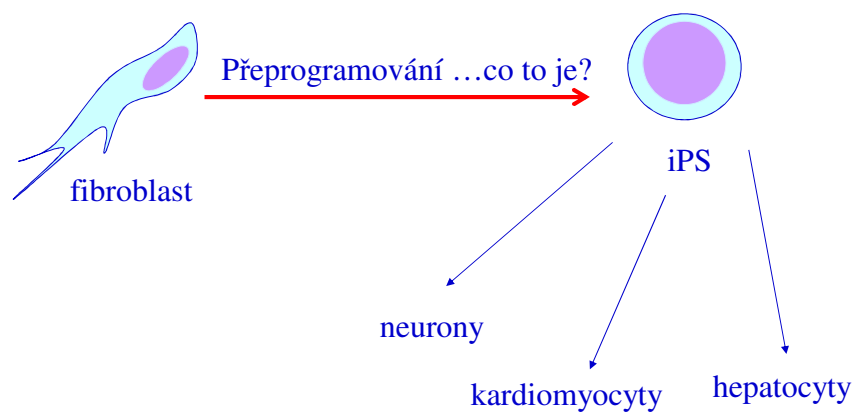


Obecné mechanismy buněčné signalizace

Signalizace do buněčného jádra

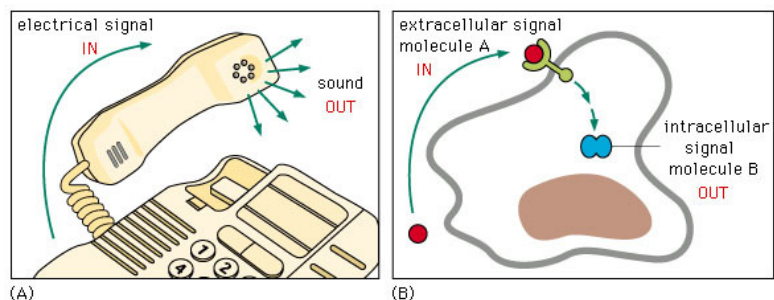
MUDr. Jan Pláteník, PhD.
Ústav lékařské biochemie 1.LF UK

Somatické buňky lze přeprogramovat na pluripotentní kmenové buňky !



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

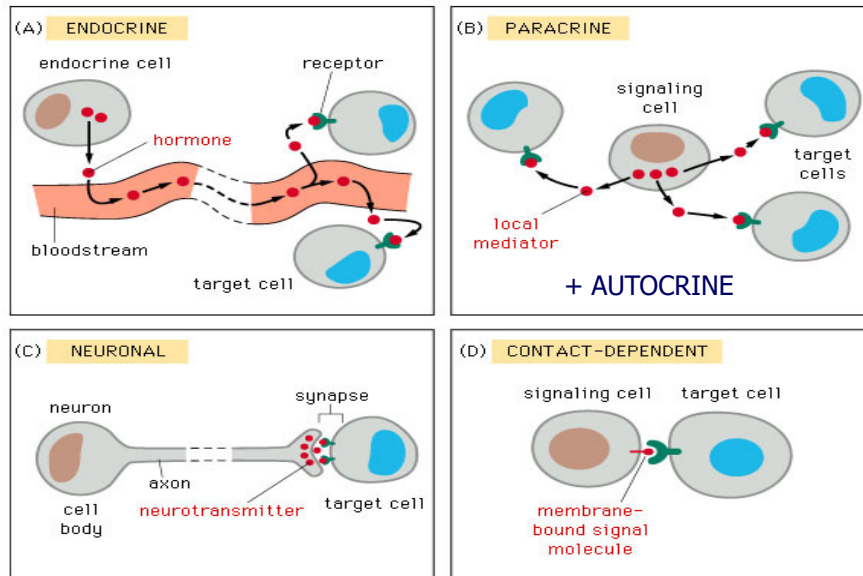
Obecné mechanismy buněčné signalizace



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:



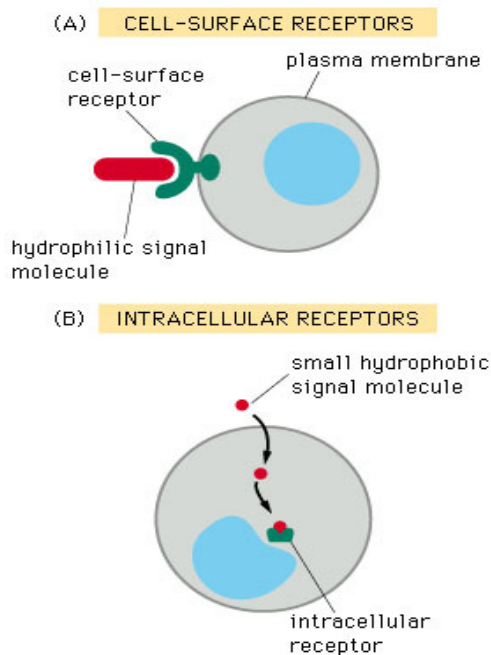
Signální molekula (ligand):

- **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, CO, H₂S**

Receptor

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

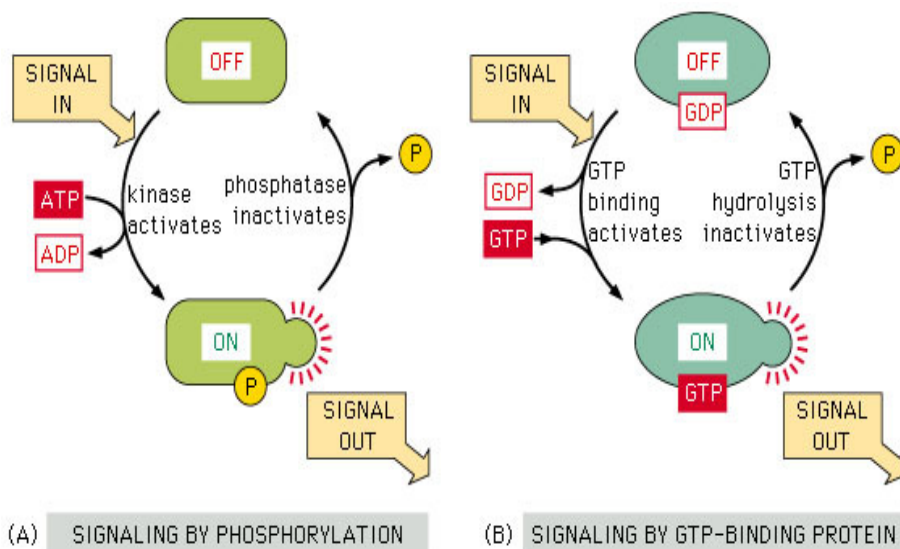
Dvě třídy signálních molekul



Second Messengers:

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

Molekulární vypínače



©1998 GARLAND PUBLISHING

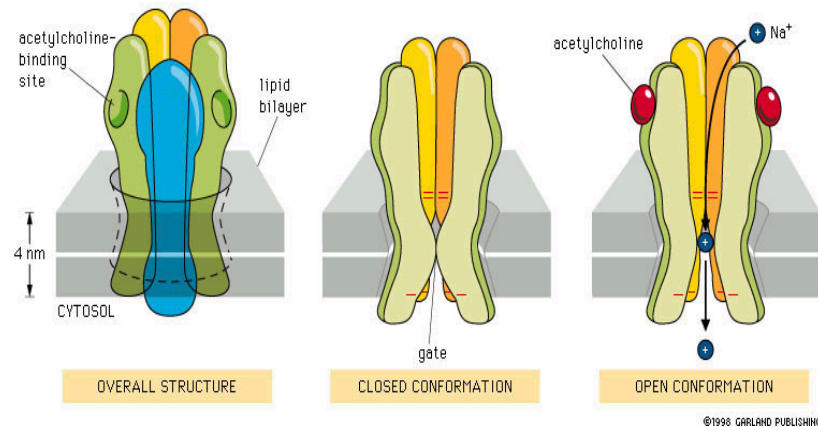
Ukončení signálu:

- **Desenzitizace receptoru**
 - endocytoza & degradace
 - fosforylace
- **Rozklad nebo odstranění signální molekuly**
 - cAMP: fosfodiesteráza
 - Calcium: Ca pumpy
- **Defosforylace proteinfosfatázami**

Receptory pro signální molekuly na povrchu buňky

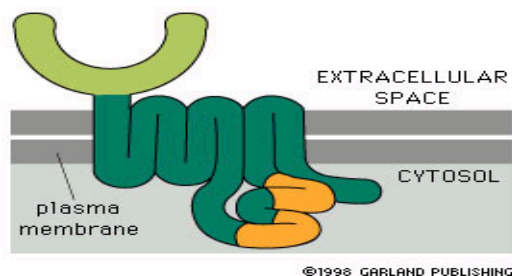
- **Iontové kanály**
 - pro Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^-
 - např. Receptor pro acetylcholin, GABA, glutamát, glycin
- **“Seven-spanning” vázané na G-proteiny**
- **Receptory vázané na enzym:**

Svalový receptor pro acetylcholin



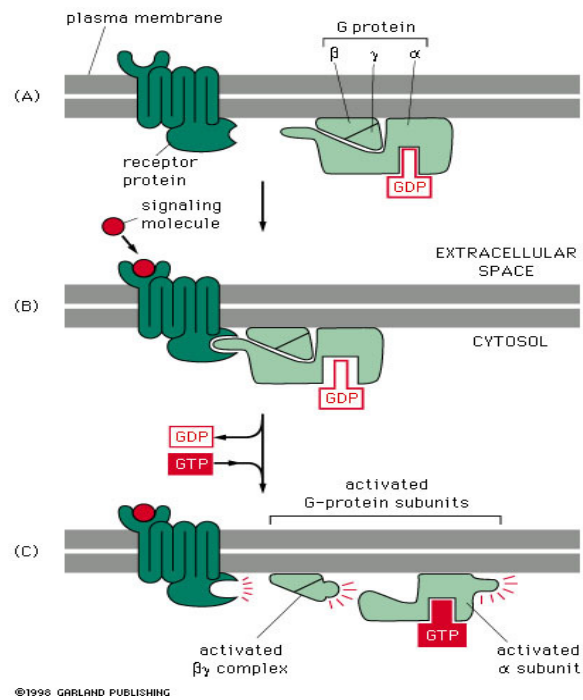
Receptory pro signální molekuly na povrchu buňky

