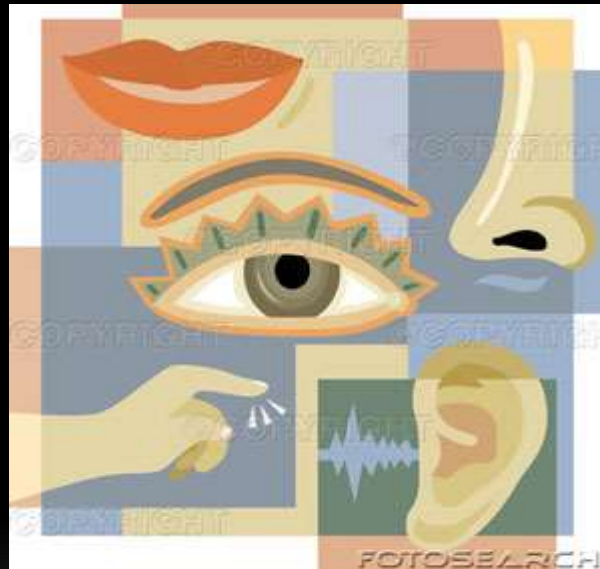


# NEURÁLNÍ A BUNĚČNÉ PROCESY SMYSLOVÉ TRANSDUKCE – JAK SMYSLOVÉ PODNĚTY VSTUPUJÍ DO NERVOVÉHO SYSTÉMU.

A CO UŽITEČNÉHO Z TOHO PLYNE?



# Upozornění na:

- to, co se děje na membránách smyslových buněk a jak mohou smyslové podněty zasáhnout do metabolismu buněk.
- Paralely se známými signálními drahami diference, imunity, apoptózy...
- Společně využívané „vzkoušené“ funkce a vztah mezi studiem chování, smyslů a buněčné komunikace

Schopnost organismů rozpoznávat i nepatrné změny vnějšího prostředí a reagovat na ně v případě ohrožení je jednou z nejdůležitějších podmínek zachování života.

Selekční tlak byl natolik silný, že schopnosti receptorů jsou často na samé hranici fyzikálních možností. Jednotlivé fotony, jednotlivé molekuly, pohyby nanometrových amplitud, nesmírně slabé elektromagnetické pole fascinují fyziology.

Výzkum molekulární podstaty transdukčních mechanismů chemických signálů, mechanických podnětů, ale i např. infračervené detekce, elektrických polí nebo magnetického pole jsou výzvami fyziologii s velkým potenciálem.

# Všech 5 pohromadě





Vstup do NS, potřeba rychlé motorická reakce, kontakt s vědomím.

Kontakt se světem



Předpoklad: některé buňky dokážou reagovat na různé formy energie (chemické, mechanické, elektromagnetické). Metabolická reakce se pak zobrazí jako změna elektrického membránového napětí.

# Hranice smyslového a ne-smyslového signálu

**VĚDOMÍ**

**Kůra telencefala**

**PODVĚDOMÍ**  
Reflexní,  
automatické řízení

**Motorický NS**

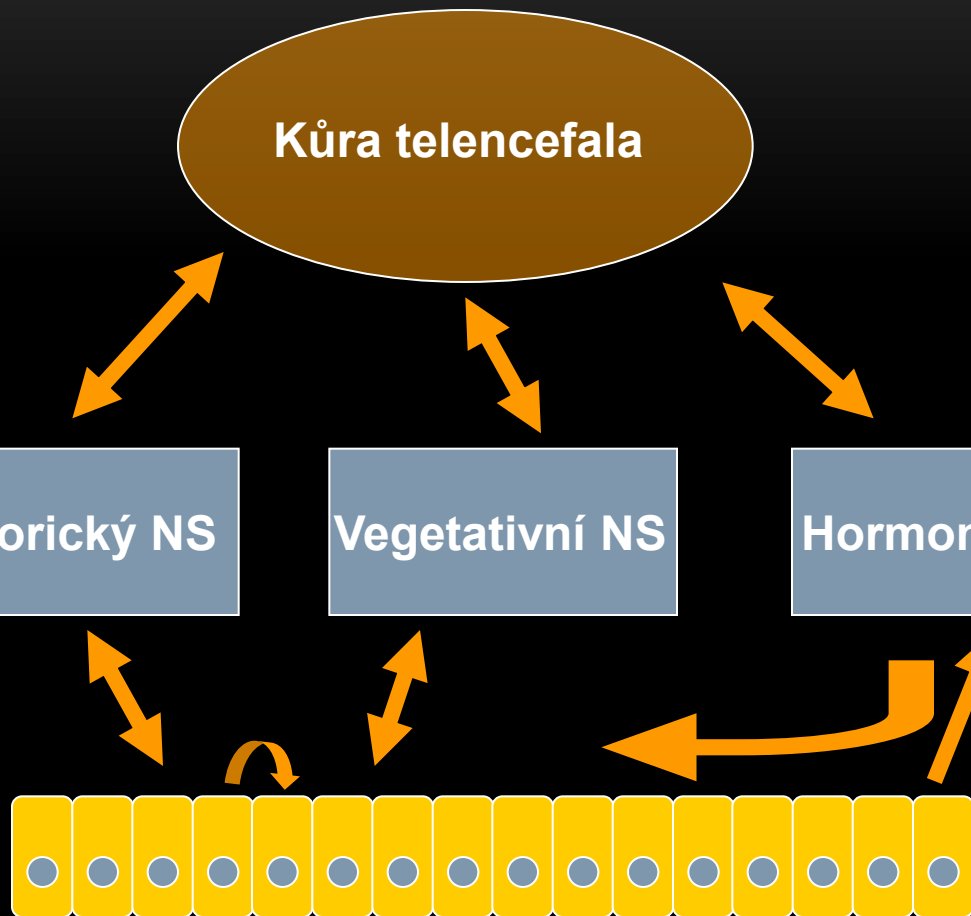
**Vegetativní NS**

**Hormonální S**

**Buněčná recepce a komunikace**

**Vnější podněty:**  
zvuky, vůně...

**Vnitřní podněty:**  
hladina Glc,  
apoptotický signál,  
růstový f. ...



**VĚDOMÍ**

**Kůra telencefala**

**PODVĚDOMÍ**  
Reflexní,  
automatické řízení

**Motorický NS**

**Vegetativní NS**

**Hormonální S**

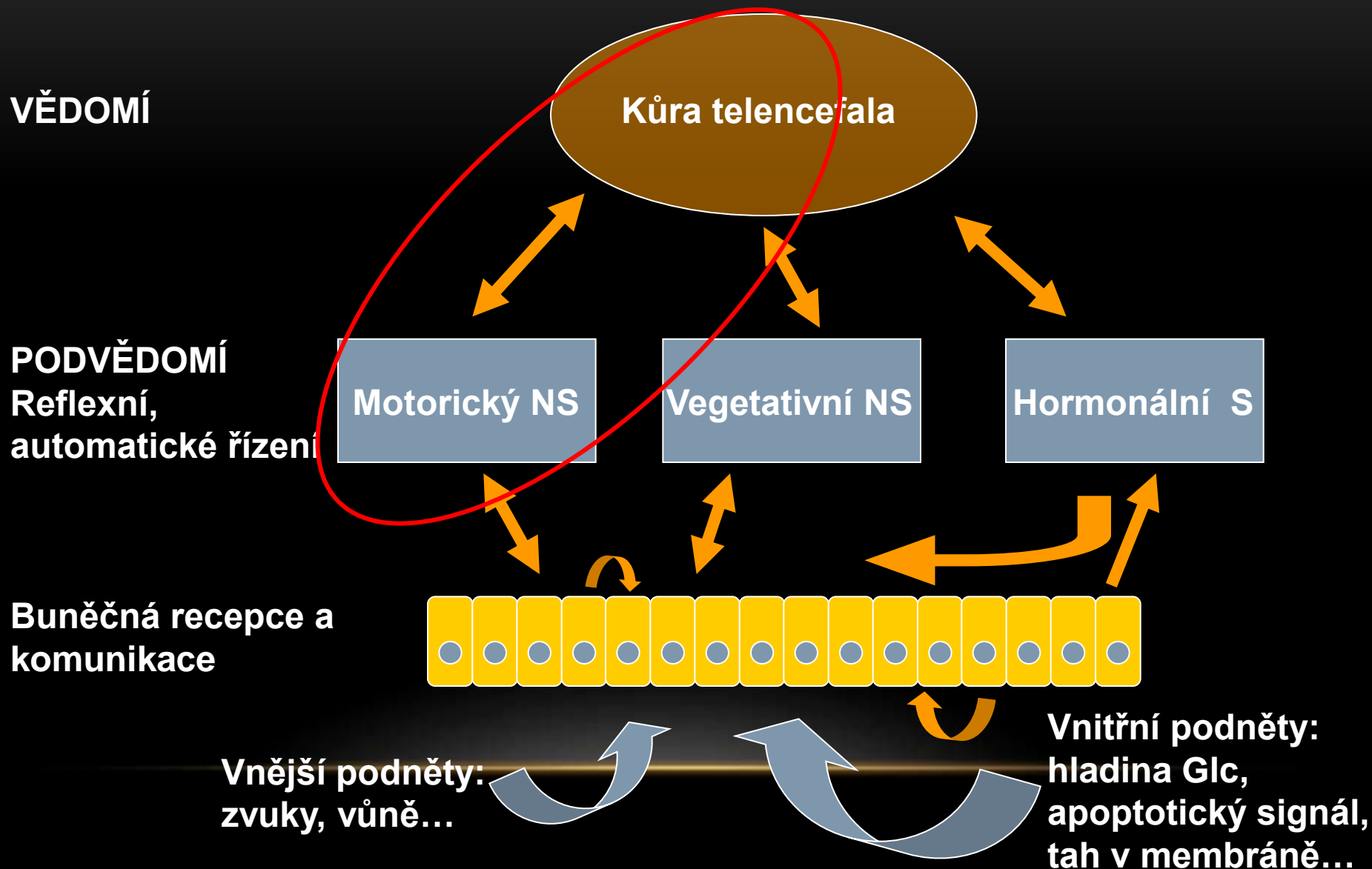
**Buněčné „oči“ a „uši“**

**Buněčná recepce a komunikace**

**Vnější podněty:**  
zvuky, vůně...

**Vnitřní podněty:**  
hladina Glc,  
apoptotický signál,  
tah v membráně...

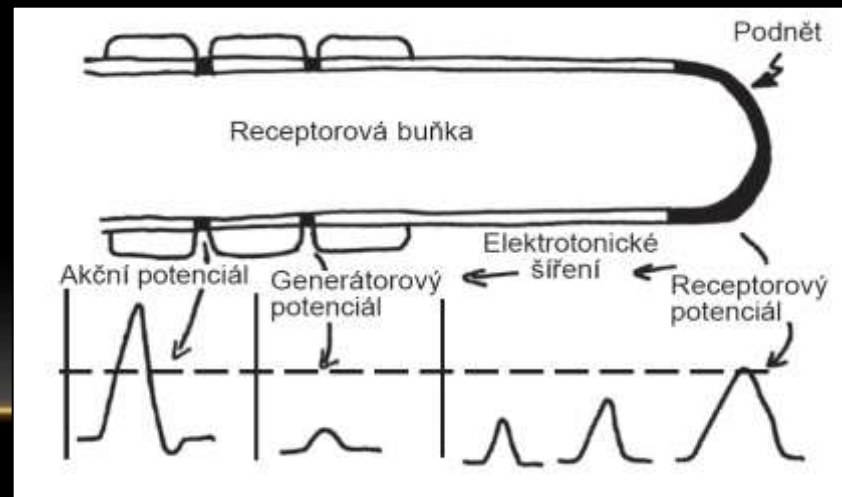
# Klasické smysly propojené s kůrou, mechanismy ale stejné





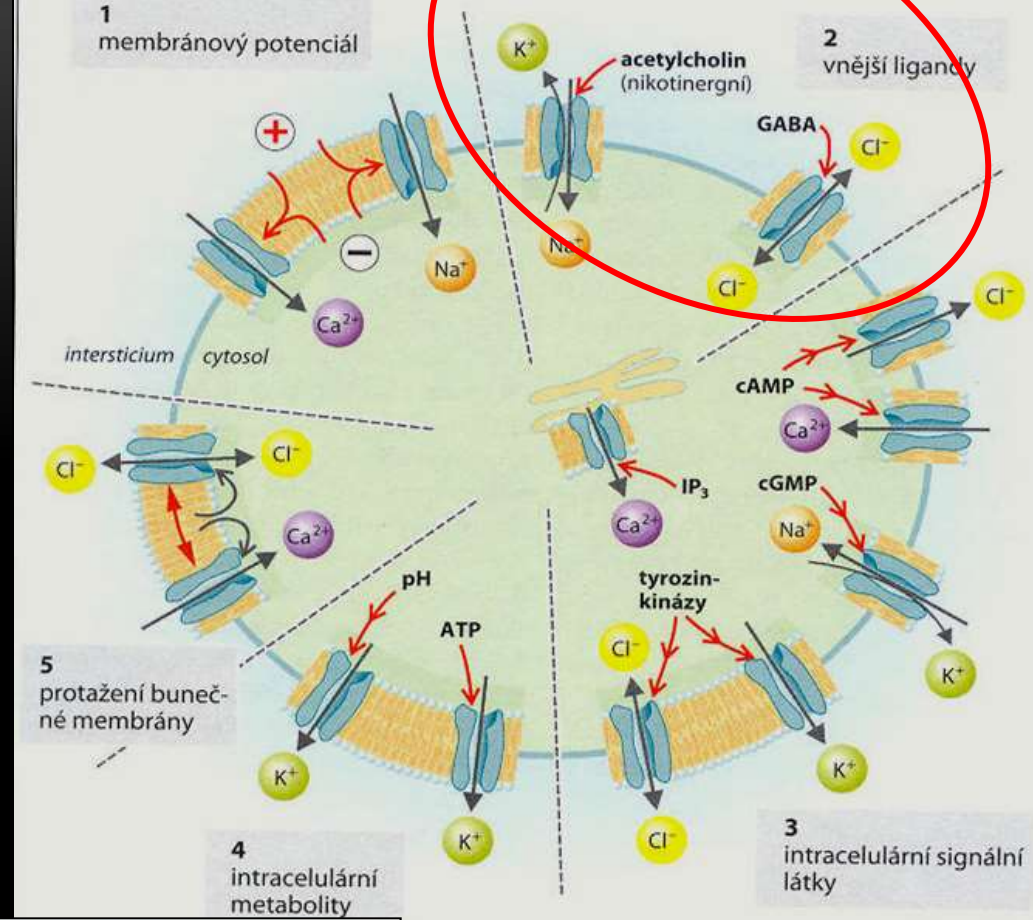
# Kanály v molekulární fyziologii smyslů

- Nervový systém vsadil na elektricky předávané informace.
- Kanály jsou odpovědné za regulaci membránového napětí a tedy klíčové pro vznik a přenášení nervových signálů.
- Nervový systém tedy „vidí“ jen to, co změní kanálovou propustnost.
- Pro vstup do NS podstatné to, co se děje mezi receptory a kanály



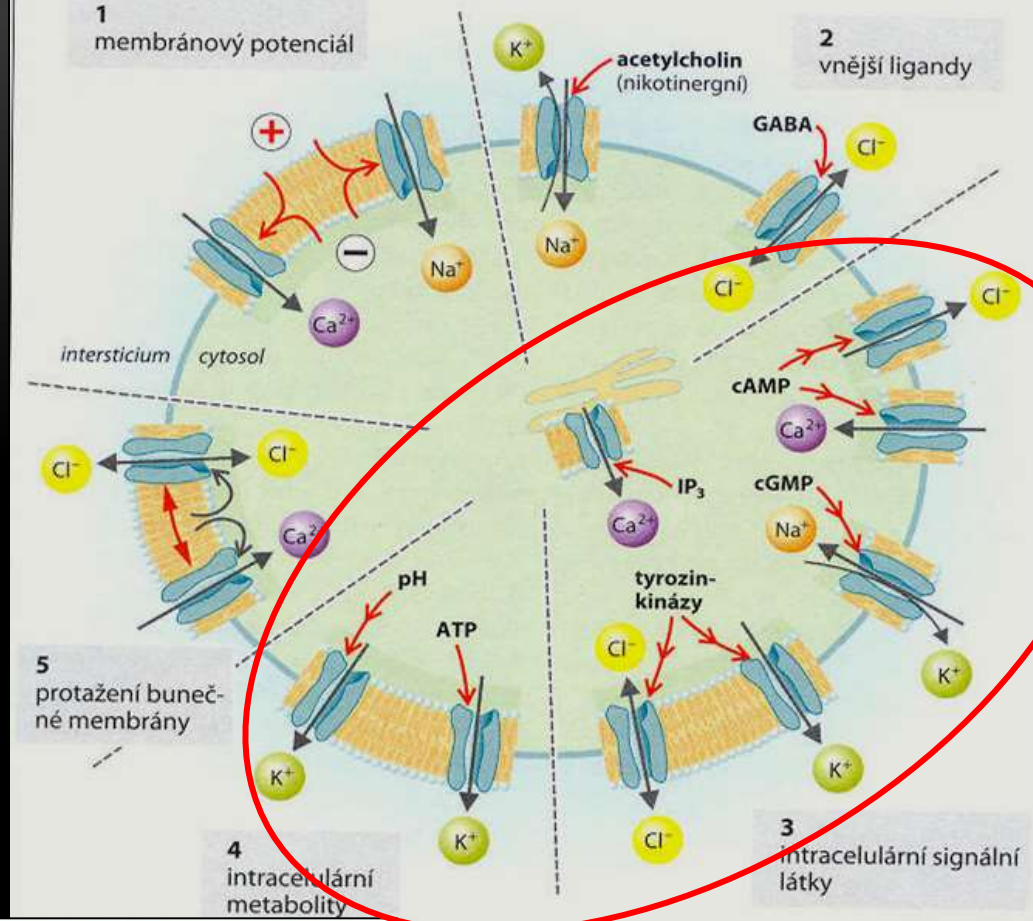
Klíčová otázka: co se děje mezi receptory a kanály

Ionotropní  
transdukce – receptor přímo na kanálu



**TABLE 12.3** Ionotropic and metabotropic receptors: Structural, functional, and mechanistic differences

Characteristic	Ionotropic receptors	Metabotropic receptors
Receptor molecule	Ligand-gated channel receptor	G protein-coupled receptor
Molecular structure	Five subunits around an ion channel	Protein with seven transmembrane segments; no channel
Molecular action	Open ion channel	Activate G protein; metabolic cascade
Second messenger	No	Yes (usually)
Gating of ion channels	Direct	Indirect (or none)
Type of synaptic effect	Fast EPSP or IPSP	Slow PSPs; modulatory changes (in channel properties, cell metabolism, or gene expression)



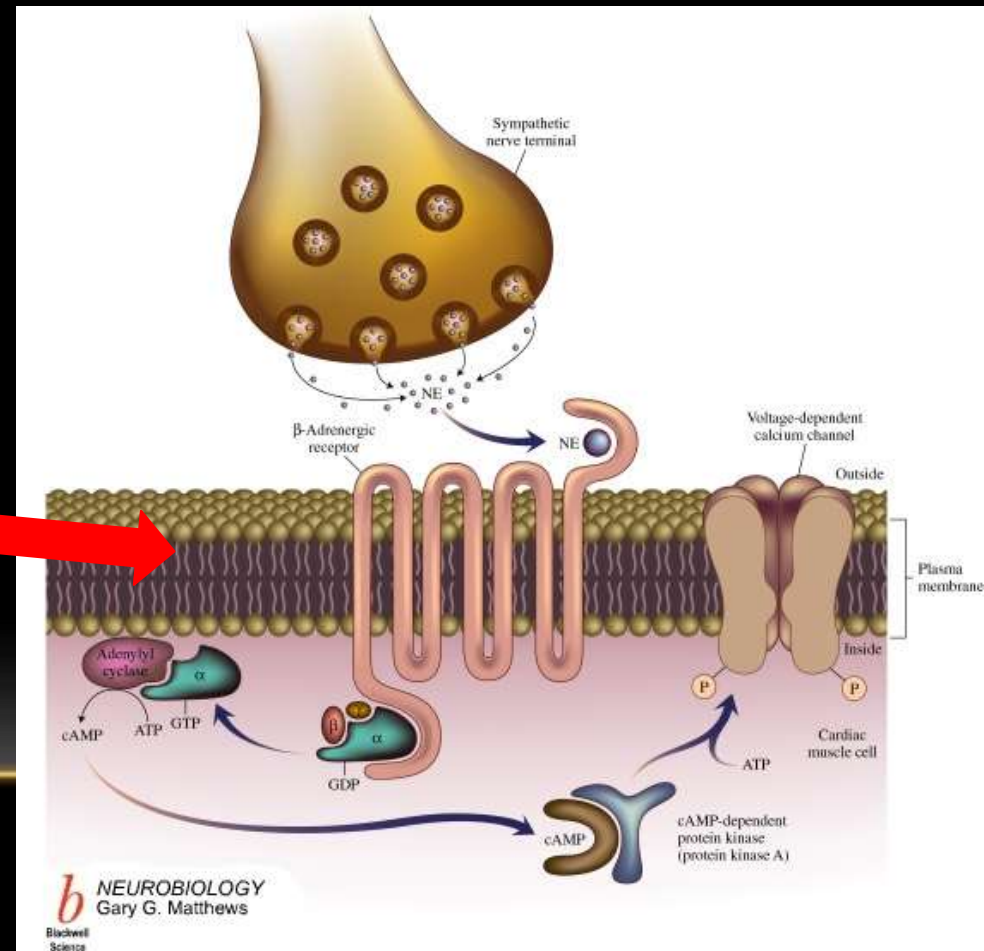
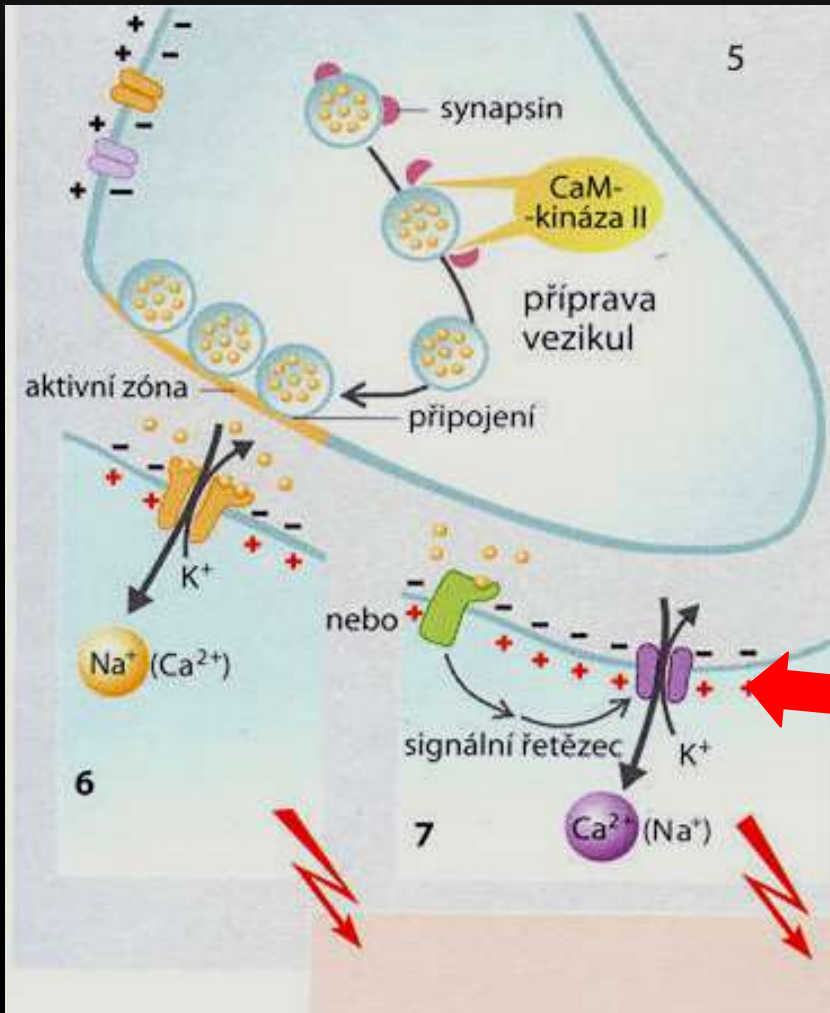
**TABLE 12.3** Ionotropic and metabotropic receptors: Structural, functional, and mechanistic differences

Characteristic	Ionotropic receptors	Metabotropic receptors
Receptor molecule	Ligand-gated channel receptor	G protein-coupled receptor
Molecular structure	Five subunits around an ion channel	Protein with seven transmembrane segments; no channel
Molecular action	Open ion channel	Activate G protein; metabolic cascade
Second messenger	No	Yes (usually)
Gating of ion channels	Direct	Indirect (or none)
Type of synaptic effect	Fast EPSP or IPSP	Slow PSPs; modulatory changes (in channel properties, cell metabolism, or gene expression)

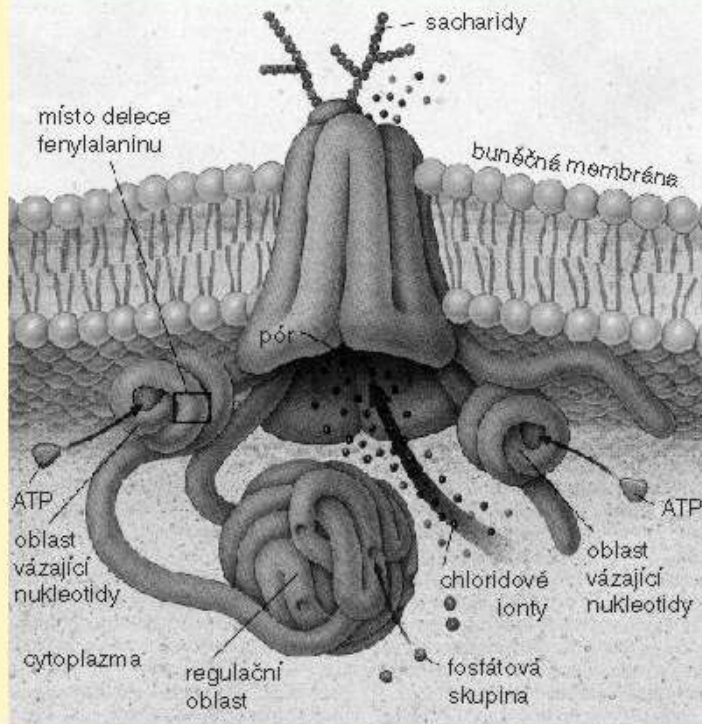
Metabotropní  
Transdukce –  
receptor a kanál  
jsou odděleny



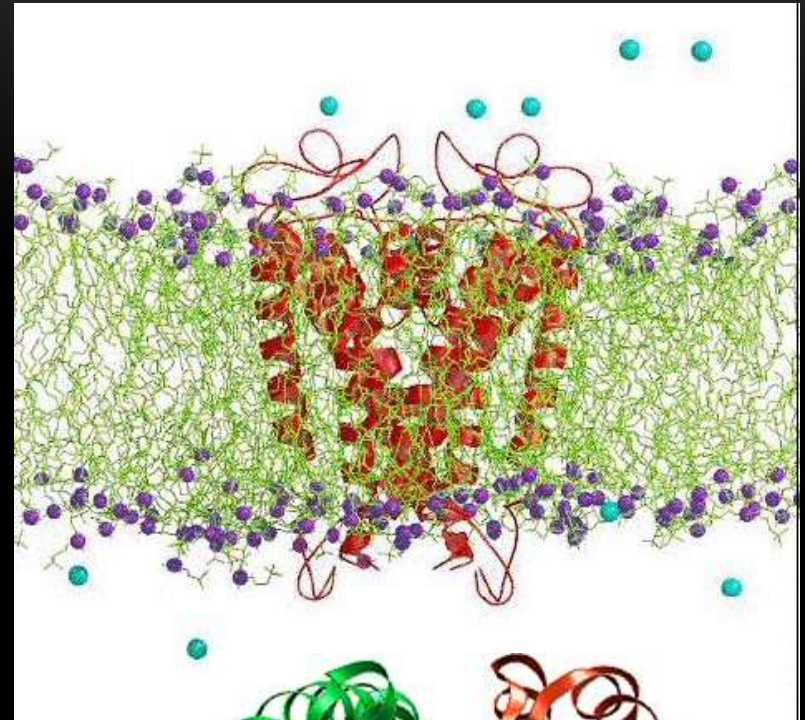
# Ionotronní a Metabotropní transdukce



# Kanály – prostředek pasivního transportu udržování integrity buňky a komunikace

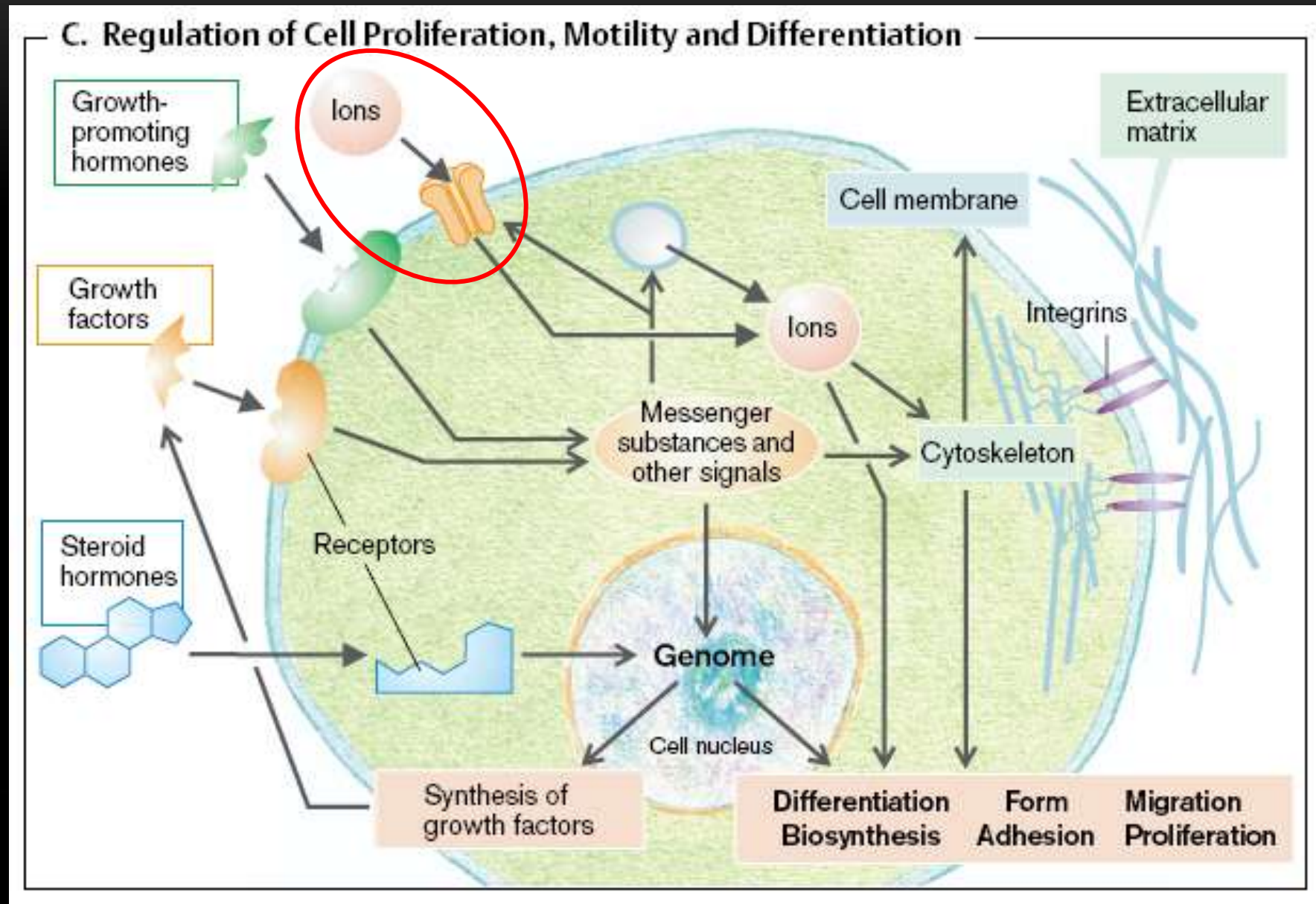


Po ukotvení v membráně se protein CFTR složitě přizpůsobuje – vytváří kanálky, kterými mohou přes membránu proudit chloridové ionty. V cytoplazmatické části proteinu jsou tři regulační oblasti, které se podílejí na uzavírání a otevírání póru. Kanálek se otevře jedině tehdy, když se na CFTR navážou dvě molekuly ATP a zároveň je fosforylována třetí regulační oblast. U mutovaného proteinu je jedna z oblastí vázajících ATP intaktní a membránový kanálek se neotevírá.





