

Інститут біохімії імені О.В. Палладіна НАН України

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор Інституту
академік НАН України

Сергій КОМІСАРЕНКО

« 9 » листопада 2024 року



РОБОЧА ПРОГРАМА НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ

Сигнальні механізми регулювання клітинних процесів

Галузь знань: 09 Біологія

Спеціальність: 091 Біологія та біохімія

Освітньо-наукова програма: Біологія та біохімія

Освітній рівень: доктор філософії (PhD)

Шифр за ОНП: ДВА1.2

Робоча програма навчальної дисципліни «Сигнальні механізми регулювання клітинних процесів» для здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії (третього освітньо-наукового рівня) за спеціальністю 091 Біологія та біохімія „29” листопада 2024 року, 25 с.

Розробник(и):

Дробот Л.Б. – професор, доктор біологічних наук

Бабіч Л.Г. – старший науковий співробітник, доктор біологічних наук

Данилович Ю.В. – старший науковий співробітник, доктор біологічних наук

Робочу програму навчальної дисципліни «Сигнальні механізми регулювання клітинних процесів» затверджено на засіданні Вченої ради Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України.

Протокол № .8... від «29» листопада 2024 року

Директор Інституту
біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України
академік НАН України

 Сергій КОМІСАРЕНКО

«29» листопада 2024 року



1. Опис навчальної дисципліни

Найменування показників	Галузь знань, напрям підготовки, освітньо-кваліфікаційний рівень	Характеристика навчальної дисципліни	
		денна форма навчання	заочна форма навчання
Кількість кредитів – 4	Галузь знань 09 Біологія (шифр і назва)	вибіркова	
Модулів – 1	Спеціальність (професійне спрямування): 091 – Біологія та біохімія	Рік підготовки:	
Змістових модулів – 3		1-й	-й
Індивідуальне науково-дослідне завдання _____		Семестр	
(назва)		2-й	-й
Загальна кількість годин - 120	Освітньо-кваліфікаційний рівень: третій (доктор філософії)	Лекції	
Розподіл годин для денної форми навчання: аудиторних – 54 самостійної роботи аспіранта - 66		42 год.	год.
		Практичні, семінарські	
		12 год.	год.
		Лабораторні	
		Самостійна робота	
		66 год.	год.
	Консультації: 0		
Вид контролю: Залік			

2. Мета та завдання навчальної дисципліни

Мета

Однією із властивостей, спільних для всіх живих організмів, є їх динамічна здатність до постійної координації власної діяльності відповідно до змін у навколишньому середовищі і свого внутрішнього стану, що забезпечується функціонуванням шляхів трансмембранного перетворення і внутрішньоклітинного проведення регуляторних сигналів (сигнальних шляхів). Від мембранних рецепторних протеїнів бактеріальні клітини постійно отримують інформацію щодо зміни рН, осмотичного тиску, наявності поживних речовин, кисню, світла, шкідливих речовин, хижаків чи конкурентів за їжу. Ці сигнали зумовлюють відповідні реакції, наприклад, рух у напрямі до поживи чи в протилежному напрямі від токсичних речовин, або ж формування спор за умов, коли нема поживних речовин. У багатоклітинних організмах клітини з різними функціями постійно обмінюються величезною кількістю найрізноманітніших сигналів. Наприклад, рослинні клітини реагують на гормони росту і зміну освітлення, тваринні клітини обмінюються інформацією щодо концентрації йонів і глюкози в позаклітинних рідинах, щодо взаємозалежних метаболічних процесів, які відбуваються у різних тканинах, позаклітинні регуляторні сполуки контролюють такі складні системні відповіді тваринних клітин як проліферація, диференціювання, апоптоз, запалення і ін. У всіх цих випадках сигнали – це

інформація, яку сприймають специфічні рецептори й перетворюють у клітинну відповідь, що завжди включає хімічні процеси. Хоча існує велика кількість різноманітних біологічних сигналів, як і біологічних відповідей на них, однак живі організми використовують лише декілька еволюційно консервативних механізмів для розпізнавання позаклітинних сигналів та трансдукції їх у внутрішньоклітинні зміни. До недавнього часу вважалось, що передача окремих сигналів від мембранних рецепторів вглиб клітини відбувається шляхом низки взаємодій між сигнальними протеїнами та іншими молекулами сигнального шляху. Однак величезний об'єм інформації стосовно численних нових учасників сигнальних систем, що поставляється структурною геномікою, призвів до якісного перегляду звичних і дуже часто спрощених уявлень в галузі клітинної біології. Виявилось, що регуляторні протеїни сконструйовані, переважно, у вигляді касет доменів, що опосередковують протеїно-протеїнові (-ліпідні, -нуклеїнові) взаємодії або володіють ензиматичною активністю. Завдяки значним успіхам, які були досягнуті протягом останніх років у з'ясуванні модульної організації сигнальних протеїнів та в розшифруванні механізмів міжмолекулярних взаємодій, відповідальних за збирання сигнальних молекул в окремі біохімічні шляхи, стало зрозумілим, що здатність клітин регулювати просторово розділені функції обумовлена організацією сигнальних шляхів в мережі. Встановлено, що провідну роль у просторовому розмежуванні сигналювання відіграють адаптерні та рибозомальні (scaffold) протеїни, які забезпечують одночасно збирання надмолекулярних комплексів сигнальних протеїнів і взаємодії з елементами клітинних структур, таких як цитоскелет і ін. Результати цих робіт однозначно показали, що порушення сигнальних механізмів клітини є однією з головних молекулярних подій в етіології і патогенезі багатьох захворювань людини.

У цьому курсі на окремих прикладах буде представлено інформацію стосовно модульної організації сигнальних протеїнів, структурно-функціональної організації найпоширеніших доменів в геномі вищих еукаріот, найбільших класів сигнальних механізмів та проаналізовано, як вони інтегруються у специфічні біологічні функції, такі як відповіді на гормони і фактори росту, передавання нервових сигналів, сприйняття світла, запаху та смаку, контроль клітинного циклу. Будуть детально описані типи рецепторів, механізми спряження рецепторів з ефекторними молекулами, що продукують вторинні посередники, механізми утворення і функції самих посередників. Будуть представлені дані стосовно ролі каскадних процесів фосфорилування-дефосфорилування сигнальних протеїнів у регулюванні життєдіяльності клітин (проліферації, диференціювання, секреції, агрегації, росту і руху, збудження, хемо- та фоторецепції. Особливу увагу буде приділено питанням еволюційної консервативності фундаментальних механізмів трансдукції біологічних сигналів. Курс включає також ознайомлення з сучасними методами та апаратурою, що використовуються для вивчення клітинного сигналювання.

В структурно-логічній схемі підготовки фахівців навчальна дисципліна «Сигнальні механізми регулювання клітинних процесів» є базовою складовою освітньо-наукової програми підготовки фахівців за третім рівнем вищої освіти, спеціальність 091 – Біологія і біохімія. Вона передуює викладу інших дисциплін, оскільки формує розуміння структурно-функціональної інтегрованості регуляторних та метаболічних процесів в різних тканинах та універсальність принципів їх регулювання.

У зв'язку зі сказаним основною метою курсу «Сигнальні механізми регулювання клітинних процесів» є отримання аспірантами фундаментальних знань і

сучасних уявлень про механізми керування клітинними функціями і окремими метаболічними процесами в клітині.

Завдання

1) закласти міцні підвалини знань стосовно мережевої організації регуляторних процесів у живих клітинах, що забезпечує їх здатність до інтеграції і консолідації величезної кількості регуляторних сигналів, специфічність, ефективність і інтенсивність сигналювання.

2) дати аспірантам уявлення про найбільші класи сигнальних механізмів та способів їх інтеграції у специфічні біологічні функції клітин, перспективи розвитку досліджень у даній галузі.

3) засвоїти теоретичні основи методів, що широко використовуються для вивчення сигнальних процесів у клітинах.

Знати, вміти:

Аспіранти повинні:

- володіти сучасними уявленнями стосовно мережевої організації сигнальних процесів у клітинах;
- володіти знаннями стосовно структурно-функціональної організації найрозповсюдженіших протейнових доменів та їх ролі у міжмолекулярних взаємодіях;
- знати основні класи рецепторних систем та механізми трансмембранного перетворення регуляторних сигналів.
- володіти сучасними уявленнями стосовно ролі високоафінних GTPаз у переносі сигналу від рецепторів до ефекторних систем клітини;
- знати будову та механізми функціонування основних ефекторних ланок сигнальних мереж клітин, пов'язаних із синтезом вторинних посередників;
- знати роль основних сигнальних шляхів еукаріотичних клітин у регулюванні диференційної експресії генів і, як наслідок, системних біологічних відповідей клітин (проліферації, диференціювання, апоптозу і ін.);
- знати механізми перетворення регуляторних сигналів за участі ядерних рецепторів стероїдних гормонів, тиреоїдів, ретиноїдів та вітаміну D3;
- володіти сучасними уявленнями стосовно стратегії розробки фармакологічних препаратів, скерованих на конкретні сигнальні мішені клітин;
- познайомитися з методами досліджень, що використовуються сучасною наукою для вивчення сигнальних процесів у клітинах.

