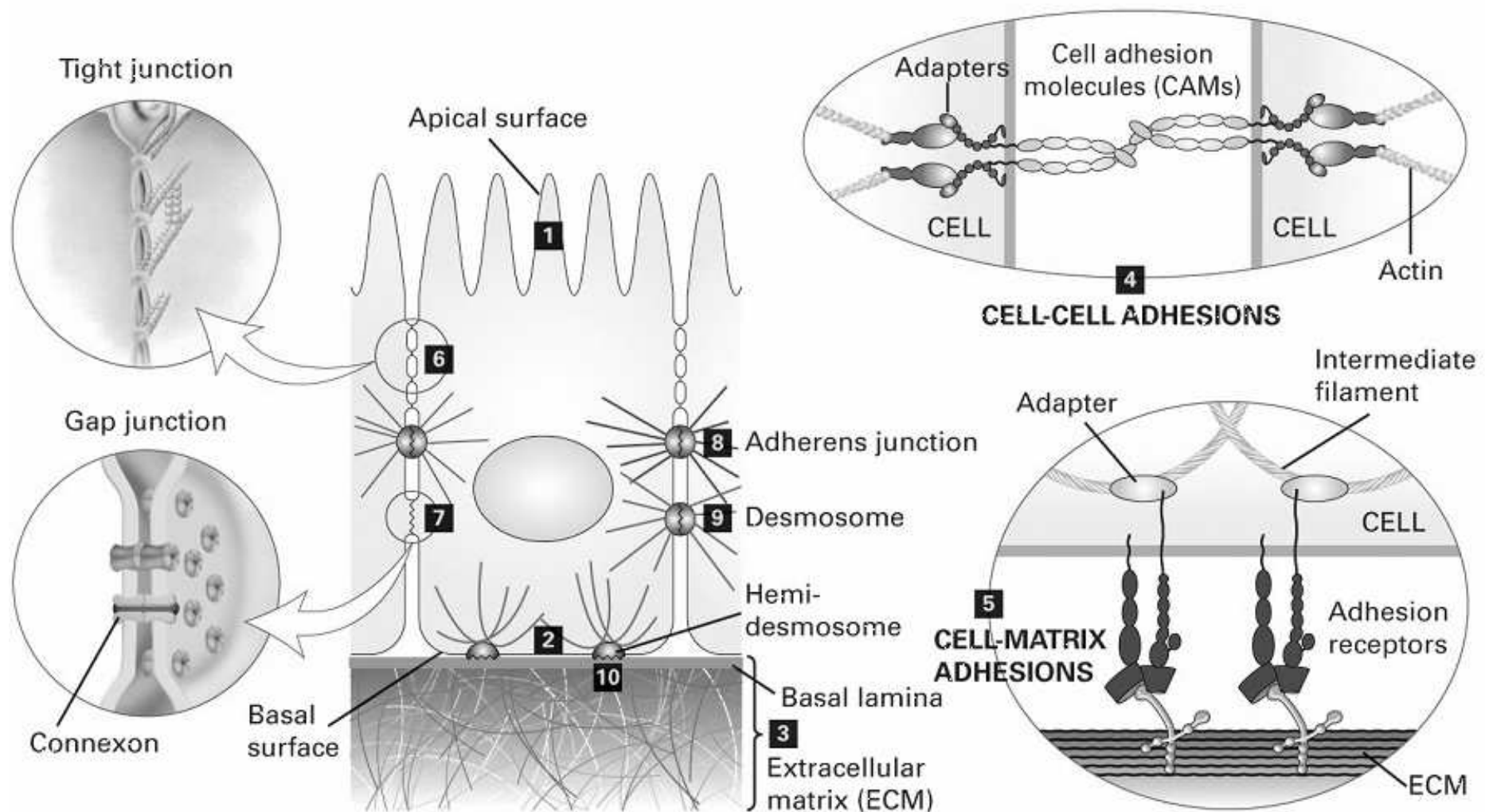


Interakce mezi buňkami a ECM



Mezibuněčné interakce

Formování mnohobuněčného organismu vyžaduje specifické interakce mezi buňkami (podpůrná funkce, koordinace aktivit)

Funkce:

- stálá vzájemná adheze buněk téhož typu
- přechodná adheze např. mezi leukocyty a endoteliálními buňkami krevních kapilár

Čtyři hlavní typy buněčných adhezivních molekul CAM („Cell Adhesion Molecules“)

- selektiny
- integriny
- **ICAM** = mezibuněčné adhezivní molekuly typu imunoglobulinů („Ig-like CAMs“)
- kadheriny

Selektiny, integriny a kadheriny vyžadují přítomnost iontů Ca^{2+} nebo Mg^{2+} .

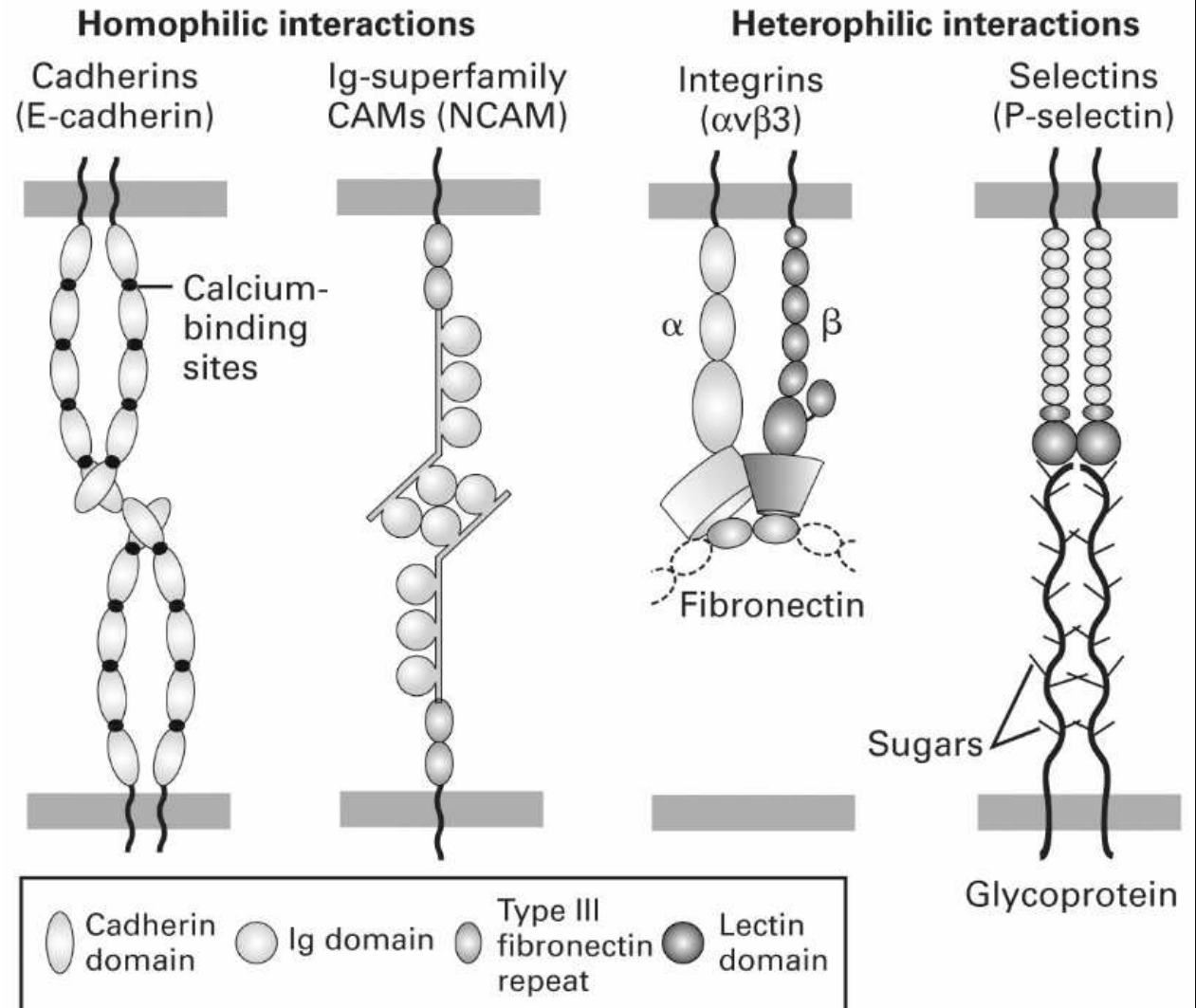
Čtyři hlavní typy buněčných adhezivních molekul CAM („Cell Adhesion Molecules“)

Struktura:

- vzájemná vazba mimobuněčných domén a zároveň vazba k nitrobuněčným proteinům
- jediná transmembránová doména
- nitrobuněčná doména ukotvena v cytoskeletu buňky

Strukturní rysy CAM

- mnoho opakujících se domén („repeats“) v jedné molekule
- stejné domény mohou být zastoupeny u různých CAM
- zajišťují **homofilní interakce** (vzájemná vazba stejných CAM na různých buňkách) nebo **heterofilní interakce** (mezi různými CAM)



Selektiny

Struktura

- membránové glykoproteiny
- tvořeny malou cytoplazmatickou doménou, transmembránovou doménou a rozsáhlou mimobuněčnou oblastí, kterou tvoří několik domén
- obsahují Ca^{2+} -dependentní lektinovou doménu na distálním konci mimobuněčné části molekuly
- lektinová doména rozeznává a váže oligosacharidy glykoproteinů nebo glykolipidů, které vyčnívají z povrchu jiných buněk

Selektiny

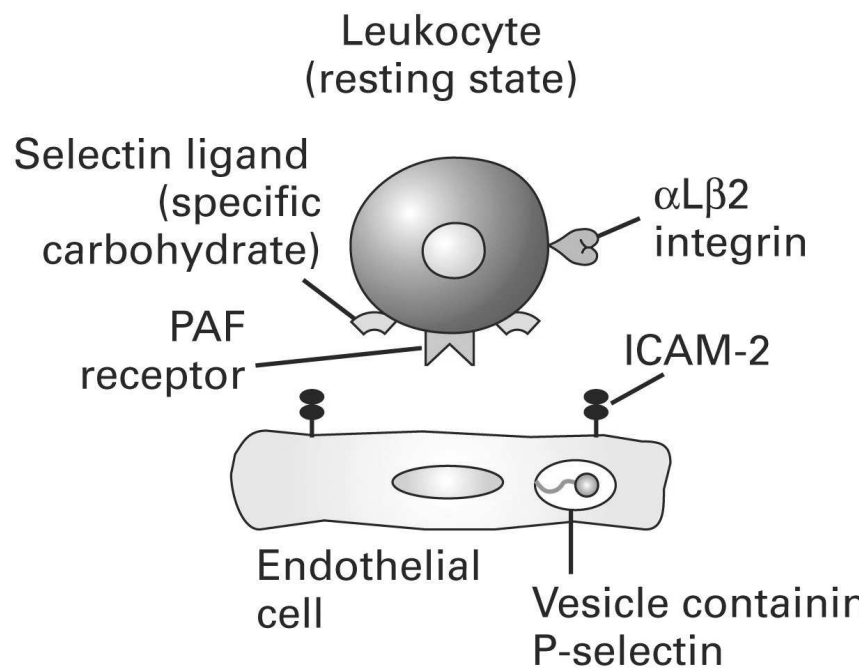
Funkce

- zprostředkovávají přechodné interakce na základě heterofilní vazby k povrchovým glykoproteinům jiných buněk
- zajišťují např. přechodné interakce mezi leukocyty a stěnami krevních kapilár v místech zánětu a srážení krve
- vazba selektinů k uhlovodíkovým řetězcům je závislá na iontech vápníku

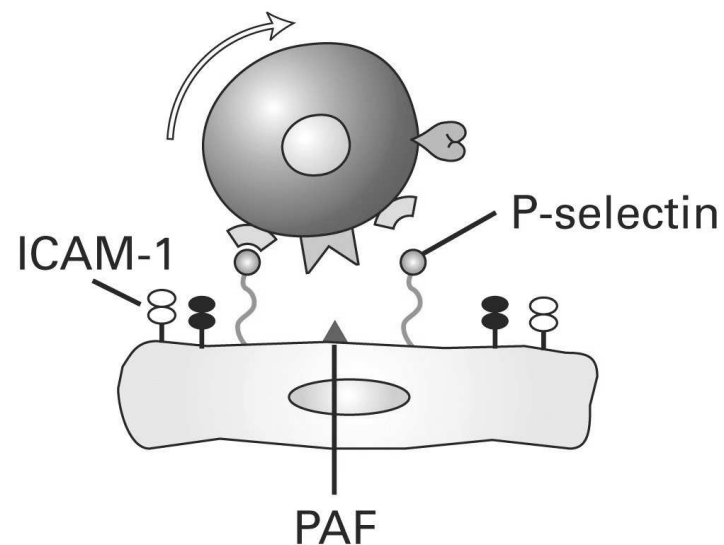
Účast selektinů na zajištění průniku leukocytů z cév do tkání - část I

- základem je interakce mezi určitými uhlovodíkovými řetězci na povrchu leukocytů a buňkami cévní výstelky, na které se podílí **selektin P** (vystaven na povrchu cévních buněk v případě jejich aktivace signály pocházejícími z místa infekce nebo zánětu)
- afinita **selektinu P** k leukocytům je slabá - přechodná: zpomalení pohybu leukocytů podél cévních stěn („rolling leukocytes“)
- aktivace endoteliálních buněk způsobuje rovněž tvorbu fosfolipidu **PAF** („platelet-activating factor“), který je též vystaven na jejich povrchu (interakce s PAF receptorem na povrchu leukocytu)

Účast selektinů na zajištění průniku leukocytů z cév do tkání - část I



Endothelial activation and leukocyte attachment and rolling



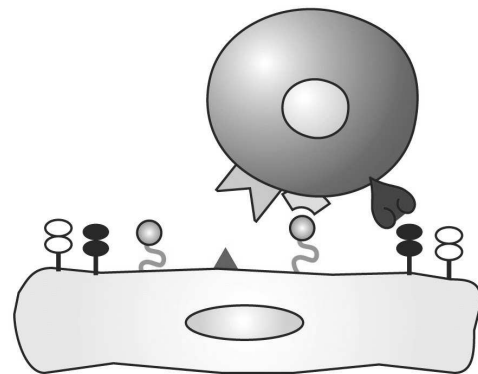
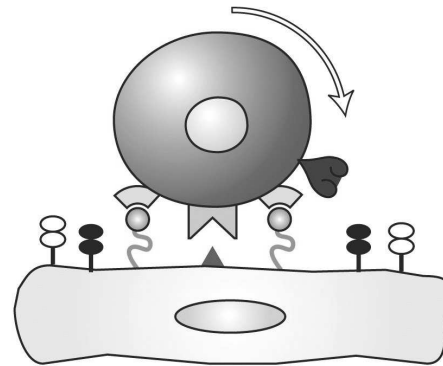
Účast selektinů na zajištění průniku leukocytů z cév do tkání - část II

- vazba **PAF** k receptoru vyvolá aktivaci leukocytových integrinů do podoby s vysokou vazebnou afinitou
- aktivované **integriny** na povrchu leukocytů vážou **ICAM** na povrchu endoteliálních buněk (konstitutivní ICAM-2 a inducibilní ICAM-1).
- těsná vazba integrin-ICAM způsobí zastavení pohybu leukocytů a jejich roztažení na povrchu stěny cévy
- následuje průnik adherujících buněk mezi sousedními endoteliálními buňkami do podložní tkáně

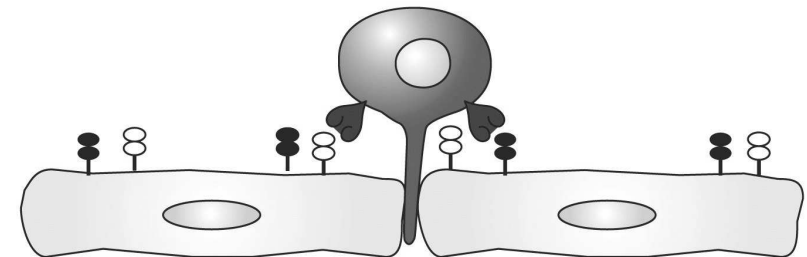
Pozn. na aktivaci integrinů se podílejí rovněž chemokiny, produkované v místech infekce a zánětu

Účast selektinů na zajištění průniku leukocytů z cév do tkání - část II

Leukocyte activation
(PAF activates integrin)



Firm adhesion via
integrin/ICAM binding



Extravasation

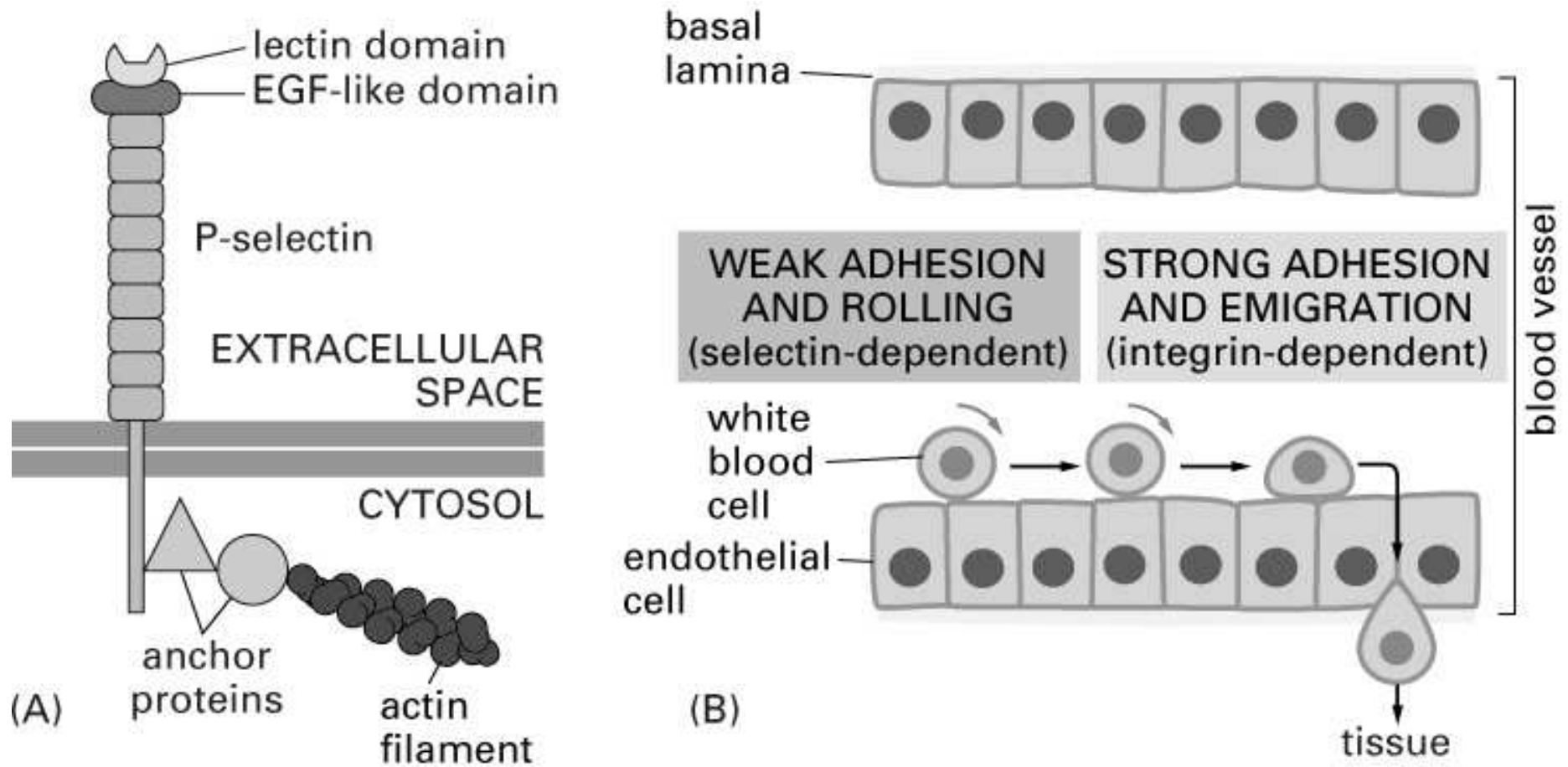


Figure 19-30. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.



„Leukocyte adhesion deficiency“

- dědičná choroba projevující se poruchou syntézy podjednotky $\beta 2$ integrinu: následkem je nedostatečná schopnost průniku leukocytů cévami a s tím související nedostatečnost funkce leukocytů v tkáních a náchylnost k bakteriálním onemocněním

Patogenní viry často používají ICAM pro vstup do tkání.