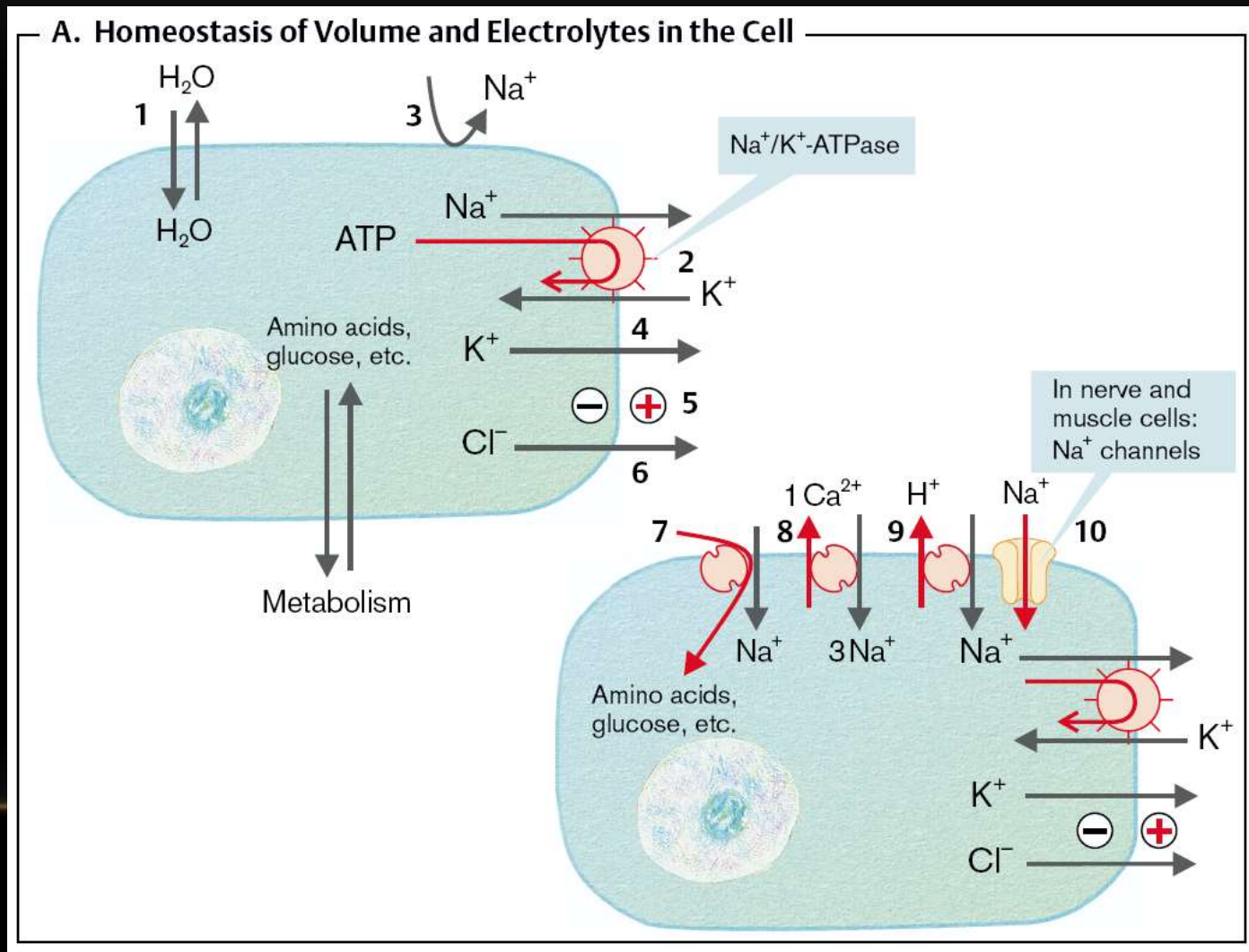
Už jste se mimo NS potkali s kanály? Do řetězců buněčné komunikace patří.





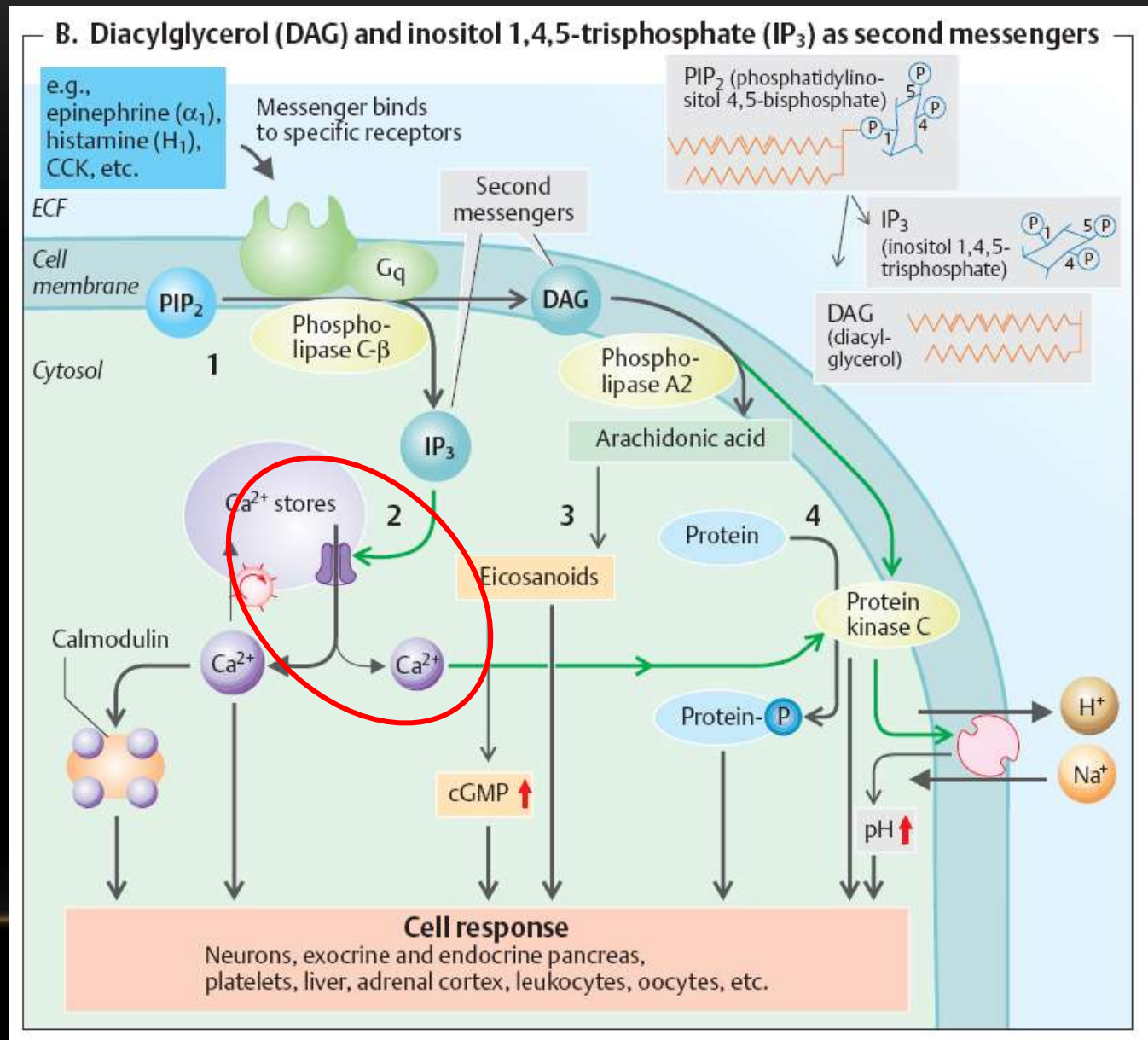
Už jste se mimo NS potkali s kanály?

Vodní hospodářství je otázkou řízené propustnosti membrán.  
Osmolalita a pH

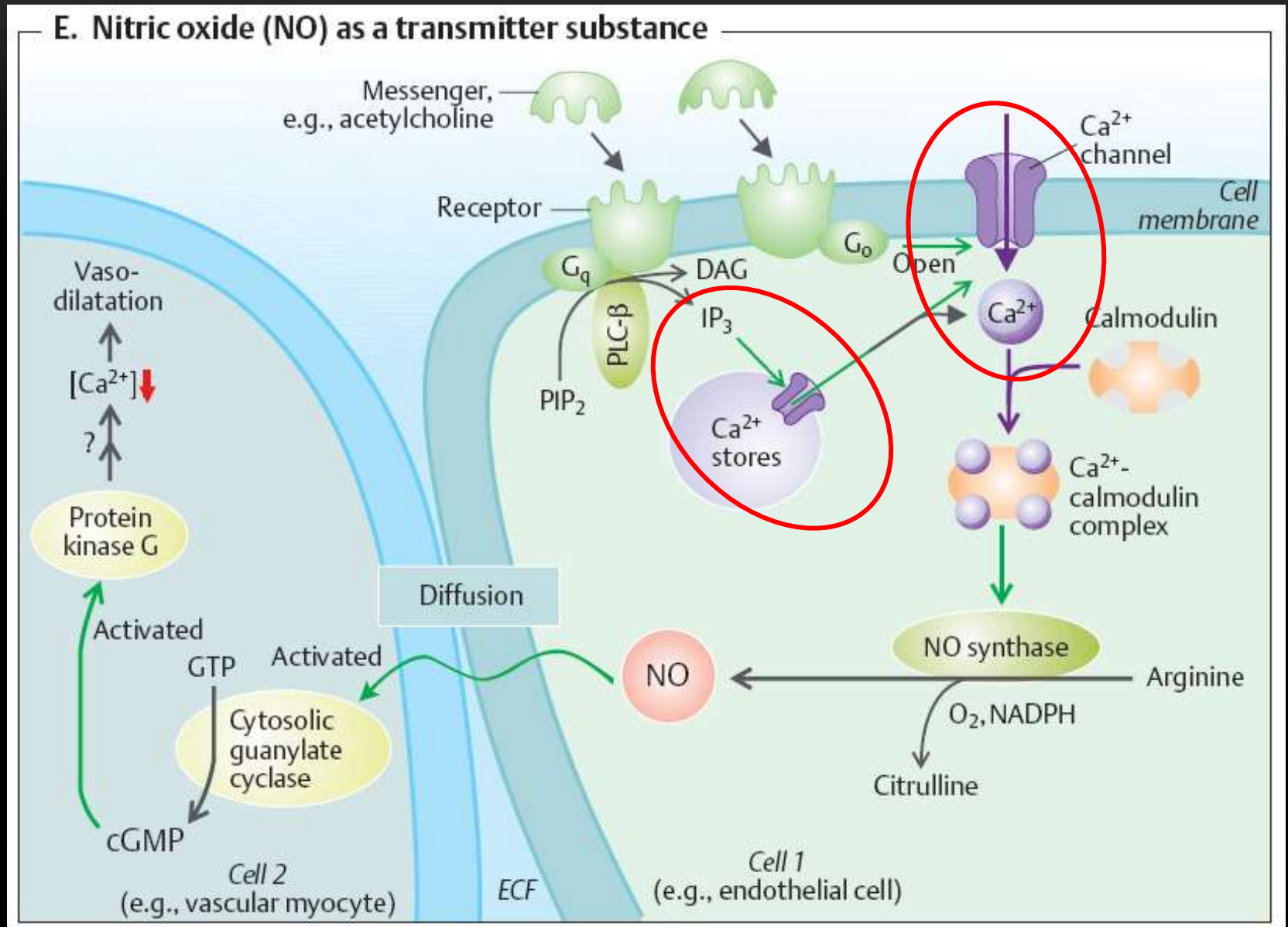


Už jste se mimo NS potkali s kanály?

Všude, kde je jako  
druhý nebo třetí  
posel  
IP<sub>3</sub> a Ca signál

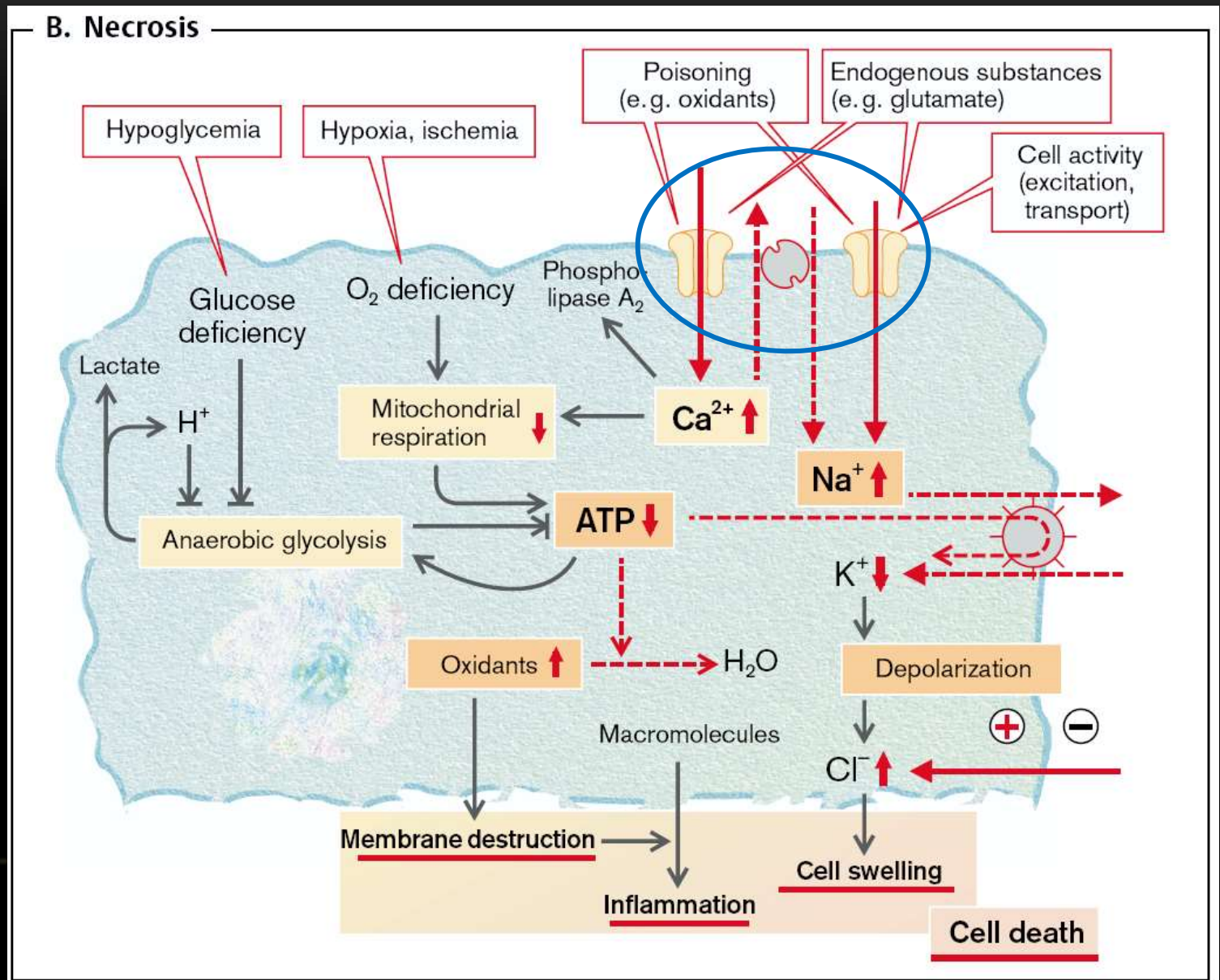


Už jste se mimo NS potkali s kanály?



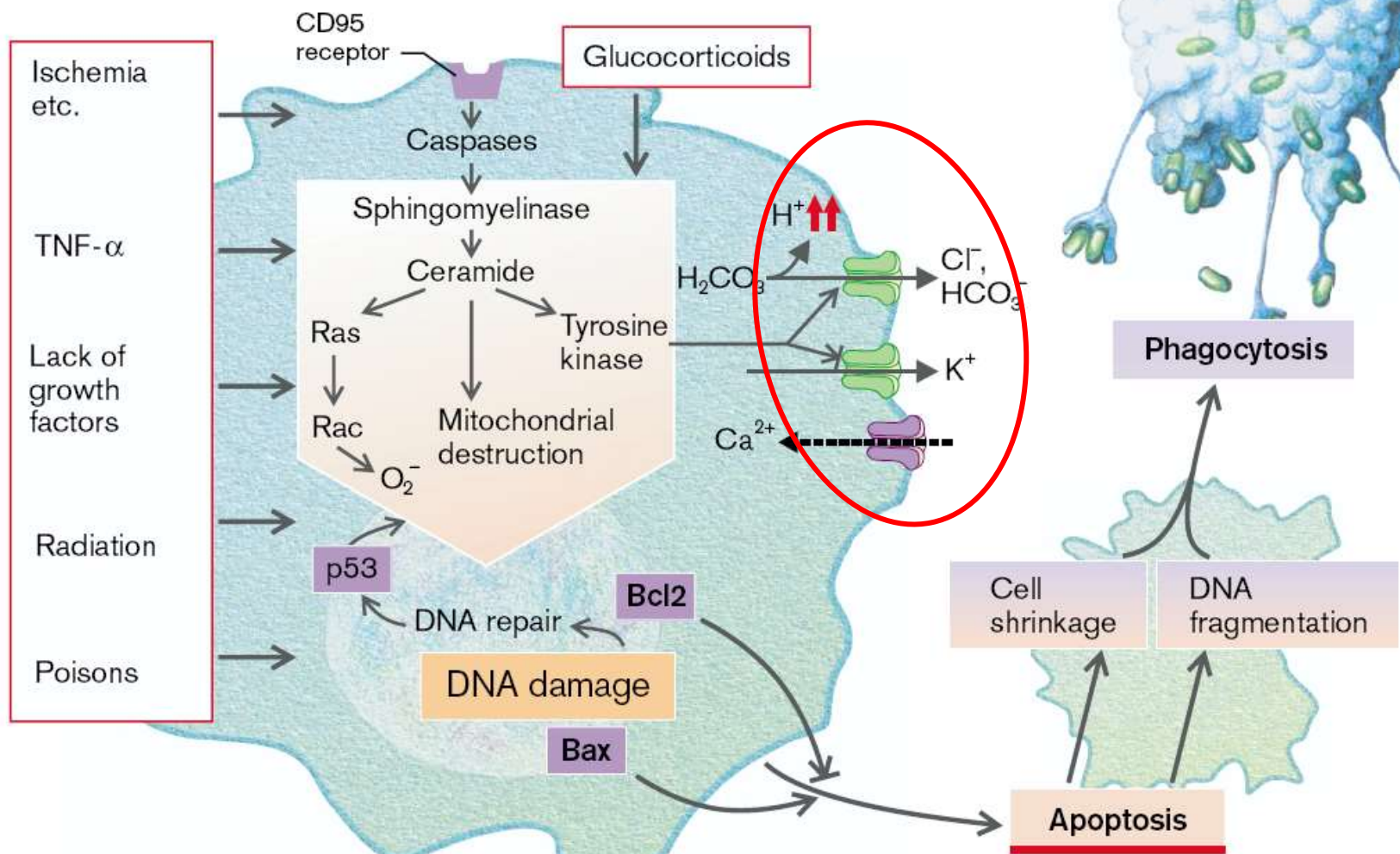


Už jste se mimo NS potkali s kanály?



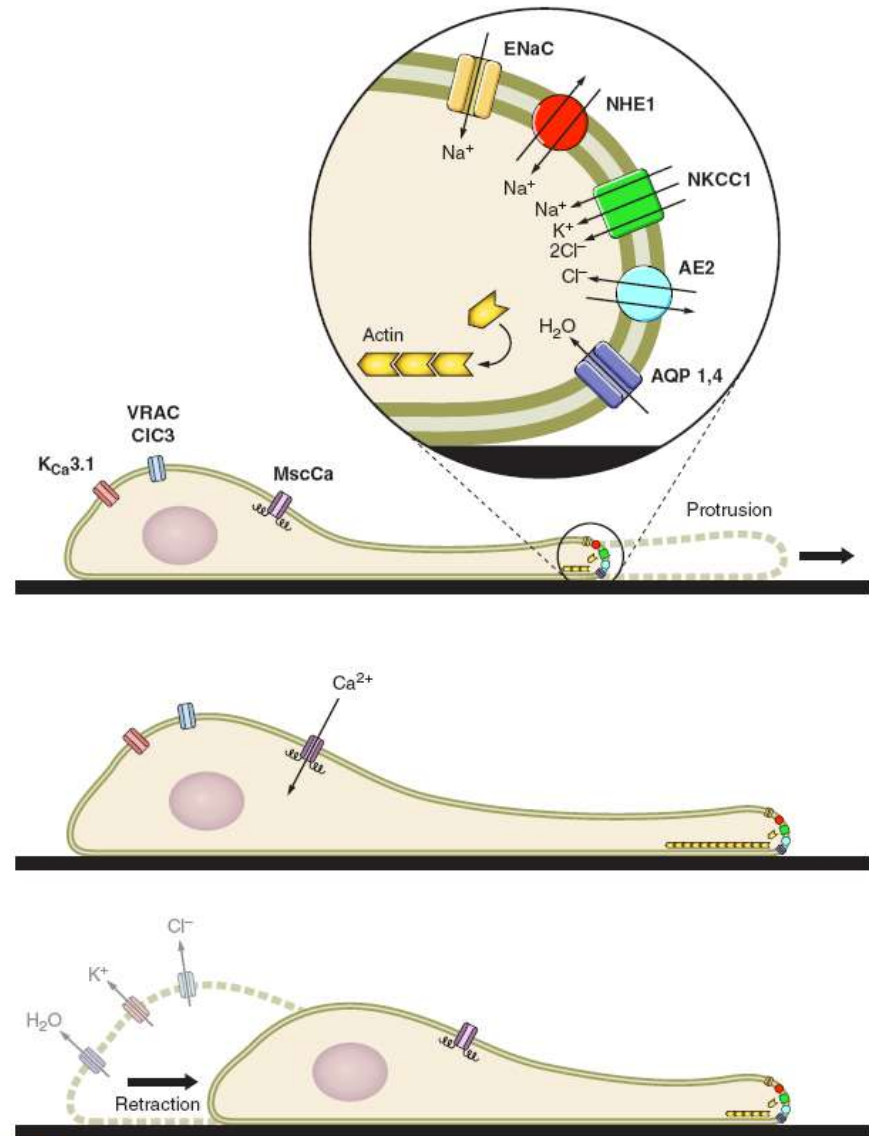
# Už jste se mimo NS potkali s kanály?

## A. Triggering and Development of Apoptosis



# Už jste se potkali s kanály?

## Buněčná migrace



**FIGURE 2.** Cell volume changes during cell migration. Cell migration is a continuous cycle of protrusion of the cell front and retraction of the trailing end. This can be modeled as a cycle of isosmotic volume increase at the cell front and isosmotic volume decrease at the rear end. This model is based on direct measurements of volume changes in migrating cells [211, 515, 620] and on the subcellular distribution of the relevant ion transport proteins and aquaporins. The molecular nature of the mechanosensitive Ca<sup>2+</sup> channels implicated in this model is still elusive. The scheme illustrates how members of the "transportome" cooperate during cell migration.

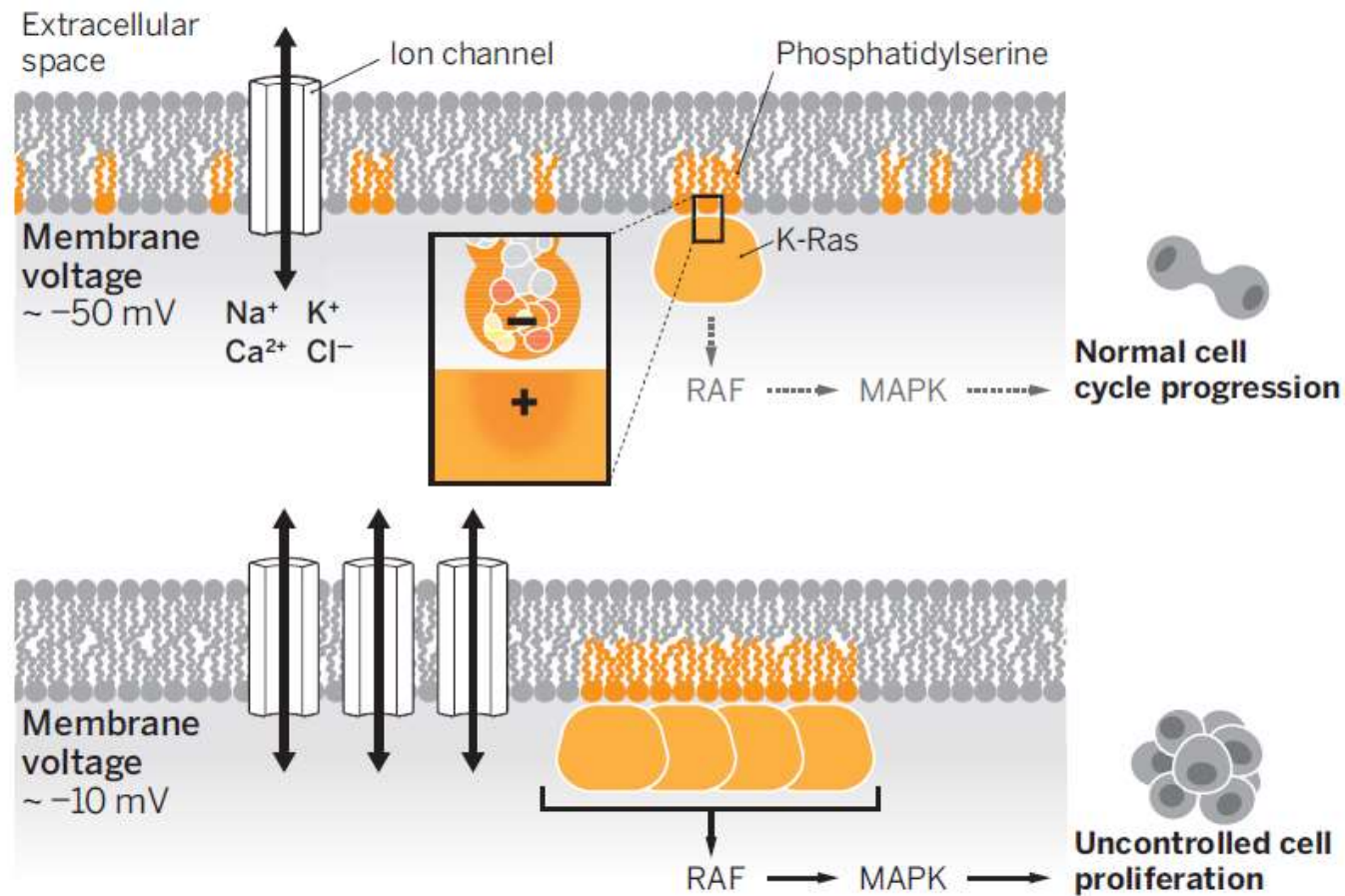


Increasing evidence suggests that ion channels and pumps are involved in the regulation of cell proliferation and migration, and channel proteins have been shown to form macromolecular complexes with cell adhesion molecules and other signaling proteins.

