

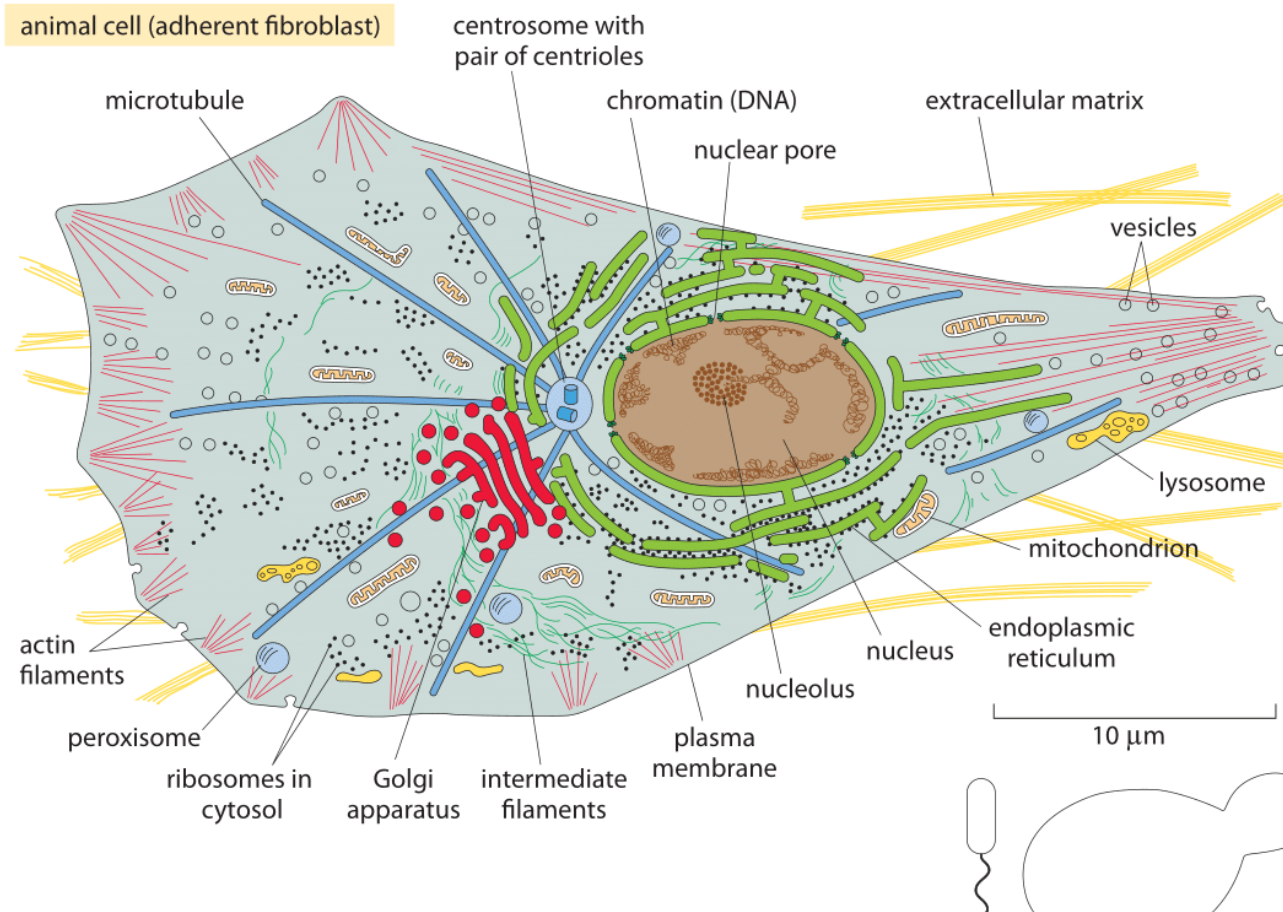
Stavba živočišné buňky

J. Vondráček

Náplň předmětu

- ▶ STAVBA ŽIVOČIŠNÉ BUŇKY (základní přehled strukturních prvků živočišných buněk zejména s ohledem na dynamiku tvorby a zanikání specializovaných buněčných struktur a buněčné kompartmentalizace; přehled specializovaných buněčných organel živočišných buněk významných z pohledu fyziologických regulací – lysozomy, peroxizomy) – **J. Vondráček**

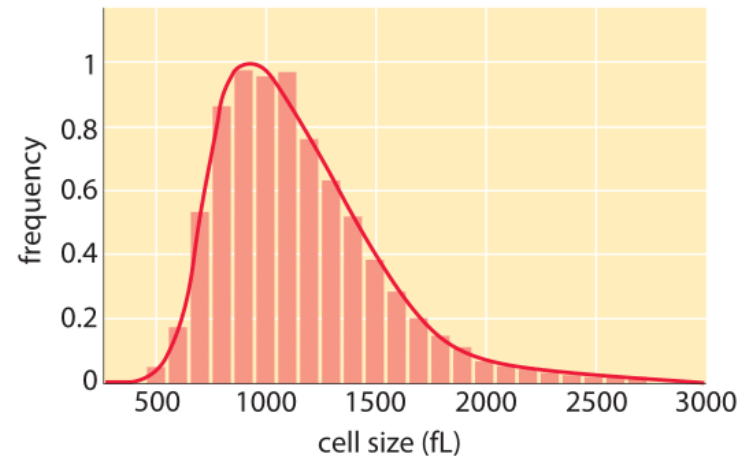
Architektura živočišné buňky



Alberts et al., Molecular Biology of the Cell, 5th ed., New York, Garland Science, 2008

Množství buněk v těle

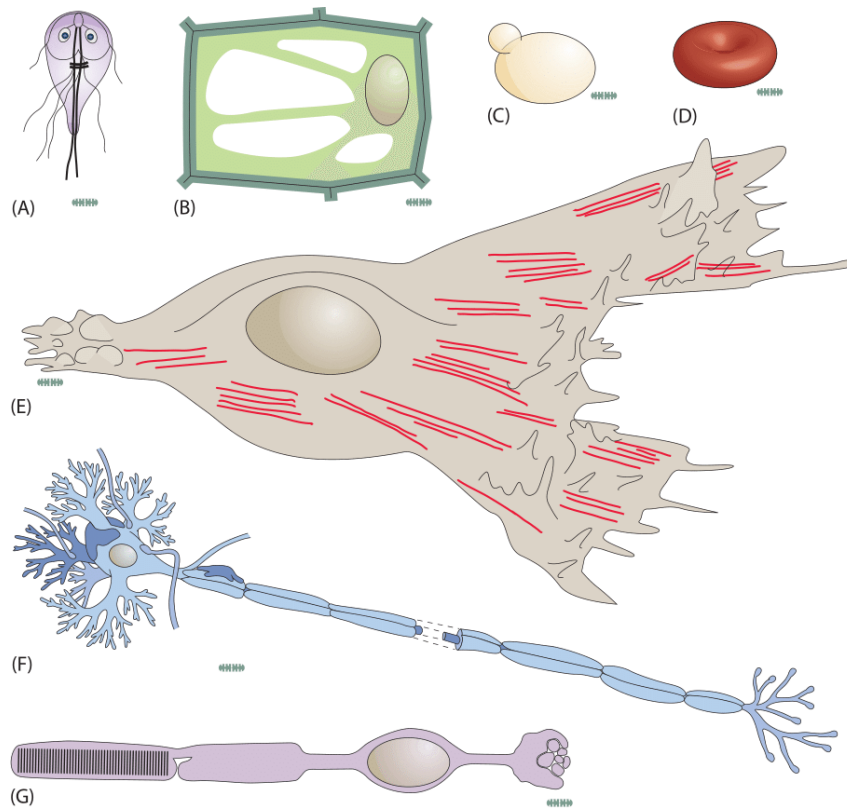
- lidské tělo – cca $3,7 \pm 0,8 \times 10^{13}$ buněk (plus podobné množství bakterií) – zahrnují cca 200 různých buněčných typů;
- liší se svojí velikostí i v rámci uniformní buněčné populace;



distribuce velikostí buněk L1210 (myší lymfoblastom)

Milo et al., Cell Biology by the Numbers, New York, Garland Science, 2016

Základní architektura – různé velikosti a tvary



cell type	average volume (μm^3)	BNID
sperm cell	30	109891, 109892
red blood cell	100	107600
lymphocyte	130	111439
neutrophil	300	108241
beta cell	1,000	109227
enterocyte	1,400	111216
fibroblast	2,000	108244
HeLa, cervix	3,000	103725, 105879
hair cell (ear)	4,000	108242
osteoblast	4,000	108088
alveolar macrophage	5,000	103566
cardiomyocyte	15,000	108243
megakaryocyte	30,000	110129
fat cell	600,000	107668
oocyte	4,000,000	101664

Milo et al., *Cell Biology by the Numbers*, New York, Garland Science, 2016

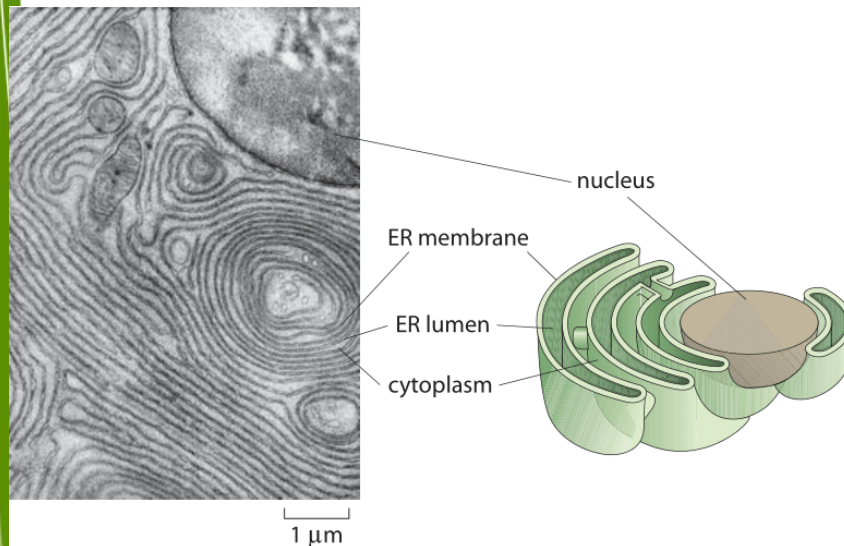
(A) prvok Giardia lamblia, (B) rostlinná buňka, (C) pučící kvasinka, (D) červená krvinka, (E) fibroblast, (F) nervová buňka (G), tyčinka (sítnice)

