadi, seperti dalam kasus pensinyalan Notch, pensinyalan Wnt/ $\beta$ -catenin memicu peralihan dari represi transkripsi ke aktivasi transkripsi.



**Gambar 77. Jalur pensinyalan Wnt /  $\beta$ -catenin.** (A) Dengan tidak adanya sinyal Wnt,  $\beta$ -catenin yang tidak terikat pada ekor sitosol protein cadherin (tidak ditampilkan) menjadi terikat oleh kompleks degradasi yang mengandung APC, axin, GSK3, dan CK1. Dalam kompleks ini,  $\beta$ -catenin difosforilasi oleh CK1 dan kemudian oleh GSK3, memicu kemana-mana dan degradasi dalam proteasom. Gen yang responsif terhadap Wnt tetap tidak aktif oleh protein ko-represor Groucho yang terikat pada protein pengatur gen LEF1 / TCF. (B) Wnt mengikat Frizzled dan LRP mengelompokkan dua jenis reseptor bersama-sama, menghasilkan perekrutan kompleks degradasi ke membran plasma dan fosforilasi ekor sitosol LRP oleh GSK3 dan kemudian oleh CK1 $\gamma$ . Axin mengikat LRP terfosforilasi dan tidak aktif dan / atau terdegradasi. Hilangnya akson dari kompleks degradasi menonaktifkan kompleks dan dengan demikian memblokir fosforilasi dan ubiquitasilasi  $\beta$ -catenin, yang memungkinkan  $\beta$ -catenin yang tidak terfosforilasi untuk menumpuk

dan berpindah ke nukleus. Disheveled dan mungkin protein G diperlukan untuk jalur pensinyalan untuk beroperasi; keduanya mengikat Frizzled dan Disheveled menjadi terfosforilasi (tidak ditampilkan), tetapi peran fungsionalnya tidak diketahui.

Begitu berada di dalam nukleus,  $\beta$ -catenin berikatan dengan LEF1 / TCF, menggantikan co-repressor Groucho, dan bertindak sebagai koaktivator untuk merangsang transkripsi gen target Wnt.

Di antara gen yang diaktivasi oleh  $\beta$ -catenin adalah *c-Myc*, yang mengkode protein (c-Myc) yang merupakan stimulator kuat untuk pertumbuhan dan proliferasi sel. Mutasi gen *Apc* terjadi pada 80% kanker usus besar manusia. Mutasi ini menghambat kemampuan protein untuk mengikat  $\beta$ -catenin, sehingga  $\beta$ -catenin terakumulasi dalam nukleus dan menstimulasi transkripsi *c-Myc* dan gen target Wnt lainnya, bahkan tanpa adanya pensinyalan Wnt. Pertumbuhan dan proliferasi sel yang tidak terkendali yang dihasilkan mendorong perkembangan kanker.

Berbagai protein penghambat yang disekresikan mengatur pensinyalan Wnt dalam perkembangan. Beberapa mengikat reseptor LRP dan mempromosikan regulasi turun mereka, sedangkan yang lain bersaing dengan reseptor Frizzled untuk Wnts yang disekresikan. Setidaknya dalam *Drosophila*, Wnts mengaktifkan loop umpan balik negatif, di mana gen target Wnt menyandikan protein yang membantu mematikan respons; beberapa protein ini menghambat Disheveled, dan yang lainnya disekresikan sebagai inhibitor.

### **Protein Hedgehog Mengikat ke Ditambal, Menghilangkan Penghambatannya untuk Menghaluskan**

Protein Hedgehog dan protein Wnt bekerja dengan cara yang sama. Keduanya adalah molekul sinyal yang disekresikan, yang bertindak sebagai mediator dan morfogen lokal di banyak jaringan invertebrata dan vertebrata yang sedang berkembang. Kedua protein dimodifikasi oleh lipid yang terikat secara kovalen, bergantung pada proteoglikan sulfat heparan sulfat yang disekresikan atau terikat

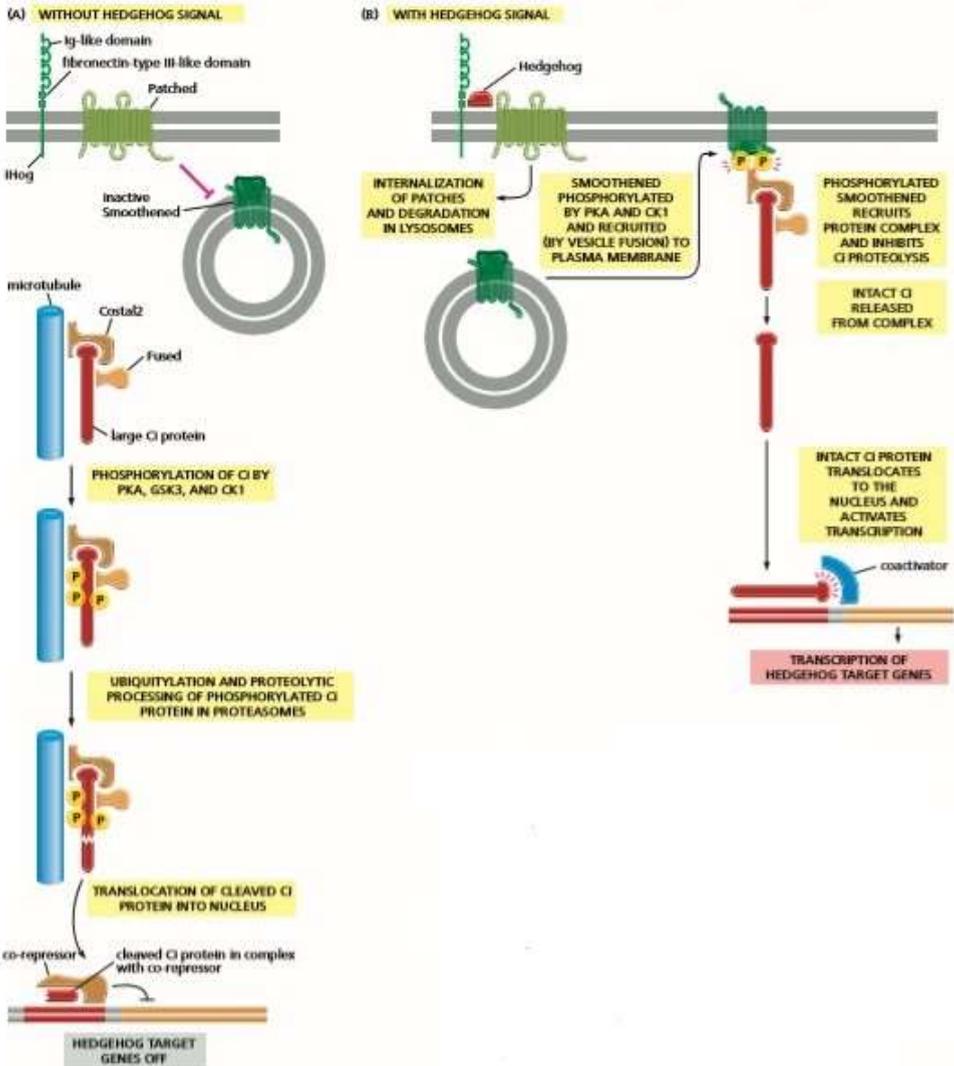
pada permukaan sel (dibahas dalam Bab 19) untuk aksinya, dan mengaktifkan protein pengatur gen laten dengan menghambat proteolisisnya. Keduanya memicu peralihan dari represi transkripsi ke aktivasi transkripsi, dan pensinyalan yang berlebihan di sepanjang jalur sel dewasa dapat menyebabkan kanker. Mereka bahkan menggunakan beberapa protein pensinyalan intraseluler yang sama dan terkadang berkolaborasi untuk menengahi sebuah respons.

**Protein Hedgehog** ditemukan di *Drosophila*, di mana keluarga protein ini hanya memiliki satu anggota. Mutasi gen *Hedgehog* menghasilkan larva yang tertutup proses runcing (denticles), seperti landak. Setidaknya tiga gen menyandikan protein Hedgehog pada vertebrata *Sonic*, *Desert*, dan *Hedgehog India*. Bentuk aktif dari semua protein Hedgehog secara kovalen digabungkan dengan kolesterol, serta rantai asam lemak. Kolesterol ditambahkan selama langkah pemrosesan yang tidak biasa, di mana protein prekursor membelah dirinya untuk menghasilkan protein sinyal yang mengandung kolesterol yang lebih kecil. Sebagian besar dari apa yang kita ketahui tentang jalur pensinyalan hilir yang diaktifkan oleh Smoothened, bagaimanapun, awalnya berasal dari studi genetik pada lalat, dan jalur lalat inilah yang kami rangkum di sini.

Tiga protein transmembran — Ditambal, Dihaluskan, dan iHog — memediasi respons terhadap protein Landak. **Patched** diperkirakan akan melewati membran plasma sebanyak 12 kali, dan meskipun sebagian besar berada di vesikula intraseluler, sebagian berada di permukaan sel tempat ia mengikat protein Landak. **Protein iHog** memiliki empat atau lima domain mirip imunoglobulin dan dua atau tiga domain mirip fibronectintipe-III; mereka berada di permukaan sel dan juga dianggap berfungsi sebagai reseptor untuk protein Landak, mungkin bertindak sebagai reseptor bersama dengan Ditambal. **Smoothened** adalah protein transmembran tujuh lintasan dengan struktur yang sangat mirip dengan protein Frizzled. Dengan tidak adanya sinyal Landak, Ditambal melalui beberapa mekanisme yang tidak diketahui, membuat Smoothened diasingkan dan tidak aktif di vesikula intraseluler. Pengikatan Landak ke iHog dan Ditambal

menghambat aktivitas Dtt dan menginduksi endositosis dan degradasi. Hasilnya adalah Smoothed menjadi terfosforilasi, berpindah ke permukaan sel, dan menyampaikan sinyal ke hilir.

