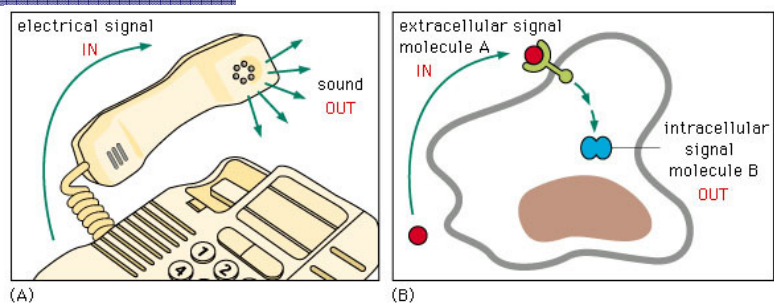
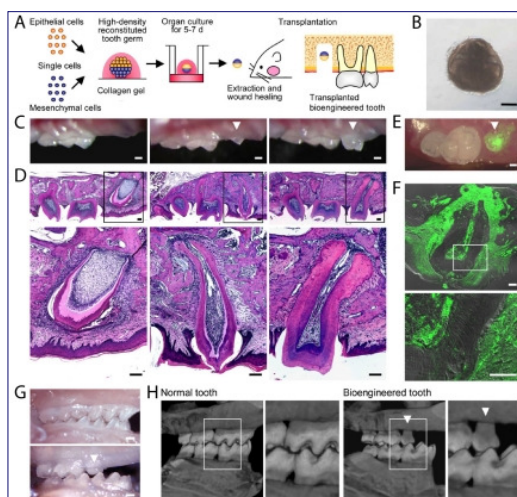


Základy buněčné signalizace

MUDr. Jan Pláteník, PhD.
Ústav lékařské biochemie a
laboratorní diagnostiky 1.LF UK



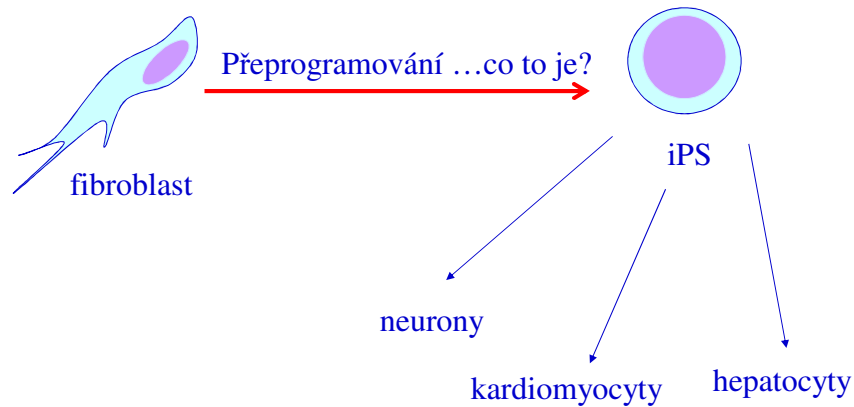
Uměle zkonstruovaný myši zub



Ikeda e. et al.: Fully functional bioengineered tooth replacement as an organ replacement therapy, PNAS 106, 2009, 13475-13480.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2720406/figure/F1/>

Somatické buňky lze přeprogramovat na pluripotentní kmenové buňky !

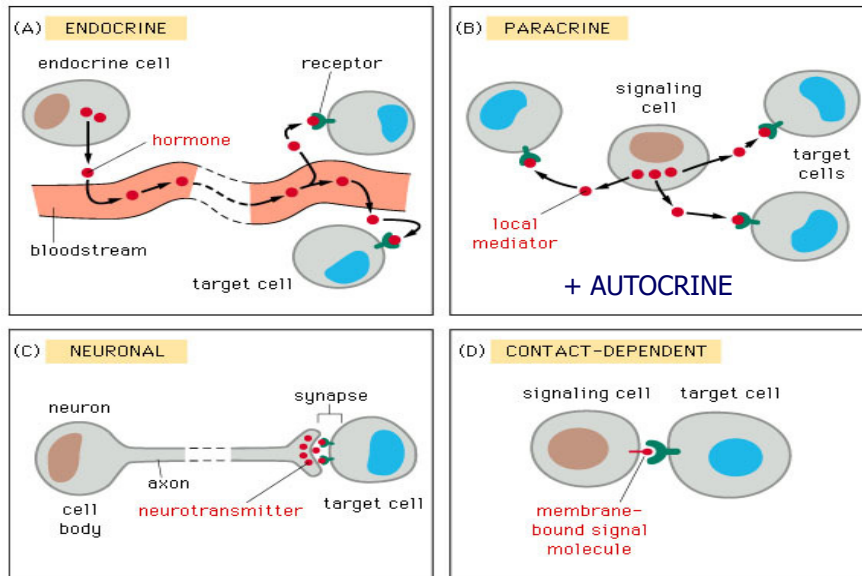


Takahashi K & Yamanaka S. Cell 126, 2006, 663-676

Komunikace mezi buňkami:

1. Syntéza a
2. uvolnění signální molekuly buňkou která signalizuje
3. Transport signálu k cílové buňce
4. Detekce signálu specifickým receptorovým proteinem
5. Spuštění jedné nebo více signálních drah (transdukce signálu)
6. Specifický účinek na buněčný metabolismus, vývoj, diferenciaci atp.
7. Odstranění/ukončení signálu

Na jakou vzdálenost signál působí:



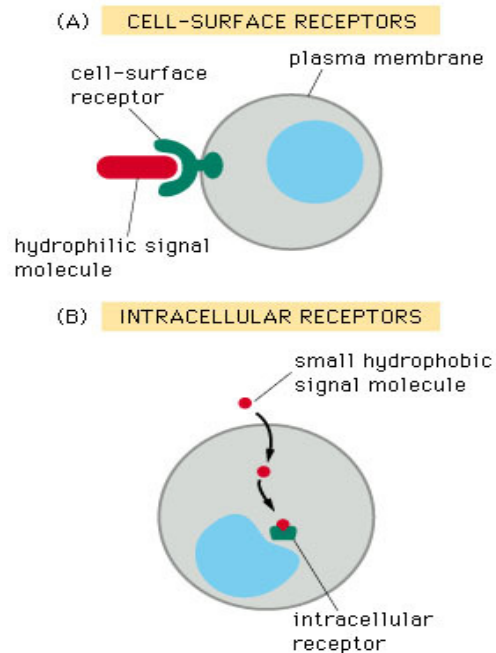
Signální molekula (ligand):

- **Peptidy/proteiny**
 - ACTH, inzulin, glukagon, růstové faktory, cytokiny a mnoho jiných
- **Malé lipofilní molekuly:**
 - steroidy, thyroidní hormony, prostaglandiny
- **Malé hydrofilní molekuly**
 - AMK nebo deriváty AMK - katecholaminy, histamin, serotonin, glutamát, GABA, glycin aj.
- **Plyny: NO**

Receptor

- Vždy protein
- Vazba ligandu + konformační změna
→ převod signálu (signální transdukce)
- Specifita vzhledem k
 - vazbě ligandu
 - následnému účinku

Dvě třídy signálních molekul



©1998 GARLAND PUBLISHING

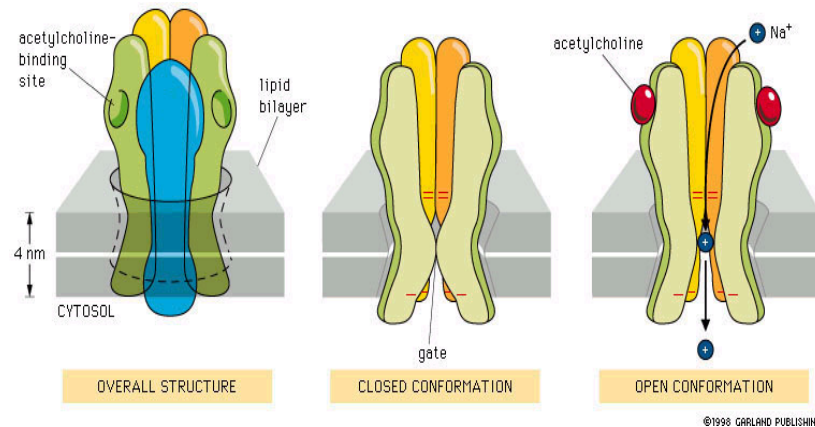
Receptory pro signální molekuly na povrchu buňky

- Iontové kanály
- Receptory spřažené s G-proteiny
- Receptory s enzymatickou aktivitou

Receptory pro signální molekuly na povrchu buňky

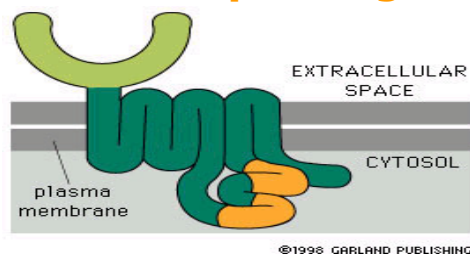
- Iontové kanály
 - pro Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^-
 - např. Receptor pro acetylcholin, GABA, glutamát, glycin
- Receptory spřažené s G-proteiny
- Receptory s enzymatickou aktivitou

Svalový receptor pro acetylcholin



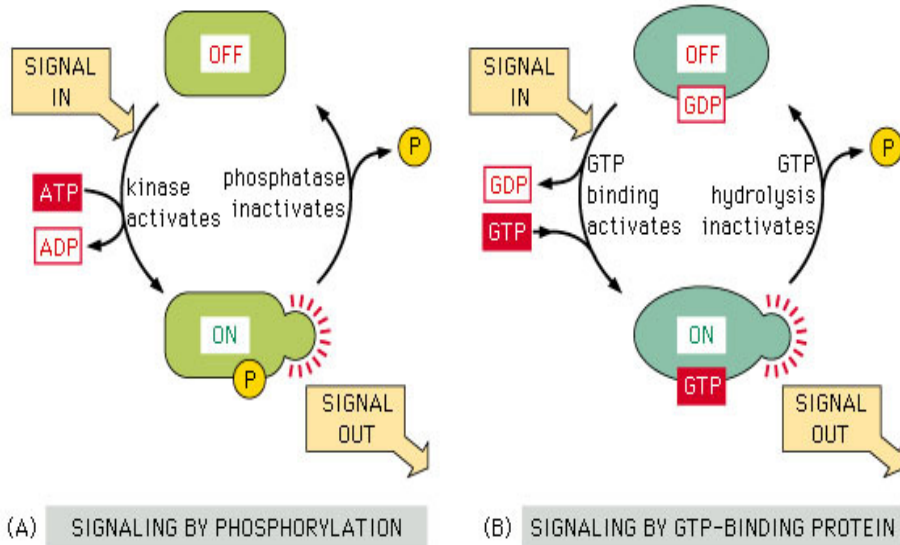
Receptory pro signální molekuly na povrchu buňky

