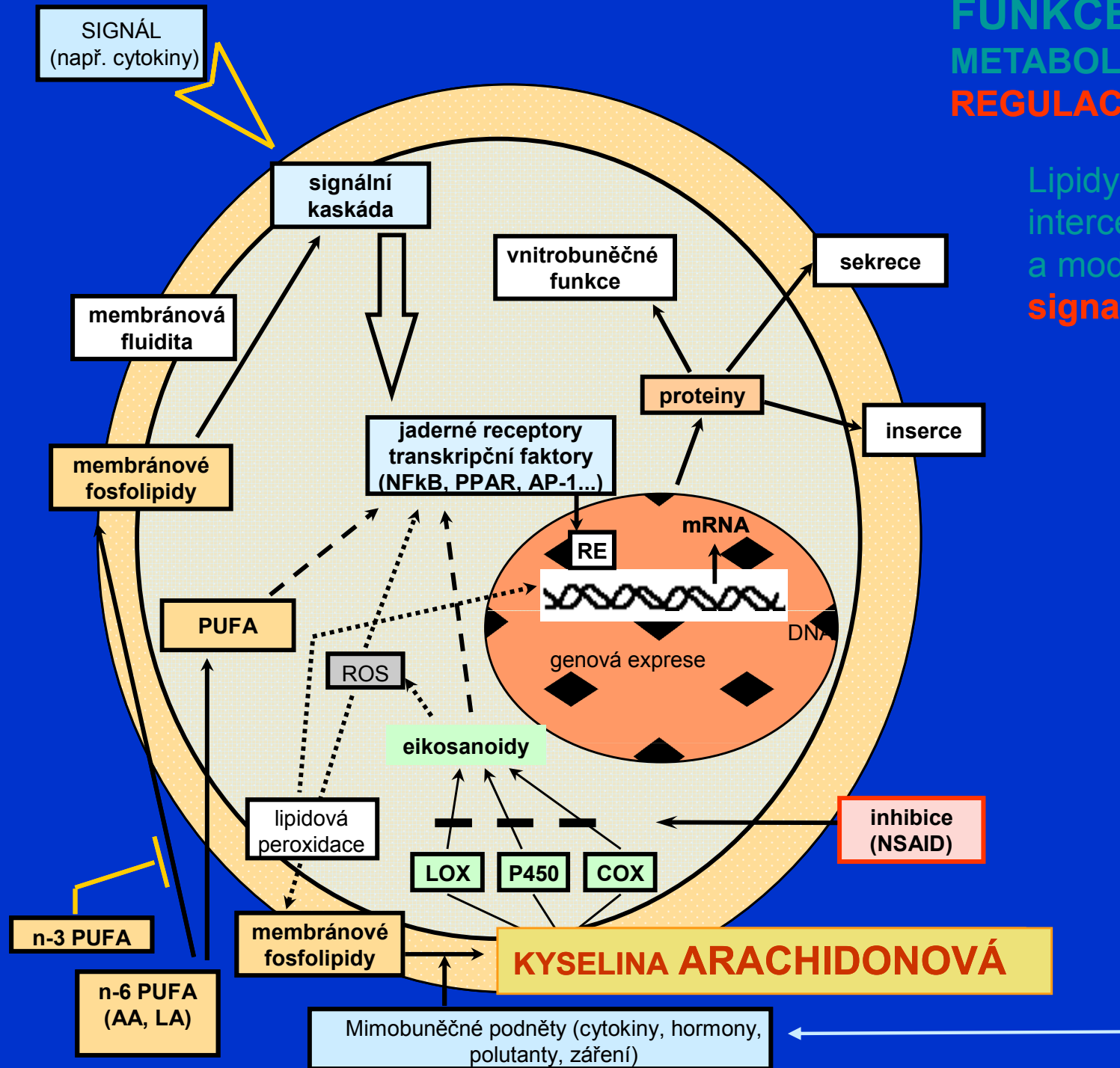


FUNKCE FOSFOLIPIDOVÉHO METABOLISMU V BUNĚČNÝCH REGULACÍCH:

Lipidy jako intercelulární **mediátory** a modulátory buněčné **signalizační sítě**



Škodlivé faktory
okolního prostředí,
škála stresorů

Transdukce (přenos) signálů

Představuje zákonitě koordinovanou souslednost reakcí (odvíjející se od specifické chemické struktury)

vedoucích od vnější plasmatické membrány (návazání regulátoru na tuto membránu anebo průchod regulátoru touto membránou) přes cytosol k jádru (expresi genetické informace).

Tohoto procesu se účastní řada regulátorů různé chemické povahy.

Výsledkem je zapezpečení všech fyziologických funkcí buněk a organismu včetně regulace cytokinetiky.

Jeden z principiálních rozdílů spočívá zejména v tom, zda má daný regulátor povahu

hydrofilní (lipofóbní)

anebo

Hyd(g)rofóbní (lipofilní)

The four families of small organic molecules in cells

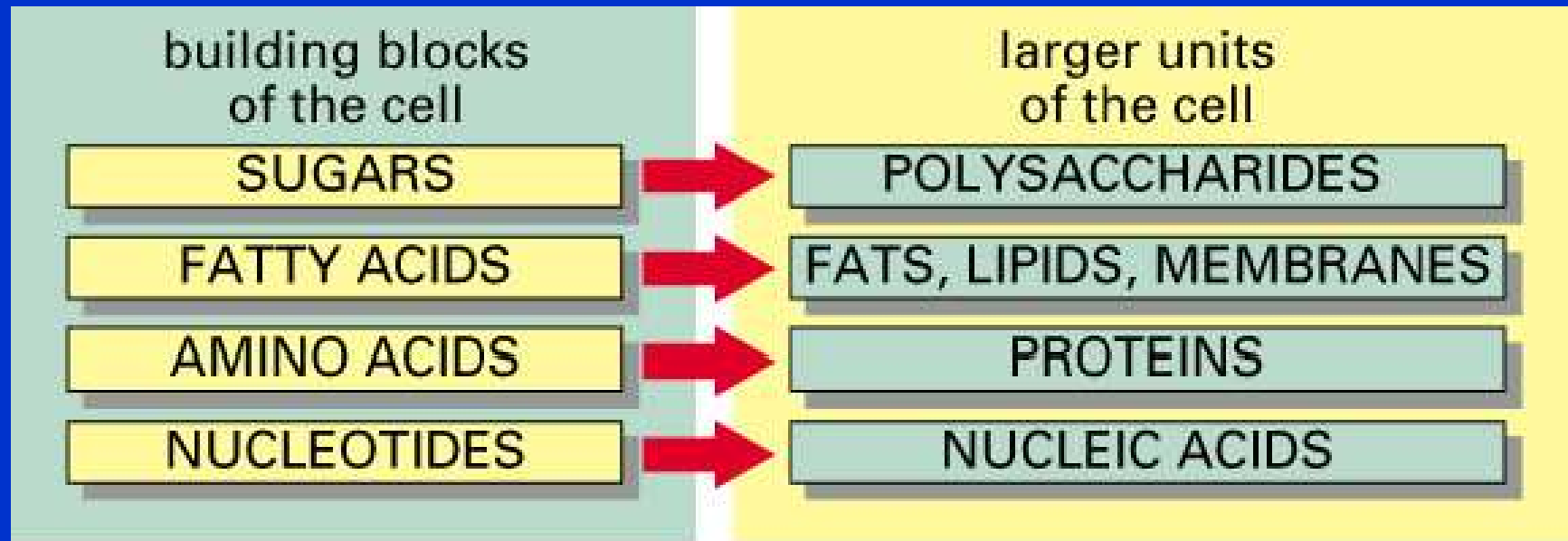


Figure 2-17. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

TABLE 2-3 The Approximate Chemical Composition of a Bacterial Cell

	PERCENT OF TOTAL CELL WEIGHT	NUMBER OF TYPES OF EACH MOLECULE
Water	70	1
Inorganic ions	1	20
Sugars and precursors	1	250
Amino acids and precursors	0.4	100
Nucleotides and precursors	0.4	100
Fatty acids and precursors	1	50
Other small molecules	0.2	~300
Macromolecules (proteins, nucleic acids, and polysaccharides)	26	~3000

Všechny hlavní komponenty spolupůsobí

A fatty acid

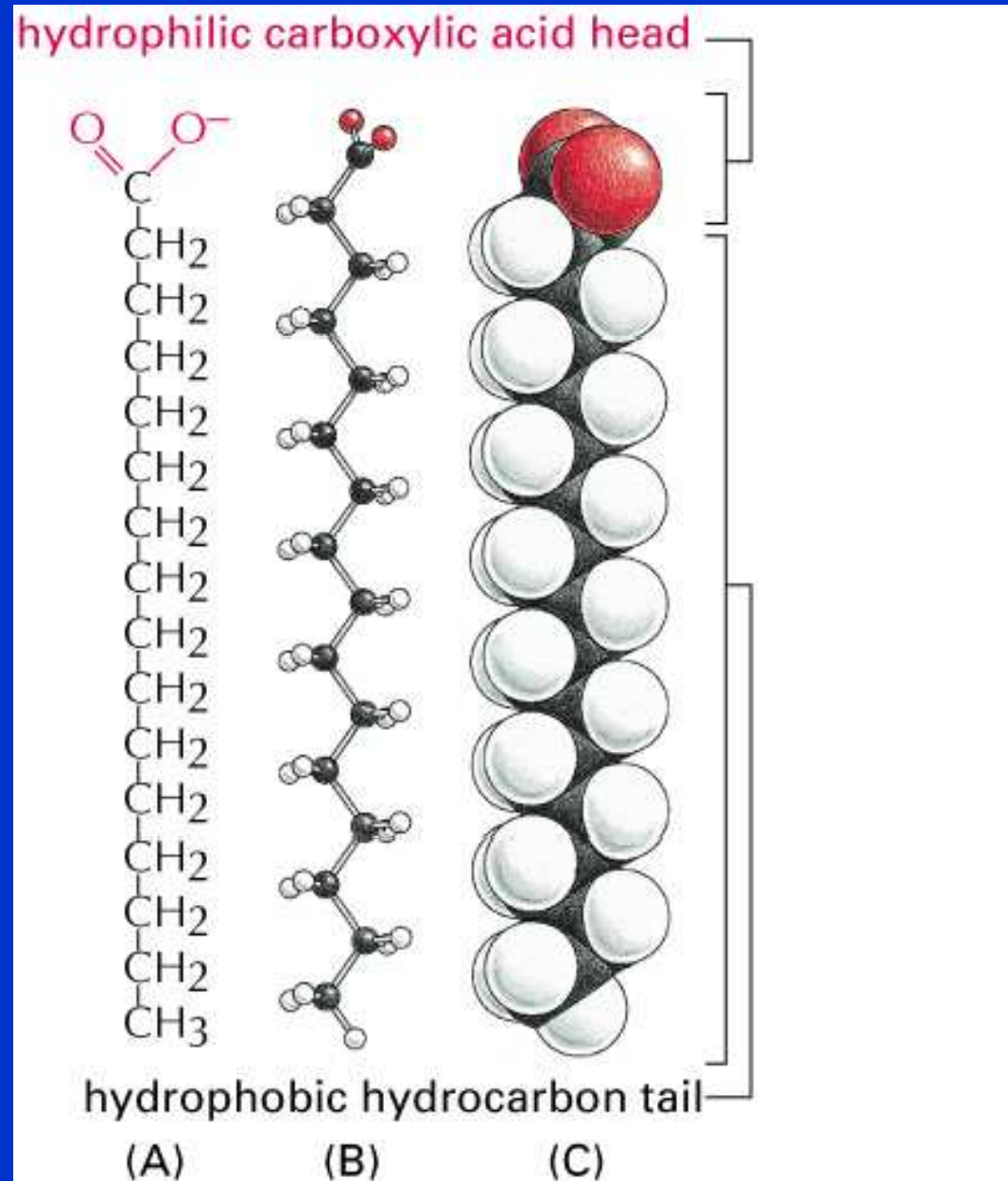
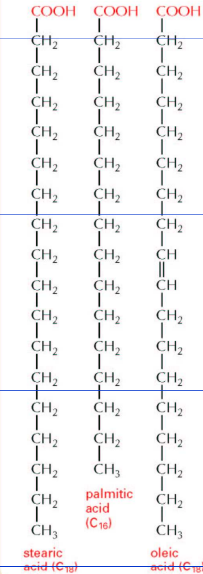


Figure 2-21. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

PANEL 2-5 Fatty Acids and Other Lipids

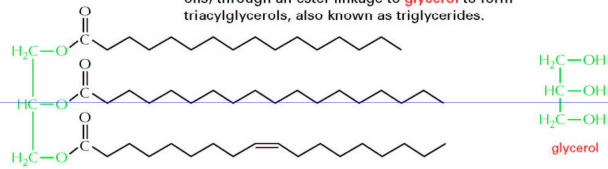
COMMON FATTY ACIDS

These are carboxylic acids with long hydrocarbon tails.

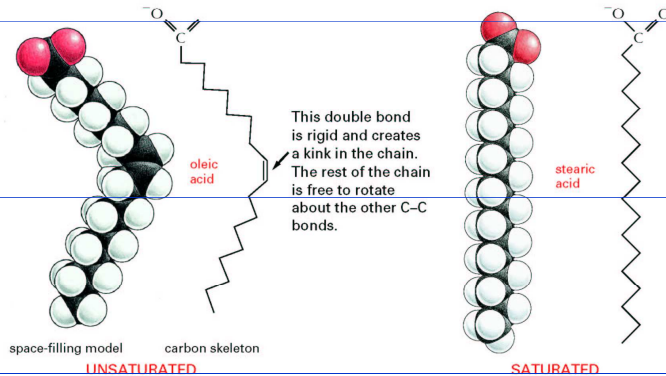


TRIACYLGLYCEROLS

Fatty acids are stored as an energy reserve (fats and oils) through an ester linkage to glycerol to form triacylglycerols, also known as triglycerides.



Hundreds of different kinds of fatty acids exist. Some have one or more double bonds in their hydrocarbon tail and are said to be **unsaturated**. Fatty acids with no double bonds are **saturated**.



CARBOXYL GROUP

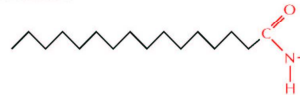
If free, the carboxyl group of a fatty acid will be ionized.



But more usually it is linked to other groups to form either **esters**

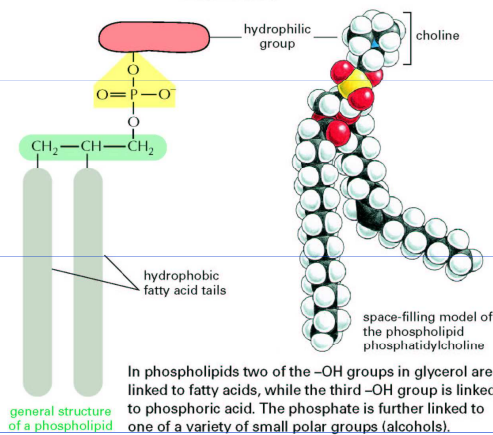


or **amides**.



PHOSPHOLIPIDS

Phospholipids are the major constituents of cell membranes



Phospholipid structure and the orientation of phospholipids in membrane

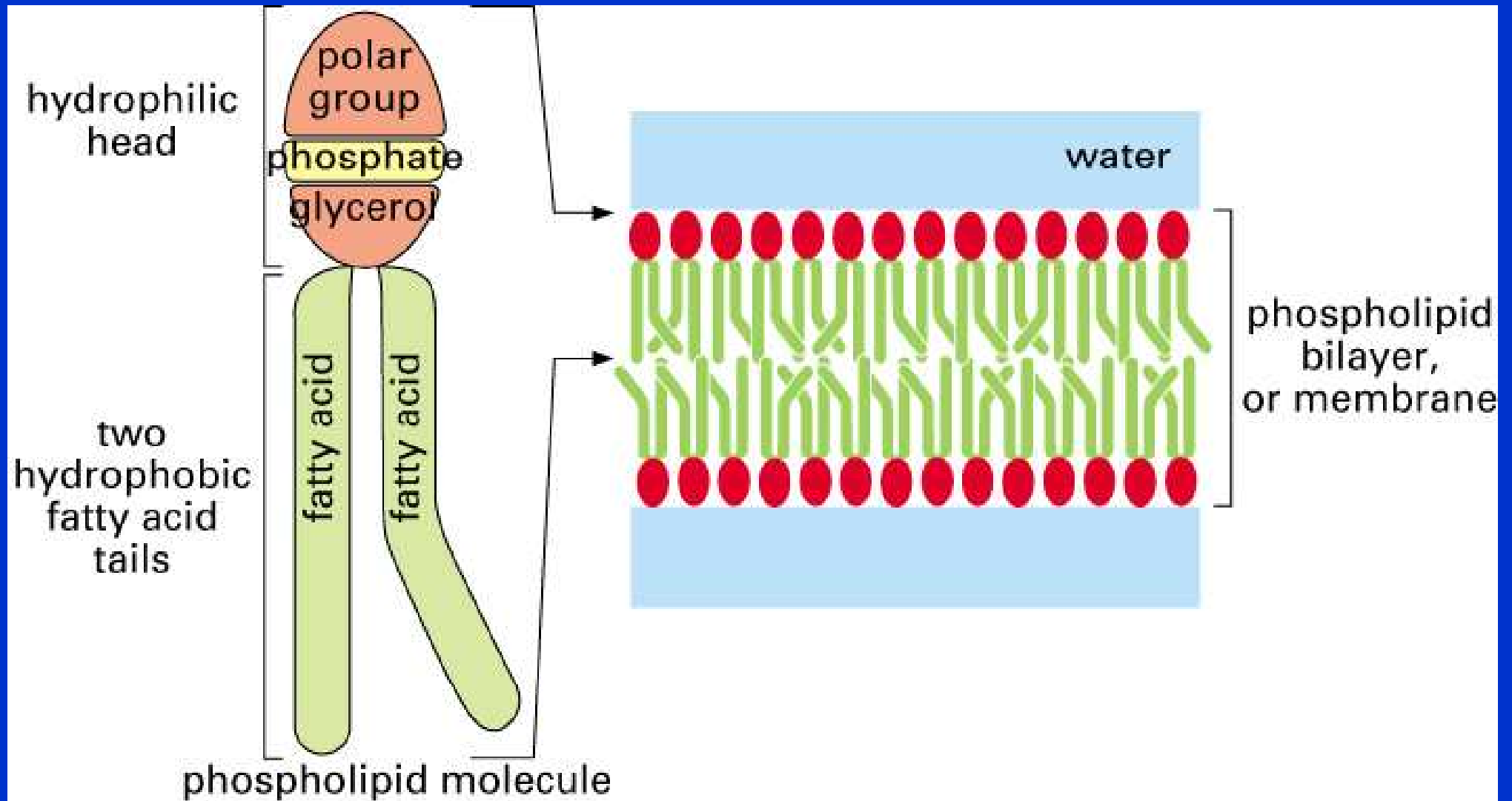
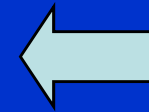


Figure 2-22. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

STRUKTURNÍ ÚLOHA FOSFOLIPIDŮ V BUŇKÁCH



**MEMBRÁNOVÉ
SYSTEMY
a buněčné
kompartmenty**

protientropické
důsledky



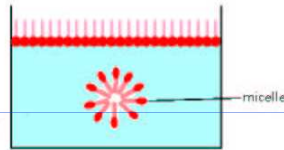
NEODDĚLITELNÁ OD BUNĚČNÝCH FUNKCÍ

LIPID AGGREGATES

Fatty acids have a hydrophilic head and a hydrophobic tail.



