

BUNĚČNÁ KOMUNIKACE

Cesta od jednobuněčných k mnohobuněčným organizmům (asi 2,5 bil. let)
Dáno zejména potřebou vytvoření signálních mechanismů, které umožňují vzájemnou komunikaci buněk, aby chování buněk mohlo být správně koordinováno.
Selhání této kontroly – patologické stavy, např. vznik nádorového onemocnění

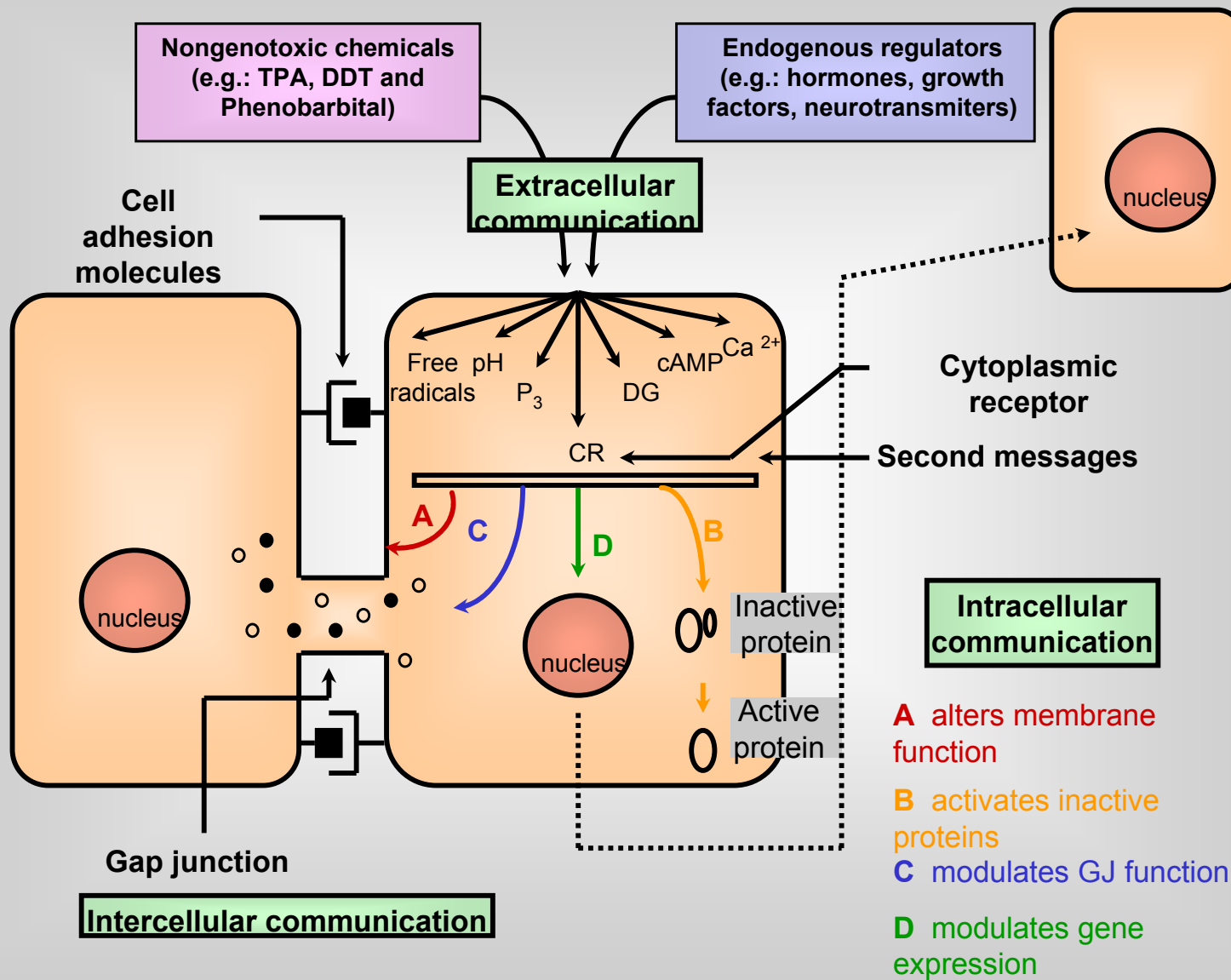
Organizace tkáně je zachována díky třem faktorům:

- 1. Buněčná komunikace** – buňky kontrolují své okolí a vnímají signály od ostatních buněk (růstové faktory, faktory pro přežití). Nové buňky vznikají pouze tehdy a tam, kde je třeba.
- 2. Selektivní mezibuněčná adheze** – různé buňky mají na povrchu různé adhezivní molekuly, které mají tendence vázat se k buňkám stejného typu, s určitými jinými buněčnými typy nebo specifickými složkami extracelulární matrix. Zabraňuje chaotickému míchání různých buněčných typů.
- 3. Buněčná paměť** – speciální formy genové exprese vzniklé během embryonálního vývoje jsou stabilně udržovány – buňky si uchovávají svůj charakter a přenášejí ho na potomstvo.

Chování buněk a rovnováha v buněčných populacích jsou regulovány komplexním integrovaným komunikačním systémem, který zahrnuje signály mimobuněčné, mezibuněčné a vnitrobuněčné.

Živočišné buňky obsahují system proteinů, který jim umožňuje reagovat na signály jiných buněk.

Zahrnuje receptorové proteiny na buněčném povrchu nebo uvnitř buněk (v cytoplasmě nebo v jádře), proteinové kinázy, fosfatázy, proteiny vážící se na GTP a řadu dalších vnitrobuněčných proteinů, se kterými tyto signály interagují.



According to: J.E.Trosko: Environmental Health Perspectives; 106: 331 - 339, 1998

TYPY SIGNÁLŮ

Synaptické - nervové buňky nebo neurony, produkce neurotransmiteru. Působí méně ve vyšších konc. (5×10^{-4} M) a jejich receptory mají relativně nízkou afinitu ke svým ligandům.

Endokrinní - hormony přecházejí krevním řečištěm k cílovým buňkám. Tyto signály jsou relativně pomalé proti nervovým signálům, působí však ve velmi nízkých koncentracích (méně než 10^{-8} M)

Parakrinní - lokální ovlivňování buněk na krátké vzdálenosti (cytokiny, eikosanoidy)

Autokrinní - buňka vysílá signál, který se váže zpětně na její receptor. Důležité při raném vývoji a odpovědi na diferenciační signály a u eikosanoidů.

Formy mezibuněčných signálů

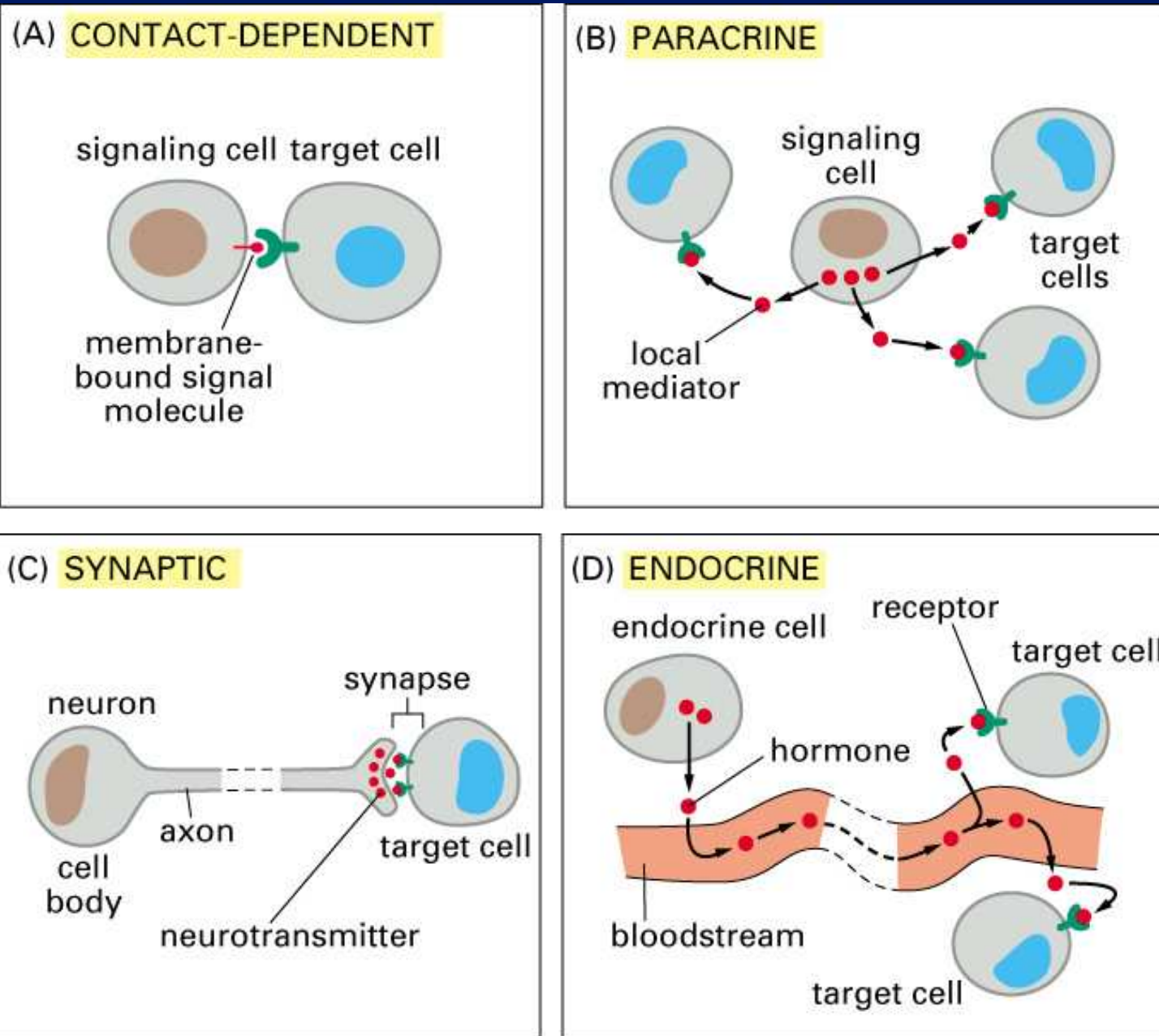
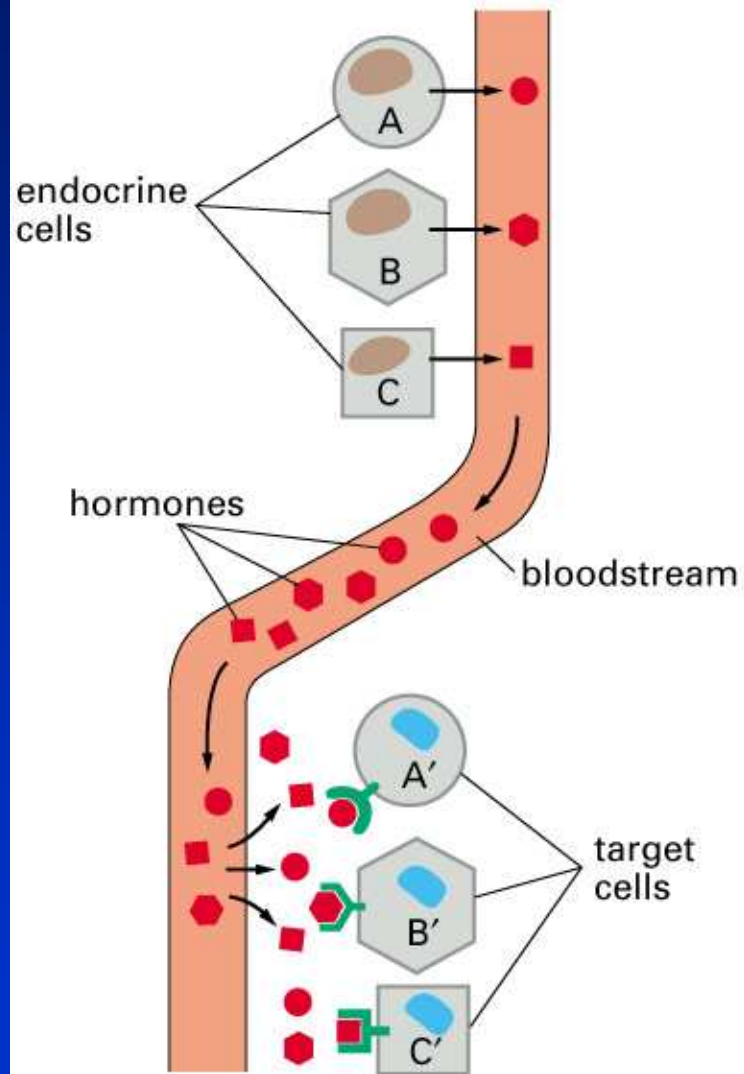


