

# Interakce mezi buňkami a okolím

Mnohobuněčné organizmy mají buňky organizované do tkání

## Tkáň:

- soubor buněk a jimi vylučované extracelulární matrix
- podíl matrix na vlastnostech tkáně
- odlišný charakter tkání u rostlin a živočichů

-živočichové jsou predátory: pohyb, pevnost, změna tvaru

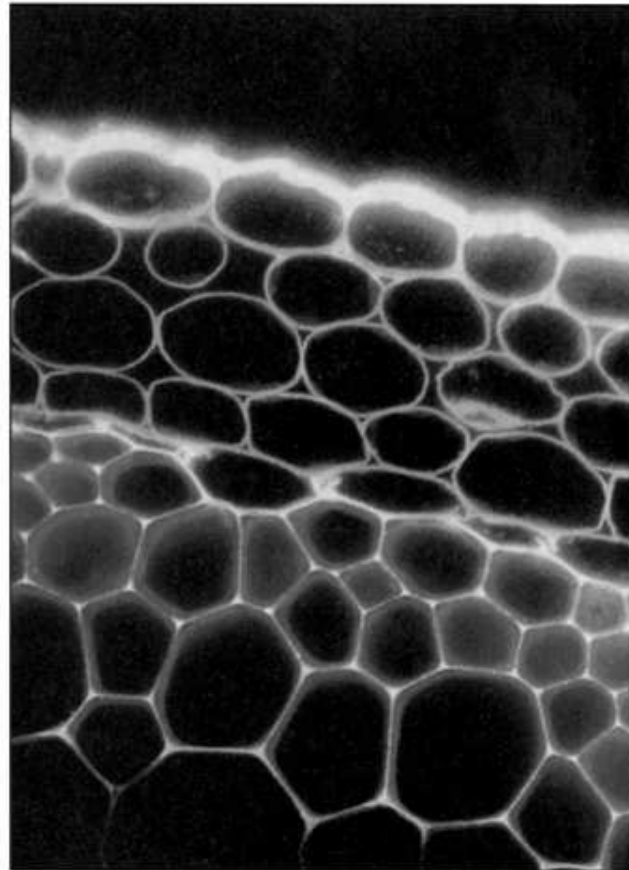
-rostliny se nepohybují: pevnost pletiv, křehkost izolovaných buněk

# Rostlinné tkáně

Buněčná stěna rostlinných buněk je typem extracelulární matrix

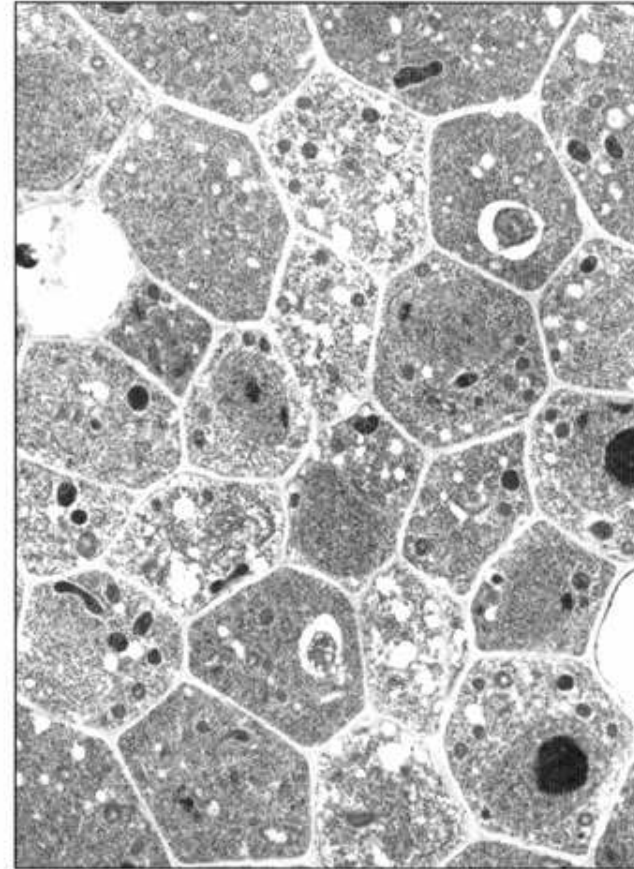
- složení stěny určuje její vlastnosti (pevnost ve dřevě, ohebnost v listu)
- stěna je produkována buňkami
- stěna tvoří komůrky, ve kterých jsou produkční buňky lokalizovány

# Stěna rostlinné buňky



(A)

20 μm



(B)

2 μm

A: Fluorescenční mikroskopie (modře - celulóza, zeleně - pektin)

B: Elektronová mikroskopie

## Rostlinné buňky mají pevné vnější stěny

- rostlinné buňky zbavené stěny jsou velmi křehké
- absence intermediárních filament v cytoskeletu (jen u živočišných buněk)
- vnější stěna je nezbytná

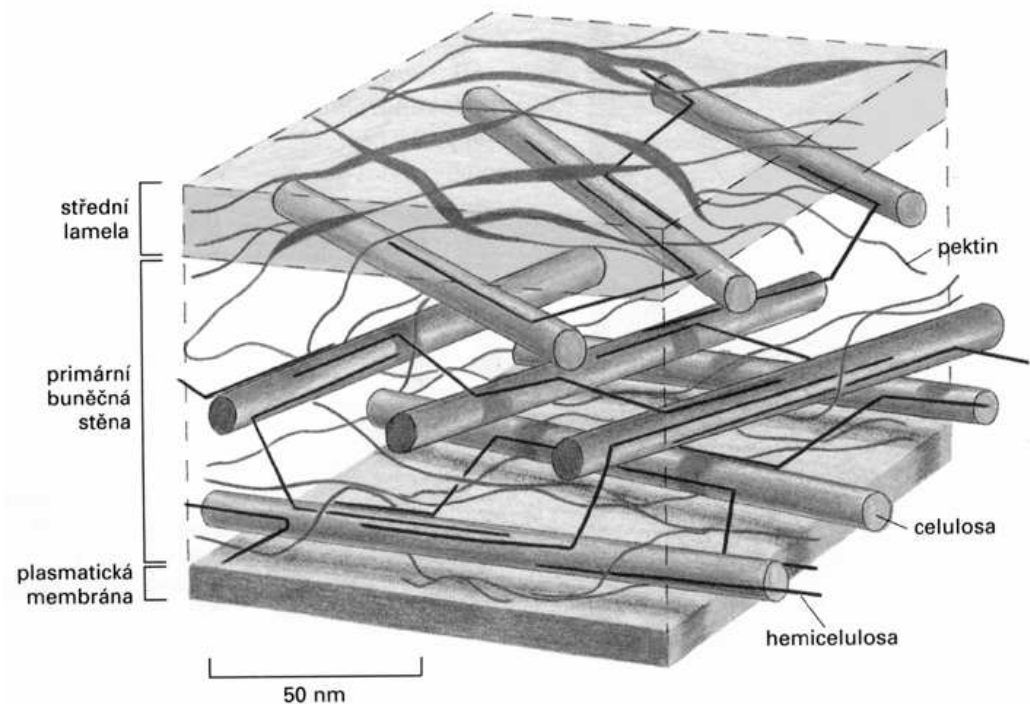
## Buněčná stěna rostlinných buněk vzniká postupně

- primární stěna: tenká, zvětšuje se s růstem buňky
- sekundární stěna: pevná, tvoří se po zastavení růstu buňky ztluštěním primární stěny nebo ukládáním nových vrstev s odlišným složením

# Vlákná celulózy udělají rostlinné buněčné stěně pevnost v tahu

## Celulóza:

- polysacharid
- nejrozšířenější organická molekula na Zemi
- vlákna celulózy jsou obvykle protkána s jiným polysacharidy a proteiny: vzniklá struktura má odolnost k tlaku a rozpínání

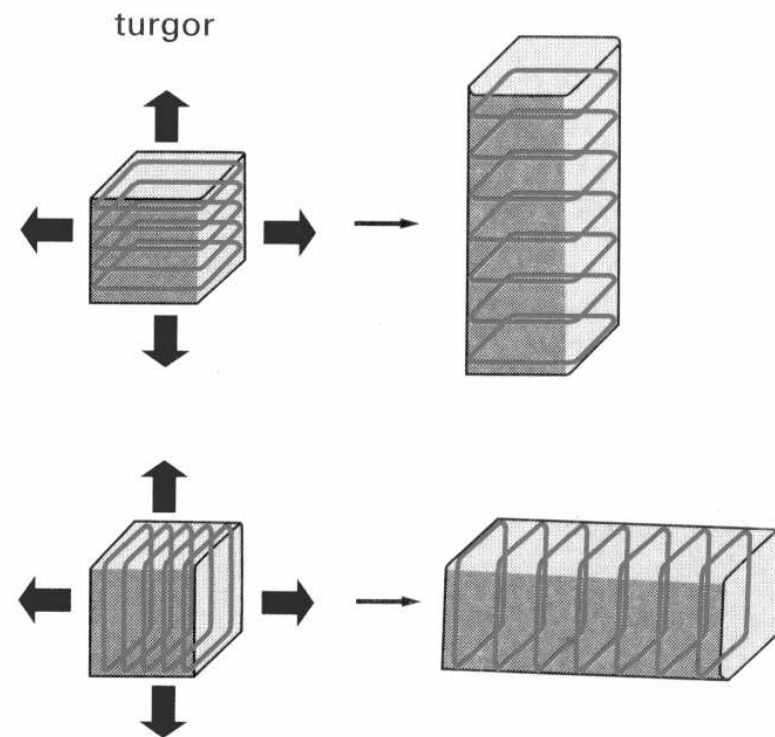


# Ligninová síť

- výskyt v ECM u dřevnatých pletiv
- vysoká pevnost
- neprostupnost pro vodu

# Vlákná extracelulární matrix ovlivňují směr růstu rostlinné buňky

- potřeba růstu nebo změny tvaru rostlinné buňky  $\times$  omezující účinek vláken matrix
- orientace vláken matrix udává směr, kterým se buňka může zvětšovat
- způsobem stavby své stěny buňka následně kontroluje svůj tvar a i směr růstu pletiva, jehož je součástí

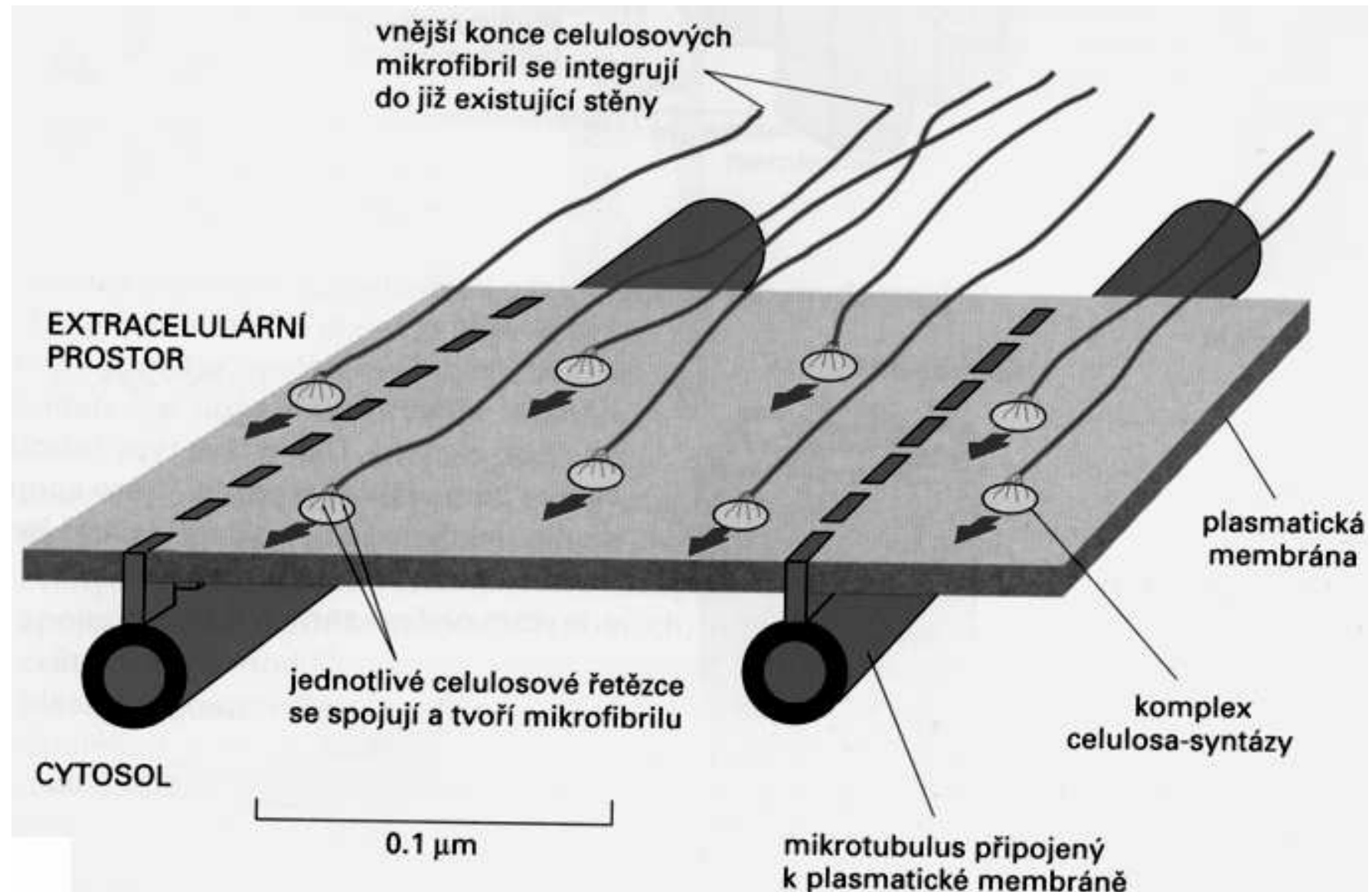




## Tvorba celulózových vláken extracelulární matrix

- odlišnost od většiny extracelulárních proteinů, kdy syntéza nastává uvnitř buňky a následuje export exocytózou
- syntéza celulózy probíhá na **vnějším povrchu buňky** **enzymovými komplexy** zanořenými do plazmatické membrány
- komplexy **transportují sacharidové monomery přes membránu** a začleňují je do rostoucího řetězce
- komplexy se při syntéze pohybují membránou: tvorba orientovaného celulózového vlákna (fibrily)
- dráhy pohybu komplexů jsou definovány orientací mikrotubulů pod plazmatickou membránou: cytoskelet reguluje tvarování rostlinné buňky

