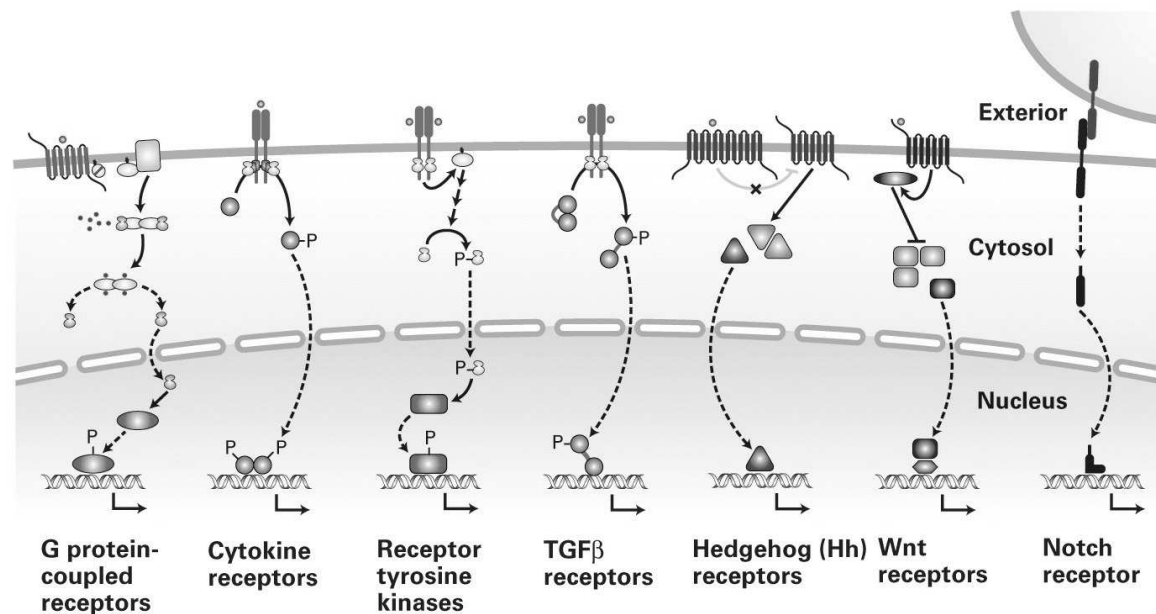


Hlavní třídy povrchových receptorů



- přímá aktivace transkripčního faktoru (TGFβ, cytokiny)
- uvolnění aktivního TF z komplexu v cytozolu (Wnt)
- proteolytické štěpení inhibitoru uvolňuje TF (Hedgehog, Notch)
- tvorba nebo uvolnění sekundárního přenašeče (protein G)
- fosforylační kaskády (receptorové kinázy)

Receptory pro cytokiny

- stimulují nitrobuněčné **nereceptorové tyrozin kinázy**, aniž by s nimi tvořily kovalentní vazbu (např. receptory pro erythropoietin, interleukin-2 a některé růstové hormony)
- nemají vlastní enzymovou aktivitu

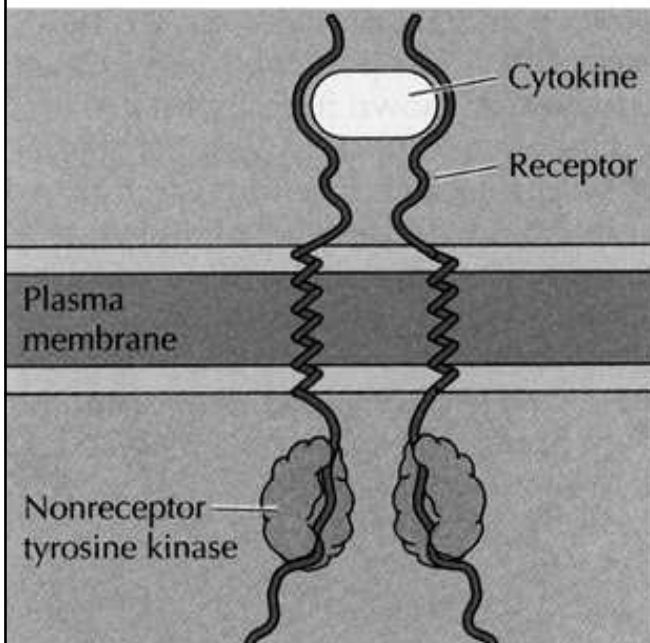
Struktura (obdobná u všech typů):

- N-koncová extracelulární doména (vazba ligandu)
- transmembránový helix
- C-koncová cytozolová doména

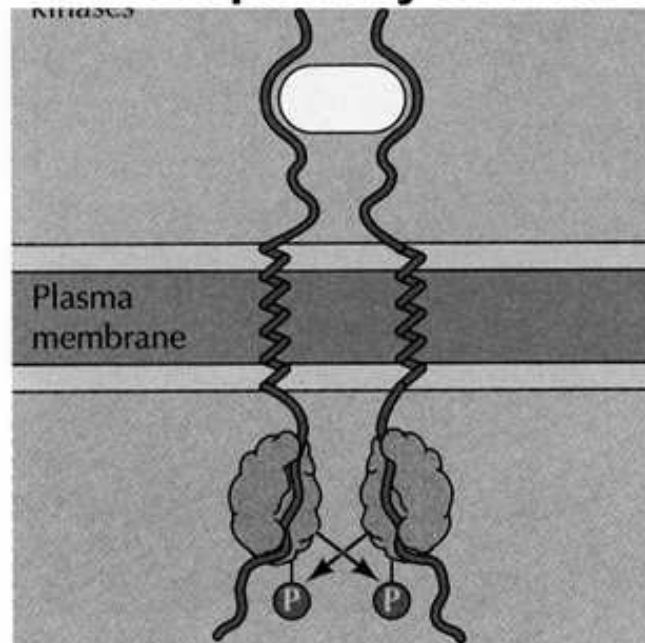
Signalizace receptory pro cytokiny

vazba ligandu - dimerizace receptoru - křížová fosforylace
asociovaných nerekceptorových PTK - fosforylace receptoru
- vazba následných molekul s doménou typu SH2.

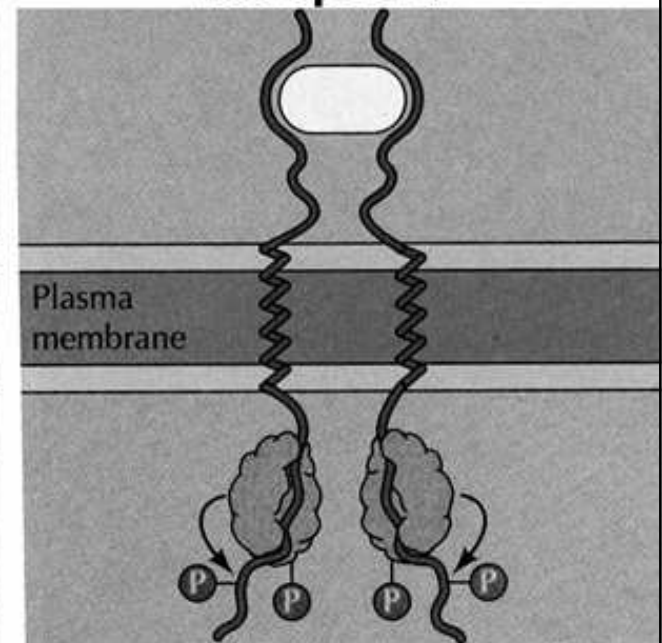
I. vazba ligandu



II. křížová fosforylace nerekceptorových kináz



III. fosforylace receptoru

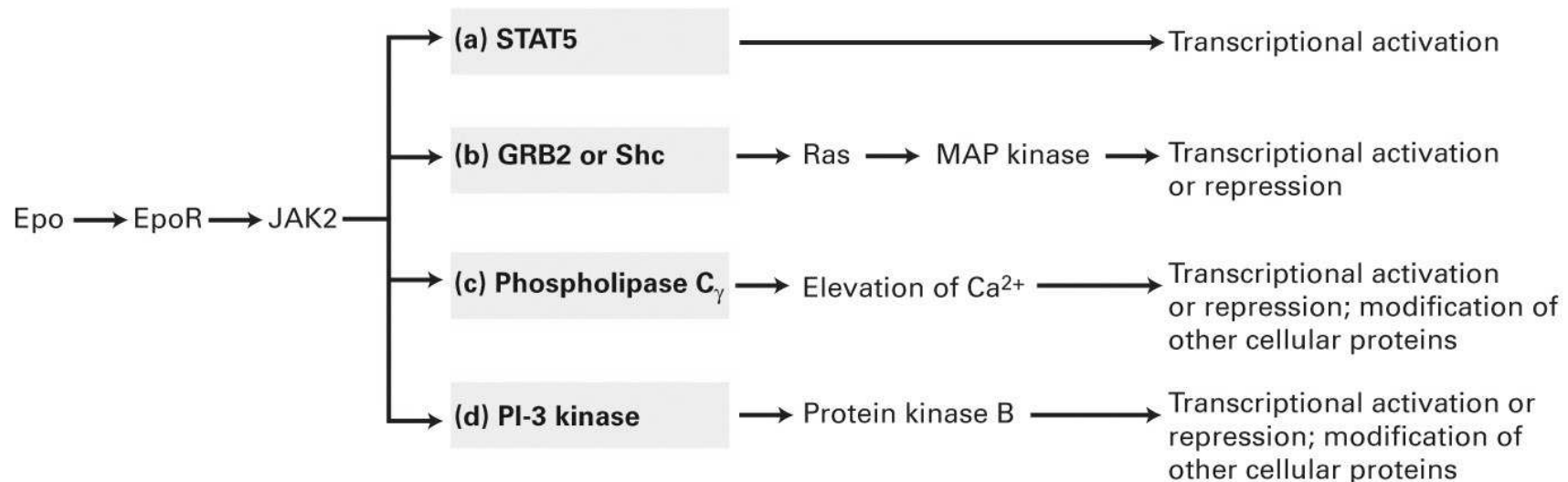


Nereceptorové PTK

- kinázy typu Src: asociace s receptory pro antigeny na B a T lymfocytech
- kinázy Jak (Janus kinases): asociace s receptory pro cytokiny

Existují alespoň 4 signální dráhy pod kontrolou receptoru pro erythropoietin

Každá z nich řídí expresi jiné sady genů



Signální dráha Jak/STAT

- využívaná cytokiny
- účast na řízení růstu, přežití, diferenciaci a odolnosti k patogenům
- **Jak** „Janus-family tyrosin kinase“
- **STAT** „Signal transducer and activator of transcription“:
 - transkripční faktory opatřené doménou SH2
 - v nestimulovaných buňkách inaktivní
 - cytoplazmatická lokalizace

Signalizace:

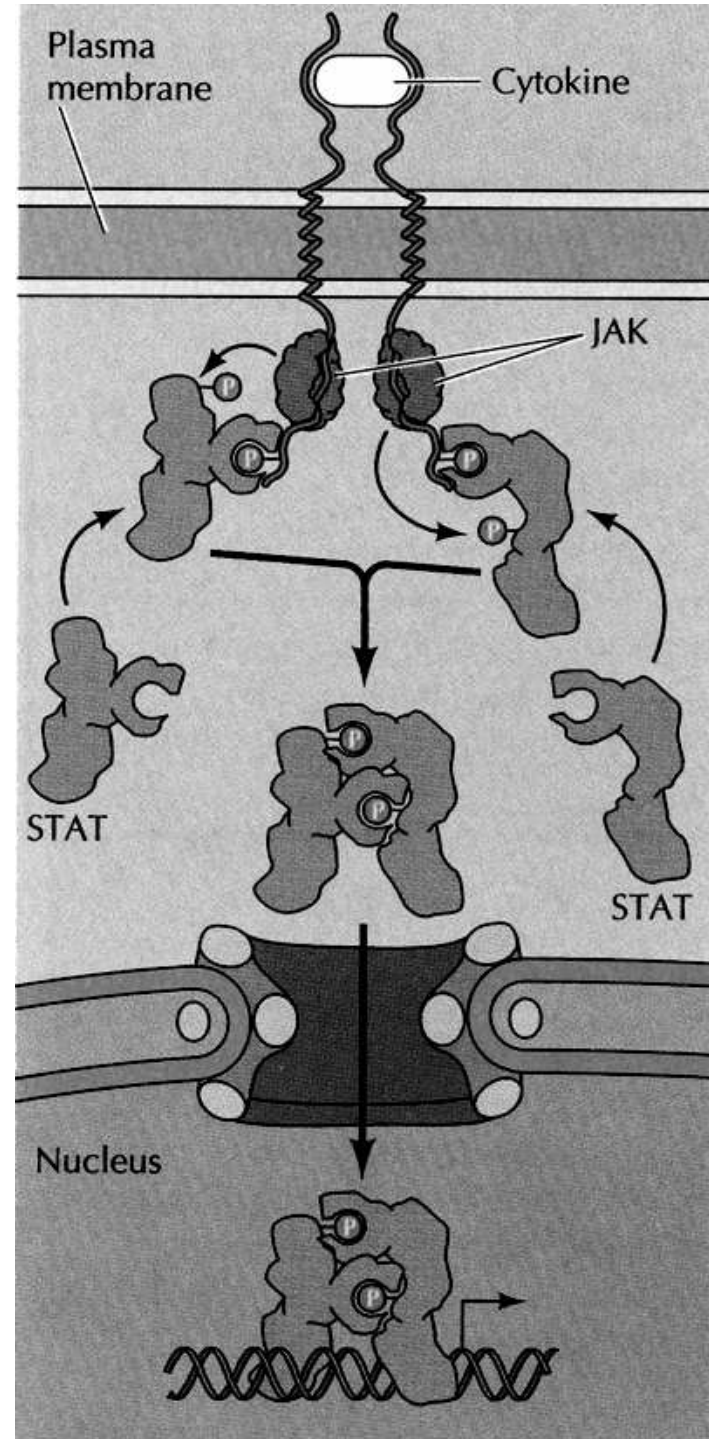
- Jak fosforyluje STAT a stimuluje tak translokaci STAT do jádra.
- Systém zajišťuje přímé spojení mezi povrchem buňky a jádrem.

Princip signalizace Jak/STAT:

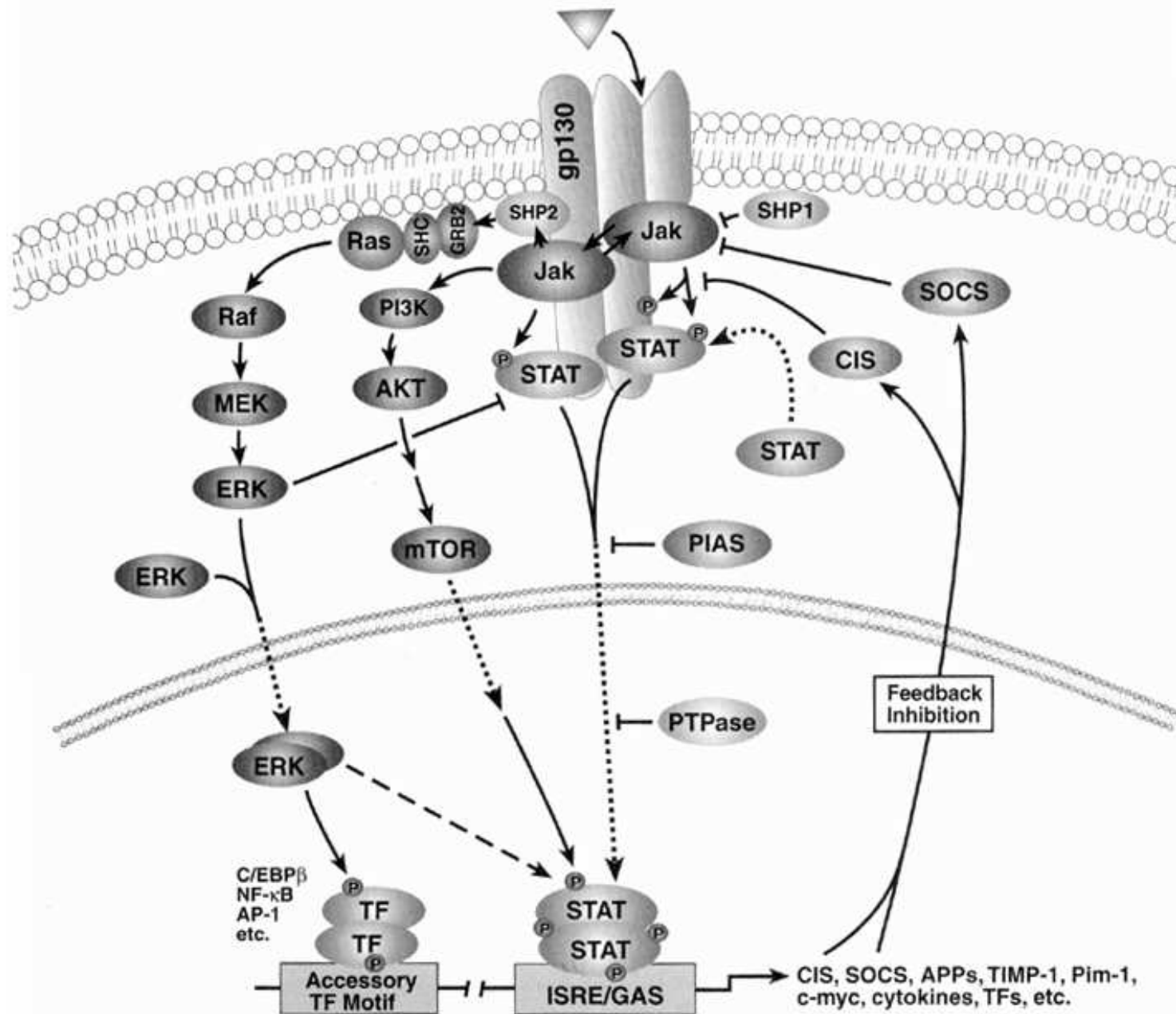
- Jak se konstitutivně asociuje s receptorem
- stimulace receptoru cytokinem indukuje dimerizaci receptoru
- aktivace asociovaných kináz Jak
- fosforylace receptoru
- fosforylovaný receptor interaguje s doménou SH2 proteinu STAT
- Jak fosforyluje STAT navázaný na receptor
- fosforylovaný STAT se odděluje od receptoru, dimerizuje a přechází do jádra
- v jádře se STAT váže na specifické enhancery
- aktivace transkripce cílových genů
- proteiny SOCS ("suppressors of cytokine signaling") tlumí signální dráhu JAK/STAT zpětnou vazbou

Jak fosforylují i jiné signální proteiny - propojení různých signálních drah

Signalizace zprostředkovaná proteiny JAK a STAT



Jak/STAT Signaling: IL-6 Receptor Family



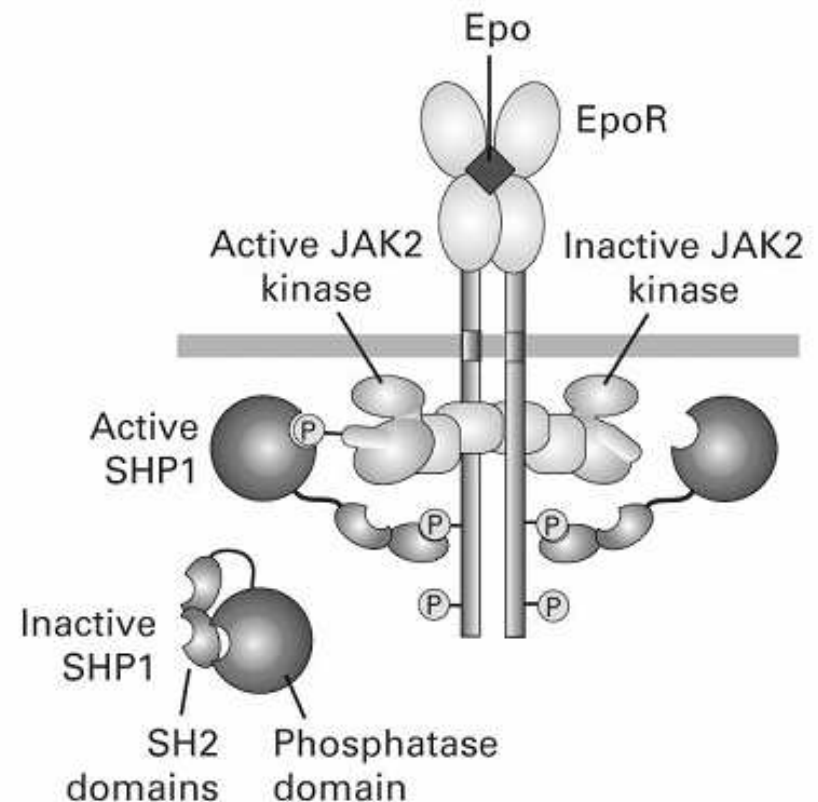
Negativní regulace signalizace z cytokininových receptorů

Rychlé vypnutí signální dráhy za nepřítomnosti ligandu

1. Fosfatázou SHP1

- SHP1 je inaktivní v nestimulovaných buňkách (doména SH2 se váže na katalytické místo a inaktivuje jej)
- ve stimulovaných buňkách se SH2 doména váže fosfotyrosin aktivovaného receptoru
- konformační změna SHP1 obnaží katalytické místo fosfatázy SHP1 a dopraví jej do blízkosti kritického fosfátu kinázy Jak
- odstraněním fosfátu se Jak inaktivuje

JAK2 deactivation induced by SHP1 phosphatase



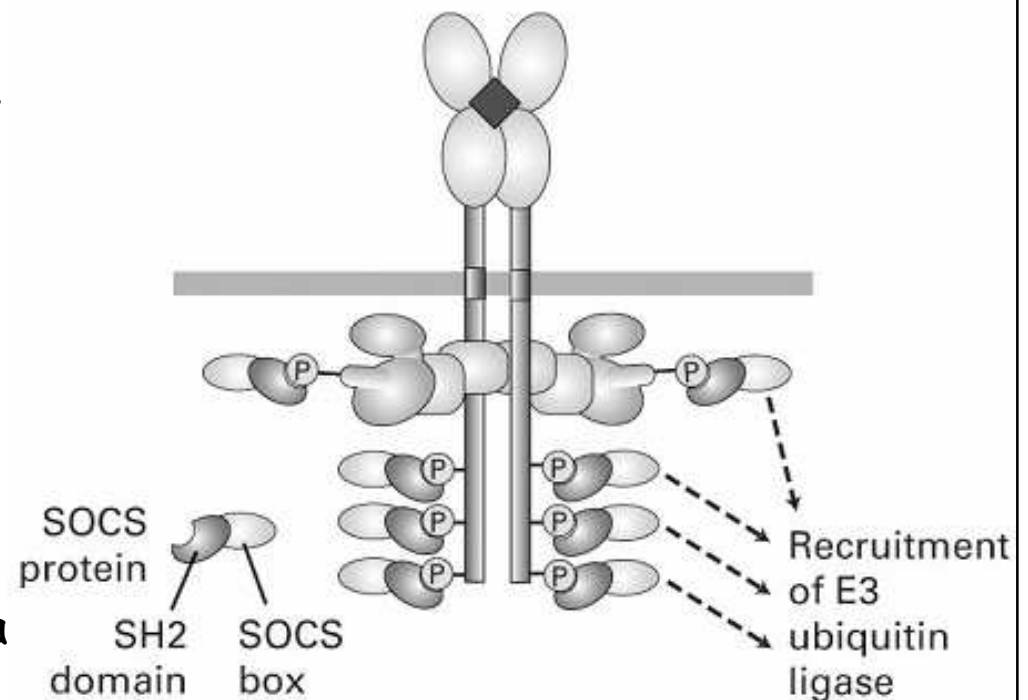
Negativní regulace signalizace z cytokinových receptorů

Rychlé vypnutí signální dráhy za nepřítomnosti ligandu

2. Proteiny SOCS

- negativní regulátory signalizace cytokiny
- kódovány geny, jejichž transkripce je indukována proteiny STAT
- 2 mechanismy:
 - a. Doménou SH2 se proteiny SOCS vážou na fosfotyroziny aktivovaných receptorů: znemožnění vazby dalších proteinů
 - b. Doménou SOCS box je zprostředkována interakce s ubikvitin ligázou: polyubikvitinace a likvidace JAK proteazomem

Signal blocking and protein degradation induced by SOCS proteins



Signalizace TGFB

Co je TGFB?