Зв'язок з іншими дисциплінами

Навчальна дисципліна «Сигнальні механізми регулювання клітинних процесів» є складовою освітньо-наукової програми підготовки фахівців за третім рівнем вищої освіти «Доктор філософії» за спеціальністю 091 – Біологія і біохімія й нерозривно пов'язана із подальшим викладом таких дисциплін як «Молекулярно-генетичні основи регуляції метаболізму», «Кінетика та енергетика біохімічних процесів», «Біохімічні засади функціонування живих систем», «Молекулярна імунологія», «Системна регуляція гомеостазу», «Сучасні методи в біохімії та клітинній біології», «Біотехнологія», «Біобезпека та біоетика як умова інтеграції до світової наукової спільноти».

3. Програма навчальної дисципліни

Змістовий модуль 1: «Сигнальні механізми клітини»

Тема 1. Сучасні уявлення про механізми формування клітинної відповіді на зовнішні впливи, внесок Лауреатів Нобелівської премії з фізіології та медицини у формування нової парадигми клітинного сигналювання. Мережева організація сигнальних процесів у клітині.

Системи міжклітинного контролю метаболічних процесів: неспеціалізований міжклітинний контроль, рівні і форми спеціалізованого контролю. Основні стратегії хімічного сигналювання: локальні хімічні медіатори, гормони, нейромедіатори, Позаклітинні везикули, внесок Лауреатів Нобелівської премії з фізіології та медицини за 1986 р. Стенлі Коена та Ріти Леві-Монтальчіні та за 2000 р. Арвіда Карлссона, Пола Грінгарда та Еріка Кендела. Класифікація сигнальних сполук за їх хімічною природою. Залежність між їх хімічною будовою та біологічною активністю. Структура лігандів і основні типи рецепторів.

Принципи модульної організації сигнальних протеїнів: роль у побудові і функціонуванні сигнальних мереж. Структурно-функціональна організація найрозповсюдженіших протеїнових доменів та їх роль у міжмолекулярних взаємодіях: Src-гомологічні домени типів 2 і 3 (SH2, SH3); фосфотирозинзв'язувальні домени (PTB); домени, що опосередковують взаємодію з фосфоінозидами біологічних мембран (PH, PX, FERM, ENTH, FYVE).

Визначення, основні принципи будови адаптерних, риштувальних та якірних протеїнів; механізми регулювання їх активності (внутрішньомолекулярні взаємодії, пост-трансляційні модифікації, олігомеризація, альтернативний сплайсинг, обмежений протеоліз); роль у функціонуванні сигнальних мереж клітин.

Тема 2. Серпентинні рецептори, що опосередковують свою дію через GTP-зв'язувальні протеїни.

Історія вивчення структурно-функціональної організації рецепторів, спряжених із G-протеїнами (G Proteins Coupled Receptors, GPCR; серпентинні рецептори). Загальна будова та мембранна топологія серпентинних рецепторів. Основні родини надродини серпентинних рецепторів. Методичні підходи, що використовуються для вивчення функціональних доменів рецепторів надродини GPCR. Локалізація і будова ліганд-зв'язувального центру. Центр зв'язування із G-протеїнами. Молекулярні механізми регулювання активності рецепторів, спряжених із G-протеїнами. Десенситизація рецепторів. Активація сигнальних шляхів за участі серпентинних рецепторів.

Тема 3. Надродина високоафінних GTPаз. Гетеротримерні GTP-зв'язувальні протеїни.

Загальна характеристика та історія вивчення високоафінних GTPаз, внесок Лауреатів Нобелівської премії з фізіології та медицини за 1994 р. Альфреда Джилмана та Мартіна Родбелла. Класифікація високоафінних GTPаз. GTPазний цикл. Гетеротримерні G-протеїни: структурно-функціональна організація окремих субодиниць (α , β , γ). Центри взаємодії $G\alpha$ з $G\beta\gamma$ і рецепторами. Взаємодії між рецептором і $G\alpha\beta\gamma$. Активація гетеротримерних G-протеїнів: механізми GDP/GTP-обміну, дисоціації гетеротримеру та активації ефекторних ланок. Механізми регулювання GTPазної активності гетеротримерних G-протеїнів: RGS протеїни (regulators for G-protein signaling - регулятори сигналювання, залежного від G-протеїнів). Бактерійні токсини (холерний, кашлючний, дифтерійний, С3 ботулінічний) – молекулярні інструменти для вивчення механізмів функціонування G-протеїнів та патогенетичні чинники розвитку низки захворювань

людини.

Тема 4. Аденілілциклаза – одна з основних ефекторних ланок для серпентинних рецепторів.

Ефекторні молекули регулюються за участі різних $G\alpha$ та $G\beta\gamma$ субодиниць гетеротримерних G-протеїнів. Історія відкриття та вивчення функцій cAMP. Особливості структурної організації та топологія аденілілциклаз у мембрані. Роль димеризації молекул аденілілциклаз у формуванні функціонального активного центру, молекулярні механізми каталітичного акту. Ізоформи аденілілциклаз та особливості регулювання їх активності. Спряження аденілілциклази з активувальними та інгібувальними рецепторами. Природні інгібітори аденілілциклази. Механізми гомологічної та гетерологічної десенситизації аденілілциклазної системи. cAMP-залежні сигнальні шляхи. Роль АКАР протеїнів (AKAPs – A-kinase anchoring proteins) у просторовій компарменталізації cAMP-залежних процесів.

Тема 5. Рецепторні тирозинові протеїнкінази (РТК) та рецепторні фосфотирозинові протеїнофосфатази

Фосфорилування протеїнів по множинних центрах – ключові події в регулюванні клітинних функцій. Класифікація рецепторних тирозинових протеїнкіназ, загальна модель будови, мембранна топологія та структурна організація основних підкласів. Механізми трансмембранного перетворення регуляторного сигналу. Роль процесів димеризації/олігомеризації рецепторних тирозинових кіназ в їх активуванні. Адаптерні протеїни, залучені до сигналювання, залежного від РТК (приклади організації сигнальних шляхів за участю адаптерів). Ампліфікація сигналювання, залежного від рецепторних тирозинових кіназ; MAP-кіназні сигнальні шляхи, PI3-K/Akt/mTOR сигнальний шлях.

Класифікація та модульна організація фосфотирозинових фосфатаз (PTPs). Методичні підходи, що використовуються для ідентифікації та з'ясування біологічної ролі субстратів фосфотирозинових фосфатаз. PTPs залучені до активування і інактивування рецепторних тирозинових кіназ. Роль взаємодії рецепторних PTPs з молекулами клітинної адгезії для перетворення сигналу і контролю міжклітинної адгезії; взаємодії рецепторних PTPs з цитоплазматичними протеїновими комплексами у забезпеченні локалізації фосфатаз поблизу субстратів. Протеїнофосфатази з подвійною специфічністю, що дефосфорилують MAPKs, їх фізіологічні функції.

Тема 6. Роль каскадних процесів фосфорилування-дефосфорилування сигнальних протеїнів у передачі сигналів всередині клітини, внесок Лауреатів Нобелівської премії з фізіології та медицини за 1992 р. Едмонда Фішера та Едвіна Кребса.

cAMP- та cGMP-залежні протеїнкінази: будова, механізми активації, фізіологічна роль. Загальна архітектура протеїнкіназних каскадів, що активуються мітогенами (MAP-кіназних сигнальних шляхів): Erk1/2, p38, SAPK/Jnk. Роль риштувальних протеїнів у збиранні компонентів MAP-кіназних каскадів. Механізми активації тимчасового та тривалого сигналювання, залежного від Erk1/2, динаміка активації Erk1/2 і експресія продуктів генів ранньої відповіді (IEG) протягом тривалого сигналювання, фізіологічна роль. Загальна архітектура PI3K/Akt сигнального шляху. Класифікація та будова PI3-кіназ, механізми активації та модулятори PI3-кіназної активності. PKB/Akt: будова, механізми активації, роль у регулюванні системних клітинних відповідей (апоптозу і виживання, диференційної експресії генів, ангіогенезу, гомеостазу глюкози, трансляції. JAK/STAT-

залежний сигнальний шлях. Надродина Ca^{2+} -, фосфоліпід-залежних протеїніназ (протеїніназ C): будова, механізми активації, фізіологічна роль. Кальмодулінзалежна протеїніназа, казеїнінази, інші типи протеїніназ.

Тема 7. Інтегрини – рецептори молекул позаклітинного матриксу

Інтегрини – рецептори, що забезпечують адгезію клітин як до позаклітинного матриксу (ЕСМ), представленого складною мережею протеїнів (фібронектин, ламініни, колагени, вітронектин), так і до інших клітин. Класифікація, розповсюдження та будова інтегринів. Роль кластеризації інтегринів у регулюванні структурно-функціонального стану акти нового цитоскелету. Механізми активації сигнального потенціалу інтегринів: Fак-залежні та Shc-залежні сигнальні шляхи, опосередковані інтегринами. Роль інтегринів у регулюванні фізіології клітин.