Efek hilir dimediasi oleh protein pengatur gen laten yang disebut **Cubitus interruptus (Ci)**. Dengan tidak adanya sinyal Landak, Ci tersebar di mana-mana dan secara proteolitik dibelah dalam proteasom. Alih-alih terdegradasi sepenuhnya, Ci diproses untuk membentuk protein yang lebih kecil, yang terakumulasi dalam nukleus, di mana ia bertindak sebagai penekan transkripsi, membantu menjaga gen yang responsif terhadap landak tetap diam. Pemrosesan proteolitik dari protein Ci bergantung pada fosforilasinya oleh tiga protein kinase serin / treonin — PKA dan dua kinase yang juga digunakan dalam jalur Wnt, yaitu GSK3 dan CK1. Seperti pada jalur Wnt, pemrosesan proteolitik terjadi dalam kompleks multiprotein. Kompleks ini mencakup Fused serine / treonin kinase dan protein perancah *Costal2*, yang secara stabil berasosiasi dengan Ci, merekrut tiga kinase lain, dan mengikat kompleks tersebut ke mikrotubulus, sehingga menjaga Ci yang belum diproses keluar dari nukleus (**Gambar 78A**).



**Gambar 78 Landak memberi isyarat di *Drosophila*.** (A) Dengan tidak adanya Landak, Patched membuat Smoothened tidak aktif dan diasingkan dalam vesikula intraseluler. Protein Ci terikat dalam kompleks degradasi protein di sitoplasma, yang meliputi Fused serin / treonin kinase dan protein perancah Costal2. Costal2 merekrut tiga protein kinase lainnya (PKA, GSK3, dan CK1), yang memfosforilasi Ci. Ci yang difosforilasi ada di mana-mana dan kemudian dibelah dalam proteasom (tidak ditampilkan) untuk membentuk penekan transkripsi, yang terakumulasi dalam nukleus untuk membantu menjaga gen target Landak tidak aktif. (B) Landak

mengikat iHog dan Ditambal menghilangkan penghambatan Menghaluskan oleh Ditambal. Menghaluskan difosforilasi oleh PKA dan CK1 dan berpindah ke membran plasma, di mana ia merekrut Fused dan Costal2. Costal2 melepaskan tiga kinase lainnya dan Ci yang belum diproses. Protein Ci dengan panjang penuh terakumulasi di dalam nukleus dan mengaktifkan transkripsi gen target Landak. Protein iHog pada mamalia disebut BOC dan CDO. Banyak detail di jalur yang kurang dipahami, termasuk peran Fused.

Ketika jalur Landak diaktifkan dan dihaluskan dengan demikian dilepaskan di membran plasma, ia merekrut kompleks protein yang mengandung Ci, Fused, dan Costal2. Costal2 tidak lagi dapat mengikat ketiga kinase lainnya, sehingga Ci tidak lagi dibelah. Protein Ci yang belum diproses sekarang dapat memasuki nukleus dan mengaktifkan transkripsi gen target Landak (Gambar 78B). Di antara gen yang diaktifkan oleh Ci adalah *Patched* itu sendiri; peningkatan yang dihasilkan pada protein yang ditambal pada permukaan sel menghambat pensinyalan Landak lebih lanjut — memberikan contoh lain dari umpan balik negatif.

Banyak celah dalam pemahaman jalur pensinyalan Landak masih harus diisi. Tidak diketahui, misalnya, bagaimana *Patched* membuat *Smoothened* tidak aktif dan intraseluler. Karena struktur *Patched* menyerupai protein transporter transmembran, telah diusulkan bahwa ia dapat mengangkut molekul kecil ke dalam sel yang membuat *Smoothened* tetap diasingkan di vesikel.

Bahkan lebih sedikit yang diketahui tentang jalur Landak yang lebih kompleks dalam sel vertebrata. Selain ada setidaknya tiga jenis protein landak vertebrata, ada tiga protein pengatur gen mirip Ci (*Gli1*, *Gli2*, dan *Gli3*) di hilir *Smoothened*. Hanya *Gli3* telah terbukti menjalani pemrosesan proteolitik seperti Ci dan bertindak sebagai penekan transkripsi atau aktivator transkripsi. Baik *Gli1* dan *Gli2* dianggap bertindak secara eksklusif sebagai aktivator transkripsi. Selain itu, pada vertebrata, dihaluskan, setelah aktivasi, menjadi terlokalisasi di lokasi yang sangat spesifik dalam membran plasma — permukaan silia primer, yang menonjol dari permukaan sebagian

besar jenis sel vertebrata. Silium primer bertindak sebagai pusat pensinyalan Landak, dan protein Gli juga terkonsentrasi di sini. Pengaturan ini mungkin meningkatkan kecepatan dan efisiensi proses persinyalan.

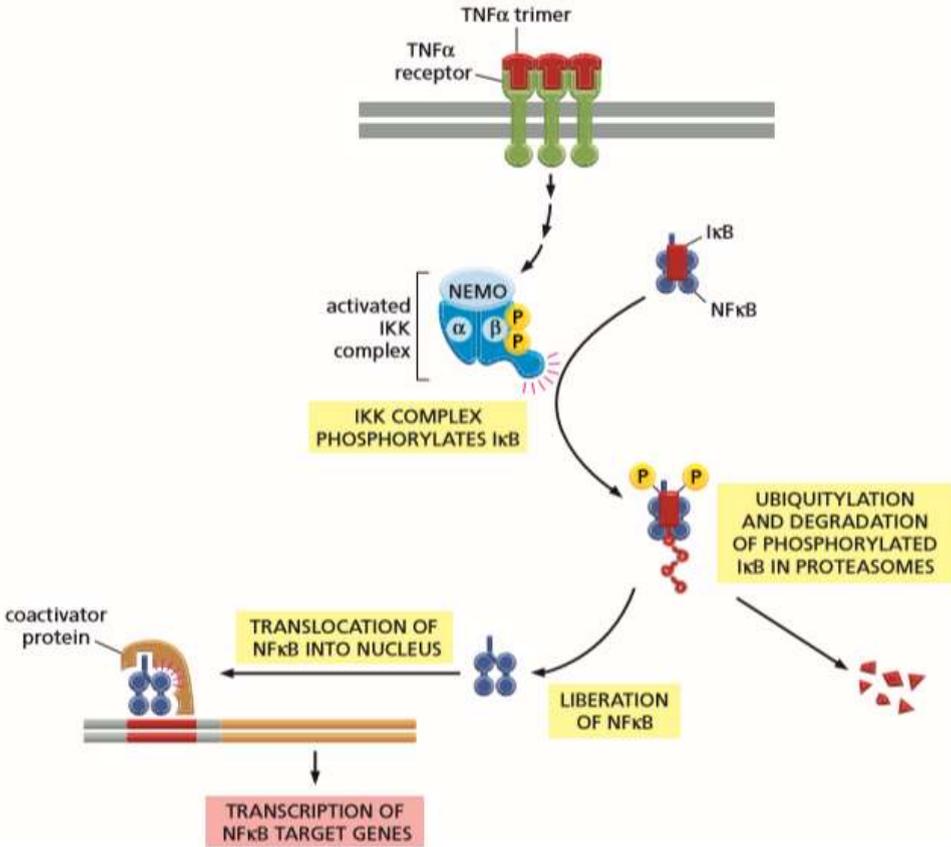
Pensinyalan landak dapat meningkatkan proliferasi sel, dan pensinyalan Landak yang berlebihan dapat menyebabkan kanker. Menonaktifkan mutasi pada salah satu dari dua *gen Patch* manusia, misalnya, yang menyebabkan pensinyalan Landak yang berlebihan, sering terjadi pada *karsinoma sel basal* kulit, bentuk kanker yang paling umum pada orang Kaukasia. Molekul kecil yang disebut *cyclopamine*, dibuat oleh bunga lili padang rumput, digunakan untuk mengobati kanker yang terkait dengan pensinyalan Landak yang berlebihan. Ini memblokir sinyal Landak dengan mengikat erat ke Smoothed dan menghambat aktivitasnya. Ini awalnya diidentifikasi karena menyebabkan cacat perkembangan yang parah pada keturunan domba yang merumput di bunga lili tersebut; ini termasuk adanya satu mata pusat (suatu kondisi yang disebut *cyclopia*), yang juga terlihat pada tikus yang kekurangan pensinyalan Landak.

### **Banyak Stimulus Stres dan Inflamasi Bertindak Melalui Jalur Sinyal Bergantung NFkB**

**Protein NFkB** adalah protein pengatur gen laten yang terdapat di sebagian besar sel hewan dan merupakan pusat dari banyak respons imun bawaan, yang menimbulkan stres, dan inflamasi. Respons ini terjadi sebagai reaksi terhadap infeksi atau cedera dan membantu melindungi organisme multiseluler yang stres dan selnya. Respons peradangan yang berlebihan atau tidak tepat pada hewan juga dapat merusak jaringan dan menyebabkan rasa sakit yang parah, dan peradangan kronis dapat menyebabkan kanker; seperti dalam kasus pensinyalan Wnt dan Landak, NFkB berlebihan pensinyalan ditemukan di sejumlah kanker manusia. Protein NFkB juga memiliki peran penting selama perkembangan hewan normal. Anggota keluarga *Drosophila* NFkB *Dorsal*, misalnya, memiliki peran penting dalam menentukan sumbu dorsal-ventral dari embrio lalat yang sedang berkembang .