Integriny

- povrchové receptory zodpovídající za vazbu buněk k extracelulární matrix
- transmembránové proteiny tvořené podjednotkami α a β
- cytozolická doména je bez enzymové aktivity
- je známo asi 24 různých integrinových heterodimerů (kombinace 18 podjednotek α a 8 podjednotek β)
- každý řetězec β může interagovat s kterýmkoliv z řetězců α : vznikají integriny, které vážou jiné ligandy
- jako ligandy slouží krátké sekvence aminokyselin, které nesou různé složky extracelulární matrix (kolagen, fibronectin, laminin)

Integriny

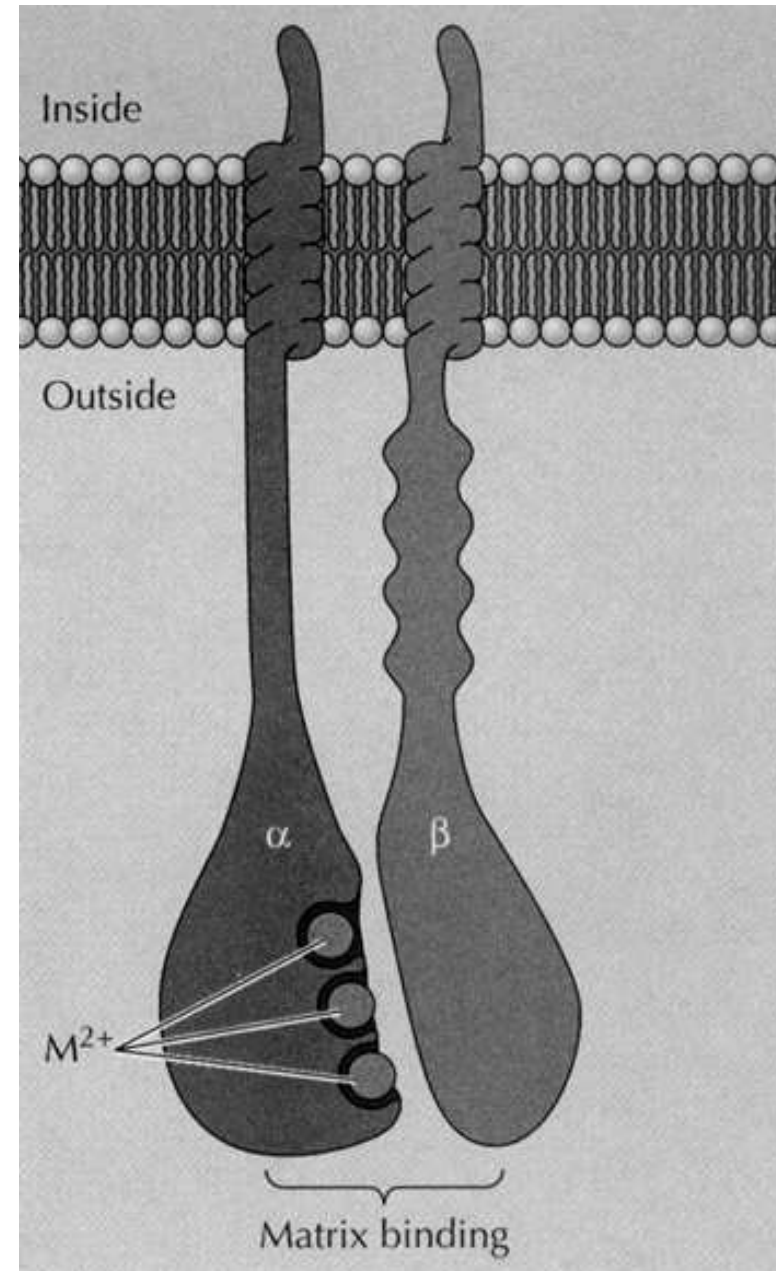
Funkce:

- fixace cytoskeletu buňky - přímé napojení na extracelulární matrix
- regulace adheze buněk

Aktivita závisí na:

- vnějších signálech (z ECM)
- vnitřních signálech (z buněčných signálních drah)

Schema struktury integrinů



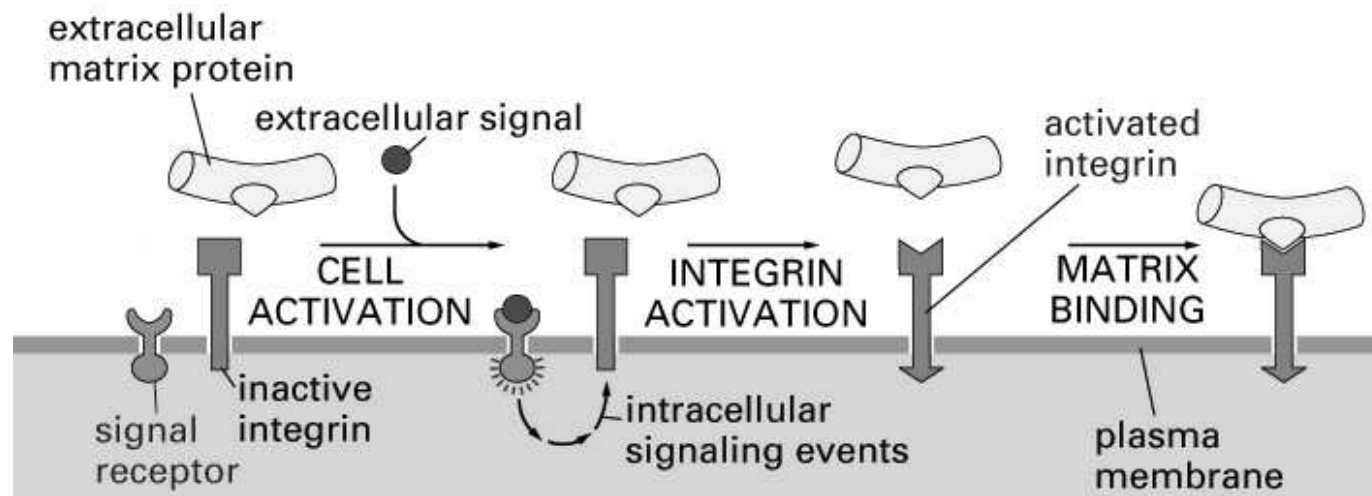
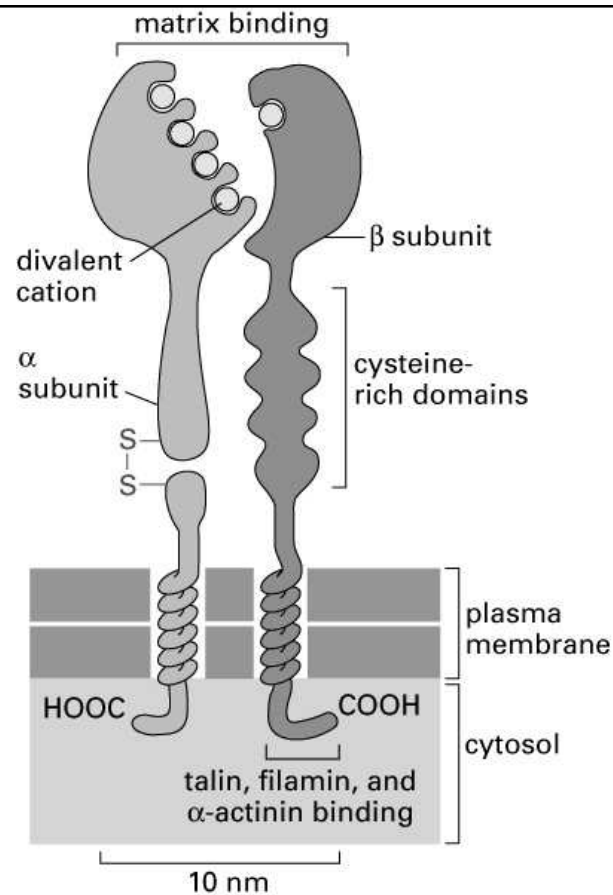


Figure 19-65. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Integriny a signalizace

- interakce integrin - matrix
- asociace integrinů s nереceptorovými tyrozin kinázami (FAK)
- autofosforylace FAK
- doménou SH2 se k fosforylované FAK váže nереceptorová kináza Src
- další fosforylace FAK kinázou Src
- vznik dalších vazebných míst pro domény SH2
- vazba komplexu Grb2/Sos
- aktivace Ras
- aktivace kináz MAP, atd.

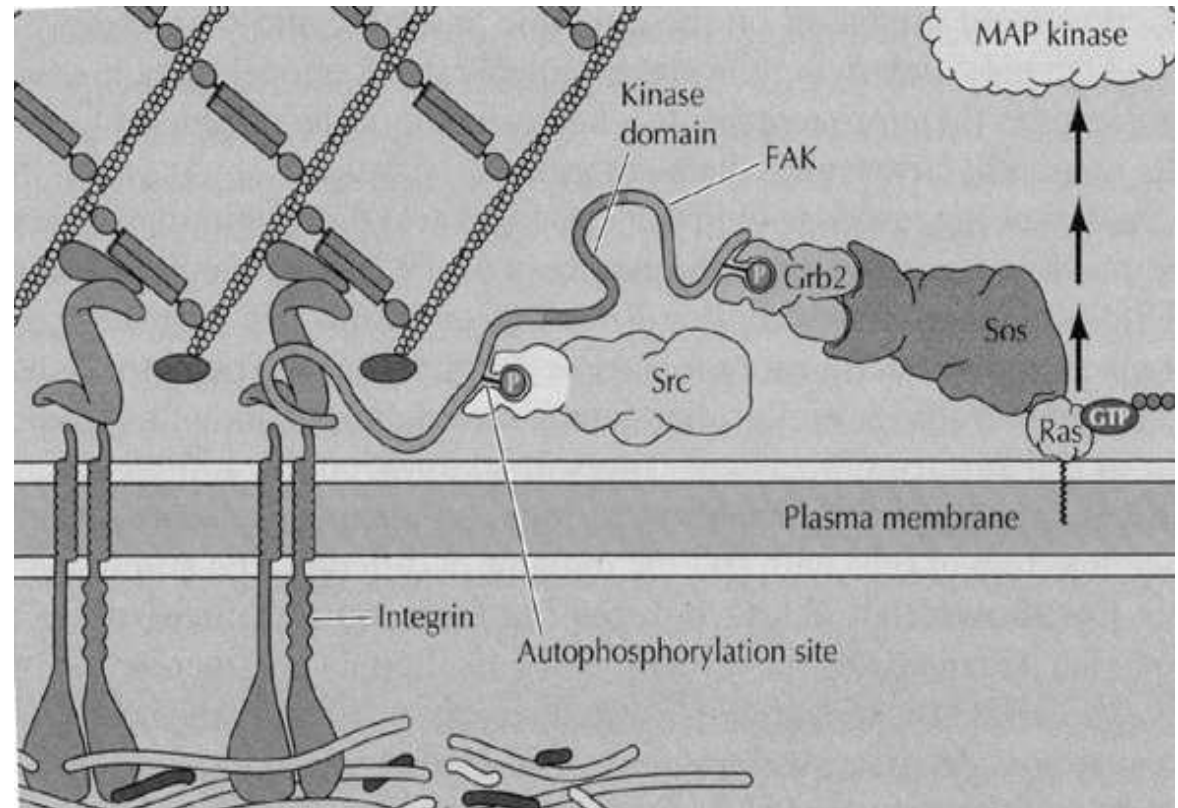


TABLE 6-2 Selected Vertebrate Integrins*

Subunit Composition	Primary Cellular Distribution	Ligands
$\alpha 1\beta 1$	Many types	Mainly collagens; also laminins
$\alpha 2\beta 1$	Many types	Mainly collagens; also laminins
$\alpha 4\beta 1$	Hematopoietic cells	Fibronectin; VCAM-1
$\alpha 5\beta 1$	Fibroblasts	Fibronectin
$\alpha L\beta 2$	T lymphocytes	ICAM-1, ICAM-2
$\alpha M\beta 2$	Monocytes	Serum proteins (e.g., C3b, fibrinogen, factor X); ICAM-1
$\alpha IIb\beta 3$	Platelets	Serum proteins (e.g., fibrinogen, von Willebrand factor, vitronectin); fibronectin
$\alpha 6\beta 4$	Epithelial cells	Laminin

*The integrins are grouped into subfamilies having a common β subunit. Ligands shown in red are CAMs; all others are ECM or serum proteins. Some subunits can have multiply spliced isoforms with different cytosolic domains.

SOURCE: R. O. Hynes, 1992, *Cell* 69:11.

Integrin $\alpha 6 \beta 4$

- zajišťuje adhezi **epiteliálních buněk** k lamininu bazální laminy
- klíčová adhesivní molekula **hemidesmosomů**
- propojení s intermediárními filamenty nebo s aktinovými filamenty u pohybových struktur (filopodia, lamelipodia)
- uplatňuje se při pohybu buněk a metastázování

Integrin α IIb/ β 3

- hlavní integrin krevních destiček
- zodpovídá za agregaci krevních destiček tím, že se váže na fibrin
- během agregace krevních destiček se fosforyluje tyrosin v cytoplazmatické doméně β 3
- fosforylací vzniká vazebné místo pro myosin a signální molekuly typu Shc
- předpokládá se zapojení do buněčných signalizací

Integriny $\alpha v \beta 3$ a $\alpha v \beta 5$

- interakce s růstovými faktory **bFGF** a **VEGF**, které se podílejí na řízení **angiogeneze**
- místo vazby anti-angiogenních faktorů
- klinický význam

Integriny a růstové faktory

- receptory pro růstové faktory kooperují s integriny při regulacích mnoha buněčných procesů
- integriny napomáhají receptorům pro růstové faktory, složkám cytoskeletonu, adaptorovým molekulám, nereceptorovým tyrosin kinázám ve schopnosti reagovat na růstové signály a další ligandy ECM

Integriny / růstové faktory a regulace pohybu

- **FAK** spojuje **GFR** se složkami vážoucími integriny - kontrola správnosti umístění buňky v matrix

Integriny / růstové faktory a regulace buněčného cyklu

- cytoplazmatická doména receptoru pro EGF interaguje s nereceptorovou kinázou **FAK** (Focal adhesion kinase)
- signály z EGFR a integrinů se podílejí na řízení přechodu fází *G1/S*
- aktivace ERK vyžaduje signál z EGFR, adhezi zajištěnou integriny a aktivaci FAK a/nebo Shc/Fyn
- zvýšení hladiny cyklinu D1 vyžaduje přítomnost růstových faktorů a specifickou interakci integrin-ECM
- signály z integrinů suprimují inhibitory CDK p21^{Cip} a p27^{Kip} (integrin aktivuje signální dráhu Cdc42/Rac1 - degradace p21^{Cip} a p27^{Kip} proteasomem)

Neural cell adhesion molecule (N-CAM)

- výskyt na povrchu nervových a gliových buněk
- zajišťuje jejich vzájemnou afinitu
- podstatou vazby buněk je spojení dvou molekul N-CAM na povrchu interagujících buněk (homotypická interakce)
- zajišťuje mezibuněčné interakce, které jsou důležité především pro vývoj centrálního nervového systému
- podíl na vývoji i jiných než nervových tkání
- existuje 20 různých forem N-CAM, všechny vznikají alternativním sestřihem transkriptu jediného genu
- struktura vykazuje určitou homologii s imunoglobuliny

Schéma molekul NCAM

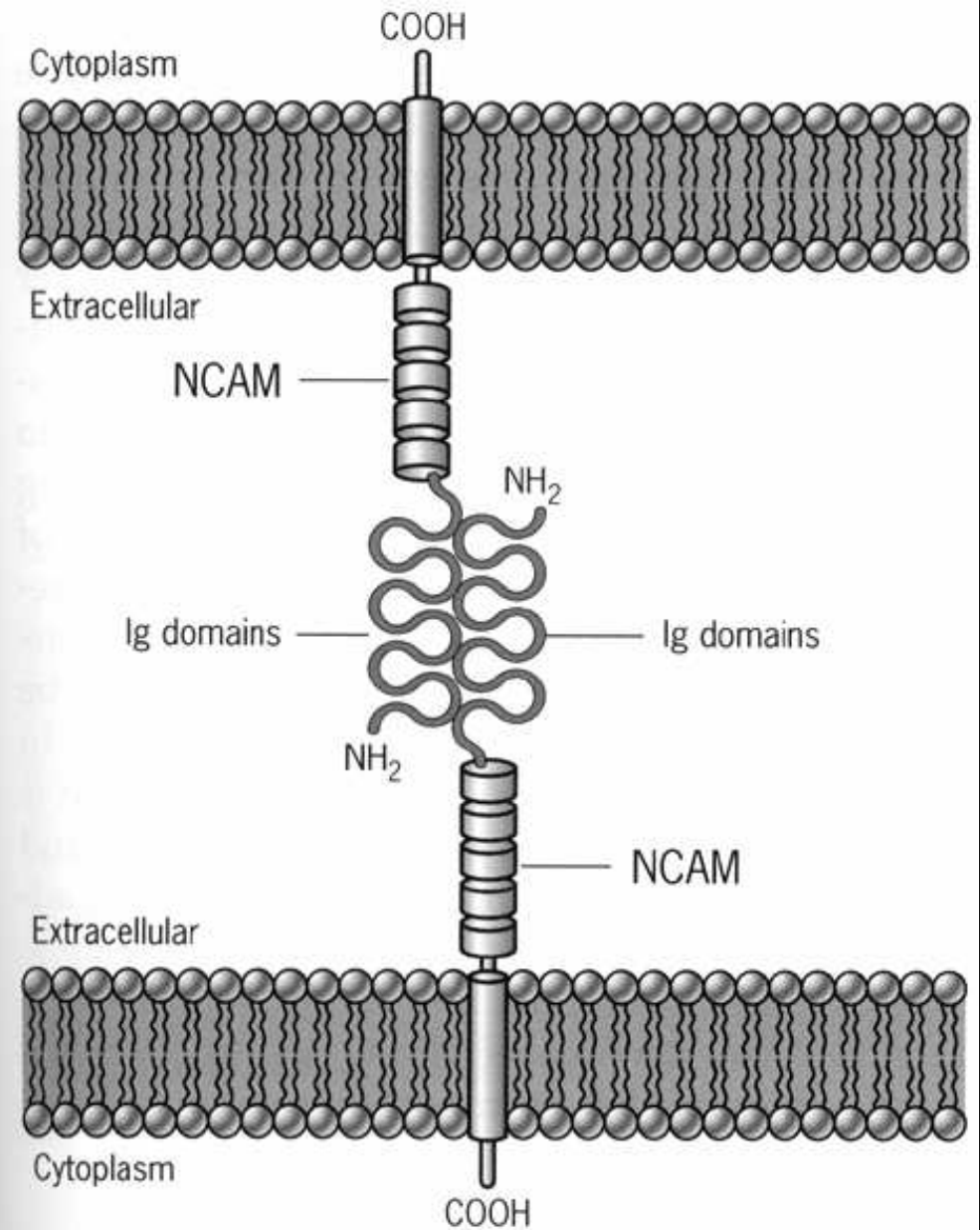
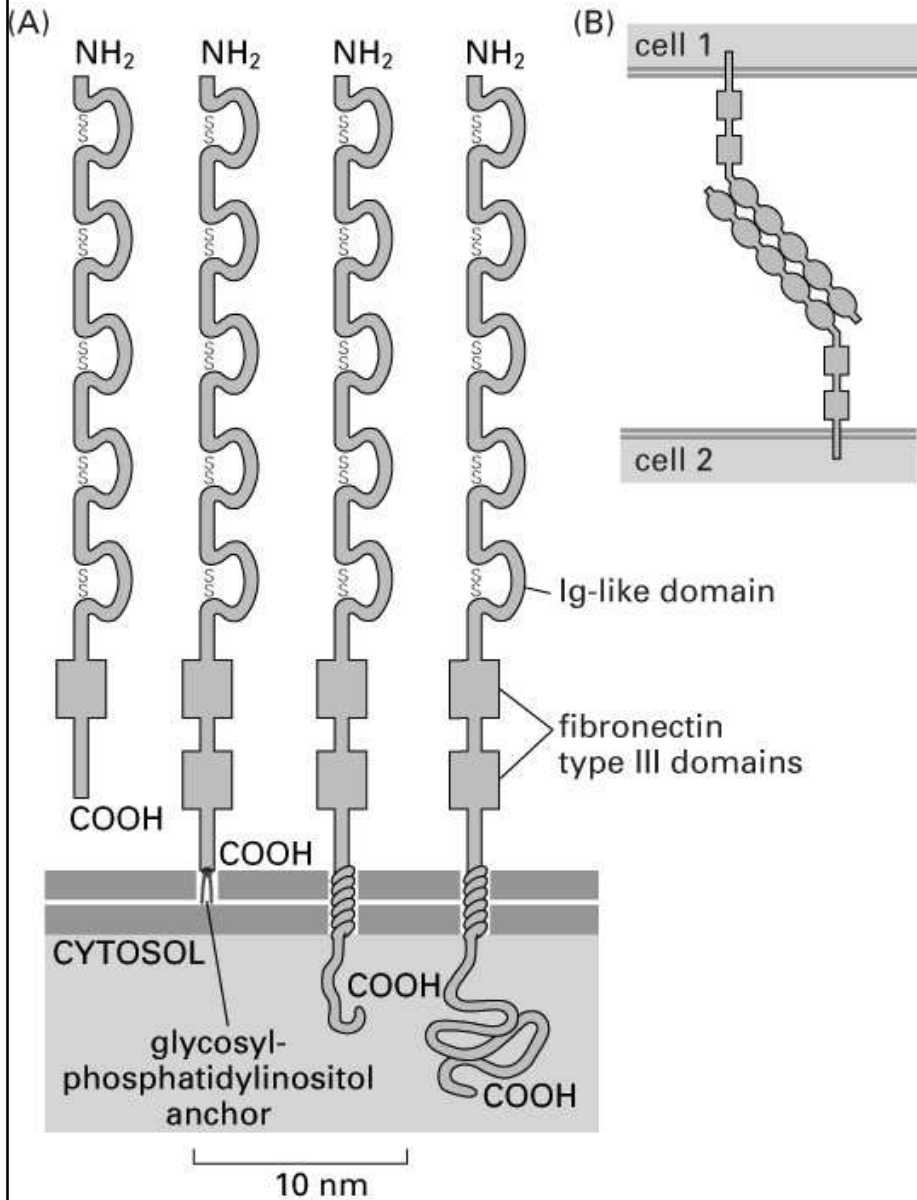


