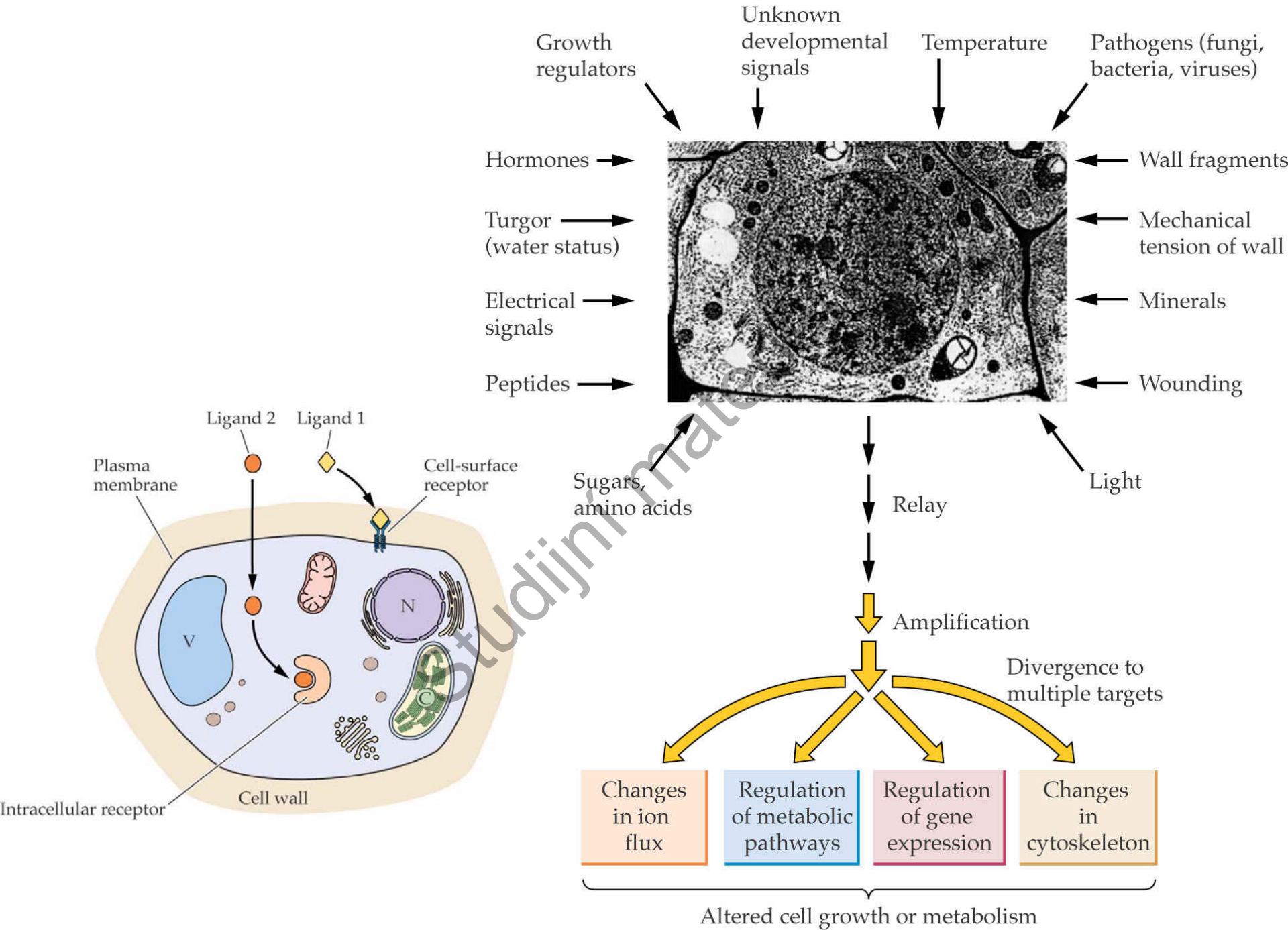
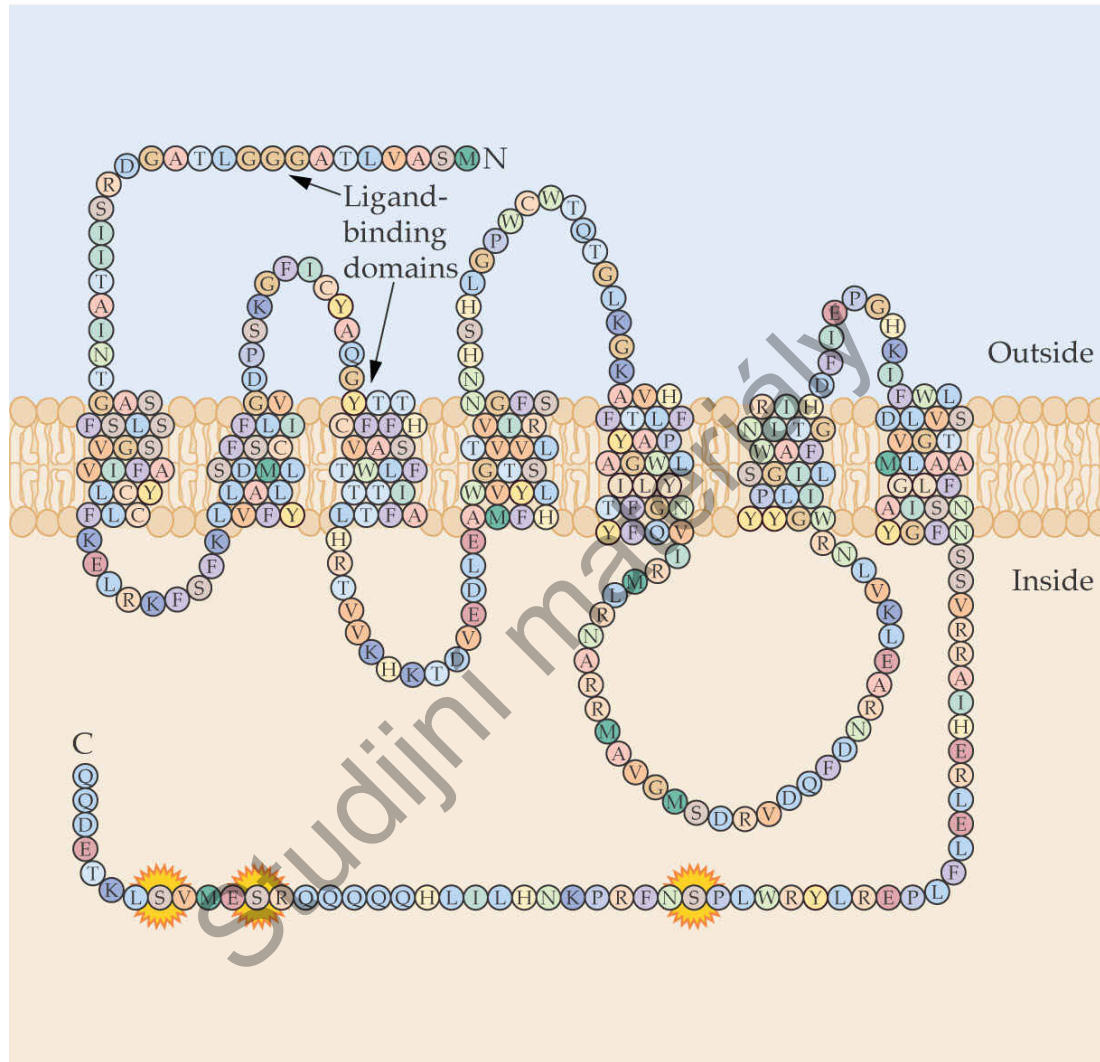


Signalizace a regulace

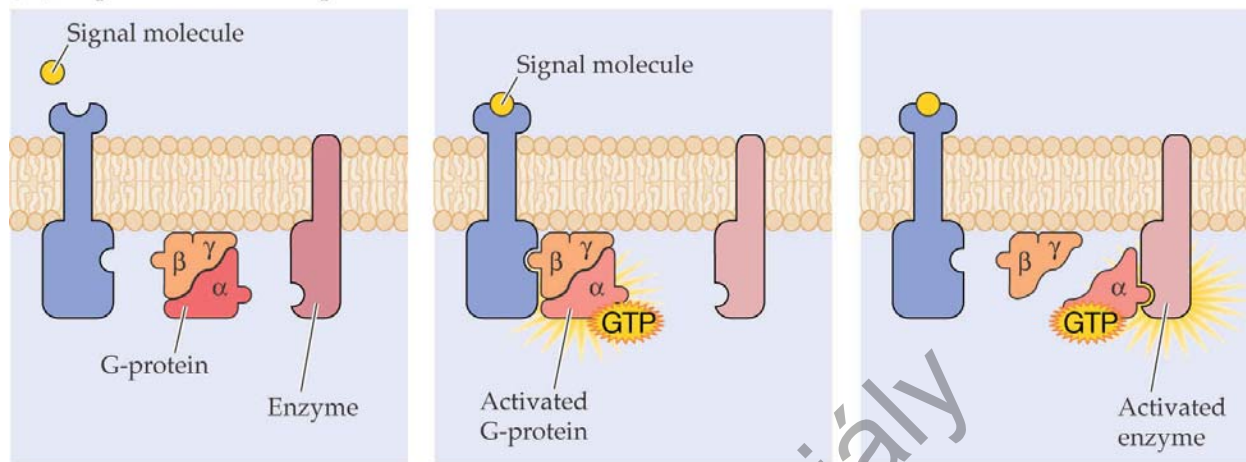
Studijní materiály



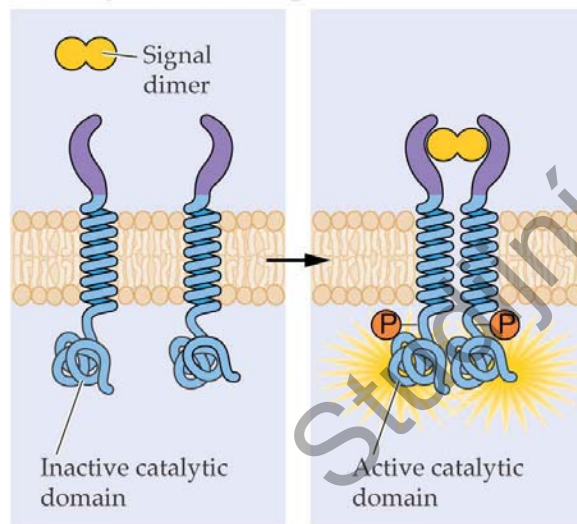


Pravděpodobná struktura receptoru na cytokinin. Vazebné místo vně na N-konci, uvnitř na C-konci domény zajišťující fosforylaci.