Berbagai reseptor permukaan sel mengaktifkan jalur pensinyalan NF $\kappa$ B dalam sel hewan. *Reseptor tol di Drosophila* dan *reseptor serupa tol* pada vertebrata, misalnya, mengenali patogen dan mengaktifkan jalur ini dalam memicu respons imun bawaan. Reseptor untuk *tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF  $\alpha$ )* dan *interleukin-1 (IL1)*, yang merupakan sitokin vertebrata yang sangat penting dalam menginduksi respon inflamasi, juga mengaktifkan jalur ini. Reseptor Toll, Tolllike, dan IL1 termasuk dalam famili protein yang sama, sedangkan reseptor TNF termasuk dalam famili yang berbeda; semuanya, bagaimanapun, bertindak dengan cara yang sama untuk mengaktifkan NF $\kappa$ B. Ketika diaktifkan, mereka memicu multiprotein ubiquitylation dan kaskade fosforilasi yang melepaskan NF $\kappa$ B dari kompleks protein penghambat, sehingga dapat berpindah ke nukleus dan mengaktifkan transkripsi ratusan gen yang berpartisipasi dalam respon imun inflamasi dan bawaan.

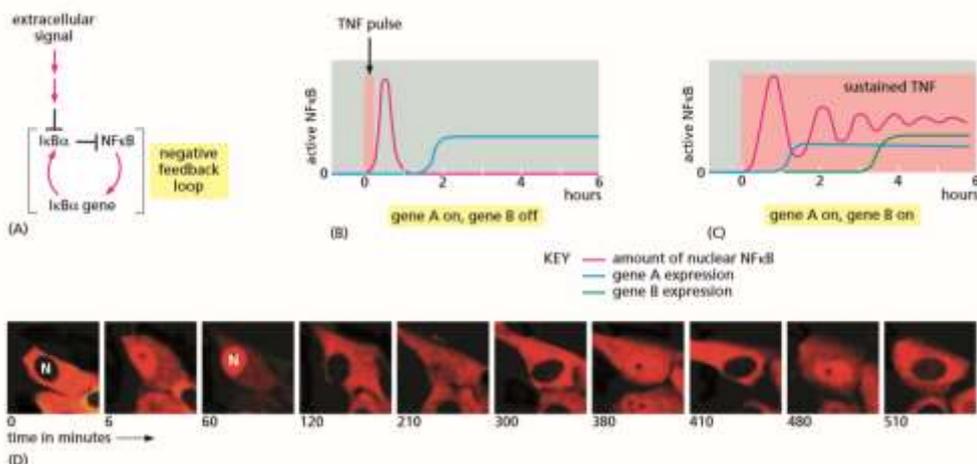
Ada lima protein NF $\kappa$ B pada mamalia (*RelA*, *RelB*, *c-Rel*, *NF $\kappa$ B1*, dan *NF $\kappa$ B2*), dan mereka membentuk berbagai homodimer dan heterodimer, yang masing-masing mengaktifkan set karakteristik gennya sendiri. Protein penghambat yang disebut **I $\kappa$ B** mengikat erat di dimer dan menahannya dalam keadaan tidak aktif di dalam sitoplasma sel yang tidak distimulasi. Ada tiga protein I $\kappa$ B utama pada mamalia (I $\kappa$ B  $\alpha$ ,  $\beta$ , dan  $\epsilon$ ), dan sinyal yang melepaskan dimer NF $\kappa$ B melakukannya dengan memicu jalur pensinyalan yang mengarah ke fosforilasi, ubiquitylation, dan degradasi akibat dari protein I $\kappa$ B. Fosforilasi I $\kappa$ B dimediasi oleh *I $\kappa$ B kinase (IKK)*, yang merupakan kompleks multiprotein yang mengandung dua protein kinase serin / treonin (IKK $\alpha$  dan IKK $\beta$ ) dan protein pengatur yang disebut *NEMO* (untuk pengubah esensial NF $\kappa$ B), atau IKK $\gamma$  (**Gambar 79**).



**Gambar 79. Aktivasi jalur NF $\kappa$ B oleh TNF $\alpha$ .** Baik TNF $\alpha$  dan reseptornya adalah pemangkas. Pengikatan TNF  $\alpha$  menyebabkan penataan ulang ekor sitosol berkerumun reseptor, yang sekarang merekrut berbagai protein pemberi sinyal, menghasilkan aktivasi protein kinase serin / treonin yang memfosforilasi dan mengaktifkan I $\kappa$ B kinase kinase (IKK). IKK adalah heterotrimer yang terdiri dari dua subunit kinase (IKK $\alpha$  dan IKK $\beta$ ) dan subunit regulasi yang disebut NEMO. IKK $\beta$  kemudian memfosforilasi I $\kappa$ B pada dua serin, yang menandai protein untuk ubiquitylation dan degradasi di proteasom. NF $\kappa$ B yang dilepaskan bertranslokasi ke dalam nukleus, di mana, bekerja sama dengan protein koaktivator, merangsang transkripsi gen targetnya.

Di antara gen yang diaktifkan oleh NF $\kappa$ B yang dilepaskan adalah gen yang mengkode I $\kappa$ B $\alpha$ , salah satu dari tiga isoform I $\kappa$ B

yang menahan NFκB tidak aktif di dalam sitosol sel istirahat. Aktivasi ini mengarah pada resintesis protein IκBa, yang mengikat NFκB dan menonaktifkannya, menciptakan loop umpan balik negatif (**Gambar 80A**). Eksperimen pada respons yang diinduksi TNFα, serta studi pemodelan komputer dari respons, menunjukkan bahwa umpan balik negatif menghasilkan dua jenis respons NFκB, tergantung pada durasi stimulus TNFα. Paparan singkat (kurang dari satu jam) untuk TNF menghasilkan periode singkat aktivasi NFκB yang tidak tergantung pada durasi stimulus TNFα; umpan balik negatif melalui IκB α shuts off respon setelah sekitar satu jam. Sebaliknya, eksposur yang lama menghasilkan osilasi lambat aktivasi NFκB, di mana aktivasi diikuti oleh inaktivasi yang dimediasi IκBa, yang diikuti oleh penghancuran IκBa dan reaktivasi NFκB, dan seterusnya; osilasi dapat bertahan selama beberapa jam sebelum memudar, bahkan ketika stimulus dipertahankan. Yang penting, kedua jenis respons tersebut menginduksi pola ekspresi gen yang berbeda, karena beberapa gen target NFκB hanya aktif sebagai respons terhadap aktivasi osilasi NFκB yang berkepanjangan (Gambar 80B, C, dan D). Umpan balik negatif melalui IκBα diperlukan untuk kedua jenis respons: dalam sel yang kekurangan IκBα, bahkan paparan singkat ke TNFα menginduksi aktivasi NFκB yang berkelanjutan, tanpa osilasi, dan semua gen responsif NFκB diaktifkan.



**Gambar 80. Umpan balik negatif di jalur pensinyalan NFκB menginduksi osilasi dalam aktivasi NFκB.** (A) Gambar yang menunjukkan bagaimana NFκB yang diaktifkan merangsang transkripsi

I $\kappa$ B $\alpha$ , produk protein yang bekerja kembali dalam sitoplasma untuk menahan NF $\kappa$ B di sana; jika stimulusnya persisten, I $\kappa$ Baprotein yang baru dibuat kemudian akan tersebar dan terdegradasi, membebaskan NF $\kappa$ B aktif lagi sehingga dapat kembali ke nukleus dan mengaktifkan transkripsi (lihat Gambar-79). (B) Paparan singkat terhadap TNF $\alpha$  menghasilkan satu denyut nadi pendek aktivasi NF $\kappa$ B, dimulai dalam beberapa menit dan berakhir dalam 1 jam. Respons ini mengaktifkan transkripsi gen A tetapi tidak pada gen B. (C) A paparan berkelanjutan terhadap TNF selama 6 jam percobaan secara keseluruhan menghasilkan osilasi dalam aktivasi NF $\kappa$ B yang berkurang seiring waktu. Respons ini mengaktifkan transkripsi kedua gen; gen B menyala hanya setelah beberapa jam, menunjukkan bahwa transkripsi gen B memerlukan aktivasi NF $\kappa$ B yang berkepanjangan, untuk alasan yang tidak dipahami. (D) Mikrograf fluoresensi confocal selang waktu ini dari studi TNFstimulasi yang berbeda menunjukkan osilasi NF $\kappa$ B dalam sel berbudaya, seperti yang ditunjukkan oleh pergerakan periodik ke dalam nukleus (N) dari protein fusi yang terdiri dari NF $\kappa$ B yang menyatu dengan fluoresen merah protein. Di sel di bagian atas mikrograf, NF $\kappa$ B aktif dan di nukleus pada menit ke 6, 60, 210, 380, dan 480, tetapi secara eksklusif berada di sitoplasma pada 0, 120, 300, 410, dan 510 menit. (A – C, berdasarkan data dari A. Hoffmann et al., Science 298: 1241–1245, 2002, dan diadaptasi dari AY Ting dan D. Endy, Science 298: 1189–1190, 2002; D, dari DE Nelson et al., Science 306: 704–708, 2004. Semua dengan izin dari AAAS.)

Sejauh ini, kita telah membahas pensinyalan sel terutama pada hewan, dengan beberapa pengalihan menjadi ragi dan bakteri. Tetapi pensinyalan antar sel sama pentingnya bagi tumbuhan dan juga bagi hewan, meskipun mekanisme dan molekul yang digunakan pada dasarnya berbeda, seperti yang akan kita bahas selanjutnya.