Velikosti buněčných organel

- pro stanovení velikosti organel není důležitý jen jejich objem, ale také jejich povrch

intracellular compartment	percentage of total cell volume
cytosol	50–60
mitochondria	20
rough ER cisternae	10
smooth ER cisternae plus Golgi cisternae	6
nucleus	6
peroxisomes	1
lysosomes	1
endosomes	1

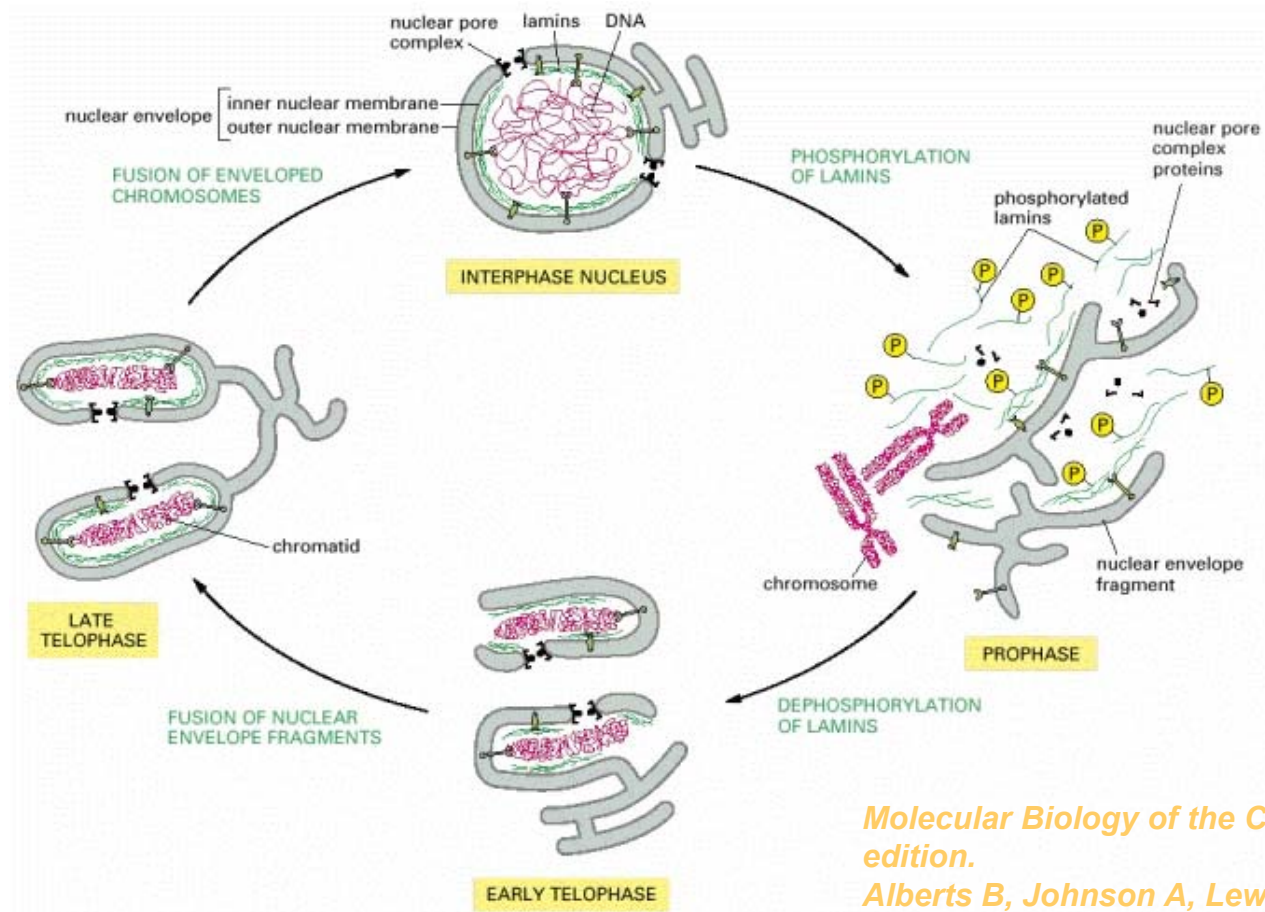
Milo et al., Cell Biology by the Numbers, New York, Garland Science, 2016



membrane type	percentage of total cell membrane	
	liver hepatocyte	pancreatic exocrine cell
plasma	2	5
rough ER	35	60
smooth ER	16	<1
Golgi apparatus	7	10
mitochondria outer	7	4
mitochondria inner	32	17
nucleus inner	0.2	0.7
secretory vesicle	-	3
lysosome	0.4	-
peroxisome	0.4	-
endosome	0.4	-

Velikost, tvar a množství buněčných organel

- se dynamicky mění během buněčného cyklu a dělení

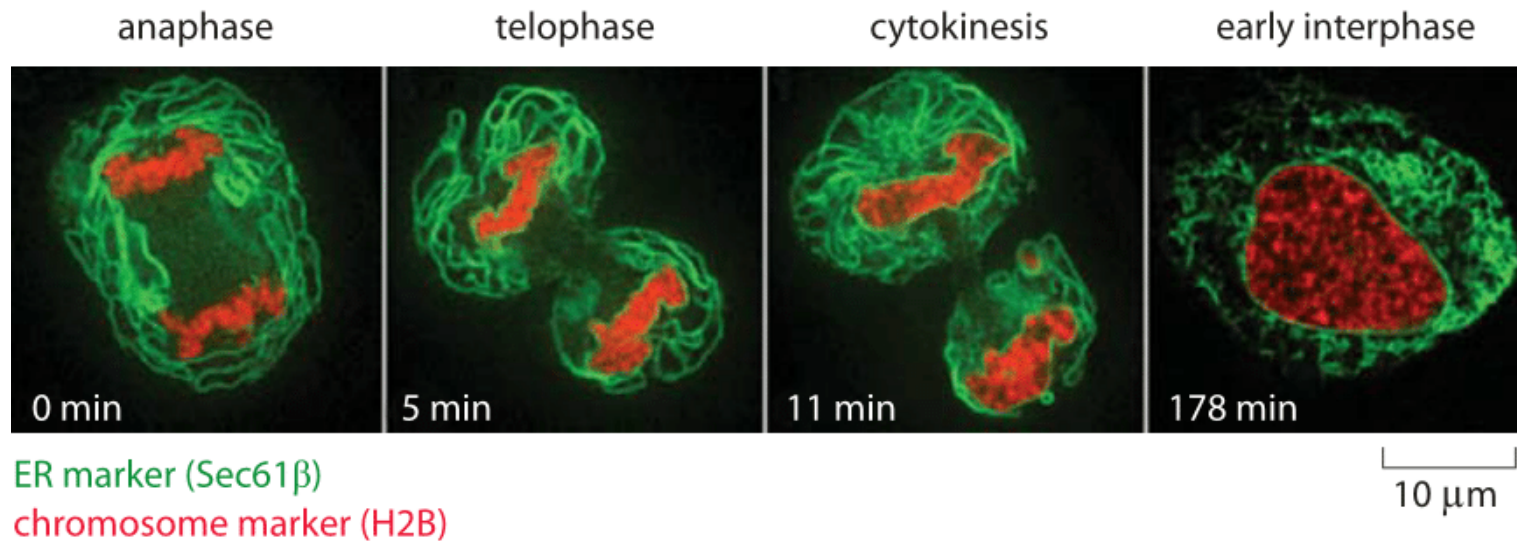


Molecular Biology of the Cell. 4th edition.

Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. New York: Garland Science; 2002.