- Iontové kanály
- "Seven-spanning" vázané na G-proteiny



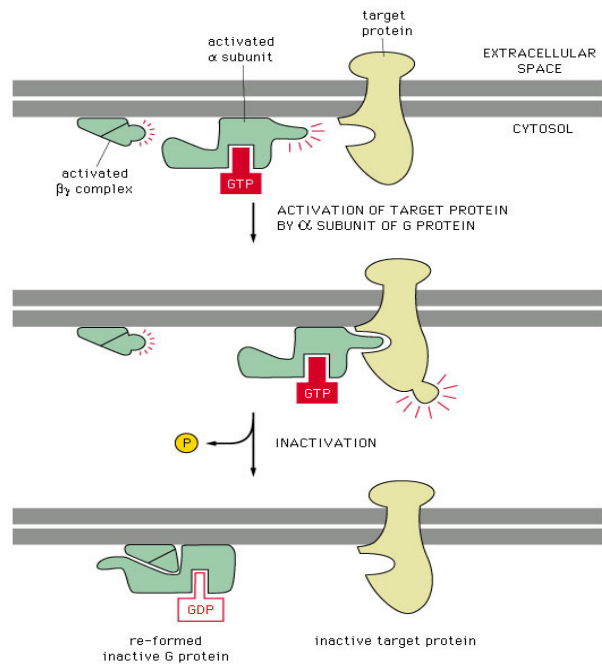
- Receptory vázané na enzym

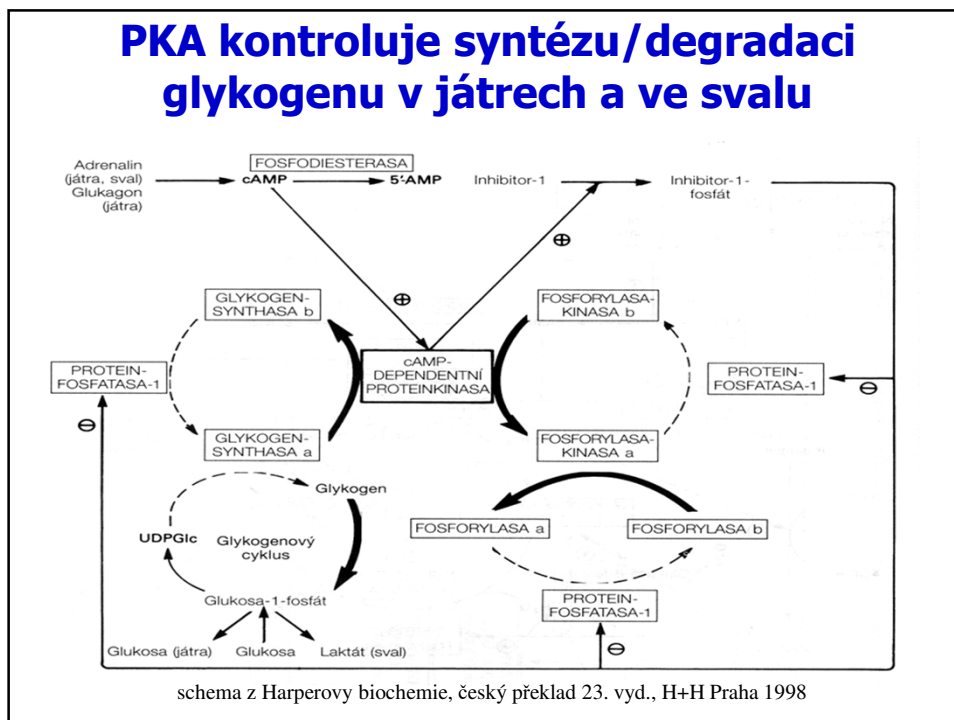
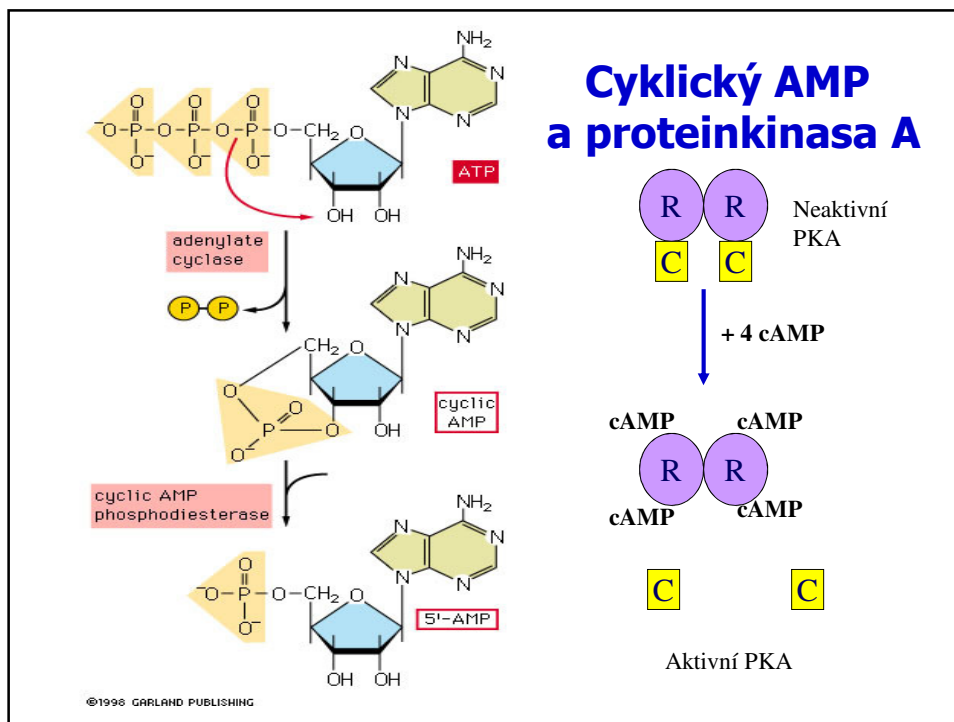
Aktivace G-proteinu



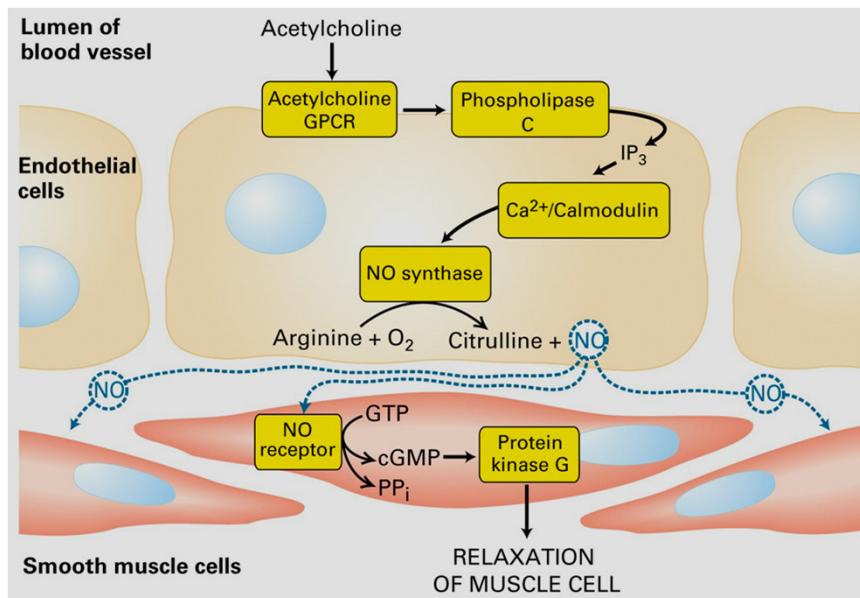
Cílové molekuly pro G-proteiny:

- membránové enzymy
- iontové kanály

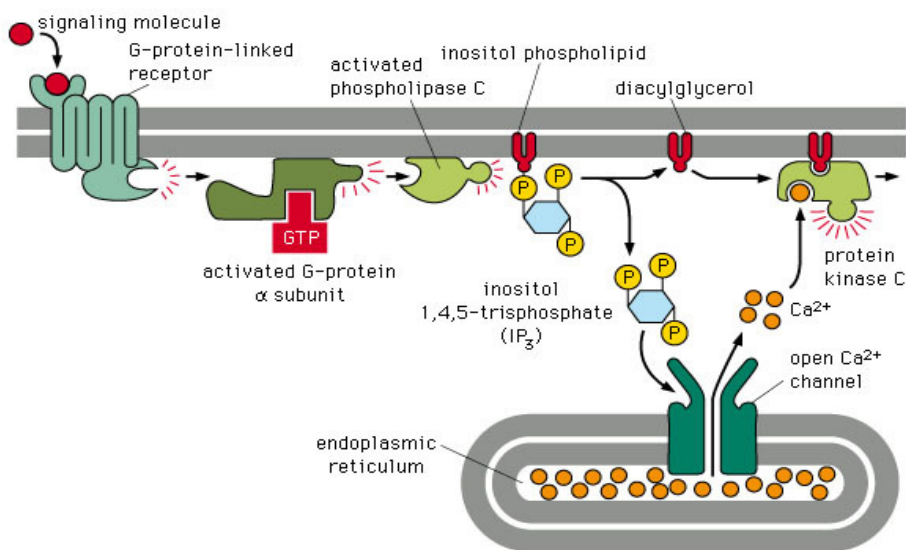




NO signalizace přes guanylátcyklu:



