

# MEZIBUNĚČNÉ SPOJE ŽIVOČIŠNÝCH BUNĚK

Karel Souček

## Mezibuněčné spoje a extracelulární matrix

- „sociální interakce“ buněk v mnohobuněčných organismech
  - nejdůležitější jsou ty, které společně udržují buňky v tkáních
- přímá interakce
- interakce s extracelulární matrix (mezibuněčná hmota)
- umožňují vznik a organizaci struktury tkání, orgánů, těla
- přestavba spojení umožňuje pohyb buněk, přestavbu, vývoj, růst, regeneraci
- kontrola orientace, odpovědi na mechanické podněty z okolí
- defekty se projevují nebo jsou příčinou u řady onemocnění

## Příklad: pojivová tkáň vs. epitel

- Pojivová tkáň, např. kost, šlacha – mezibuněčná hmota produkovaná buňkami
  - matrix – mechanicky odolná
- Epitel – buňky jsou těsně spojeny jedna k druhé a organizovány do vrstev
  - Matrix je méně zřetelná – bazální lamina (BL)
  - Mezibuněčné spoje a ukotvení k buněčnému skeletu a k BL

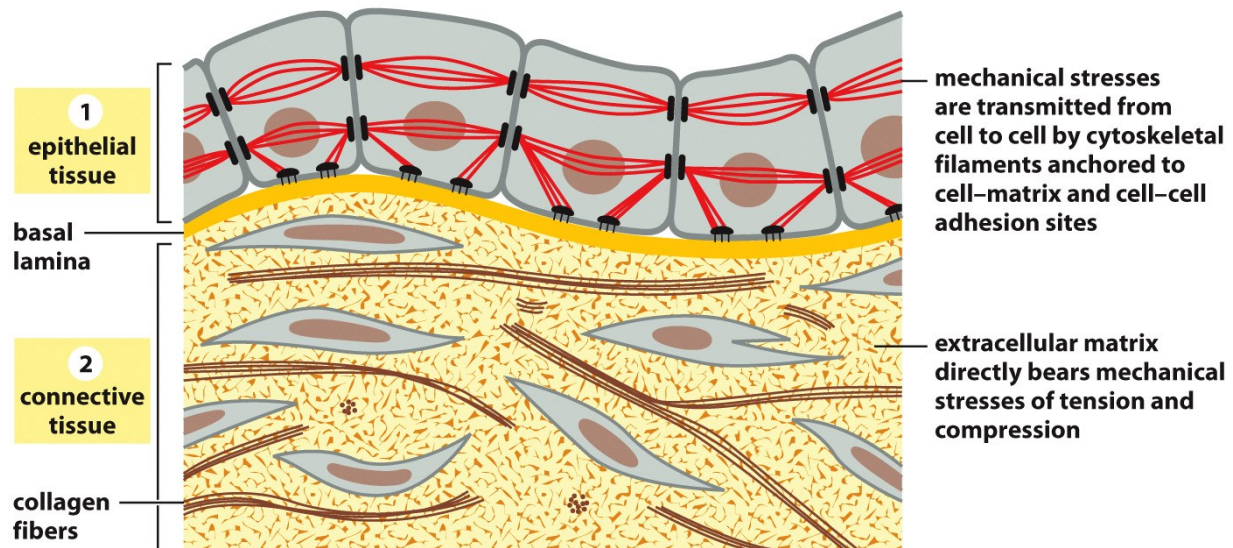


Figure 19-1 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

# Mezibuněčné spoje epitelu obratlovců

## ▶ Kotvící spojení

- ▶ Adhezní spoj – adherens junction
  - ▶ Mechanický úchyt mezi buňkami, propojený s cytoskeletem
- ▶ Desmosome
  - ▶ Propojení prostřednictvím intermediárních filament
- ▶ Hemidesmosome
  - ▶ Propojení intermediárních filament s mezibuněčnou hmotou

## ▶ Actin-linked cell-matrix junction

- ▶ Propojení aktinového cytoskeletu s mezibuněčnou hmotou

## ▶ Těsný spoj – tight junction

- ▶ Zaceluje mezery mezi membránami

## ▶ Vodivý spoj – gap junction

- ▶ Průchod ve vodě rozpustných látek <1500 Da

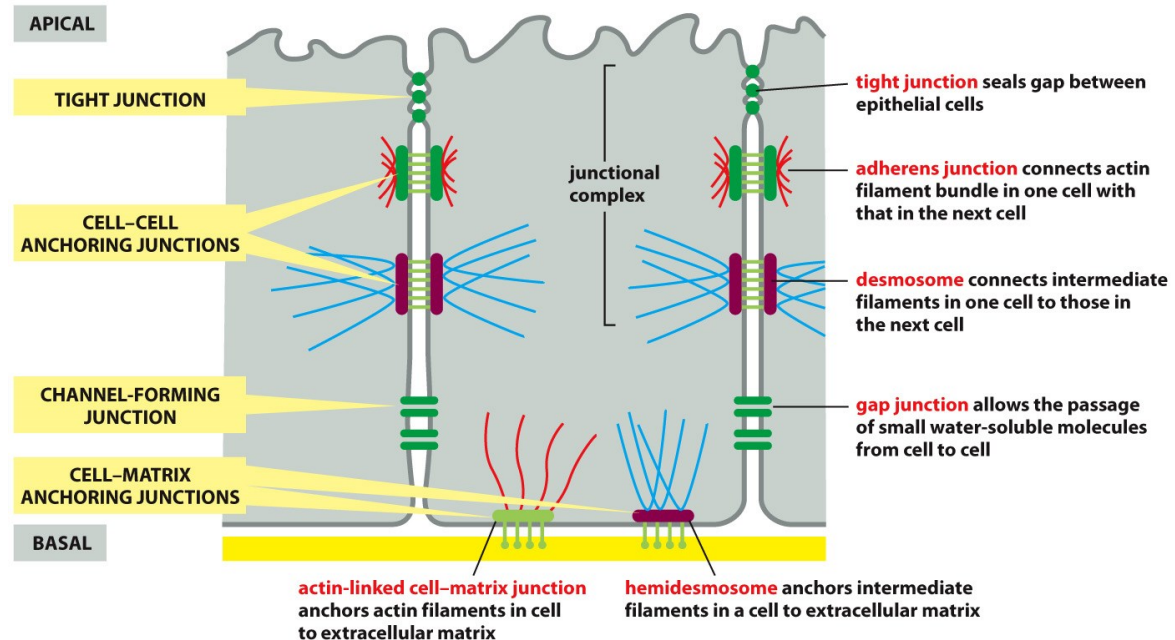


Figure 19-2 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)



# Transmembránové adhezivní proteiny

- Propojení cytoskeletu s mezibuněčnými strukturami
  - kadheriny
    - mezibuněčné spojení
  - integriny
    - spojení buněk s matrix

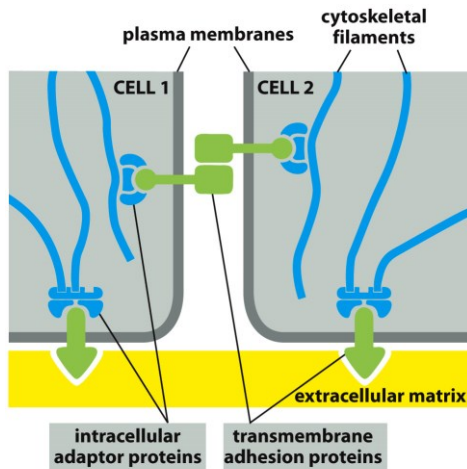


Figure 19-3 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

TABLE 19-1 Anchoring Junctions

Junction	Transmembrane adhesion protein	Extracellular ligand	Intracellular cytoskeletal attachment	Intracellular adaptor proteins
<b>Cell-Cell</b>				
Adherens junction	Classical cadherins	Classical cadherin on neighboring cell	Actin filaments	$\alpha$ -Catenin, $\beta$ -catenin, plakoglobin ( $\gamma$ -catenin), p120-catenin, vinculin
Desmosome	Nonclassical cadherins (desmoglein, desmocollin)	Desmoglein and desmocollin on neighboring cell	Intermediate filaments	Plakoglobin ( $\gamma$ -catenin), plakophilin, desmoplakin
<b>Cell-Matrix</b>				
Actin-linked cell-matrix junction	Integrin	Extracellular matrix proteins	Actin filaments	Talin, kindlin, vinculin, paxillin, focal adhesion kinase (FAK), numerous others
Hemidesmosome	$\alpha_6\beta_4$ Integrin, type XVII collagen	Extracellular matrix proteins	Intermediate filaments	Plectin, BP230

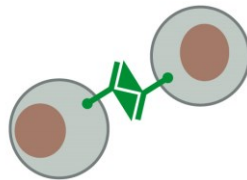
Table 19-1 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

## Spoje buňka-buňka

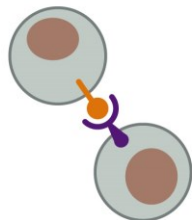
- odolné – zabraňují oddělení jednotlivých buněk při působení vnějších sil
- dynamické a adaptabilní – musí umožnit růst a regeneraci tkáně
- **kadheriny** (cadherins, calcium-dependent adhesion)
  - exprese u všech mnohobuněčných organizmů
  - vazba je závislá na  $\text{Ca}^{2+}$
  - první tři objevené (klasické):
    - E-cadherin, epiteliální buňky
    - N-cadherin, nervy, svaly, buňky čočky
    - P-cadherin, placenta, epidermis
  - „neklasické“
    - protocadherins
    - desmocollins
    - desmogleins

# Super rodina kadherinů

- obsahují mnoho kopií extracelulární části domény
  - Klasické  $\geq 5$
  - neklasické až 30
- T-cadherin nemá transmembránovou doménu, k membráně navázán pomocí glykosylfosfatidilinositolové (GPI) kotvy
- homofilní vazba



HOMOPHILIC BINDING



HETEROPHILIC BINDING

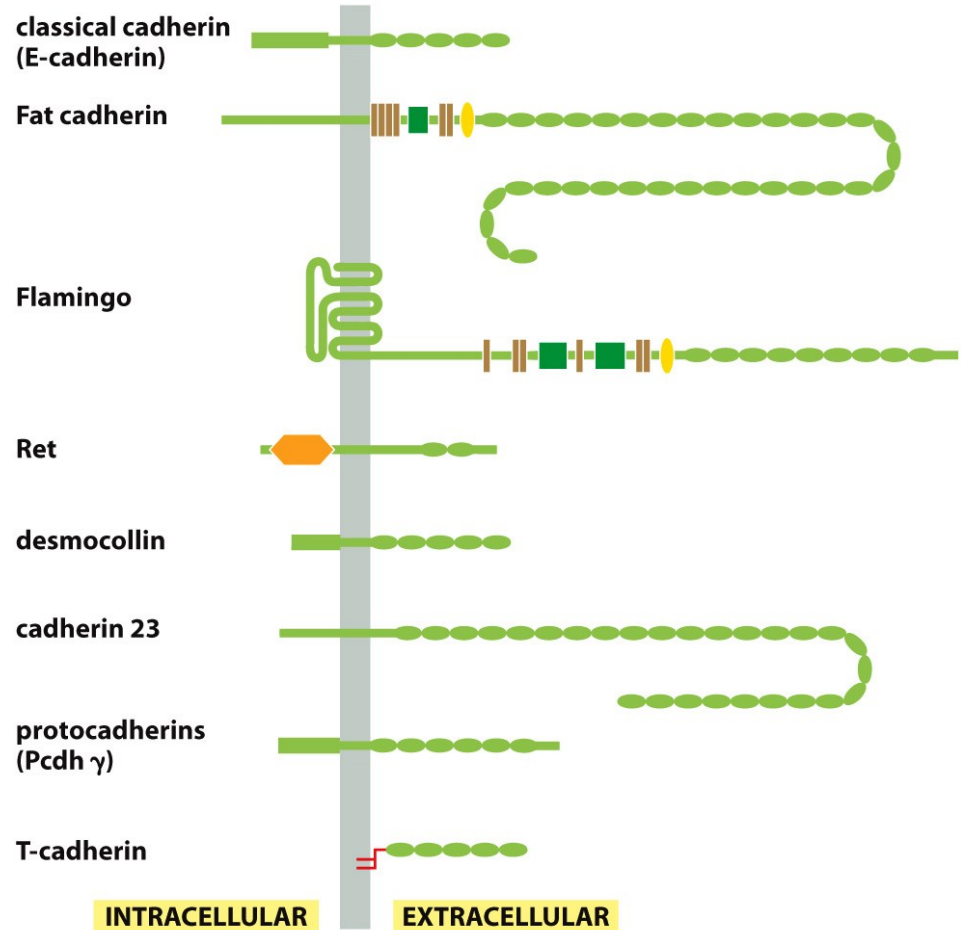
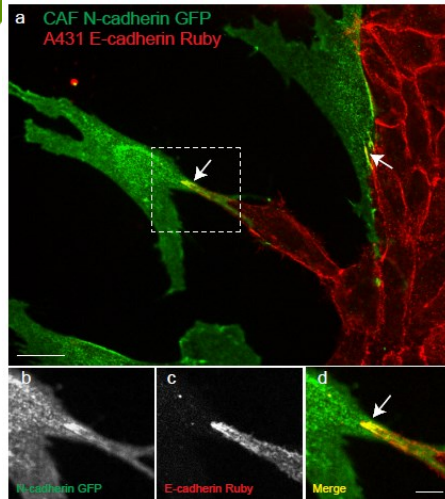


Figure 19-4 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

# Jak je to v kontextu patologických stavů?

ARTICLES

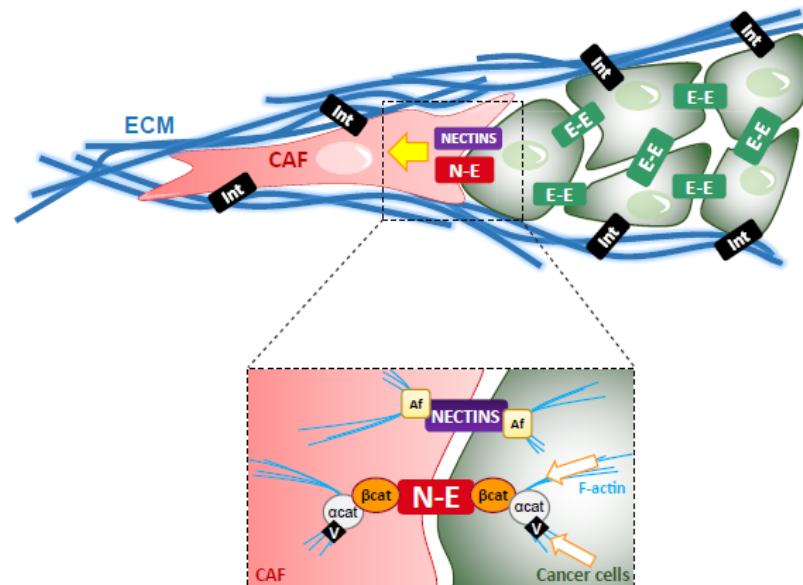


nature  
cell biology

Nature Cell Biology 19, 224–237 (2017) doi:10.1038/ncb3478

A mechanically active heterotypic E-cadherin/N-cadherin adhesion enables fibroblasts to drive cancer cell invasion

Anna Labernadie<sup>1</sup>, Takuya Kato<sup>2</sup>, Agustí Brugués<sup>1</sup>, Xavier Serra-Picamal<sup>1,3</sup>, Stefanie Derzsi<sup>2</sup>, Esther Arwert<sup>2</sup>, Anne Weston<sup>2</sup>, Victor González-Tarragó<sup>1</sup>, Alberto Elosegui-Artola<sup>1</sup>, Lorenzo Albertazzi<sup>1</sup>, Jordi Alcaraz<sup>3</sup>, Pere Roca-Cusachs<sup>1,3</sup>, Erik Sahai<sup>2,6</sup> and Xavier Trepac<sup>1,3,4,5,6</sup>