Figure 19-31. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

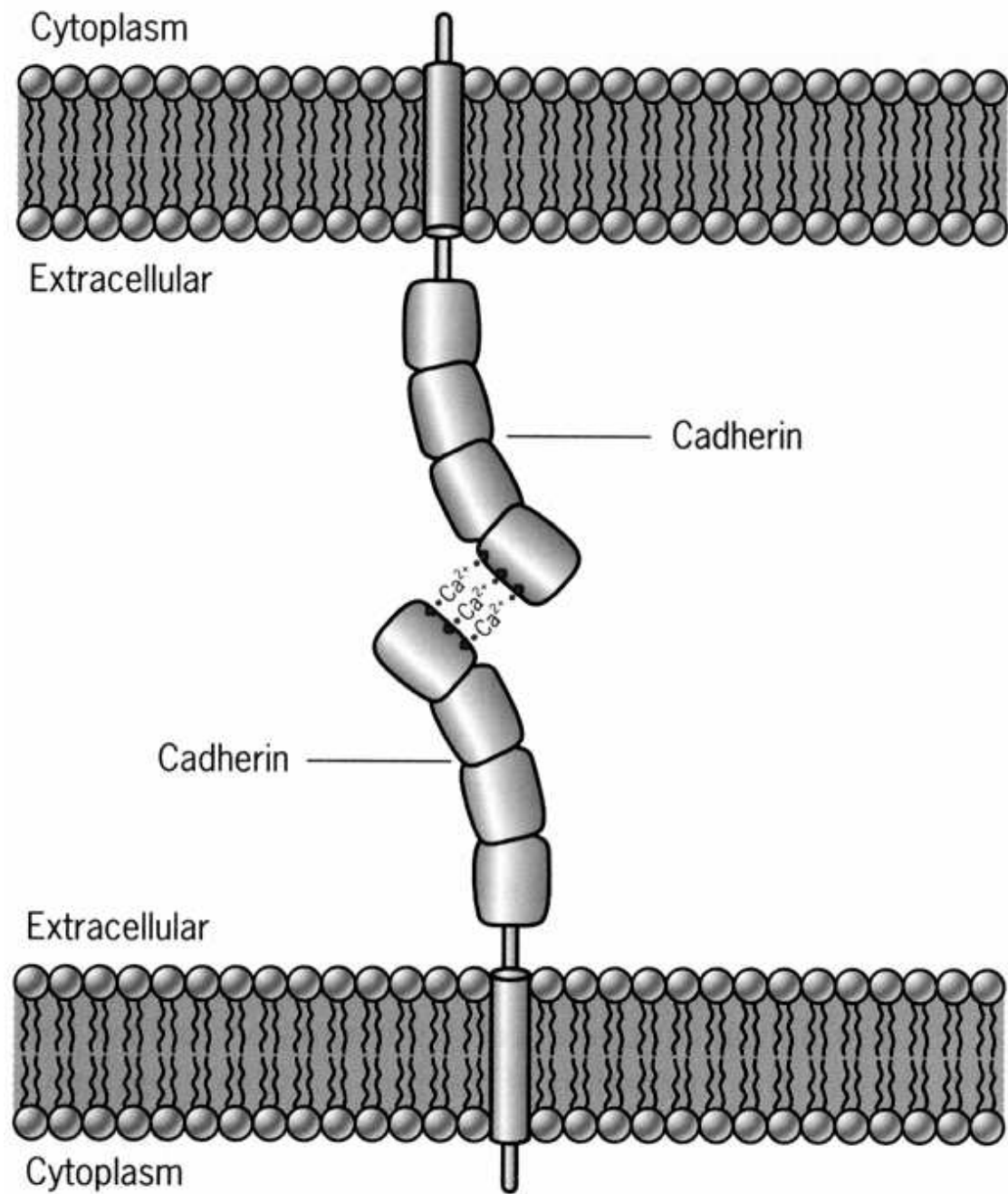
NCAM patří do rodiny molekul typu imunoglobulinů

- obdobná doménová struktura jako u Ig
- zprostředkování mezibuněčných interakcí nezávisle na přítomnosti iontů vápníku
- výskyt u bezobratlých, kde není klasický imunitní systém - funkce v mezibuněčné adhezi byla u těchto proteinů původní, později efekторы v systému imunitním

Kadheriny

- glykoproteiny tvořící součást plazmatické membrány
- zajišťují mezibuněčné interakce důležité pro **strukturu a diferenciaci tkání**
- rozdělují se do 3 podskupin - kadheriny E, P, N, VE
- každý typ má tkáňově specifickou distribuci:
- (E: epiteliální a embryonální buňky, P: placenta, epidermis
- N: nervové a svalové buňky), VE: vaskulární a endoteliální buňky)
- během diferenciacce se množství a typ kadherinů mění ⇒
vliv na adhezi a migraci buněk

**Schéma
mezibuněčného
kontaktu zajištěného
kadheriny**



Když se ionty Ca^{2+} navážou na příslušné domény kadherinů jsou schopné vzájemné interakce s obdobnými doménami sousedních buněk.

Odstranění Ca^{2+} způsobí disociaci buněk

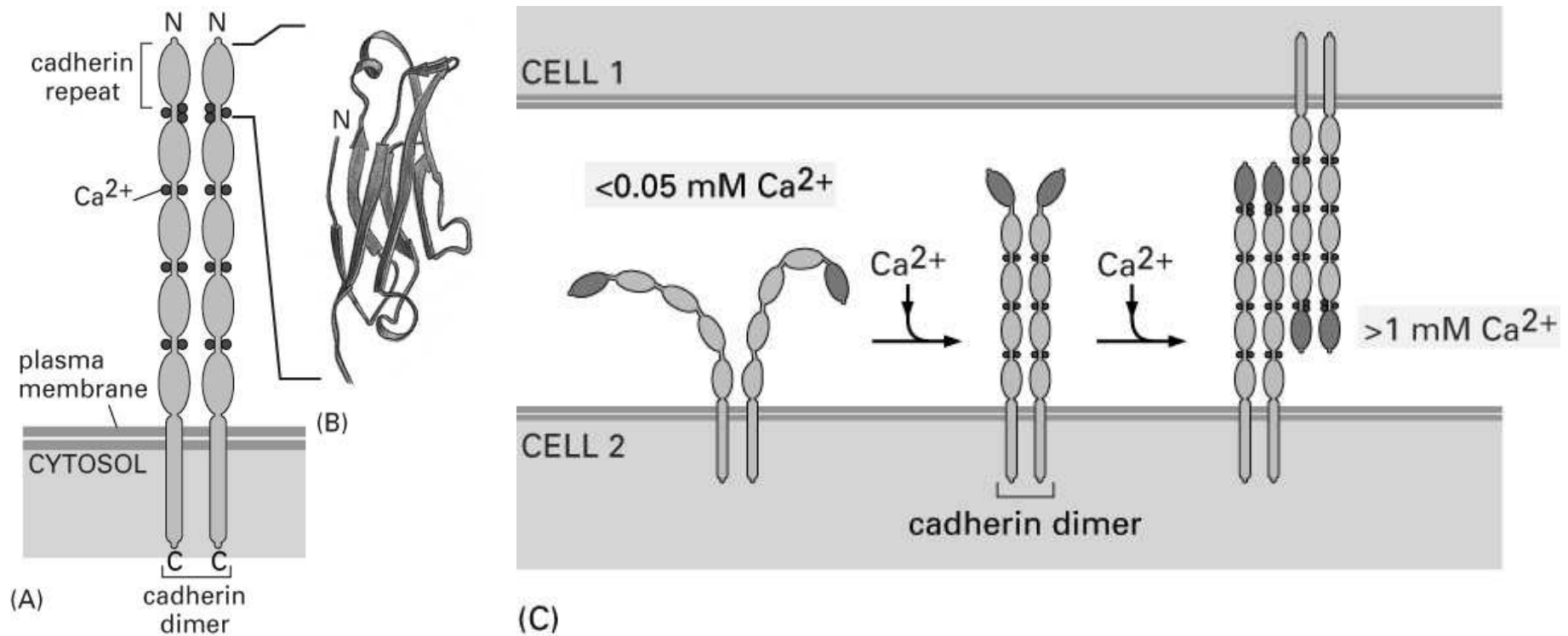
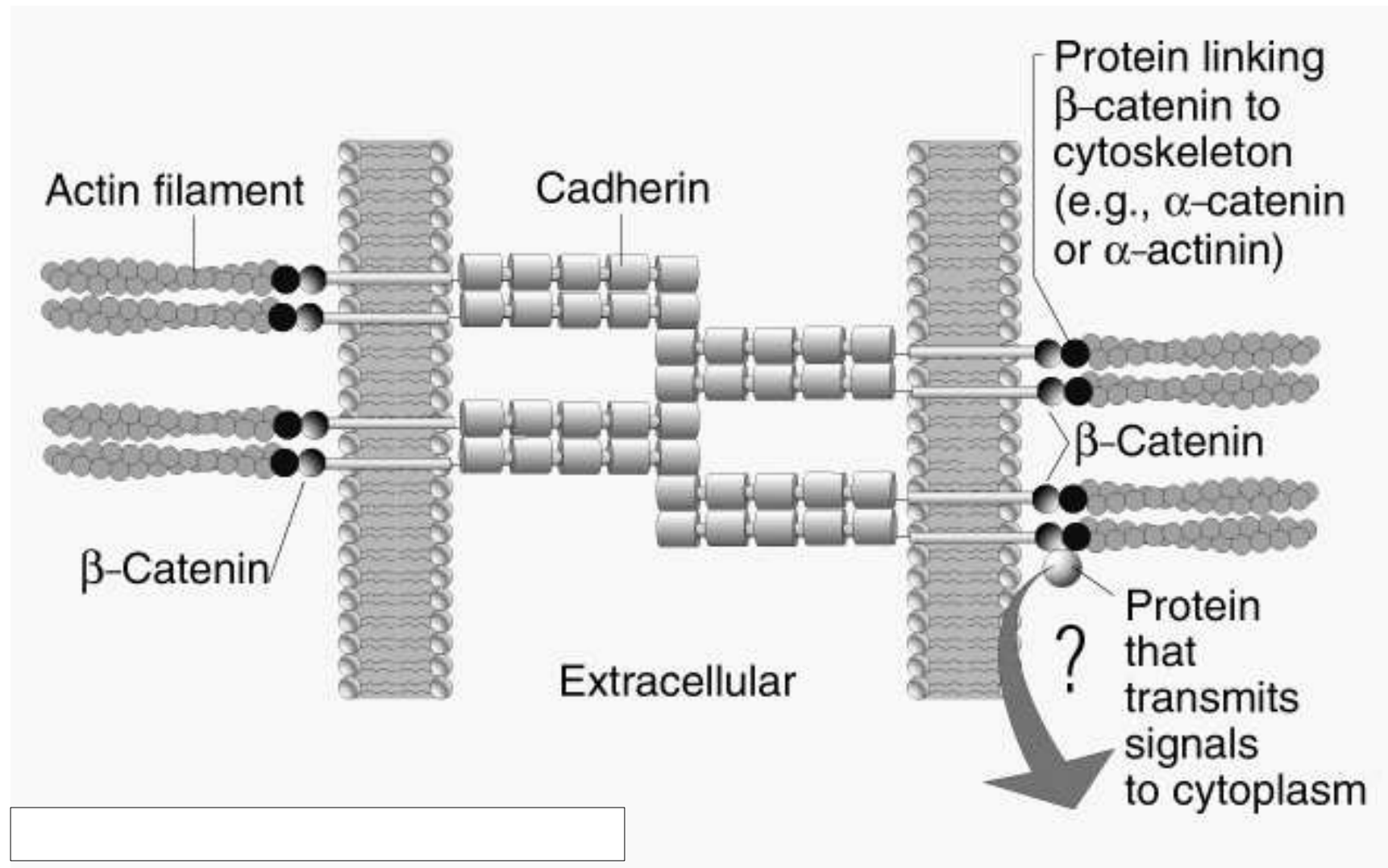


Figure 19-24 part 1 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition. Figure 19-24 part 2 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

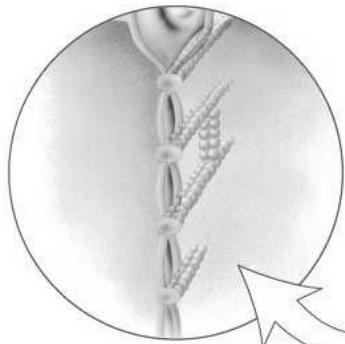
Kadheriny jsou napojeny na aktinová vlákna cytoskeletu prostřednictvím kateninů (napojení na signální dráhy)



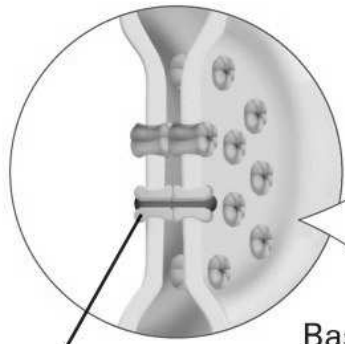
Vazby buněk v tkáních

- adherentní vazby („adherens junction“)
- mezerové vazby („gap junctions“)
- těsné vazby („tight junctions“)
- desmosomy

