



Mechanismy mezibuněčné komunikace

Biologie 1. ročník

Doc. RNDr. Jan Hošek, Ph.D.
hosek@mail.muni.cz

Ústav molekulární farmacie
FaF MU

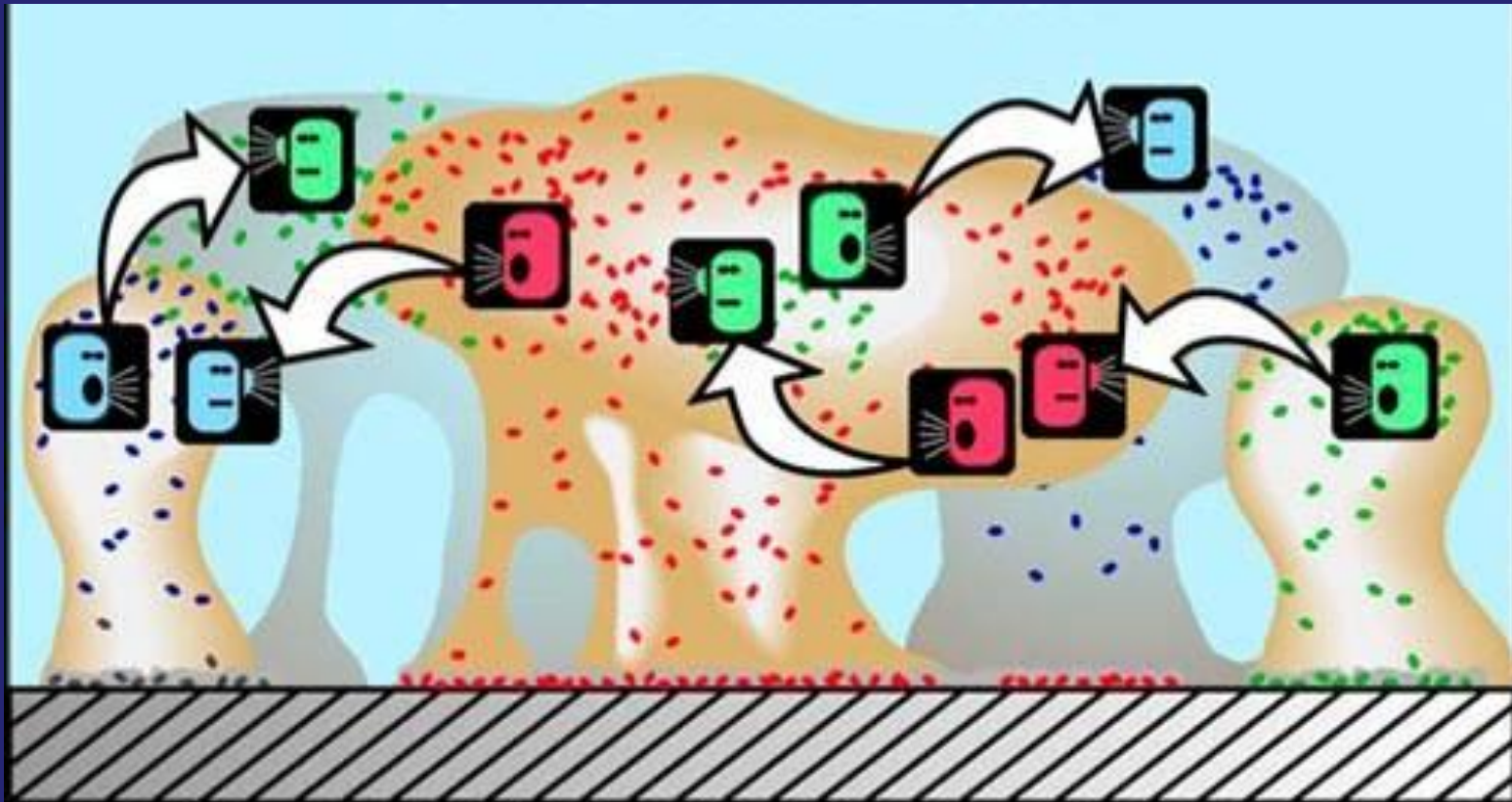
1. Základní principy komunikace mezi buňkami

Samostatně žijící buňka musí být schopná vnímat své okolí a reagovat na podněty z okolí (vypátrání potravy, vyhnout se nebezpečí – chemickému i živočišnému...)

V mnohobuněčném organismu musí buňky nejen reagovat na podněty z okolí, ale vzájemně mezi sebou komunikovat.

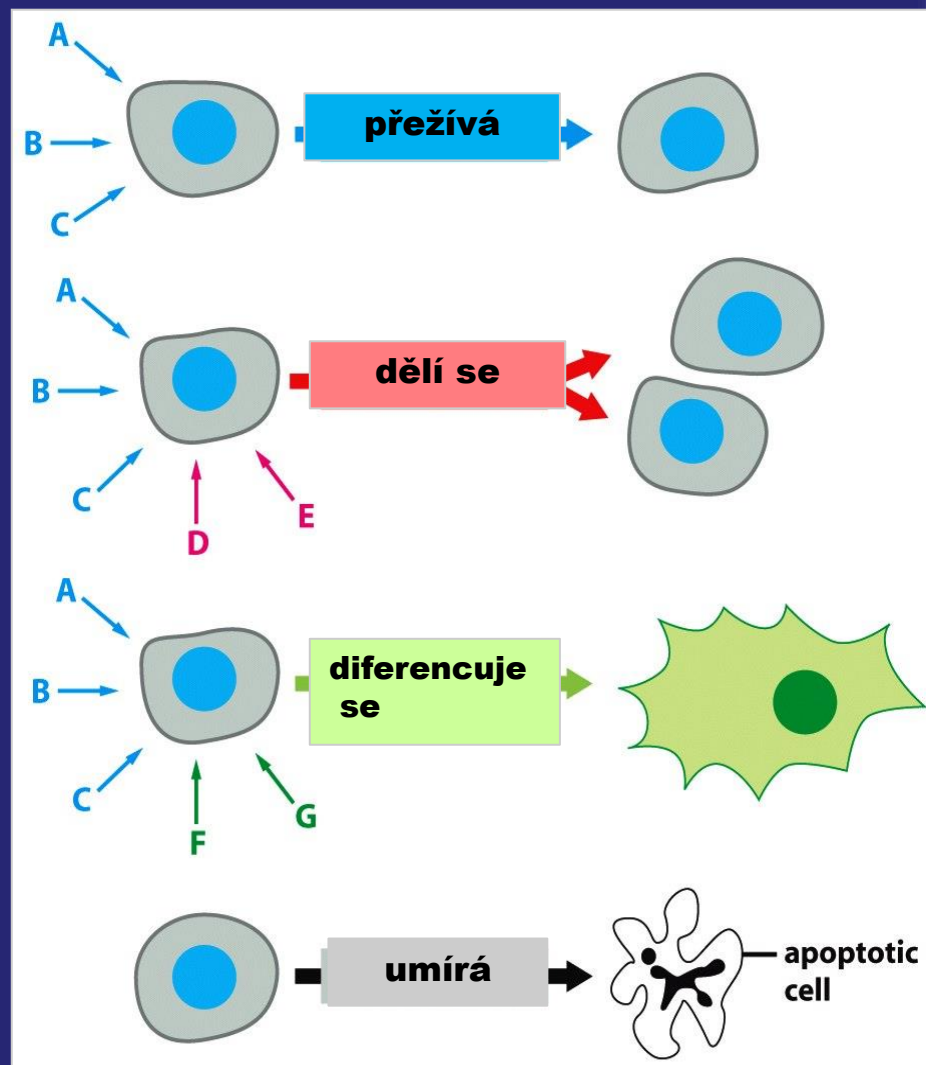
Musí sladit své chování tak, aby mezi nimi byla souhra, která je životně důležitá pro přežití organismu, ale i pro jeho utváření.

Komunikace mezi buňkami je důležitá pro růst, každodenní fyziologii a chování organismu.
Hovoříme o **BUNĚČNÉ SIGNALIZACI.**



Buňka ke svému životu **potřebuje signály od okolních buněk**. Nemá-li dostatečný počet správných signálů (pomocí nichž pozná, že je ve správné chvíli na správném místě) spáchá sebevraždu (apoptóza).

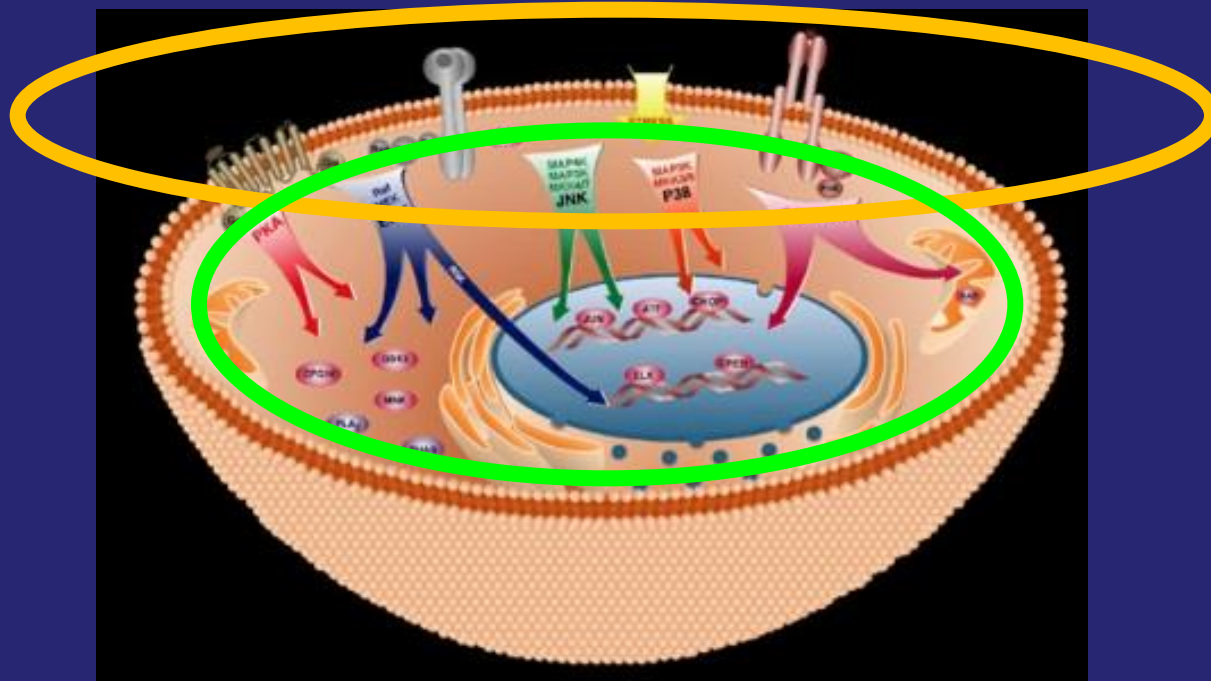
Během vývoje buňky v embryu intenzivně komunikují v procesu diferenciace



Signální molekuly

Extracelulární signální molekuly

Intracelulární signální molekuly



Extracelulární signální molekuly

Organismus/buňky produkují a přijímají řadu signálů

- Komunikace mezi buňkami
- většinou operují na velké vzdálenosti nebo k nejbližším susedům
- příjem signálů závisí na receptorových proteinech (obvykle na buněčném povrchu)

Vazba signálních molekul na receptor je aktivuje, což následně aktivuje jednu nebo více intracelulárních signálních drah

Intracelulární signální molekuly

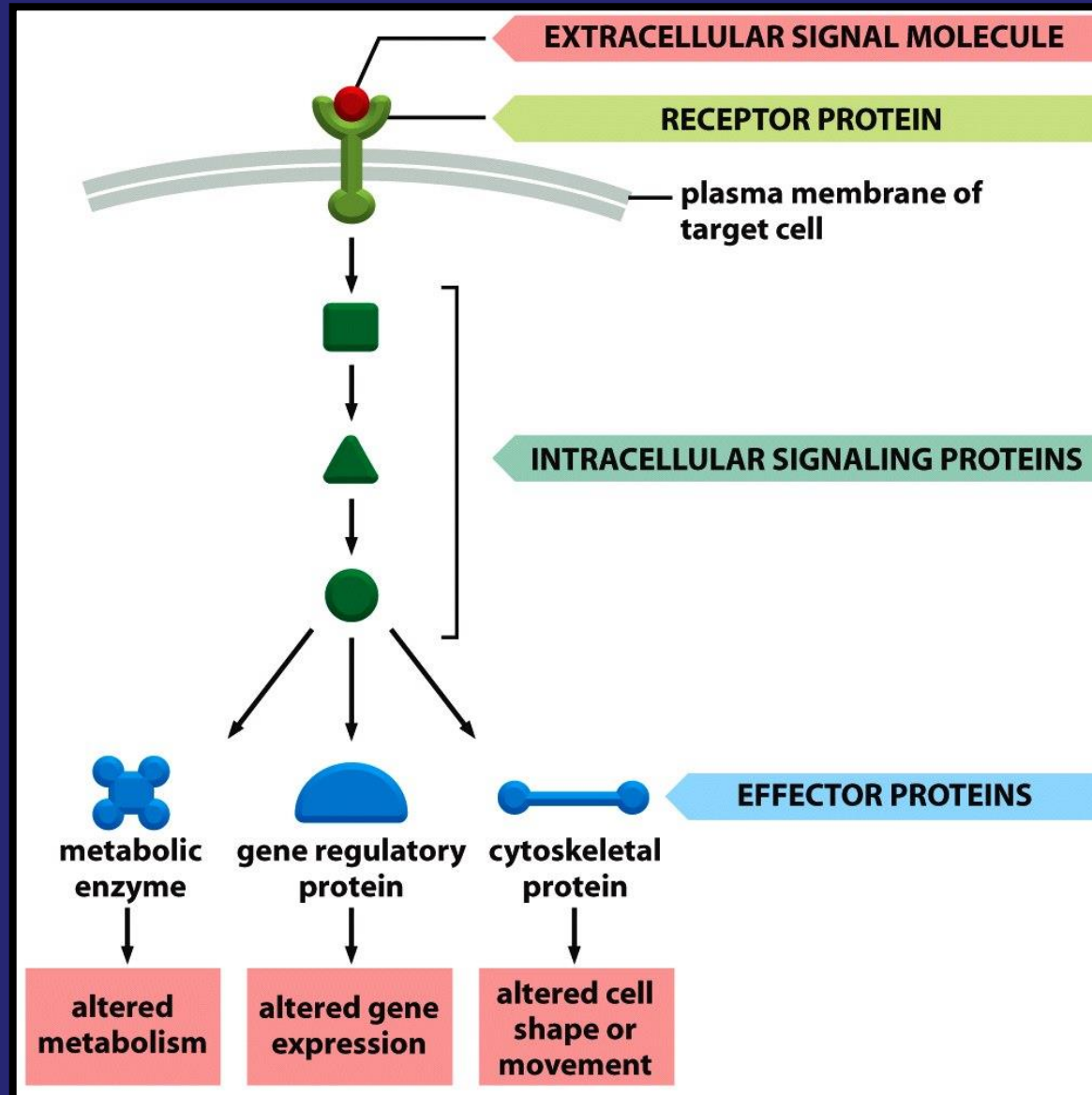
- jsou základními jednotkami intracelulárních signálních drah
- zpracovávají signál uvnitř přijímací buňky a
- distribuuji jej do příslušných intracelulárních cílů – **efektorových proteinů**

Efektorové proteiny

Závisí na signálu a povaze a stavu přijímacích buněk

- **proteiny regulující genou expresi,**
- **iontové kanály,**
- **komponenty metabolických drah,**
- **části cytoskeletu,**
- **etc.**

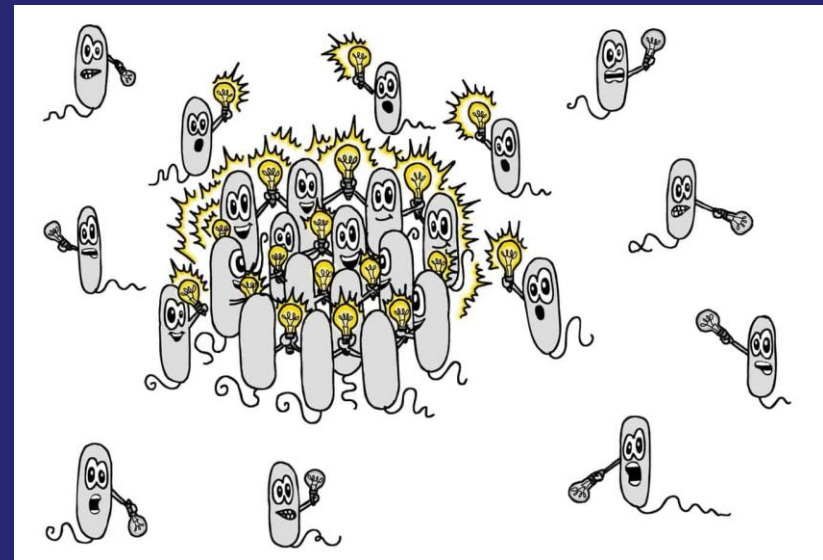
Obecné schéma



Komunikace jednobuněčných organismů

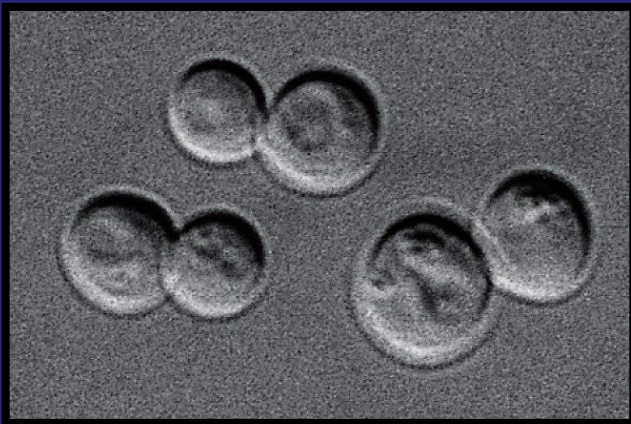
Přestože bakterie a kvasinky vedou z velké části nezávislý život, komunikují a ovlivňují navzájem své chování

- reagují na chemické signály, které vylučují jejich sousedé
- regulují hustotu = *Quorum sensing*
- koordinují motilitu, produkci antibiotik, tvorbu spór a sexuální konjugaci



Párovací faktor u kvasinek

Když je jedinec *Saccharomyces cerevisiae* v haploidním stádiu připraven k párování, začne vylučovat párovací peptid, který signalizuje buňce opačného párovacího typu, aby zastavila proliferaci a připravila se k párování.