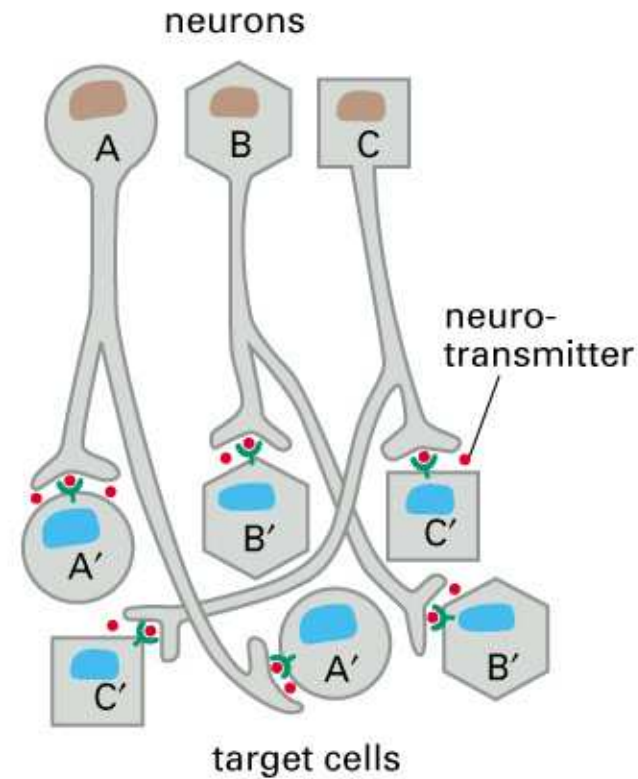
Figure 15-4 part 2 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Rozdíl mezi endokrinním a synaptickým signálem

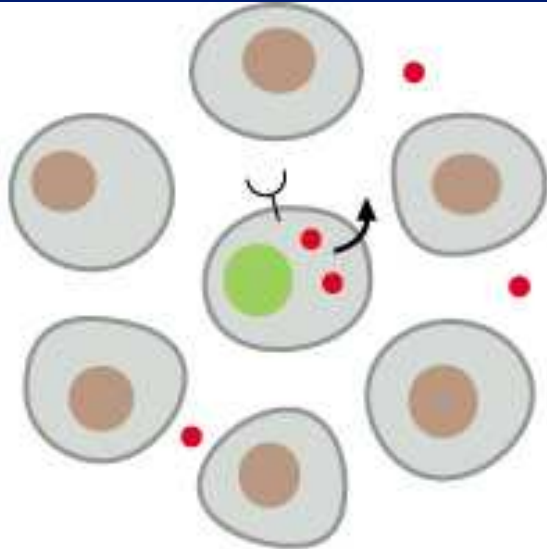
(A) ENDOCRINE SIGNALING



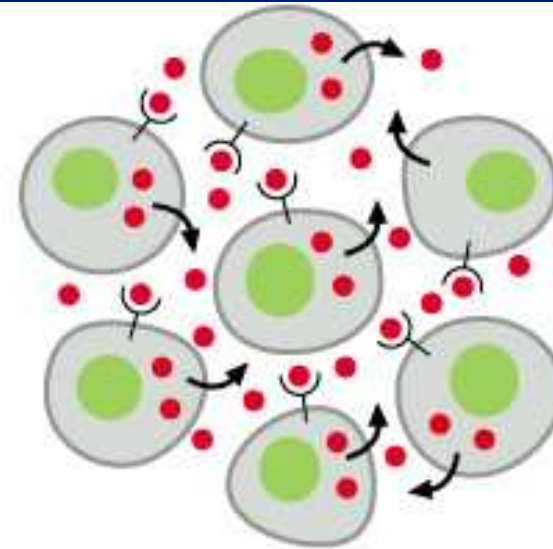
(B) SYNAPTIC SIGNALING



Autokrinní signál



A SINGLE SIGNALING CELL
RECEIVES A WEAK AUTOCRINE
SIGNAL



IN A GROUP OF IDENTICAL SIGNALING
CELLS, EACH CELL RECEIVES A STRONG
AUTOCRINE SIGNAL

Figure 15–6. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

TRANSDUKCE SIGNÁLŮ

Zpráva přijatá na povrchu buňky je předávána od jednoho souboru **vnitrobuněčných signálních molekul** ke druhému, přičemž každý soubor vyvolává tvorbu dalšího.

Klíčové vnitrobuněčné signální proteiny – **molekulové přepínače** – jsou signálem převedeny z neaktivního do aktivního stavu a pak zase inaktivovány

signalizace fosforylací – aktivace kinázou a inaktivace fosfatázou

signalizace pomocí GTP-vazebných proteinů – aktivace převod GDP-GTP, inaktivace hydrolýzou GTP

Nakonec je např. aktivován metabolický enzym, zahájena exprese genu nebo změněn cytoskelet - výsledkem je biologická **odpověď buňky**

Zjednodušené schéma vnitrobuněčné signální dráhy aktivované mimobuněčnou signální molekulou

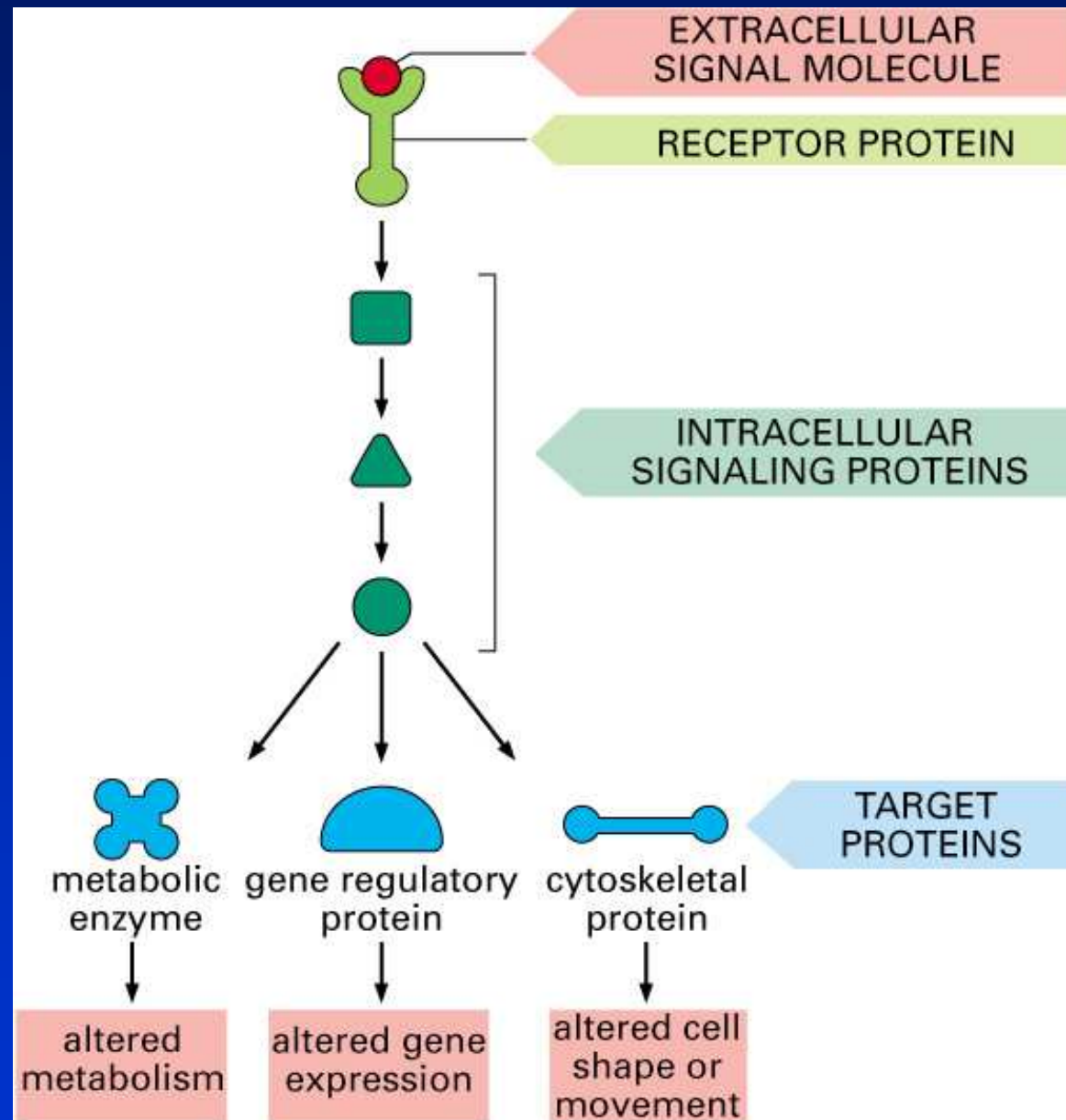


Figure 15-1. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

ZÁKLADNÍ FUNKCE SIGNÁLNÍ KASKÁDY VNITROBUNĚČNÝCH MOLEKUL

Fyzicky **přenášejí** signál z bodu, kde byl přijat, do buněčného aparátu, který vytvoří odpověď