Змістовий модуль 2. «Внутрішньоклітинний Ca^{2+} »

Тема 8. Загальні уявлення про роль іонів Ca як універсального вторинного посередника.

Цитозольний кальцій є найважливішим клітинним сигналом у біології, контролюючи різноманітні клітинні процеси від самого початку життя клітини до її смерті та майже все між ними. Дослідження внутрішньоклітинного Ca^{2+} сигналювання в наукових лабораторіях України. Позаклітинний Ca^{2+} , чотири головні функції в організмі живих істот. Концентрація Ca^{2+} у плазмі крові та механізми її регуляції. Іони Ca – універсальний внутрішньоклітинний регулятор. Системи, що забезпечують внутрішньоклітинний обмін іонів Ca.

Тема 9. Ca^{2+} канали плазматичної мембрани, саркоплазматичного ретикулума, мітохондрій. Загальні властивості та регуляція активності цих систем.

Канали, що розташовані у плазматичній мембрані: потенціал-керовані Ca^{2+} канали, канали транзйентного рецепторного потенціалу, рецептор-керовані канали, механо-чутливі канали, пул оперовані канали, рецептор кальцію. Канали саркоплазматичного ретикулума: IP_3 -залені та ріанодинові Ca^{2+} канали. Потенціал-залежний уніпортер мітохондрій.

Тема 10. Ca^{2+} помпи та обмінники плазматичної мембрани, Ca^{2+} помпи саркоплазматичного ретикулума. Загальні властивості та регуляція активності цих систем.

Ca^{2+} -MgАТРаза (Ca^{2+} -помпа) плазматичної мембрани та саркоплазматичного ретикулума є ключовими системами у регуляції концентрації Ca^{2+} в еукаріотичних клітинах. Викид Ca^{2+} з клітини проти його градієнта здійснюється помпою за рахунок гідролізу АТР, при цьому переніс однієї молекули Ca супроводжується гідролізом однієї молекули АТР. Кальмодулін – головний білковий медіатор кальцієвого сигналу у клітині. Фосфоламбан та його роль в регуляції Ca^{2+} помпи саркоплазматичного ретикулума кардіоміоцитів. Викид іонів Ca з клітини у міжклітинний простір, що здійснюється Na^+ - Ca^{2+} обмінником, забезпечується Na^+ -градієнтом, який створюється функціонуванням Na^+ , K^+ -АТРази.

Тема 11. Системи обміну Ca^{2+} у мітохондріях. Кардіоліпін та його роль в регуляції активності систем обміну Ca^{2+} у мітохондріях.

Системи, що забезпечують надходження Ca^{2+} до матриксу мітохондрій. Вхід Ca^{2+} крізь зовнішню мембрану мітохондрій - потенціал-залежний аніонний канал (VDAC). Вхід Ca^{2+} крізь внутрішню мембрану мітохондрій: Ca^{2+} -уніпортер, система швидкого захоплення катіона (RaM) та ріанодинові канали (RuR). Системи, що забезпечують вивільнення Ca^{2+} із мітохондрій: Na^+ - Ca^{2+} антипортер, H^+ - Ca^{2+} антипортер, мітохондріальна пора перехідної провідності (PTP). Мітохондрії та загибель клітини. Кардіоліпін (CL) - атипичний димерний фосфоліпід, розташований майже виключно на рівні внутрішньої мембрани

мітохондрій, де він і синтезується. Роль кардіоліпіну у регуляції обміну Ca^{2+} у мітохондріях.

Тема 12. Іони Ca як регулятори скорочення скелетного, серцевого та гладенького м'язів.

Як розповсюджується Ca^{2+} у цитозолі клітин. Ca^{2+} сигнали, які пов'язані з виходом Ca^{2+} з саркоплазматичного ретикулула - Ca^{2+} Sparks, Ca^{2+} puffs, Ca^{2+} Waves and Oscillations. Найбільш важливі лігандами Ca в середині клітин. Іони Ca як регулятори скорочення скелетного, серцевого та гладенького м'язів, загальні риси та відмінності.

Тема 13. Внутрішньоклітинний Ca^{2+} та стрес ендоплазматичного ретикулула.

Порушення обміну внутрішньоклітинного Ca^{2+} прямо чи опосередковано задіяне у перебігу практично усіх патологічних процесів. Фармацевтичні препарати, що впливають на внутрішньоклітинний обмін Ca^{2+} . Блокатори Ca^{2+} каналів. Стрес сарко(ендо)плазматичного ретикулула. Головні функції ендоплазматичного ретикулула у клітинах еукаріот. Ca^{2+} -зв'язуючі протеїни сарко(ендо)плазматичного ретикулула. Можливі шляхи відновлення обміну іонів Ca у м'язових клітинах. Стан біологічних мембран. Відновлення акумуляції іонів Ca у сарко(ендо)плазматичному ретикулулі. Регуляція експресії Ca^{2+} помпи саркоплазматичного ретикулула. Регуляція активності Ca^{2+} помпи саркоплазматичного ретикулула.

Тема 14. Методичні підходи до вивчення обміну Ca^{2+} у клітинах та субклітинних компартментах.

Ізотопний метод або метод мічених атомів. Принцип методу. Застосування ^{45}Ca дозволяє виміряти загальну кількість акумульованого у субклітинних структурах іонів Ca , тобто, іонізований Ca + зв'язаний Ca . Флуоресцентні зонди – це сполуки, які змінюють свою флуоресценцію у відповідь на зв'язування зі своєю мішенню. Ca^{2+} -чутливі флуоресцентні зонди дозволяють визначити концентрацію іонізованого Ca у клітинах та субклітинних структурах. Використання протокової цитометрії для дослідження обміну іонів Ca та поляризації мембран мітохондрій гладенького м'яза. Конфокальна мікроскопія та потенціал-чутливі флуоресцентні зонди. Приклади результатів власних досліджень викладача.

Змістовий модуль 3. Активні форми азоту і кисню в організмі за норми та патології

Тема 15. Загальні уявлення про роль активних форм азоту і кисню.

Ендогенний синтез нітритів і нітратів в організмі. Дослідження Ф. Мурада, Р. Фарчготта, Л. Ігнано і інш., відкриття EDRF (ендотелій-залежного фактору розслаблення); вазорелаксуючі, антиагрегаційні та антиадгезивні ефекти оксиду азоту. Оксид азоту і нітросполуки. Донори NO та їхнє використання в медицині. Роботи О. Чижевського; відкриття EDHF (ендотелій-залежного фактору гіперполяризації); загальні уявлення про сигнальну та регуляторну функції пероксиду водню. Гіперпродукція активних форм кисню та перекисне окислення ліпідів як ключові фактори чисельних патологічних процесів в організмі. Активні форми азоту та кисню як продукти аеробного метаболізму. Основні фізико-хімічні властивості цих сполук, що лежать в основі проявів біологічної активності. Залежність їхнього обміну від концентрації Ca^{2+} . Клітинна компартменталізація як умова спрямованої дії оксиду азоту та пероксиду водню. Уявлення про високу концентраційну залежність біологічних ефектів, спричинених активними формами азоту та кисню.

Тема 16. NO-синтазна реакція в тканинах ссавців. Регуляція синтезу та активності NO-синтаз.

NO-синтазна реакція: субстрати та кофактори. Класифікація та загальна характеристика NO-синтаз, специфіка їхньої тканинної і субклітинної локалізації. Особливості структури та каталітична активність окремих ізоформ NO-синтаз. Значення кальмодуліну, кавеоліну, тетрагідробіоптерину. Особливості ензиматичної активності за нестачі L-аргініну та кофакторів. NO-синтазний та аргіназний шляхи обміну L-аргініну. Функціональна роль окремих ізоформ NO-синтаз. Регуляція синтезу NO на рівні транскрипції, трансляції, посттрансляційних ковалентних модифікацій, шляхом протеїн-протеїнових взаємодій та зміною доступності кофакторів та субстратів. Фактори транскрипції, які змінюють експресію NO-синтаз: роль KLF2, NF- κ B, STATs та інш. Rho/ ρ -кіназний шлях та значення статинів в регуляції біодоступності NO. Приклади змін стабільності мРНК різних ізоформ. Альтернативний сплайсинг нейрональної та індукцибельної NO-синтаз; мітохондрійна NO-синтаза як сплайс-варіант нейрональної, її функціональне значення в клітині. Роль посттрансляційних модифікацій в регуляції ендотелійної NO-синтази: ацилювання, фосфорилування, нітрозилування. Взаємодія ензиму із протеїнами-модуляторами активності та внутрішньоклітинної локалізації: кавеоліном, кальмодуліном, шапероном hsp90, актином, динаміном. Різна субклітинна локалізація ізоформ NO-синтаз як передумова локального регуляторного утворення оксиду азоту, редокс-регуляція ритма серця. Механізми зворотнього зв'язку і зниження вмісту NO. Інші джерела оксиду азоту в клітинах: редуктазна активність гем-вмісних протеїнів, аміакоутворення. Кінетичні особливості NO-синтазної реакції, структура та механізми дії інгібіторів. Класифікація і застосування донорів NO.