In water they can form a surface film or form small micelles.



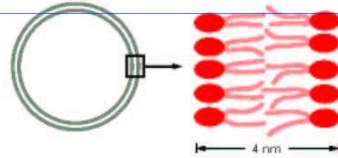
Their derivatives can form larger aggregates held together by hydrophobic forces:

Triglycerides can form large spherical fat droplets in the cell cytoplasm.



200 nm or more

Phospholipids and **glycolipids** form self-sealing lipid bilayers that are the basis for all cell membranes.



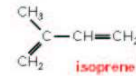
POLYISOPRENOIDS

long-chain polymers of isoprene



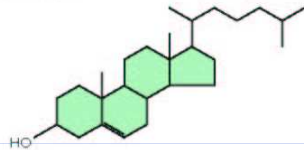
OTHER LIPIDS

Lipids are defined as the water-insoluble molecules in cells that are soluble in organic solvents. Two other common types of lipids are steroids and polyisoprenoids. Both are made from isoprene units.

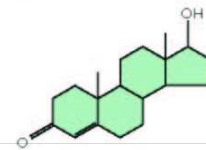


STEROIDS

Steroids have a common multiple-ring structure.



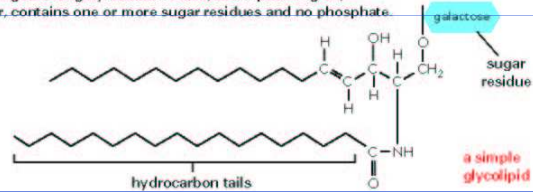
cholesterol—found in many membranes



testosterone—male steroid hormone

GLYCOLIPIDS

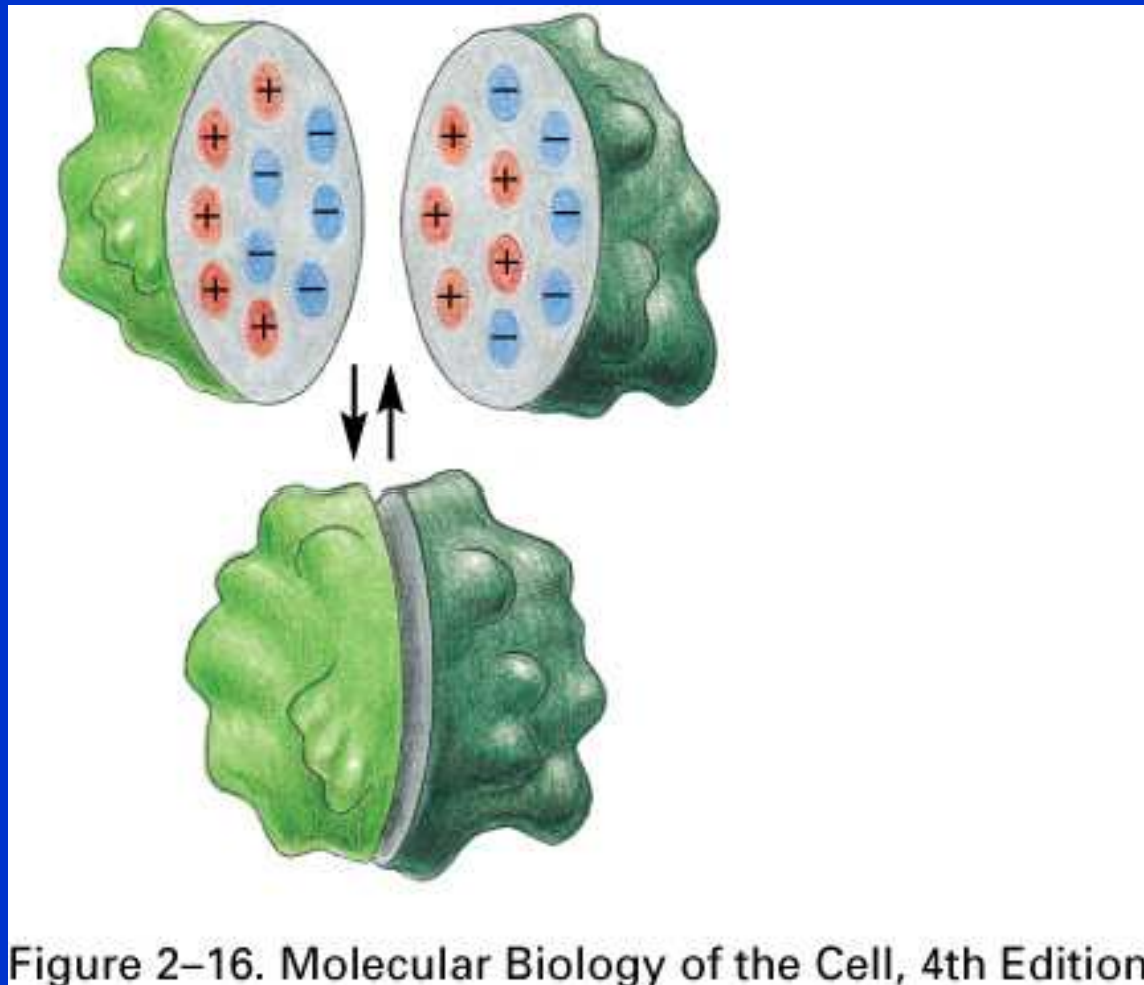
Like phospholipids, these compounds are composed of a hydrophobic region, containing two long hydrocarbon tails, and a polar region, which, however, contains one or more sugar residues and no phosphate.



a simple glycolipid

dolichol phosphate—used to carry activated sugars in the membrane-associated synthesis of glycoproteins and some polysaccharides

How two macromolecules with complementary surfaces can bind tightly to one another through noncovalent interactions



- Nejjednodušší způsob reakce
- Může však spolupůsobit celá škála chemických vazeb silné i slabé povahy a jejich kombinace

Figure 2-16. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Četné molekuly se štěpí, vstoupí-li do jejich struktury molekula vody při hydrolýze.

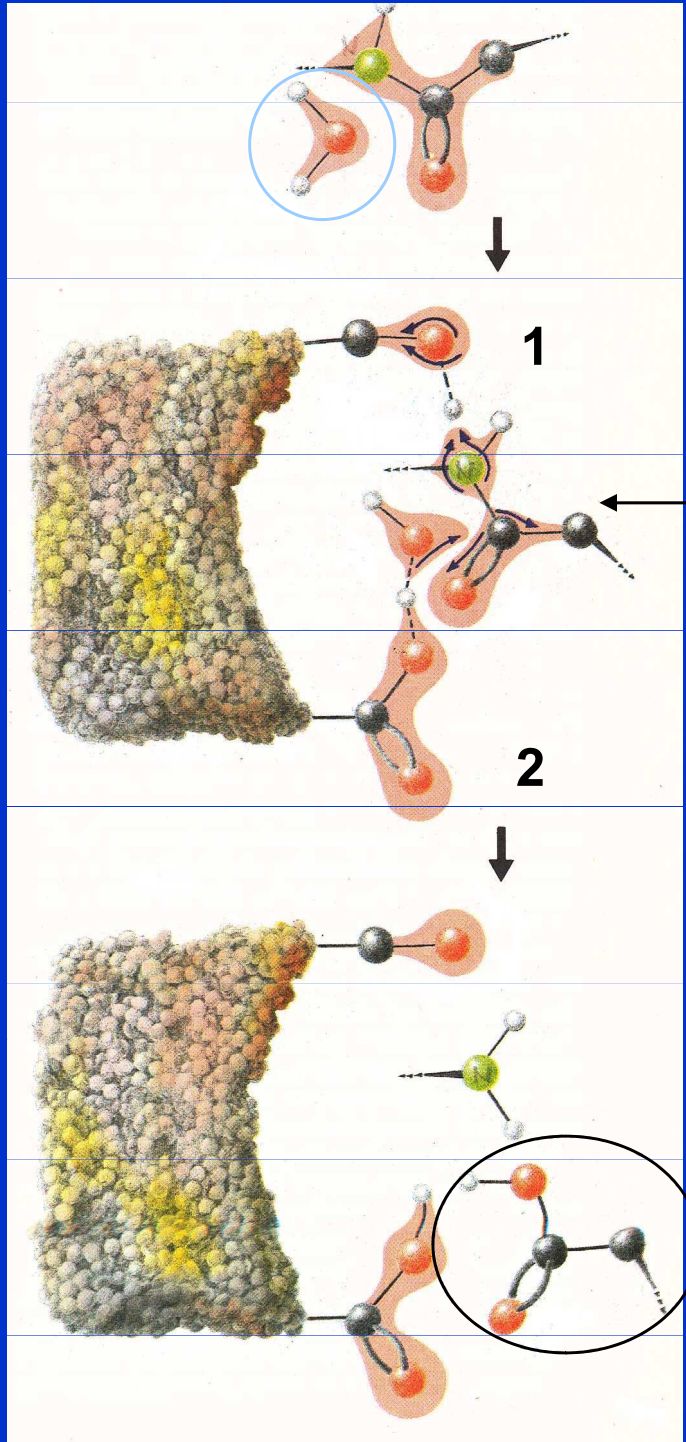
Jako příklad uvádíme hydrolýzu bílkoviny, kdy mezi atom **dusíku (zelený)** a uhlíku s vázaným **kyslíkem** vstoupí molekula **vody**. Vzniká tak aminoskupina a karboxyl. Chemicky takovou reakci zaznamenáváme:
$$-\text{NH}-\text{CO}- + \text{H}_2\text{O} = -\text{NH}_2 + -\text{COOH}$$

Samovolná reakce by probíhala velmi pomalu. **Katalyzátor** ji urychluje působením na elektronové oblaky (růžová).

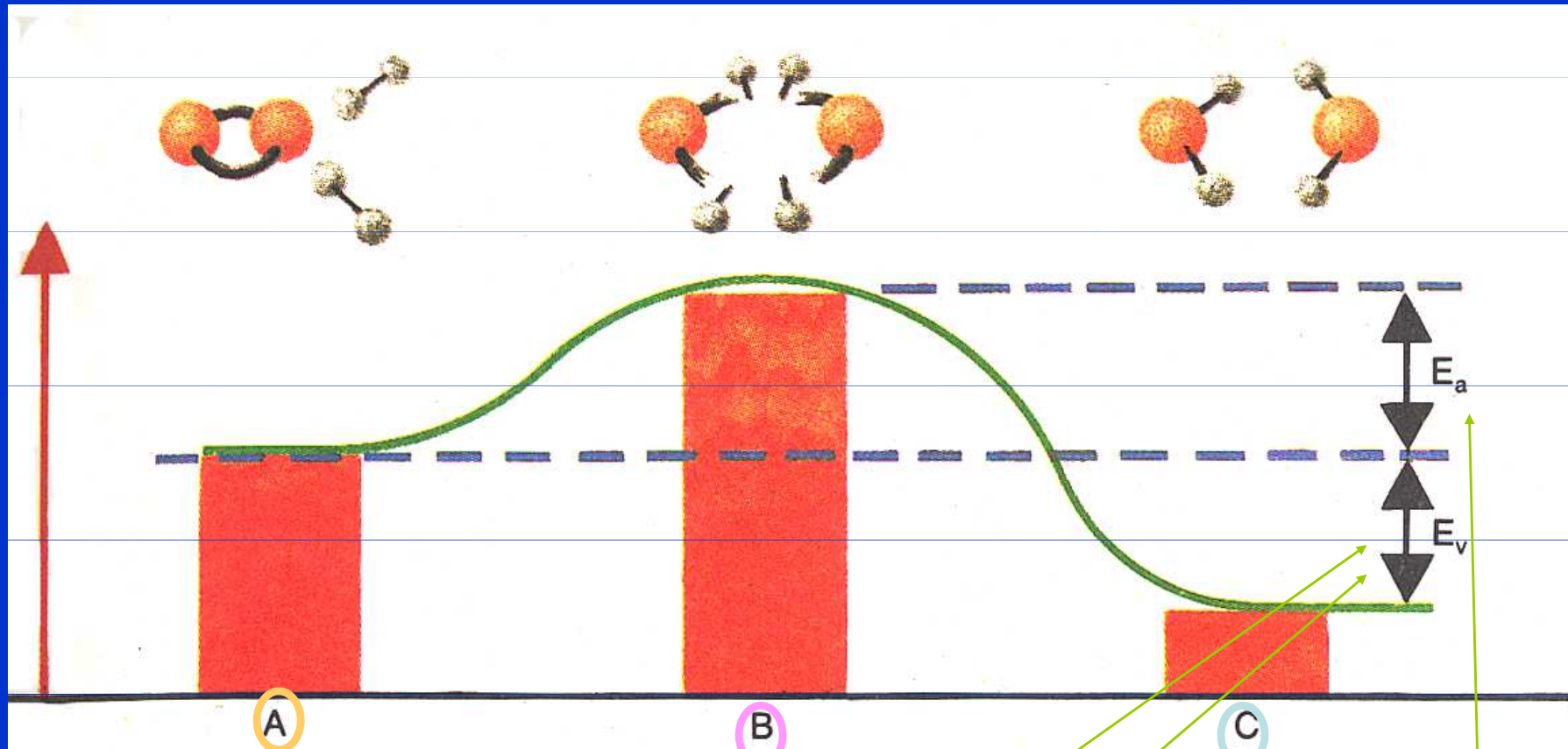
Elektrony se vzájemně odpuzují, zatímco kladně nabitě atomy (protony) je přitahují.

Šipky naznačují, jak katalyzátor svými dvěma funkčními skupinami (1,2) vyvolá pohyb elektronů, čímž se oslabí vazby mezi atomem dusíku a uhlíku, takže se přerouší.

Vlastní tělo katalyzátoru udržuje funkční skupiny v přesné poloze, nezbytné k vyvolání naznačených změn v elektronových oblacích štěpené vazby. „Umí“ však i leccos jiného, zejména „připoutat“ látku, která má být štěpena.



Chemické reakce, systémy a štěpení, nahodilost a zákonitost dějů



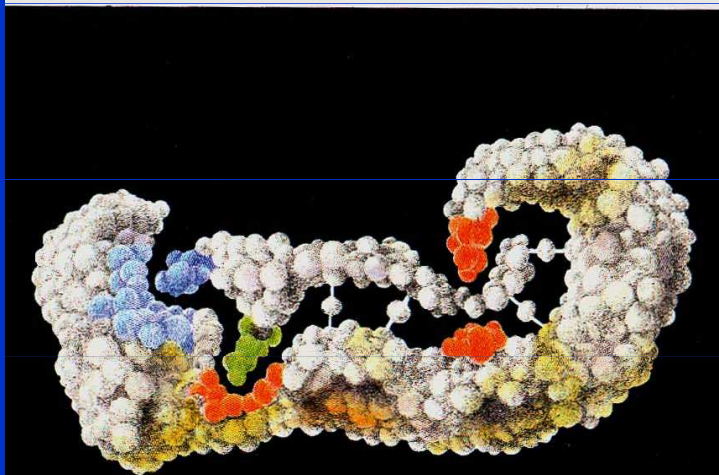
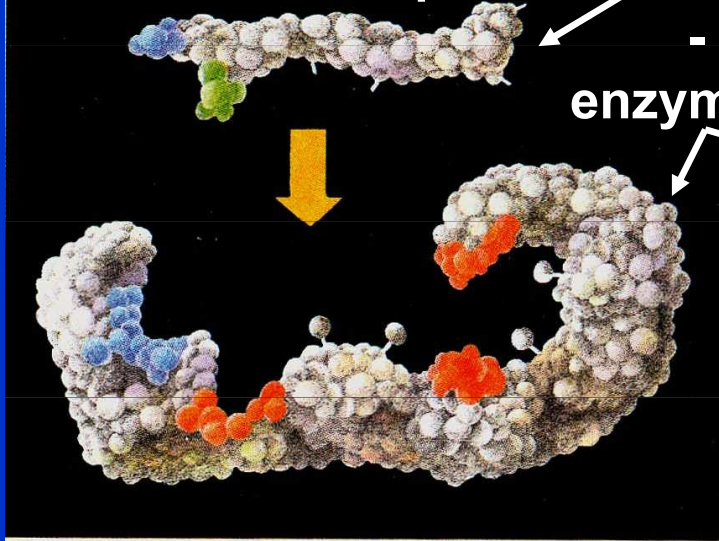
Stavy **A** a **C** se od sebe liší obsahem energie, který se může uvolnit jako volná energie E_v .