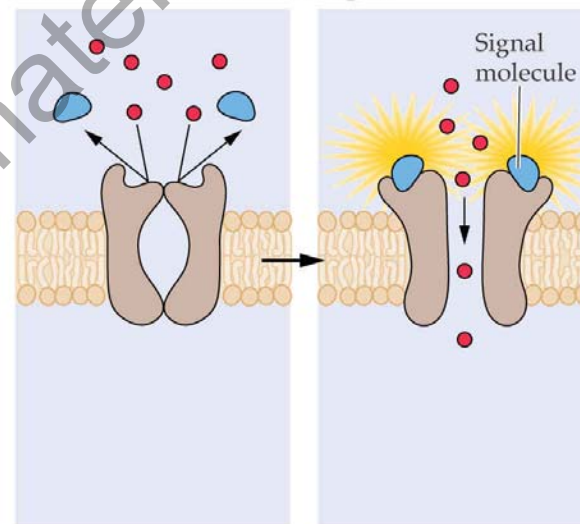
(A) G-protein-linked receptor



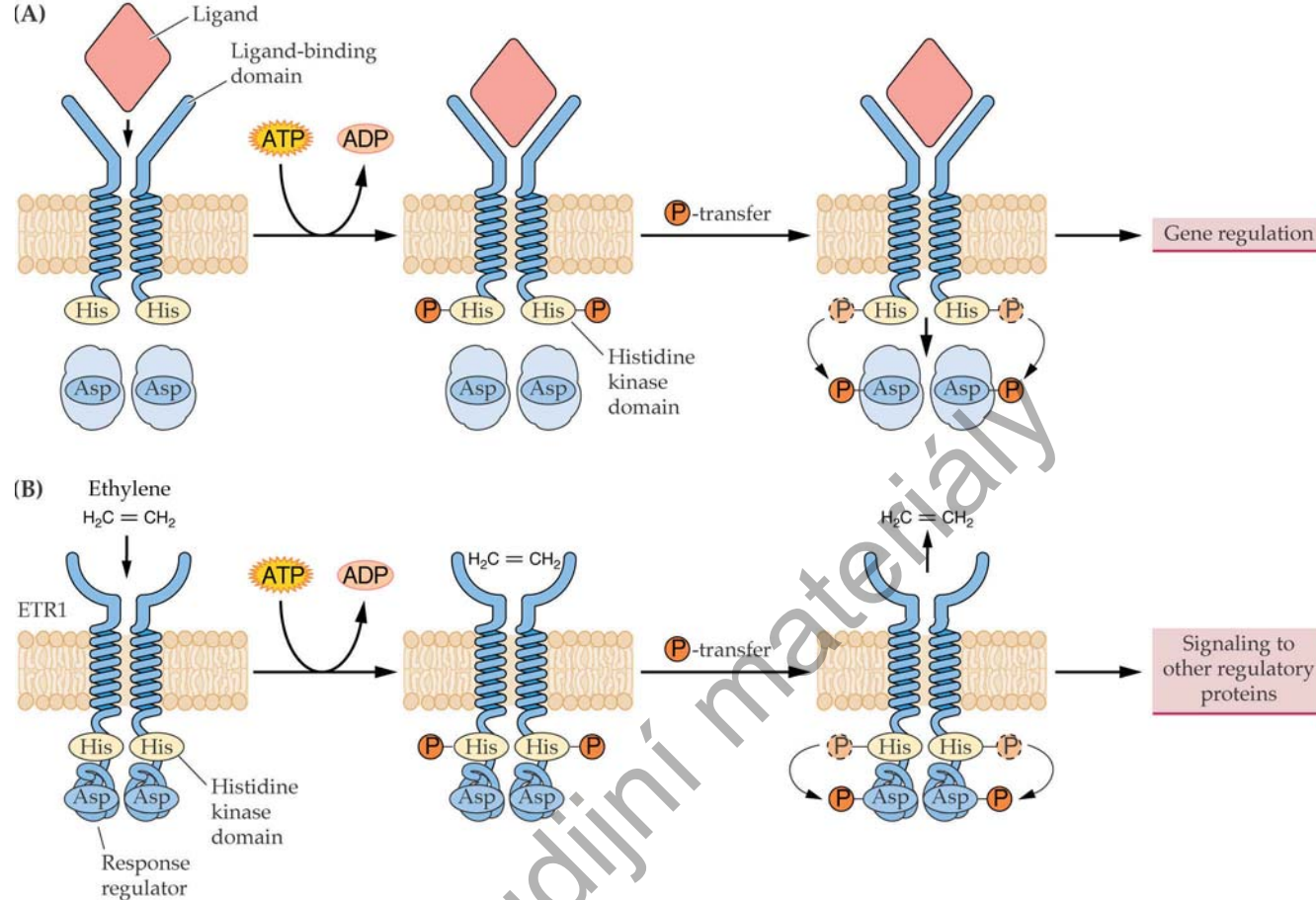
(B) Enzyme-linked receptor



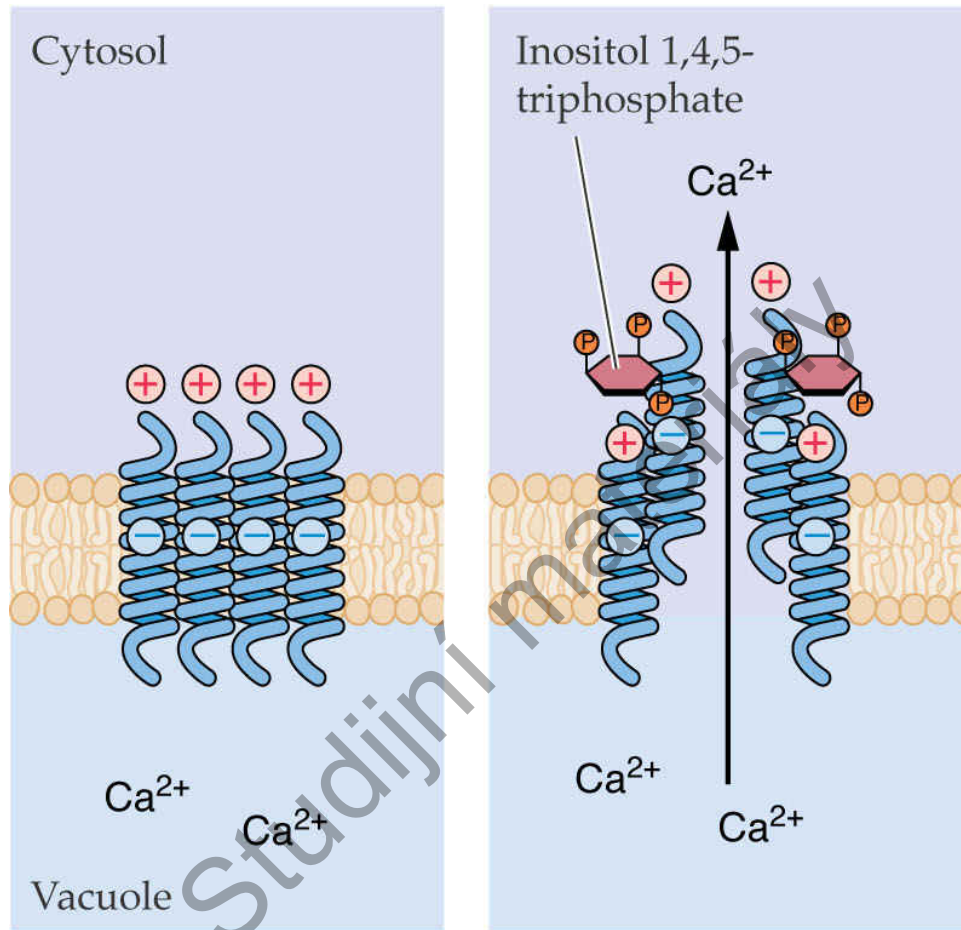
(C) Ion channel-linked receptor



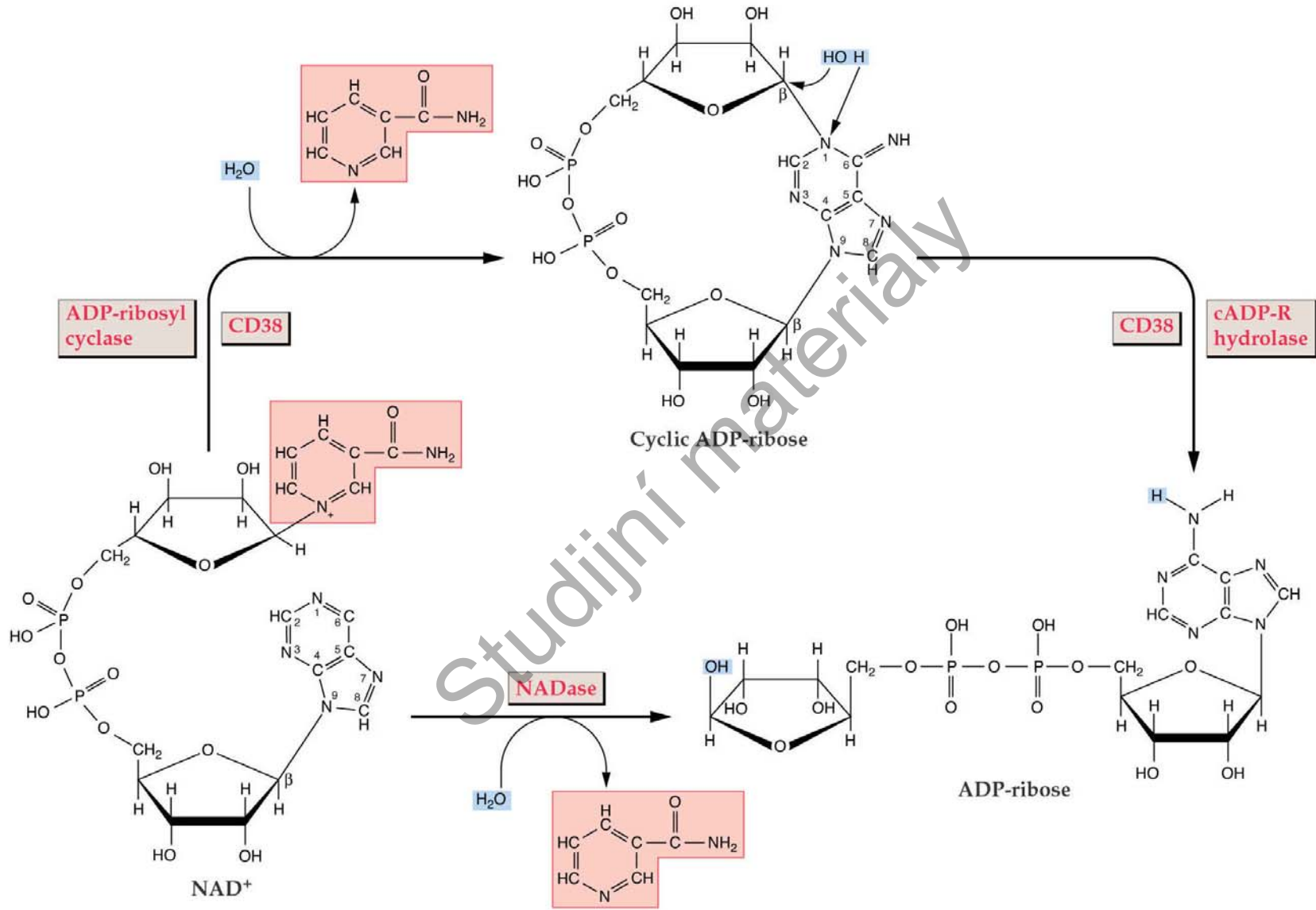
Typy membránových receptorů. G-protein, receptor spojený s enzymem, receptor jako iontový kanál

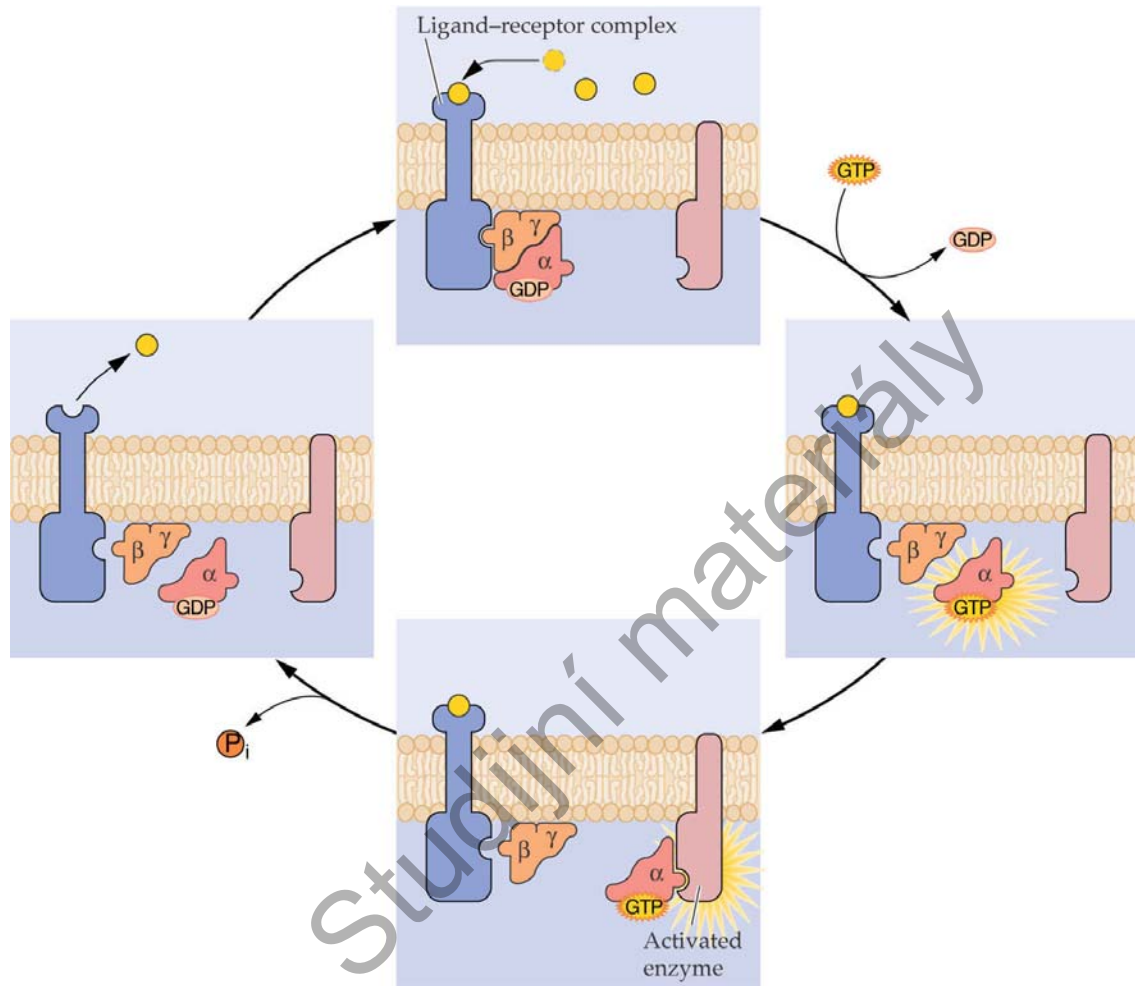


Receptor s dvoukomponentním systémem kinas. První komponentnou je vlastní receptor. Interakce s ligandem vyvolá dimerizaci fosforylaci histidinu. Druhou komponentou je regulační protein který je fosforylován přenosem fosfátu z histidinu na aspartát. Příkladem takového receptoru je ethylenový receptor.