Тема 17. Функціональна роль NO в клітинах і тканинах.

Основні біохімічні ефекти оксиду азоту: утворення комплексу із залізом у складі гему (активація розчинної гуанілатциклази, значення протеїнкінази G в реалізації біохімічної активності NO, зворотнє конкурентне інгібування цитохром C-оксидази); окиснення заліза у складі гему (інгібування транспортної функції гемоглобіну та міоглобіну, роботи цитохромів P450); взаємодія із негемовим залізом - утворення залізонітрозильних комплексів (пригнічення функціонування феритину та трансферину), реакція із залізо-сірчаними центрами мітохондрій; модуляція окисного обміну арахідонової кислоти (ліпоксигеназ та циклооксигеназ); S-нітрозилування та транснайтрозилування ензимів, зокрема за участі низькомолекулярних нітрозотіолів (інгібування Ca^{2+} -транспортувальних ензимів, гліцеральдегідфосфат дегідрогенази, креатинкінази, глутатіонредуктази, цистеїнових протеаз, активація K^+ -каналів, окремих типів гетеротримерних G-протеїнів, фактору транскрипції Oxy-R E. coli, теломерази і інш.); нітрозилування залишків тирозину (інгібування нулеотидредуктази); дезамінування (може призвести до пошкоджень ДНК). Основні фізіологічні ефекти оксиду азоту: базальна релаксація судинної стінки NO, який синтезується ендотелієм (вплив оксиду азоту на системи, що підтримують Ca^{2+} -гомеостаз в різних типах м'язів); дезагрегуючий та антиадгезивний ефекти щодо формених елементів крові (антитромботична дія); значення NO в функціонуванні нервової системи (нітратічні закінчення і нейрорегуляція гладеньких м'язів, глутаматна нейротоксичність та NO, процеси потенціації і депресії в ЦНС, формування пам'яті, зоровий аналіз тощо); ендокринна регуляція (контроль за синтезом та секрецією інсуліну, гормонів наднирників, статевих гормонів); вплив на процеси неспецифічного і специфічного імунного захисту. Механізми депонування і транспорту NO, буферні молекули, значення динітрозильних комплексів негемового заліза.

Тема 18. Синтез NO в умовах дефіциту кисню.

Значення нітрит/нітрат-редуктазних реакцій за умов гіпоксії та ішемізації тканин. Дезоксиформи гем-вмісних протеїнів як джерела NO, їхній розподіл по тканинам. Фізико-хімічні передумови редуктазної активності. Ензими, які відновлюють залізо у складі гем-

вмісних протеїнів. Внутрішня симетрія електронно-транспортних ланцюгів в природі та блочний принцип їхньої організації. Цикл азоту в біосфері (кругообіг азоту в природі) та цикл оксиду азоту в організмі ссавців. Уявлення про нітрифікацію, денітрифікацію та азотфіксацію. Цикл NO в організмі ссавців як окремий випадок циклу азоту в біосфері, голографічний принцип.

Тема 19. NO-синтаза у прокариотів. Мітохондрії та оксид азоту.

Особливості структури і каталітична активність бактерійної NO-синтази. Функціональне значення NO-синтази у стрептоміцетів, збудника сибірської виразки; роль NO у захисті бактерій від УФ-радіації, антибіотиків тощо. Особливості синтезу NO в мітохондріях. Вплив оксиду азоту на елементи дихального ланцюга та матриксні ензими. Роль мітохондрійного NO в індукції/захисті від мітохондрійної дисфункції; мітохондрійна NO-синтаза та гіпоксичне прекодиціювання кардіоміоцитів. Оксид азоту та супероксид-аніон, цитотоксична роль пероксинітриту, його взаємодія із мітохондріями, захист від пероксинітриту. Значення оксиду азоту в регуляції функціонування АТР-чутливих K^+ -каналів мітохондрій та пори перехідної провідності.

Тема 20. Патогенез окремих захворювань людини у зв'язку із порушенням обміну NO. Оксид азоту і апоптоз.

Гіпоксія та NO в механізмах пухлинного ангиогенезу. Роль NO і ендотеліної дисфункції в атерогенезі. Значення руйнівної дії надлишкової продукції оксиду азоту в механізмах деструкції β -клітин підшлункової залози при інсулінозалежному діабеті. Зниження активності ендотеліної NO-синтази і біодоступності NO – важлива ланка патогенезу діабету II типу. Значення пероксинітриту у прояві нейротоксичної дії β -амілоїдного пептиду при хворобі Альцгеймера. Запальні процеси і функціонування системи NO. Цитокини та оксид азоту за бронхіальної астми. Подвійна роль NO при паркінсонізмі. Застосування донорів NO та L-аргініну в клінічній практиці: терапія інфаркту та інсульту, лікування гіпертонії та ішемічної хвороби серця, атеросклерозу. Використання селективних інгібіторів індукцибельної NO-синтази для лікування запальних процесів та у випадку застосування хіміотерапевтичних засобів. Про- та антиапоптичні ефекти оксиду азоту. Значення NO в регуляції клітинного циклу.

Тема 21. Біохімічна характеристика активних форм кисню та їх функціональна роль в клітинах. Редокс-регуляція активності генів.

Фізико-хімічні властивості активних форм кисню, які обумовлюють біохімічну активність. Механізми і регуляція утворення активних форм кисню: структура і особливості регуляції NADPH-оксидазного комплексу в фагоцитуючих та нефагоцитуючих клітинах, значення мітохондрій в генерації активних форм кисню клітиною, роль ксантиноксидази за умов гіпоксії; будова і функціональна активність моноаміноксидаз, оксидази L-амінокислот, мієлопероксидази, інших оксидаз. Еволюційні аспекти утворення активних форм кисню, зв'язок їхнього метаболізму із Ca^{2+} -сигналізацією. Системи, які контролюють рівень активних форм кисню в клітинах та захищають від окисного стресу: структура та особливості функціональної активності ізоформ супероксиддисмутази, пероксиредоксинів, глутатіон-залежної антиоксидантної системи, каталази тощо. Системний рівень регуляції вмісту активних форм кисню на прикладі церулоплазміну та мелатоніну. Біохімічні і фізіологічні ефекти активних форм кисню. Пероксид водню як сигнальна молекула. Зміни внутрішньоклітинної концентрації H_2O_2 за ліганд-рецепторної стимуляції, локалізація утворення. Специфічні мішені дії пероксиду водню в клітині. Значення активних форм кисню в тирозин- та MAP-кіназних сигнальних каскадах. Редокс-сенсори клітини, редокс-чутливі гени. H_2O_2 як фактор гіперполяризації плазматичної мембрани; O_2 -сенсори легень і кровоносних судин. Нітрозативний/оксидативний стрес, перекисне окиснення ліпідів, морфо-функціональна

деструкція мітохондрій та клітини в цілому. Активні форми кисню як індуктори апоптозу. Вільнорадикальні механізми старіння. Сучасні уявлення про киснево-перекисний механізм старіння. Роль мітохондрій. Окисна модифікація протеїнів і її значення. Механізми пухлинно-проторної дії активних форм кисню. Радикальні форми кисню в атерогенезі. Порушення про/антиоксидантної рівноваги у хворих на діабет. «Теорія окисного стресу» виникнення хвороби Альцгеймера, антиоксидантна терапія; «вільно-радикальна теорія» патогенезу хвороби Паркінсона.