- rodina příbuzných signálních molekul, které se významně uplatňují při řízení vývojových procesů

BMP (bone morphogenetic protein) indukuje tvorbu kostí v kultuře (klinické využití pro posílení kostí)

TGFB-1 (transforming growth factor 1) indukuje vznik „transformovaného fenotypu“ u určitých buněk v kultuře

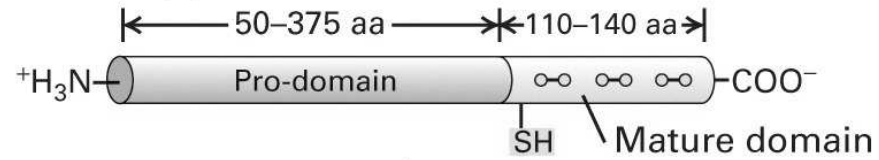
Lidské izoformy TGFB mají naopak antiproliferační účinky - kontrola buněčné adheze (narušení signální dráhy řízené TGFB je časté u lidských nádorů)

Tvorba TGF β

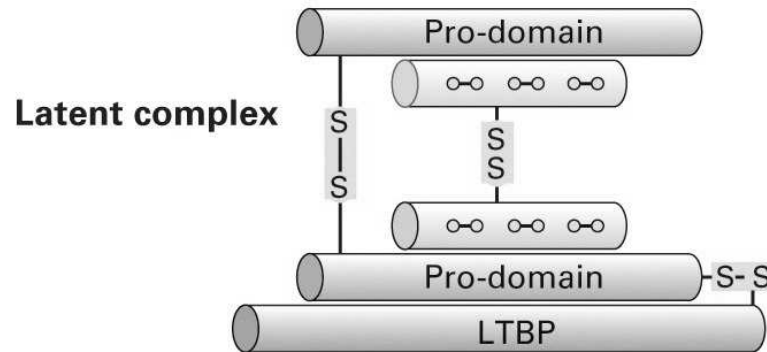
- tři izoformy, každá kódována vlastním genem
- prvotní produkt proteosyntézy každé z izoformem má podobu prekurzoru, obsahující pro-doménu
- v této podobě se sekretuje z buňky
- pro-doména se následně odštěpuje, ale zůstává nekovalentně asociována s vlastní proteinem
- pro-doména a vlastní protein se uchovávají v matrix v komplexu s LTBP (latent TGF β binding protein)
- trombospondin nebo některé integriny (event. degradace LTBP) indukují změnu konformace LTBP, což vede k uvolnění zralého aktivního TGF β v podobě dimeru)

(a) Formation of mature, dimeric TGFβ

Secreted TGFβ precursor

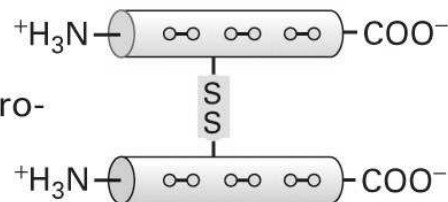


↓
Proteolytic cleavage
Binding by LTBP



↓
Conformational change or
proteolysis of LTBP;
release of mature TGFβ

Mature form
(homo- or hetero-
dimer)



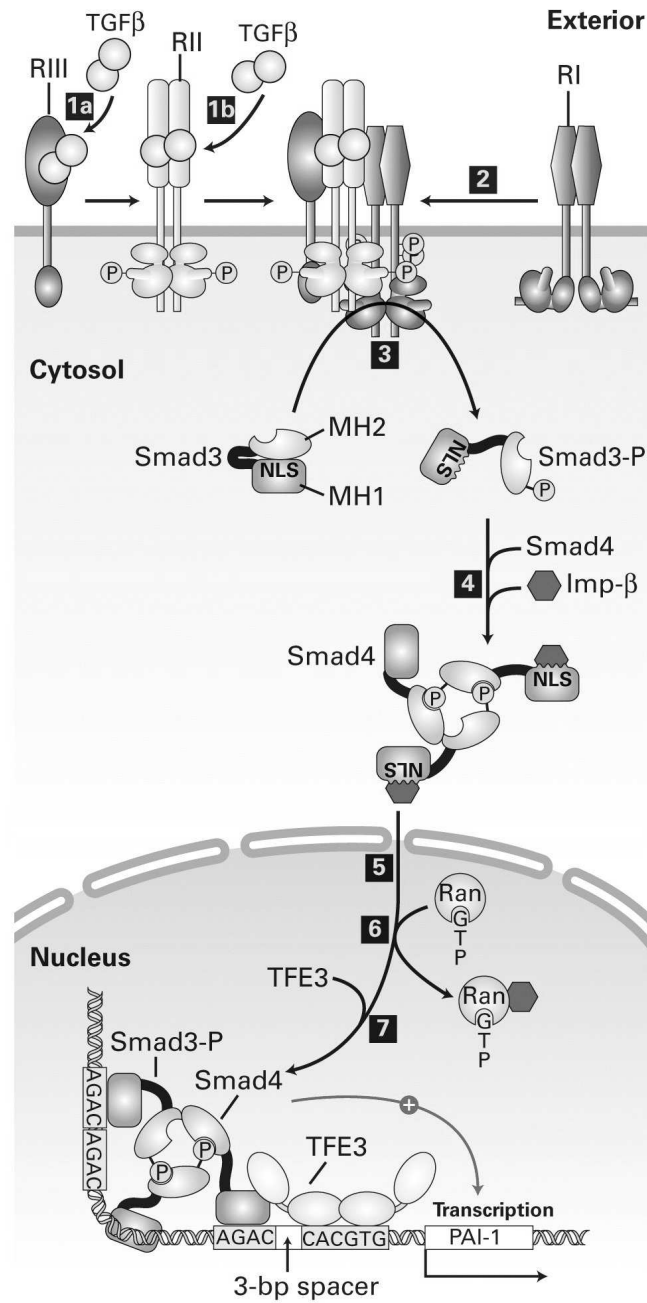
Receptory pro TGF β : 3 typy

RI a RII - transmembránové dimerové proteiny se serin/treonin kinázovou aktivitou cytozolové domény

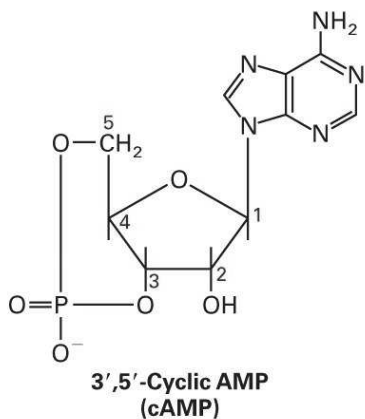
RIII (β -glykan) - velmi rozšířený receptor, proteoglykan, který koncentruje TGF β v blízkosti povrchu buňky

Interakce TGF β -receptor a následná signální dráha

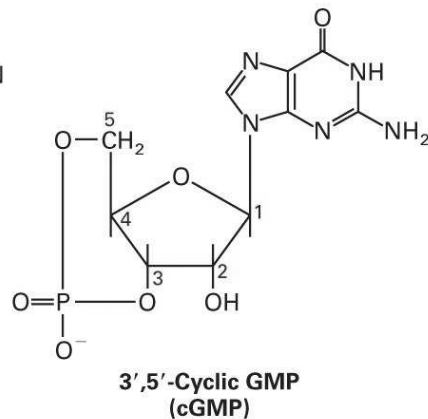
- v některých buňkách se TGF β váže k RIII, který jej předává RII
- v jiných buňkách se TGF β váže přímo k RII
- komplex RII-TGF β přitahuje a fosforyluje RI: uvolnění inhibice kinázové aktivity RI
- aktivovaný RI fosforyluje transkripční faktor Smad3 nebo jiný R-Smad (receptor-regulated Smad): změna konformace, která obnaží jaderný lokalizační signál NLS
- 2 fosforylované molekuly Smad3 interagují s pomocným proteinem Smad4 a importinem β : vzniká velký cytozolový komplex
- tento komplex přechází do jádra, kde se uvolňuje importin
- Smad3/Smad4 se spojí s transkripčním faktorem TFE3: aktivační komplex, který se váže do regulačních sekvencí cílových genů



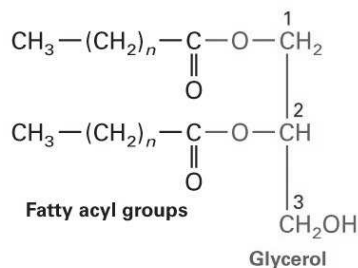
Přenos signálu buňkou (od receptoru k efektoru) často zajišťují sekundární přenašeči



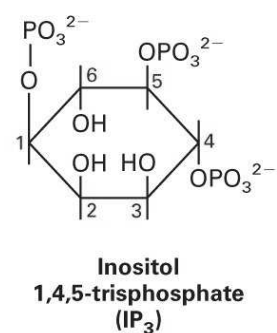
Activates protein kinase A (PKA)



Activates protein kinase G (PKG) and opens cation channels in rod cells



Activates protein kinase C (PKC)



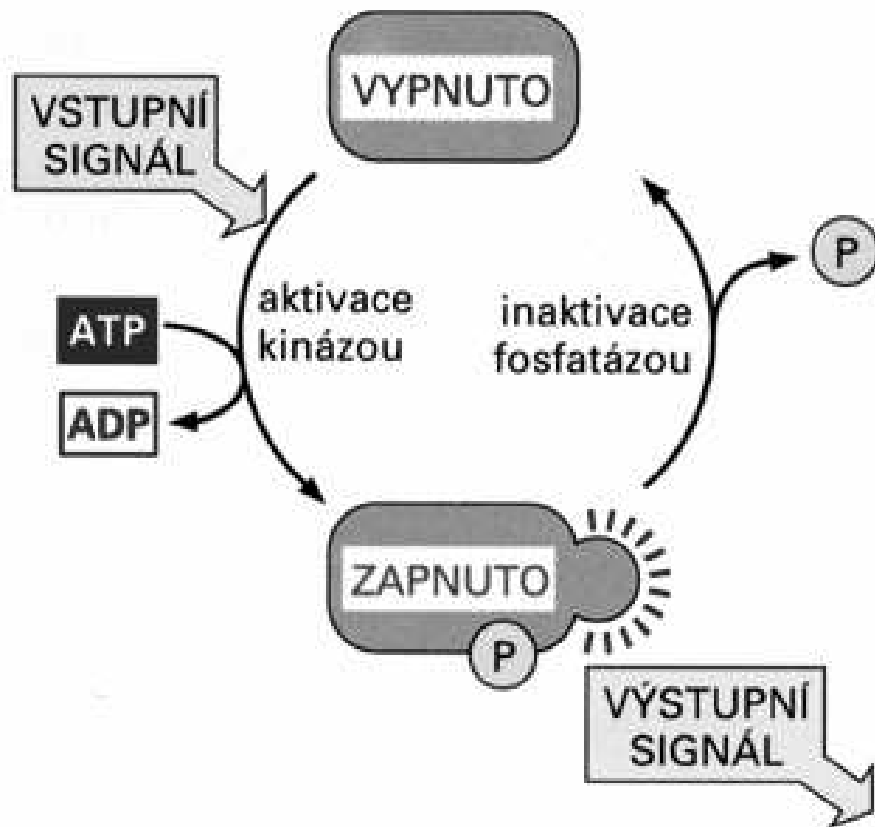
Opens Ca²⁺ channels in the endoplasmic reticulum

Sekundární přenašeči:

- nízká molekul. hmotnost
- koncentrace v buňce rychle stoupá a klesá v závislosti na přítomnosti primárního přenašeče (mimobuněčného signálu)
- vyvolávají rychlou změnu aktivity enzymů nebo jiných proteinů

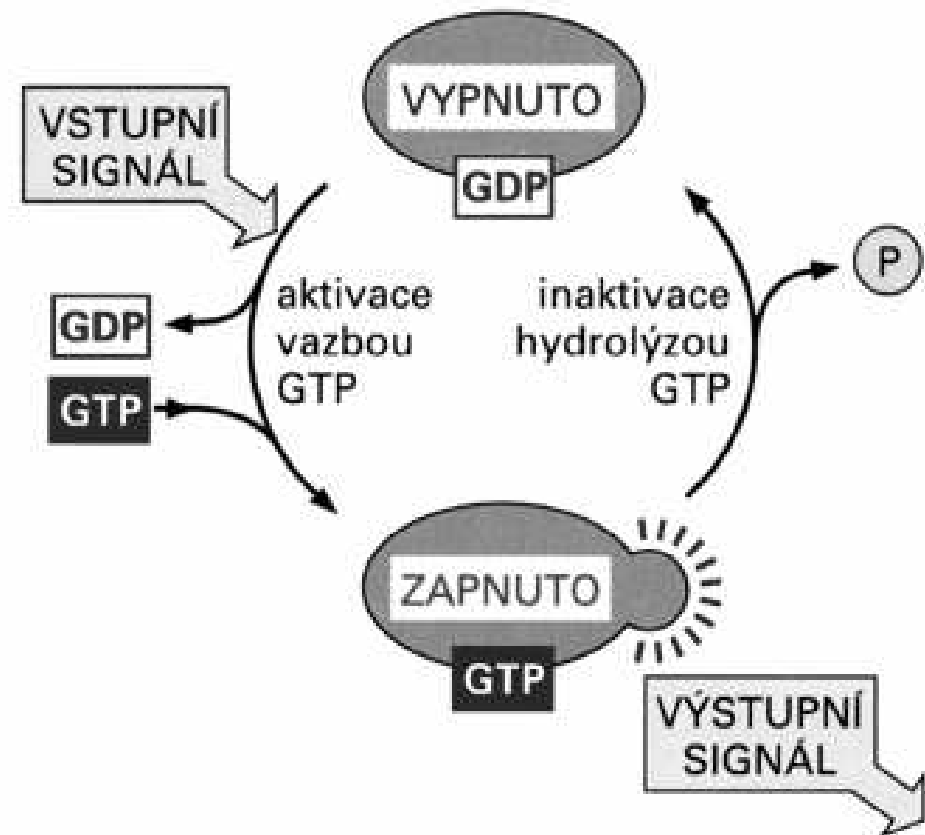
Proteiny, které fungují jako molekulové přepínače:

Kinázy/fosfatázy



(A) signalizace fosforylací

GTPázy



(B) signalizace pomocí GTP-vazebných proteinů

Rodina GTPáz

Guanin nucleotide-binding proteins (G proteiny)

Kolísají mezi dvěma konformačními stavy:

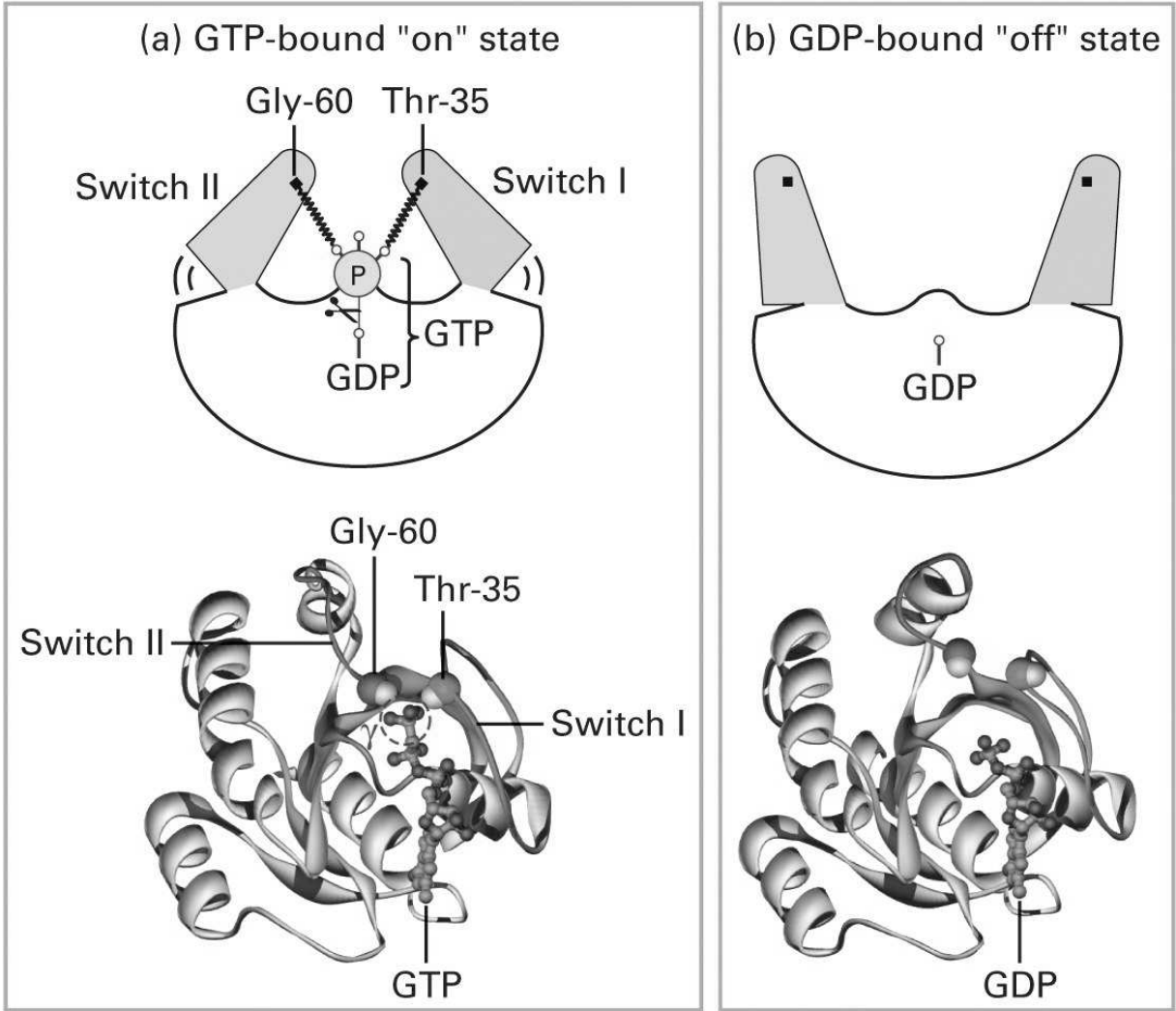
- „**zapnuto**“ (navázáno GTP)
- „**vypnuto**“ (navázáno GDP)

Aktivace-přechod do stavu „zapnuto“

- závislá na přítomnosti mimobuněčného signálu
- zprostředkována faktorem **GEF** (guanine nucleotide-exchange factor), který z G proteinu uvolňuje GDP
- vazba GTP je usnadněna vysokou nitrobuněčnou koncentrací GTP

Inaktivace-přechod do stavu „vypnuto“

- hydrolýza GTP na GDP a P je důsledkem vnitřní GTPázové aktivity samotného G proteinu
- rychlost reakce zvyšují faktory **GAP** (GTPase-accelerating factors)



Klasifikace proteinů G

1. Trimerní (velké) G proteiny, které se indukují přímou vazbou s receptory

2. Monomerní (malé) G proteiny typu Ras, které interagují s receptory nepřímo prostřednictvím adaptérů

Všechny stimulované G proteiny obsahují oblasti, které interagují s jinými proteiny a tak ovlivňují jejich aktivitu

Struktura velkých proteinů G

- několik variant, každá je typická pro určitý soubor receptorů a určitý soubor následujících cílových proteinů

3 podjednotky:

α - obsahuje vazebné místo pro GTP/GDP, zajišťuje hydrolýzu GTP

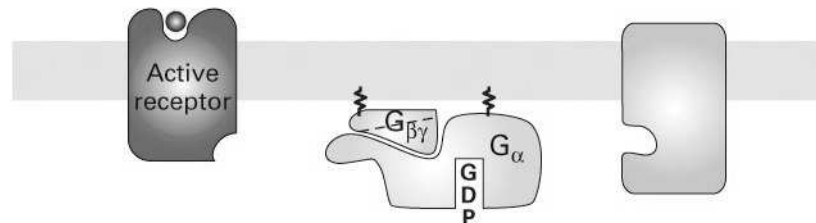
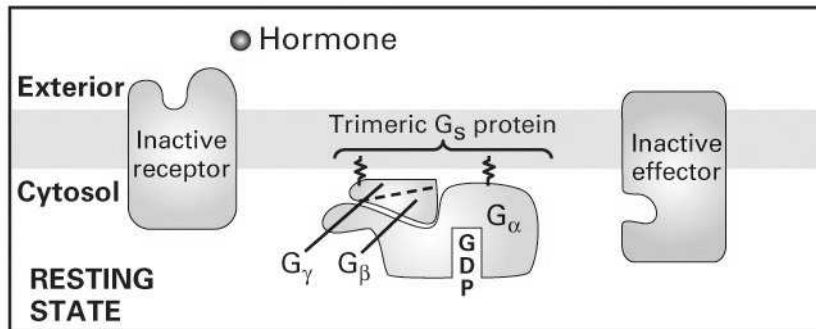
β a γ - ukotvují G protein na cytoplazmatické straně plazmatické membrány

- u savců dosud charakterizováno 20 různých typů podjednotky α , 5 typů podjednotky β a 6 typů γ

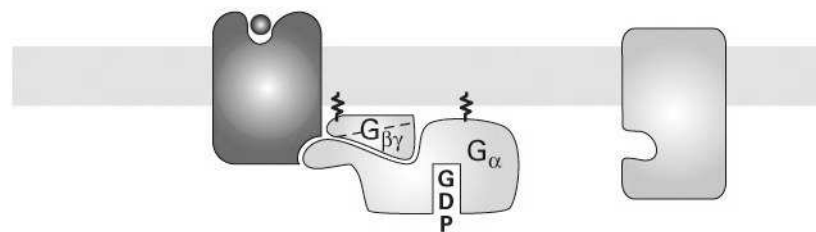
- evoluční konzervativnost

Funkce G proteinů

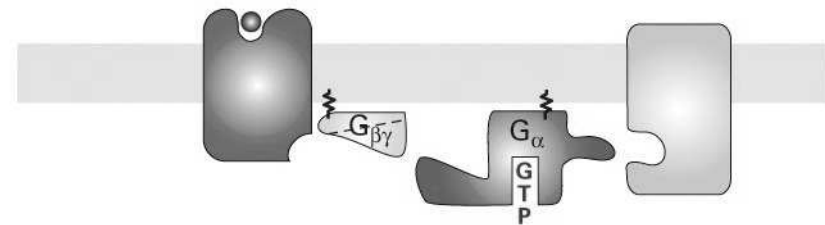
- spojovací články mezi povrchovými receptory a producenty sekundárních přenašečů uvnitř buňky
- G proteiny reagují pouze s aktivovanými receptory
- interakce mezi aktivovaným receptorem a G proteinem vede k výměně GDP na podjednotce α za GTP
- podjednotka α s navázaným GTP přechází do aktivního stavu a odděluje se od podjednotek β a γ
- uvolněná podjednotka α s navázaným GTP (podobně jako uvolněné podjednotky β a γ) může interagovat se svou cílovou molekulou v plazmatické membráně (efektorem), který signál předává dál
- značná rozmanitost efektorů G proteinů (adenylát cyklázy, fosfolipáza C, cGMP fosfodiesteráza, různé typy iontových kanálků)



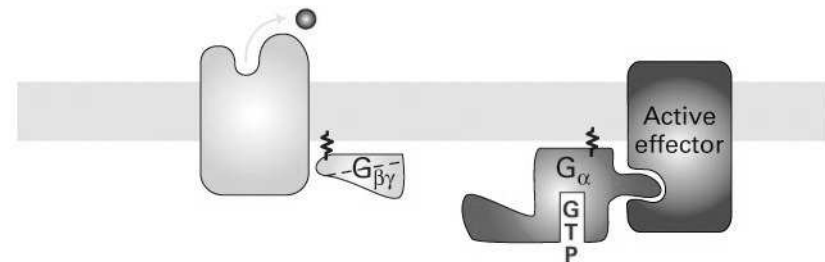
1 Binding of hormone induces a conformational change in receptor



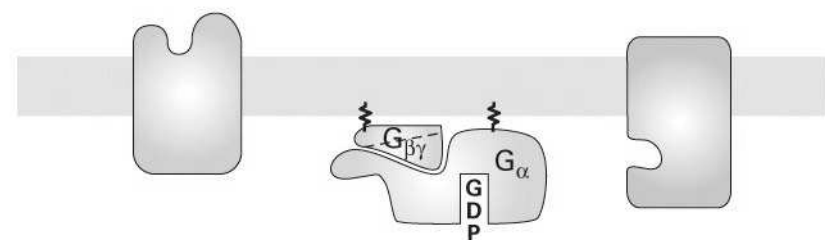
2 Activated receptor binds to G_α subunit



3 Binding induces conformational change in G_α ; bound GDP dissociates and is replaced by GTP; G_α dissociates from $G_{\beta\gamma}$



4 Hormone dissociates from receptor; G_α binds to effector, activating it



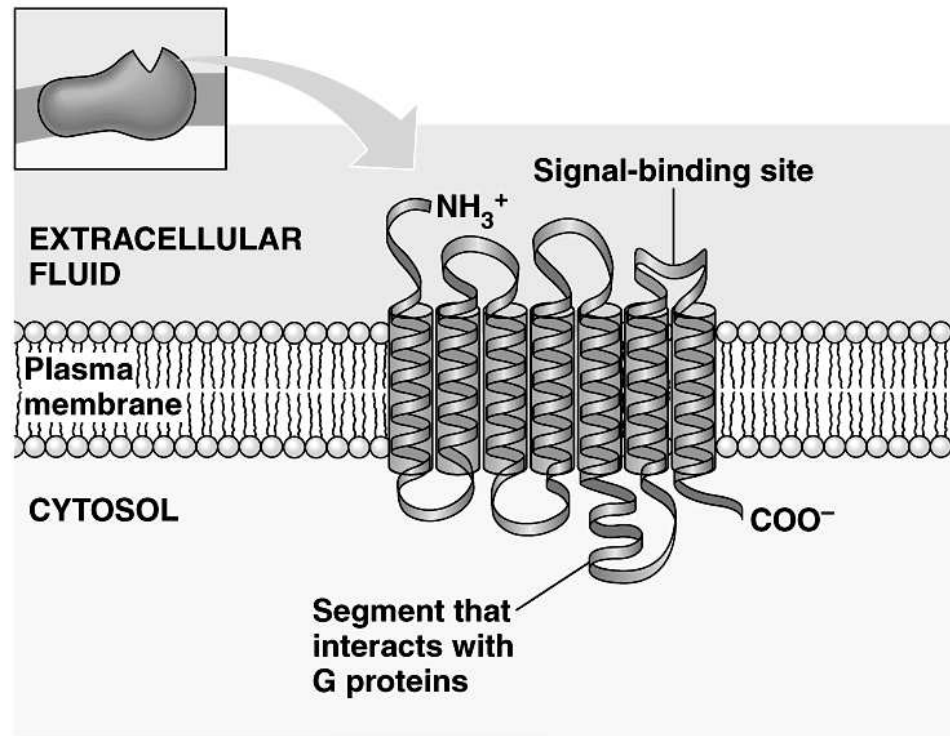
5 Hydrolysis of GTP to GDP causes G_α to dissociate from effector and reassociate with $G_{\beta\gamma}$

Vypnutí signálu

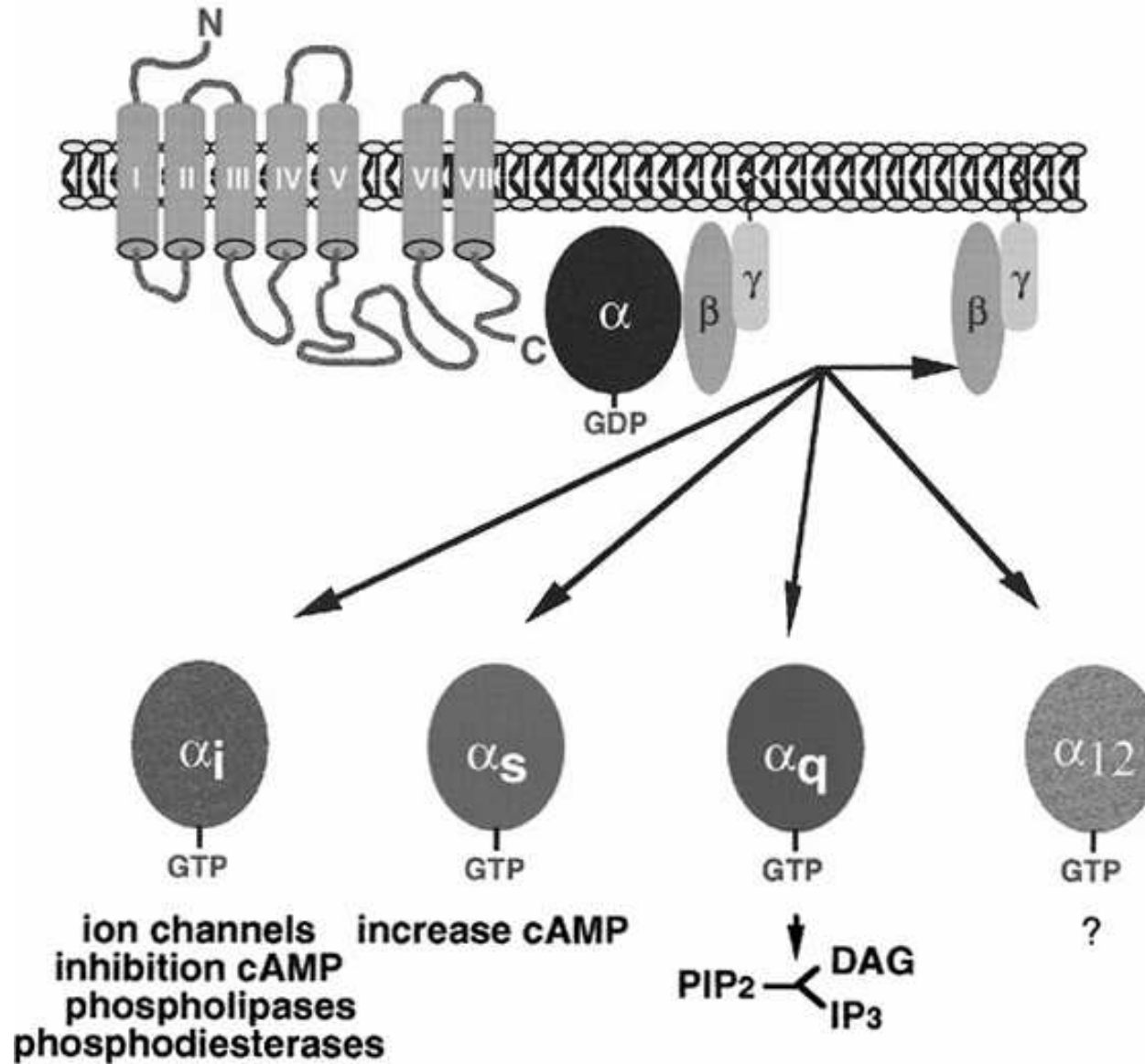
- nastává po několika sekundách aktivity *G*-proteinu, kdy *GTP*ázová aktivita podjednotky α vyvolá hydrolýzu *GTP*
- aktivita *G* proteinu je vymezena dobou, po kterou jsou podjednotky α a $\beta\gamma$ disociovány
- po hydrolýze *GTP* na *GDP* se podjednotky α , β , γ spojují a vypínají signál

Receptory spojené s G proteiny

- největší rodina buněčných povrchových receptorů (stovky členů v savčích buňkách)
- obdobná struktura: jediný polypeptidový řetězec, sedminásobné vinutí šroubovice membránou
- vysoká evoluční konzervativnost v rámci eukaryot
- vazba ligandu způsobí změnu konformace nitrobuněčné části receptoru: vazba s G proteinem na cytozolové straně membrány - aktivace G proteinu