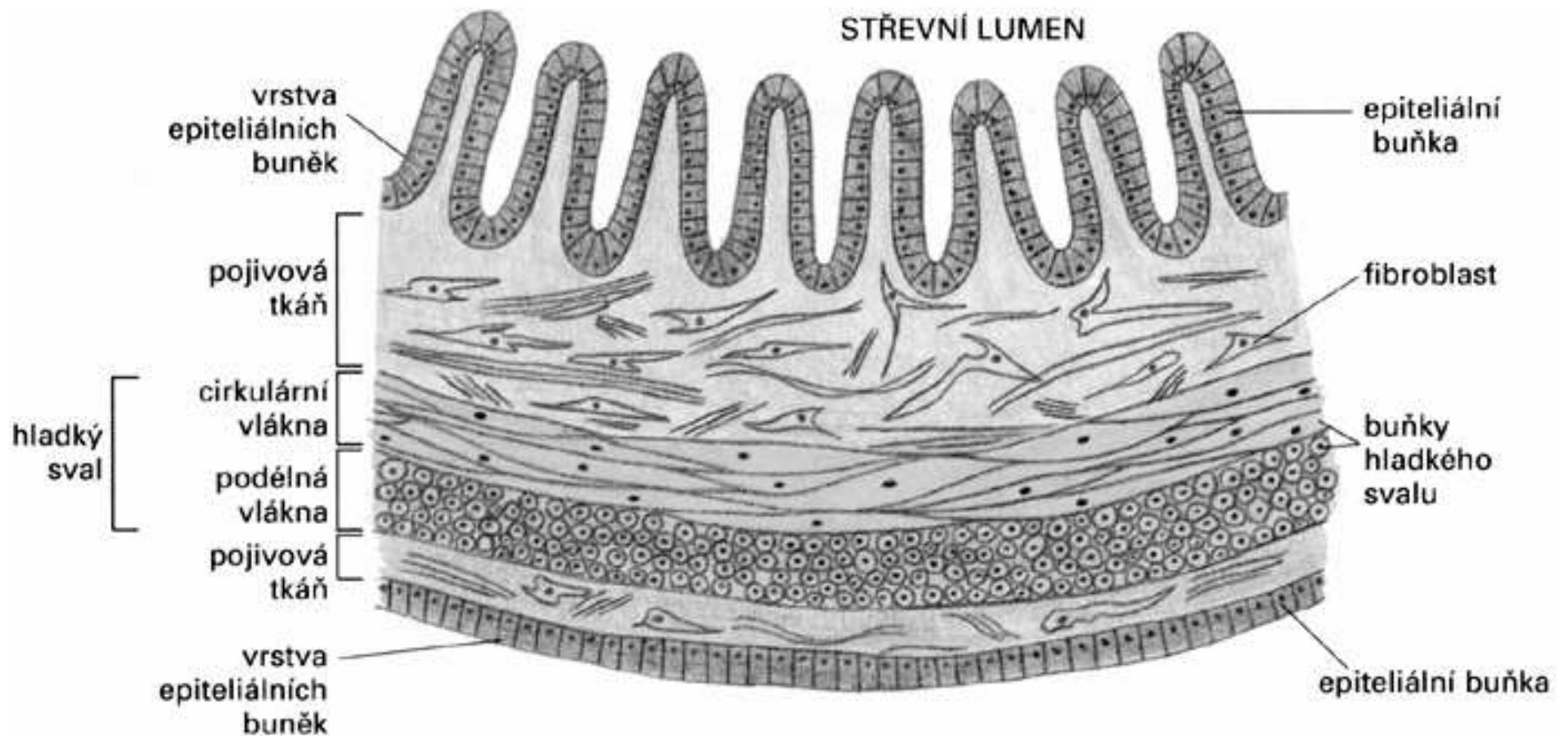
# Orientované ukládání celulózy do buněčné stěny rostlin



# Živočišné tkáně

- živočichové jsou predátory: aktivní pohyb, síla, hbitost
- různorodost tkání z mechanického hlediska:  
různá organizace buněk a matrix
  - kosti, šlachy: převažuje role matrix
  - svaly, pokožka: cytoskelet jednotlivých buněk

# Organizace buněk v živočišných tkáních



# Živočišné tkáně

4 hlavní typy:

- pojivové
- epitely
- nervové
- svalové

U pojivových tkání nese mechanickou zátěž extracelulární matrix

U ostatních tkání nesou mechanickou zátěž samotné buňky

## Struktury mezibuněčného prostoru

- buněčný plášť („glycocalyx“)
- mimobuněčná matrix („extracellular matrix“)

# Buněčný plášť („glycocalyx“)

## Struktura:

- uhlovodíkové řetězce složek plazmatické membrány, které směřují mimo buňku
- materiál vyprodukovaný buňkou a vyloučený ven z buňky

## Funkce:

- zajištění mezibuněčných interakcí a interakcí buňka - substrát
- mechanická ochrana buňky

# Mimobuněčná matrix

## Struktura:

- síťovina buňkou vyloučených proteinů a polysacharidů, která se vyskytuje mimo bezprostřední okolí buňky
- spojení proteinů a polysacharidů může být velmi volné a nezřetelné (volná konektivní tkáň) nebo přesně vymezené (matrix chondrocytů)

## Funkce:

- mechanická ochrana buňky
- určení tvaru a aktivity buněk





**Myoblast  
(embryonální  
svalová buňka)  
sekretující  
mimobuněčnou  
matrix**

Copyright © 2001 Dennis Kunkel Microscopy, Inc. / Dennis Kunkel

# Interakce s matrix je důležitá pro funkci buňky, kterou obklopuje

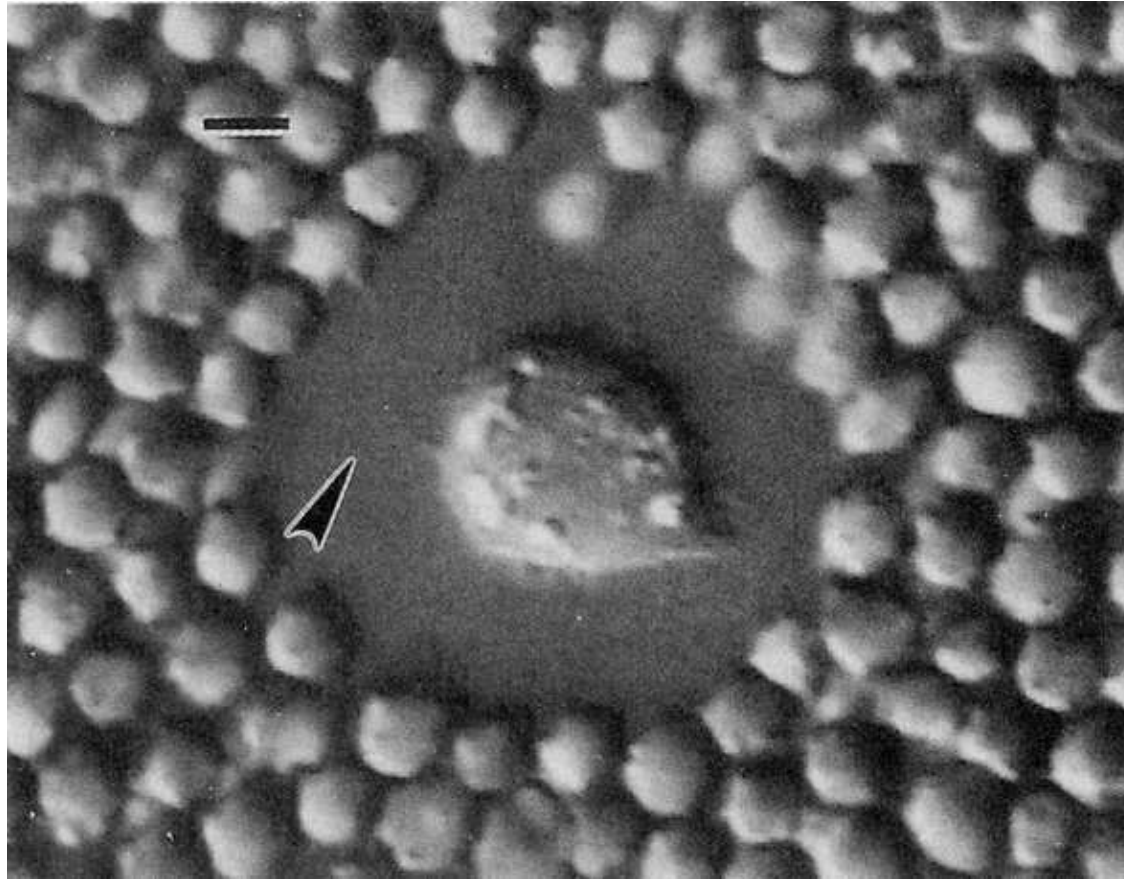


## Experiment:

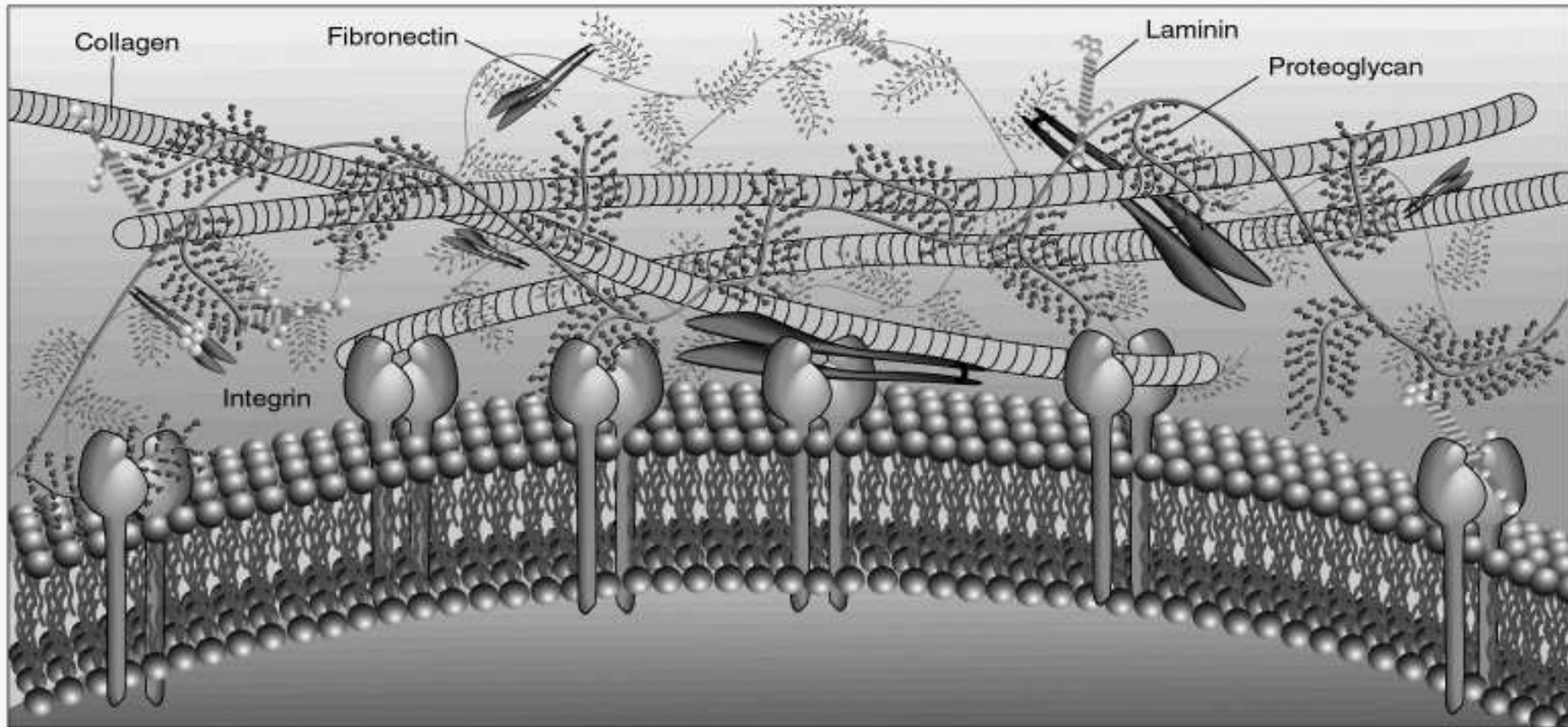
1. enzymatické rozložení mimobuněčné matrix kolem epiteliálních buněk mléčné žlázy pěstovaných v kultuře: snížení sekrečních aktivit buněk

2. **Obnovení** tvorby mimobuněčné matrix: obnovení schopnosti buněk tvořit a vylučovat své běžné produkty

Matrix kolem produkční buňky znemožňuje přímý kontakt s okolními buňkami



Velikost matrix (chondroitin sulfát) kolem produkční buňky  
demonstrována prostřednictvím erytrocytů



Copyright 1999 John Wiley and Sons, Inc. All rights reserved.

### ECM:

Proteoglykany

Kolagen

Adhezivní proteiny

Fibronektin

Laminin

### CAMs („cellular adhesive molecules“):

Kadheriny

Nadrodina Ig

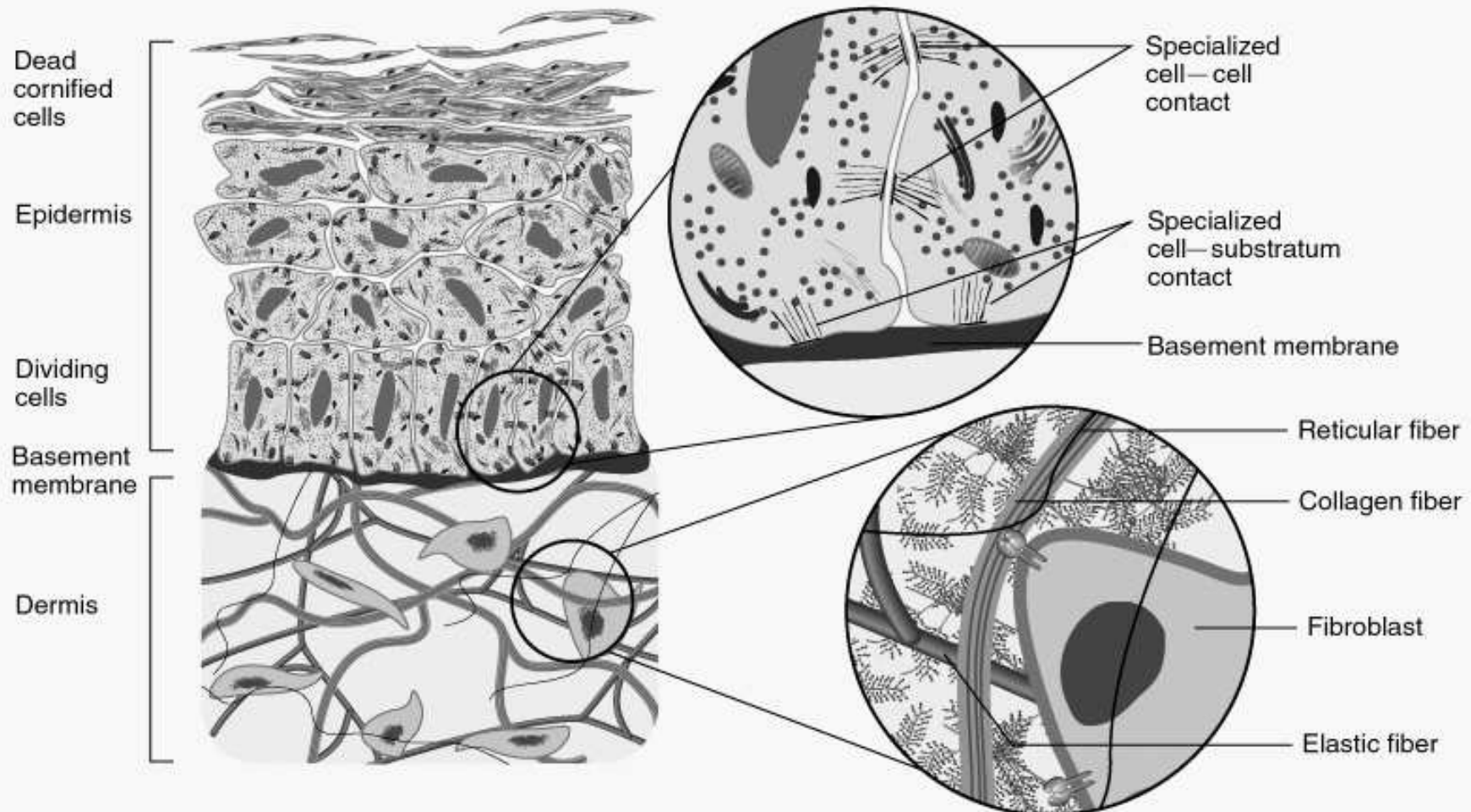
Selektiny

Muciny

Integriny

# Živočišná ECM zajišťuje:

- interakce buňka-buňka
- interakce buňka-ECM
- tvorbu mimobuněčných přepážek v tkáních