Tight junction

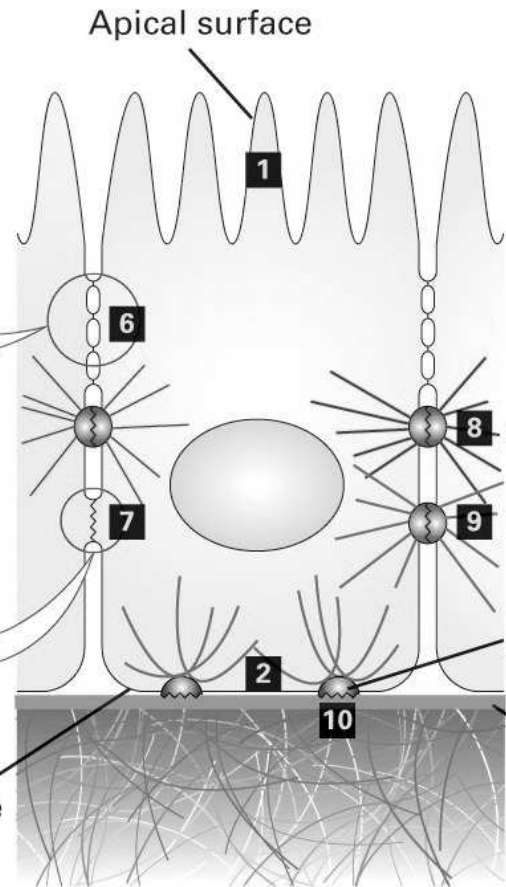


Gap junction

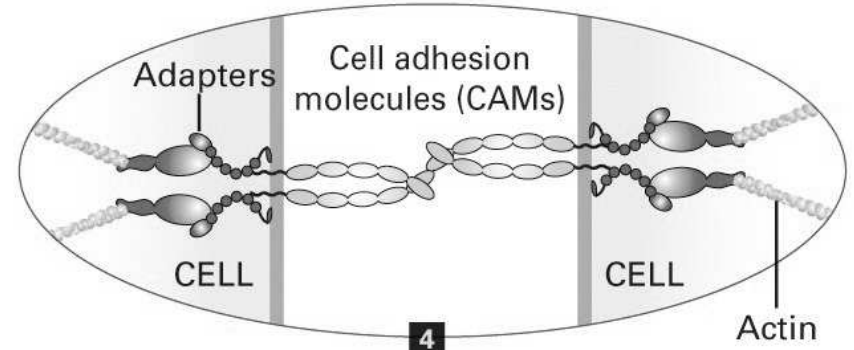


Connexon

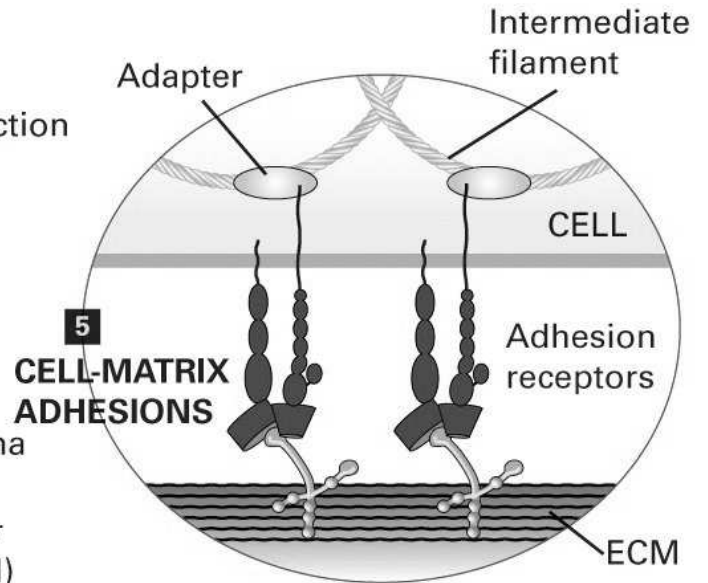
Basal surface



Apical surface



CELL-CELL ADHESIONS

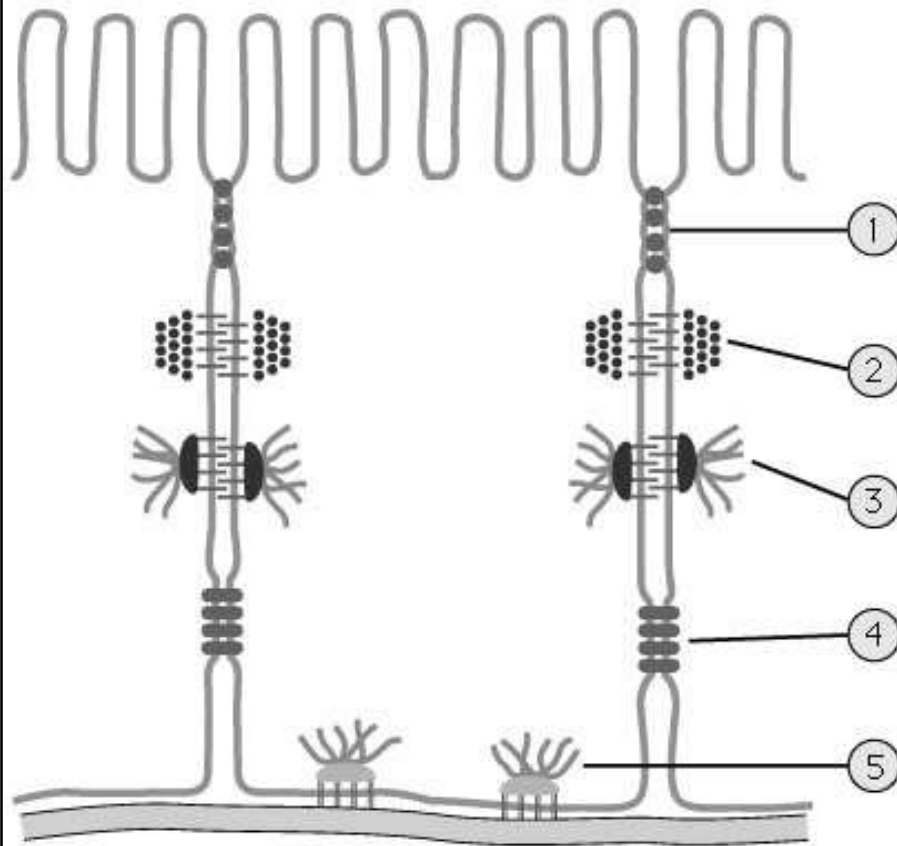


CELL-MATRIX ADHESIONS

Mezibuněčná adheze

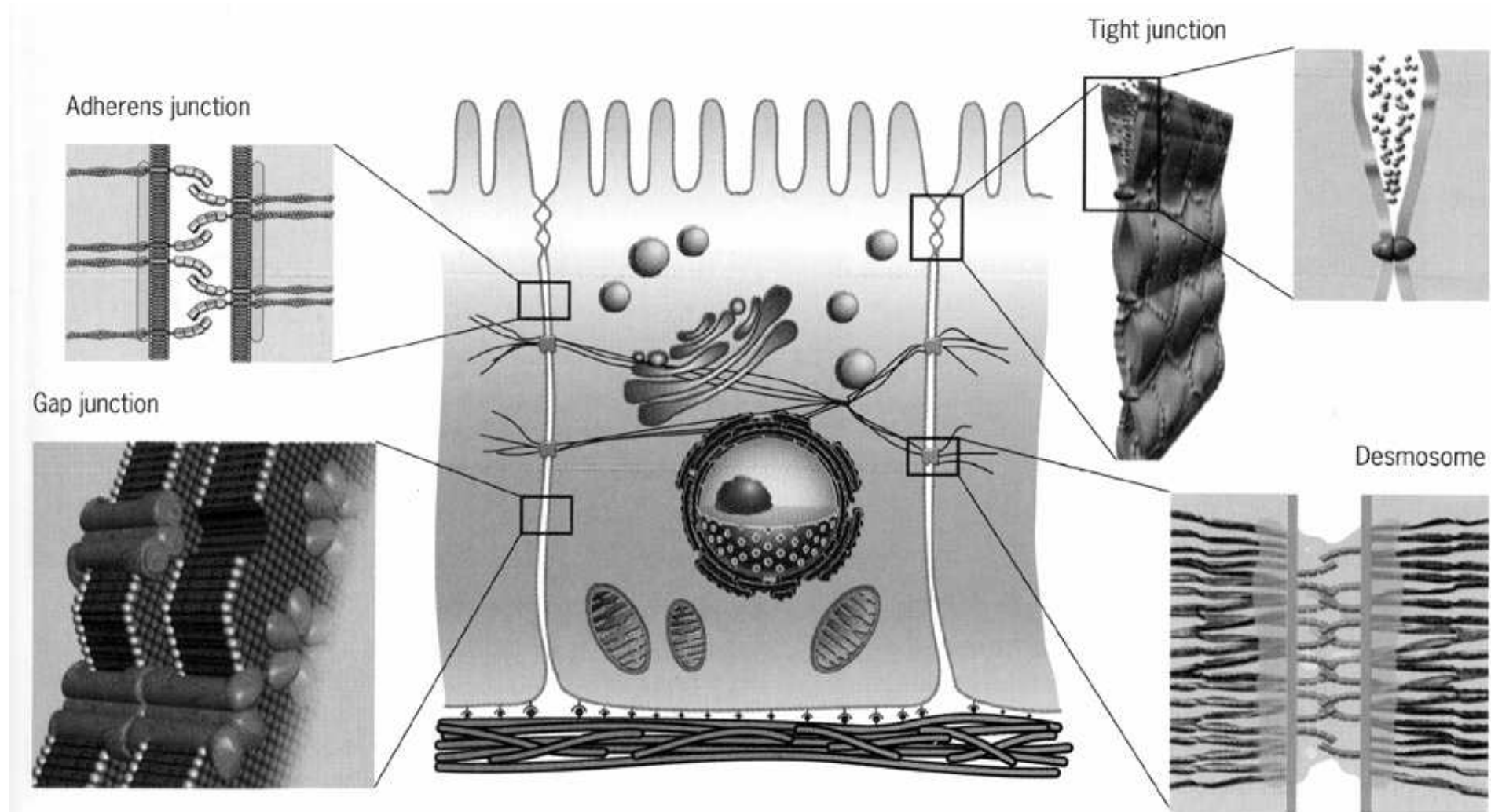
- zásadní faktor zajišťující morfologii a funkci epitelů
- epiteliální buňky jsou typické těsným uspořádáním sousedních buněk
- vyžaduje napojení na buněčný cytoskelet
- struktury zajišťující mezibuněčnou adhezi jsou spojeny buď s intermediárními filamenty (desmosomy) nebo mikrofilamenty (adherentní vazby a těsné vazby)

Mezibuněčná adheze

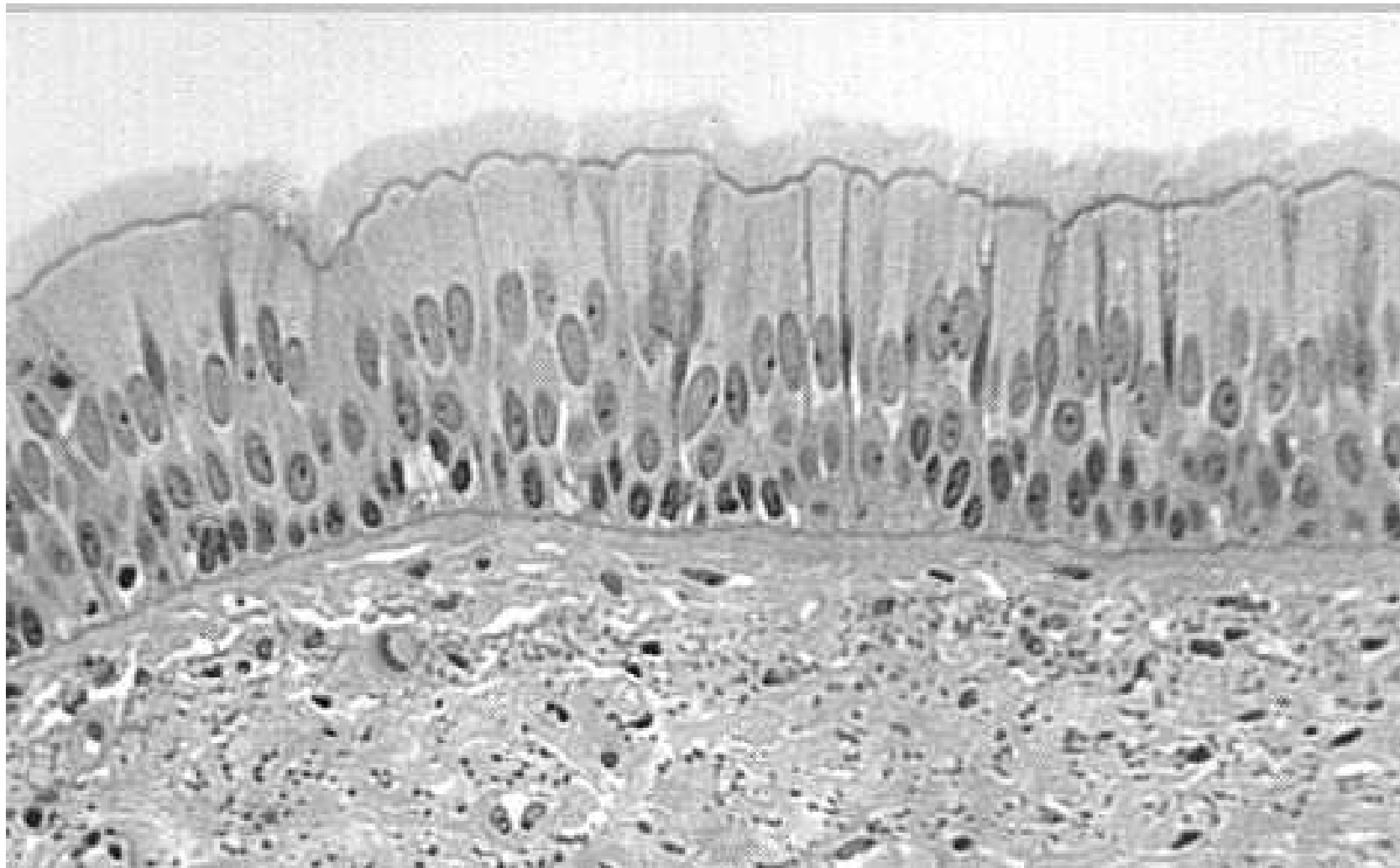


name	function
tight junction	seals neighboring cells together in an epithelial sheet to prevent leakage of molecules between them
adherens junction	joins an actin bundle in one cell to a similar bundle in a neighboring cell
desmosome junction	"spot weld" that anchors the tough intermediate filaments in one cell to those in a neighbor
gap junction	cell-cell junction allowing passage of small water-soluble ions and molecules
hemidesmosome junction	anchors intermediate filaments in a cell to the basal lamina

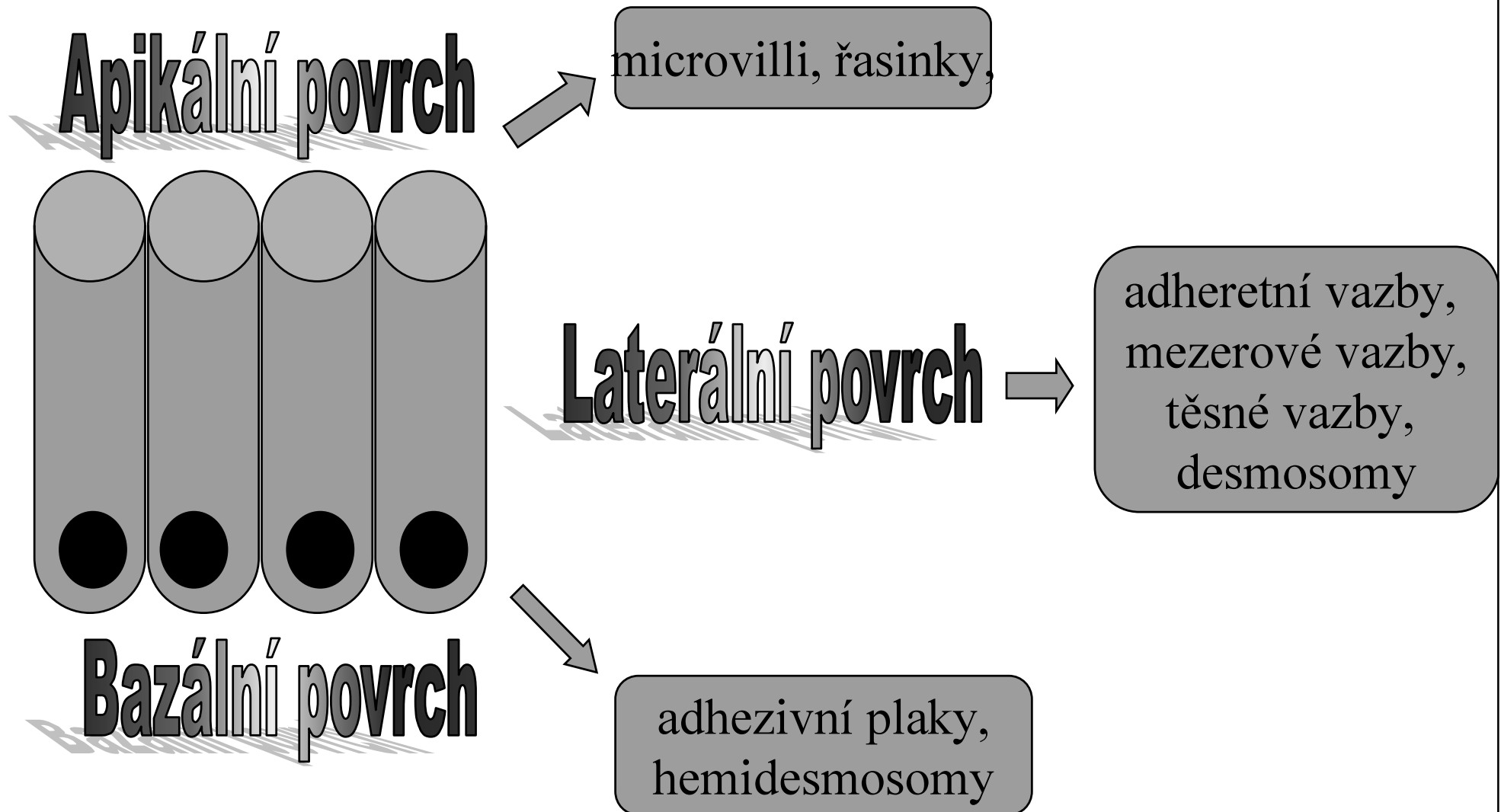
Typy mezibuněčných interakcí



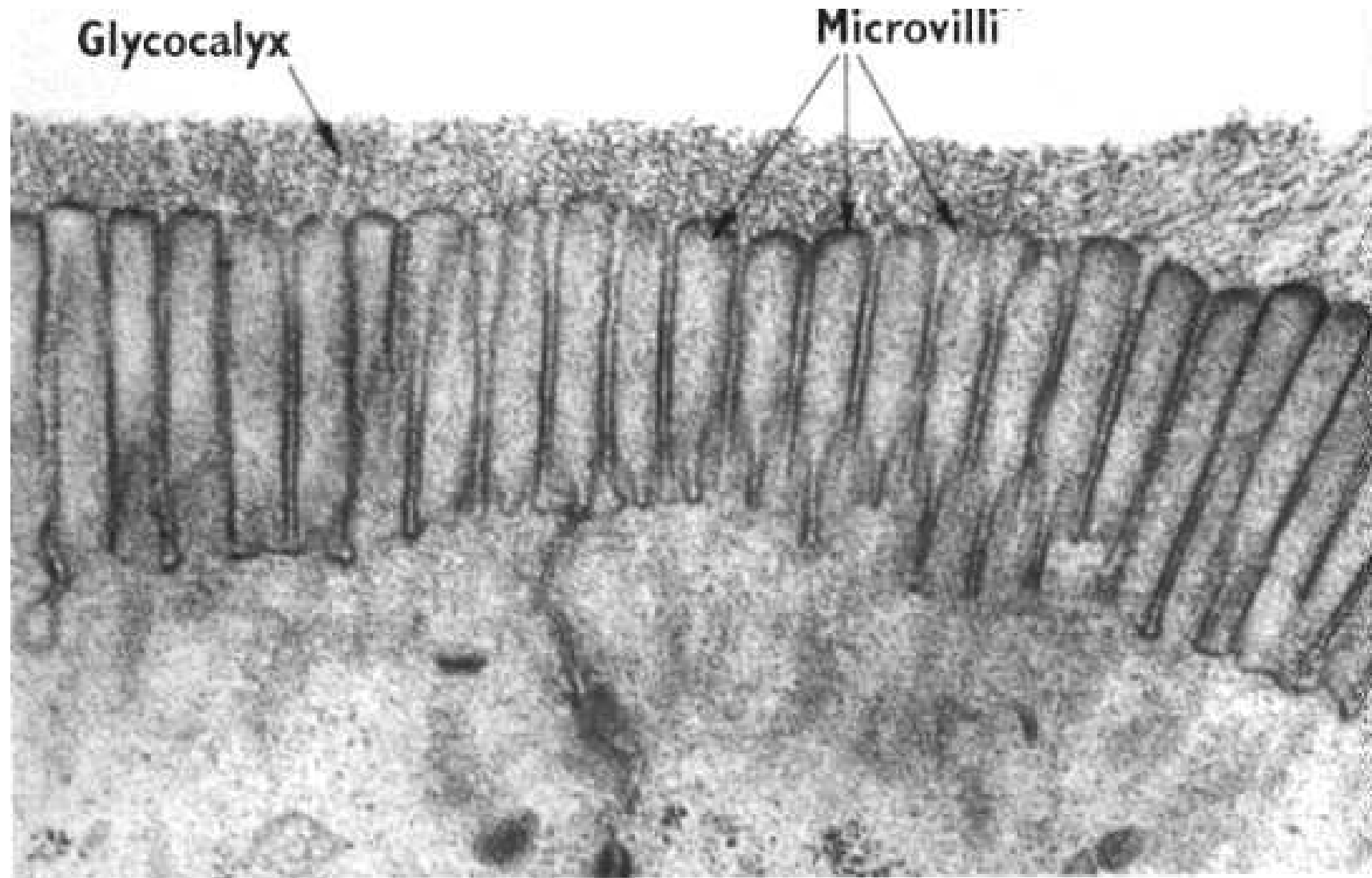
Uspořádání epiteliálních buněk



Epiteliální buňky jsou polarizovány

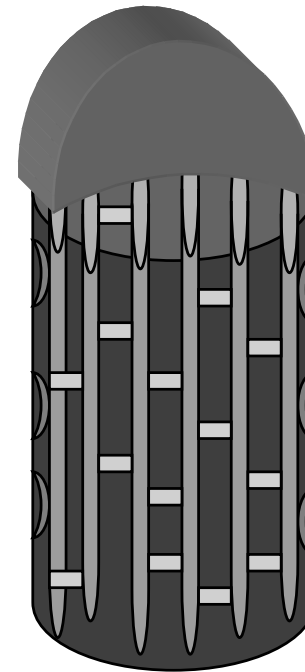


Mikrovily podstatně zvyšují povrch epitelů



Na vrcholu mikrovilů jsou aktinové filamenty pokryty kotvícími proteiny

Aktinové filamenty jsou udržovány ve správné poloze proteiny vážoucími aktin: fimbrin, villin, fascin



Podél stěn se aktin váže s myosinem



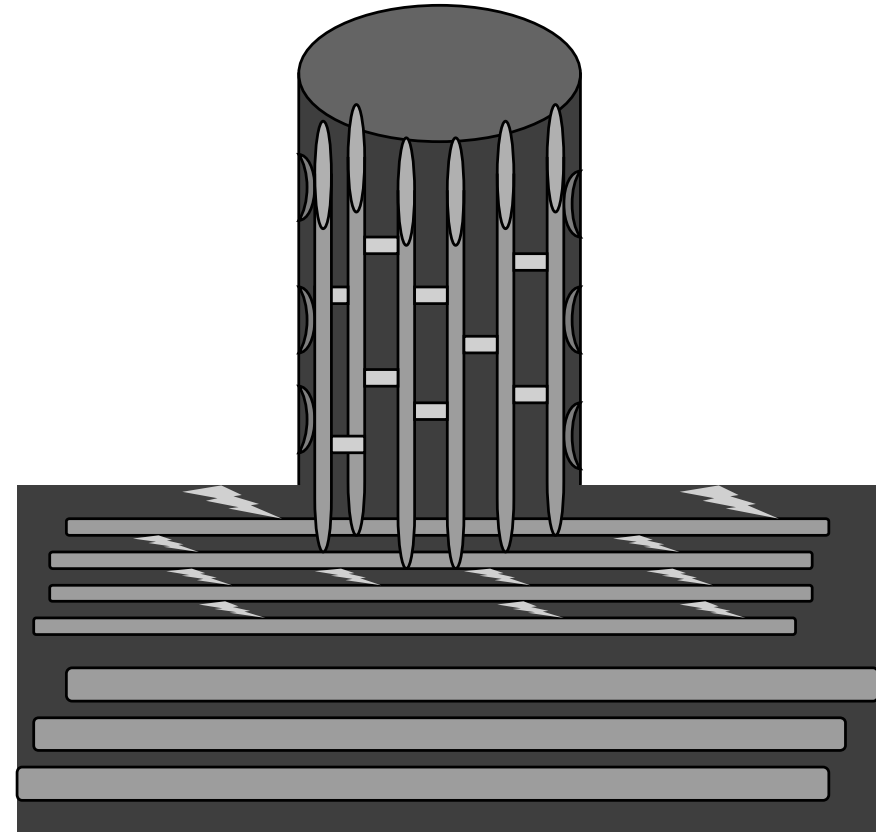
Substruktura
mikrovilů

Terminál mikrovilu

Základna
mikrovilu

Aktin mikrovilu se váže k dalšímu aktinu, který je umístěn horizontálně.

Základna aktinu je zpevněna křížovými vazbami spektrinu.