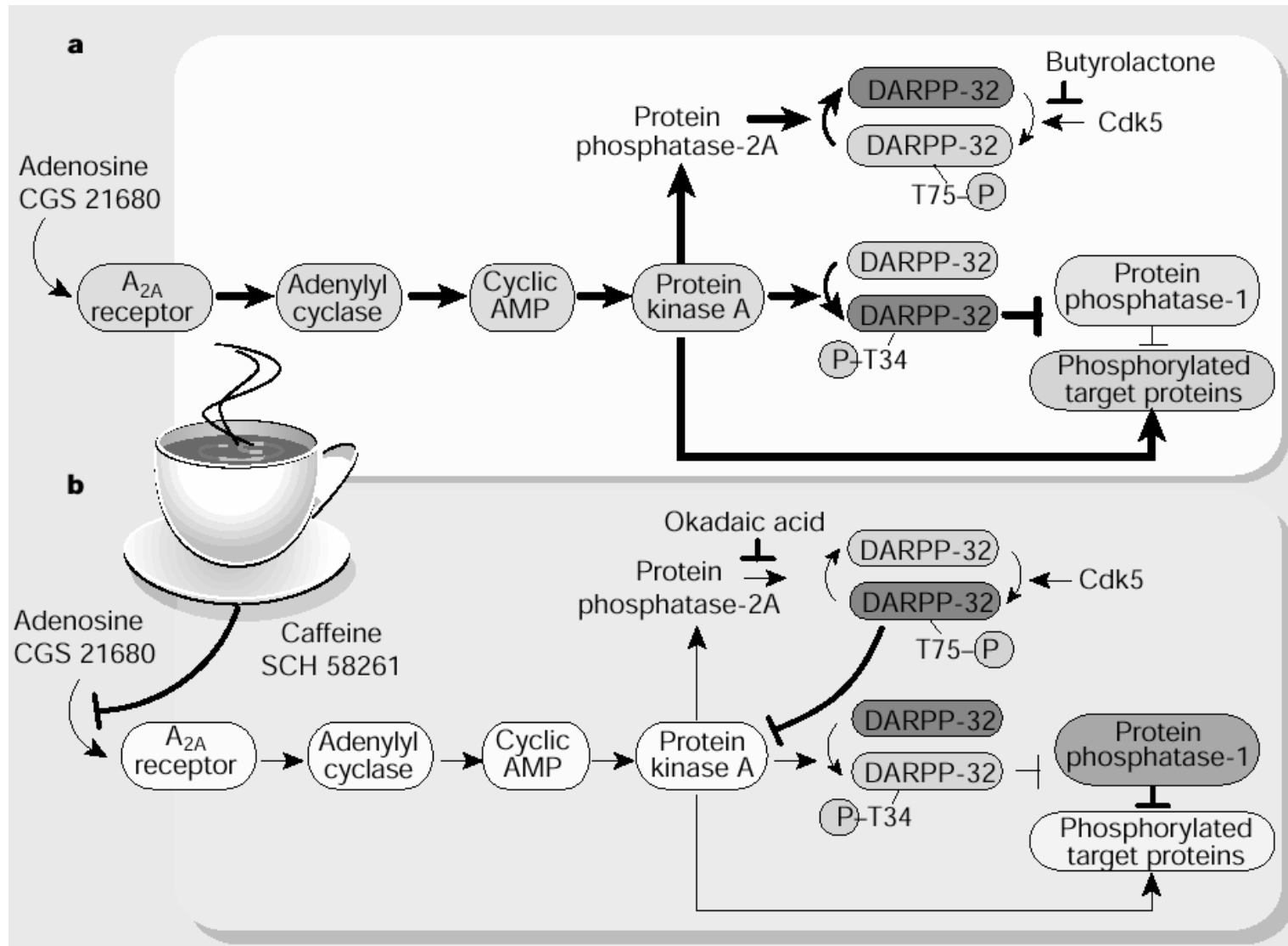
Rozmanité funkce G proteinu



Biologické funkce G proteinu

- přenos chuťových a pachových signálů
- přenos světelných signálů
- přenos nervových signálů
- chemotaxe
- exocytóza
- kontrola krevního tlaku
- embryogeneze
- vývoj
- buněčný růst a diferenciace
- onkogeneze
- infekce HIV
- funkce v endokrinních žlázách

More than half of all therapeutic drugs work through G-protein receptors . . . Including the caffeine in coffee:



Vaugeios (2002) Positive Feedback from Coffee. Nature 418: 734-735.

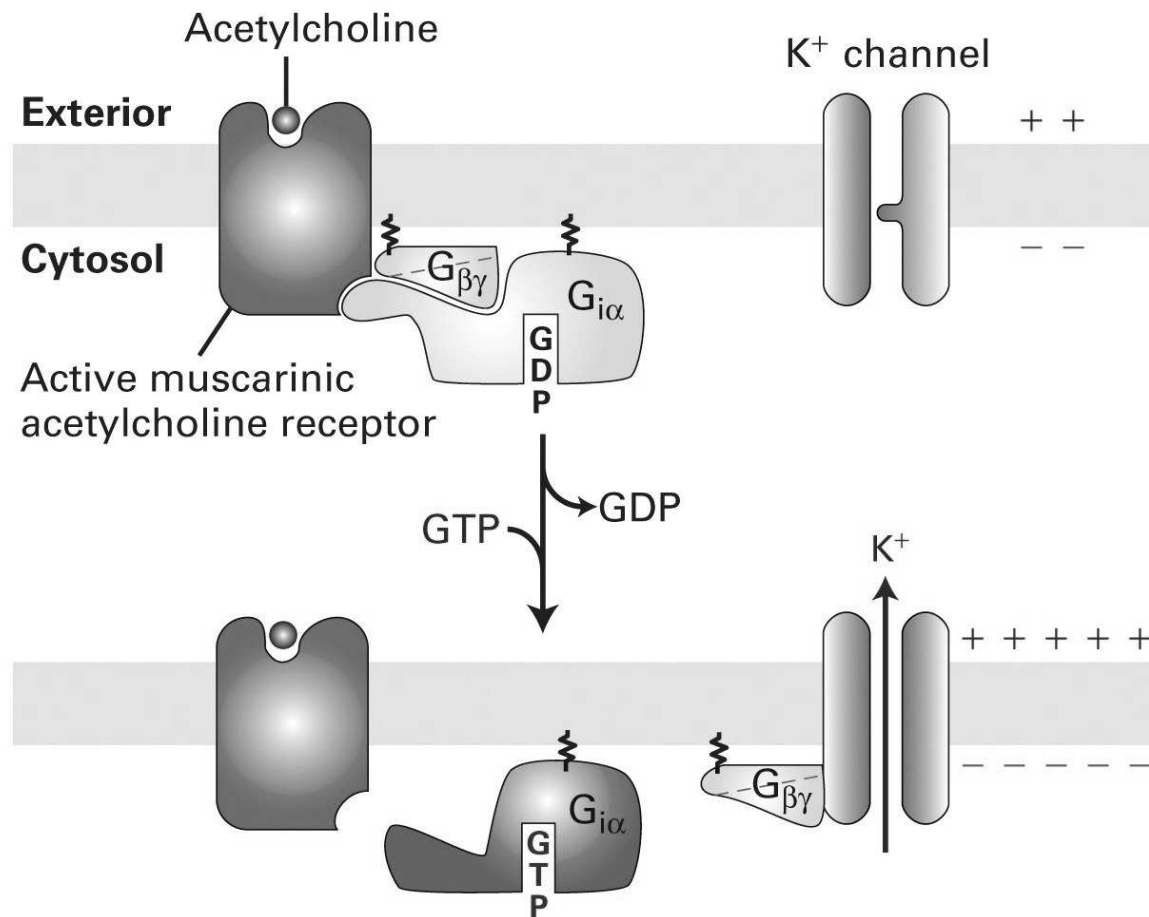
Některé G-proteiny regulují propustnost iontových kanálků

Např. regulace činnosti srdečního svalu

- **nervová vlákna** pro zpomalení činnosti srdce uvolňují acetylcholin
- **acetylcholin** se váže na **receptor** lokalizovaný na buňkách srdečního svalu
- aktivace **G-proteinu**, disociace na podjednotky α , $\beta\gamma$
- vazba komplexu $\beta\gamma$ na **kanálek K^+** v plazmatické membráně buňky srdečního svalu
- **zvýšení propustnosti** kanálku
- **změna elektrických vlastností** buňky srdečního svalu, zpomalení stahů
- **hydrolýza GTP**: spojení podjednotek G proteinu, zavření kanálku

Receptory pro acetylcholin v srdečním stavu zpomalují kontrakci

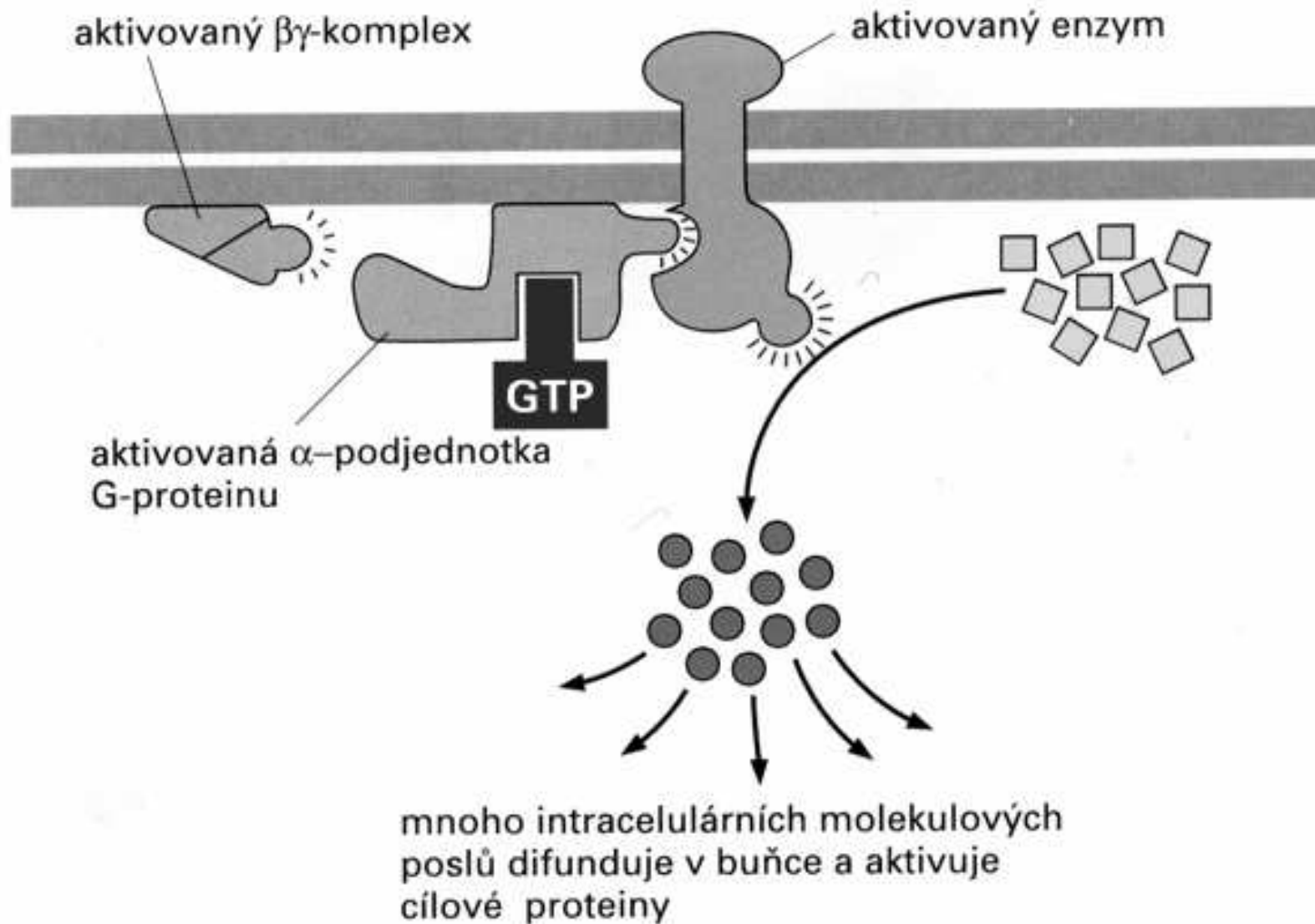
Příčinou je hyperpolarizace svalové membrány



Některé G-proteiny aktivují enzymy vázané v membráně

- následná tvorba dalších signálních molekul - komplexní důsledky
- nejčastějšími cílovými enzymy jsou **adenylátcykláza** (tvorba cAMP) a **fosfolipáza C** (tvorba inositoltrifosfátu a diacylglycerolu)
- spřažení mezi G proteinem a tvorbou druhých poslů může být stimulační (*G_s*) nebo inhibiční (*G_i*)

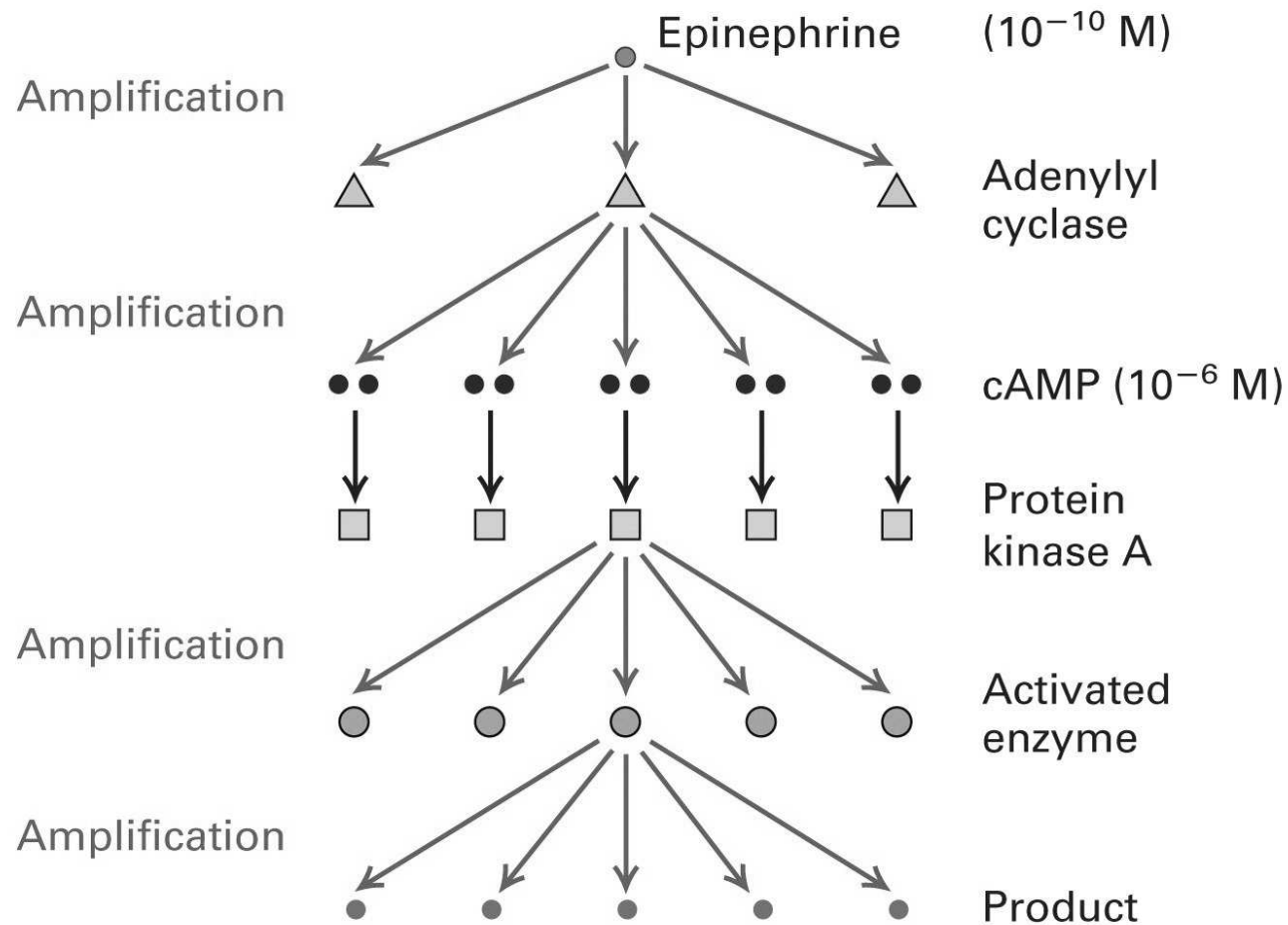
Enzymy aktivované G-proteiny katalyzují syntézu molekul nitrobuněčných poslů



Výhody G-proteinů

- **amplifikace** signálu
- **regulace** signálu (možnost kovalentních modifikací G-proteinů, vliv koncentrace G-proteinů v membráně)

Amplifikace vnějšího signálu během přenosu buňkou



Poruchy funkce G proteinů

- tvorba nádorů
- infekční choroby

cholera:

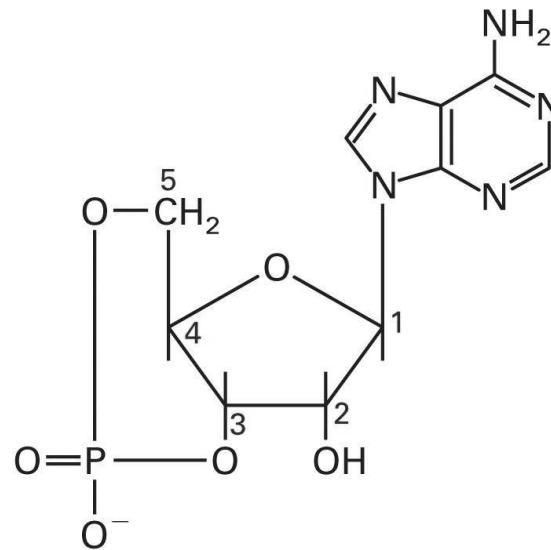
Vibrio cholerae produkuje **cholerový toxin** (tj. enzym, který katalyzuje **přenos ADP-ribózy na podjednotku α proteinu Gs**)

Gs stimuluje aktivitu **adenylát cyklázy** - ADP ribozylace podjednotky α Gs vyvolaná choleroým toxinem snižuje rychlost hydrolýzy GTP - protein Gs zůstává v aktivním stavu - neustálá aktivace adenylát cyklázy: vysoká hladina cAMP - vysoká propustnost sodíkových kanálků střevními buňkami - velká míra příjmu vodu a iontů sodíku do střev

Nitrobuněčné signální dráhy

1. Dráha cAMP

- cAMP objeven při studiu metabolismu glykogenu (Sutherland, 1958):



**3',5'-Cyclic AMP
(cAMP)**

Activates protein
kinase A (PKA)

Pozorování: Adrenalin působí na svalové nebo jaterní buňky tak, že je stimuluje k uvolnění a štěpení glykogenu

Mechanismus

-v izolovaných membránách jaterních buněk za přítomnosti **ATP** **adrenalin** indukuje tvorbu **cAMP**

-cAMP aktivuje **kinázu A**

-kináza A fosforyluje a aktivuje **fosforylázovou kinázu**

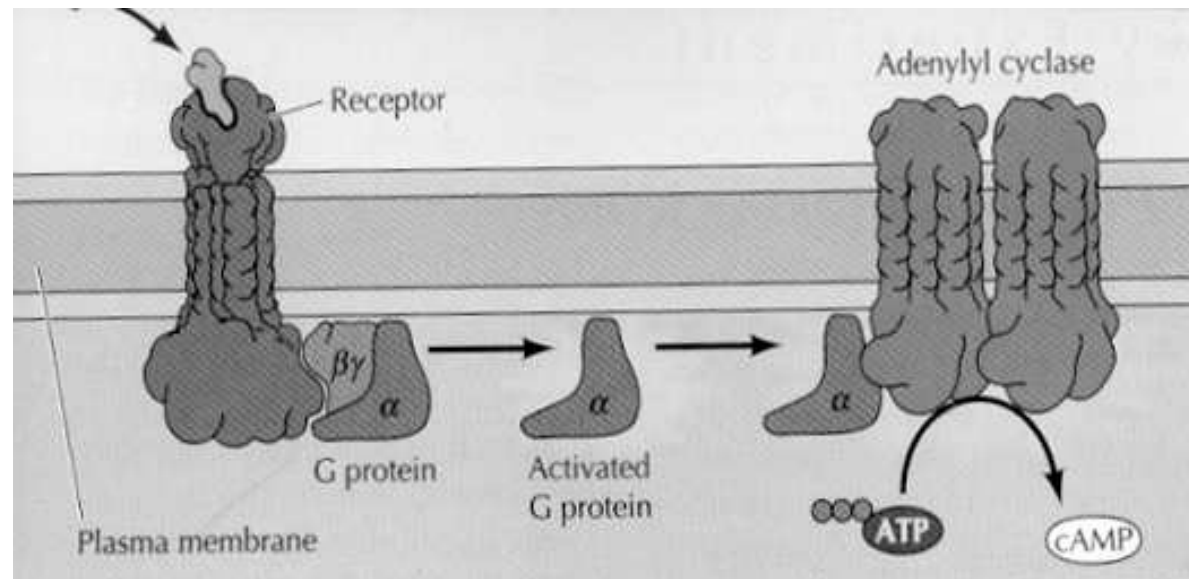
-fosforylázová kináza fosforyluje a aktivuje **glykogen fosforylázu** (štěpení glykogenu)

kináza A fosforyluje a inaktivuje **glykogen syntázu** (inaktivace syntézy glykogenu)

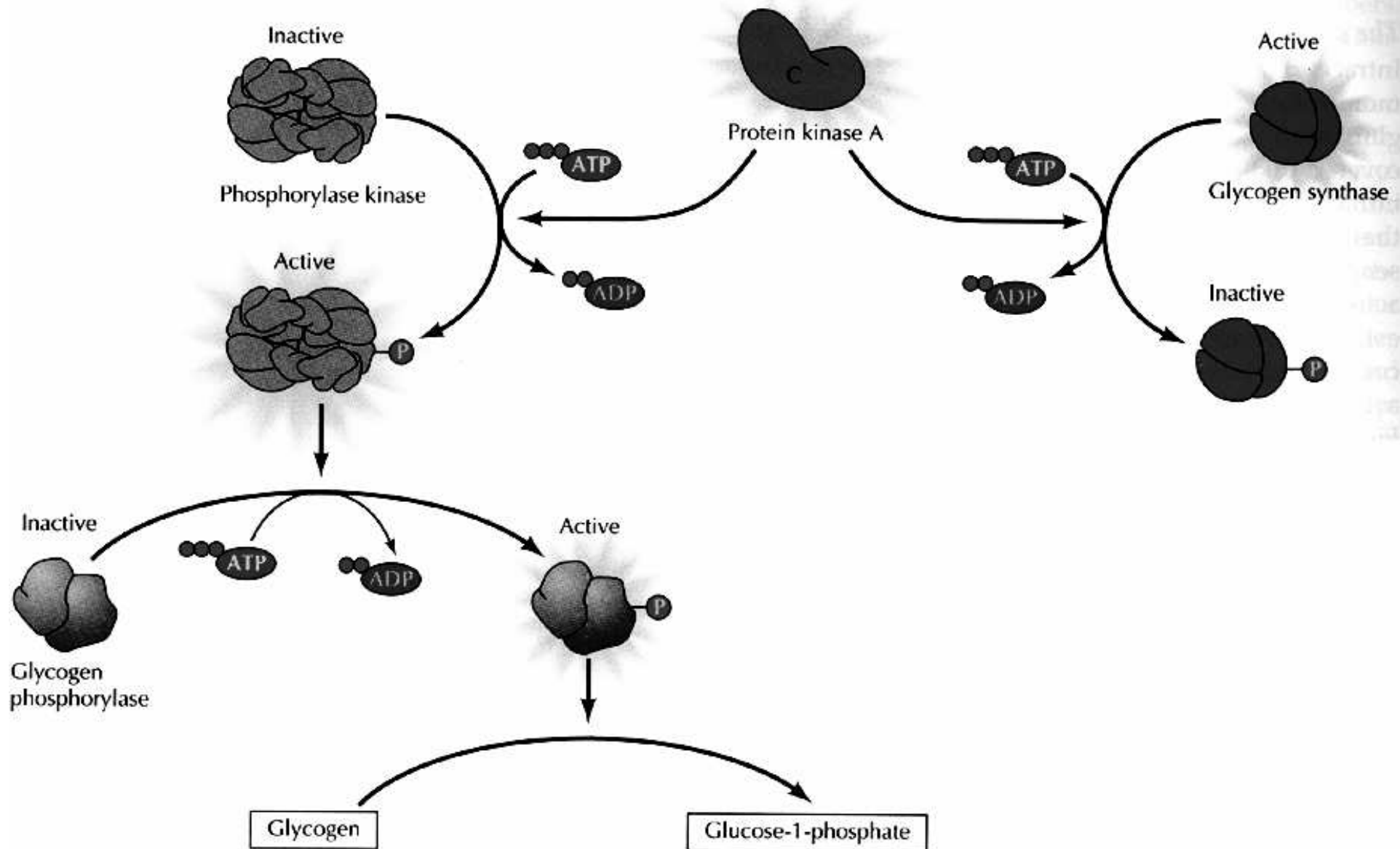
Spojení cAMP a fosforylace bylo poprvé demonstrováno při studiu metabolismu glykogenu kosterního svalstva

glykogen = zásobárna glukózy, odbourávání řízeno adrenalinem

stres - produkce adrenalinu do krve - adrenalin se váže na β -adrenergní receptory svalových buněk - aktivace proteinu G - aktivace adenylát cyklázy - zvýšení hladiny cAMP - aktivace kinázy A - fosforylace / aktivace fosforylázové kinázy - fosforylace / aktivace glykogenové fosforylázy - štěpení glykogenu na glukózo 1 P



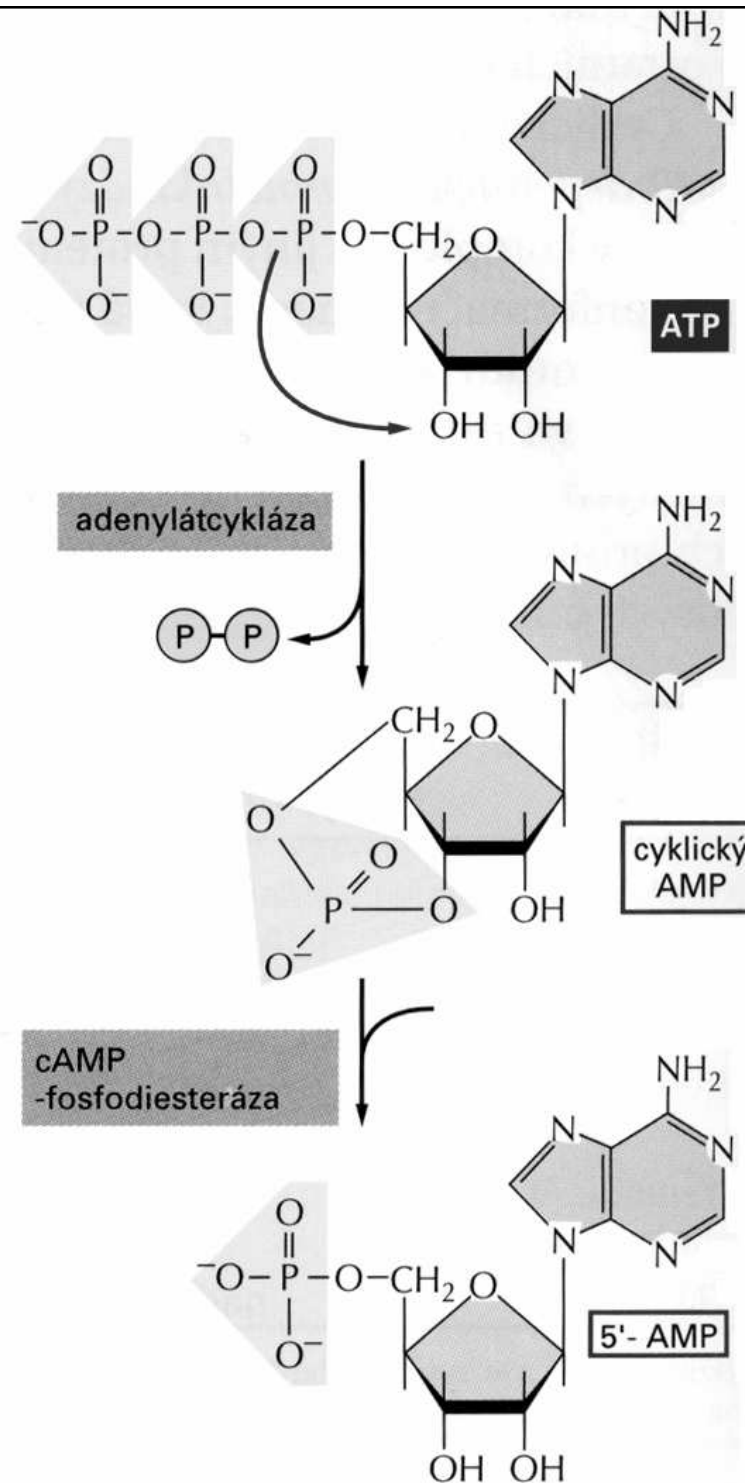
Regulace metabolismu glykogenu protein kinázou A