Normálně kulovité buňky



Buňky se začínají prodlužovat směrem ke zdroji párovacího faktoru

Extracelulární signály

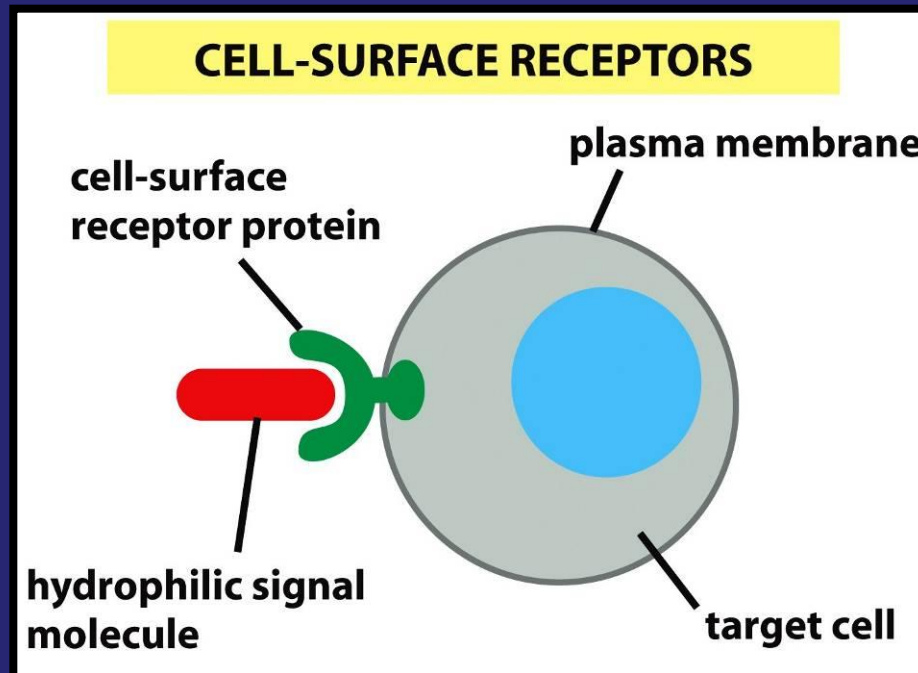
Signální molekuly zahrnují proteiny, malé peptidy, aminokyseliny, nukleotidy, steroidy, retinoidy, deriváty mastných kyselin a dokonce i rozpuštěné plyny, jako je oxid dusnatý a oxid uhličitý.

Bez ohledu na povahu signálu cílová buňka reaguje prostřednictvím receptoru, který specificky váže signální molekulu a poté iniciuje odpověď v cílové buňce.

Buněčné receptory jsou MEMBRÁNOVĚ VÁZANÉ a INTRACELULÁRNÍ

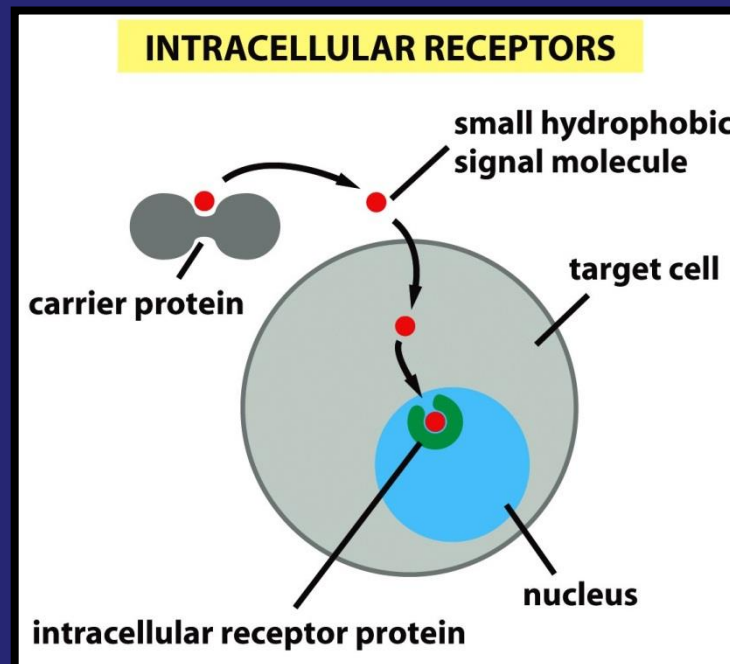
Vazba extracelulárních signálů 1/2

- hydrofilní signální molekuly nejsou schopny procházet přímo plazmatickou membránou
- vážou se na receptory buněčného povrchu
- obratem je generován signál uvnitř cílové buňky



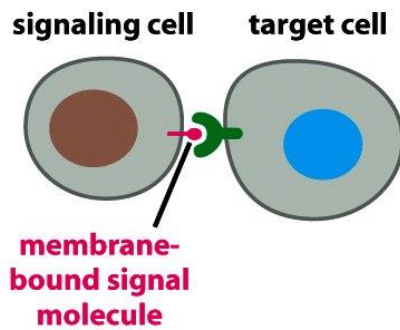
Vazba extracelulárních signálů 2/2

- některé malé signální molekuly difundují přes plazmatickou membránu a vážou se na receptor uvnitř buňky
- molekuly jsou většinou hydrofobní a ve vodě nerozpustné = potřebují nosné proteiny

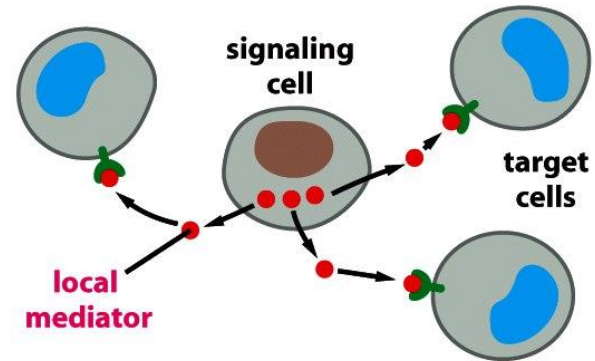


Čtyři formy intracelulární signalizace

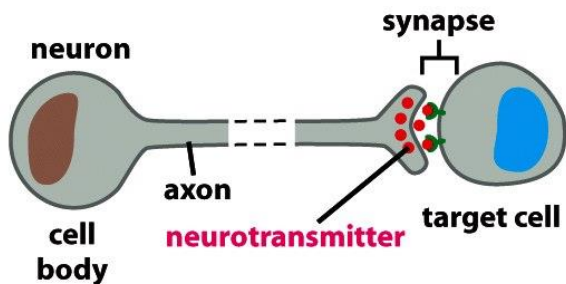
(A) CONTACT-DEPENDENT



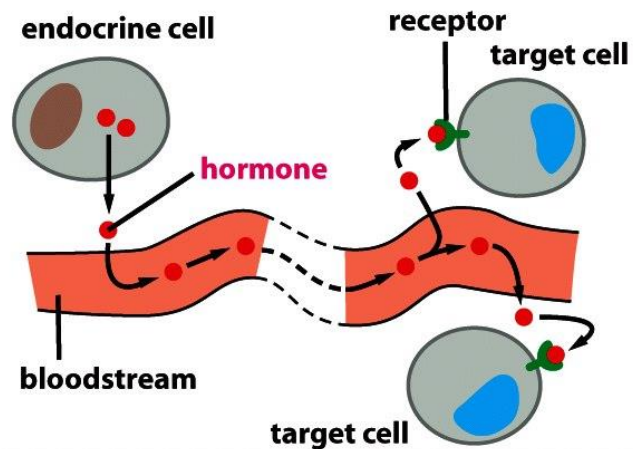
(B) PARACRINE



(C) SYNAPTIC

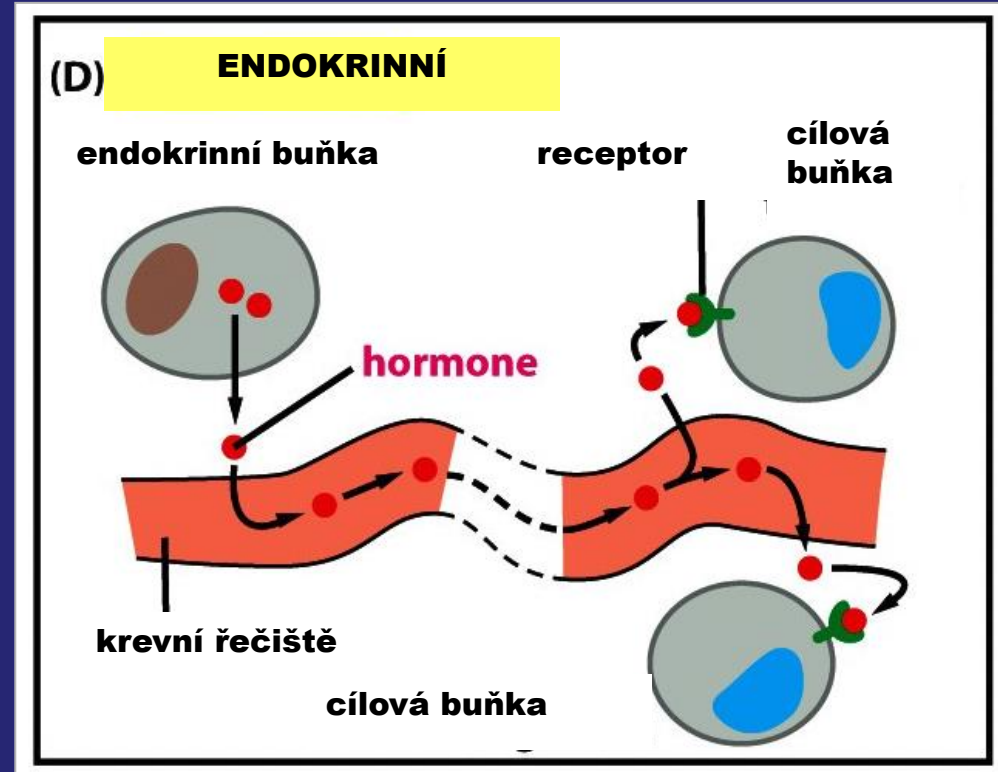


(D) ENDOCRINE



Endokrinní signalizace

V endokrinních žlázách se tvoří **hormony** (signály), které jsou krevním oběhem přenášeny do různých částí těla. (U rostlin se hormony uvolňují do mízy).

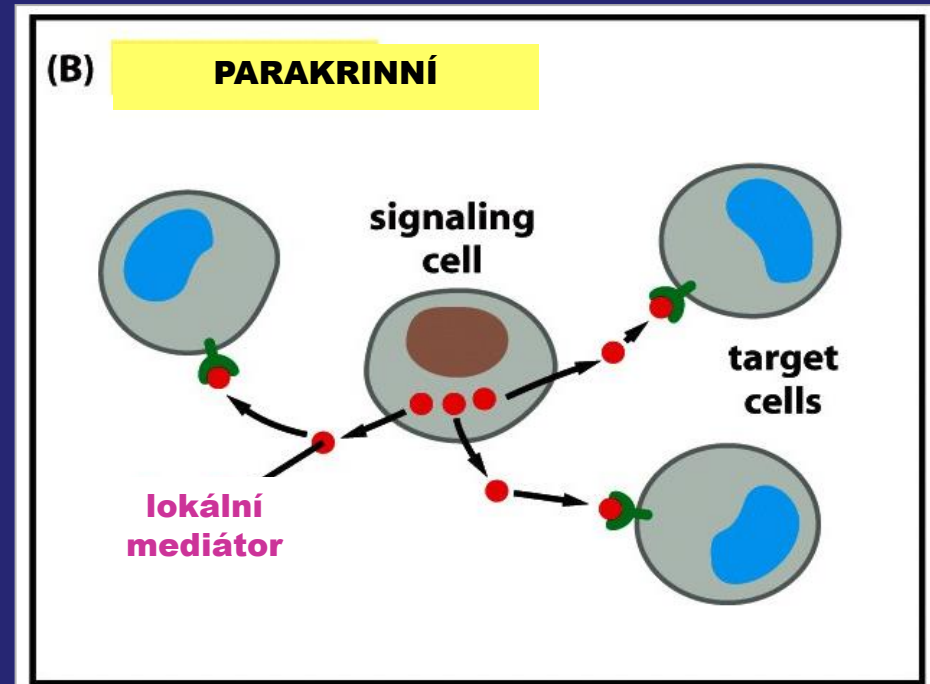


Signální molekuly : hormony

Přenos signálu: na velkou vzdálenost

Parakrinní signalizace

Signál = lokální mediátor je vyslán do extracelulárního prostoru a přijímán buňkami v bezprostředním okolí této signalizující buňky (pokud buňky ovlivňují sami sebe = **autokrinní signalizace**)

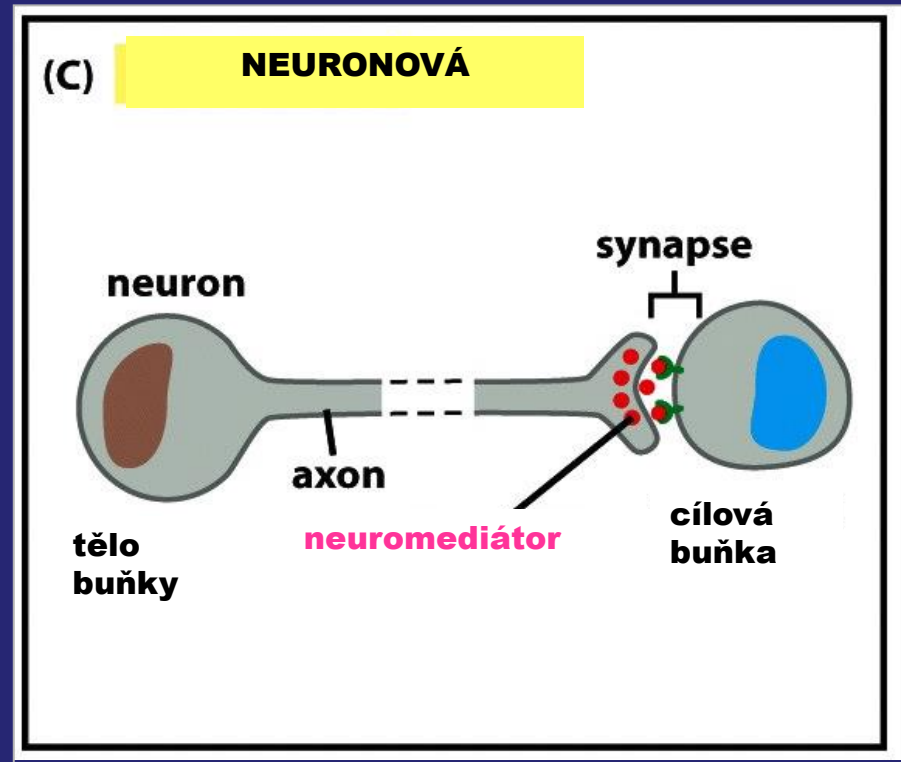


Signální molekuly : lokální mediátory (cytokiny, deriváty kyseliny - eikosanoidy)

Přenos signálu: na malou vzdálenost

Neuronová signalizace

Signál (elektrický vzruch) je šířen na velkou vzdálenost podél axonu a během přenosu dochází k transdukci signálu (elektrický na chemický a opačně)