# Typy matrix:

reflektují funkci dané tkáně:

- pevnost - šlachy
- filtrace - ledviny
- pevnost a pružnost - hladké svalstvo obklopující cévy

Různé vlastnosti ECM plynou z kombinací jejich základních strukturních složek - vláknitého proteinu kolagenu, kyseliny hyaluronové a proteoglykanů (=komplexů polysacharidů s proteiny)

- vlastnosti matrix spoluurčují další proteiny, které se na matrix napojují svými receptory

## Různé tkáně obsahují různé typy matrix

- epiteliální nebo svalové buňky jsou prostřednictvím povrchových receptorů ukotveny do tenké matrix zvané bazální lamina (hlavní složkou je kolagen uspořádaný do sít'oviny)
- jiným typem matrix je volná konektivní tkáň - vytváří prostředí pro malé žlázy a krevní kapiláry (hlavní složkou jsou vláknité kolageny a pružné elastiny), obsahuje mnoho buněk (fibroblasty, lymfocyty), zajišťuje difúzi  $O_2$  a živin do buněk epitelů a žlaz
- pevná konektivní tkáň - hlavní složka orgánů zajišťujících pevnost a pružnost - kosti, chrupavky, šlachy. Skládá se výhradně z vláknitých složek (hustě uspořádané vláknité kolageny, proteoglykany, elastiny), obsahuje velmi málo buněk

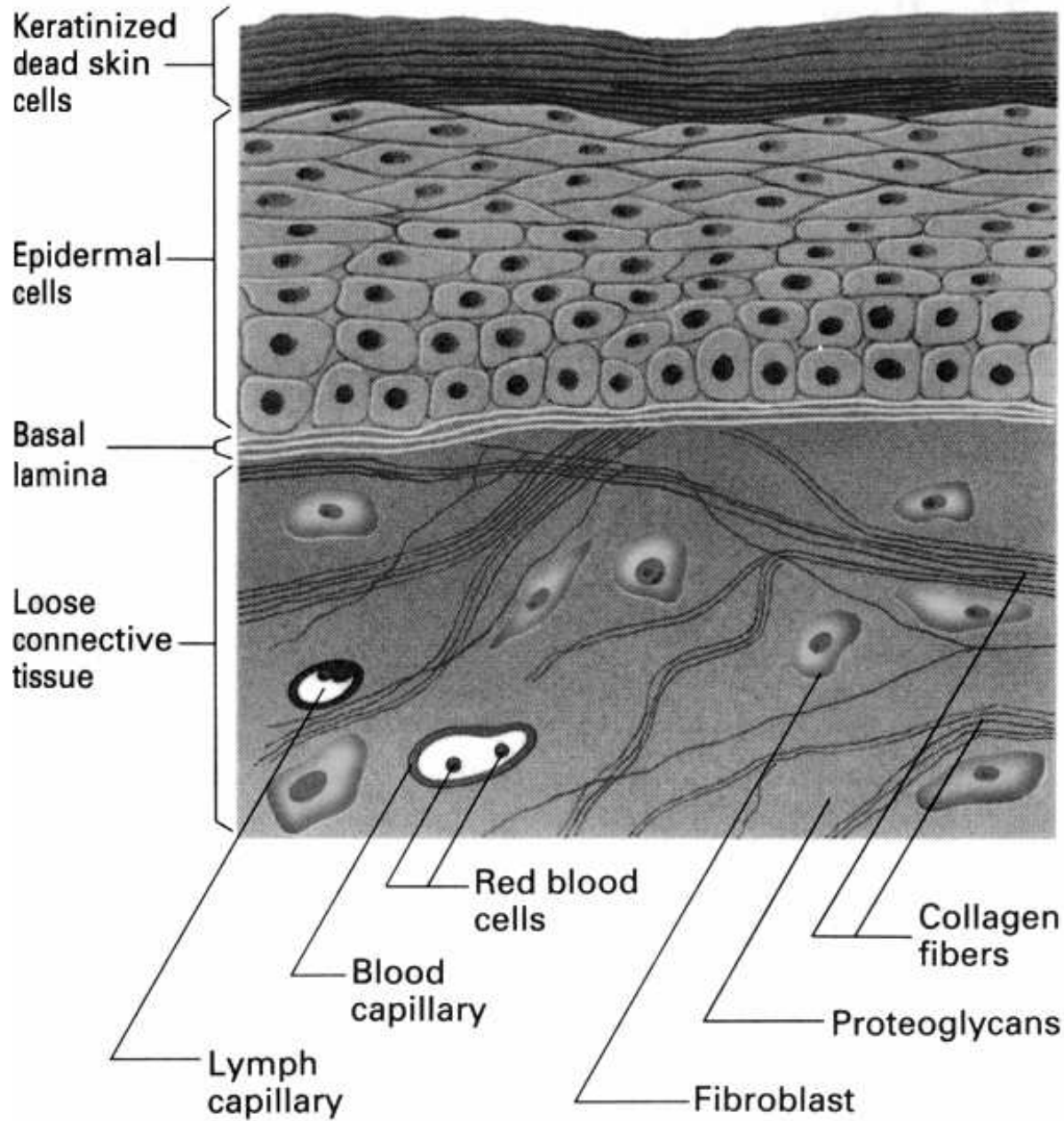
# Bazální lamina

vrstva o tloušťce 50-200 nm obklopující svalové a tukové buňky a poskytující podklad epiteliálním tkáním (kůže, výstelka trávicího a dýchacího ústrojí a krevních vlásečnic)

## Funkce:

- určení polarity buněk a jejich pohybu
- oddělování sousedních tkání (kompartmentalizace)
- překážka pro makromolekuly (krevní systém, ledviny)
- překážka pro pohyb rakovinných buněk





# Matrix konektivních tkání:

chrupavka, kost, šlacha, rohovka

- buňky produkující matrix tvoří jen malou část tkáně
- matrix a nikoliv produkční buňky udělají tkáni specifické vlastnosti

# Kolageny

- rodina nerozpustných vláknitých glykoproteinů (dosud popsáno 15 typů, specifická lokalizace každého z nich)
- nejhojnější protein v živočišných tkáních (více než 25% všech lidských proteinů)
- hlavní strukturní protein mimobuněčné matrix
- produkován fibroblasty a epiteliálními buňkami
- tkáním poskytuje odolnost proti natažení

# Struktura kolagenu

- trojšroubovice tvořená třemi řetězci  $\alpha$ , které mohou (ale nemusí vždy) být identické
- na jednu otáčku trojšroubovice připadají 3 aminokyseliny
- každou třetí aminokyselinou je **glycin**
- kolageny jsou bohaté na zbytky **prolinu** a **hydroxyprolinu**
- **vodíkové vazby** mezi skupinami NH glycinů a karbonylovými skupinami CO sousedních polypeptidů trojšroubovici stabilizují

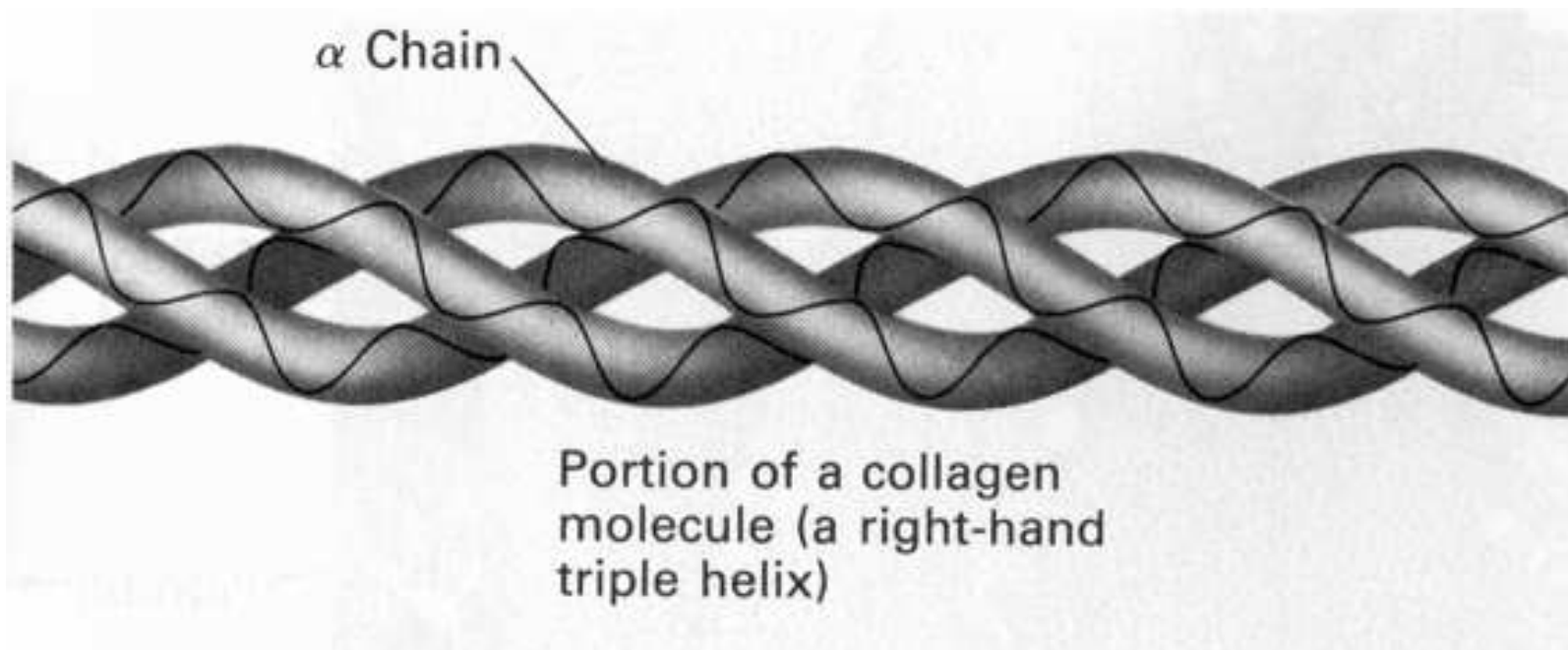
# Existuje mnoho typů kolagenu

**TABLE 19-5 Some Types of Collagen and Their Properties**

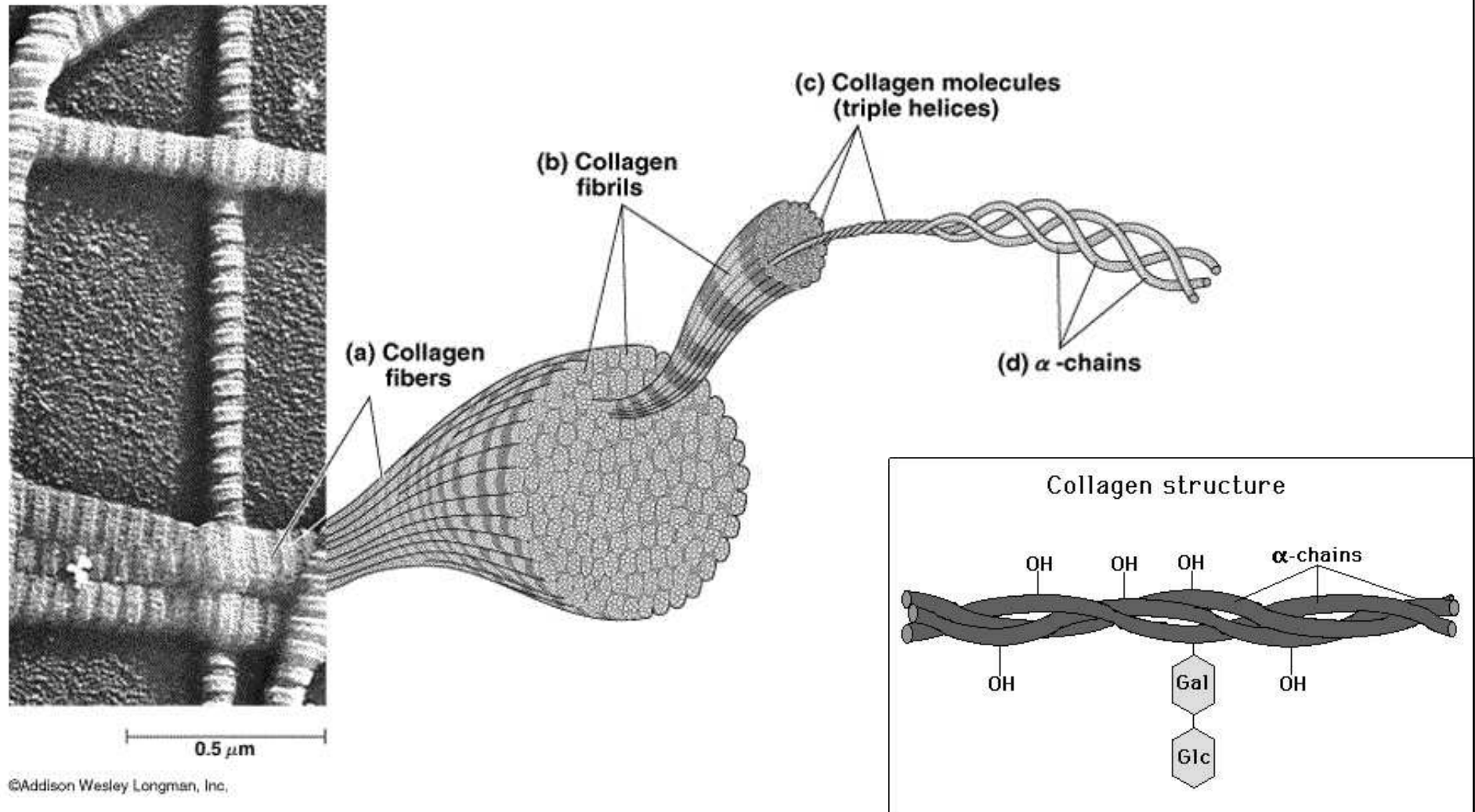
	TYPE	MOLECULAR FORMULA	POLYMERIZED FORM	TISSUE DISTRIBUTION
Fibril-forming (fibrillar)	I	$[\alpha 1(\text{I})]_2\alpha 2(\text{I})$	fibril	bone, skin, tendons, ligaments, cornea, internal organs (accounts for 90% of body collagen)
	II	$[\alpha 1(\text{II})]_3$	fibril	cartilage, intervertebral disc, notochord, vitreous humor of the eye
	III	$[\alpha 1(\text{III})]_3$	fibril	skin, blood vessels, internal organs
	V	$[\alpha 1(\text{V})]_2\alpha 2(\text{V})$ and $\alpha 1(\text{V})\alpha 2(\text{V})\alpha 3(\text{V})$	fibril (with type I)	as for type I
	XI	$\alpha 1(\text{XI})\alpha 2(\text{IX})\alpha 3(\text{XI})$	fibril (with type II)	as for type II
Fibril-associated	IX	$\alpha 1(\text{IX})\alpha 2(\text{IX})\alpha 3(\text{IX})$	lateral association with type II fibrils	cartilage
	XII	$[\alpha 1(\text{XII})]_3$	lateral association with some type I fibrils	tendons, ligaments, some other tissues
Network-forming	IV	$[\alpha 1(\text{IV})]_2\alpha 2(\text{IV})$	sheetlike network	basal lamina
	VII	$[\alpha 1(\text{VII})]_3$	anchoring fibrils	beneath stratified squamous epithelia
Transmembrane	XVII	$[\alpha 1(\text{XVII})]_3$	not known	hemidesmosomes
Others	XVIII	$[\alpha 1(\text{XVIII})]_3$	not known	basal lamina around blood vessels

Note that types I, IV, V, IX, and XI are each composed of two or three types of  $\alpha$  chains, whereas types II, III, VII, XII, XVII, and XVIII are composed of only one type of  $\alpha$  chain each. Only 11 types of collagen are shown, but about 20 types of collagen and about 25 types of  $\alpha$  chains have been identified so far.