Velikost, tvar a množství buněčných organel

- ▶ se dynamicky mění během buněčného cyklu a dělení

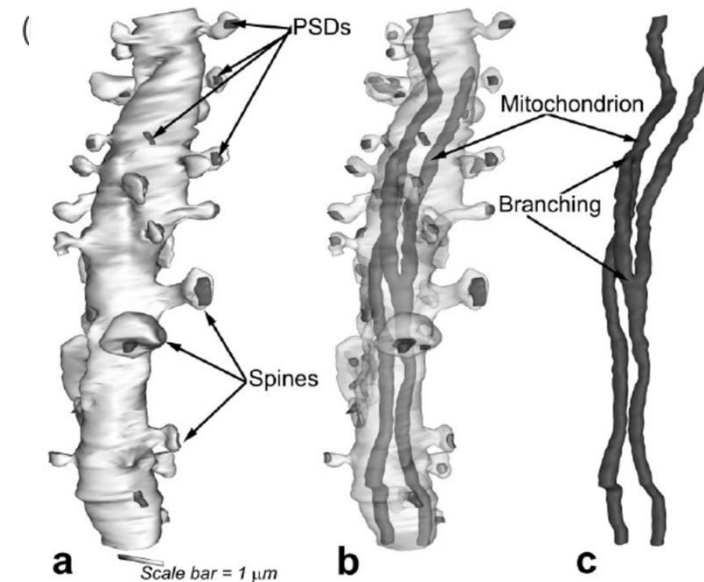


dynamika změn endoplazmatického retikula v průběhu dělení

Milo et al., Cell Biology by the Numbers, New York, Garland Science, 2016

Velikost, tvar a množství buněčných organel

- ▶ se dynamicky mění vlivem vnějšího prostředí (např. parciální tlak O_2 , množství živin), onemocnění, ve speciálních typech buněk apod. – např. kompaktní vs. retikulární (vláknité) mitochondrie:



část dendritu nervové buňky potkana

Milo et al., *Cell Biology by the Numbers*,
New York, Garland Science, 2016

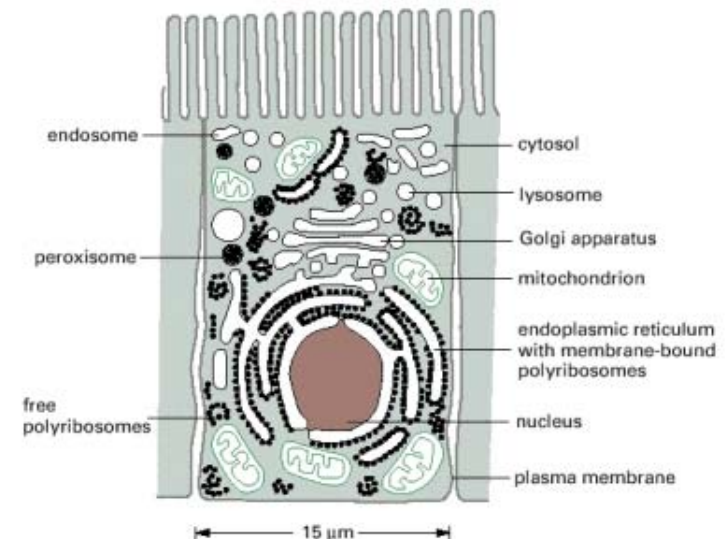
J. Comp. Neurology, 2005, 492:50 – 65

Membrány oddělují buněčné kompartmenty s různými funkcemi....

- ▶ membrány uvnitř buňky mají dvojitý význam – 1) jsou nezbytné pro aktivitu řady proteinů, které jsou na ně navázané a díky své velké ploše umožňují průběh řady biochemických reakcí, a 2) zároveň vytvářejí uzavřené kompartmenty oddělené od cytosolu, ve kterých mohou být zachovány specifické podmínky pro optimalizaci biochemických reakcí (zakoncentrování proteinů, iontů a reaktantů);
- ▶ jednotlivé organely obsahují transportní systémy pro import a export metabolitů, i pro transport a inkorporaci proteinů unikátních pro danou organelu;
- ▶ za oddělené kompartmenty jsou považovány: jádro, cytosol, endoplazmatické retikulum, Golgiho aparát, mitochondrie, lysozomy, endozomy a peroxizomy

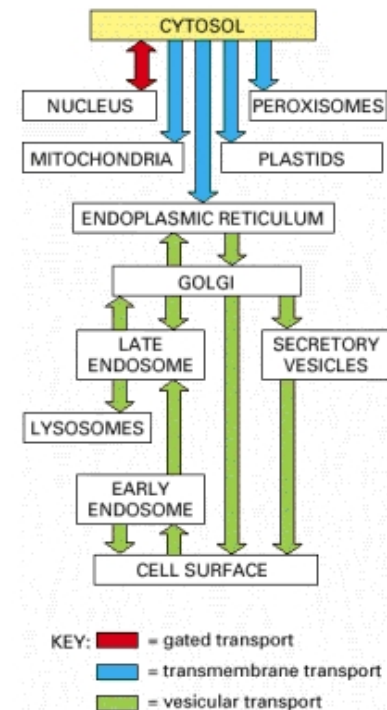
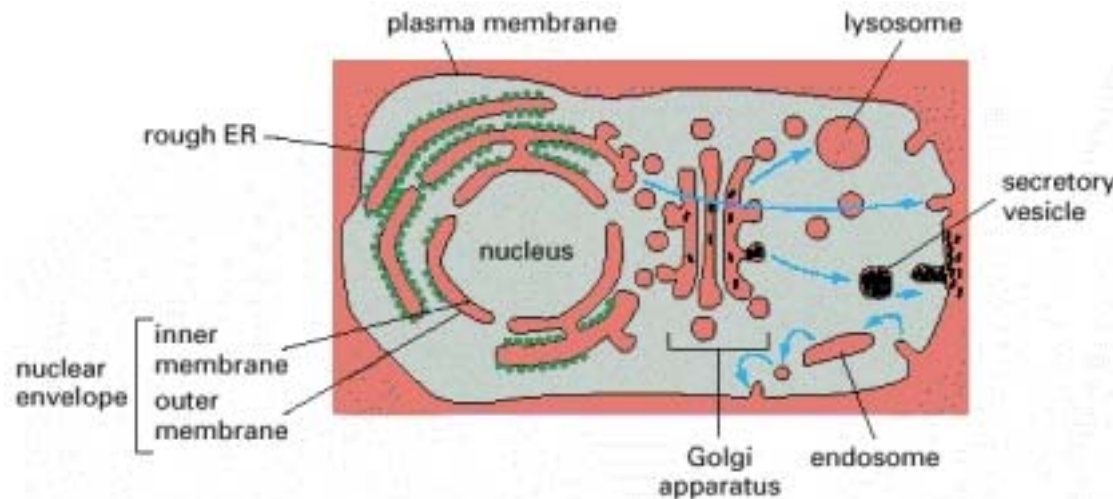
Molecular Biology of the Cell. 4th edition.

Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. New York: Garland Science; 2002.



...ale buněčné organely vytvářejí funkční celek!

- ▶ protože membrány oddělují cytosol a organely (i vzájemně), existují mechanismy umožňující transport proteinů přes membrány – vezikulární transport (mezi topologicky ekvivalentními kompartmenty), translokace proteinů (např. do mitochondrií a ER) a tzv. „gated“ transport (RNA, proteinů přes jaderné póry)



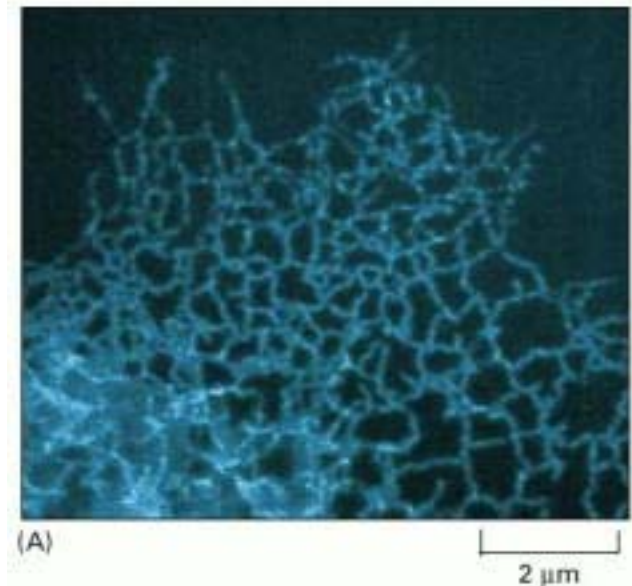
Molecular Biology of the Cell. 4th edition.

Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. New York: Garland Science; 2002.

Endoplazmatické retikulum (ER)

- ▶ je přítomné ve všech eukaryotických buňkách, kde vytváří síť vzájemně propojených cisteren a válců; vnitřní prostor (kompartiment) ER je zároveň napojen na jadernou membránu (je tedy propojen s prostorem mezi vnitřní a vnější jadernou membránou);
- ▶ ER hraje zásadní roli zejména v syntéze lipidů a proteinů, a zároveň slouží jako skladovací prostor pro ionty Ca^{2+} (využívané pro vnitrobuněčnou signalizaci);
- ▶ v ER vznikají všechny transmembránové proteiny a lipidy pro většinu buň. organel – ER, Golgiho aparát, lysozomy, endozomy, sekreční vezikuly a plazmatickou membránu;
- ▶ vzniká v něm také většina lipidů pro mitochondrie a peroxizomy;
- ▶ je do něj transportována většina exkretovaných proteinů (+ ty, které jsou určeny pro ER, Golgiho aparát a lysozomy);

*Molecular Biology of the Cell. 4th edition.
Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al.
New York: Garland Science; 2002.*