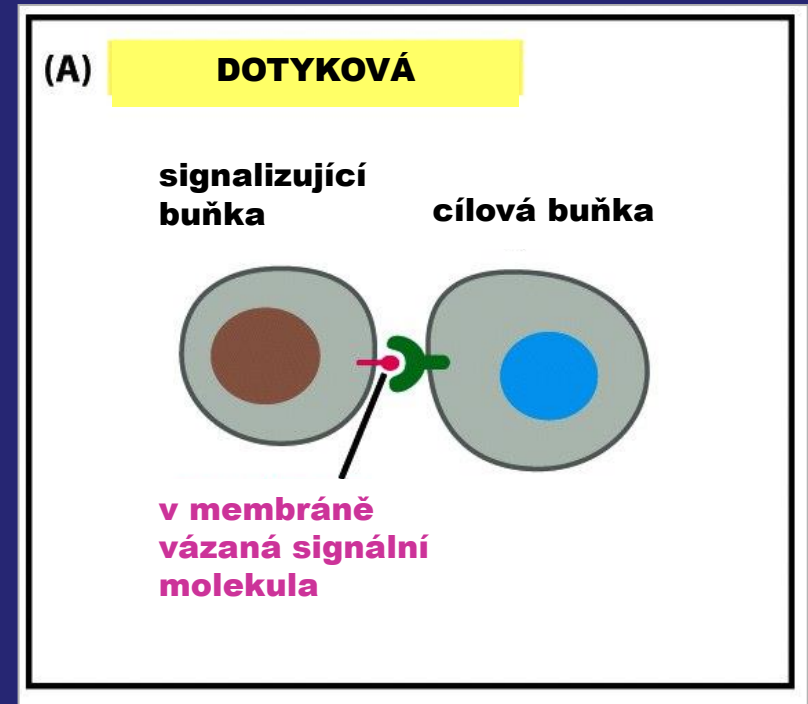


*Signální molekuly : nervové mediátory (neuromediátory)
Přenos signálu: na velkou vzdálenost*

Kontaktní signalizace

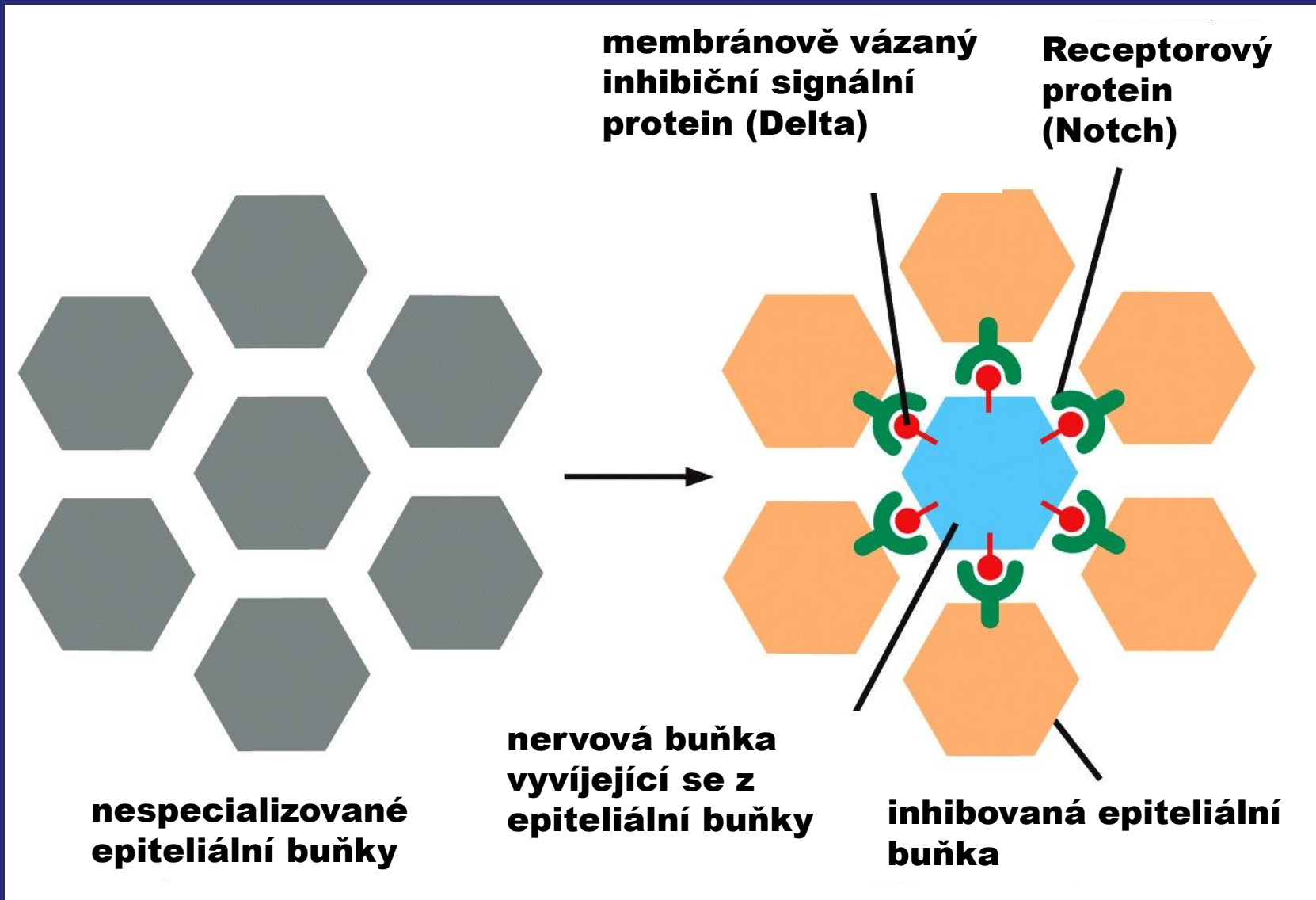
Důležitá v embryonálním vývoji a imunologii

Tento způsob komunikace funguje na nejkratší vzdálenost. Buňky spolu komunikují prostřednictvím signálních molekul zanořených do plazmatické membrány. Nevyžaduje uvolnění žádného mediátoru.



*Signální molekuly : transmembránové proteiny (např. Delta), r: Notch.
Přenos signálu: na velmi malou vzdálenost*

Embryonální vývoj – příklad dotykové signalizace



Selekce T-lymfocytů – příklad dotykové signalizace

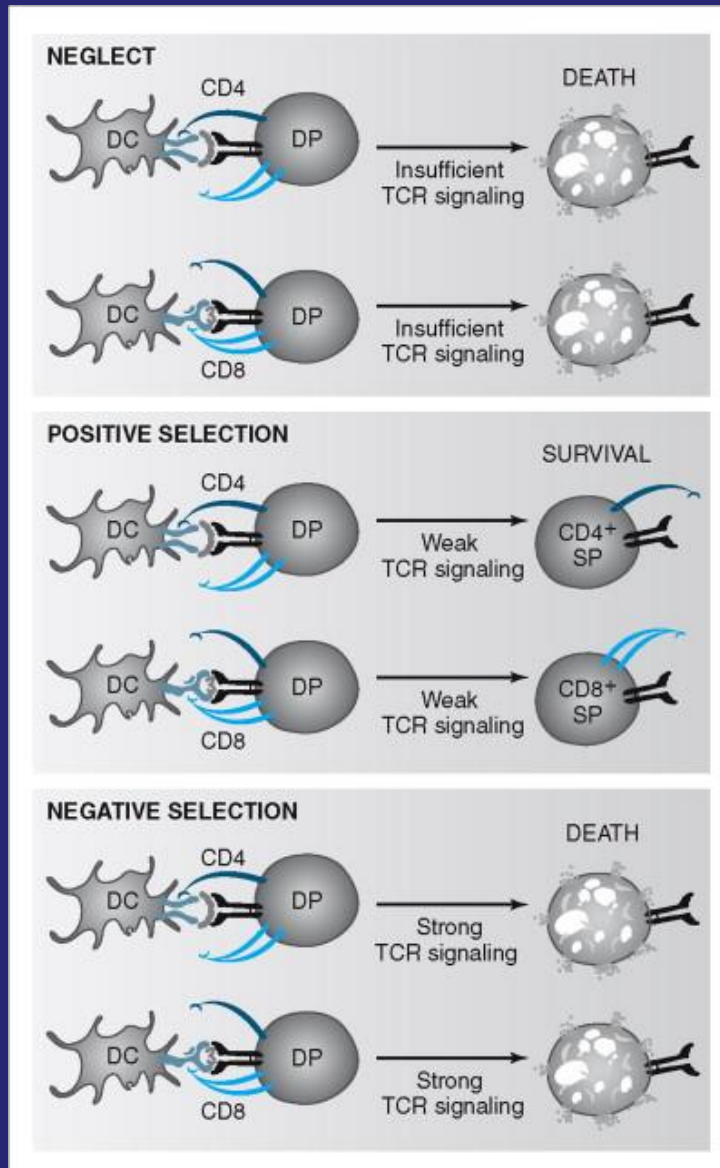


Figure 13-7. Cellular Depiction of Affinity/Avidity Model of Thymic Selection

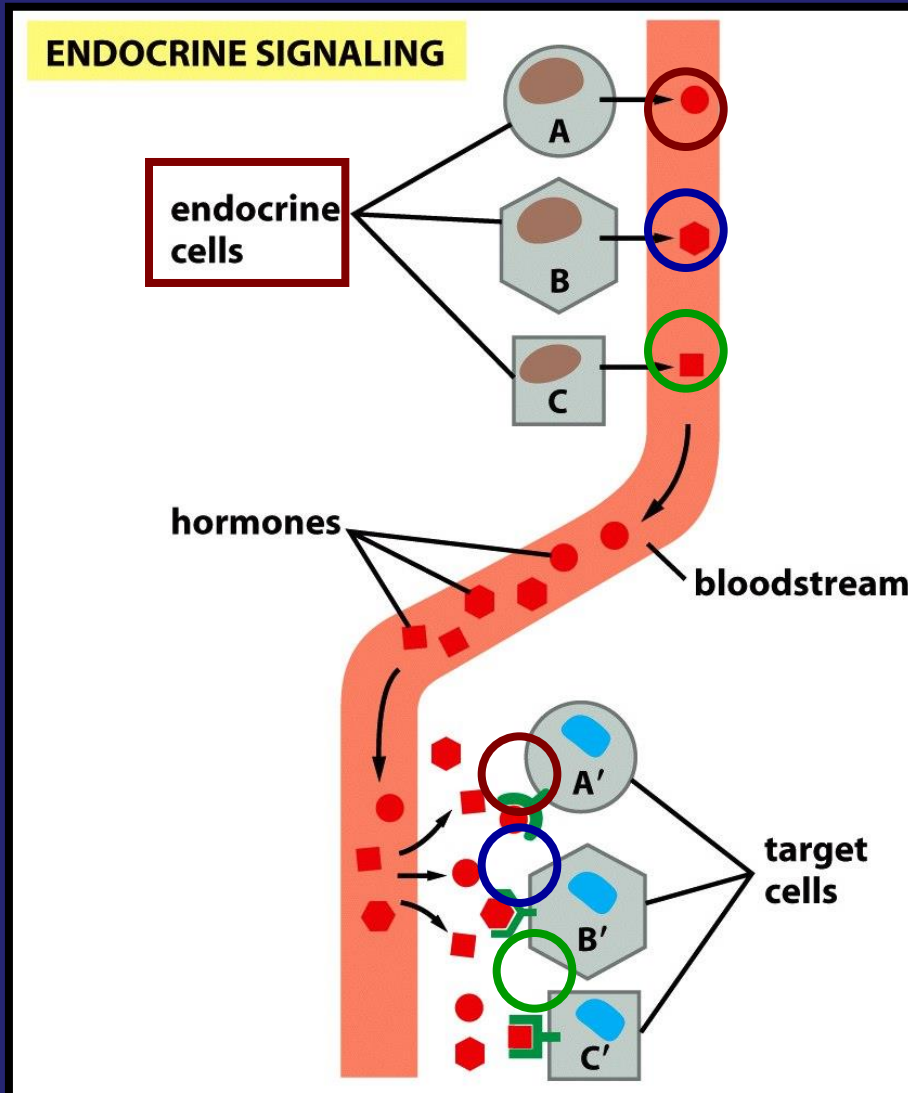
DP thymocytes encounter thymic DCs (or cortical thymic epithelial cells; not shown) presenting self-peptides on MHC class I or II. The intracellular signaling induced by this interaction determines the thymocyte's fate. It is unclear precisely where in the thymus, either in the cortex or the medulla, each stage of selection takes place.

Endokrinní versus neuronová signalizace

U složitých zvířat endokrinní buňky a nervové buňky spolupracují na koordinaci činností buněk v oddělených částech těla.

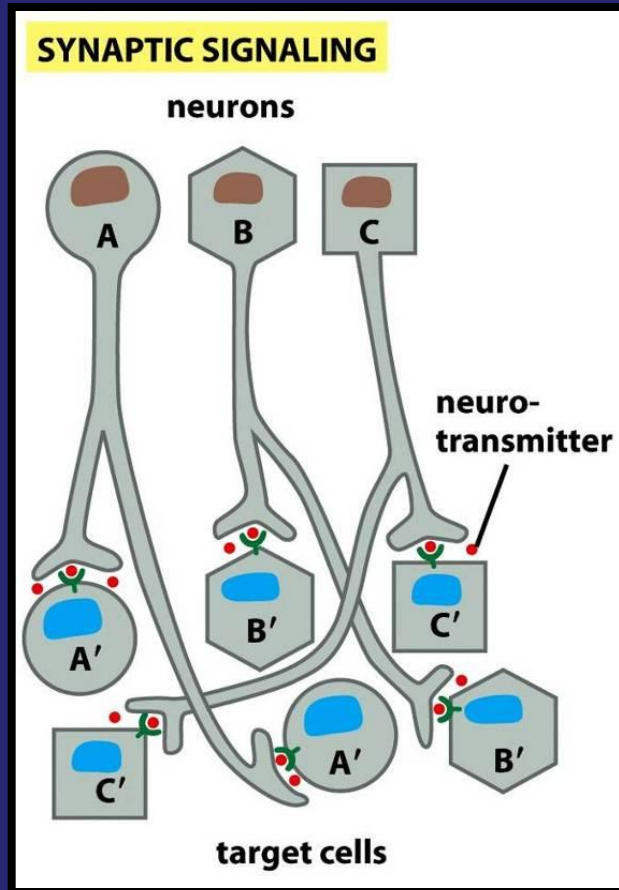
- **různé endokrinní buňky musí používat různé hormony, aby specificky komunikovaly se svými cílovými buňkami**
- **různé nervové buňky mohou používat stejný neurotransmitter a přesto komunikovat vysoce specifickým způsobem**

Endokrinní signalizace



- buňky vylučují hormony do krve
- působí pouze na ty cílové buňky, které nesou příslušné receptory

Synaptická signalizace



- specificita vzniká ze synaptických kontaktů mezi nervovou buňkou a specifickými cílovými buňkami, které signalizuje
- obvykle pouze cílová buňka, která je v synaptické komunikaci s nervovými buňkami, je vystavena neurotransmitteru uvolněnému z nervového zakončení

! Některé neurotransmitery působí v parakrinním režimu – lokální mediátory, které ovlivňují více cílových buněk v oblasti

Další rozdíly

Endokrinní signalizace

- je relativně pomalá
- hormony jsou značně zředěné, musí být schopny působit ve velmi nízkých koncentracích (typicky $< 10^{-8}$ M)
- vysoká afinita k cílovým buňkám