4. Структура навчальної дисципліни

Назви змістових модулів і тем	Кількість годин											
	денна форма						заочна форма					
	усього	у тому числі					усього	у тому числі				
		л	п	сем	інд	с.р.		л	п	лаб	інд	с.р.
Модуль 1												
Змістовий модуль 1 «Сигнальні механізми клітини»												
Сучасні уявлення про механізми формування клітинної відповіді на зовнішні впливи, внесок Лауреатів Нобелівської премії з фізіології та медицини у формування нової парадигми клітинного сигналювання. Мережева організація сигнальних процесів у клітині.		2										
Серпентинні рецептори, що опосередковують свою дію через GTP-зв'язувальні протеїни.		2										
Надродина високоафінних GTPаз. Гетеротримерні GTP-зв'язувальні протеїни.		2										
Аденілілциклаза – одна з основних ефекторних ланок для серпентинних рецепторів.		2										
Рецепторні тирозинові протеїнкінази (РТК) та рецепторні фосфотирозинові протеїнофосфатази		2										
Роль каскадних процесів фосфорилування-дефосфорилування сигнальних протеїнів у передачі сигналів всередині клітини		2										
Інтегрини – рецептори молекул позаклітинного матриксу		2										
Особливості міжмолекулярної взаємодії, опосередкованої						2						

PDZ, SAM, DD, DED та CARD доменами; домени, що опосередковують взаємодію з нуклеїновими кислотами ((PUM, Tubby).													
Низькомолекулярні Ras-подібні високоафінні GTPази.						2							
Фосфоінозитидна сигнальна система.						2							
Молекулярні механізми перетворення світлових сигналів за участі рецепторів GPCR.						2							
Молекулярні механізми перетворення нюхових сигналів за участі рецепторів GPCR.						2							
Молекулярні механізми перетворення смакових сигналів за участі рецепторів GPCR.						2							
Рецептори надродини трансформувального фактора росту β - рецепторні Ser/Thr-специфічні протеїнкінази.						2							
Рецептори, асоційовані з цитоплазматичними тирозиновими протеїнкіназами: рецептори T- і B- клітин, рецептори цитокінів.						2							
Рецепторні та цитоплазматичні гуанілілциклази, синтез вторинного посередника cGMP						2							
Рецептори, що контролюють запрограмовану смерть клітин (апоптоз).						2							
Надродина ядерних рецепторів стероїдних, тиреоїдних гормонів, ретиноїдів та вітаміну D ₃						2							
Електрофорез протеїнів в поліакриламідному гелі з наступним Вестерн-блот аналізом.			4										
Змістовий модуль 2													
«Внутрішньоклітинний Ca²⁺»													
Загальні уявлення про роль іонів Ca як універсального вторинного посередника.		2				2							
Ca ²⁺ канали плазматичної мембрани,		2				2							

саркоплазматичного ретикулума, мітохондрій. Загальні властивості та регуляція активності цих систем.												
Ca ²⁺ помпи та обмінники плазматичної мембрани, Ca ²⁺ помпи саркоплазматичного ретикулума. Загальні властивості та регуляція активності цих систем.	2					2						
Системи обміну Ca ²⁺ у мітохондріях. Кардіоліпін та його роль в регуляції активності систем обміну Ca ²⁺ у мітохондріях.	2					2						
Іони Ca як регулятори скорочення скелетного, серцевого та гладенького м'язів.	2					2						
Внутрішньоклітинний Ca ²⁺ та стрес ендоплазматичного ретикулума.	2					2						
Методичні підходи до вивчення обміну Ca ²⁺ у клітинах та субклітинних компартментах.	2	4				2						

Змістовий модуль 3

«Активні форми азоту і кисню в організмі за норми та патології»

Загальні уявлення про роль активних форм азоту і кисню.	2					2						
NO-синтазна реакція в тканинах ссавців. Регуляція синтезу та активності NO-синтаз.	2					2						
Функціональна роль NO в клітинах і тканинах.	2					2						
Синтез NO в умовах дефіциту кисню.	2					2						
NO-синтаза у прокаріотів. Мітохондрії та оксид азоту.	2					2						
Патогенез окремих захворювань людини у зв'язку із порушенням обміну NO. Оксид азоту і апоптоз.	2			2		2						
Біохімічна характеристика активних форм кисню та їх функціональна роль в клітинах. Редокс-регуляція активності генів.	2			2		2						
Усього годин	120	42	8		4	66						

5. Теми семінарських занять (за наявності)

№ з/п	Назва теми	Кількість годин
1	Системи захисту мітохондрій від гіперпродукції активних форм	2
2	Редокс-сенсори мікроорганізмів	2

6. Теми практичних занять (за наявності)

№ з/п	Назва теми	Кількість годин
1	Електрофорез протеїнів в поліакриламідному гелі з наступним Вестерн-блот аналізом.	4
2	Одержання фракції мітохондрій та визначення концентрації іонізованого Са у матриксі за допомогою спектрофлуориметрії та флуоресцентних зондів	4

7. Самостійна робота:

Змістовий модуль 1 «Сигнальні механізми клітини»

№ з/п	Назва теми	Кількість годин
1	Особливості міждоменної взаємодії, опосередкованої PDZ, SAM, DD, DED та CARD доменами; домени, що опосередковують взаємодію з нуклеїновими кислотами ((PUM, Tubby).	2
2	Низькомолекулярні Ras-подібні високоафінні GTPази.	2
3	Фосфоінозитидна сигнальна система.	2
4	Молекулярні механізми перетворення світлових сигналів за участі рецепторів GPCR.	2
5	Молекулярні механізми перетворення нюхових сигналів за участі рецепторів GPCR.	2
6	Молекулярні механізми перетворення смакових сигналів за участі рецепторів GPCR.	2
7	Рецептори надродина трансформувального фактора росту β - рецепторні Ser/Thr-специфічні протеїнкінази.	2
8	Рецептори, асоційовані з цитоплазматичними тирозиновими протеїнкіназами: рецептори T- і B- клітин, рецептори цитокінів.	2
9	Рецепторні та цитоплазматичні гуанілілциклази, синтез вторинного посередника cGMP	2
10	Рецептори, що контролюють запрограмовану смерть клітин (апоптоз).	2
11	Надродина ядерних рецепторів стероїдних, тиреоїдних гормонів, ретиноїдів та вітаміну Д ₃ .	2

Самостійна робота:

Змістовий модуль 2 «Внутрішньоклітинний Ca²⁺»

№ з/п	Назва теми	Кількість годин
1	Самостійна робота над лекційним матеріалом та підготовка до поточного опитування.	14
2	Підготовка до практичних занять. Аналіз одержаних результатів. Розрахункові роботи та графічне представлення одержаних результатів.	6

3	Підготовка до заліку.		2
---	-----------------------	--	---

Самостійна робота:

Змістовий модуль 3 «Активні форми азоту і кисню в організмі за норми та патології»

№ з/п	Назва теми	Кількість годин
1	Самостійна робота над лекційним матеріалом та підготовка до поточного опитування.	14
2	Підготовка до практичних занять. Аналіз одержаних результатів. Розрахункові роботи та графічне представлення одержаних результатів.	6
3	Підготовка до іспиту.	2

8. Методи навчання

Лекції та підсумкові заняття. Використання дистанційного навчання – з залученням аспірантів до освітніх ресурсів та міжнародновизначених курсів.

9. Методи контролю

Питання до підсумкового контролю:

Змістовий модуль 1:

1. Які основні етапи можна виокремити в історії розвитку уявлень у галузі клітинного сигналювання?
2. Які молекулярні механізми забезпечують мережеву організацію сигнальних процесів у клітині?
3. До яких основних класів можна віднести позаклітинні регуляторні сполуки за дистантністю їх дії?
4. До яких основних типів відносять рецепторні молекули, що опосередковують дію позаклітинних регуляторних сполук?
5. До яких основних класів відносять мембранні рецептори?
6. Що таке природні ліганди, агоністи, антагоністи, часткові агоністи?
7. Чи існує різниця між модульною організацією протеїнів та четвертинною структурою?
8. Які основні типи протеїнових модулів забезпечують міжмолекулярні взаємодії.
9. Які домени забезпечують взаємодію з консенсусними послідовностями, що містять залишки фосфотирозину?
10. За якими особливостями структурної організації відрізняється будова зв'язувальної кишені для SH2 доменів і РТВ доменів?
11. Представники яких класів рецепторів залучають до трансдукції сигналів протеїни, що містять SH2 та РТВ домени?
12. Які домени забезпечують взаємодію з пролін-багатими послідовностями?
13. Які особливості будови має зв'язувальна поверхня для доменів, що взаємодіють з пролін-багатими послідовностями?
14. Які біологічні відповіді контролюються за участі протеїнів, що містять множинні SH3 домени?
15. Які модулі опосередковують міждоменні взаємодії: будова, механізми та біологічна роль?
16. Які модулі опосередковують взаємодію з нуклеїновими кислотами: будова, механізми та біологічна роль?