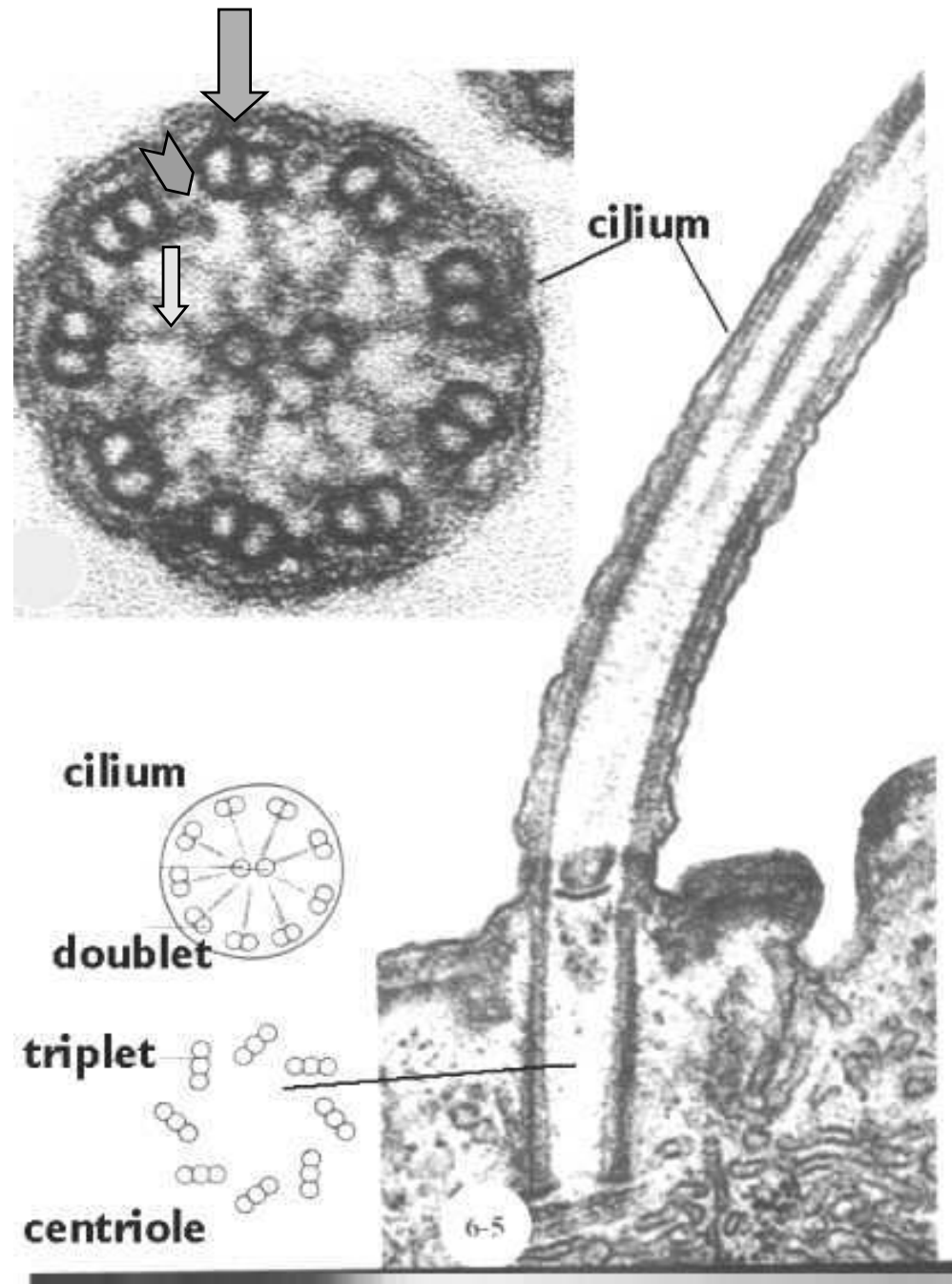
Pod aktinovými filamety jsou vlákna cytoskeletonu umístěna horizontálně.

Řasinky

Středovou dvojici mikrotubulů obklopuje devět dalších párů

Dvojice jsou spojeny rameny Dyneinu

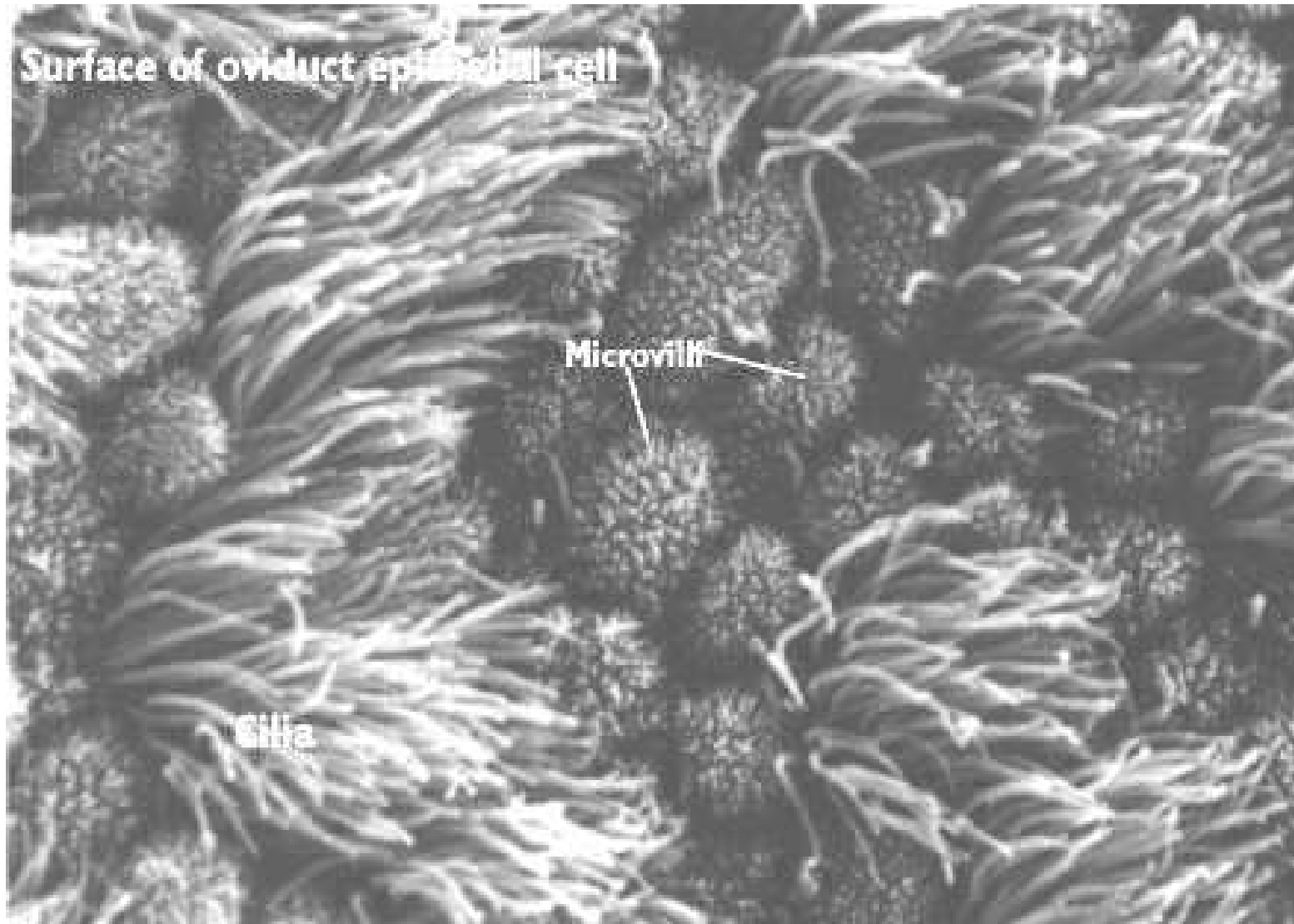
Spojení obvodových párů se středovou dvojicí zajišťuje paprscitý Nexin.



Funkce apikálních výběžků epiteliálních buněk

- pohyb vajíčka
- pohyb spermatu
- pohyb hlenů v dýchací trubici
- umístění speciálních receptorů (např. čichových)

Epitel vejcovodu



Ukotvující spoje na laterálním povrchu buněk

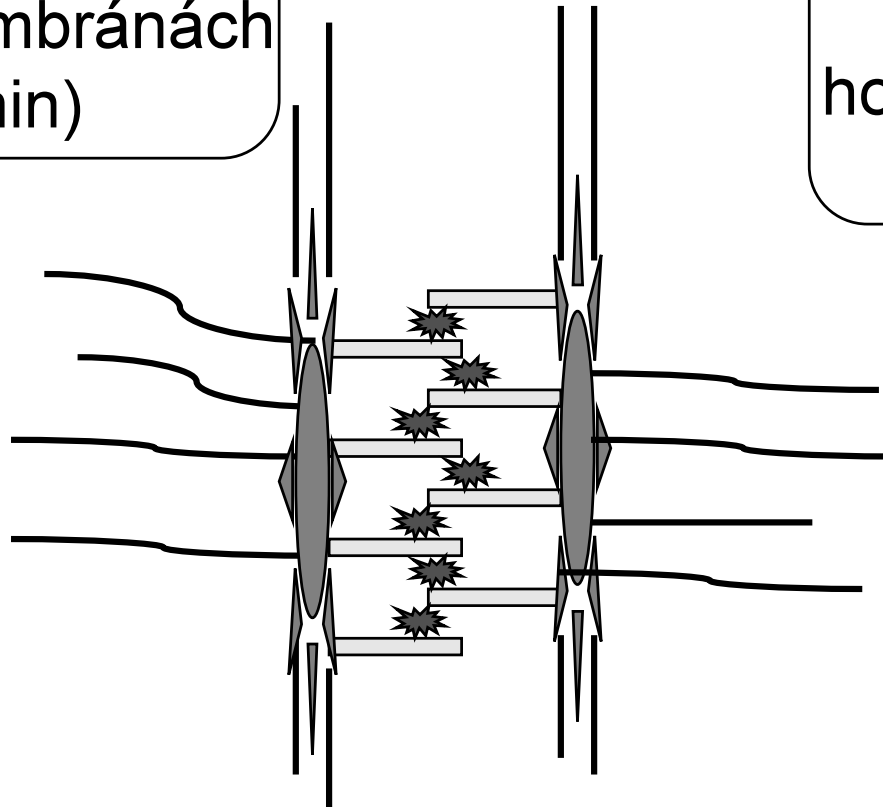
- vzájemná vazba buněk zprostředkovaná speciálními ligandy a buněčným cytoskeletem
- dělení spojů podle typu mikrofilamentů:
 - Aktin: adherentní vazby
 - Intermediární filamenty: desmosomy

Adherentní vazby

- velmi běžné v epiteliálních tkáních
- zajišťují vzájemné vazby sousedních buněk
- mezibuněčný prostor přemostují kadheriny svými extracelulárními doménami
- napojení kadherinů na buněčný cytoskelet (**aktin**) obvykle zajišťují **kateniny**
- je zajímavé, že β -katenin může nejen zprostředkovat interakci s cytoskelem, ale také se pohybovat do jádra a ovlivňovat transkripci určitých genů

Dvě specializované oblasti (plaky) na obou membránách (alfa aktinin)

Kadheriny spojují plaky homofilními vazbami



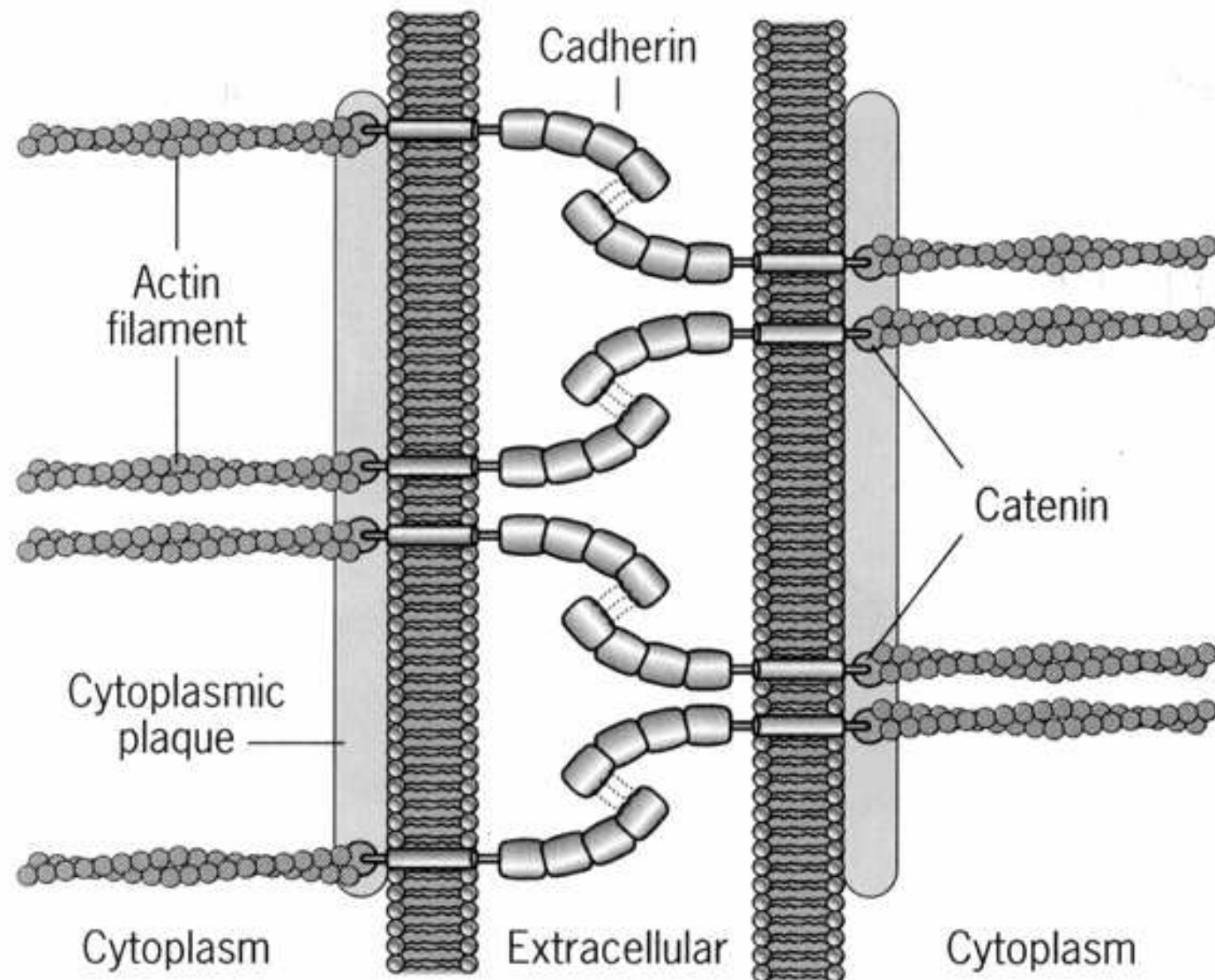
Vazba kadherinů vyžaduje vápník



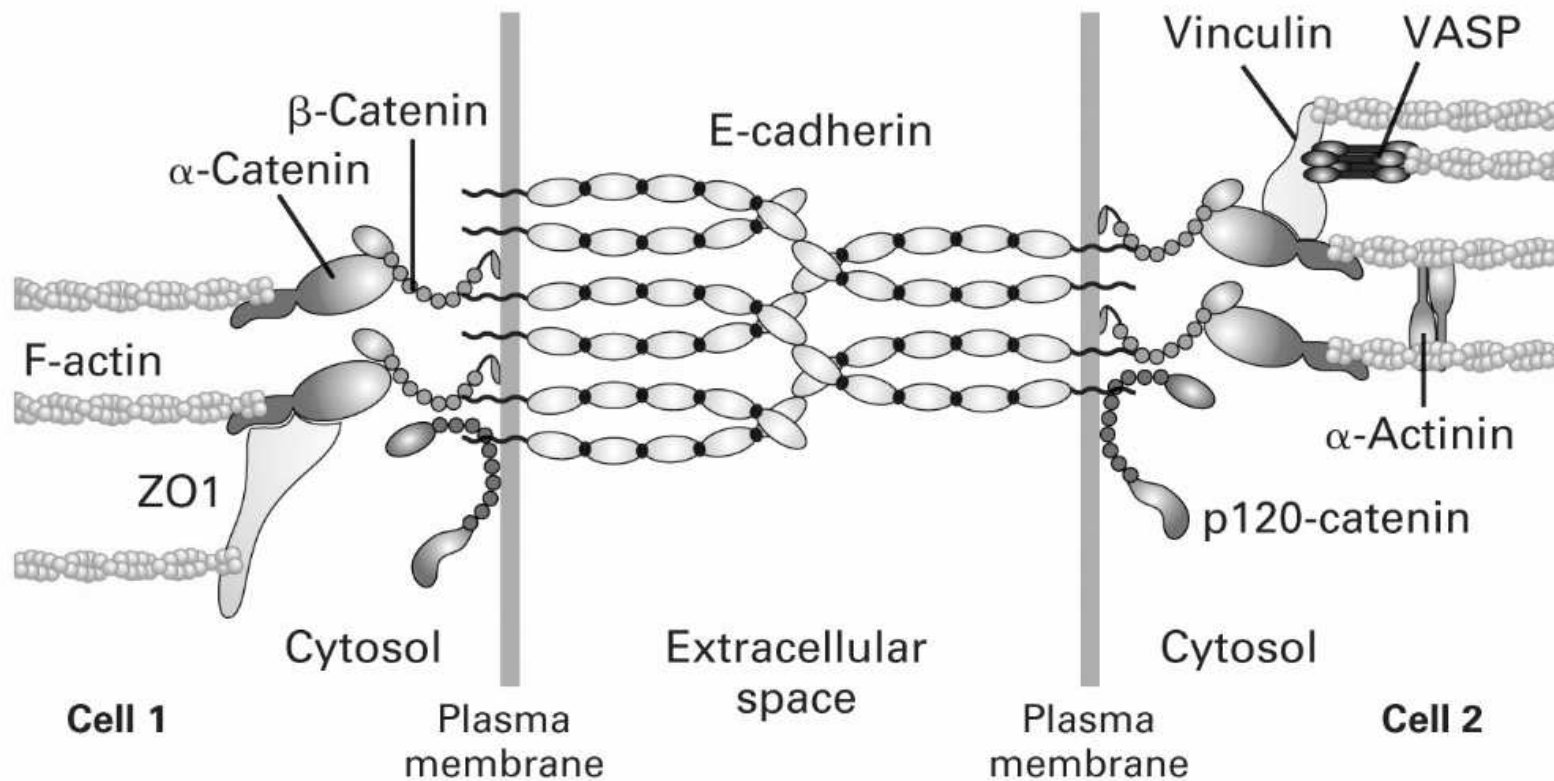
Na plaky se připojuje aktin

Adherentní vazby

Adherentní vazby



Napojení cytoskeletu na kadheriny adherentních vazeb mohou zprostředkovat různé adaptérové proteiny



Adherentní vazby

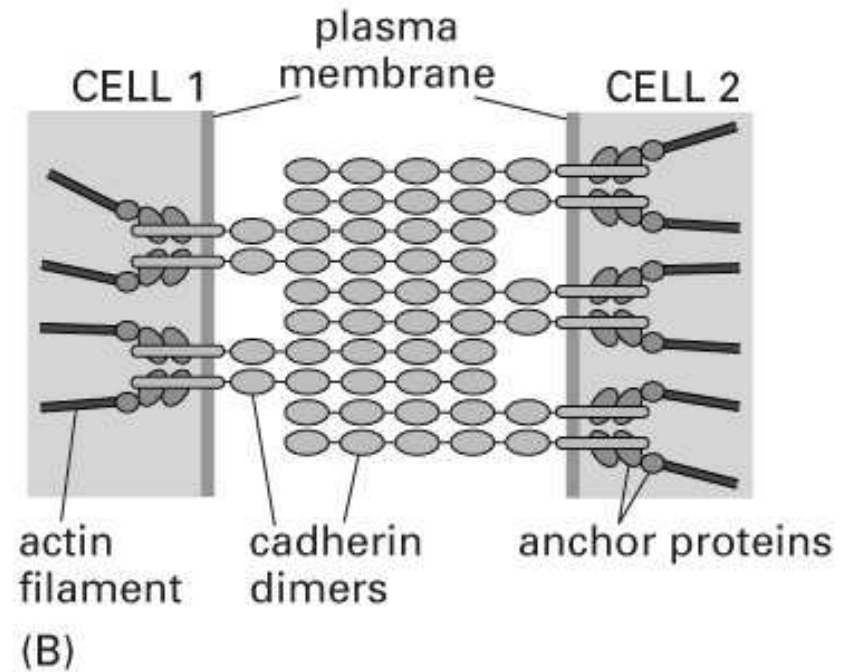
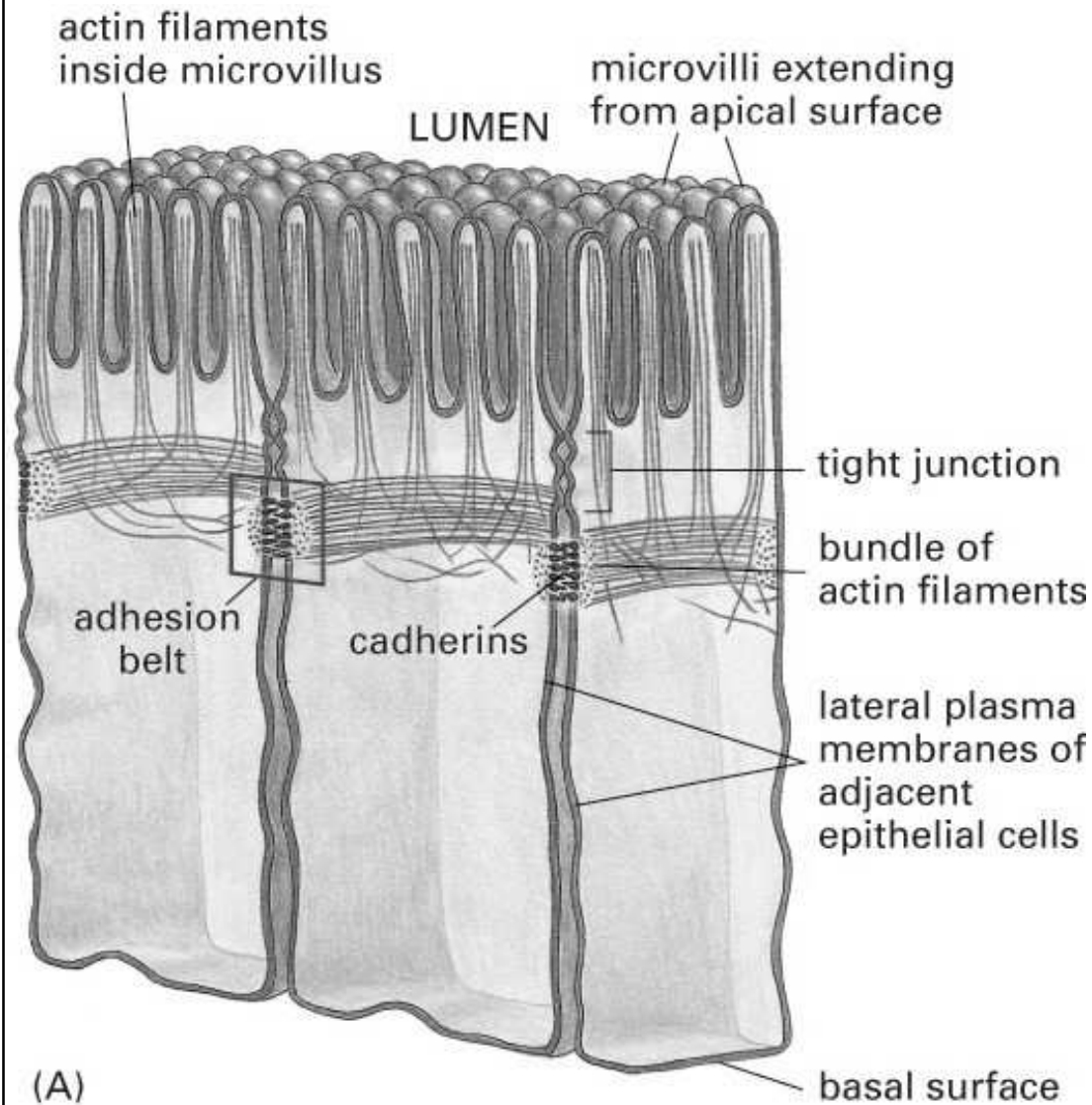