Transformují signál do molekulární podoby, která může odpověď stimulovat
Signální kaskády mohou přijatý signál **zesilovat**. Pak několik extracelulárních signálních molekul vyvolá rozsáhlou odpověď

Signální kaskády mohou signál **rozdělit** tak, aby současně ovlivnil několik dějů a mohl být předán různým cílům uvnitř buňky – rozvětvený tok informace a komplexní odpověď

Každý krok signální kaskády je otevřen působení dalších faktorů a přenos signálu může být **modulován**

Různé typy vnitrobuněčných signálních proteinů účastnících se signální dráhy od receptoru na povrchu buňky k jádru

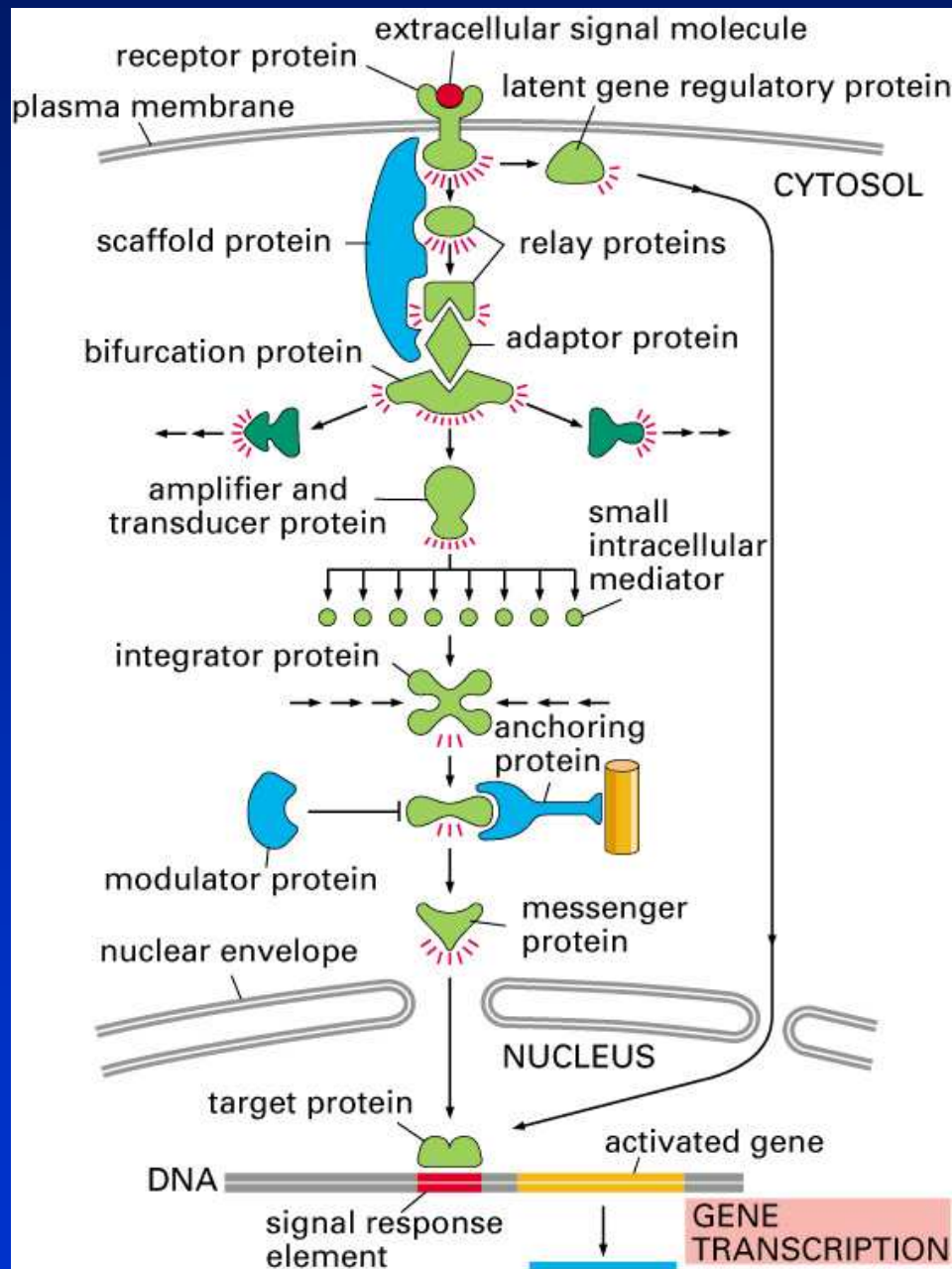


Figure 16-16. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Signální proteiny a vnitrobuněčné mediátory předávají mimobuněčný signál do buňky a způsobují změny genové exprese.

Mohou signály

- 1) pouze předávat dál (relay)
- 2) přenášet z jednoho místa buňky na jiné (messenger)
- 3) Vázat navzájem signální proteiny (adaptor)
- 4) Zesilovat (ampifier)
- 5) měnit na jinou formu (transducer)
- 6) Rozdělit (bifurcation)
- 7) Integrovat(integrator)

Kromě toho existují proteiny modulující (modulator), ukotvující (anchorage) nebo spojující (scaffold) signální molekuly

Integrace signálu

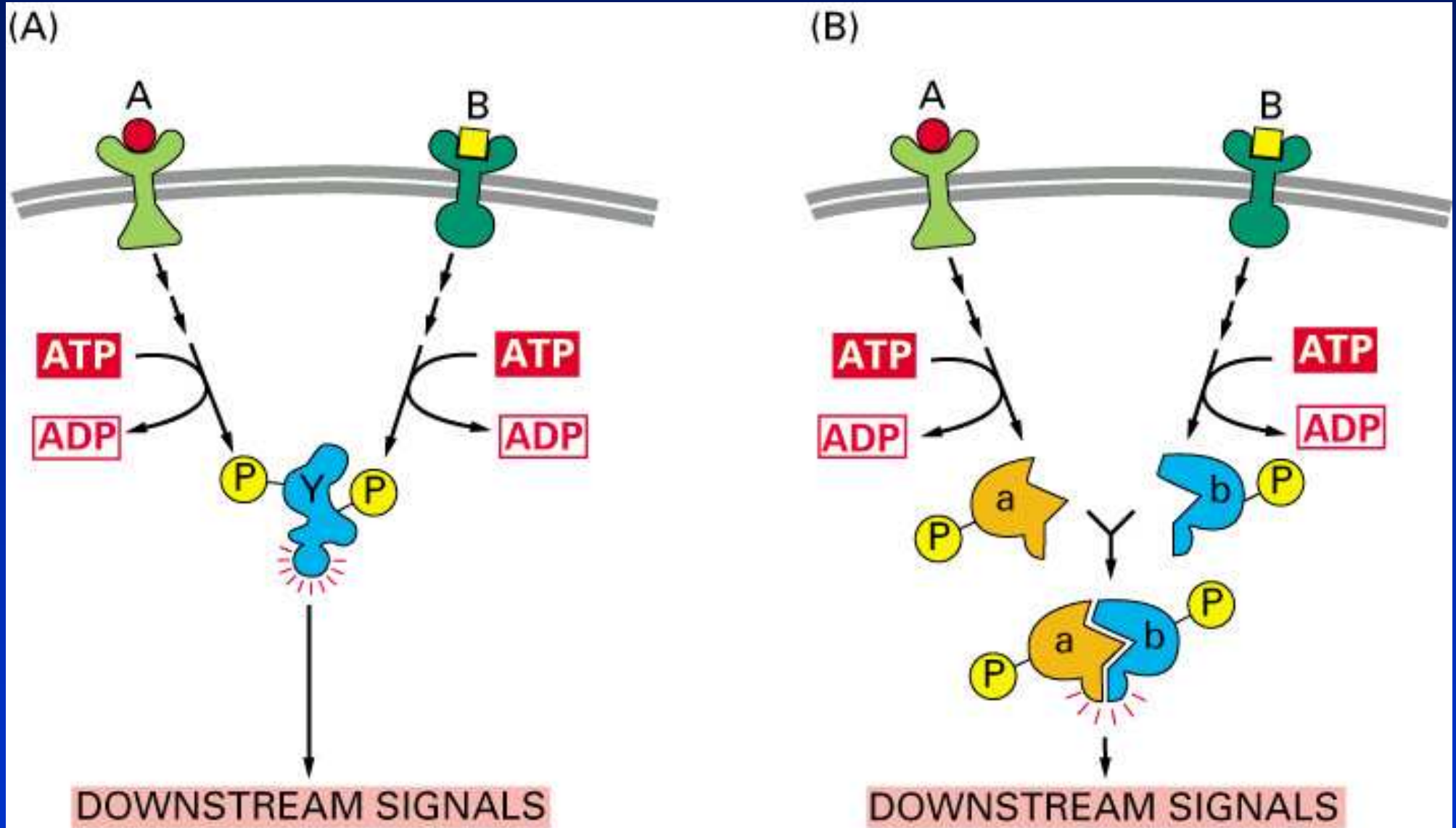


Figure 15–18. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Dva typy vnitrobuněčných signálních komplexů