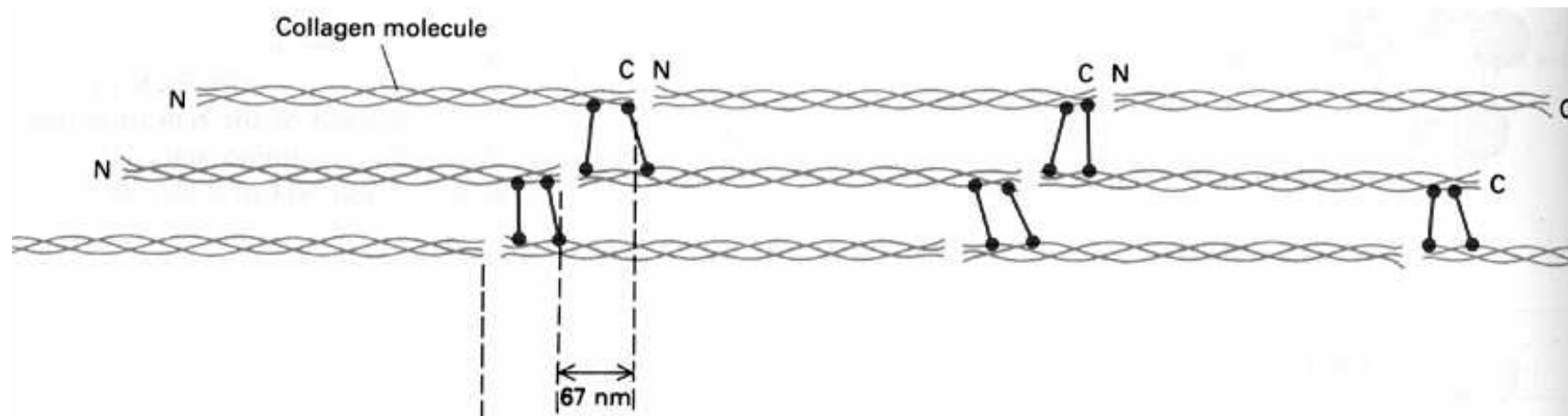
# Trojšroubovice kolagenu typu I



# Šroubovice kolagenu typu I, II, III a V se skládají do struktur vyššího řádu



Kovalentní vazby mezi N-koncem jedné molekuly a C-koncem druhé molekuly stabilizují strukturu vláken kolagenu



Křížové vazby mezi molekulami vlákna kolagenu zpevňují a způsobují nerozpustnost purifikovaného kolagenu ve vodě.



# Tvorba kolagenové šroubovice

## 1. tvorba delších prekurzorů - prokolagenů

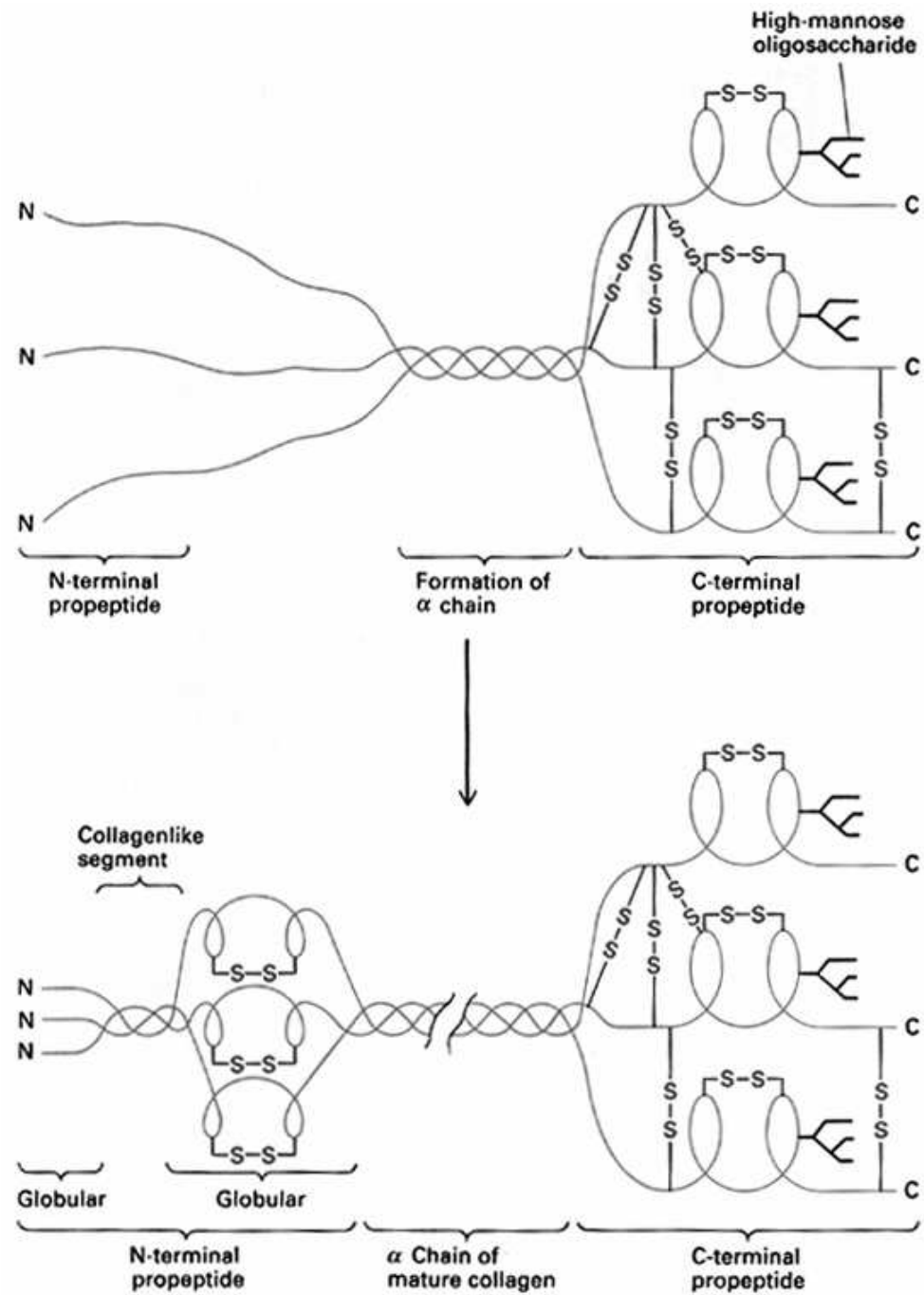
- prokolagen typu I tvoří trojšroubovici, která obsahuje 150 přídatných AA na N-konci a 250 na C-konci (tzv. **propeptid**)
- tvorba **disulfidických můstků** u C-koncových propeptidů napomáhá správnému sestavení řetězců během jejich tvorby a následnému rychlému uzavření trojšroubovice
- u zralého kolagenu I se disulfidické můstky nevyskytují

## 2. proces sestavování vláknem kolagenu začíná v **ER**, pokračuje v **Golgiho aparátu** a je dokončen **vně buňky**

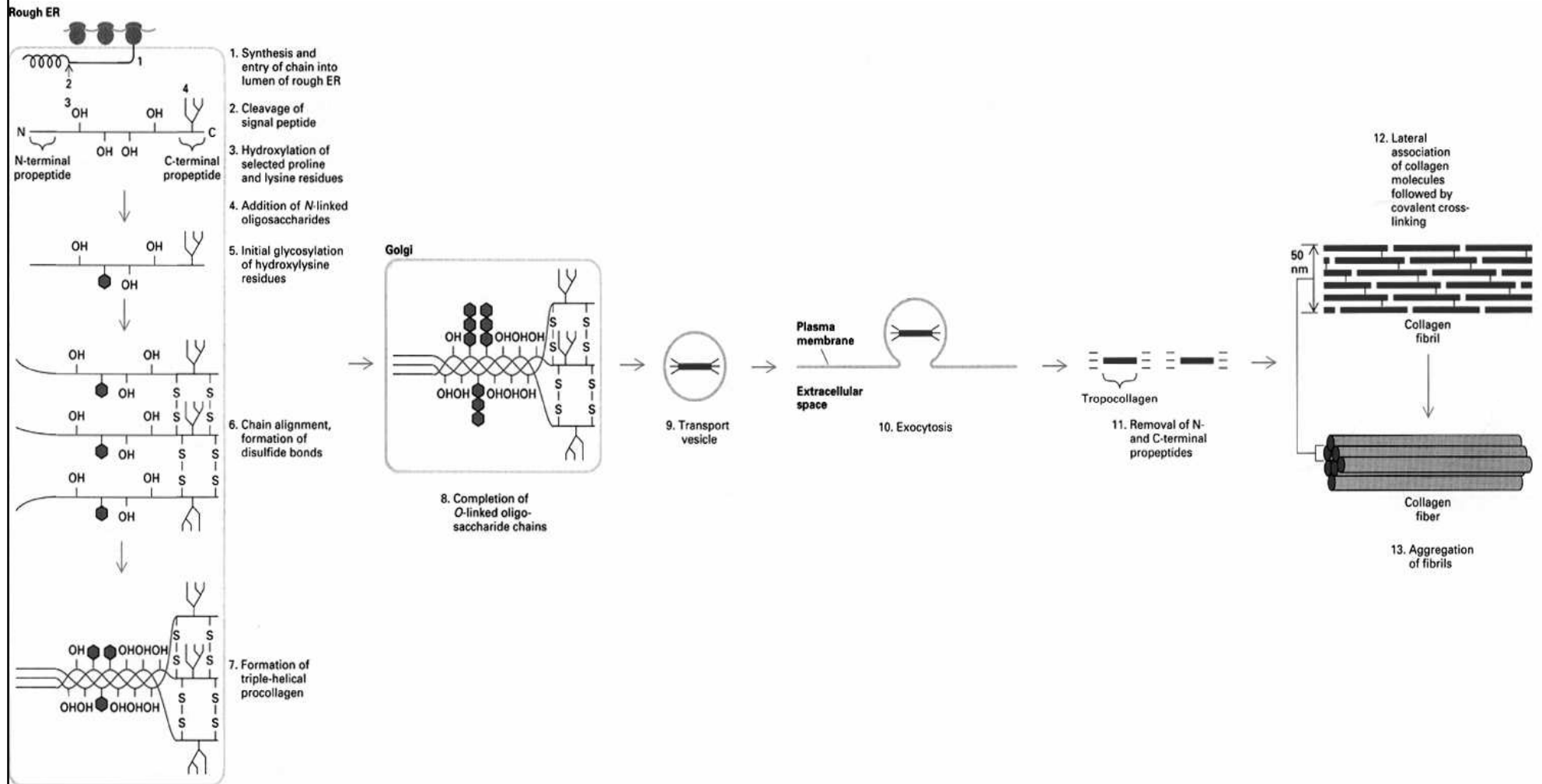
## Modifikace před dokončením tvorby trojšroubovice kolagenu

- odštěpení signálních sekvencí
- **hydroxylace** zbytků prolinu a lysinu
- prokolagen I se dostává mimo buňku **exocytózou**
- během exocytózy dochází k proteolytickému **štěpení** kolagenázou, kterým se odstraňují N- a C-koncové propeptidy.

Molekuly kolagenu **polymerují** a tvoří vlákna až v mimobuněčném prostředí.