Přesto přeměna A – C neproběhne samovolně.

Musí projít stavem **B**, který má vyšší obsah energie než A.

Aby se mohla uvolnit volná energie E_v , musíme stavu A „půjčit“ energii E_a ; jen tak se dostane na mezistupeň B.

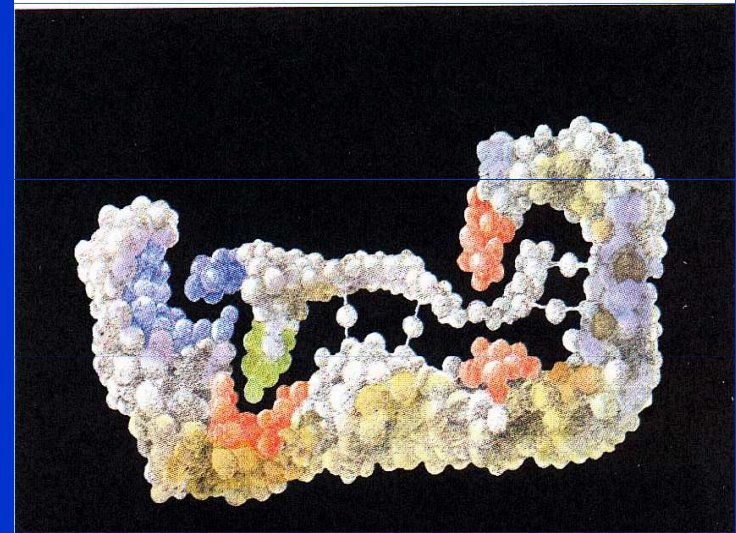
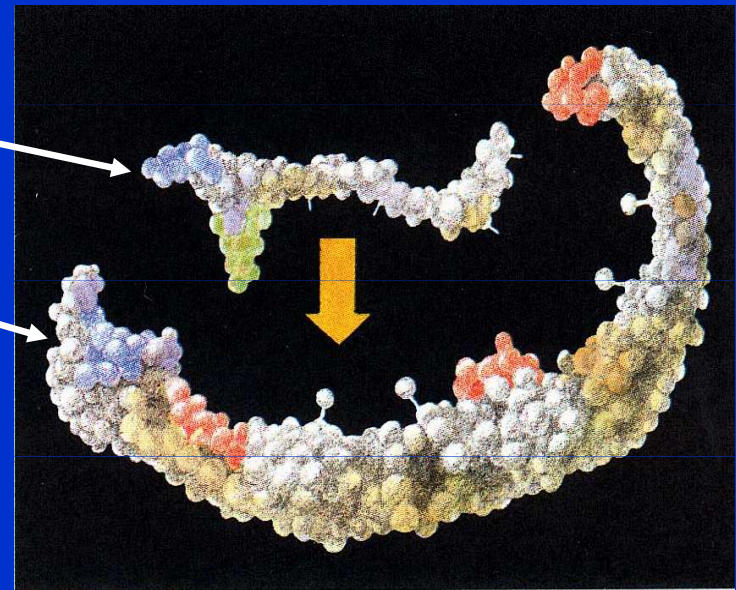
Jak vzniká komplex substrát



Substrát přesně zapadne do lůžka v molekule enzymu.

V tomto lůžku ho poutají různé typy sil:

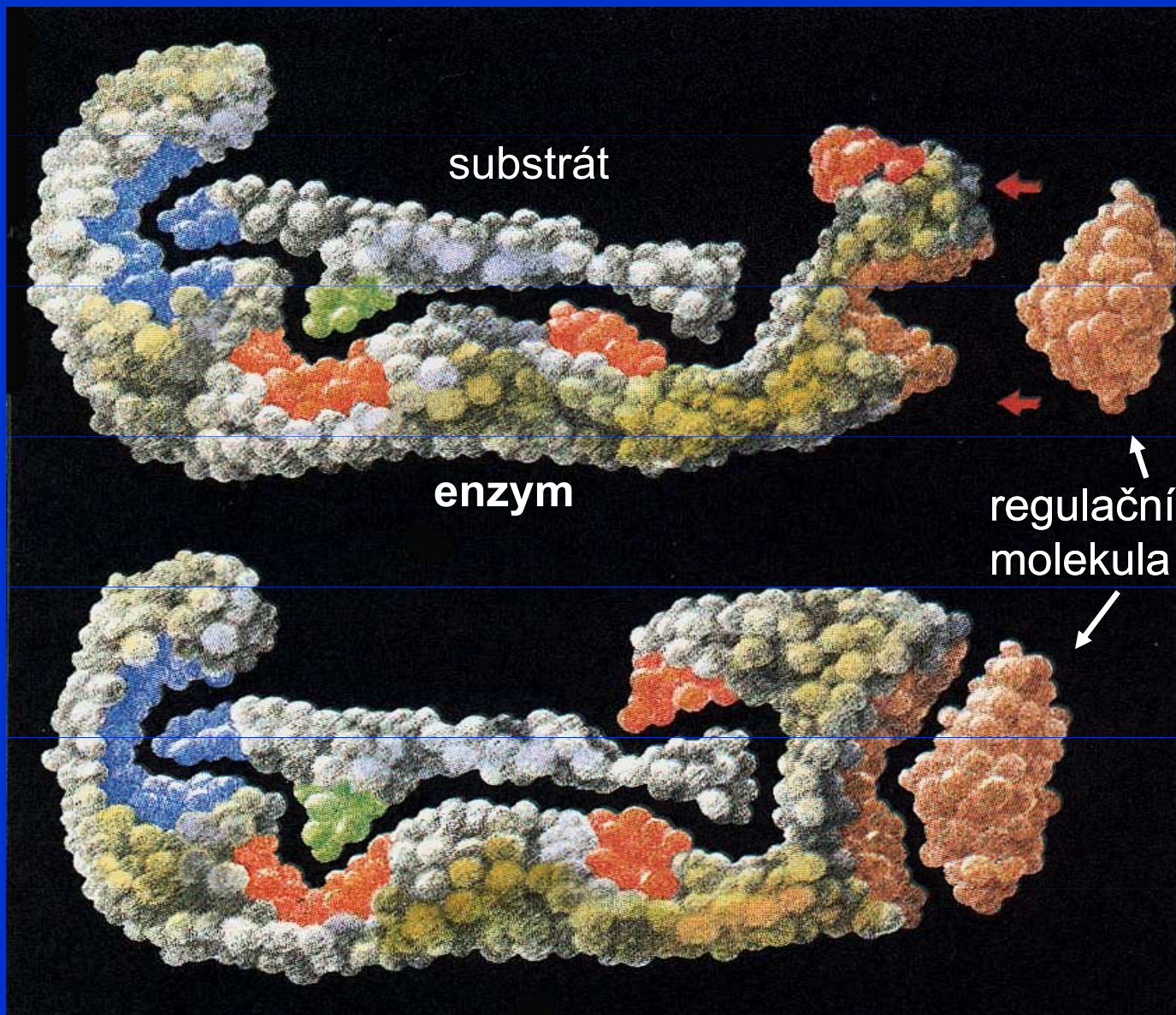
hydrofobní (modrá), přitahování opačně nabitých skupin (zelená v substrátu a červená v lůžku), vodíkové můstky. Štěpená vazba se tím dostane mezi „nůžky“ silně polárních skupin (např. karboxylů).



Při „vyvolaném přizpůsobení“ je enzym teprve domodelován silami, které poutají substrát

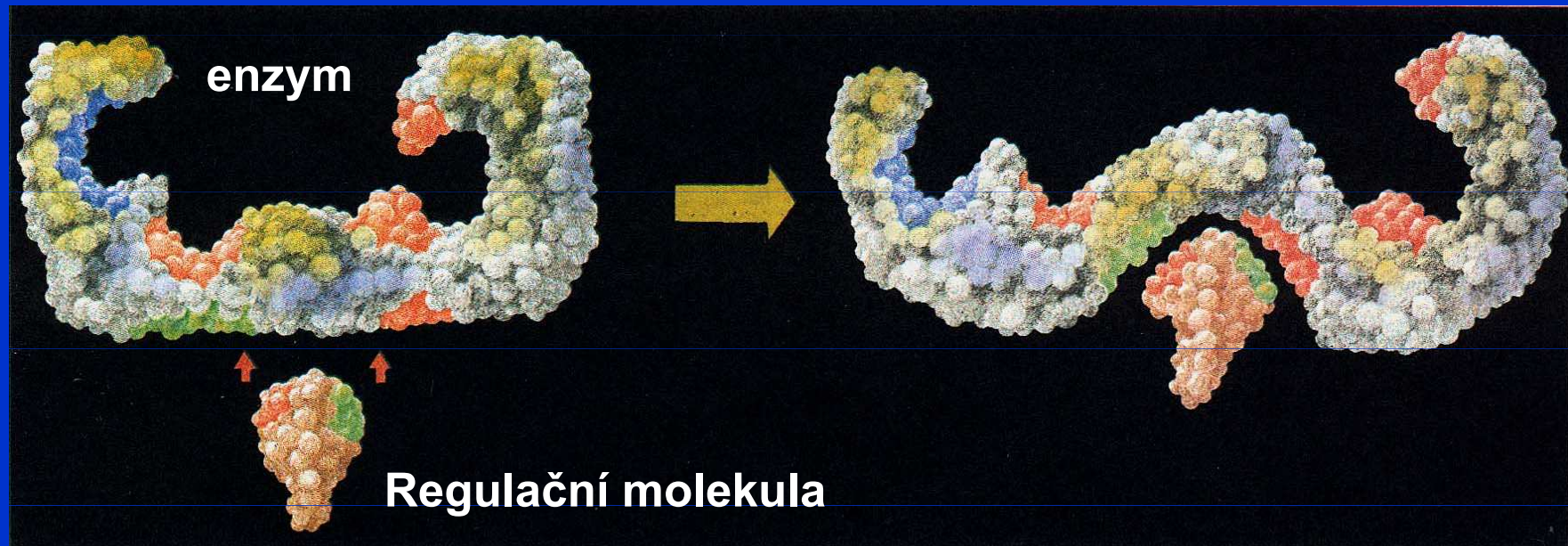
k jeho lůžku.

Alosterická aktivace enzymu.



*Enzym sám není schopen rozštěpit substrát,
neboť jeho molekula nemá správný tvar.*

*Teprve naváže-li se na jiné místo regulační molekula (hnědá zprava),
získá funkční formu.*

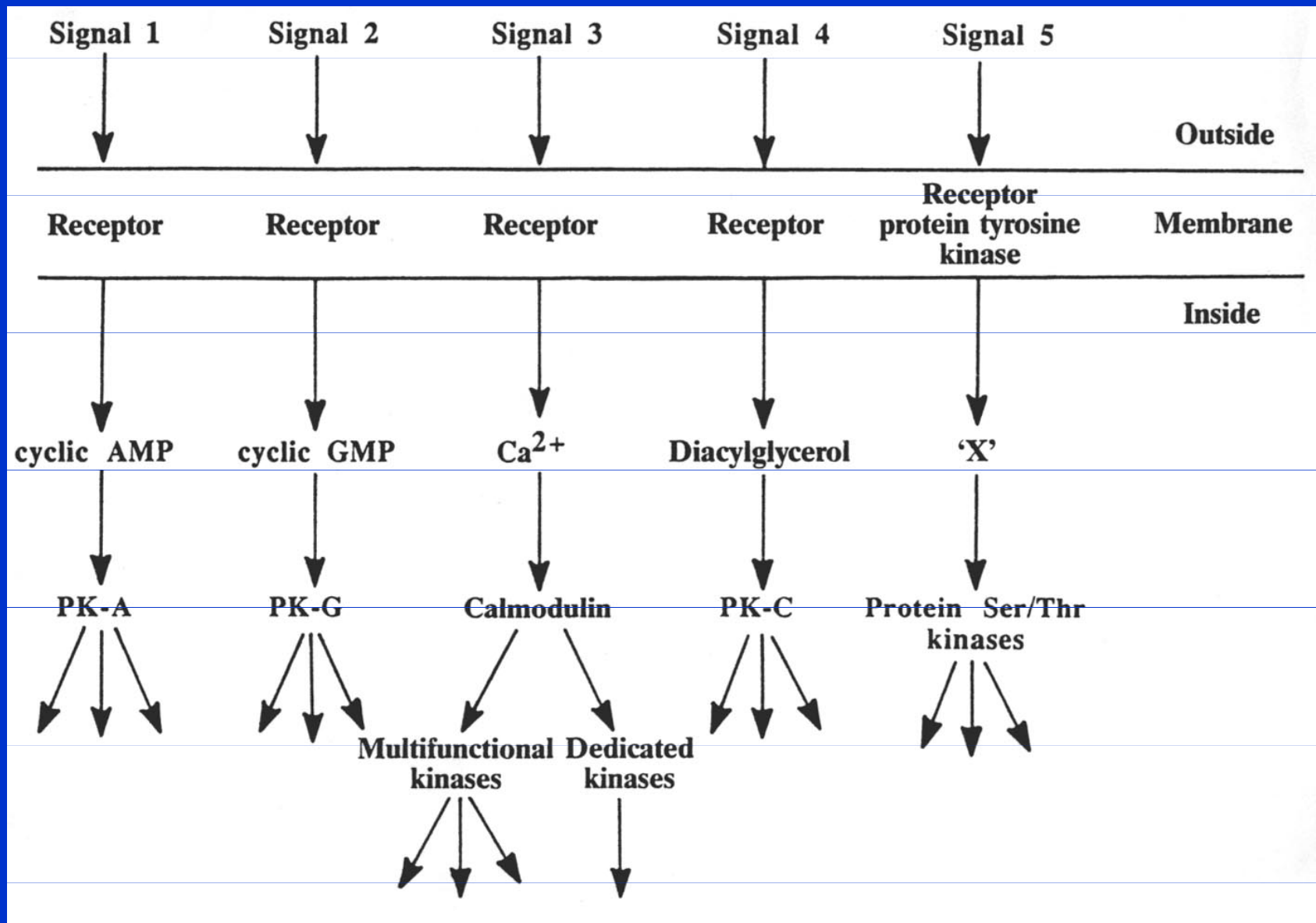


Alosterická inaktivace enzymu.

Regulační molekula se připojuje opět na jiném místě molekuly enzymu, než kam se váže substrát.

Tím se liší od pouhého blokování lůžka, které může způsobit látka podobná substrátu (soutěživá čili kompetitivní inhibice).

Alosterická inaktivace patří k regulačním pochodům. Může ji vyvolat jen zcela určitá látka, ta, která svými vlastnostmi přesně odpovídá místu, na které se váže.



