

# ROLE PROTEOGLYKANŮ VE TKÁNÍCH

aneb

**VŠE, CO JSTE CHTĚLI VĚDĚT O PROTEOGLYKANECH,  
ALE BÁLI JSTE SE ZEPTAT**

Lucie Prachařová

Jiří Smutný

Zdeněk Ručka

# PROTEOGLYKANY (PG)

Glykoproteiny vyskytující se volně v ECM, navázané na buněčném povrchu a v intracelulárních váčcích.

- Proteinové jádro (serin – glycin): OH skupina serinu váže xylosu
- Trisacharidová spojka: xylosa – galaktosa – galaktosa
- Glykosaminoglykanový řetězec: nevětvený, vysokomolekulární, složený z disacharidových jednotek

Heparan sulfát (HS):

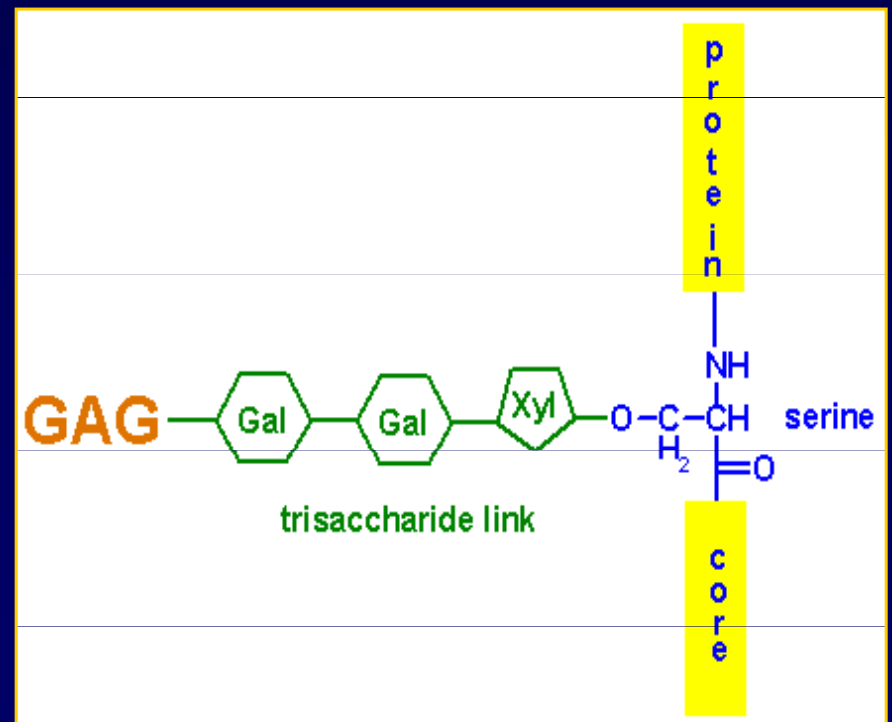
N-acetylglukosamin + glukuronová kys.

Chondroitin sulfát (CS):

N-acetylgalaktosamin + glukuronová kys.

Dermatan sulfát (DS):

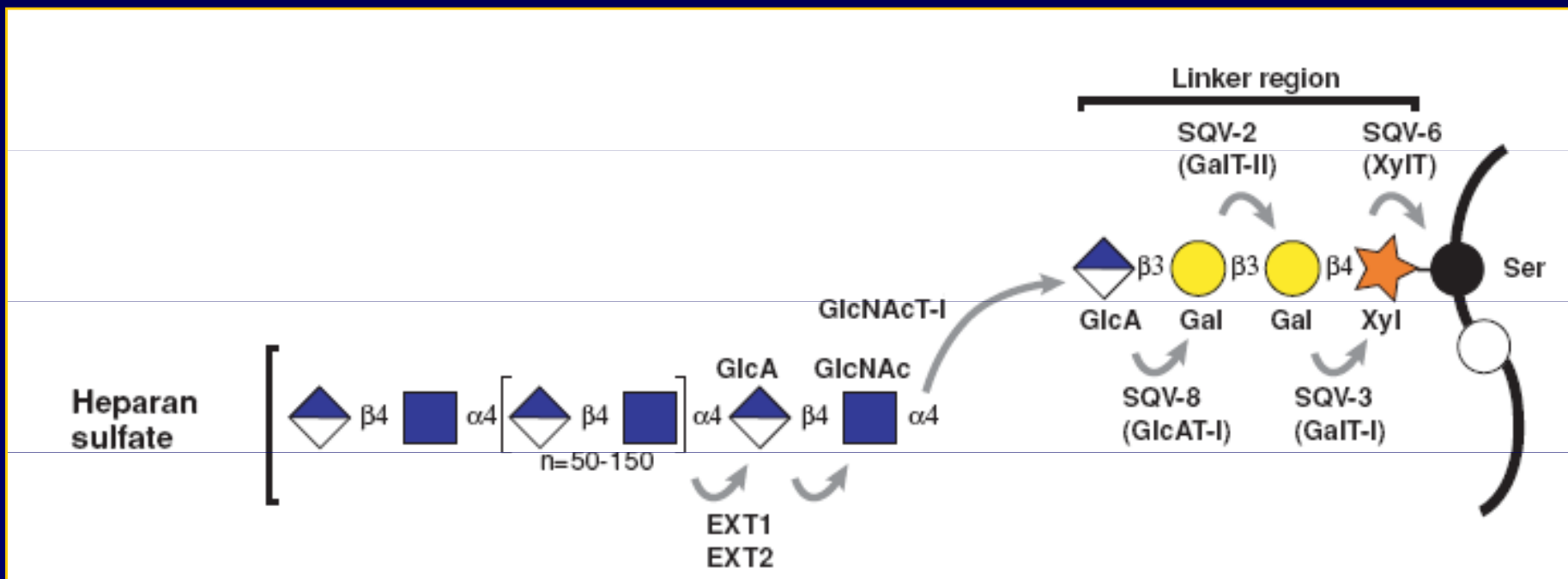
N-acetylgalaktosamin + induronová kys.