# Struktura kadherinů

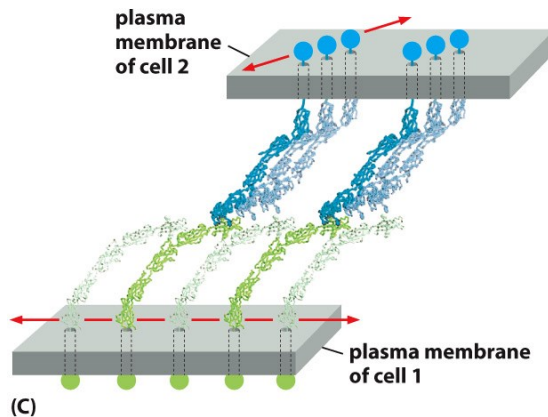
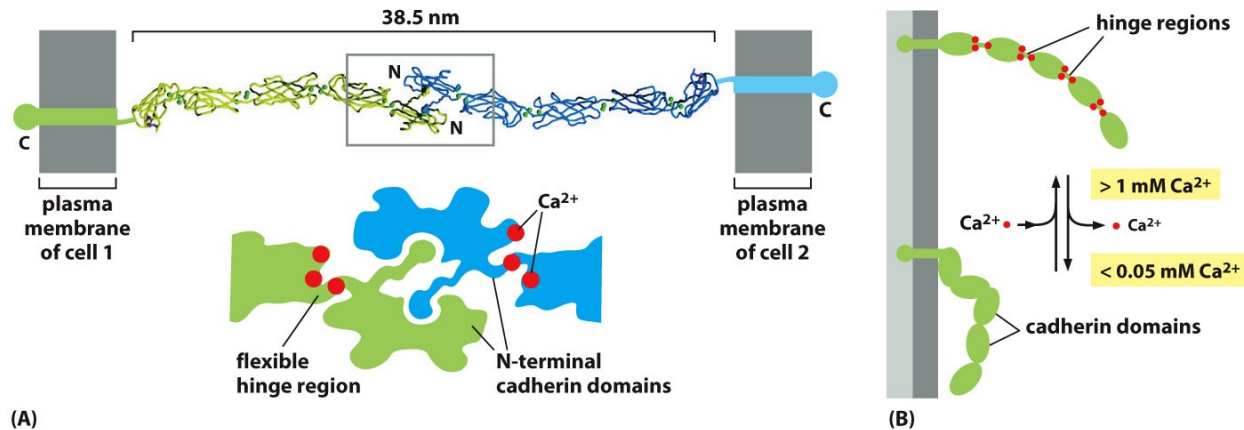


Figure 19-6 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

- ▶ repetice extracelulárních domén jsou odděleny flexibilními regiony
- ▶ Ca<sup>2+</sup> ionty se váží do těchto oblastí a zabraňují jejich pohybu
- ▶ ztráta Ca<sup>2+</sup> zvyšuje flexibilitu a vede ke ztrátě správné orientace
- ▶ typické spojení je organizováno jako seskupení molekul kadherinů fungujících jako „suchý zip“

## Organizace tkání závislá na kadherinech

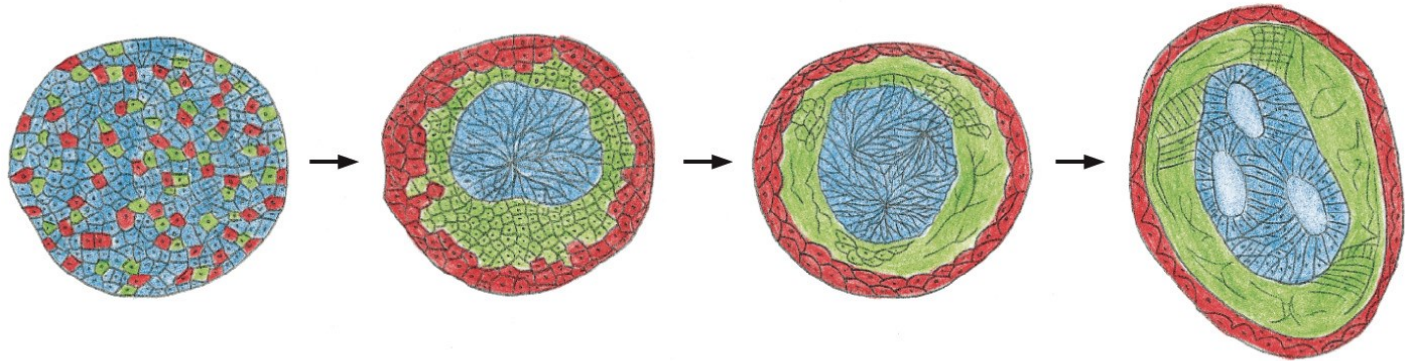


Figure 19-7 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

- dezintegrované buňky časného embrya reagregované do náhodné sféry
- dokáží se reorganizovat zpět do podoby normálního embrya

mesoderm, neurální lišta, epidermální buňky



# Klíčová role kadherinů během časného vývoje

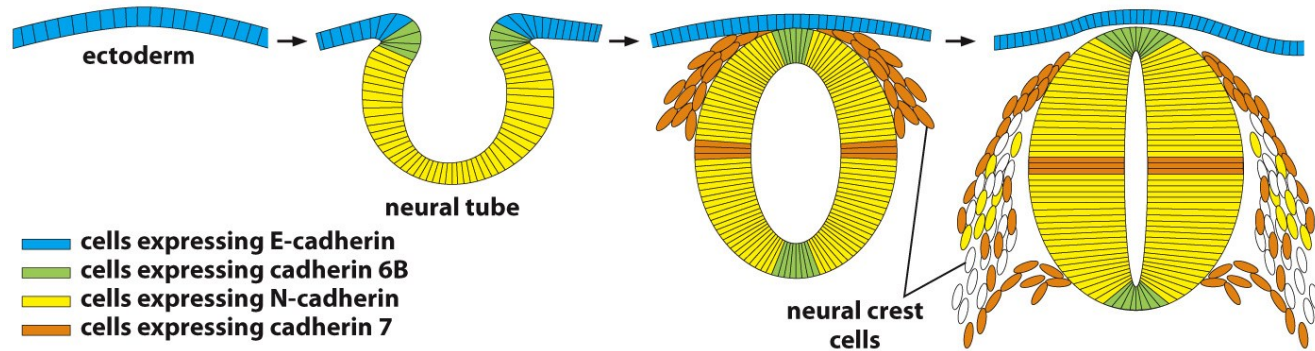


Figure 19-8c Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

- Rozdílné skupiny buněk se segregují v závislosti na expresi kadherinů v různé fázi vývoje nervové trubice

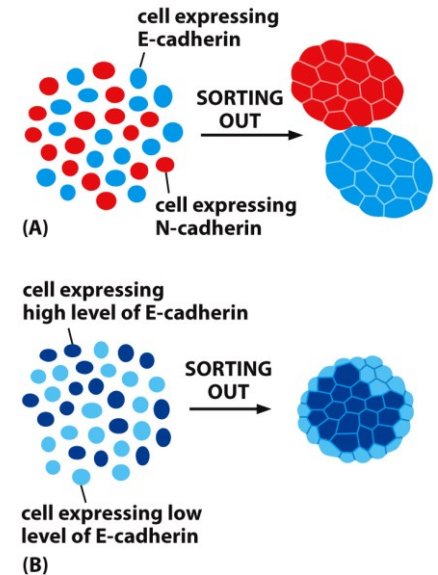
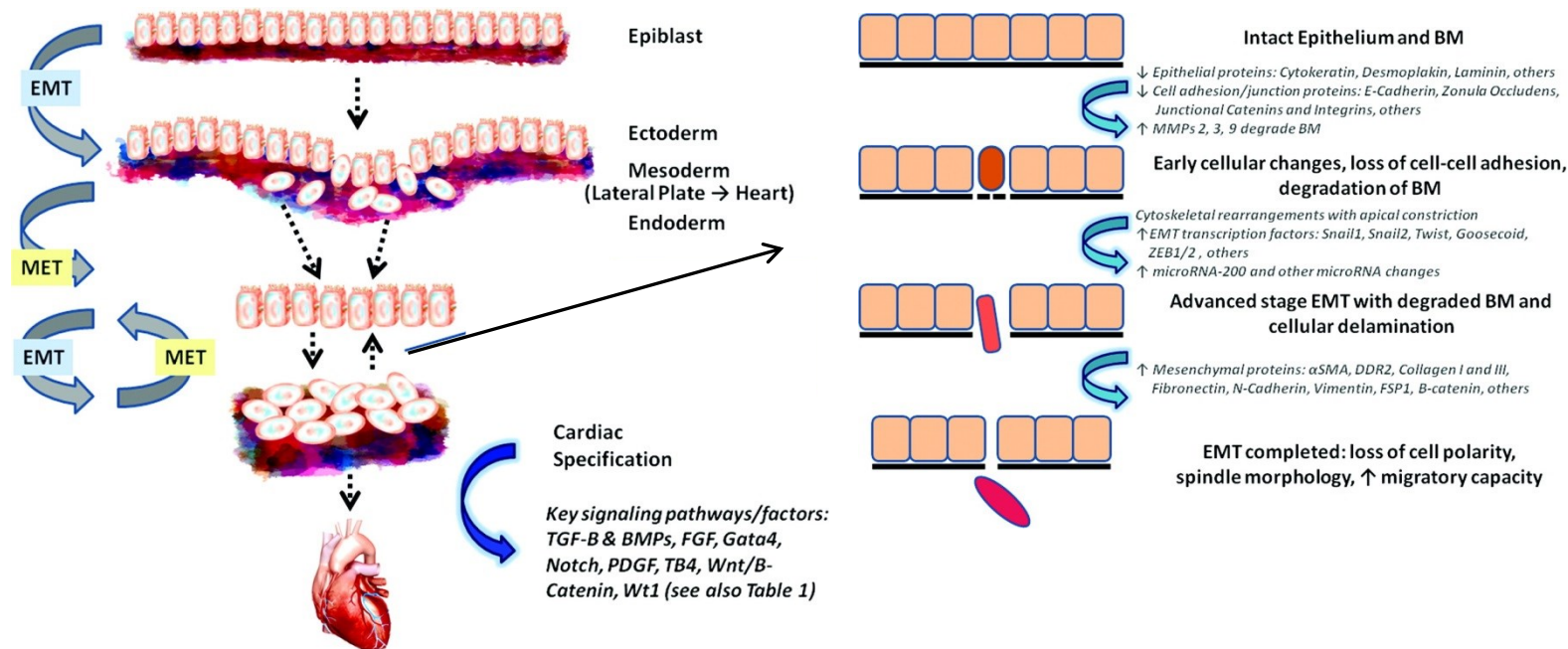


Figure 19-9 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

# Epiteliálně-mesenchymální přechod

- sestavení epitelu je reverzibilní proces
- změnou exprese adhezivních molekul na konkrétním buněčném typu lze změnit jeho fenotyp a mezibuněčnou organizaci
- důležité v embryogenezi, např. vznik neurální trubice, vývoj srdce
- Projevuje se i během patologických stavů – malignity, fibrózy



## Kateniny propojují klasické kadheriny s aktinovým cytoskeletem

- propojení kadherinů s cytoskeletem je zásadní pro jejich správnou funkci
- kadheriny bez cytoplasmatické domény ztrácí schopnost vytvářet stabilní mezibuněčné spoje
- propojení s cytoskeletem je nepřímé v závislosti na adaptorovém proteinu
  - Adherentní spojení:  $\beta$ -catenin, p120-catenin,  $\alpha$ -catenin
  - Desmosomy: plakoglobin

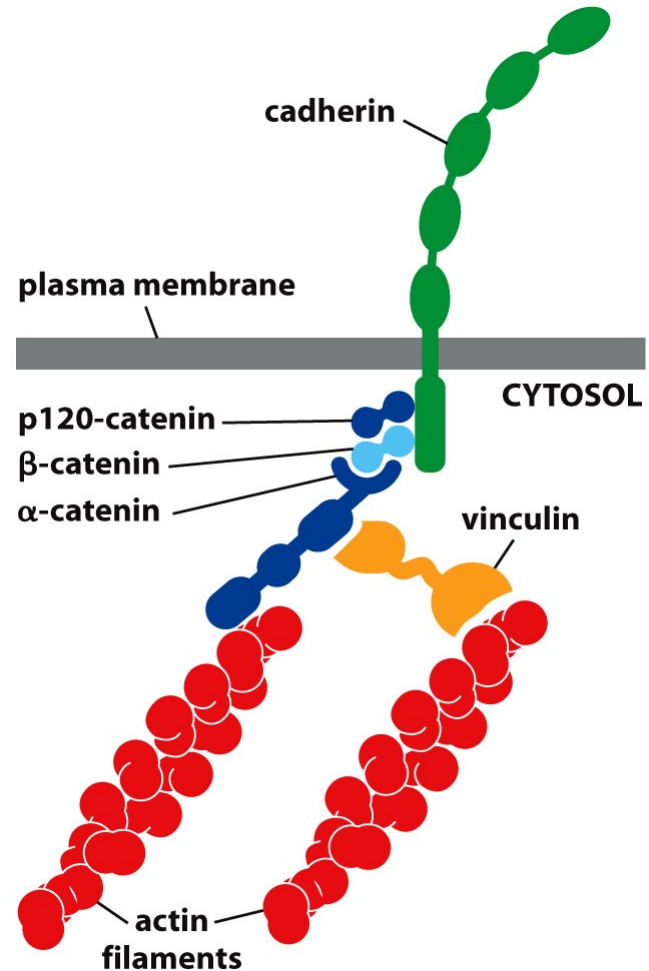


Figure 19-10 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

# Sestavení adherentního spojení

- lokální membránové výčnělky a nukleace aktinové sítě iniciuje mezibuněčný kontakt
- malé shluky kadherinů a kateninů asociují s aktinem (důležitá GTPsa Rac)
- Rac podporuje vznik dalších výčnělků v okolí, expanze kontaktní zóny
- inaktivace Rac a aktivace Rho vede ke změně organizace aktinu na lineární, kontraktilní svazky
- následně sestavení myosinových II filament

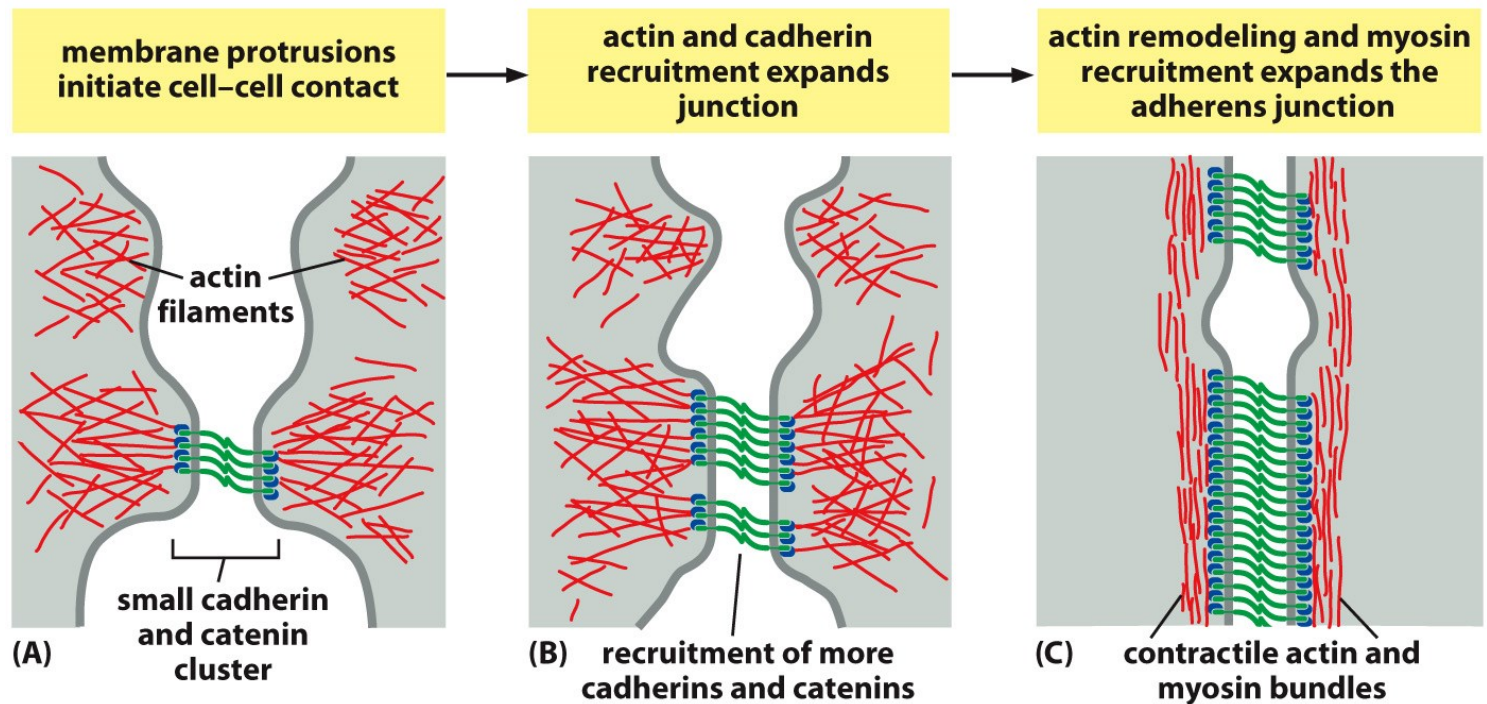


Figure 19-11 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

## Remodelace tkání závisí na koordinaci mezi kontrakcí aktinu a adhezí mezi buňkami

- Mezubuněčná spojení zaznamenají zvýšenou tenzi a následně zesilují aktinová spojení
  - Dependentní na  $\alpha$ -catenin
  - vinculin podporuje připojení dalších aktinových vláken a zesiluje vazbu mezi buněčným spojem a cytoskeletem