P. Cohen: TIBS, 17 (10), 408 – 413, 1992

Five of the principal signalling systems that operate in eukaryotic cells

Five parallel intracellular signaling pathways activated by G-protein-linked receptors, receptor tyrosine kinases, or both

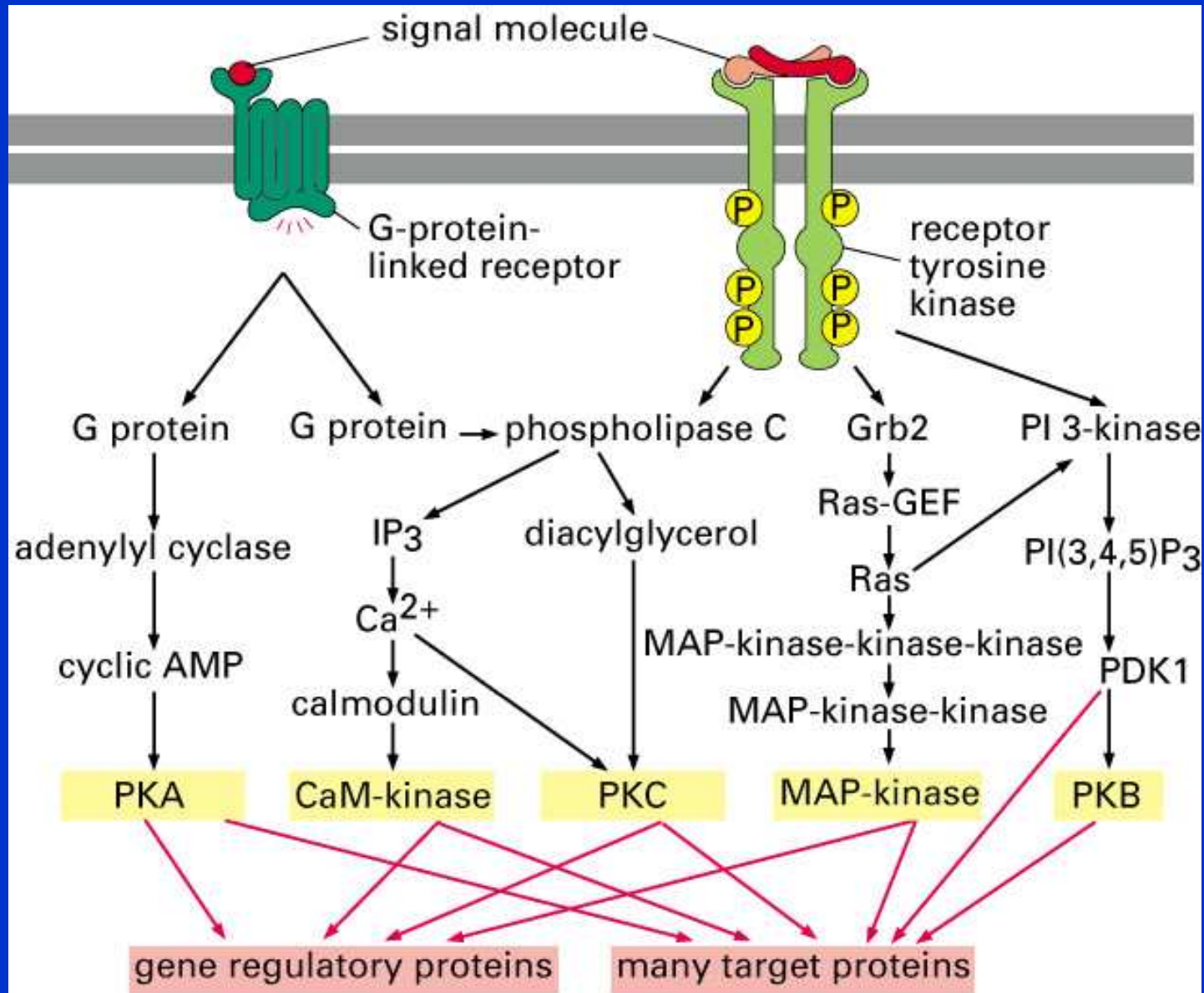


Figure 15-61. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

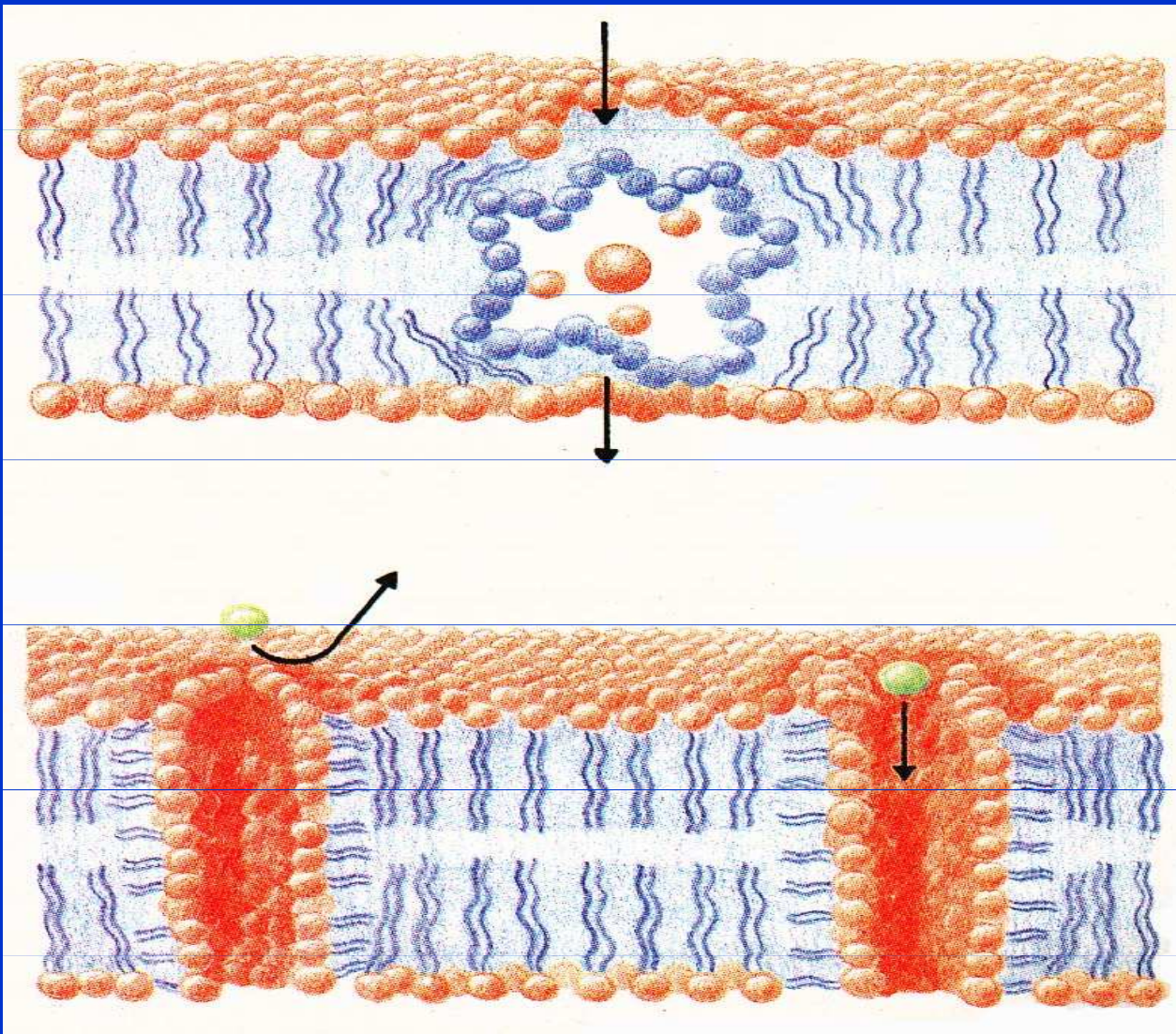
**Hlavní rozdíl v působení
mezi regulátory
hydrofilní (lipofóbní)
a
hydrofóbní (lipofilní)
povahy**

Jak procházejí látky membránami?

Polární látky (například ionty) jsou ve vodě obvykle obklopeny několika molekulami vody (hydratovány).

To znemožňuje jejich průchod hydrofobní mezivrstvou v membráně.

Když se však obalí hydrofobním pláštěm snadno přes membránu projdou.



Struktura membrány může však obsahovat některé funkční prvky, třeba kanálek (dole) s hydrofilním vnitřkem.

Kanálek může měnit svůj rozměr, a tím regulovat průchodnost látek.

Většinou však v roli regulátorů vystupují membránové bílkoviny.

Some signaling molecules that bind to nuclear receptors

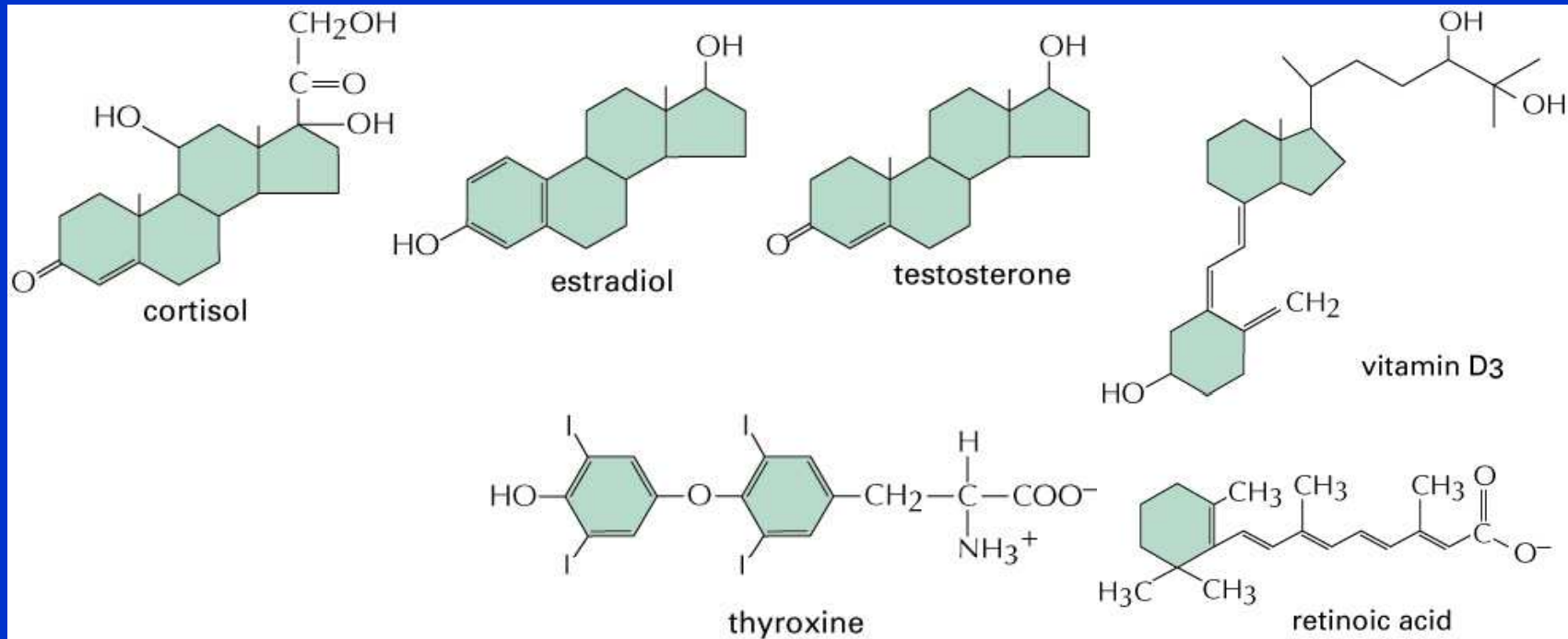
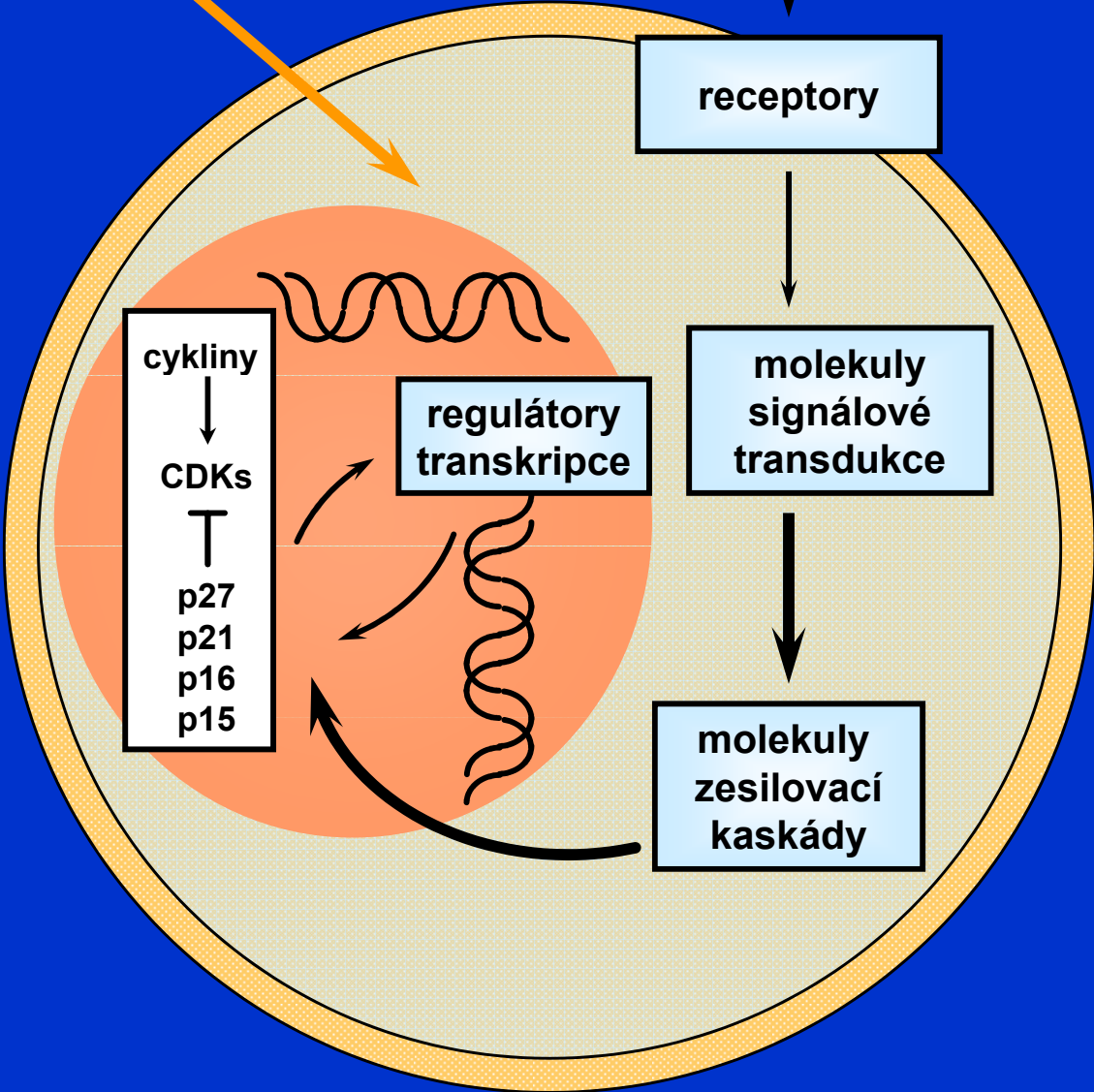


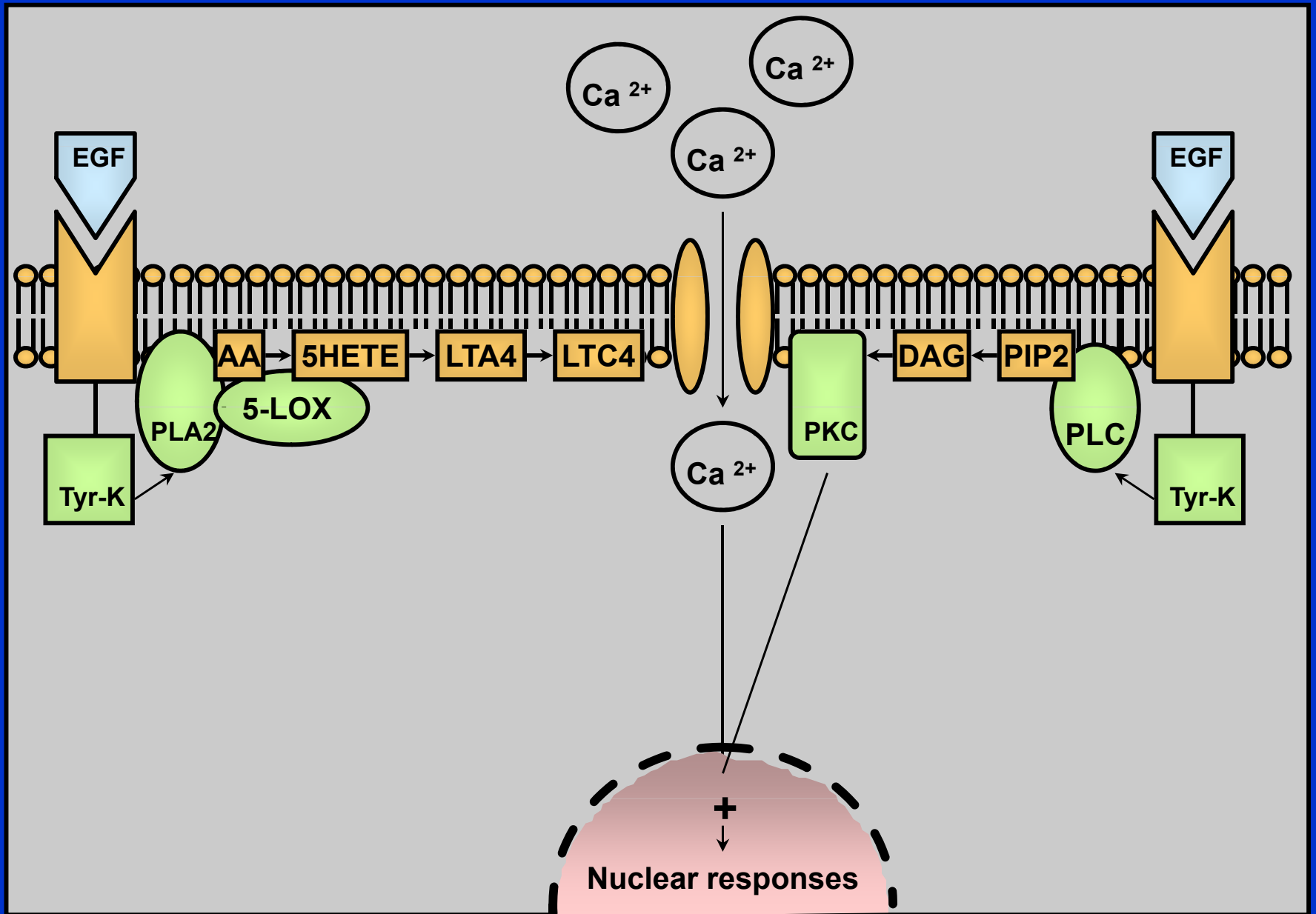
Figure 15-12 part 1 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Lipofilní regulátory