...it is being increasingly suggested that regulation of ion channels and pumps could contribute to cancer progression.

Frontiers in Cellular Neuroscience | [www.frontiersin.org](http://www.frontiersin.org) 1 March 2015 |  
Volume 9 | Article 86

---



**Potential and proliferation.** In a normal, nonproliferating cell, the resting membrane potential ( $V_m \approx -50$  mV) is set by ion channel activity. Phosphatidylserine lipids are in small clusters that localize with K-Ras, which leads to low activation of the RAF-MAPK pathway. Channel overexpression depolarizes the cell ( $V_m \approx -10$  mV), increasing the clustering of phosphatidylserine and K-Ras. This promotes RAF-MAPK signaling uncontrolled cell proliferation.

Plasma membrane depolarization can trigger cell proliferation. By responding to voltage-induced changes in phosphatidylserine spatiotemporal dynamics, K-Ras nanoclusters set up the plasma membrane as a biological field-effect transistor, allowing membrane potential to control the gain in mitogenic signaling circuits.

SCIENCE sciencemag.org 21 AUGUST 2015 • VOL 349 ISSUE 6250

Kanály tedy řídí pasivní transport látek i předávají signály:

Spolupracují na udržení osmolality, pH a membránového potenciálu.

Podílí se na signalizaci i mimo NS: celá Ca signalizace, svalový stah, buněčné signály nekrózy, apoptózy, hemostázy (destičky) atd.

Podílí se na řízení proliferace, migrace buněk, buněčné morfologie, karcinogeneze, angiogeneze, vazomotoriky,

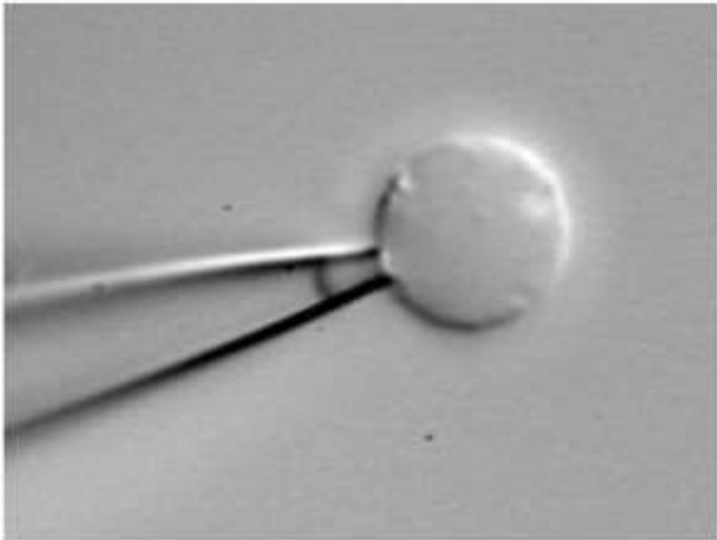
Poruchy kanálů – např. srdce, cystická fibróza, vznik malformovaných metastazujících buněk.

**Možná otázka**

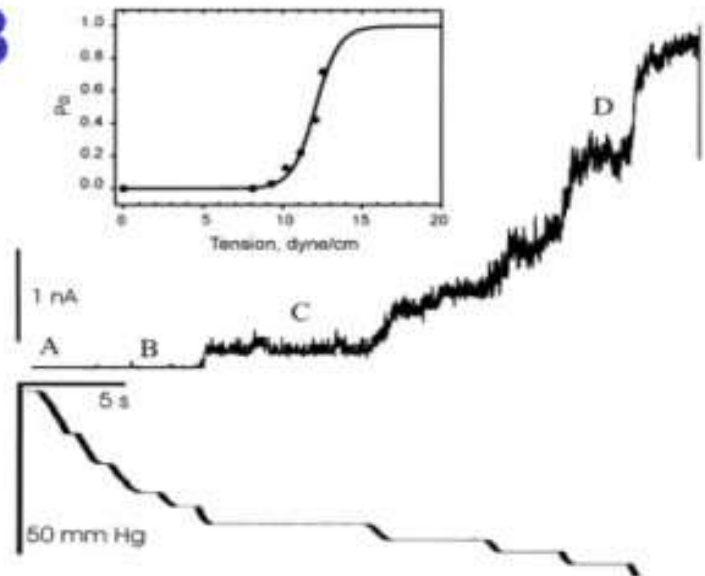
Jak se kanály zkoumají?

Terčíkový zámek (Patch clamp) – vidíme, jak kanál pracuje

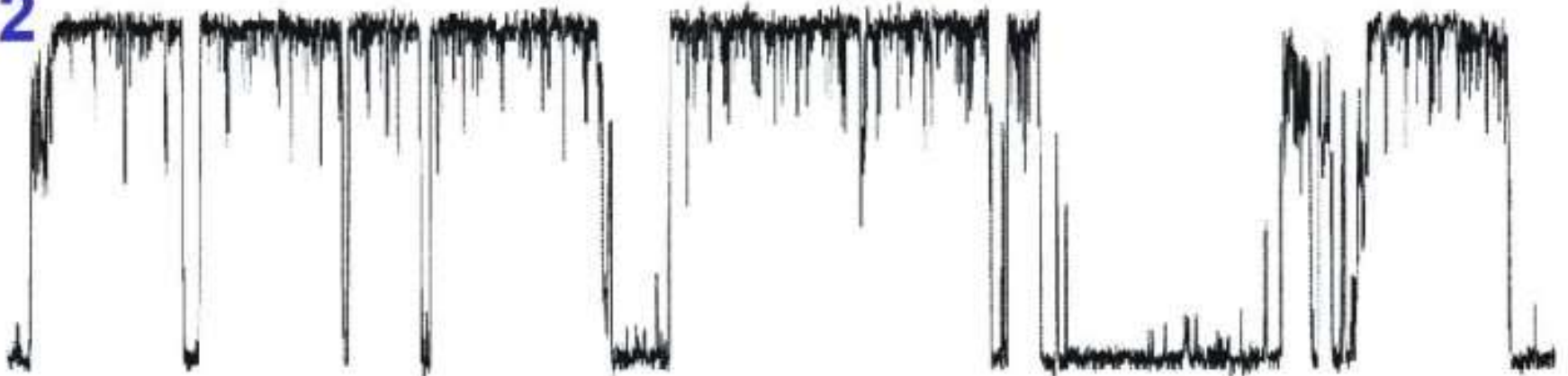
1



3

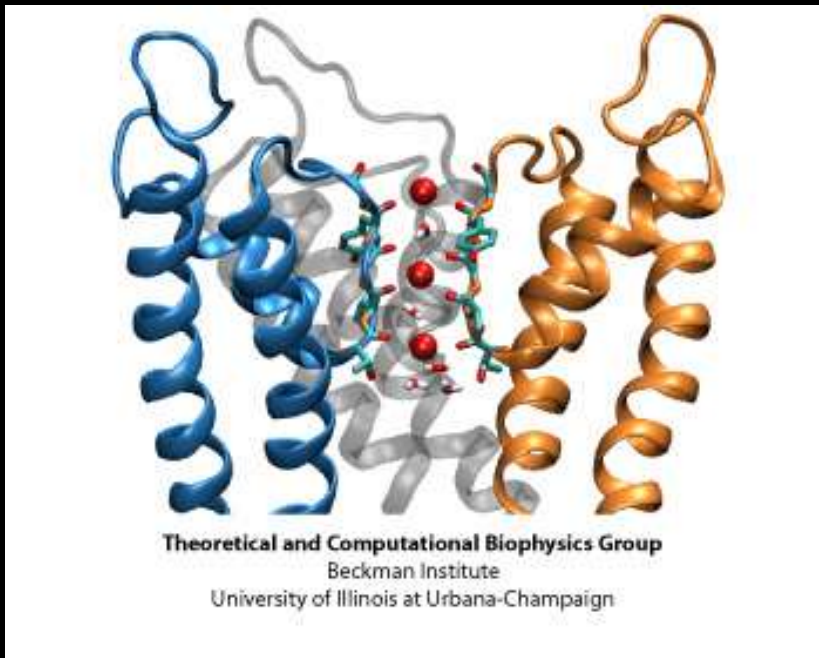
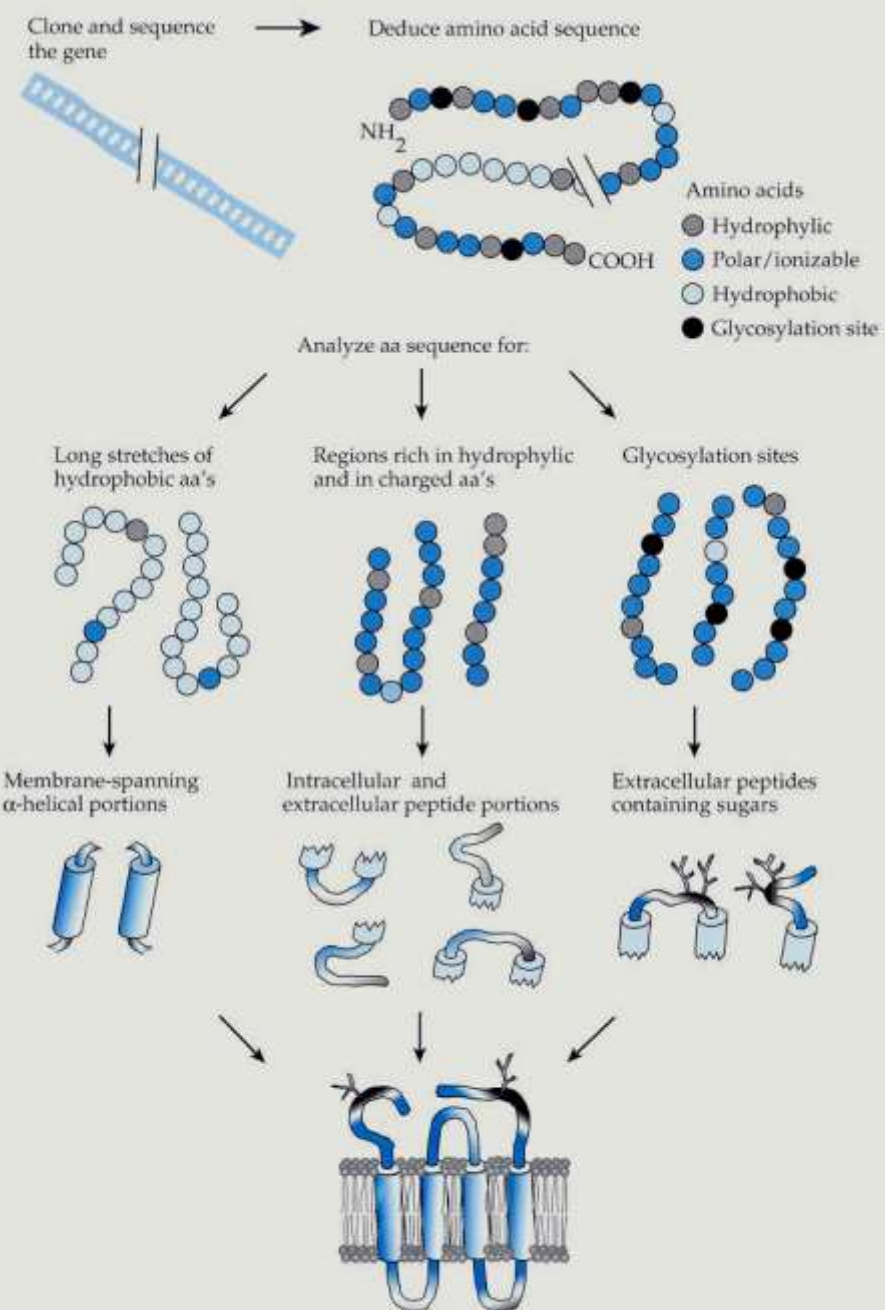


2



# Jak se kanály zkoumají?

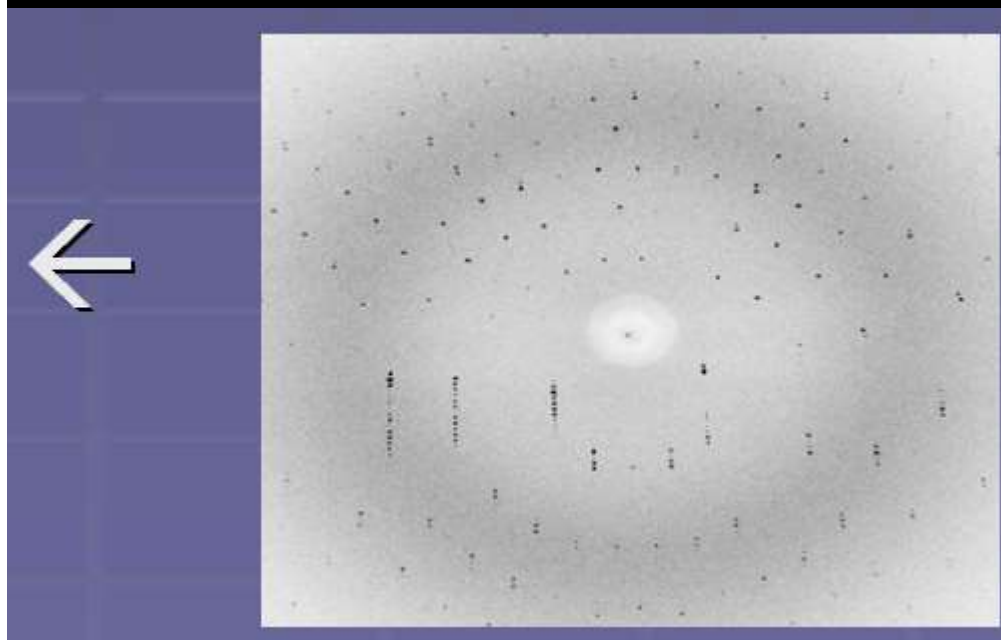
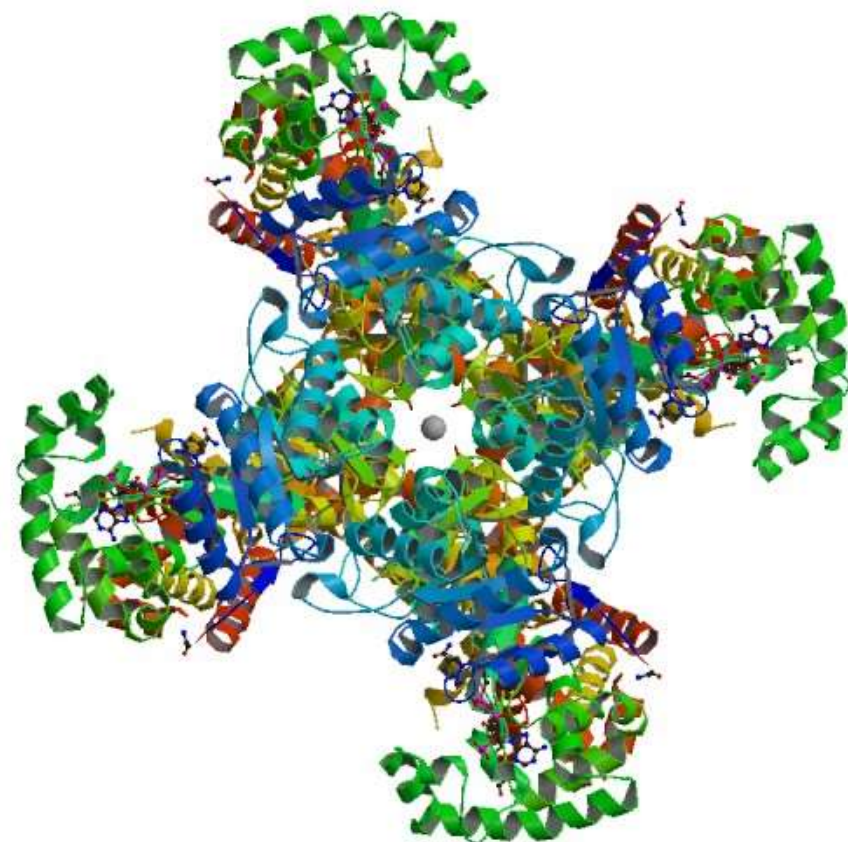
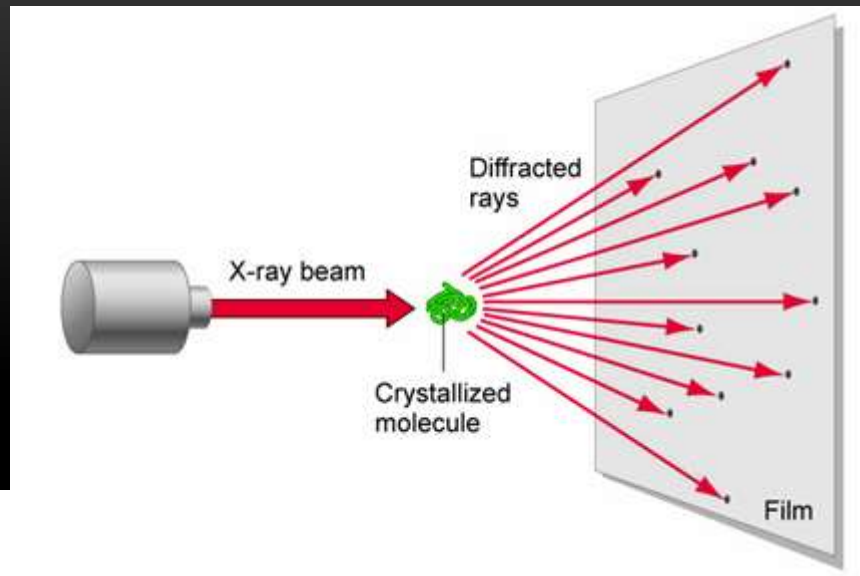
analýza sekvence AK –  
Prostorová rekonstrukce ze složení  
řetězce.



**Figure 1.10**  
**Analysis of hydrophathy and the folding of membrane proteins** The amino acid sequence of a membrane protein can be used to make inferences about protein structure, as described in the text.



# X ray krystalografie - vzhled





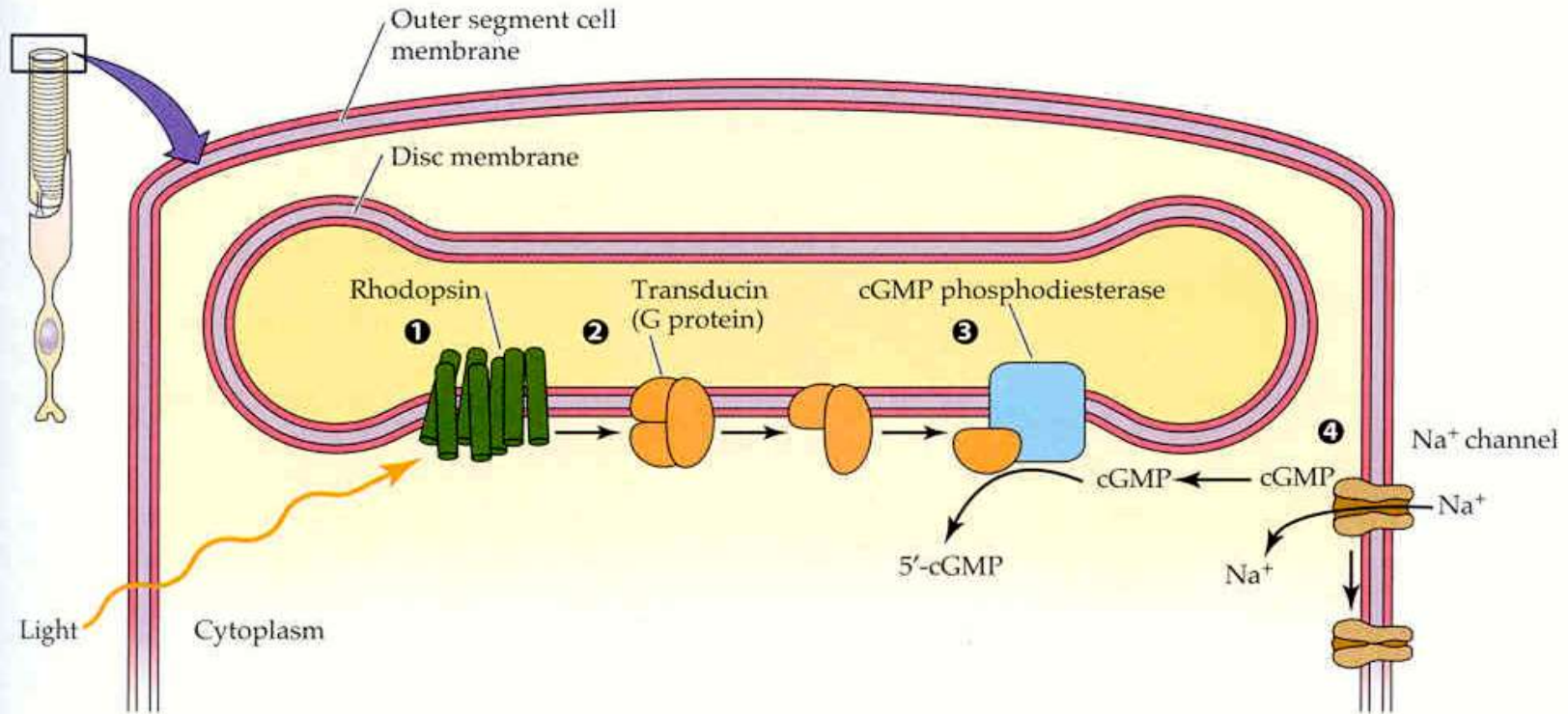
Jak se kanály zkoumají?

**Možná otázka**

# FOTORECEPCE - ZRAK



# Rhodopsin

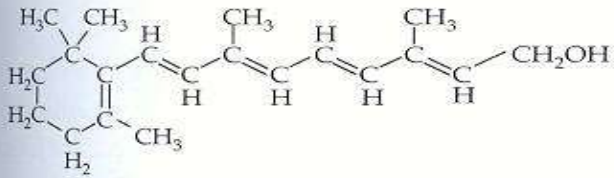


**Figure 13.14 Phototransduction closes cation channels in the outer segment of the photoreceptor membrane** In the dark, the cation channels are kept open by intracellular cGMP and conduct an inward current, carried largely by  $\text{Na}^+$ . When light strikes the photoreceptor, these channels are closed by a G protein-coupled mechanism. **1** Rhodopsin molecules in the disc membrane absorb light and are acti-

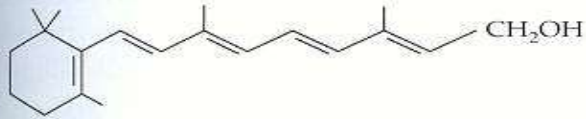
vated. **2** The activated rhodopsin stimulates a G protein (transducin in rods), which in turn activates cGMP phosphodiesterase. **3** The phosphodiesterase catalyzes the breakdown of cGMP to 5'-GMP. **4** As the cGMP concentration decreases, cGMP detaches from the cation channels, which close.

Od 70. let obecné schéma G-proteinové signalizace  
Nejprozkoumanější kaskáda

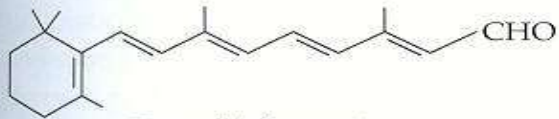
(a) Retinal and vitamin A



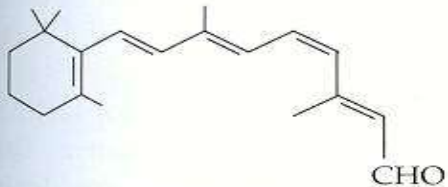
Complete structure of vitamin A (all-trans)



Condensed structure of vitamin A (all-trans)

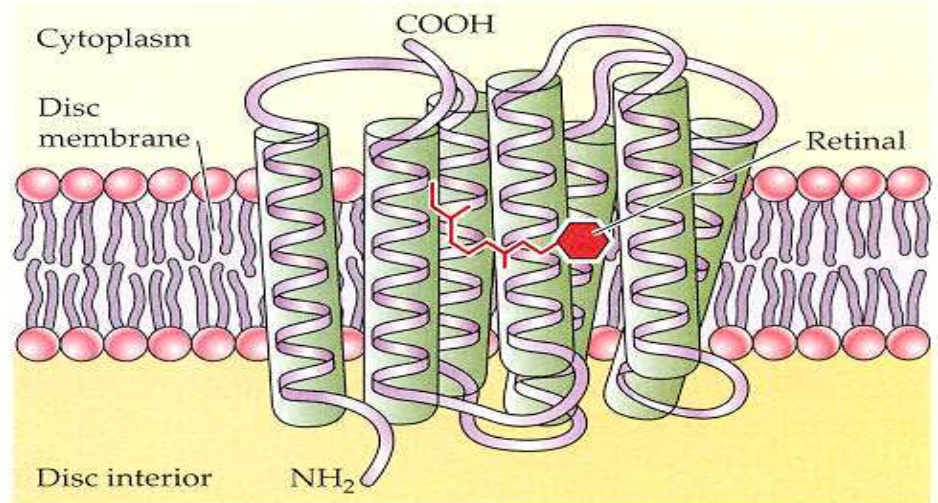
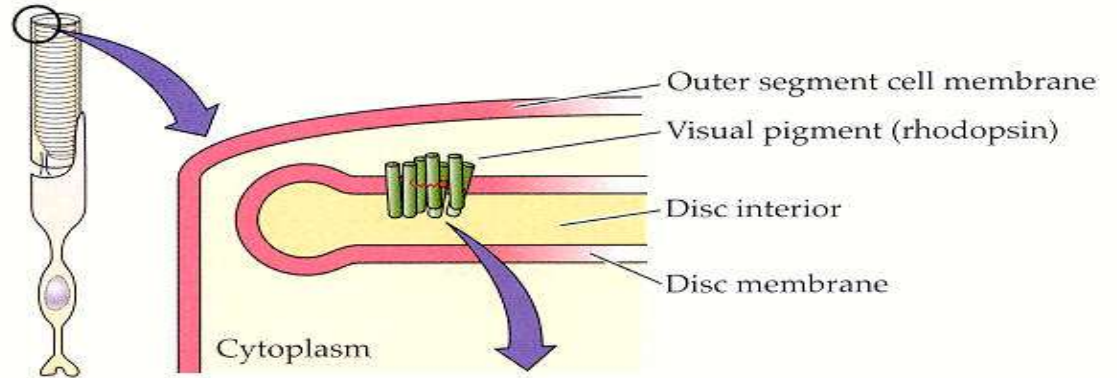


Retinal (all-trans)



Retinal (11-cis)

(b) Opsin



Prostetická skupina – chromofor nezbytná pro absorpci vyšších délek  
 Chromofor ve funkci ligandu, světlo iniciuje

Drosophila jako užitečný model zrakové (a i jiné) transdukce:

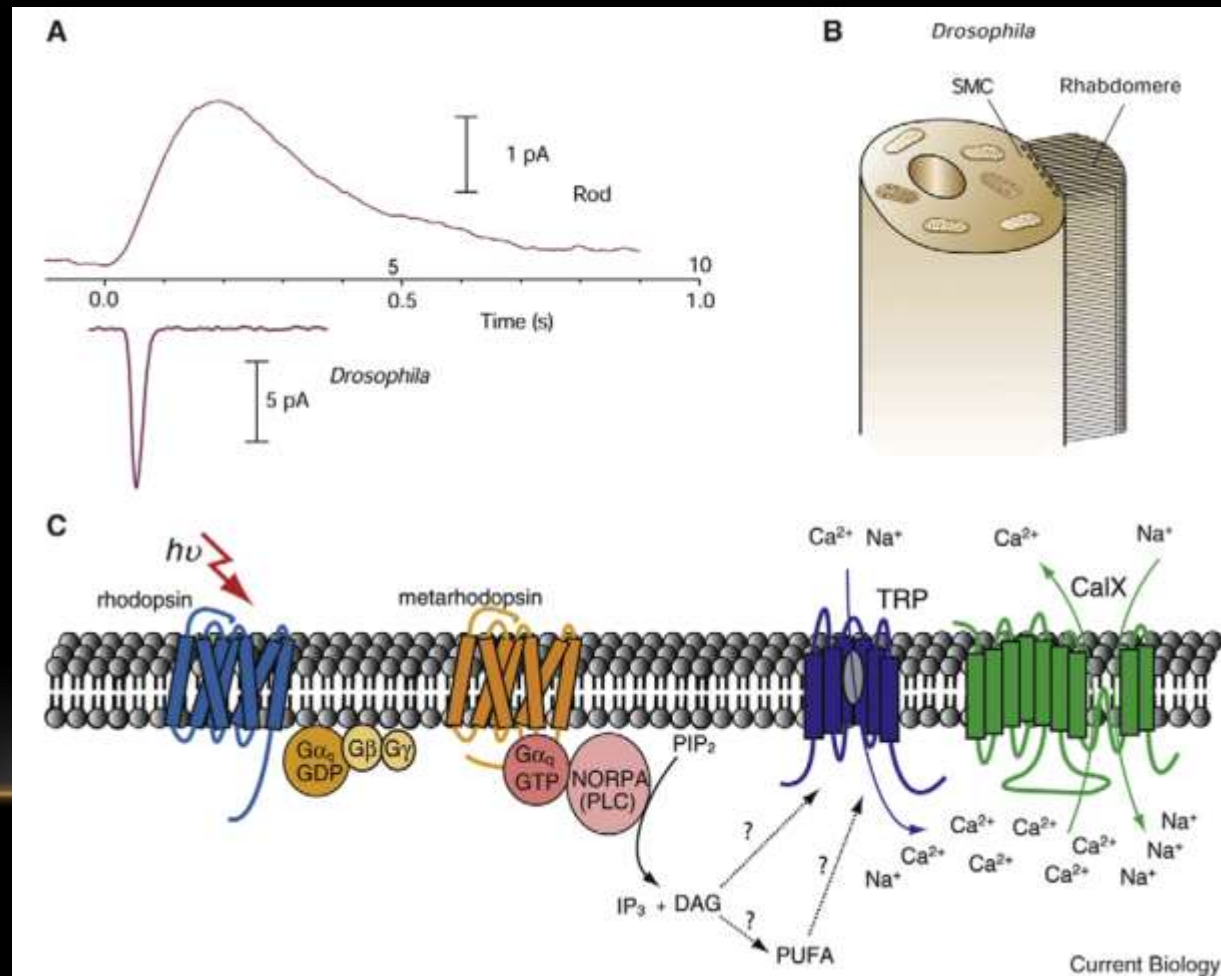
Mimořádné zesílení – reakce na jediný foton

Nízký šum ve tmě (spontánní termální izomerizace)

Široká adaptace – rozsah až  $10^6$  (arrestin, Ca)

Rychlá terminace odpovědi

Nejrychlejší známá G signální dráha – 10x než obratlovci (10Hz u člověka)

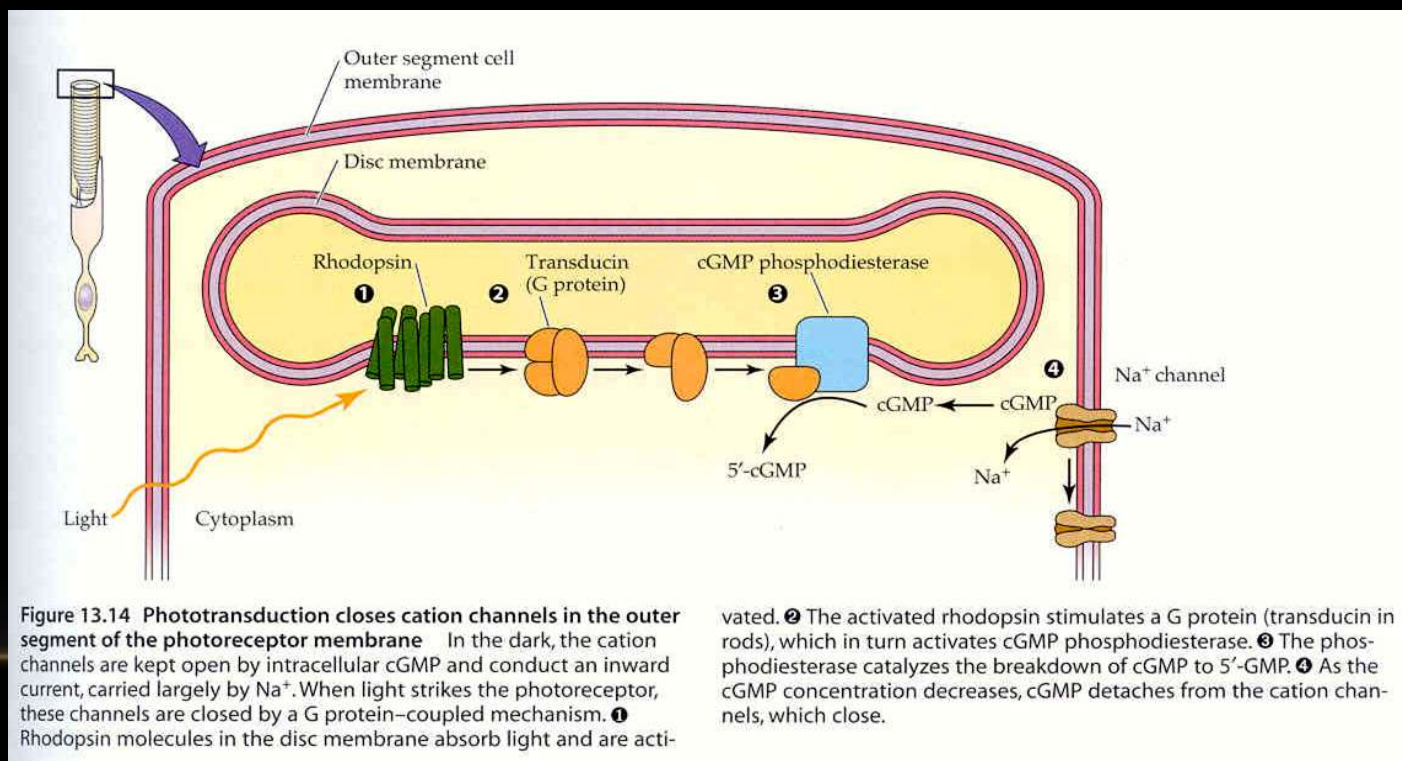




## *Drosophila jako užitečný model zrakové transdukce:*

Taková rychlost? PLC octomilky je jeden z nejvýkonnějších známých enzymů-  
limitem je jen přísun cGMP

Výkonnost transdukce omezena pouze difuzním pohybem v membráně.



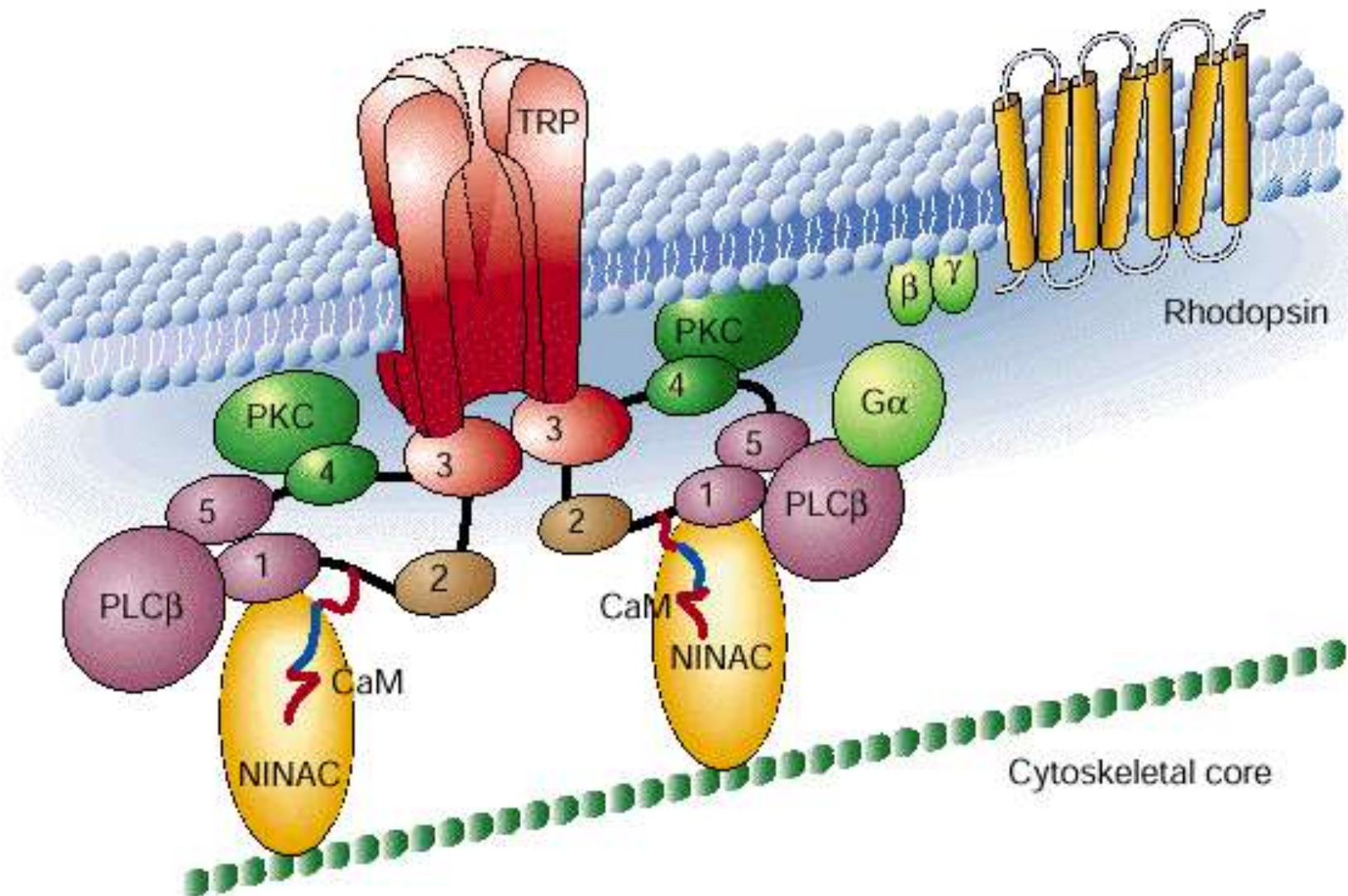


*Drosophila jako užitečný model zrakové transdukce:*

Difuzní model signálového přenosu x Signalplex, scaffolding proteins

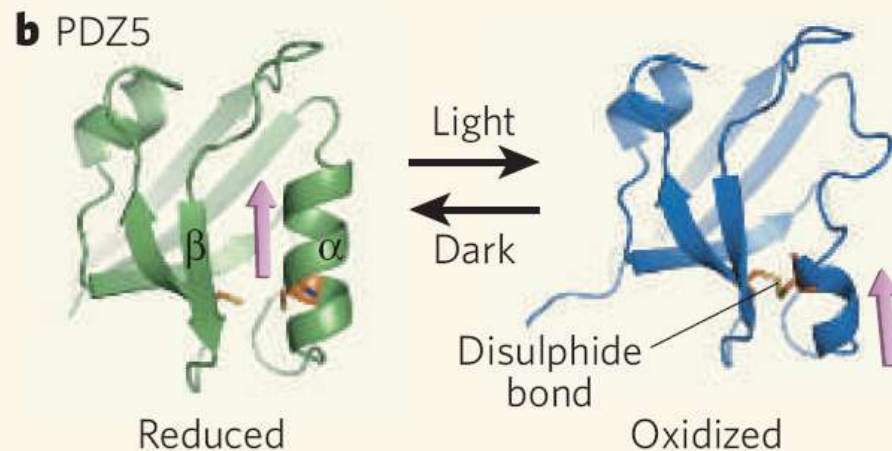
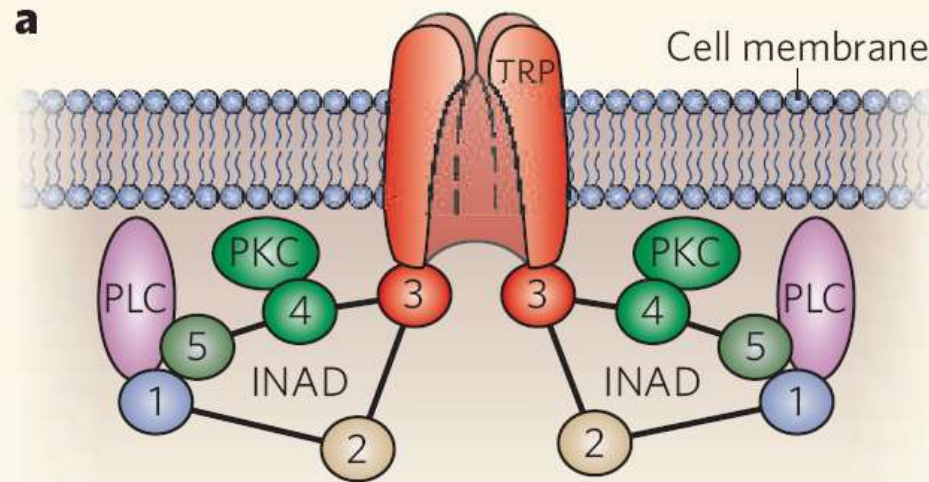
Multimolekulární signalizační komplex zvyšuje rychlost a specifitu „rozhovorů“

TRP kanál (transient receptor potential) popsán u D.m. – viz dále



## *Drosophila* jako užitečný model zrakové transdukce:

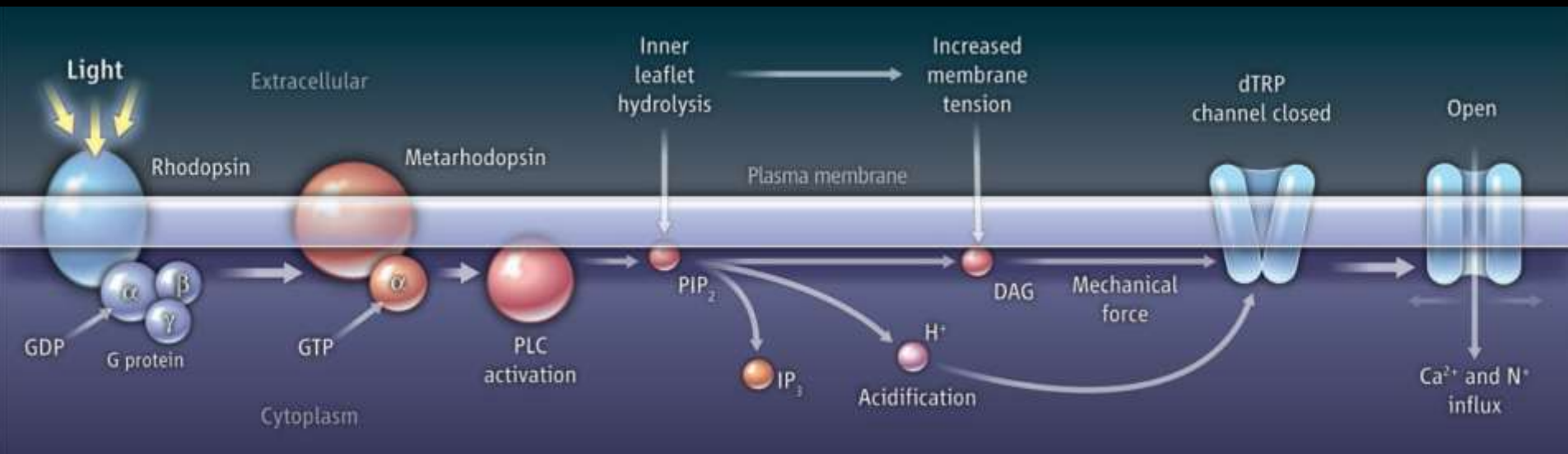
Organizace proteinů signalplexu  
v čase a prostoru – oddělení, zhašení  
v odpověď na světlo



**Figure 1 | Phototransduction in *Drosophila* and the INAD complex.** **a**, The five PDZ domains of INAD (1–5) assemble components of the phototransduction cascade, including PLC, the TRP channel and PKC, into a signalling complex at the cell membrane. **b**, Mishra *et al.*<sup>2</sup> report that, in response to light, the PDZ5 domain of INAD undergoes a conformational change. In the dark, PDZ5 is in its canonical, reduced form, in which a groove between an  $\alpha$ -helix and a  $\beta$ -sheet serves as a ligand-binding site. After stimulation with light, the PDZ5 domain undergoes a conformational change to an oxidized state, whereby the formation of a disulphide bond between two cysteine residues results in the unravelling of the  $\alpha$ -helix and the distortion of the ligand-binding groove. Following this conformational switch, the ligand (arrowed) — putatively part of the PLC enzyme — can no longer bind. (Adapted from ref. 2.)

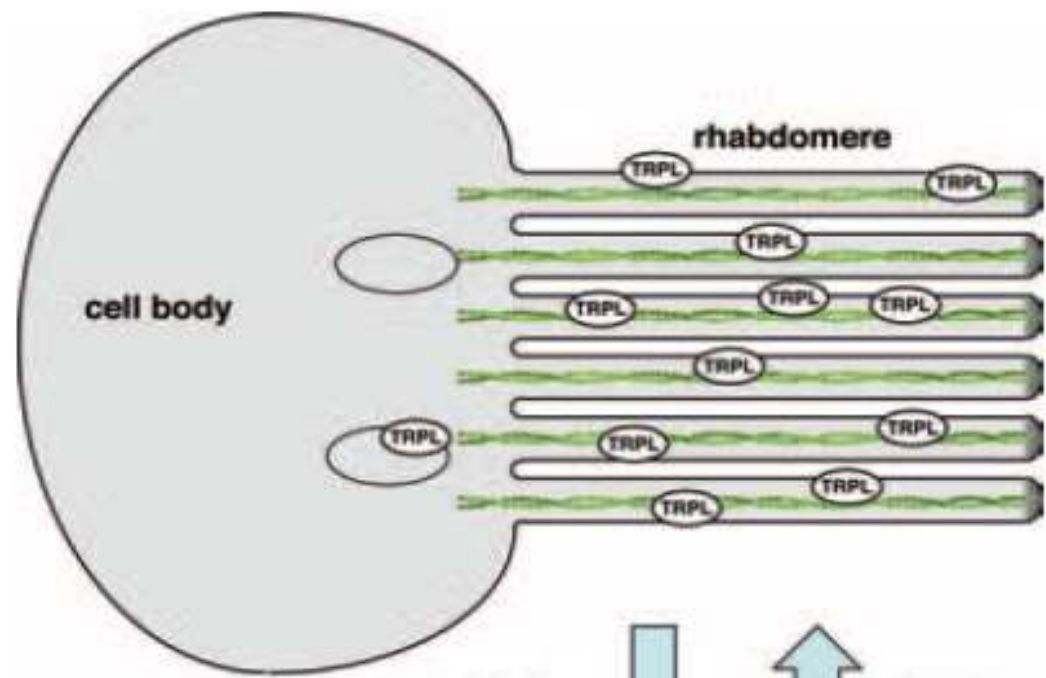
## *Drosophila* jako užitečný model zrakové transdukce:

How does a light stimulus lead to the opening of TRP channels?  
Surprising link between light-activated changes in membrane tension and the opening of TRP channels

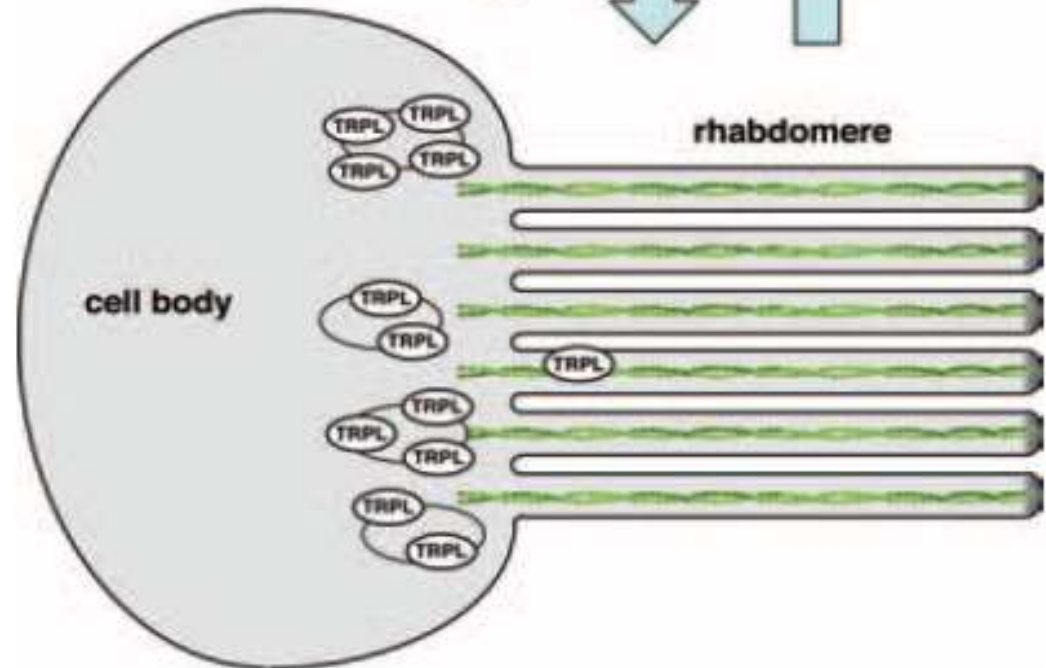




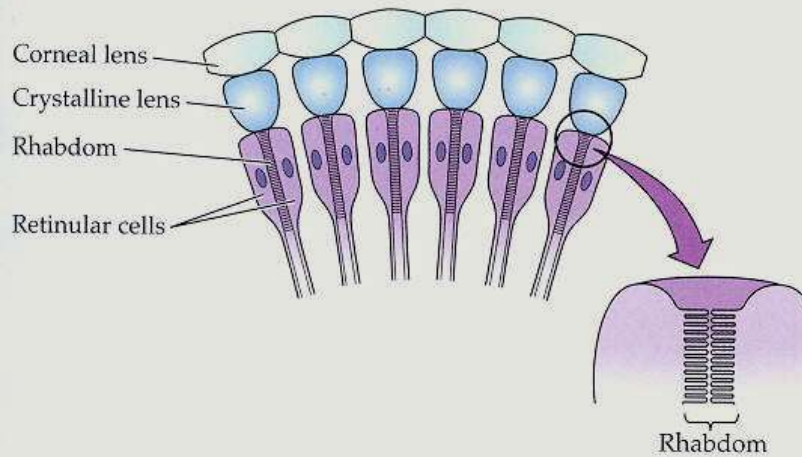
*Drosophila* jako užitečný model  
zrakové transdukce:  
Taková adaptace?  
Translokace TRP signalplexu –  
mechanismus adaptace  
na tmu a světlo



**light** ↓ ↑ **dark**



(a) Ommatidia





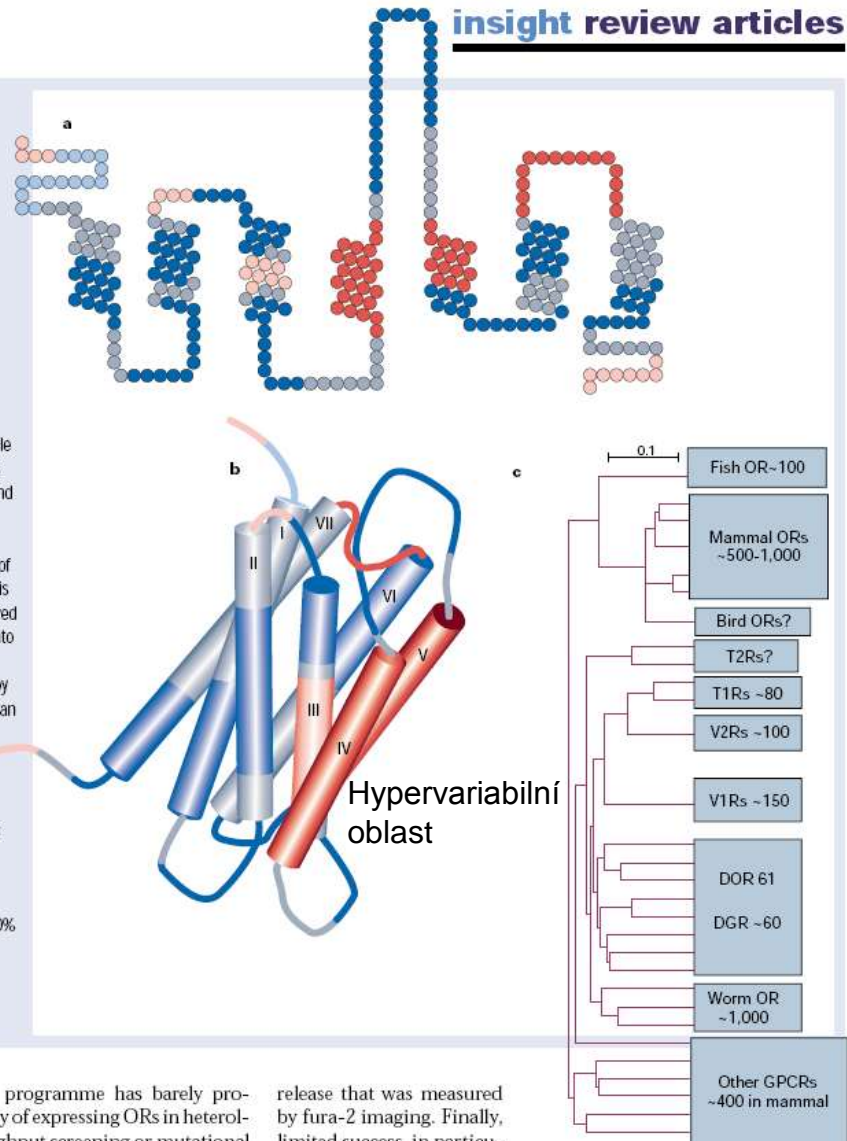
Čím přispěl výzkum fotorecepce *Drosophily* do poznání buněčné signalizace?  
Co je to signálový komplex (transducizóm nebo také signalplex) a jaký má význam?

**Možná otázka**

# Chemorecepce - čich



**Figure 2** Odorant receptors are the jewel of olfactory research in the past 10 years. The odorant receptors comprise the largest family of GPCRs. In mammals, odor receptors are represented by as many as 1,000 genes and may account for as much as 2% of the genome. Sequence comparison across the receptors has revealed many regions of conservation and variability that may be related to function. **a**, In a 'snake' diagram showing the amino acids for a particular receptor (M71), those residues that are most highly conserved are shown in shades of blue and those that are most variable are shown in shades of red. The seven  $\alpha$ -helical regions (boxed) are connected by intracellular and extracellular loops. **b**, A schematic view of the proposed three-dimensional structure of the receptor based on the recently solved structure of rhodopsin. Each of the transmembrane regions is numbered according to that model. The conserved (blue) and variable (red) regions are sketched onto this qualitative view and suggest that a ligand-binding region may be at least partially formed by the variable regions of the receptor. **c**, Mammalian odor receptors are related phylogenetically to other chemosensory receptors. In the tree depicted here the numbers refer to the approximate number of receptors in each family. OR, Odorant receptors; T1R, T2R, taste receptors; V3R, vomeronasal receptors; DOR, DGR, *Drosophila* odour and gustatory receptors; worm refers to *C. elegans*. The scale bar is a graphical distance equal to 10% sequence divergence.



But this ambitious experimental programme has barely progressed, owing to the puzzling difficulty of expressing ORs in heterologous systems suitable for high-throughput screening or mutational

release that was measured by fura-2 imaging. Finally, limited success, in particu-

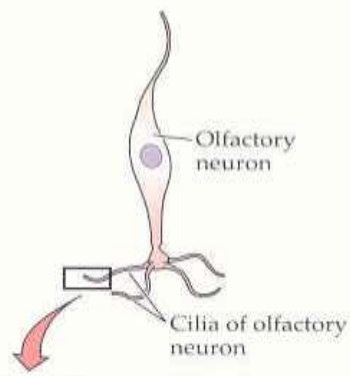
Hypervariabilní oblast

Všechny buňky umí čichat !  
 Nejstarší smysl  
 Konzervativní organizace  
 Podobnost s rhodopsinem  
 Jeden neuron – jeden receptor

Rozeznává tisíce látek  
 1000 genů – 3% genomu!  
 350 funkčních receptorů

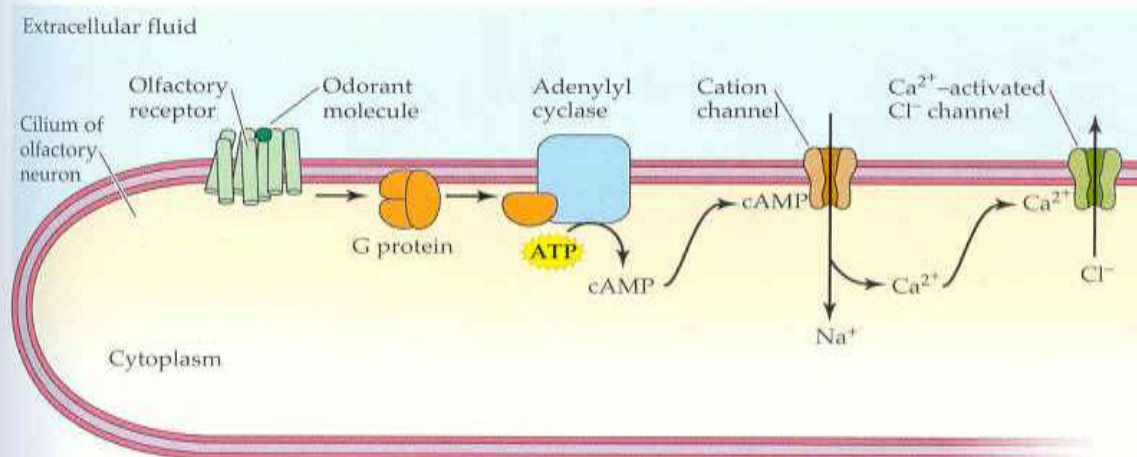
Kombinace 3.000-100.000  
 vůní (?)