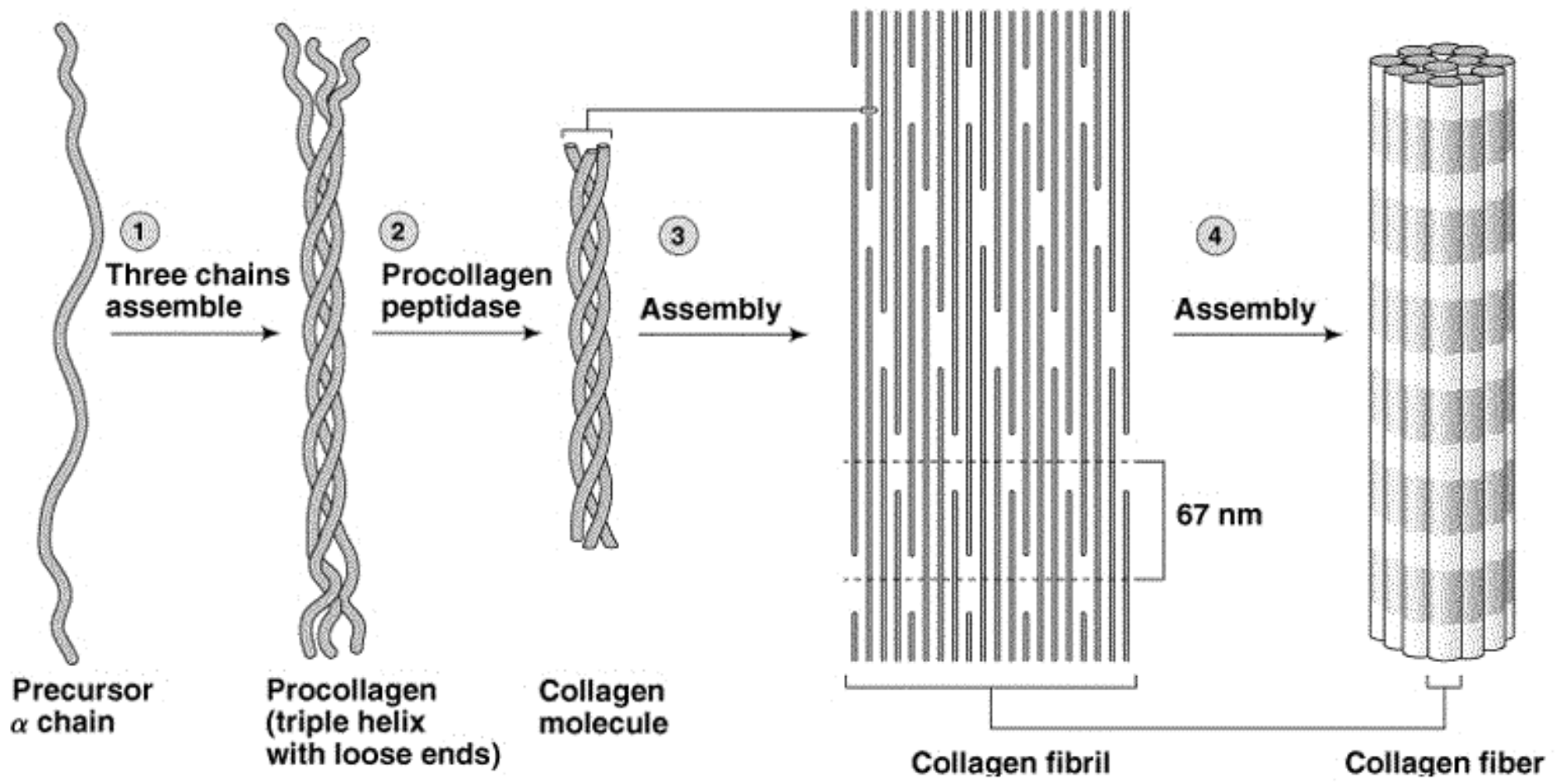


# Tvorba kolagenu

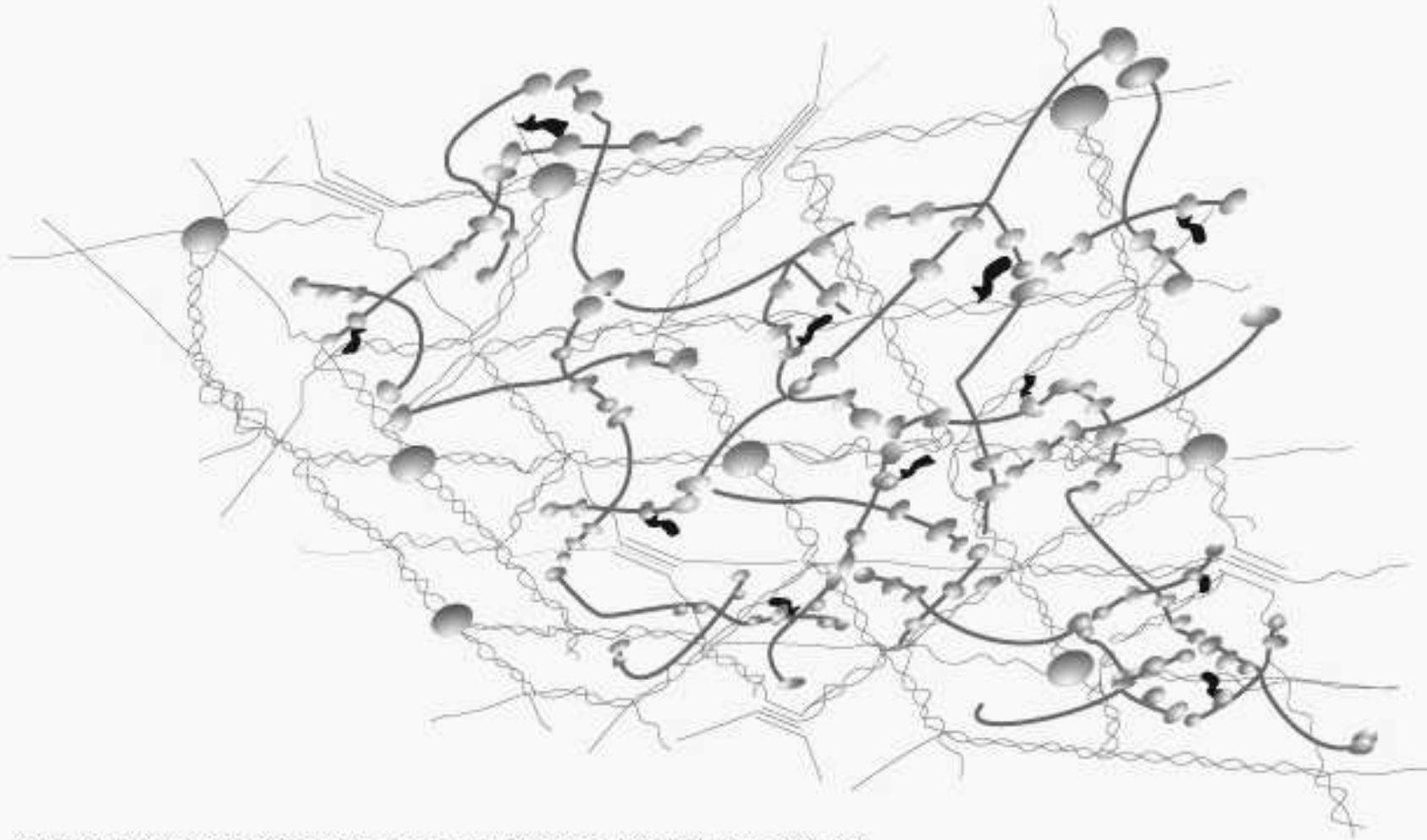


Occurs in ER lumen

Occurs after secretion from cell



## Kolagen typu IV je hlavní součástí bazální laminy



After Peter D. Yurchenco, Yi-Shan Cheng, and Holly Colognato, *J. Cell Biol.* 117:1132, 1992;  
by copyright permission of the Rockefeller University Press.  
Copyright 1999 John Wiley and Sons, Inc. All rights reserved.

**Kolagen typu IV (růžová)**

**laminin (zelená)**

**entaktin (červená)**



# Poruchy struktury kolagenu

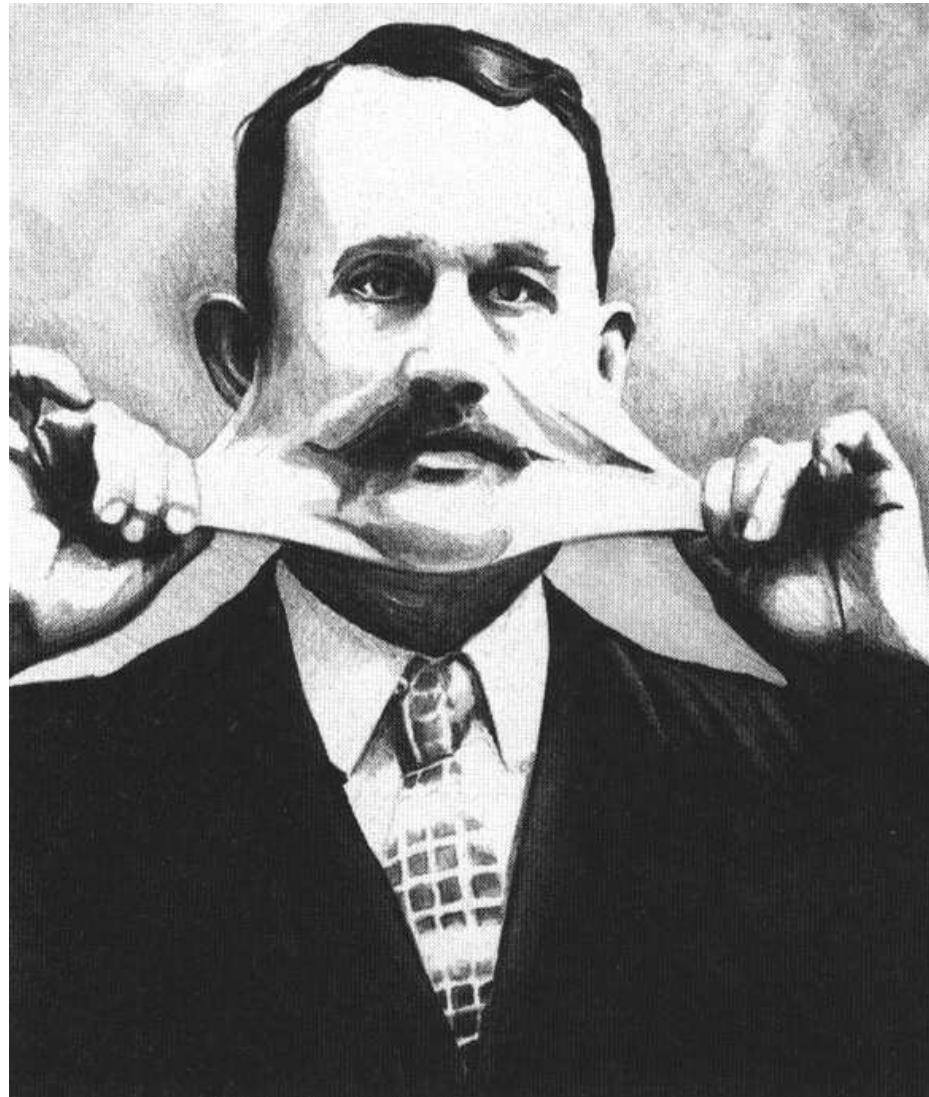
Hydroxylaci kolagenu zajišťují **prolyl-hydroxylázy** a **lysyl-hydroxylázy**

Kofaktorem hydroxyláz je **kyselina askorbová** (vitamin C)

## Nedostatek vitamínu C:

- nedostatečná hydroxylace kolagenu
- křehkost krevních vlásečnic, šlach, kůže (**kurděje**)

# Absence kolagenázy: hyperplastická kůže





# Adhezivní složky ECM

## **Elastin**

ne-glykosylovaný protein ECM. Častá tvorba příčných můstků. Možnost konformačních změn. Obvyklý výskyt: kůže, krevní cévy, hladké svaly, plíce.

## **Tenascin**

Protein podobný fibronektinu, který má často anti-adhezivní vlastnosti. Obvyklý výskyt: některé nádorové buňky

## **Fibronektin**

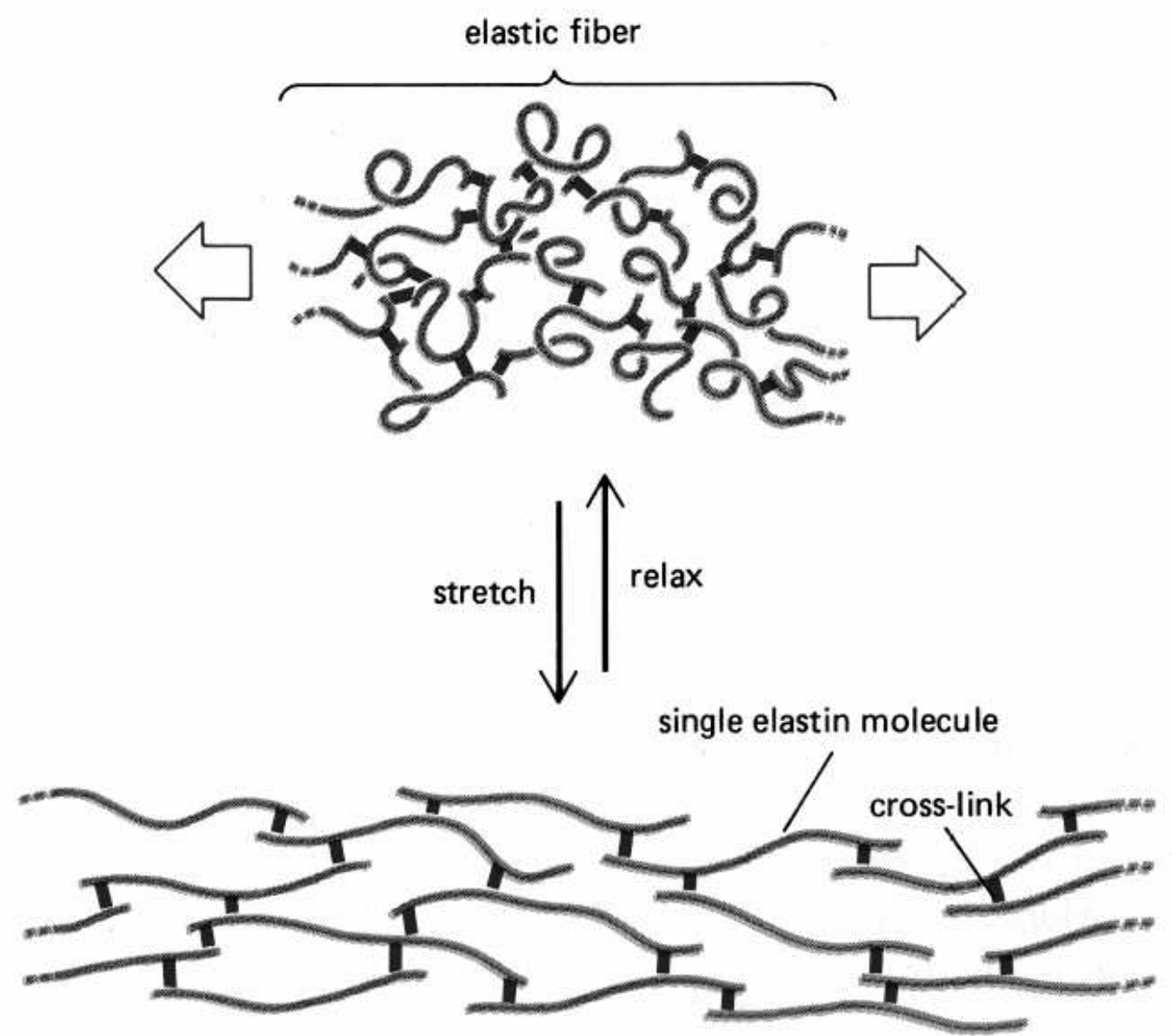
Velmi rozšířený adhezivní protein, důležitý pro migraci buněk. Obsahuje strukturální motiv RGD (arg-gly-asp).

## **Laminin**

Heterotrimerní multiadhezivní protein. Důležitý pro růst axonů a migraci embryonálních buněk.