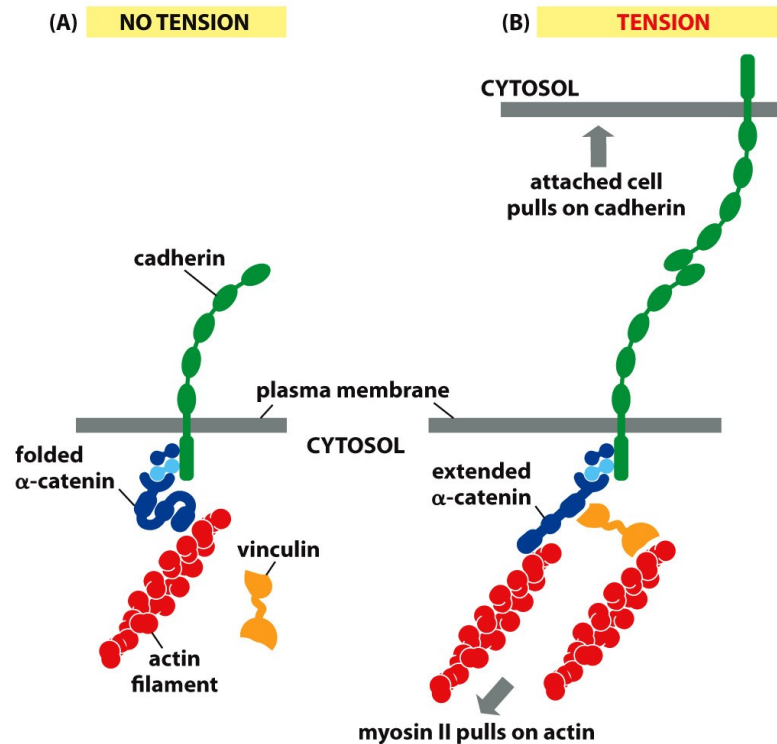


Figure 19-12 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)



## Pásovité desmozom / *zonula adherens* / adhesion belt

- Kontraktilní svazek (aktin, myosin II) vláken obepínající membránu každé z buněk epitelu
- Propojení sousedních buněk prostřednictvím kadherinů a ukotvení k jejich cytoskeletu

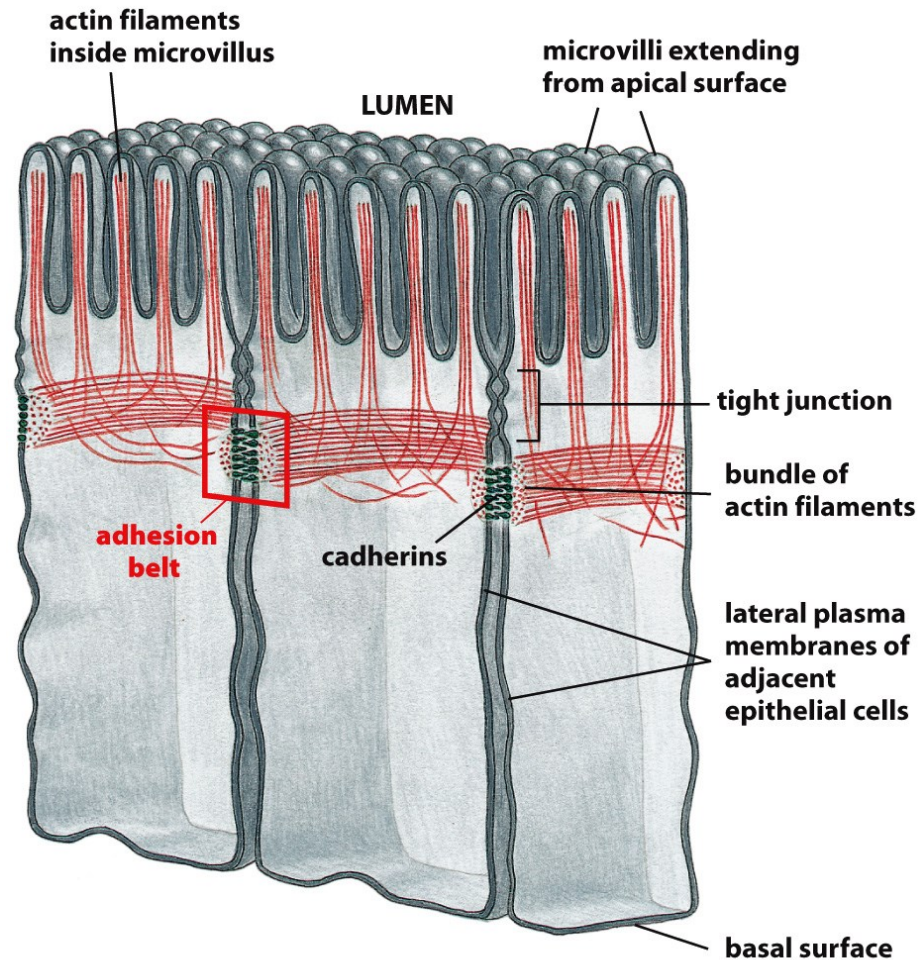


Figure 19-13 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)



## Pásovité desmozom / *zonula adherens* / adhesion belt

- Koordinovaná kontrakce generuje pohyblivou sílu nutnou pro morfogenezi
- Složení vrstev epitelu do trubic, vezikulů, atp

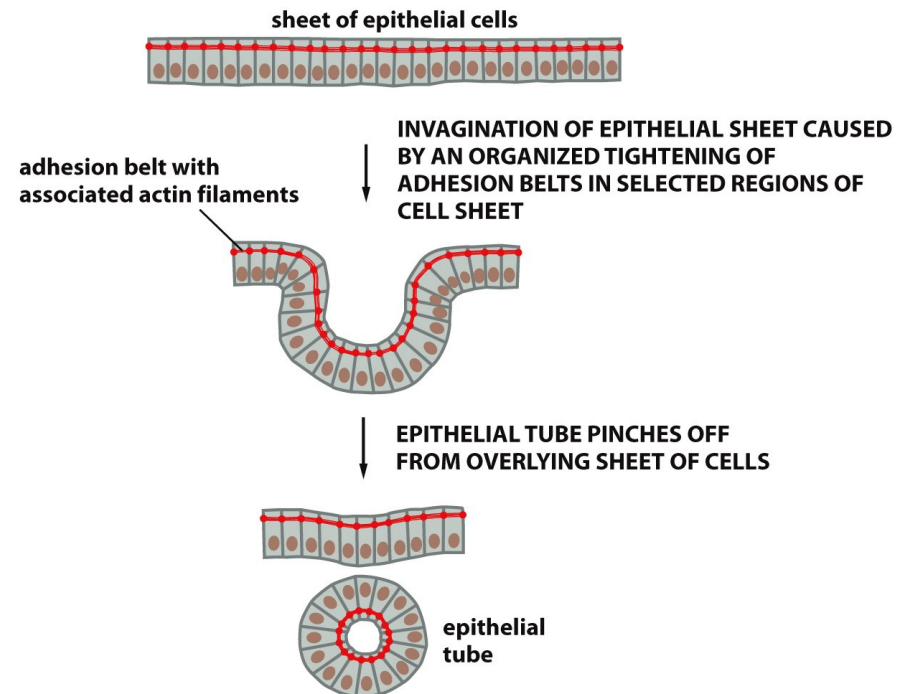


Figure 19-14 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

# Desmozomy

- ▶ Podobné adherentním spojům
- ▶ Propojují intermediální filamenta
- ▶ Mechanická odolnost, důležitá u obratlovců
  - ▶ srdeční sval
  - ▶ epidermis
- ▶ Podle typu filament rozlišujeme specifická spojení
  - ▶ Desminová – srdce
  - ▶ Keratinová – většina epitelů
- ▶ Autoimunitní kožní onemocnění – *pemphigus* – autoprotilátky proti desmogleinu

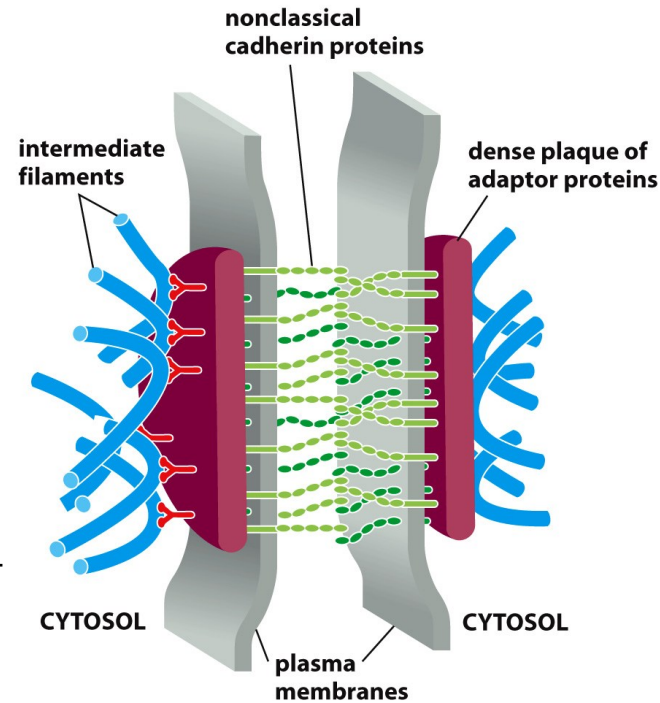
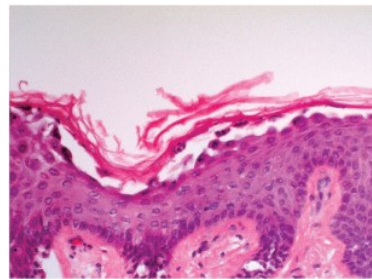


Figure 19-16a Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

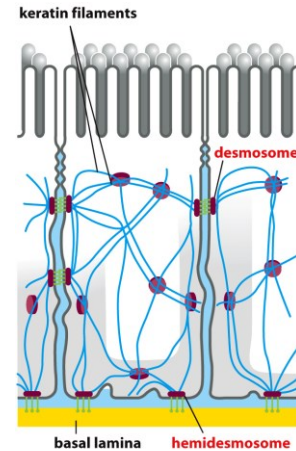


Figure 19-17 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

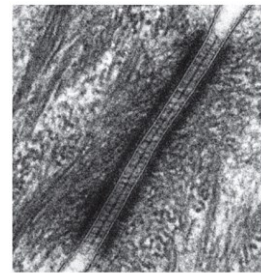


Figure 19-18 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

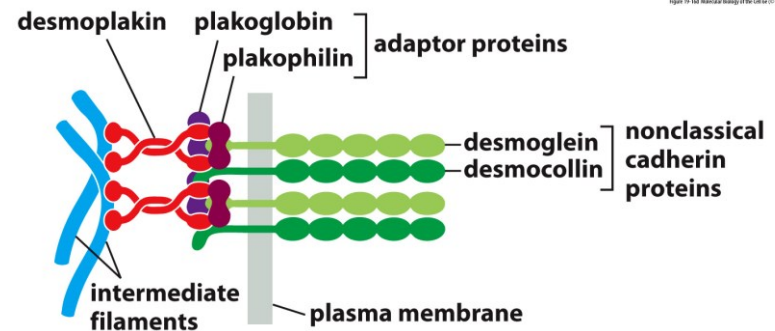


Figure 19-16b Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

# Těsné spoje / tight junctions

- **Strukturní polarizace epitelu**
  - bazální vs. apikální
- **Selektivní permeabilita epitelu**
  - bariéra pro tekutinu na apikální vs. bazální straně
  - vyžaduje utěsnění mezi buňkami, zabránění prosakování tekutiny mezi vrstvou buněk
- **Trans-buněčný transport**
  - specifické sety transportních proteinů na apikální a bazolaterální straně
- **Destabilizace = patologické stavy**
  - Retinopatie
  - Gelatinous drop-like corneal dystrophy
  - metastázování

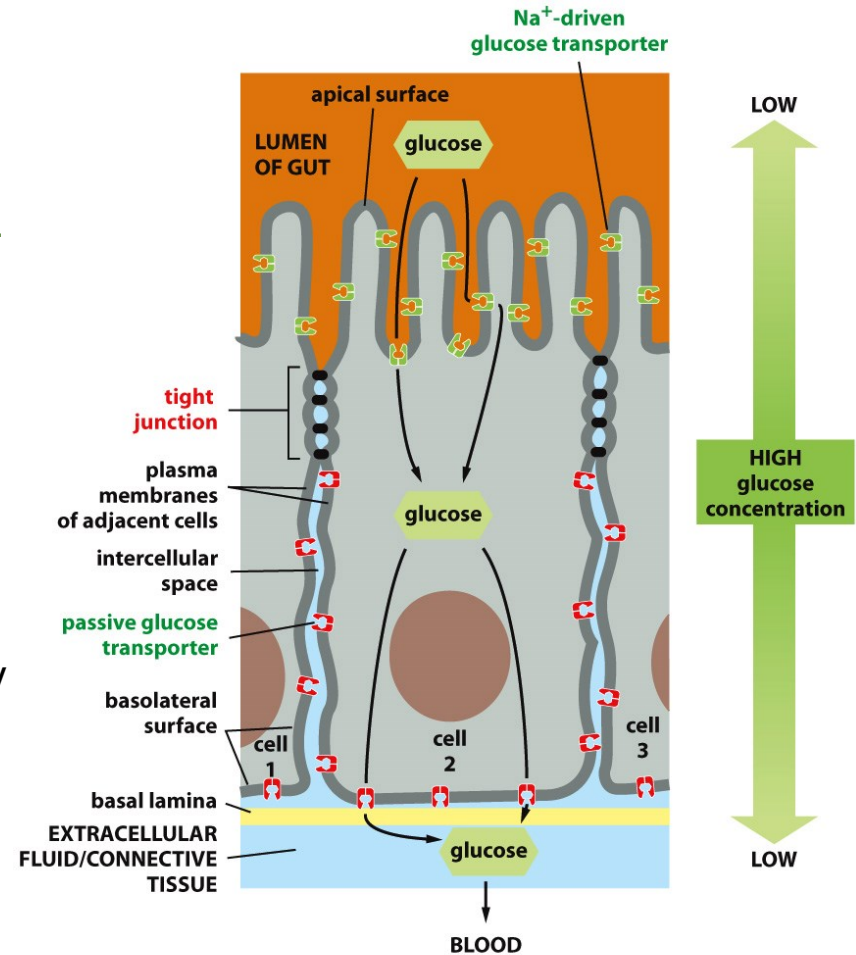
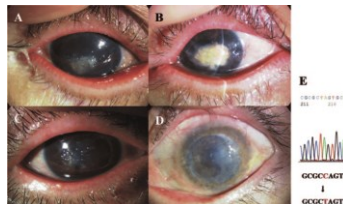


Figure 19-18 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)