Signální cesta fosfolipázy C

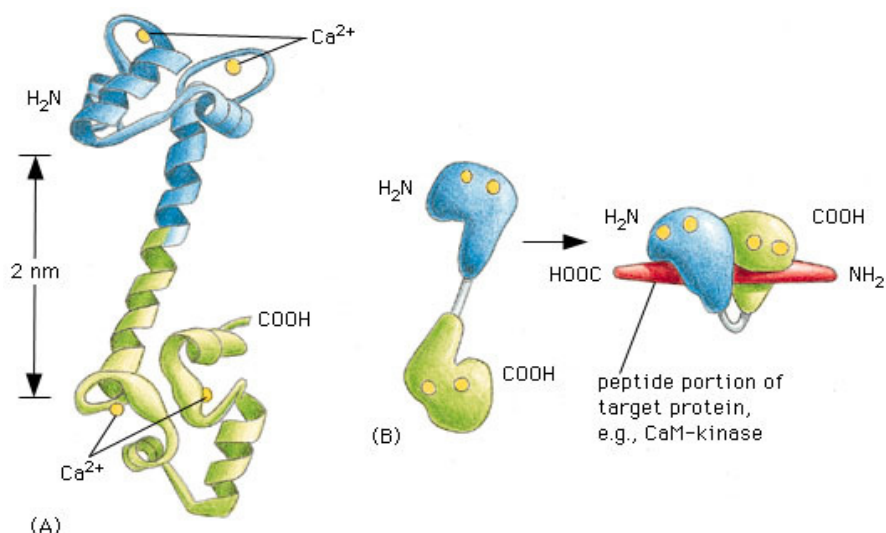


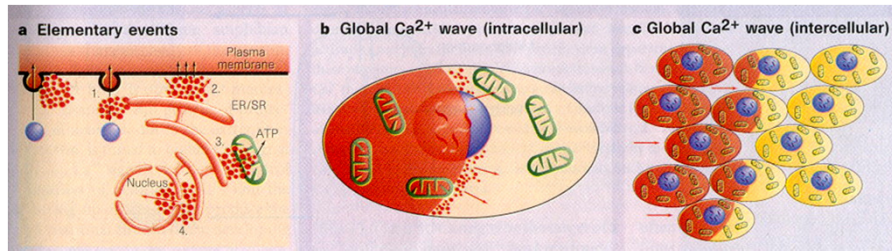
©1998 GARLAND PUBLISHING

Calcium v buňce:

- V cytoplasmě jen 0.1-0.2 μM , cca 1 μM je již signál
- Zdroj signálu je:
 - zvnějšku:
 - ligandem aktivované Ca^{2+} kanály
 - napětím řízené Ca^{2+} kanály
 - ze zásob v ER:
 - PI3 receptor/kanál
 - ryanodinový receptor/kanál
 - závislý na membránovém potenciálu (kosterní sval)
 - závislý na Ca^{2+} (srdce, CNS)

Kalmodulin (148 AMK)





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

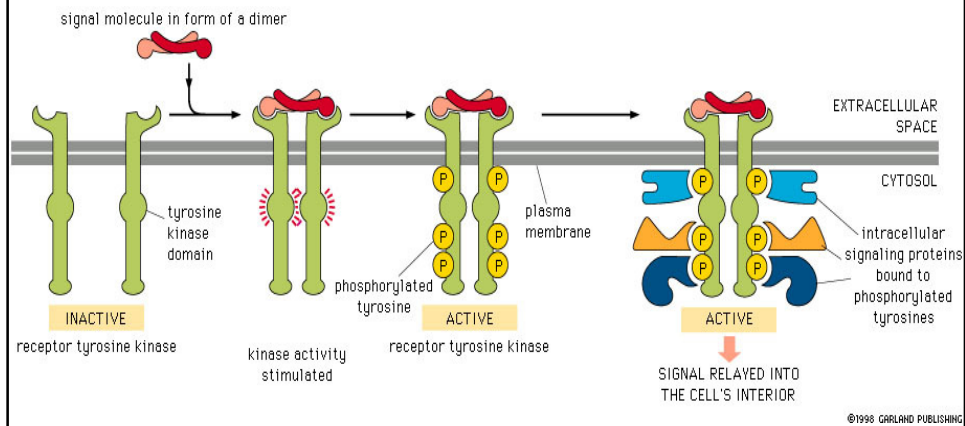
■ O tom jakou informaci Ca²⁺ signál nese, rozhoduje jeho

- LOKALIZACE
- FREKVENCE
- AMPLITUDA

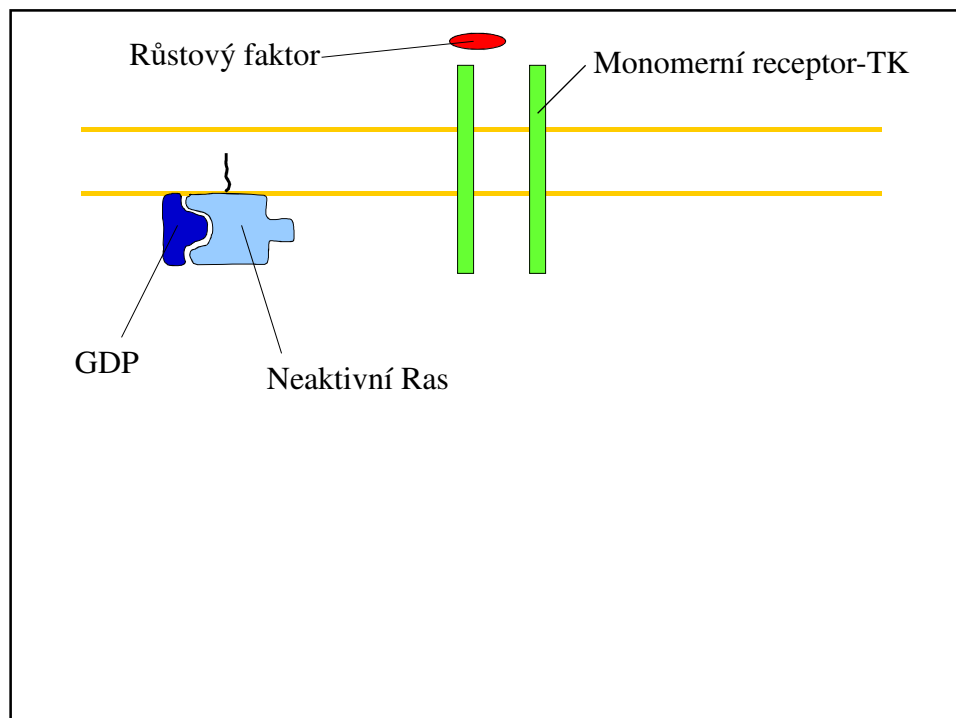
Receptory pro signální molekuly na povrchu buňky

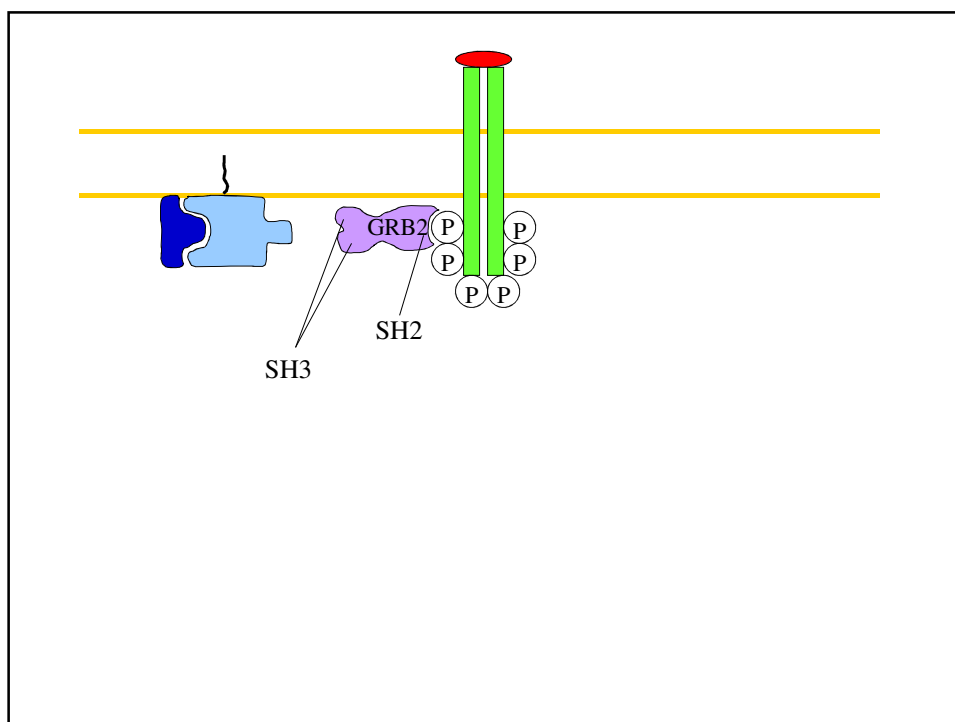
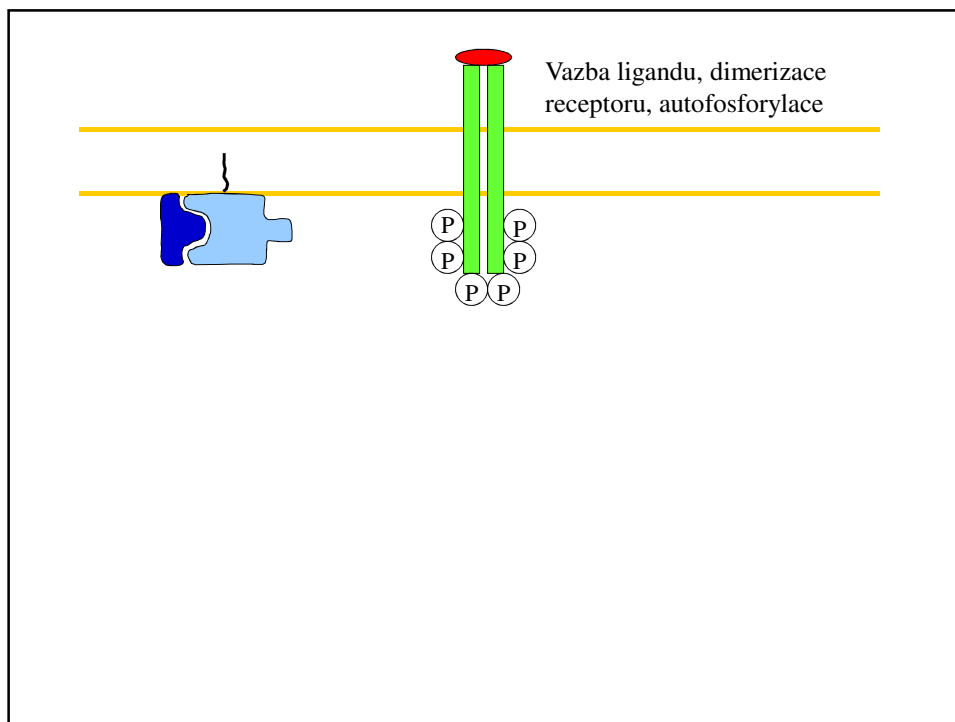
- Iontové kanály
- "Seven-spanning" vázané na G-proteiny
- Receptory vázané na enzym:
 - samy mají enzymovou aktivitu: receptorové tyrosinkinázy (př. inzulin, EGF)
 - asociované s tyrosinkinázou (př. cytokiny, interleukiny)