Ale: 21 MARCH 2014 VOL  
 343 SCIENCE  
 10<sup>12</sup> – trilion vůní

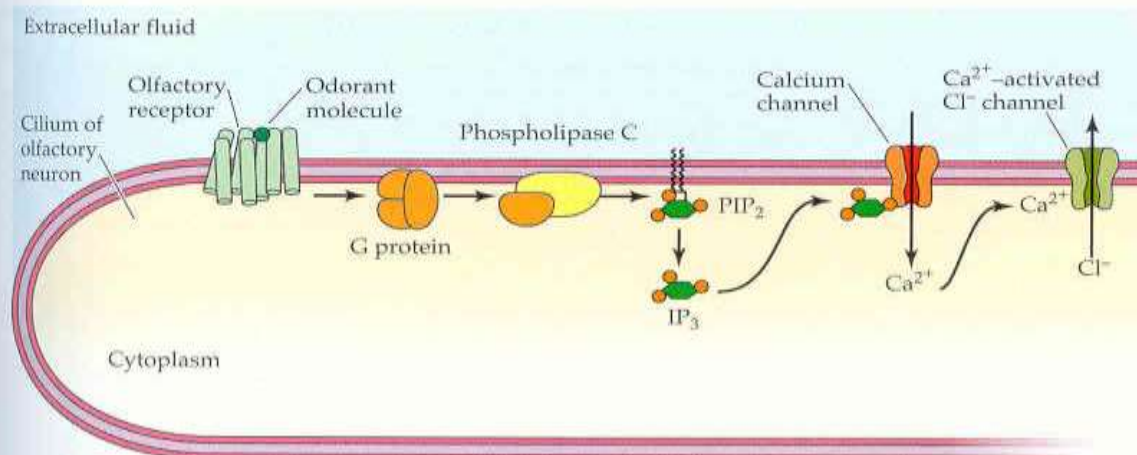


**Figure 13.36 Olfactory transduction mechanisms in cilia membranes of olfactory neurons** (a) Many odorants act to increase cyclic AMP. The odorant binds to an odorant receptor on the ciliary membrane; the receptor activates a G protein to activate adenylyl cyclase, producing cAMP. Cyclic AMP binds to and opens a cation channel, allowing entry of  $\text{Na}^+$  and  $\text{Ca}^{2+}$  ions to depolarize the cell.  $\text{Ca}^{2+}$  binds to  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{Cl}^-$  channels, augmenting the depolarization. (b) Some olfactory responses increase  $\text{IP}_3$ . This mechanism also starts with odorant binding to a G protein-coupled receptor, but in this case the G protein activates phospholipase C, forming  $\text{IP}_3$  from  $\text{PIP}_2$  (see Figure 12.21).  $\text{IP}_3$  binds to and opens a calcium channel, letting  $\text{Ca}^{2+}$  enter to depolarize the cell. As in (a),  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{Cl}^-$  channels augment the depolarization.

(a) Increase in cAMP



(b) Increase in  $\text{IP}_3$

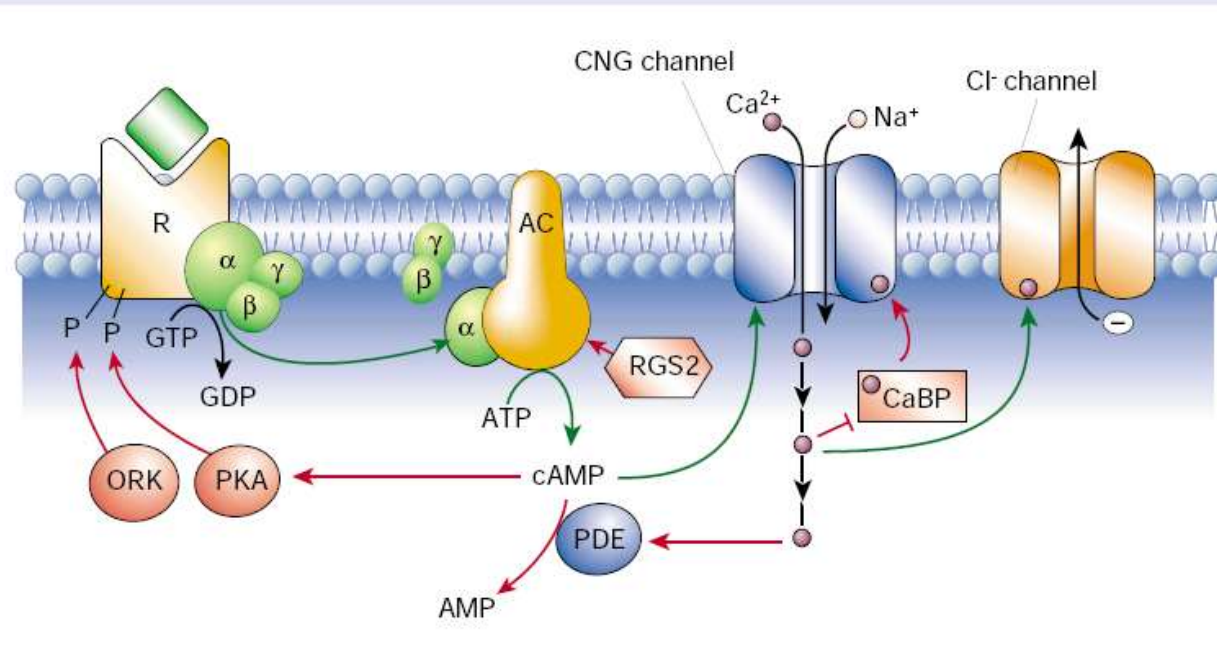


**G-prot. signální dráha**



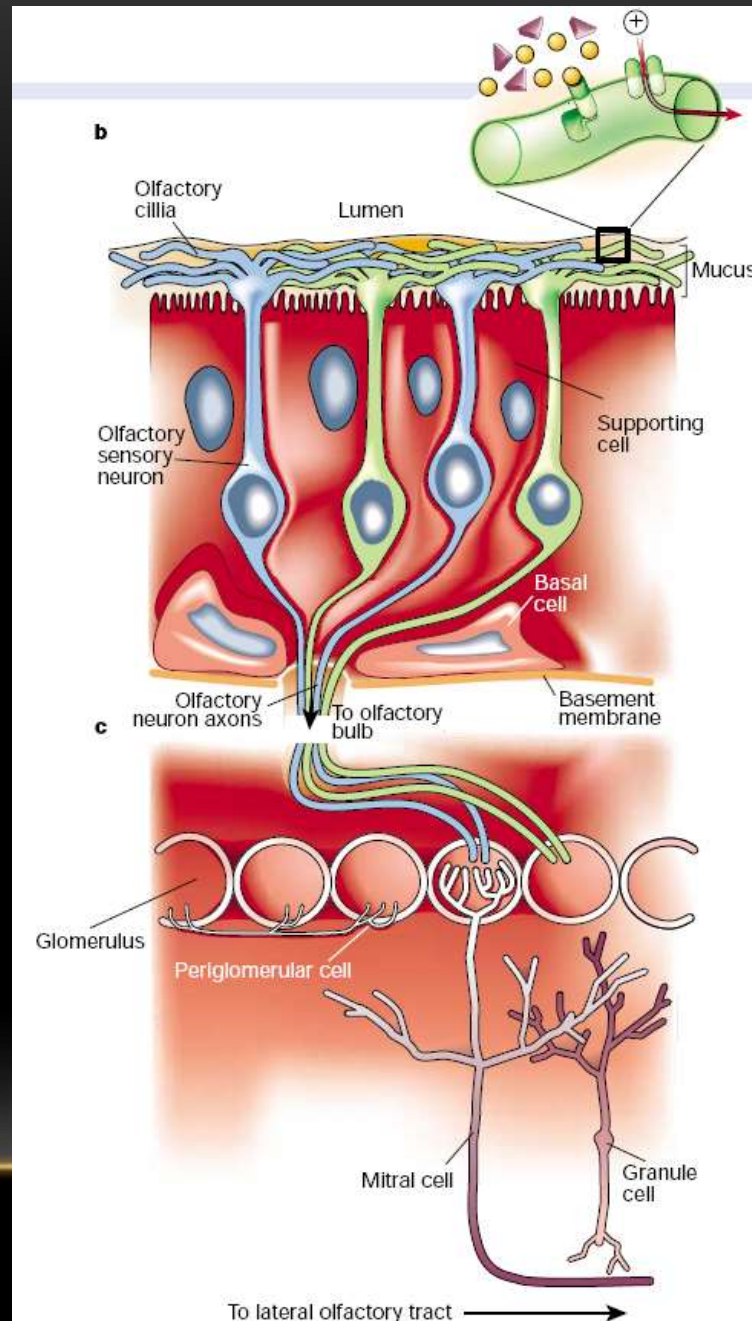
## G-prot. signální dráha

**Figure 3** Sensory transduction. Within the compact cilia of the OSNs a cascade of enzymatic activity transduces the binding of an odorant molecule to a receptor into an electrical signal that can be transmitted to the brain. As described in detail in the text, this is a classic cyclic nucleotide transduction pathway in which all of the proteins involved have been identified, cloned, expressed and characterized. Additionally, many of them have been genetically deleted from strains of mice, making this one of the most investigated and best understood second-messenger pathways in the brain. AC, adenylyl cyclase; CNG channel, cyclic nucleotide-gated channel; PDE, phosphodiesterase; PKA, protein kinase A; ORK, olfactory receptor kinase; RGS, regulator of G proteins (but here acts on the AC); CaBP, calmodulin-binding protein. Green arrows indicate stimulatory pathways; red indicates inhibitory (feedback).



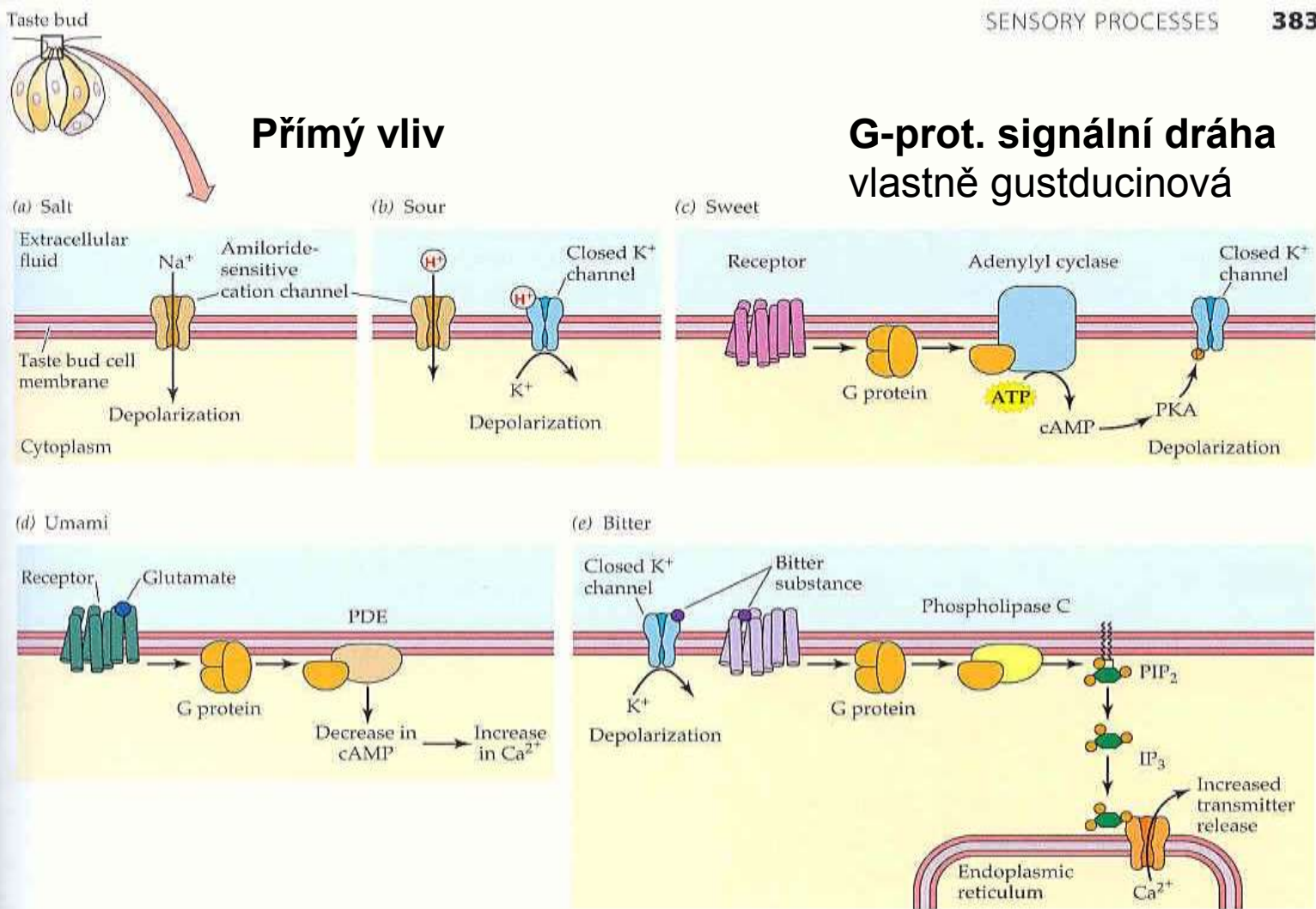
**2004 Nobelova cena**  
**50% léků působí přes G-proteinové signální dráhy**

Jeden neuron – jeden receptor –  
jedna základní vůně



# CHEMORECEPCE - CHUŤ





## G-prot. signální dráha vlastně gustducinová

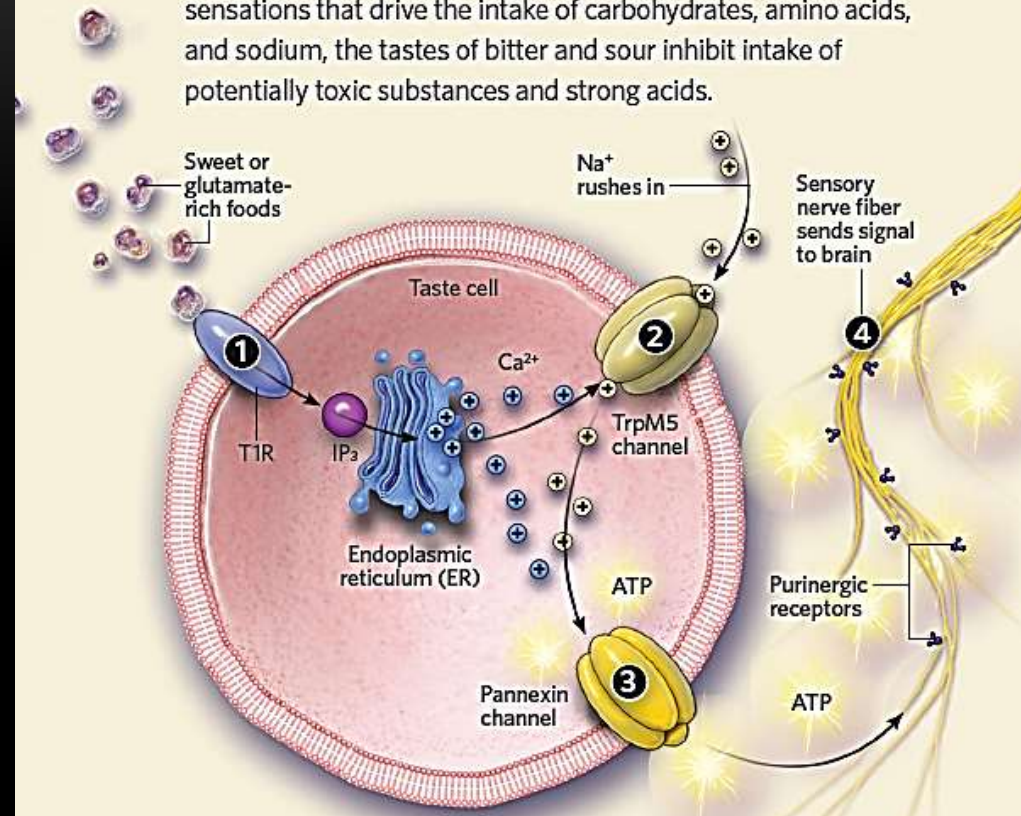
**Figure 13.34 Taste-transduction mechanisms differ for different taste qualities** All transduction mechanisms except the  $\text{IP}_3$  action in (e) lead to *depolarization*, which spreads to the basal end of the cell and opens voltage-gated  $\text{Ca}^{2+}$  channels to allow  $\text{Ca}^{2+}$  entry and transmitter release. (a) For salt taste, sodium ions enter a taste bud cell through amiloride-sensitive cation channels, directly depolarizing the cell. (b) In sour taste, either  $\text{H}^+$  ions enter the cell through amiloride-sensitive cation channels, or they close  $\text{K}^+$  channels to produce depolarization. (c) Sweet taste is most commonly mediated by the binding of sugars to a G protein-coupled receptor, which acts via a G protein to activate adenylyl cyclase and produce cyclic AMP. Cyclic AMP then activates protein kinase A (PKA) to close a  $\text{K}^+$  channel (by phosphorylating

it), producing depolarization. (d) The amino acid glutamate (monosodium glutamate, MSG) stimulates the taste quality umami (a savory or meaty quality). Glutamate binds to a G protein-coupled receptor (related to synaptic metabotropic glutamate receptors) to activate a phosphodiesterase (PDE) and decrease the concentration of cAMP. The decrease in cAMP leads to an increase in intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  concentration. (e) Bitter taste mechanisms can involve a G protein-coupled receptor for bitter substances that acts via a G protein and phospholipase C to produce  $\text{IP}_3$ .  $\text{IP}_3$  liberates  $\text{Ca}^{2+}$  ions from intracellular stores, eliciting transmitter release without requiring depolarization. Other bitter substances bind to  $\text{K}^+$  channels and close them to depolarize the cell.



## TASTE IN THE MOUTH

Taste-bud receptors, primarily on the tongue, sense the qualities of salty, sour, bitter, sweet, and umami (the taste of glutamate). While sweet, umami, and salty foods provide pleasurable sensations that drive the intake of carbohydrates, amino acids, and sodium, the tastes of bitter and sour inhibit intake of potentially toxic substances and strong acids.



### THE TASTE SIGNALING CASCADE IN THE MOUTH

The binding of molecular components of sweet or glutamate-rich foods to T1R-class receptors and bitter substances to T2R receptors stimulates the release of  $Ca^{2+}$  into the cytosol from the endoplasmic reticulum (ER) via G protein signaling and the second messenger molecule inositol trisphosphate (IP<sub>3</sub>) ①. The  $Ca^{2+}$  activates the TrpM5 channel to allow the entry of sodium ions ( $Na^{+}$ ), depolarizing the cell ②. The combination of depolarization resulting from the influx of  $Na^{+}$  and rise in intracellular  $Ca^{2+}$  opens pannexin channels in the taste-cell membrane, releasing ATP from the cell ③. This in turn activates purinergic receptors on the sensory nerve fibers innervating the taste buds, thereby sending a signal to the brain ④.

ANDREW SWIFT  
FOR THE SCIENTIST, NOVEMBER 2011

Všimněme si:  
TRP Na kanál (viz dále)  
ATP jako mediátor



## TASTE IN THE GUT

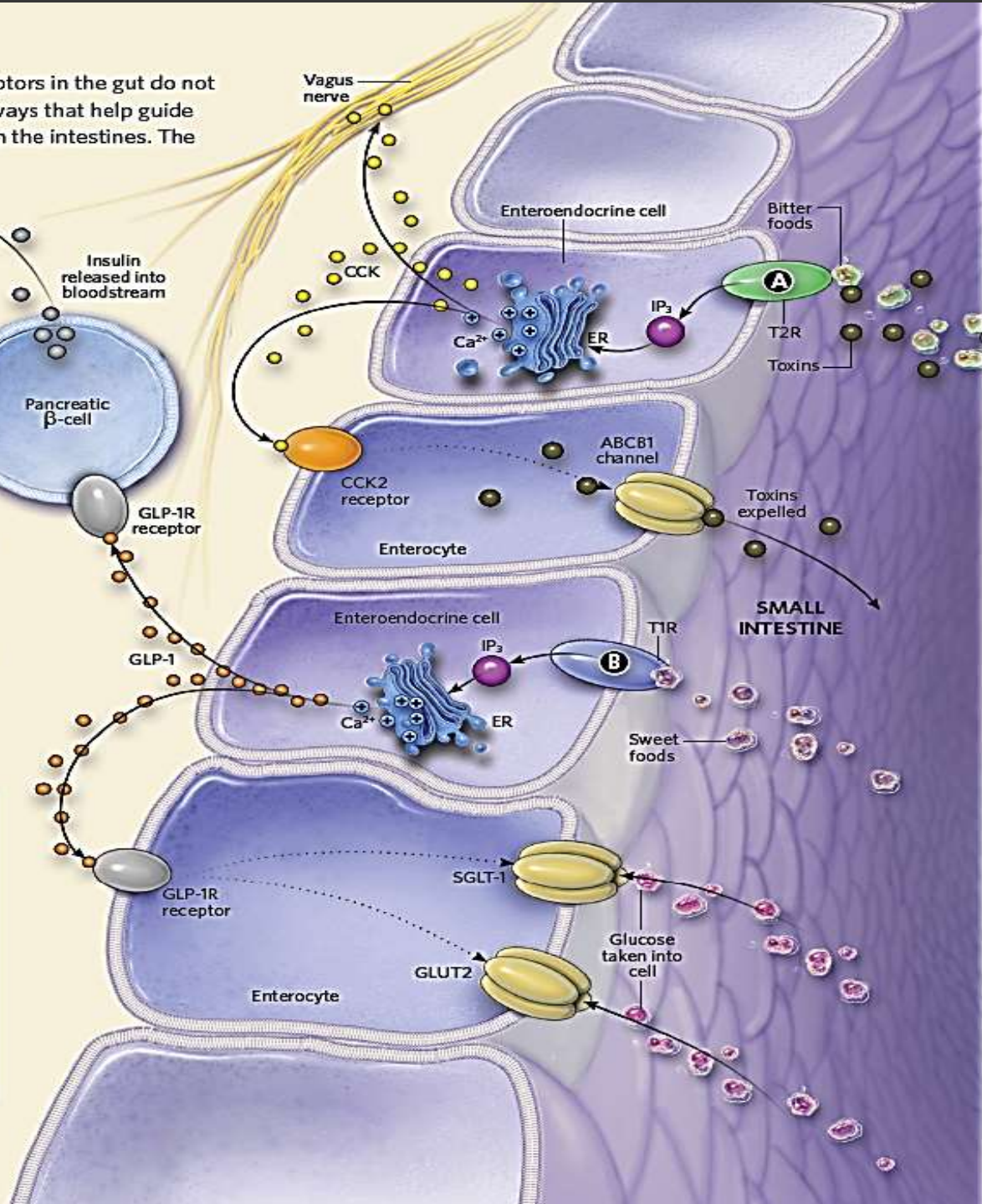
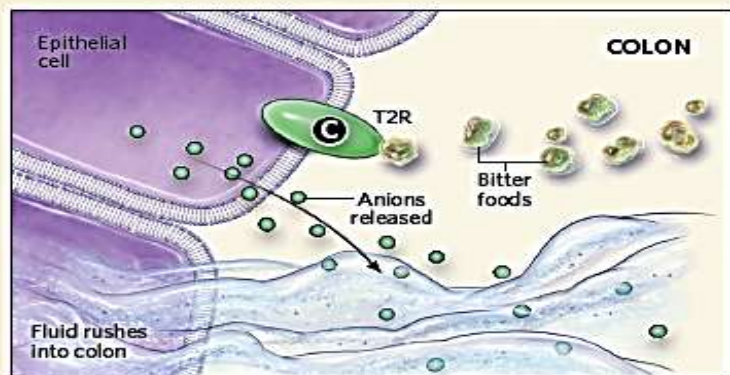
In contrast to taste receptors in the mouth, T1R and T2R receptors in the gut do not induce sensations of taste, but rather initiate molecular pathways that help guide the digestion or rejection of food substances traveling through the intestines. The underlying pathways, however, have many similarities.

### FOODS IN THE GUT

**A** Specialized endocrine cells of the small intestine, known as enteroendocrine cells, display T2R bitter receptors on their cell membranes. When bitter compounds bind to the T2R receptors, the cells release the peptide hormone cholecystikinin (CCK), which acts on CCK2 receptors located on enterocytes, or intestinal absorptive cells. This increases the expression of the transporter ABCB1, which pumps toxins or unwanted substances out of the cell and back into the intestinal lumen. CCK also binds to CCK1 receptors on sensory fibers of the vagus nerve, sending signals to the brain to cease food intake.

**B** T1R-class receptors on enteroendocrine cells lining the small intestine detect sweet substances and respond by secreting the glucagon-like peptide GLP-1. GLP-1 then travels to the pancreas via the bloodstream, where it boosts the release of insulin from pancreatic  $\beta$ -cells, promoting the uptake of glucose by diverse tissues. Additionally, GLP-1 diffuses to neighboring enterocyte cells in the small intestine, driving the insertion of the glucose transporters SGLT-1 and GLUT2, which facilitates the uptake of glucose from the intestines.

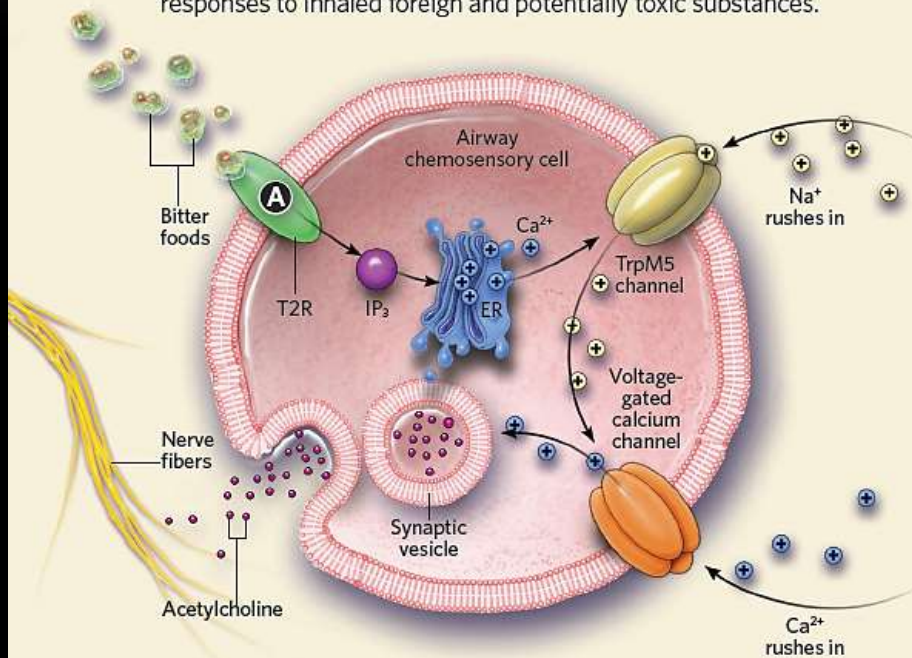
**C** In the colon, bitter ligands bind to T2R receptors on epithelial cells, where they induce the secretion of anions and water, which leads to fluid rushing into the intestine, resulting in diarrhea that flushes out the colon.





## TASTE IN THE AIRWAYS

Scientists have also recently identified the existence of taste pathways in human airway cells, where they likely mediate defensive responses to inhaled foreign and potentially toxic substances.