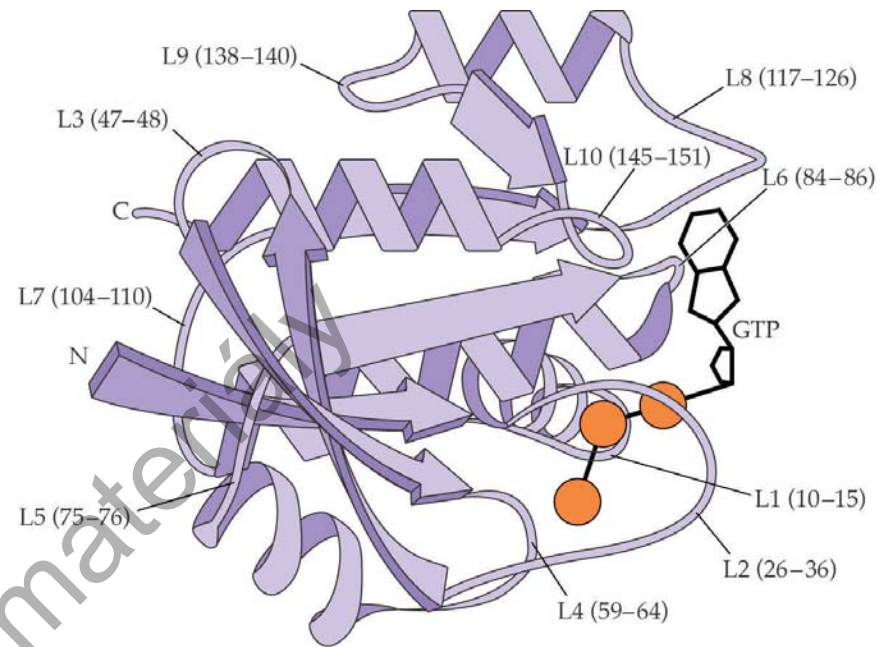
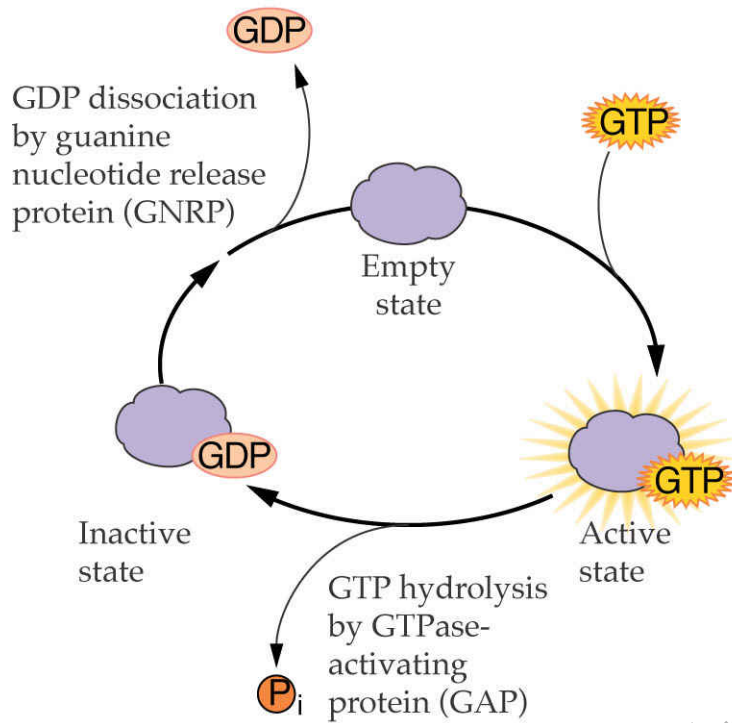


Receptor na inositoltrisfosfát (IP3) je iontový kanál lokalizovaný ve vakuole nebo na ER. Je složen ze 4 podjednotek





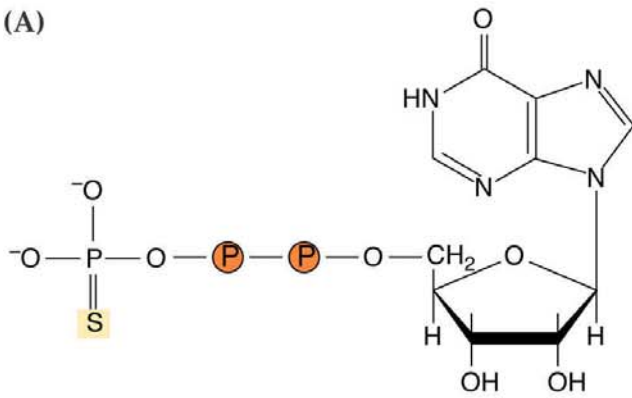
Funkce heterotrimerních G-proteinů



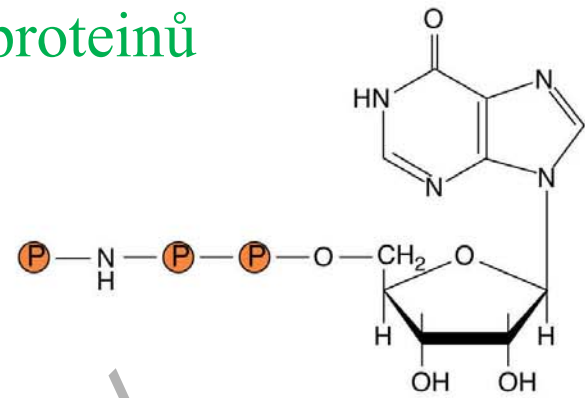
Funkce monomerních G-proteinů. Trojrozměrná struktura živočišného Ras proteinu (malý monomerní G-protein), doména vázající GTP. Obdobný G-protein se zřejmě nachází u rostlin

Inhibitory G-proteini

(A)

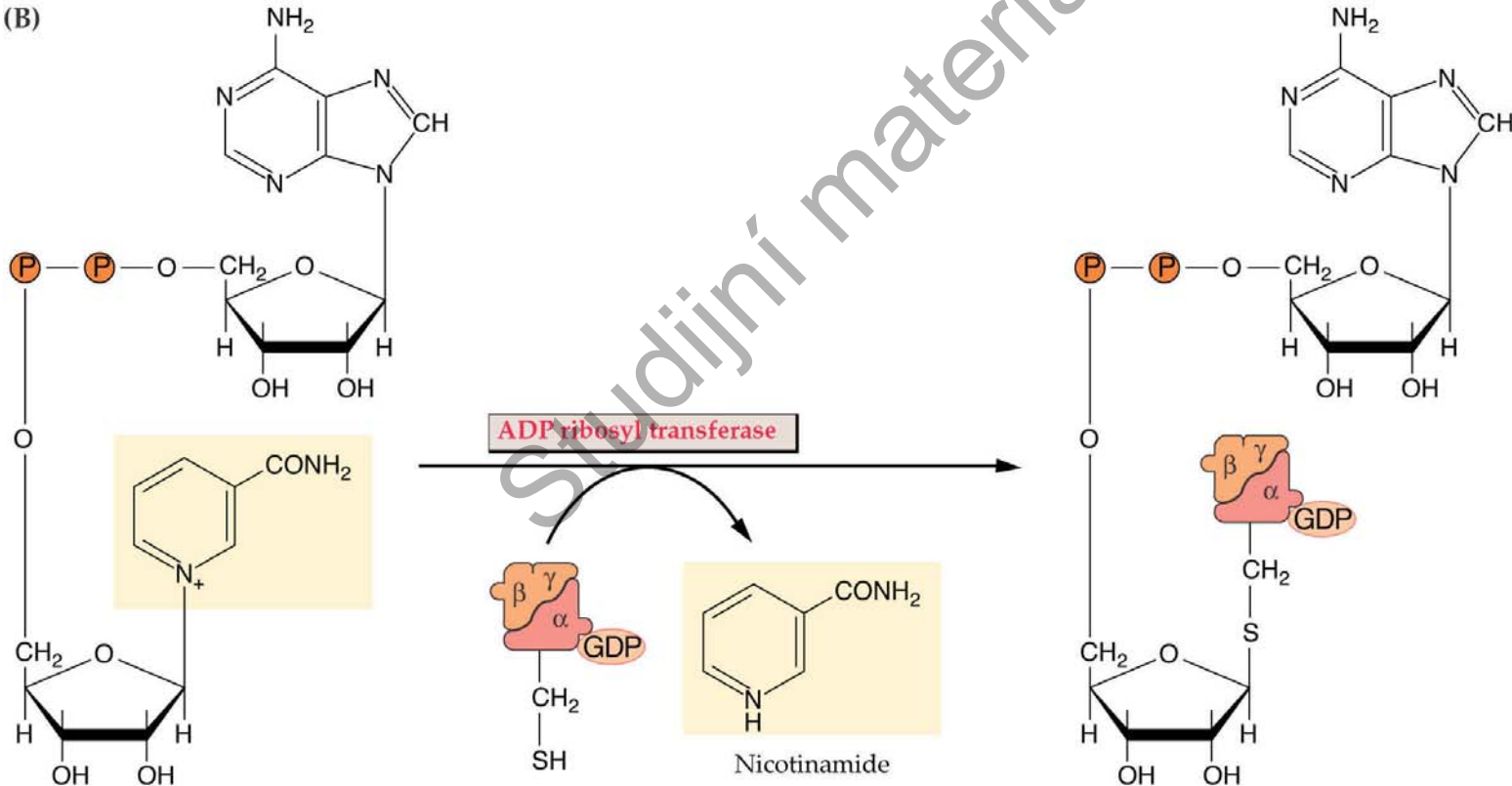


Guanosine-5'-O-(3-thiotriphosphate): GTPγS



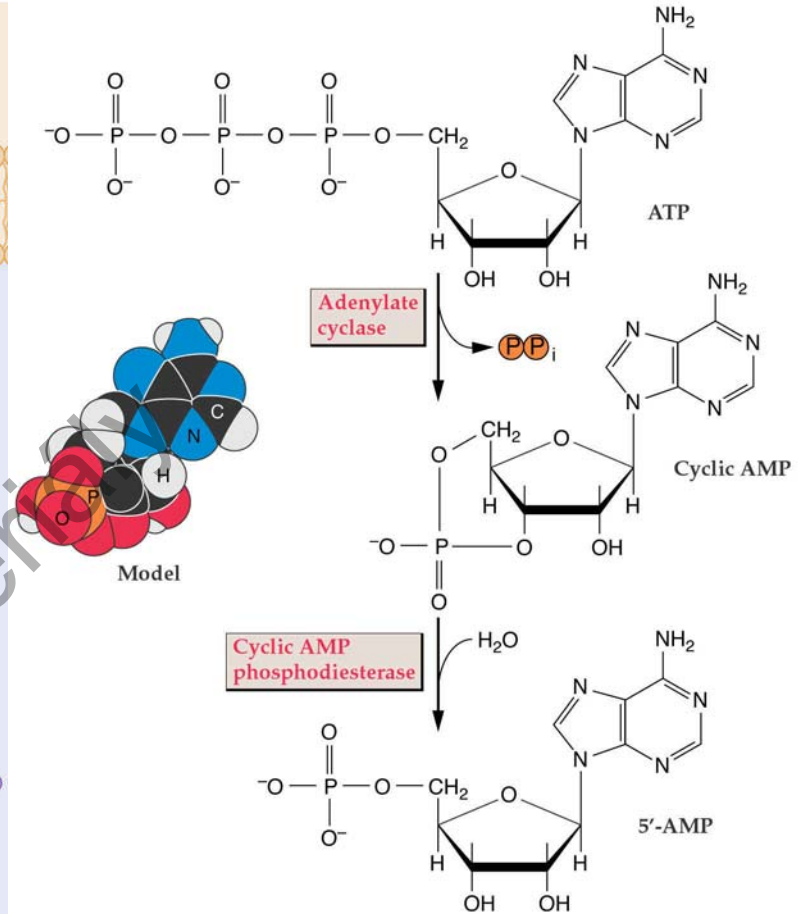
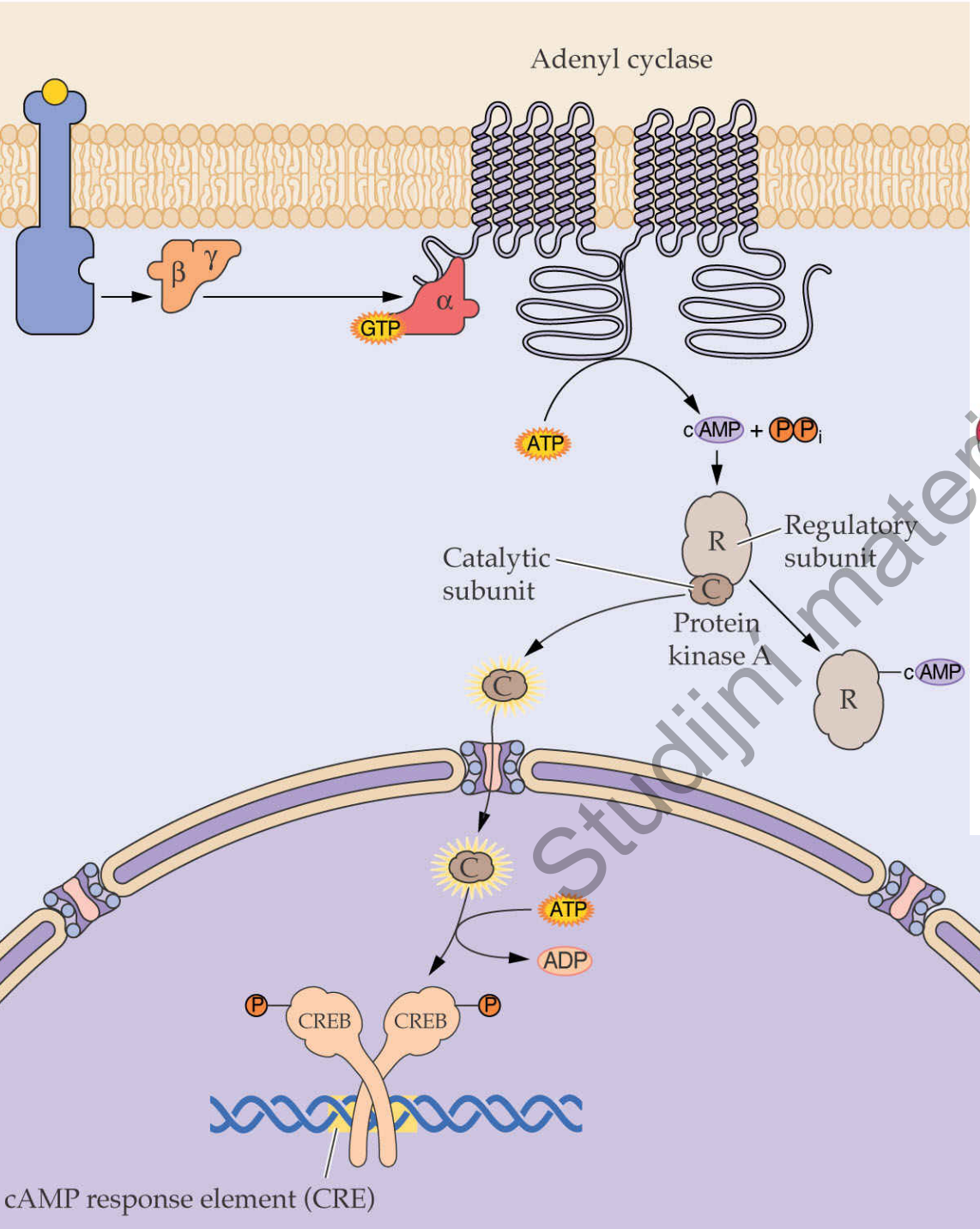
Guanylyl(β-imido)diphosphate: GppNHp