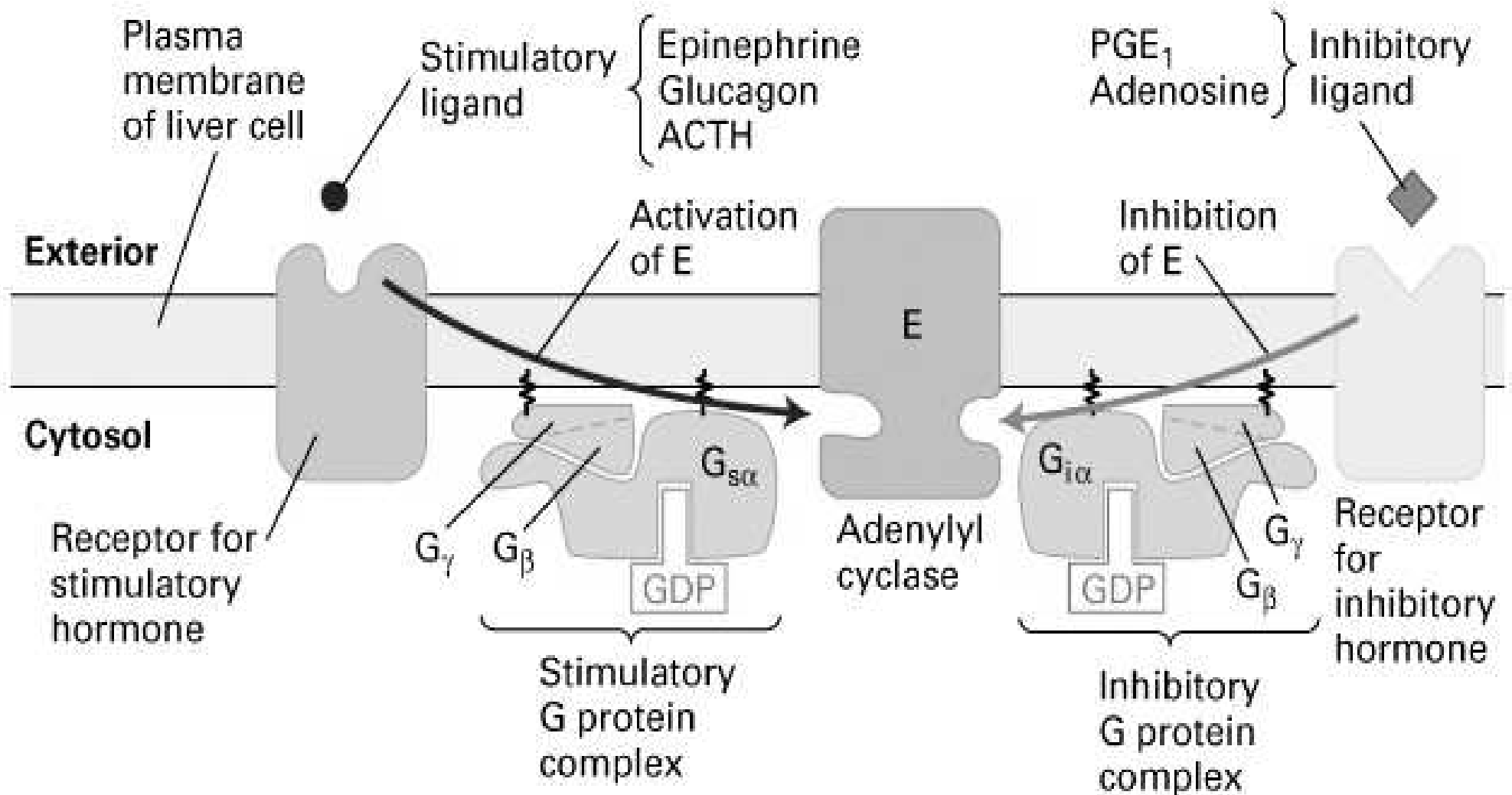
cAMP

- kontrola jeho koncentrace uvnitř buňky závisí na rovnováze aktivit **adenylátcyklázy** a **cAMP-fosfodiesterázy**
- aktivita adenylát cyklázy je regulována *G* proteinem, aktivita cAMP fosfodiesterázy nepodléhá kontrole (je konstitutivní)
- rychlá změna koncentrace v reakci na mimobuněčné signály
- rozpustnost ve vodě umožňuje přenos signálu z membrány k proteinům cytozolu nebo jádra
- **aktivuje cAMP-dependentní protein kinázu (kinázu A)**

Syntéza a odbourávání cAMP

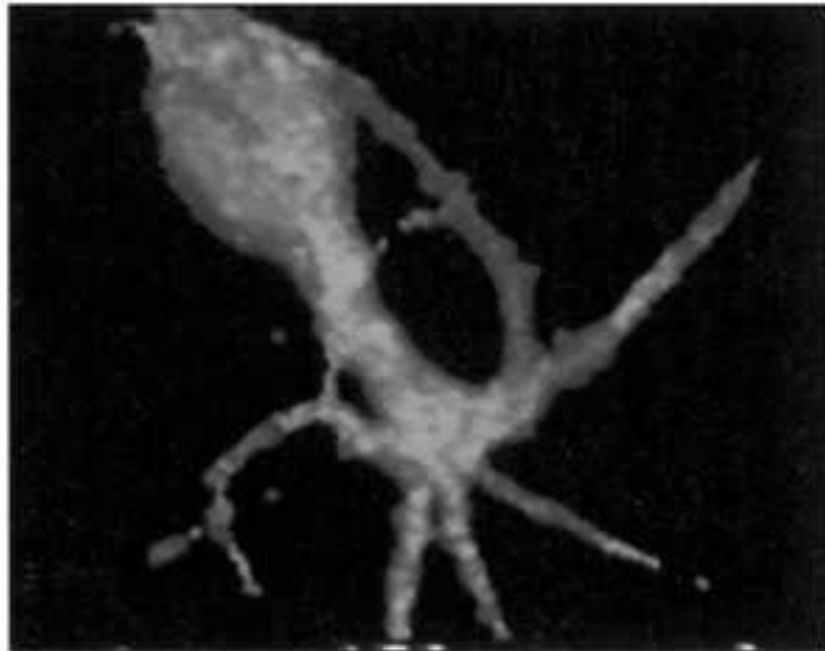


Ligandy mohou aktivovat i inhibovat adenylát cyklázu



Koncentrace cAMP roste při reakci na mimobuněčný signál

čas 0 s

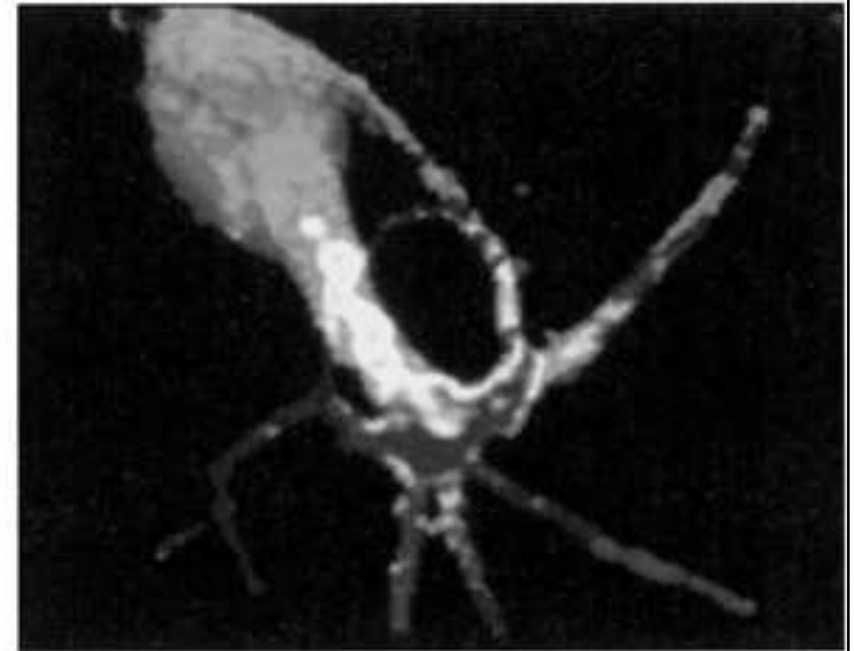


(A)

+ serotonin



čas 20 s



(B)

Hladina cAMP měřena prostřednictvím injikovaného fluorescenčního proteinu, který po navázání cAMP měnil barvu.

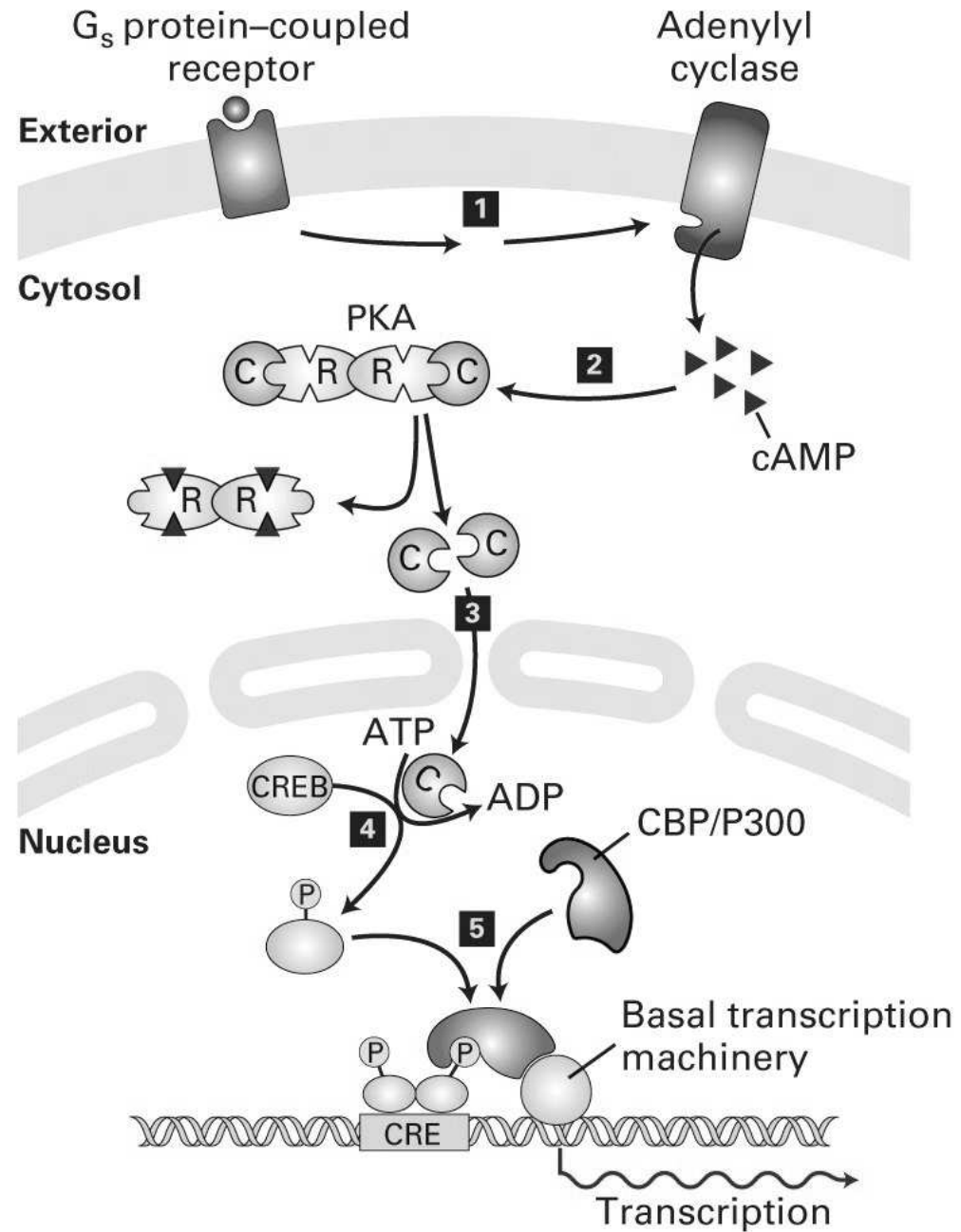
Protein kináza A

-v metabolismu glykogenu:

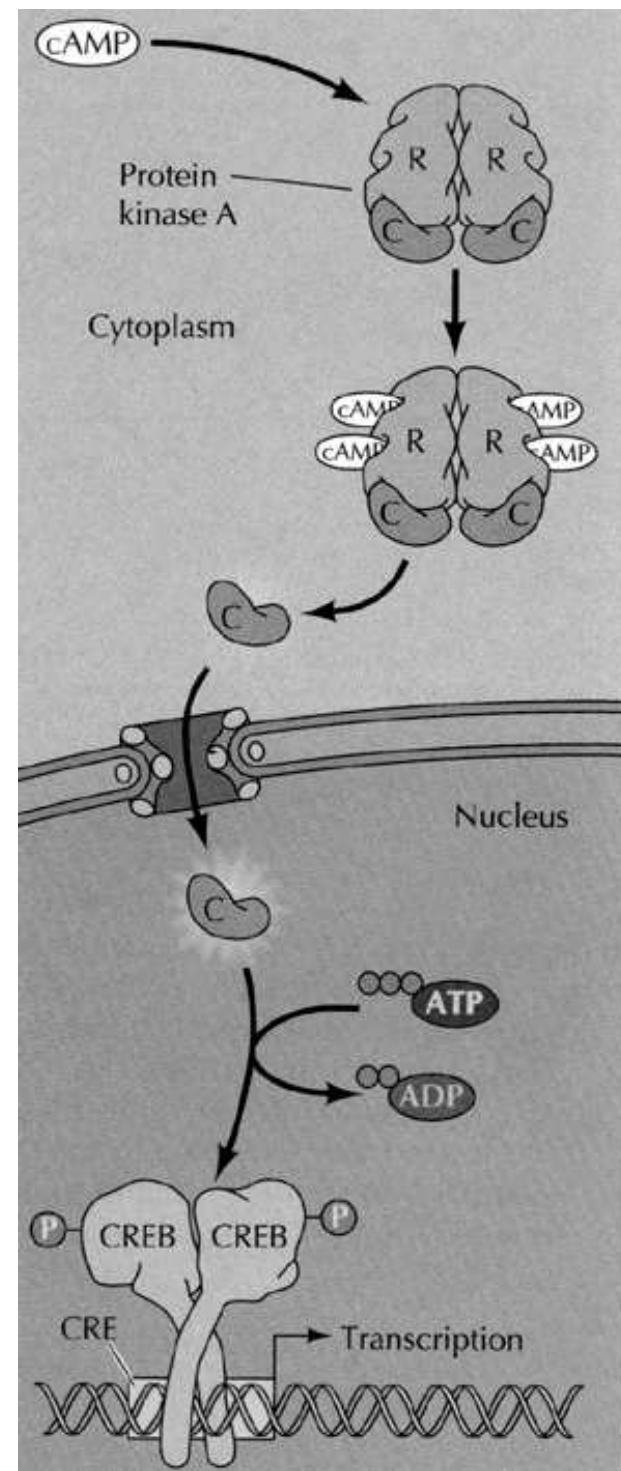
fosforyluje **kinázu fosforylázy** (aktivace štěpení glykogenu) a **glykogen syntázu** (inaktivace syntézy glykogenu)

-obecně:

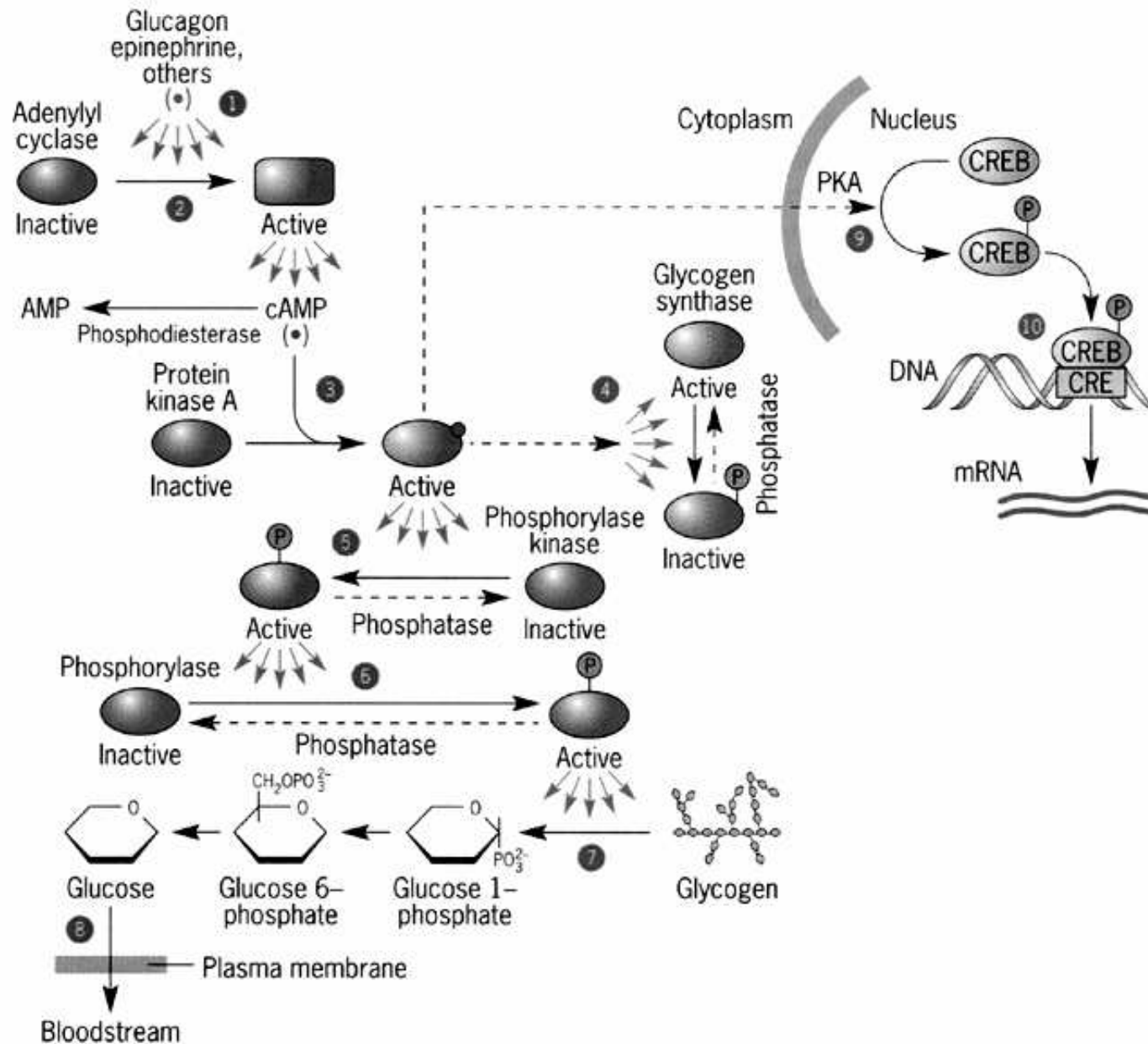
fosforyluje transkripční faktor **CREB** (zodpovídající za transkripci genů vybavených sekvencí CRE - „cAMP-response element“)



Regulace genové exprese protein kinázou A



Reakce jaterní buňky na glukagon nebo adrenalin



Struktura protein kinázy A

Inaktivní stav:

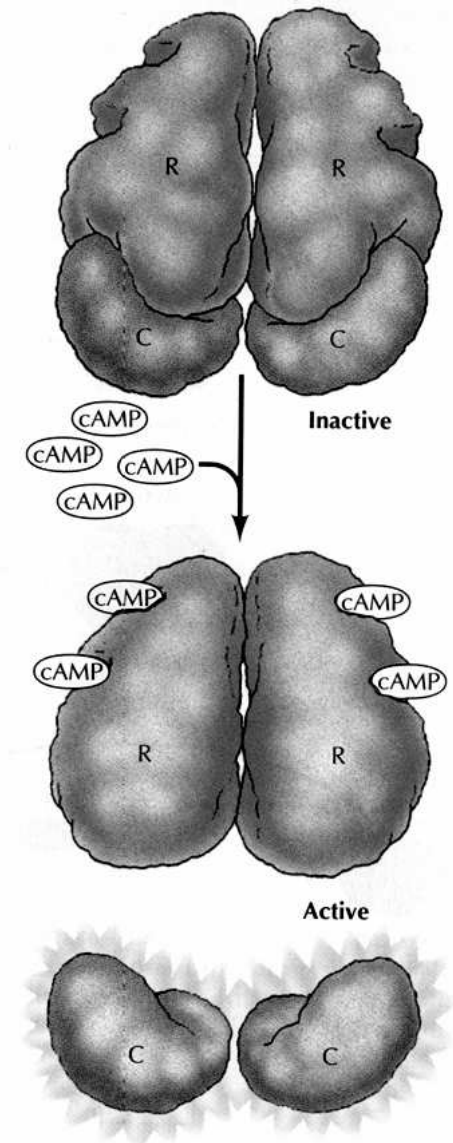
- dvě regulační podjednotky (vazba cAMP)
- dvě katalytické podjednotky

Aktivní stav:

- vazba cAMP - změna konformace regulačních podjednotek - disociace regulačních podjednotek z komplexu - uvolněné katalytické podjednotky mohou fosforylovat své substráty

PKA:

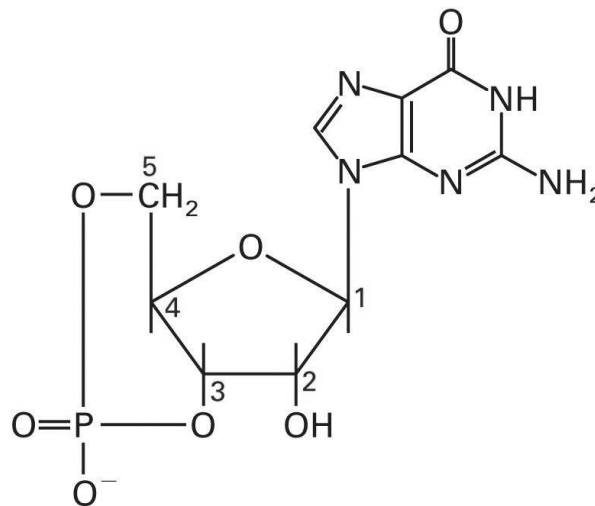
- výskyt ve všech živočišných buňkách
- zprostředkovává většinu účinků cAMP



2. Dráha cGMP

-kontrola jeho koncentrace uvnitř buňky závisí na rovnováze aktivit **guanylátcyklázy** a **cGMP-fosfodiesterázy**

Funkce cGMP - **aktivace cGMP-dependentní protein kinázy**
- **změna propustnosti iontových kanálků**



**3',5'-Cyclic GMP
(cGMP)**

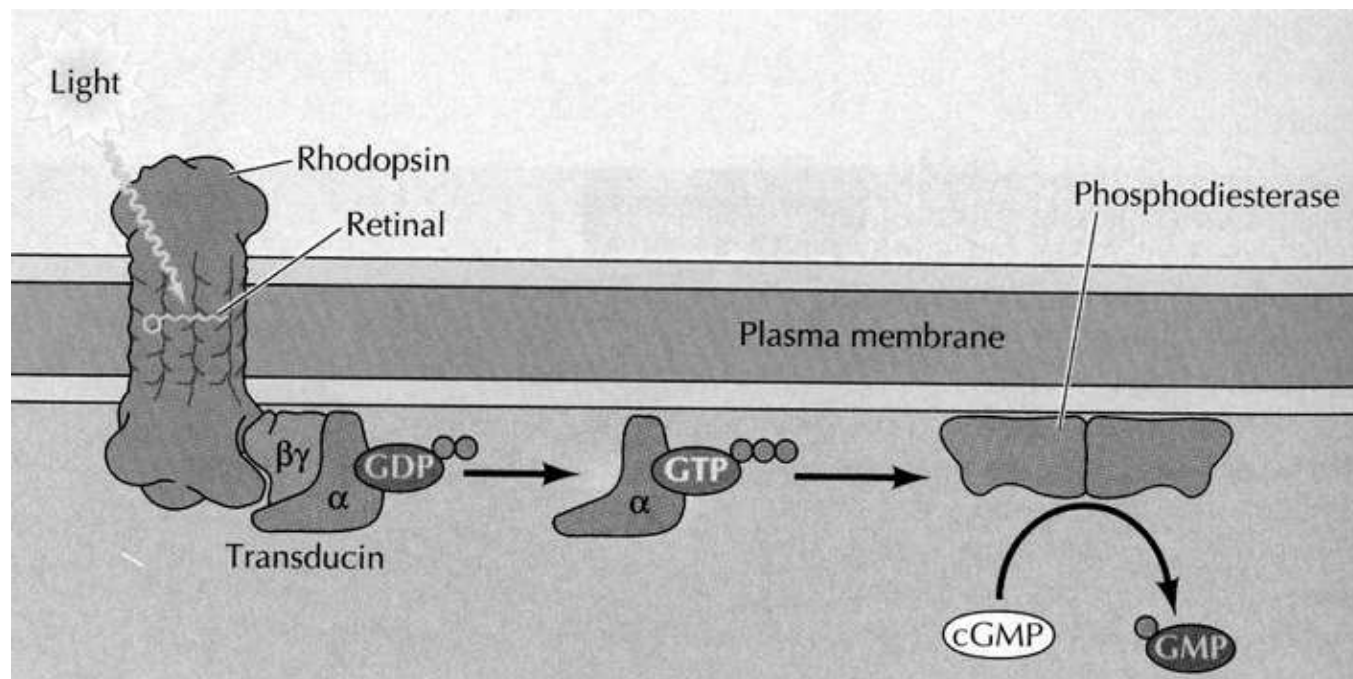
Activates protein kinase G (PKG)
and opens cation channels in
rod cells

cGMP v očích obratlovců zodpovídá za přeměnu vizuálních (světelných) signálů v nervové

-fotoreceptor (**rhodopsin**) v sítnici je napojen na G protein (**transducin**)

Mechanismus signalizace:

- dopad světla - izomerizace retinalu - konformační změna rhodopsinu - aktivace G-proteinu (transducinu) - stimulace cGMP fosfodiesterázy - snížení hladiny cGMP - změna propustnosti iontových kanálků v plazmatické membráně nerovných buněk



3. Dráha Ca^{2+}

1947: injekce Ca^{2+} do svalových buněk vyvolává jejich kontrakci

Koncentrace Ca^{2+} v cytozolu a mimobuněčné tekutině není stejná:

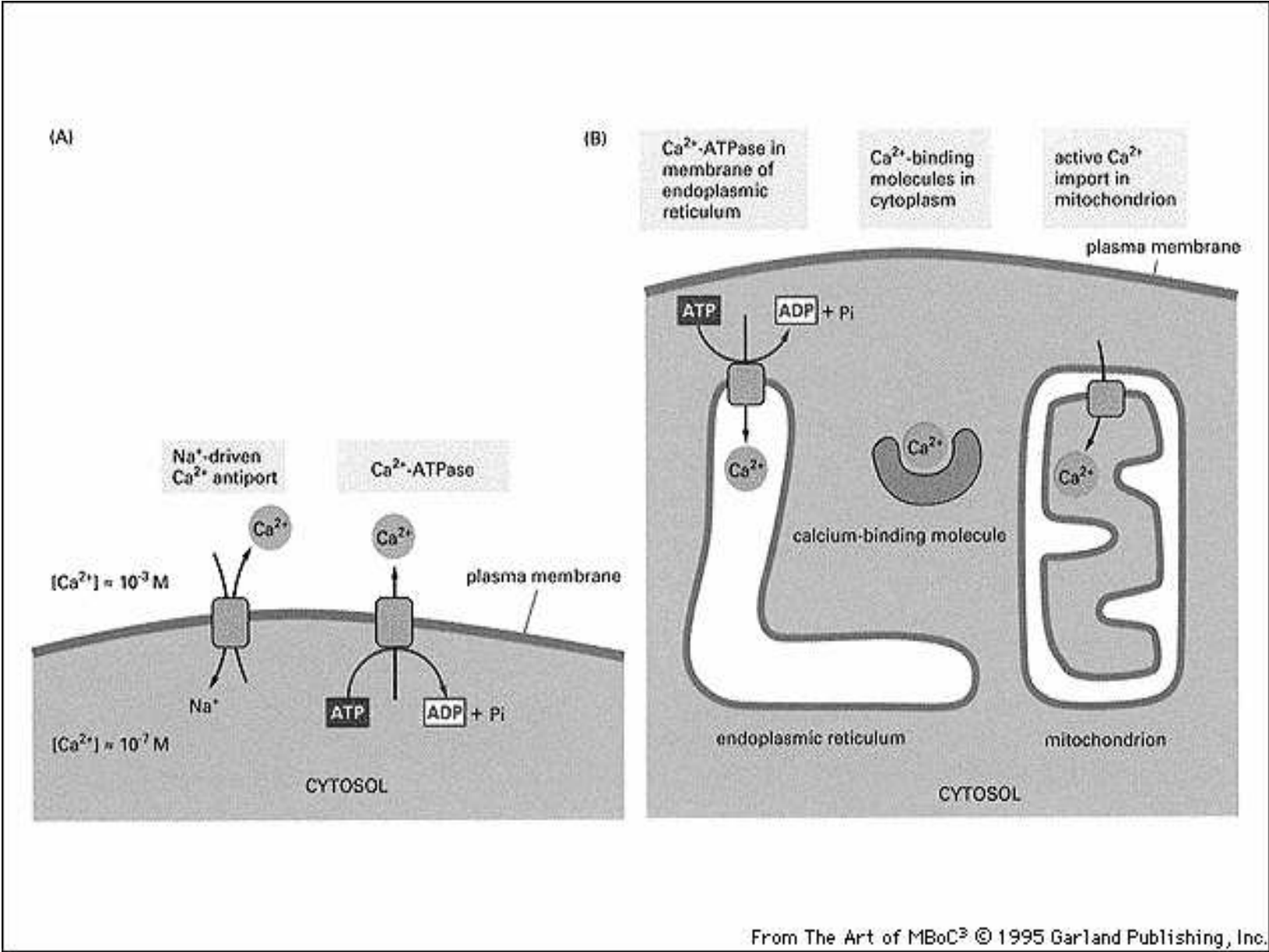
Cytoplazma: 10^{-7}M

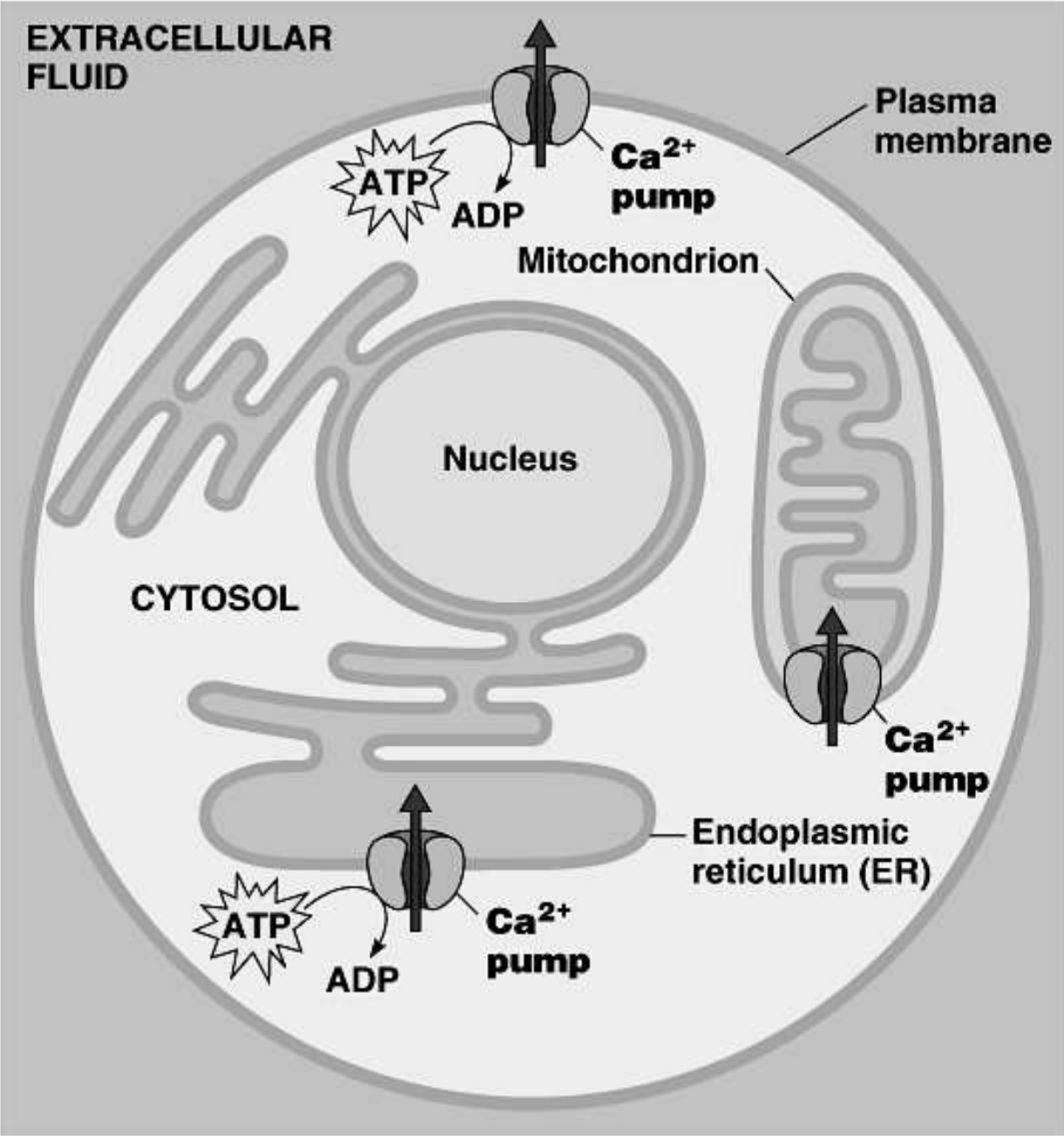
Mimobuněčný prostor: 10^{-3}M

Koncentrační gradient tlačí ionty Ca^{2+} do cytozolu

Zvýšená permeabilita membrány - vyšší koncentrace Ca^{2+} v cytozolu -
aktivace nitrobuněčného signálního mechanismu

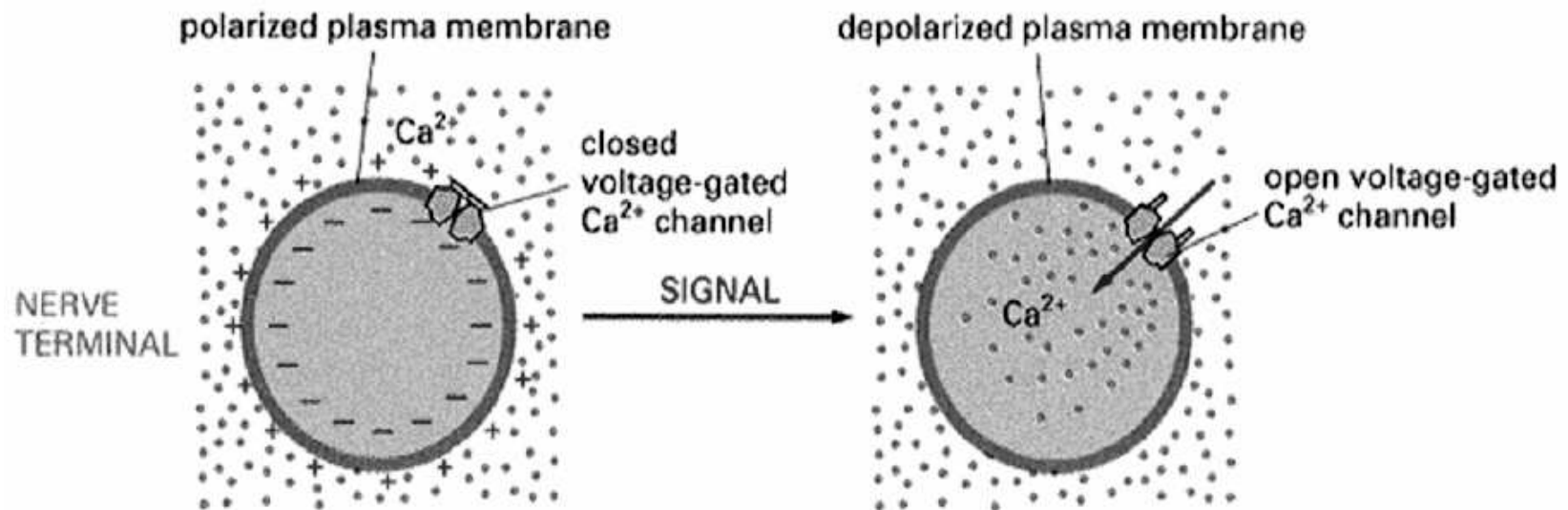
Systemy udržující nízkou koncentraci Ca^{2+} v cytozolu





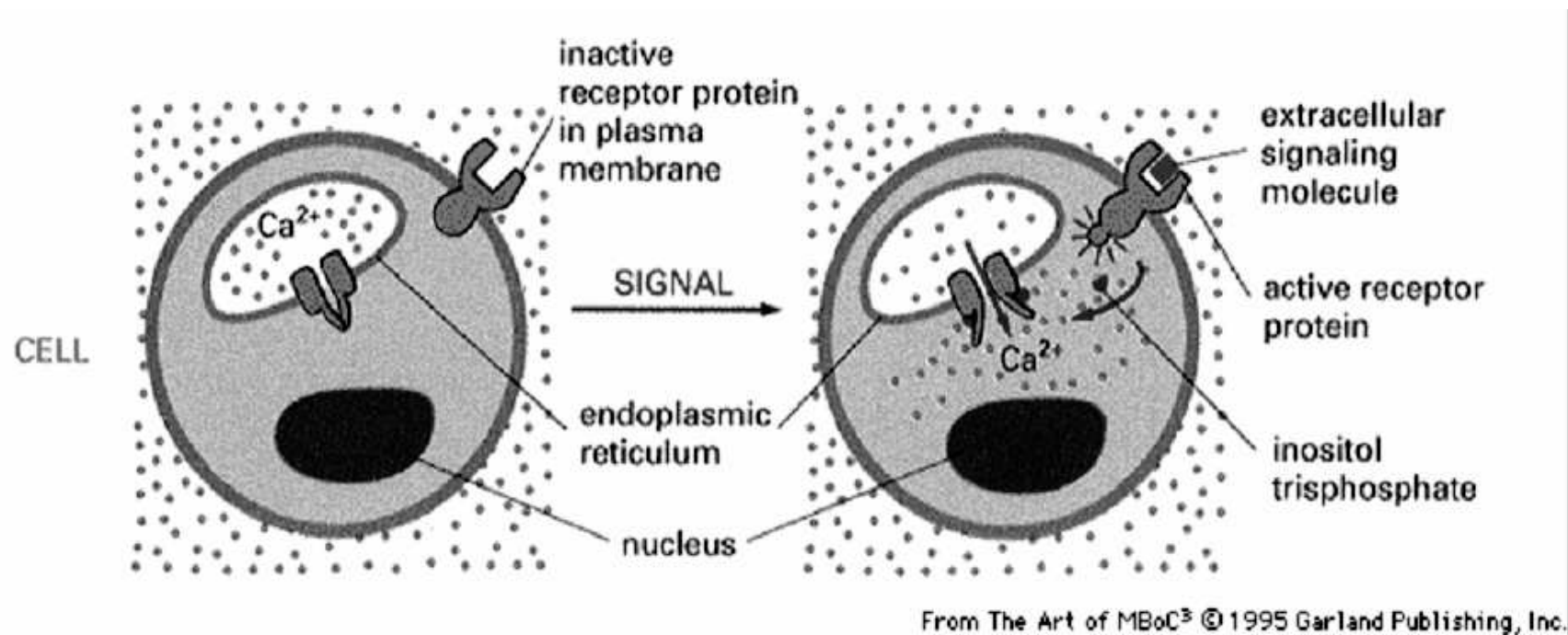
Dva způsoby vstupu Ca^{2+} do cytozolu

1. Depolarizace membrány (akčním potenciálem) - otevření vápníkových kanálků - zvýšený příjem Ca^{2+} z vnějšího okolí



Dva způsoby vstupu Ca^{2+} do cytozolu

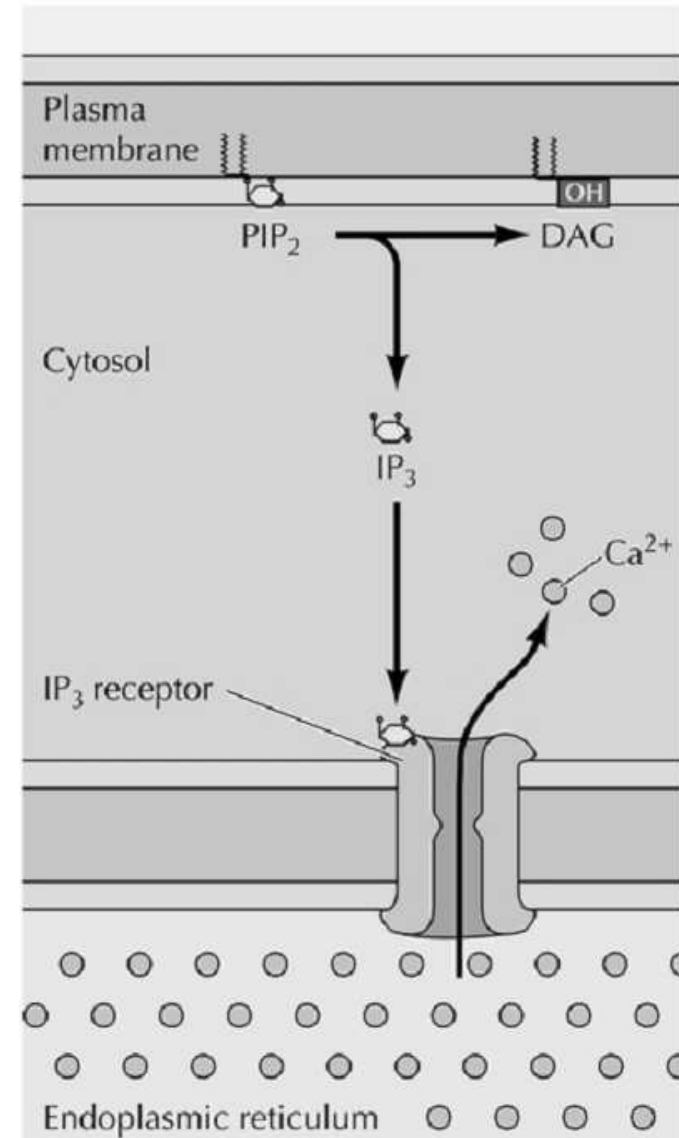
2. Vazba ligandu k receptoru - aktivace proteinu G - tvorba sekundárního přenašeče (IP_3) - otevření kanálků v membránách organel - zásobárnách Ca^{2+} - uvolnění Ca^{2+} z organel do cytozolu

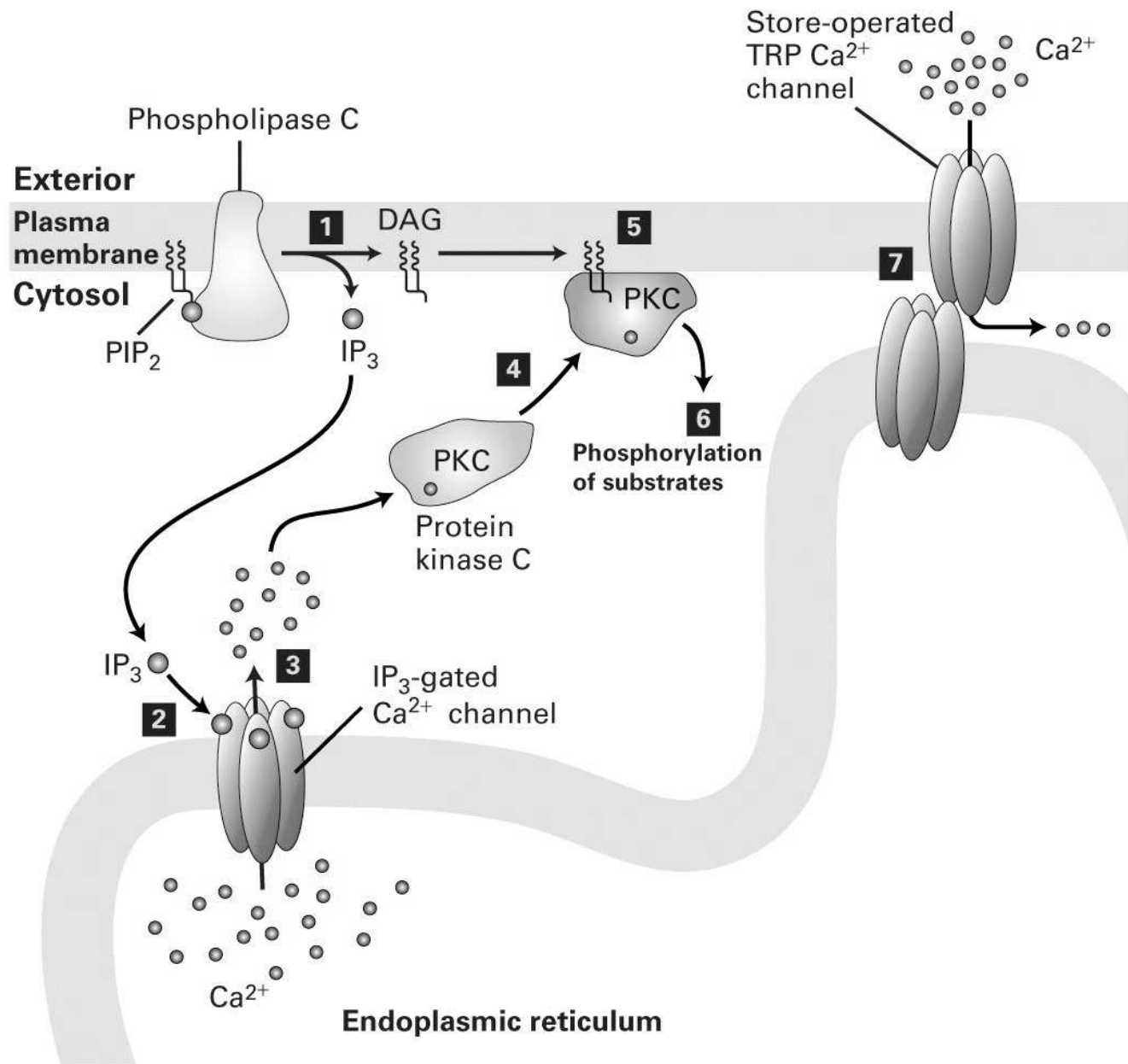


Fosfolipáza C určuje hladinu IP₃, který otevírá kanálky Ca²⁺ v ER

Vazba ligandu k receptoru

- aktivace proteinu G - aktivace fosfolipázy C - tvorba inositoltrifosfátu (IP₃) a diacylglycerolu (DAG)
- IP₃ opouští plazmatickou membránu a difunduje cytozolem
- otevře kanálky Ca²⁺ v ER - uvolnění Ca²⁺

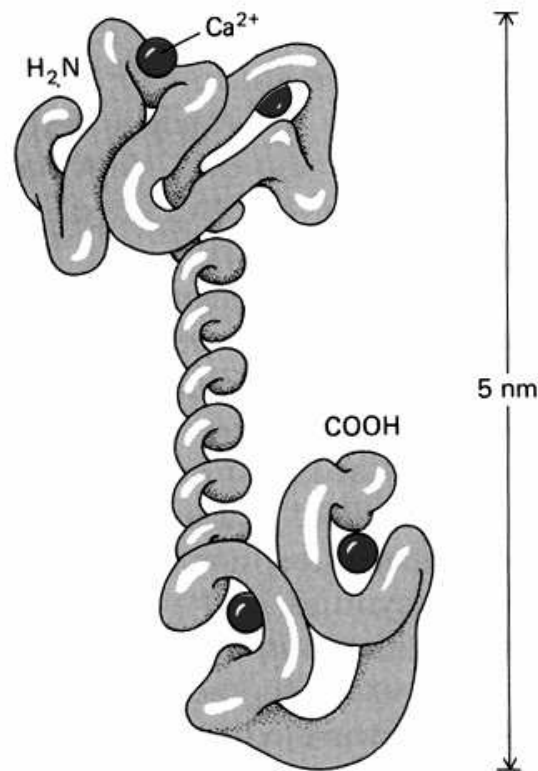




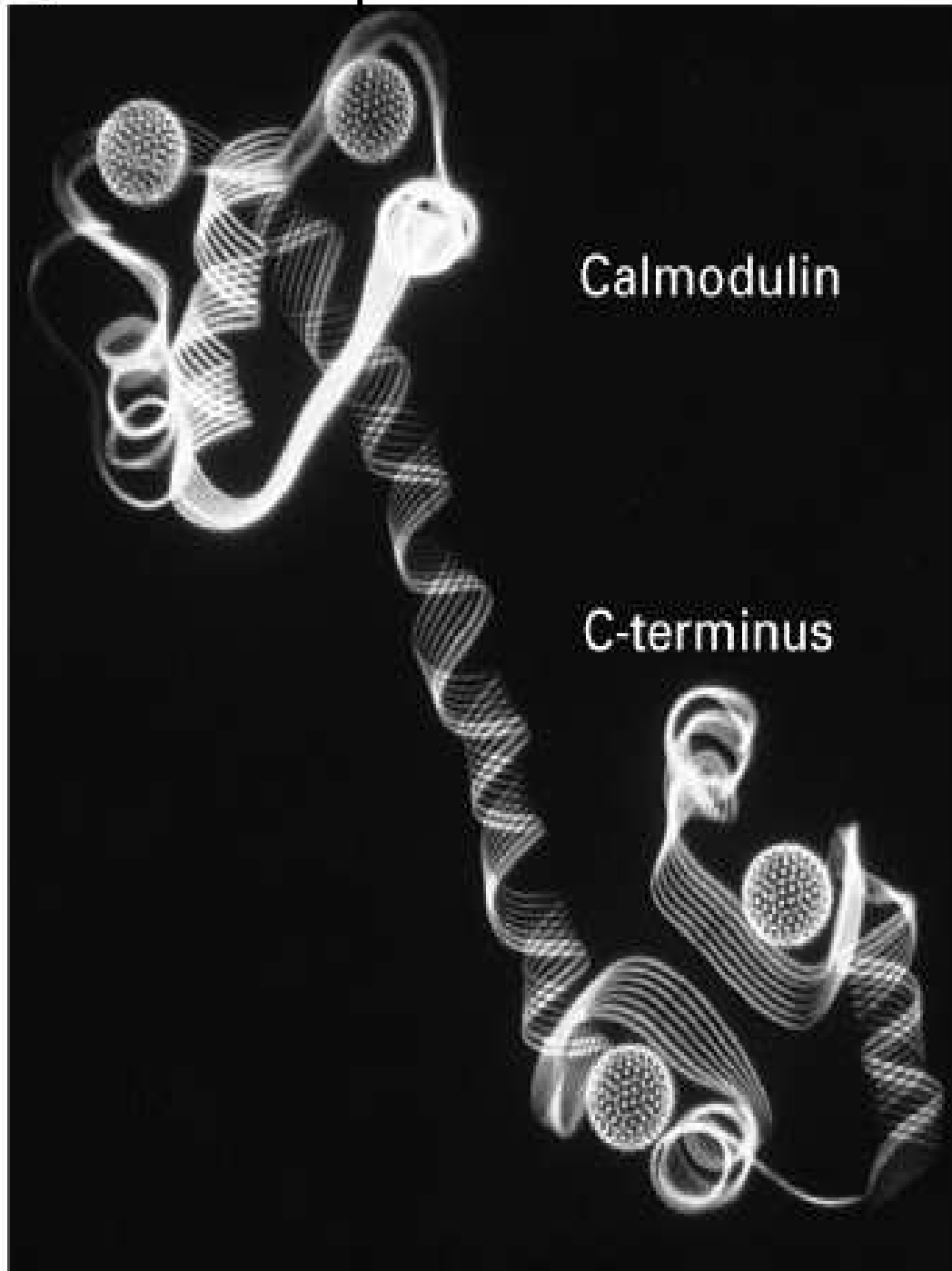
Cílové proteiny pro signalizaci ionty Ca^{2+}

Troponin C - přítomen v buňkách kosterního svalstva
- úloha při svalové kontrakci

Kalmodulin - jediný polypeptid se 4 místy pro vazbu Ca^{2+}
- zprostředkovává většinu reakcí na Ca^{2+}



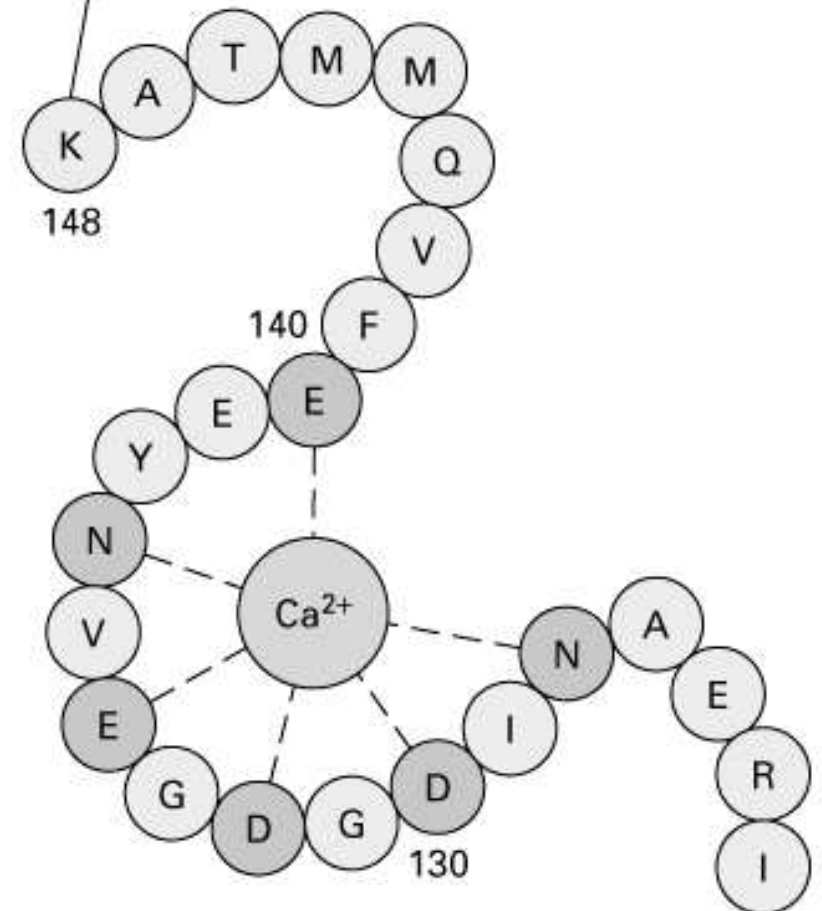
(a) Komplex Ca^{2+} -CAM



Sekvence aminokyselin
jednoho ze 4 vazebných
míst pro ionty Ca^{2+}

(b)