Neuronová signalizace

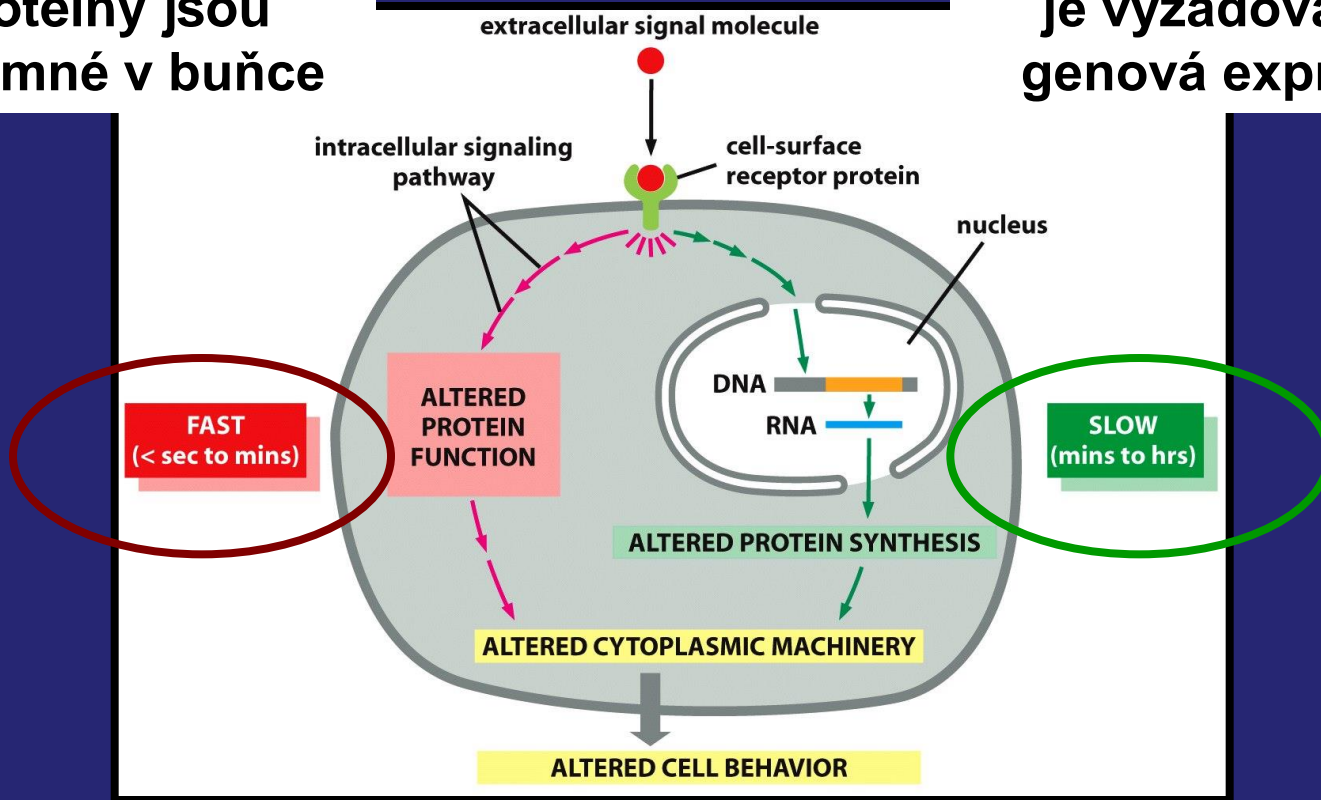
- je rychlejší a přesnější
- neurotransmitery jsou zředěné mnohem méně a mohou dosáhnout vysokých lokálních koncentrací (5×10^{-4} M)
- nízká afinita k cílovým buňkám, může rychle disociovat

Rychlost odpovědi

Závisí nejen na mechanismu přenosu signálu, ale také na povaze odpovědi cílové buňky

proteiny jsou přítomné v buňce

je vyžadována genová exprese

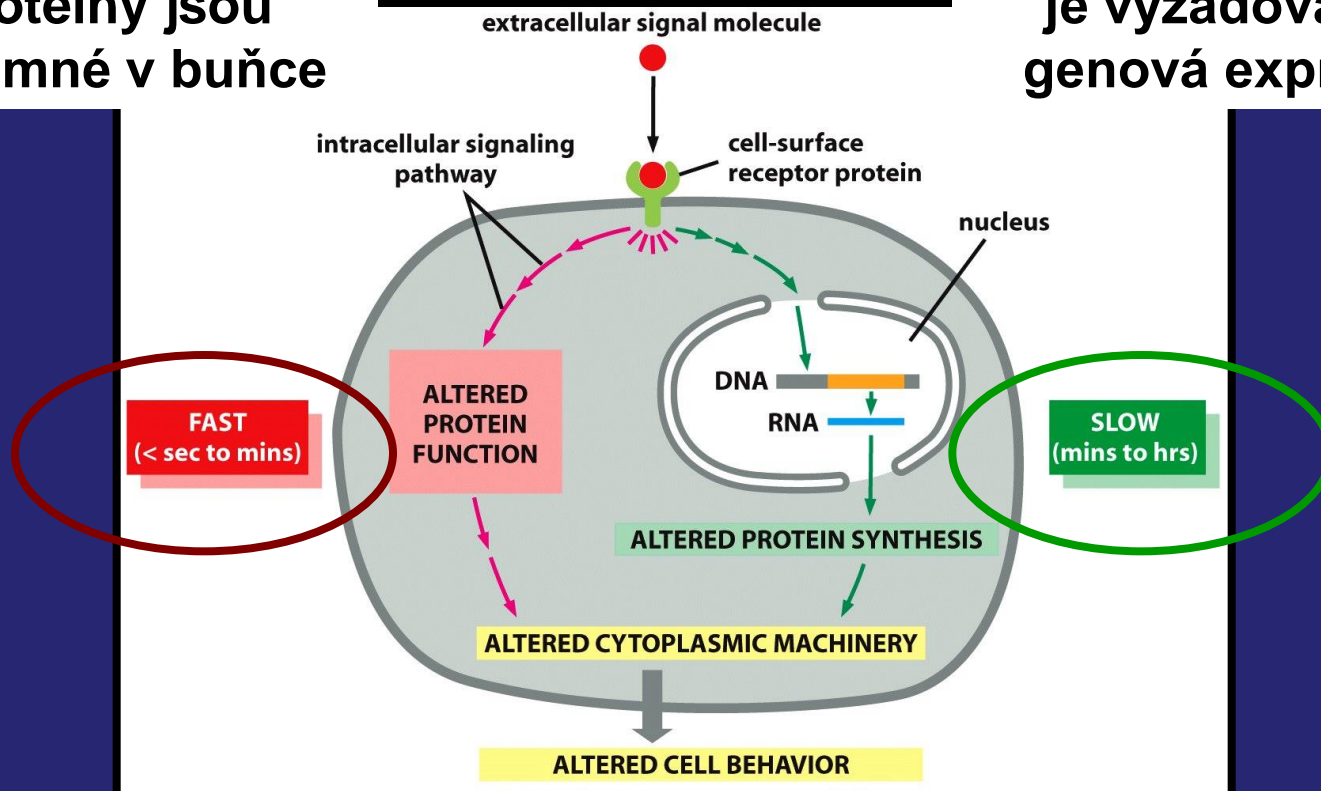


Rychlost odpovědi – příklad 1

Změny v pohybu nebo sekreci buněk nemusí zahrnovat změny v genové expresi a probíhají mnohem rychleji (sekundy nebo minuty)

proteiny jsou přítomné v buňce

je vyžadována genová exprese

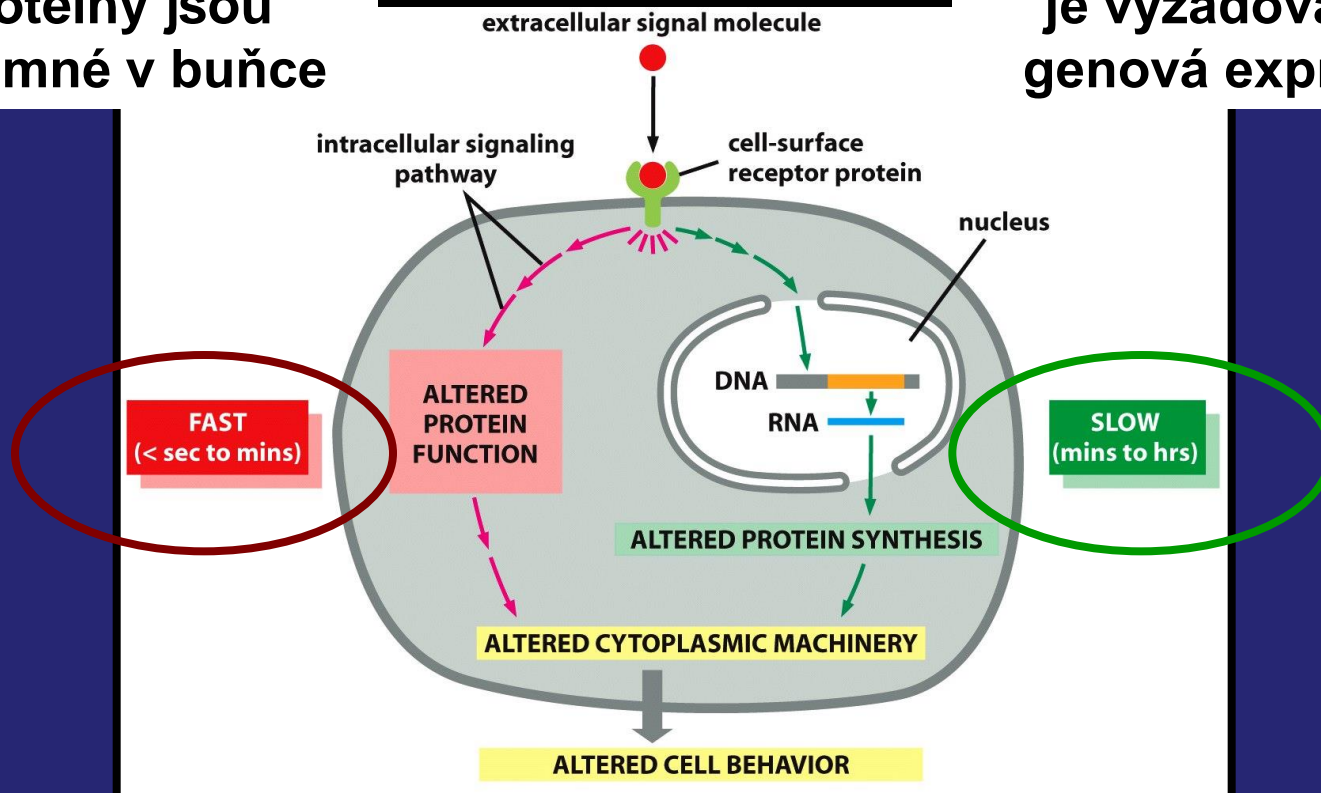


Rychlost odpovědi – příklad 2

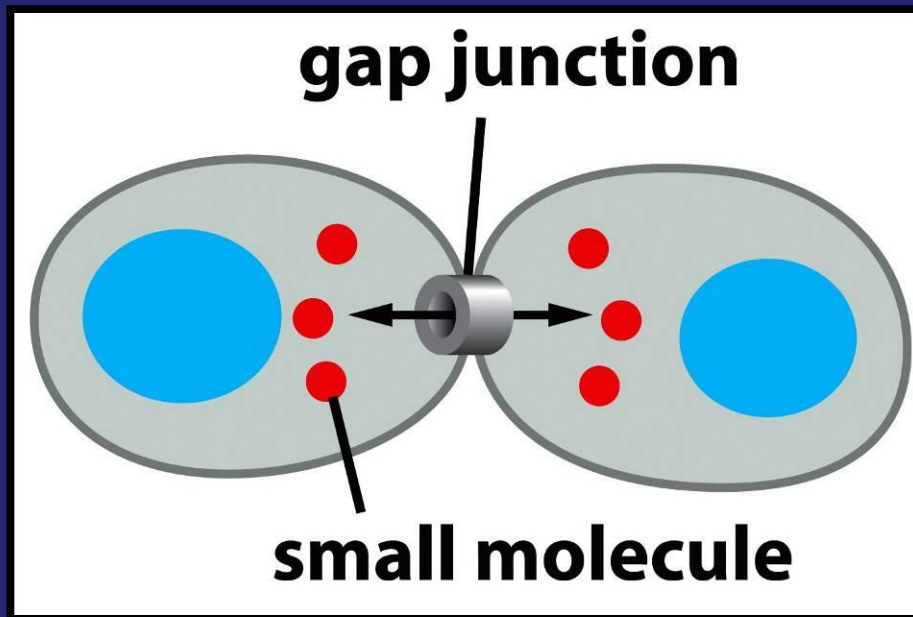
Synaptické reakce zprostředkované změnami membránového potenciálu mohou nastat v milisekundách

proteiny jsou přítomné v buňce

je vyžadována genová exprese



Dutý spoj



- umožňují sousedním buňkám sdílet signalizační informace
- je úzký kanál naplněný vodou
- přímo spojují cytoplazmu sousedních buněk
- umožňují výměnu anorganických iontů a dalších malých ve vodě rozpustných molekul, ŽÁDNÉ MAKROMOLEKULY
- umožňují reagovat na extracelulární signály koordinovaným způsobem

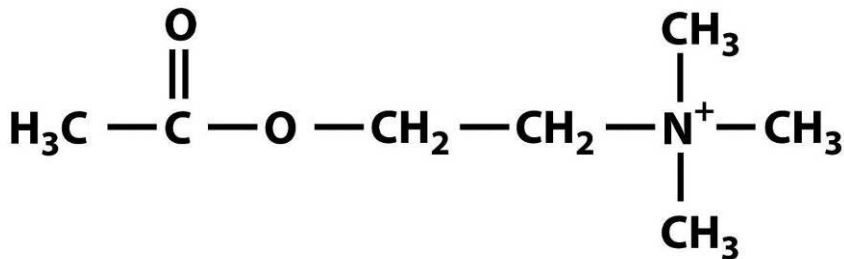
Příklad dutých spojů

- **Pokles hladiny glukózy v krvi uvolňuje noradrenalin ze sympatických nervových zakončení**
- **Noradrenalin stimuluje hepatocyty v játrech, aby zvýšily rozklad glykogenu a uvolňovaly glukózu do krve**
- **Ne všechny hepatocyty jsou inervovány nervy**
- **Inervované hepatocyty přenášejí signál přes duté spoje**

Rozdílnost odpovědí

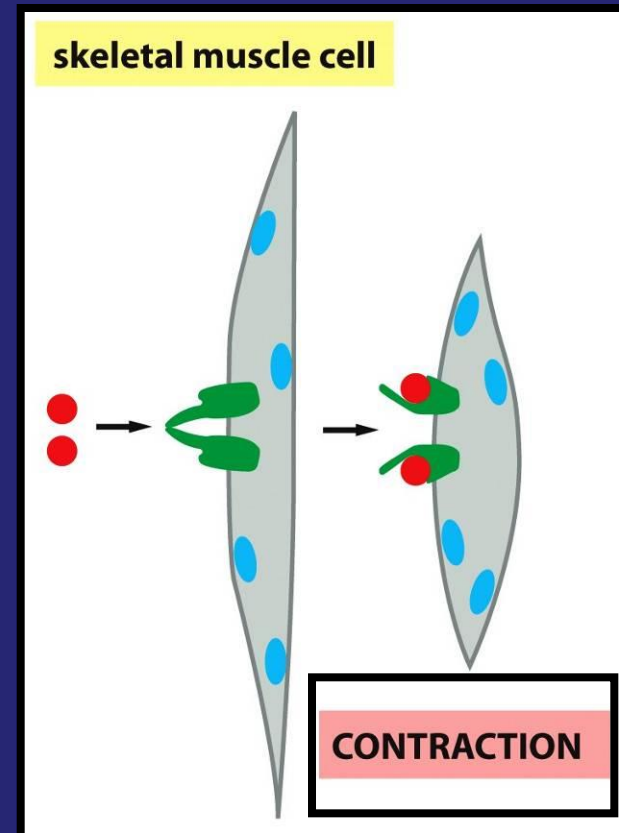
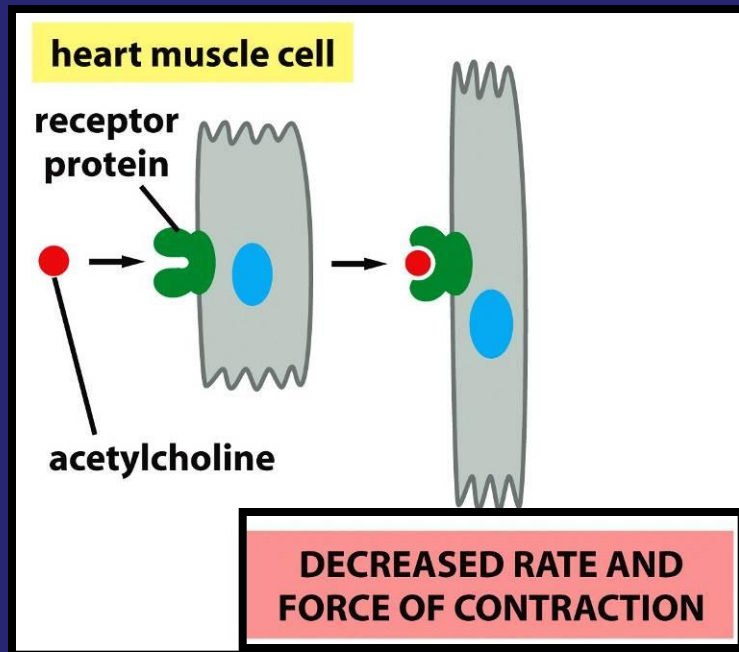
Odpověď buňky na extracelulární signály závisí nejen na receptorových proteinech, ale také na intracelulárním aparátu, kterým signály interpretuje.