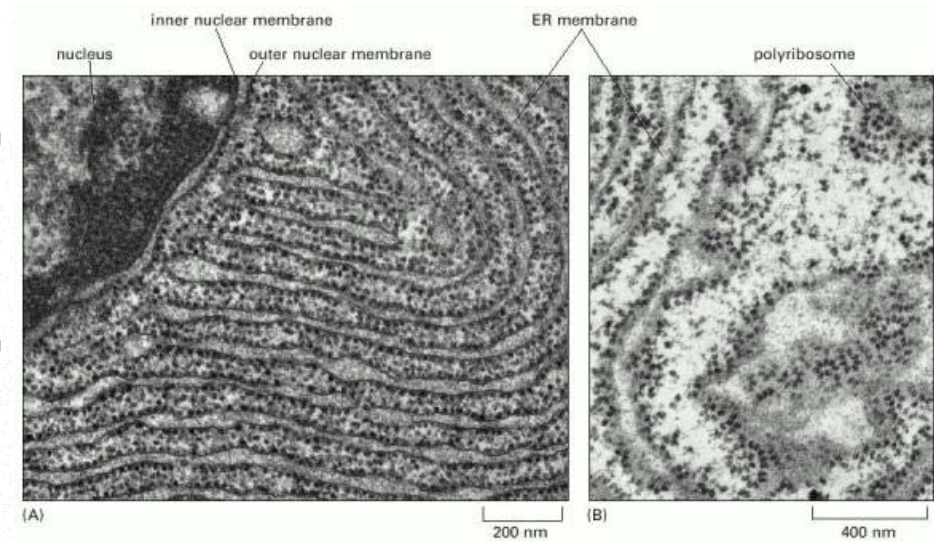
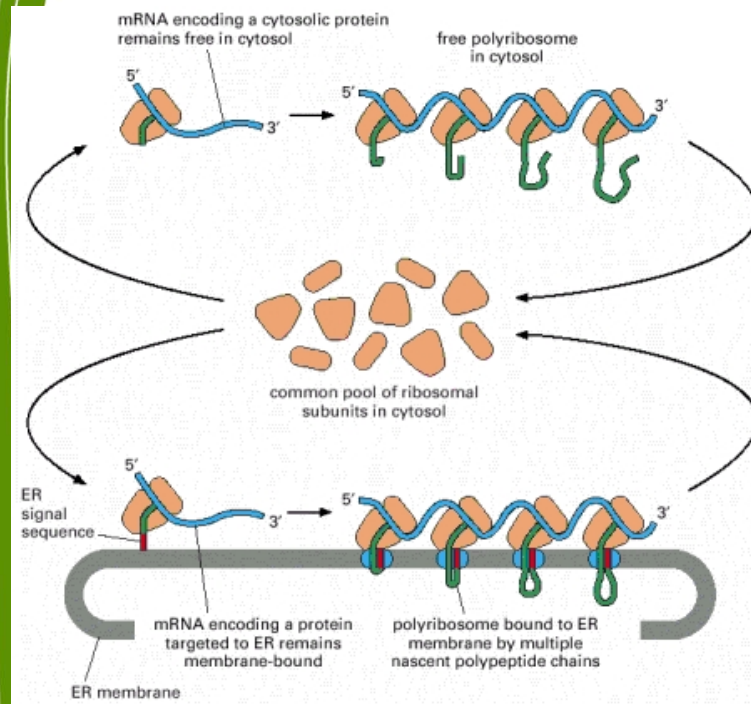


Endoplazmatické retikulum (ER)

- ▶ základní funkce ER jsou podobné ve většině buněk, avšak v rámci ER rozlišujeme specializované oblasti plnící rozdílné funkce:
 - **drsné ER** s navázanými ribozómy – většinou ještě před dokončením translace dochází k translokaci proteinu do ER (ko-translační proces);
 - oblasti ER bez ribozómů – **hladké ER** – jeho podíl závisí na typu buněk;
 - **přechodné (transitional) ER** – tvorba vezikulí transportujících proteiny a lipidy do Golgiho aparátu

Drsné ER

- cytosolové ribozómy vs. ribozómy navázané na ER

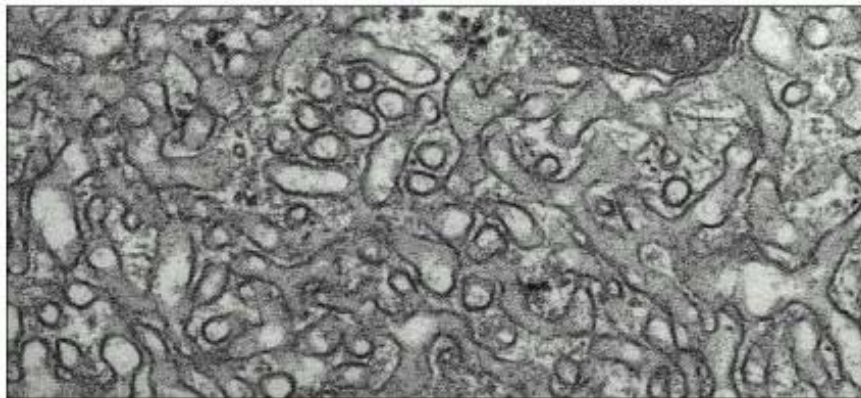


drsné ER v exokrinní buňce pankreatu a polyribozómy připojené k ER

Molecular Biology of the Cell. 4th edition. Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. New York: Garland Science; 2002.

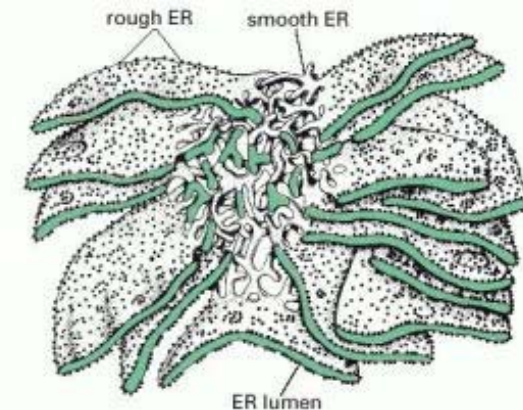
Hladké ER

- ▶ je abundantní ve specializovaných buněčných typech – např. v buňkách, kde probíhá intenzivní metabolismus lipidů (např. syntéza steroidů), v hepatocytech – tvorba lipoproteinů, detoxifikační reakce – na membráně ER jsou lokalizovány biotransformační enzymy, jako cytochromy P450;



(A)

Leydigova buňka ve varlatech tvořící testosteron

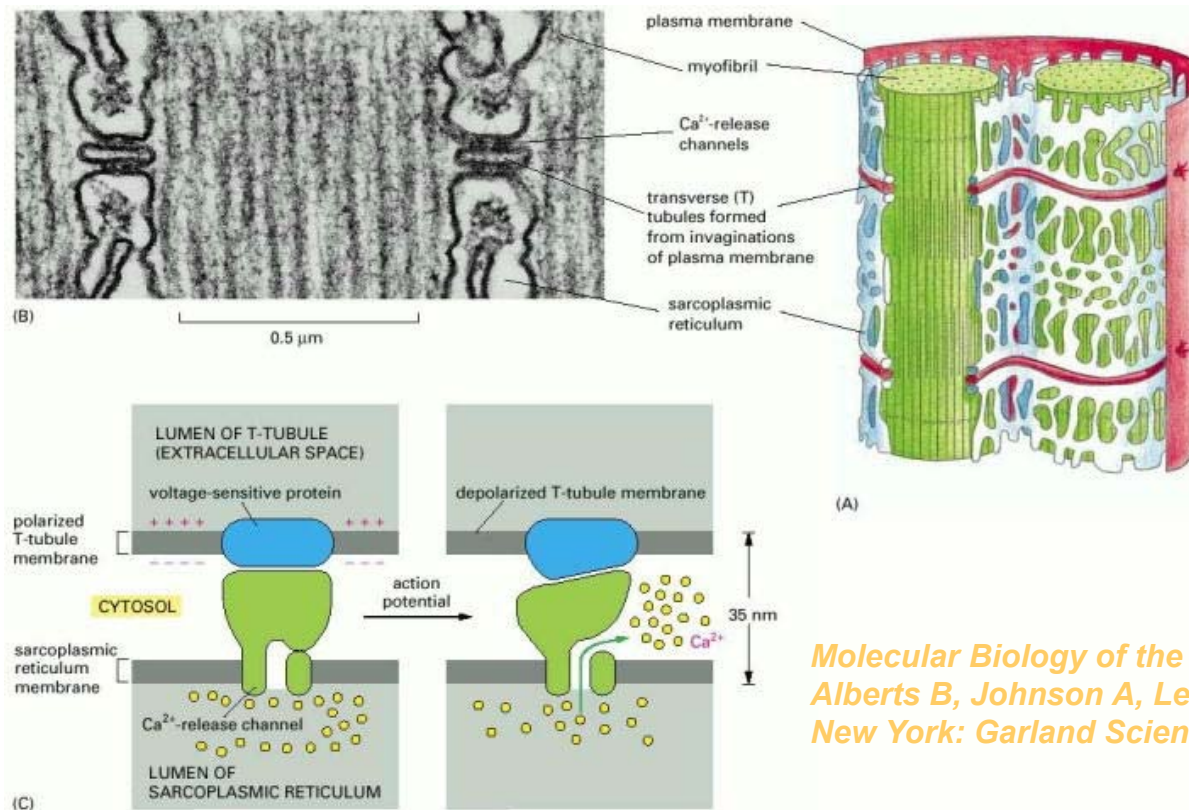


(B)