C-terminus

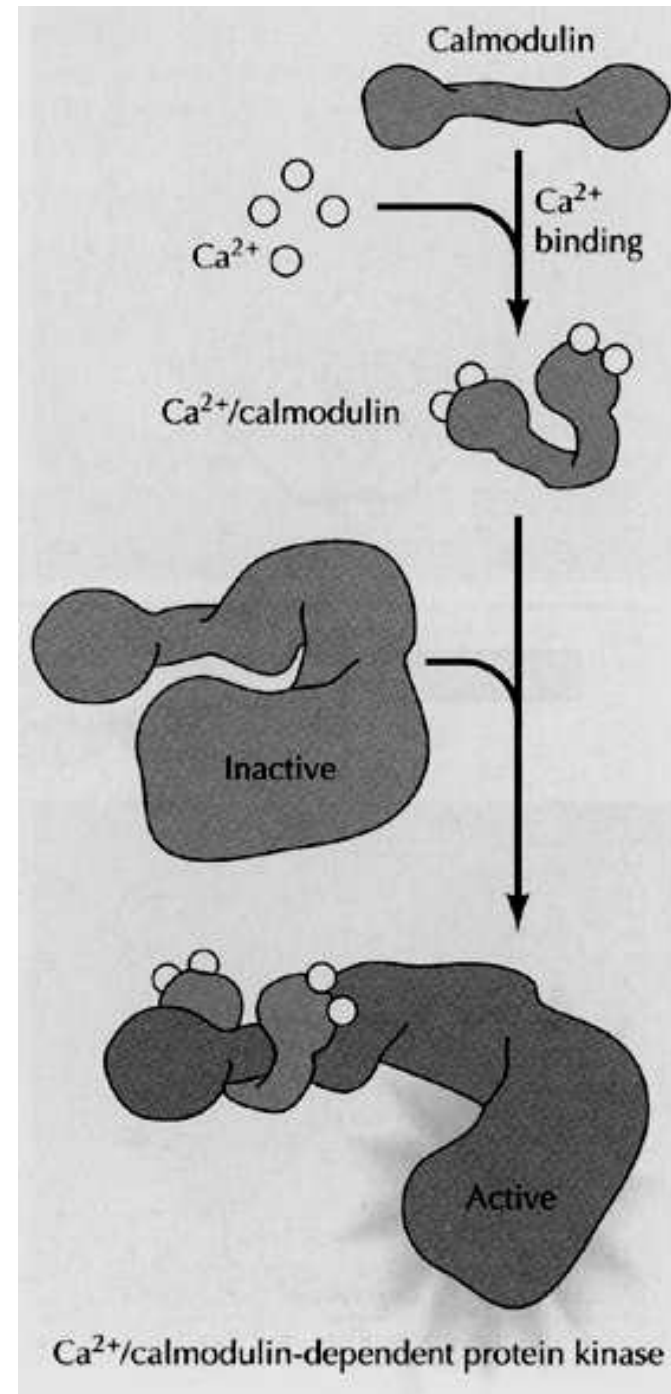


Kalmodulin - funkce

Princip:

- vazba Ca^{2+} na kalmodulin - zvýšení afinity pro jiné proteiny
 - změna jejich aktivity
- někdy je kalmodulin stálou regulační složkou enzymových komplexů
- důležitou cílovou molekulou řízenou komplexu kalmodulin/ Ca^{2+} je Ca^{2+} -dependentní protein kináza (**Ca-kináza**), která fosforyluje Ser/Thr cílových proteinů

Funkce kalmodulinu

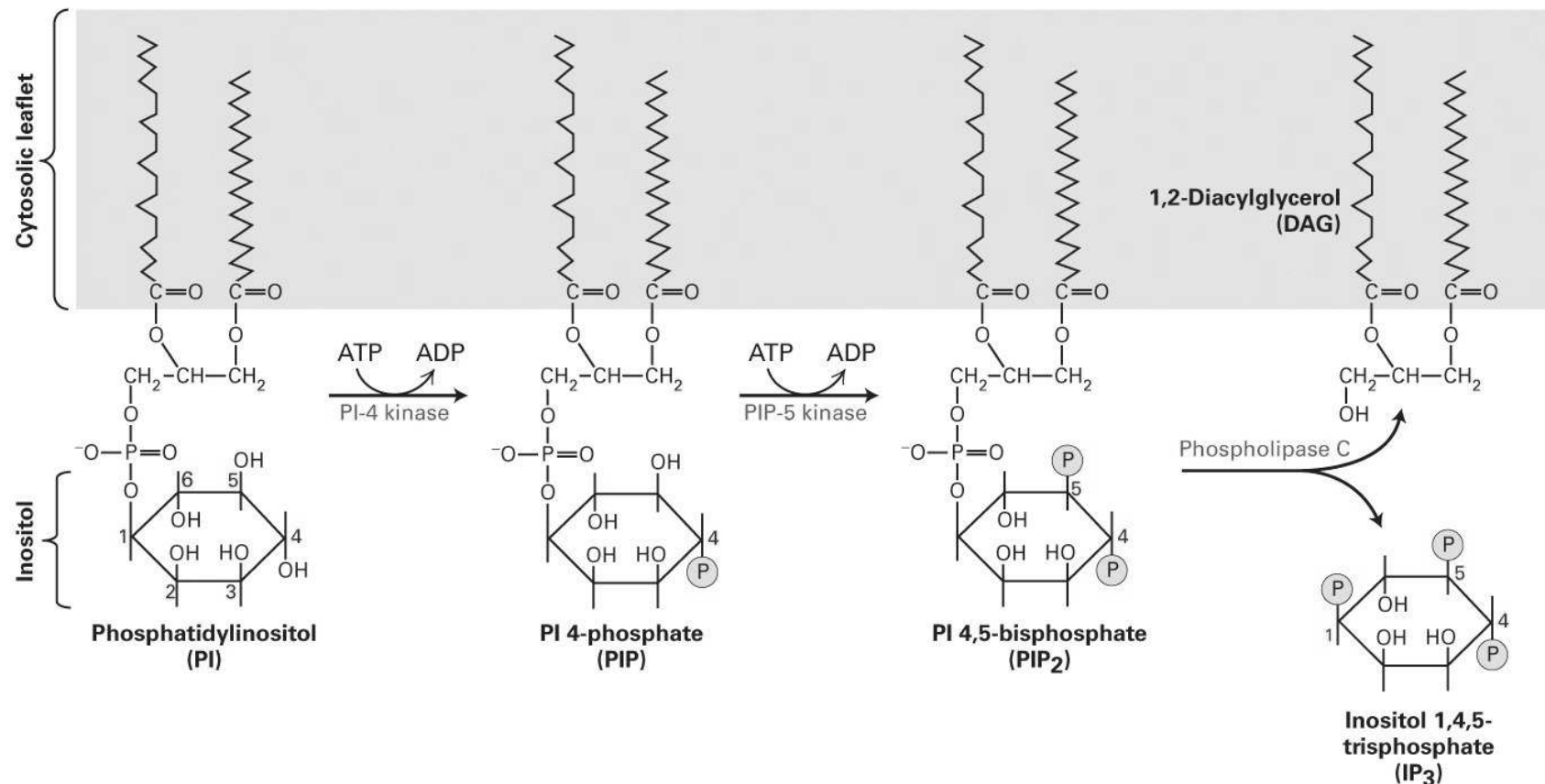


Signální dráhy řízené cAMP a Ca²⁺ vzájemně interagují

1. Hladiny cAMP a Ca²⁺ se ovlivňují navzájem:
 - např. komplexy Ca²⁺/kalmodulin mohou vázat a regulovat aktivitu cAMP fosfodiesterázy a adenylát cyklázy
 - kináza A může fosforylovat některé kanálky určující obsah Ca²⁺ v cytozolu
2. Ca-kináza může být fosforylována kinázou A
3. Kináza A a kináza Ca často fosforylují aminokyseliny téhož proteinu (např. CREB)

4. Dráha inositolových fosfolipidů

Syntéza DAG a IP3 z membránově vázaného fosfatidylinositolu (PIP)

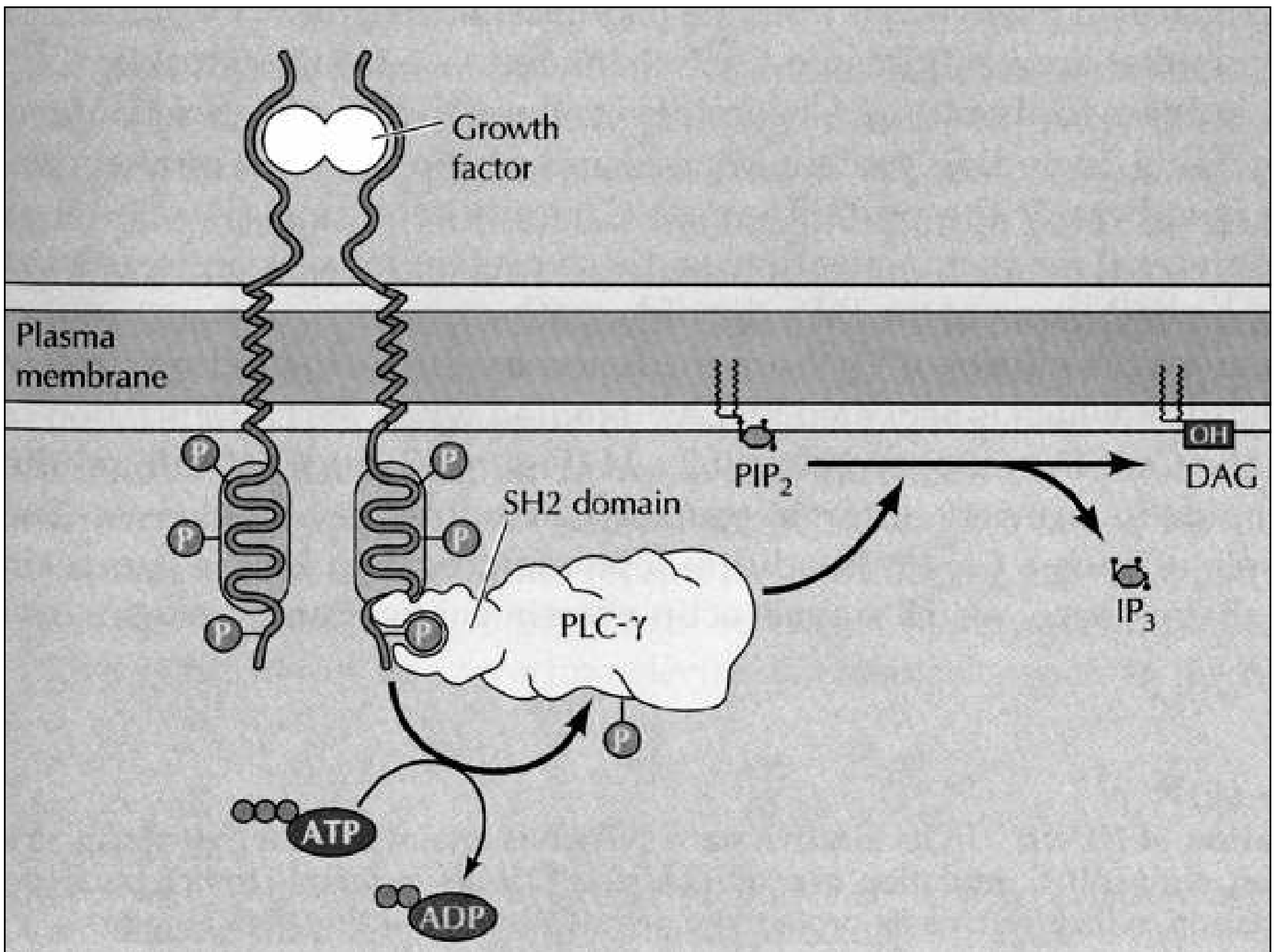


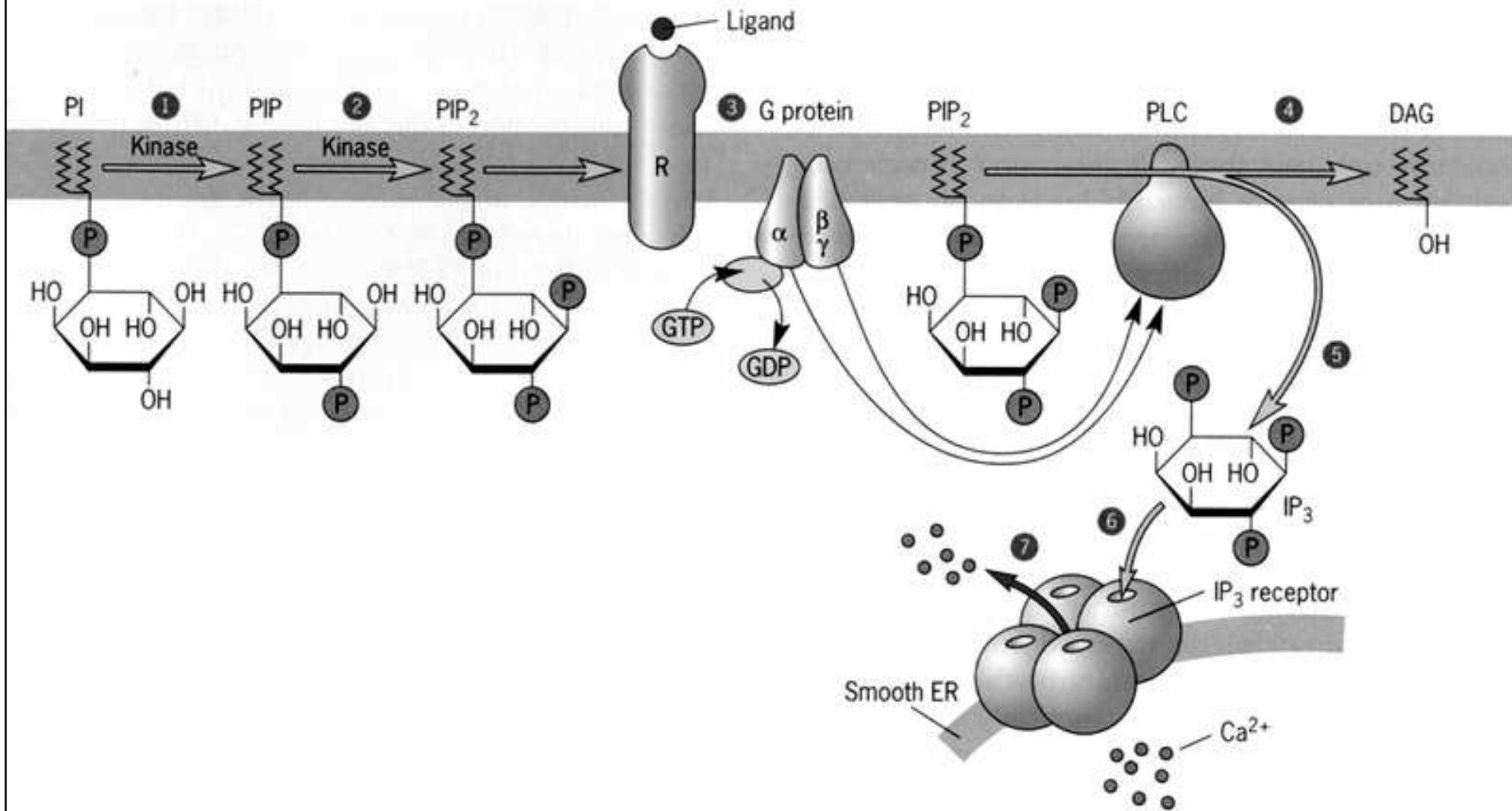
Who's who?

PI	Phosphoinositide
PIC	Phosphoinositidase C
PI3-Kinase (PI3K)	Phosphoinositide 3-kinase
PtdIns (PtdI, PI)	Phosphatidylinositol
PtdIns(3)P (PtInsP, PIP)	Phosphatidylinositol 3-phosphate
PtdIns(4,5)P₂ (PI(4,5)P₂, PIP₂)	Phosphatidylinositol (4,5)-bisphosphate
PtdIns(3,4,5) P₃ (PI(3,4,5)P₃, PIP₃)	Phosphatidylinositol (3,4,5)-phosphate
Ins(1,4)P₂ (IP₂)	Inositol (1,4) bisphosphate
Ins(1,4,5)P₃ (IP₃)	Inositol (1,4,5) trisphosphate
DAG	Diacylglycerol
PLC	Phospholipase C

První část signalizace: plazmatická membrána

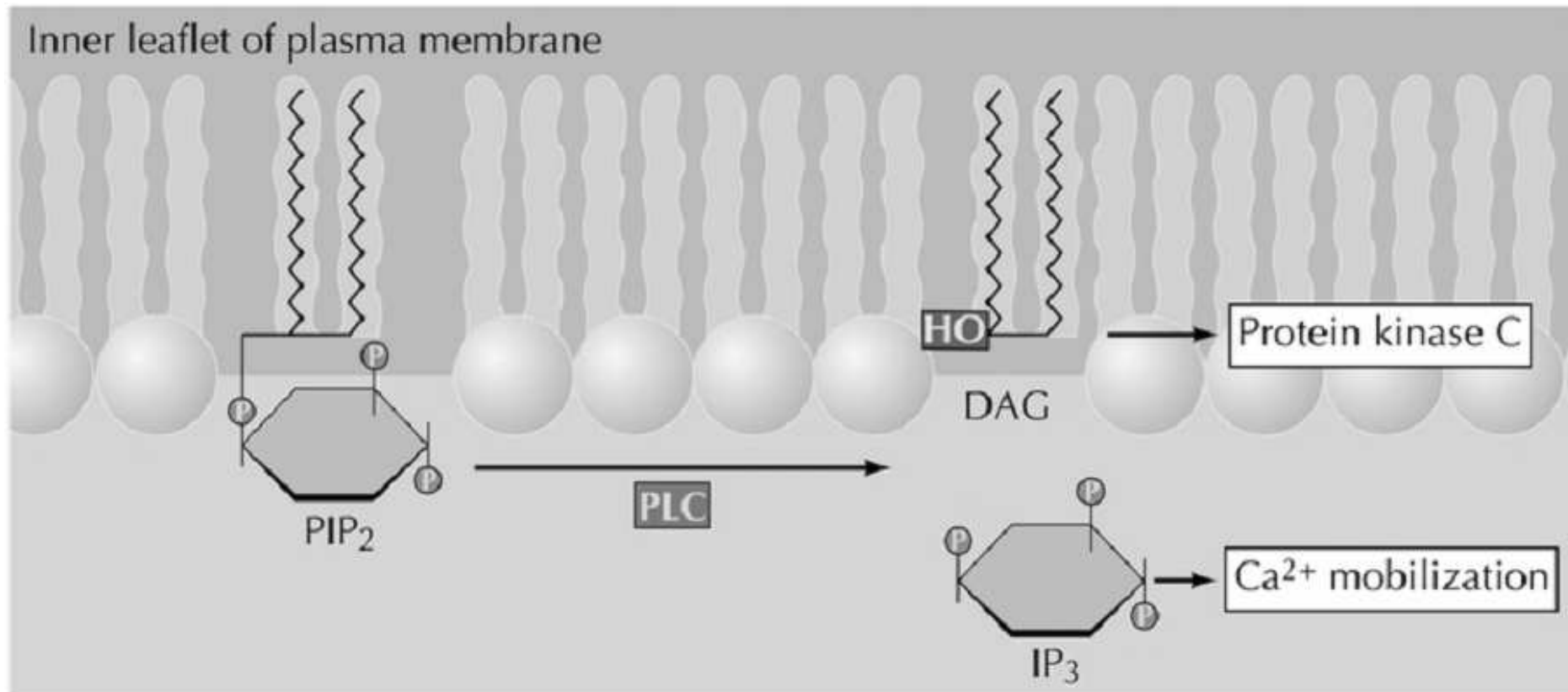
- vazba ligandu na povrchový receptor s kinázovou aktivitou
- aktivace fosfolipázy C (dva způsoby):
 - a) interakce aktivovaného receptoru s fosfolipázou $C\gamma$ prostřednictvím domény SH2
 - b) Interakce aktivovaného receptoru s proteinem G a následná aktivace fosfolipázy $C\beta$
- štěpení PIP_2 na IP_3 a DAG



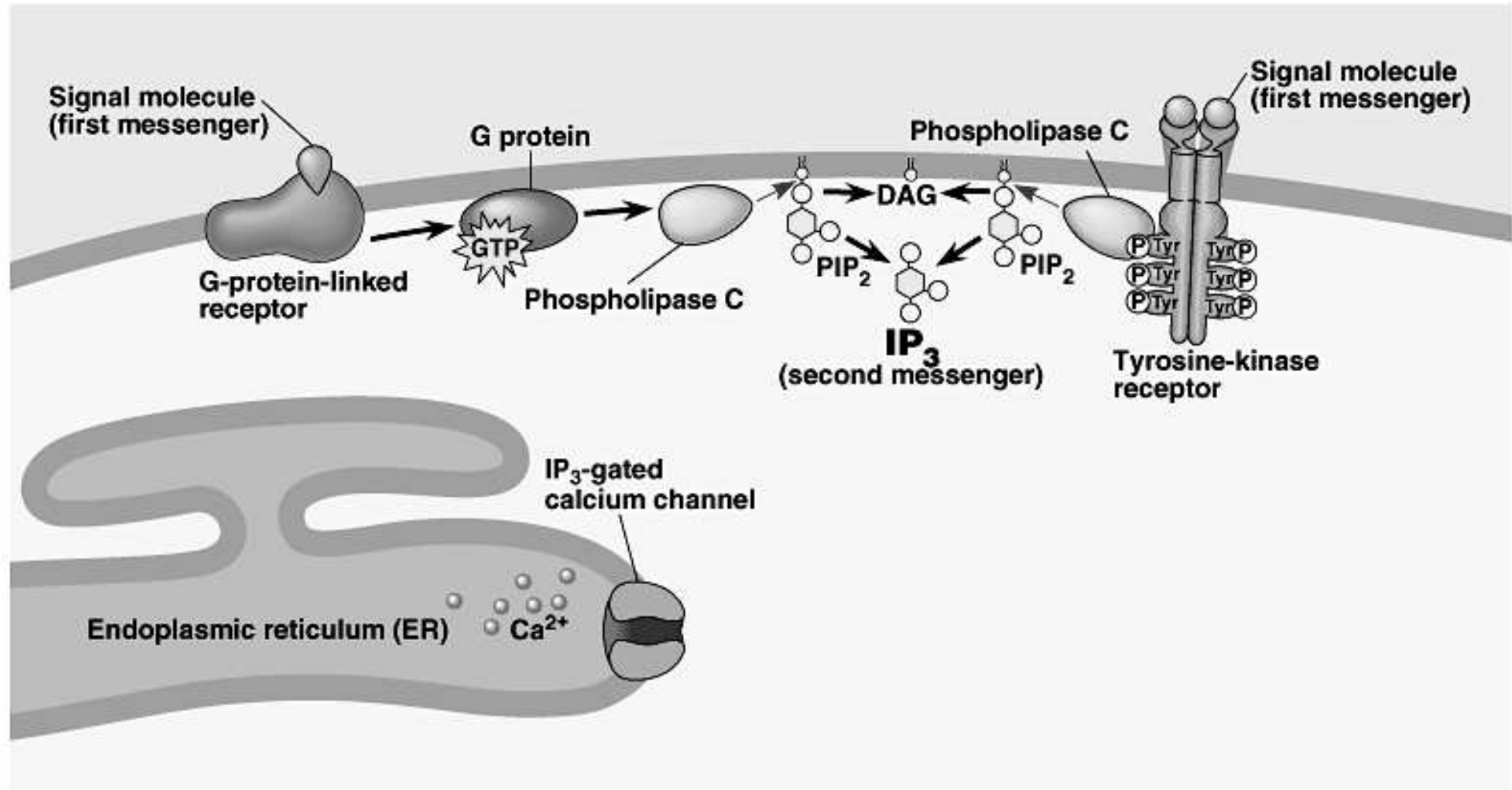


Druhá část signalizace: plazmatická membrána + cytozol

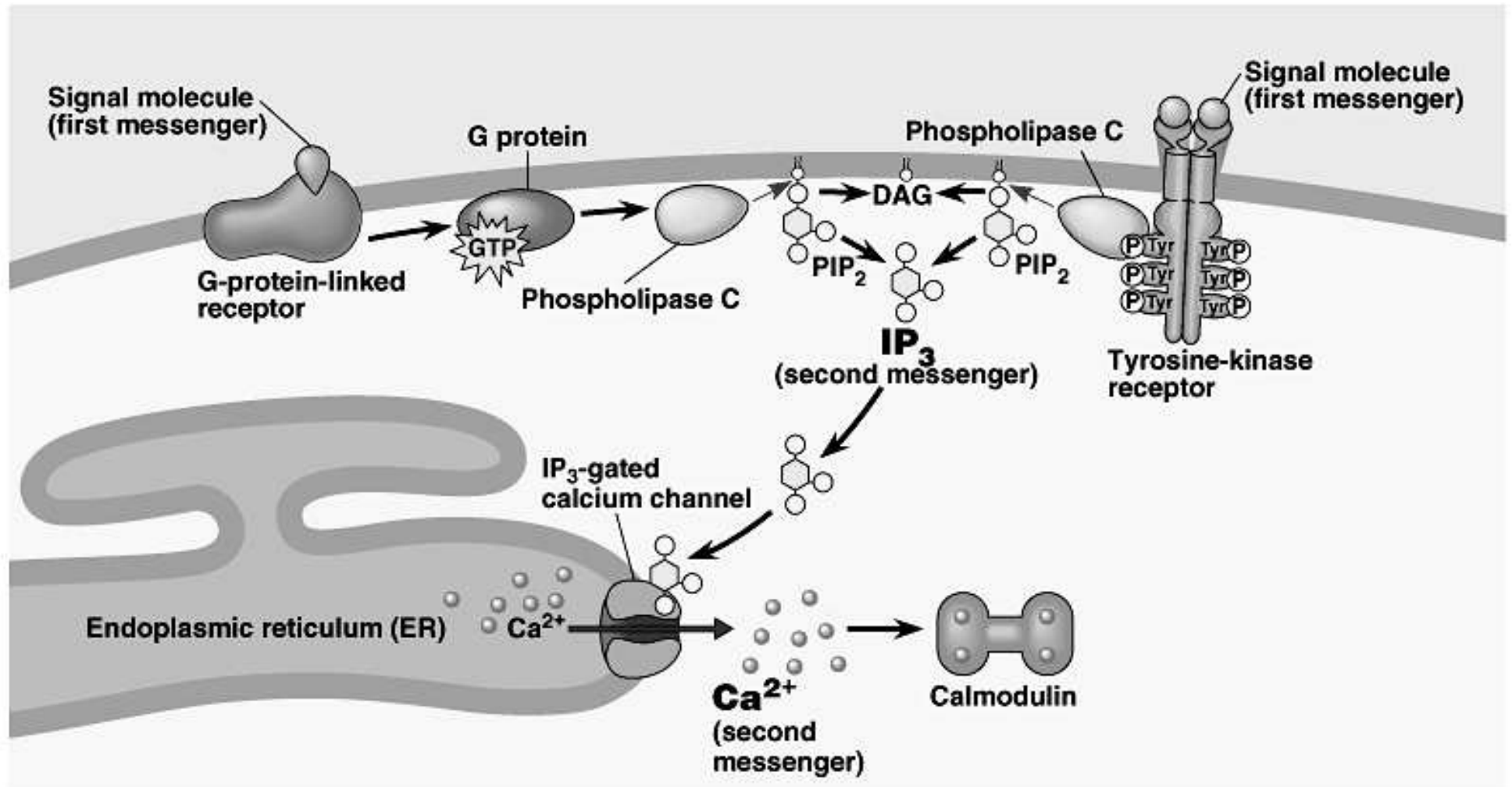
- Inositol 3P zajistí **uvolnění Ca^{2+}** z buněčných zásob
- Diacylglycerol:
 - a) štěpení na **kyselinu arachidonovou** - syntéza prostaglandinů
 - b) aktivace **protein kinázy C**