## Ringkasan

*Beberapa jalur pensinyalan yang sangat penting dalam perkembangan hewan bergantung pada proteolisis untuk mengontrol*

aktivitas dan lokasi protein pengatur gen laten. Reseptor takik sendiri adalah protein pengatur gen laten, yang diaktifkan oleh pembelahan ketika Delta (atau ligan terkait) pada sel lain mengikatnya; ekor sitosol yang terbelah dari Takik bermigrasi ke dalam nukleus, di mana ia merangsang transkripsi Notch-responsif gen. Dalam jalur pensinyalan Wnt /  $\beta$ -katenin, sebaliknya, proteolisis dari protein pengatur gen laten  $\beta$ -katenin dihambat ketika protein Wnt yang disekresikan berikatan dengan protein reseptor Frizzled dan LRP; akibatnya,  $\beta$ -katenin terakumulasi dalam nukleus dan mengaktifkan transkripsi gen target Wnt.

Pensinyalan landak pada lalat bekerja seperti pensinyalan Wnt. Dengan tidak adanya sinyal, protein pengatur gen sitoplasma bifungsional, Ci, secara proteolitik dibelah untuk membentuk penekan transkripsi yang membuat gen target Landak dibungkam. Pengikatan Landak ke reseptornya (Ditambal dan iHog) menghambat pemrosesan proteolitik Ci; akibatnya, bentuk Ci yang lebih besar terakumulasi dalam nukleus dan mengaktifkan transkripsi gen responsif Landak. Dalam pensinyalan Notch, Wnt, dan Landak, sinyal ekstraseluler memicu peralihan dari represi transkripsi ke aktivasi transkripsi.

Pemberian sinyal melalui protein pengatur gen laten NF $\kappa$ B juga bergantung pada proteolisis. Protein NF $\kappa$ B biasanya ditahan dalam keadaan tidak aktif oleh penghambatan protein I $\kappa$ B dalam sitoplasma. Berbagai rangsangan ekstraseluler, termasuk sitokin proinflamasi, memicu fosforilasi dan ubiquitylation dari I $\kappa$ B, menandainya untuk degradasi; ini memungkinkan NF $\kappa$ B untuk berpindah ke nukleus dan mengaktifkan transkripsi gen targetnya. NF $\kappa$ B juga mengaktifkan transkripsi gen yang mengkode I $\kappa$ B $\alpha$ , menciptakan loop umpan balik negatif, yang dapat menghasilkan osilasi berkepanjangan dalam aktivitas NF $\kappa$ B dengan pensinyalan ekstraseluler berkelanjutan

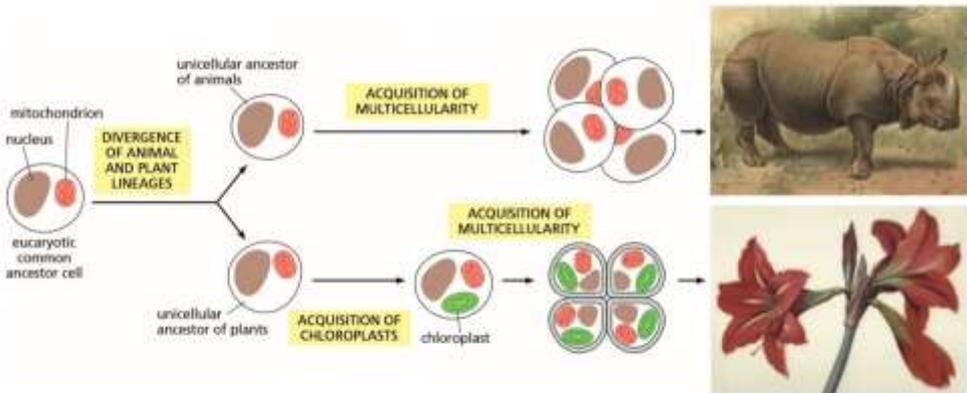
## **MEMBERI SINYAL PADA TANAMAN**

Pada tumbuhan, seperti pada hewan, sel-sel terus berkomunikasi satu sama lain. Sel tumbuhan berkomunikasi untuk mengoordinasikan aktivitasnya sebagai respons terhadap perubahan kondisi terang, gelap, dan suhu, yang memandu siklus pertumbuhan, pembungaan, dan pembuahan tumbuhan. Sel

tumbuhan juga berkomunikasi untuk mengoordinasikan aktivitas di akar, batang, dan daunnya. Di bagian terakhir ini, kami membahas bagaimana sel tumbuhan memberi sinyal satu sama lain dan bagaimana mereka menanggapi cahaya. Sedikit yang diketahui tentang reseptor dan mekanisme pensinyalan intraseluler yang terlibat dalam komunikasi sel pada tumbuhan daripada yang diketahui pada hewan, dan kami akan berkonsentrasi terutama pada bagaimana reseptor dan mekanisme berbeda dari yang digunakan oleh hewan.

### Multiseluleritas dan Komunikasi Sel Berkembang Secara Mandiri pada Tumbuhan dan Hewan

Meskipun tumbuhan dan hewan sama-sama eukariota, mereka telah berevolusi secara terpisah selama lebih dari satu miliar tahun. Nenek moyang terakhir mereka diperkirakan adalah eukariota uniseluler yang memiliki mitokondria tetapi tidak memiliki kloroplas; garis keturunan tumbuhan memperoleh kloroplas setelah tumbuhan dan hewan menyimpang. Fosil paling awal dari hewan dan tumbuhan multiseluler berasal dari hampir 600 juta tahun yang lalu. Jadi, tampaknya tumbuhan dan hewan berevolusi menjadi multiseluler secara independen, masing-masing dimulai dari eukariota uniseluler yang berbeda, sekitar 1,6 dan 0,6 miliar tahun yang lalu (**Gambar 81**).



**Gambar 81.** Perbedaan yang diusulkan dari garis keturunan tumbuhan dan hewan dari nenek moyang eukariotik uniseluler

**yang sama.** Garis keturunan tanaman memperoleh kloroplas setelah dua garis keturunan menyimpang. Kedua garis keturunan secara independen memunculkan organisme multiseluler tumbuhan dan hewan. (Lukisan milik John Innes Foundation.)

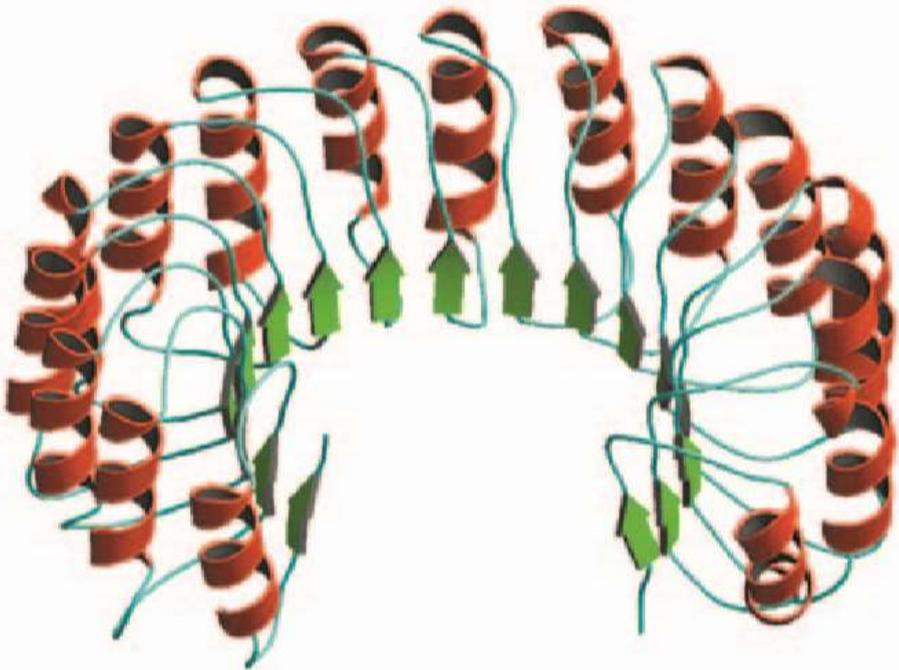
Jika multiseluleritas berevolusi secara independen pada tumbuhan dan hewan, molekul dan mekanisme yang digunakan untuk komunikasi sel akan berevolusi secara terpisah dan diharapkan berbeda. Akan tetapi, harus ada beberapa tingkat kemiripan, karena gen pada tumbuhan dan hewan berbeda dari gen yang dikandung oleh nenek moyang uniseluler terakhir mereka. Jadi, jika tumbuhan dan hewan menggunakan oksida nitrat, GMP siklik,  $Ca^{2+}$ , dan GTPases famili Rho untuk pensinyalan, tidak ada homolog dari famili reseptor inti, Ras, JAK, STAT, TGF $\beta$ , Notch, Wnt, atau Hedgehog yang dikodekan oleh genom *Arabidopsis thaliana* yang diurutkan secara lengkap, tanaman berbunga kecil. Demikian pula, tanaman tampaknya tidak menggunakan AMP siklik untuk pensinyalan intraseluler.