- Iontové kanály
- Receptory spřažené s G-proteiny "Seven-spanning"



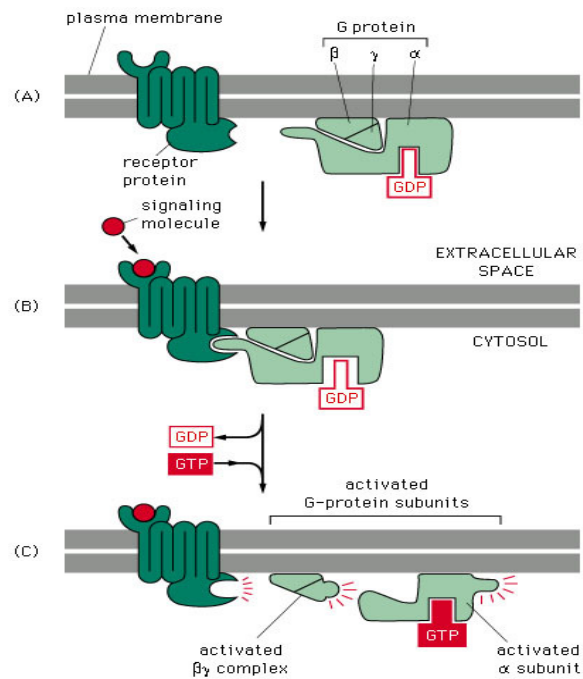
- Receptory s enzymatickou aktivitou

Molekulární vypínače



©1998 GARLAND PUBLISHING

G-proteiny: Molekulární přepínače založené na GTPasové aktivitě

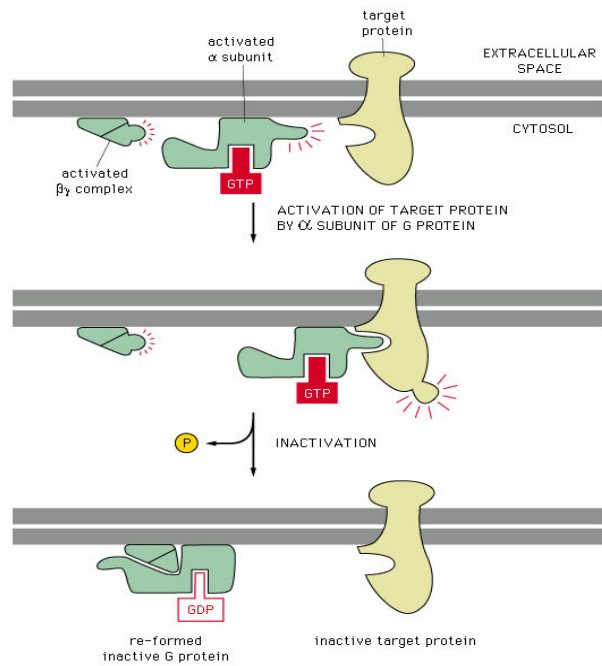


©1998 GARLAND PUBLISHING

Cílové molekuly pro G-proteiny:

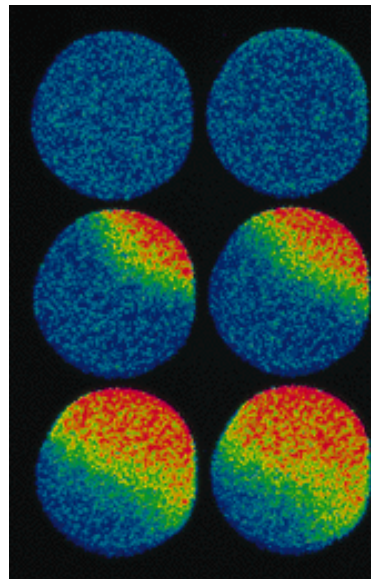
- membránové enzymy

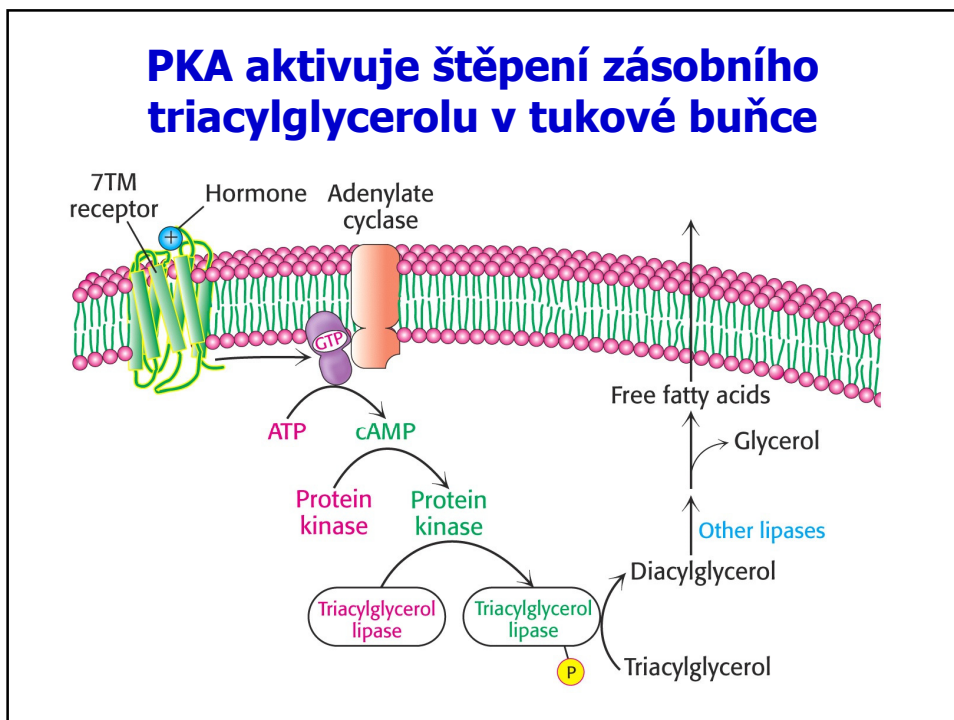
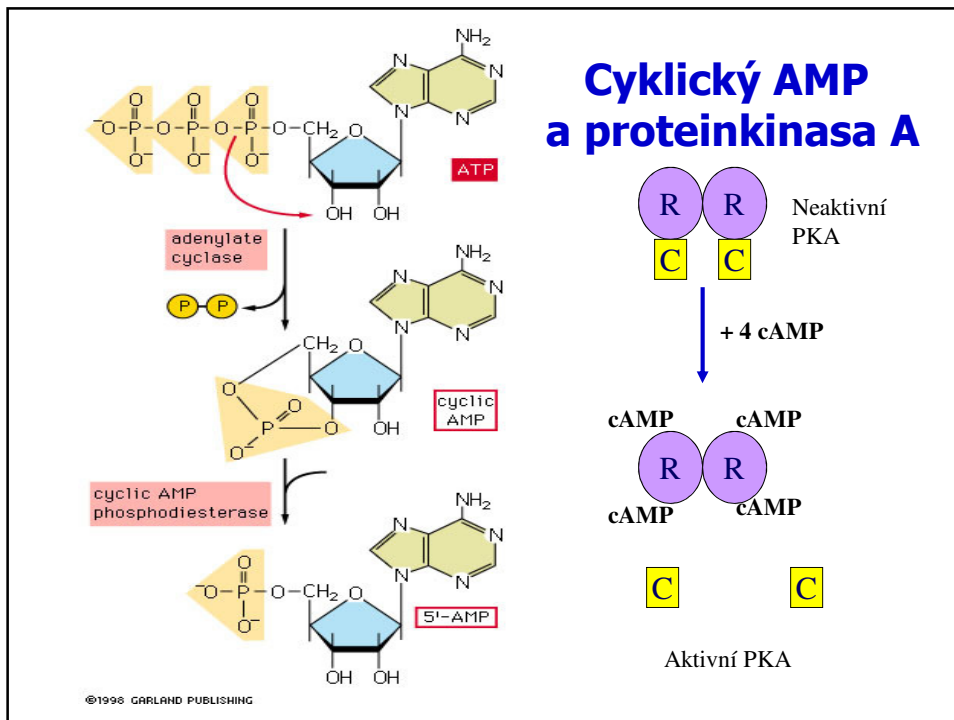
- iontové kanály



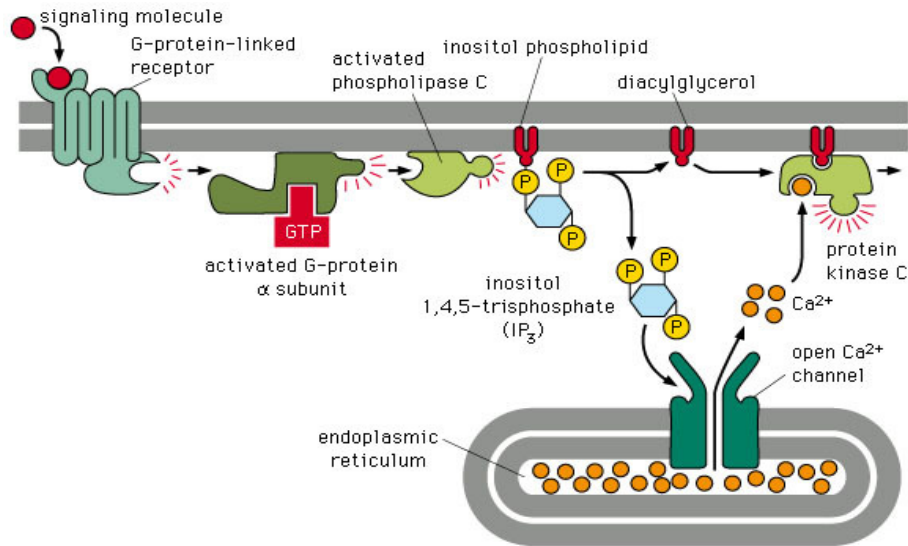
Druhý posel:

- Cyklický adenosinmonofosfát (cAMP)
- Cyklický guanosinmonofosfát (cGMP)
- Inositol-1,4,5-trisfosfát
- 1,2-diacylglycerol
- Calcium
- (NO, kyslíkové radikály)





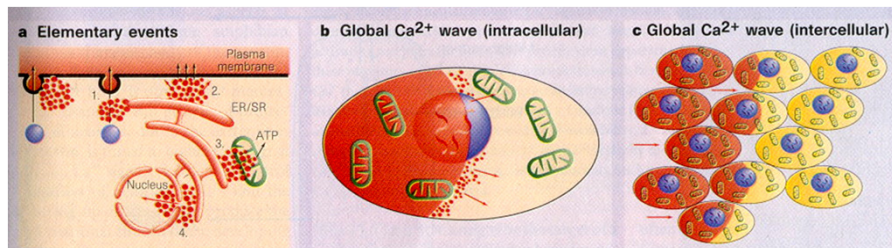
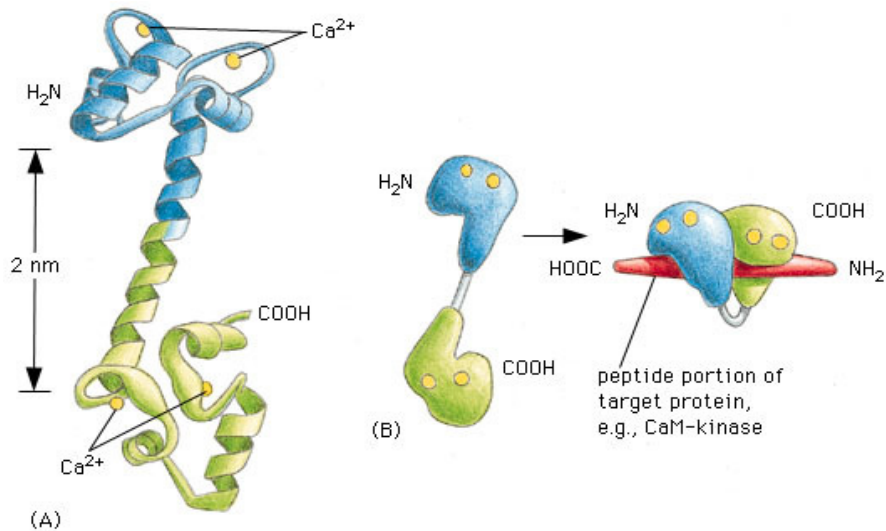
Signalizace přes fosfolipázu C



Calcium v buňce:

- V cytoplasmě jen 0.1-0.2 μM, cca 1 μM je již signál
- Zdroj signálu je:
 - zvnějšku:
 - ligandem aktivované Ca²⁺ kanály
 - napětím řízené Ca²⁺ kanály
 - ze zásob v ER:
 - PI3 receptor/kanál
 - ryanodinový receptor/kanál
 - závislý na membránovém potenciálu (kosterní sval)
 - závislý na Ca²⁺ (srdce, CNS)

Kalmodulin (148 AMK)



obr.: Berridge et al., Nature 1998: 395, 645-648.

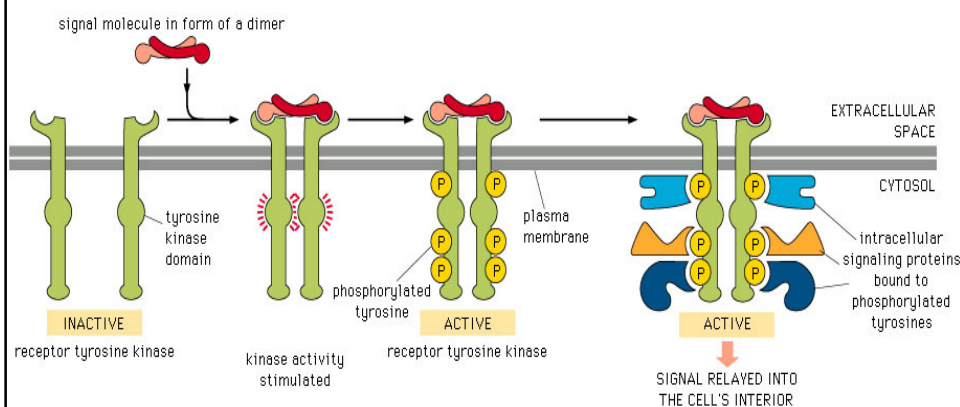
■ O tom jakou informaci Ca^{2+} signál nese, rozhoduje jeho

- LOKALIZACE
- FREKVENCE
- AMPLITUDA

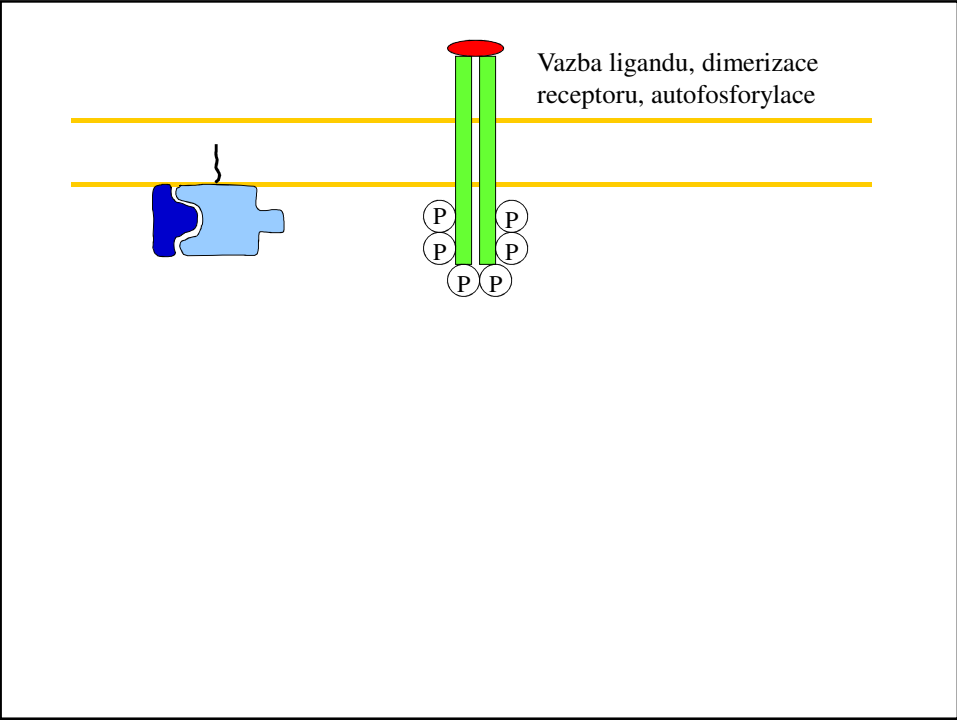
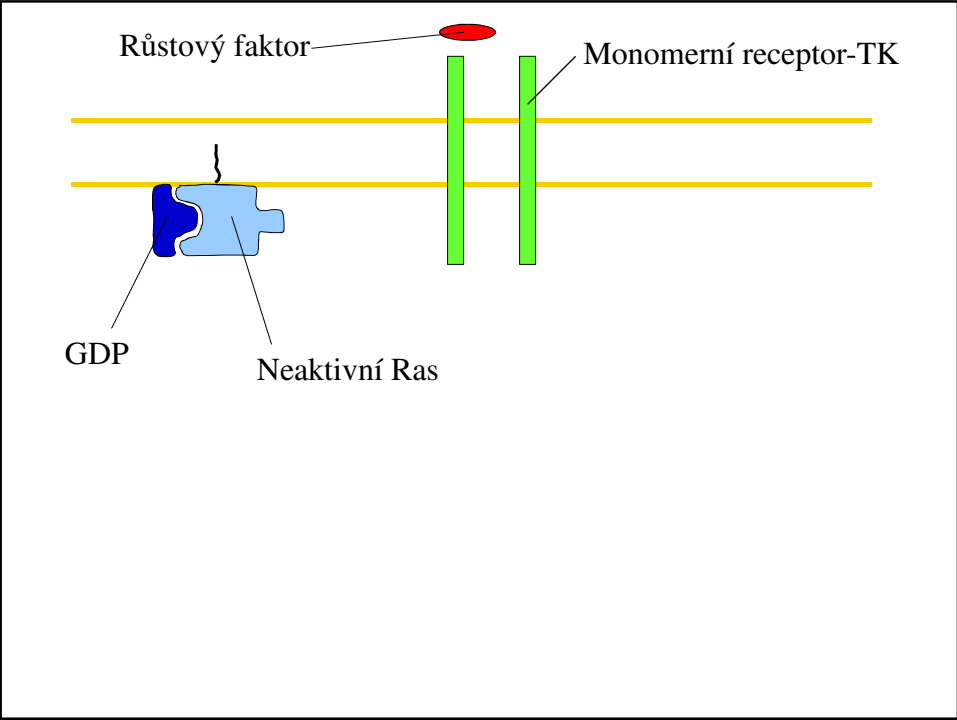
Receptory pro signální molekuly na povrchu buňky