(B)



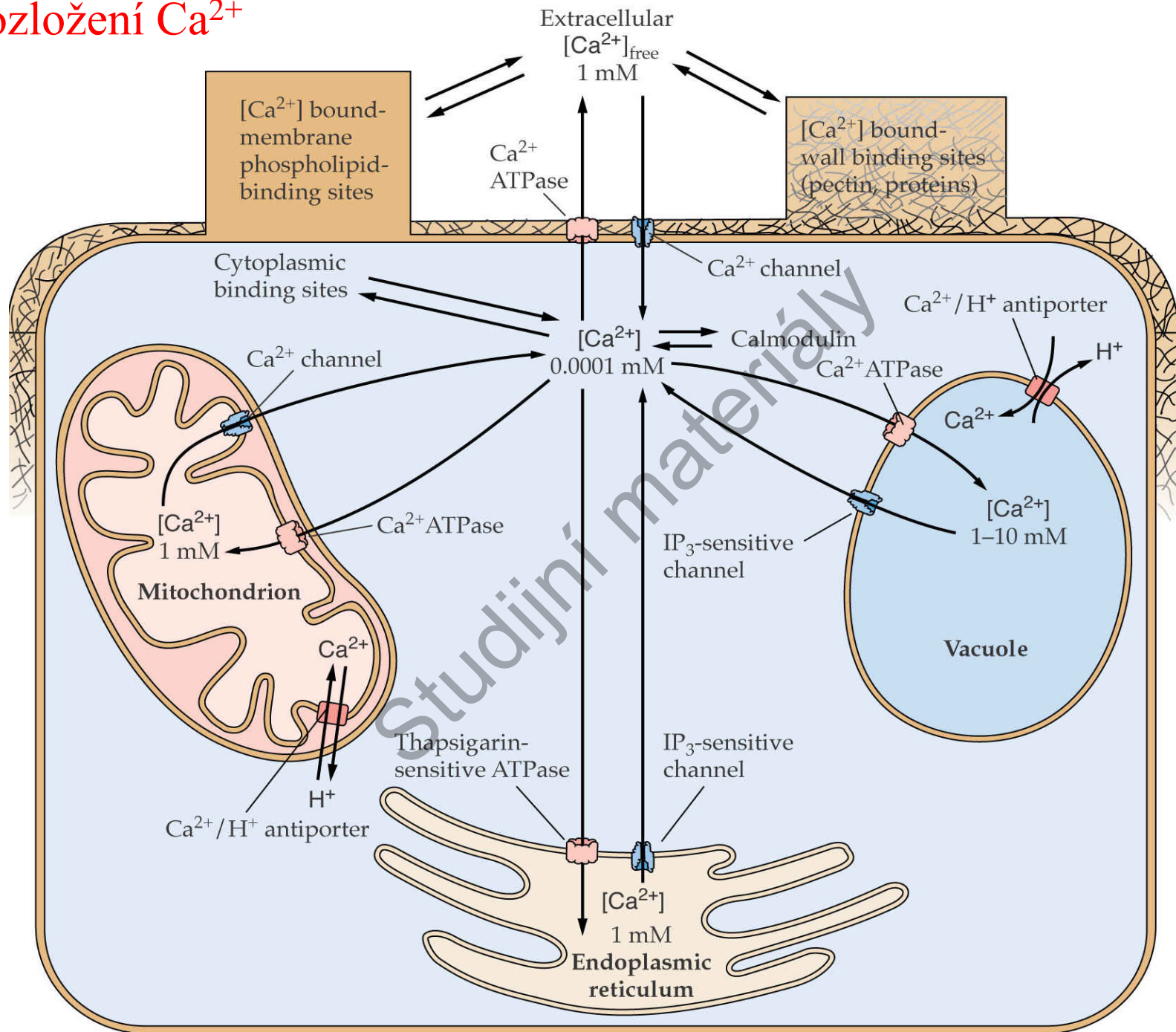
Nicotinamide adenine dinucleotide

ADP-ribosylated G-protein

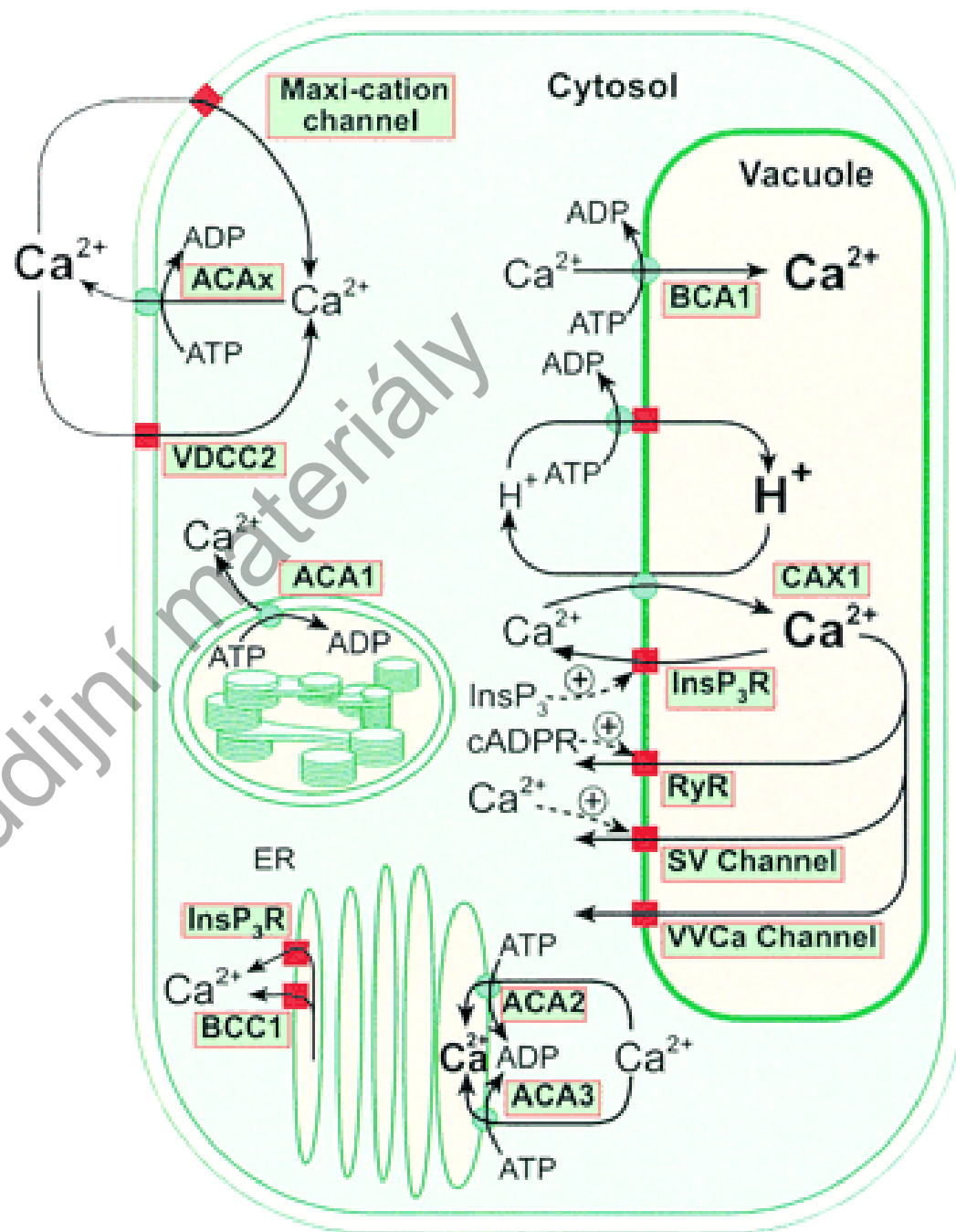


Kaskáda cAMP

Rozložení Ca^{2+}



Ca²⁺ kanály u rostlin



Studijní materiály

Inhibitory Ca²⁺ kanálů

c = μM externí Ca²⁺
c = mM externí + interní Ca²⁺

cytoplazmatická membrána
 Maxi-cation
tonoplast
 cADPR-dependent

cytoplazmatická membrána
 VDCC2
tonoplast
 SV
 Hypac 1
 IP₃-dependentní

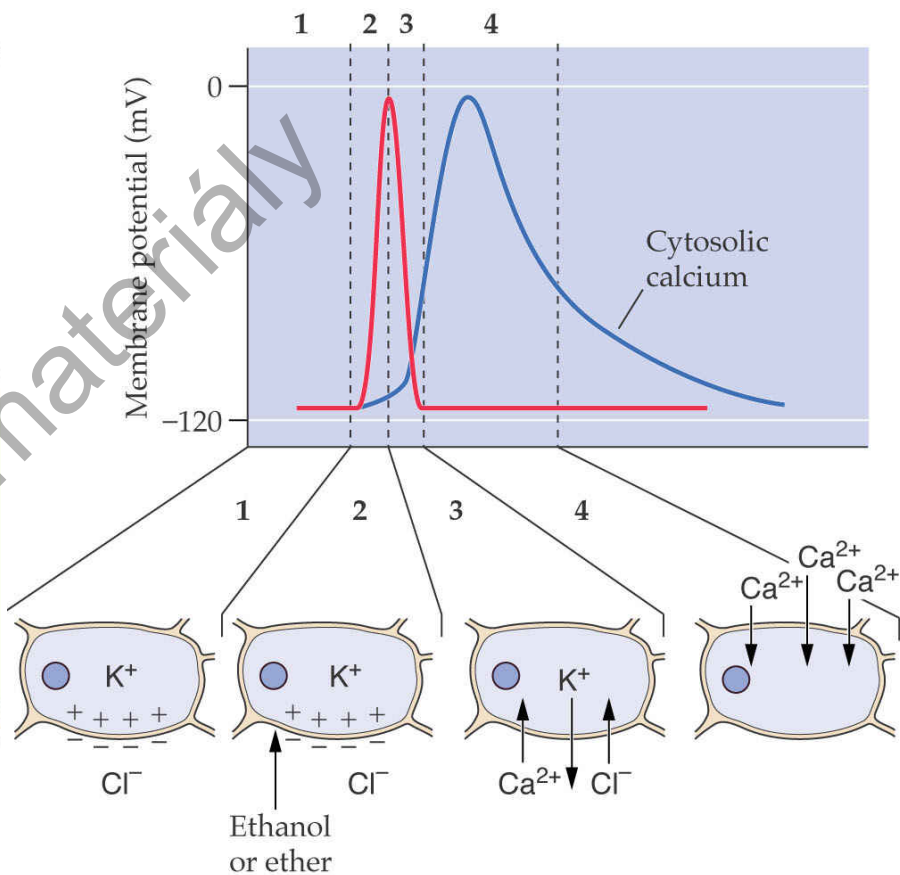
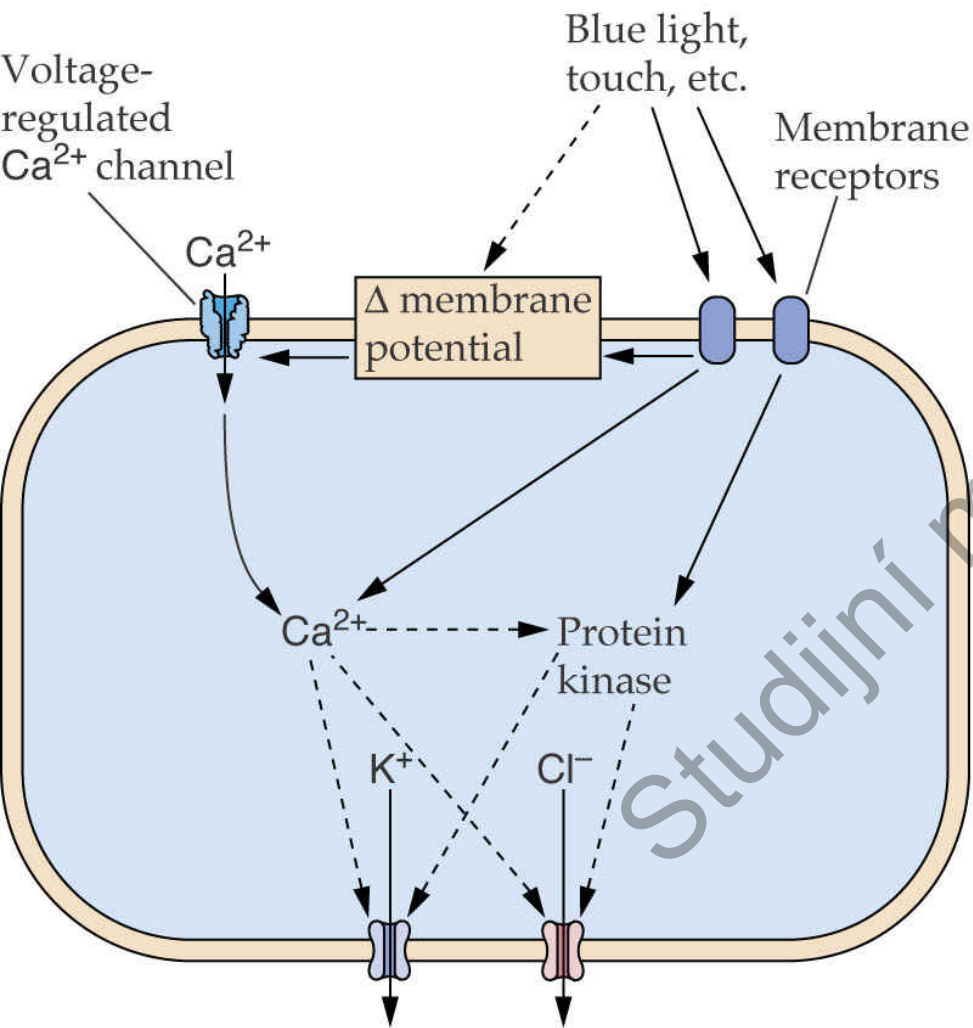
tonoplast
 IP₃-dependentní