ER v hepatocytu

ER a skladování Ca^{2+}

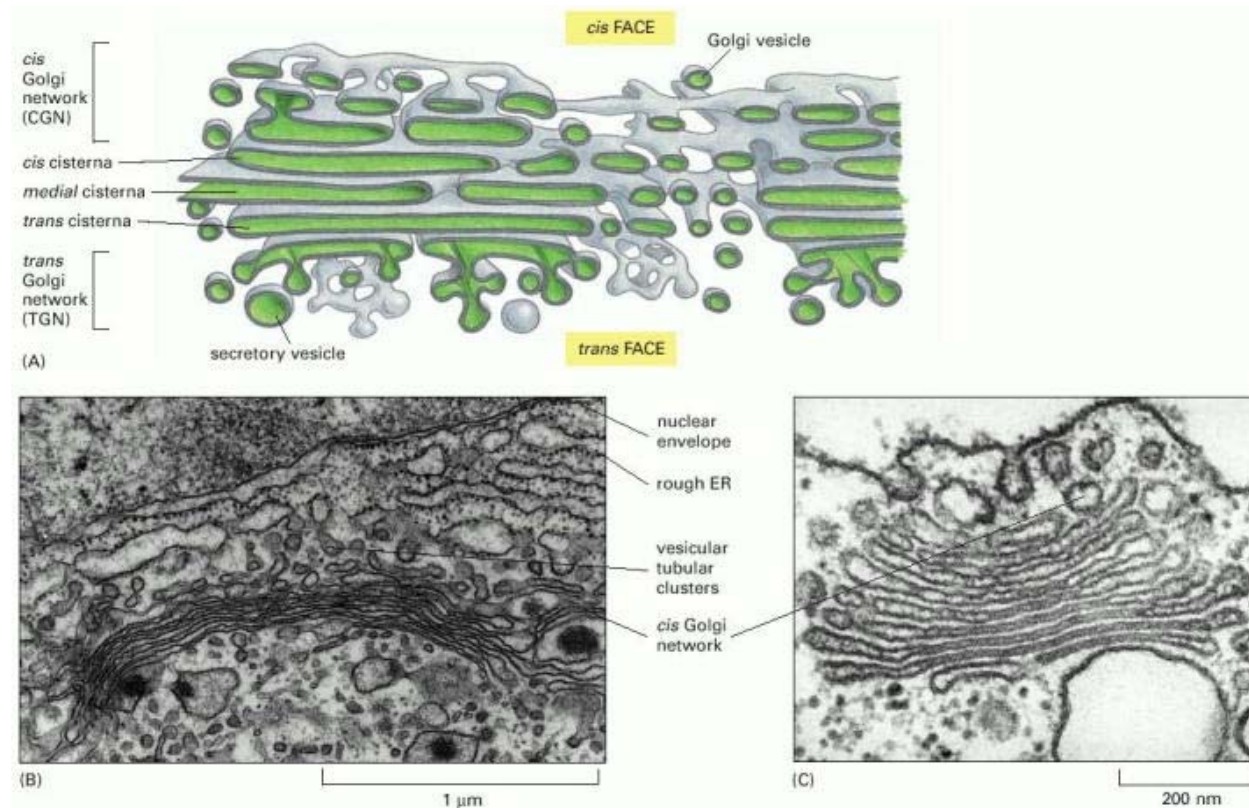
- rychlé uvolňování iontů Ca^{2+} z ER hraje významnou roli v rychlé odpovědi buněk na extracelulární signály – vápníkové ionty jsou skladovány ve specializovaných oblastech ER;
- svalové buňky obsahují specializovaný typ ER – sarkoplazmatické retikulum



*Molecular Biology of the Cell. 4th edition.
Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al.
New York: Garland Science; 2002.*

Golgiho aparát (GA)

- systém cisteren a váčků zodpovědný za syntézu sacharidů (např. glykosaminoglykany pro extracelulární matrix), sorting a transport proteinů (včetně některých typů post-translačních modifikací, zejména glykosylace);

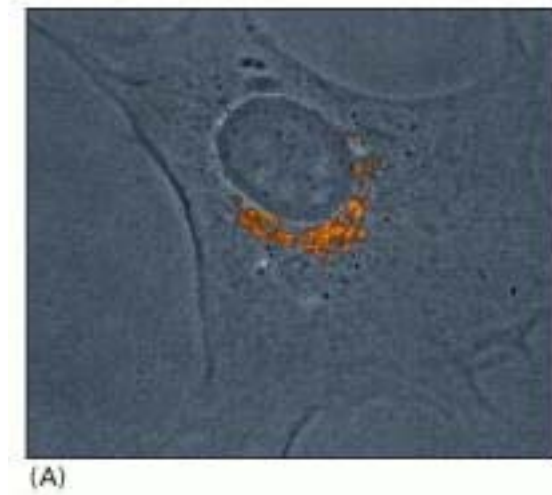
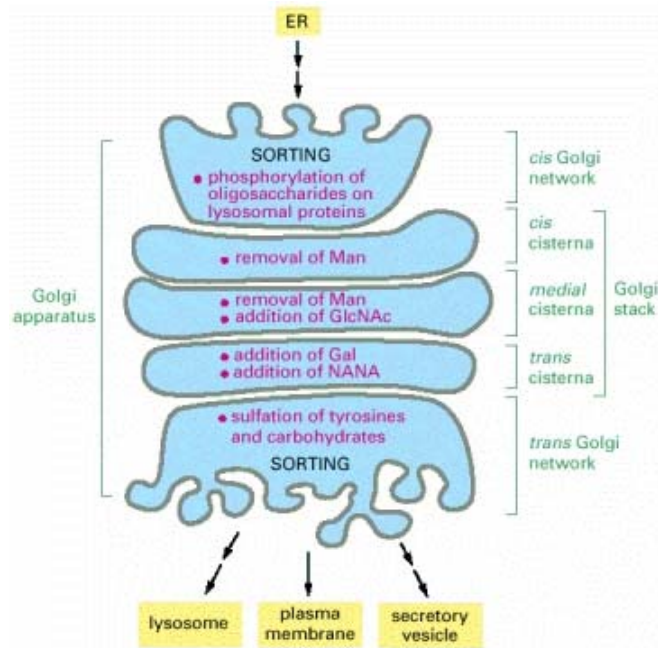


rekonstrukce GA – cis strana je část GA nejbližší ER

Molecular Biology of the Cell. 4th edition. Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. New York: Garland Science; 2002.

Golgiho aparát (GA)

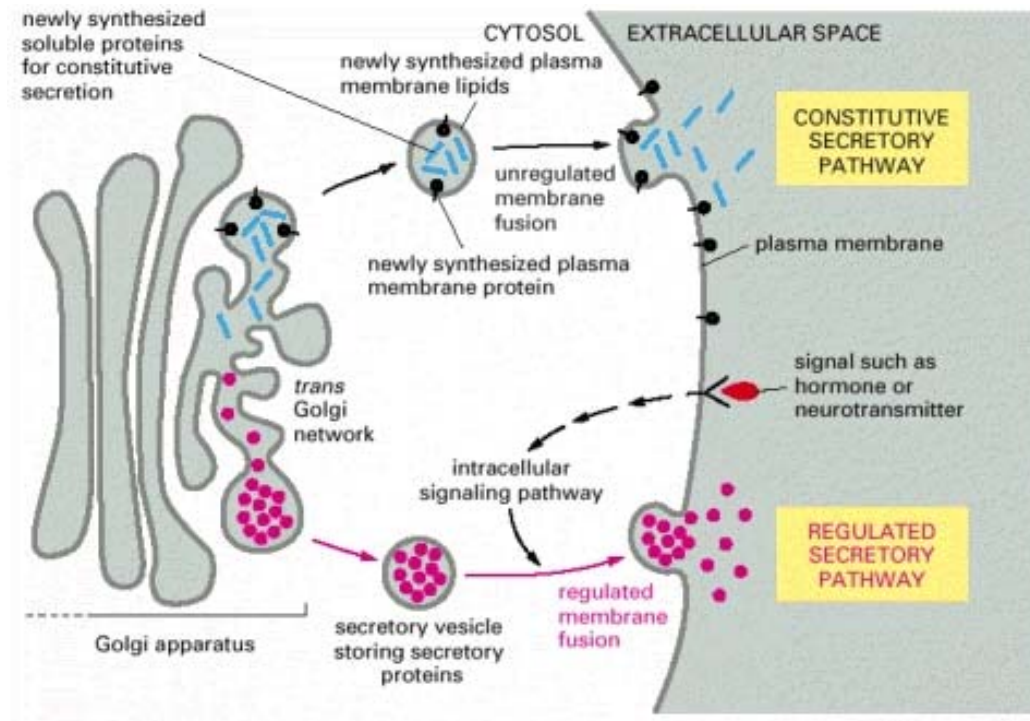
- cisterny GA jsou uspořádané do funkčně odlišných vrstev (obvykle 4 – 6, výjimkou jsou někteří prvoci – až 20) – ty jsou propojené kanálky (tubules);
- v živočišné buňce je obvykle GA blízko buněčného jádra a centrozómu;
- během průchodu GA prochází transportované molekuly (proteiny) sérií kovalentních modifikací – vstupují přes *cis* Golgi síť a z *trans* Golgi sítě jsou odesílány dále;
- mezi důležité procesy patří především glykosylace proteinů, tvorba proteoglykanů, apod.



Molecular Biology of the Cell. 4th edition. Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. New York: Garland Science; 2002.

Golgiho aparát (GA)

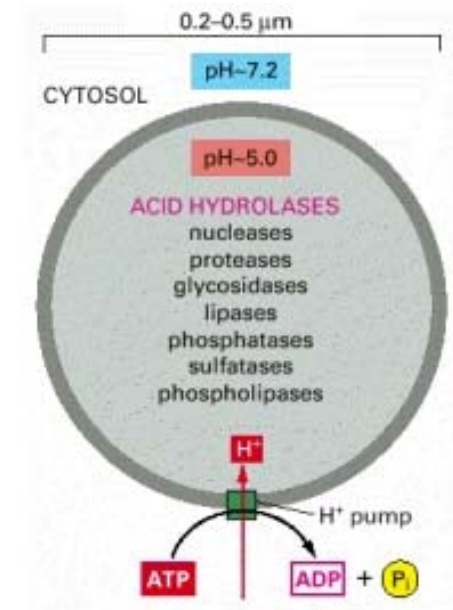
- GA hraje zásadní roli také v exocytóze –transportu materiálu ven z buňky;
- konstitutivní (ve všech buňkách) vs. regulovaná sekreční dráha (hormony, neurotransmitery, enzymy – ve specializovaných buňkách) – v ní jsou nejprve produkovávané látky uloženy v sekrečních vezikulích, které jsou uvolněny na základě signálu;



Molecular Biology of the Cell. 4th edition. Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. New York: Garland Science; 2002.