Neurotransmitter acetylcholin



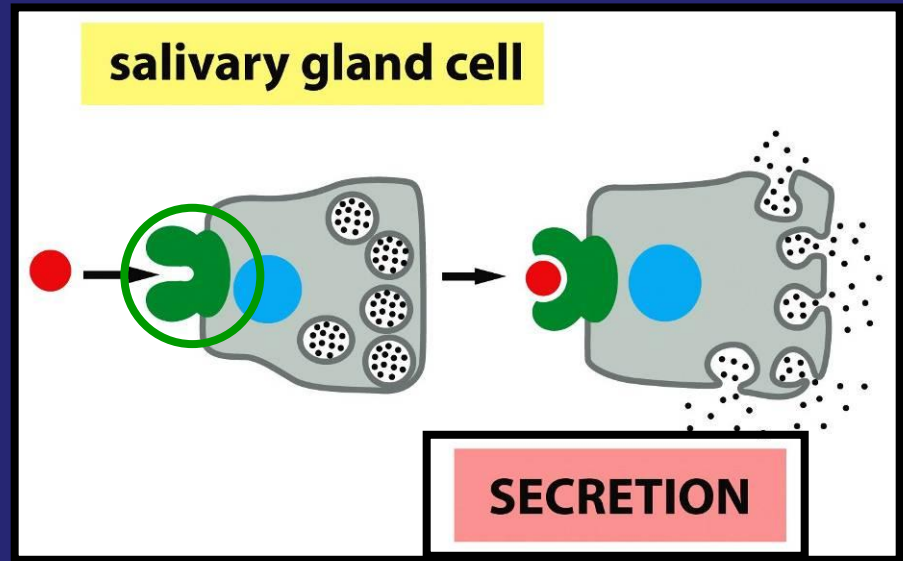
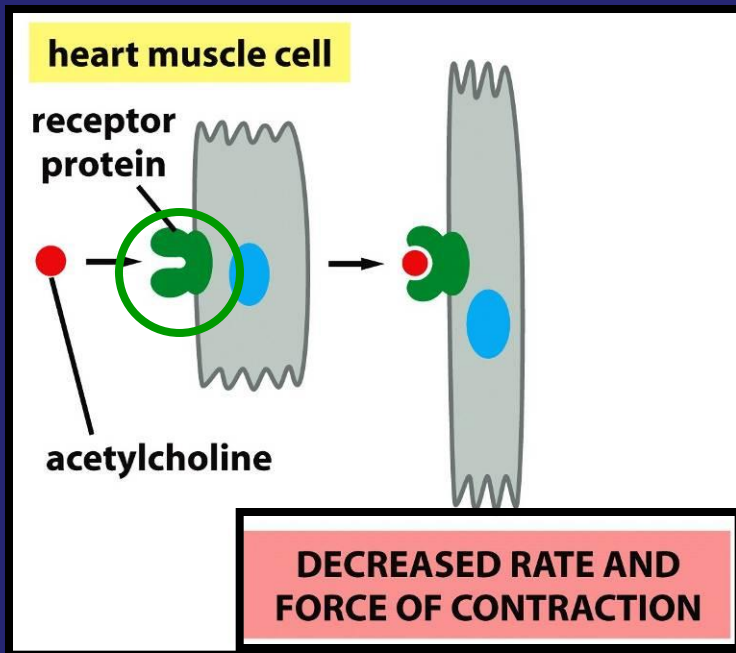
- 1) snižuje rychlost a sílu kontrakce v buňkách srdečního svalu
- 2) stimuluje buňky kosterního svalstva ke kontrakci
- 3) stimuluje sekreci v buňkách slinných žláz

Různé receptory



Různé receptory = různé působení podobných buněk

Různé typy buněk



Rozdílný efekt

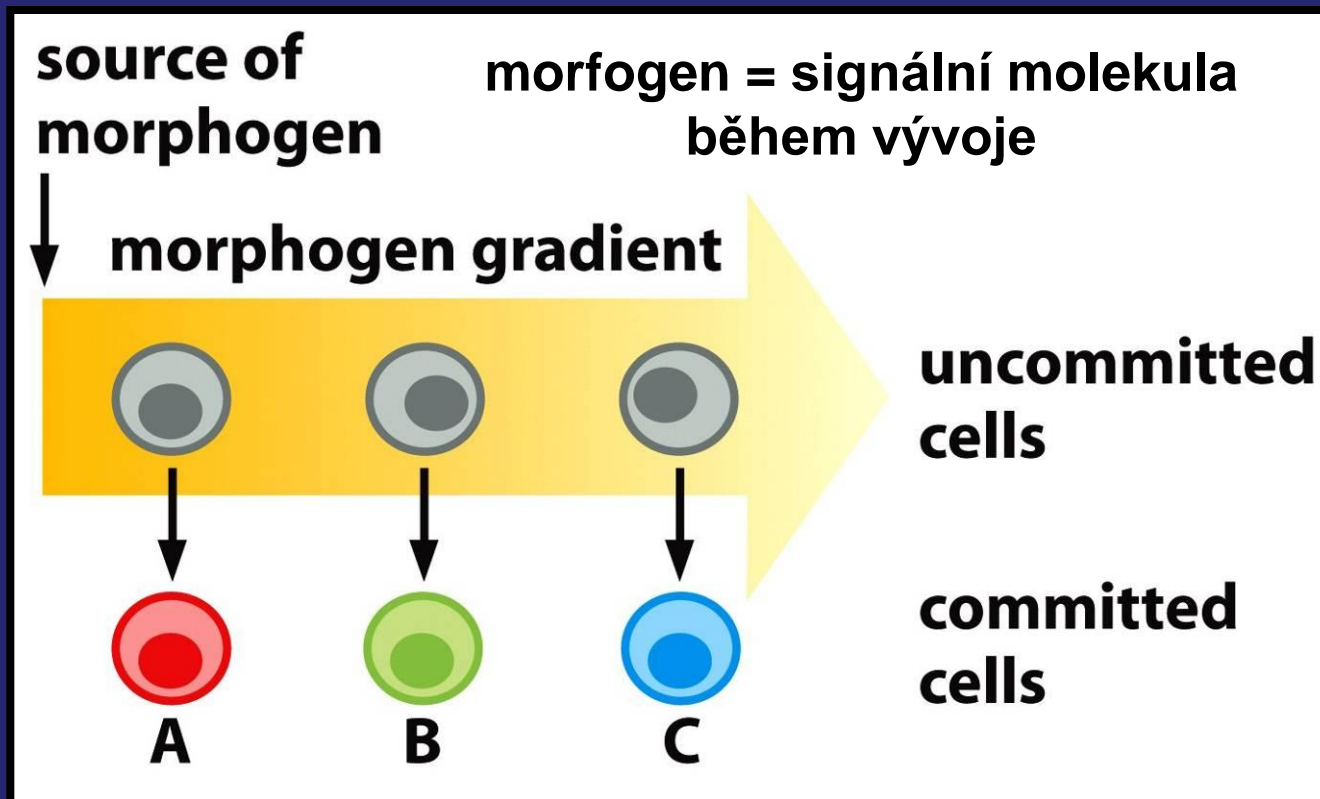
- signály jsou v různých buňkách interpretovány odlišně

Různé buňky

Stejné receptory

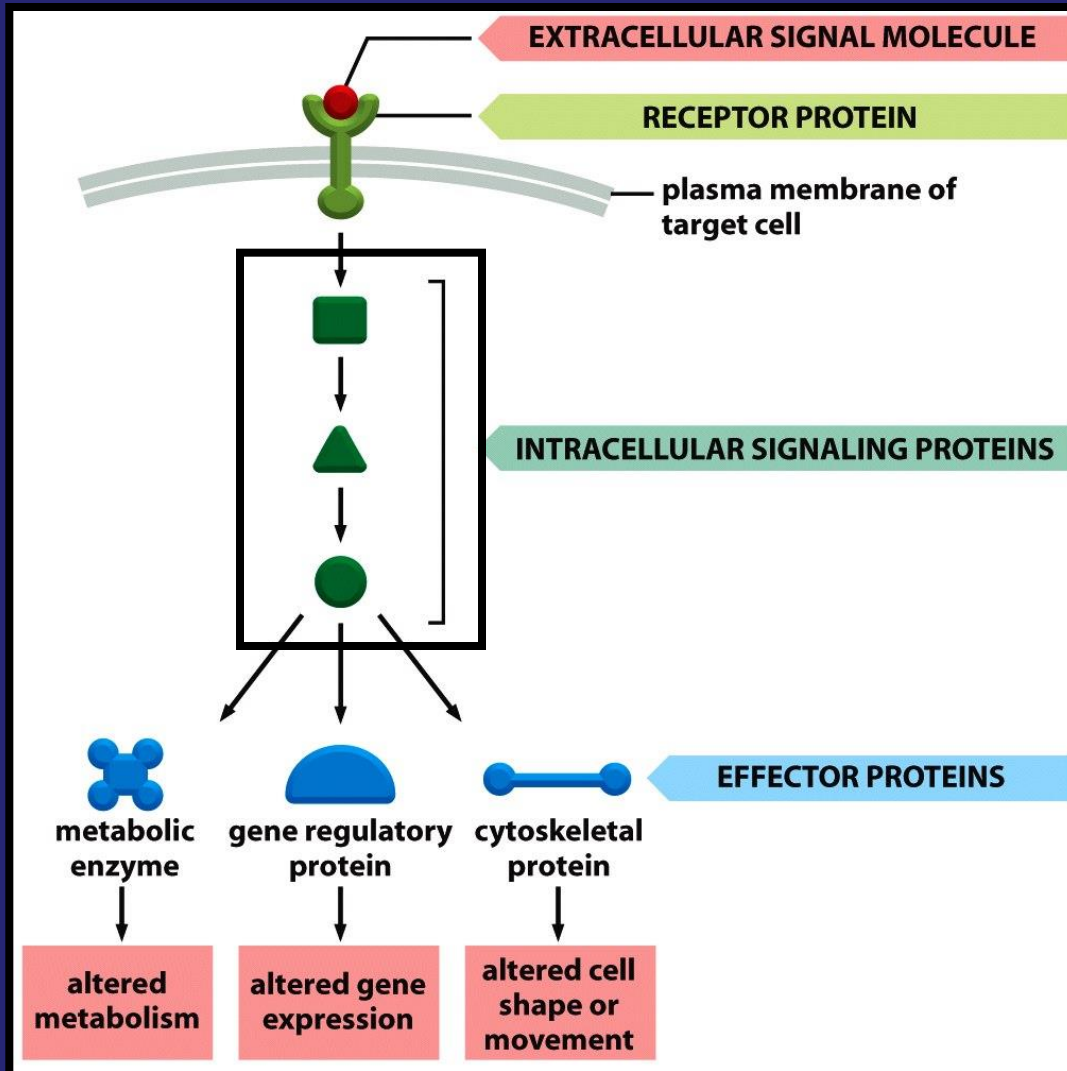
Gradient morfogenu

Stejný signál působící na stejný typ buňky může mít kvantitativně odlišné účinky v závislosti na koncentraci signálu



Expresse
různých sad
genů

Aktivace intracelulárních proteinů



Oxid dusnatý (NO)
Steroidní hormony

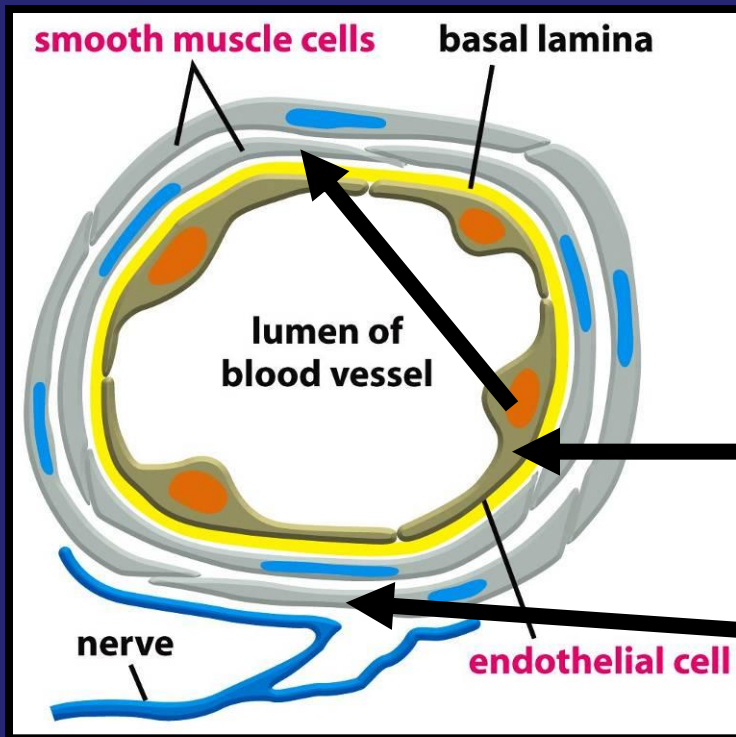
Oxid dusnatý

Jedna z důležitých signálních molekul, které aktivují intracelulární receptory

- je schopen snadno procházet přes plazmatickou membránu cílové buňky
- působí jako signální molekula u živočichů i rostlin
- jednou z mnoha jeho funkcí je svalová relaxace

Role NO při svalové relaxaci

Krevní céva s autonomním nervem



dilatace cévy

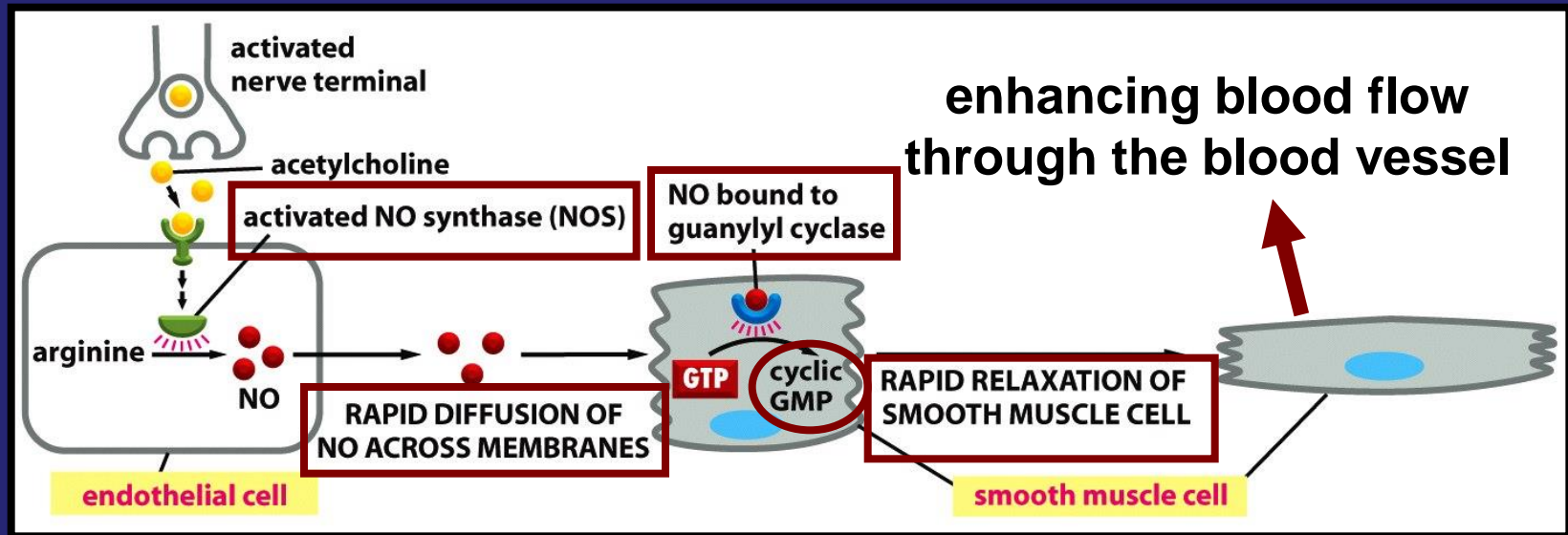
relaxace hladkého svalstva ve
stěně

endotel uvolňuje NO

acetylcholin působí na endotel

nerv uvolňuje acetylcholin

Mechanismus působení NO



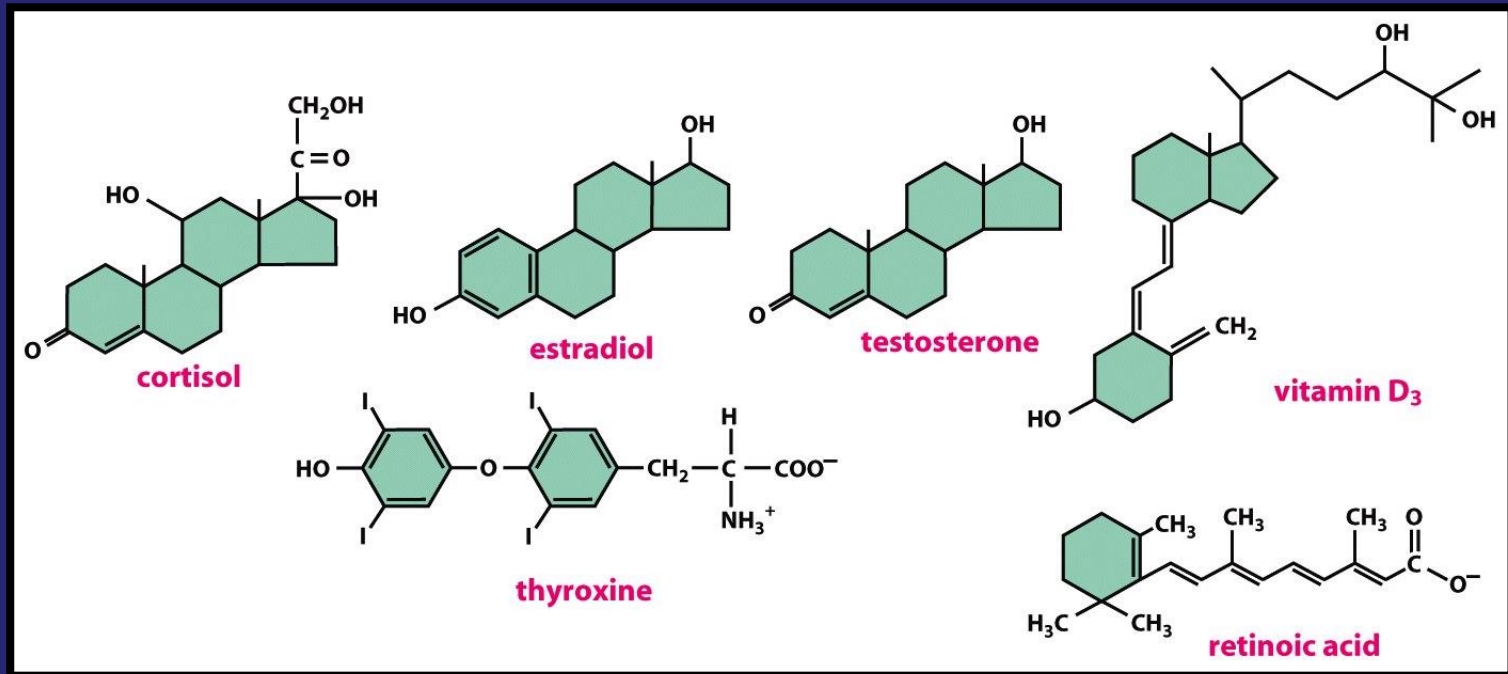
- uvolněný acetylcholin aktivuje NO syntázu (eNOS) v endoteliálních buňkách
- NO difunduje do sousedních buněk hladkého svalstva
- NO se váže a aktivuje guanylylcyklázu za vzniku cGMP
- cGMP spouští reakci, která způsobuje relaxaci