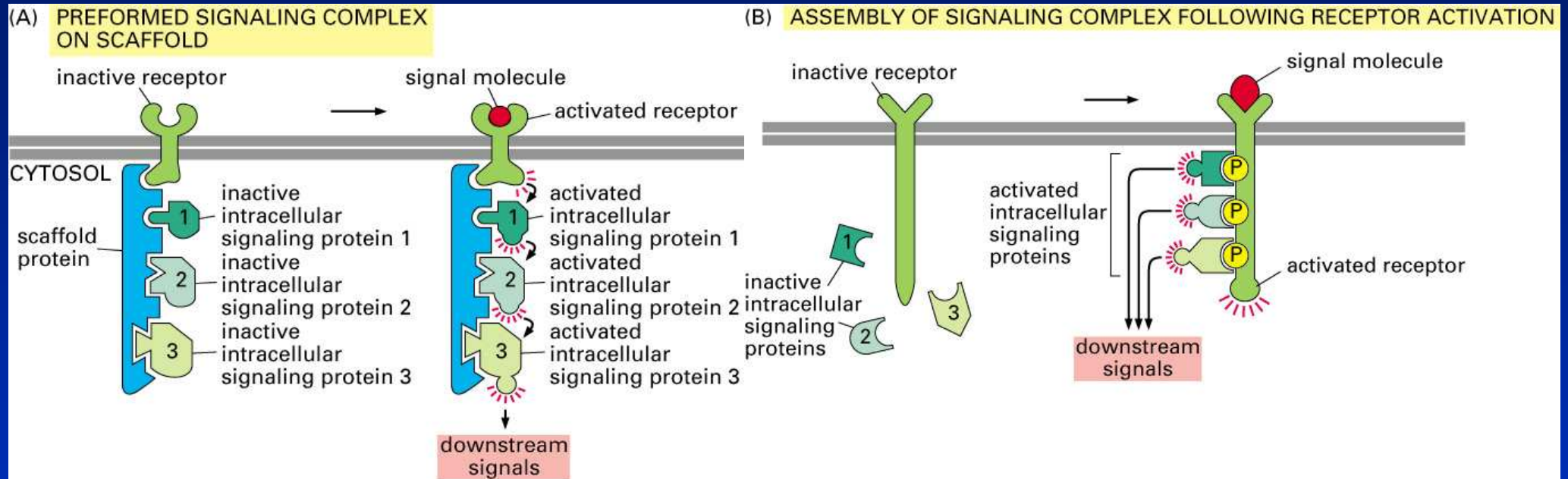


Figure 15-19 part 1 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Vytváření stabilních a přechodných signálních komplexů závisí na řadě vysoce konzervovaných, malých vazebných domén nalezených u mnoha vnitrobun. signálních proteinů (Src homologní 2 a 3 domény – SH2, SH3, phosphotyrosine-binding (PTB) domény).

Některé povrchové receptory a vnitrobun. signální proteiny se sdružují přechodně ve specifických mikrodoménách lipidové dvojvrstvy plasmatické membrány bohatých na cholesterol a glykolipidy - tzv. lipidové rafty. Vazby v těchto raftech pomocí kovalentně připojených lipidových molekul podporují rychlost a účinnost signálního procesu a usnadňují spojení a interakce signálních molekul.

LIPIDOVÉ RAFTY

malé oblasti proteinů a lipidů v membráně s unikátním složením lipidů – bohaté na cholesterol.

Tyto struktury jsou funkčně zahrnuty v kompartmentalizaci, modulaci a integraci buněčných signálů a tak modulují důležité procesy jako buněčný růst, přežití a adhezi.

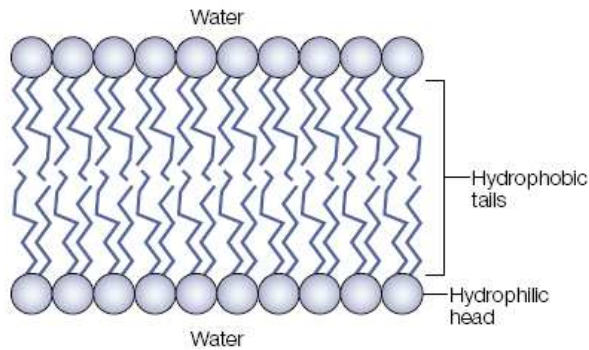


Figure 1 | **Basic structure of the lipid bilayer.** Phospholipids, the type of lipid that makes up the majority of lipids found in the cell membrane, are made up from a phosphate head (circles) that likes water and a fatty-acid, or lipid, tail (lines) that hates it. In an aqueous environment, such as that found in cells, these lipids line up so as to limit the exposure of the hydrophobic portions to water, thus forming a membrane layer.

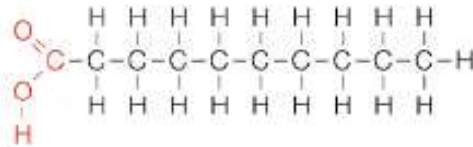
Box 1 | What are lipid rafts?

Lipid rafts are sphingolipid- and cholesterol-rich membrane microdomains in the outer leaflet of the plasma membrane. The plasma membrane is composed primarily of sphingolipids, phospholipids and cholesterol. Sphingolipids differ from most phospholipids in that they have long, largely saturated acyl chains that allow them to pack tightly in a bilayer, forming a gel phase in which there is very little lateral movement or diffusion. The gel phase of the sphingolipids is altered by the association of cholesterol, which condenses the packing of the sphingolipids by occupying the spaces between the acyl chains. So, cholesterol-containing sphingolipid microdomains exist in a liquid-ordered phase that is significantly more fluid than the gel phase.

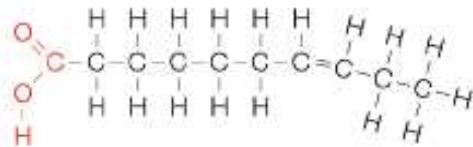
By contrast, phospholipids are rich in unsaturated acyl chains that tend to be kinked and consequently to pack loosely into a liquid-disordered phase that is considerably more fluid, allowing rapid lateral movement within the bilayer. The different packing of the sphingolipids and phospholipids probably leads to their phase separation in membrane bilayers. Sphingolipid microdomains float in a phospholipid bilayer, leading to the coining of the term 'lipid rafts'. Cholesterol preferentially partitions into the liquid-ordered phase rather than the liquid-disordered phospholipid bilayer and is essential for the maintenance of the two phases.

The membrane outer leaflet rafts are believed to be linked to an inner leaflet that is probably rich in phospholipids with saturated fatty acids and cholesterol. The size of rafts and their lifetimes in the membranes of resting cells are uncertain. Current evidence indicates that the elemental rafts might be small (26–70 nm in diameter), containing only several thousand molecules and therefore accommodating only a few proteins. Rafts were shown selectively to include some proteins and to exclude others, so rafts provide a mechanism for the lateral sorting of proteins in the membrane. Modified from Pierce, S. K. Lipid rafts and B-cell activation. *Nature Rev. Immunol.* 2, 96–105 (2002) © Macmillan Magazines Ltd

Saturated



Unsaturated



The diagram shows a cross-section of a membrane bilayer. A GPI-linked protein (purple) is attached to the outer leaflet. A Lyn kinase (blue) is associated with a lipid raft (orange) in the outer leaflet. The raft is composed of sphingolipids and cholesterol. The bilayer also contains phospholipids with saturated tails (orange) and phospholipids with unsaturated tails (green).

Phospholipids

$$\begin{array}{l} \text{R} - \text{C}(=\text{O}) - \text{O} - \text{CH}_2 \\ \text{R}' - \text{C}(=\text{O}) - \text{O} - \text{CH} \\ \quad \quad \quad | \\ \quad \quad \quad \text{H}_2\text{C} - \text{O} - \text{P}(=\text{O})(\text{O}^-) - \text{O} - \text{R}'' \end{array}$$

Phospholipid with saturated tail

Phospholipid

Sphingolipids

$$\text{H}_3\text{C} - (\text{CH}_2)_{12} - \text{C}(=\text{H}) = \text{C}(\text{H}) - \text{C}(\text{HO}) - \text{C}(\text{NH}) - \text{CH}_2 - \text{O} - \text{R}''$$

Sphingolipid

Cholesterol

$$\text{HO} - \text{C}_{27}\text{H}_{46} - \text{C}_5\text{H}_8$$

Cholesterol

R, R', Hydrocarbon chains of fatty acids
R'', Head group
GPI, glycosylphosphatidylinositol

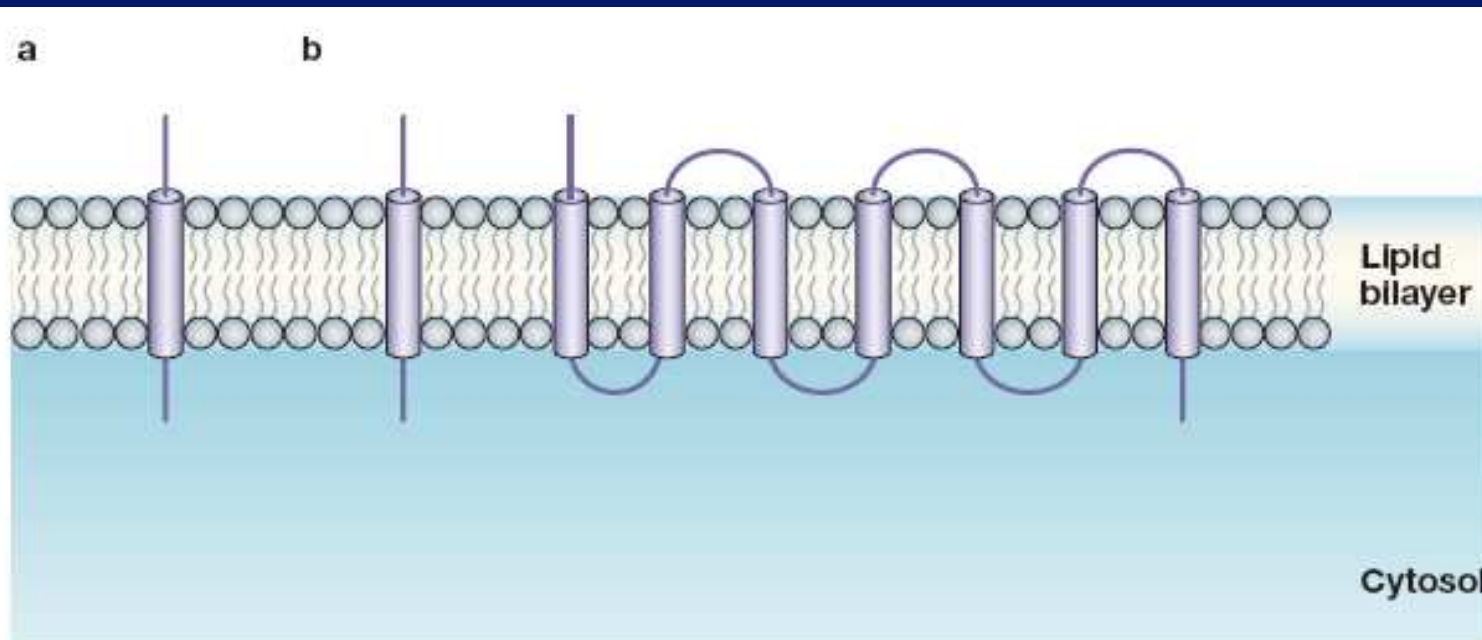


Figure 3 | **Membrane proteins.** Cell surface membranes contain proteins embedded in the lipid bilayer for the regulation of cell behaviour and the organization of cells in tissues. These proteins can be adhesion proteins, which keep cells together (**a**), and span the membrane once. Alternatively, they can be receptor proteins (**b**), which can span the membrane once or multiple times. Binding of a signalling molecule to the receptor initiates a response on the other side, which results in the conversion of one kind of signal or stimulus into another, known as signal transduction. To exist within the inner membrane all these proteins need to have long sequences of hydrophobic (barrels) rather than water-loving (lines) amino acids.