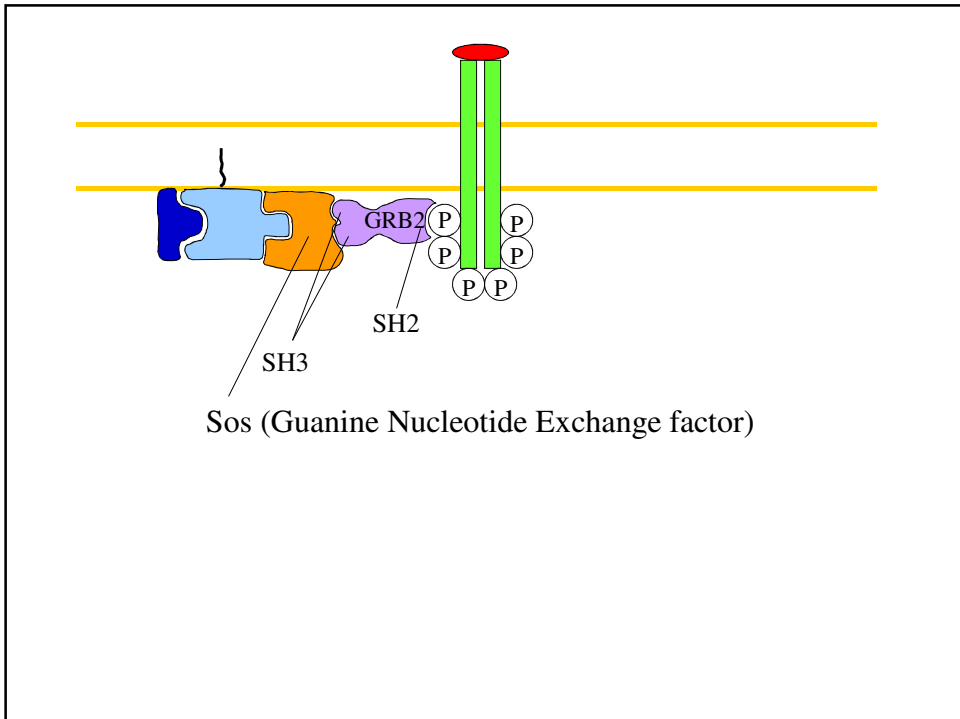
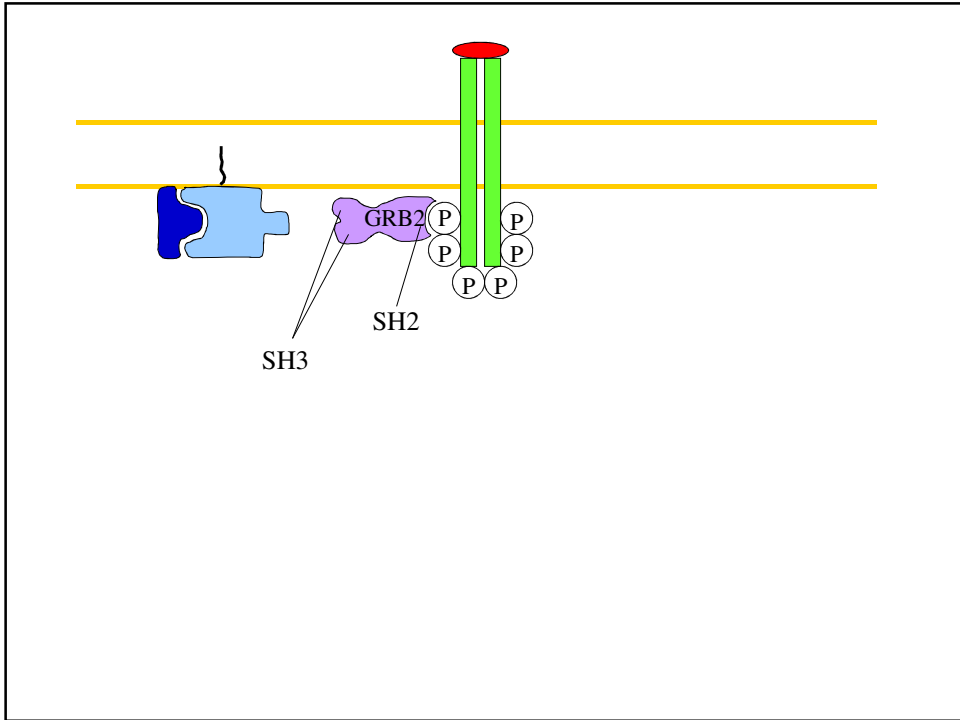
- Iontové kanály
- Receptory spřažené s G-proteiny
- **Receptory s enzymatickou aktivitou:**
 - samy mají enzymovou aktivitu: receptorové tyrosinkinázy (př. inzulin, EGF)
 - asociované s tyrosinkinázou (př. cytokiny, interleukiny)

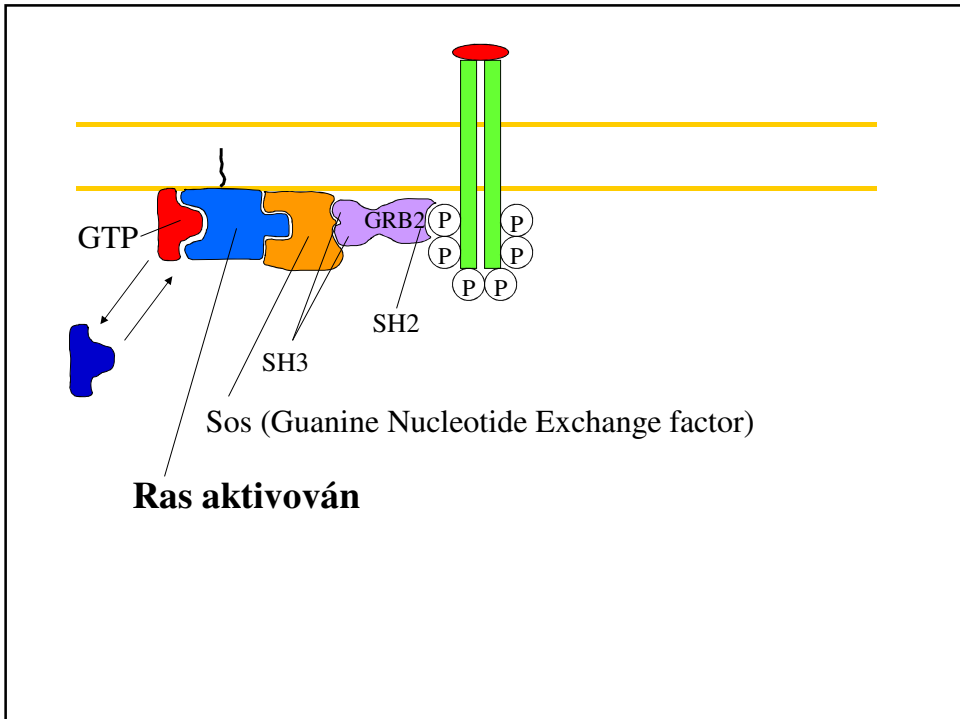
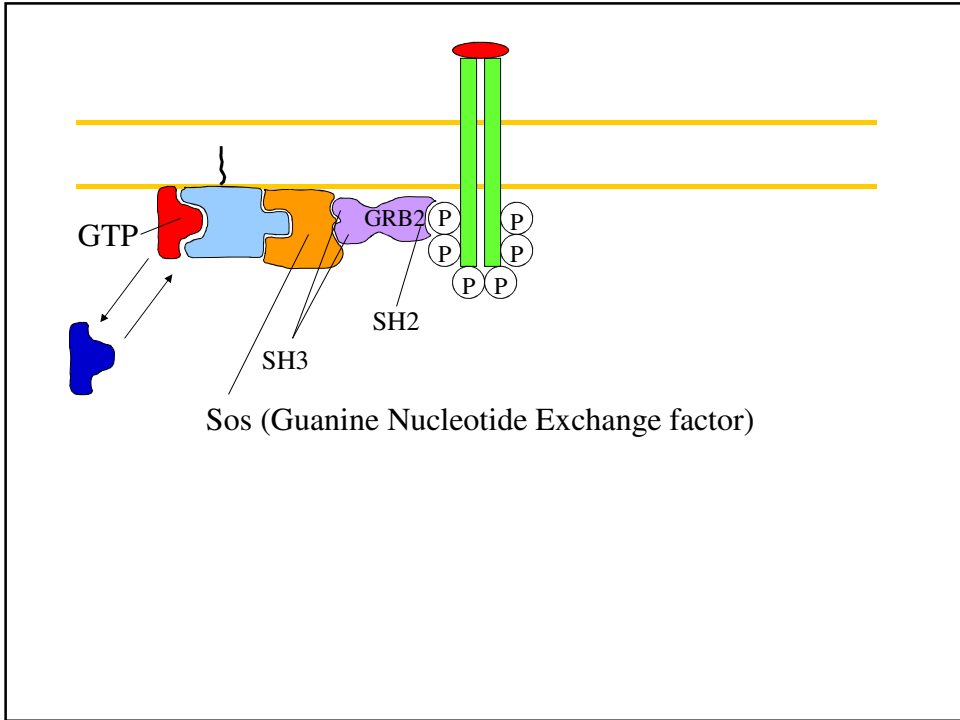
Receptorové tyrosinkinázy