Hydrofóbní signální molekuly

Difunduje přímo přes plazmatickou membránu a váže se na genové regulační proteiny

- **Steroidní hormony**
- **Thyroidní hormony**
- **Retinoidy**
- **Vitamín D**

Příklady



- různé struktury
- působí podobným mechanismem
- váží se na příslušné intracelulární receptorové proteiny a mění schopnost těchto proteinů řídit transkripci specifických genů

Intracelulární receptory a efektory

Dané proteiny slouží jak jako intracelulární receptory, tak jako intracelulární efektory signálu

Jsou strukturálně příbuzné a jsou součástí velmi velké rodiny jaderných receptorů

Všechny jaderné receptory se vážou na DNA buď jako homodimery nebo jako heterodimery

Intracelulární receptory a efektory

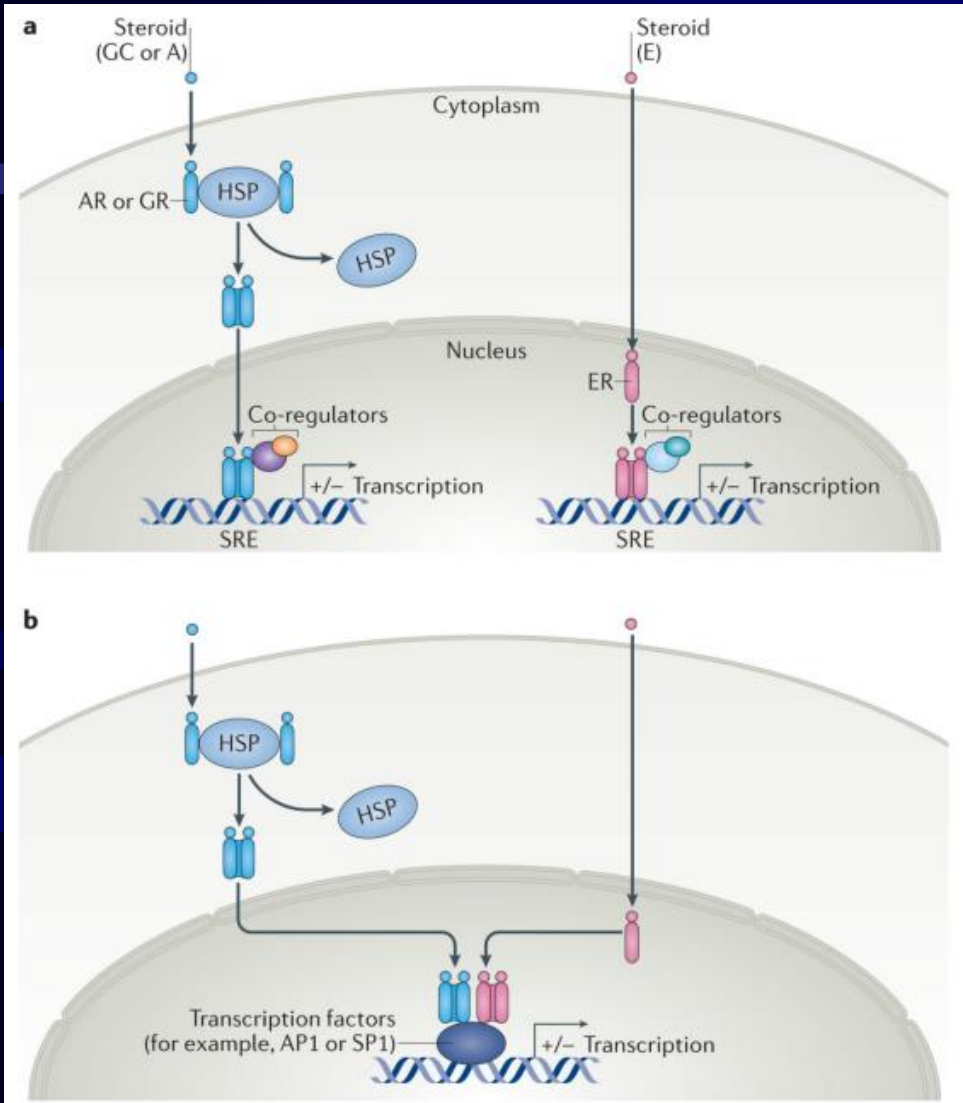
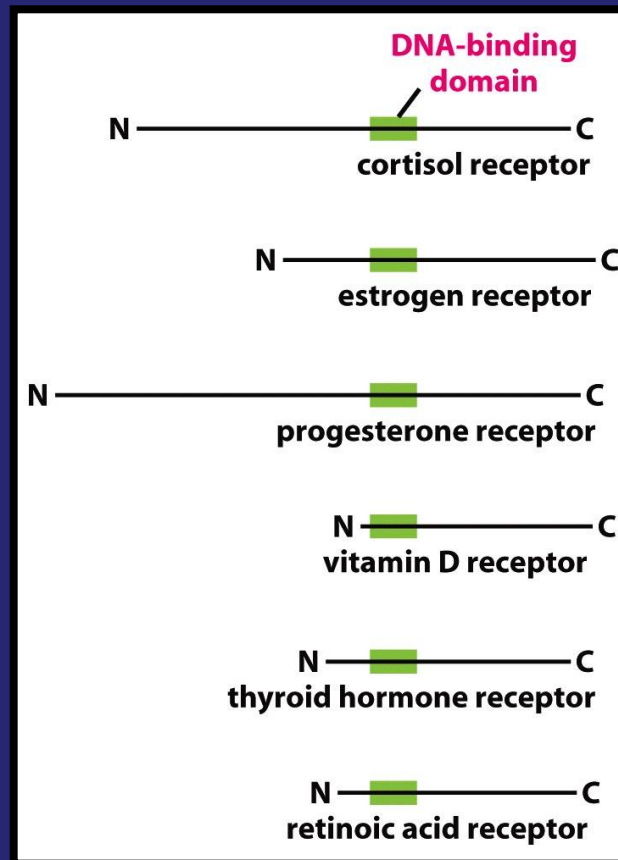


Figure 1. Nuclear steroid signalling

a | Classic steroid signalling pathway. Steroids enter cells through mechanisms that are still not understood. Some steroid receptors, such as glucocorticoid (GC) and androgen (A) receptors (GR and AR, respectively), are primarily in the cytoplasm as monomers bound to heat shock proteins (HSPs). Others, such as the oestrogen (E) receptor (ER), are located as monomers primarily in the nucleus, although a small percentage may also be bound to HSPs in the cytoplasm (not shown). In the case of GC and A, steroid binding to cytoplasmic receptors triggers release from the HSPs, receptor dimerization, alterations in receptor conformation and nuclear localization. In the case of E, the sex steroid binds to nuclear receptors to promote dimerization and changes in receptor conformation. In all cases, nuclear dimerized receptors then bind to specific steroid-response elements (SREs) and interact with various co-regulators to modulate gene transcription through either repression or activation. **b** | Tethered steroid signalling. Nuclear steroid receptors can also modulate gene expression without direct DNA binding. In this case, they bind to other transcription factors, such as AP1 or SP1, to either repress or activate transcription.

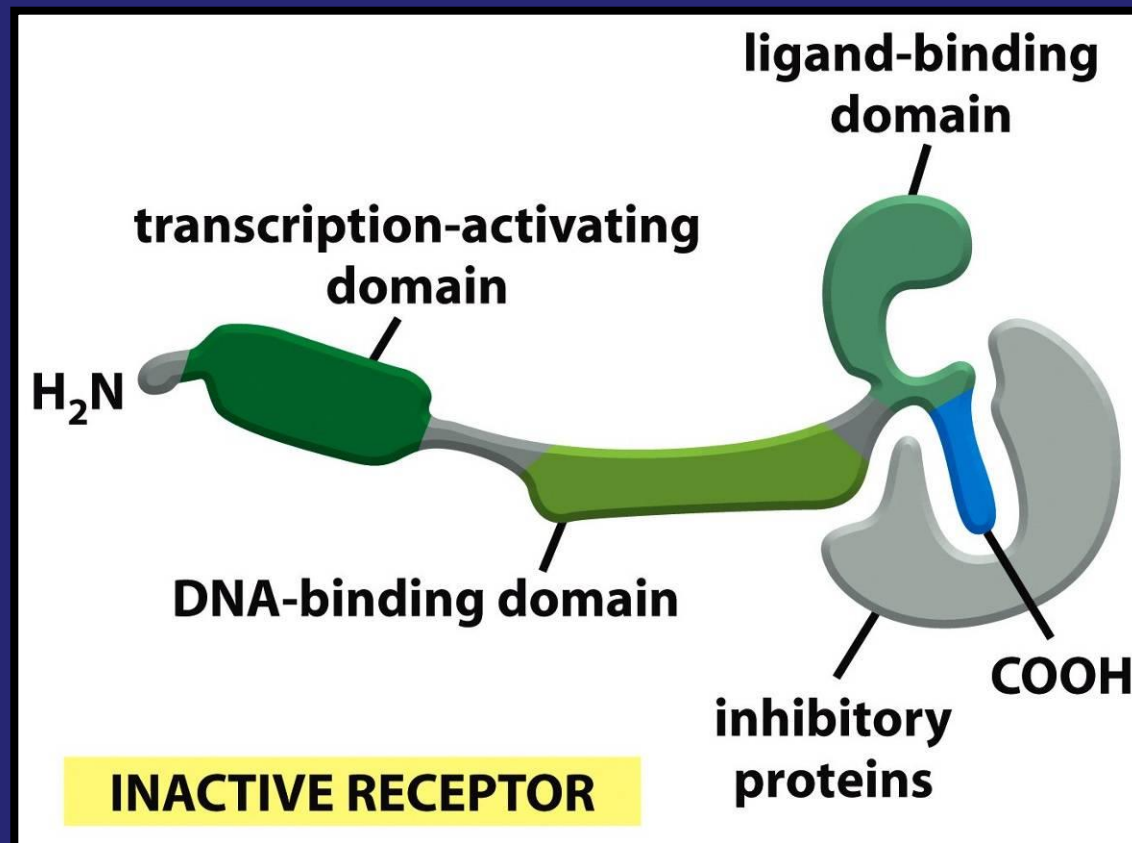
DNA-vazebné domény

Všetchny mají podobnou strukturu



Inaktivní receptor

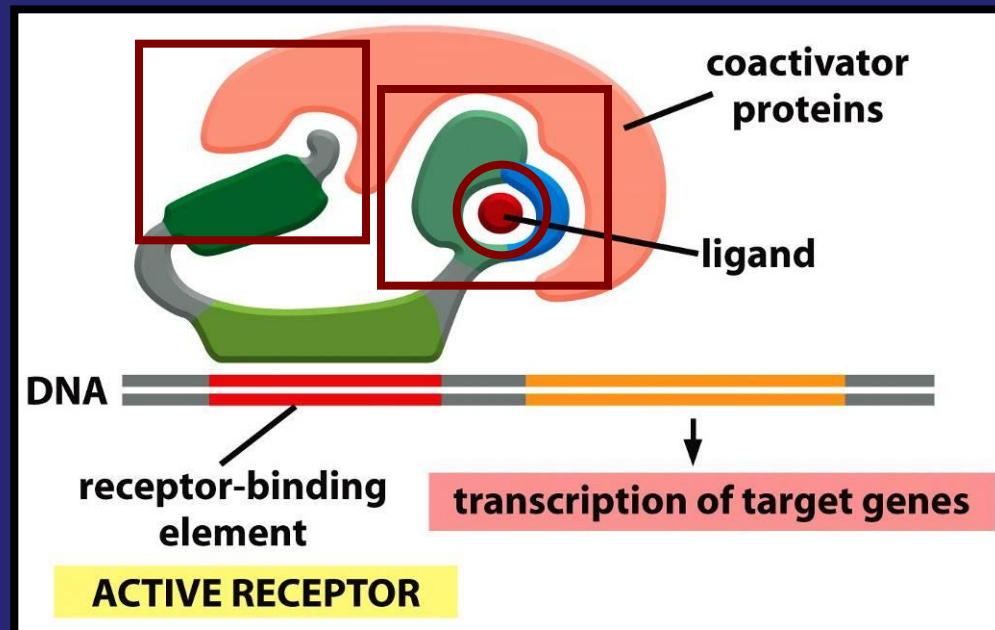
Neaktivní receptorový protein je vázán na inhibiční proteiny



Aktivní receptor

Vazba ligandu na receptor způsobuje:

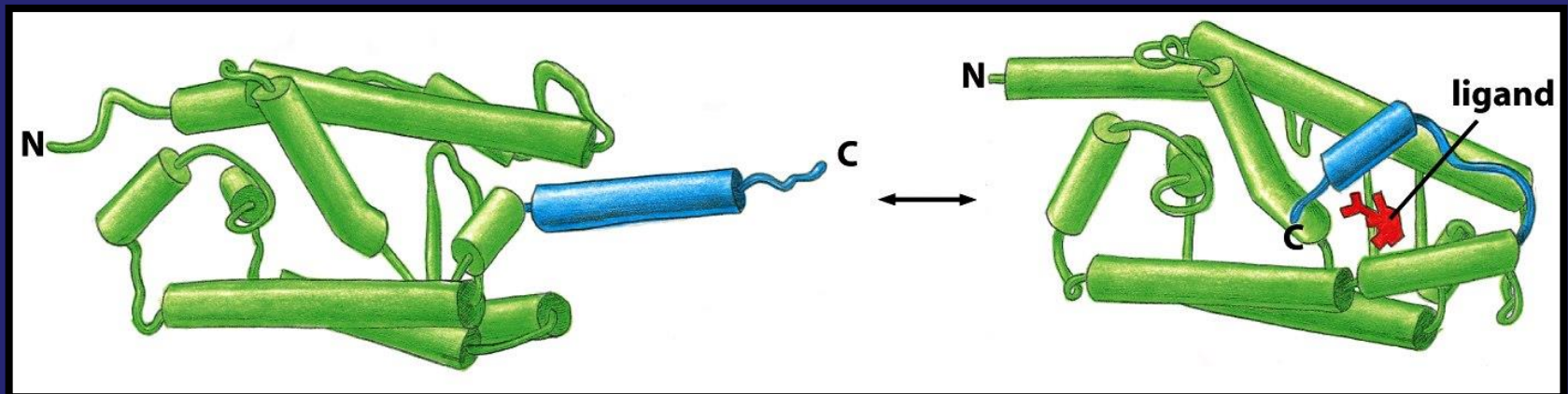
- ligand-vazebná doména receptoru se sevře kolem ligandu
- inhibiční proteiny disociují a
- koaktivátorové proteiny se váží na doménu aktivující transkripci receptoru = genová exprese



The three-dimensional structure ...