Banyak dari apa yang diketahui tentang mekanisme molekuler yang terlibat dalam pensinyalan pada tanaman berasal dari studi genetik pada *Arabidopsis*. Meskipun molekul spesifik yang digunakan dalam komunikasi sel pada tumbuhan sering berbeda dari yang digunakan pada hewan, strategi umumnya seringkali sangat mirip. Keduanya, misalnya, menggunakan reseptor permukaan sel yang digabungkan dengan enzim, seperti yang sekarang kita diskusikan

### **Reseptor Serine / Treonine Kinase Adalah Kelas Reseptor Permukaan Sel Terbesar di Tanaman**

Sementara sebagian besar reseptor permukaan sel pada hewan adalah G-protein-coupled (GPCRs), sebagian besar yang ditemukan sejauh ini pada tumbuhan adalah enzyme-coupled. Selain itu, kelas terbesar dari reseptor yang digabungkan dengan enzim pada hewan adalah kelas reseptor tirosin kinase (RTK), jenis reseptor ini sangat jarang pada tumbuhan. Tumbuhan, bagaimanapun, memiliki

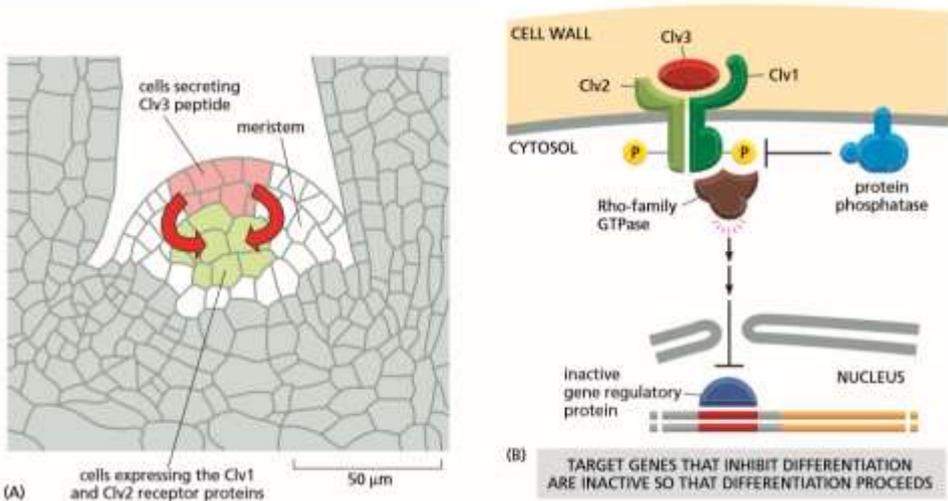
banyak kinase tirosin sitoplasma, dan fosforilasi tirosin dan defosforilasi memiliki peran penting dalam pensinyalan sel tumbuhan. Alih-alih RTK, tanaman sangat bergantung pada keragaman reseptor *transmembran serin / treonin kinase*. Meskipun sangat berbeda dari reseptor hewan yang sesuai dalam banyak hal, mereka mirip dengan yang memiliki domain sitoplasma serin / treonin kinase yang khas dan domain pengikat ligan ekstraseluler. Jenis yang paling melimpah dari reseptor ini memiliki susunan tandem pengulangan kaya leusin ekstraseluler (**Gambar 82**) dan karena itu disebut **reseptor kinase kaya leusin (LRR)**.



**Gambar 82 Struktur tiga dimensi pengulangan kaya leusin, mirip dengan yang ditemukan di kinase reseptor serin / treonin LRR.** Beberapa salinan dari pengulangan seperti itu hadir dalam domain ekstraseluler reseptor kinase LRR, di mana mereka berpartisipasi dalam mengikat molekul sinyal. (Atas kebaikan David Lawson.)

Ada sekitar 175 kinase reseptor LRR yang dikodekan oleh *genom Arabidopsis*. Salah satu yang paling berkarakteristik adalah kompleks reseptor *Clavata1/Clavata2 (Clv1/Clv2)*. Mutasi yang

menonaktifkan salah satu dari dua subunit reseptor menyebabkan produksi bunga dengan organ bunga ekstra dan pembesaran progresif dari pucuk dan meristem bunga, kelompok sel induk yang memperbaharui diri yang menghasilkan sel yang memunculkan batang, daun, dan bunga (dibahas di Bab 22). Molekul sinyal ekstraseluler yang mengikat reseptor dianggap protein kecil yang disebut *Clv3*, yang disekresikan oleh sel-sel tetangga. Pengikatan *Clv3* ke reseptor *Clv1/Clv2* menekan pertumbuhan meristem, baik dengan menghambat pembelahan sel di sana atau, lebih mungkin, dengan merangsang diferensiasi sel (**Gambar 83A**).



**Gambar 83. Model hipotetis tentang bagaimana *Clv3* dan reseptor *Clv1 / Clv2* mengatur proliferasi sel dan / atau diferensiasi dalam meristem pucuk.** (A) Sel di lapisan luar meristem (*merah muda*) mengeluarkan peptida *Clv3*, yang mengikat protein reseptor *Clv1/Clv2* pada sel target di daerah meristem yang berdekatan dan lebih sentral (*hijau*), merangsang diferensiasi sel target. (B) Beberapa bagian dari jalur pensinyalan intraseluler diaktifkan oleh pengikatan *Clv3*. Ketika diaktifkan oleh pengikatan *Clv3*, *Clv1* memfosforilasi protein reseptor pada serin dan treonin, dengan demikian mengaktifkan kompleks reseptor dan mengarah pada aktivasi GTPase keluarga Rho. Jalur pensinyalan setelah titik ini tidak jelas, tetapi mengarah pada penghambatan protein pengatur gen dalam nukleus yang disebut Wuschel. Karena Wuschel biasanya memblokir transkripsi gen yang diperlukan untuk

diferensiasi, penghambatan pensinyalan Clv3 memungkinkan diferensiasi berlanjut. Protein fosfatase mendefosforilasi protein reseptor dan dengan demikian secara negatif mengatur jalur pensinyalan.

Jalur pensinyalan intraseluler dari reseptor Clv1/Clv2 ke respon sel sebagian besar tidak diketahui, tetapi termasuk protein fosfatase serin / treonin yang menghambat pensinyalan. Protein pensinyalan lainnya di jalur tersebut termasuk keluarga Rho GTPase dan protein pengatur gen nuklir yang terkait jauh dengan protein homeodomain hewan. Mutasi yang menonaktifkan protein pengatur gen ini memiliki efek berlawanan dari yang menonaktifkan reseptor Clv1/Clv2: pembelahan sel sangat menurun di meristem pucuk, dan tanaman menghasilkan bunga dengan organ yang terlalu sedikit. Dengan demikian, jalur pensinyalan intraseluler yang diaktifkan oleh reseptor Clv1/Clv2 tampaknya merangsang diferensiasi sel dengan menghambat protein pengatur gen yang biasanya menghambat diferensiasi sel (Gambar 83B).

Kinase reseptor LRR yang berbeda di *Arabidopsis*, disebut *Bri1*, adalah bagian dari reseptor hormon steroid permukaan sel. Tanaman mensintesis kelas steroid yang disebut **brassinosteroid** karena mereka awalnya diidentifikasi dalam keluarga mustard Brassicaceae, yang mencakup *Arabidopsis*. Molekul sinyal tumbuhan ini mengatur pertumbuhan dan diferensiasi tumbuhan sepanjang siklus hidupnya. Pengikatan brassinosteroid ke reseptor kinase permukaan sel *Bri1* memulai kaskade pensinyalan yang menggunakan protein kinase GSK3 dan protein fosfatase untuk mengatur fosforilasi dan degradasi protein pengatur gen spesifik dalam nukleus, dan dengan demikian transkripsi gen spesifik. Tanaman mutan yang kekurangan reseptor kinase *Bri1* tidak sensitif terhadap brassinosteroid dan oleh karena itu tanaman kerdil.

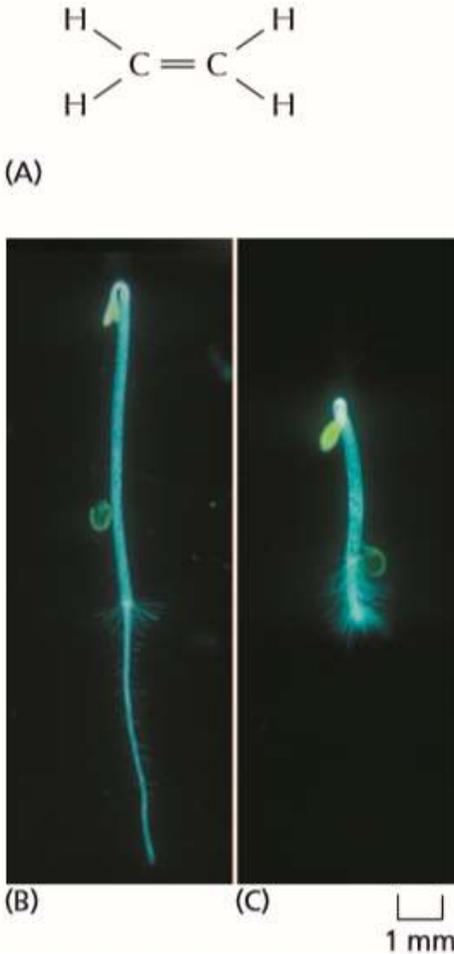
Kinase reseptor LRR hanyalah salah satu dari banyak kelas reseptor transmembran serin/treonin kinase pada tumbuhan. Setidaknya ada enam keluarga tambahan, masing-masing dengan kumpulan domain ekstraseluler yang khas. *Kinase reseptor lektin*, misalnya, memiliki domain ekstraseluler yang mengikat molekul

sinyal karbohidrat. Genom *Arabidopsis* mengkode lebih dari 300 reseptor serine / treonine kinase, yang menjadikannya keluarga reseptor terbesar yang dikenal pada tumbuhan. Banyak yang terlibat dalam respons pertahanan melawan patogen.

## Ethylene Menghalangi Degradasi Protein Pengatur Gen Tertentu di Inti

Berbagai zat **pengatur pertumbuhan** (juga disebut **hormon tanaman**) membantu mengoordinasikan perkembangan tanaman. Mereka termasuk *etilen, auksin, sitokinin, giberelin, dan asam absisat, serta brassinosteroid*. Pengatur pertumbuhan adalah semua molekul kecil yang dibuat oleh sebagian besar sel tumbuhan. Mereka berdifusi dengan mudah melalui dinding sel dan dapat bertindak secara lokal atau diangkut untuk mempengaruhi sel lebih jauh. Setiap zat pengatur tumbuh dapat memiliki banyak efek. Efek spesifiknya bergantung pada kondisi lingkungan, status nutrisi tanaman, daya tanggap sel target, dan pengatur tumbuh lainnya yang bertindak.