# Těsné spoje / tight junctions

- ◆ Vlákniťatá struktura spoje
- ◆ Každé vlákno je tvořeno dlouhým transmembránovým homofilním adhezním proteinem, extracelulární domény proteinů vzájemně interagují
- ◆ Claudin
  - ◆ 24 typů u člověka
  - ◆ ovlivňují permeabilitu (para buněčné póry)
  - ◆ ledviny – průchod Mg<sup>2+</sup>
- ◆ occludin

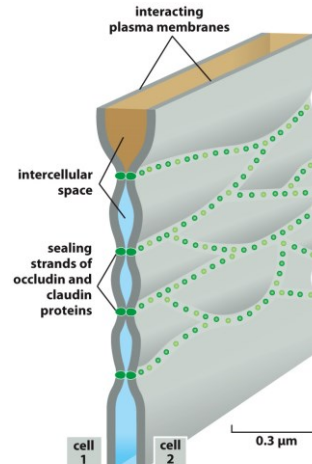


Figure 19-21a Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

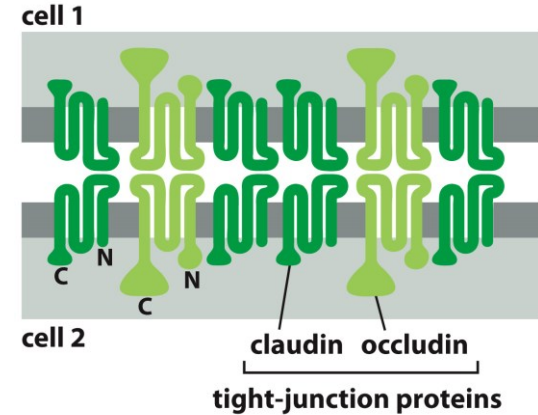
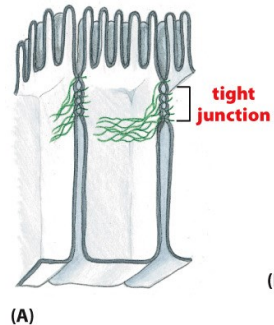
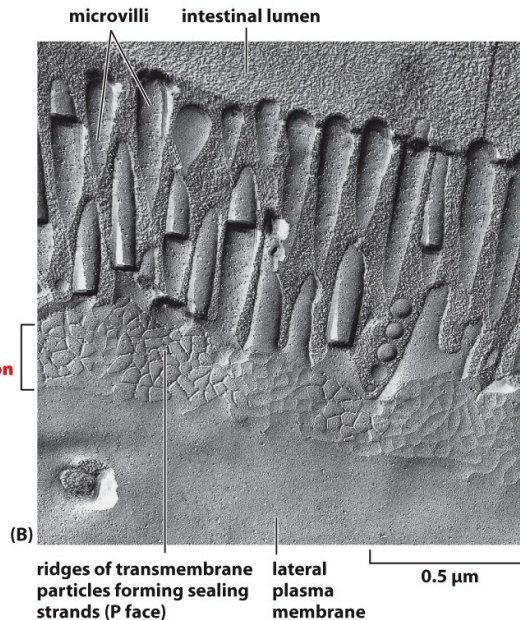


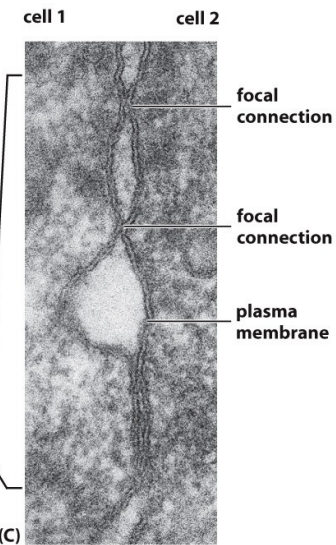
Figure 19-21b Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)



(A)



(B)



(C)

Figure 19-20 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)



# Proteiny asociované s těsnými spoji

- *zonula occludens* (ZO) proteiny
  - ZO-1, -2, -3
  - velké intracelulární “scaffoldy”
  - strukturní podpora těsných spojení
  - specifické segmenty - PDZ domény ~ 80 aa vázající C-konce partnerských proteinů

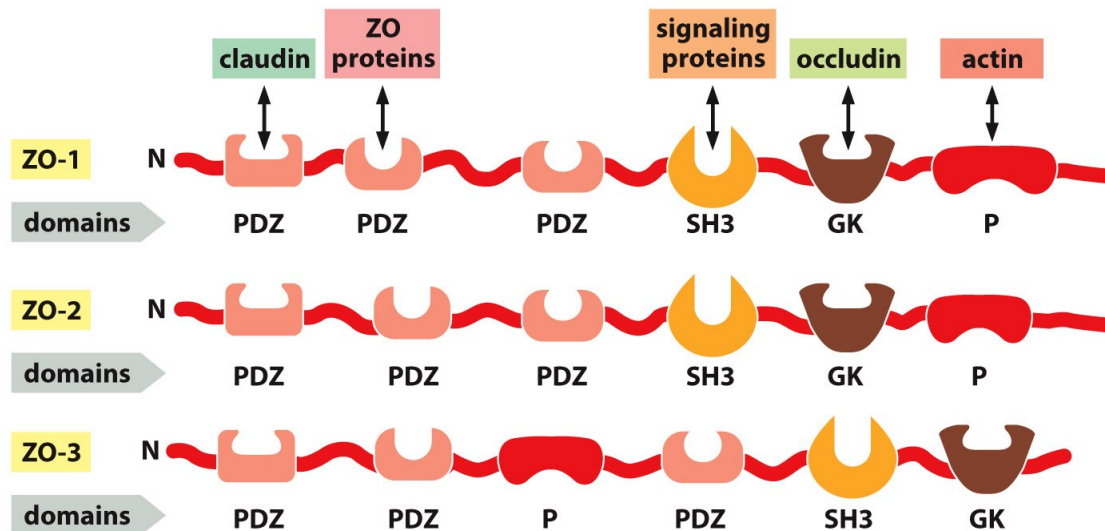
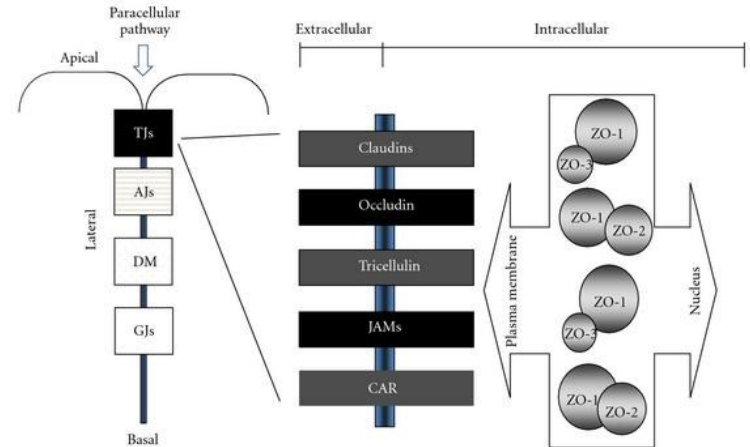


Figure 19-22 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

# Mezerový spoj / gap junction

- překonává mezeru (2-4 nm) mezi sousedními buňkami a vytváří přímý kanál/propojení cytoplazmy obou buněk
- kanálové proteiny
  - konexiny (obratlovci, 21 isoform)
    - panexiny (innexiny) (bezobratlí)
- velikost póru ~1,4 nm
- výměna anorganických iontů a ve vodě rozpustných látek
- rychlý přenos elektrického potenciálu
  - synchronizace srdečních svalových buněk
  - peristaltika střeva
- nepropustné pro makromolekuly – proteiny, nukleové kyseliny

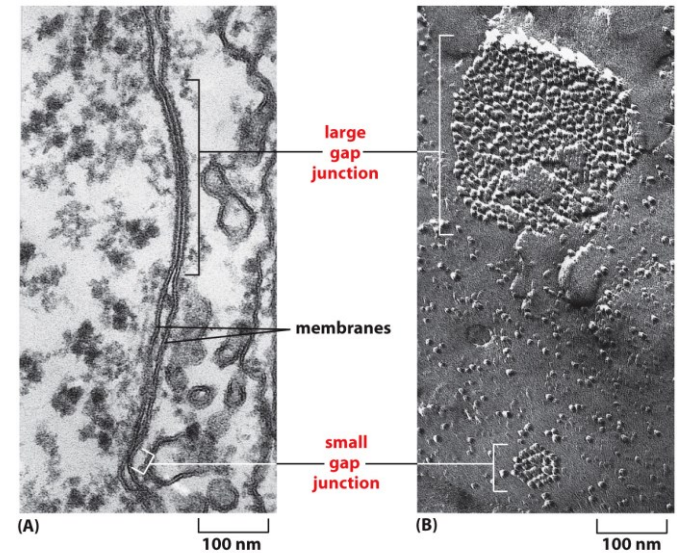


Figure 19-23 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

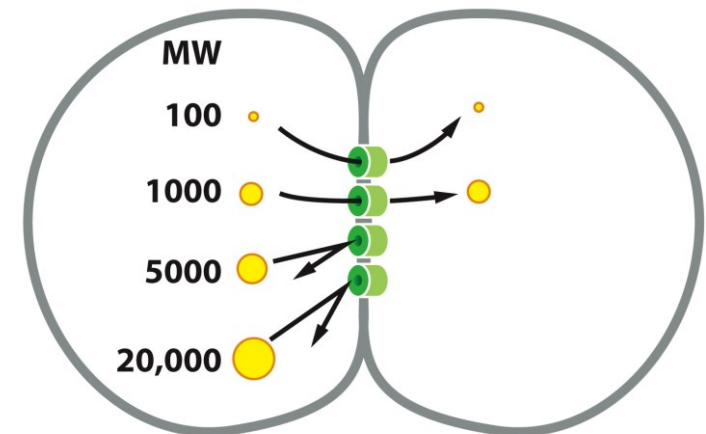


Figure 19-24 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)



# Mezerový spoj / gap junction

- ▶ 6 molekul konexinů tvoří hemikanál – konexon
- ▶ spojením konexonů sousedních buněk vznikne funkční propojení
- ▶ vznikají různá spojení díky různým kombinacím konexinů v konexonech
- ▶ většina buněk exprimuje více než jeden typ konexinu
- ▶ dynamické spojení – rychlá remodelace

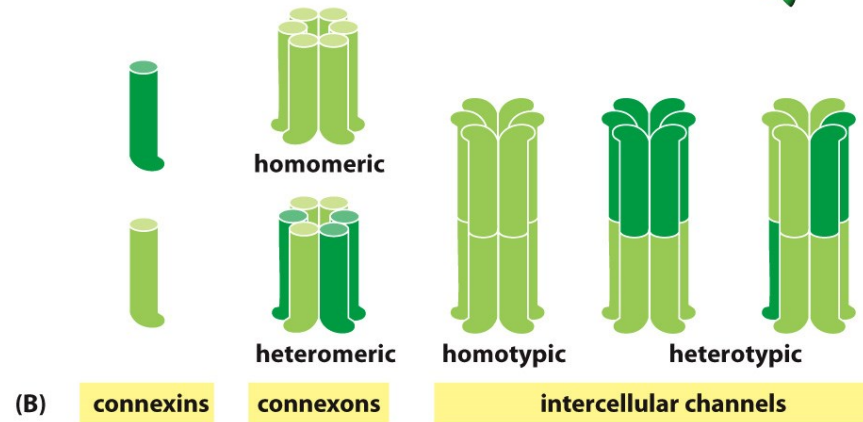
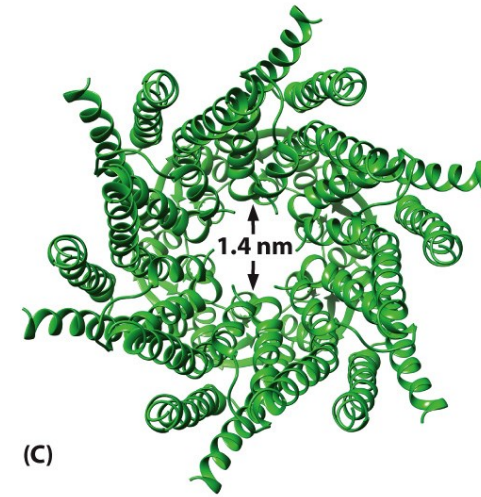
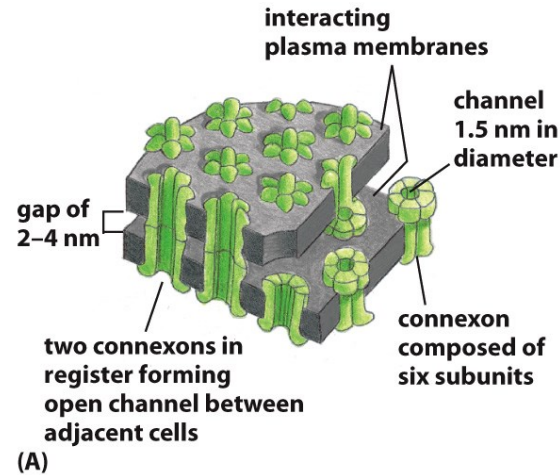


Figure 19-25 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

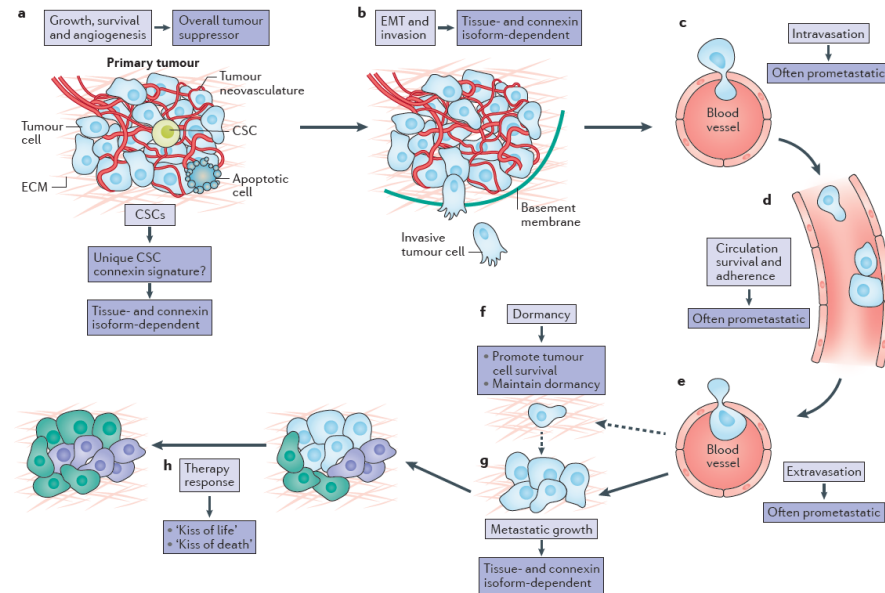
# Gap junctional intercellular communication (GJIC)

➤ role v patologických stavech – rakovina – ztráta GJIC

Table 1 | Connexin genetically modified mouse models and cancer

Connexin	Encoding gene	Mouse model	Carcinogen	Outcome	Refs
Cx26	Gjb2	KO	DMBA	Increased breast tumours	78
Cx32	Gjb1	KO	None	Increased spontaneous liver tumours in males	67
Cx32	Gjb1	KO	DEN	Increased liver tumours	68,69
Cx32	Gjb1	KO	X-Ray	Increased multiple tumour types	75
Cx32	Gjb1	KO	DEN	Increased lung tumours	70
Cx32	Gjb1	Cx32;p27 DKO	X-Ray	Increased adrenal, pituitary and intestinal tumours	76
Cx32	Gjb1	V139M	DEN	Increased liver tumours in males	74
Cx43	Gja1	G60S and ERBB2 overexpression	DMBA	Increased breast metastasis	78
Cx43	Gja1	+/-	Urethane	Increased lung tumours	79
Cx43	Gja1	+/-	DMBA	Increased lung tumours	80
Cx43	Gja1	+/-	NNK	Increased lung tumours	81