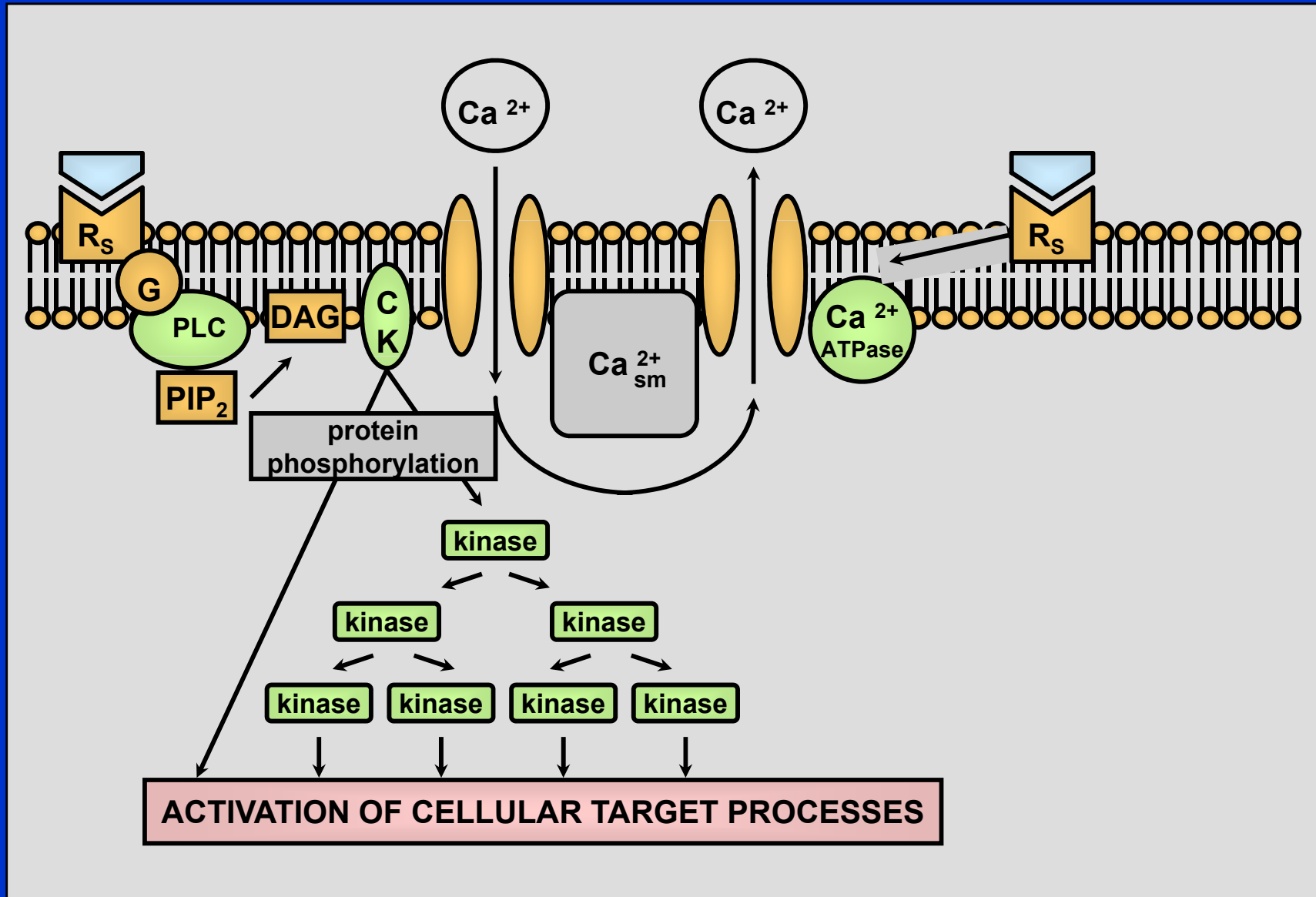
růstové signály
hydrofilní povahy
(proteiny, katecholaminy, apod.)



**změna konformace
na úrovni membrán
a cytosolu
- příklady -**

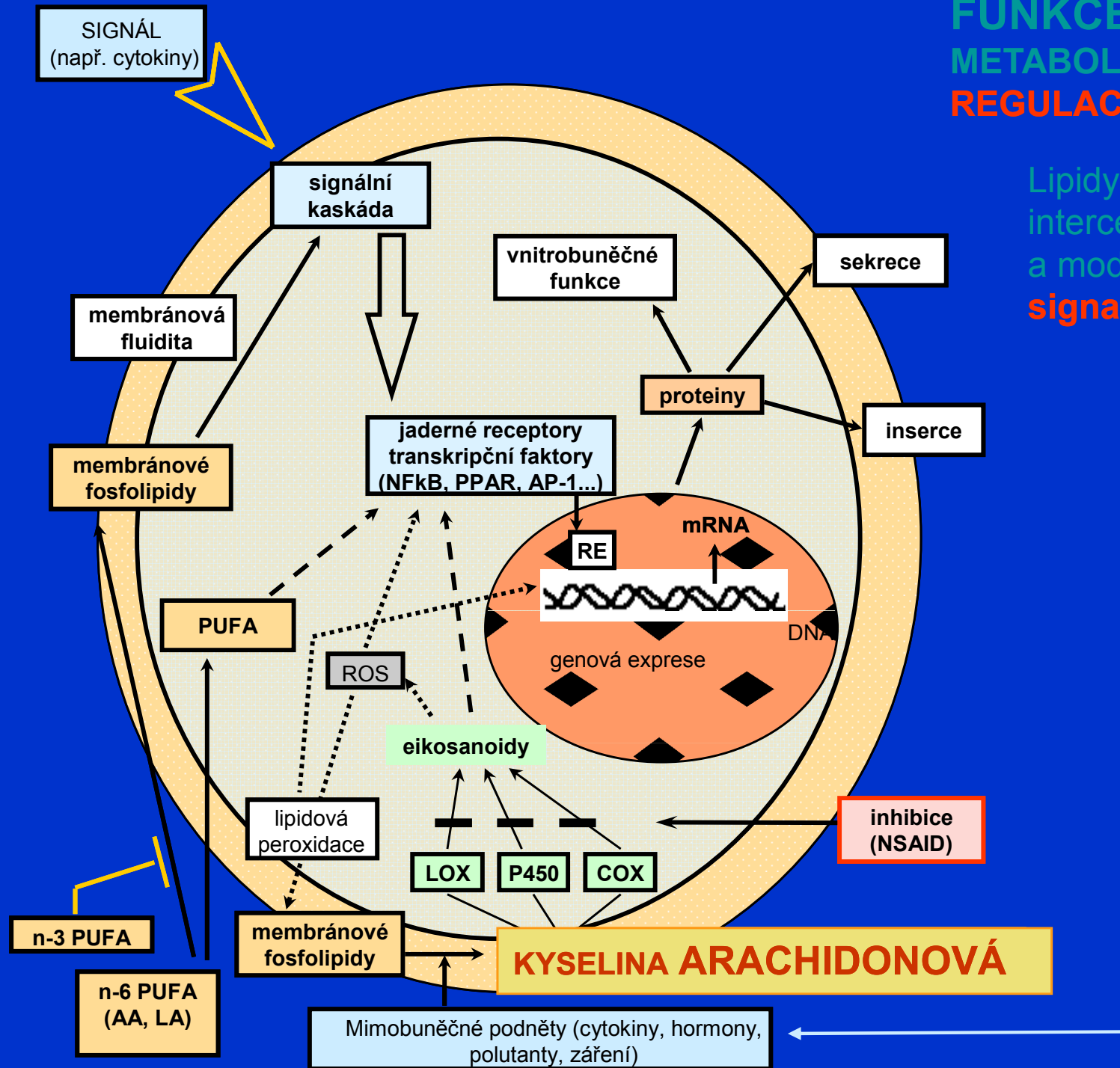


Protein kinase cascade



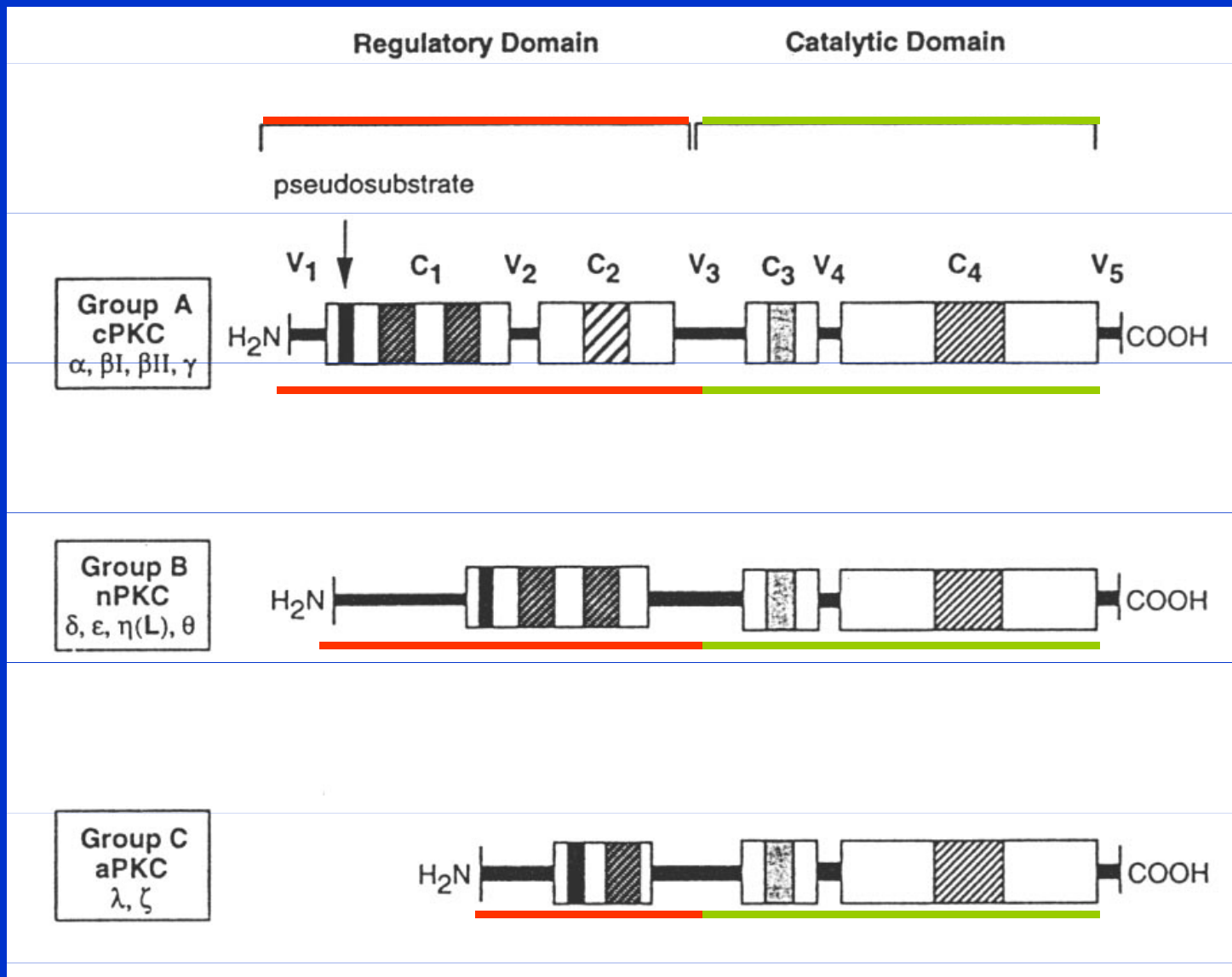
FUNKCE FOSFOLIPIDOVÉHO METABOLISMU V BUNĚČNÝCH REGULACÍCH:

Lipidy jako intercelulární **mediátory** a modulátory buněčné **signalizační sítě**



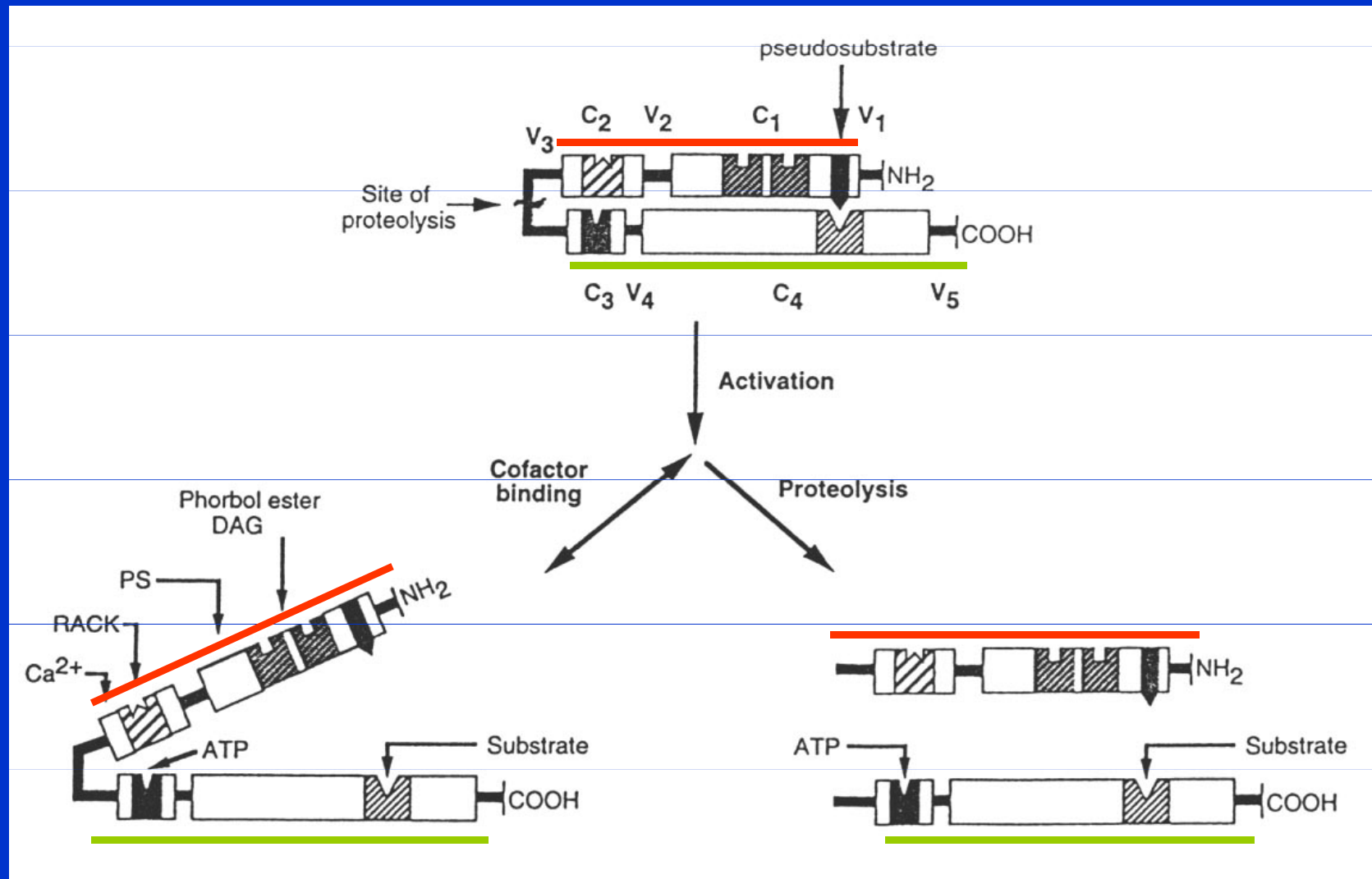
Škodlivé faktory
okolního prostředí,
škála stresorů