# BIOSYNTÉZA HEPARAN SULFÁT PROTEOGLYKANŮ

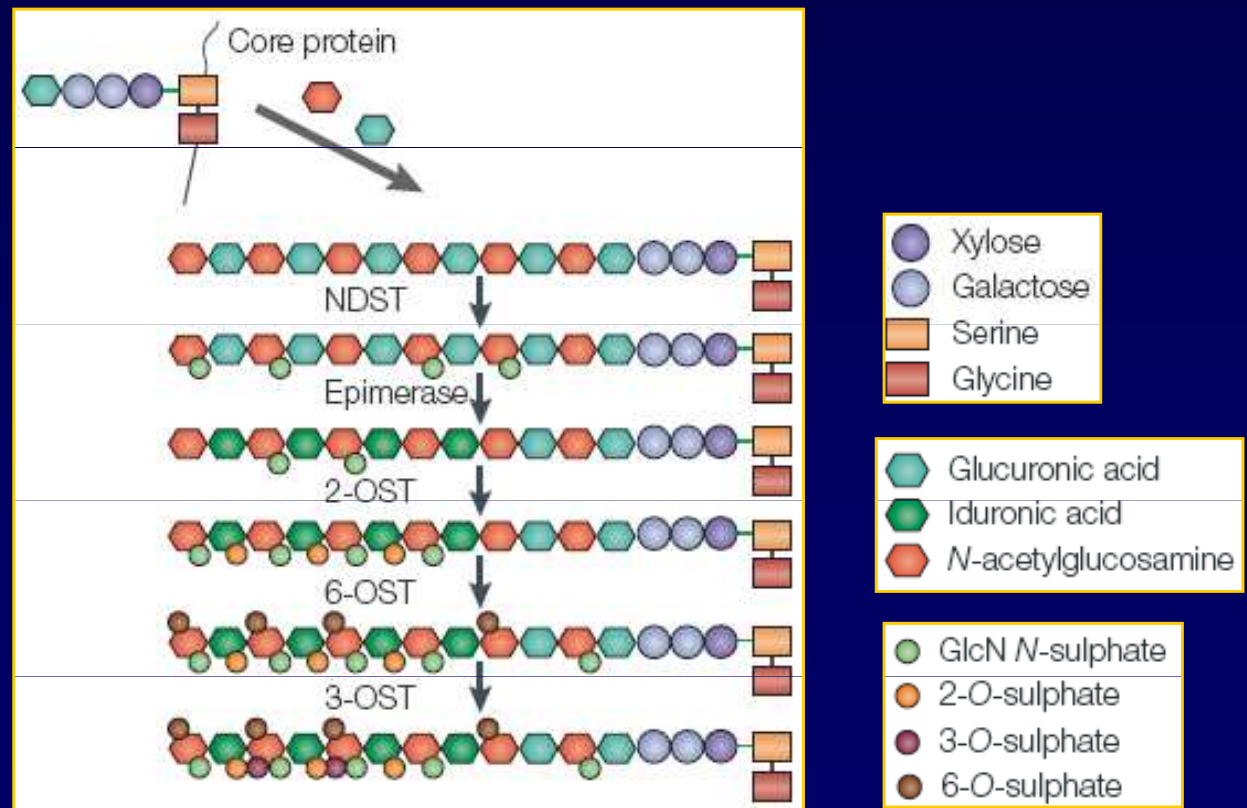
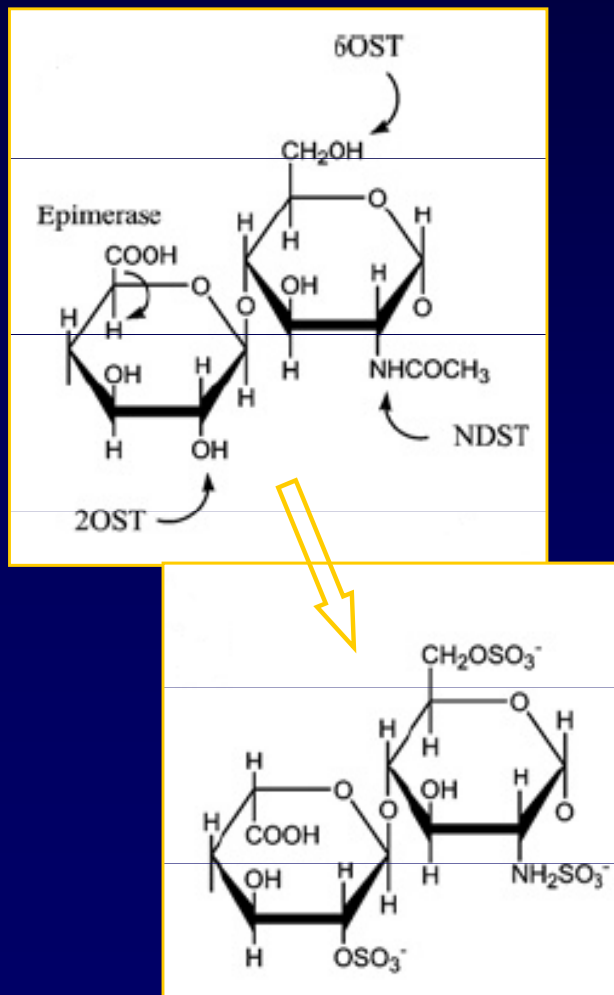
Třístupňový proces probíhající v Golgiho aparátu:

- I. Iniciace: připojení trisacharidového linku k OH skupině serinu (Xyl transferáza, Gal transferáza I-II) a následné připojení první glukuronové kyseliny (GlcA transferáza)
- II. Polymerace: zahrnuje postupné přidávání N-acetyl glukosaminu a glukuronové kyseliny (enzymy EXT rodiny). Vzniklý řetězec obsahuje 50 – 150 disacharidových jednotek.



# BIOSYNTÉZA HEPARAN SULFÁT PROTEOGLYKANŮ

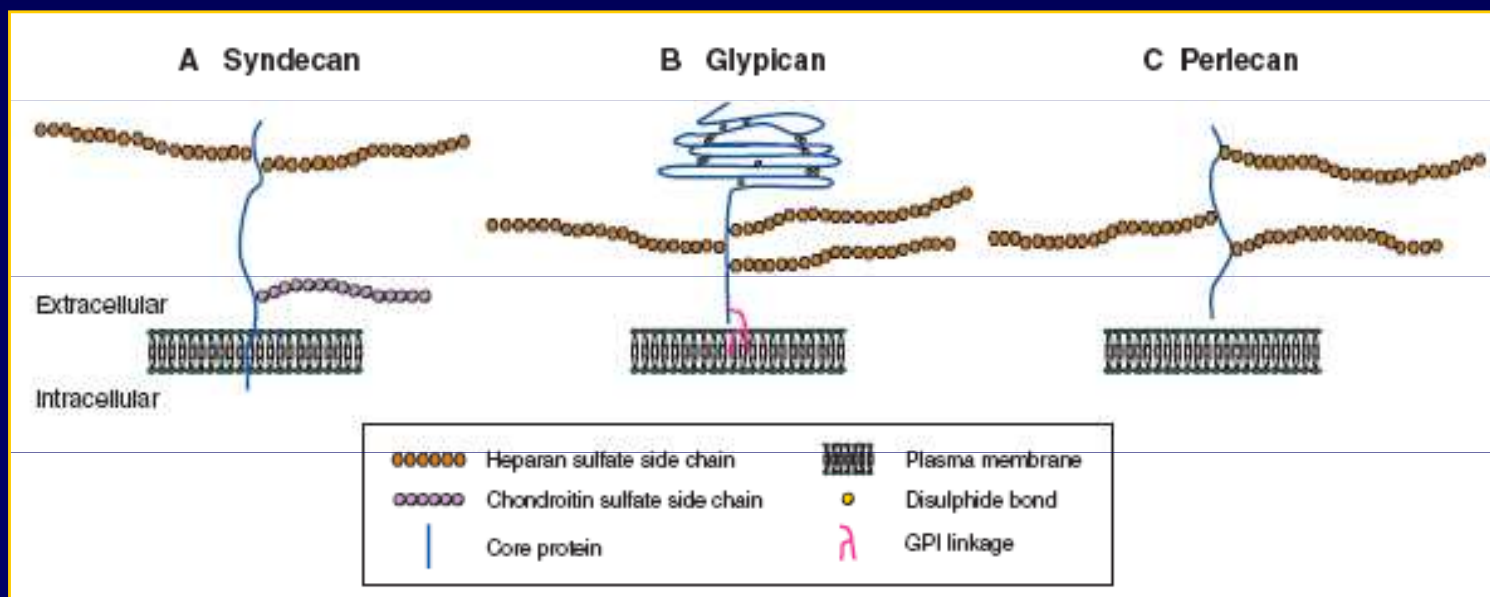
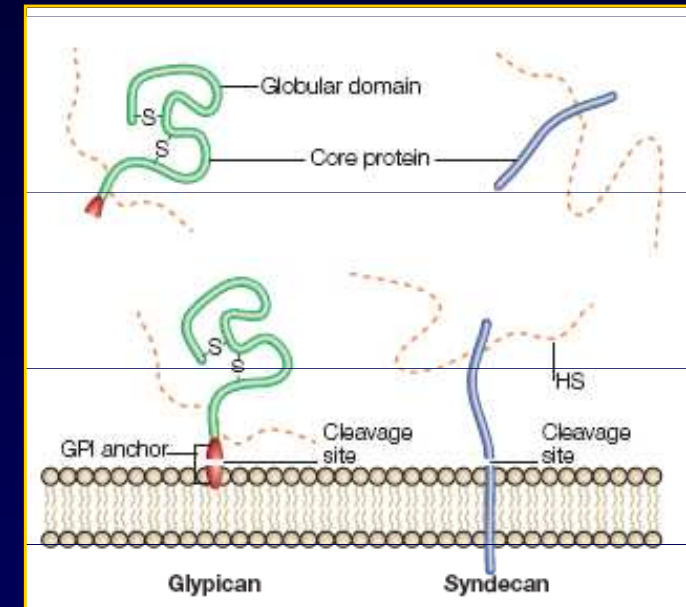
- III. Modifikace:
- a) glukuronová kys.  $\longrightarrow$  iduronová kys. (C-5 epimerace)
    - $\longrightarrow$  sulfonace na C-2 (+  $\text{SO}_3^-$ )
  - b) N-acetylglukosamin  $\longrightarrow$  deacetylace aminoskup.
    - $\longrightarrow$  sulfonace na C-3, C-6