**Etilen** adalah contoh penting. Molekul gas kecil ini (**Gambar 84A**) dapat mempengaruhi perkembangan tanaman dengan berbagai cara; dapat, misalnya, meningkatkan pematangan buah, absisi daun, dan penuaan tanaman. Ini juga berfungsi sebagai sinyal stres sebagai respons terhadap luka, infeksi, banjir, dan sebagainya. Ketika pucuk dari bibit yang sedang berkecambah, misalnya, menemui penghalang, seperti kerikil di bawah tanah di dalam tanah, bibit menanggapi pertemuan tersebut dengan tiga cara. Pertama, ia menebalkan batangnya, yang kemudian dapat memberikan lebih banyak tenaga pada rintangan. Kedua, melindungi ujung bidikan dengan meningkatkan kelengkungan struktur kait khusus. Ketiga, mengurangi kecenderungan menembak menjauh dari arah gravitasi, untuk menghindari rintangan. *Respons rangkap tiga* ini dikendalikan oleh **etilen (Gambar 84B dan C)**.



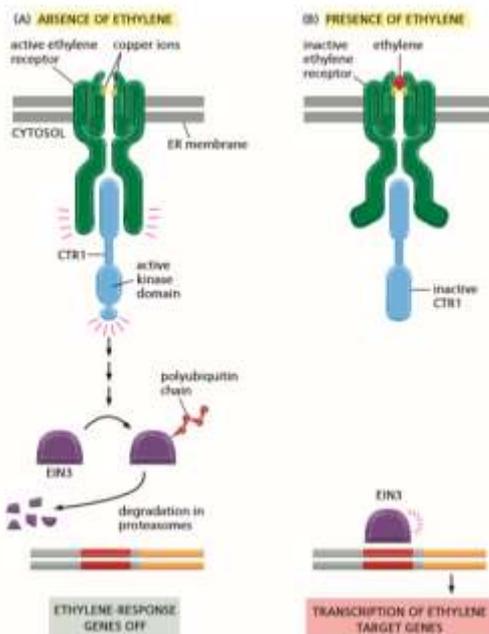
**Gambar 84.** Respons rangkap tiga yang dimediasi etilen yang terjadi saat tunas yang sedang tumbuh dari bibit yang berkecambah menemui penghalang di bawah tanah. (A) Struktur etilen. (B) Sebelum pertemuan, pucuk tumbuh ke atas dan panjang serta tipis. (C) Setelah pertarungan, pucuk menebal, dan kait pelindung (di atas) meningkatkan kelengkungannya untuk melindungi ujung bidikan. Tunas juga mengubah arah pertumbuhannya agar tumbuh di sekitar penghalang (tidak ditampilkan). (Atas kebaikan Melanie Webb.)

Tumbuhan memiliki berbagai reseptor etilen, yang terletak di retikulum endoplasma dan semuanya terkait secara struktural. Mereka adalah dimer, protein transmembran multipass, dengan domain pengikat etilen yang mengandung tembaga dan domain yang berinteraksi dengan protein yang disebut *CTR1*, yang terkait erat secara berurutan dengan Raf MAP kinase kinase kinase yang dibahas sebelumnya (lihat Gambar 60) . Fungsi *CTR1* dalam pensinyalan etilen bergantung pada aktivitas serin / treonin kinase dan asosiasi domain terminal-N dengan reseptor etilen. Anahnya, ini adalah reseptor kosong yang aktif dan membuat *CTR1* tetap aktif. Dengan mekanisme pensinyalan yang tidak diketahui, *CTR1* aktif menstimulasi di mana-mana dan degradasi di proteasom dari protein pengatur gen nuklir yang disebut *EIN3*, yang diperlukan

untuk transkripsi gen yang responsif terhadap etilen. Dengan cara ini, reseptor yang kosong tapi aktif dan CTR1 yang aktif menjaga agar gen respons etil tetap mati. Nama protein EIN didapat dari penemuan bahwa tanaman dengan mutasi yang tidak aktif pada gen yang mengkodekannya tidak sensitif terhadap etilen.

Pengikatan etilen menonaktifkan reseptor, mengubah konformasinya sehingga tidak lagi mengikat ke CTR1. Akibatnya, CTR1 dinonaktifkan, dan jalur pensinyalan hilir yang berasal darinya diblokir; protein EIN3 tidak lagi ada di mana-mana dan terdegradasi dan sekarang dapat mengaktifkan transkripsi sejumlah besar gen yang responsif terhadap etilen (**Gambar 85**).

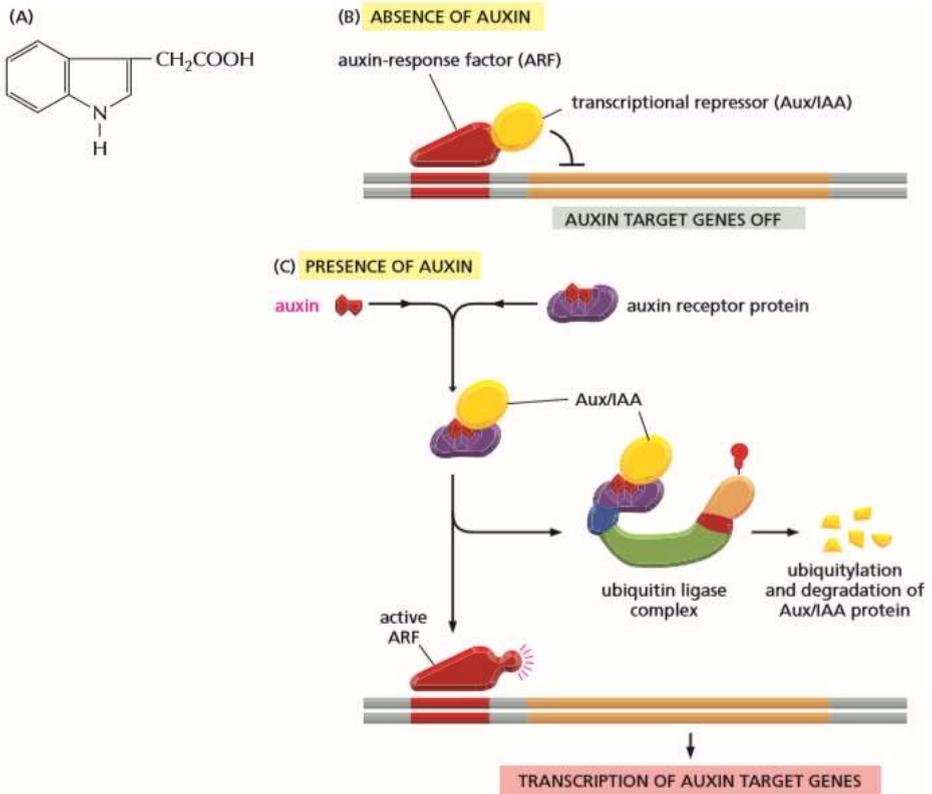
Sebuah strategi yang agak berbeda terlibat dalam regulasi gen responsif auksin. Selain itu, cara auksin mengontrol arah dan pola pertumbuhan tanaman tidak seperti mekanisme yang diamati pada hewan, seperti yang sekarang kita bahas.



**Gambar 85. Pandangan saat ini dari jalur pensinyalan etilen.** (A) Dengan tidak adanya etilen, baik reseptor maupun CTR1 aktif, menyebabkan terjadinya di mana-mana dan rusaknya protein EIN3, protein pengatur gen dalam nukleus yang bertanggung jawab untuk transkripsi gen yang responsif terhadap etilen. (B) Pengikatan etilen menonaktifkan reseptor dan mengganggu interaksi antara reseptor dan CTR1. Protein EIN3 tidak terdegradasi dan oleh karena itu dapat mengaktifkan transkripsi gen yang responsif terhadap etil.

## Pengaturan Posisi Pola Pengangkut Auksin Pertumbuhan Tanaman

Hormon **auksin** tumbuhan, yang umumnya asam indole-3-asetat (**Gambar 86A**), berikatan dengan protein reseptor di dalam nukleus. Ini membantu tanaman tumbuh menuju cahaya, tumbuh ke atas daripada bercabang, dan menumbuhkan akarnya ke bawah. Ini juga mengatur inisiasi dan posisi organ dan membantu tanaman berbunga dan berbuah. Seperti etilen, ia mempengaruhi ekspresi gen dengan mengendalikan degradasi protein pengatur gen di dalam nukleus, tetapi bukannya memblokir di mana-mana dan degradasi protein pengatur gen yang dibutuhkan untuk ekspresi gen yang responsif auksin, ia merangsang ubiquitylation dan degradasi protein penekan yang memblokir transkripsi gen ini dalam sel yang tidak distimulasi (**Gambar 86B dan C**).