- kinázy
- fosfatázy



A. Basu: Pharmacol. Ther., 59 (3), 257-280, 1993

Structure of protein kinase C isoforms



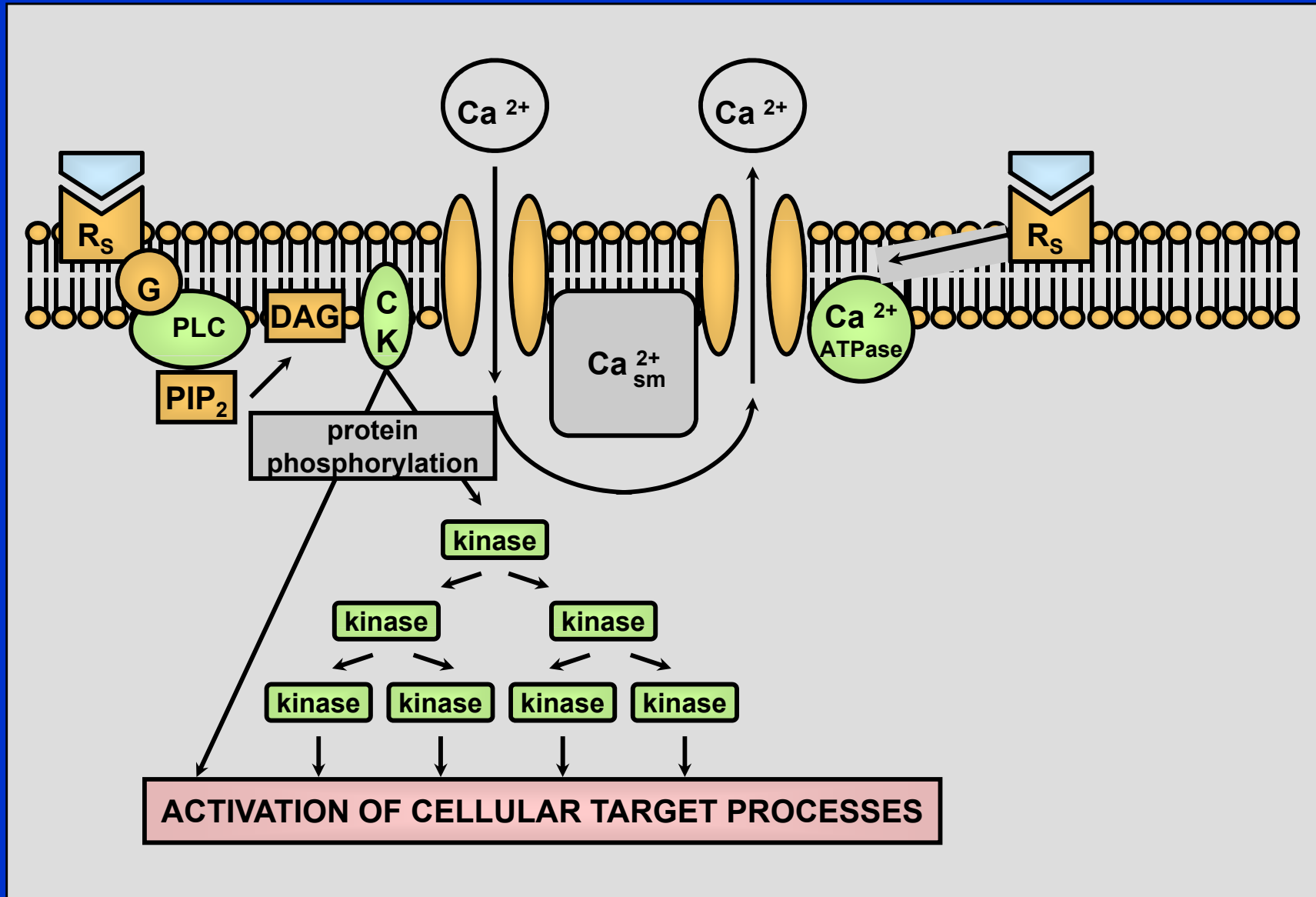
A. Basu: Pharmacol. Ther., 59 (3), 257-280, 1993

Model of protein kinase C activation

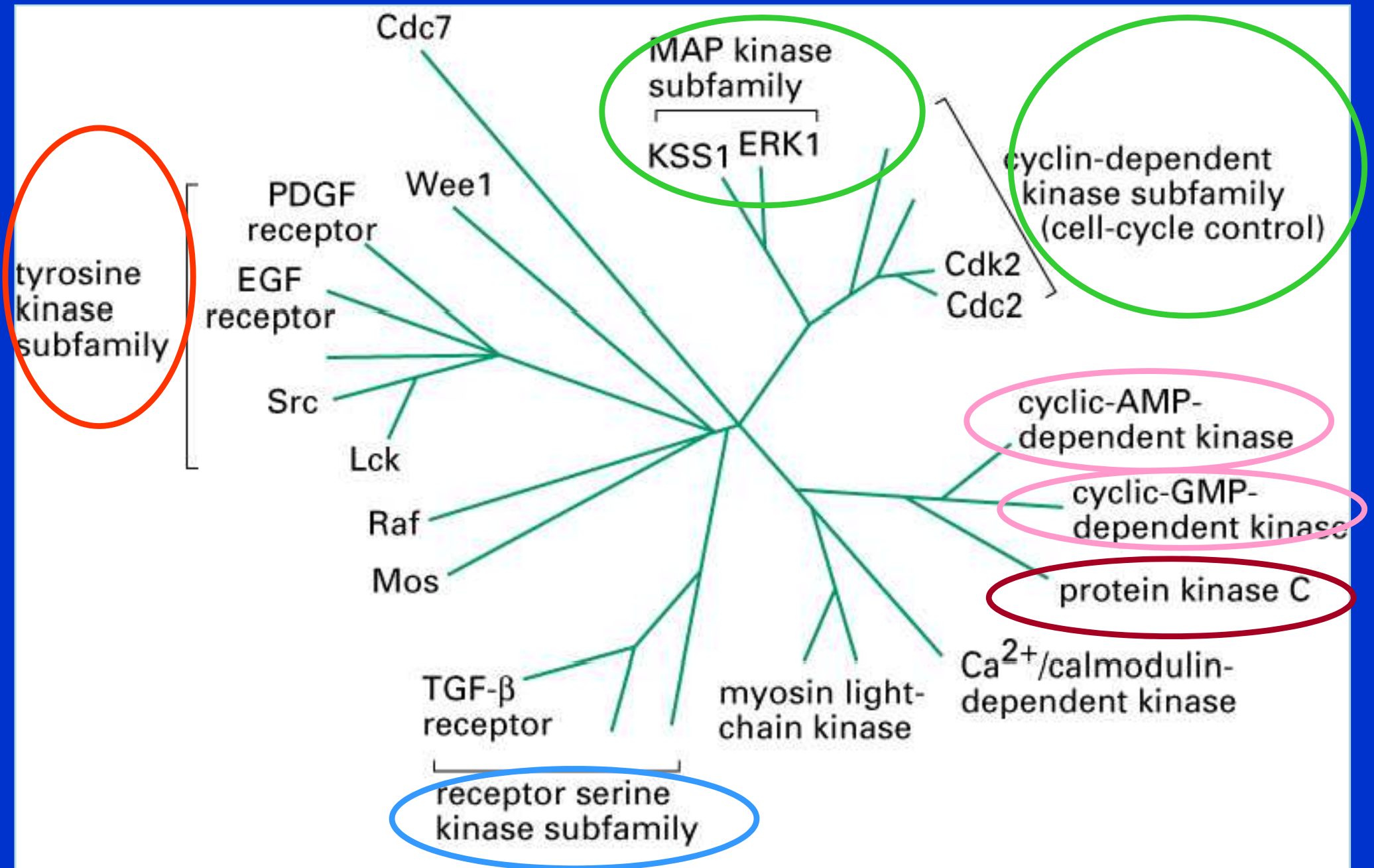
Podstata

- změna konformace -

Protein kinase cascade



An evolutionary tree of selected protein kinases



Some energies important for cells

Tepelný děj - „pohyb“

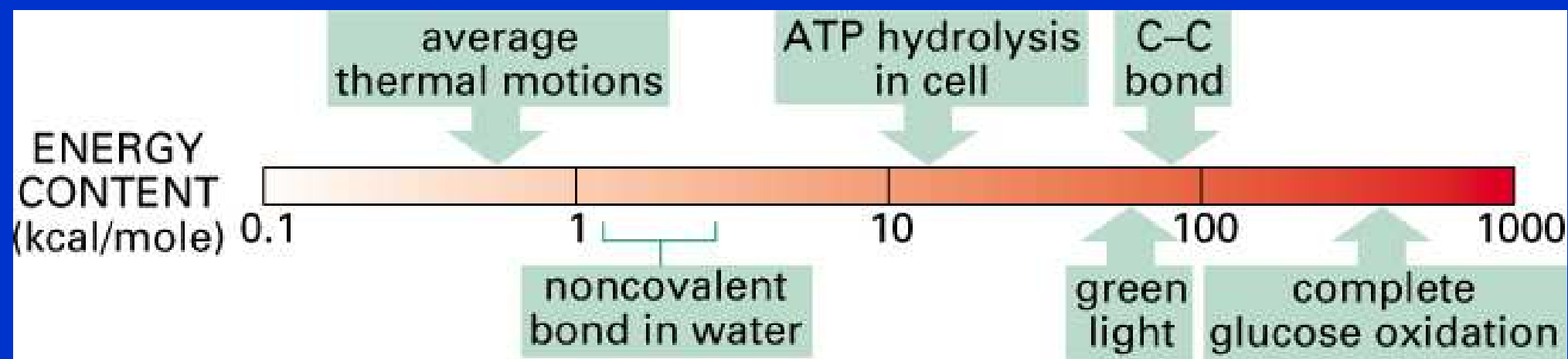
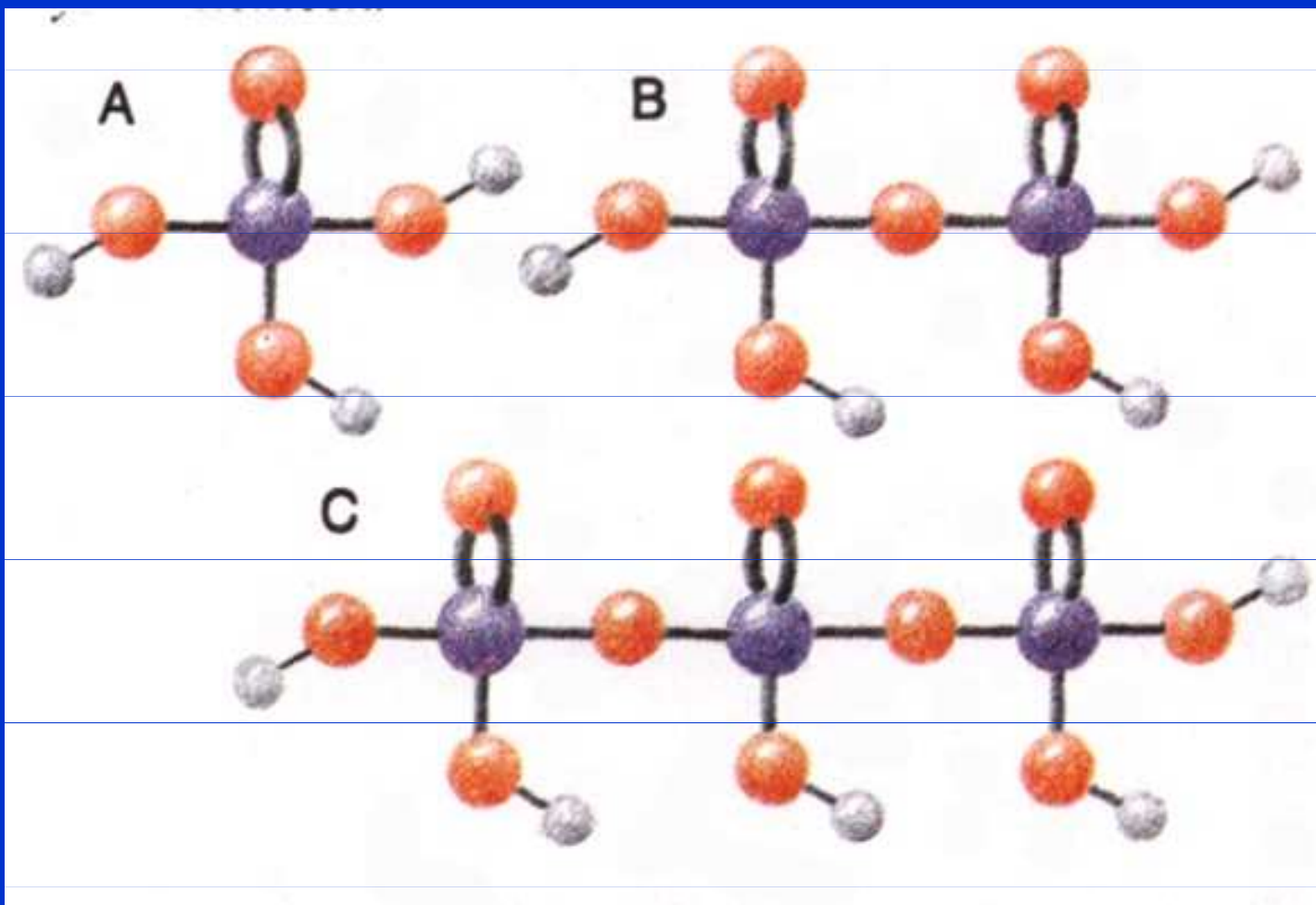


Figure 2-7. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.



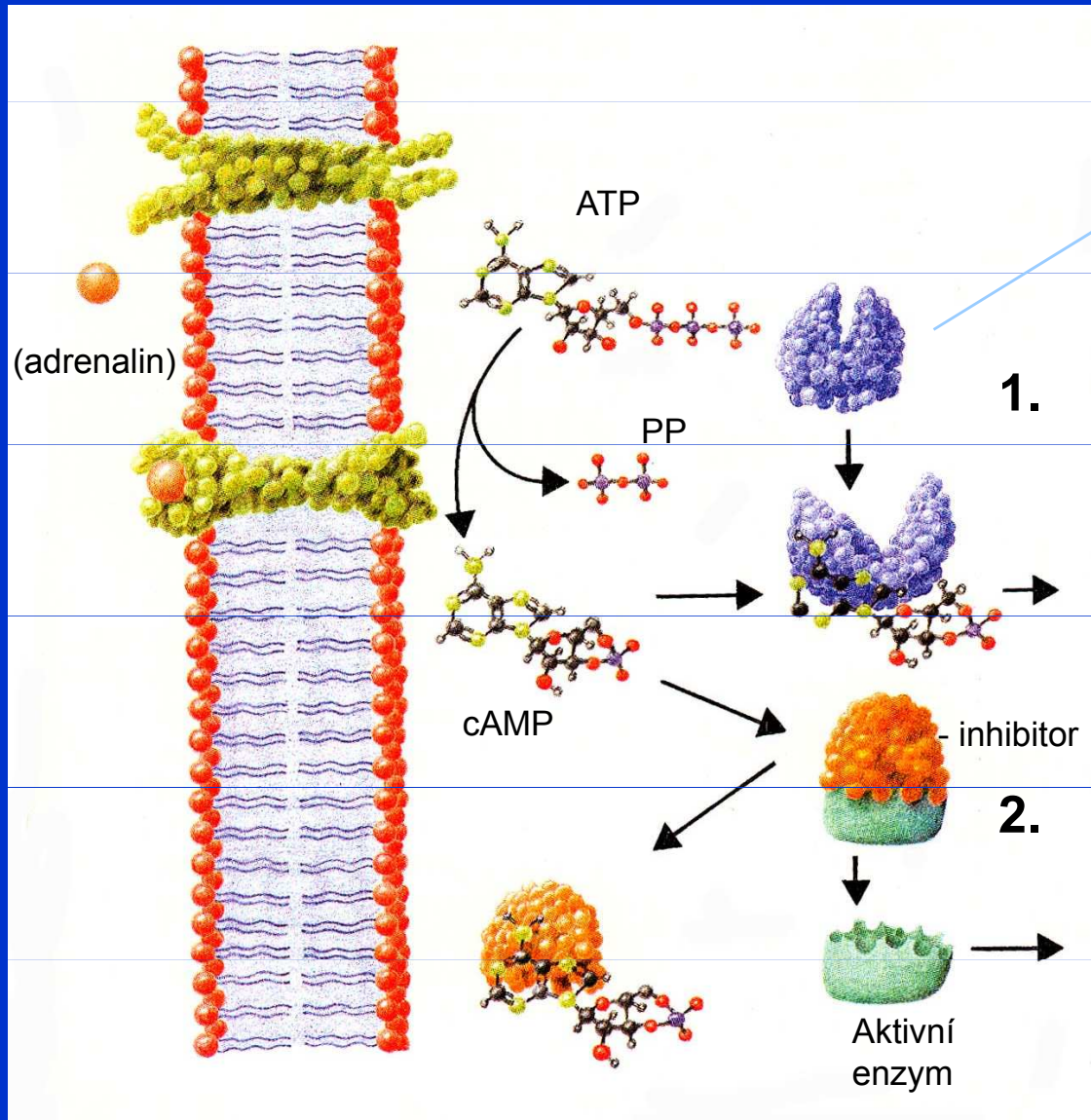
A. Kyselina fosforečná / ortofosforečná

B. Kyselina pyrofosforečná

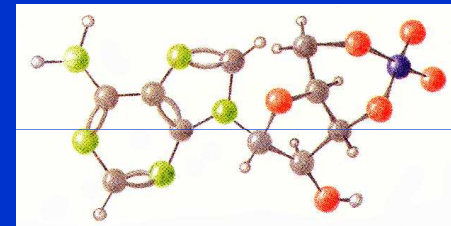
C. Kyselina trifosforečná

Tyto kyseliny jsou nejdůležitějšími sloučeninami v přeměnách a úschově energie v živých systémech

Všechny hlavní komponenty spolupůsobí



Legenda:
 hnědá kulička - signální molekula
 zelená – adenylátcykláza
 modrá – alosterická bílkovina
 tyrkysová – aktivní enzym
 oranžová - inhibitor



cAMP

1, 2, - dva způsoby aktivace
 Pomocí cAMP

Vznik a činnost cAMP. V membráně buňky je bílkovina, která má dvě funkce: na vnější straně membrány je specifickým receptorem (přijímačem) signální molekuly (hnědá kulička) a na vnitřní straně membrány se po přijetí signálu mění v enzym, který převádí ATP na cAMP a pyrofosfát.