17. Яку роль у клітинному сигналюванні відіграють домени, що взаємодіють з фосфоліпідами плазматичних мембран: будова та механізми взаємодії?
18. Які модулі опосередковують взаємодію з убіквітильованими послідовностями: будова, механізми та біологічна роль?
19. Яку роль у сигналюванні відіграють відіграють адаптерні, риштувальні та якірні протеїни: визначення, особливості будови?
20. До якого класу сигнальних протеїнів можна віднести убіквітинлігазу Cbl?
21. Які механізми залучені до регулювання біологічної активності адаптерних, риштувальних та якірних протеїнів?
22. Яку роль відіграє олігомеризація адаптерних і риштувальних протеїнів у побудові сигнальних мереж клітин?
23. Яку роль відіграє феномен «комбінаторного інгібування» за участі адаптерних і риштувальних протеїнів у функціонуванні сигнальних мереж клітин?
24. Які методичні підходи використовуються у клітинній біології для вивчення протеїно-протеїнових взаємодій?
25. За якими особливостями будови рецепторні молекули відносять до класу серпентинних рецепторів? До окремих підкласів?
26. Які гормони та гормоноподібні речовини опосередковують свою дію через серпентинні рецептори?
27. Яку топологію мають серпентинні рецептори у мембрані?
28. Які сигнальні білки використовують серпентинні рецептори для трансдукції регуляторного сигналу?
29. Якими особливостями структурно-функціональної організації характеризуються окремі домени серпентинних рецепторів?
30. Які типи посттрансляційної модифікації характерні для серпентинних рецепторів та яку роль вони виконують.?
31. Які області серпентинних рецепторів зазнають змін конформації при активації специфічними лігандами?
32. Які методичні підходи використовуються для з'ясування функціонального значення окремих доменів серпентинних рецепторів?
33. Яку роль у клітинному сигналюванні відіграють високоафінні GTPази (GTP-зв'язувальні протеїни, G-протеїни)?
34. До яких основних класів відносять відомі на сьогодні високоафінні GTPази?
35. Представники яких класів високоафінних GTPаз беруть участь у трансдукції сигналу від серпентинних рецепторів?
36. Які особливості структурно-функціональної організації характеризують будову α , β та γ субодиниць гетеротримерних G-протеїнів?
37. Яку роль виконують субодиниці гетеротримерних G-протеїнів у регулюванні функціональної активності ефекторних ланок?
38. У чому полягає функціональна відмінність між G_s і G_i ?
39. Які механізми забезпечують взаємоперетворення активних і неактивних форм G-протеїнів у GTPазному циклі?
40. Які механізми лежать в основі дисоціації гетеротримеру G-протеїну та GDP/GTP обміну. Роль рецепторів та факторів обміну гуанілових нуклеотидів (GEF протеїнів)?
41. Які механізми лежать в основі GTPазної реакції. Роль протеїнів, що активують GTPазну активність α -субодиниць гетеротримерних G-протеїнів (GAP)?
42. Які існують моделі для пояснення механізмів активації ефекторних ланок за участі α -субодиниць гетеротримерних G-протеїнів?
43. Активність яких ефекторних ланок контролюється за участі α -субодиниць гетеротримерних G-протеїнів?
44. У чому полягає функціональна відмінність між G_s і G_i ?

45. Які молекулярні інструменти використовують для вивчення функцій G-протеїнів?
46. Яким чином патогенез холери, кашлюка, дифтерії, ботулізму пов'язаний із функціонуванням G-протеїнів?
47. Які особливості структурно-функціональної організації є характерними для низькомолекулярних Ras-подібних GTPаз?
48. Які з властивостей Ras-подібних GTPаз є однаковими у порівнянні з α -субодиницями гетеротримерних G-протеїнів? Яка між ними різниця?
49. Які класи сигнальних білків залучені до контролю функціональної активності Ras-подібних GTPаз?
50. Які функції у клітинному сигналюванні виконують Ras-протеїни та чому мутації в Ras-протеїнах залучені до канцерогенезу?
51. Які Ras-подібні GTPази залучені до контролю структурно-функціонального стану актинового цитоскелету, рухливості та інвазивності клітин і за допомогою яких механізмів?
52. Які низькомолекулярні GTPази контролюють ядерні події і за допомогою яких механізмів?
53. Які особливості структурно-функціональної організації є характерними для різних ізоформ аденілілциклази?
54. За допомогою яких механізмів контролюється активність різних ізоформ аденілілциклази?
55. Які механізми лежать в основі аденілілциклазної реакції?
56. Які функції у клітинному сигналюванні виконує продукт аденілілциклазної реакції - cAMP?
57. Які механізми використовуються клітиною для просторової компартменталізації cAMP-залежних функцій?
58. Які молекулярні механізми лежать в основі перетворення світлових сигналів?
59. Який дефект(и) на молекулярному рівні може викликати спадкову форму нічної сліпоти?
60. За допомогою яких механізмів відбувається трансдукція сигналів в органах нюху та смаку?
61. Які метаболіти обміну фосфоінозитидів виконують функції вторинних месенджерів та які ключові ензими каталізують їх утворення?
62. Які особливості модульної організації є характерними для різних форм фосфатидилінозит-4,5-дифосфат - специфічної фосфоліпази C (β , γ , δ , ϵ , ζ , η)?
63. Які механізми лежать в основі активації різних форм фосфоліпази C (β , γ , δ , ϵ , ζ , η)?
64. Які поліфосфоінозитиди використовує фосфоліпаза C як субстрат: PI-4,5-P2, PI-3,4-P2, PI-3,4,5-P3?
65. Яку роль виконує Ca^{2+} як вторинний посередник і які механізми використовує для реалізації свого сигнального потенціалу?
66. Які функції виконують вторинні месенджери інозитлідного походження?
67. До яких класів відносять відомі форми PI-3-кіназ?
68. Які особливості модульної організації є характерними для представників різних класів PI-3-кіназ?
69. Які сигнальні функції виконує продукт PI-3-кіназної реакції?

Змістовий модуль 2:

1. Чому саме Ca^{2+} є універсальним вторинним посередником.
2. Концентрація Ca^{2+} у плазмі крові та в цитозолі клітини.
3. Обмін іонів Ca у клітині та системи, що його забезпечують.
4. Енергонезалежний транспорт Ca^{2+} крізь плазматичну мембрану: потенціал-керовані Ca^{2+} канали; рецептор-керовані Ca^{2+} канали; вторинний месенджер-керовані Ca^{2+} канали.

5. Енергонезалежний транспорт Ca^{2+} крізь мембрану саркоплазматичного ретикулула: IP_3 -індуковане вивільнення Ca^{2+} ; Ca^{2+} -індуковане вивільнення Ca^{2+} .
6. Енергозалежний транспорт Ca^{2+} крізь плазматичну мембрану: Ca^{2+} -помпа; кінетичні та каталітичні властивості системи Mg^{2+} , АТР-залежного транспорту Ca^{2+} ; регуляція активності Ca^{2+} -помпи плазматичної мембрани; Na^+ , Ca^{2+} -обмінник, кінетичні та каталітичні властивості.
7. Енергозалежний транспорт Ca^{2+} крізь мембрану саркоплазматичного ретикулула: Кінетичні та каталітичні властивості системи Mg^{2+} , АТР-залежного транспорту Ca^{2+} ; регуляція активності Ca^{2+} -помпи саркоплазматичного ретикулула.
8. Системи, що забезпечують надходження Ca^{2+} до мітохондрій. Вхід Ca^{2+} крізь зовнішню мембрану мітохондрій. Вхід Ca^{2+} крізь внутрішню мембрану мітохондрій: уніпортер; система швидкого захоплення Ca^{2+} ; ріанодинові канали.
9. Системи, що забезпечують вивільнення Ca^{2+} із мітохондрій: Na^+ - Ca^{2+} антипортер; H^+ - Ca^{2+} антипортер; оборотність уніпортеру; Мітохондріальна пара транз'єнтної проникності.
10. Роль мітохондрій у Ca^{2+} гомеостазі: ефекти Ca^{2+} на продукування енергії; ефекти мітохондрійного Ca^{2+} на Ca^{2+} сигналізацію у клітині; роль мітохондрійного Ca^{2+} за патологій.
11. Роль іонів Ca^{2+} у регуляції скорочення скелетного, серцевого та гладенького м'язу. Загальні риси та відмінності.
12. Ізотопний метод дослідження обміну іонів Ca у клітинах та субклітинних компартментах.
13. Ca^{2+} -чутливі флуоресцентні зонди. Використання протокової цитометрії та конфокальної мікроскопії для дослідження обміну іонів Ca у клітинах та субклітинних компартментах.
14. Фармацевтичні препарати, що впливають на внутрішньоклітинний обмін Ca^{2+} . Стрес сарко(ендо)плазматичного ретикулула та роль іонів Ca . Можливі шляхи відновлення обміну іонів Ca у м'язових клітинах.

Змістовий модуль 3:

1. Загальна характеристика оксиду азоту. Фізико-хімічні властивості NO.
2. Цикл оксиду азоту в організмі ссавців та цикл азоту в біосфері.
3. Синтез оксиду азоту за присутності O_2 . Класифікація та загальна характеристика NO-синтаз.
4. Синтез NO в умовах дефіциту кисню.
5. Структура та каталітична активність NO-синтаз.
6. Субклітинна локалізація NO-синтаз.
7. Регуляція синтезу та активності NO-синтаз.
8. Фізіологічні ефекти оксиду азоту.
9. Регуляція експресії ендотеліної та індуцибельної ізоформ NO-синтаз.
10. Значення cGMP та протеїнкінази G в реалізації біохімічних ефектів NO.
11. Роль посттрансляційних ковалентних модифікацій для функціонування ендотеліної NO-синтази.
12. Біохімічні ефекти оксиду азоту. Будова та механізми активації розчинної гуанілатциклази.
13. Значення кавеол для функціонування ендотеліної NO-синтази.
14. Механізми транспорту NO в тканинах. Значення нітрозотіолів та динітрозильних комплексів негемового заліза. Буфери NO.
15. Механізми зворотнього зв'язку при функціонуванні NO-синтаз. Шляхи зниження рівня NO в клітинах і тканинах.
16. Група прямих методів визначення оксиду азоту в біологічних системах.
17. Група непрямих методів визначення оксиду азоту в біологічних системах.