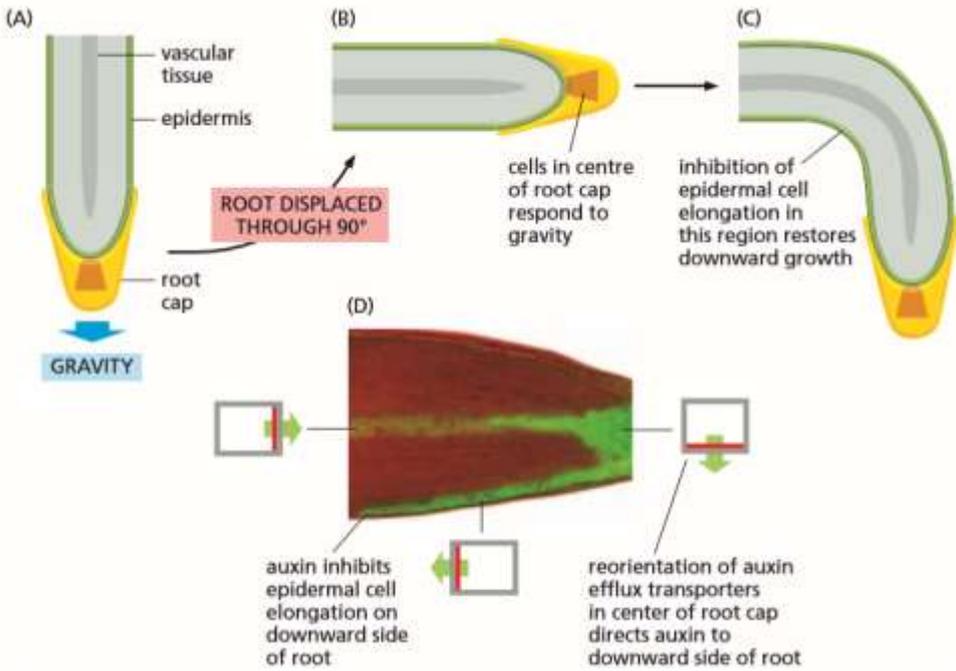
**Gambar 86. Jalur pensinyalan auksin.** (A) Struktur auksin indole-3-acetic acid. (B) Dengan tidak adanya auksin, protein penekan transkripsi (disebut Aux / IAA) mengikat dan menekan protein

pengatur gen (disebut faktor respons auksin, ARF), yang diperlukan untuk transkripsi gen responsif auksin. (C) Protein reseptor auksin terutama terletak di nukleus dan merupakan bagian dari kompleks ligase ubiquitin (tidak ditampilkan). Ketika diaktifkan oleh pengikatan auksin, kompleks reseptor-auksin merekrut kompleks ligase ubiquitin, yang mana-mana mengelompokkan protein Aux / IAA, menandainya untuk degradasi dalam proteasom. ARF sekarang bebas untuk mengaktifkan transkripsi gen responsif auksin. Ada banyak ARF, protein Aux / IAA, dan reseptor auksin yang bekerja seperti yang diilustrasikan.

Auksin unik dalam cara pengangkutannya. Tidak seperti hormon hewan, yang biasanya disekresikan oleh organ endokrin tertentu dan diangkut ke sel target melalui sistem peredaran darah, auksin memiliki sistem transpornya sendiri. *Protein pengangkut* masuk yang terikat membran plasma dan *protein pengangkut limbah* masing-masing memindahkan auksin masuk dan keluar dari sel tumbuhan. Keluarga gen yang berbeda mengkodekan pengangkut masuk dan pengangkut limbah, dan dua keluarga protein diatur secara independen. Pengangkut limbah terdiri dari *protein Pin*, dan sel dapat mendistribusikannya secara asimetris dalam membran plasma untuk membuat aliran auksin terarah. Sederet sel dengan transporter eflux auksinnya terbatas pada membran plasma basal, misalnya, akan mengangkut auksin dari atas tumbuhan ke bawah.

Di beberapa daerah pabrik, lokalisasi pengangkut auksin, dan oleh karena itu arah aliran auksin, sangat dinamis dan diatur. Sebuah sel dapat dengan cepat mendistribusikan transporter dengan mengendalikan lalu lintas vesikel yang mengandungnya. Pengangkut limbah auksin, misalnya, biasanya mendaur ulang antara vesikula intraseluler dan membran plasma. Sebuah sel dapat mendistribusikan kembali transporter ini di permukaannya dengan menghambat endositosisnya dalam satu domain membran plasma, menyebabkan transporter menumpuk di sana. Salah satu contoh terjadi di root, di mana gravitasi mempengaruhi arah pertumbuhan. Pengangkut limbah auksin didistribusikan secara normal secara simetris di sel-sel tutup akar. Dalam beberapa menit setelah terjadi

perubahan arah vektor gravitasi, bagaimanapun, pengangkut limbah mendistribusikan kembali ke satu sisi sel, sehingga auksin dipompa keluar menuju sisi akar mengarah ke bawah. Karena auksin menghambat pemanjangan sel akar, pengalihan transpor auksin ini menyebabkan ujung akar mengalami reorientasi, sehingga tumbuh ke bawah lagi (**Gambar 87**).



**Gambar 87. Transpor auksin dan gravitropisme akar.** (A – C) Akar merespons perubahan  $90^\circ$  dalam vektor gravitasi dan menyesuaikan arah pertumbuhannya sehingga tumbuh ke bawah lagi. Sel-sel yang merespons gravitasi berada di tengah tutup akar, sedangkan sel-sel epidermis yang berada jauh di belakang (di sisi bawah) yang menurunkan laju perpanjangannya untuk memulihkan pertumbuhan ke bawah. (D) Sel-sel yang responsif terhadap gravitasi di tutup akar mendistribusikan kembali pengangkut limbah auksinnya sebagai respons terhadap perpindahan akar. Ini mengalihkan aliran auksin terutama ke bagian bawah akar yang dipindahkan, di mana ia menghambat pemanjangan sel-sel epidermis. Distribusi auksin asimetris yang dihasilkan di ujung akar Arabidopsis yang ditunjukkan di sini dinilai secara tidak langsung, menggunakan gen reporter responsif auksin yang mengkode protein

yang menyatu dengan protein fluoresen hijau (GFP); sel-sel epidermis di sisi bawah akar berwarna hijau, sedangkan di sisi atas tidak, mencerminkan distribusi auksin yang asimetris. Distribusi pengangkut limbah auksin dalam membran plasma sel di berbagai daerah akar (ditunjukkan sebagai persegi panjang abu-abu) ditunjukkan dengan warna merah, dan arah keluarnya auksin ditunjukkan dengan panah hijau. (Foto fluoresensi di D berasal dari T. Paciorek dkk., Nature 435: 1251–1256, 2005. Dengan izin dari Macmillan Publishers Ltd.)

Dalam meristem apikal pucuk, distribusi pengangkut limbah auksin juga dinamis dan diatur. Di sini, pengangkutan terarah auksin membantu menentukan susunan teratur daun dan bunga (lihat Gambar 22–122).

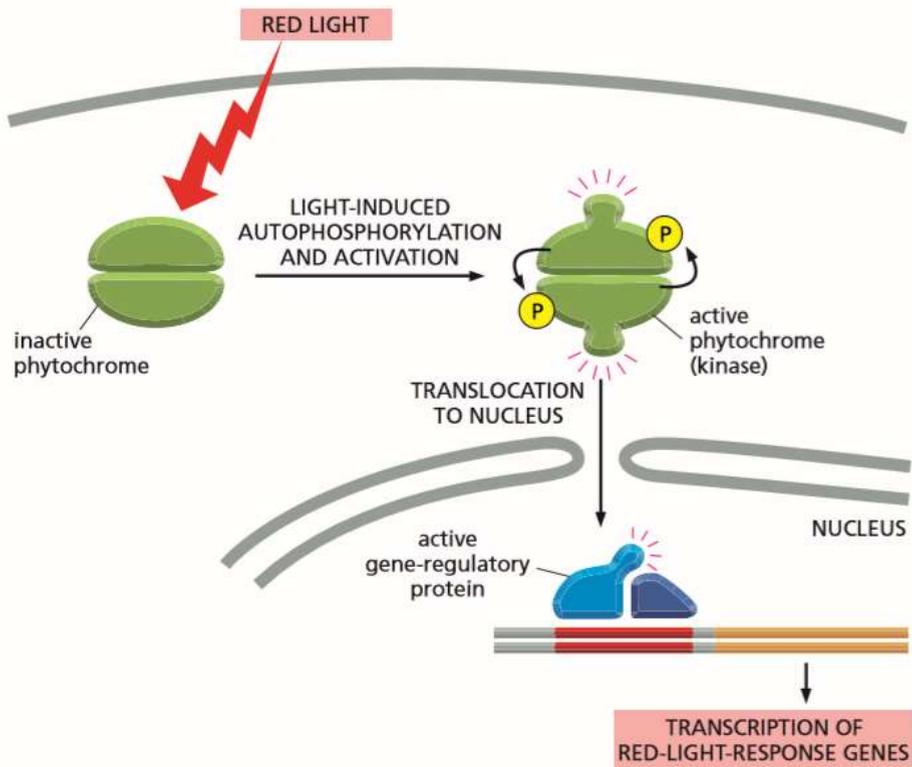
### **Phytochromes Mendeteksi Cahaya Merah, dan Cryptochromes Mendeteksi Cahaya Biru**

Perkembangan tanaman sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan. Tidak seperti hewan, tumbuhan tidak dapat bergerak ketika kondisi menjadi tidak menguntungkan; mereka harus beradaptasi atau mati. Pengaruh lingkungan yang paling penting pada tanaman adalah cahaya, yang merupakan sumber energi mereka dan memiliki peran utama di sepanjang siklus hidupnya mulai dari perkecambahan, perkembangan bibit, hingga pembungaan dan penuaan. Tumbuhan dengan demikian telah mengembangkan sekumpulan besar protein peka cahaya untuk memantau kuantitas, kualitas, arah, dan durasi cahaya. Ini biasanya disebut sebagai *fotoreseptor*. Namun, karena istilah fotoreseptor juga digunakan untuk sel peka cahaya di retina hewan (lihat Gambar 48), kita akan menggunakan istilah *fotoprotein* sebagai gantinya.

Semua fotoprotein merasakan cahaya dengan menggunakan kromofor penyerap cahaya yang terpasang secara kovalen, yang mengubah bentuknya sebagai respons terhadap cahaya dan kemudian menyebabkan perubahan pada konformasi protein.