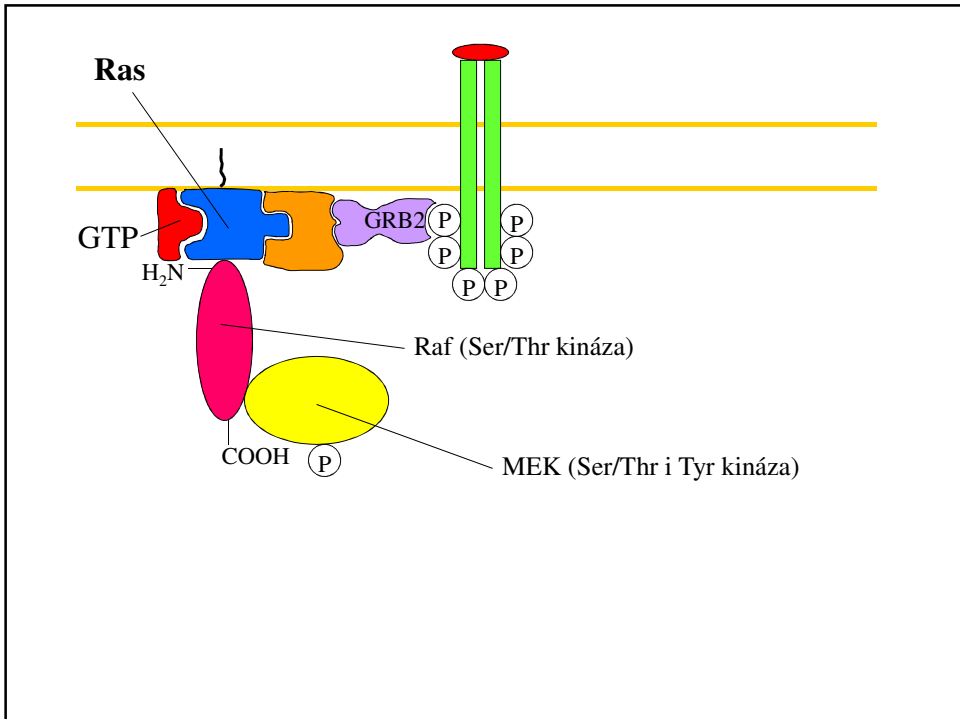
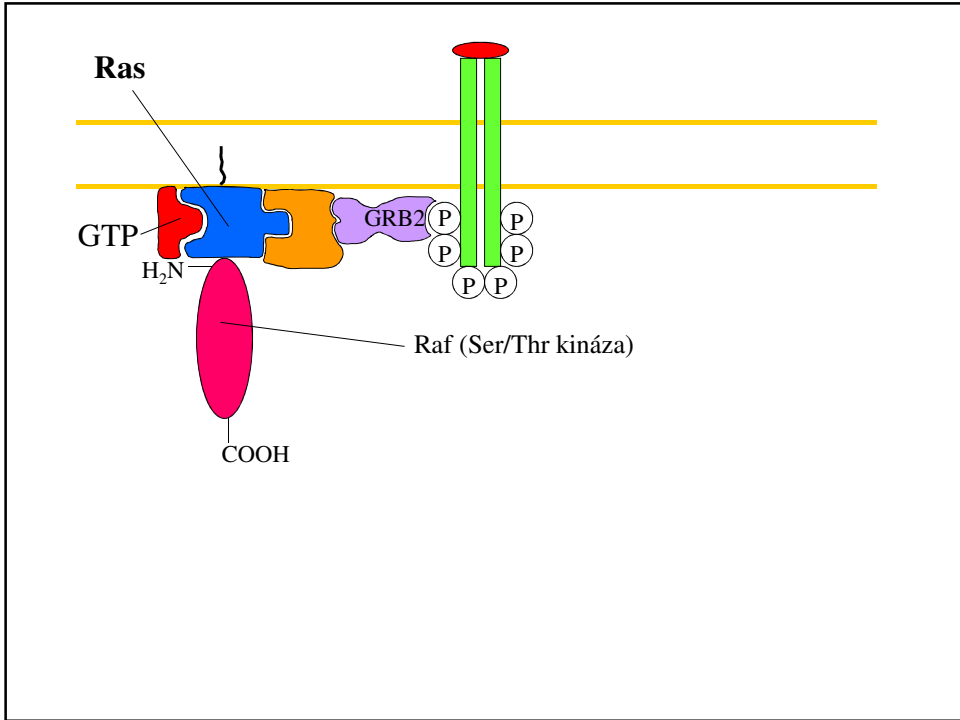


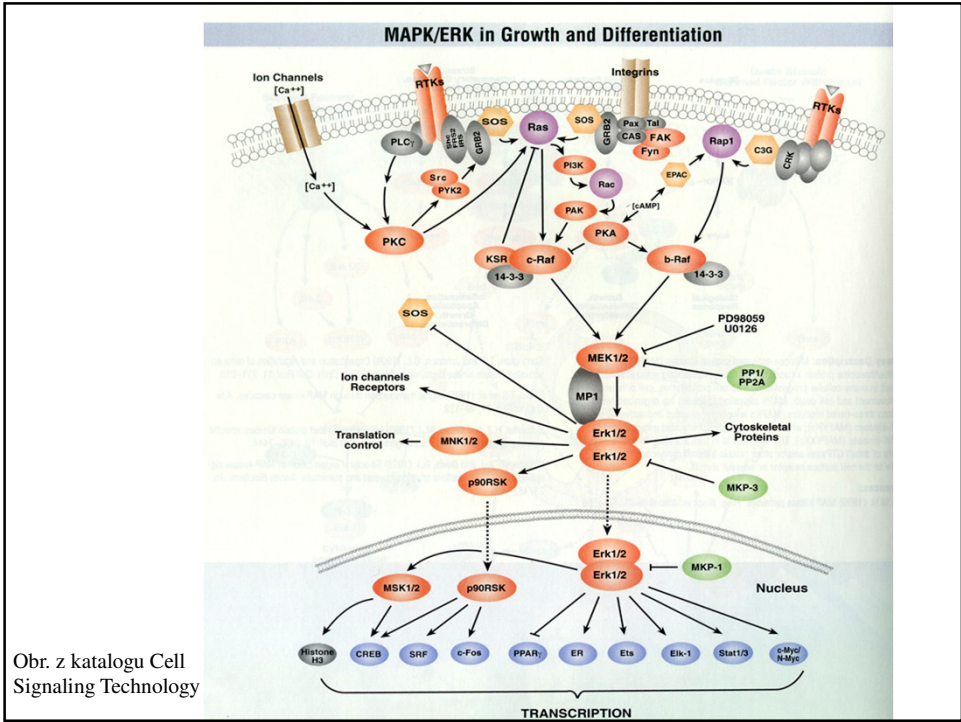
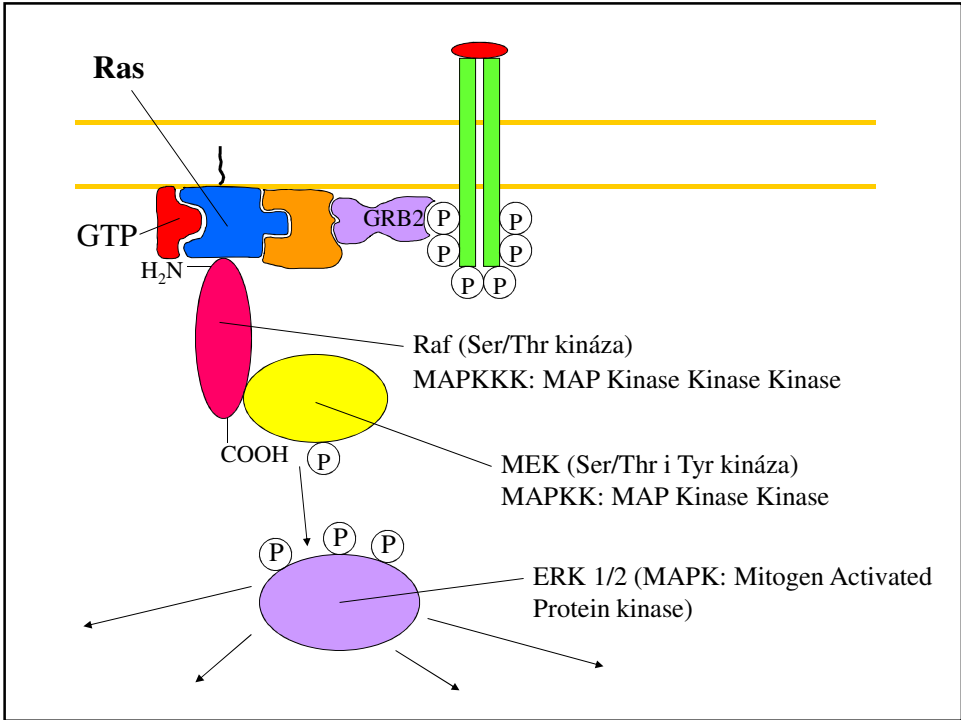
př.: Ras/MAPK