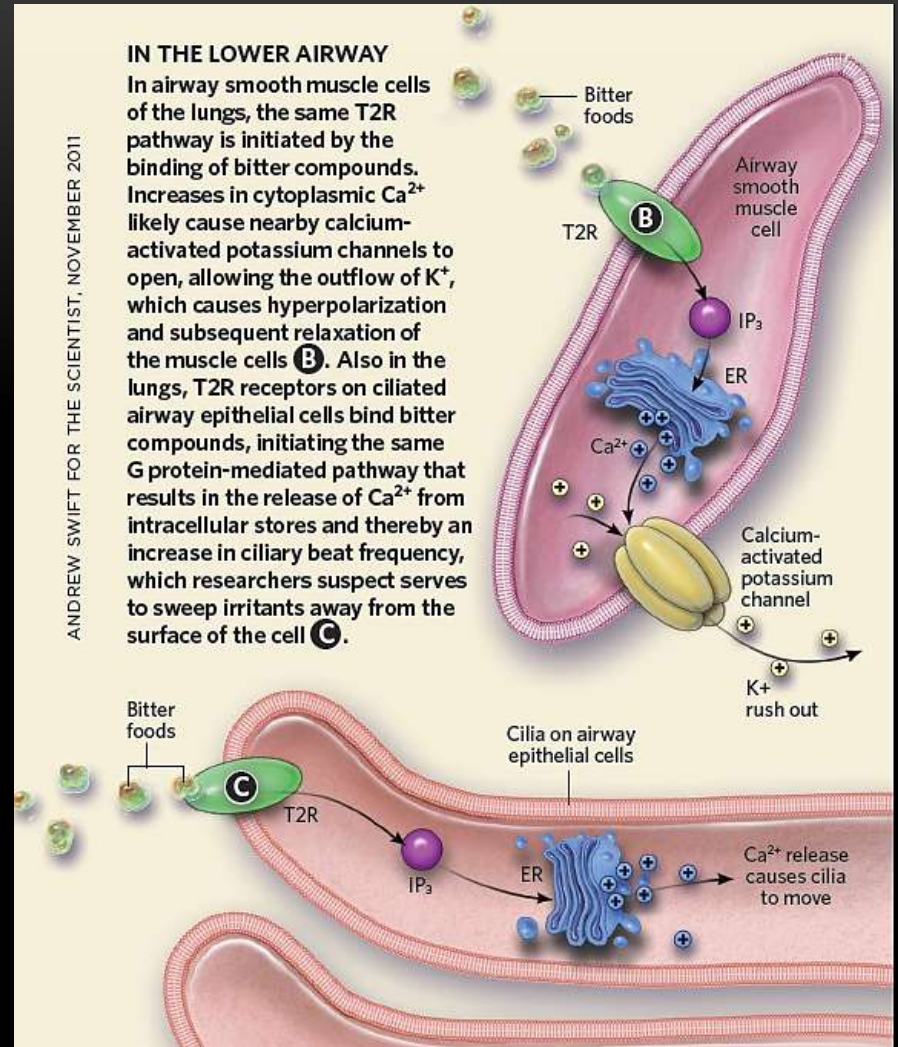


### IN THE UPPER AIRWAY

In the upper airways (nasal passages and trachea), T2R receptors on chemosensory cells sense bitter compounds, releasing secondary messengers that spur the release of Ca<sup>2+</sup> from the ER. The increase in cytoplasmic Ca<sup>2+</sup> activates the TrpM5 transduction channel, allowing the influx of Na<sup>+</sup> and the depolarization of the cell. This in turn activates voltage-gated Ca<sup>2+</sup> channels, which permit even more Ca<sup>2+</sup> to flood into the cell. This initiates the fusion of synaptic vesicles with the plasma membrane, releasing the neurotransmitter acetylcholine to activate nearby nerve fibers and induce protective reflexes such as sneezing **A**.

### IN THE LOWER AIRWAY

In airway smooth muscle cells of the lungs, the same T2R pathway is initiated by the binding of bitter compounds. Increases in cytoplasmic Ca<sup>2+</sup> likely cause nearby calcium-activated potassium channels to open, allowing the outflow of K<sup>+</sup>, which causes hyperpolarization and subsequent relaxation of the muscle cells **B**. Also in the lungs, T2R receptors on ciliated airway epithelial cells bind bitter compounds, initiating the same G protein-mediated pathway that results in the release of Ca<sup>2+</sup> from intracellular stores and thereby an increase in ciliary beat frequency, which researchers suspect serves to sweep irritants away from the surface of the cell **C**.



ANDREW SWIFT FOR THE SCIENTIST, NOVEMBER 2011

Matters of taste

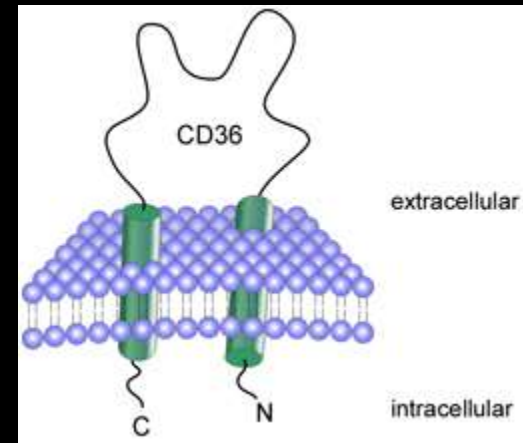
Kde ještě jsou mimo ústní dutinu v těle člověka využity principy chuťové detekce? Popište signální dráhy a význam.

**Možná otázka**



# CHUŤ NA TUČNÉ

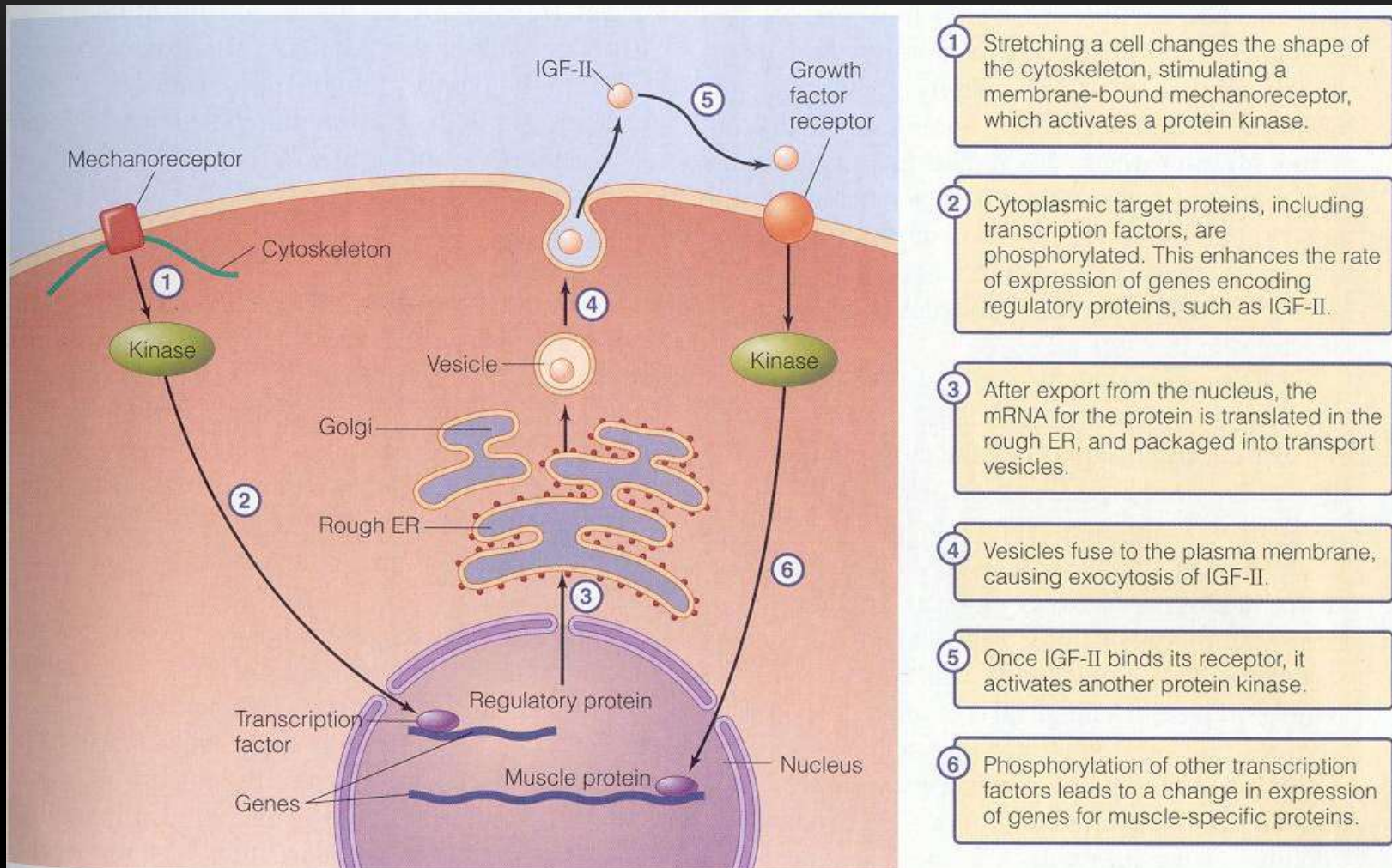
- CD36 – receptor na lipidy (?), scavenger receptor, v metabolismu lipidů, zánětu, hemostáze, ateroskleróze, řízení tlaku, při malárii sekvestrace Ery



# MECHANORECEPTORCE – HMAT, SLUCH



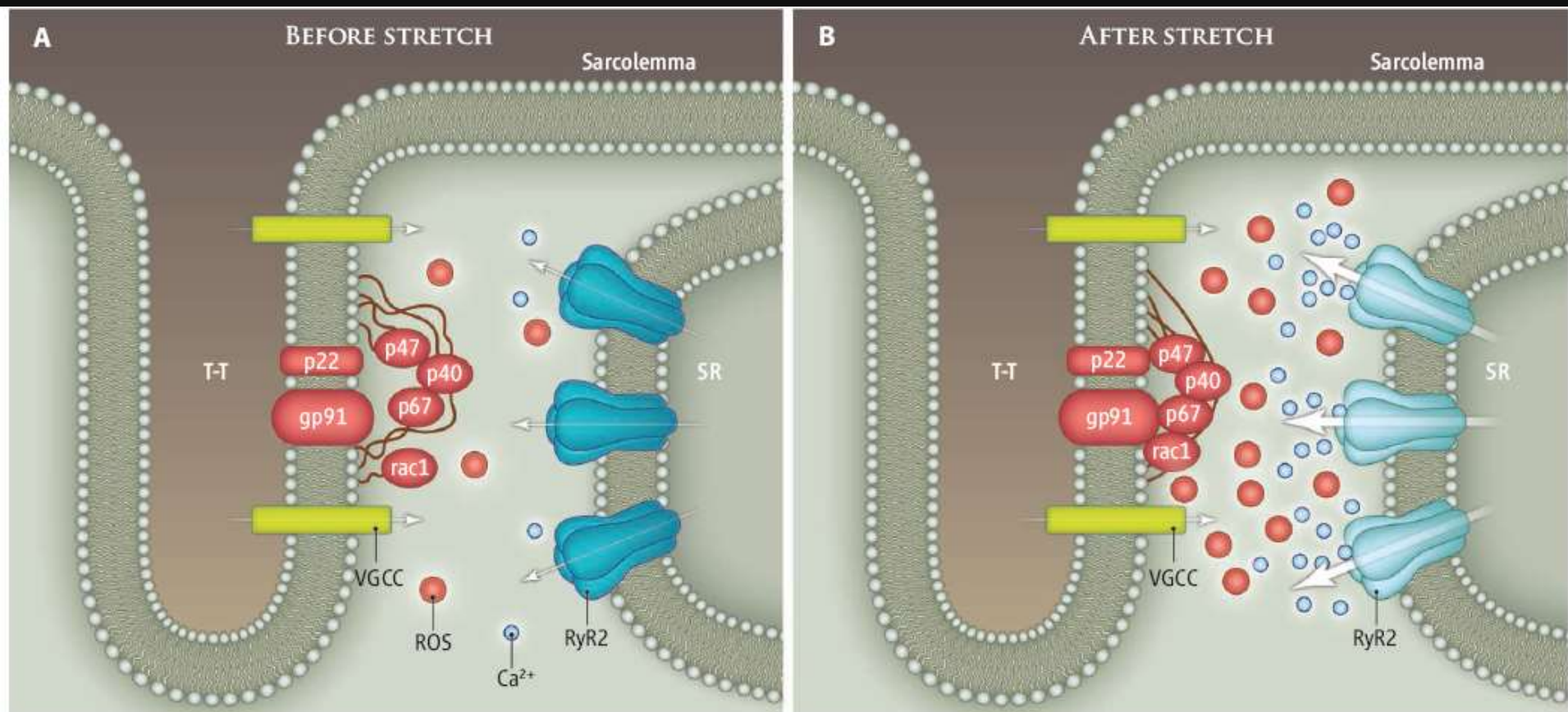
# Mechanorecepce může přímo řídit expresi bez zprostředkování kanálem Např. růst svalů



**Figure 5.33 Control of gene expression by stretch receptors** Some muscle cells sense the degree of stretch and respond by a cascade initiated by stretch receptors and culminating in changes in muscle gene expression.



... nebo uvolňování chemických signálů řídících srdeční činnost. Mechanické napětí přenášeno na cytoskelet a přímo mění enzymatickou aktivitu vázaného signálního komplexu.



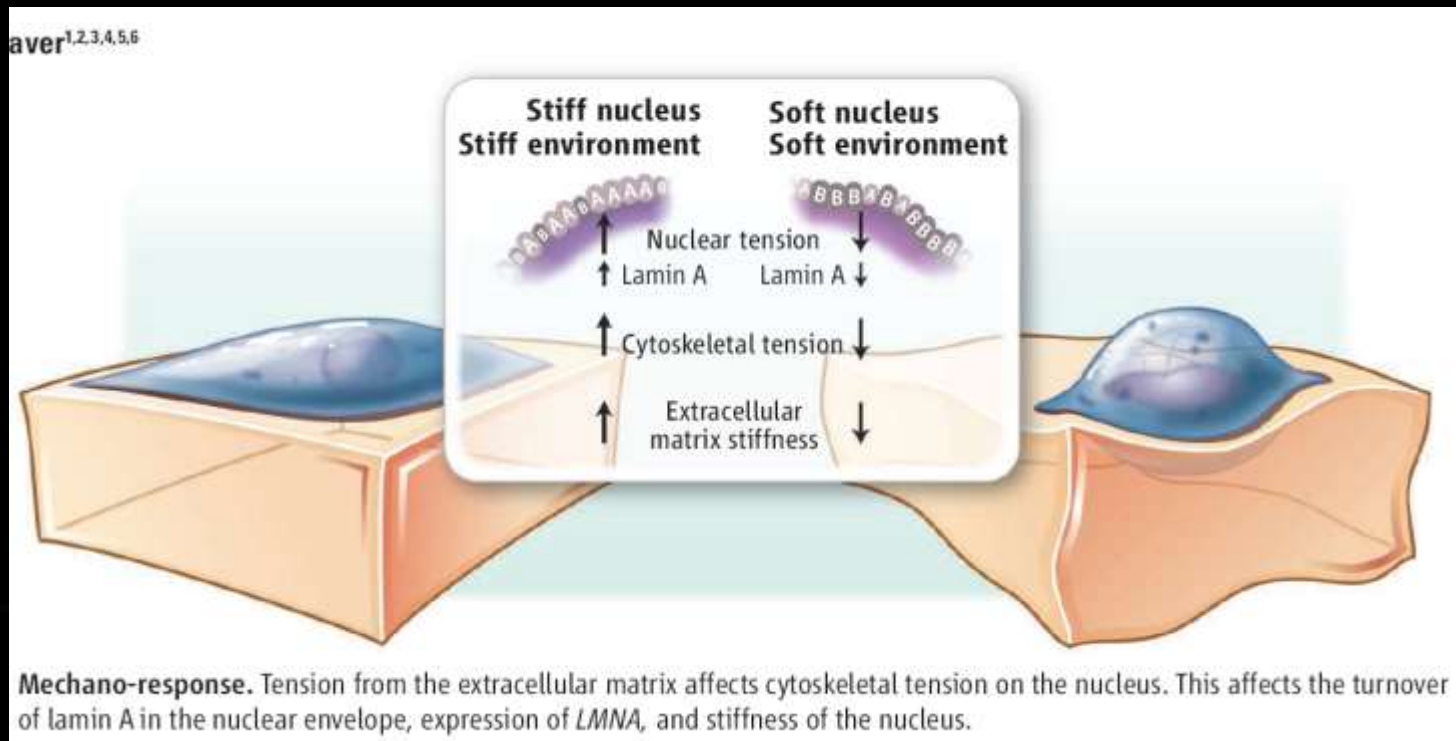
**X-ROS signaling.** In heart muscle cells, transverse tubule (T-T) membranes contain voltage-gated Ca<sup>2+</sup> channels (VGCC, green). Influx of Ca<sup>2+</sup> through the channels generates signals that open RyR2 channels (blue) in the neighboring sarcoplasmic reticulum (SR); the ensuing Ca<sup>2+</sup> release promotes cell contraction. The T-T membrane also contains the NOX2 subunits p22 and gp91 (red). Before stretch (A), NOX2 activity, production of ROS (red dots), and Ca<sup>2+</sup> sparks (blue

dots) are low. A moderate stretch (B) causes an immediate activation of NOX2 by recruiting its regulatory subunits (p40, p47, p67, and rac1) to the T-T membrane via a mechanism that requires intact microtubules. The resulting increase in ROS production sensitizes RyR2 to activation by Ca<sup>2+</sup>, presumably by changing RyR2 redox state, causing a burst of Ca<sup>2+</sup> sparks. Returning the cell to its initial length returns X-ROS signaling to its initial state. [Figure adapted from (2)]



Tkáňově specifická diferenciacie: exprese pod mechanickým řízením.  
Cellular mechanosensation

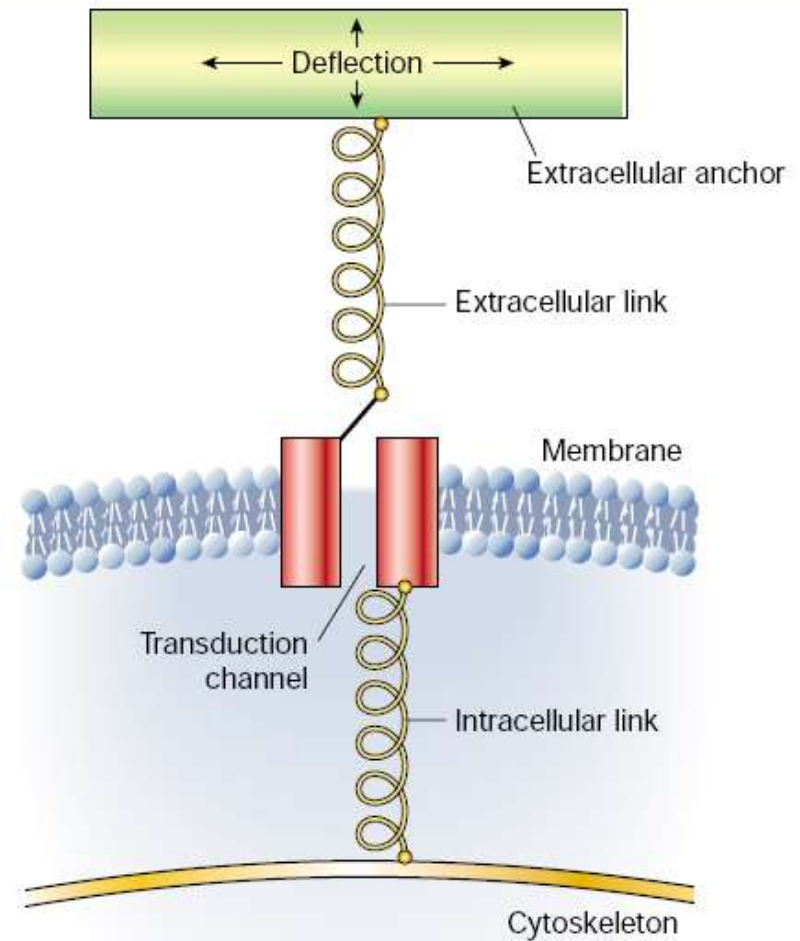
Cells can both sense and dictate the physical properties of their microenvironment while preserving the structural continuity within the surrounding tissue. Consequently, tissues acquire stiffness optima as an emergent property of the physical and biochemical interactions between their constituent cells. This tensional equilibrium confers macroscopic compliance properties that are critical for processes such as stem cell differentiation, embryonic development, and tissue homeostasis.



Sluch, hmat, rovnováha,  
osmorecepce, hygmorecepce

Zrychlení  
Magnetorecepce?

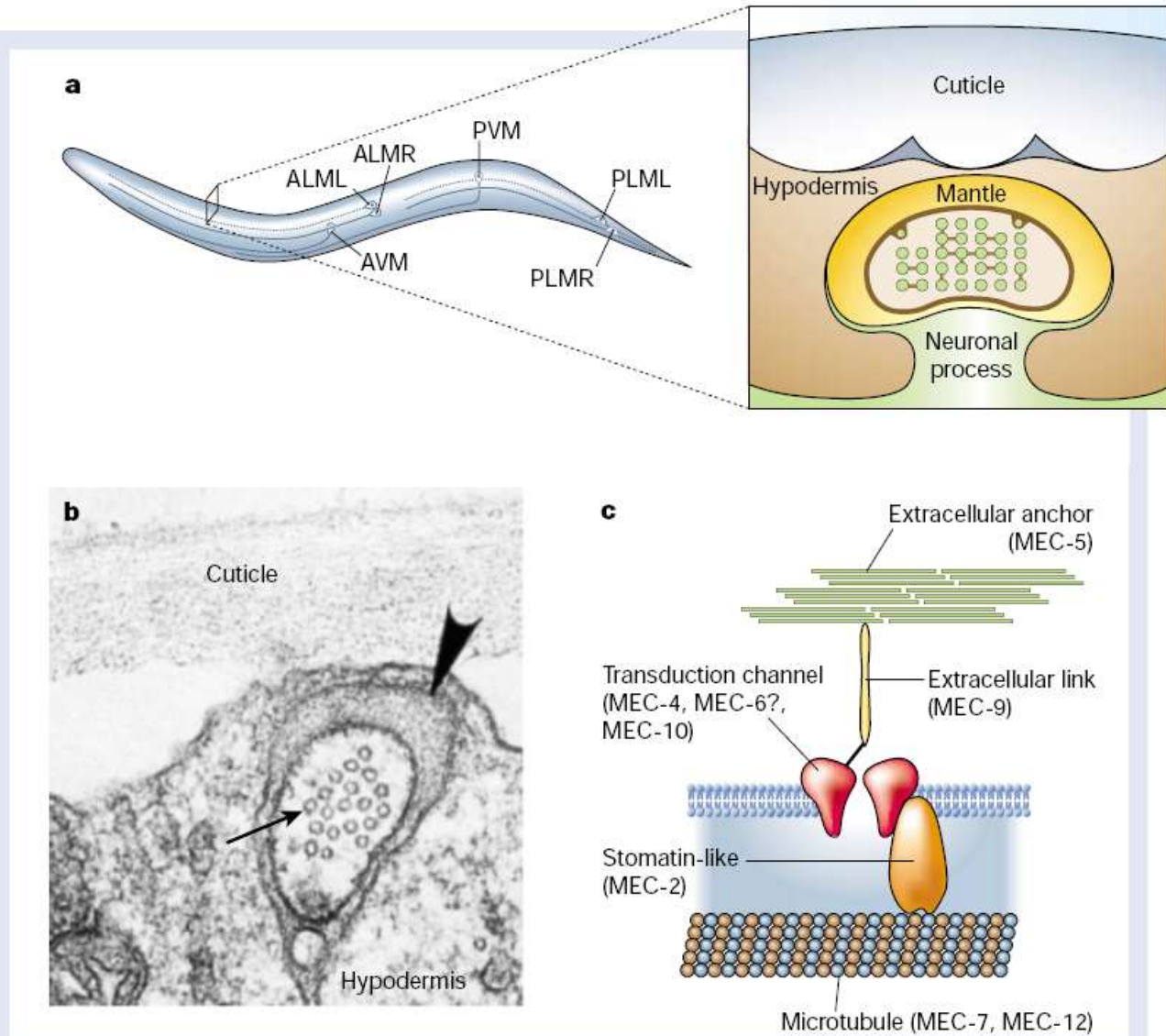
Dlouho neznámý mol. mechanismus



**Figure 1** General features of mechanosensory transduction. A transduction channel is anchored by intracellular and extracellular anchors to the cytoskeleton and to an extracellular structure to which forces are applied. The transduction channel responds to tension in the system, which is increased by net displacements between intracellular and extracellular structures.

# Modelový organismus háďátka

**Figure 2** *C. elegans* touch-receptor structure and transduction model. **a**, View of *C. elegans* showing positions of mechanoreceptors. AVM, anterior ventral microtubule cell; ALML/R, anterior lateral microtubule cell left/right; PVM, posterior ventral microtubule cell; PLML/R, posterior lateral microtubule cell left/right. **b**, Electron micrograph of a touch-receptor neuron process. Mechanotransduction may ensue with a net deflection of the microtubule array relative to the mantle, a deflection detected by the transduction channel. Arrow, 15-protofilament microtubules; arrowhead, mantle. Modified from ref. 3. **c**, Proposed molecular model for touch receptor. Hypothetical locations of *mec* proteins are indicated.

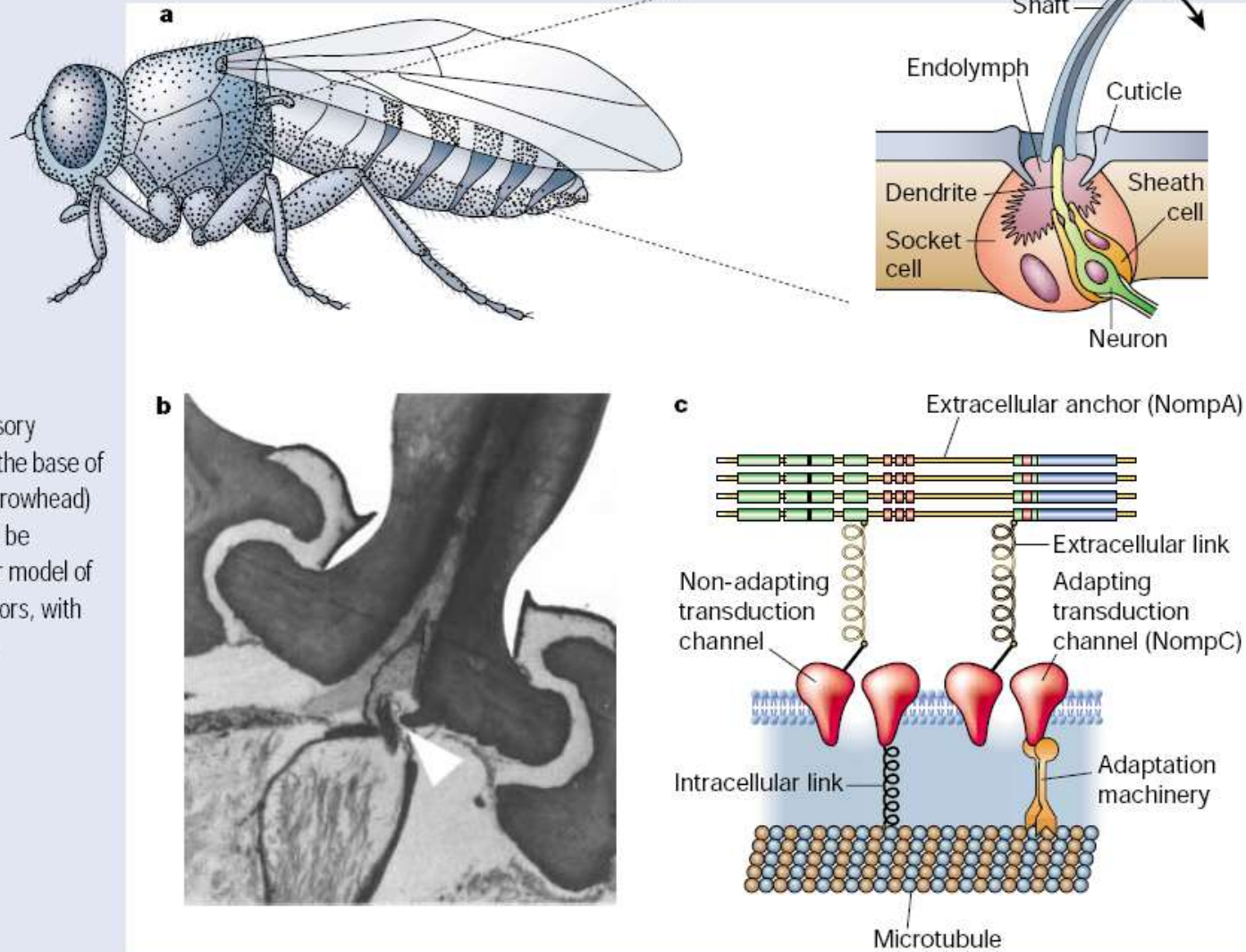




# Modelový organismus octomilka

**Figure 3** *Drosophila* bristle-receptor model.

**a**, Lateral view of *D. melanogaster* showing the hundreds of bristles that cover the fly's cuticle. The expanded view of a single bristle indicates the locations of the stereotypical set of cells and structures associated with each mechanosensory organ. Movement of the bristle towards the cuticle of the fly (arrow) displaces the dendrite and elicits an excitatory response in the mechanosensory neuron. **b**, Transmission electron micrograph of an insect mechanosensory bristle showing the insertion of the dendrite at the base of the bristle. The bristle contacts the dendrite (arrowhead) so that movement of the shaft of the bristle will be detected by the neuron. **c**, Proposed molecular model of transduction for ciliated insect mechanoreceptors, with the locations of NompC and NompA indicated.