Lysozómy

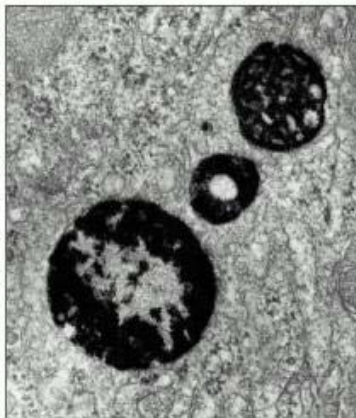
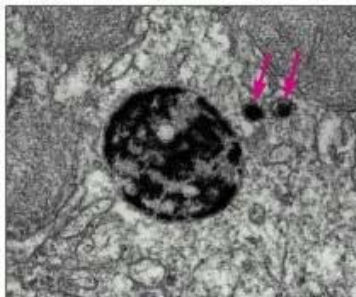
- *trans* Golgi síť – sorting proteinů – transport do konečné destinace; jednou z významných destinací jsou **lysozómy**;
- lysozómy představují buněčné organely ohraničené jednoduchou membránou, obsahující rozpustné hydrolytické enzymy schopné degradovat makromolekuly;
- jsou to **kyselé hydrolázy** – buňky jsou proti jejich působení chráněny jednak membránou lysozomu, jednak tím, že i v případě úniku nejsou tyto enzymy při normálním pH aktivní;
- složení lysozomální membrány je unikátní – obsahuje vysoce glykosylované proteiny – chráněny před působením proteáz, a transportní proteiny přenášející finální produkty (aminokyseliny, cukry a nukleotidy) do cytosolu;



*Molecular Biology of the Cell. 4th edition.
 Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al.
 New York: Garland Science; 2002.*

Lysozomy

- ▶ lysozomy představují velmi heterogenní skupinu organel – liší se tvarem i velikostí – identifikovány pomocí specifických protilátek či na základě přítomnosti specifických enzymatických aktivit;
- ▶ heterogenita je dána různými funkcemi, které plní (odbourávání debris, destrukce fagocytovaných mikroorganismů, tvorba živin pro buňku) i důsledkem jejich vzniku;



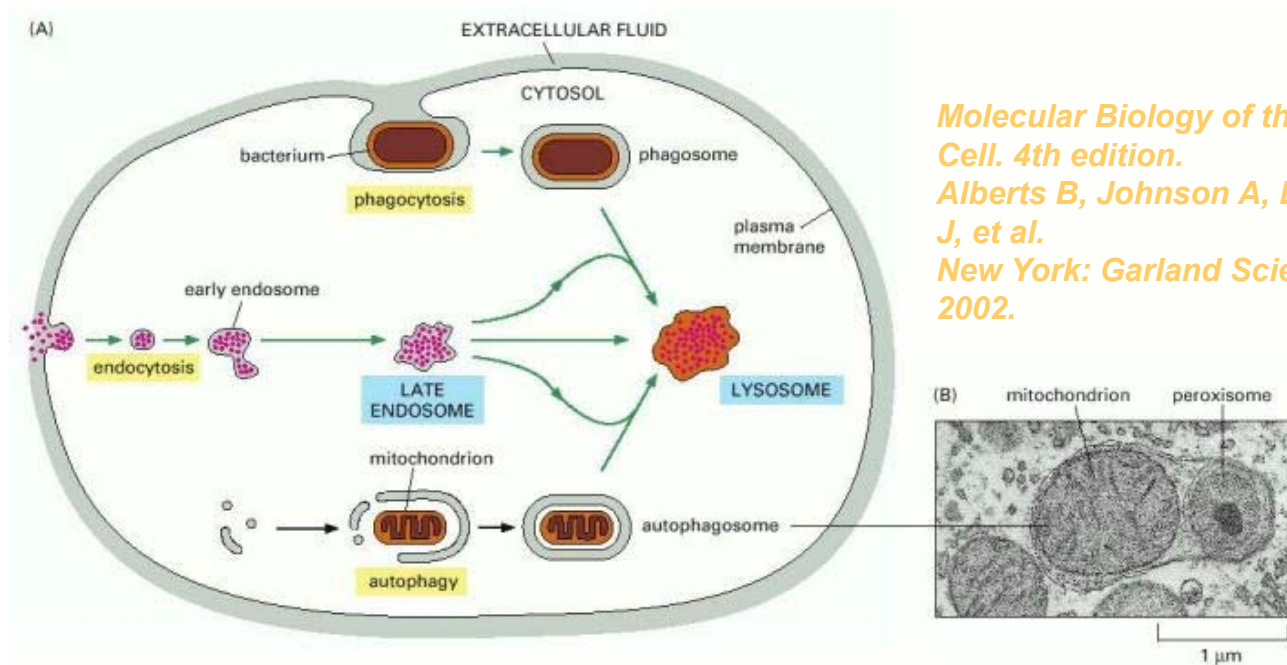
200 nm

- ▶ fúzováním s pozdními endozómy dochází ke vzniku endolysozomu, z něž po rozkladu většiny pohlceného materiálu opět vzniká lysozóm – proces maturace lysozómů (cyklus);
- ▶ u některých typů buněk může probíhat i lysozomální exkrece (např. melanocyty takto uvolňují pigmenty z tzv. melanozómů); tvorba exozómů?

*Molecular Biology of the Cell. 4th edition.
Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al.
New York: Garland Science; 2002.*

Lysozomy

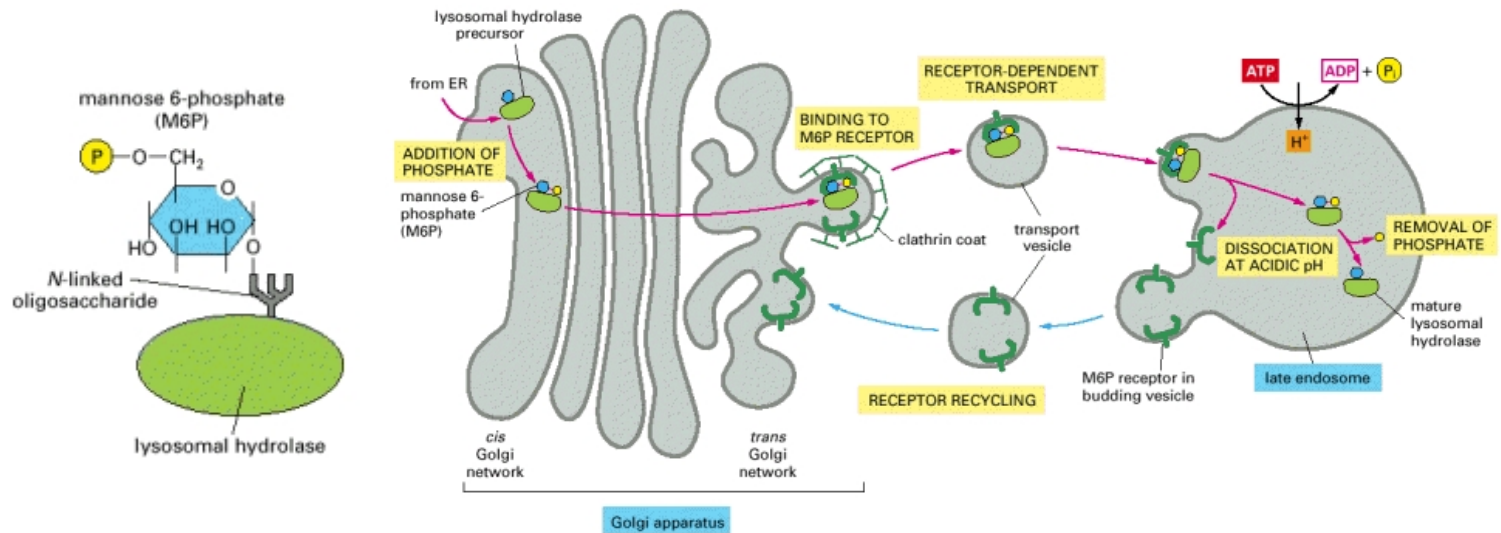
- materiál pro degradaci je do lysozómů „dopravován“ několika způsoby:
 - **endocytóza** (příjem extracelulárních makromolekul)
 - **fagocytóza** (specializované buňky – neutrofil, makrofág – velké částice, mikroorganismy)
 - **makropinocytóza** – nespecifický příjem tekutin, částí membrány či částic spojených s membránou
 - **autofagie** – degradace proteinů a organel přímo z cytoplazmy



Molecular Biology of the Cell. 4th edition. Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. New York: Garland Science; 2002.