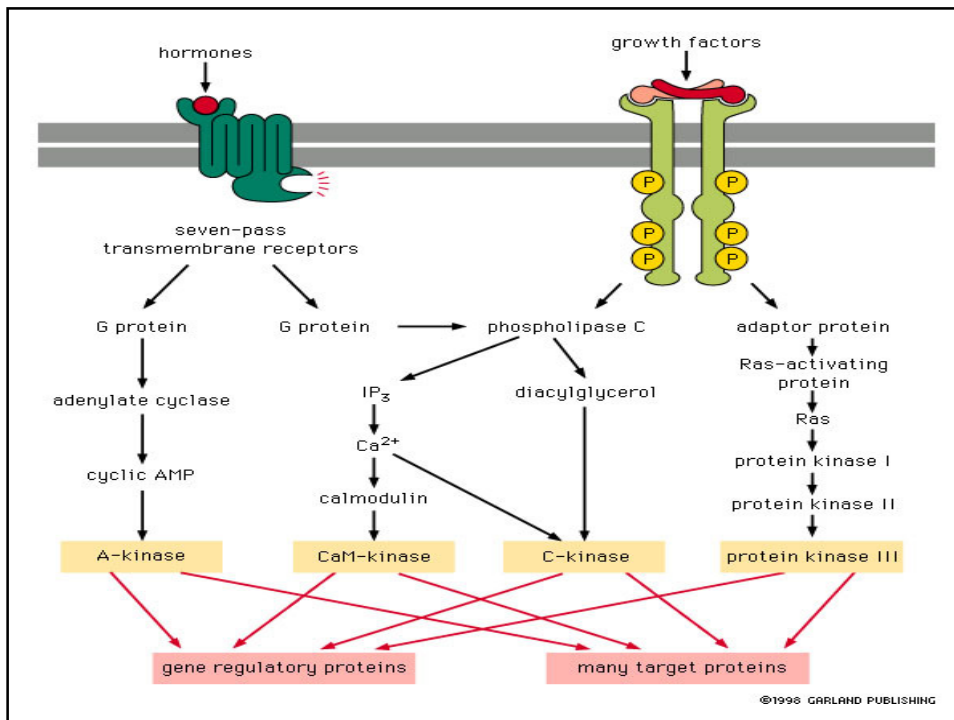








Obr. z katalogu Cell Signaling Technology

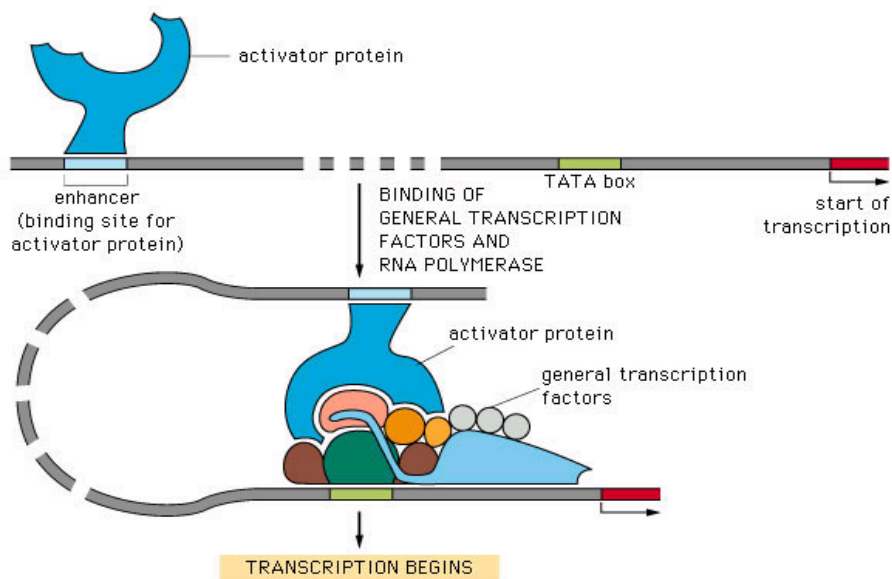


Signalizace do buněčného jádra

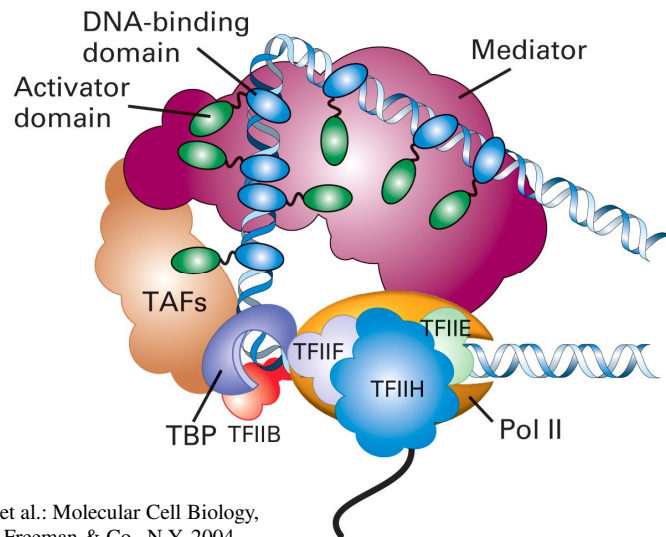
Jak signál ovlivňuje funkce proteinů

- Modifikace struktury/ funkce stávajících proteinů
- Změna spektra / množství proteinů v buňce
 - regulace genové exprese

Regulace genové transkripce u eukaryot



Model interakce více aktivátorů transkripce s mediátorovým komplexem



obr.: Lodish et al.: Molecular Cell Biology,
5. vyd., W.H.Freeman & Co., N.Y. 2004.

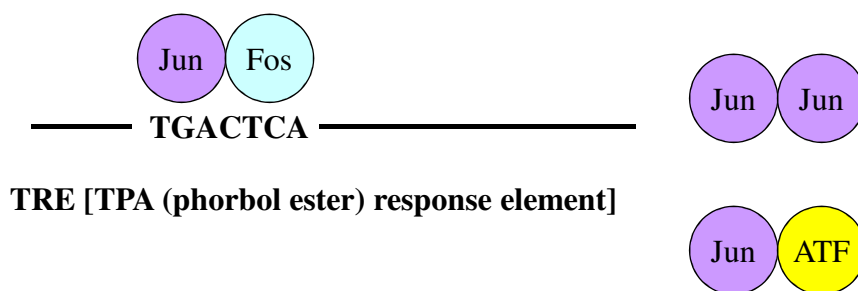
Eukaryotické transkripční faktory:

- **Rozdělení podle strukturních motivů:**
 - homeodomény
 - zinkové prsty („zinc fingers“)
 - leucinové zipy („leucine zippers“)
 - bHLH (basic Helix-Loop-Helix) proteiny

Eukaryotické transkripční faktory:

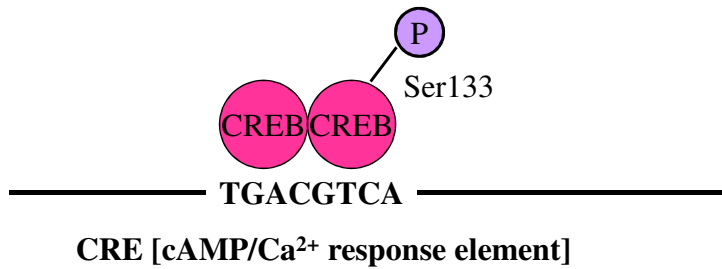
- Rozdělení podle způsobu exprese/regulace:
 - inducibilní
 - konstitutivní
 - ligandem aktivované

Inducibilní TFs: př. AP1 (Activator Protein 1)

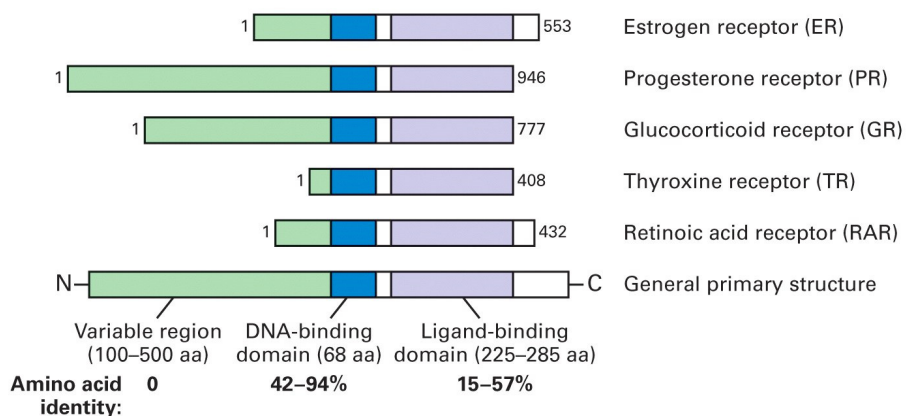


- Jun family: c-Jun, JunB, JunD
- Fos family: c-Fos, FosB, Fra-1, Fra-2

Konstitutivní TFs: př. CREB (cAMP/Ca²⁺ response element binding protein)

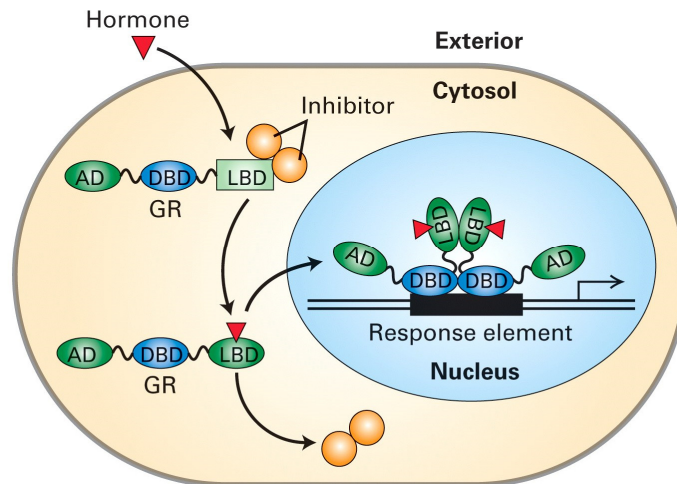


Ligandem-aktivované TFs: Nadrodina jaderných receptorů



obr.: Lodish et al.: Molecular Cell Biology, 5. vyd., W.H.Freeman & Co., N.Y. 2004.

Receptory pro glukokortikoidy a estrogény jsou ligandem aktivované transkripční faktory, které translokují do jádra

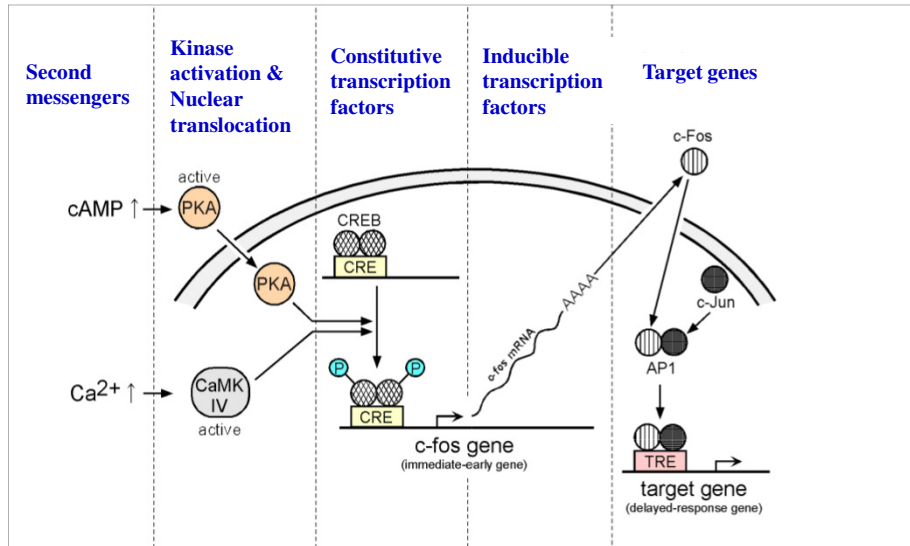


obr.: Lodish et al.: Molecular Cell Biology, 5. vyd., W.H.Freeman & Co., N.Y. 2004.