# HEPARANSULFÁT PROTEOGLYKAN (HSPG)

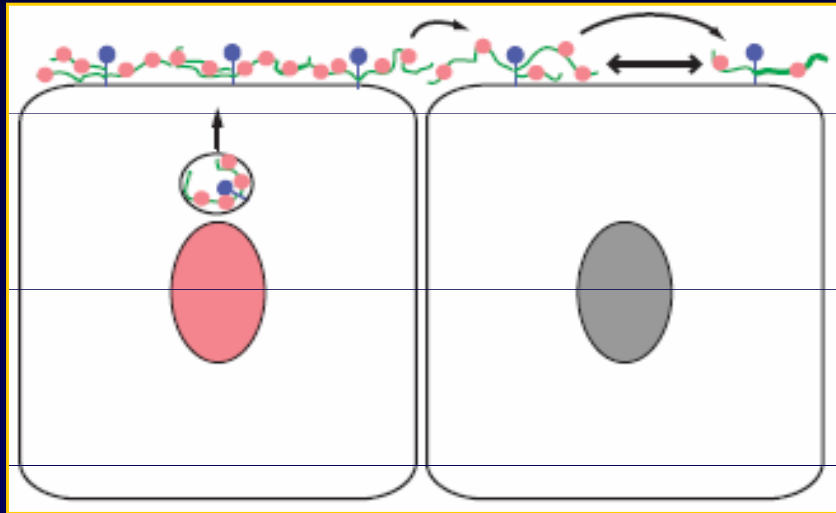
Podle proteinové struktury rozlišujeme III. typy HSPG:

- A) Syndecan: transmembránový protein, který může nést HS nebo CS řetězce
- B) Glypican: protein ukotvený v membráně přes glykosylfosfatidylinositolovou kotvu, který nese HS řetězce
- C) Perlecan: sekretovaný proteoglykan s HS řetězci, volně v ECM