... domény vázající ligand s a bez navázaného ligandu

Modrá alfa šroubovice funguje jako víko, které se zaklapne, když se ligand (červený) naváže, a zachytí ligand na místě

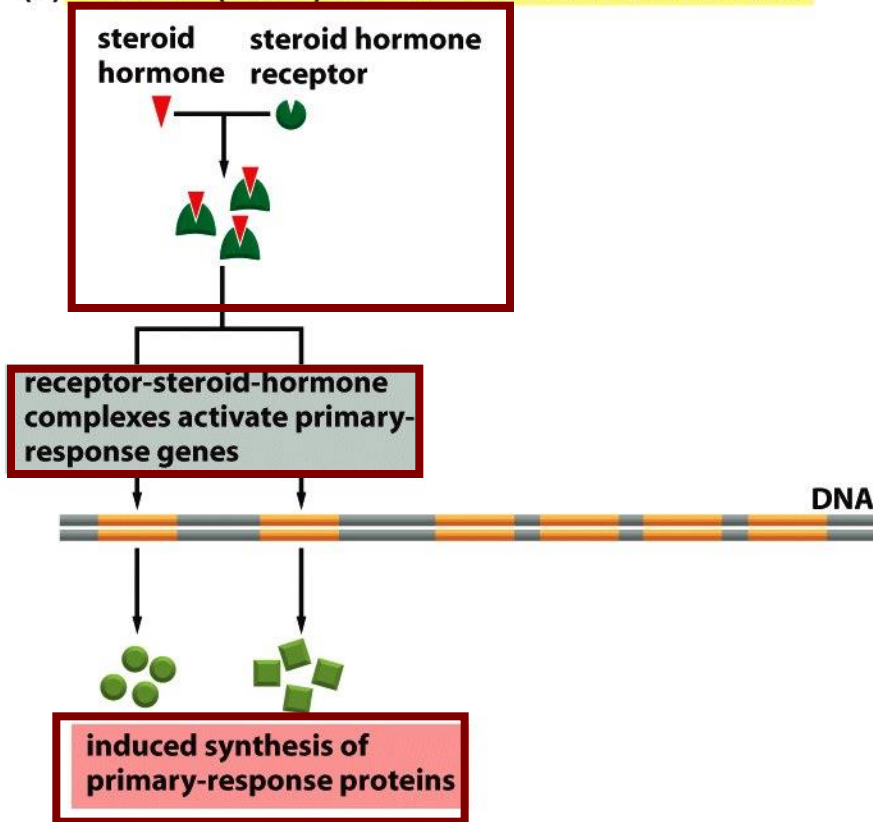


Odpovědi na steroidní hormony

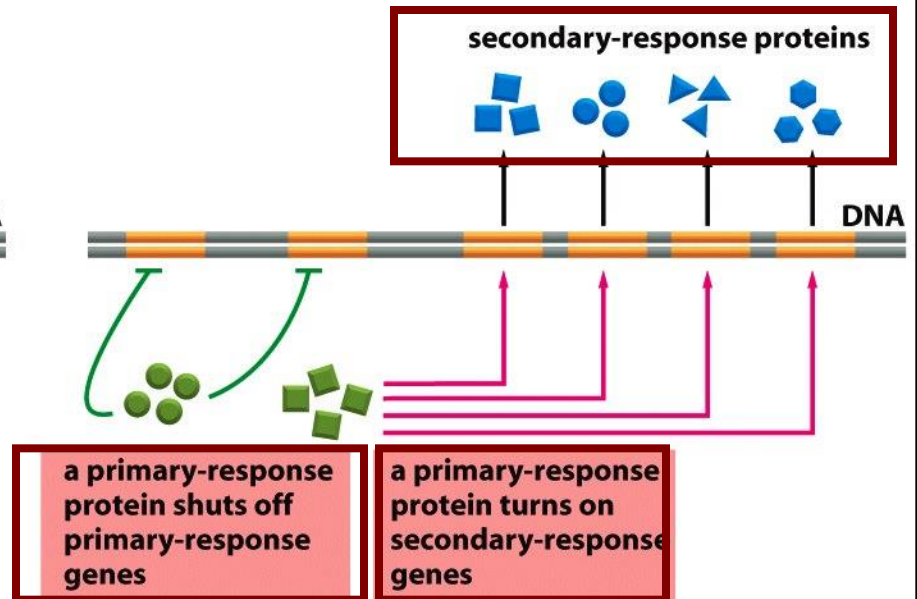
- Transkripční odpověď obvykle probíhá ve více krocích
- V případech, kdy vazba ligandu aktivuje transkripci, dochází k přímé stimulaci malého počtu specifických genů během asi 30 minut = primární odpověď
- Proteinové produkty těchto genů aktivují další geny, aby vyvolaly opožděnou sekundární odpověď
- Navíc některé z proteinů produkovaných v primární odpovědi mohou působit zpětně a inhibovat transkripci genů primární odpovědi = negativní zpětná vazba

Primární a sekundární odpověď

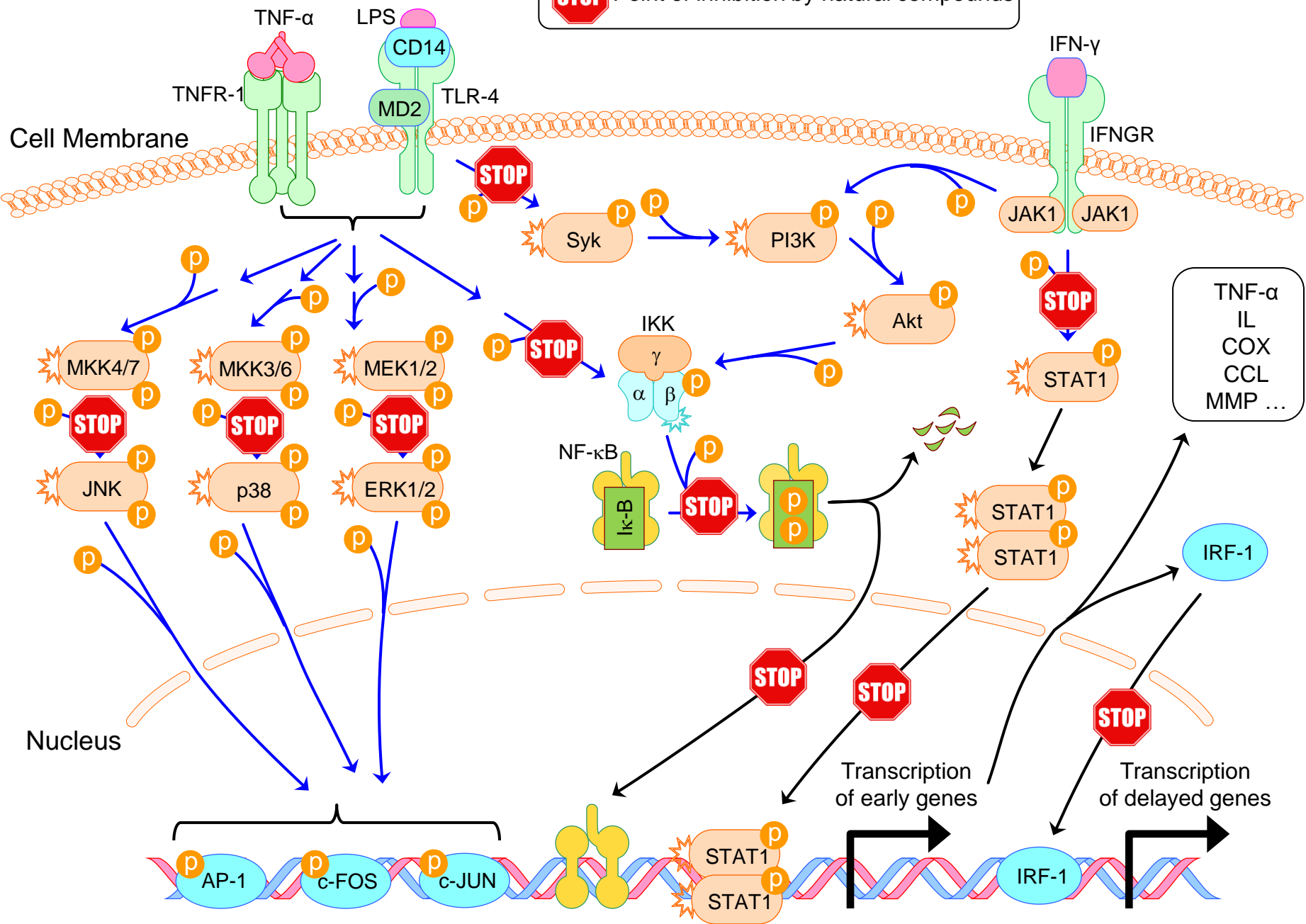
(A) PRIMARY (EARLY) RESPONSE TO STEROID HORMONE



(B) SECONDARY (DELAYED) RESPONSE TO STEROID HORMONE



STOP Point of inhibition by natural compounds

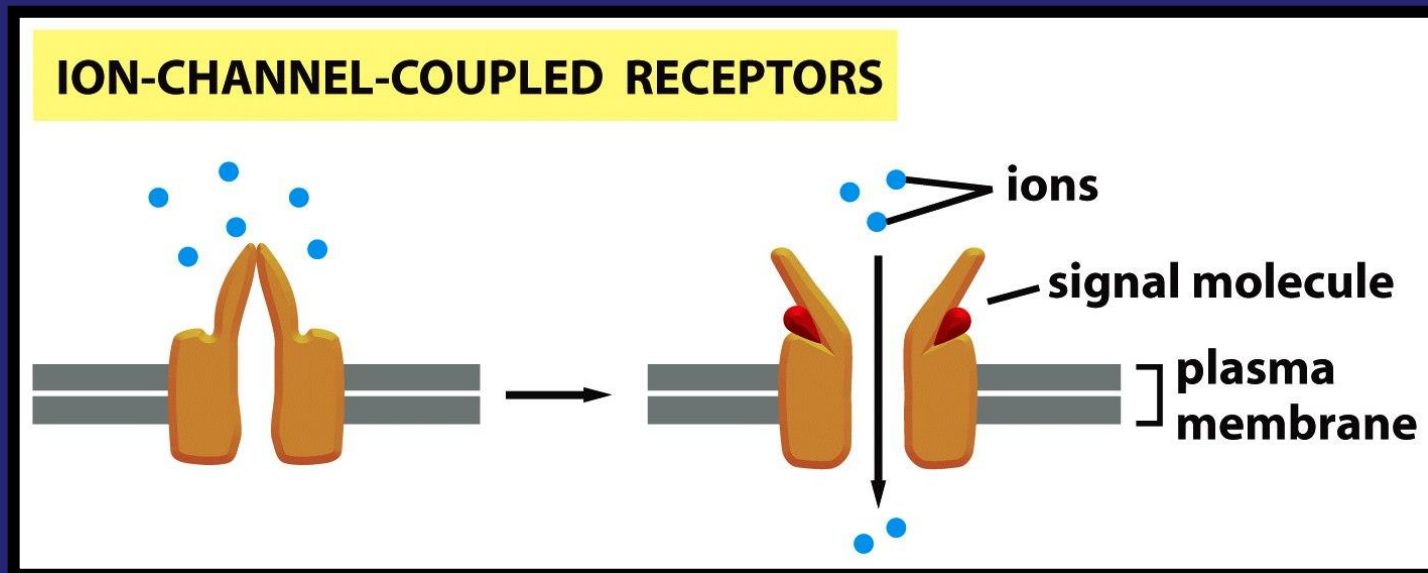


Tři největší třídy membránových receptorových proteinů

- Receptory spojené s iontovými kanály
- Receptory spojené s G-proteiny
- Receptory spojené s enzymy

Receptory spojené s iontovými kanály

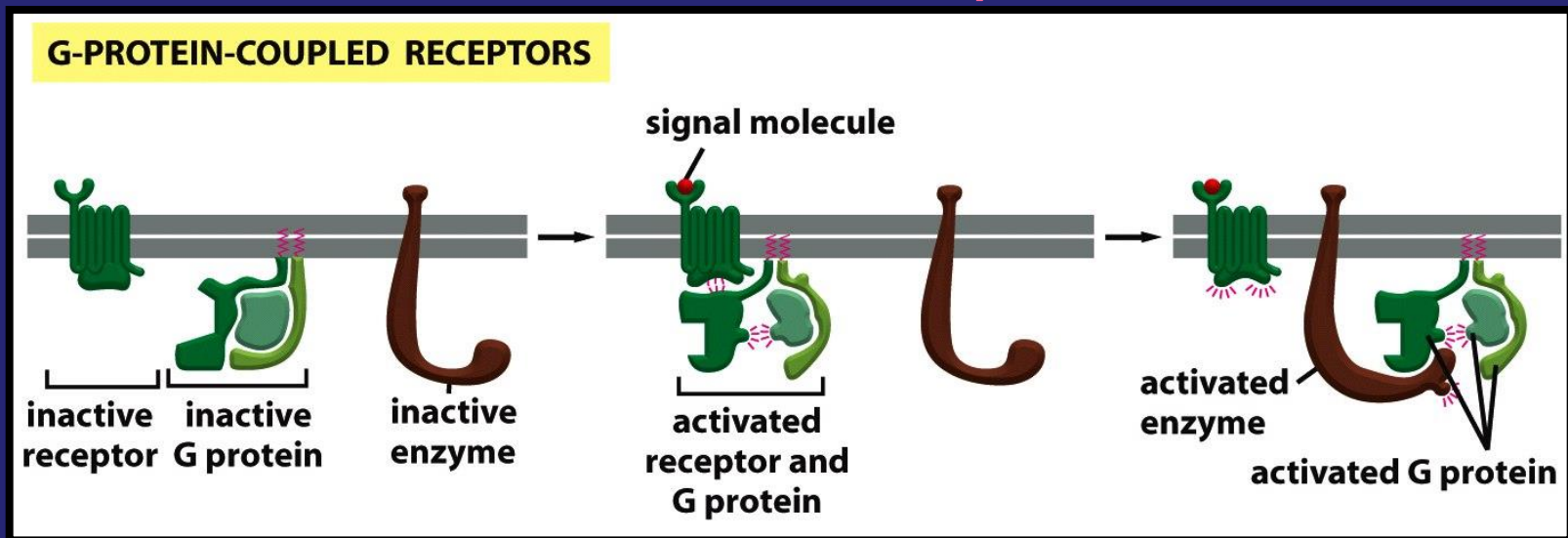
Umožňuje rychlou synaptickou signalizaci mezi nervovými buňkami a jinými elektricky excitovatelnými cílovými buňkami (nervy, svaly)



- zprostředkováno malým počtem neurotransmiterů, které přechodně otevírají nebo uzavírají iontový kanál tvořený proteinem, na který se vážou, a krátkodobě mění propustnost iontů

Receptory spojené s G-proteiny

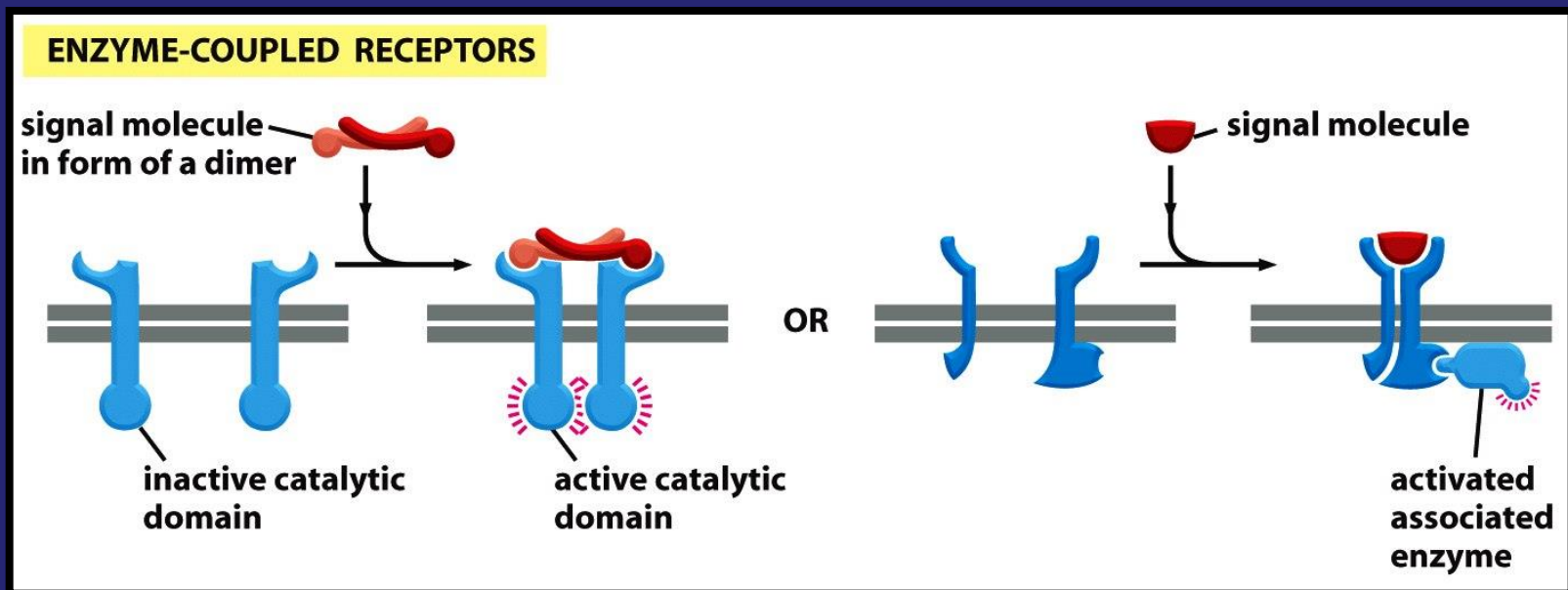
Působí nepřímou regulací aktivity samostatného cílového proteinu vázaného na plazmatickou membránu (enzymu nebo kanálu)