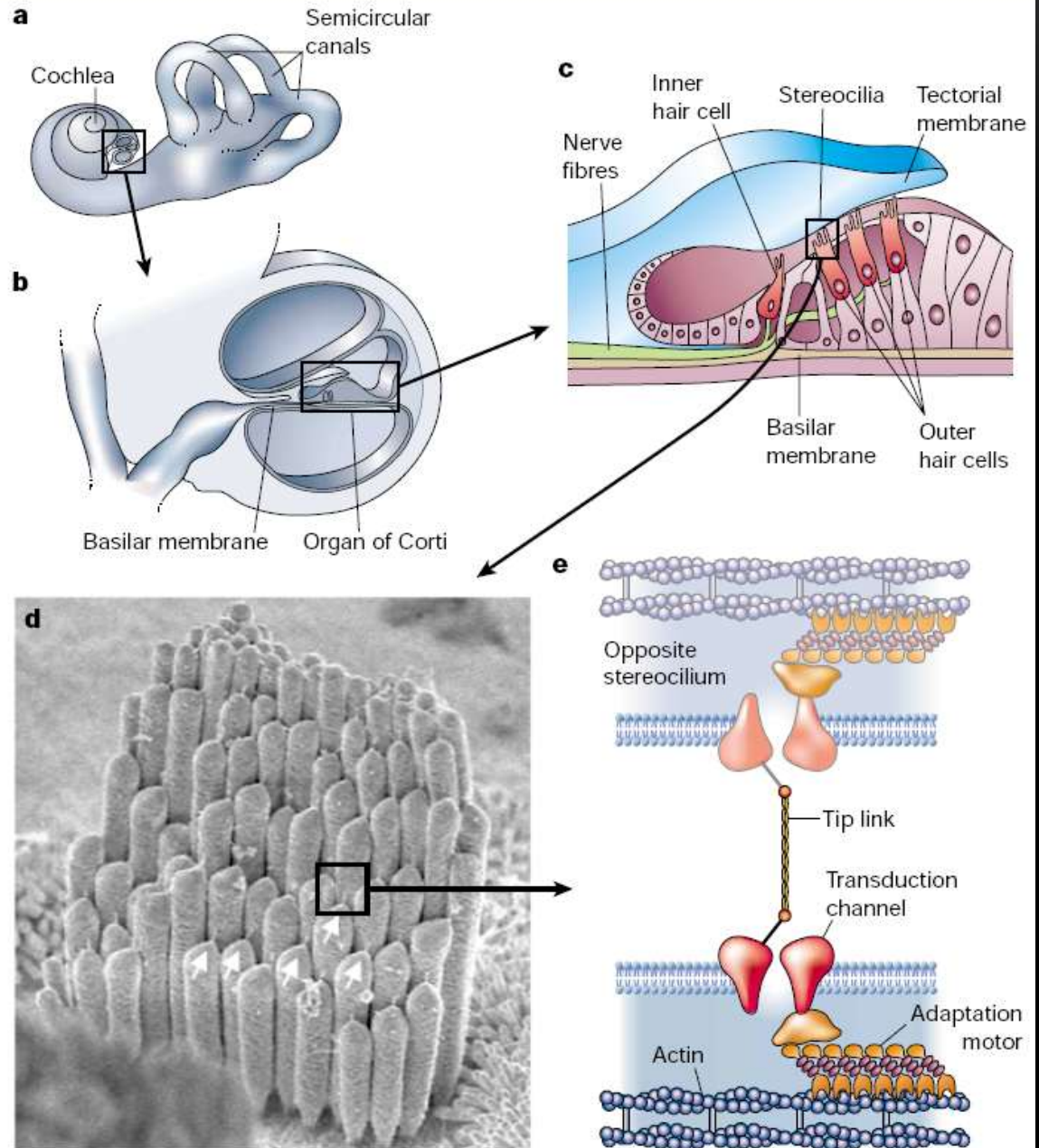
Mutanti byli necitliví na dotyk. Podobně i mutanti drosophil. Larvy, které nebyly citlivé na dotek, byly v dospělosti hluchými mouchami s nekoordinovanými pohyby. Princip je zřejmě dosti konzervovaný a obecný pro různé aplikace mechanorecepce. Mutace se týkaly kotev na jedné nebo druhé straně membrány nebo kanálu samotného. Kanál opět patří do rodiny TRP.

### Hád'átko essay



# Savčí mechanorecepce sluchu

**Figure 4** Inner-ear structure and hair-cell transduction model. **a**, Gross view of part of the inner ear. Sound is transmitted through the external ear to the tympanic membrane; the stimulus is transmitted through the middle ear to the fluid-filled inner ear. Sound is transduced by the coiled cochlea. **b**, Cross-section through the cochlear duct. Hair cells are located in the organ of Corti, resting on the basilar membrane. **c**, Sound causes vibrations of the basilar membrane of the organ of Corti; because flexible hair-cell stereocilia are coupled to the overlying tectorial membrane, oscillations of the basilar membrane cause back-and-forth deflection of the hair bundles. **d**, Scanning electron micrograph of hair bundle (from chicken cochlea). Note tip links (arrows). **e**, Proposed molecular model for hair-cell transduction apparatus.



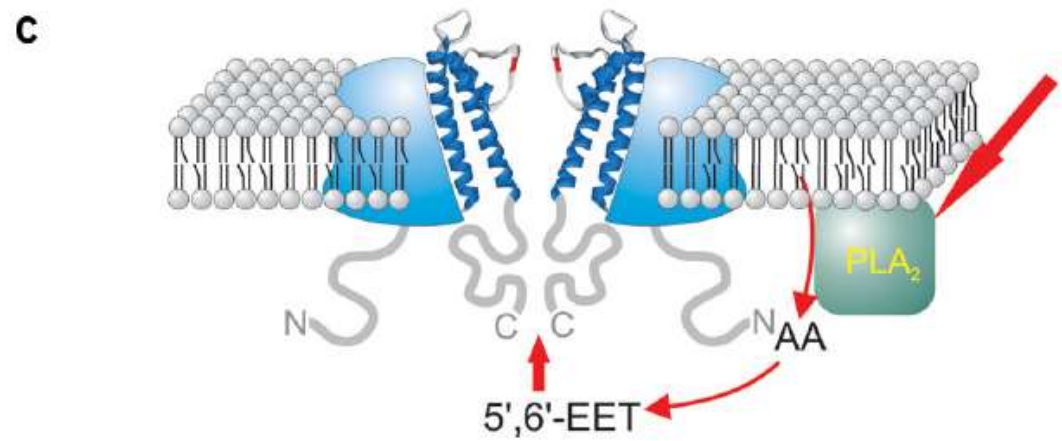
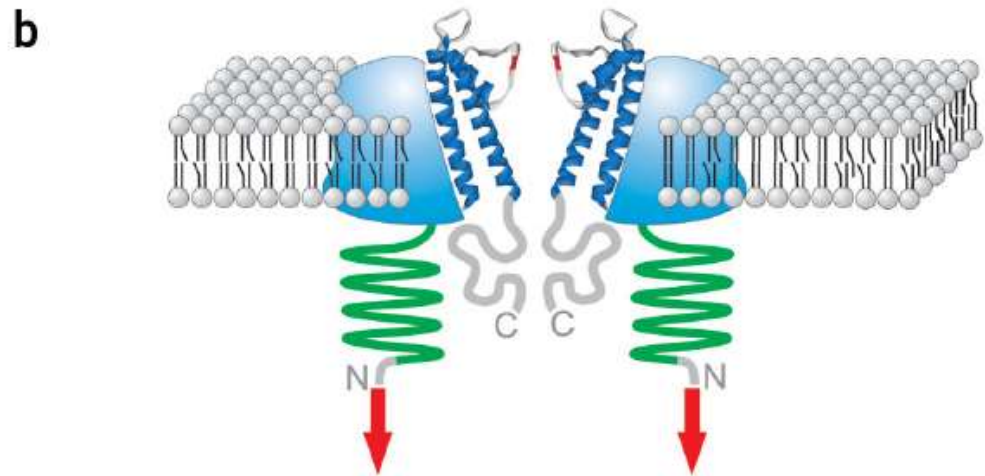
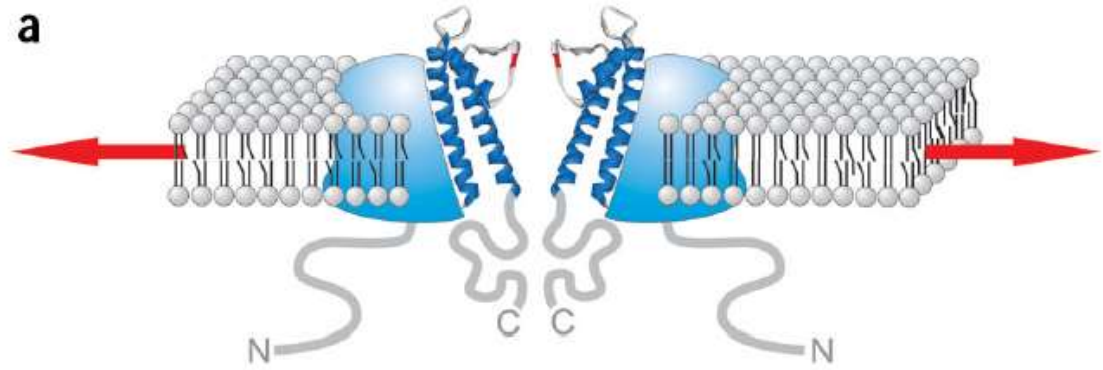
## Mechanosensitivita TRP

Hádčátko se nevyhýbalo doteku,  
ani škodlivým látkám

Drosophila hluchá a špatně chodící

3 možné mechanismy:

- a) Tenze membrány
- b) Tenze kotvy cytoskeletu
- c) Změna aktivity enzymu



Jaký je molekulární mechanismus mechanorecepce?

Kde se molekulární mechanismy mechanorecepce uplatňují mimo klasické smysly?

**Možná otázka**



# NOCICEPCE – VNÍMÁNÍ BOLESTI



V případě zraku nebo čichu potřebují primární neurony jediný druh stimulu. Nocicepce je jiná v tom, že primární neurony dráhy bolesti mají schopnost detekovat širokou škálu modalit včetně chemické a fyzikální povahy. Musí být tedy vybavena rozmanitým repertoárem transdukčních zařízení.

Na rozdíl od zraku chuti nebo čichu nejsou nervová zakončení pro bolest lokalizována v nějaké anatomické struktuře, ale jsou rozptýlena po celém těle, v kůži, svalech, kloubech vnitřních orgánech.

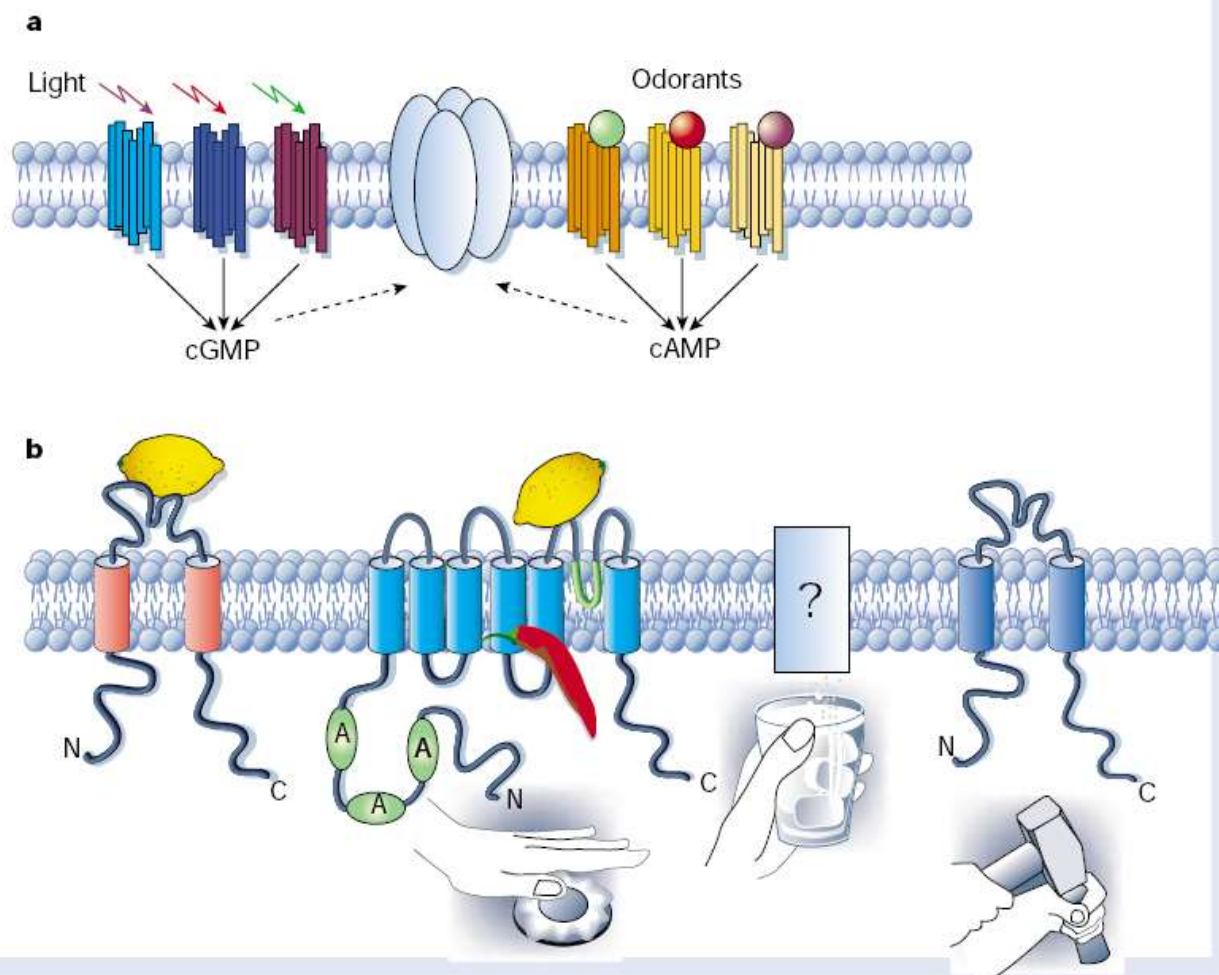
Jsou různé typy vláken, o kterých se předpokládá, že vedou různou rychlostí a zprostředkovávají akutní, ostrou prudkou bolest a jiná difúzní, pozdní bolest tupou.

Receptory jsou obvykle polymodální, odpovídající jak na teplotu, tak na mechanické a chemické stimuly a na poranění tkáně. Odpověď na horko je jednou z nejprostupovanějších bolestivých odpovědí.

# Na rozdíl od čichu nebo fotorecepce polymodalita nociceptorů – chemické, fyzikální i teplotní stimuly

Receptory jsou rozptýleny po celém těle

**Figure 2** Polymodal nociceptors use a greater diversity of signal-transduction mechanisms to detect physiological stimuli than do primary sensory neurons in other systems. **a**, In mammals, light or odorants are detected by a convergent signalling pathway in which G-protein-coupled receptors modulate the production of cyclic nucleotide second messengers, which then alter sensory neuron excitability by regulating the activity of a single type of cation channel. **b**, In contrast, nociceptors use different signal-transduction mechanisms to detect physical and chemical stimuli. Recent studies suggest that TRP-channel family members (VR1 and VRL-1) detect noxious heat, and that ENaC/DEG-channel family detect mechanical stimuli. Molecular transducers for noxious cold remain enigmatic. Noxious chemicals, such as capsaicin or acid (that is, extracellular protons) may be detected through a common transducer (VR1), illustrating aspects of redundancy in nociception. At the same time, a single type of stimulus can interact with multiple detectors, as shown by the ability of extracellular protons to activate not only VR1, but also ASICs, which are also members of the ENaC/DEG-channel family.

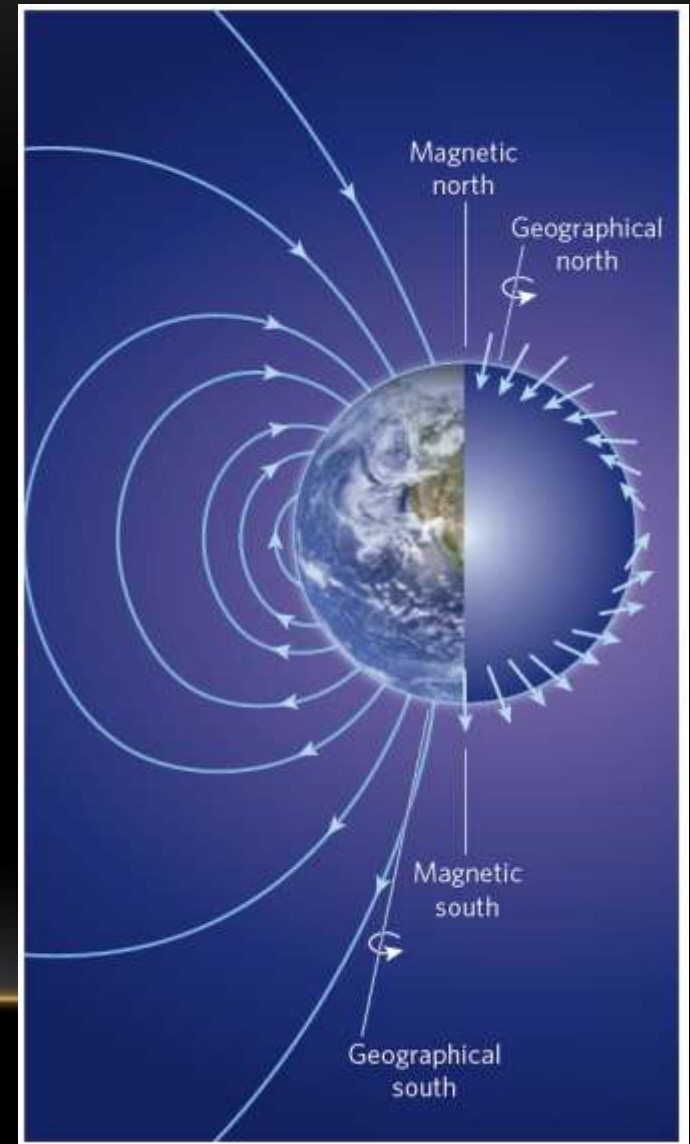




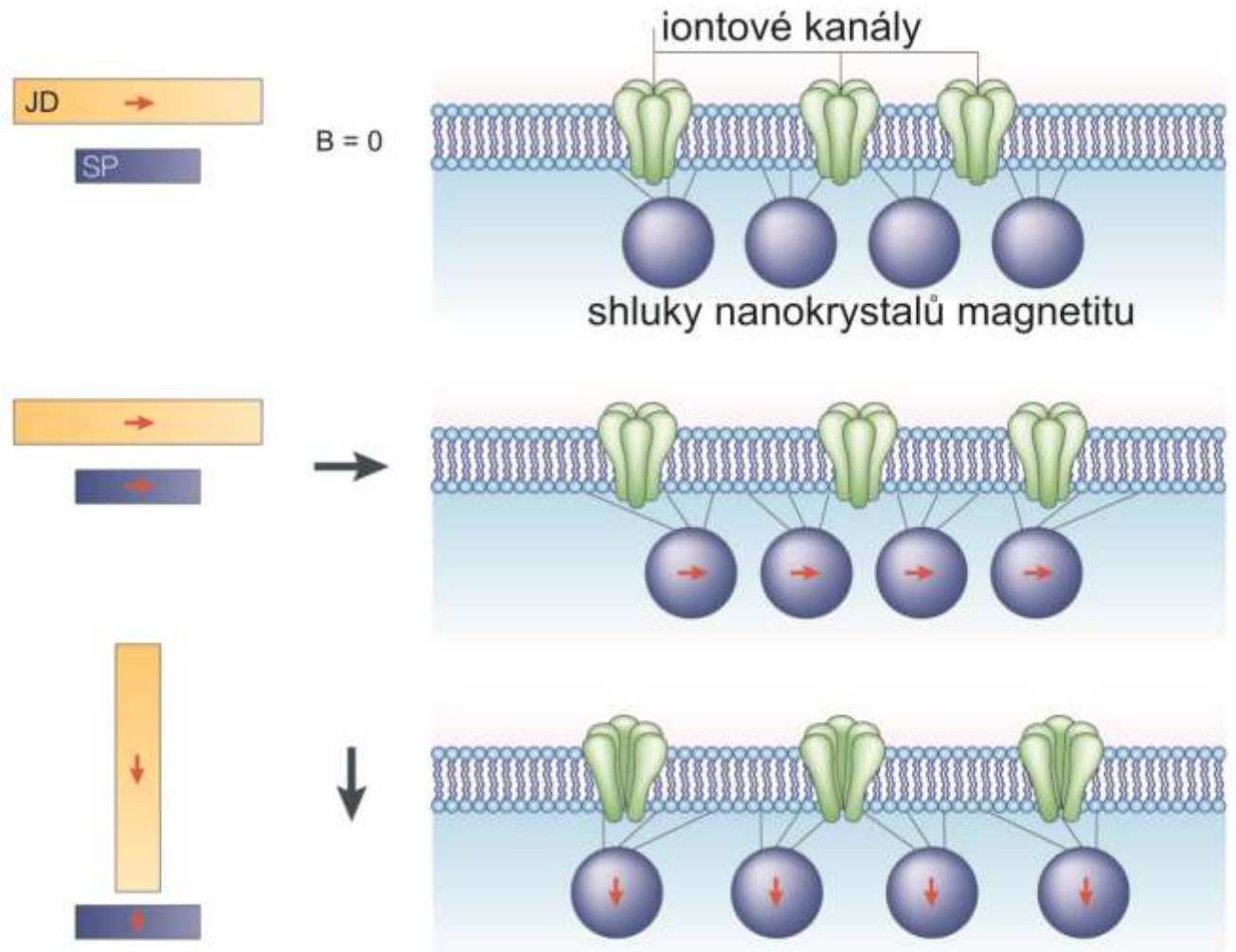
Jste li u zubaře a necháte-li si aplikovat anestezi, anestetika blokují všechny napěťově řízené sodíkové kanály. To zablokuje jakékoliv cití a i motorické funkce. Nyní však byly objeveny sodíkové kanály, které jsou pouze v neuronech vnímajících bolest. To je výzva pro farmaceutické laboratoře, aby našly „kouzelnou kulku“ selektivně na ně.

TRPV1 kanál, který je otevírán kapsaicinem, nebo teplotami nad 42°C se vyskytuje pouze na nociceptorech! Takže jeho blokáda způsobí anestezii bez paralýzy.

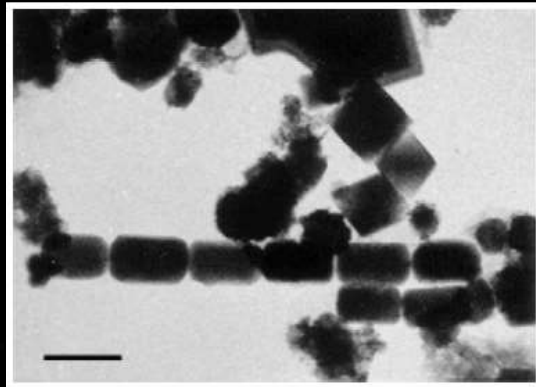
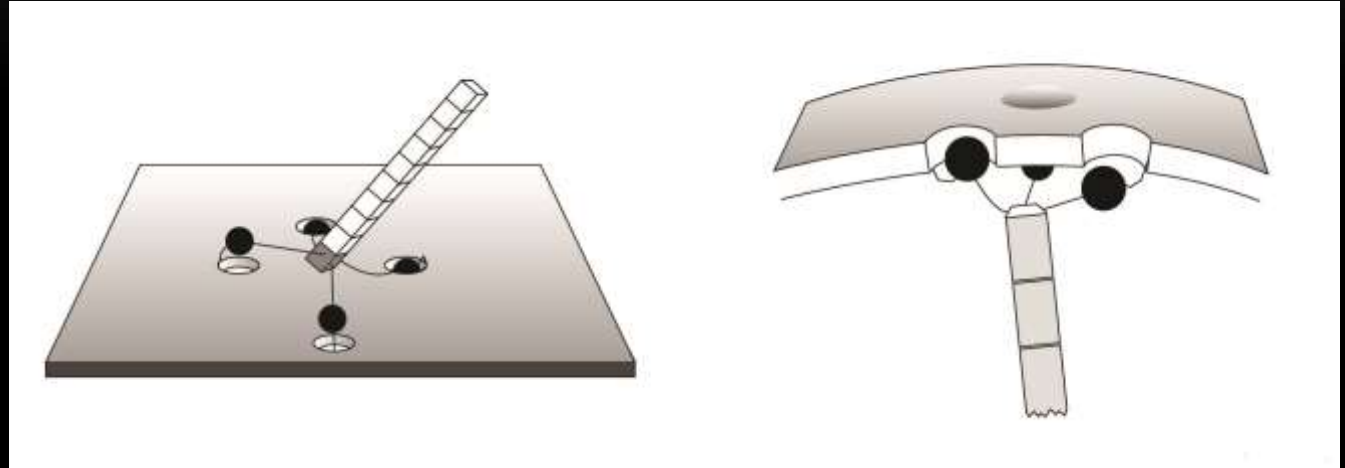
# MAGNETORECEPCE



# Varianta mechanorecepce- Magnetit?

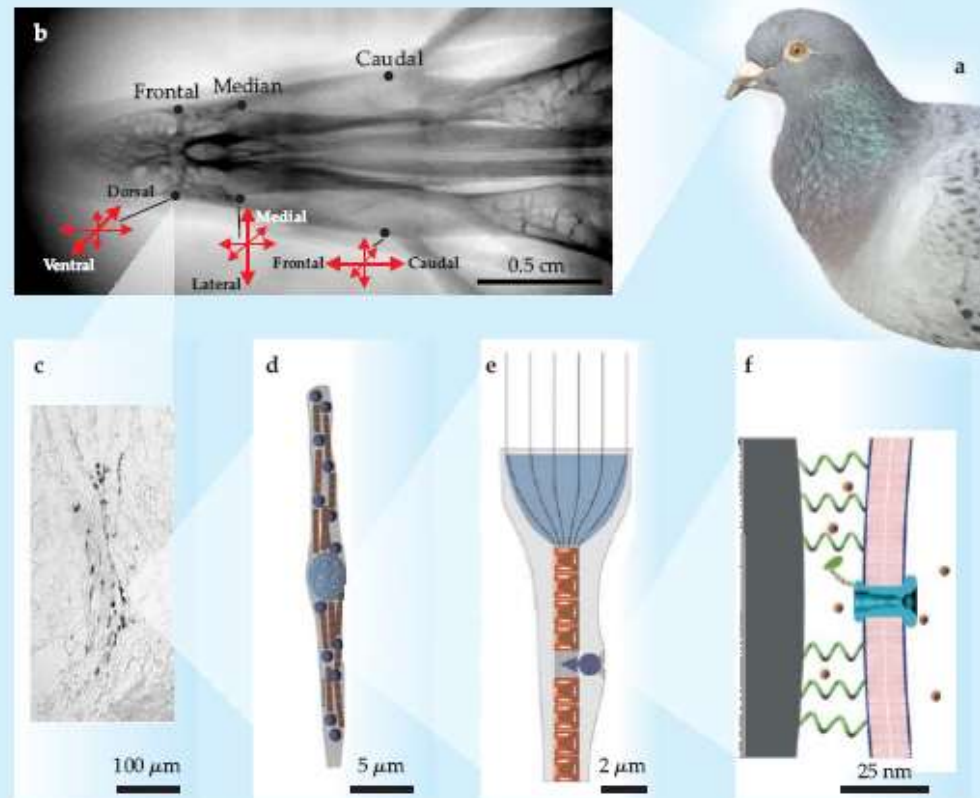


# Varianta mechanorecepce- Magnetit?



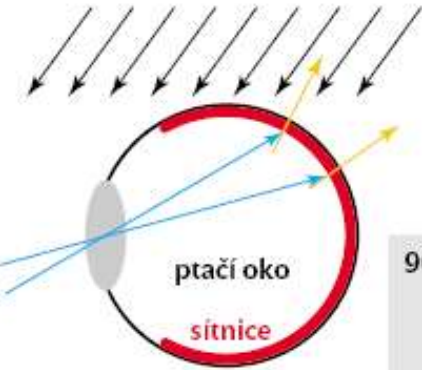


# Varianta mechanorecepce- Magnetit?



**Figure 4. Evidence for magnetite-based magnetoreception.** (a) The homing pigeon *Columba livia* provides some of the best evidence. (b) X-ray image of the upper beak of *C. livia*, showing the three pairs of iron-containing areas and the prevailing orientations of their neurons. (c) Stained section of the dendritic region in one of the areas. Dark areas are iron deposits. (d) Schematic of a single neuron, showing the centrally located, iron-coated vesicle (light blue) and the clusters of magnetite crystals (dark blue) alternating with rows of maghemite plates (red). (e) Hypothesized concentration of magnetic flux in a neuron and its effect on the position of one of the magnetite clusters. (f) Magnetite cluster pulling away from a membrane, which bends and opens a mechanically stimulated ion channel. (Panel a courtesy of Andreas Trepte; panels b–c adapted from G. Fleissner et al., *Naturwissenschaften* **94**, 631, 2007; panels d–e adapted from G. Fleissner et al., *J. Ornithol.* **148**, 643, 2007; panel f adapted from I. Solov'yov, W. Greiner, *Biophys. J.* **93**, 1493, 2007.)