Photoprotein tumbuhan yang paling terkenal adalah **fitokrom**, yang ada di semua tumbuhan dan di beberapa alga tetapi tidak ada pada hewan. Ini adalah dimerik, sitoplasma serin / treonin kinase, yang merespon secara berbeda dan reversibel terhadap cahaya merah dan jauh-merah: sedangkan lampu merah biasanya mengaktifkan aktivitas kinase dari fitokrom, cahaya merah jauh menonaktifkannya. Ketika diaktifkan oleh cahaya merah, fitokrom diperkirakan memfosforilasi dirinya sendiri dan kemudian memfosforilasi satu atau lebih protein lain di dalam sel. Dalam beberapa respon cahaya, fitokrom yang diaktifkan berpindah ke nukleus, di mana ia mengaktifkan protein pengatur gen untuk mengubah transkripsi gen (**Gambar 88**). Dalam kasus lain, fitokrom yang diaktifkan mengaktifkan protein pengatur gen laten di sitoplasma, yang kemudian berpindah ke nukleus untuk mengatur transkripsi gen. Dalam kasus lain, photoprotein memicu jalur sinyal di sitosol yang mengubah perilaku sel tanpa melibatkan nukleus.

Tumbuhan merasakan cahaya biru menggunakan fotoprotein dari dua jenis lainnya, fototropin dan kriptokrom. **Fototropin** dikaitkan dengan membran plasma dan sebagian bertanggung jawab atas fototropisme, kecenderungan tanaman untuk tumbuh ke arah cahaya. Fototropisme terjadi dengan pemanjangan sel terarah, yang dirangsang oleh auksin, tetapi hubungan antara fototropin dan auksin tidak diketahui.



**Gambar 88.** Pandangan saat ini tentang salah satu cara di mana fitokrom memediasi respons cahaya dalam sel tumbuhan. Ketika diaktifkan oleh lampu merah, fitokrom, yang merupakan protein kinase dimer, memfosforilasi dirinya sendiri dan kemudian bergerak ke dalam nukleus, di mana ia mengaktifkan protein pengatur gen untuk merangsang transkripsi gen yang responsif terhadap cahaya merah.

**Cryptochromes** adalah flavoprotein yang sensitif terhadap cahaya biru. Mereka secara struktural terkait dengan enzim peka cahaya biru yang disebut photolyases, yang terlibat dalam perbaikan kerusakan DNA yang diinduksi ultraviolet di semua organisme, kecuali kebanyakan mamalia. Tidak seperti fitokrom, kriptokrom juga ditemukan pada hewan, di mana mereka memiliki peran penting dalam jam sirkadian, yang beroperasi di sebagian besar sel dan siklus dengan ritme 24 jam. Meskipun cryptochrom dianggap telah berevolusi dari photolyases, mereka tidak memiliki peran dalam perbaikan DNA.

Dalam bab ini, kita telah membahas bagaimana sinyal ekstraseluler mempengaruhi perilaku sel. Salah satu target intraseluler yang penting dari sinyal-sinyal ini adalah sitoskeleton, yang menentukan bentuk sel dan bertanggung jawab atas pergerakan sel, seperti yang akan kita bahas di bab berikutnya.

## Ringkasan

*Tumbuhan dan hewan dianggap telah mengembangkan multiseluleritas dan mekanisme komunikasi sel secara independen, masing-masing dimulai dari eukariota uniseluler yang berbeda, yang kemudian berevolusi dari nenek moyang eukariotik uniseluler yang sama. Oleh karena itu, tidak mengherankan jika mekanisme yang digunakan untuk memberi sinyal antara sel pada hewan dan tumbuhan memiliki persamaan dan perbedaan. Sedangkan hewan bergantung terutama pada GPCR, misalnya, tumbuhan bergantung terutama pada reseptor yang digabungkan dengan enzim dari tipe reseptor serin / treonin kinase, terutama yang dengan pengulangan kaya leusin ekstraseluler. Berbagai hormon tumbuhan, atau pengatur pertumbuhan, termasuk etilen dan auksin, membantu mengoordinasikan pengembangan tanaman. Etilen bekerja melalui reseptor intraseluler untuk menghentikan degradasi protein pengatur gen nuklir tertentu, yang kemudian dapat mengaktifkan transkripsi gen yang responsif terhadap etilen. Reseptor untuk beberapa hormon tumbuhan lain, termasuk auksin, juga mengatur degradasi protein pengatur gen tertentu, meskipun rinciannya bervariasi. Pensinyalan auksin tidak biasa karena ia memiliki sistem transpornya sendiri yang sangat diatur, di mana posisi dinamis transporter auksin terikat-membran plasma mengontrol arah aliran auksin dan dengan demikian arah pertumbuhan tanaman. Cahaya memiliki peran penting dalam mengatur perkembangan tanaman. Respon cahaya ini dimediasi oleh berbagai photoprotein peka cahaya, termasuk fitokrom, yang responsif terhadap cahaya merah, dan kriptokrom dan fototropin, yang peka terhadap cahaya biru.*

Pertanyaan :

1. Jelaskan konsep komunikasi sel ?
2. Jelaskan macam-macam komunikasi sel ?
3. Jelaskan macam-macam reseptor sel ?
4. Jelaskan perbedaan molekul sinyal hidrofobik dan hidrofilik ?
5. Jelaskan second messenger pada komunikasi sel ?

## REFERENSI

1. Core LJ, Waterfall JJ, Gilchrist DA, et al. Defining the status of RNA polymerase at promoters. *Cell Rep.* 2012;2(4):1025–1035. doi: 10.1016/j.celrep.2012.08.034. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
2. Crick FH. On protein synthesis. *Symp Soc Exp Biol.* 1958;12:138–163. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
3. Crick F. Central dogma of molecular biology. *Nature.* 1970;227(5258):561–563. doi: 10.1038/227561a0. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
4. Davis R, Shi Y. The polyadenylation code: a unified model for the regulation of mRNA alternative polyadenylation. *J Zhejiang Univ-Sci B (Biomed & Biotechnol)* 2014;15(5):429–437. doi: 10.1631/jzus.B1400076. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
5. Guertin MJ, Lis JT. Mechanisms by which transcription factors gain access to target sequence elements in chromatin. *Curr Opin Genet Dev.* 2013;23(2):116–123. doi: 10.1016/j.gde.2012.11.008. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
6. Guo J, Garrett M, Micklem G, et al. Poly(A) signals located near the 5' end of genes are silenced by a general mechanism that prevents premature 3'-end processing. *Mol Cell Biol.* 2011;31(4):639–651. doi: 10.1128/MCB.00919-10. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
7. Guo J, Price DH. RNA polymerase II transcription elongation control. *Chem Rev.* 2013;113(11):8583–8603. doi: 10.1021/cr400105n. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
8. Houseley J, Tollervey D. The many pathways of RNA degradation. *Cell.* 2009;136(4):763–776. doi: 10.1016/j.cell.2009.01.019. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
9. Kornberg RD. The molecular basis of eukaryotic transcription. *PNAS.* 2007;104(32):12955–12961. doi: 10.1073/pnas.0704138104. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

10. Kwak H, Fuda NJ, Core LJ, et al. Precise maps of RNA polymerase reveal how promoters direct initiation and pausing. *Science*. 2013;339(6122):950–953. doi: 10.1126/science.1229386. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
11. Lee TI, Young RA. Transcriptional regulation and its misregulation in disease. *Cell*. 2013;152(6):1237–1251. doi: 10.1016/j.cell.2013.02.014. [[PMC free article](#)][[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
12. Liu H, Luo M, Wen JK. mRNA stability in the nucleus. *J Zhejiang Univ-Sci B (Biomed & Biotechnol)* 2014;15(5):444–454. doi: 10.1631/jzus.B1400088.[[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
13. Liu RD, Wu J, Shao R, et al. Mechanism and factors that control HIV-1 transcription and latency activation. *J Zhejiang Univ-Sci B (Biomed & Biotechnol)* 2014;15(5):455–465. doi: 10.1631/jzus.B1400059. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
14. Ma RG, Zhang Y, Sun TT, et al. Epigenetic regulation by polycomb group complexes: focus on roles of CBX proteins. *J Zhejiang Univ-Sci B (Biomed & Biotechnol)* 2014;15(5):412–428. doi: 10.1631/jzus.B1400077. [[PMC free article](#)][[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
15. Mayr C, Bartel DP. Widespread shortening of 3'UTRs by alternative cleavage and polyadenylation activates oncogenes in cancer cells. *Cell*. 2009;138(4):673–684. doi: 10.1016/j.cell.2009.06.016. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
16. Proudfoot N. Poly(A) signals. *Cell*. 1991;64(4):671–674. doi: 10.1016/0092-8674(91)90495-K. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
17. Richard P, Manley JL. Transcription termination by nuclear RNA polymerases. *Genes Dev*. 2009;23(11):1247–1269. doi: 10.1101/gad.1792809. [[PMC free article](#)][[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

18. Shatkin AJ. Capping of eucaryotic mRNAs. *Cell*. 1976;9(4):645–653. doi: 10.1016/0092-8674(76)90128-8. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
19. Tian B, Manley JL. Alternative cleavage and polyadenylation: the long and short of it. *Trends Biochem Sci*. 2013;38(6):312–320. doi: 10.1016/j.tibs.2013.03.005. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
20. Young RA. Control of the embryonic stem cell state. *Cell*. 2011;144(6):940–954. doi: 10.1016/j.cell.2011.01.032. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
21. Zhai LT, Xiang S. mRNA quality control at the 5' end. *J Zhejiang Univ-Sci B (Biomed & Biotechnol)* 2014;15(5):438–443. doi: 10.1631/jzus.B1400070. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
22. Zhou Q, Li T, Price DH. RNA polymerase II elongation control. *Annu Rev Biochem*. 2012;81(1):119–143. doi: 10.1146/annurev-biochem-052610-095910. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]