- trimerní GTP-vázající protein (G protein) zprostředkovává interakci mezi aktivovaným receptorem a tímto cílovým proteinem
- aktivace mění koncentraci intracelulárních mediátorů nebo iontovou permeabilitu

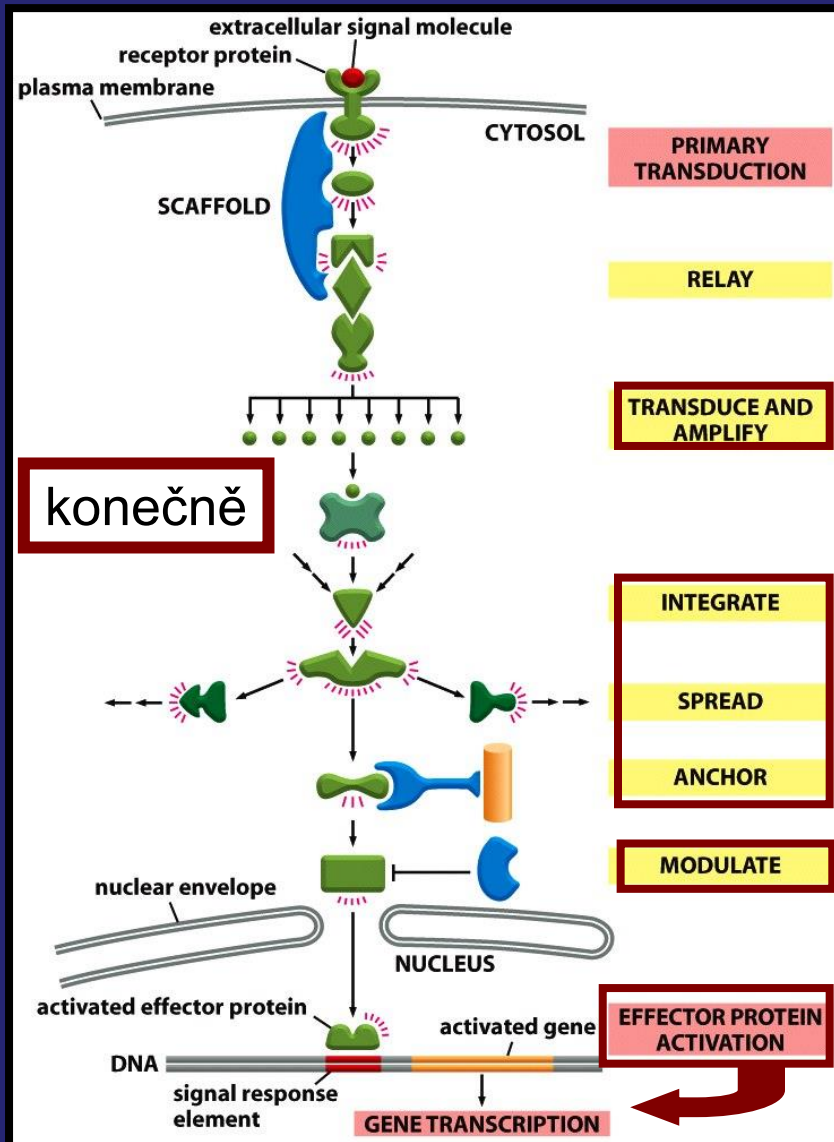
Receptory spojené s enzymy

Bud' fungují přímo jako enzymy, nebo se spojují s enzymy, které aktivují



- obvykle jednopřechodové transmembránové proteiny, které mají své vazebné místo pro ligand vně buňky a své katalytické nebo enzymové vazebné místo uvnitř
- jsou to bud' proteinkinázy, nebo s nimi spojené

Intracelulární signální dráhy



- řada signálních proteinů a malých intracelulárních mediátorů přenáší extracelulární signál do jádra

Signál je:

- změněn (převeden)
- amplifikován
- šířen
- modulován

Konečný efekt jednoho signálu závisí na více faktorech

3. Vnitrobuněčná signální kaskáda, signální molekuly

Buněčná signalizace zahrnuje celý řetězec dějů:

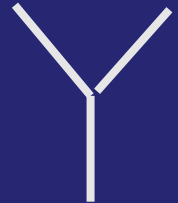
- ❖ příjem signálu
- ❖ jeho zpracování (transformace, transdukce, amplifikace)
- ❖ přenos do nitra buňky (modulace, větvení, event. integrace signálů z různých receptorů)
- ❖ odpověď buňky na signál

To se nazývá **SIGNÁLNÍ KASKÁDA.**

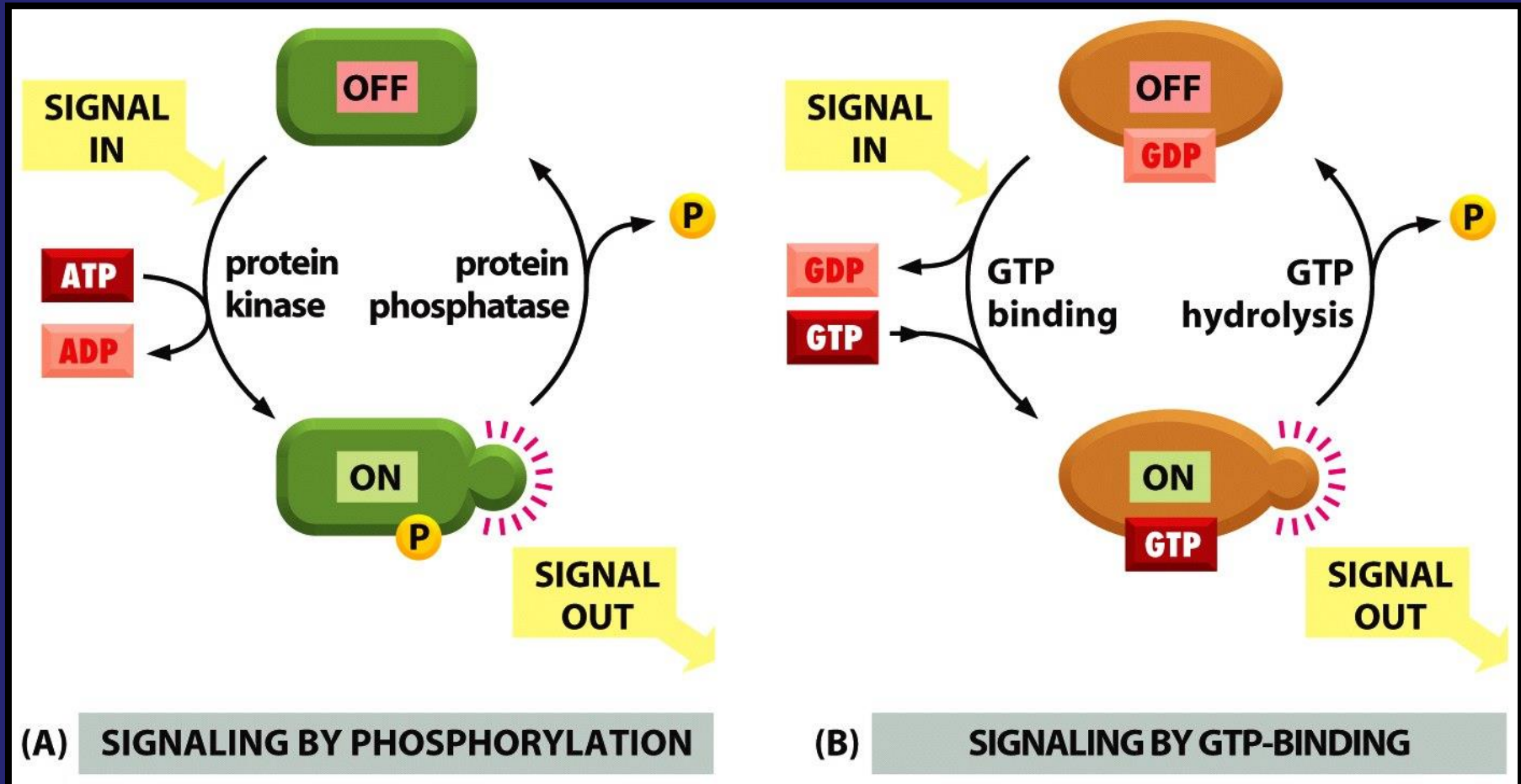
3. Vnitrobuněčná signální kaskáda, signální molekuly

Význam signální kaskády:

- Fyzický přenos z místa přijetí do místa odpovědi
- Transformace signálu do potřebné molekulární podoby
- Transdukce signálu - přeměna signálu z jedné formy na druhou (např. z elektrické na chemickou, apod.)
- Větvení signálu – ovlivnění více dějů současně
- Integrace signálu – děj vyžaduje aktivaci více receptorů
- Modulace přenosu signálu dle aktuálních podmínek vně a uvnitř buňky
- Amplifikace signálu – zesílení signálu

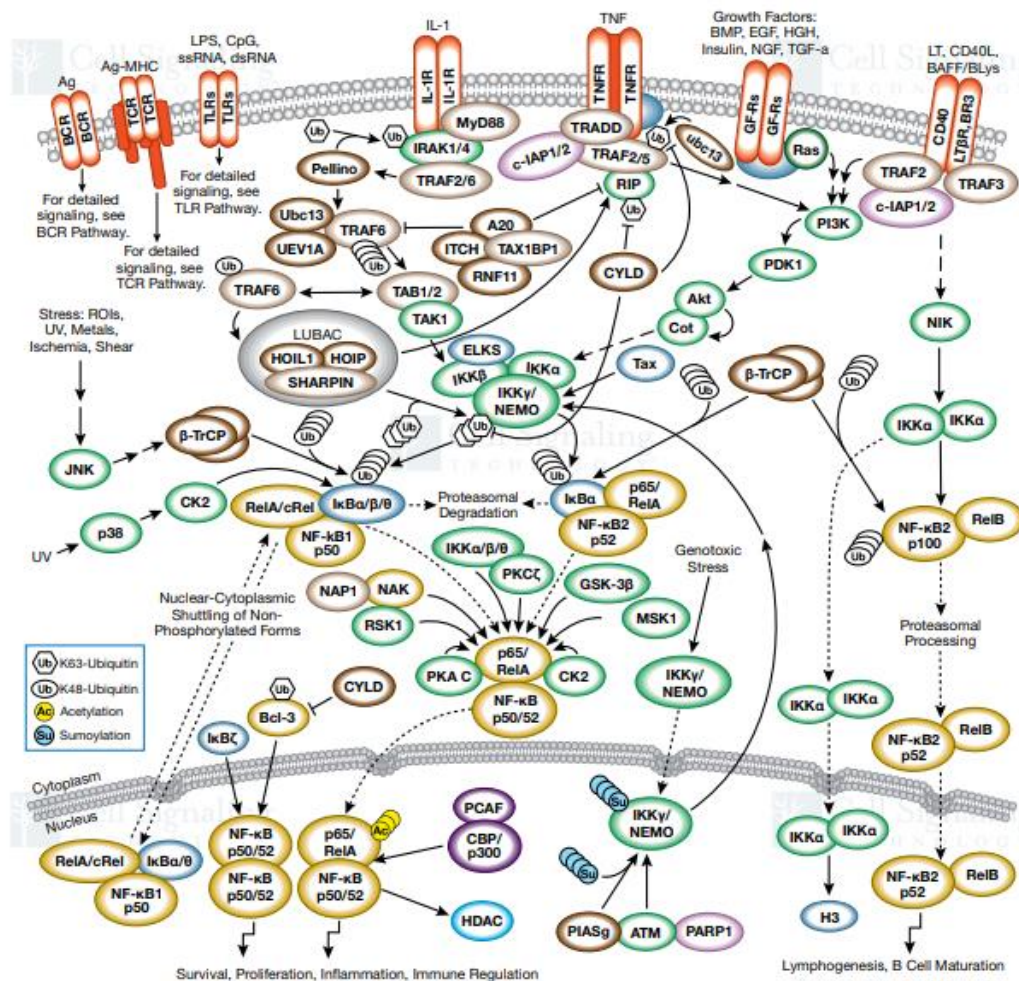


Dva typy intracelulárních signálních proteinů

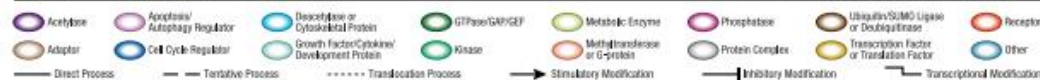


NF-κB Signaling

Intracelulární signální síť – NF-κB příklad



Pathway Diagram Key



Zpětná vazba buněčné signalizace

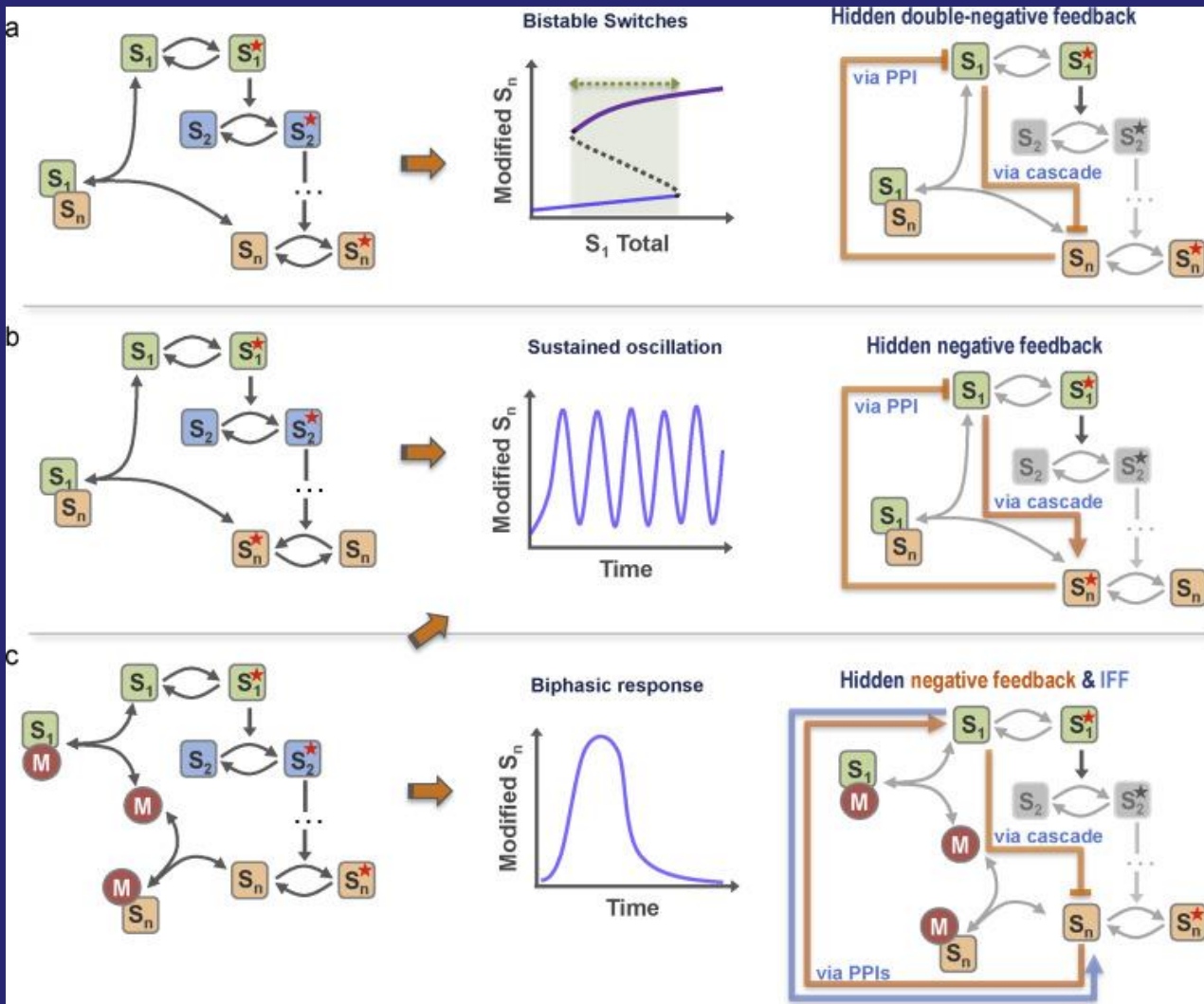


Fig. 2. PPIs generate hidden feedback/feed-forward loops and complex behaviours. (a) A single PPI linking unmodified components belonging to different layers of a cascade could induce bistable switches (modified moieties are denoted with a star, hereafter), caused by a hidden double-negative feedback illustrated in the right panel. (b) A PPI linking unmodified/modified cascade components could induce sustained oscillation, triggered by a hidden negative feedback depicted in the right panel. (c) Coupled PPIs motif linking unmodified forms of the cascade components could generate oscillation and biphasic dose-response, brought about by a hidden negative feedback or a incoherent feed-forward (IFF) loop (right panel).