# Elastin

- hlavní složkou extracelulární matrix u tkání, které vyžadují pevnost i pružnost
- vysoce hydrofobní** protein, 830 AA zbytků
- velmi bohatý na **prolin a glycin**
- molekuly elastinu se sekretují do mimobuněčného prostředí - tvorba vzájemně propojených filament a struktur vyššího řádu - vznik hustých sítí
- molekuly elastinu oscilují mezi mnoha **náhodnými konformačními variantami**
- proměnlivost konformace elastinu a přítomnost mezimolekulárních spojek - odolnost vůči natažení a stlačení
- vlákna kolagenu pronikají do elastinové sítě - omezení možnosti natažení - ochrana tkáně před roztržením



# Laminin („multiadhesive matrix protein“)

## Struktura:

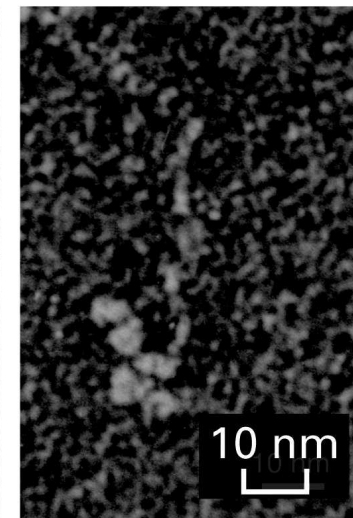
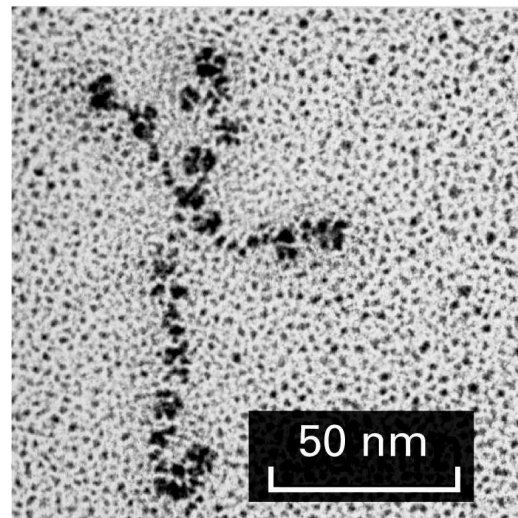
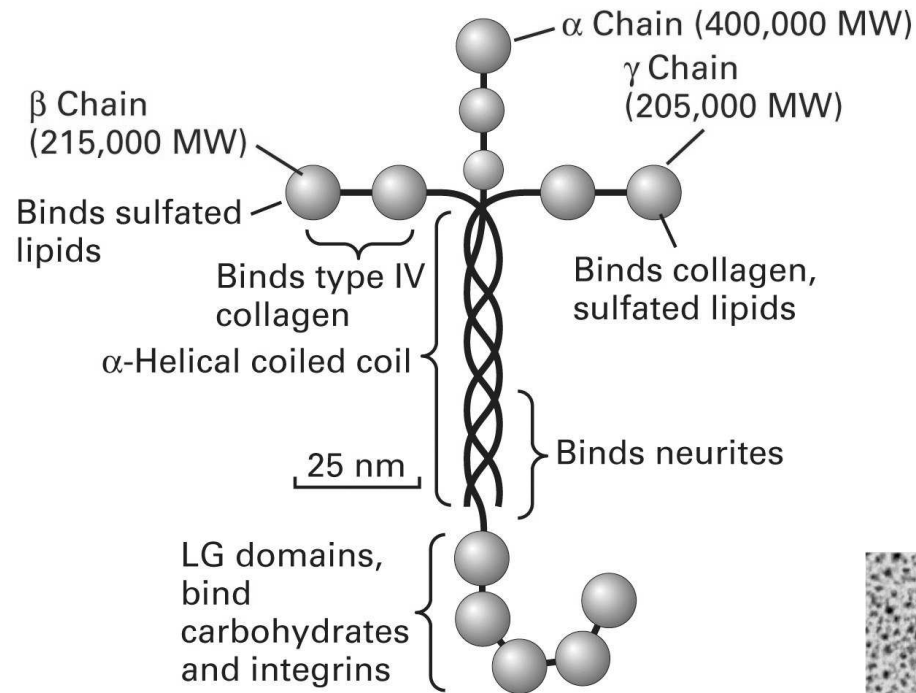
-glykoprotein, jehož základ tvoří tři polypeptidy uspořádané do tvaru kříže

-tvoří dlouhé flexibilní molekuly s mnoha doménami pro vazbu kolagenů, dalších proteinů ECM, polysacharidů, povrchových receptorů a mimobuněčných signálních molekul

## Funkce:

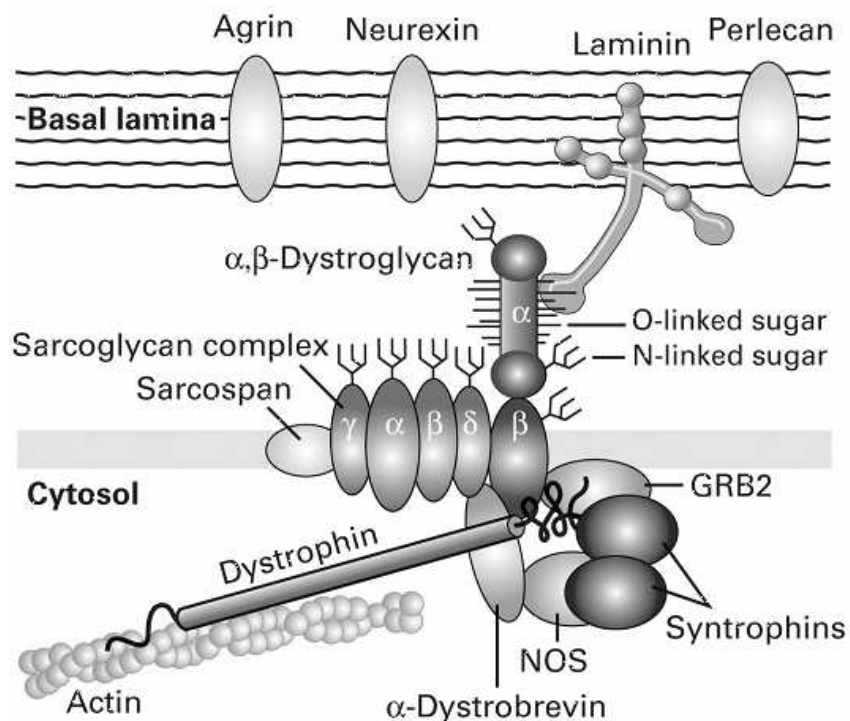
- organizace složek ECM
- regulace adheze buněk v ECM
- regulace migrace buněk
- regulace tvaru buněk ve tkáních

# Struktura lamininu a vazebná místa





## „Duchenne muscular dystrophy“ - důsledek narušené interakce ECM-cytoskelet



- dědičné onemocnění poškozující svaly (srdeční, dýchací)
- v nejobvyklejší formě postihuje jen chlapce
- molekulární podstata spočívá v přítomnosti mutace v genu kódujícím **dystrofin**
- dystrofin je velký cytozolický protein, který se uplatňuje jako adaptér zprostředkovávající interakci mezi filamenti aktinu a povrchovým receptorem dystroglykanem
- dystroglykan interaguje s některými molekulami ECM, např. s lamininem

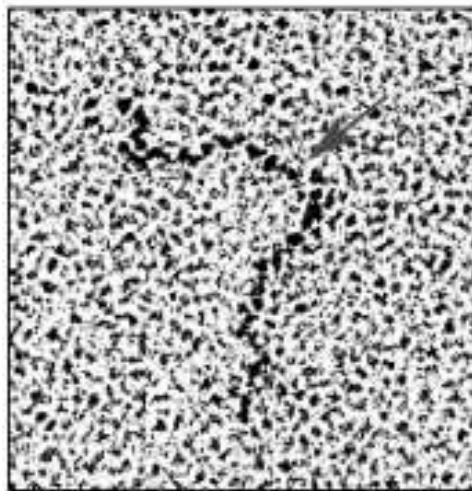
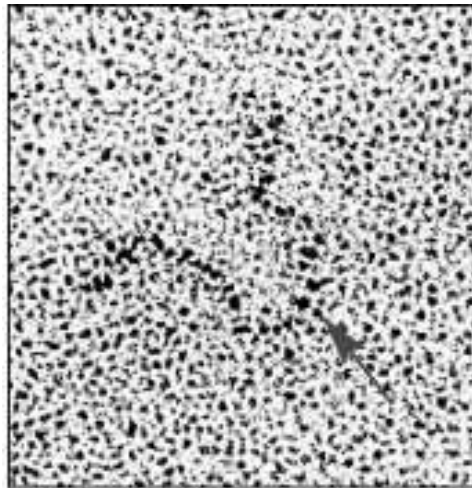
# Fibronektin

- „multiadhezivní“ protein ECM vyskytující se u všech obratlovců
- běžný v krevním systému, konektivních tkáních a bazální lamině

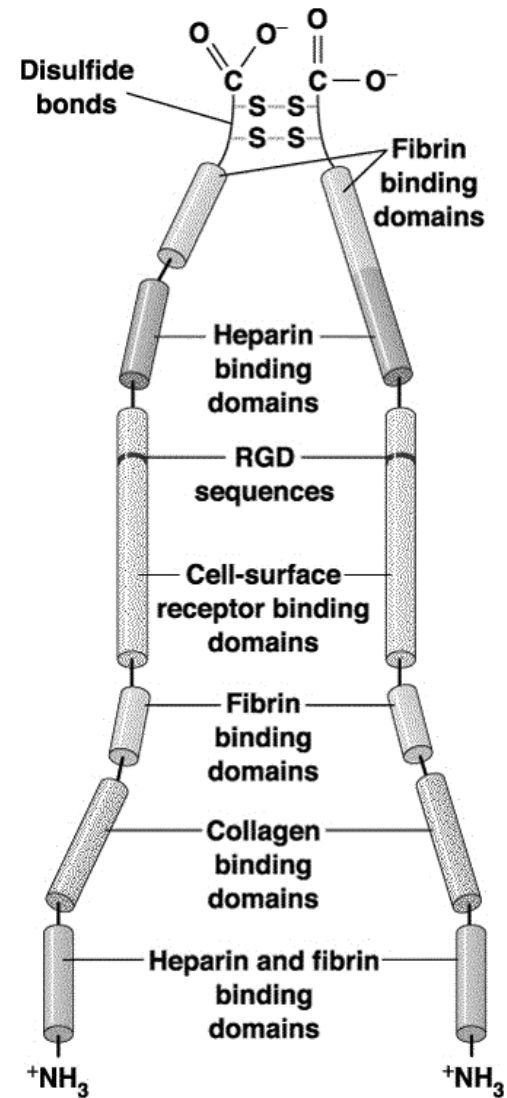
## Struktura:

- **dimer** dvou podobných peptidů spojených disulfidovými můstky na C-koncích
- popsáno alespoň 20 izoformem fibronektinu, tvorba alternativním sestřihem transkriptu jediného genu
- každý řetězec je složen ze 6 domén s odlišnými vazebnými vlastnostmi
- obsahuje vazebná místa pro buněčné povrchové receptory, kolagen, fibrin, proteoglykany

# Struktura dimeru fibronektinu



(A) 100 nm

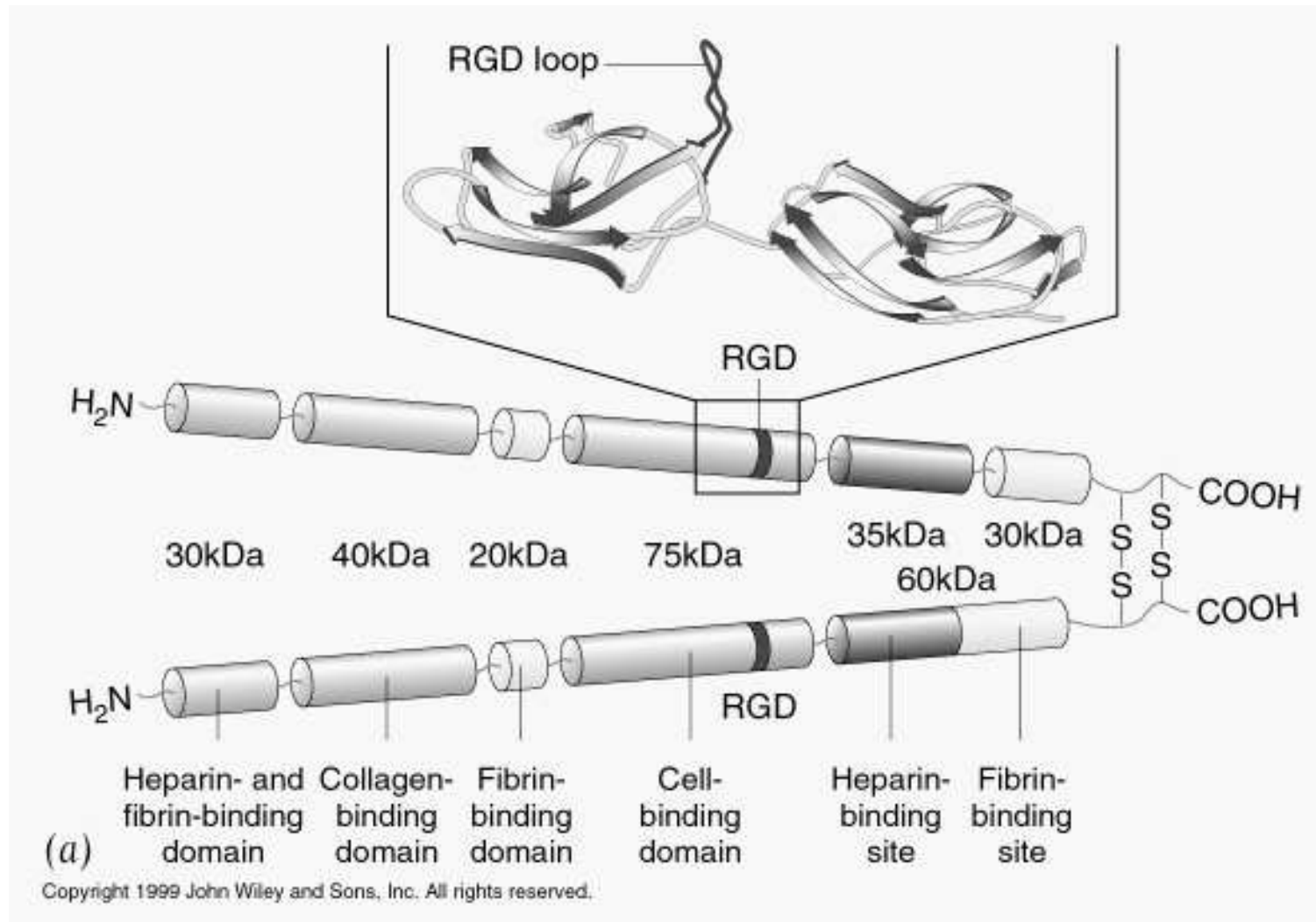


©Addison Wesley Longman, Inc.