18. Біосинтез NO не пов'язаний із функціонуванням NO-синтаз.
19. Кінетичні особливості NO-синтаз. Структура та механізми дії інгібіторів.
Донори NO.
20. Значення оксиду азоту в функціонуванні тирозин- та MAP-кіназних месенджерних каскадів.
21. Регуляція експресії і посттрансляційні модифікації NO-синтаз. Значення NF-κB і інших факторів транскрипції.
22. Система NO в прокаріотичних організмах.
23. Оксид азоту і мітохондрії. Співвідношення між NO та $O_2^{\bullet-}$ в клітині.
24. Активні форми азоту в рослинному світі.
25. Значення NO в патогенезі окремих захворювань.
26. Про- та антиапоптична активність оксиду азоту.
27. Роль оксиду азоту в функціонуванні серцево-судинної системи.
28. NO в еритроцитах. Газотранспортна функція крові і NO.
29. Транспортна і буферна щодо NO функції гемоглобіну.
30. Активні форми азоту в механізмах пухлинного процесу.
31. Значення активних форм азоту в патогенезі атеросклерозу.
32. Місце NO в патогенезі хвороби Альцгеймера.
33. Роль оксиду азоту в патогенезі артеріальної гіпертензії та ішемічної хвороби серця.
34. Значення системи NO в запальних процесах.
35. Цитокіни та система NO при бронхіальній астмі.
36. Подвійна роль NO при гіпоксії і оксидному стресі.
37. Значення NO в процесах проліферації і диференціації клітин.
38. Активація матриксних металопротеїназ оксидом азоту і супероксид-аніоном.
39. Фізико-хімічні властивості активних форм кисню, які обумовлюють їхню функціональну активність в організмі.
40. Методи визначення активних форм кисню в біологічних об'єктах.
41. Субстрати та роль JNK. Її регуляція пероксидом водню.
42. Механізми і закономірності утворення активних форм кисню. Коротка характеристика NADPH-оксидаз та ізоформ супероксиддисмутази.
43. Значення мікросом в метаболізмі ксенобіотиків і спряжена з цим генерація активних форм кисню.
44. Вільнорадикальні механізми старіння. Сучасні уявлення про киснево-перекисний механізм старіння. Роль мітохондрій.
45. Еволюційні аспекти Ca^{2+} -залежного утворення активних форм кисню.
Дихальний вибух.
46. Значення окисної модифікації протеїнів для клітини.
47. MAP-кінази і їх активація пероксидом водню.
48. Значення H_2O_2 в функціонуванні гладеньком'язевих клітин.
49. Структура і функціональна активність немітохондрійної супероксиддисмутази та каталази.
50. Будова та функціональна роль пероксиредоксинів.
51. Трансдукція сигналу через рецепторні тирозинові кінази. Роль пероксиду водню в цих процесах.
52. Значення глутатіон-залежної антиоксидантної системи для клітини.
53. Мієлопероксидаза, оксидази L-амінокислот та моноаміноксидази як джерела активних форм кисню.
54. Структура і функціональна активність NADPH-оксидази в мієлоїдних і немієлоїдних клітинах.
55. Загальна характеристика біохімічних і фізіологічних ефектів активних форм кисню.

56. «Теорія окисного стресу» патогенезу хвороби Альцгеймера
 57. Механізми пухлинно-проторної дії активних форм кисню.
 58. Радикальні форми кисню в атерогенезі.
 59. Порушення про/антиоксидантної рівноваги у хворих на діабет.
 60. «Вільно-радикальна теорія» патогенезу хвороби Паркінсона.

10. Розподіл балів, які отримують аспіранти

Поточне тестування та самостійна робота							Підсумковий тест (екзамен)	Сума
Змістовий модуль 1 «Сигнальні механізми клітини»							14	34
T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7		
3	3	3	3	3	3	2		

T1, T2 ... T7 – теми поточного тестування.

Поточне тестування та самостійна робота							Підсумковий тест (екзамен)	Сума
Змістовий модуль 2 «Внутрішньоклітинний Ca ²⁺ »							14	33
T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7		
3	3	3	3	3	2	2		

T8, T9 ... T14 – теми поточного тестування.

Поточне тестування та самостійна робота							Підсумковий тест (екзамен)	Сума
Змістовий модуль 3							14	33
T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7		
3	3	3	3	3	2	2		

Шкала оцінювання: національна та ECTS

Сума балів за всі види навчальної діяльності	Оцінка ECTS	Оцінка за національною шкалою	
		для екзамену, курсового проєкту (роботи), практики	для заліку
90 – 100	A	відмінно	зараховано
82-89	B	добре	
74-81	C		
64-73	D	задовільно	
60-63	E		
35-59	FX	незадовільно з можливістю повторного складання	не зараховано з можливістю повторного складання
0-34	F	незадовільно з обов'язковим повторним вивченням дисципліни	не зараховано з обов'язковим повторним вивченням

			дисципліни
--	--	--	------------

Контроль знань і розподіл балів, які отримують аспіранти.

Контроль здійснюється за модульно-рейтинговою системою.

У змістовий модуль 1 (ЗМ1) входять теми 1-7, у змістовий модуль 2 (ЗМ2) – теми 8-14, у змістовий модуль 3 (ЗМ3) – теми 15-21.

Обов'язковим для допуску до заліку є отримання 38 балів (критичний мінімум).

Дисципліна завершується заліком.

11. Компетентності, яких аспірант набуває в процесі вивчення дисципліни

Інтегральна компетентність	Здатність розв'язувати комплексні завдання в галузі біології у процесі проведення дослідницько-інноваційної діяльності, що передбачає переосмислення наявних та створення нових цілісних знань, оволодіння методологією наукової та науково-педагогічної діяльності, проведення самостійного наукового дослідження, результати якого мають наукову новизну, теоретичне та практичне значення і інтегруються у світовий науковий простір через публікації.
Загальні компетентності	ЗК01. База знань. Знання та розуміння предметної області та розуміння професійної діяльності. ЗК02. Інтегрованість. Здатність працювати в міжнародному контексті. ЗК03. Керування проектами. Здатність розробляти та управляти науковими проектами. ЗК05. Критичність. Здатність оцінювати та забезпечувати якість виконуваних робіт.
Спеціальні (фахові, предметні) компетентності (СК)	СК05. Наукове мислення. Здатність виявляти, формулювати та вирішувати проблеми дослідницького характеру в галузі біології, оцінювати та забезпечувати якість досліджень, які проводять. СК06. Ініціативність. Здатність ініціювати, розробляти і реалізовувати комплексні інноваційні проекти в біології та дотичні до неї міждисциплінарні проекти. СК07. Етичність. Здатність дотримуватись етики досліджень, а також правил академічної доброчесності в наукових дослідженнях та науково-педагогічній діяльності. СК08. Систематичність. Здатність сформувати системний науковий світогляд та загальнокультурний кругозір.

Програмні результати навчання

РН01. Мати концептуальні та методологічні знання з біології і на межі предметних галузей, а також дослідницькі навички, достатні для проведення наукових і прикладних досліджень на рівні світових досягнень з відповідного напрямку, отримання нових знань та/або здійснення інновацій.

РН02. Критичний аналіз, оцінка і синтез нових та складних ідей.

Знання фундаментальних праць провідних зарубіжних та вітчизняних вчених, наукових шкіл у галузі дослідження.

PH03. Формулювати і перевіряти гіпотези; використовувати для обґрунтування висновків належні докази, зокрема, результати аналізу джерел літератури, експериментальних досліджень (опитувань, спостережень, експерименту) і математичного та/або комп'ютерного моделювання.

PH05 Знати праці провідних зарубіжних вчених, наукові школи та фундаментальні праці у галузі дослідження, формулювати мету власного наукового дослідження.

PH06. Вільно презентувати та обговорювати результати досліджень, наукові та прикладні проблеми біології державною та іноземною мовами, кваліфіковано відобразити результати досліджень у наукових публікаціях у наукових виданнях.

PH08. Планувати і виконувати експериментальні та/або теоретичні дослідження з біології та дотичних міждисциплінарних напрямів з використанням сучасного інструментарію, критично аналізувати результати власних досліджень і результати інших дослідників у контексті всього комплексу сучасних знань щодо досліджуваної проблеми. **PH07.** Розробляти та досліджувати концептуальні, математичні і комп'ютерні моделі біологічних процесів і систем.

PH09. Знання методологічних принципів та методів біологічних досліджень. **PH10.** Застосовувати сучасні інструменти і технології пошуку, оброблення та аналізу інформації, зокрема, статистичні методи аналізу великого обсягу даних складної структури, спеціалізовані бази даних та інформаційні системи.