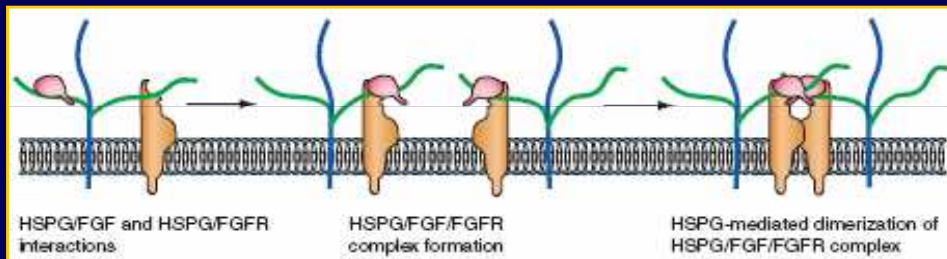
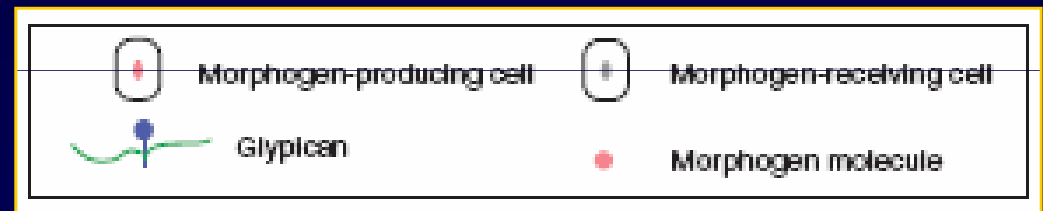


# HSPG A BUNĚČNÁ SIGNALIZACE

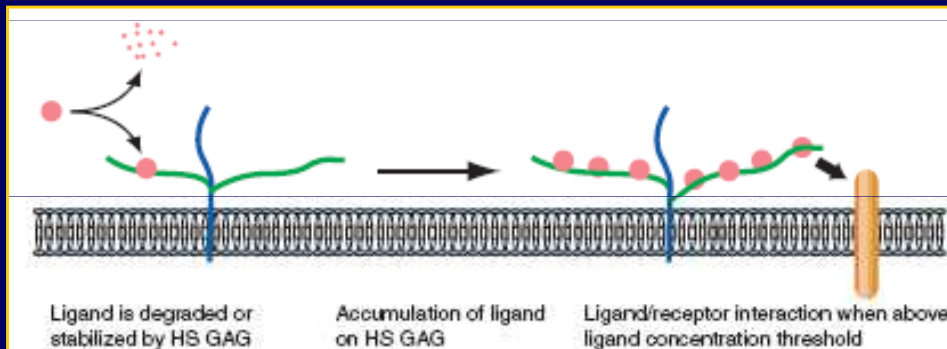
Vliv HSPG na buněčnou signalizaci spočívá ve vazbě morfoгенů (Hh, Wg, TGF- $\beta$ , FGF...) na HS řetězce.