# Sekvence RGD (Arg-Gly-Asp)

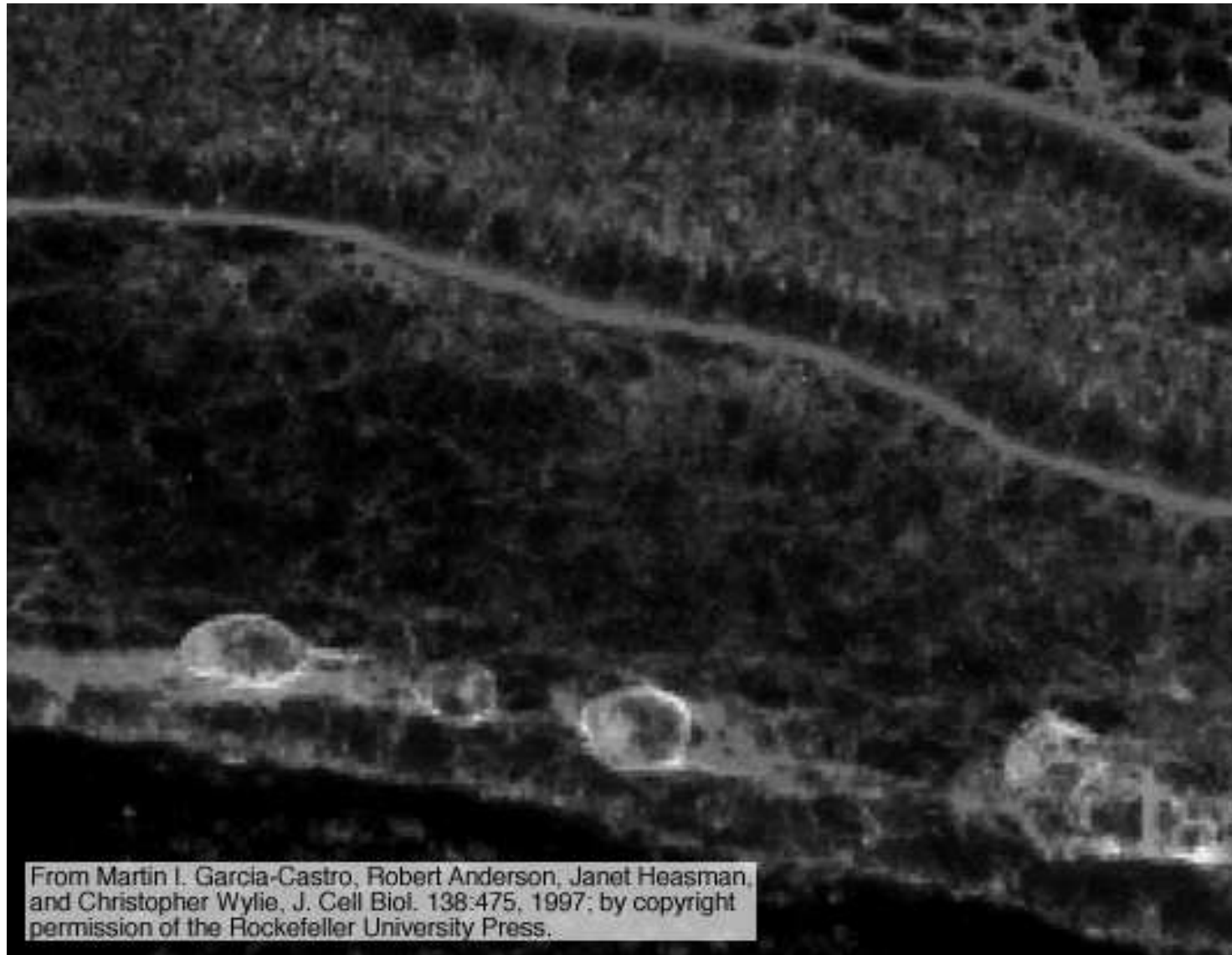
- sekvence rozeznávána určitými integriny
- význam pro mezibuněčnou adhezi



# Fibronektin

## Funkce:

- zajištění **dotyku buněk k různým složkám ECM** (kolageny, heparan sulfát)
- zajištění **dotyku buněk k jiným buňkám** (integriny)
- účast na **určení tvaru buněk a organizaci cytoskeletu**
- podíl na **regulaci migrace a diferenciaci** buněk během embryogeneze
- účast na **procesech hojení** (usnadňuje migraci makrofágů a dalších buněk imunitního systému do oblasti poranění, podíl na iniciaci srážení krve)
- myši postrádající funkční gen kódující fibronektin nepřežívají ranou embryogenezi!
- umožňuje adhezi buněk na povrch kultivačních misek (absence fibronektinu na povrchu rakovinných buněk adhezi oslabuje)

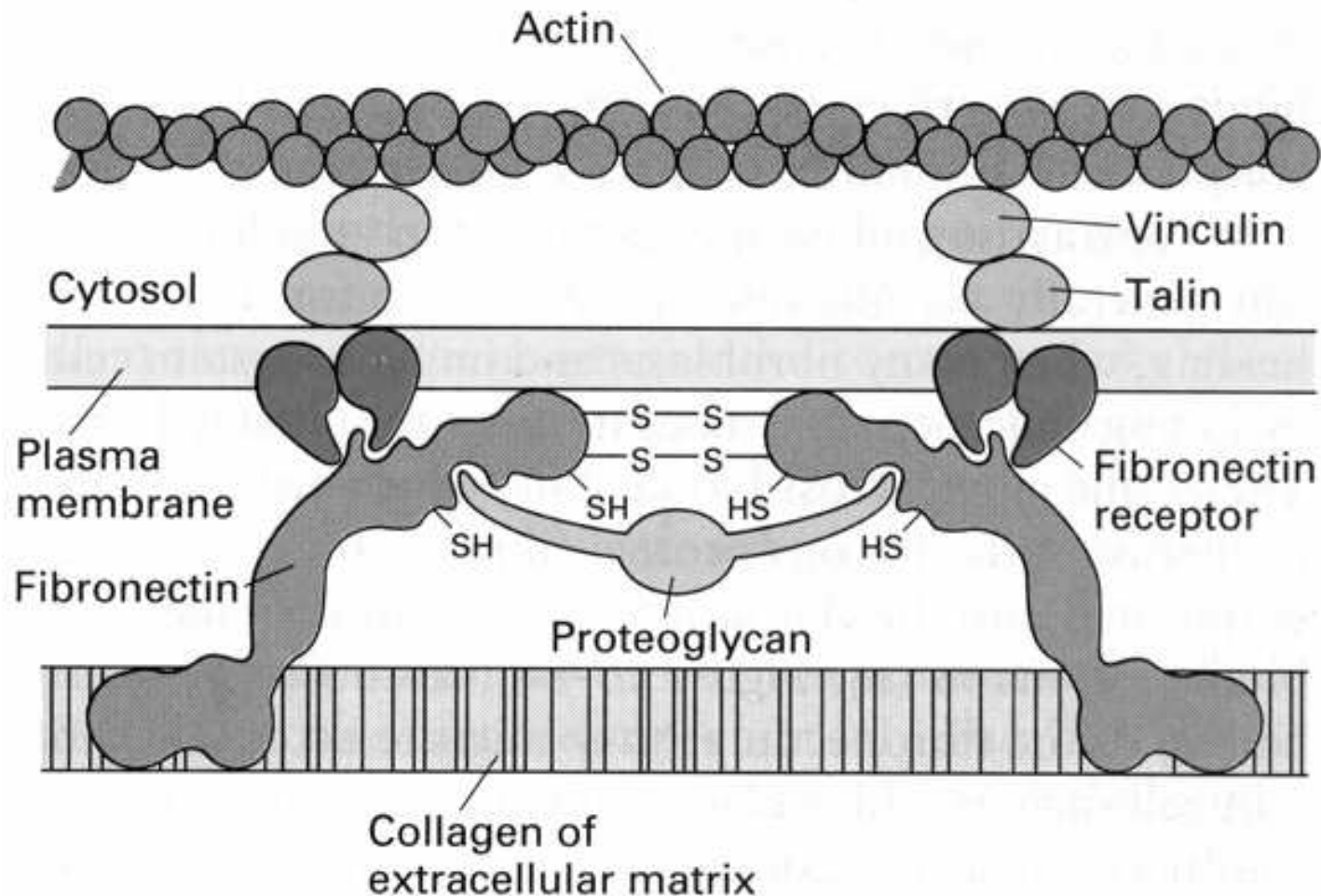


From Martin I. Garcia-Castro, Robert Anderson, Janet Heasman, and Christopher Wylie, *J. Cell Biol.* 138:475, 1997; by copyright permission of the Rockefeller University Press.

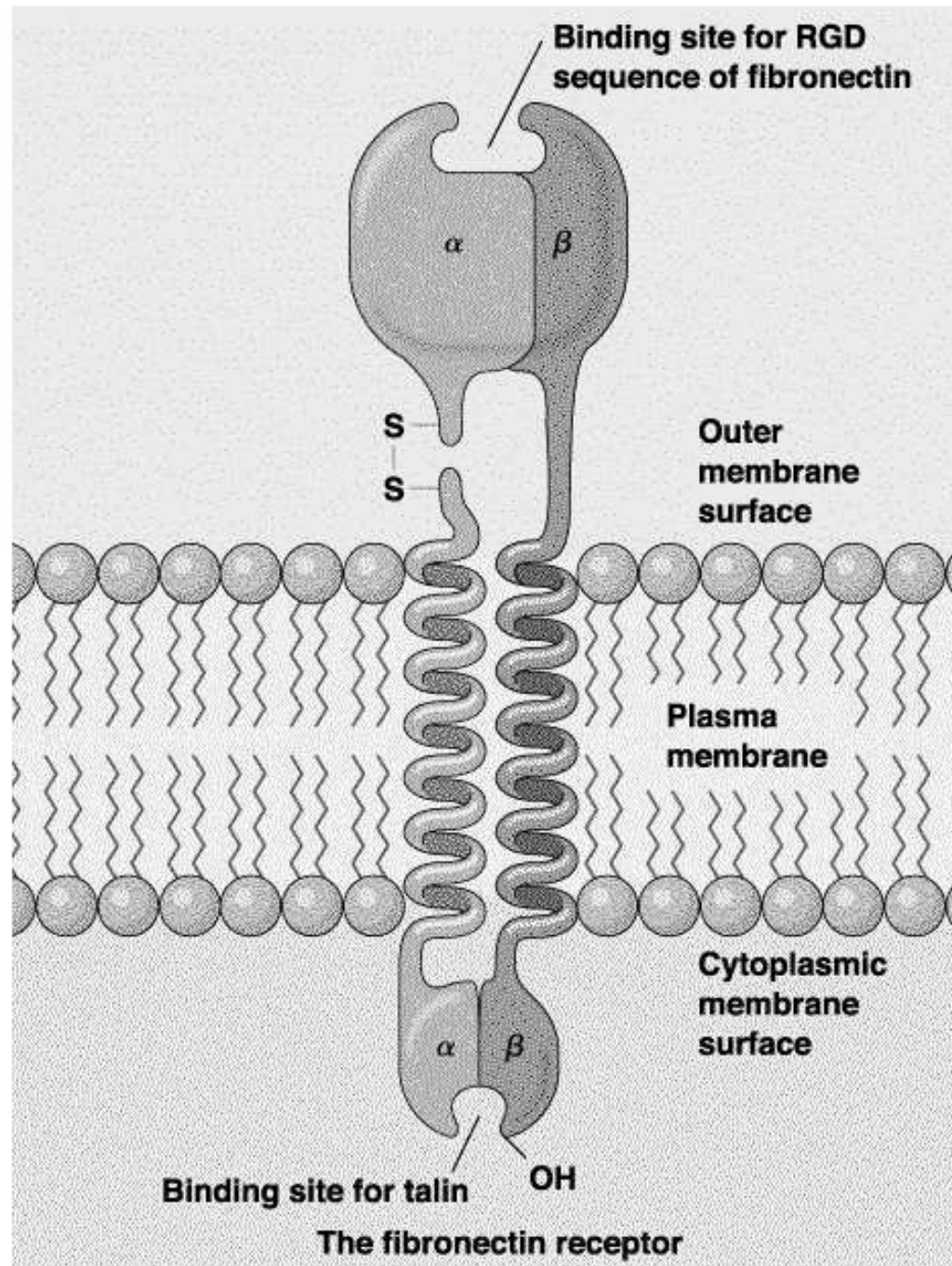
**Fibronektin je důležitou součástí migračních drah (červeně). [primordiální pohlavní buňky (zeleně) migrují do gonád]**

# Mimobuněčný fibronektin je spojen s cytoskeletem buňky

prostřednictvím spojovacích proteinů (**receptor pro fibronektin, vinkulin, talin**)



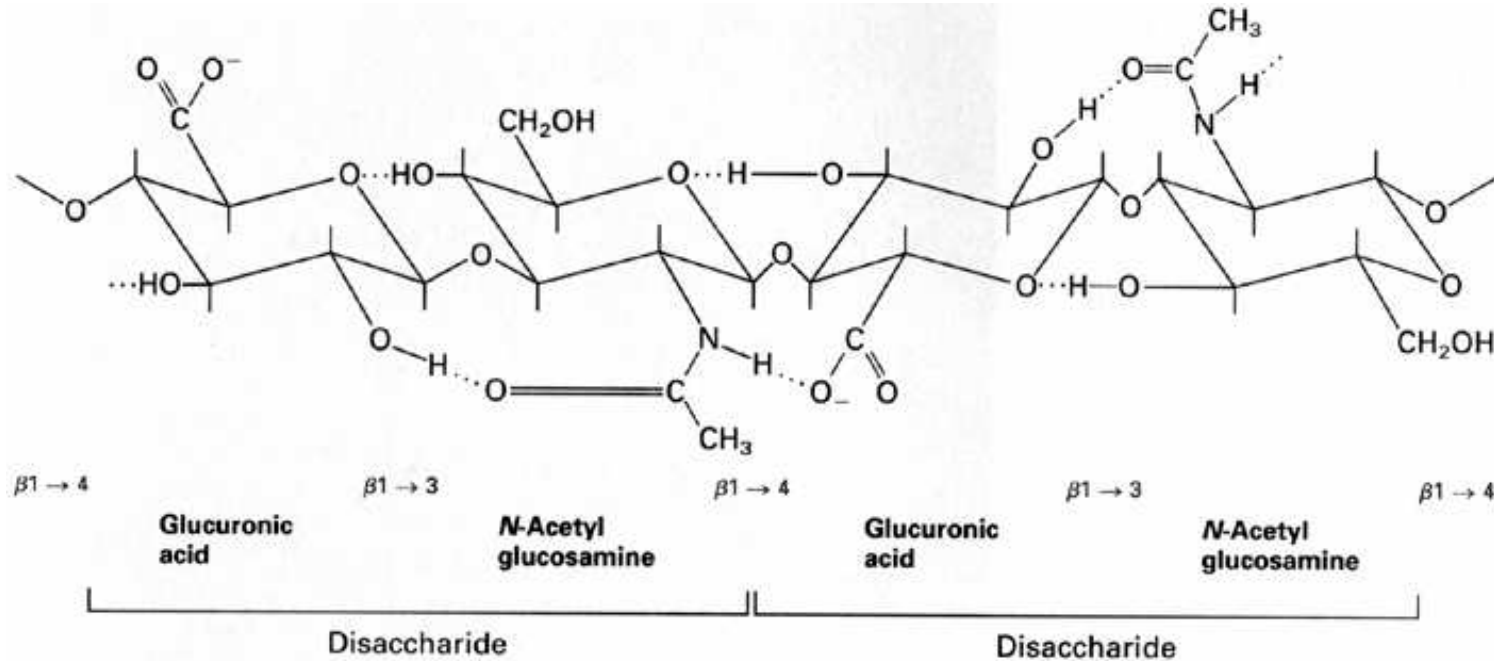
# Struktura receptoru pro fibronektin



# Kyselina hyaluronová

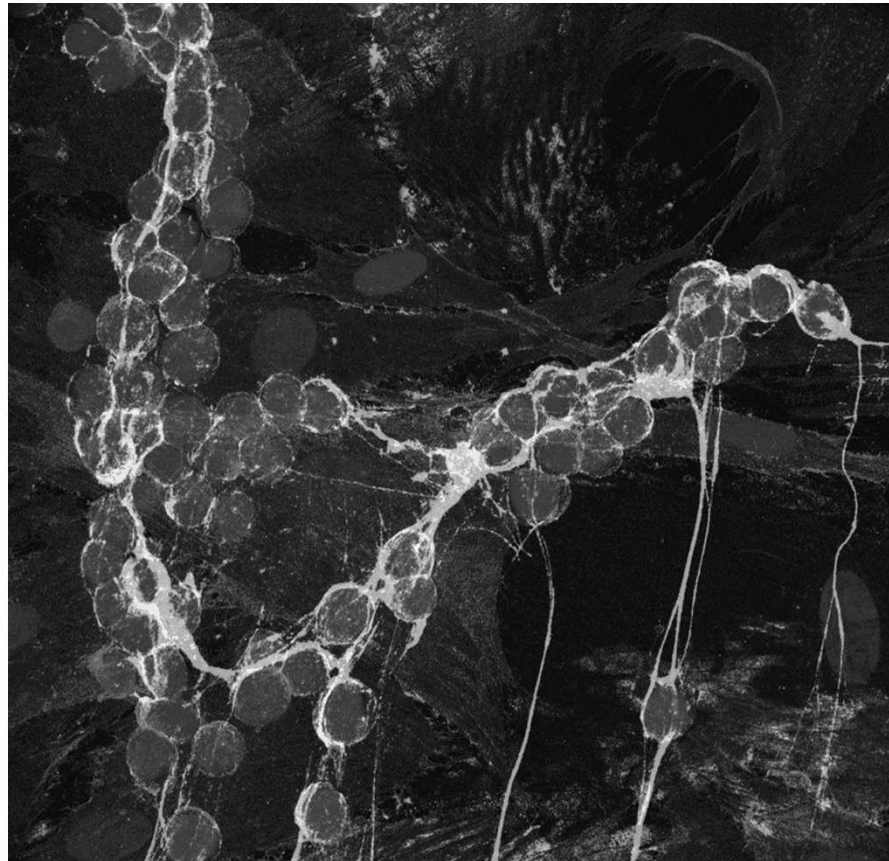
- hlavní složka extracelulární matrix, která obklopuje migrující a aktivně proliferující buňky zvláště embryonálních tkání
- poskytuje měkkost a mazlavost konektivním tkáním, např. kloubům
- jedna molekula HA se skládá až z 50.000 opakování disacharidu kyseliny glukoronové a  $\beta(1-3)$  N-acetylglukozaminu
- častý výskyt negativních nábojů: tvorba **vodíkových můstků** a **snaha vázat mnoho molekul vody** - i při nízkých koncentracích vzniká viskózní hydratovaný gel
- snaha zaujmout velký objem - odtlačuje buňky od sebe - vytváření turgoru, který konektivním tkáním přináší schopnost odolávat vnějšímu tlaku

# Kyselina hyaluronová



váže se na povrch migrujících buněk, usnadňuje jejich pohyb a proliferaci (zastavení buněk koreluje se snížením obsahu povrchových molekul vážoucích HA a se zvýšením obsahu hyaluronidázy - enzymu, který HA degraduje)

Kultivované buňky hladké svaloviny střev byly indukovány k sekreci kyseliny hyaluronové, která váže kulovité leukocyty prostřednictvím receptorů CD44.