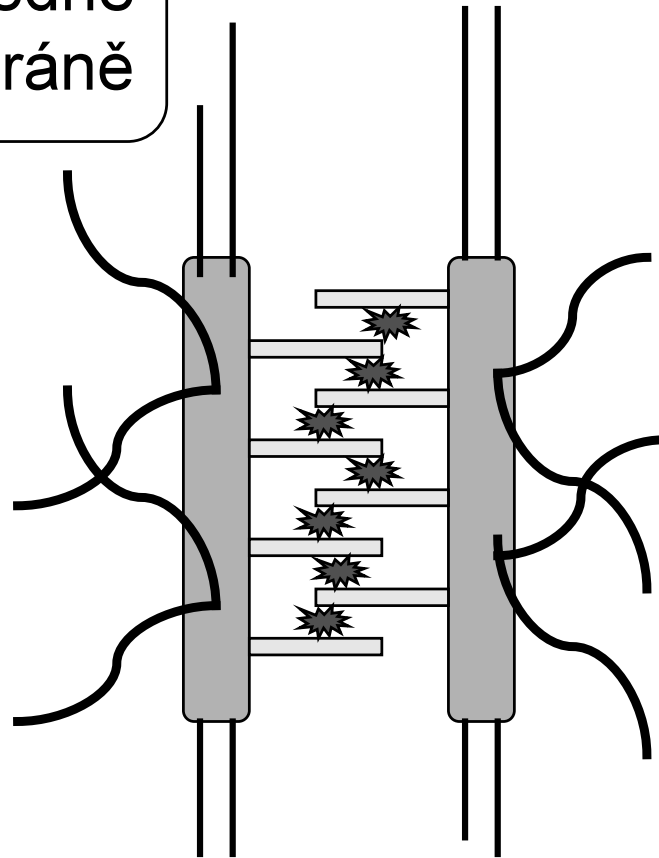
Figure 19-9 part 2 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Figure 19-9 part 1 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Desmosomy

- bodové spoje, které zajišťují silnou adhezi mezi buňkami
- časté u buněk vystavených mechanickému tlaku (střevní epitel, kůže, srdeční sval)
- obsahují dva speciální kadheriny: **desmoglein** a **desmocollin**
- jejich cytozolické domény interagují s **plakoglobinem** (obdoba β -kateninu) a **plakofiliny**
- Tyto adaptérové proteiny vytvářejí v místě napojení na cytoskelet (**intermediární filamenty**) silné plaky
- prostor mezi buňkami je v oblasti desmosomu vyplněn viskózní látkou („lepidlem“), kterou pronikají kadheriny

Dvě plaky po jedné
v každé membráně



Kadheriny spojují
plaky homofilní
vazbou



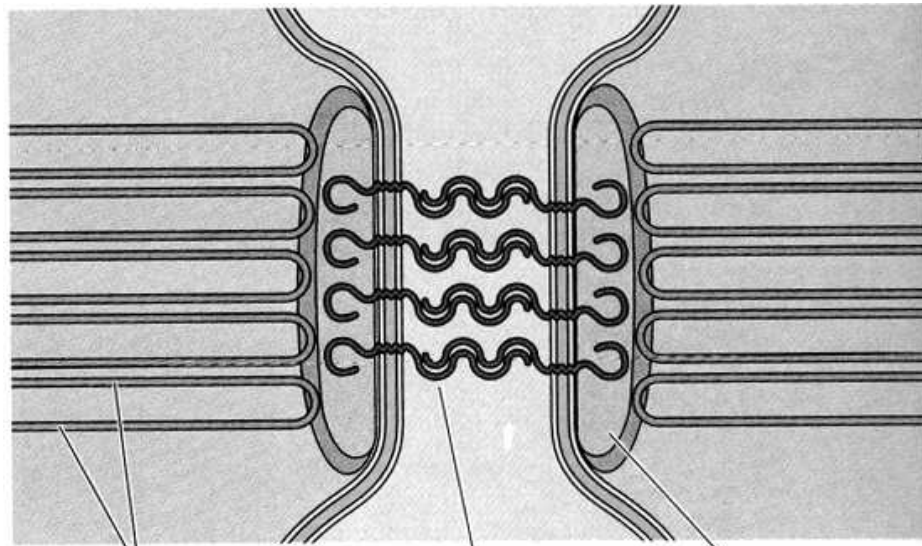
Vazby kadherinů
važadují vápník



Do plaků pronikají
intermediární filamenty

Desmosom

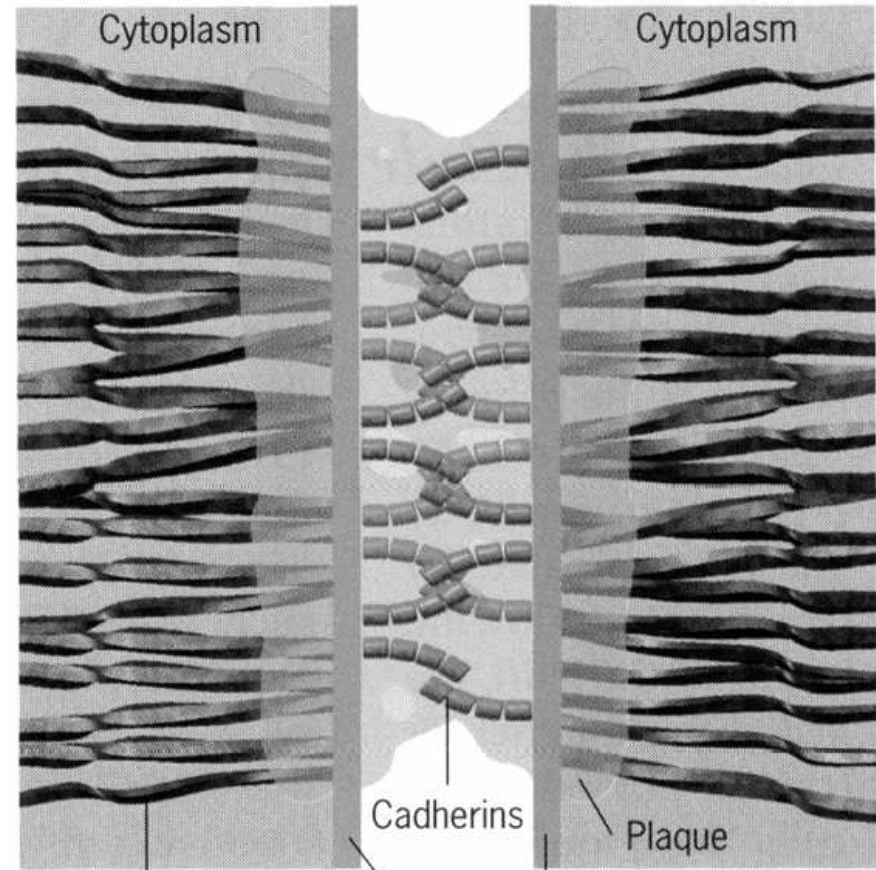
Desmosom



Intermediate filaments

Cadherins (desmogleins and desmocollins)

Plaque



Cytoplasm

Cytoplasm

Intermediate filaments

Cadherins

Lipid bilayer

Plaque

Desmosom

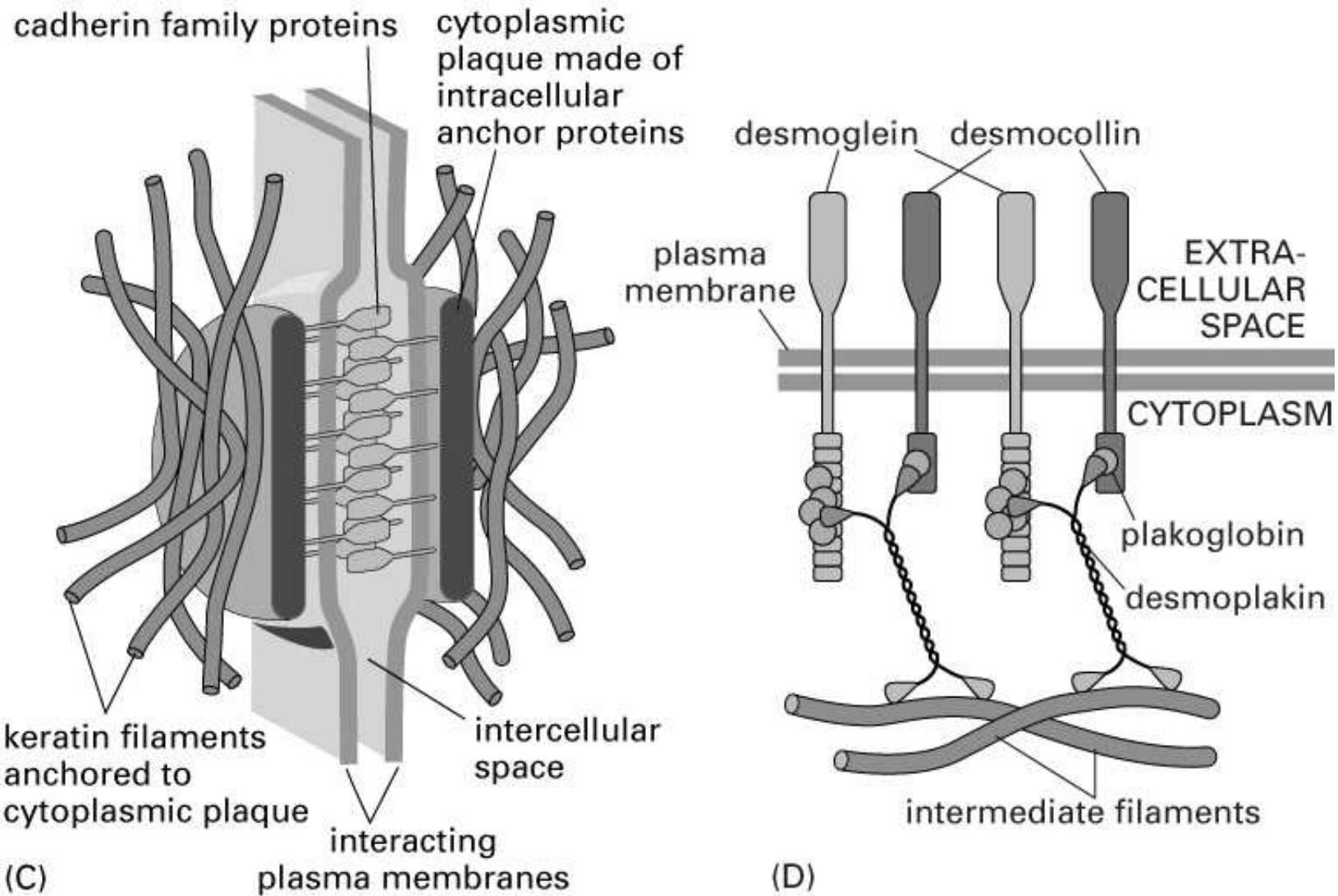


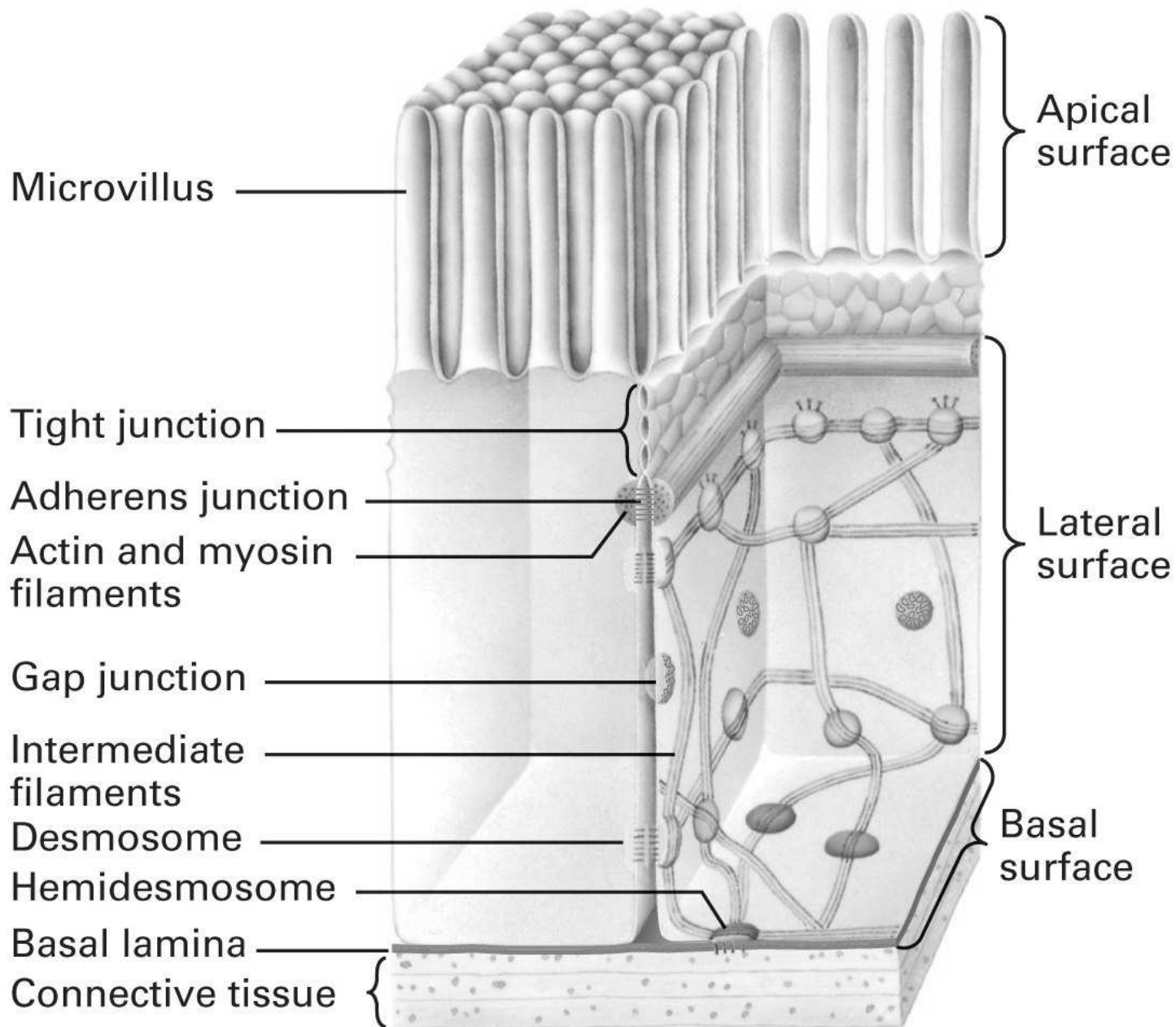
Figure 19-11 part 2 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.



Porucha funkce desmogleinu: „Pemphigus vulgaris“

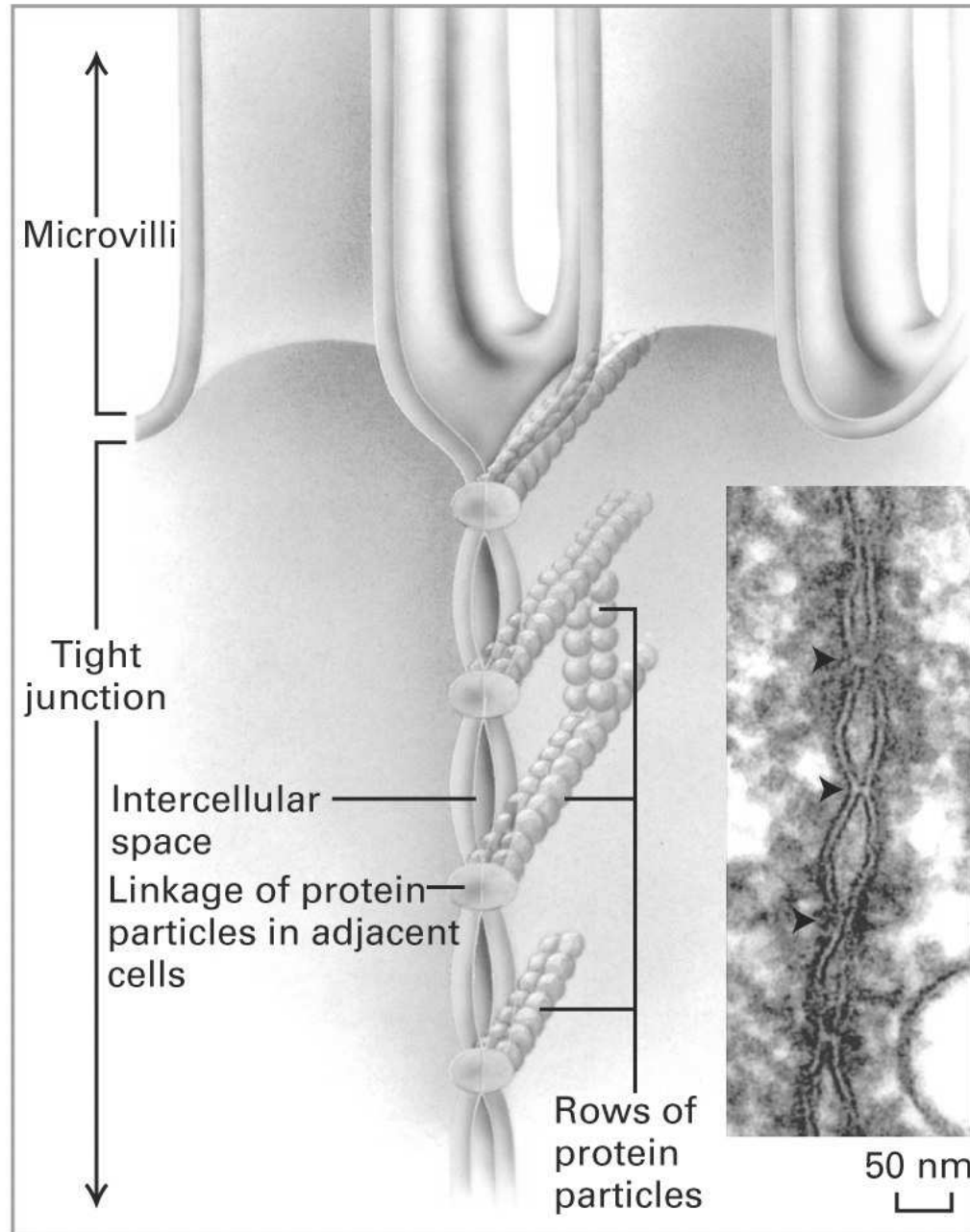
- autoimunitní onemocnění kůže
- pacienti syntetizují protilátky proti desmogleinu
- narušená adheze epiteliálních buněk, do buněk proniká tělní tekutina (tvorba puchýřů)