Většina mimobuněčných signálů je zprostředkována hydrofilními molekulami, které se váží na receptor na povrchu cílové buňky.

Některé signální molekuly jsou dostatečně hydrofobní nebo malé, že snadno projdou přes plasmatickou membránu a uvnitř pak přímo regulují aktivitu specifických vnitrobuněčných proteinů.

Např. molekuly některých plynů jako je oxid dusíku (NO) nebo uhlíku (CO). NO je vytvářen enzymem NO syntázou deaminací aminokyseliny argininu. NO difunduje skrz membránu buňky, která jej tvoří a prochází do sousedních buněk. Funguje jen lokálně, protože má krátký poločas života, pouze 5-10 vteřin, a v mimobuněčném prostoru je přeměňován na nitráty nebo nitrity. V mnoha cílových buňkách např. v endoteliálních, reaguje NO s železem v aktivním místě enzymu guanylyl cyklázy a stimuluje produkci vnitrobuněčného mediátoru cyklického GMP.

Podobně funguje CO.

NO - důležitá signální molekula pro působení acetylcholinu uvolňovaného autonomním nervstvem ve stěnách krevních cév. Uvolněný NO funguje jako relaxační signál a způsobuje uvolnění hladkého svalstva ve stěnách cév.

Tento účinek NO na krevní cévy je podstatou působení nitroglycerinu, který je již více než 100 let používán jako lék pro pacienty s anginou pectoris trpících bolestí způsobenou nedostatečným zásobováním srdečního svalstva krví. Nitroglycerin je přeměňován na NO, který uvolňuje svaly cév, čímž redukuje nápor na srdce a snižuje tak požadavek srdečního svalstva na kyslík.

NO je produkován také jako lokální mediátor aktivovanými makrofágy a neutrofily a pomáhá jim zabít mikroorganismy.

NO je využíván řadou typů nervových buněk pro signálování sousedním buňkám: je uvolňován např. autonomním nervstvem v penisu a způsobuje lokální dilataci krevních cév odpovědnou za erekci.

Úloha oxidu dusíku (NO) v relaxaci buněk hladkého svalstva cévní stěny

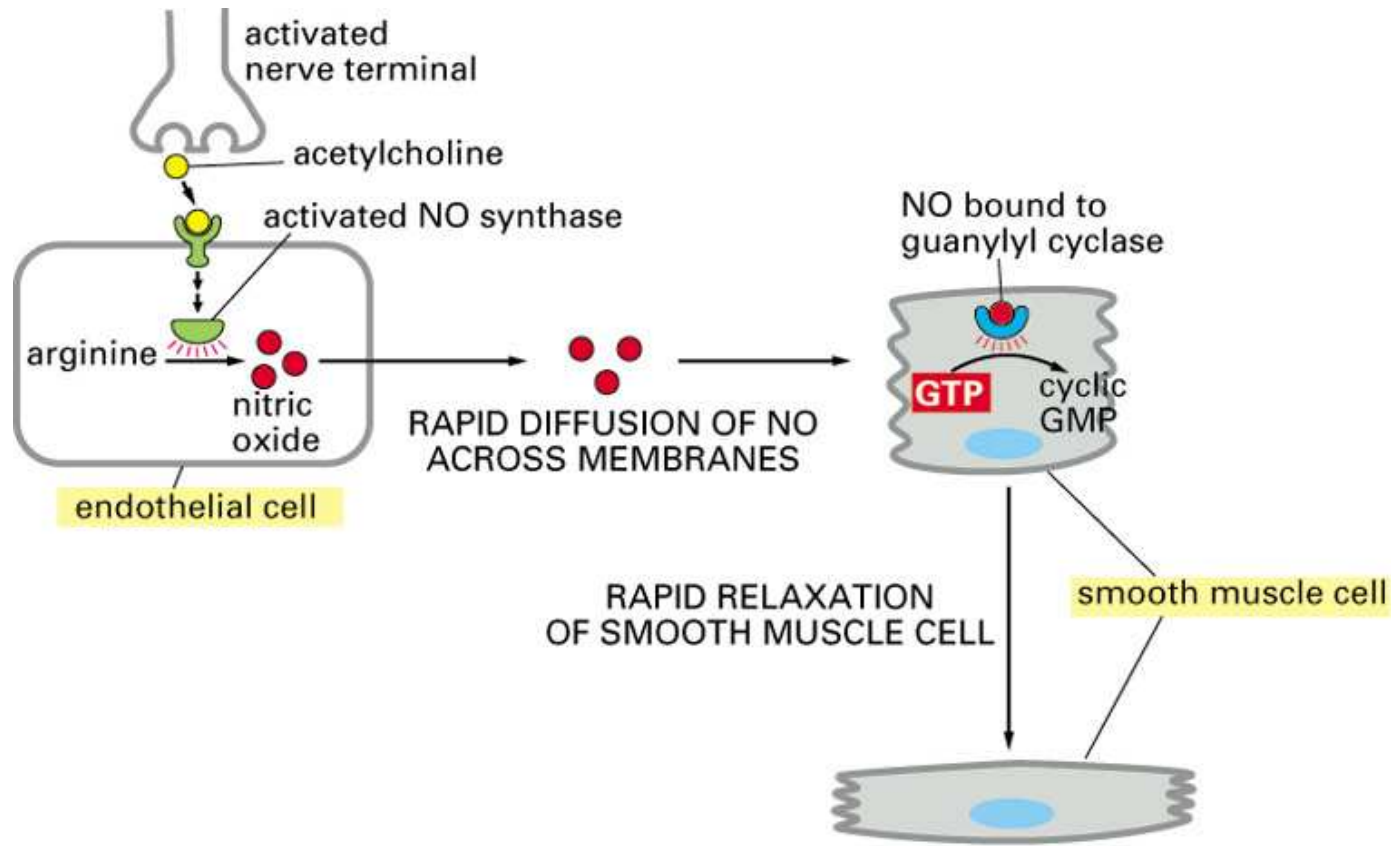


Figure 15-11. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

RECEPTORY

Většinou **transmembránové proteiny**, které váží mimobun. signální molekuly (hydrofilní) - **ligandy** a jsou-li aktivovány vzniká kaskáda vnitrobuněčných signálů, které mění chování buňky.

Vnitrobuněčné receptory (v cytoplasmě nebo v jádře) - pro malé hydrofobní ligandy

Každá buňka mnohobuněčného organismu je exponována stovkami různých signálů z prostředí a musí na ně reagovat selektivně.

Specifický způsob odpovědi buňky na okolí se liší podle 1) souboru receptorových proteinů, které buňka má, 2) vnitrobuněčné mašinerie, kterou buňka reaguje a interpretuje získanou informaci. Tak jedna signální molekula může mít často rozdílné účinky na různé cílové buňky.

Buňka reaguje na různé soubory signálů buď proliferací, diferenciací, nebo vykonáváním specif. funkcí.

Signály pro přežití - absence signálů - programovaná bun. smrt

Vazba mimobuněčných signálních molekul k povrchovým nebo vnitrobuněčným receptorům

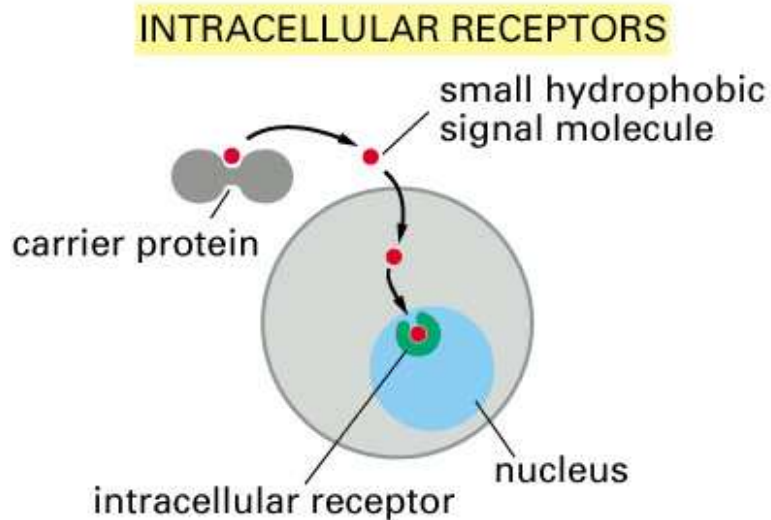
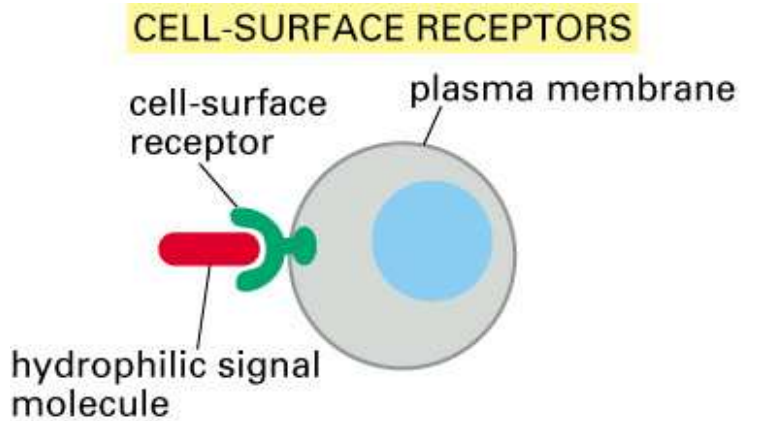


Figure 15-3. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Závislost živočišné buňky na mnohonásobných mimobuněčných signálech