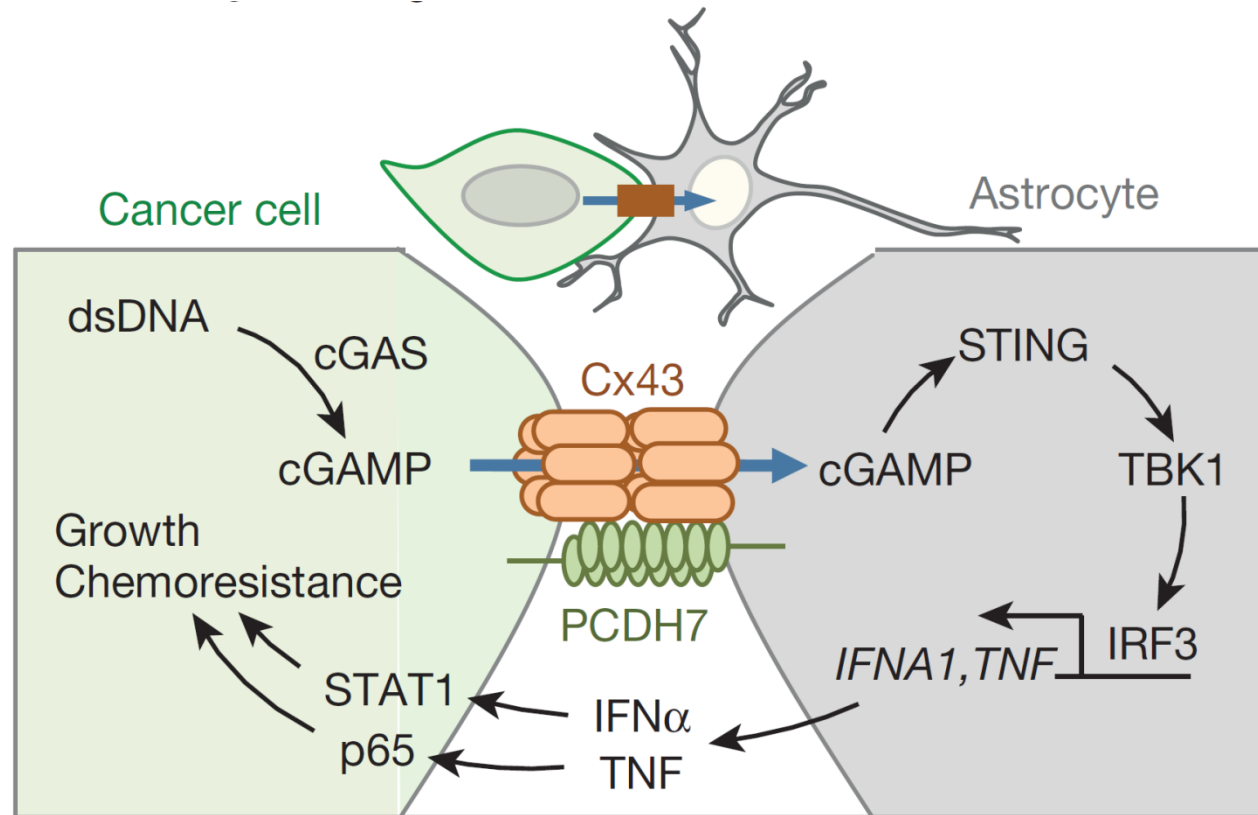
DEN, diethylnitrosamine; DKO, double knockout; KO, knockout; NNK, nicotine-derived nitrosamine ketone; p27 encoded by cyclin-dependent kinase inhibitor 1B (Cdkn1b).



Aasen, T., Mesnil, M., Naus, C.C., et al. (2017). Gap junctions and cancer: communicating for 50 years. *Nat Rev Cancer* 17, 74-74.

# Carcinoma-astrocyte gap junctions promote brain metastasis by cGAMP transfer

Qing Chen<sup>1\*†</sup>, Adrienne Boire<sup>1,2\*</sup>, Xin Jin<sup>1†</sup>, Manuel Valiente<sup>1†</sup>, Ekrem Emrah Er<sup>1</sup>, Alejandro Lopez-Soto<sup>1†</sup>, Leni S. Jacob<sup>1†</sup>, Ruzeen Patwa<sup>1</sup>, Hardik Shah<sup>3</sup>, Ke Xu<sup>4</sup>, Justin R. Cross<sup>3</sup> & Joan Massagué<sup>1</sup>



# Přechodná mezibuněčná spojení

## ▶ Selektiny

- ▶ přechodná (slabá) vazba krevních buněk na endotel lymfoidních orgánů a tkání s probíhajícím zánětem
- ▶ transmembránové proteiny s konzervovanou lektinovou doménou zodpovědnou za vazbu na specifické oligosacharidy dalších buněk
  - ▶ L-selektin – krevní buňky
  - ▶ P-selektin – krevní destičky, endoteliální buňky
  - ▶ E-selektin – aktivované endoteliální buňky

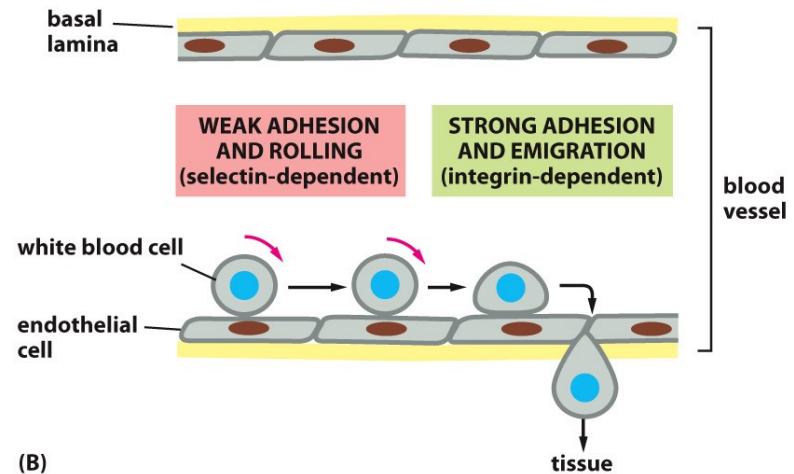
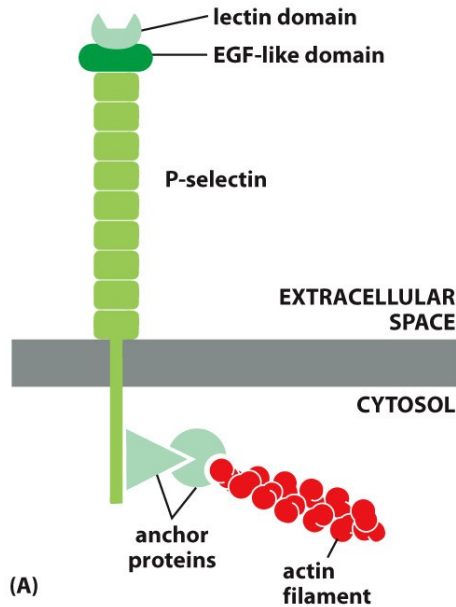


Figure 19-28 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

# Mezibuněčná spojení nezávislá na $\text{Ca}^{2+}$

- ▶ endoteliální proteiny rozpoznávané bílými krvinkami
  - ▶ ICAMs - intracellular cell adhesion molecules
  - ▶ VCAMs - vascular cell adhesion molecules
- ▶ náleží do „super rodiny“ imunoglobulinů - IgG
- ▶ řada funkcí mimo imunitních
- ▶ heterofilní vazba na integriny
  - ▶ ale např. NCAM – neural cell adhesion molecule
    - ▶ homofilní vazba

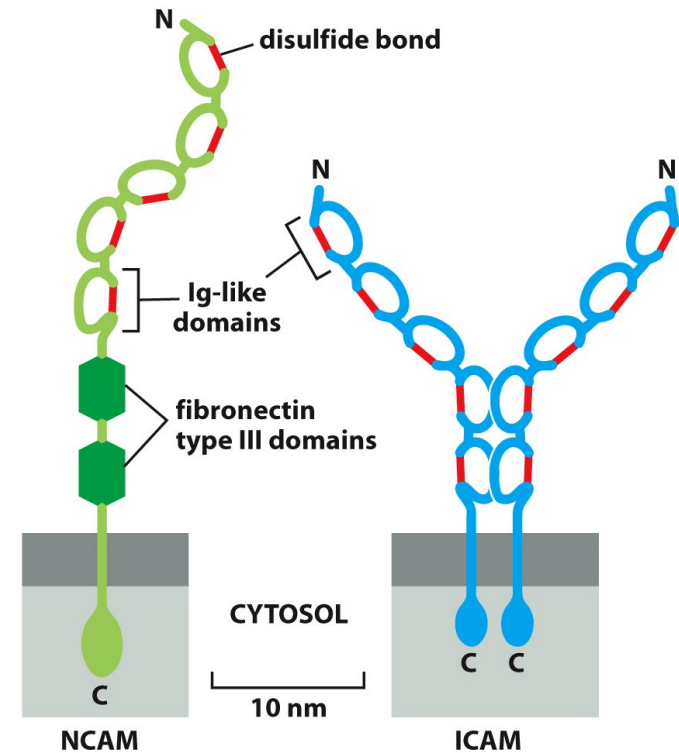


Figure 19-29 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)



# Souhrn – mezibuněčné spoje

- Adhezní spoje - kadheriny – silná mezibuněčná adheze, ukotvení k cytoskeletu
- pevné spoje – utěsnění mezer mezi buňkami (klaudiny)
- mezerové spoje – plaky konexonů – výměna malých molekul < 1kDa
- přechodná adheze – selektiny, Ig rodina, integriny (probereme dále)

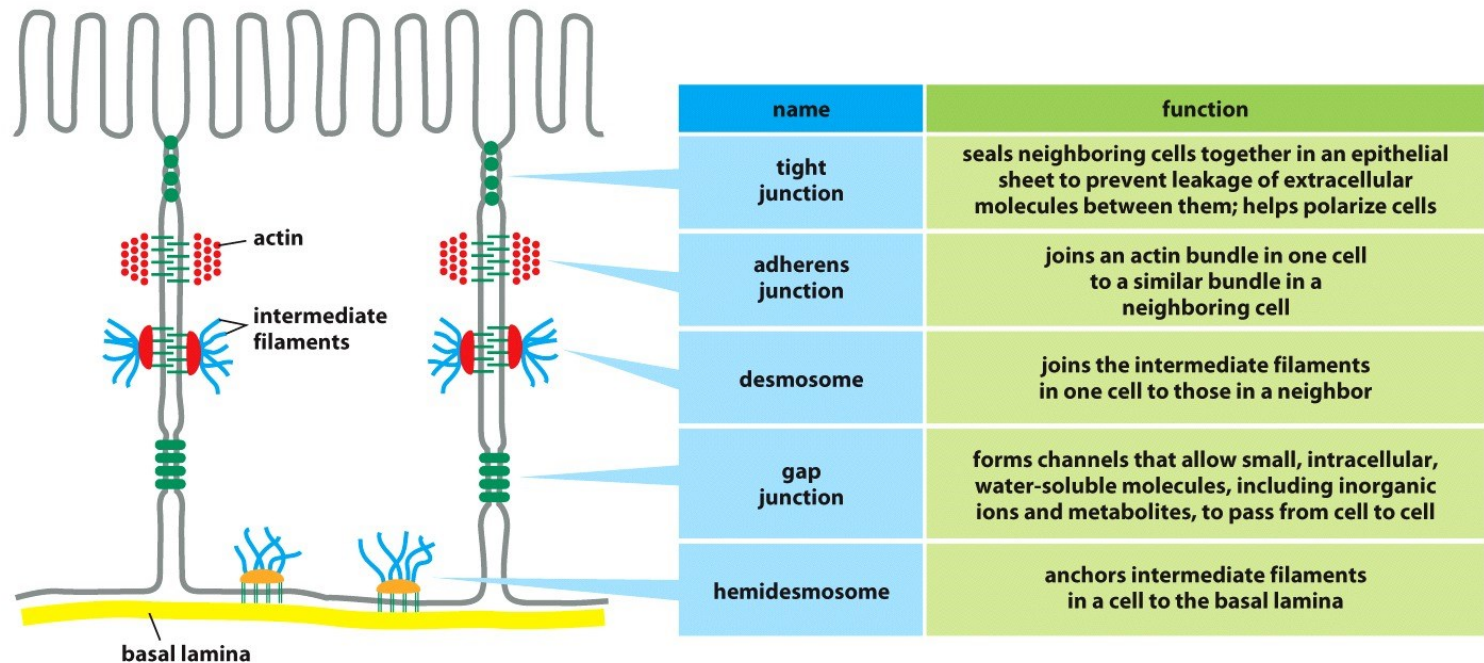


Figure 20-31 Essential Cell Biology, 4th ed. (© Garland Science 2014)



## Mezibuněčná hmota / Extracellular Matrix

- komplexní síť makromolekul v mezibuněčném prostoru
- tvořena řadou různých proteinů a polysacharidů
- lokálně sekretovaná a sestavená v asociaci s buňkami, které ji produkují
- obdobné složení, ale obrovská tkáňová diverzita díky různému uspořádání a kvantitě jednotlivých složek např.:
  - kalcifikace matrix v zubu
  - průhledná matrice v rohovce
  - provazce ve šlaše
- není jen pasivní opora, hraje aktivní a komplexní úlohu v regulaci chování buněk (přežití, vývoj, migrace, proliferace, orientace v prostoru, funkce)

# Mezibuněčná hmota / Extracellular Matrix

- fibroblasty pojivových tkání produkují nejvíce ECM
  - chondroblasty – chrupavky
  - osteoblasty - kost
- složení ze tří hlavních skupin makromolekul
  - glykosaminoglykany → **proteoglykany** (~ 36)
    - velké a vysoce nabité polysacharidy, kovalentně vázané s proteiny
  - Kolageny (~ 40)
    - vláknité proteiny
  - nekolagenové glykoproteiny (~ 200)

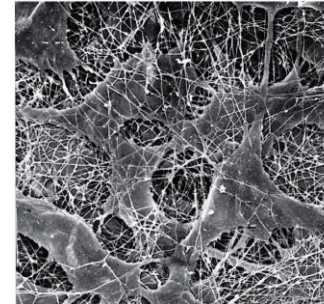
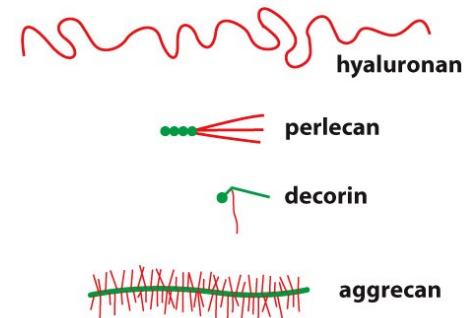
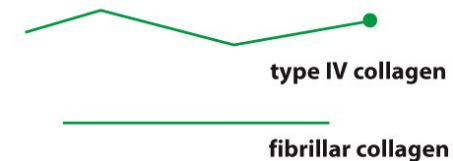


Figure 19-30 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

## proteoglycans and GAGs



## fibrous proteins



## glycoproteins

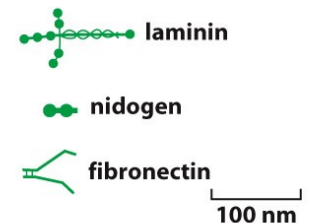


Figure 19-31 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

# Glykosaminoglykanové řetězce (GAGs)

- nevětvené řetězce polysacharidů tvořené opakujícími se disacharidovými jednotkami
  - N-acetylglukosoamid nebo N-acetylgalaktosamin
  - kyselina uronová
- vysoký negativní náboj
- čtyři hlavní skupiny:
  - hyaluronan
  - chondroitin sulfát
  - heparan sulfát
  - keratan sulfát
- Silná hydrofilita → objemné hydratované gely → odolnost vůči kompresi

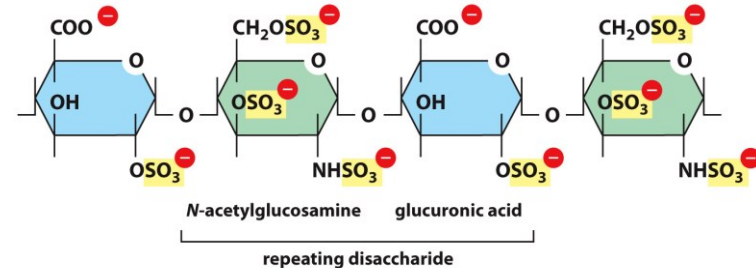


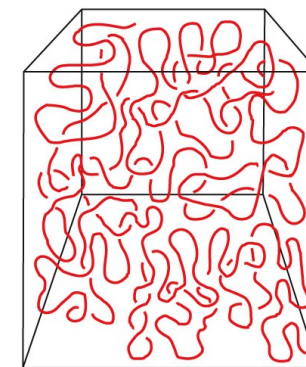
Figure 19-32 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