**Hemidesmosomy se podobají desmosomům,
ale používají místo kadherinů *integriny***

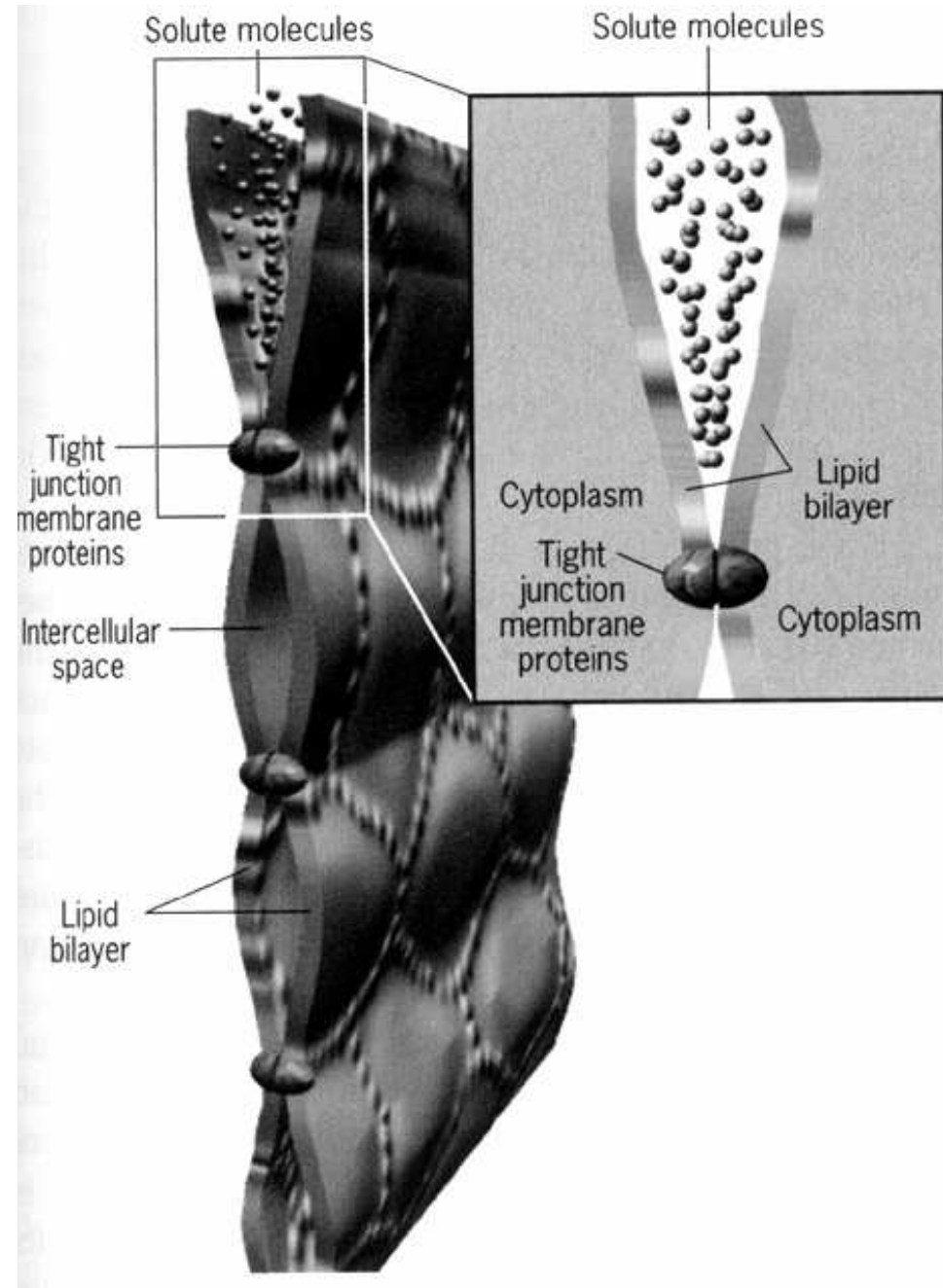


Těsné vazby („tight junctions“)

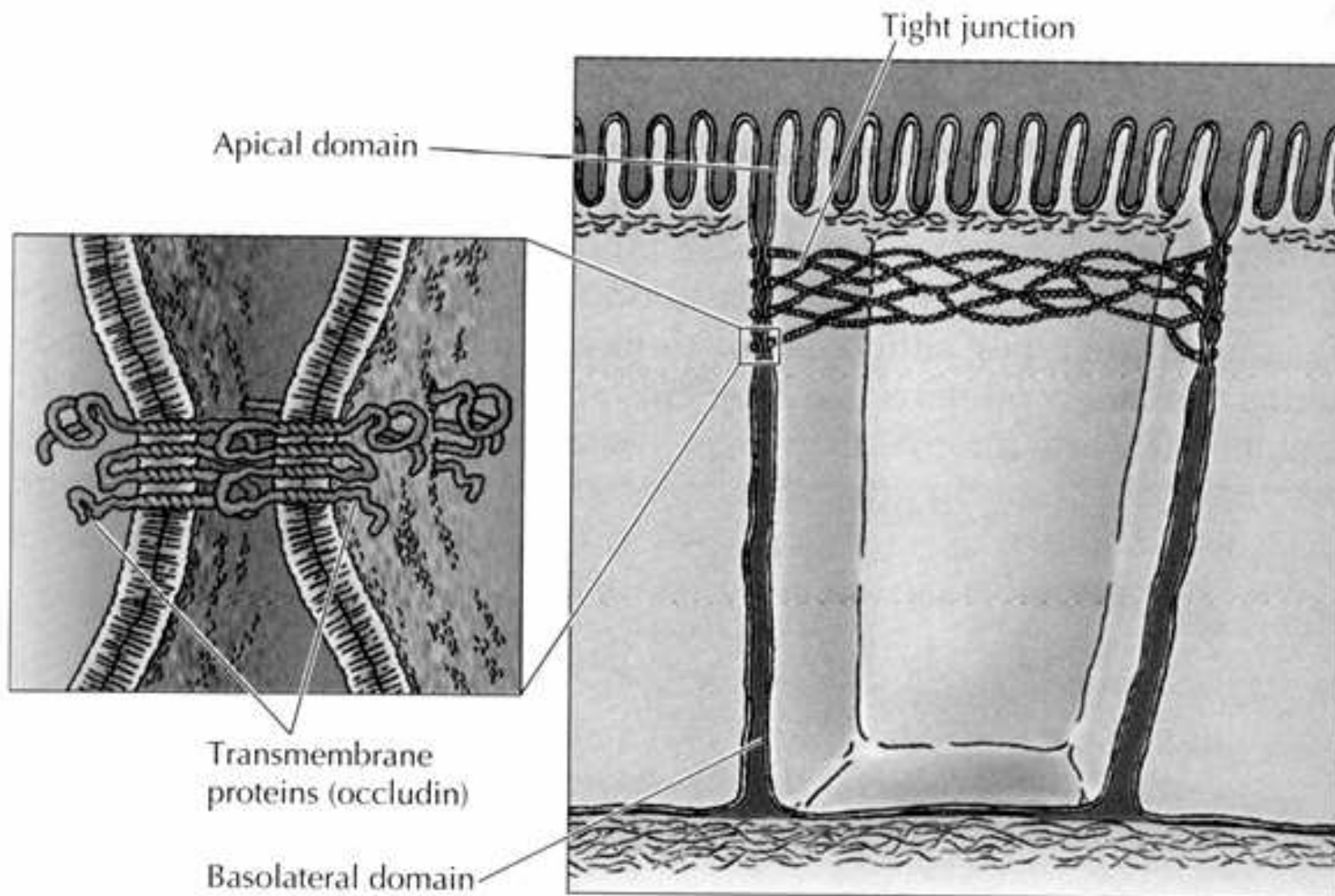
- obvykle lokalizovány těsně pod apikálním povrchem
- podíl na polarizaci buněk (brání pohybu membránových proteinů a glykolipidů mezi apikální a bazolaterální oblastí membrány)
- spojení membrán sousedních buněk prostřednictvím integrálních membránových proteinů (**claudin, occludin a JAMs**
- „**junction adhesion molecules**“) a jejich homofilních interakcí
- řada membránových proteinů těsných vazeb obklopuje buňku po celém obvodu - omezení pohybu molekul mezi spojenými buňkami
- tvoří překážku pro průchod tekutin: oddělení tělních dutin (střevo, žaludek, atd.)
- dokonce ani malé ionty a molekuly vody určitými typy těsných vazeb neprojdou



Těsné vazby



Těsné vazby



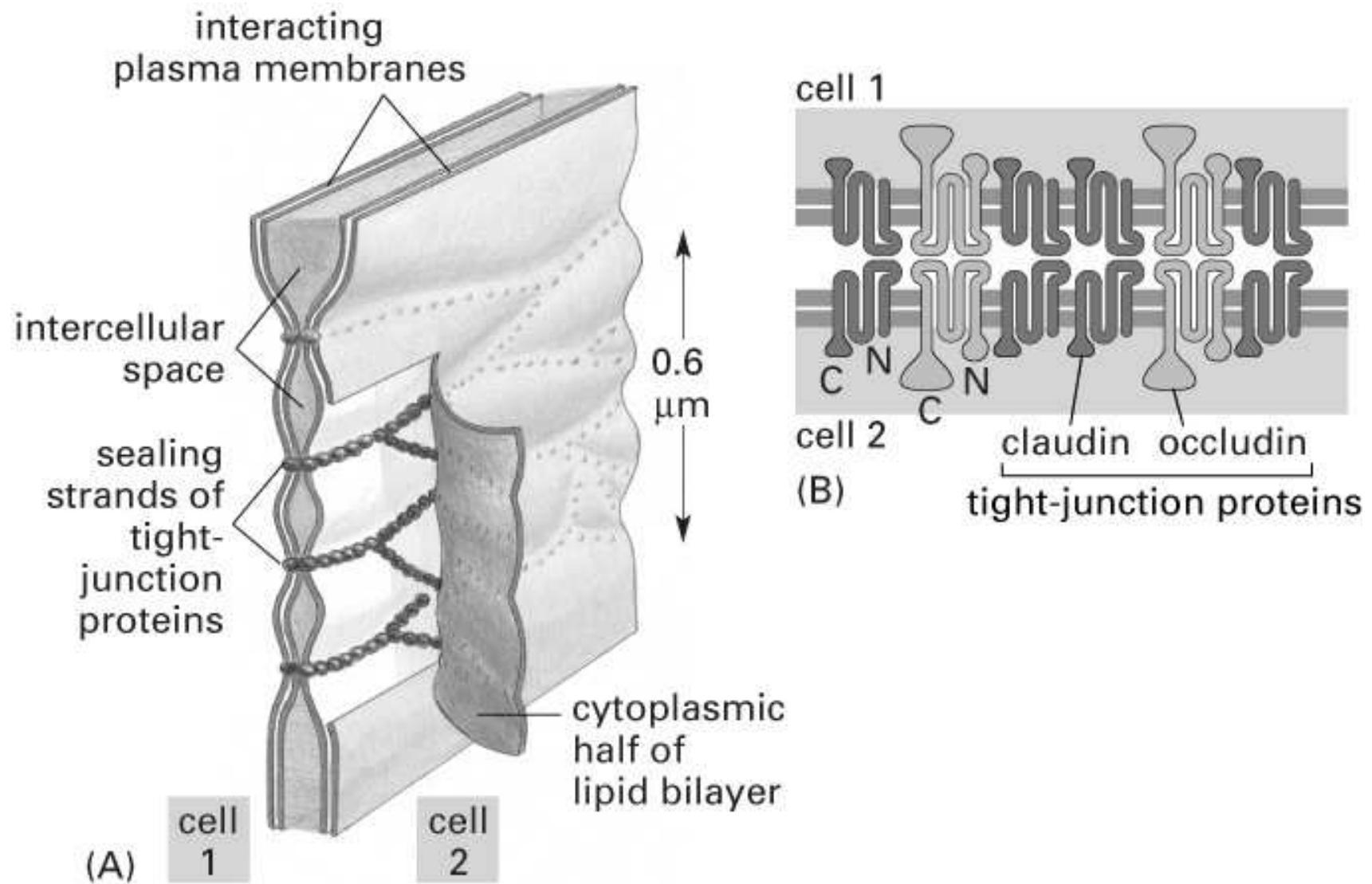
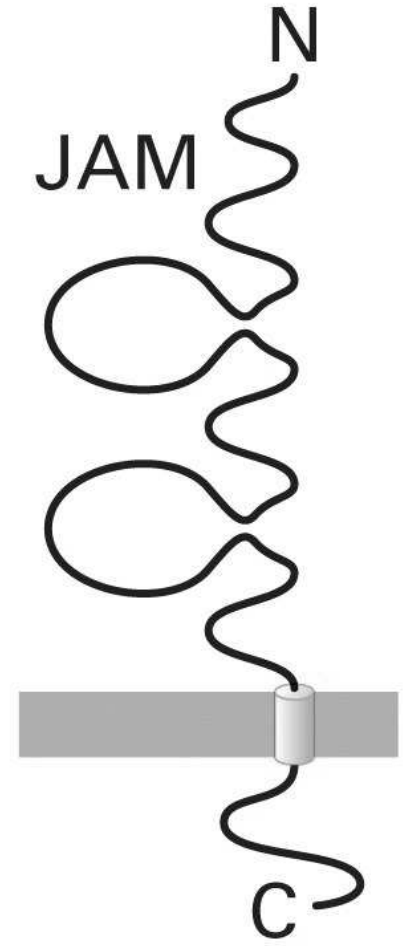
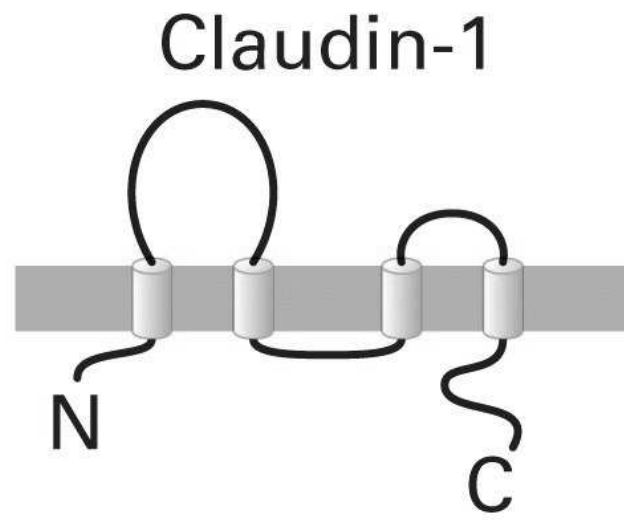
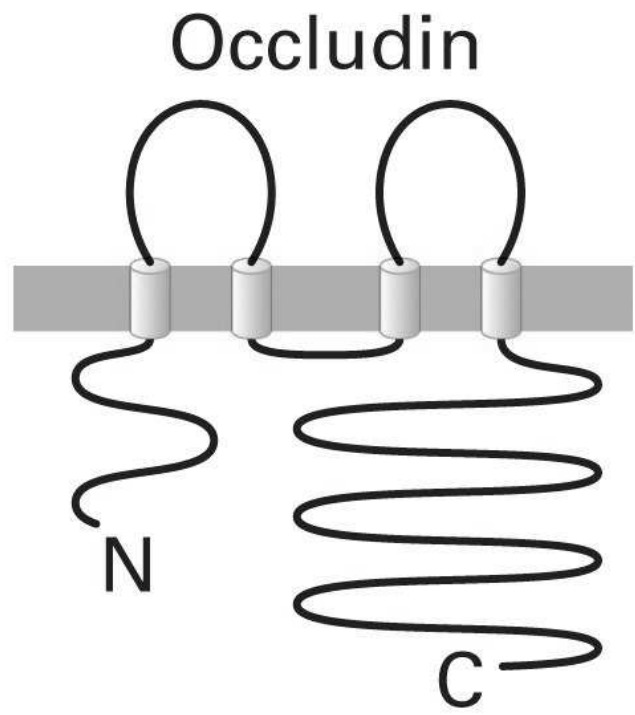


Figure 19–5. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.



Těsné vazby brání toku glukózy mezi buňkami epitelu

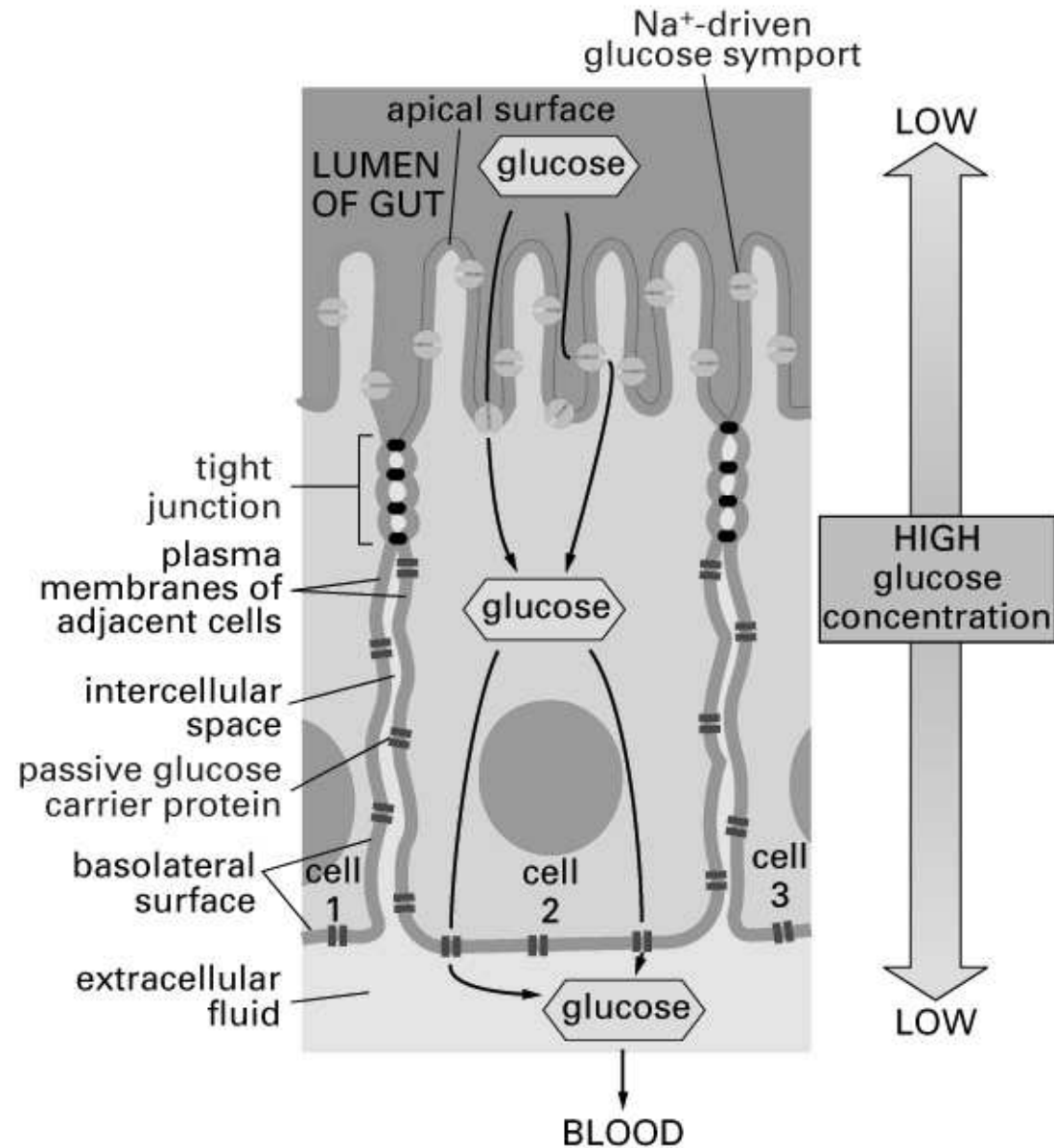
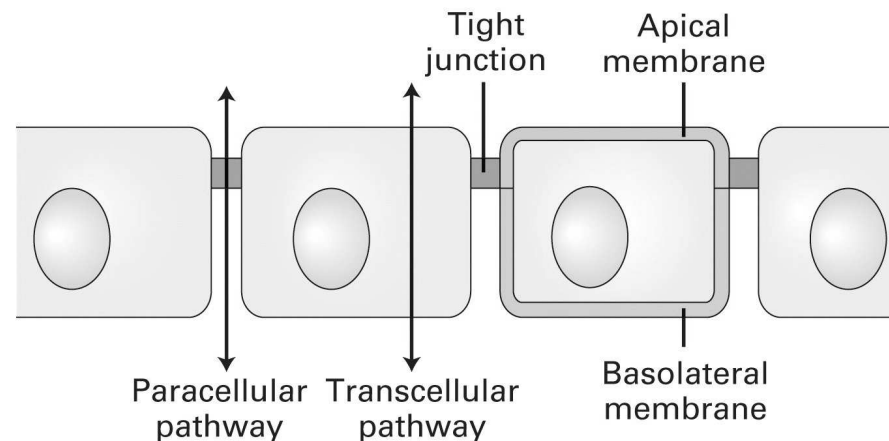