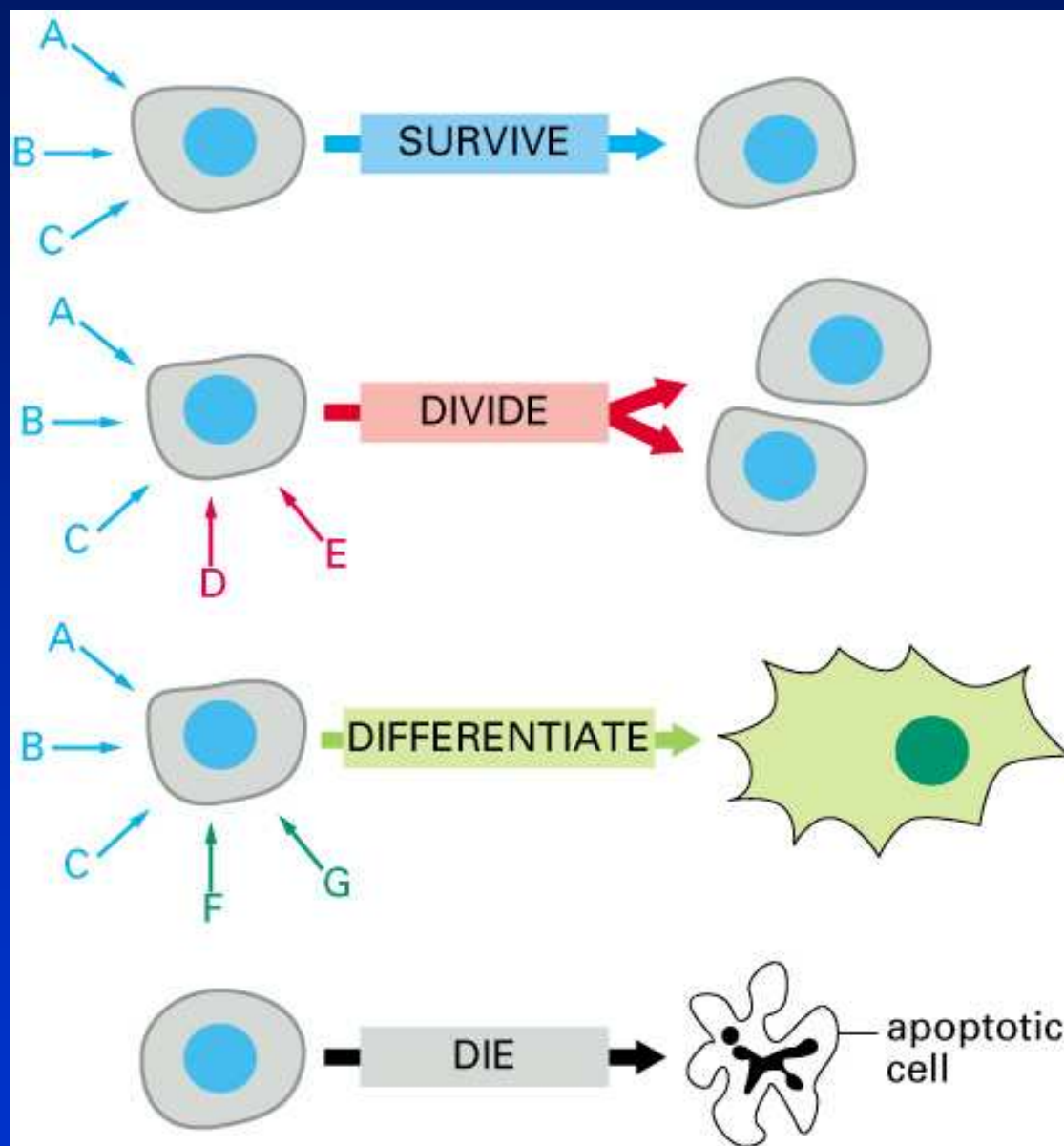
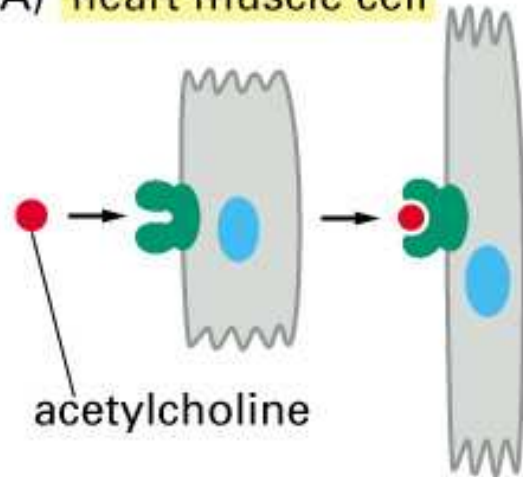


Figure 15-8. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Různé odpovědi indukované neurotransmiterem acetylcholinem

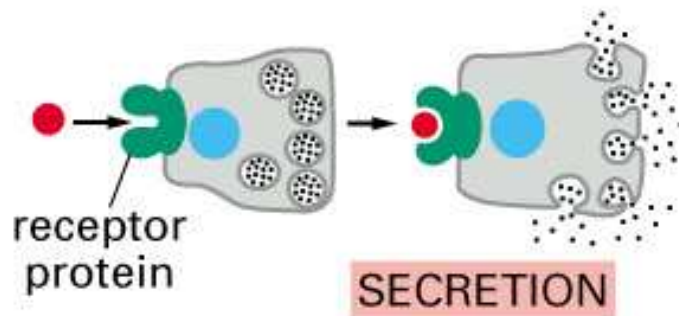
(A) heart muscle cell



acetylcholine

DECREASED RATE AND FORCE OF CONTRACTION

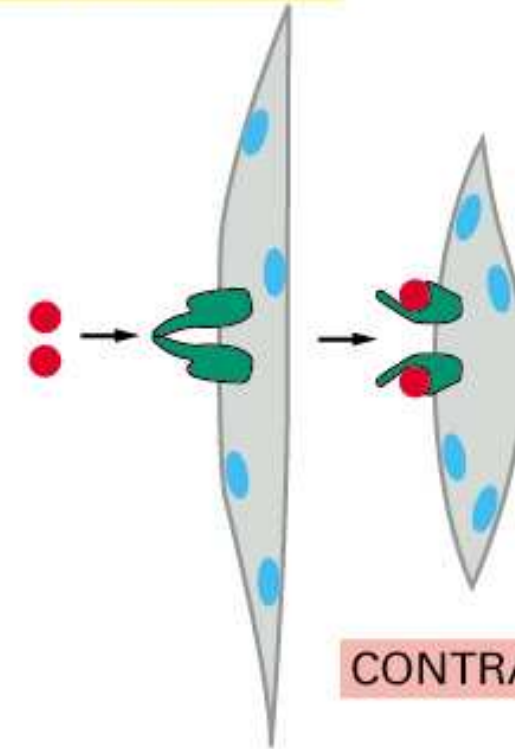
(B) salivary gland cell



receptor protein

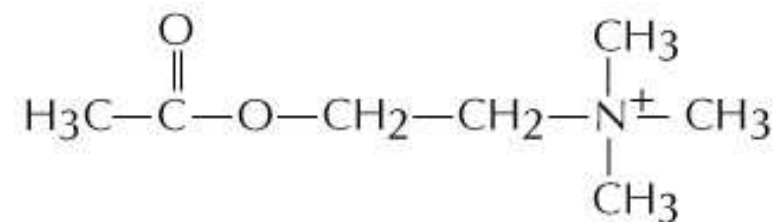
SECRETION

(C) skeletal muscle cell



CONTRACTION

(D) acetylcholine



POVRCHOVÉ RECEPTORY

Přenašeče signálů, které přeměňují vnější podnět na jeden nebo více vnitrobuněčných signálů.

Tři základní typy:

- 1) vázané na iontové kanály - pro rychlé synaptické signály el. vybuditelných buněk - nervové buňky, neurotransmitery
- 2) vázané na G-proteiny
- 3) vázané na enzymy

Ad 1) a 2)

Po aktivaci proteinů je zahájena fosforylační kaskáda, kterou je signál přenášen do jádra, kde se mění exprese specifických genů a tím i chování buňky

Hlavní typy PK - serine/treonin a tyrosin kinázy (asi 2% genomu).

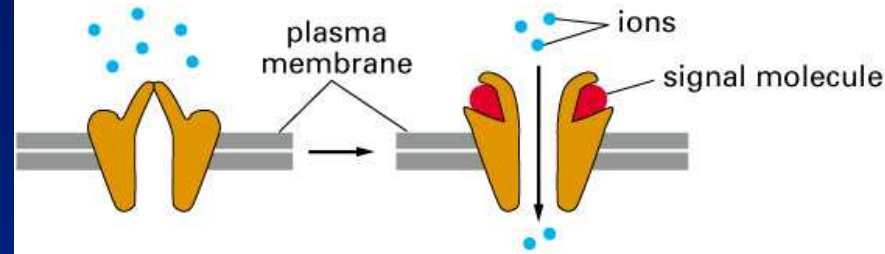
Komplexní chování buňky jako je přežívání a proliferace jsou obecně stimulovány spíše specifickou kombinací signálů než jedním samostatným signálem.

Buňka musí integrovat informaci přicházející s jednotlivými signály, aby mohla příslušně reagovat - žít či uhynout, proliferovat či zůstat v klidu nebo diferencovat.

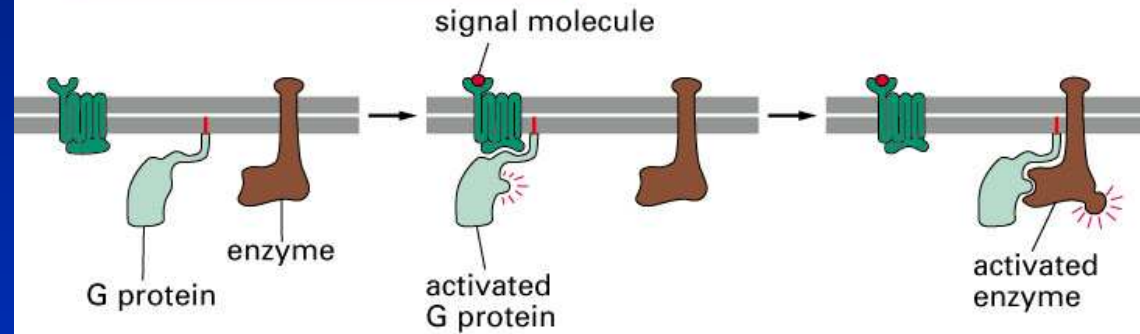
Integrace je závislá na interakci mezi různými fosforylačními kaskádami proteinů, které jsou aktivovány různými vnějšími signály.