HS řetězce umožňují přesun morfoгенů z jedné buňky na druhou – difúzní síly



Usnadňují vazbu morfoгенu na receptor

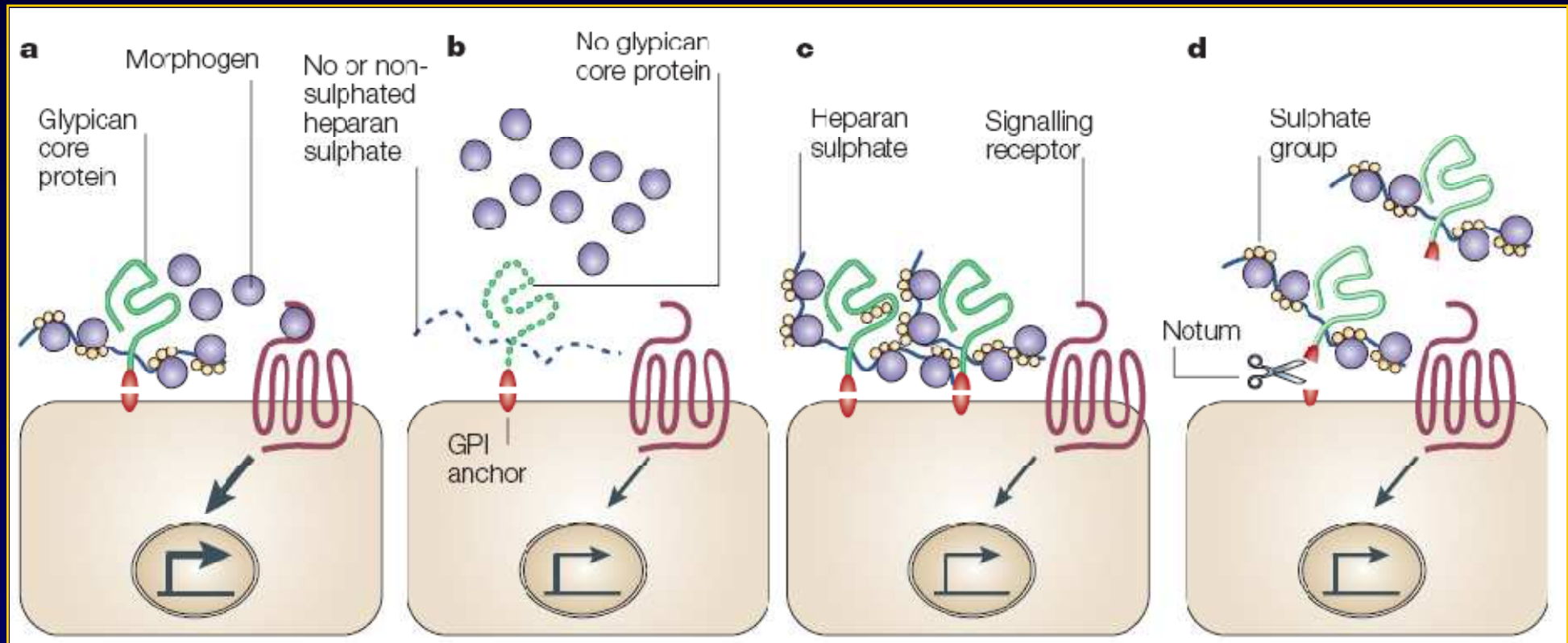


Mohou ovlivňovat koncentraci ligandu – navázaný ligand není degradován

# MORFOGENY

- Proteoglykany na základě své nízké afinity k morfogenu vytvářejí jejich **gradient**
- Např. v hedgehog dráze napomáhají udržovat gradient koncentrace morfogenu, čímž umožňují buňkám určit jejich polohu, na základě které formují složitější struktury (vývoj končetiny)

# PROTEOGLYKANY V SIGNÁLNÍCH DRAHÁCH BUŇKY





# ROZDÍLY V HLADINĚ EXPRESE PROTEOGLYKANŮ

## A) buňky netvoří proteoglykany

– ligand (morfogen) má funkci pouze v buňce, kterou je produkován (u mutanta drozofily)

## B) buňky tvoří proteoglykanů málo

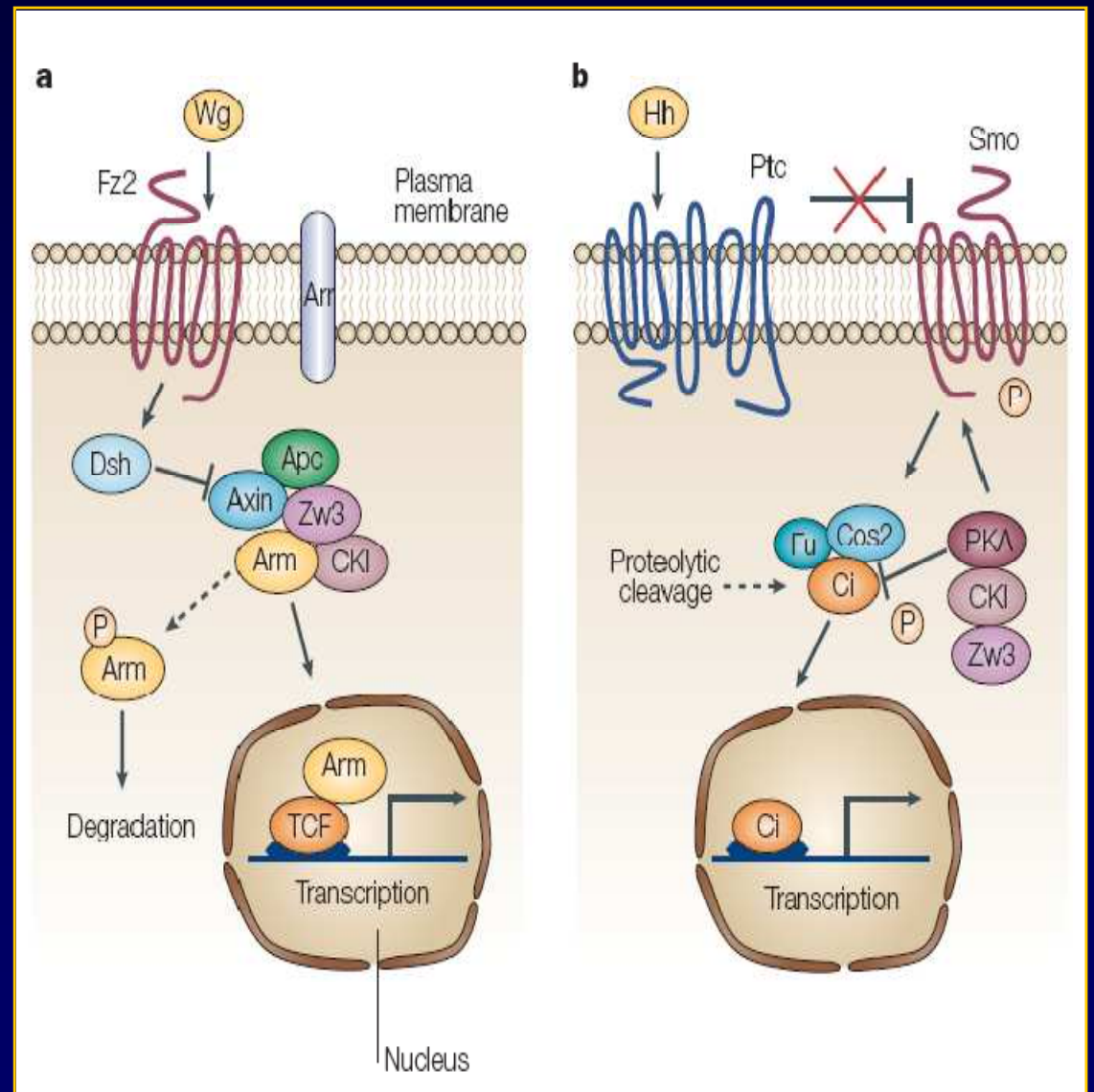
– ligand se přenáší na velkou vzdálenost, ale lokálně nedosahuje žádoucí koncentrace (hypomorfická alela – myš)