Lysozómy

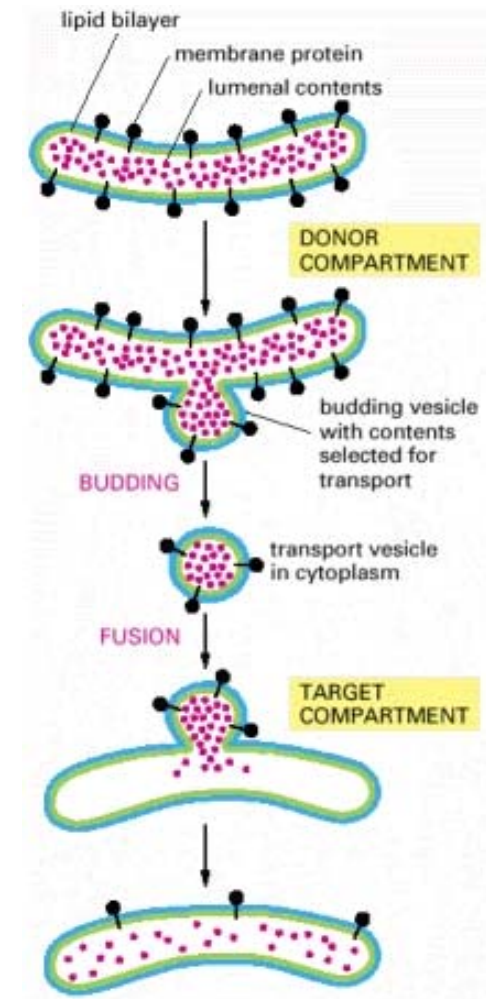
- ▶ pro funkci lysozómů je klíčová doprava lysozomálních hydroláz z trans Golgi sítě do lysozómů (prostřednictvím endozómů);
- ▶ poruchy – lysozomální onemocnění (lysosomal storage disease – cca 70) – skupina vzácných dědičných metabolických poruch – akumulace nerozložených substrátů v lysozómech; nejzávažnější je I-cell disease – v důsledku absence téměř všech hydrolytických enzymů;



*Molecular Biology of the Cell. 4th edition.
Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al.
New York: Garland Science; 2002.*

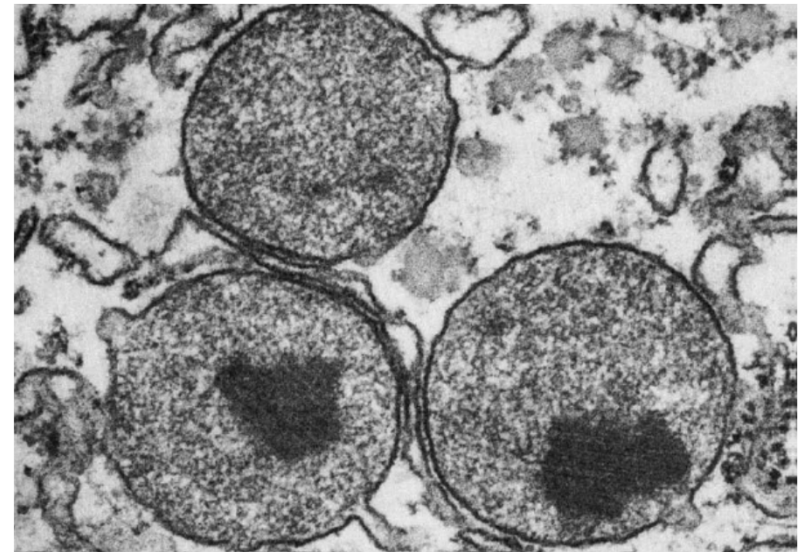
Propojení ER, GA a lysozómů

- ▶ přímé – prostřednictvím vezikulárního transportu i přímým propojením membrán;
- ▶ zároveň ale jeden kompartment může být zdrojem pro vznik dalších organel, nebo napomáhat při jejich proliferaci – např. ER může být zdrojem peroxizómů, nebo se podílet na proliferaci dalších organel (např. mitochondrií);



Mikrotělíška - peroxizómy

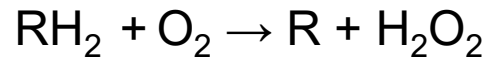
- ▶ velmi malé organely ohraničené pouze jednou membránou; neobsahují DNA ani ribozómy (na rozdíl od mitochondrií);
- ▶ mají velmi různorodé složení enzymů – souvisí s plněním různých funkcí v různých typech buněk
- ▶ nemají výrazné strukturní rysy, ale (zejména v játrech některých živočichů) mohou obsahovat tzv. nukleoid – enzym urikázu (přeměna kys. močové na alantoin)



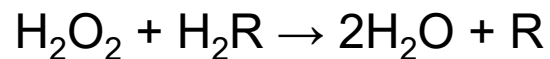
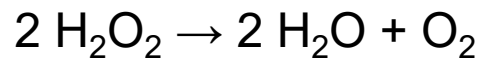
*The Cell. Fawcett D.W.
Philadelphia: W. B. Saunders Company; 1981*

Úloha peroxizómů v buněčném metabolismu

- ▶ peroxizómy obsahují enzymy, které využívají kyslík k odebrání atomů vodíku za současné tvorby H_2O_2 ;



- ▶ díky tomu obsahují také velké množství katalázy – enzymu, který umožňuje účinné odstraňování H_2O_2 – buď za spotřeby dvou molekul peroxidu, nebo katalyzováním reakce s dalšími substráty – kys. mravenčí, formaldehyd, etanol apod. (zejména v játrech a ledvinách);

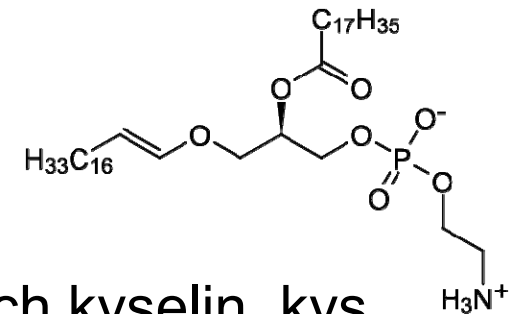


- ▶ hlavní funkce peroxizómů – katabolismus mastných kyselin – beta oxidace mastných kyselin za tvorby acetyl CoA (u živočichů tato reakce probíhá také v mitochondriích);

Úloha peroxizómů v buněčném metabolismu

► vedle β -oxidace probíhají v peroxizómech také další důležité reakce:

- syntéza fosfolipidu plazmalogenu – zásadní pro tvorbu myelinu a tedy pro izolaci neuronových vláken;

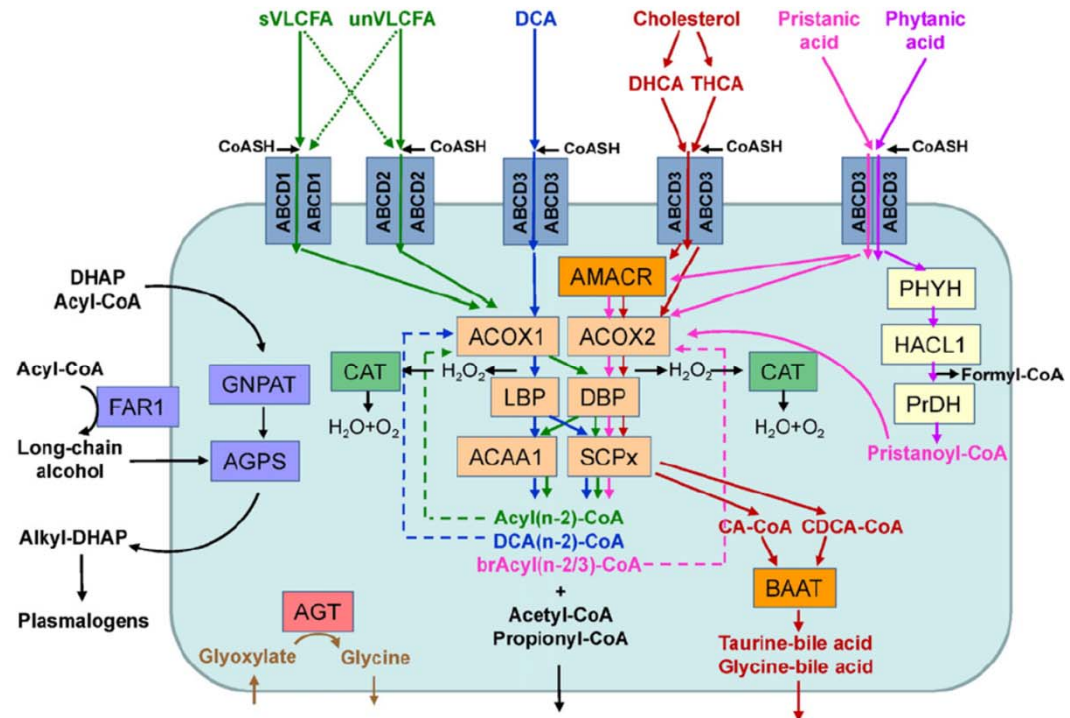


- anabolické funkce – syntéza žlučových kyselin, kys. dokosaheptaenová (DHA);

- tvorba a odbourávání kyslíkových radikálů – redoxní metabolismus;