## Kyselina hyaluronová se uplatňuje při diferenciaci svalových buněk

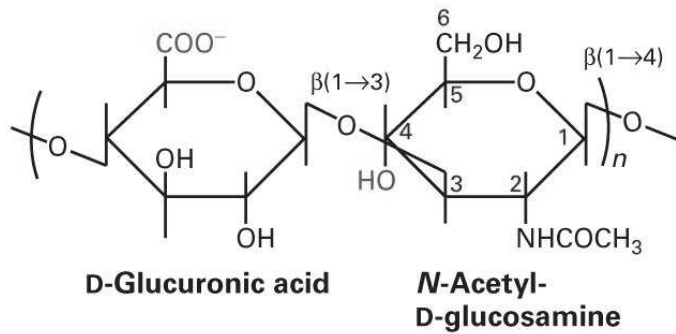
- obaluje myoblasty a brání jejich předčasné fúzi
- degradace kyseliny hyaluronové je signálem pro zahájení fúze myoblastů a tvorbu zralých mnohояaderných svalových buněk

# Další proteoglykany

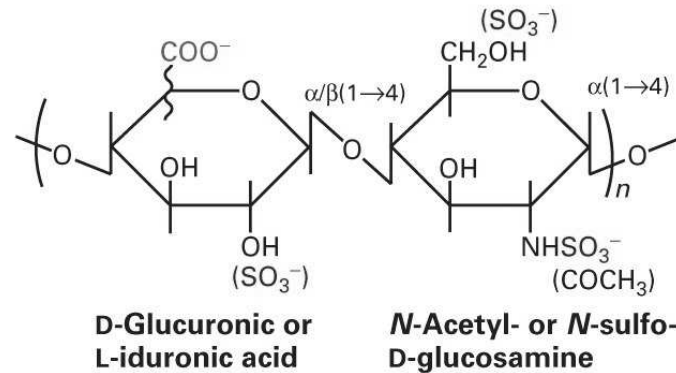
- rozmanité molekuly, z nichž některé jsou součástí ECM (**perlecan**, **agrin**) a některé jsou přímo součástí povrchu buněk a vyskytují se v různých typech matrix (**syndecan**)
- složené z proteinového jádra s kovalentně připojenými polysacharidy (glukosaminoglykany = lineární polymery specifických disacharidů)
- častý výskyt negativních nábojů, přitahování  $H_2O$
- pozoruhodná rozmanitost: daná matrix může obsahovat několik typů proteinových jader, na každé z nich mohou být navázány různé oligosacharidové řetězce různých délek a různého složení
- chrupavkový proteoglykan - jedna z největších známých makromolekul ( $4 \mu m$  - více než celá bakteriální buňka) - zajišťuje pevnost chrupavek

# Disacharidy glukózoaminoglykanů

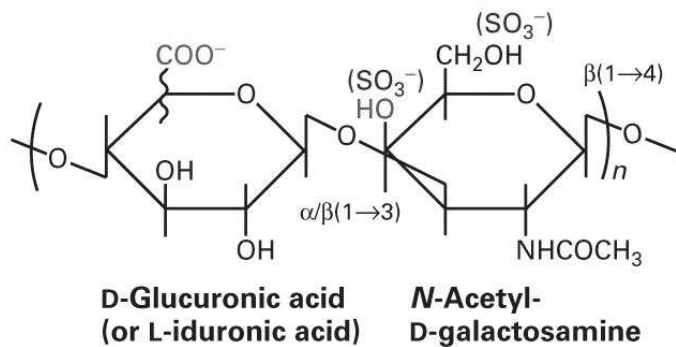
(a) Hyaluronan ( $n \leq 25,000$ )



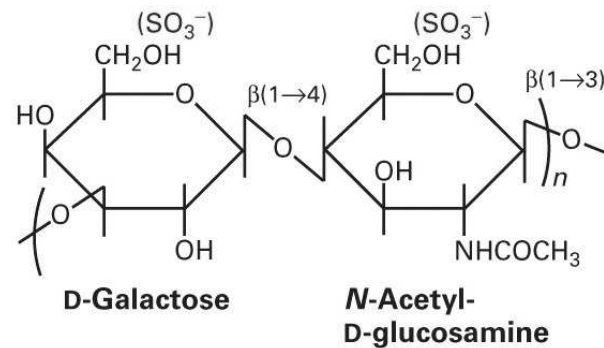
(c) Heparin/Heparan sulfate ( $n = 200$ )



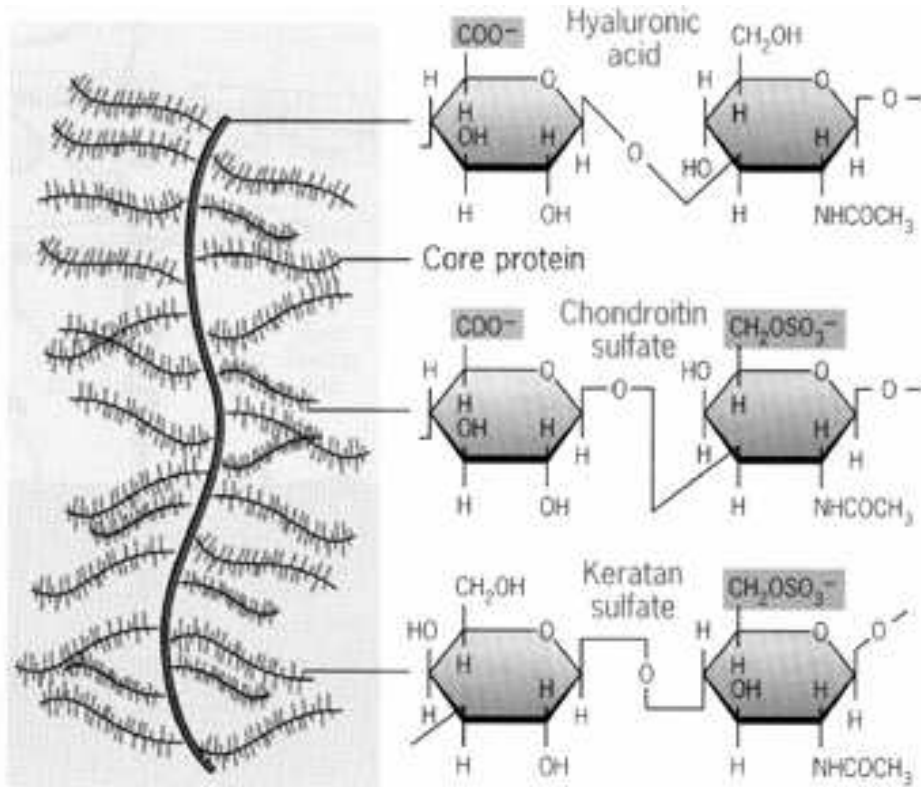
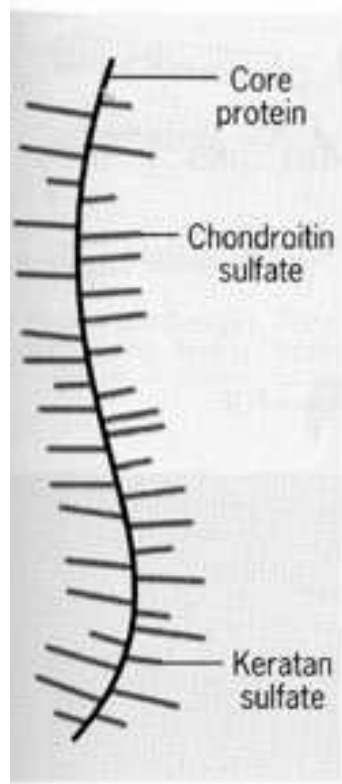
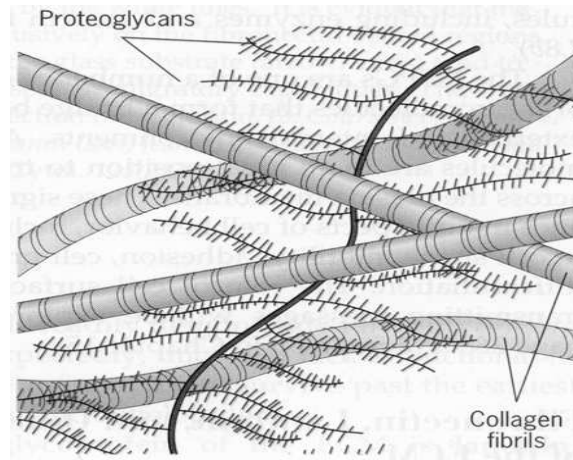
(b) Chondroitin (or dermatan) sulfate ( $n < 250$ )

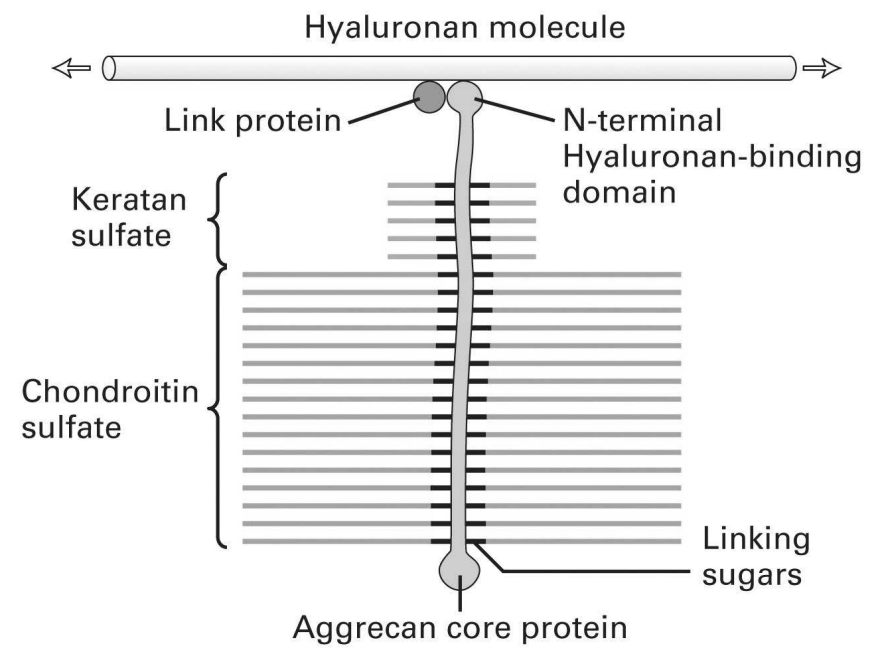
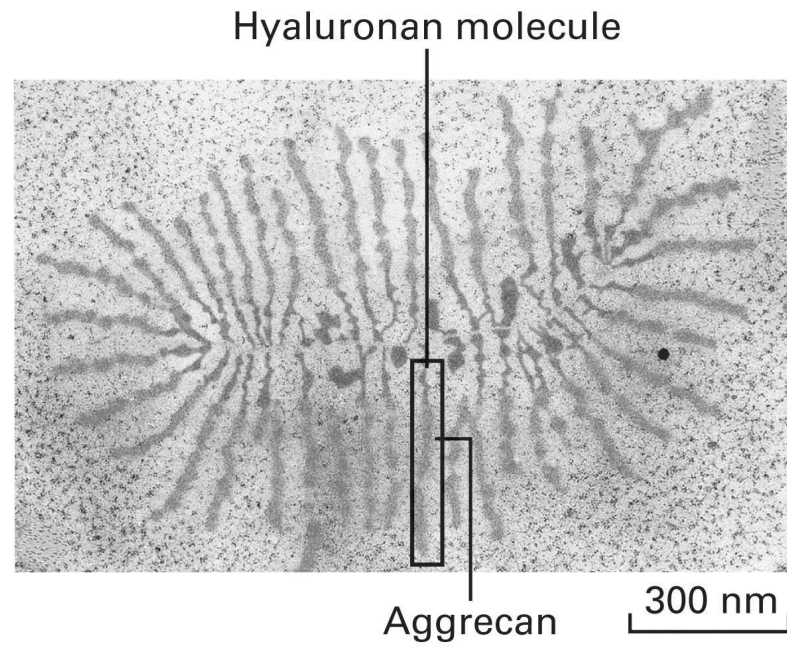


(d) Keratan sulfate ( $n = 20-40$ )



# Struktura proteoglykanů matrix chrupavky





# Kolageny a proteoglykany

- poskytují chrupavkovým a dalším tkáním sílu a odolnost k deformacím
- tvoří základ mimobuněčné matrix kostí, která je navíc posílena solemi fosforečnanu vápenatého

## Rodina proteoglykanů obsahujících heparan sulfát

- strukturní složka mimobuněčné matrix a zároveň funkce na buněčném povrchu
- **proteinové jádro** proniká plazmatickou membránou
- **glukozaminoglykany** jsou připojeny k mimobuněčné doméně proteinu
- cytoplazmatická doména proteinu interaguje s **buněčným cytoskeletem**
- mimobuněčná doména proteinu interaguje s řadou proteinů mimobuněčné matrix - ukotvení buňky, vazba enzymů, růstových faktorů

# Schema struktury syndekanu - proteoglykanu obsahujícího heparan sulfát