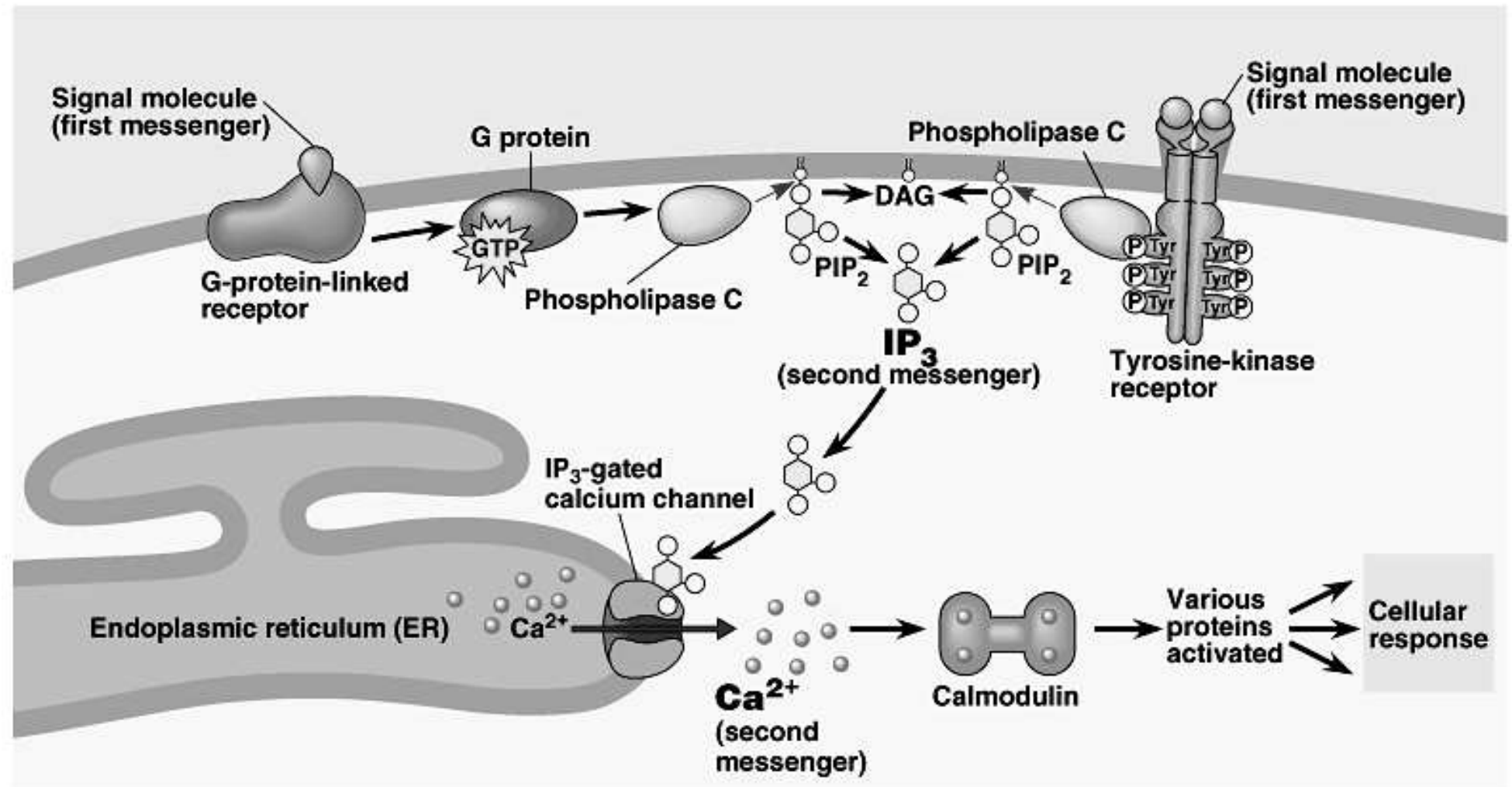
Tvorba IP_3 v blízkosti plazmatické membrány



Přesun IP_3 do cytozolu



Otevření Ca^{2+} kanálků



Protein kináza C

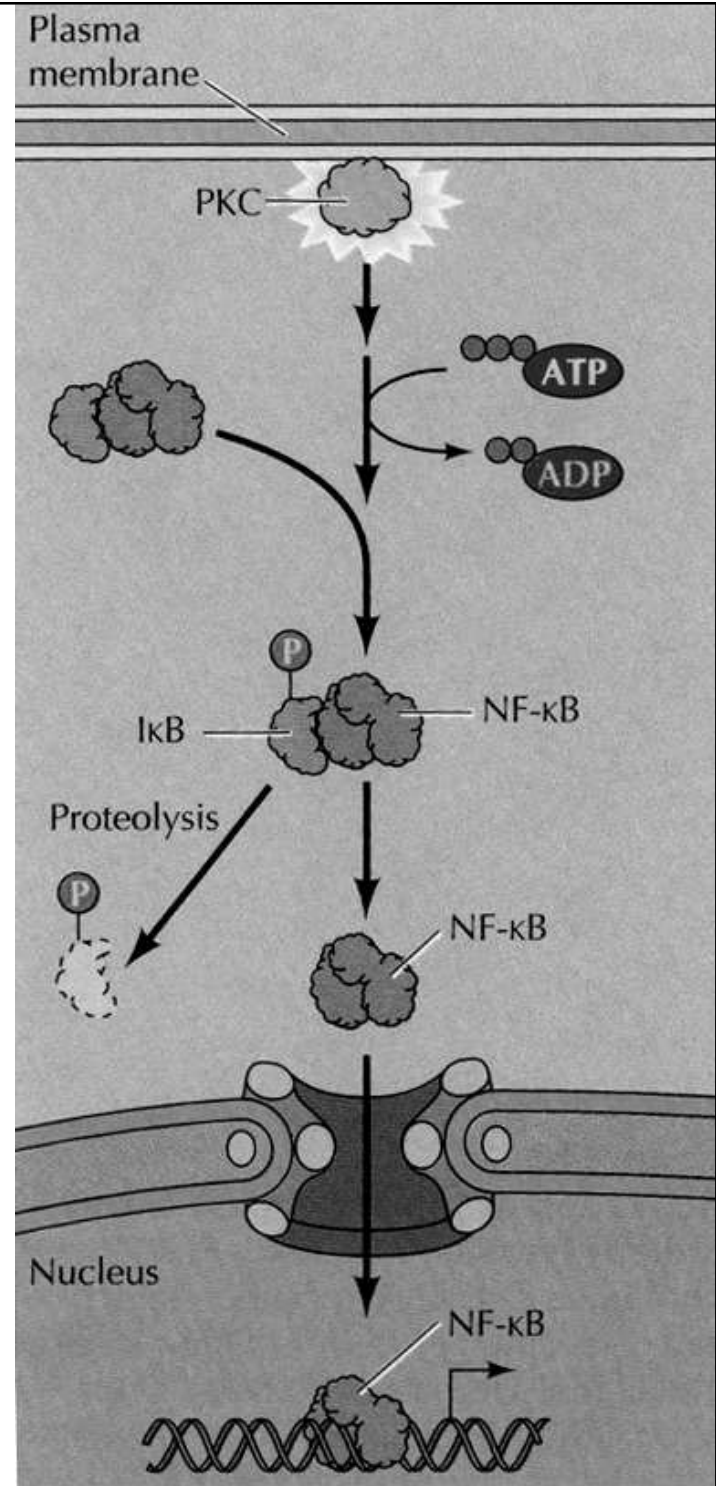
-fosforyluje řadu substrátů, např. protein **NFκB** (zapojen do imunitních reakcí)

Inaktivní NFκB

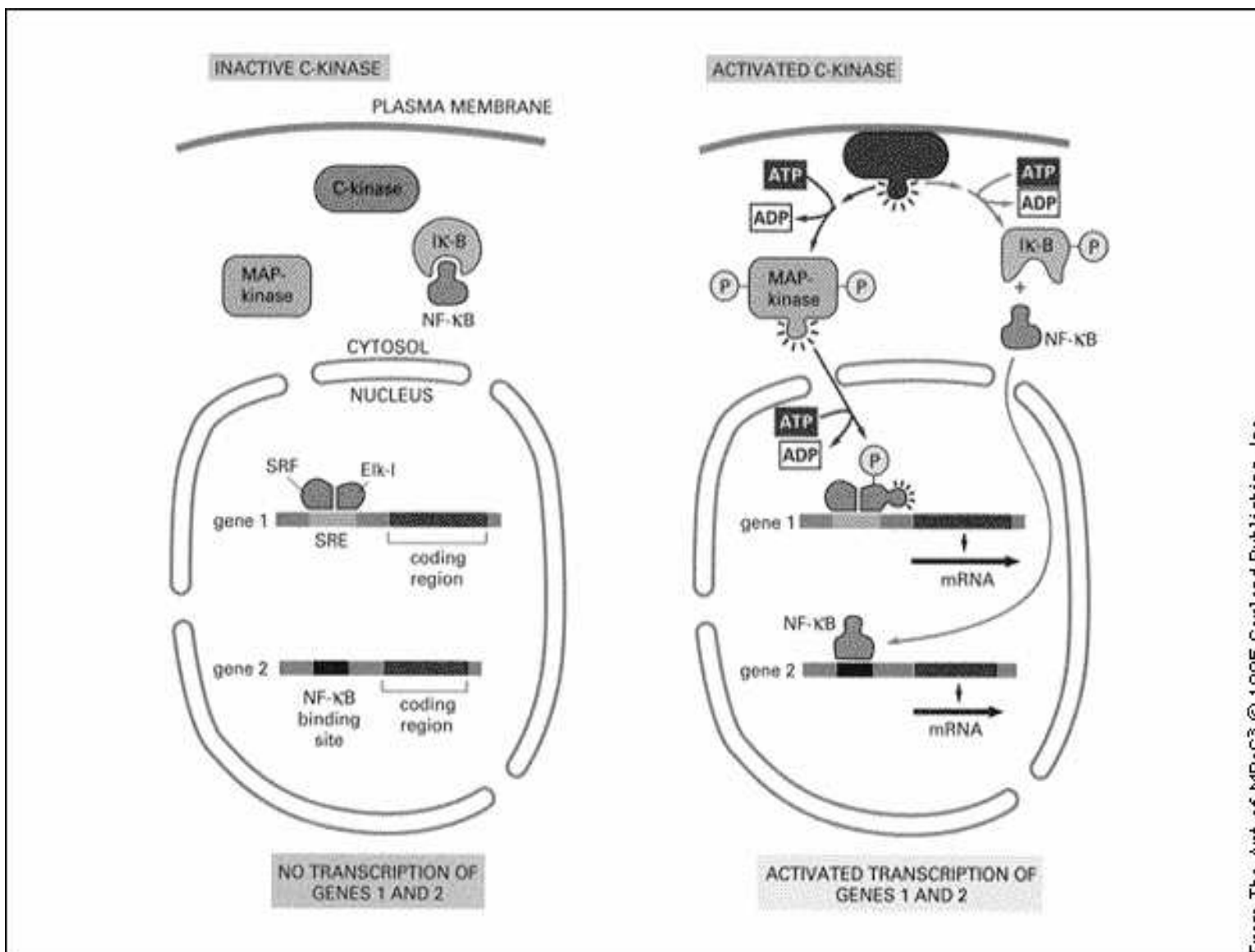
-výskyt v cytoplazmě v komplexu s inhibítorem IκB

Aktivace NFκB

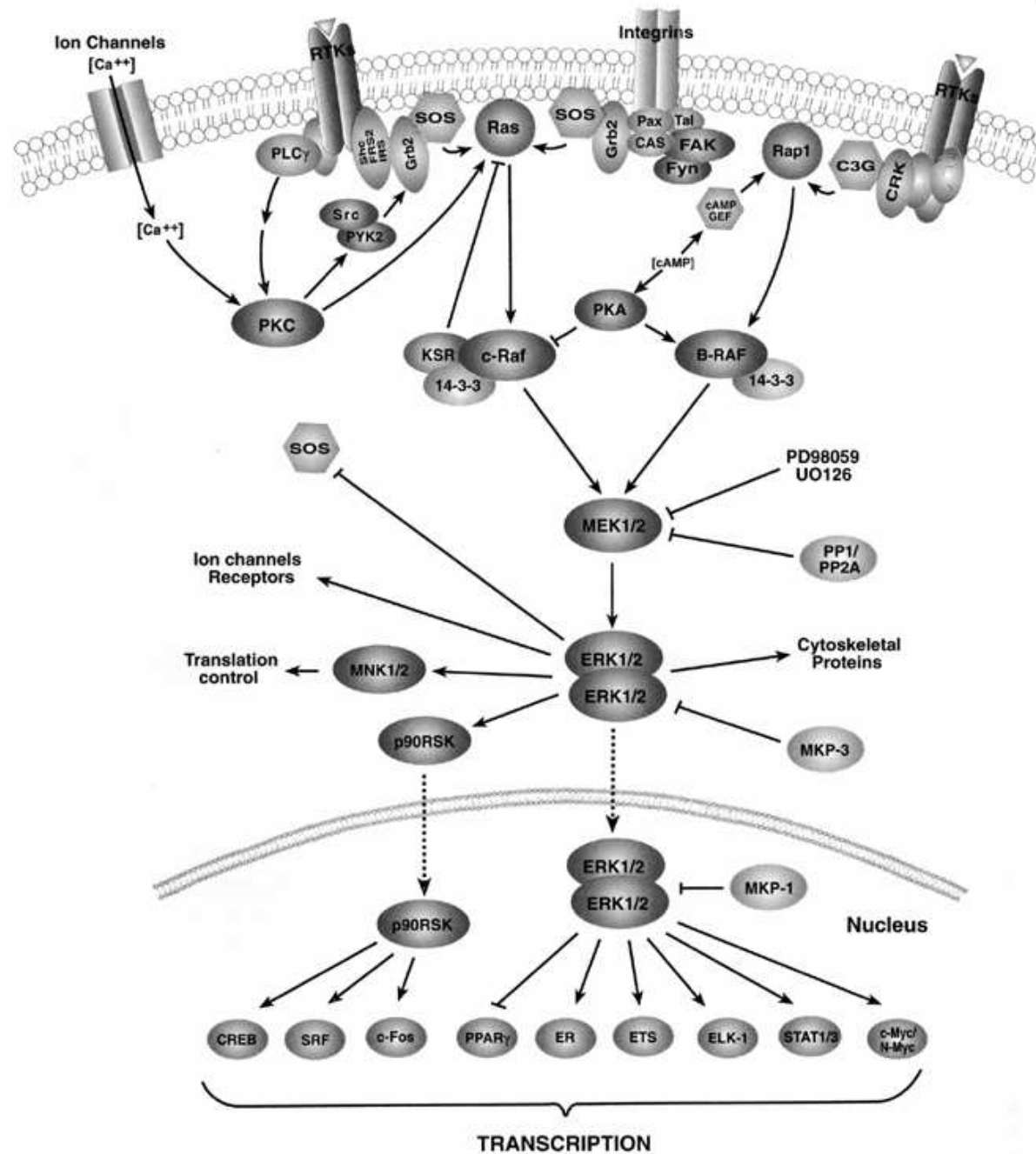
-fosforylace IκB protein kinázou C
-zvýšení citlivosti IκB k proteázám
-uvolněný NFκB je translokován do jádra
-aktivace exprese cílových genů



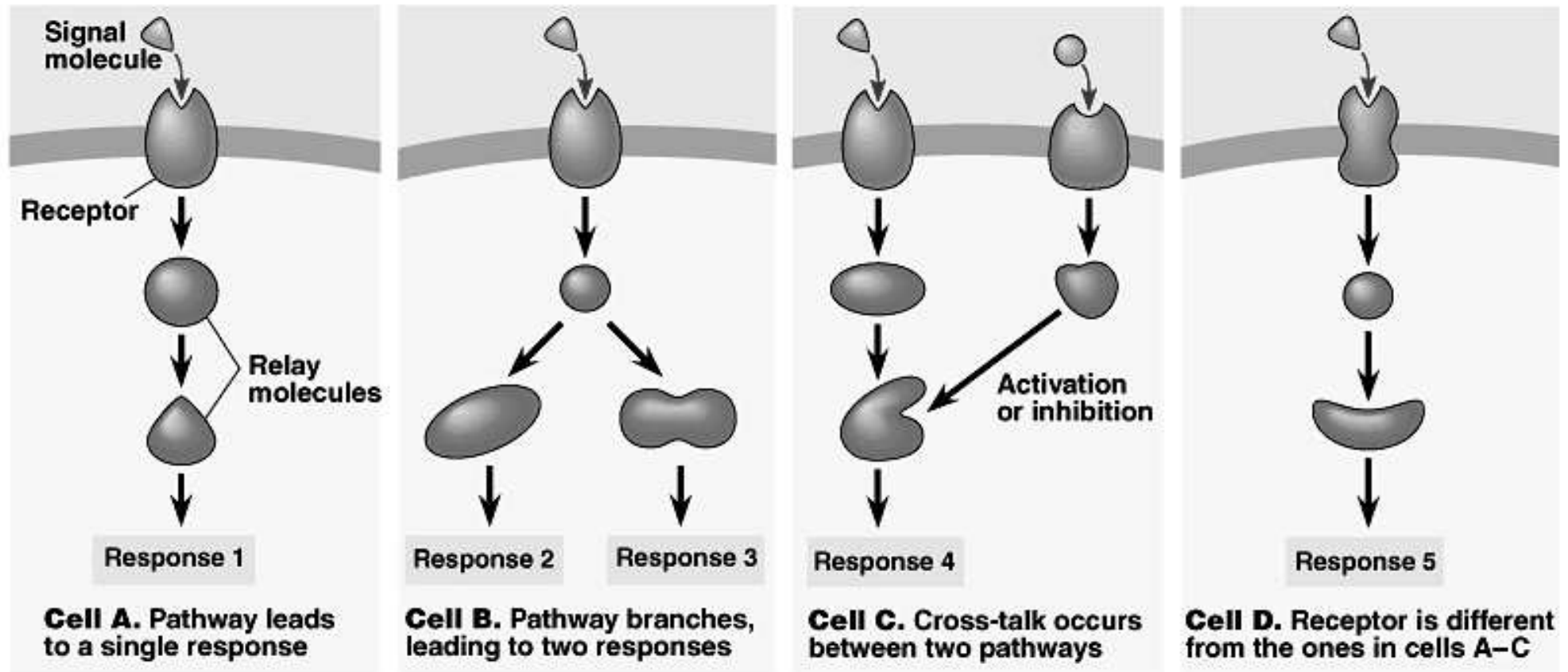
Protein kináza C je zapojena do reakcí buňky na mitogeny