Signalizace do buněčného jádra

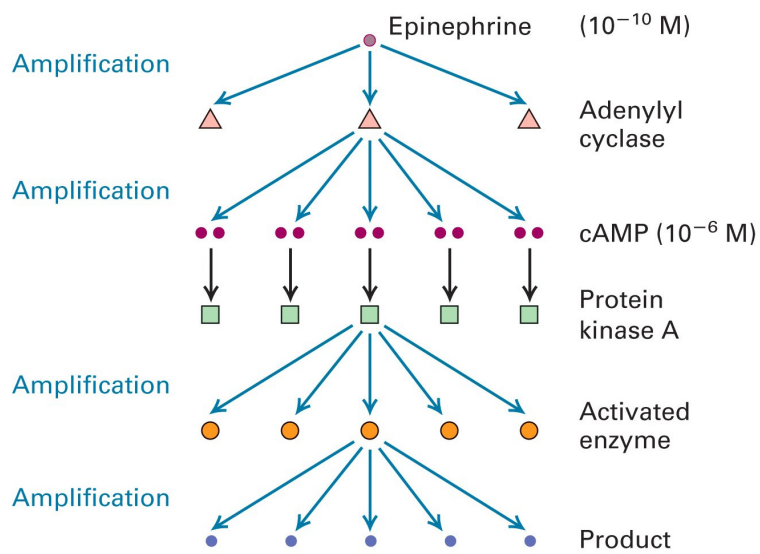
- do jádra jde
 - ligand
 - receptor
 - transkripční faktor
 - jiná signální molekula (kinasa, druhý posel)

Kaskáda transkripční odpovědi



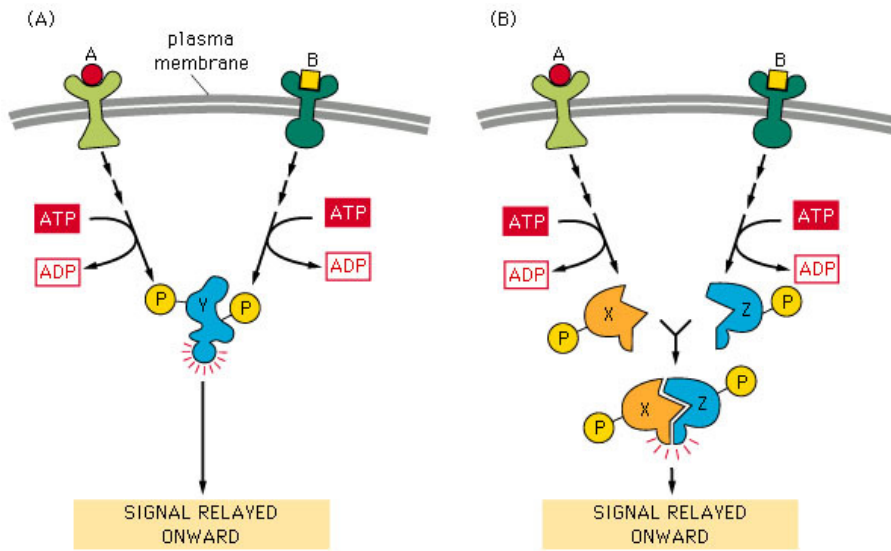
obr.: Pláteník et al., Life Sci. 2000: 67, 335-364.

Amplifikace signálu

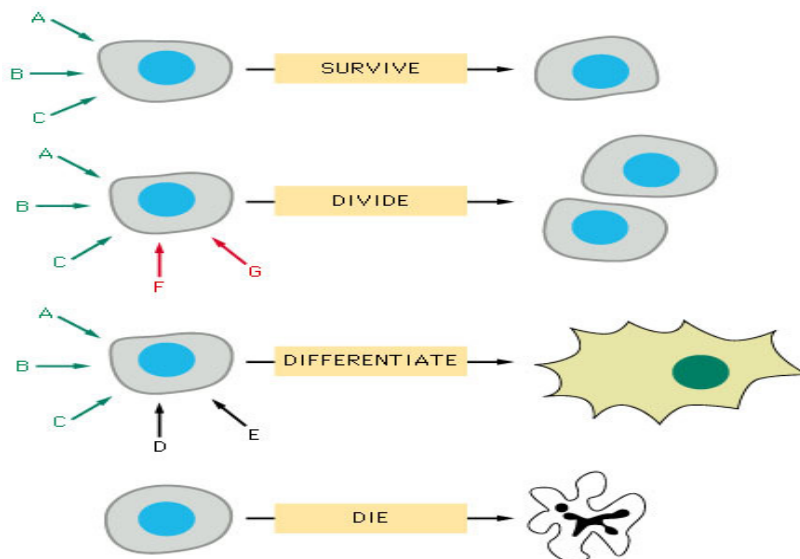


© GARLAND PUBLISHING 1998

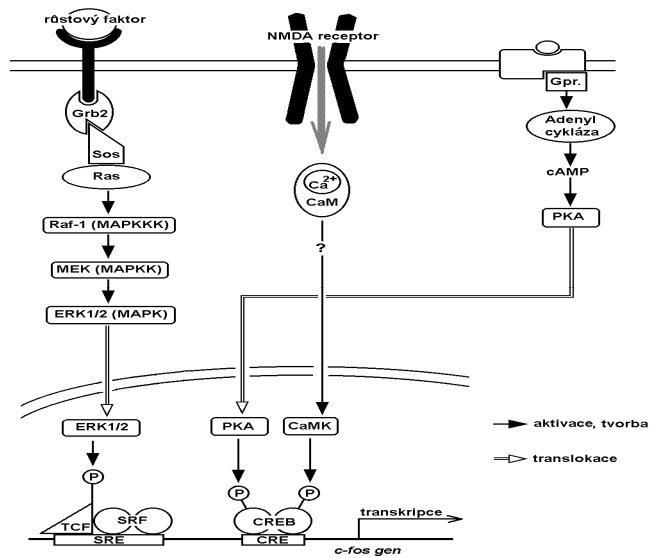
Integrace signálu



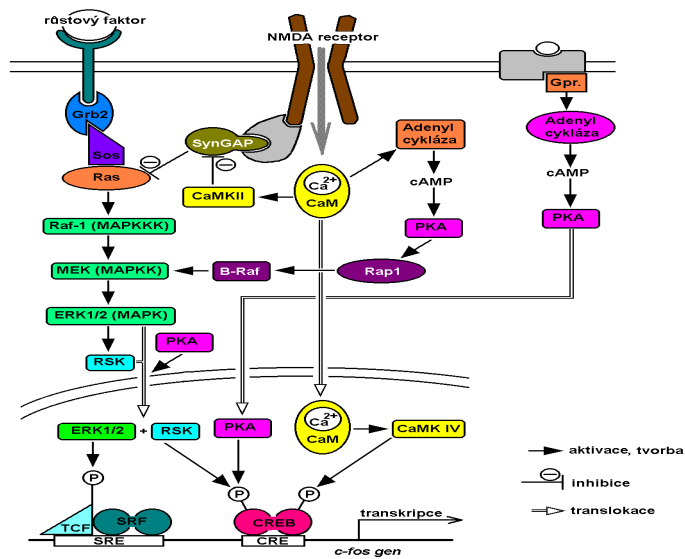
Buňka reaguje na souhrn signálů:



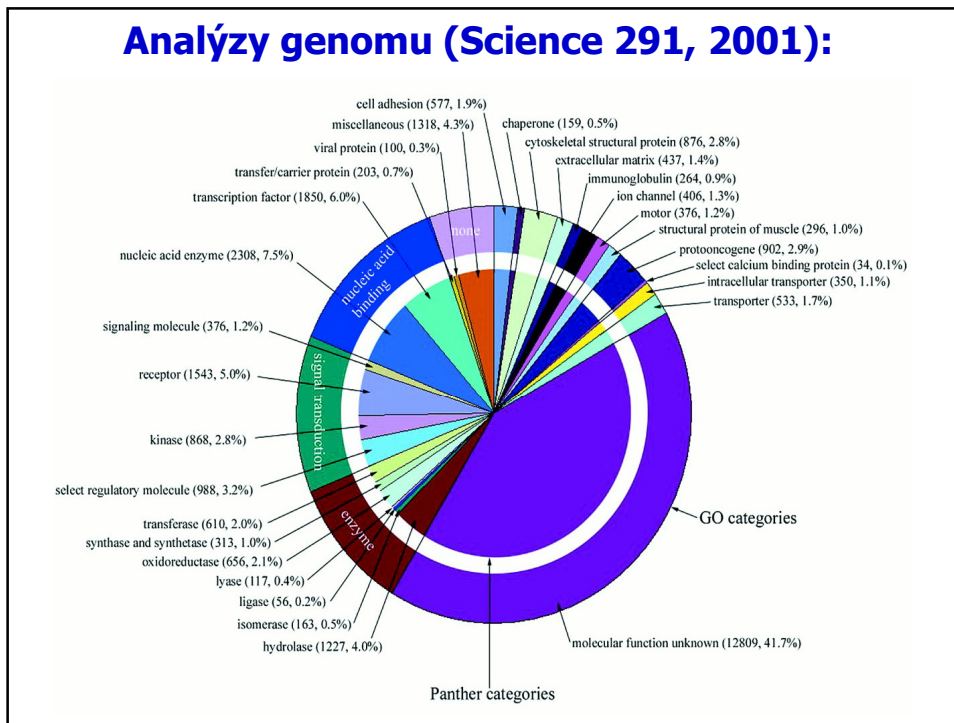
Cross-talk signálních drah



Cross-talk signálních drah



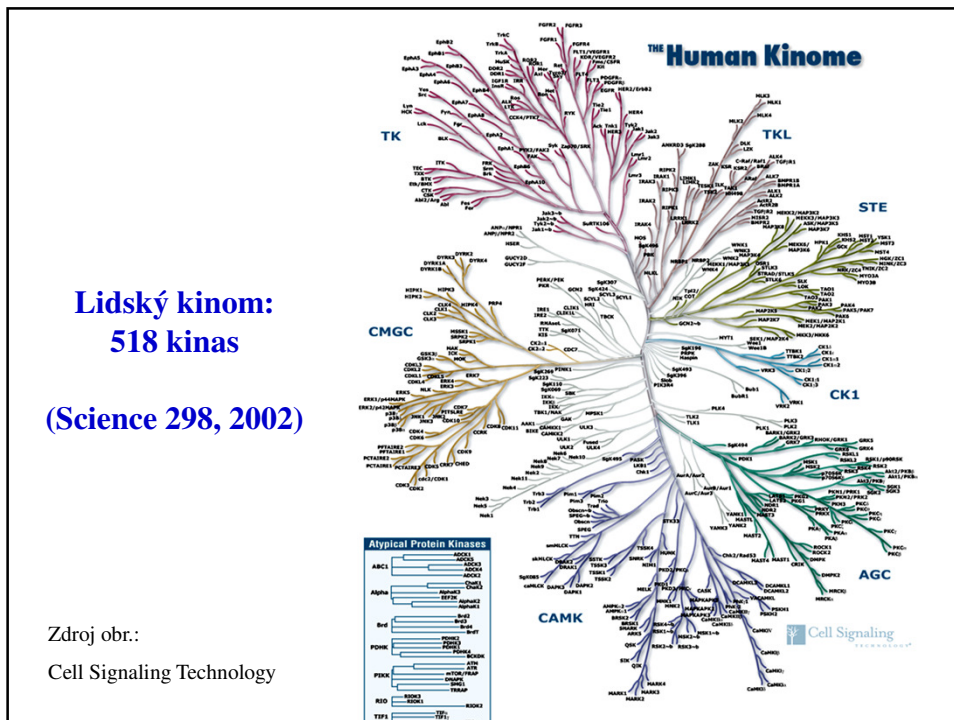
Analyzy genomu (Science 291, 2001):