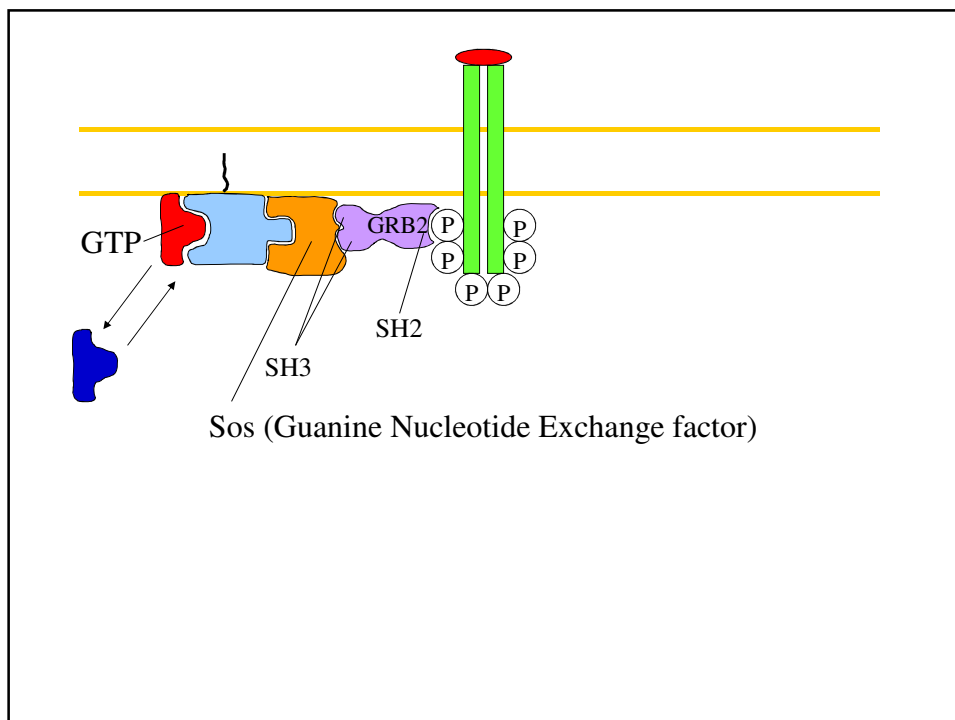
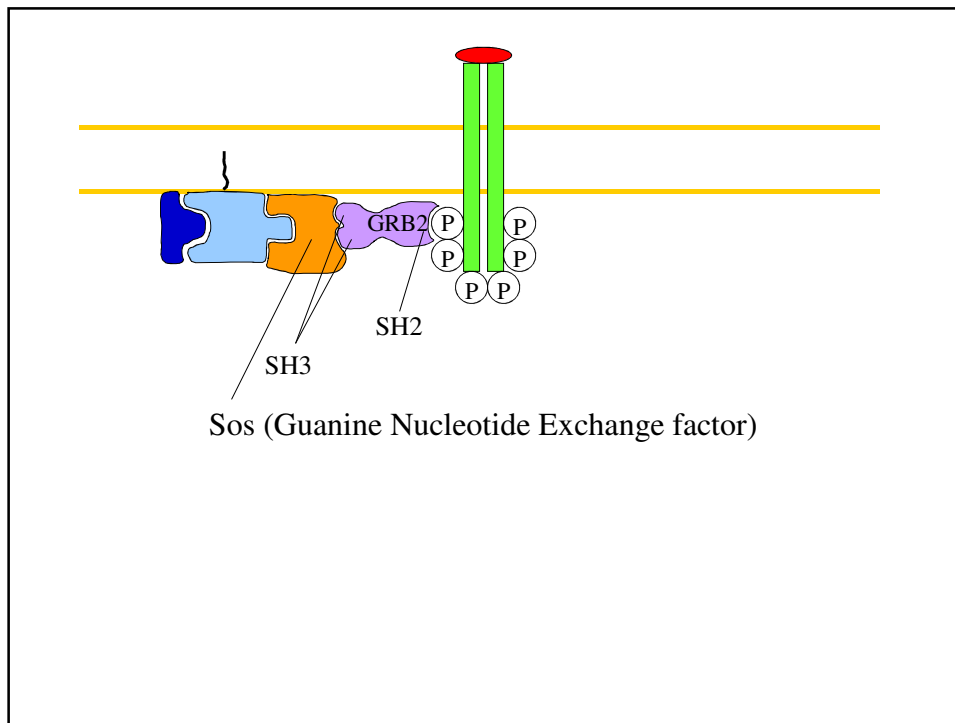
Receptorové tyrosinkinázy

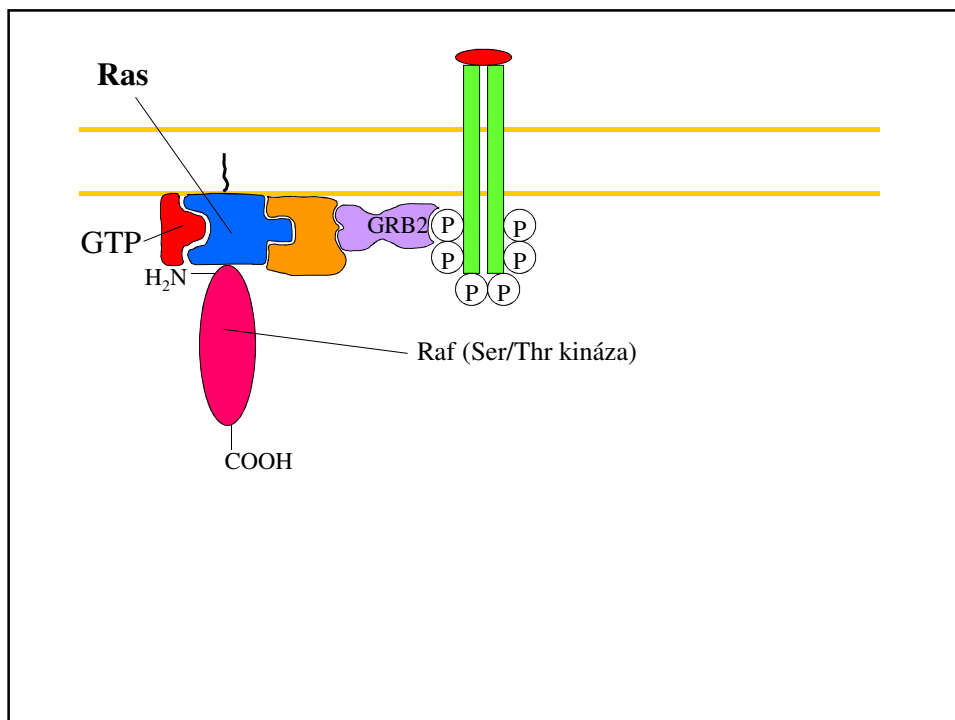
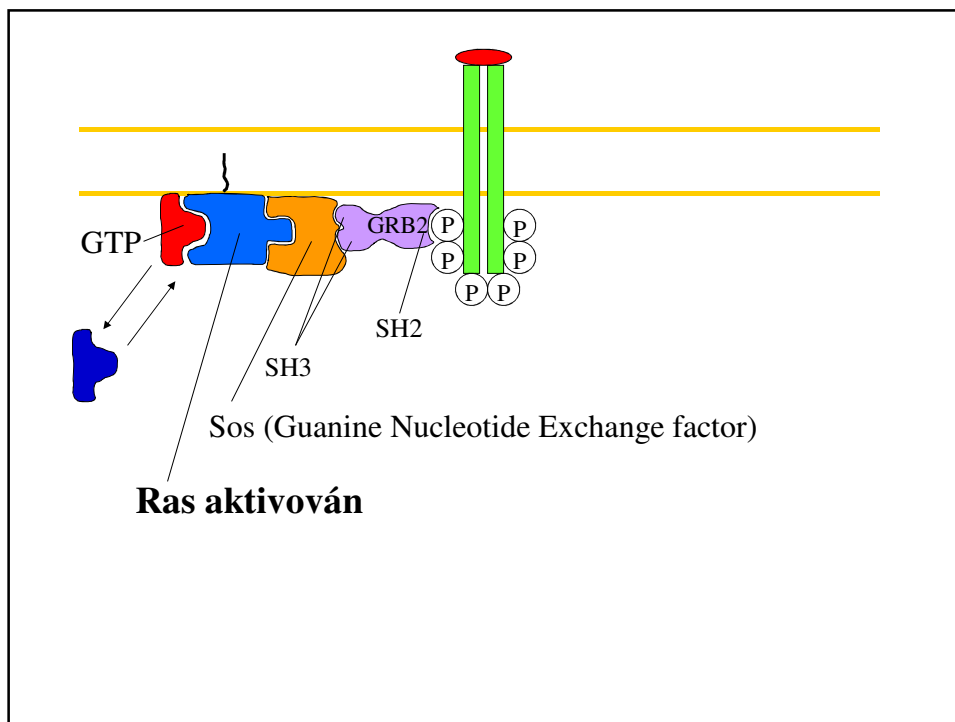