cytoplazmatická membrána
 Elicitor - activated
tonoplast
 Hypac 1, 2

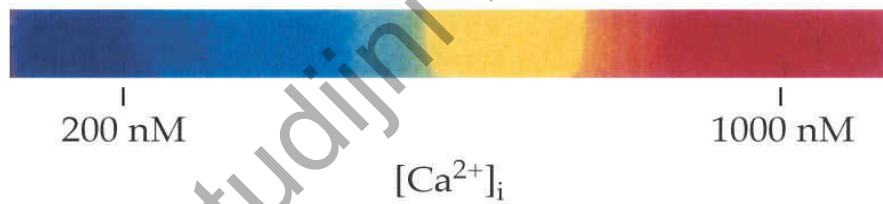
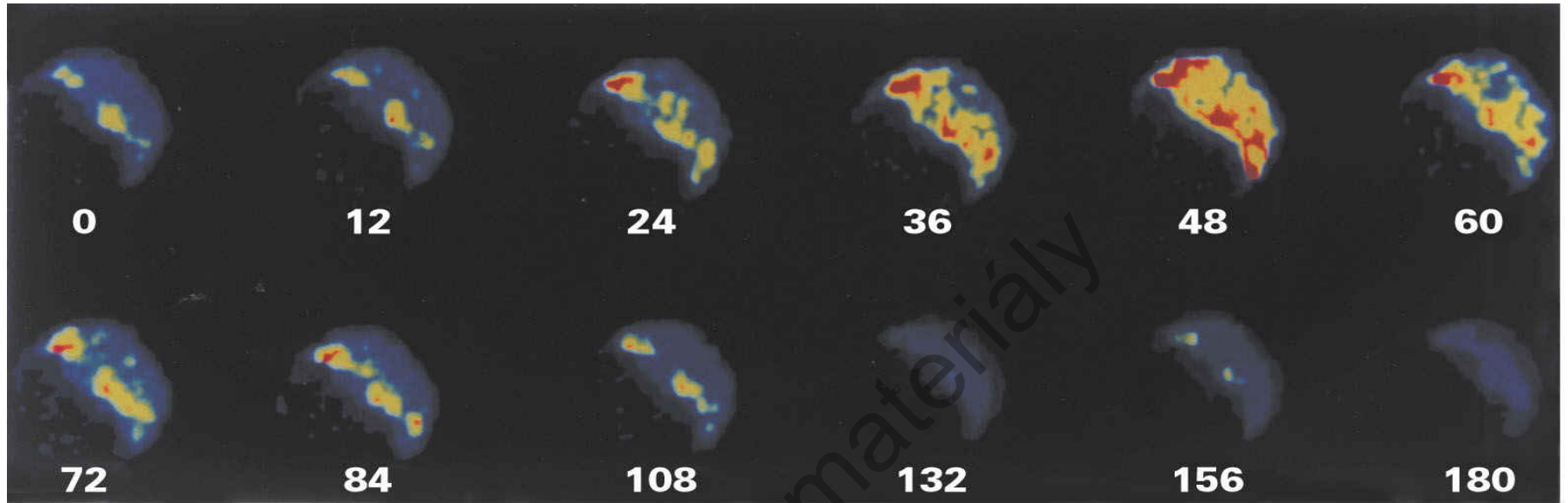
Ser/Thr kinasy

inhibitor	Percentage of activity			
	50 nM cryptogein		500 nM ergosterol	
	AOS (%)	ΔpH (%)	AOS (%)	ΔpH (%)
100 μM LaCl ₃	32 (11)	31 (2)	100 (10)	75 (10)
300 μM LaCl ₃	6 (1)	1.2 (3)	54 (4)	61 (8)
100 μM ruthenium red	-	47 (18)	-	87 (6)
200 μM ruthenium red	-	22 (7)	-	80 (12)
100 μM verapamil	81 (14)	96 (2)	27 (6)	55 (16)
200 μM verapamil	73 (8)	98 (8)	30 (8)	48 (20)
50 μM TMB-8	96 (2)	92 (4)	33 (7)	32 (2)
100 μM TMB-8	97 (4)	97 (8)	26 (11)	24 (4)
100 μM nifedipine	-	105 (13)	-	95 (2)
200 μM nifedipine	-	99 (1)	-	91 (1)
0.5 μM staurosporin	22 (1)	48 (1)	42 (1)	55 (2)
1 μM staurosporin	5 (1)	24 (2)	12 (1)	27 (1)

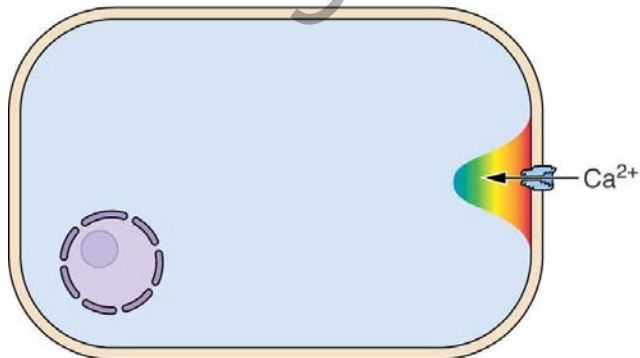
Depolarizací řízené Ca^{2+} kanály



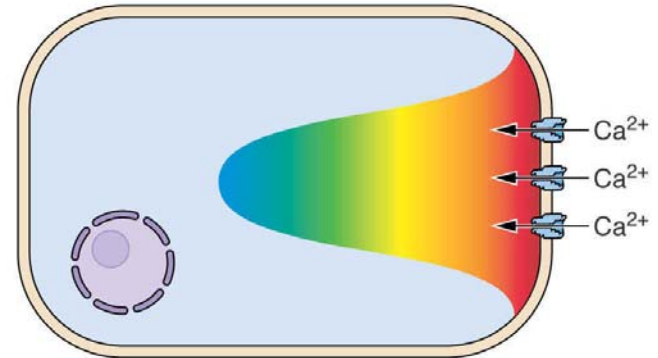
Ca²⁺ vlny



Short signal or few Ca²⁺ channels

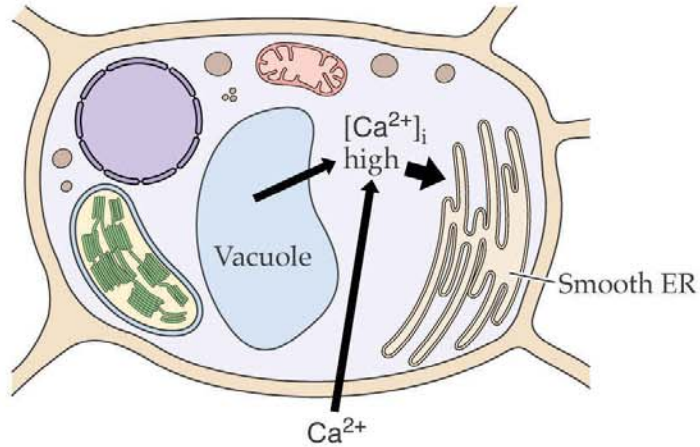


Prolonged signal or many Ca²⁺ channels

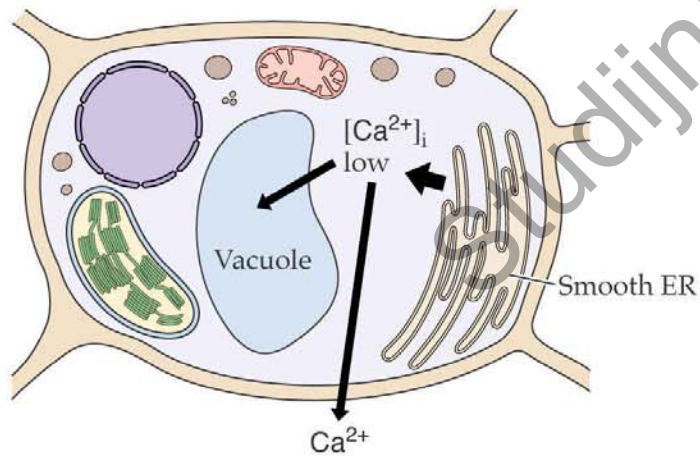


Pulzování Ca^{2+} u pylových láček během růstu

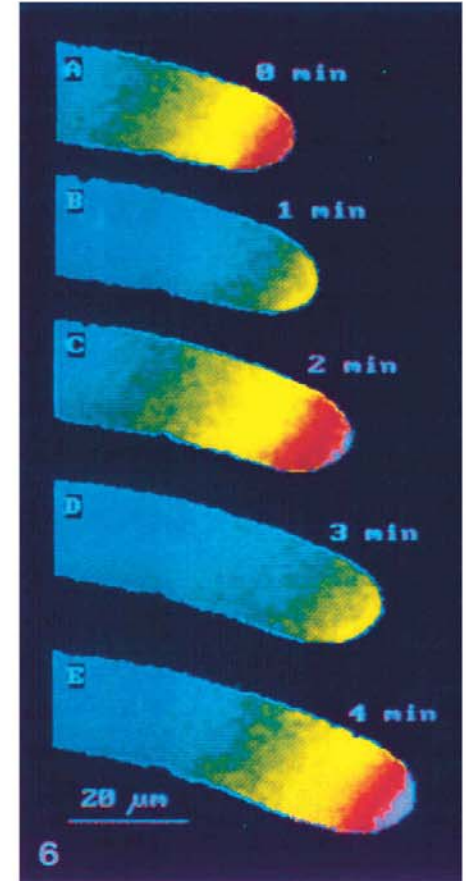
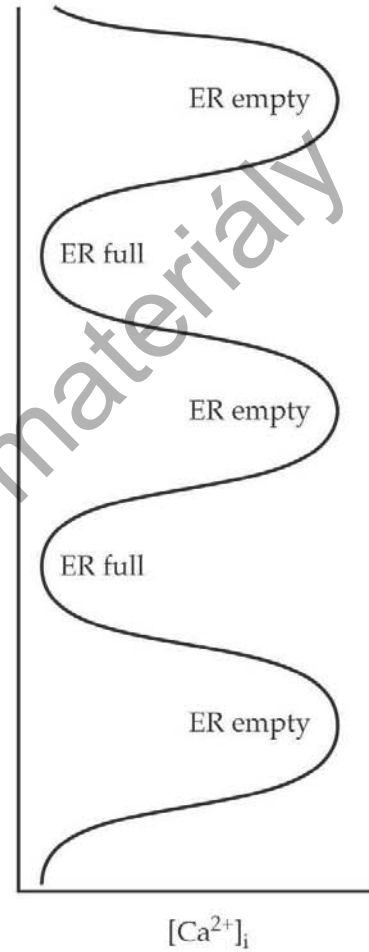
(A)
ER empty