Lidský kinom: 518 kinas

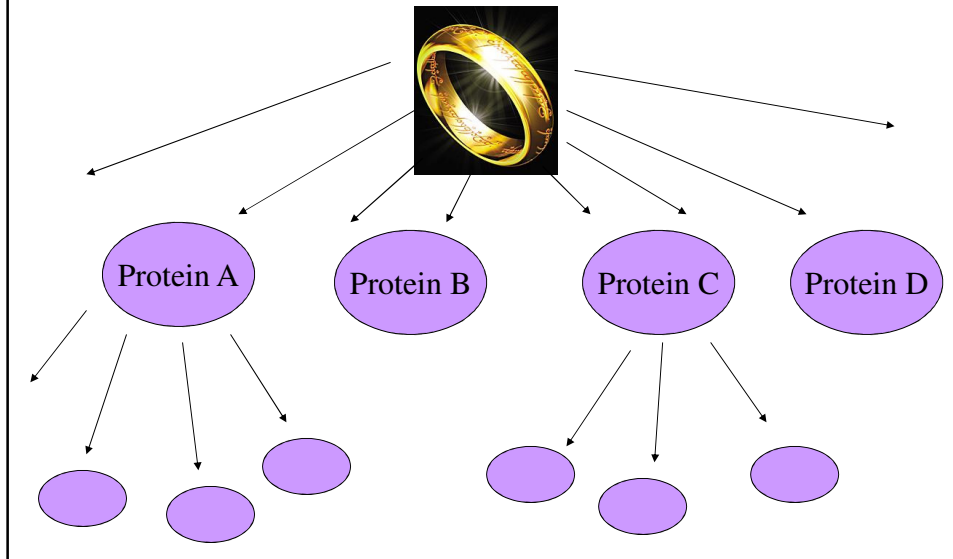
(Science 298, 2002)

Zdroj obr.:
Cell Signaling Technology



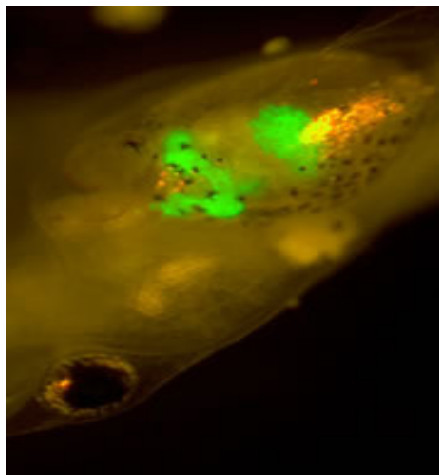
“MASTER SWITCH”:

Jeden gen/protein vládnoucí všem ...



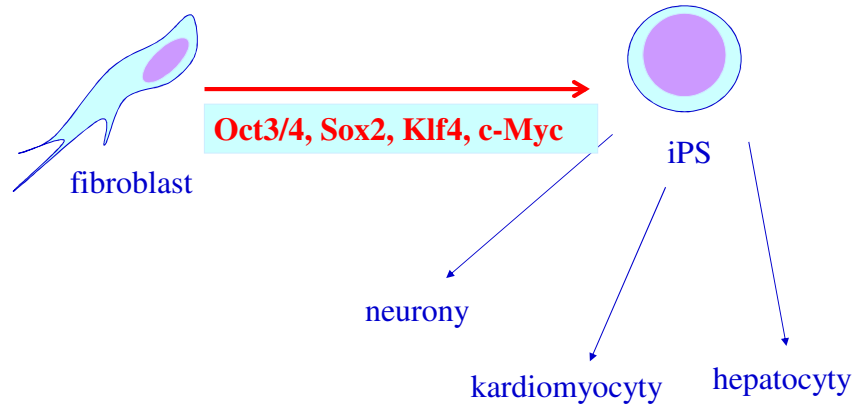
Horb, M.E., et al.:

Experimental conversion of liver to pancreas.
***Current Biology*, 13, 105 - 115, (2003).**

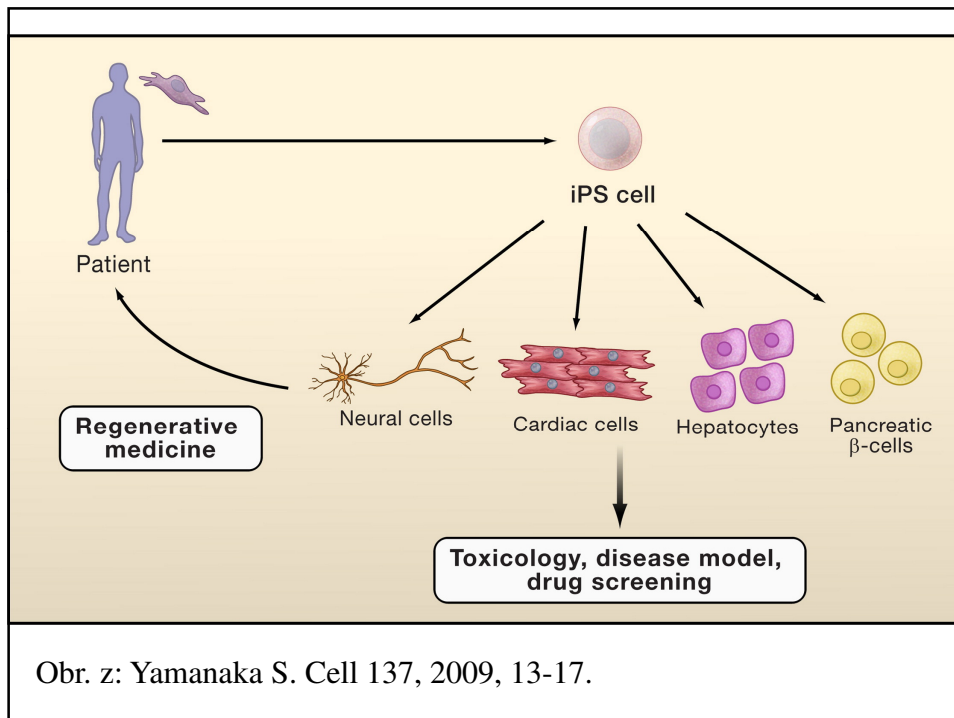


- Transientní exprese jediného genového konstrukt, kódující modifikovaný klíčový TF *Pdx1*, změni trvale jaterní buňku na pankreatickou, produkující inzulin, glukagon a amylasu...

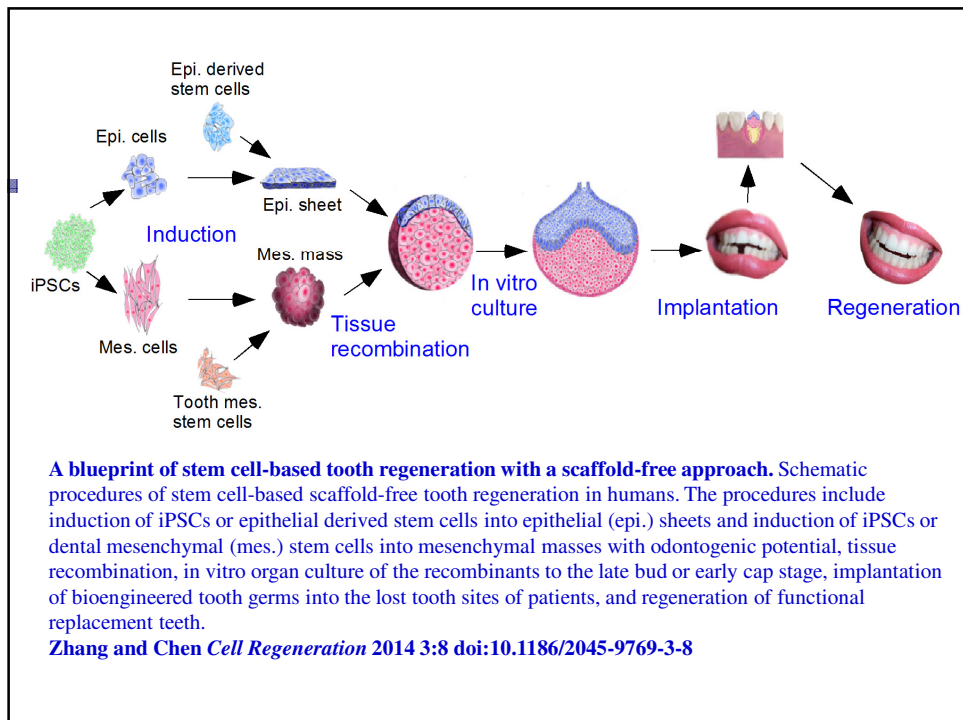
Somatické buňky lze přeprogramovat na pluripotentní kmenové buňky !



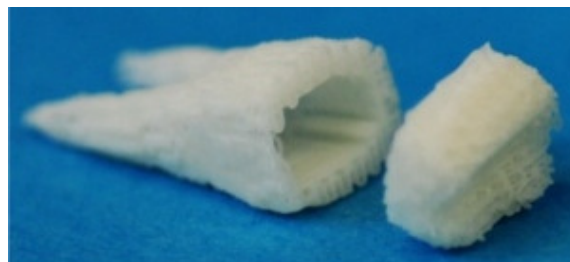
Takahashi K & Yamanaka S. Cell 126, 2006, 663-676



Obr. z: Yamanaka S. Cell 137, 2009, 13-17.



“When dental stem cell therapies become routine it will be historic, and the most fantastic time to practice as a dentist.”



<http://singularityhub.com/2012/05/10/toothless-no-more-researchers-using-stem-cells-to-grow-new-teeth/>

Citát: prof. Peter Murray, College of Dental Medicine, Nova Southeastern University