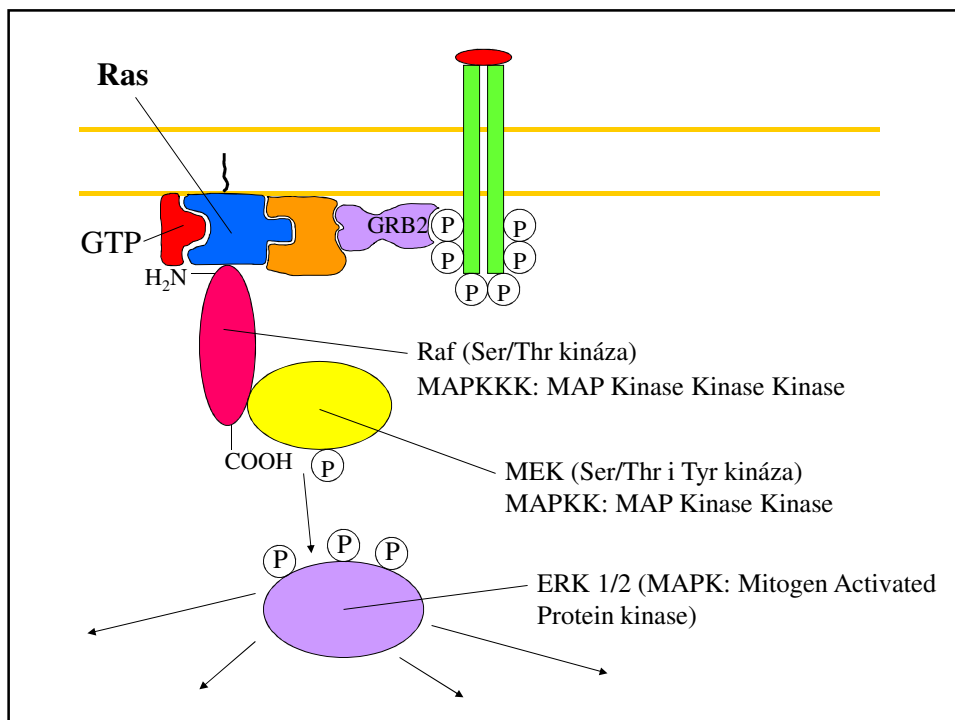
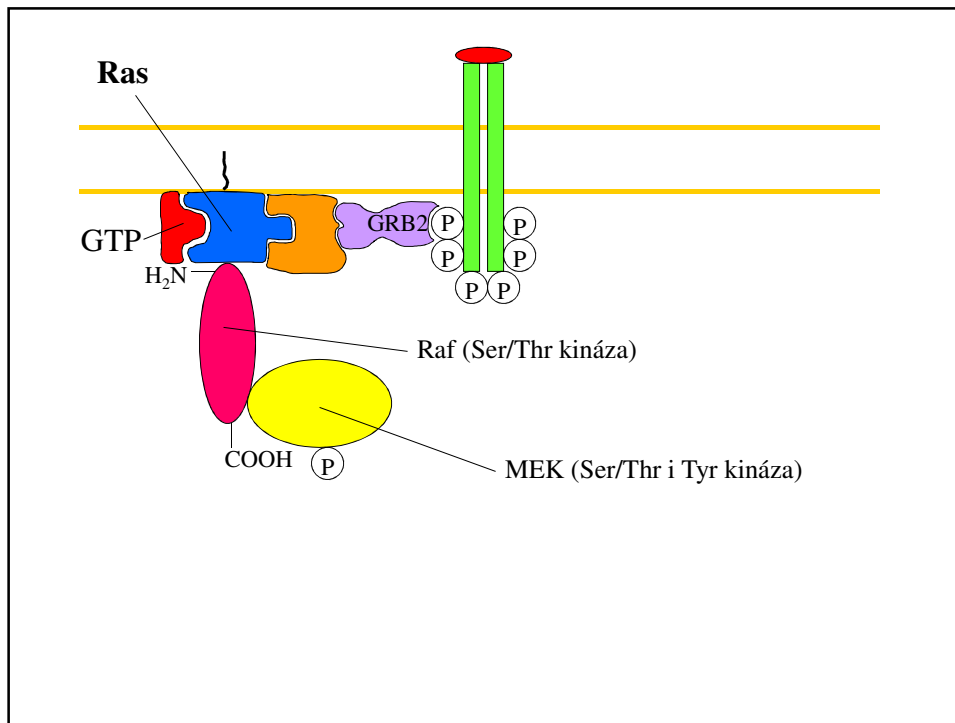
př.: Ras/MAPK

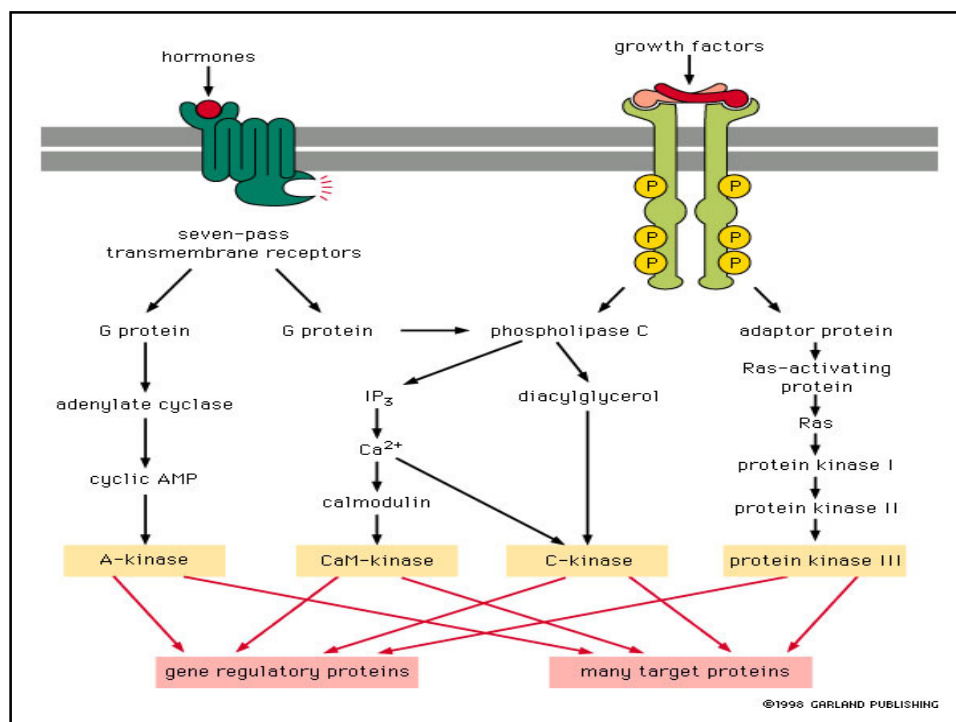
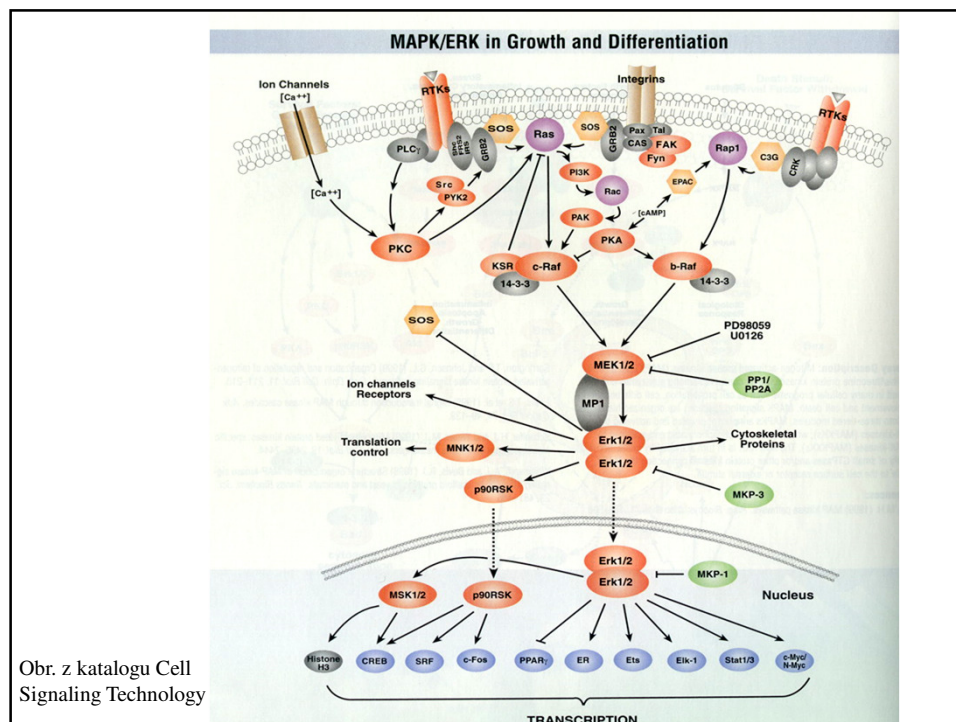