Úloha peroxizómů v buněčném metabolismu

➔ Hlavní metabolické dráhy v peroxizómech



H.R. Waterham et al. BBA 2016, 1863: 922–933

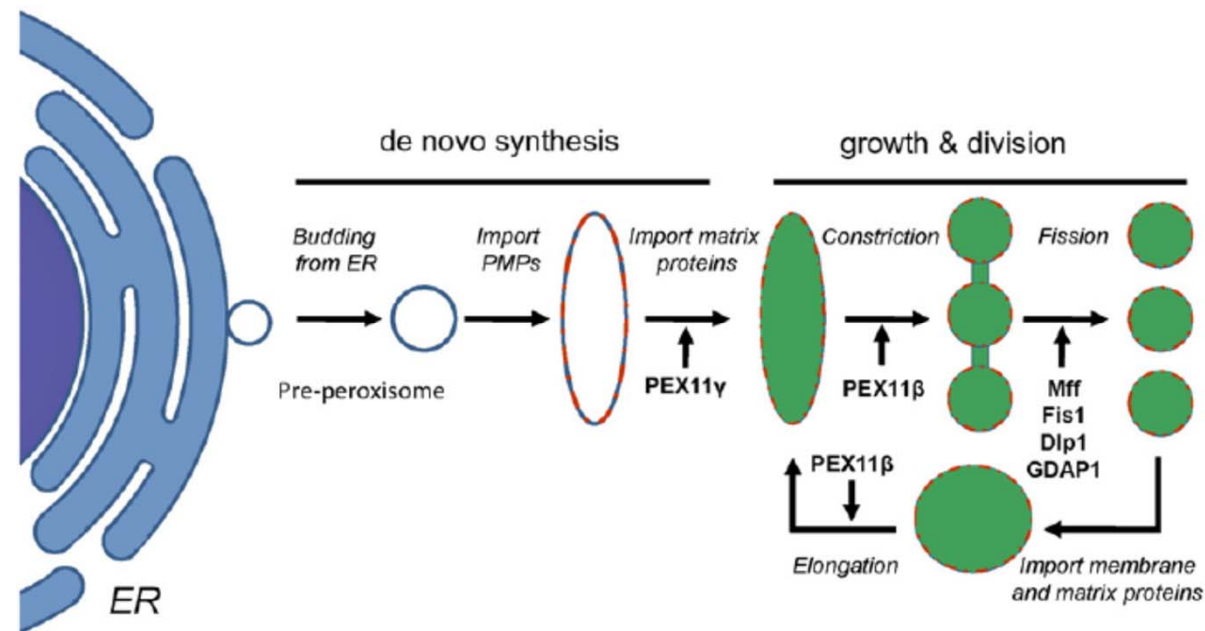
The main enzymes involved in the peroxisomal fatty acid beta-oxidation pathway are indicated in light orange. The peroxisomal fatty acid beta-oxidation pathway can handle different substrates (indicated by distinct colors), including very long chain fatty acids (sVLCFA, unVLCFA (green)), dicarboxylic acids (DCA (blue)), the bile intermediates DHCA and THCA (dark red), and pristanic acid (magenta), which are imported into peroxisomes by the different ABCD transporters as indicated. The peroxisomal enzymes involved in alpha-oxidation of phytanic acid (purple) are indicated in yellow. The peroxisomal enzymes involved in plasmalogen synthesis (black) are indicated in purple. The peroxisomal enzymes involved in bile acid synthesis (dark red) are indicated in bright and light orange. The peroxisomal enzyme involved in glyoxylate detoxification (brown) is indicated in red and catalase required for H₂O₂ degradation in green. Abbreviations: ACAA1= 3-ketoacyl-CoA thiolase, ACOX1=Acyl-CoA oxidase 1, ACOX2=acyl-CoA oxidase 2, ABCD1=ABC transporter D1, ABCD2=ABC transporter D2, ABCD3=ABC transporter D3, AGPS=alkyl-dihydroxyacetonephosphate synthase, AGT = alanine-glyoxylate aminotransferase, AMACR = 2-methylacyl-CoA racemase, BAAT = bile acid-CoA:amino acid N-acyltransferase, brAcyl= branched-acyl, CA= cholic acid, CAT = catalase, CDCA= chenodeoxycholic acid, DBP = D-bifunctional protein, DCA = dicarboxylic acids, DHAP= dihydroxyacetone phosphate, DHCA=dihydroxycholestanic acid, GNPAT=dihydroxyacetone acyltransferase, HACL1=2-hydroxyphytanoyl-CoA lyase, LBP=L-bifunctional protein, PHYH=phytanoyl-CoA 2-hydroxylase, PrDH=pristanal dehydrogenase, SCPx=SCPx, sVLCFA=saturated very long chain fatty acids, THCA=trihydroxycholestanic acid, unVLCFA = unsaturated very long chain fatty acids.

Původ a tvorba peroxizómů

- ▶ otázka původu a vzniku peroxizómů není dosud zodpovězena zcela přesvědčivě;
- ▶ vedle mitochondrií představují hlavní buněčné organely, kde je spotřebováván kyslík – původně snižovaly vnitrobuněčnou koncentraci kyslíku? – jejich funkci převzaly mitochondrie, ve kterých je kyslík spotřebováván v souvislosti s tvorbou ATP oxidativní fosforylací – peroxizómy tak vykonávají především metabolické funkce, které neprobíhají v mitochondriích;

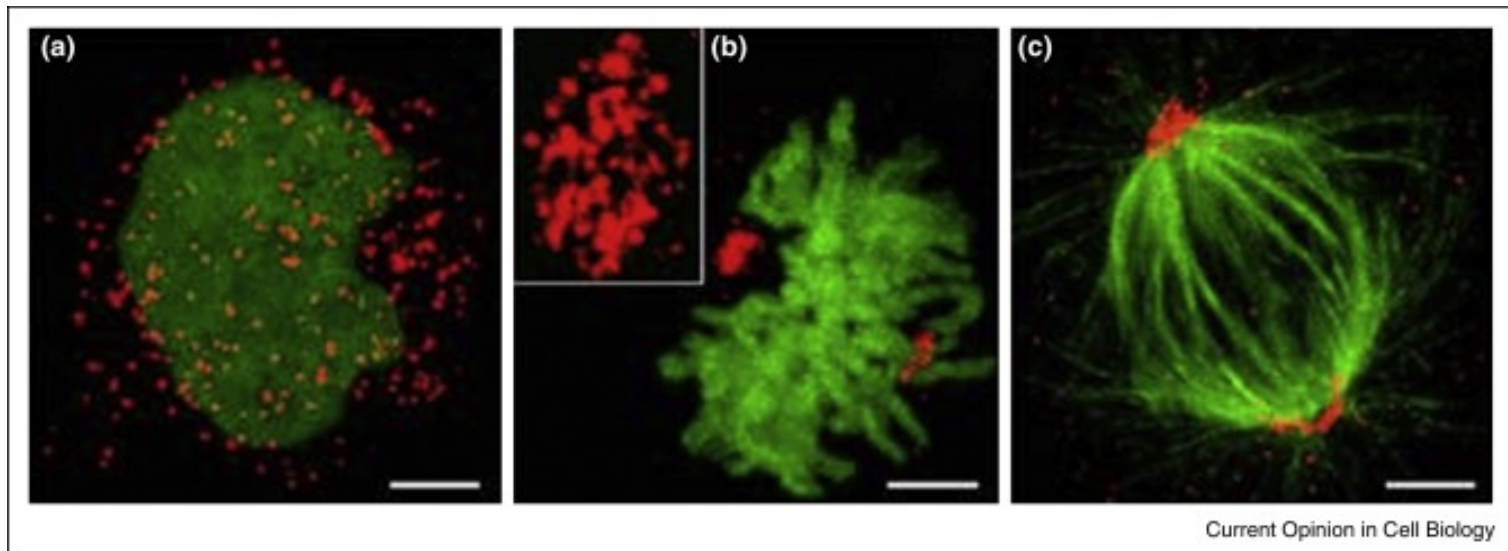
Tvorba peroxizómů

- ▶ peroxizómy vznikají zejména růstem a dělením existujících peroxizómů;
- ▶ jinou možností je jejich tvorba *de novo* z prekurzorů peroxizómů vznikajících ze specializovaných částí ER – ty se postupně vyvinou ve zralé, metabolicky aktivní peroxizómy díky importu peroxizomálních proteinů z cytoplasmy;



Transfer peroxizómů v průběhu buněčného dělení

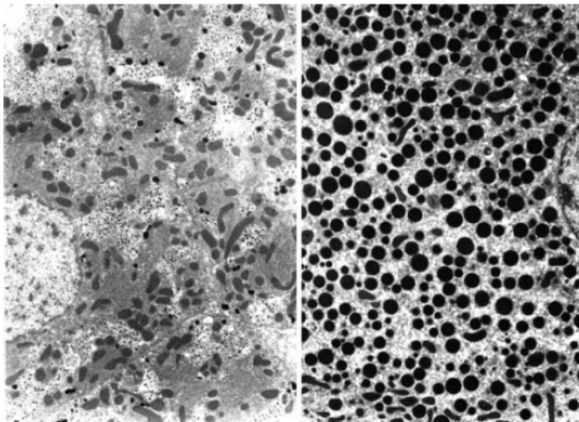
- ▶ v průběhu rozdělení buněk dochází také k dělení peroxizómů – zprostředkováno jejich vazbou na cytoskelet – obě dceřinné buňky získávají část původních peroxizómů a není tak nutná jejich syntéza *de novo*;



Peroxisómy v organismu živočichů

- ▶ množství peroxizómů v jednotlivých typech buněk se liší – velké množství se nachází zejména v buňkách, které jsou vysoce metabolicky aktivní nebo se podílejí na odbourávání škodlivin – např. hepatocyty;
- ▶ u některých druhů živočichů se navíc množství peroxizómů dynamicky mění s tím, jak potřebují využívat např. katabolismus mastných kyselin: např. u některých hlodavců může dojít k rychlé indukci proliferace peroxizómů působením ligandů receptorů pro peroxizómové proliferátory ($PPAR\alpha$) – ty jsou aktivovány např. nenasycenými mastnými kyselinami;

játra kontrolní myši



játra myši po aplikaci ligandu $PPAR\alpha$ – Wy-14,643

Poruchy peroxizómů a vrozená onemocnění

- ▶ peroxisomes hrají klíčovou roli v metabolismu a jsou nezbytné pro normální fungování organismu;
- ▶ defekty genů kódujících peroxizomální proteiny mají za následek vrozené poruchy, rozdělované na poruchy peroxizomálních enzymů a poruchy tvorby peroxizómů – značná část vrozených metabolických poruch (kombinovaná incidence 1:5000);
- ▶ X-vázaná adrenoleukodystrofie (porucha oxidace nevětvených mastných kyselin s velmi dlouhým řetězcem (C25:0 a C26:0, VLCFA) v důsledku nedostatečnosti peroxizomálního enzymu lignoceroyl-CoA ligázy);
- ▶ Zellwegerův syndrom – mutace v genech pro peroxiny (PEX1 – 12) - snížená funkce či úplný deficit peroxizómů v buňkách mozku, jater a ledvin (postižení jedinci umírají do 1. roku);

Příští přednáška: Buněčné jádro

- BUNĚČNÉ JÁDRO A JEHO DYNAMIKA
- opakování - přehled struktury buněčného jádra a chromatinu;
- specializované struktury buněčného jádra;
- komunikace mezi složkami buněčného jádra a ostatními buněčnými organelami;
- variabilita buněčného jádra v živočišných buňkách