Tři typy buněčných povrchových receptorů

(A) ION-CHANNEL-LINKED RECEPTORS



(B) G-PROTEIN-LINKED RECEPTORS



(C) ENZYME-LINKED RECEPTORS

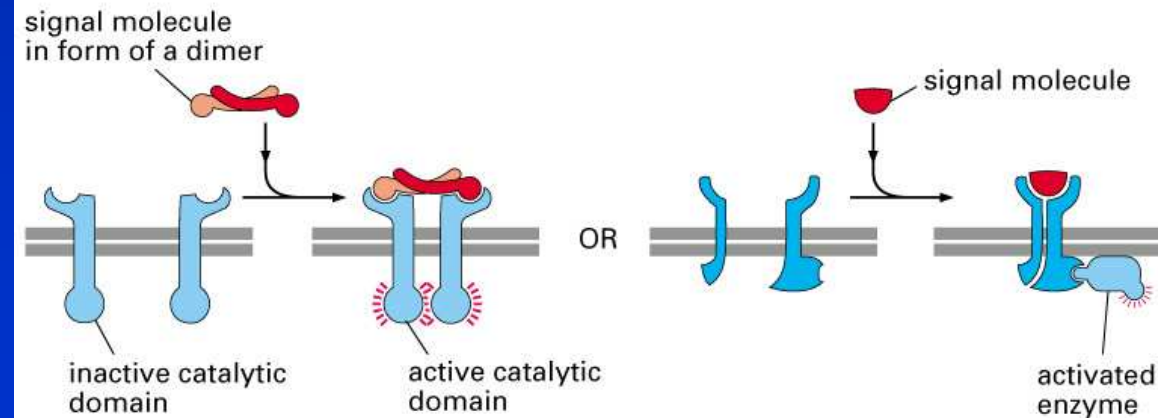


Figure 15-15 part 2 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

VNITROBUNĚČNÉ RECEPTORY

Proteiny regulující transkripci genů - superrodina receptorů pro steroidní hormony.

Ligandy jsou malé hydrofóbní signální molekuly - steroidní a tyroidní hormony, retinoidy a vitamín D.

Typ I: lokalizovány v cytoplazmě v inaktivní formě (často spojeny s tzv. “heat shock proteiny”). Po vazbě ligandu translokace do jádra.

Příklad: receptory pro steroidní hormony (glukokortikoidy, androgen, progesteron, estrogen, dioxinový Ah receptor (vazba s proteinem Arnt)

Typ II: lokalizovány v jádře. Po vazbě ligandu konformační změny. Mohou se vázat na DNA i bez ligandu.

Příklad: thyroidní receptory (TR), receptory pro kys. retinovou (RAR, RXR), vitamín D3 (VDR), peroxisomové proliferátory (PPAR)

Dochází k propojení drah signálové transdukce (“cross-talk”).

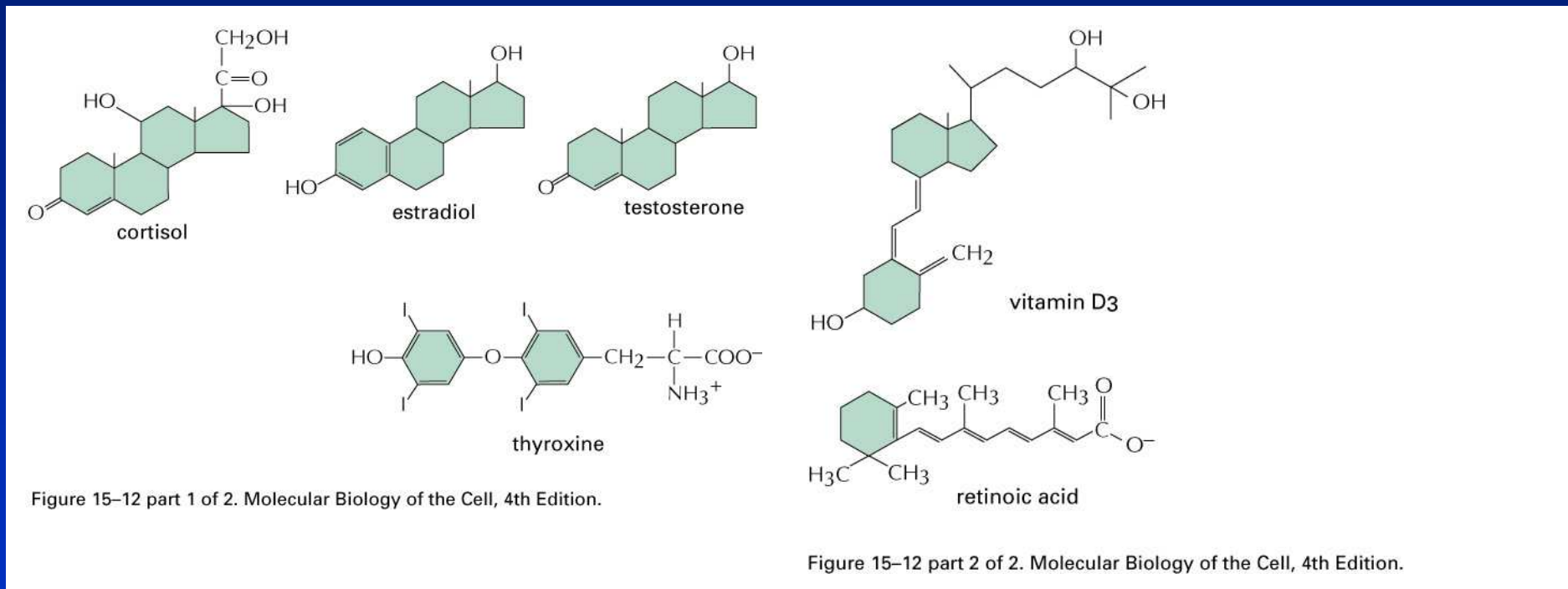
Tvorba homo- a heterodimerů: PPAR-RXR, TR-RAR

Aktivované receptory se váží na specifické sekvence DNA - responsivní elementy.

Dvoustupňová reakce: a) přímá indukce transkripce malého množství specifických genů během 30 minut - primární odpověď, b) produkty těchto genů pak aktivují další geny a vyvolávají zpožděnou sekundární odpověď.

Indukce charakteristické odpovědi u organismu: 1) jen určité typy buněk mají příslušné receptory, 2) každá z těchto buněk obsahuje různou kombinaci jiných (pro buněčný typ specifických) geny regulujících proteinů, které spolupracují s aktivovaným receptorem a ovlivňují transkripci specifického souboru genů.

Některé signální molekuly vážící se k molekulárním receptorům



Superrodina vnitrobuněčných receptorů

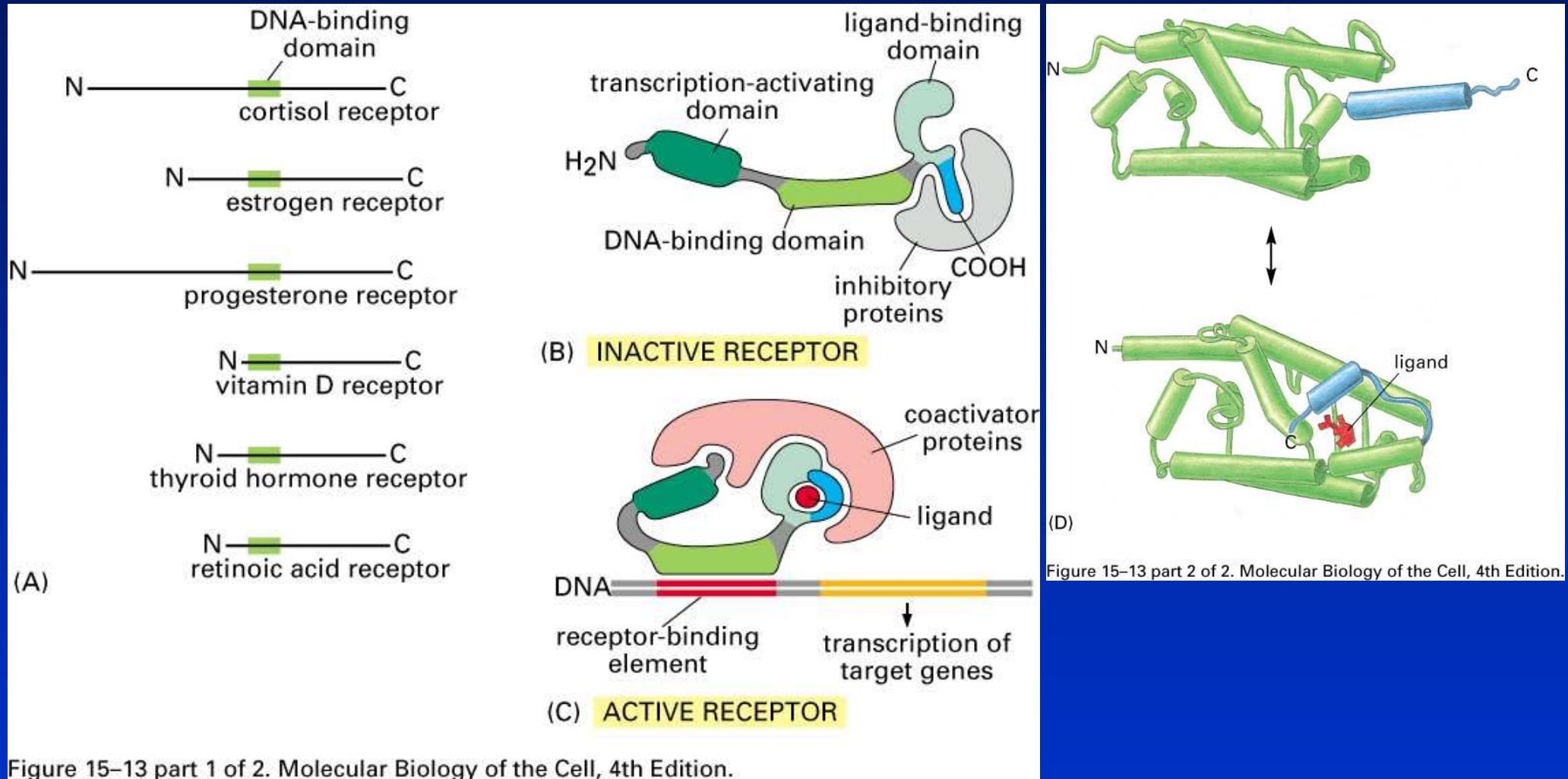


Figure 15-13 part 1 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Figure 15-13 part 2 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

- (A) Podobná struktura receptorů s vazebnou doménou
- (B) Receptorový protein v inaktivní formě vázán na inhibiční proteiny
- (C) Po vazbě ligandu disociace inh. proteinu a navázání koaktivátoru k transkripci aktivující doméně receptoru
- (D) Trojrozměrná struktura domény vážící ligand bez a s navázaným ligandem. Alpha helix (modře) funguje jako víčko zajišťující polohu ligandu