Figure 19-2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Rozdíly v permeabilitě těsných vazeb kontrolují přechod malých molekul epitelem

- nepropusnost těsných vazeb není absolutní
- různé epiteliální tkáně mají různou míru permeability pro ionty, malé molekuly a vodu
- patrně důsledek odlišností ve struktuře různých izoform claudinu
- epitely, které jsou více propustné („leaky“) umožňují pohyb malých molekul „parabuněčnou drahou“
- epitely, které jsou méně propustné umožňují pohyb malých molekul pouze „transbuněčnou drahou“





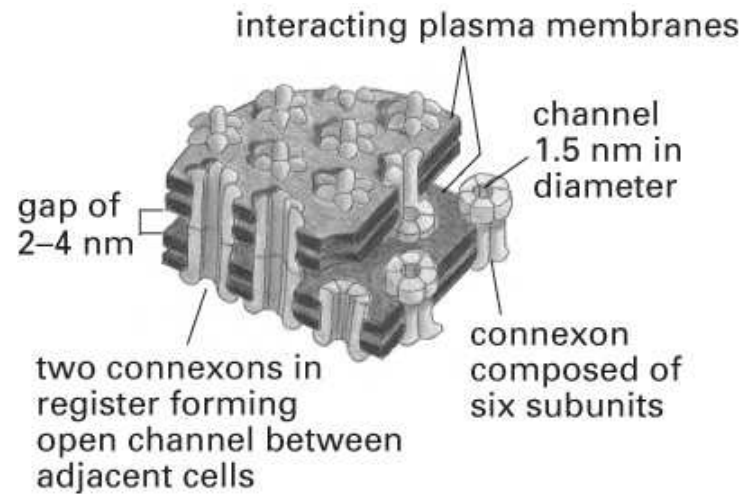
Hypomagnesémie

- dědičné onemocnění
- mutace v genu kódujícím Claudin 16
- znemožnění normálního parabuněčného transportu hořčíku v ledvinách: nízká hladina hořčíku v krvi, křeče

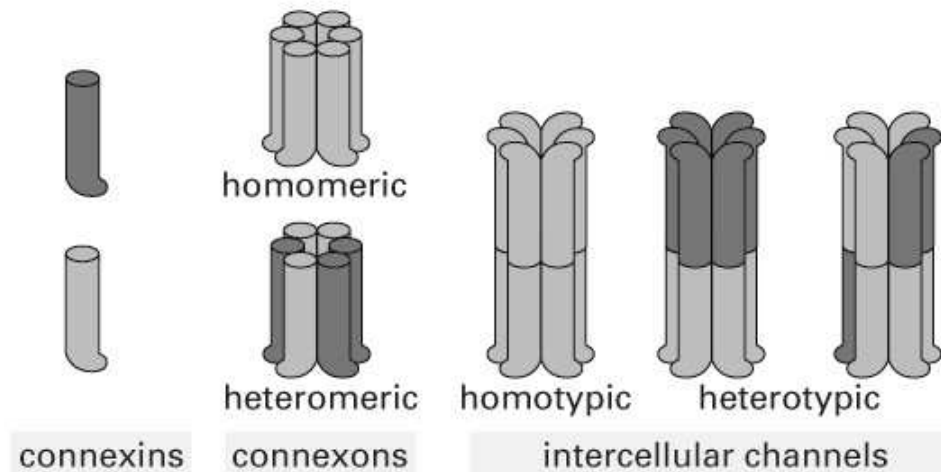
Mezerové vazby („gap junctions“)

- umožňují tok malých molekul (ionty, cukry, cAMP) z jedné buňky do druhé
- přemost'ují mezery mezi membránami dvou buněk a tím propojují cytoplazmy sousedních buněk
- strukturální základ mezerových vazeb tvoří membránový protein **konexin**
- 6 konexinů se v membráně seskupuje do struktury zvané **konexon**, která prochází napříč membránou
- 2 konexony různých buněk tvoří vlastní **kanálek**
- důležitá úloha při přenosu excitačních signálů mezi svalovými buňkami

Šest proteinů zvaných konexiny tvoří konexon a 2 konexony propojené svými konci tvoří 1.5 nm kanálek mezi dvěma buňkami



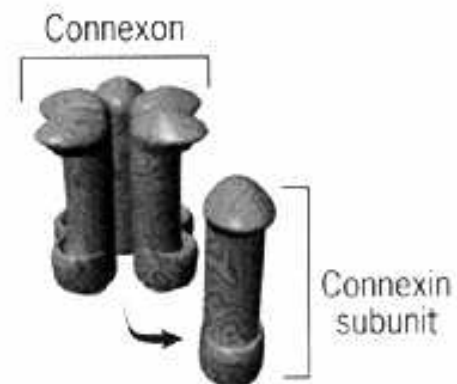
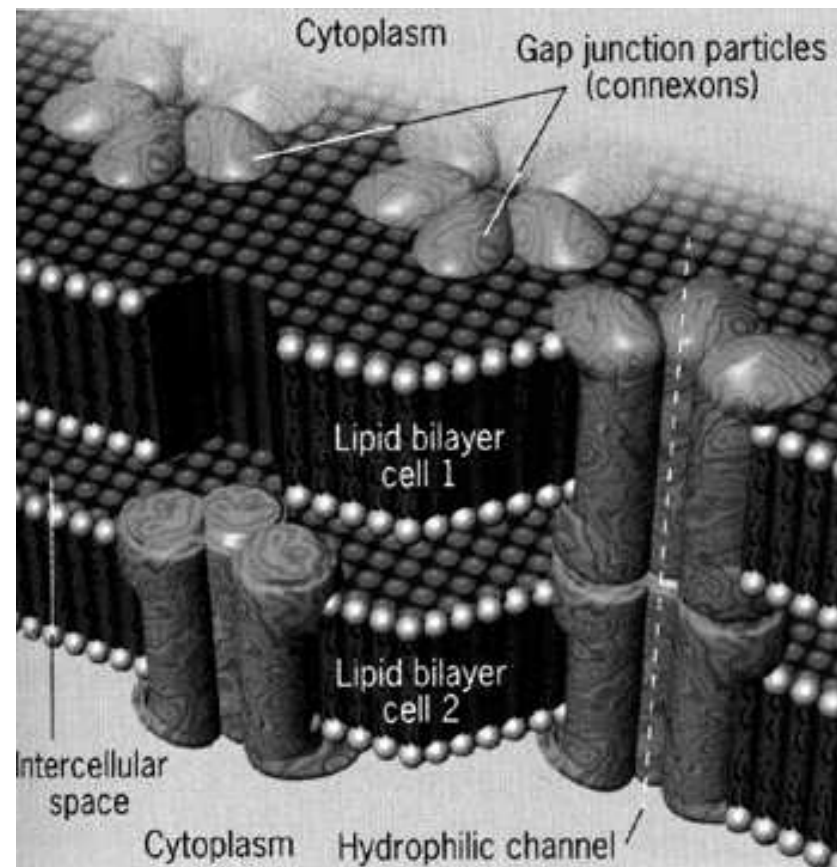
(A)



(B)

Figure 19-15. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Mezerové vazby



Spojení na bazálním povrchu

- adhezivní plaky ("focal adhesions")
- hemidesmosomy

oba typy vazeb jsou zprostředkovány integriny

odlišnost obou typů spočívá v typu cytoskeletových vláken, která jsou na integriny napojena:

- vlákna aktinu u adhezivních plaků
- intermediární filamenta u hemidesmosomů

Integriny: Transmembránové receptory pro proteiny ECM (lamininy) v bazální lamině



Ztluštění membrány



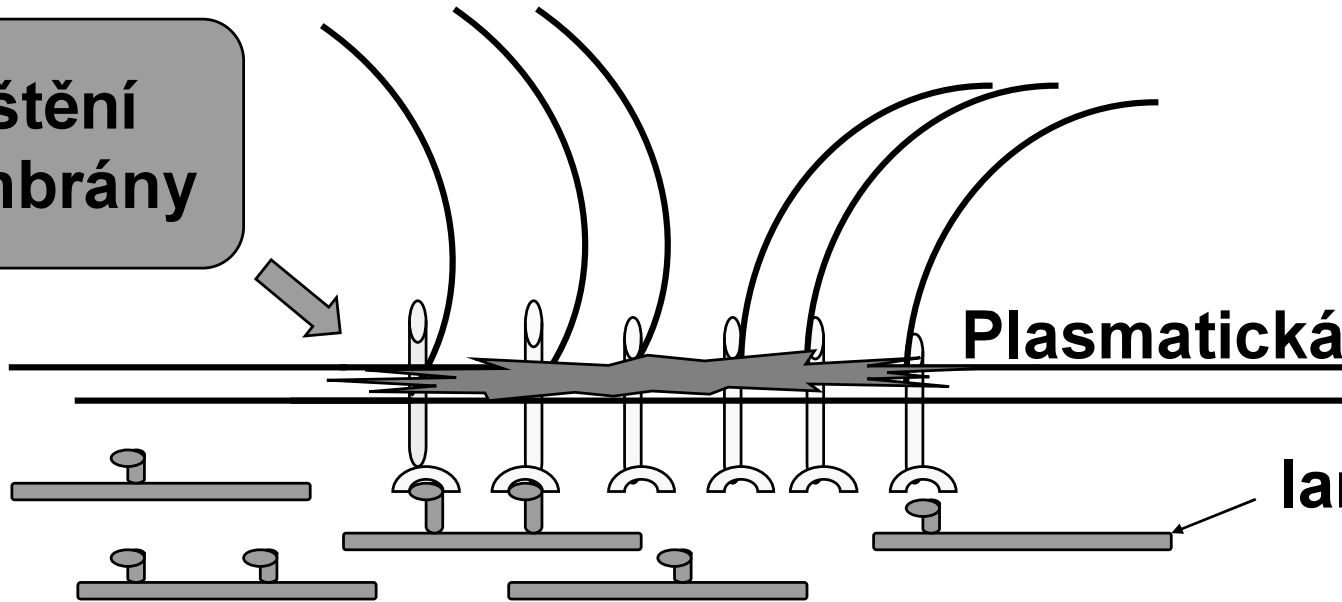
Plasmatická membrána

Bazální lamina

laminin

Adhesivní plaky

Filamenty aktinu ukotvené v plaku



Integriny: Transmembránové receptory pro proteiny ECM (fibronektiny, lamininy, atd.) bazální laminy



Hustý plak (desmoplakin)

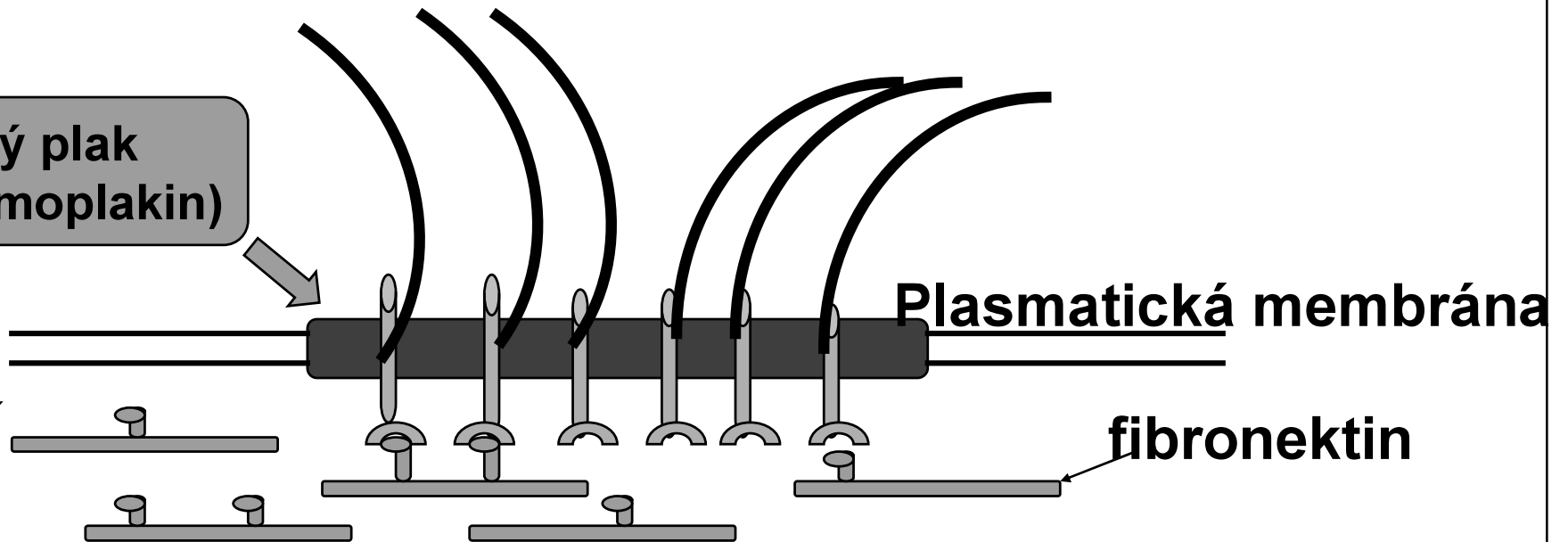
Plasmatická membrána

Basální lamina

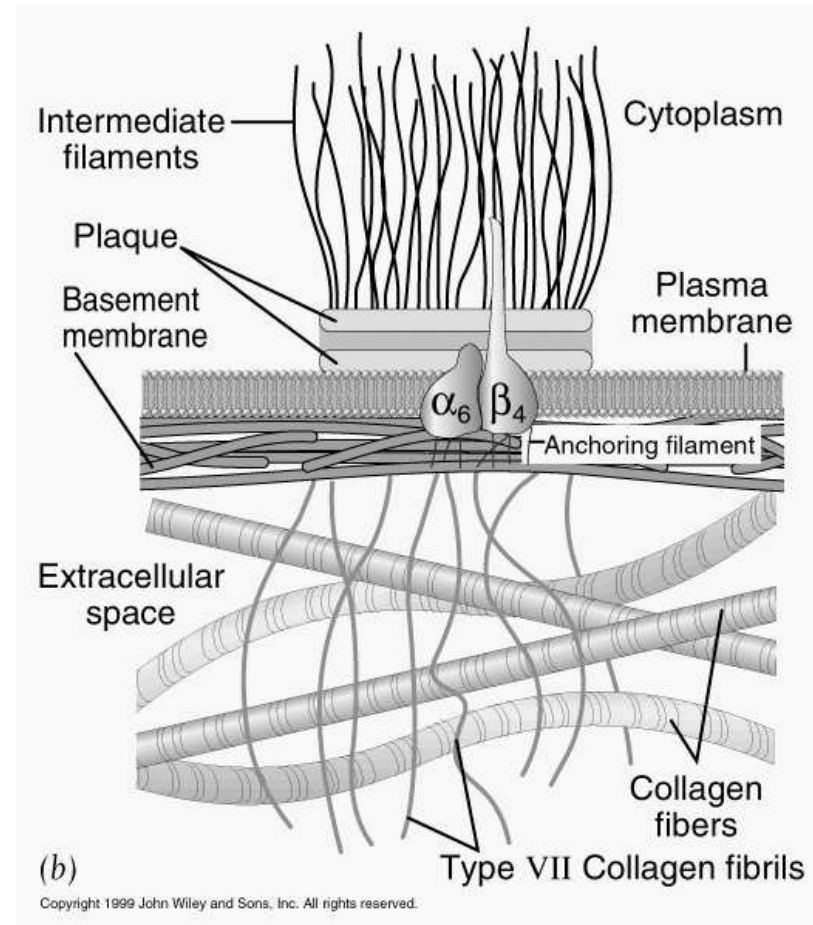
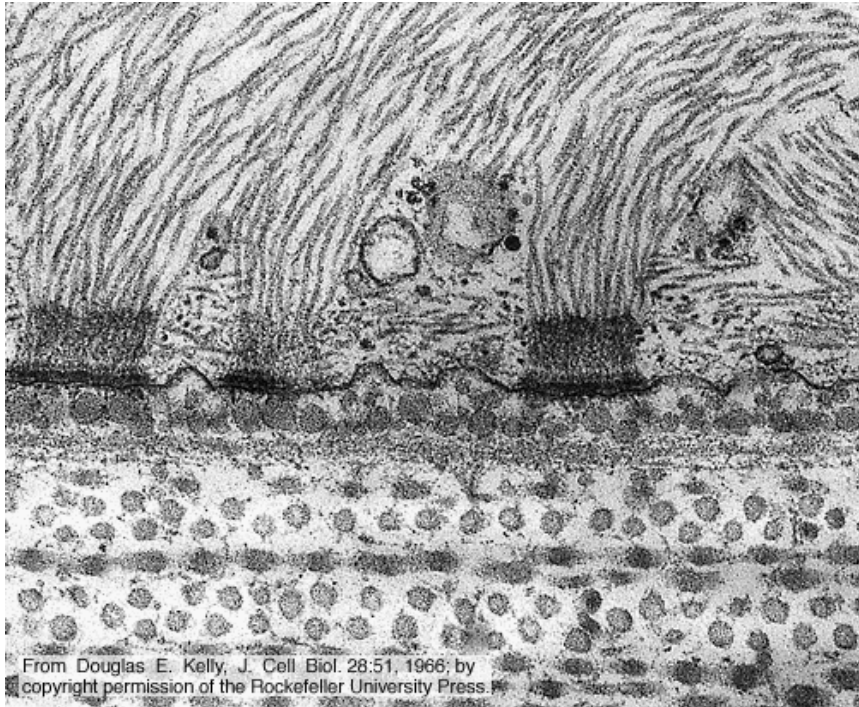
fibronektin

Hemidesmosom

Intermediární filamenty cytoskeletonu ukotvené do plaku



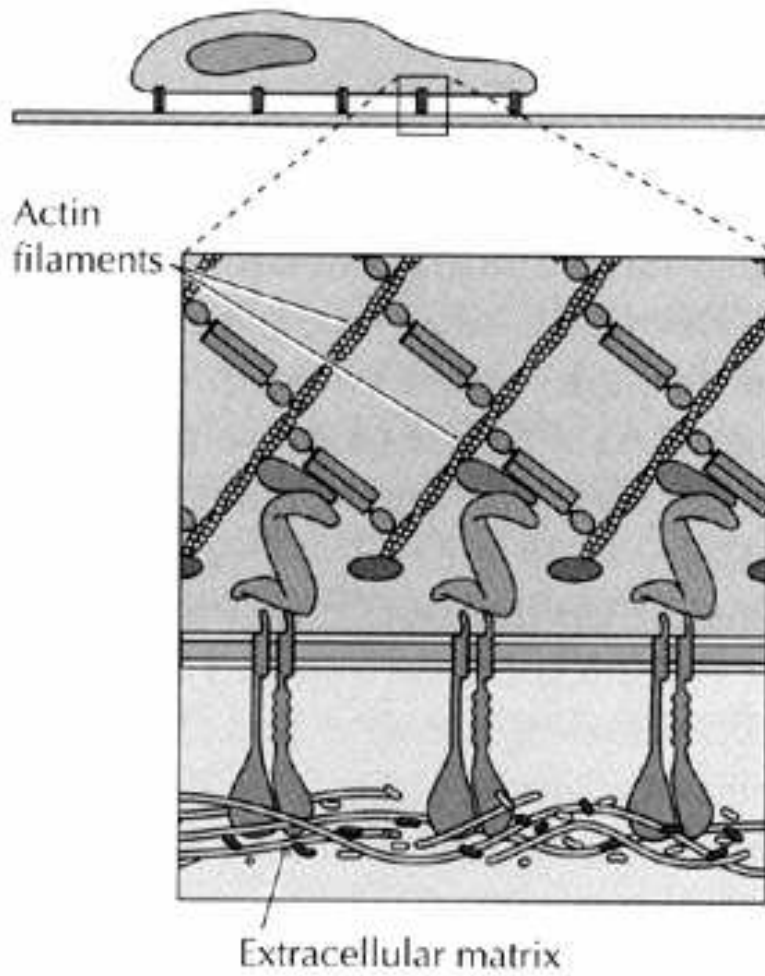
Buňky mohou adherovat ke složkám bazální laminy



**Místa dotyku buněk k
bazální lamině se nazývají
hemidesmosomy**

- každá buňka sedí na několika výběžcích (jako chobotnice)
- významné zvýšení povrchu

Focal adhesion



Hemidesmosome