PH11. Розробляти та реалізовувати наукові та/або інноваційні проекти, які дають можливість переосмислити наявне чи створити нове цілісне знання та/або професійну практику, а також розв'язувати важливі теоретичні та практичні проблеми біології з дотриманням норм академічної етики і врахуванням соціальних, економічних, екологічних та правових аспектів.

12.Рекомендована література

Базова ЗМ1

1. Lim W, Mayer B, Pawson T. CELL SIGNALING principles and mechanisms. 2015, Taylor & Francis Group, 417 p.
2. Silva JV, Freitas MJ, Fardilha M. Tissue-Specific Cell Signaling 1st ed. Springer, 2020, 436 p.
3. Reichrath J, Reichrath S. Notch Signaling in Embryology and Cancer: Notch Signaling in Cancer [1st ed.]. Springer, 2021, 228 p.
4. Ed. by Hoppler S, Moon RT. Wnt Signaling in Development and Disease: Wnt Signaling in Development and Disease Molecular Mechanisms and Biological Functions. John Wiley & Sons, Inc. 2014, 497 p.
5. Ed. By Birbrair A. Tumor Microenvironment Signaling Pathways – Part B. Springer, 2021, 191 p.
6. Plopper G, Ivankovic DB. Principles of Cell Biology [3 ed.]. Jones & Bartlett Learning, 2021, 1748 p.
7. Nelson DL and Cox MM. Lehninger principles of biochemistry. 8th ed. 2008, W. H. Freeman, 1158 pp. Chapter 12. Biochemical Signaling.

ЗМ2

1. Костерін С.О., Бабіч Л.Г., Шликов С.Г., Данилович Ю.В., Векліч Т.О., Мазур Ю.Ю. Біохімічні властивості та регуляція Ca^{2+} -транспортувальних систем гладеньком'язових клітин (Київ: Наукова думка, 2016. – 210 с. ISBN 978-966-00-1548-7)
2. Campbell AK. Intracellular Calcium, 2015.– John Wiley & Sons, Ltd. – 842 P.

3. Kettel P, Karagöz GE. Endoplasmic reticulum: Monitoring and maintaining protein and membrane homeostasis in the endoplasmic reticulum by the unfolded protein response. *Int J Biochem Cell Biol.* 2024 Jul;172:106598. doi: 10.1016/j.biocel.2024.106598. Epub 2024 May 18. PMID: 38768891.
4. Bertero E, Popoiu TA, Maack C. Mitochondrial calcium in cardiac ischemia/reperfusion injury and cardioprotection. *Basic Res Cardiol.* 2024 Jun 19. doi: 10.1007/s00395-024-01060-2. Epub ahead of print. PMID: 38890208.
5. Colussi DM, Stathopoulos PB. The mitochondrial calcium uniporter: Balancing tumourigenic and anti-tumourigenic responses. *J Physiol.* 2024 Jul;602(14):3315-3339. doi: 10.1113/JP285515. Epub 2024 Jun 10. PMID: 38857425.
6. Behera R, Sharma V, Grewal AK, Kumar A, Arora B, Najda A, Albadrani GM, Altyar AE, Abdel-Daim MM, Singh TG. Mechanistic correlation between mitochondrial permeability transition pores and mitochondrial ATP dependent potassium channels in ischemia reperfusion. *Biomed Pharmacother.* 2023 Jun;162:114599. doi: 10.1016/j.biopha.2023.114599. Epub 2023 Mar 31. PMID: 37004326.
7. Barna T, Szucs KF, Schaffer A, Mirdamadi M, Hajagos-Toth J, Gaspar R. Combined uterorelaxant effect of magnesium sulfate and terbutaline: Studies on late pregnant rat uteri in vitro and in vivo. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2023 Apr;102(4):457-464. doi: 10.1111/aogs.14532.
8. Zhu Y, Chu Y, Wang S, Tang J, Li H, Feng L, Yu F, Ma X. Vascular Smooth Muscle TRPV4 (Transient Receptor Potential Vanilloid Family Member 4) Channels Regulate Vasoconstriction and Blood Pressure in Obesity. *Hypertension.* 2023 Apr;80(4):757-770. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.122.20109.
9. Moreno-Domínguez A, Colinas O, Smani T, Ureña J, López-Barneo J. Acute oxygen sensing by vascular smooth muscle cells. *Front Physiol.* 2023 Mar 3;14:1142354. doi: 10.3389/fphys.2023.1142354.
10. Masson B, Montani D, Humbert M, Capuano V, Antigny F. Role of Store-Operated Ca²⁺ Entry in the Pulmonary Vascular Remodeling Occurring in Pulmonary Arterial Hypertension. *Biomolecules.* 2021 Nov 27;11(12):1781. doi: 10.3390/biom11121781.
11. Maltan L, Najjar H, Tiffner A, Derler I. Deciphering Molecular Mechanisms and Intervening in Physiological and Pathophysiological Processes of Ca²⁺ Signaling Mechanisms Using Optogenetic Tools. *Cells.* 2021 Nov 28;10(12):3340. doi: 10.3390/cells10123340.
12. Wray S, Prendergast C, Arrowsmith S. Calcium-Activated Chloride Channels in Myometrial and Vascular Smooth Muscle. *Front Physiol.* 2021 Oct 15;12:751008. doi: 10.3389/fphys.2021.751008. eCollection 2021.
13. Kobayashi T, Kurebayashi N, Murayama T. The Ryanodine Receptor as a Sensor for Intracellular Environments in Muscles. *Int J Mol Sci.* 2021 Oct 6;22(19):10795. doi: 10.3390/ijms221910795.
14. Park JH, Kho C. MicroRNAs and Calcium Signaling in Heart Disease *Int J Mol Sci.* 2021 Sep 30;22(19):10582. doi: 10.3390/ijms221910582

3M3

1. Gertz I. Lichtenstein. Nitroxides. Springer Series in Materials Science, Vol 292. Springer Nature Switzerland AG 2020. doi.org/10.1007/978-3-030-34822-9
2. Oxidative Stress. Eustress and Distress. Helmut Sies (Ed.) Elsevier, Academic Press. 2020.
3. Danylovyh H.V., Danylovyh Yu.V. Biochemical and molecular-physiological aspects of the nitric oxide action in the utera. *Ukr. Biochem. J.* 2021, V. 93, N 6. P. 5-30.
4. Данилович Ю.В., Данилович Г.В. Активні форми азоту і кисню в біохімічних процесах транспорту іонів кальцію та поляризації субклітинних структур гладенького м'язу / Ю.В. Данилович, Г.В. Данилович. - К.: Наук. думка. – 2019, 238 с.
5. Wu R., Li S., Hudlikar R. et al. Redox signaling, mitochondrial metabolism, epigenetics and redox active phytochemicals. *Free*

Radic Biol Med. 2022, V. 179. P. 328-336. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2020.12.007.

6. Maria Clara Franco, Maria C. Carreras, Luciana Hannibal. Molecular Basis of Redox Signaling. Oxid. Med. Cell Longev. 2019. doi: 10.1155/2019/6414975.

Допоміжна

1. Sambrook J., Russell D. W. Molecular Cloning. CSHL Press, 2001
2. Lanza R. et al. Essentials of Stem Cell Biology. Elsevier, 2006
3. Комісаренко, С. В. Під знаком Нобеля: лідери наукового прогресу або роздуми вченого - біохіміка й імунолога про розвиток і значення наук про життя : монографія / С. В. Комісаренко ; укладач В. М. Данилова. - К. : ФОП Мишалов Д.В., 2020. - 240 с.
4. Лідери наукового прогресу: під знаком Нобеля / С.В. Комісаренко, В.М. Данилова, Р.П. Виноградова, С.І. Романюк, О.П. Матишевська, М.В. Григор'єва, Т.В. Данилова. За ред. С.В. Комісаренка, укл. В.М. Данилова. Видання друге, доповнене. Київ: Наукова думка, 2023. —678 с.
5. Helmreich E.J.M. The biochemistry of cell signalling. – Oxford Univer. press, 2002. – 358 p.
6. 10. Levine A.B., Punihaole D., Levine T.B. Characterization of the role of nitric oxide and its clinical application // Cardiology. – 2012. – V. 122. – P. 55-68.
7. 11. Palm F., Onozata M.L., Luo Z., Wilcox C.S. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH): expression, regulation, and function in the cardiovascular and renal systems // Am. J. Physiol. – 2007. – V. 293. – P. H3227-H3245.
8. 12. Bryan N.S., Bian K., Murad F. Discovery of the nitric oxide signaling and targets for drug development // Front. Biosci. – 2009. – V. 14. – P. 1-18.
9. 13. Matoba T., Shimokawa H. Hydrogen peroxide is an endothelium-derived hyperpolarizing factor in animals and humans // J. Pharmacol. Sci. – 2003. – V. 92. – P. 1-6.
10. 14. Бурлака А.П., Сидорик Є.П. Радикальні форми кисню та оксиду азоту при пухлинному процесі. - К.: Наукова думка, 2006. – 227 с.