## C) buňky tvoří optimální množství proteoglykanů

– ligand se přenáší jen na vzdálenost 5-6 buněk, avšak dosahuje efektivní koncentrace

# FUNKCE PROTEOGLYKANŮ V HEDGEHOG A WINGLESS DRAHÁCH

- nejsou esenciální
- **zvyšují lokální koncentraci ligandu** - napomáhají jeho snazšímu zachycení na receptor



Core protein	Gene [species] <sup>a</sup>	<i>lof</i> <sup>b</sup> phenotype/syndrome	Reference(s)
<b>HS</b>			
Syndecan	Sdc1 [Mm]	Genetically interacts with Wnt-1	Alexander et al. 2000
	Sdc2 [Xl]	Left-right axis formation (dominant-negative experiments)	Kramer & Yost 2002
	Sdc3 [Mm]	Defects in feeding behavior	Reizes et al. 2001
	Sdc4 [Mm]	Delayed wound healing, degeneration of fetal blood vessels in the placenta	Echtermeyer et al. 2001, Ishiguro et al. 2001, Ishiguro et al. 2000a, Ishiguro et al. 2000b
	Sdc4 [Xl]	Convergent extension defects (knockdown experiments)	Muñoz et al. 2006
	<i>syndecan (sdc)</i> [Dm] <i>sdn-1</i> [Ce]	Axon guidance defects, defects in <i>Slit</i> distribution Specific neuronal/nonneuronal guidance/migration defects	Johnson et al. 2004, Steigemann et al. 2004 Minniti et al. 2004, Rhiner et al. 2005
Glypican	Gpc1 [Mm]	<i>lof</i> not reported	
	Gpc2 [Mm]	<i>lof</i> not reported	
	Gpc3 [Mm]	Developmental overgrowth	Cano-Gauci et al. 1999
	GPC3 [Hs]	Simpson-Golabi-Behmel syndrome, type 1	Pilia et al. 1996
	Gpc4 [Mm]	<i>lof</i> not reported	
	Gpc5 [Mm]	<i>lof</i> not reported	
	Gpc6 [Mm]	<i>lof</i> not reported	
	<i>knypek</i> ( <i>gpl4/gpl6</i> ) [Dr]	Gastrulation (convergent extension) defects	Topczewski et al. 2001
	<i>dally (dly)</i> [Dm]	Defective division of neuronal precursor cells, impaired formation of morphogen gradients	Nakato et al. 1995
	<i>dally-like (dlp)</i> [Dm] <i>gpn-1</i> [Ce] <i>lon-2</i> [Ce]	Segment polarity defects, axonal guidance defects <i>lof</i> not reported <i>lof</i> not reported	Baeg et al. 2001, Rawson et al. 2005

# INTRACELULÁRNÍ PROTEOGLYKANY

- přítomny v **endosomech a cytoplazmatických granulích**
- vyskytují se u **hematopoetických buněk** (včetně žírných buněk, neutrofilů, cytotoxických T lymfocytů a eosinofilů), **endokrinních buněk, sekretujících buněk** v epitelech
- stejně jako u extracelulárních proteoglykanů se GAG řetězce se váží na serglycinové jádro proteoglykanu