MAPK/ERK in Growth and Differentiation

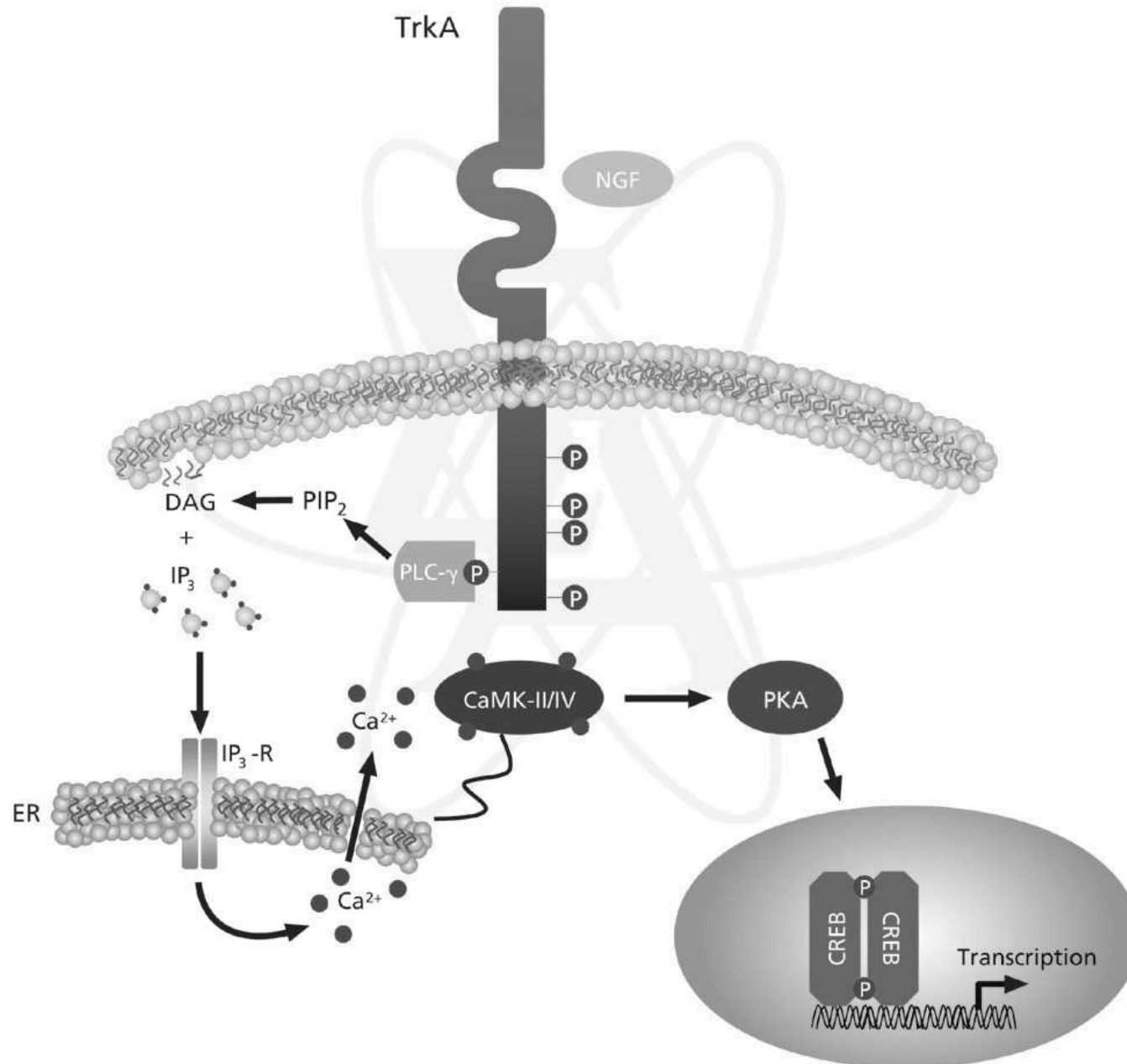


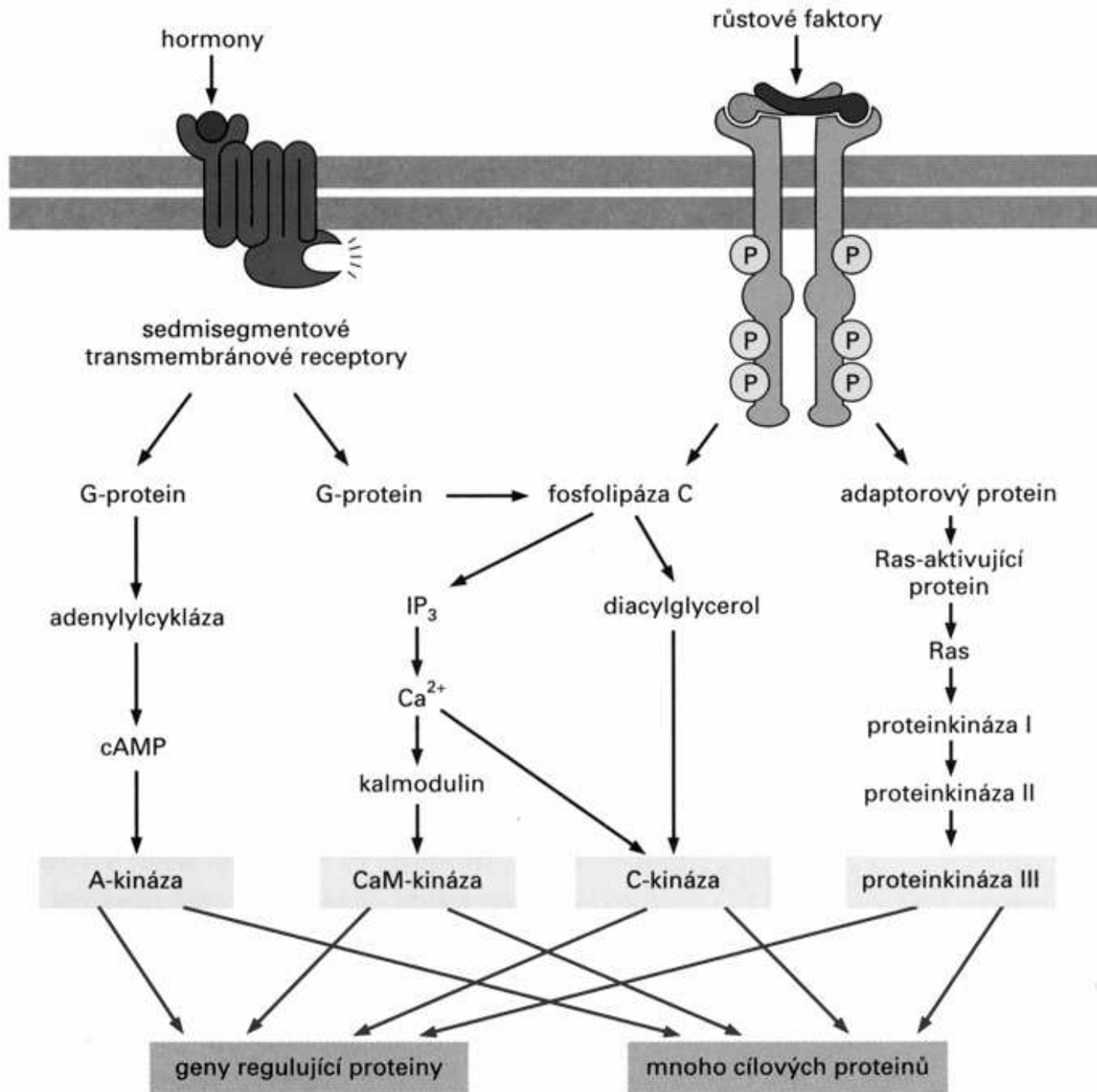
Specifita signálních drah



Signaling by Inositol Phospholipids

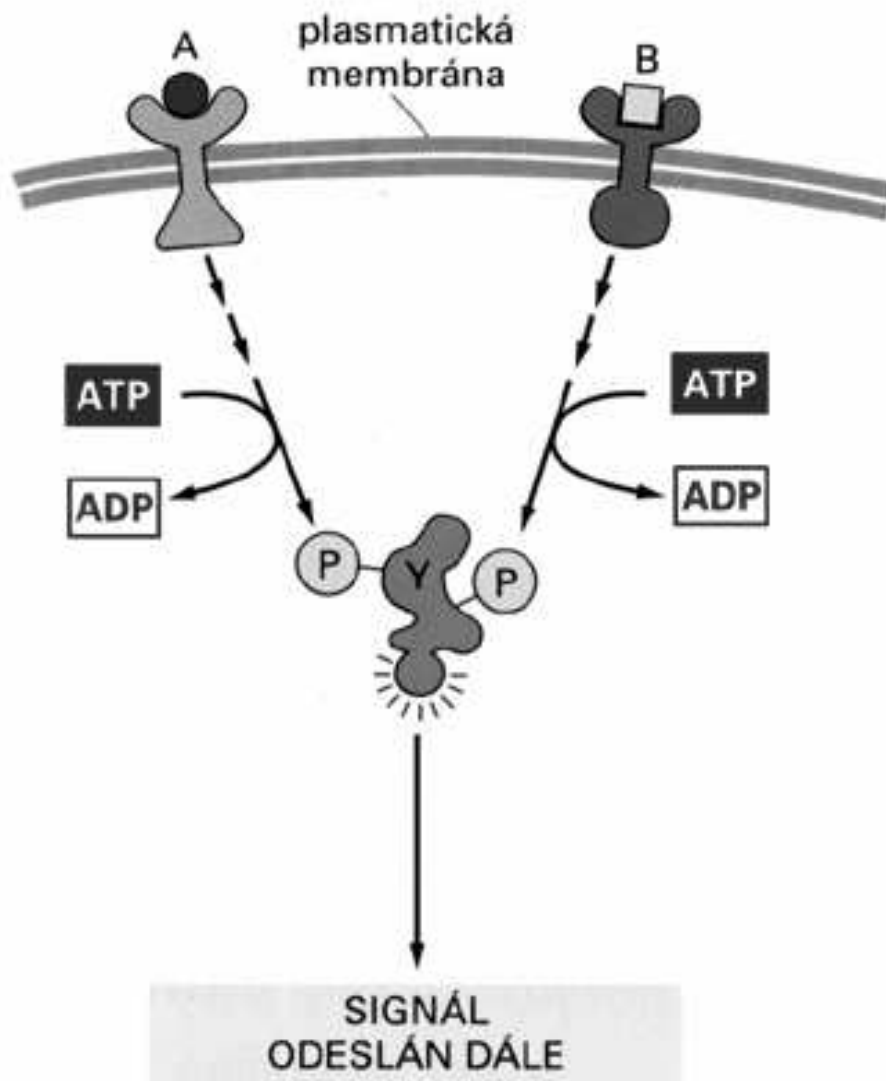
SIGMA-ALDRICH



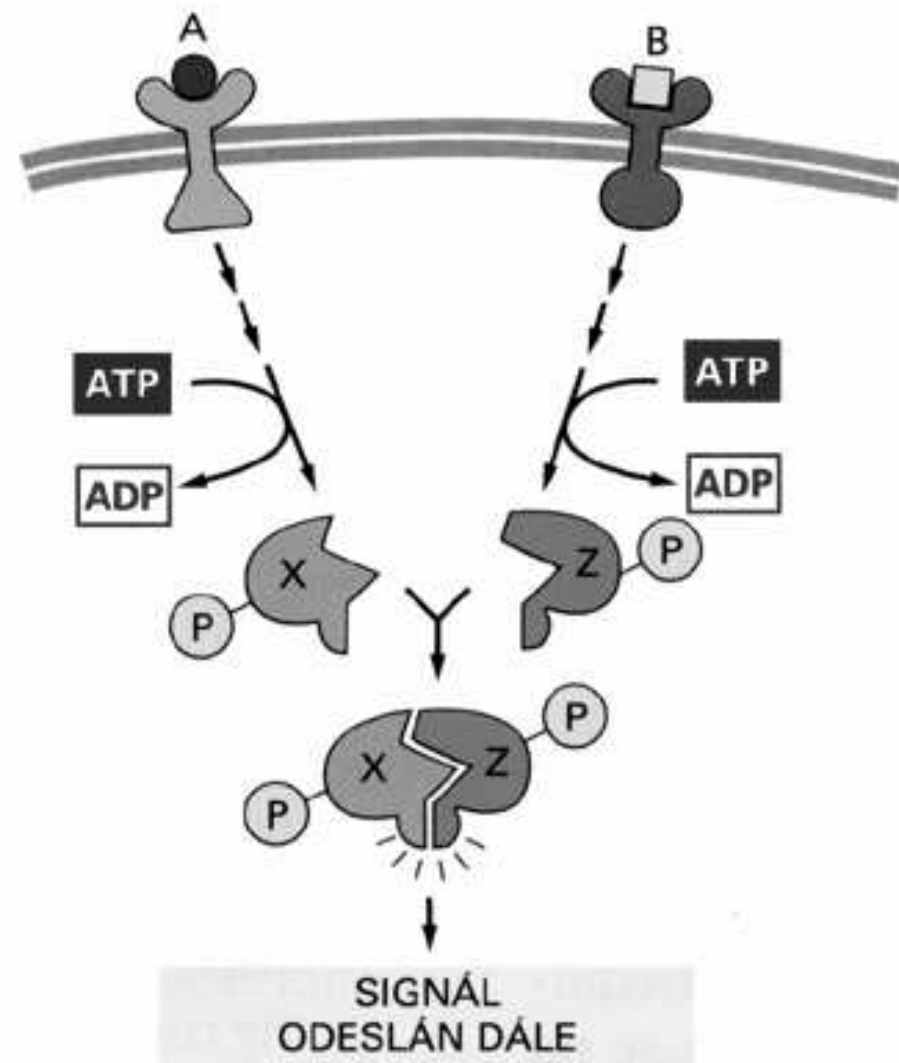


Mechanismy integrace signálu

(A)



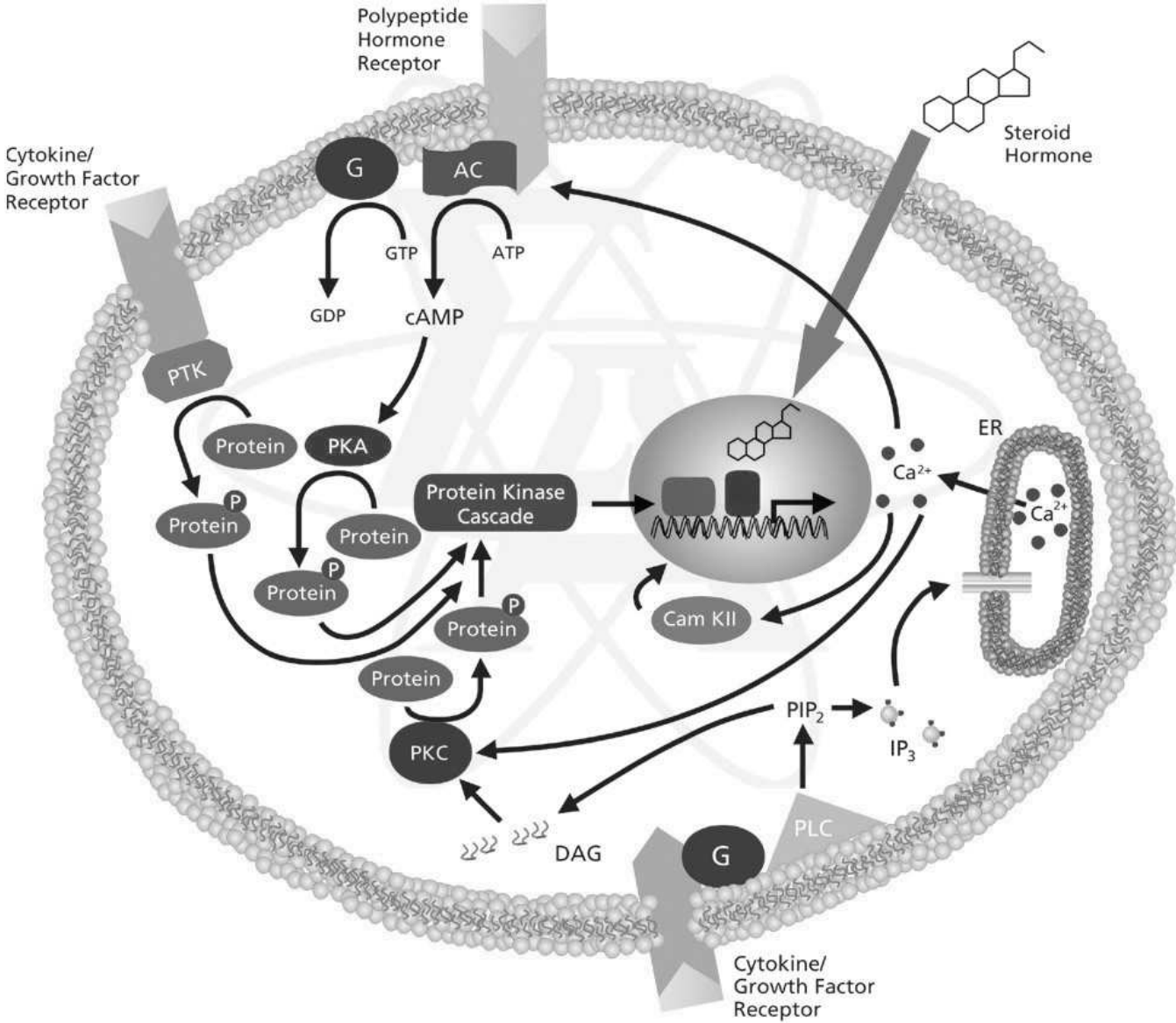
(B)



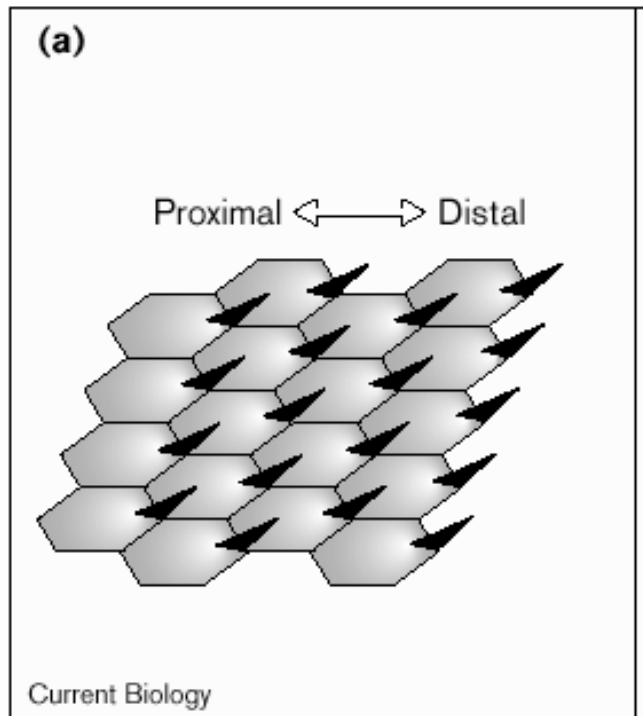
Integrující proteiny

- proteiny, které umožňují spojování informací z různých zdrojů
- mají několik míst, která mohou být fosforylována různými kinázami
- vysílají signál k různým cílům

Souhrn



Signály ve vývojových drahách- Wg (Wnt)



Správná polarita křídla *Drosophily* závisí na signální dráze *Wingless*. Pro zajištění orientace vlásků vyčnívajících z distální části každé buňky křídla jsou nutné proteiny **Frizzled** and **Dishevelled**. V případě jejich nepřítomnosti je orientace vlásků křídel narušena.

Donald G. McEwen and Mark Peifer (2000) "Wnt signaling: Moving in a new direction." *Current Biology* 10: R562–R564

Signály ve vývojových drahách Wg (Wnt)

Wg = wingless (u Drozofily) u obratlovců je ekvivalentem Wnt

Wnt je signální protein, který se váže na transmembránový receptor (sedminásobné vinutí membránou), který je kódován genem frizzled

Vazba Wnt aktivuje dishevelled, který je součástí kaskády: inhibuje kinázu glykogen syntázy GSK, která fosforyluje β -katenin. Fosforylovaný β -katenin podléhá proteolýze. Defosforylovaný β -katenin přechází do jádra a zajistí transkripci Wnt-specifických genů.

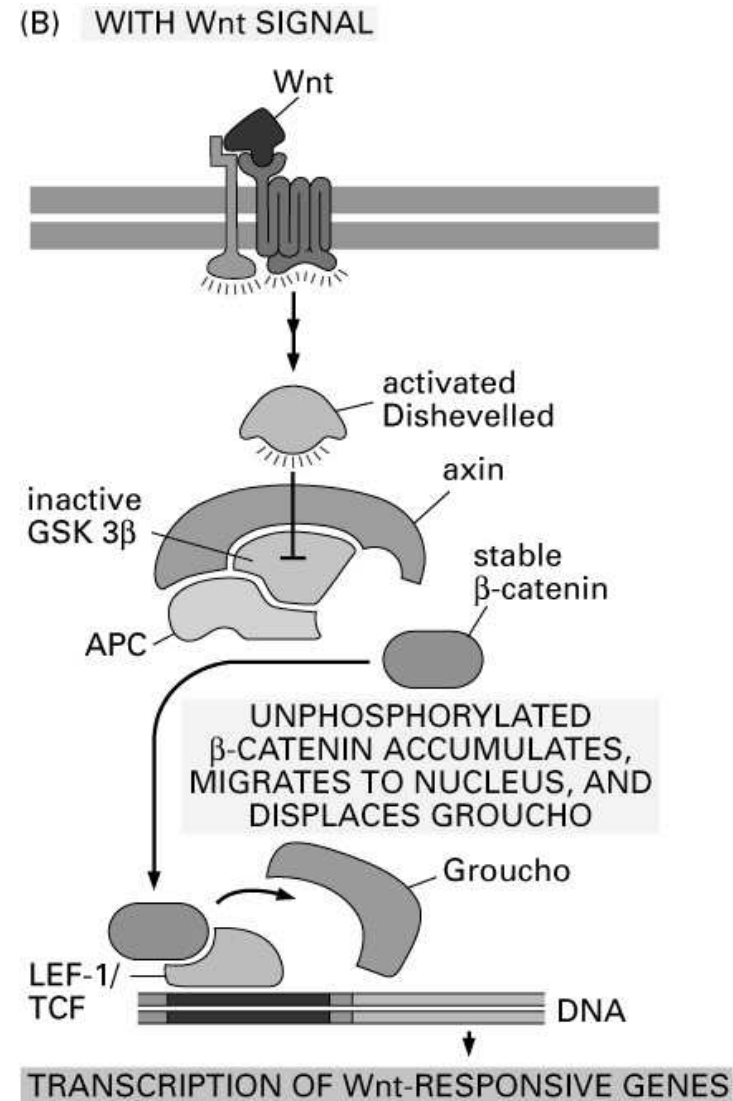
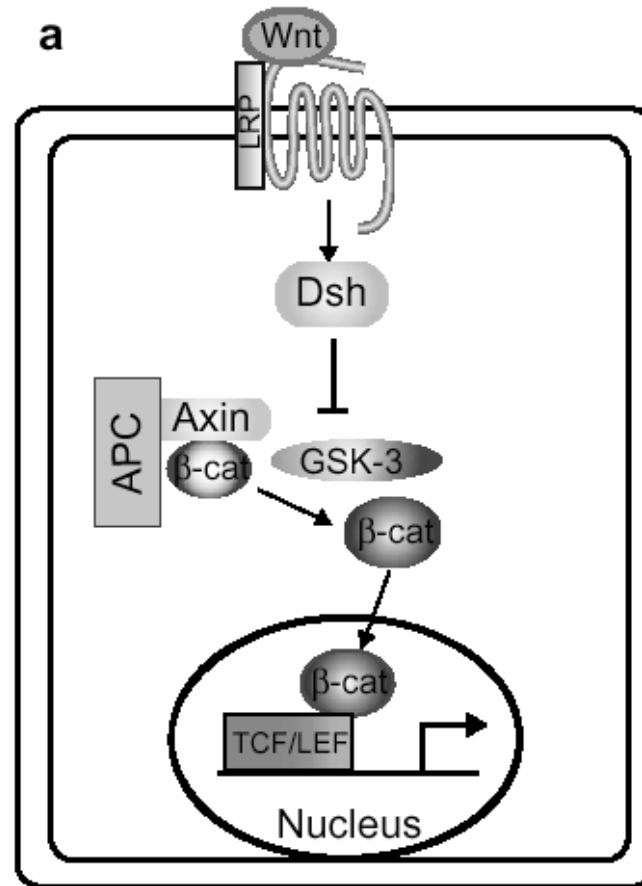


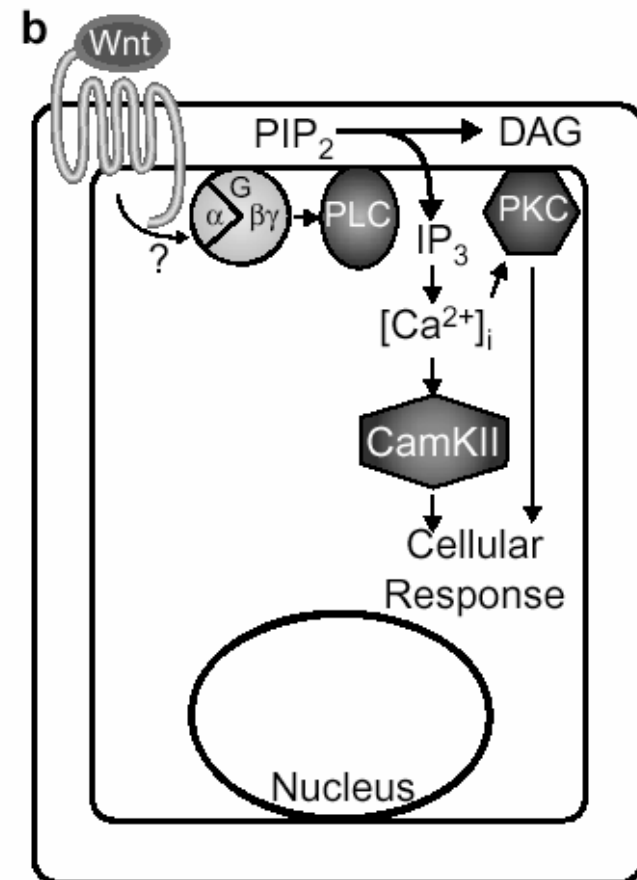
Figure 15-72 part 2 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Signály ve vývojových drahách Wg (Wnt)

Wnt je
zapojen do
signalizace
ionty Ca^{++} :



Canonical Wnt/ β -cat pathway



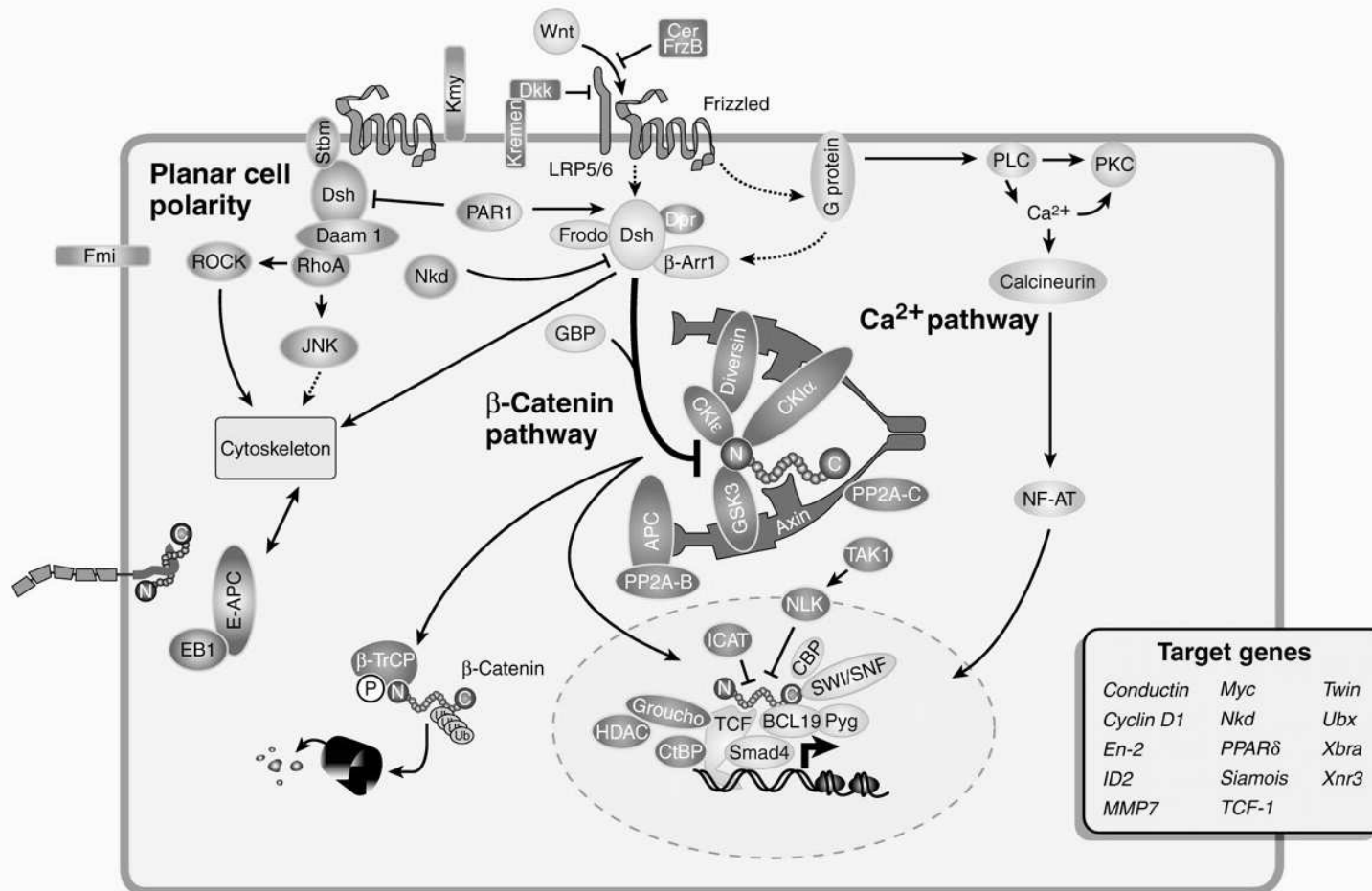
Non-canonical Wnt/
Calcium pathway

Signály ve vývojových drahách Wg (Wnt)

Journal of
Cell Science

A Wnt Signalling Update

Joerg Huelsken and Juergen Behrens



Signalizace ve vývojových drahách Wg (Wnt)

Signalizace
Wnt je
důležitý pro
gastrulaci

**Silberblick/Wnt11 mediates
convergent extension
movements during zebrafish
gastrulation**

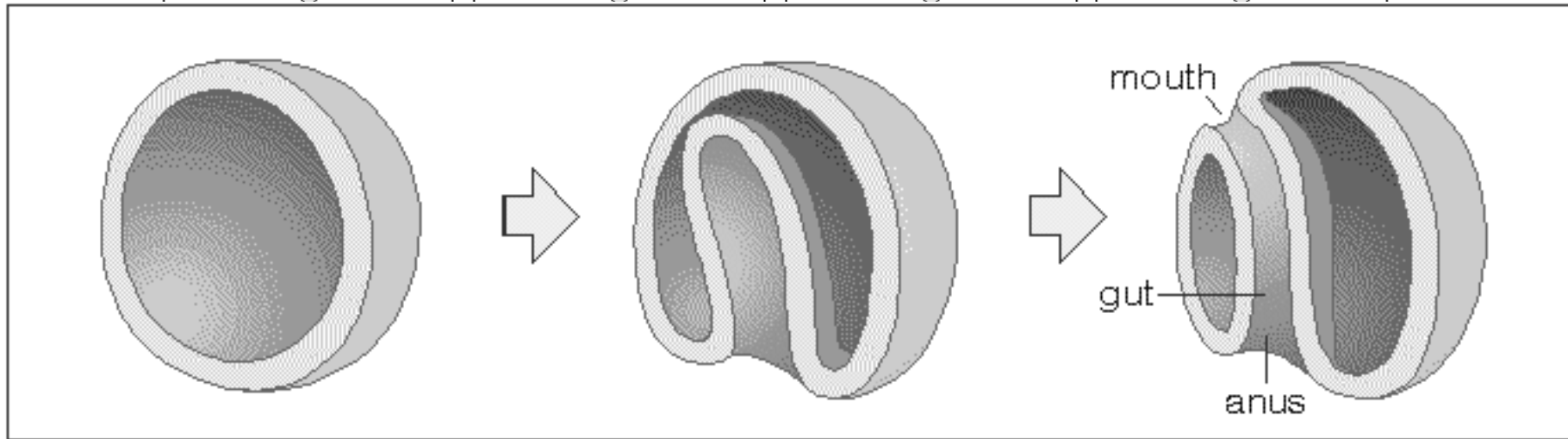
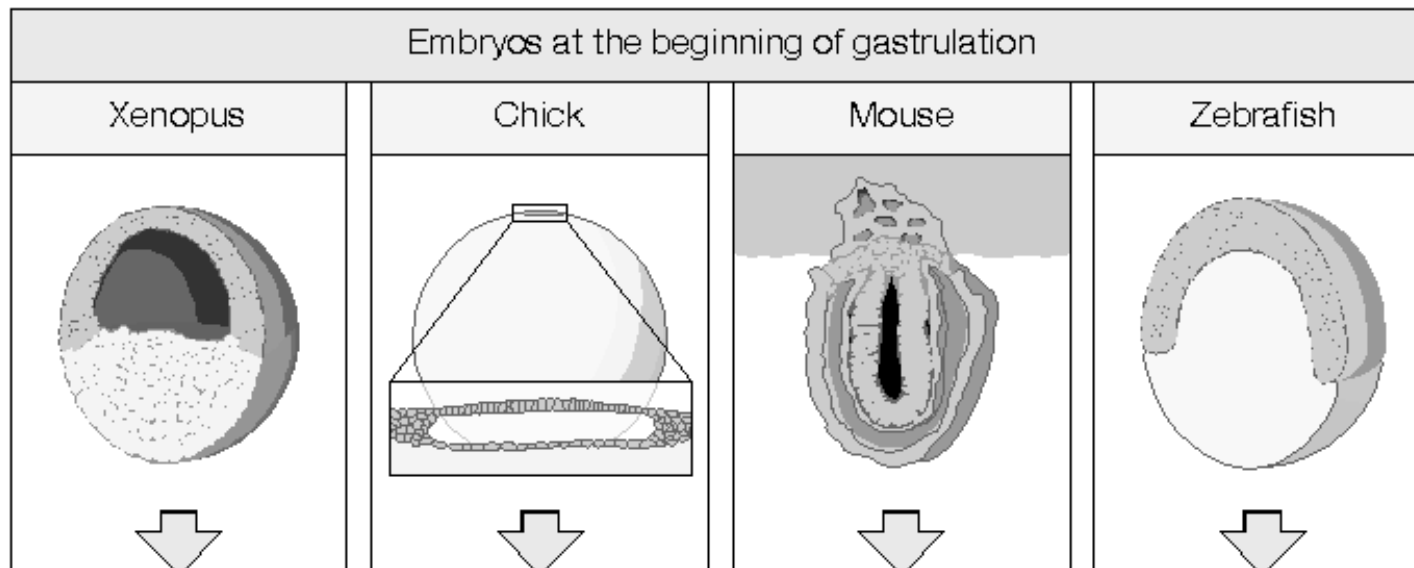
Carl-Phipp Heisenberg^{*†}, Masazumi Tada^{†‡}, Gerd-Jörg Rauch[§],
Leonor Saúde[‡], Miguel L. Concha^{*}, Robert Geisler[§], Derek L. Stemple[‡],
James C. Smith[‡] & Stephen W. Wilson^{*}

Nature 405: 76-81

**Dishevelled controls cell polarity
during *Xenopus* gastrulation**

John B. Wallingford^{*}, Brian A. Rowning[†], Kevin M. Vogeli^{*},
Ute Rothbacher^{‡§}, Scott E. Fraser[‡] & Richard M. Harland^{*}

Nature 405: 81-85.



“Nejdůležitější událostí ve vašem životě není narození ani smrt ani svatba.

Je to gastrulace.” (Lewis Wolpert)