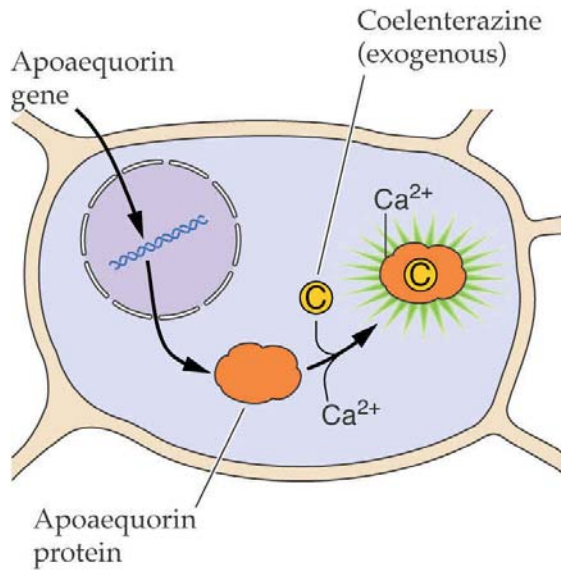
ER full



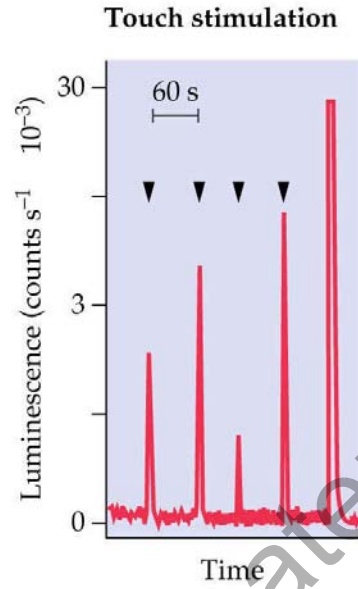
(B)



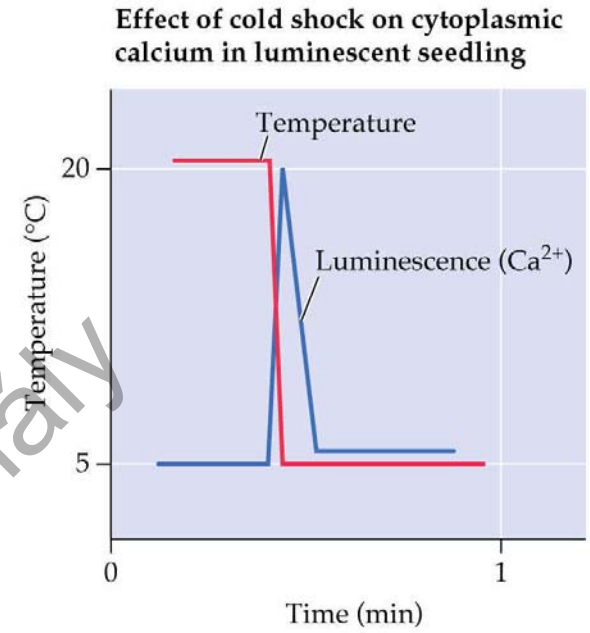
(A)



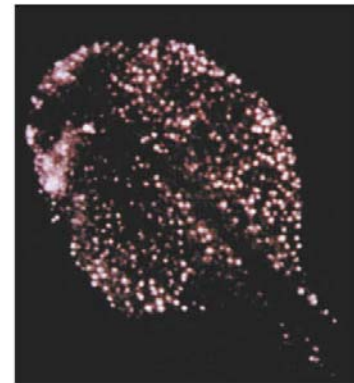
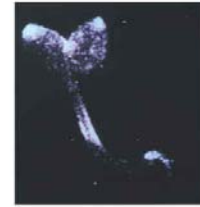
(B)



(C)



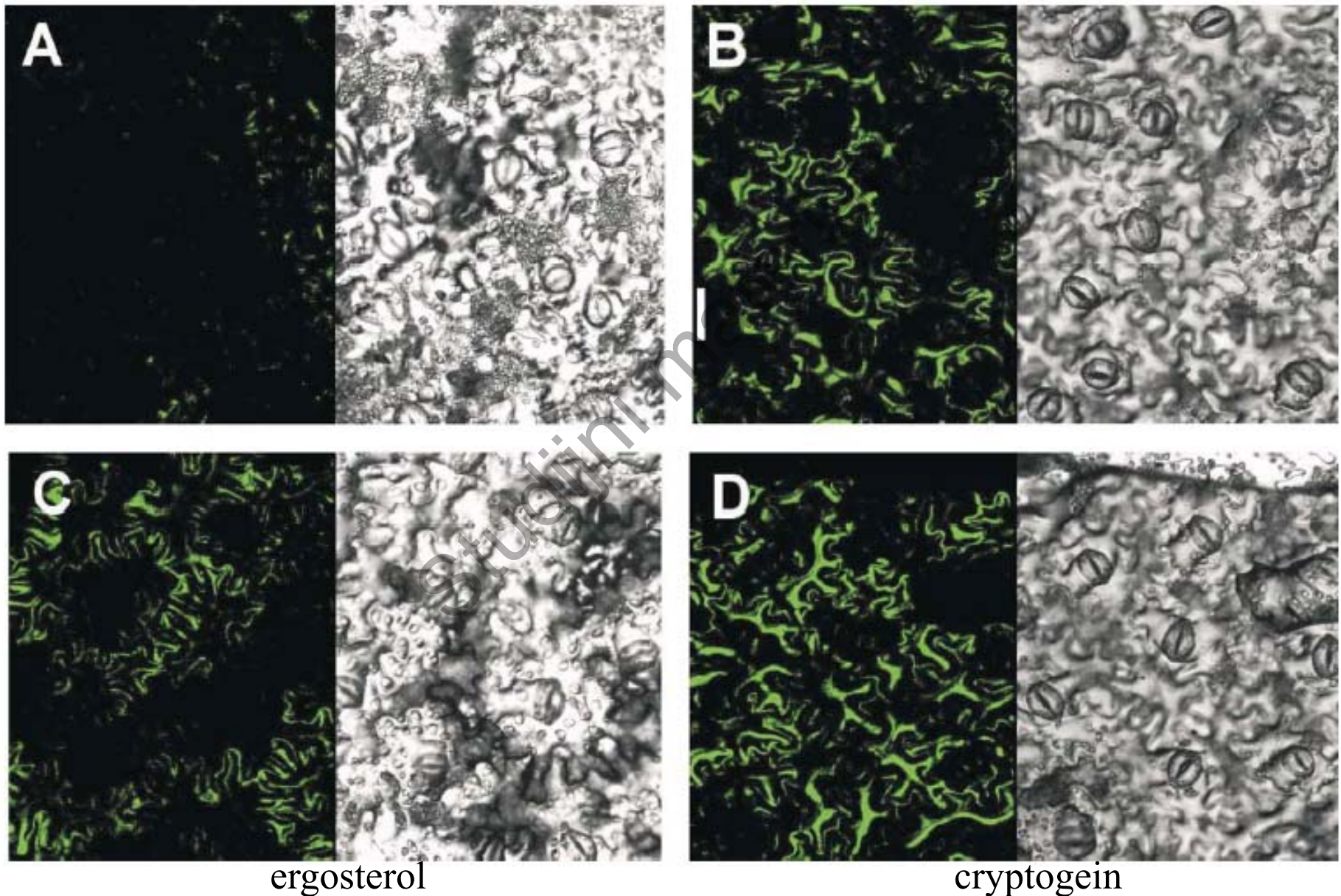
(D)



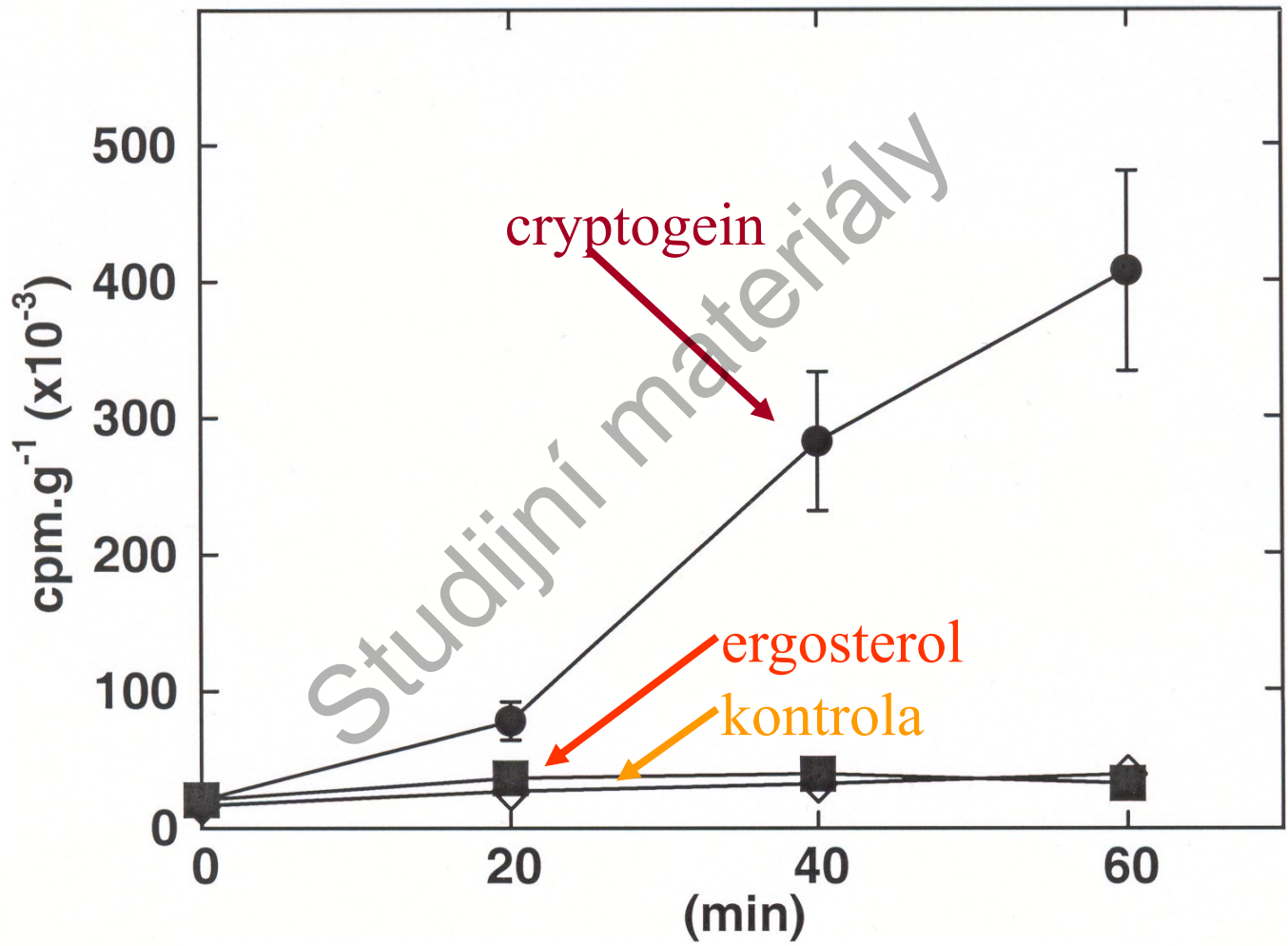
Elicitory vyvolaná redistribuce Ca^{2+} (měřeno pomocí fluorescenční sondy)