● globular protein (MW 50,000)

⊙ glycogen (MW ~400,000)

⌘ spectrin (MW 460,000)

— collagen (MW 290,000)



hyaluronan (MW  $8 \times 10^6$ )

300 nm

Figure 19-33 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

# Hyaluronan / hyaluronová kyselina / hyaluronát

- jednoduchý glykosaminoglykan, až 25 000 jednotek disacharidu
- v různém množství ve všech tkáních a tekutinách dospělých jedinců
- abundantní u časných embryí
- není typický GAG - neobsahuje sulfátované cukry ani není kovalentně vázán ke kmenovým proteinům, není syntetizován uvnitř buněk, ale spředen a uvolněn přímo z buněčného povrchu
- zodpovědný za odolnost vůči kompresi
- vyplňuje mezibuněčný prostor
- důležitý pro vývoj srdce (oddělení komor), v kloubní tekutině a při hojení ran
- degradace hyaluronidázou

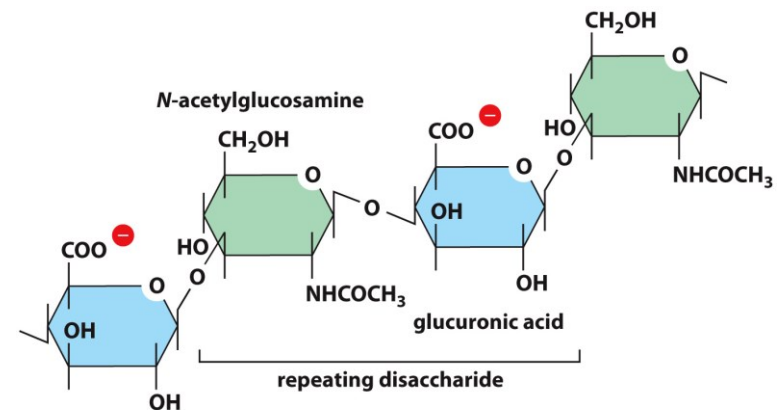
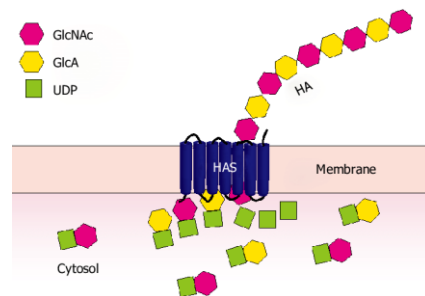


Figure 19-34 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Home



## VITAMIN C + HYALURONIC ACID ANTI-AGING SET

With LiftActiv Vitamin C Serum and Minéral 89

★★★★★ 5.0 (1)

Combine two powerful anti-aging ingredients for smooth, hydrated skin. LiftActiv Vitamin C Serum will help even skin tone and reduce the appearance of fine lines while Minéral 89 Hyaluronic Acid Moisturizer will leave skin hydrated and plump.

Set Includes:

- LiftActiv Vitamin C Serum- 10ml
- Minéral 89 Hyaluronic Acid Daily Booster - 50ml

\$46.40 (\$58.00 Value)

ADD TO CART





# Shaping the future

*Contipro is one of the world's leading producers of hyaluronic acid for pharmaceutical and cosmetic industries. We are dedicated to research and development of hyaluronan materials and applications for the future of healthcare.*



📍 Contipro a.s.  
Dolní Dobrouč 401  
561 02 Dolní Dobrouč  
Czech Republic

☎ (+420) 465 519 530

📠 (+420) 465 543 793

🏷 VAT CZ60917431

✉ sales@contipro.com

✉ info@contipro.com

Sodium Hyaluronate API

Hyaluronan Specialities

Hyaluronan Forms

Anti-ageing Actives

Wound Healing

Veterinary Portfolio

Electrospinning - 4SPIN

Hyaluronan for Nutrition

R&D Projects

Product Incubator

Social Responsibility

Scientific Advisory Board

Delivery Terms & Conditions

Meet us

Newsletter

Write us



# Proteoglykany

- glykosaminoglykany kovalentně vázané s proteiny
- polypeptidový řetězec, kmenový protein – lumen ER, polysacharidový řetězec je sestaven s kmenovým proteinem v GA před jeho exocytózou
- variabilita ve velikosti
  - aggrecan,  $3 \times 10^6$  Da, 100 GAGs řetězců
  - decorin, 1 GAG řetězec
- agregace s dalšími GAGs a proteoglykany a asociace se složkami matrix (kolagen) → tvorba zasíťování → komplexní sestava
- ne všechny jsou sekretovány
  - syndecan – lokalizován na povrchu buněk, intracelulární doména interaguje s cytoskeletem

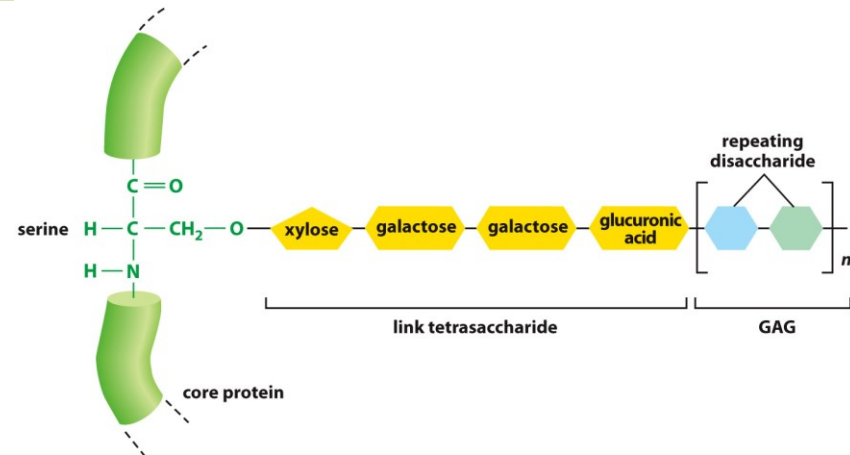


Figure 19-35 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

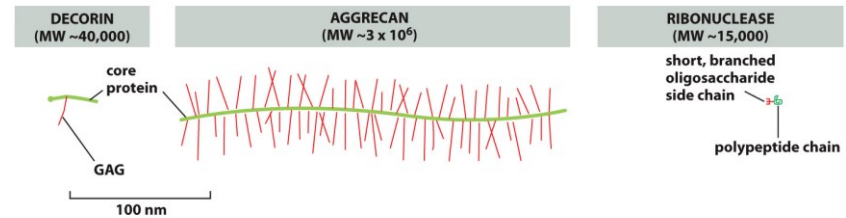


Figure 19-36 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

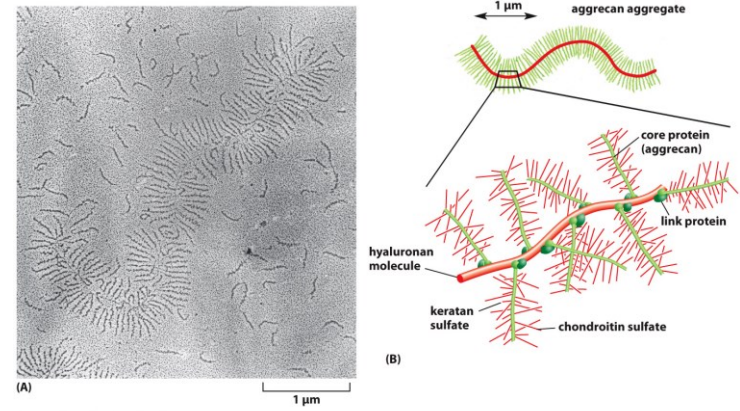


Figure 19-37 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

# Kolageny

- ▶ hlavní rodina vláknitých proteinů mezibuněčné hmoty
- ▶ velké množství v pojivových tkáních, méně v ostatních (kůže, kosti – 25% celkové proteinové hmoty)
- ▶ dlouhé, pevné trojvlákno  $\alpha$  řetězců kolagenu  $\rightarrow$  vláknitý superhelix
- ▶ bohaté na prolin a glycin – důležité pro tvorbu trojvlákné struktury
- ▶ člověk – 42 genů pro kolageny, 40 typů vláken
- ▶ Typ I – nejčastější kolagenová vlákna, 10 - 300 nm, stovky  $\mu\text{m}$  dlouhá
- ▶ Typ IX, XII – kolageny asociované s fibrilami
- ▶ Typ IV – kolageny formující síť

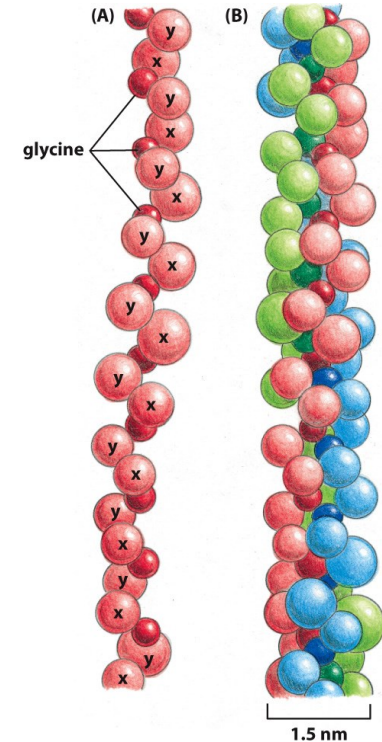


Figure 19-39 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

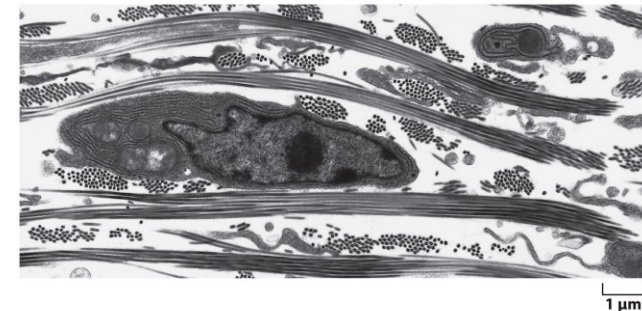


Figure 19-40 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

# Kolageny

**TABLE 19-2 Some Types of Collagen and Their Properties**

	Type	Polymerized form	Tissue distribution	Mutant phenotype
Fibril-forming (fibrillar)	I	Fibril	Bone, skin, tendons, ligaments, cornea, internal organs (accounts for 90% of body collagen)	Severe bone defects, fractures ( <i>osteogenesis imperfecta</i> )
	II	Fibril	Cartilage, intervertebral disc, notochord, vitreous humor of the eye	Cartilage deficiency, dwarfism ( <i>chondrodysplasia</i> )
	III	Fibril	Skin, blood vessels, internal organs	Fragile skin, loose joints, blood vessels prone to rupture ( <i>Ehlers-Danlos syndrome</i> )
	V	Fibril (with type I)	As for type I	Fragile skin, loose joints, blood vessels prone to rupture
	XI	Fibril (with type II)	As for type II	Myopia, blindness
Fibril-associated	IX	Lateral association with type II fibrils	Cartilage	Osteoarthritis
Network-forming	IV	Sheetlike network	Basal lamina	Kidney disease (glomerulonephritis), deafness
	VII	Anchoring fibrils	Beneath stratified squamous epithelia	Skin blistering
Transmembrane	XVII	Nonfibrillar	Hemidesmosomes	Skin blistering
Proteoglycan core protein	XVIII	Nonfibrillar	Basal lamina	Myopia, detached retina, hydrocephalus

Note that types I, IV, V, IX, and XI are each composed of two or three types of  $\alpha$  chains (distinct, nonoverlapping sets in each case), whereas types II, III, VII, XVII, and XVIII are composed of only one type of  $\alpha$  chain each.



# Kolagenová vlákna

- odolnost vůči tahu
- různý způsob organizace v různých tkáních
  - regulace deposice kolagenu buňkami
  - asociace s dalšími makromolekulami
  - typ IX, XII – flexibilní molekuly interagující s fibrilárními typy

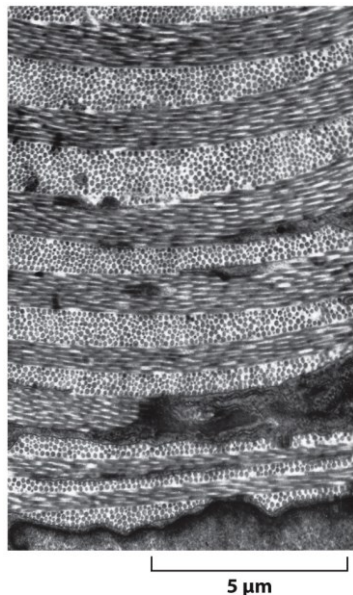


Figure 19-41 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

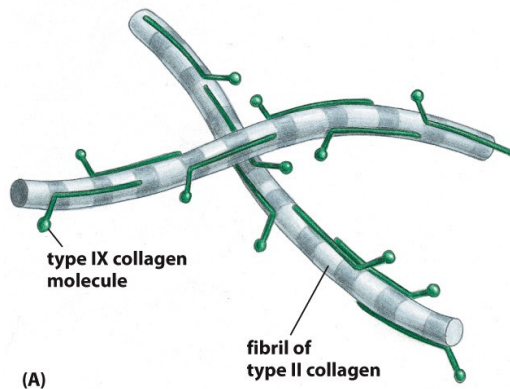


Figure 19-42 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

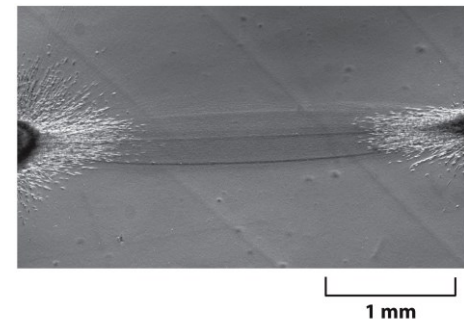
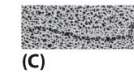
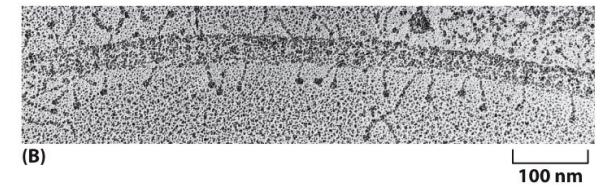


Figure 19-43 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)



# Elastická vlákna

- **Elastin**, vysoce hydrofóbní protein, podobně jako kolagen bohatý na prolin a glycin, není glykosylován
- tropoelastin – solubilní prekurzor, po sekreci do extracelulárního prostoru je sestaven do elastických vláken v blízkosti membrán, „cross-link“ vede ke vzniku vláken a vrstev
- dominantní ECM protein v cévách (50% hmoty aorty)
- pokryt mikrofibrilami – fibrilin, vytvářejí oporu
  - Mutace fibrilinu – Marfanův syndrom (1/10 000)
    - dlouhé tenké končetiny a prsty, dislokace oční čočky, výduť aorty