Odpovědi indukované aktivací hormonálních receptorů

(A) EARLY PRIMARY RESPONSE TO STEROID HORMONE (B) DELAYED SECONDARY RESPONSE TO STEROID HORMONE

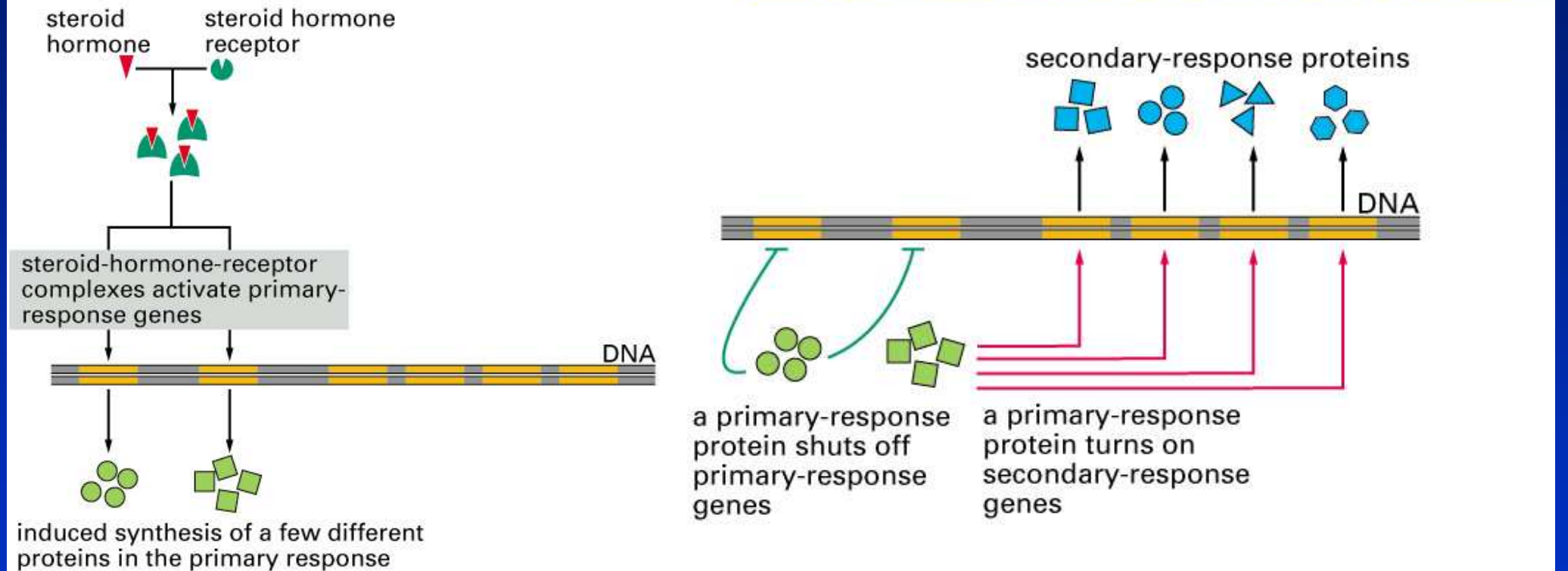


Figure 15-14 part 1 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Pět způsobů ztráty citlivosti cílové buňky k signální molekule

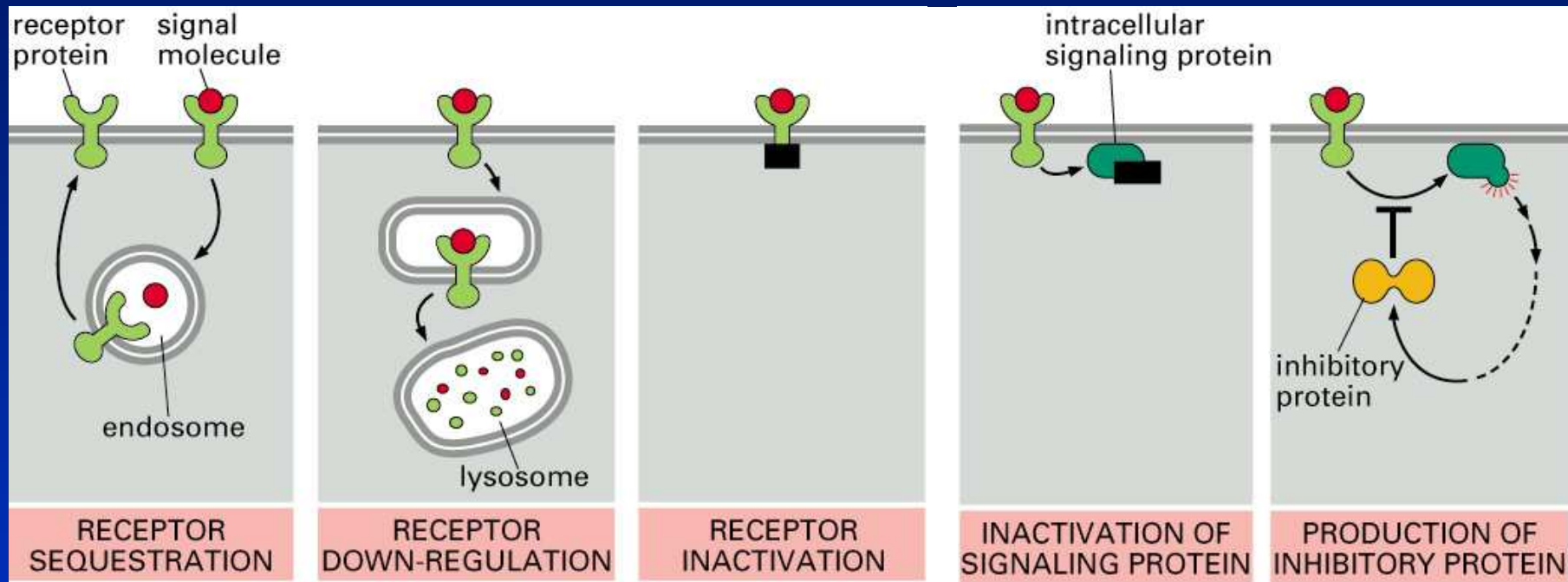


Figure 15–25 part 1 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

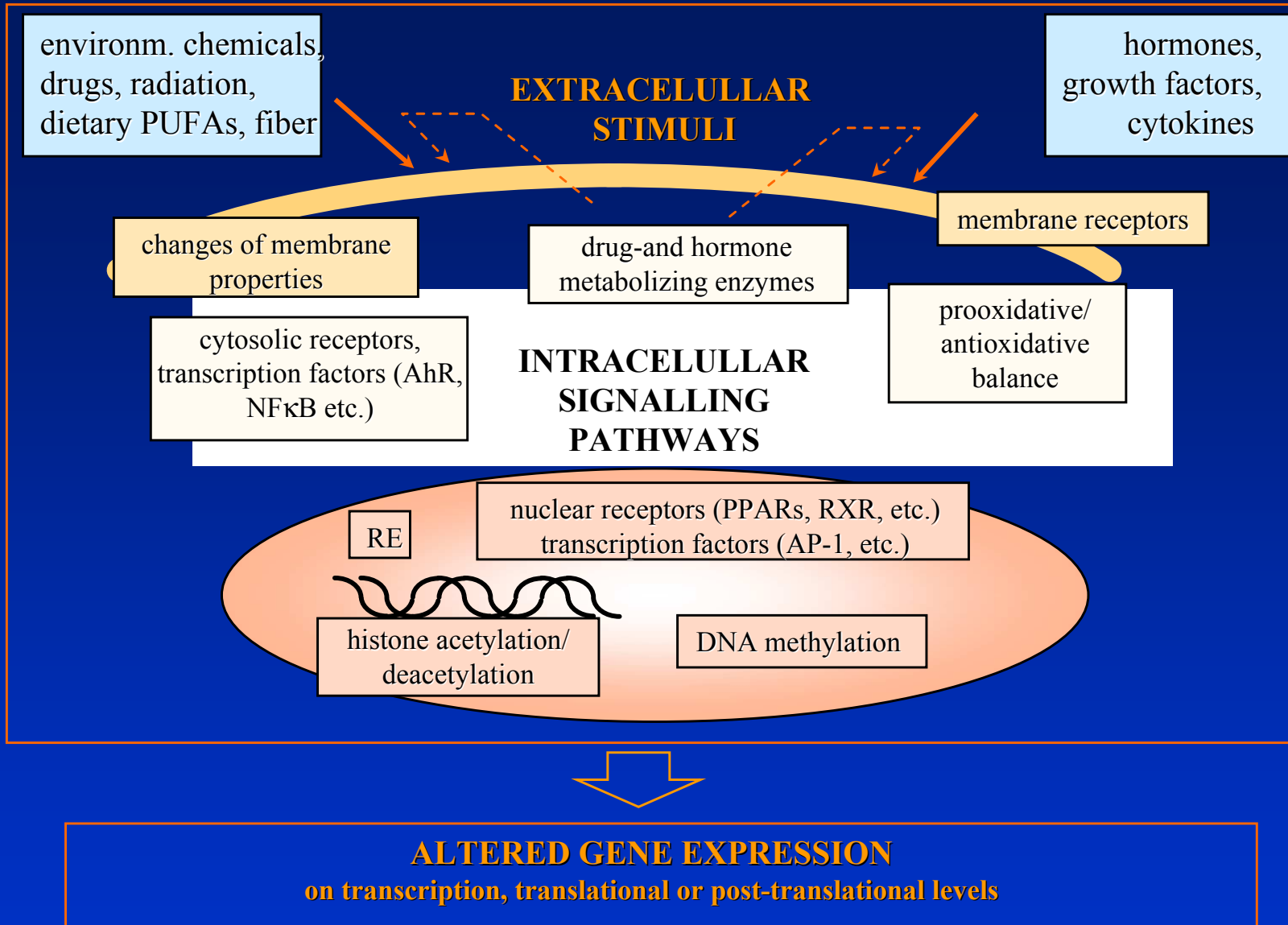
Každá volba buňky zahrnuje epigenetické (negenotoxické) mechanismy, které mohou měnit expresi genů na transkripční, translační nebo postranslační úrovni.

Modulace mimobuněčné komunikace buď genetickou imbalance růstových faktorů, hormonů, neurotransmiterů nebo látkami z vnějšího prostředí (dieta, chem. látky) může spustit signální vnitrobuněčnou transdukcí. Tyto signály pak modulují expresi genů a modulují též GJIC (gap junctional intercellular communication).

V mnohobun. organismu zahrnuje homeostatická kontrola regulaci bun. proliferace, diferenciace programované bun, smrti a adaptivní odpovědi diferencovaných buněk.

Když se oplodněné vajíčko vyvíjí v embryo, fetus a dospělý organismus, totipotentní buňky jsou směřovány do pluripotentních kmenových buněk, které proliferují, tvoří progenitorové buňky a pak diferencují, adaptivně reagují a hynou apoptózou.

Geny jsou selektivně transkribovány nebo reprimovány během diferenciace, bun. cyklu, zástavy bun. cyklu, během progr. bun. smrti. Vše jsou to děje řízené epigeneticky.



Main epigenetic (non-genotoxic) mechanisms involved in carcinogenesis