Jeden z hlavních významů popsaných reakcí – značný stupeň zesílení -

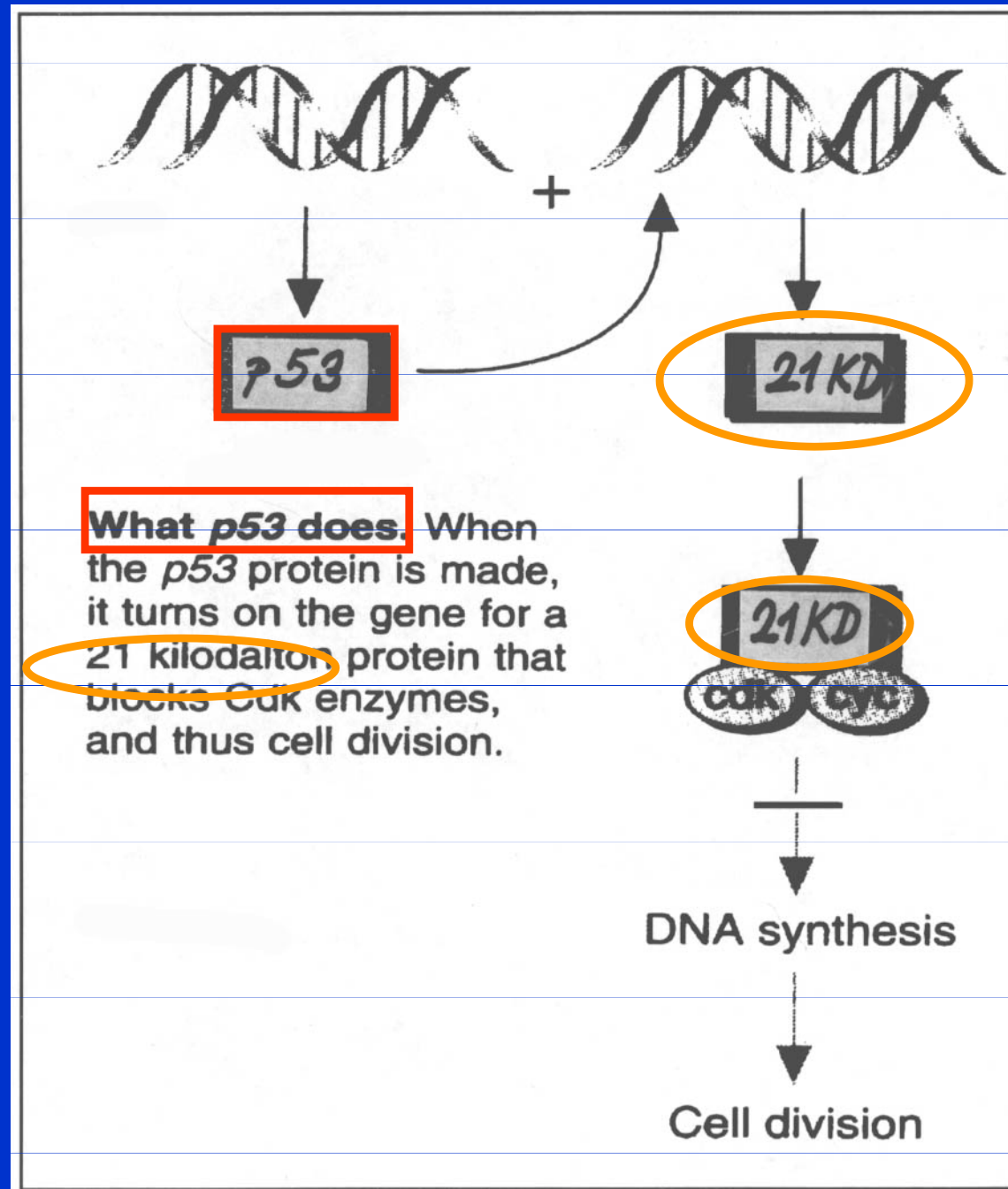
Stupně zesílení:

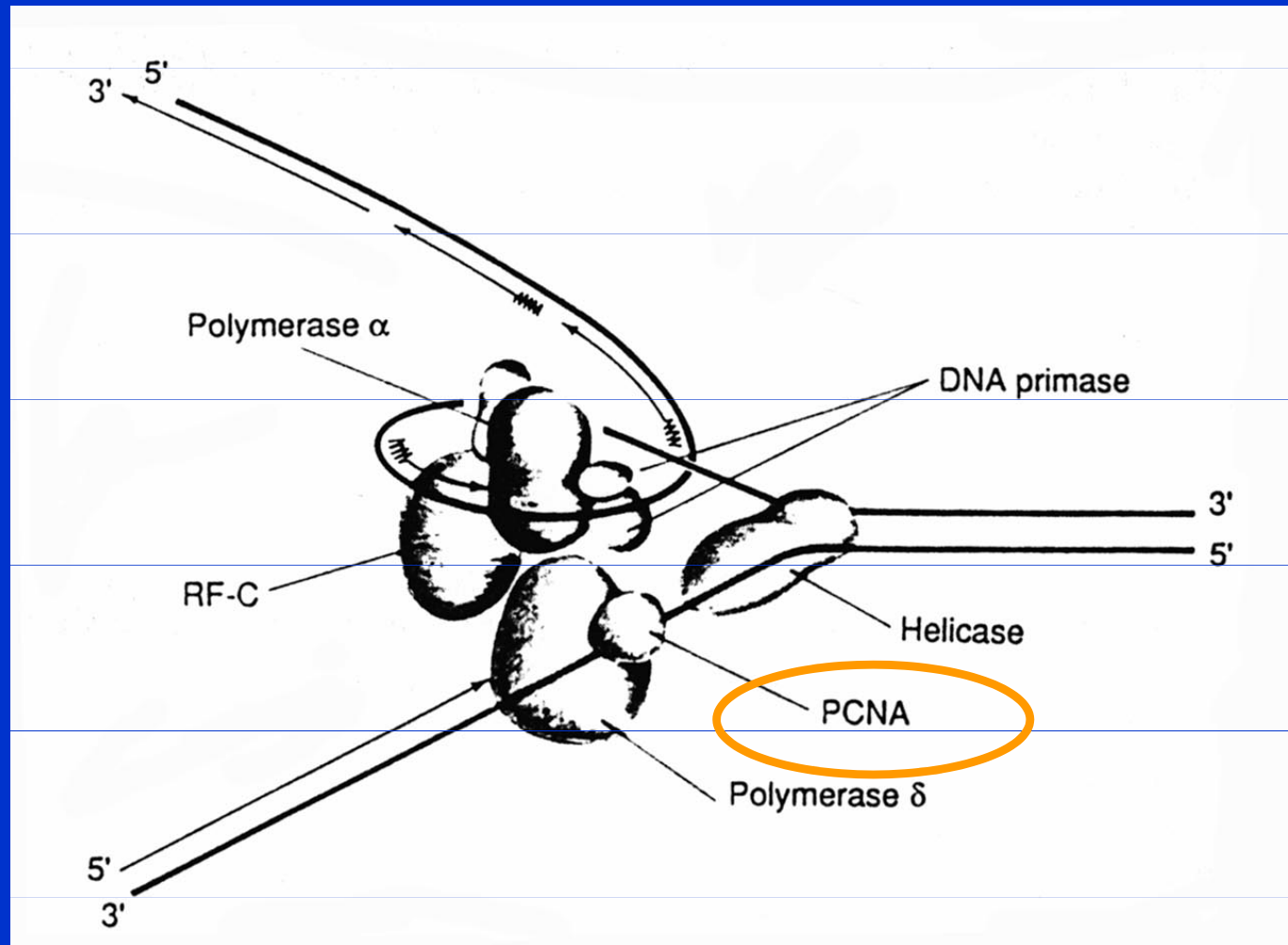
1. Každá adenylátcykláza vyrobí mnoho molekul cAMP
2. Každá molekula cAMP aktivuje jednu proteinkinázu, ta má za úkol především připojit kyselinu fosforečnou na enzym syntetizující glykogen z glukózy, a tím jeji vyřadit z provozu. Tak zablokuje mnoho molekul enzymu
3. Současně naváže kyselinu fosforečnou na kinázu enzymu rozkládajícího glykogen. Tím uvede v činnost mnoho molekul kinázy.
4. Jedna molekula kinázy však aktivuje mnoho molekul enzymu rozkládajícího glykogen.

Kdyby každé zesílení bylo jen desetinásobné, pak výsledkem je 10 000 násobné zesílení rozkladu, podpořené zablokováním syntézy.

**-Změna konformace
jako podstata řízení -
cytokinetiky –**

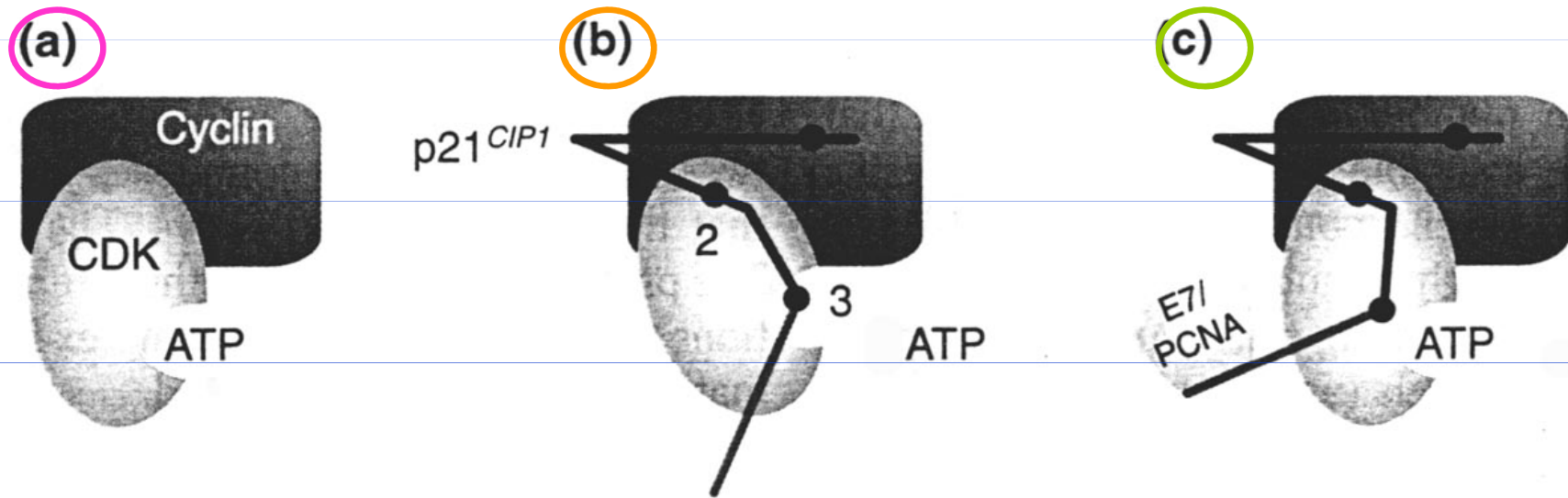
-inhibice b. dělení-





R. A. Laskey et al.: Science 246, 609, 1989

Schematic representation of a eukaryotic replication fork showing concerted action by DNA polymerase α and δ on opposite sides of the fork.



Model for the blocking of p21^{CIP1}-mediated inhibition of cyclin-dependent kinase (CDK)-cyclin complexes. (a) An active CDK-cyclin complex, in which ATP is bound in the catalytic cleft. (b) Inhibition of the complex by a CIP/KIP CKI (Ref. 19). There are three major features of the interaction: (1) a hydrophobic interaction between the RRLFG motif in the CIP/KIP CKI N-terminus and the cyclin; (2) a rearrangement of the CDK such that the glycine-rich loop that binds to ATP is no longer available; and (3) the insertion of the CKI 3₁₀-helix into the catalytic cleft, where it mimics ATP. The dark gray line represents the CIP/KIP CKI C-terminus, which was missing in the crystallization and whose orientation with respect to, and effect on, the CDK-cyclin complex is not clear. (c) Binding of E7 or proliferating-cell nuclear antigen to the p21^{CIP1} C-terminus might rearrange the interaction between p21^{CIP1} and the CDK-cyclin complex, and allow ATP binding and phosphorylation of some substrates.