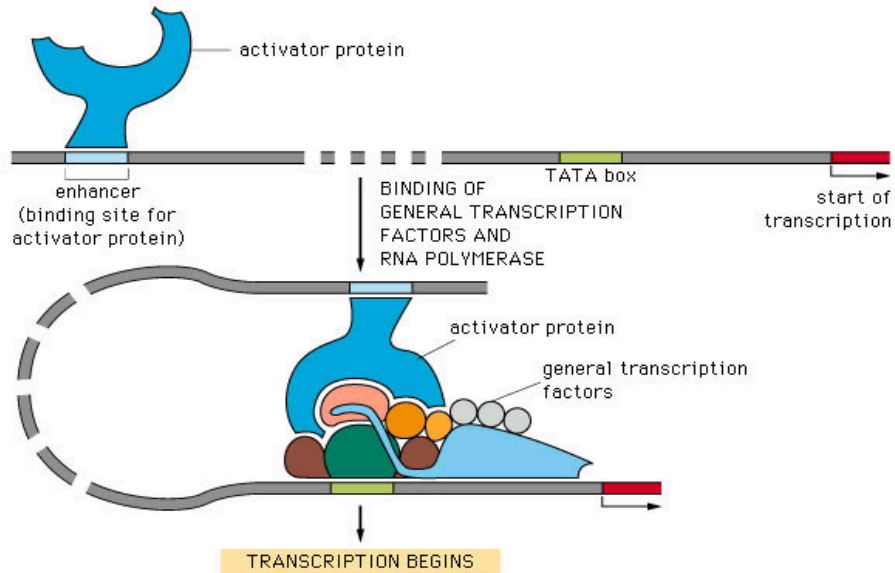


Signalizace do buněčného jádra

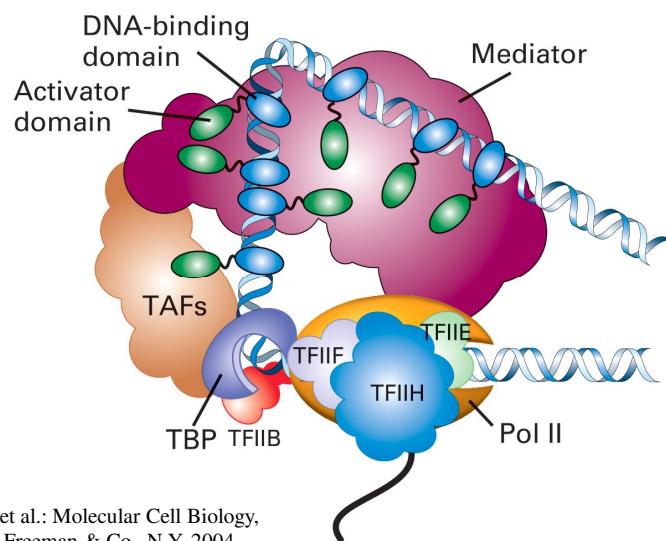
Jak signál ovlivňuje funkce proteinů

- **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:

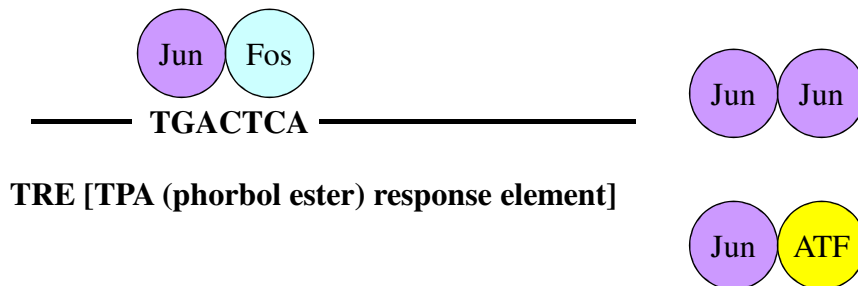
- homeodomény
- zinkové prsty („zinc fingers“)
- leucinové zipy („leucine zippers“)
- bHLH (basic Helix-Loop-Helix) proteiny

Eukaryotické transkripční faktory:

■ Rozdělení podle způsobu exprese/regulace:

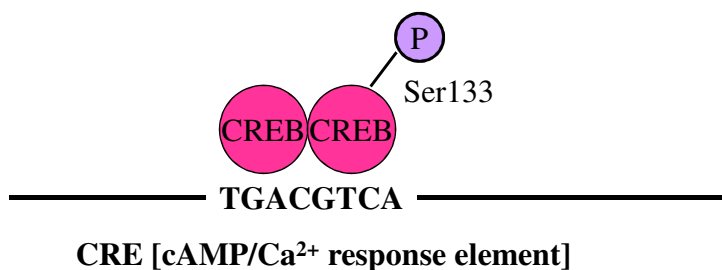
- inducibilní
- konstitutivní
- ligandem aktivované

Inducibilní TFs: př. AP1 (Activator Protein 1)

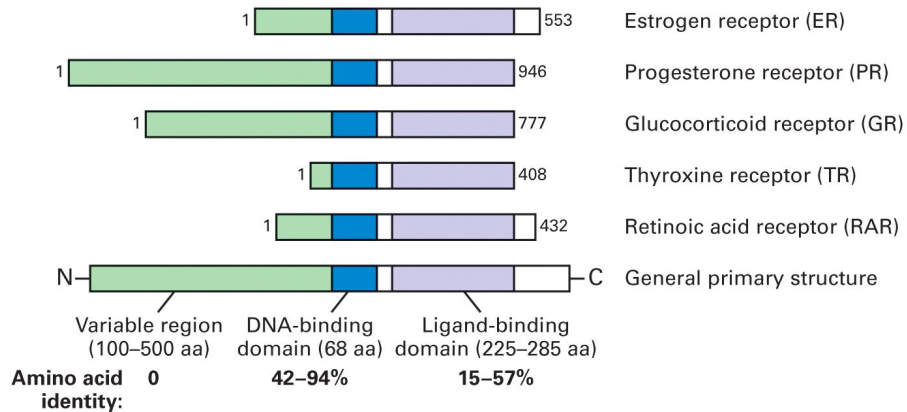


- **Jun family: c-Jun, JunB, JunD**
- **Fos family: c-Fos, FosB, Fra-1, Fra-2**

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.

Signalizace do buněčného jádra

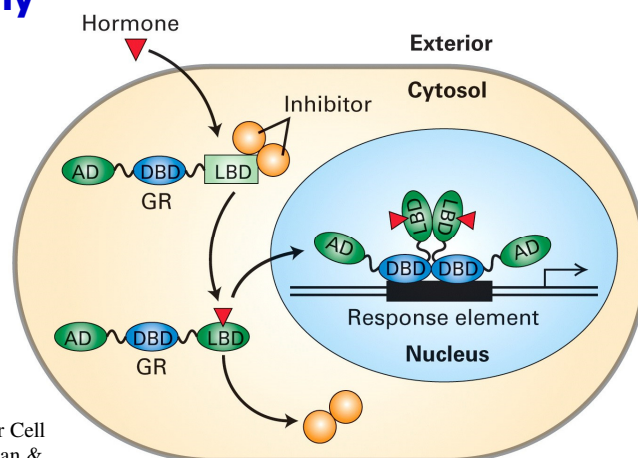
- do jádra jde
 - ligand
 - receptor
 - transkripční faktor
 - jiná signální molekula (kinasa, druhý posel)

Př.1: do jádra jde **ligand pro jaderný receptor/ligandem aktivovaný transkripční faktor**

- **Receptory pro vitamín D3, thyroxin, retinovou kyselinu**

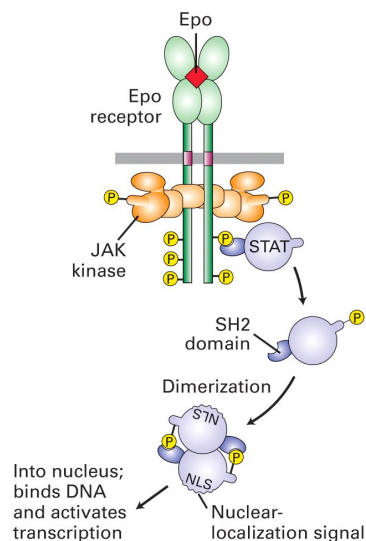
Př.2: do jádra jde jaderný **receptor/ligandem aktivovaný transkripční faktor**

- **Receptory pro glukokortikoidy a estrogeny**



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

Př.3: cytoplasmatický receptor aktivuje transkripční faktor, který translokuje do jádra



■ Signalizace receptorů pro cytokiny: JAK-STAT systém

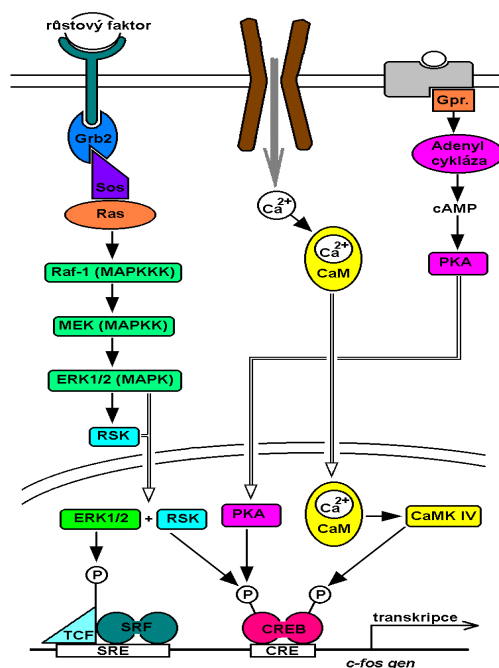
STAT:

Signal Transducer & Activator of Transcription

JAK:

Just Another Kinase

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



Př.4: konstitutivní TF CREB v jádře aktivován fosforylovací různými kinasami, do jádra jde:

- komplex MAPK/RSK
- Ca/calmodulin
- PKA

→ aktivace, tvorba

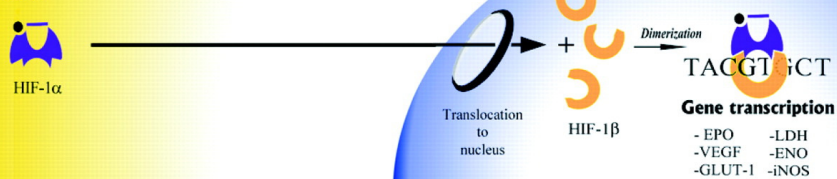
⇒ translokace

Př.5: Hypoxia-inducible factor:

Normoxia

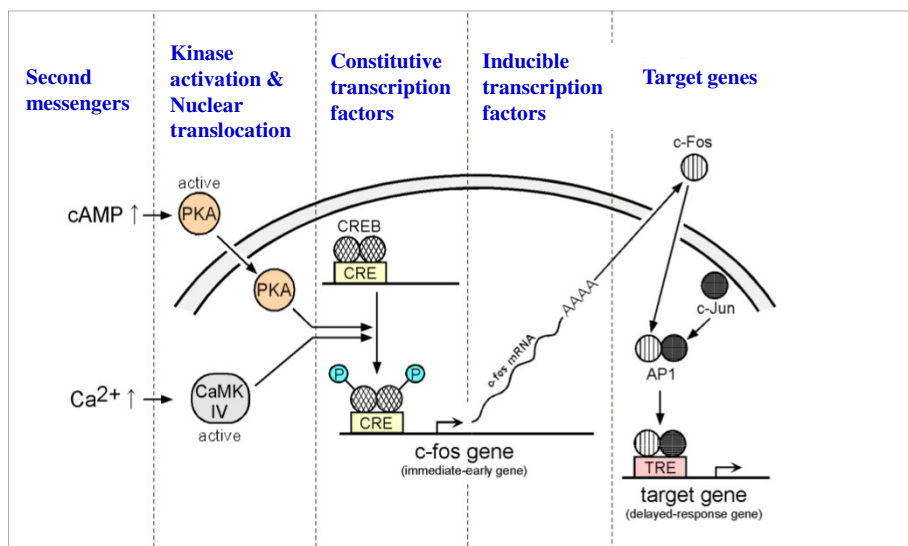


Hypoxia



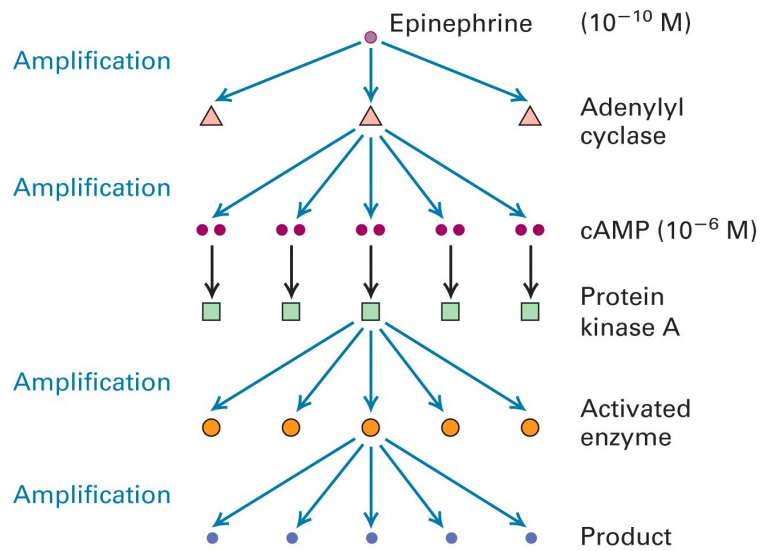
Joseph C. LaManna et al. J Exp Biol 2004;207:3163-3169

Kaskáda transkripční odpovědi



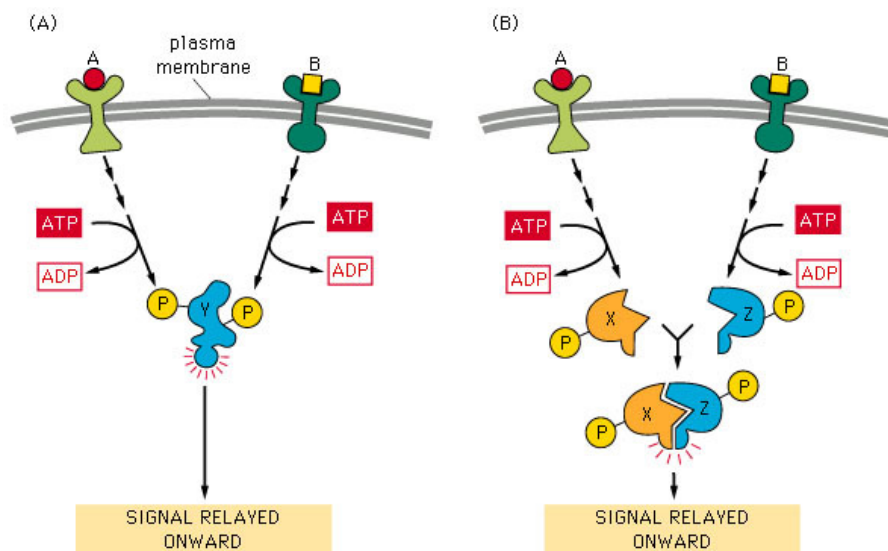
obr.: Pláteník et al., Life Sci. 2000: 67, 335-364.

Amplifikace signálu

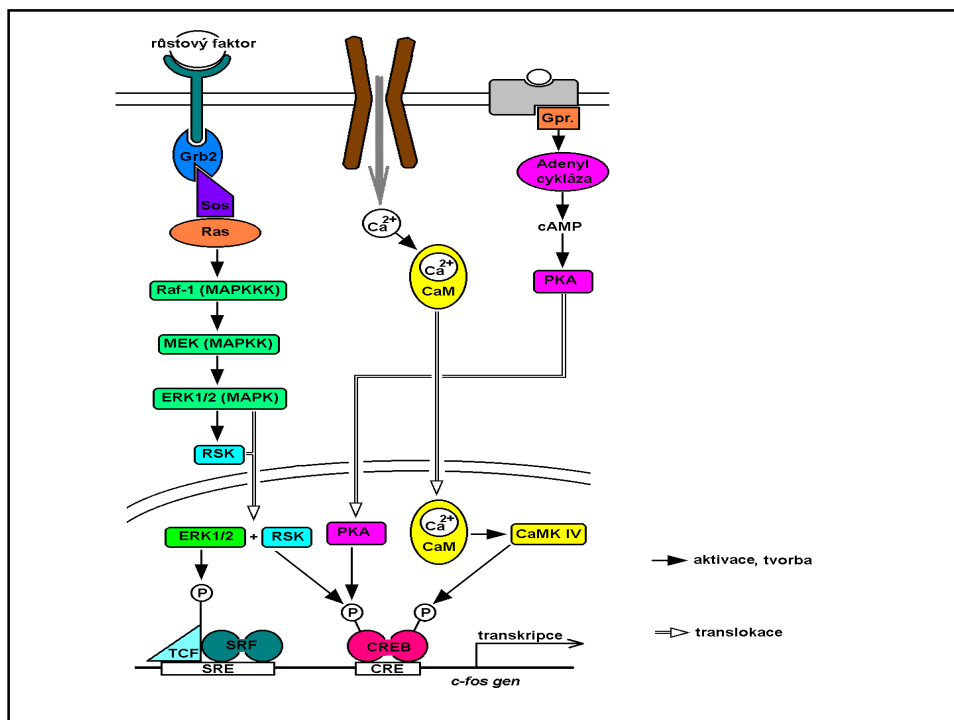


© GARLAND PUBLISHING 1998

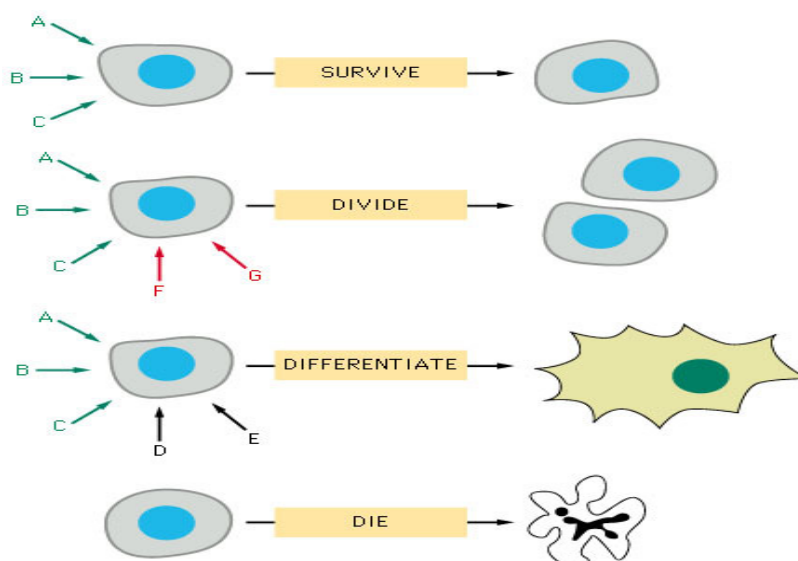
Integrace signálu



©1998 GARLAND PUBLISHING

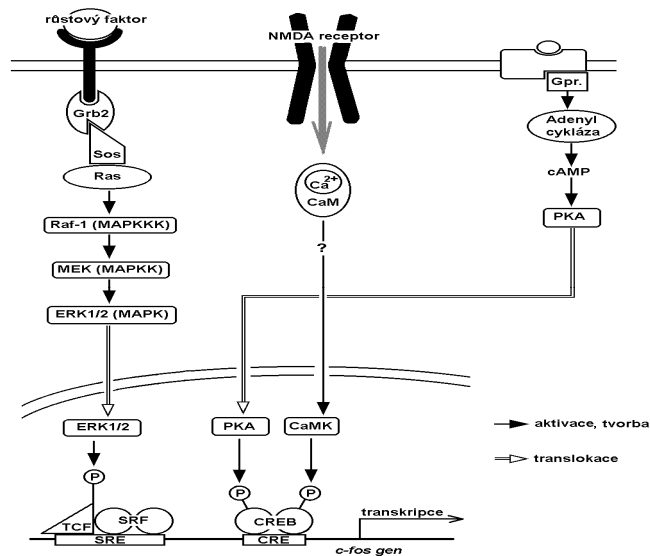


Buňka reaguje na souhrn signálů:

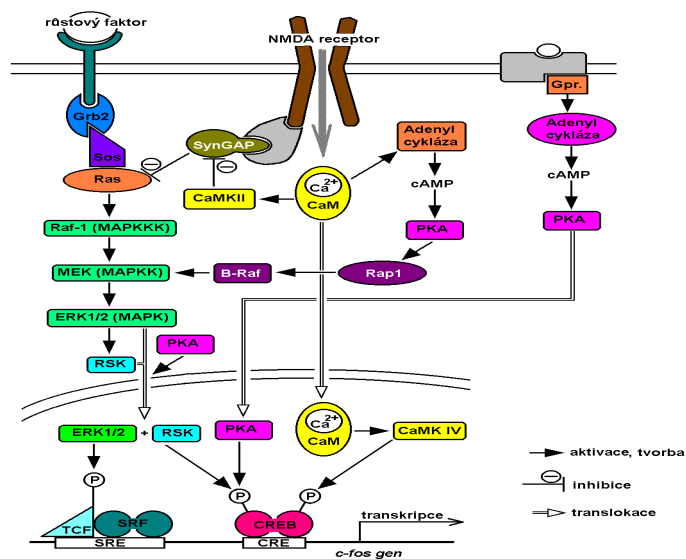


©1998 GARLAND PUBLISHING

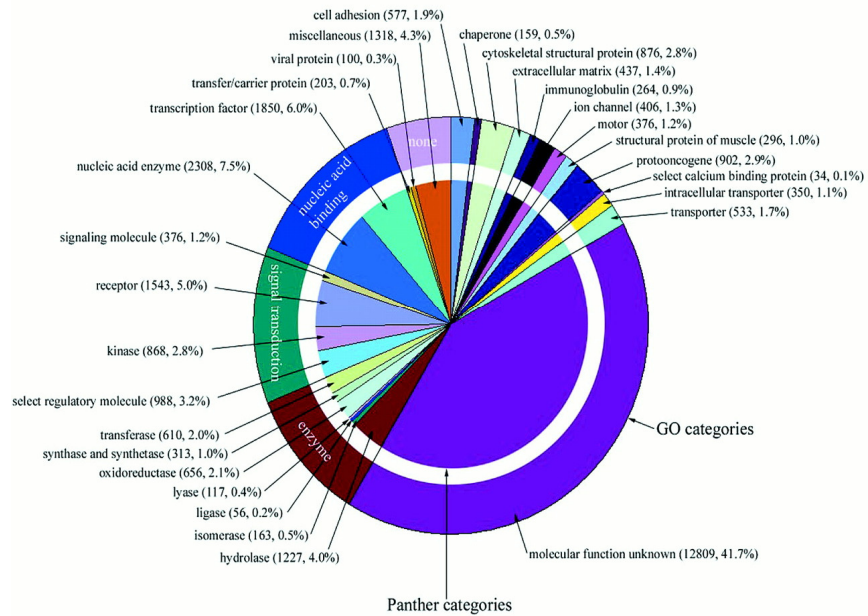
Cross-talk signálních drah



Cross-talk signálních drah

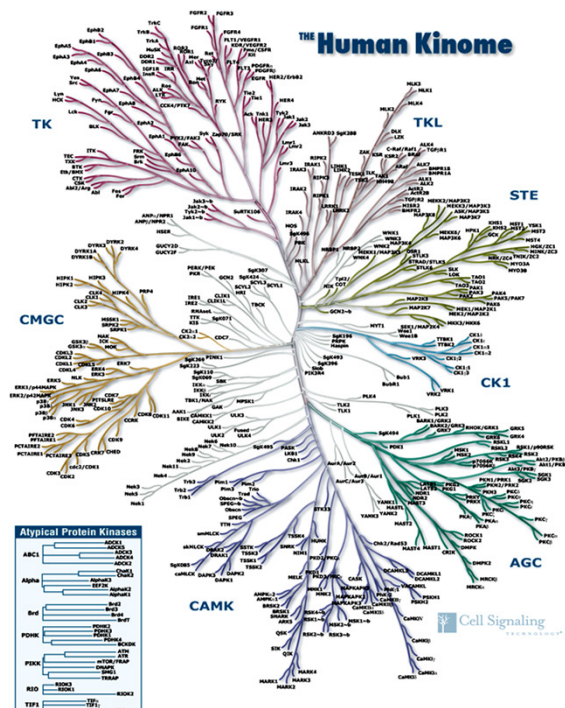


Analýzy genomu (Science 291, 2001):



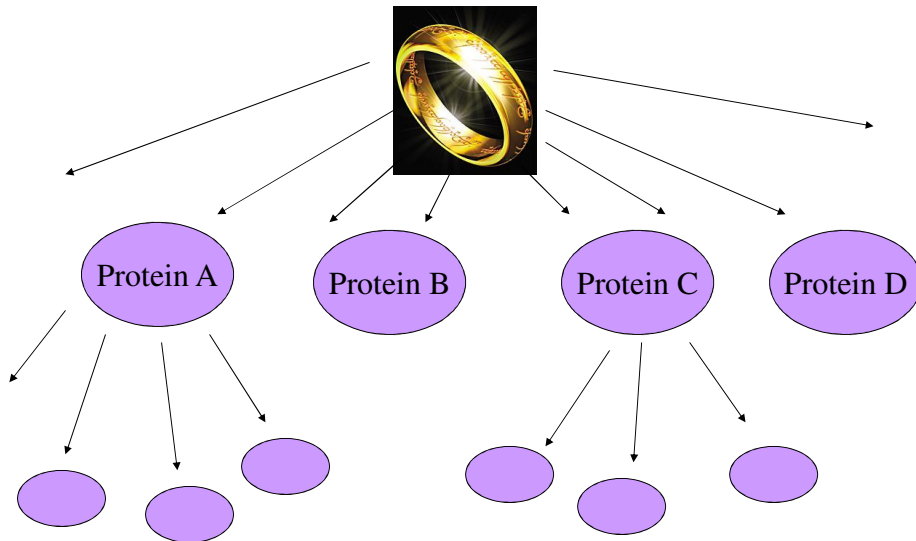
Lidský kinom: 518 kinas (Science 298, 2002)

Zdroj obr.:
Cell Signaling Technology



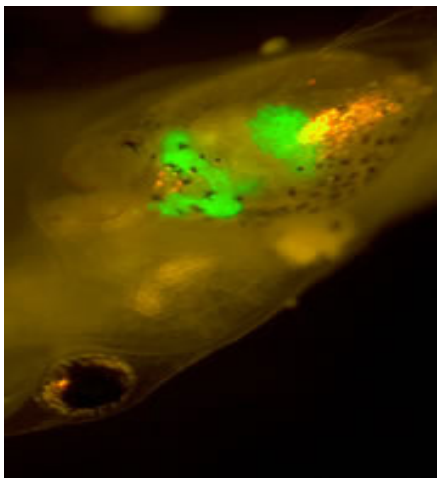
"MASTER SWITCH":

Jeden gen/protein vládnoucí všem ...



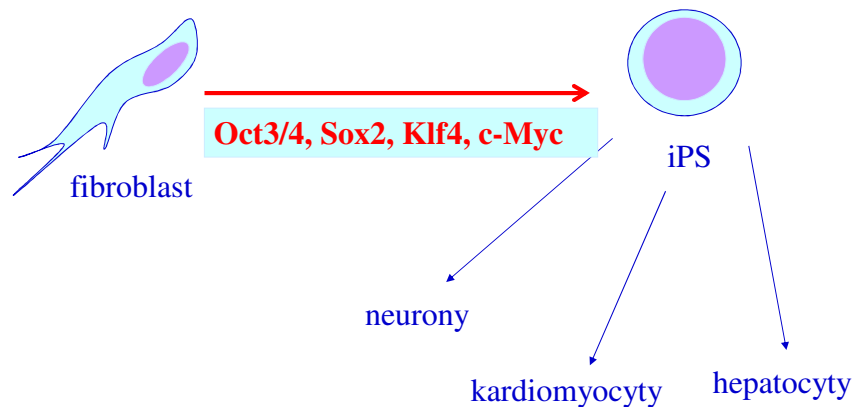
Horb, M.E., et al.:

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

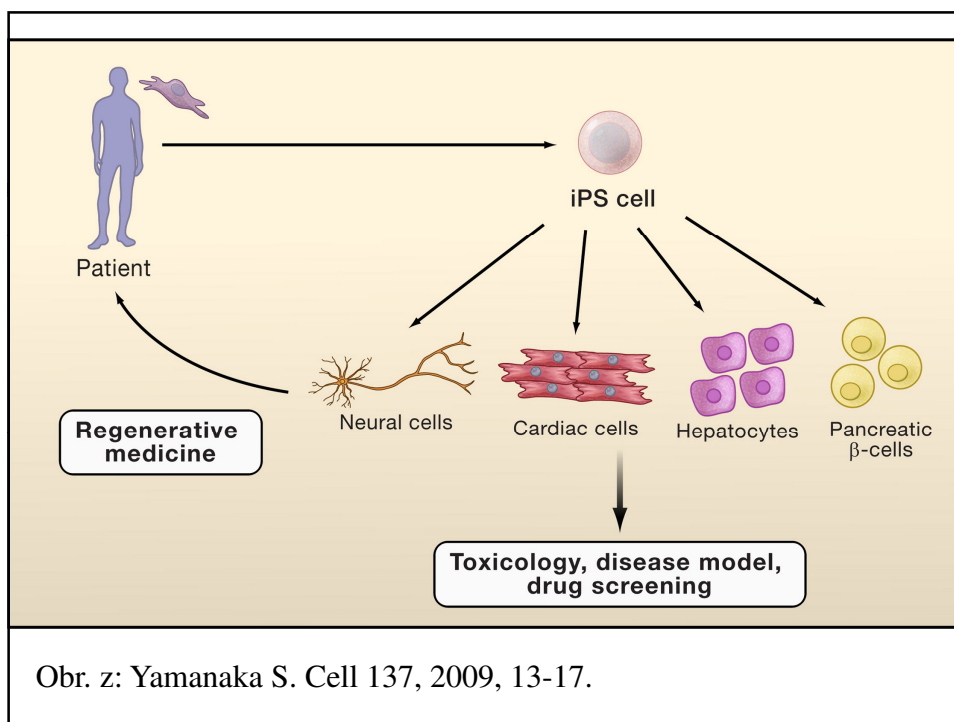


- Transientní exprese jediného genového konstrukt, kódující modifikovaný klíčový TF *Pdx1*, změnil trvale jaterní buňku na pankreatickou, produkující inzulin, glukagon a amylasu...

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.