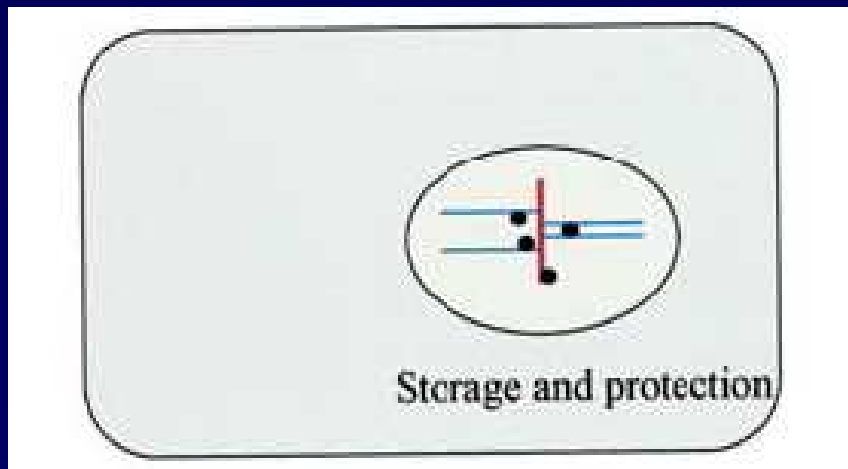
**Table 2 Storage granule cells expressing serglycin**

Cell type	Type of GAG	Other granule constituents
Platelets	Chondroitin sulphate	Platelet factor 4, von Willebrand factor
Natural killer cells	Chondroitin sulphate	Granzymes
Cytolytic T cells	Chondroitin sulphate	Granzymes
Polymorphonuclear leucocytes	Chondroitin sulphate	Gelatinase, lactoferrin, myeloperoxidase
Connective tissue mast cells	Heparin	Histamine, chymases, (mMCP-4,5), tryptases
Mucosal mast cells	Chondroitin sulphate	Histamine, chymases, (mMCP-1,2)
Endothelial cells	Chondroitin sulphate	Plasminogen activator (tissue type)
Pancreatic acinar cells	Chondroitin sulphate	Procarboxypeptidase, amylase

# FUNKCE GRANULÍ S PROTEOGLYKANY

## Skladování

- biologicky inertní lešení
- jejich záporný náboj pomáhá vázat kladně nabitě částice
- v žírných buňkách hrají nezastupitelnou roli při skladování a sekreci proteáz
- pravděpodobně hrají roli i při skladování trávicích enzymů v buňkách pankreatu



# FUNKCE GRANULÍ S PROTEOGLYKANY

## Sekrece

- okamžitá disociace PG: **histamin**
  - vyvolává otoky a zánětlivou reakci (alergie)
  - přítomen v žírných buňkách a bazofilech
  - uvnitř váčku je nízké pH - histamin je plně protonován
  - v extracelulárním prostředí je pH vyšší => po sekreci dochází k okamžité deprotonaci histaminu a jeho disociaci od PG
  - podobný mechanismus pozorován u myší proteázy MCP-7, perforinu

# FUNKCE GRANULÍ S PROTEOGLYKANY

## Sekrece

- stálá asociace s PG: **granzym B**
  - serinová proteáza určená k likvidaci napadených buněk
  - přítomen v cytotoxických T lymfocytech
  - i po sekreci je asociován s PG
  - podobný mechanismus pozorován u myeloperoxidázy (neutrofily), lysozymu (makrofágy), plicního surfaktantu (pneumocyty II. řádu), metaloproteinázy 9 (monocyty)

# FUNKCE GRANULÍ S PROTEOGLYKANY

## Modulace aktivity

- stálá asociace s heparinovým PG: **chymáza**
  - serinová proteáza podobná chymotrypsinu
  - přítomna v žírných buňkách
  - proteiny vázající heparin na sebe navážou PG i s chymázou => dojde k jejich okamžité proteolýze
  - přítomnost PG však nijak neovlivňuje vlastní enzymatickou aktivitu chymázy



# FUNKCE GRANULÍ S PROTEOGLYKANY

## Modulace aktivity

- asociace s heparinovým PG: **tryptáza**
  - serinová proteáza
  - přítomna v žírných buňkách
  - tvoří komplexy s PG
  - heparin v PG je nezbytný pro sestavení a stabilizaci tetrameru tryptázy
  - PG možná hraje roli i v aktivaci N-konce tryptázy

# FUNKCE GRANULÍ S PROTEOGLYKANY

## Ochranná funkce

- ochrana sekretujících buněk
  - PG pomáhají chránit vlastní buňky před účinky proteáz, které sekretují do prostředí
- ochrana proteáz mimo buňku
  - heparinové PG chrání chymázy, elastázy a katepsin G před plazmatickými inhibitory proteáz
  - zároveň však výrazně urychlují vazbu inhibitorů sekretovaných leukocyty
  - tyto specifické inhibitory využívají vazby na heparin v PG

# MINIMUM KE ZKOUŠCE

- **proteoglykan = protein, na kterém je navázaný variabilní polysacharidový řetězec**
- **lokálně zvyšují koncentraci ligandu, čímž nepřímo umožňují aktivaci signálních drah**
- **jsou součástí sekrečních granulí, které stabilizují**

# DĚKUJEME ZA POZORNOST



Počkej Karlíku, tím né... to se dělá sekyrkou!