kontrola

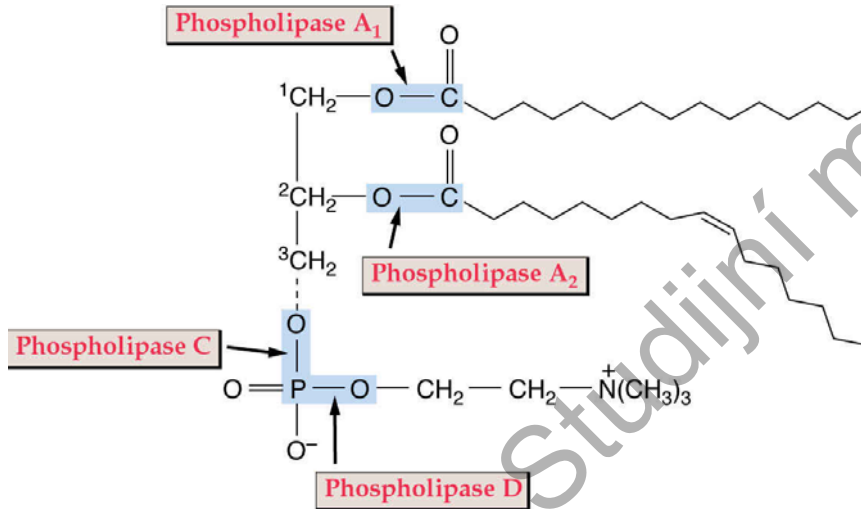
Ca^{2+} ionofor A23187



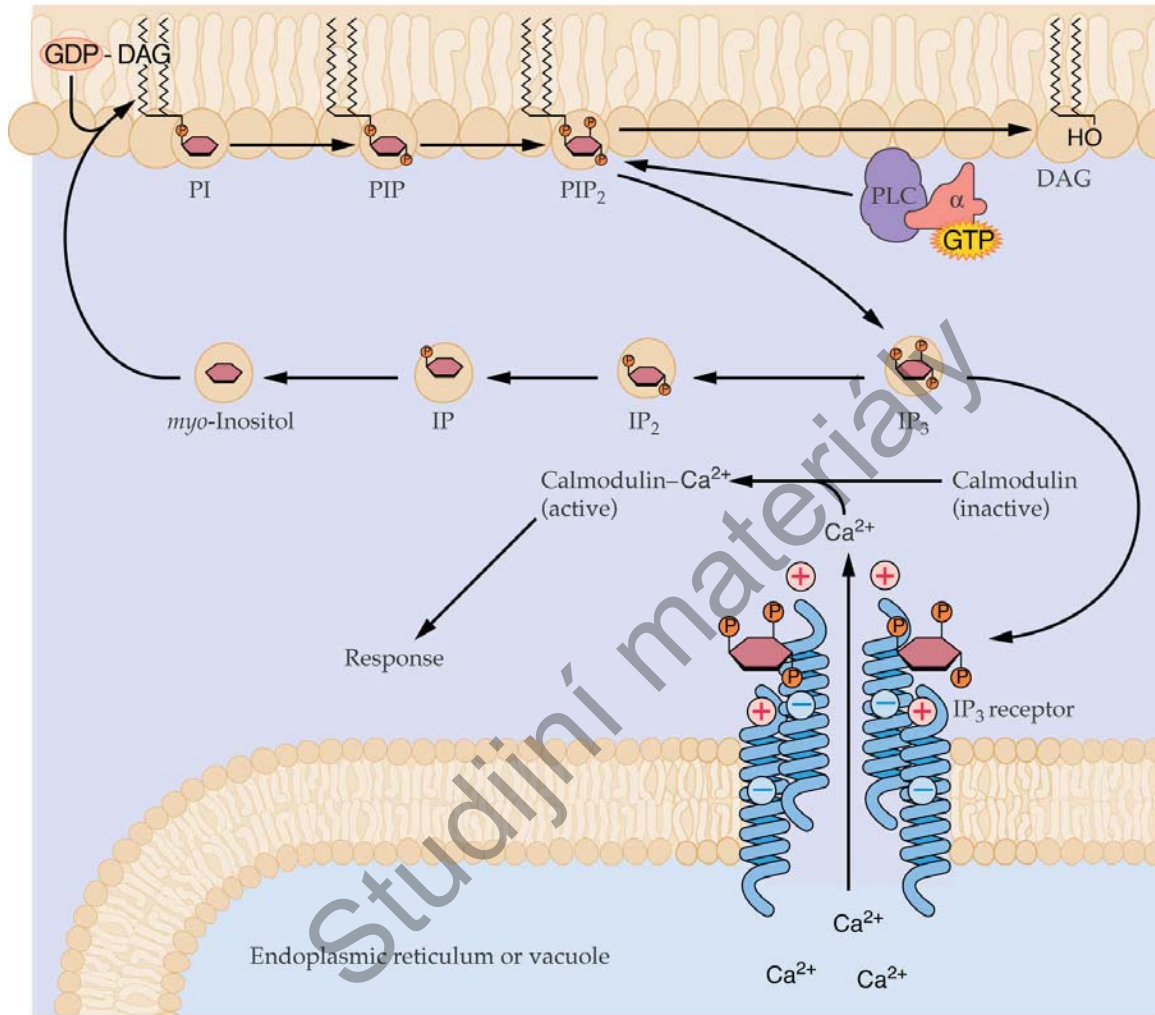
Stimulace vtoku vápníku do buněk tabáku pomocí elicitorů



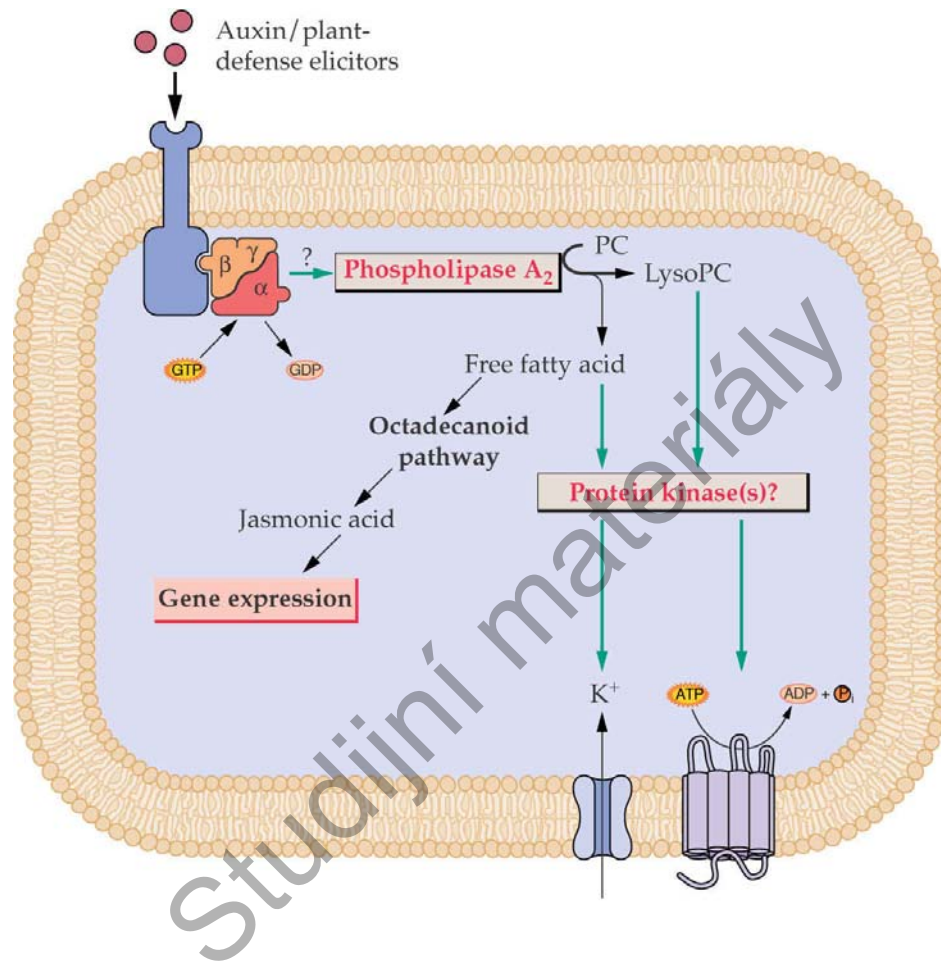
Rozdělení fosfolipas



Enzyme	Products of phosphatidylcholine cleavage
PLA	Free fatty acid and lysophospholipid
PLC	DAG and phosphocholine
PLD	Phosphatidic acid and choline

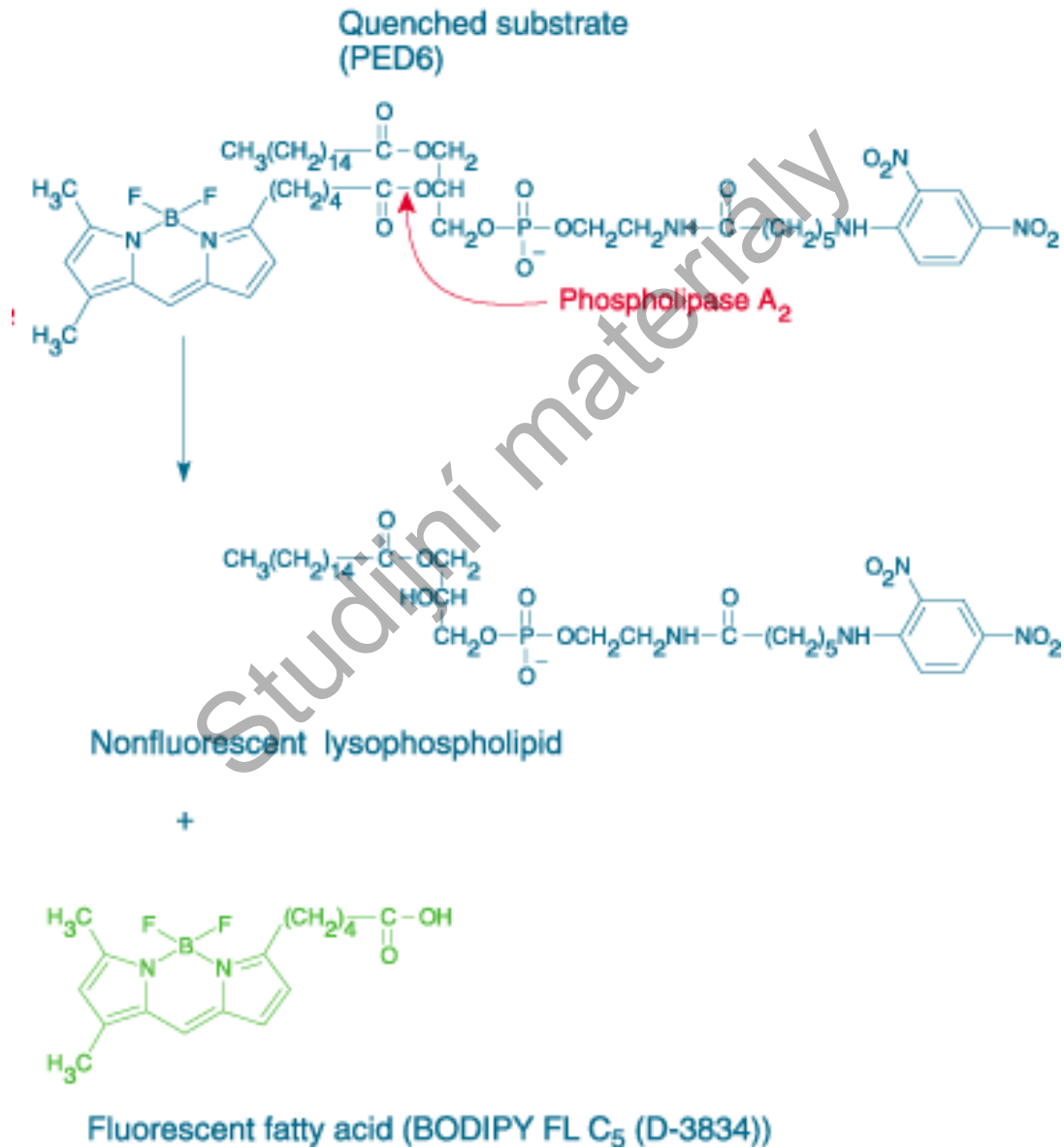


Signalizační kaskáda PLC. Tento enzym je aktivován G-proteinem. Uvolněný IP₃ interaguje s receptorem na vakuole, uvolňující vápník do cytosolu

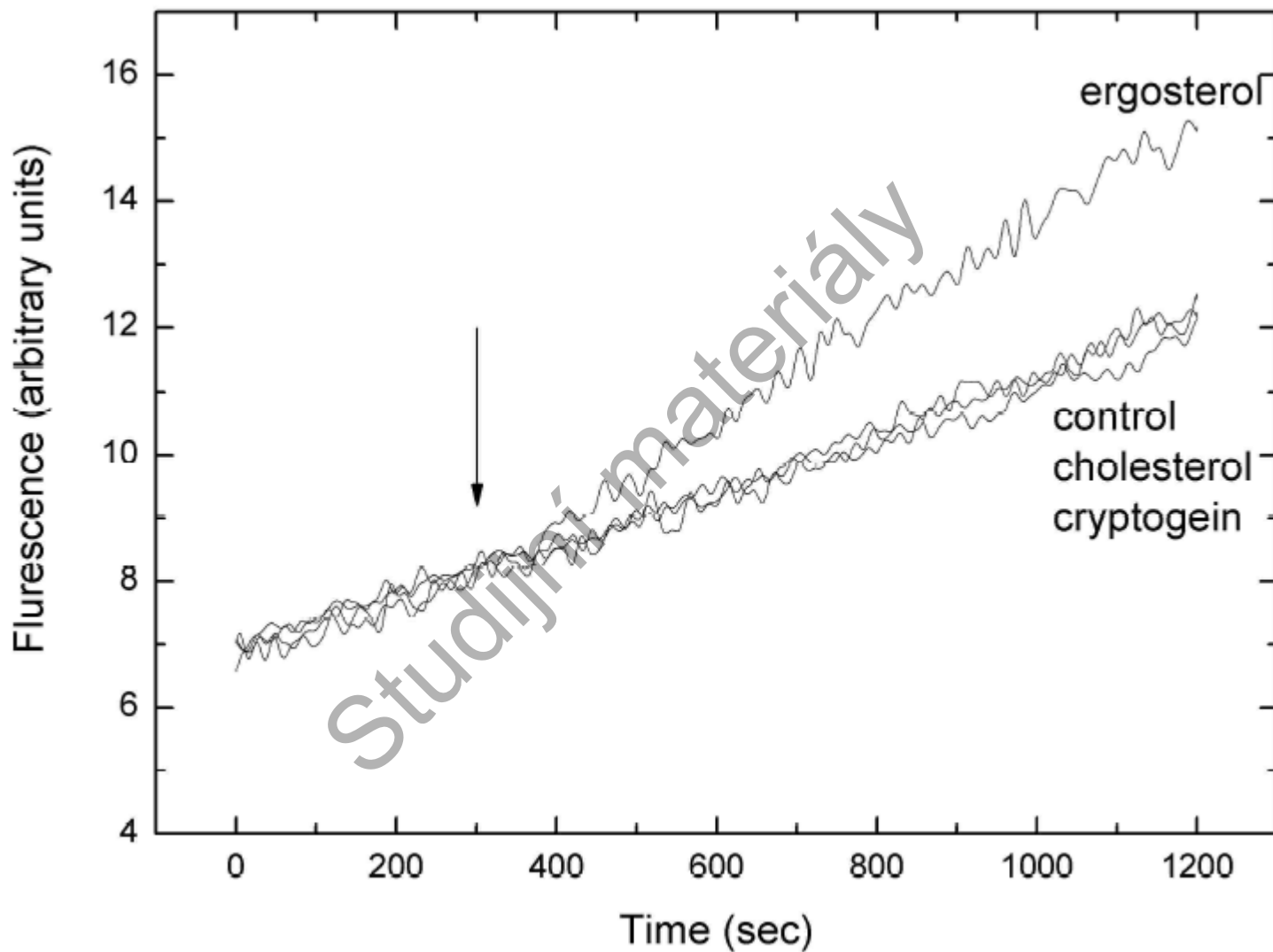


Pravděpodobná funkce PLA2. Uvolněné mastné kyseliny a lysofosfolipidy aktivují proteinkinasy a H-ATPasu a iontové kanály. Uvolněná kys. linolenová slouží k syntéze jamonátu (exprese genů)