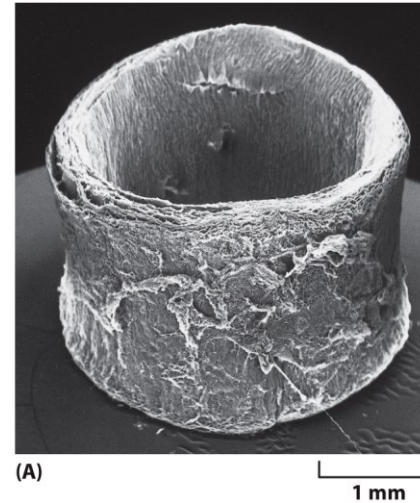


Figure 19-44 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

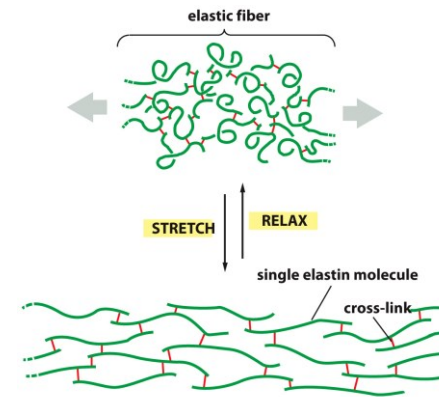
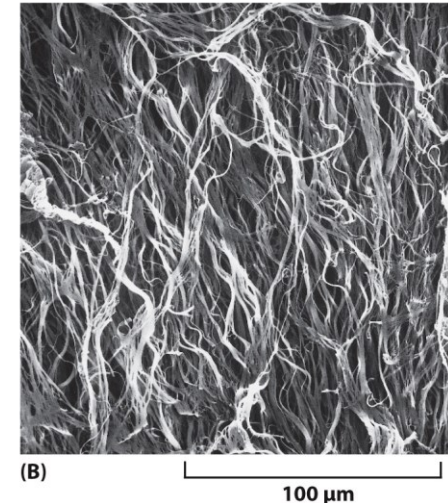
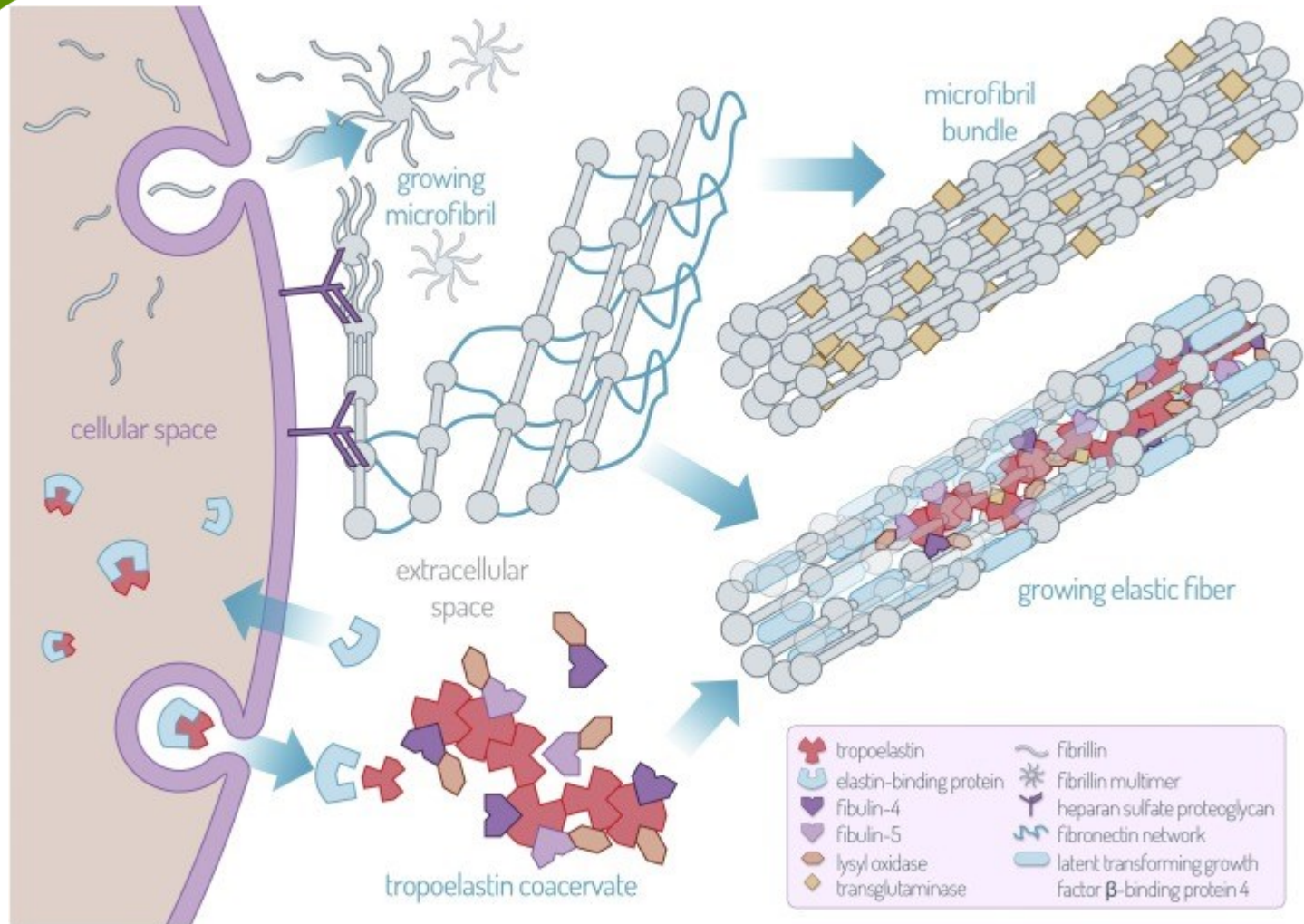


Figure 19-45 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)



# Formování mikrofibril and elastinových vláken



# Organizace mezibuněčné hmoty

- ▶ glykoproteiny s mnohonásobnými doménami pro vazbu makromolekul ECM
  - ▶ tenascin
  - ▶ trombospondin
  - ▶ **fibronectin**
    - ▶ dimer dlouhých podjednotek spojených disulfidovým můstkem na C-konci
    - ▶ 1 gen, 50 exonů, mnoho isoformů
    - ▶ mutant – letální fenotyp, endoteliální buňky neformují cévy
    - ▶ Type III fibronectin repeat, 90 aa, 15x na každé podjednotce
    - ▶ RDG sekvence (Arg-Gly-Asp) – integriny vázající doména
      - ▶ obsažena v řadě dalších proteinů – ECM, regulátory krevní srážlivosti (disintegrin v jeched některých hadů)
    - ▶ fibronektinová vlákna
      - ▶ na povrchu buněk po vazbě na integriny, propojení s cytoskeletem

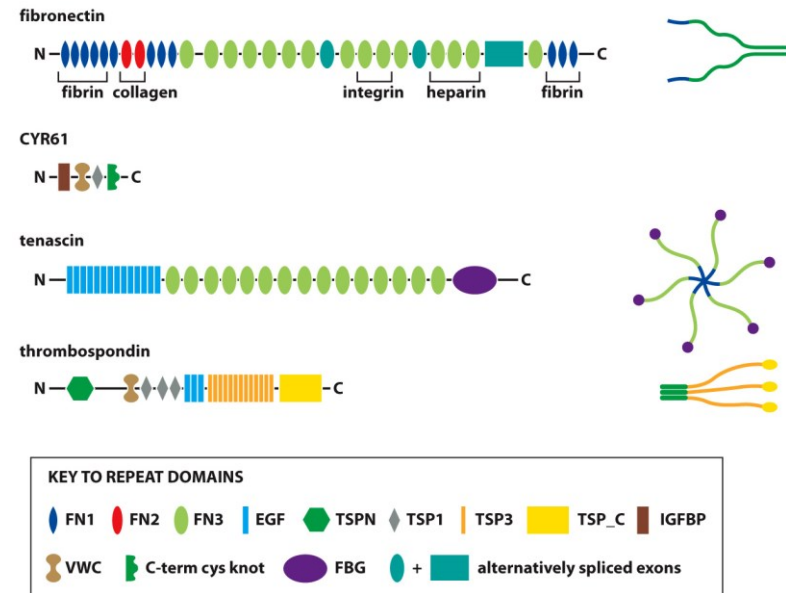
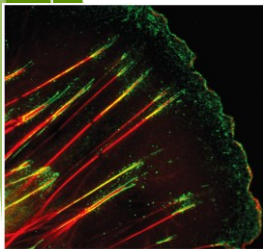


Figure 19-46 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

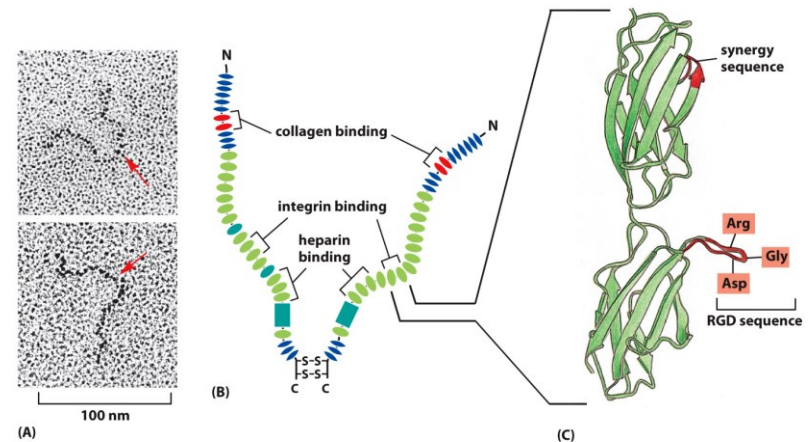


Figure 19-47 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)



# Bazální lamina

- 40 – 120 nm silná vrstva komponent extracelulární matrix
- podporuje vrstvu epitelálních buněk, obklopuje svalové, tukové nervové buňky
  - odděluje tyto buňky od pojivových tkání
- hlavní složkou je kolagen typ IV a laminin

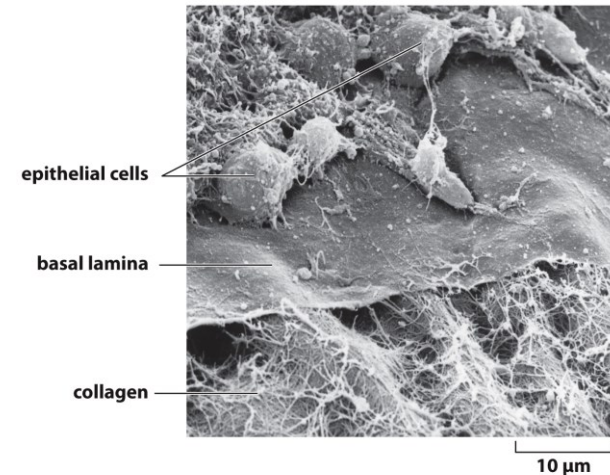


Figure 19-51 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

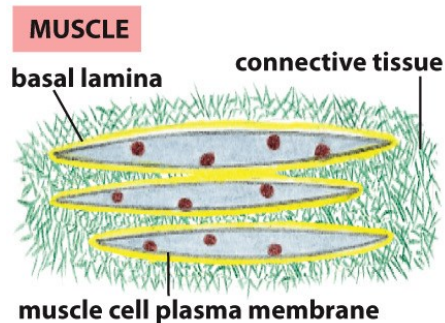
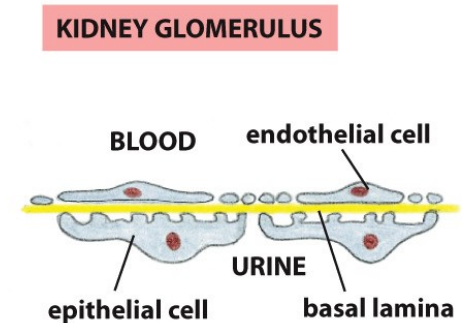
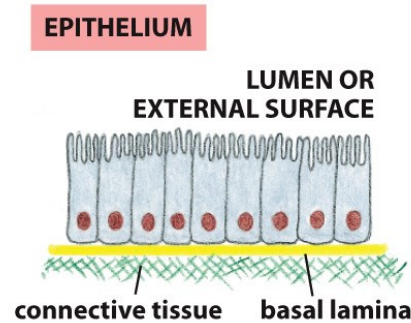


Figure 19-50 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)



# Bazální lamina

- Laminin
  - primární organizátor struktury BL
    - tři polypeptidové řetězce -  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$
- kolagen typ IV
  - Interaguje s dalšími komponentami BL – flexibilní síť podobná plsti
- BL má různé funkce
  - molekulární filtr – ledviny
  - selektivní bariéra - odděluje pojivo od epitelu
  - neuromuskulární spoje – odděluje svalové buňky od nervových, hraje klíčovou roli v regeneraci spojení po zranění

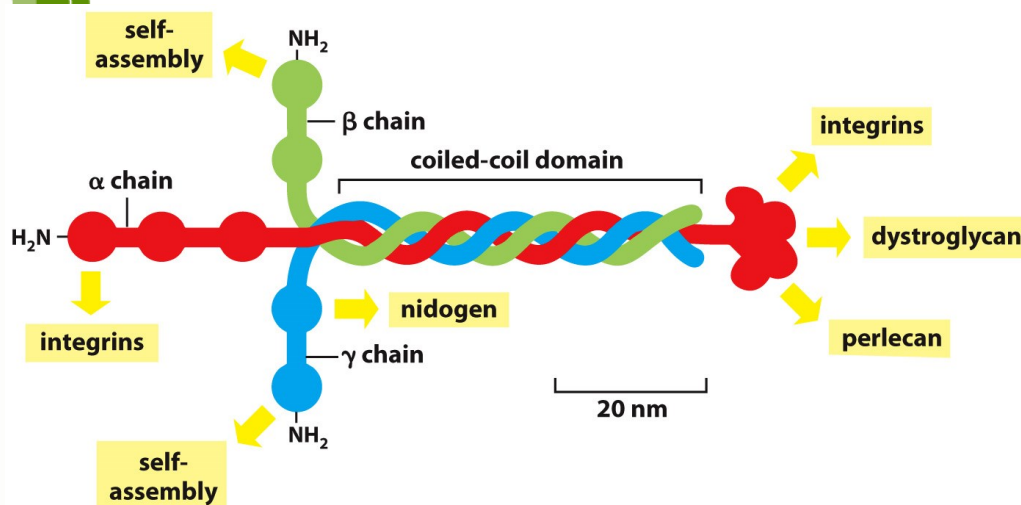


Figure 19-52a Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

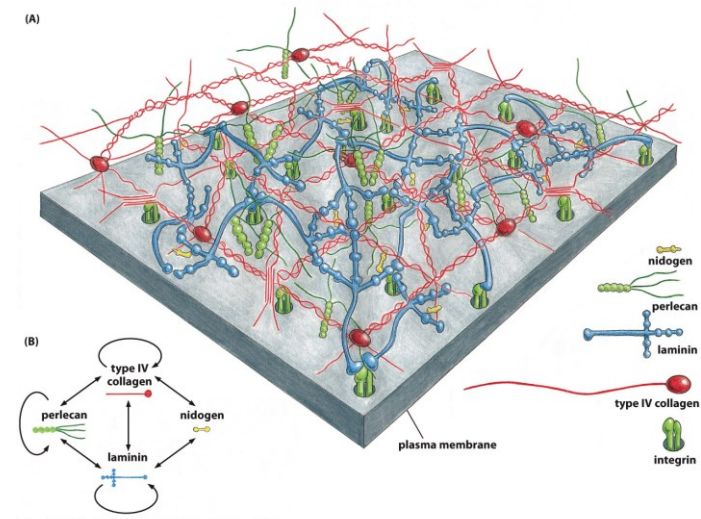


Figure 19-53 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)



## Degradace mezibuněčné hmoty

- důležitá pro obnovu a remodelaci, regeneraci tkání
- pro individuální buňky je zásadní pro úspěšné dělení a migraci
- proteázy
  - matrix metaloproteázy (~ 50)
    - Závislé na  $\text{Ca}^{2+}$  a  $\text{Zn}^{2+}$
  - Serinové proteázy
- degradují kolagen, lamin, fibronectin
- přísně regulovaný proces – aktivace degradace na správném místě a ve správný okamžik

## Souhrn – mezibuněčná hmota

- ▶ buňky jsou obklopeny mezibuněčnou hmotou, která aktivně ovlivňuje jejich přežívání, vývoj, tvar, orientaci, migraci
- ▶ matrice je tvořena vlákny různých typů proteinů, nejčastěji glykosaminoglykany kovalentně vázanými na proteiny – proteoglykany
- ▶ vláknitá forma kolagenů poskytuje odolnost a pevnost
- ▶ elasticita – elastin vytváří zesíťovanou strukturu
- ▶ bazální lamina – specializovaná struktura oddělující epitel od pojivové tkáně, obepínající svalové buňky, molekulární filtr v ledvinách