změna konformace na úrovni genomu

- příklady -

The activation of NF- κ B by TNF- α

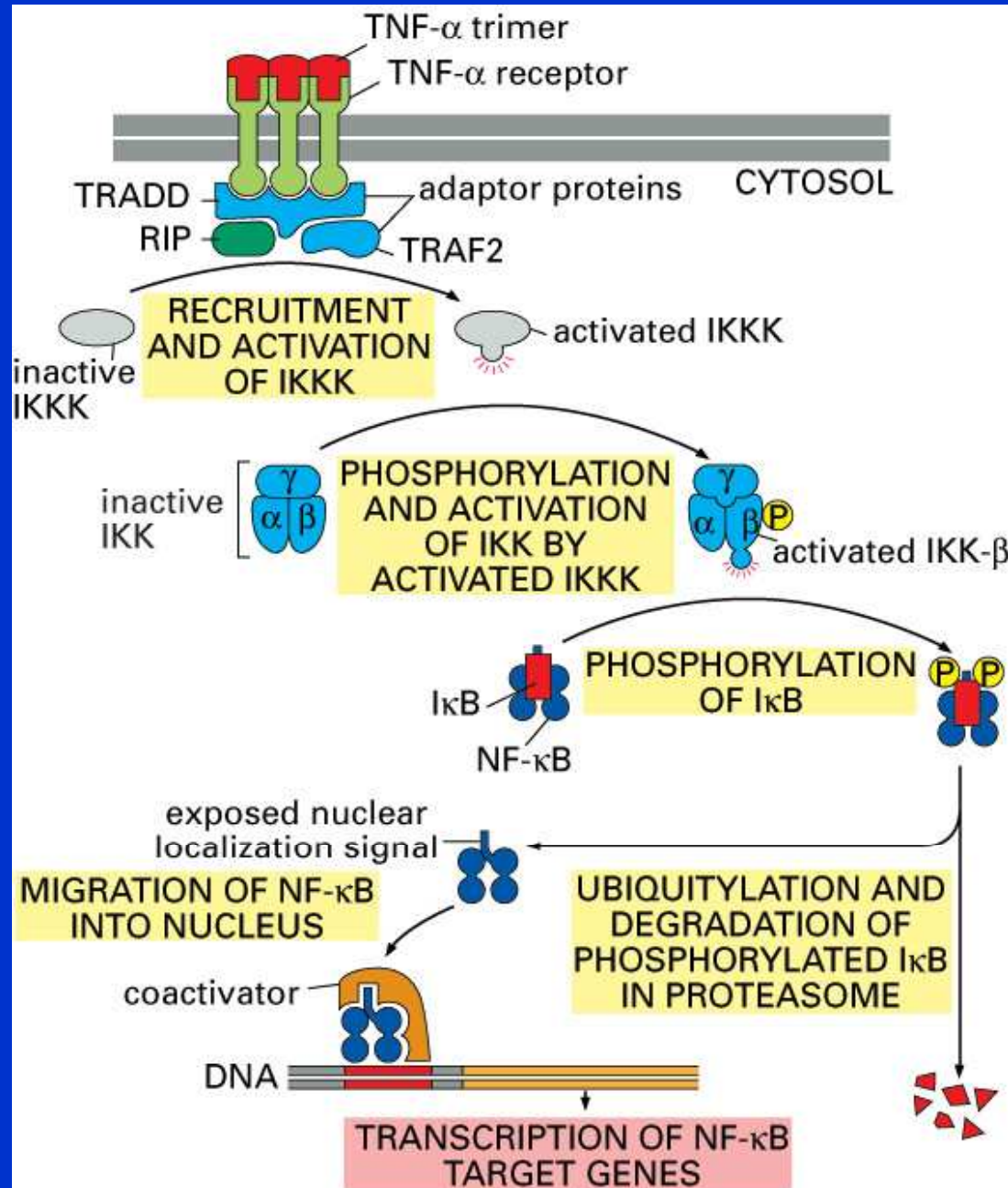


Figure 15-74. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

The Jak-STAT signaling pathways activated by α -interferon

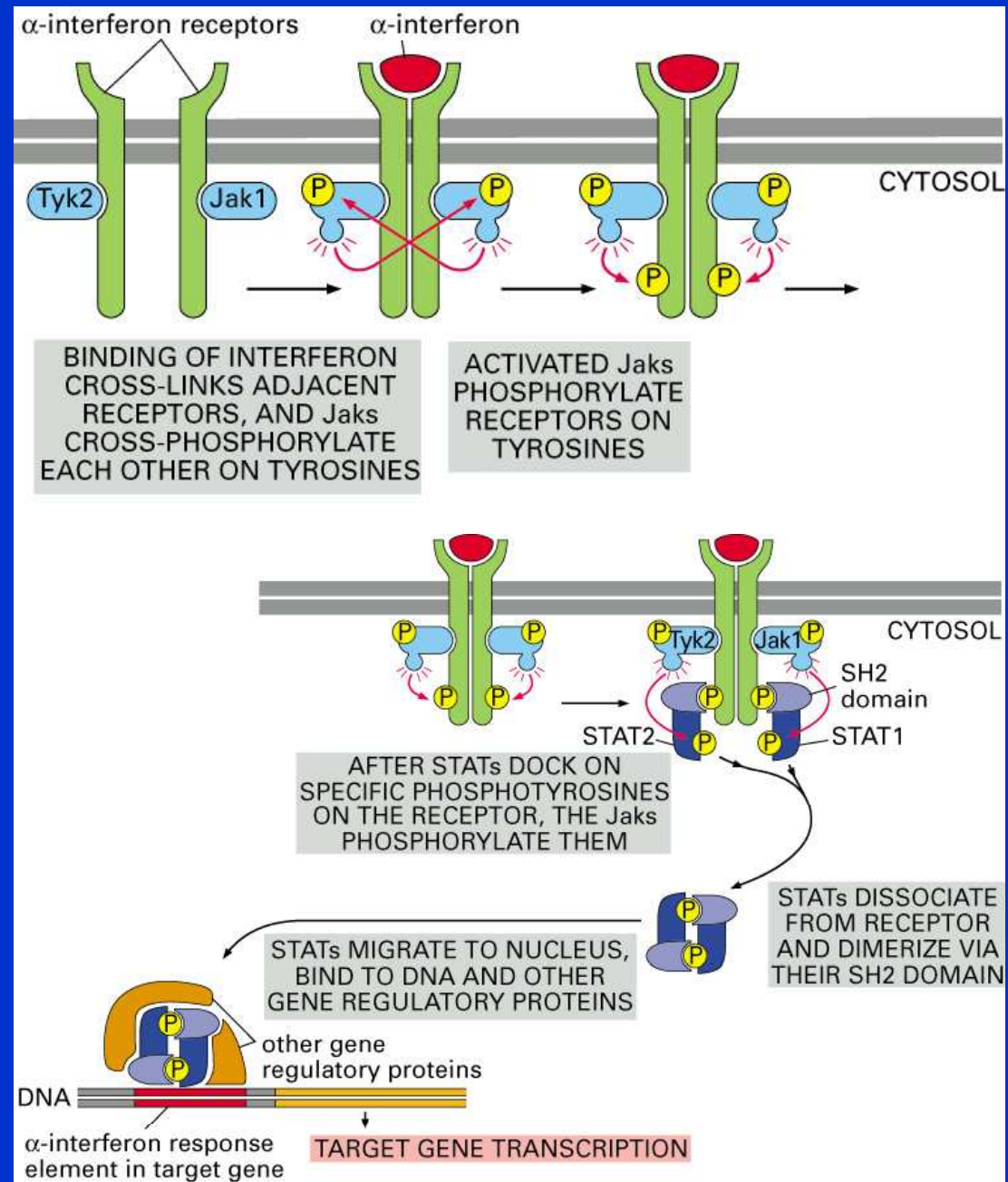


Figure 15-63 part 2 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

One way in which signaling through PI 3-kinase promotes cell survival

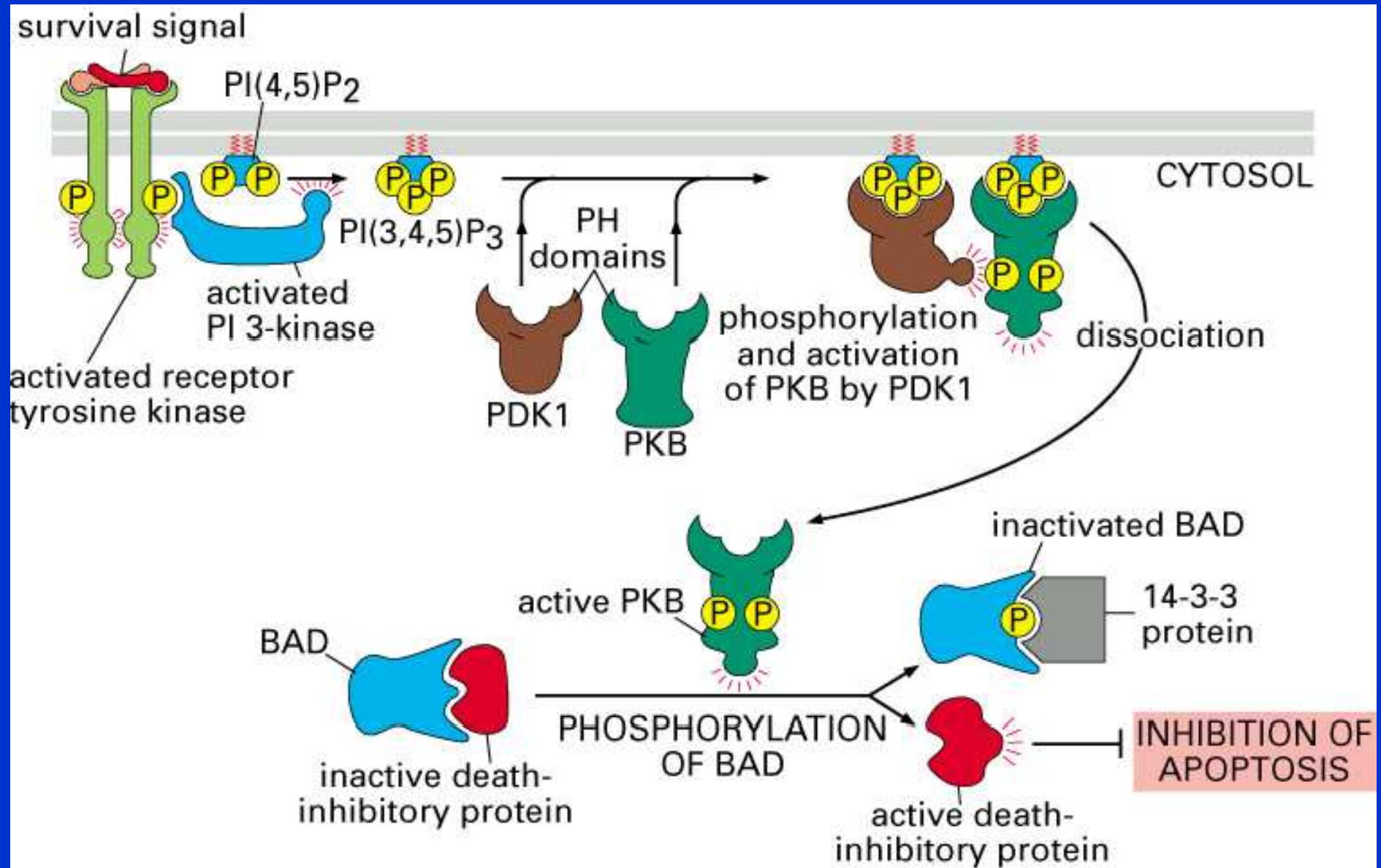


Figure 15-60. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

The nuclear receptor superfamily

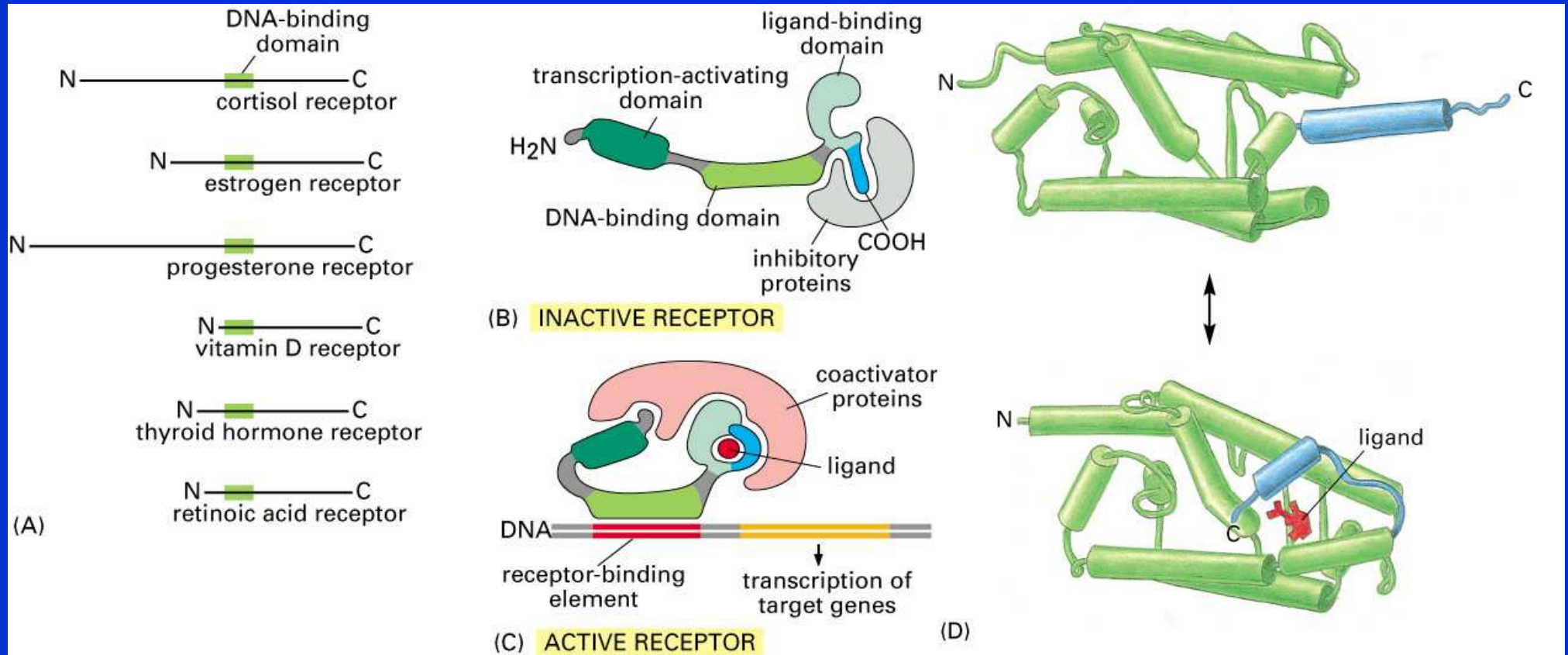
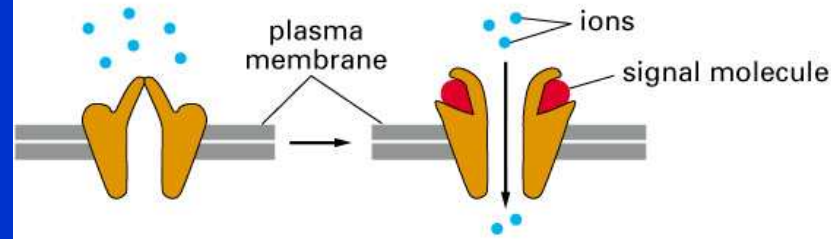


Figure 15-13 part 1 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Three classes of cell-surface receptors

(A) ION-CHANNEL-LINKED RECEPTORS



(B) G-PROTEIN-LINKED RECEPTORS

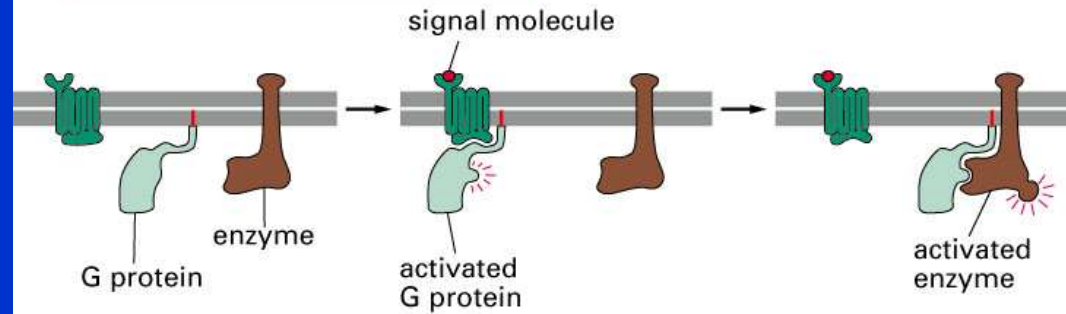


Figure 15-15 part 1 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

(C) ENZYME-LINKED RECEPTORS

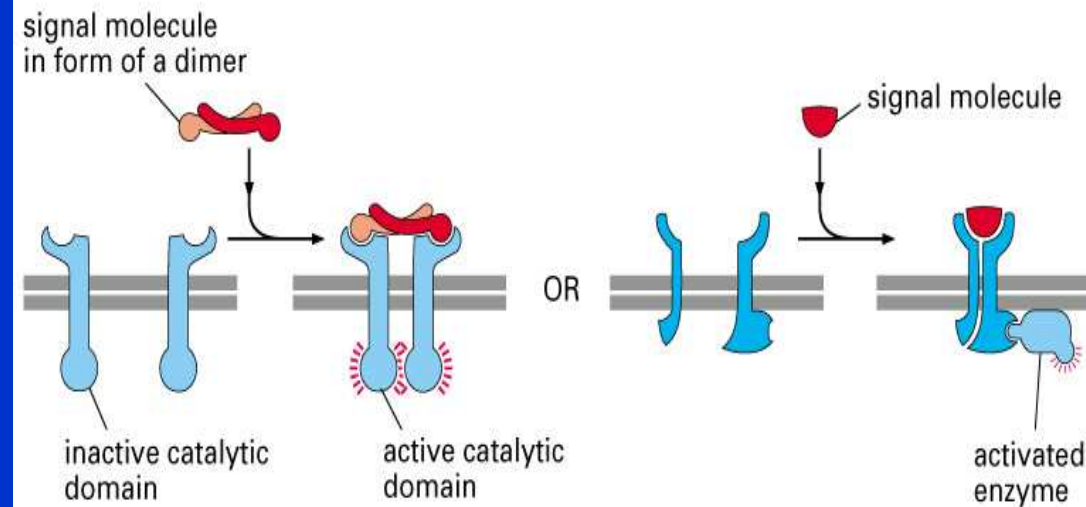
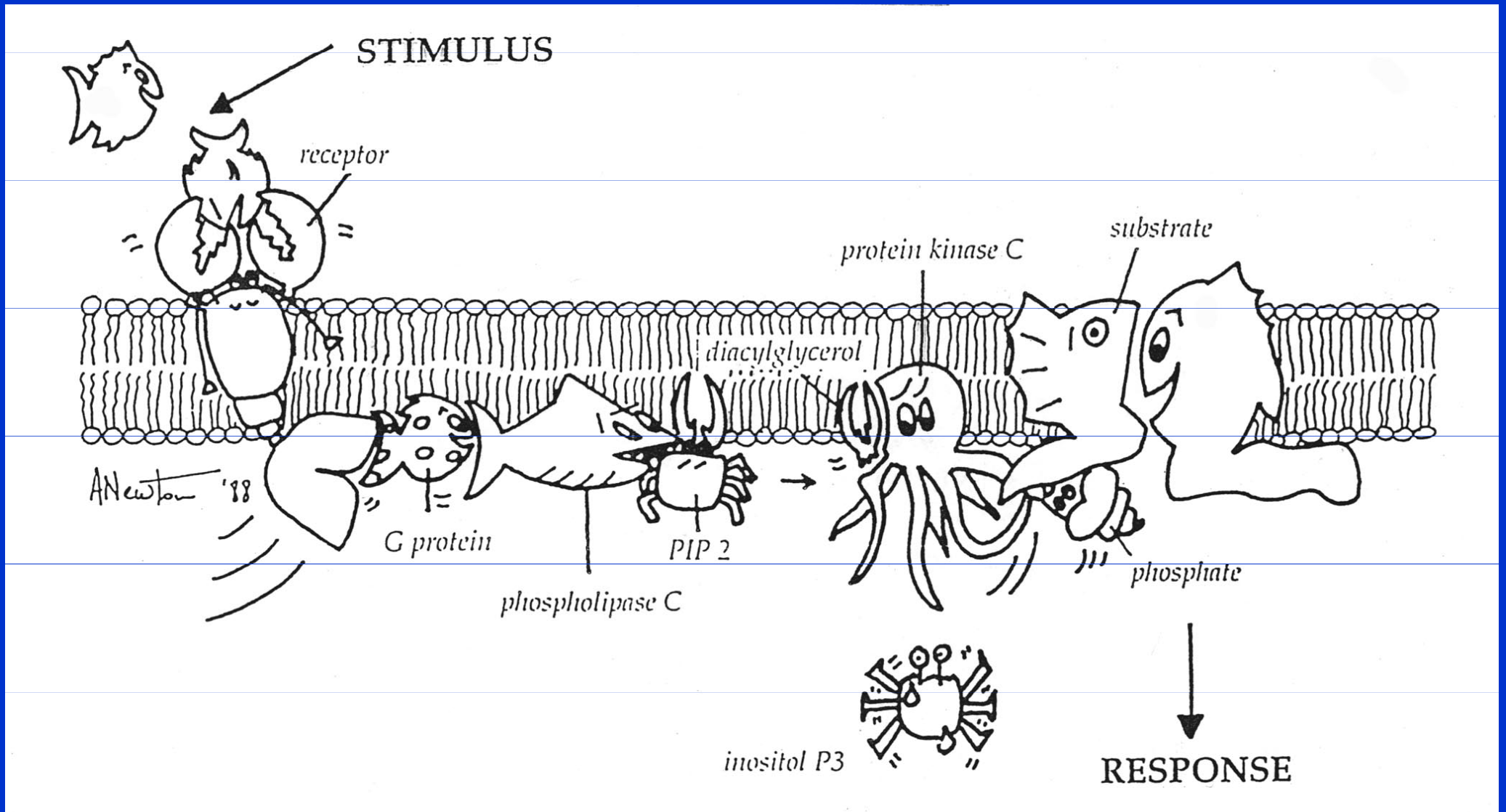


Figure 15-15 part 2 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Podstata

- změna konformace -



Receptor-mediated activation pathway

Co by mělo být rozhodováno nejdřív:

Proč chceme studovat, jaký je opravdový zájem?

Na základě čeho se rozhodujeme?

Kdy začít a proč? Vlastní projekty a aplikace.

Kde začít?

Jaké máme možnosti uplatnění

po skončení studia?



Biofyzikální ústav AVČR, BRNO

Podstata

- změna konformace -