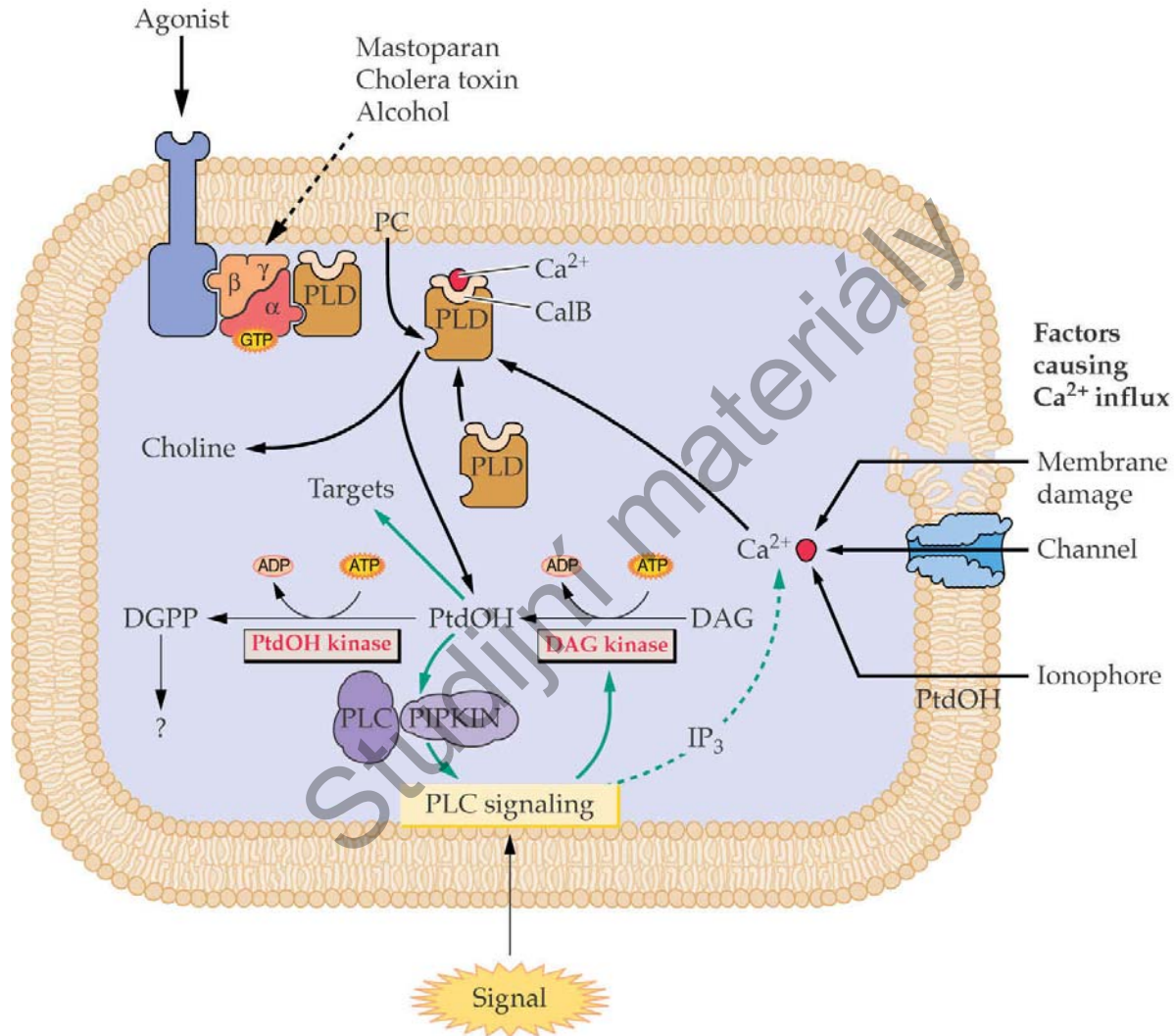
Sonda pro měření aktivity PLA₂



Vliv elicitorů na aktivitu PLA₂



Přenos signálu pomocí PLD



Proteinkinasy (PK)

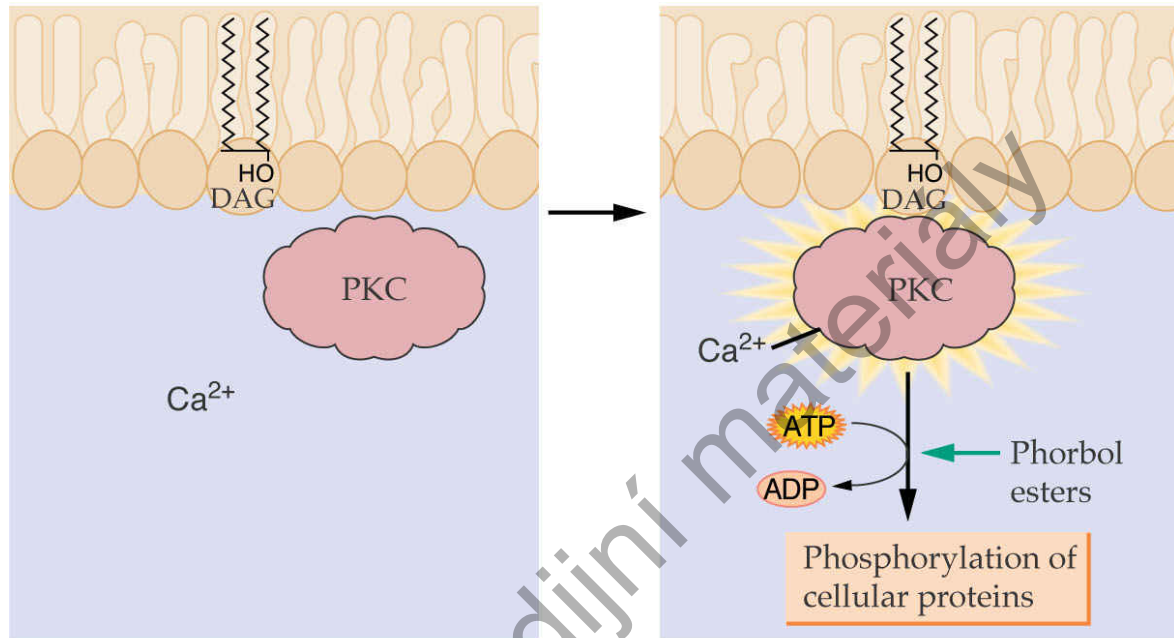
serinové/threoninové

histidinové

tyrosinové - u rostlin poměrně vzácné.

protein kinasy receptorového typu -RLK (receptor-like protein kinases) - dimerizace receptoru – fosforylace stabilizující aktivovaný komplex (serin, threonin).

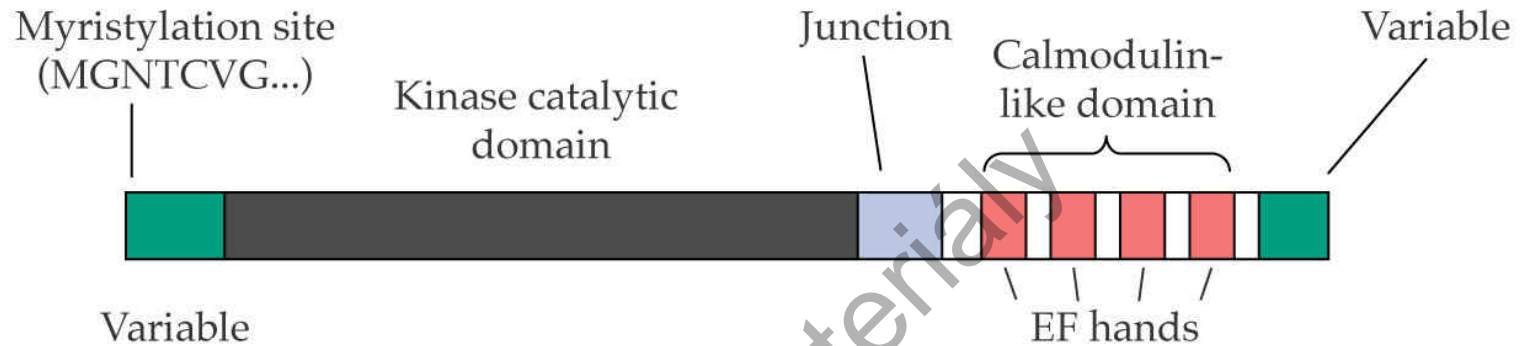
Tento komplex aktivuje membránové nebo solubilní proteiny jako jsou G-proteiny nebo Ras.



Funkce **proteinkinasy C** aktivované diacylglycerolem a vápníkem (po aktivaci PLC). Phorbol ester mimuje aktivaci PKC (váže se na regulační jednotku)

Studium signální kaskády pomocí inhibitorů

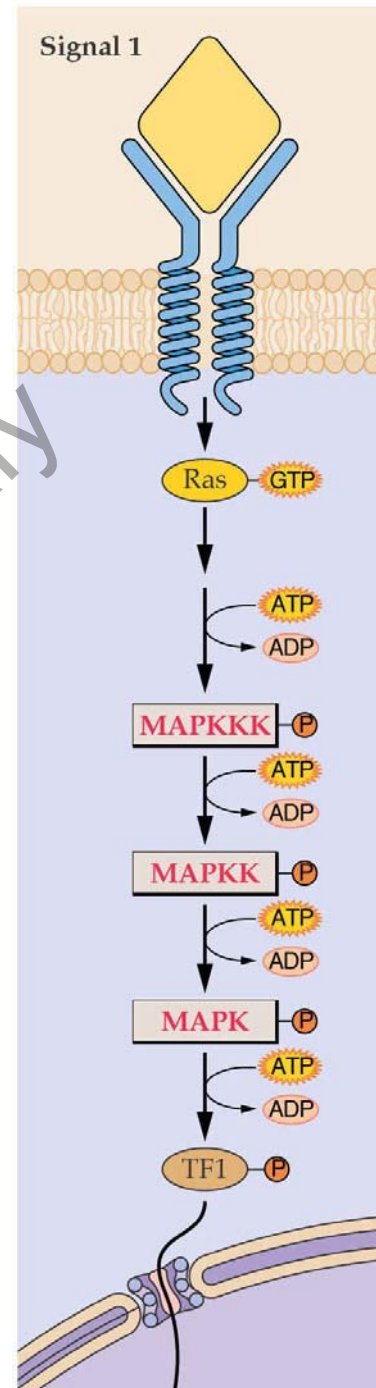
		Percentage of activity			
		50 nM cryptogein		500 nM ergosterol	
inhibitor		AOS (%)	Δ pH (%)	AOS (%)	Δ pH (%)
PKC	← 10 μ M NPC-15437	4 (4)	39 (16)	0 (0)	14 (1)
	2 μ M H-89	95 (2)	108 (1)	87 (4)	95 (3)
PKA	← 4 μ M H-89	120 (2)	101 (6)	91 (3)	82 (1)
	1 μ M Herbimycin	94 (8)	106 (4)	99 (15)	93 (5)
Tyrosinkinasy	← 40 μ M Genistein	105 (8)	90 (7)	78 (16)	75 (8)
	10 μ M U-73122 (active)	34 (4)	61 (4)	117 (12)	106 (7)
PLC	← 10 μ M U-73343(inactive)	95 (5)	85 (4)	0 (0)	0 (0)
	100 μ M Neomycin	53 (2)	61 (2)	104 (8)	96 (13)
	28 μ M AACOCF ₃	108 (8)	105 (4)	50 (9)	67 (1)
PLA ₂	← 56 μ M AACOCF ₃	104 (8)	95 (1)	1 (1)	13 (3)



Struktura proteinkinasy kalmodulinového typu CDPK (calmodulin dependent PK). Obsahuje doménu vázající vápník (EF) se strukturou homologní kalmodulinu. Některé z nich obsahují myristylový zbytek, přes který je kinasa vázaná do membrány. Po odštěpení se enzym zřejmě uvolní do cytosolu.

Účast MAP-kinas na regulaci genové exprese. Signál z receptoru se přenesse přes Ras na kaskádu MAP-kinas, na jejím konci je aktivace TF1, transkripčního faktoru, který se přenesse do jádra, kde se váže na promotor.

MAP – mitogen activating protein



Signální dráhy MAPK