## Spojení buňka - matrix

- receptory pro matrix – klíčové pro propojení ECM vně buňky s cytoskeletem uvnitř
- nemají jen mechanickou funkci – zprostředkovávají odpověď buněk na složky ECM
- řada molekul slouží jako receptory či koreceptory ECM
- integriny - nejdůležitější

# Integriny

- ▶ tvořeny dvěma nekovalentně vázanými jednotkami -  $\alpha$  a  $\beta$
- ▶ obě mají krátkou C-terminální intracelulární doménu a dlouhou extracelulární N-terminální doménu
- ▶ extracelulární část se váže na specifický motiv aa extracelulárních proteinů, nejznámější - RGD
- ▶ u člověka – 24 typů integrinů, každý má specifické vlastnosti
  - ▶ 8 genů pro  $\beta$  podjednotku
  - ▶ 18 genů pro  $\alpha$  podjednotku
  - ▶ vazba je závislá na koncentraci  $\text{Ca}^{2+}$  a  $\text{Mg}^{2+}$
  - ▶ všechny varianty intracelulárně vážou aktinová filamenta
    - ▶ adaptorový protein – talin
    - ▶ kindlin, vinkulin

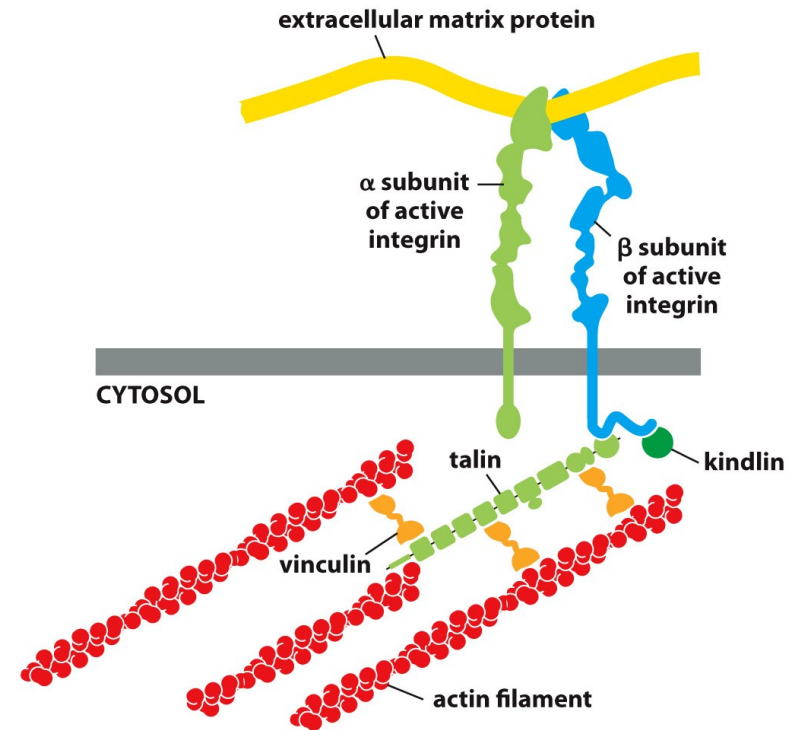


Figure 19-55 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

# Hemidesmozóm

- spojení specifických typů integrinů s lamininy v bazální lamině

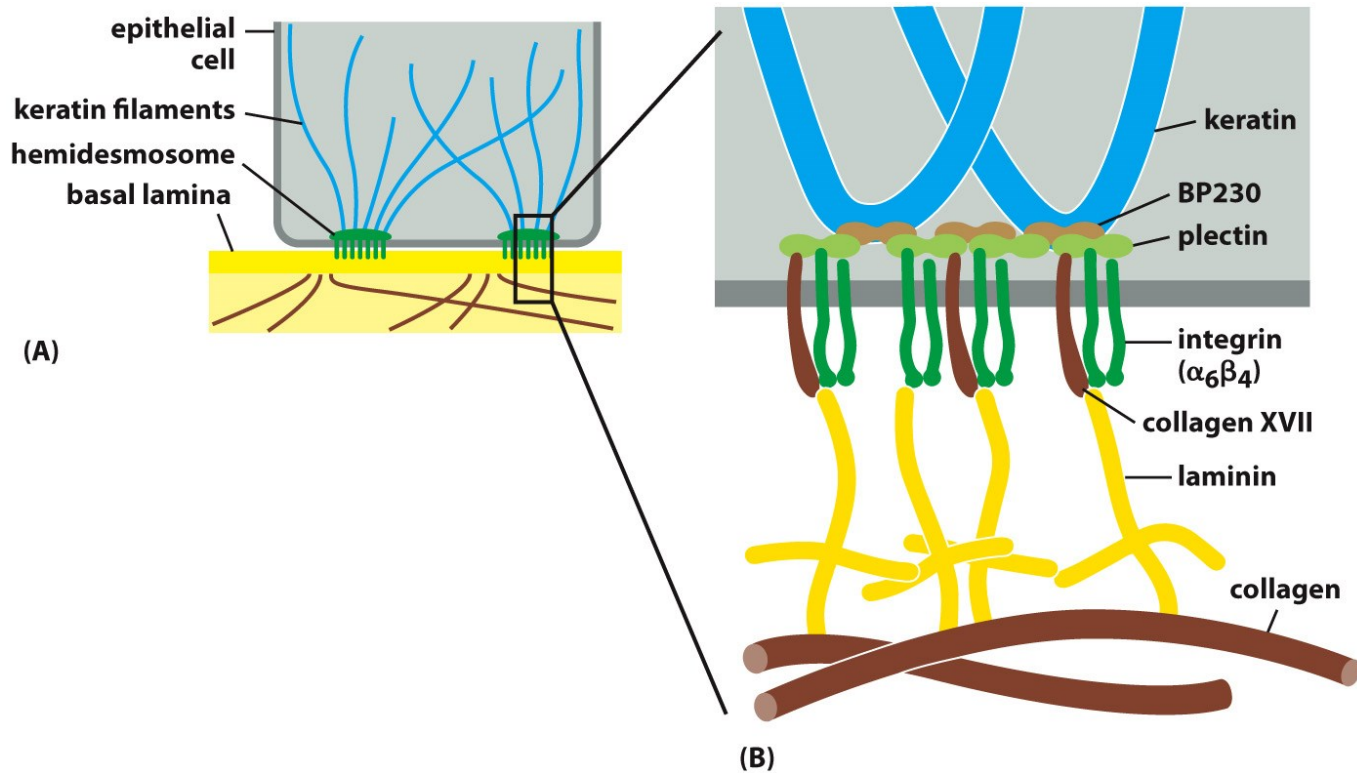


Figure 19-56 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)



# Stavy asociované s mutací integrinů

TABLE 19-3 Some Types of Integrins				
Integrin	Ligand*	Distribution	Phenotype when $\alpha$ subunit is mutated	Phenotype when $\beta$ subunit is mutated
$\alpha_3\beta_1$	Fibronectin	Ubiquitous	Death of embryo; defects in blood vessels, somites, neural crest	Early death of embryo (at implantation)
$\alpha_6\beta_1$	Laminin	Ubiquitous	Severe skin blistering; defects in other epithelia also	Early death of embryo (at implantation)
$\alpha_7\beta_1$	Laminin	Muscle	Muscular dystrophy; defective myotendinous junctions	Early death of embryo (at implantation)
$\alpha_L\beta_2$ (LFA1)	Ig superfamily counterreceptors (ICAM1)	White blood cells	Impaired recruitment of leucocytes	Leucocyte adhesion deficiency (LAD); impaired inflammatory responses; recurrent life-threatening infections
$\alpha_{IIb}\beta_3$	Fibrinogen	Platelets	Bleeding; no platelet aggregation (Glanzmann's disease)	Bleeding; no platelet aggregation (Glanzmann's disease); mild osteopetrosis
$\alpha_6\beta_4$	Laminin	Hemidesmosomes in epithelia	Severe skin blistering; defects in other epithelia also	Severe skin blistering; defects in other epithelia also

\*Not all ligands are listed.

Table 19-3 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

## Aktivní a inaktivní konformace integrinů

- pro migrující buňky je důležité umět rychle přerušovat a obnovovat vazbu k ECM
- receptory pro ECM - integriny mají vlastnost umožňující přepínat mezi stavy kdy jsou schopny adheze a kdy ne – aktivní vs. inaktivní

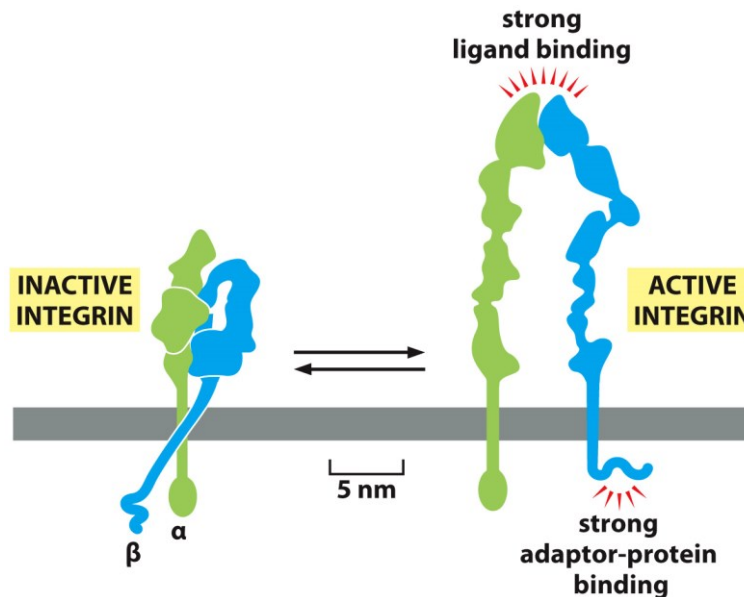


Figure 19-57 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

# Aktivace integrinů

- ▶ regulována řadou způsobů
  - ▶ outside-in ~ vazba na extracelulární proteiny může indukovat změnu z nízkoafinitní konformace (inaktivní) na vysokoafinitní (aktivní)
    - ▶ vystavení vazebného místa pro talin a další adaptorové proteiny na  $\beta$  podjednotce → vazba na aktinová vlákna
  - ▶ inside-out ~ intracelulární signály stimulují schopnost talinu interagovat s  $\beta$  podjednotkou. Talin soupeří s  $\alpha$  podjednotkou o vazbu s  $\beta$ , blokuje intracelulární  $\alpha$ - $\beta$  interakci
    - ▶ příklad krevních destiček: extracelulární signál – trombin, prostřednictvím GPCR aktivuje intracelulární signalizaci vedoucí k aktivaci integrinu

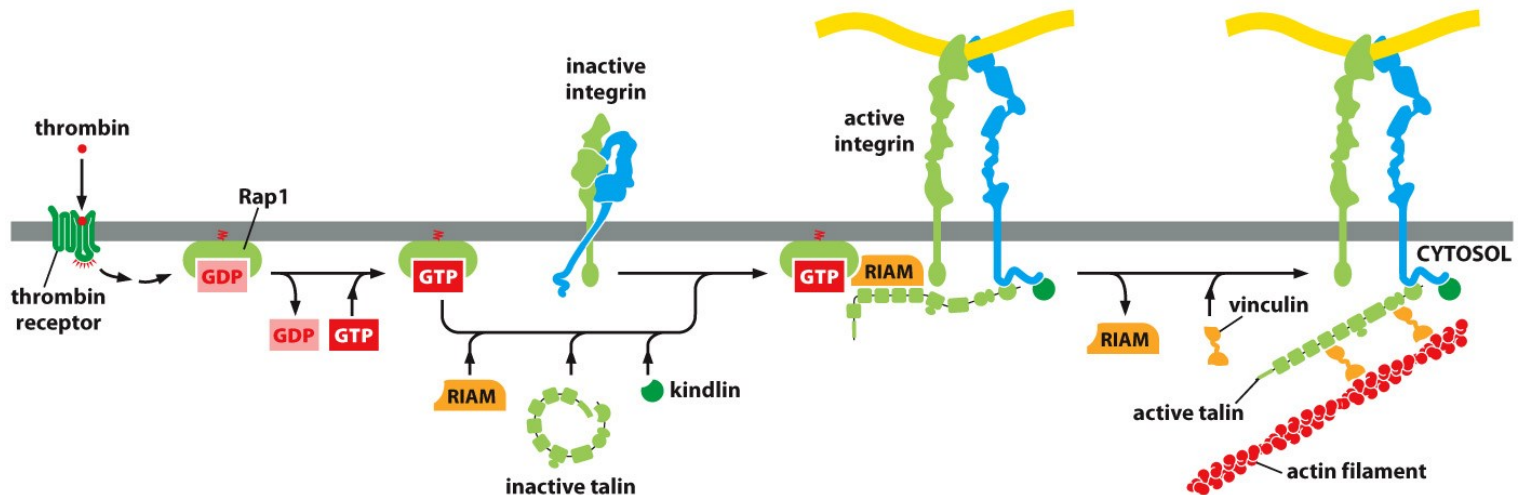


Figure 19-58 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

# Integriny

- ▶ Formování integrinových klastrů
  - ▶ Po aktivaci se integriny shlukují do větších komplexů
  - ▶ Formování závisí na řadě signálních proteinů
    - ▶ Integrin-linked kinase – ILK
    - ▶ Pinch
    - ▶ Parvin
    - ▶ Actin vázající proteiny – vinculin, zyxin, VASP,  $\alpha$ -actinin
    - ▶ Focal adhesion kinase - FAK
- ▶ růst a přežití řady buněčných typů závisí na adhezi k substrátu – anchorage dependence
- ▶ fokální adheze vede k aktivaci Ras/MAP kinázové signalizace
- ▶ spojení buňka matrix odpovídá na mechanické podněty

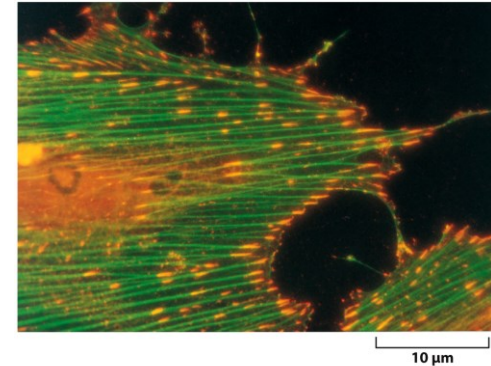


Figure 19-59 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

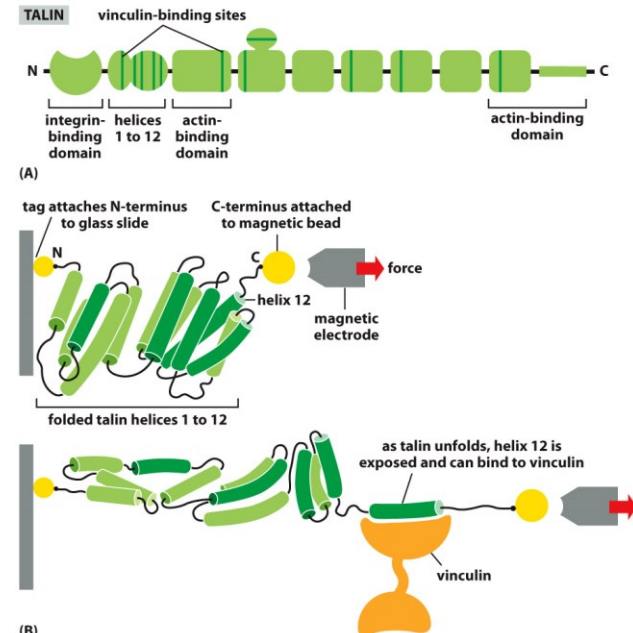


Figure 19-60 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

## Shrnutí – spojení buňka-matrix

- ▶ integriny jsou klíčové povrchové receptory pro vazbu buněk k mezibuněčné hmotě – propojení buněčného cytoskeletu s vnější matrix
- ▶ většina integrinů váže aktinová vlákna, v případě hemidesmosómů se jedná o intermediární filamenta
- ▶ integriny jsou heterodimery vázající extracelulární ligand a intracelulárně adaptorový protein (např. talin) – konformační změny mezi aktivní a neaktivní formou receptoru
- ▶ vazba integrinů je klíčová pro přežití buněk, určení polarity a řízení migrace, může sloužit i jako mechanosensor