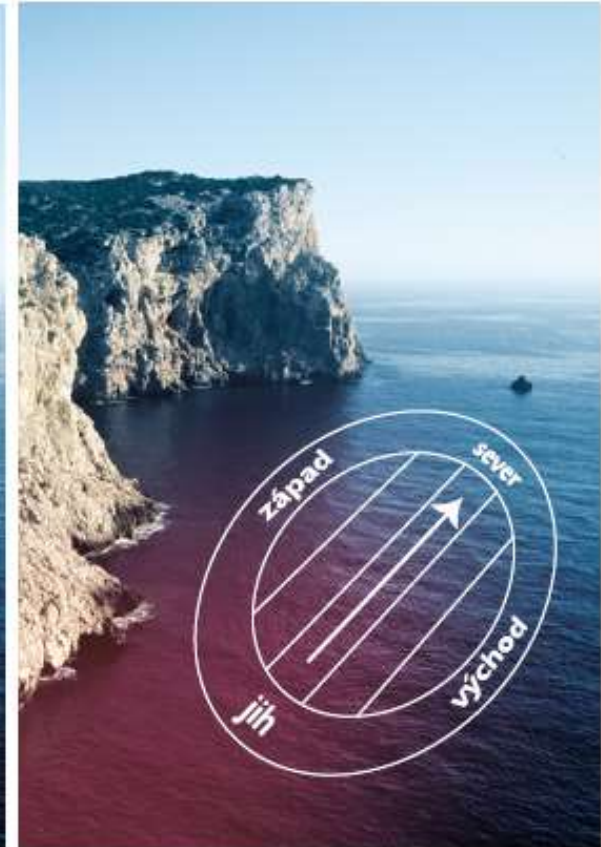
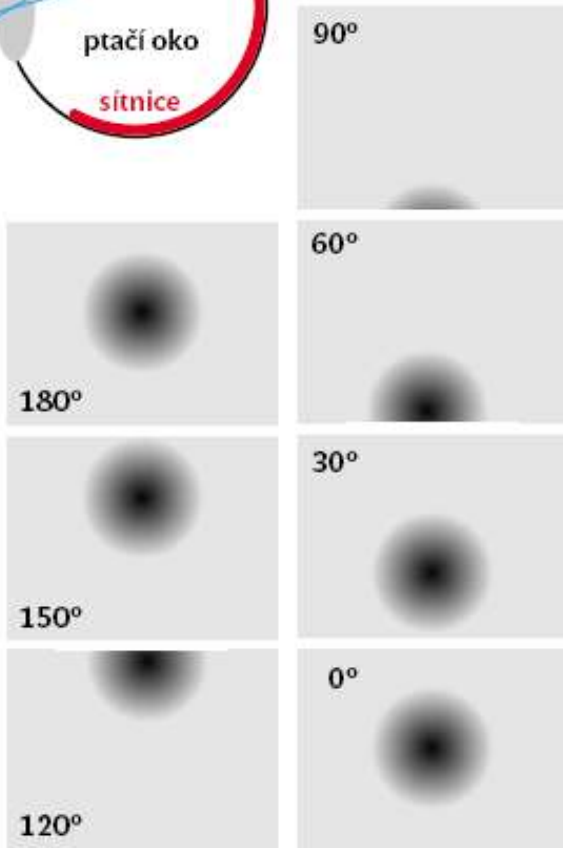
# VARIANTA FOTORECEPCE?



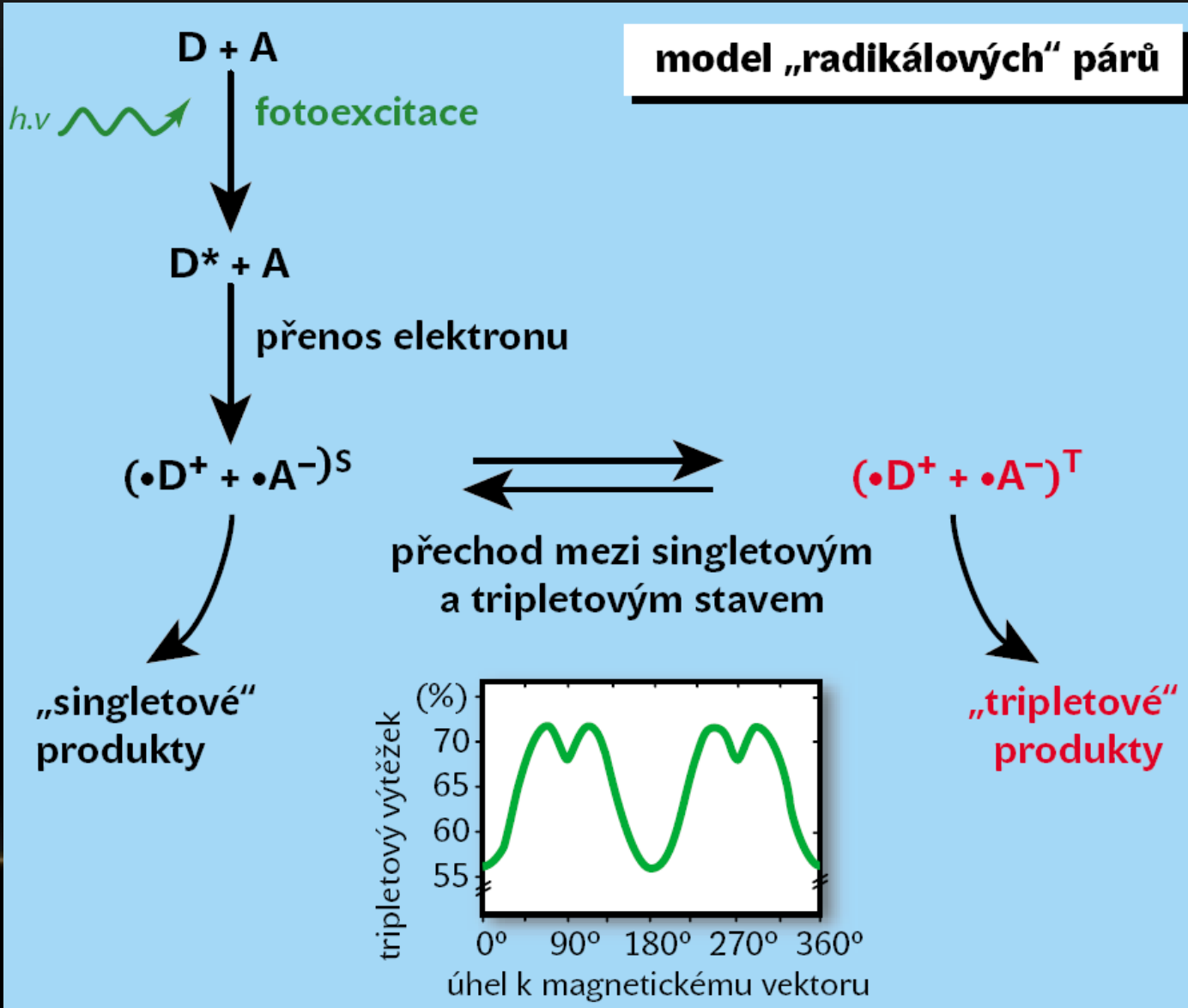
7. Vlevo nahoře je schéma oka obratlovce. Fotoreceptory jsou v různých částech sítnice různě orientovány vůči magnetickému poli (orientace fotoreceptorů znázorněna žlutými, orientace magnetického vektoru černými šipkami). Vlevo dole je počítačová simulace zrakových vjemů modulovaných magnetickým polem.

Vnímané vzory se mění v závislosti na orientaci zvířete vzhledem k vektoru magnetického pole. Vpravo je idealizovaná představa – tak nějak může pták vnímat krajinu, nad kterou letí. Podle: Ritz a kol., *Biophys. J.* 78, 707–718, 2000.

Snímek pobřeží Sardinie © Stanislav Vaněk.



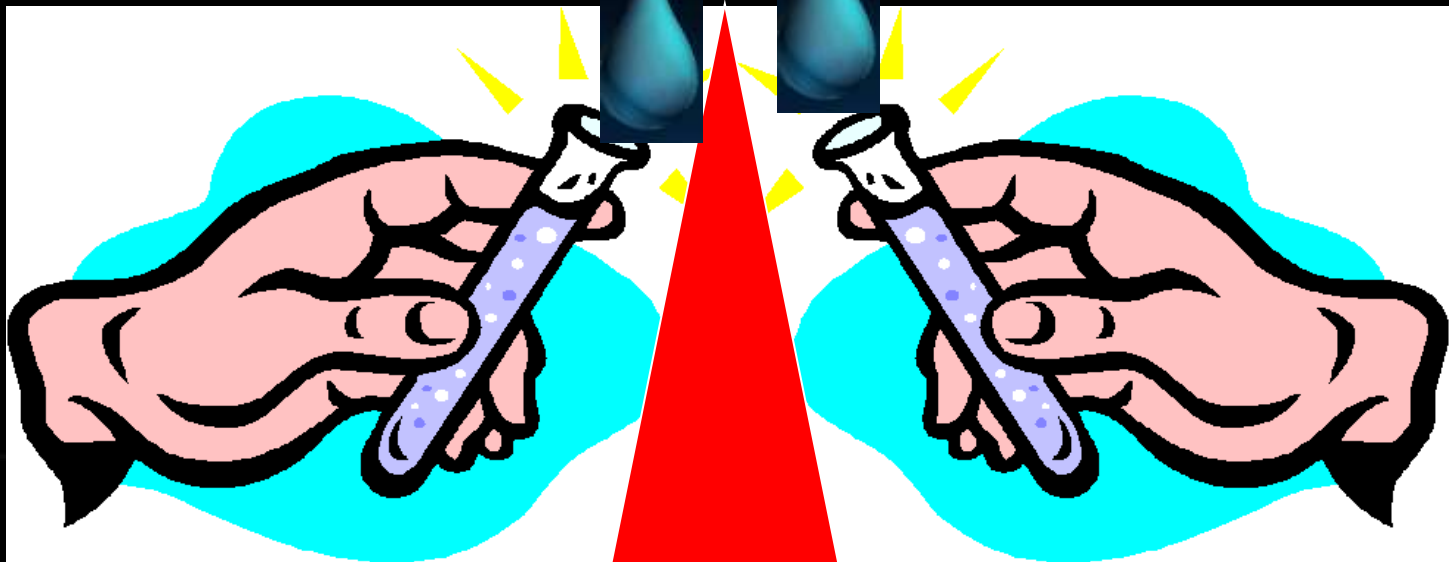
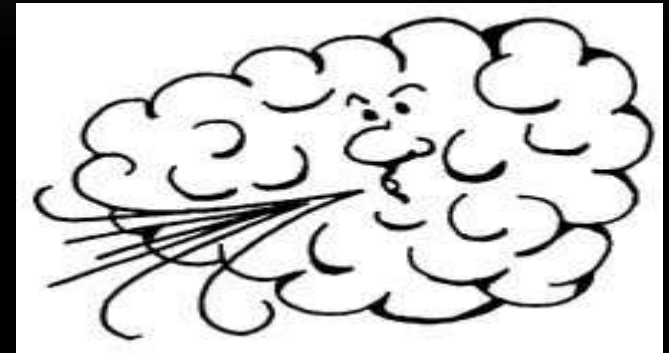
# Fotochemický model založený na reakcích radikálových párů.



Spontánní oscilace mezi S a T stavem.

Posun v pravděpodobnosti výtěžku reakce.

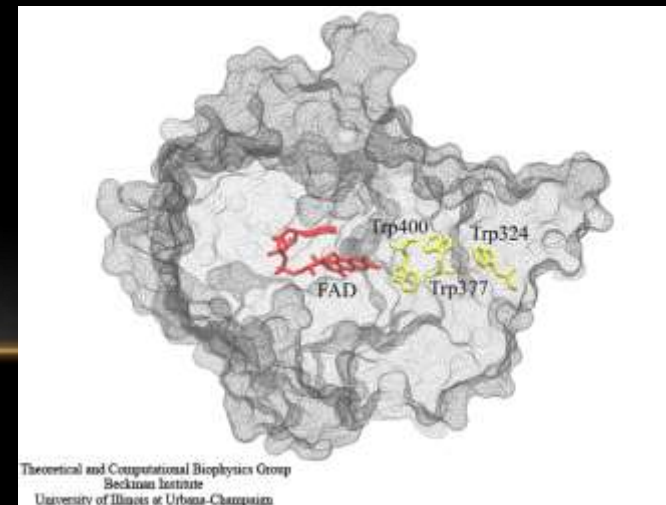
Magnetická síla





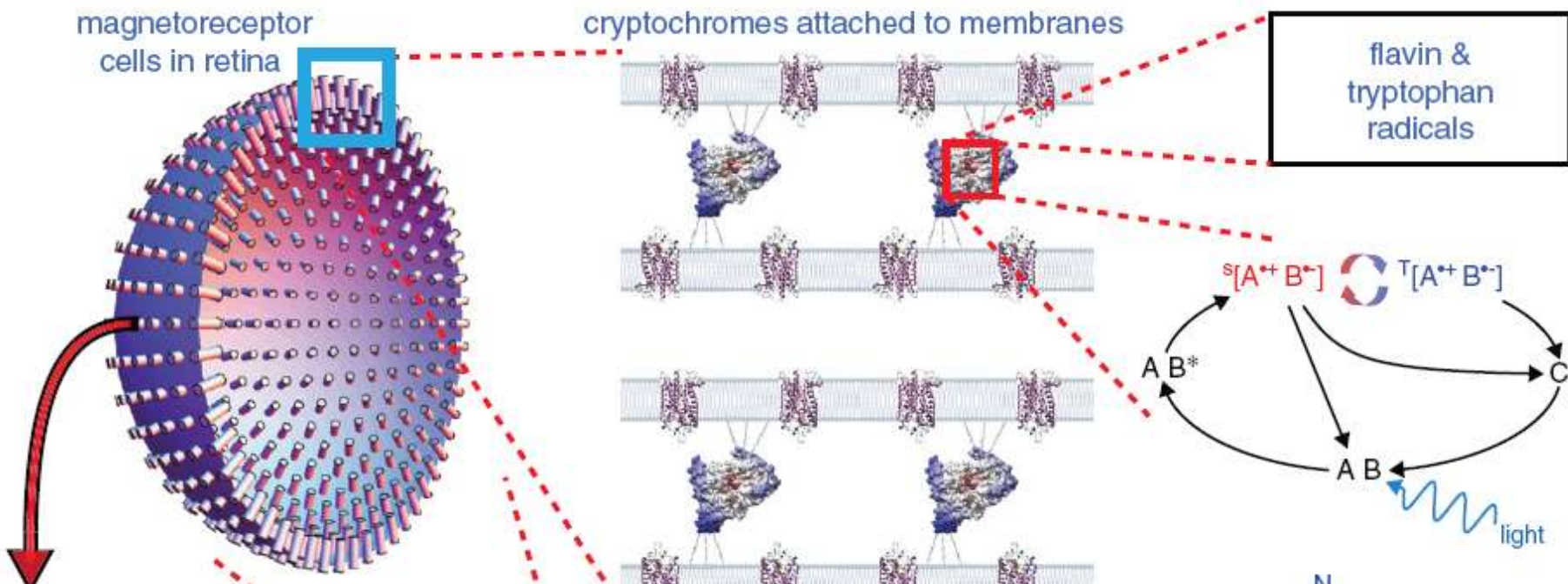
# Krytochromy:

- Nejpravděpodobnější kandidáti na magnetoreceptor zrakové dráhy.
- Signální proteiny zvířat i rostlin, homologní DNA fotolyzám.
- Součástí biologických hodin.

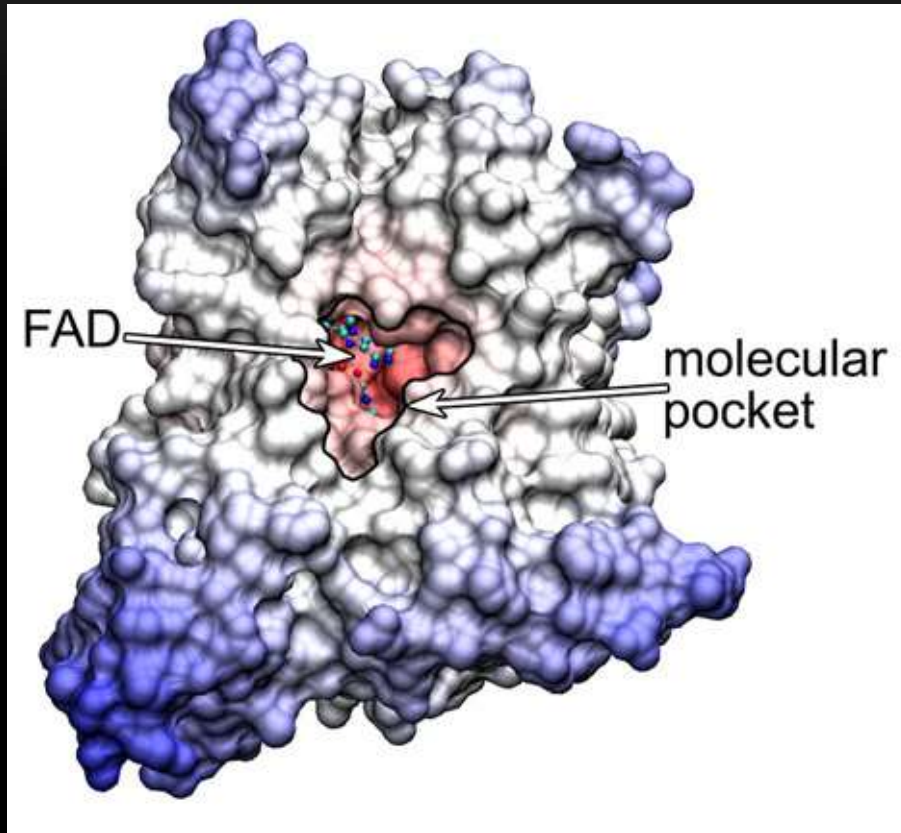


# Kryptochromy:

Radikálový pár tvoří FAD (akceptor e-) a tryptofan (donor e-).

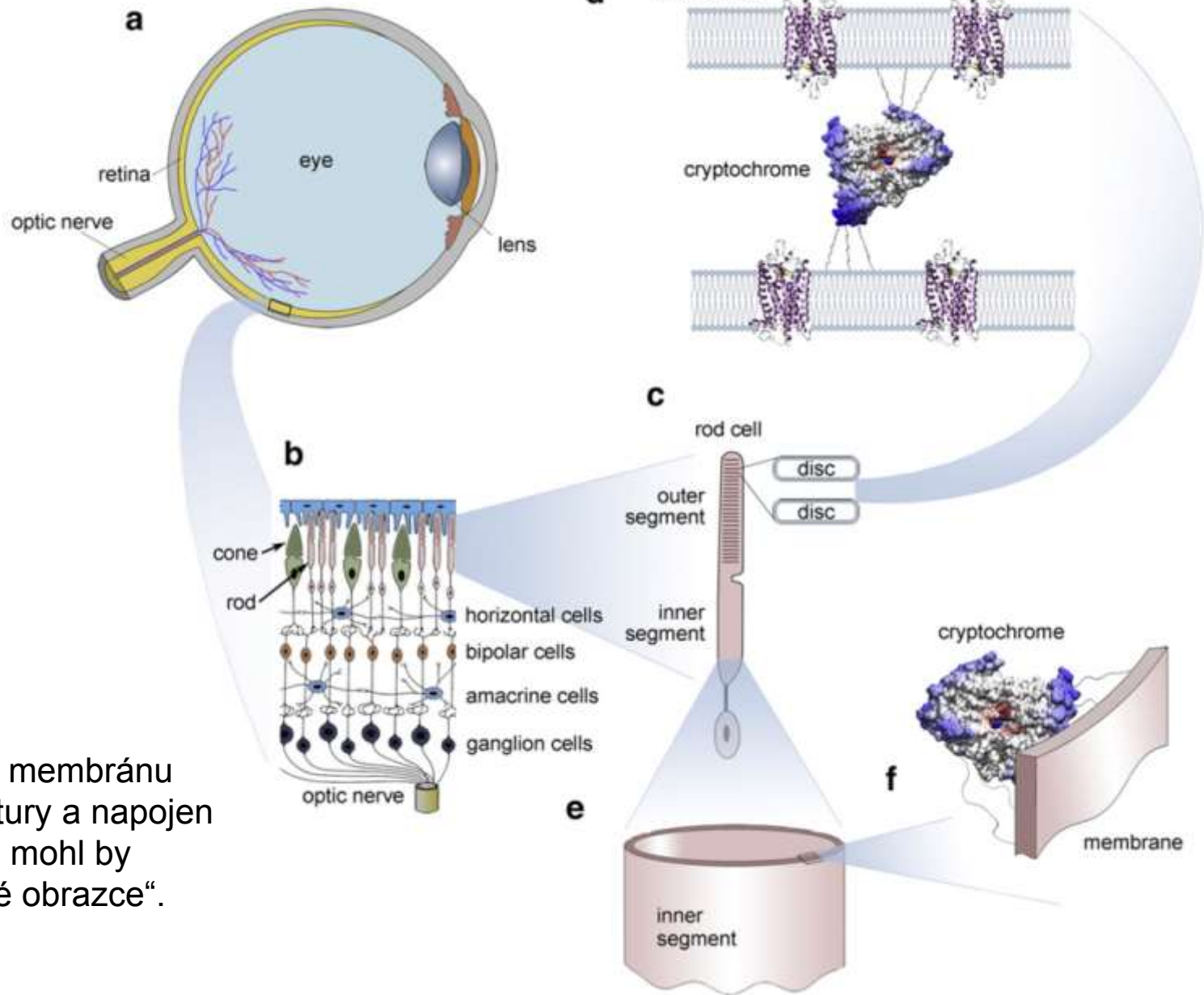


# Kryptochromy:



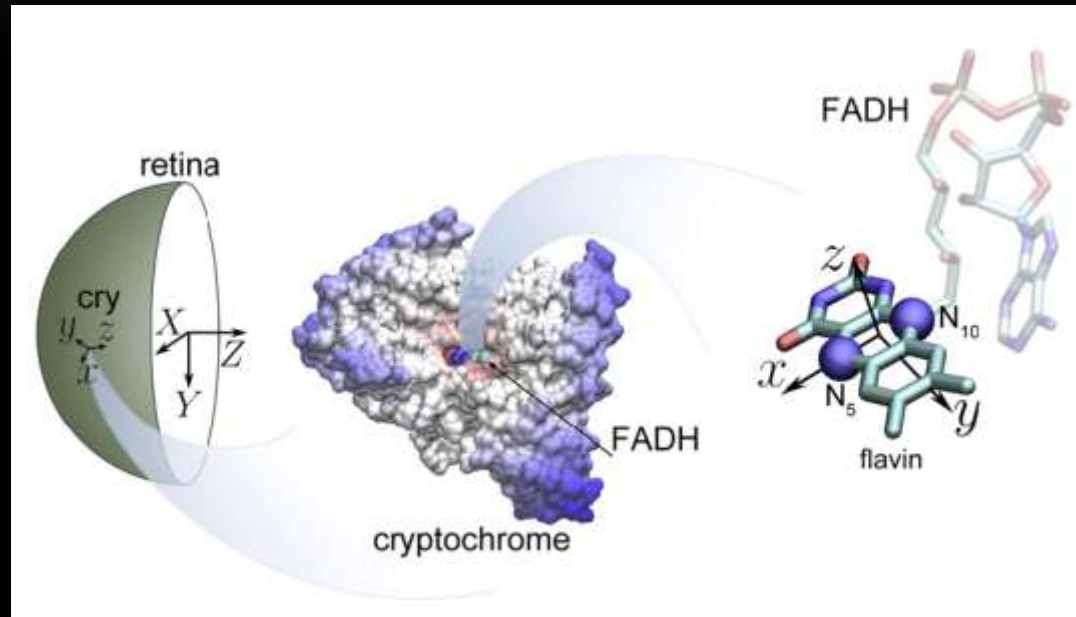
<http://www.ks.uiuc.edu/Research/cryptochrome/>

Flavinový kofaktor obsazuje molekulární kapsu kryptochromu a tvoří radikálový pár  $[FAD^{\circ-} + TrpH^{\circ+}]$ , který se nachází v singletovém (25 %) nebo tripletovém (75 %) stavu.

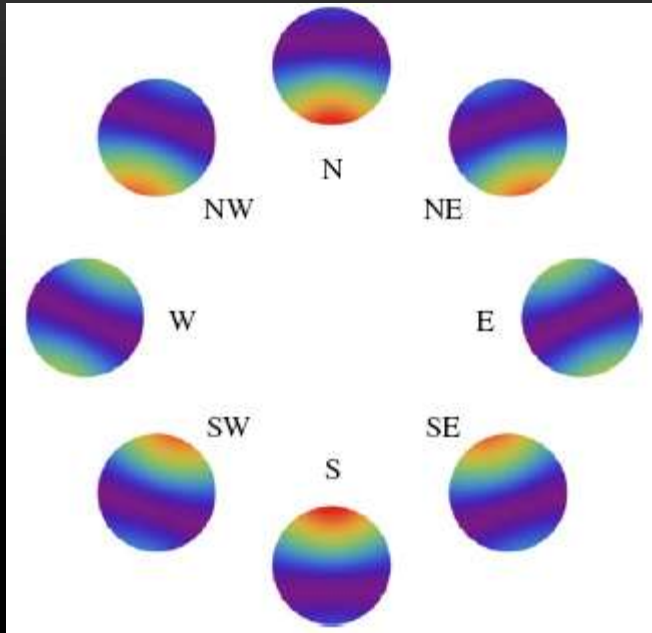


Je-li Cry fixován na membránu polokruhové struktury a napojen na zrakovou dráhu, mohl by vytvořit „magnetické obrazce“.

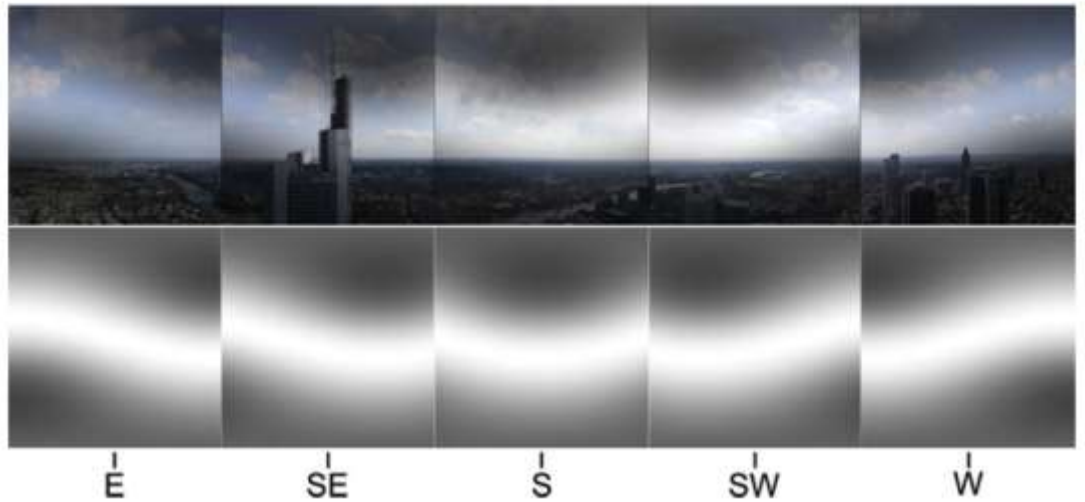
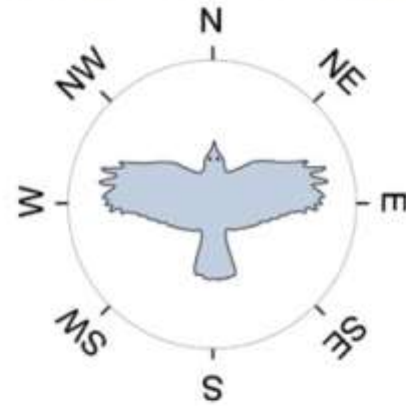
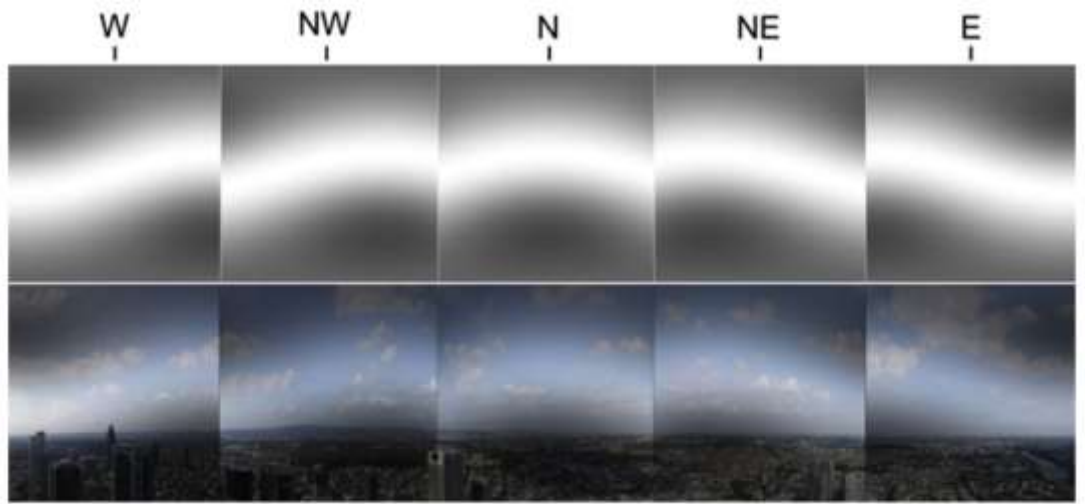




Reakce je směrově specifická a některé receptory v polokruhové struktuře (nejspíše sítnici) budou ovlivněny více než ostatní.



Je-li Cry fixován na membránu polokruhové struktury a napojen na zřakovou dráhu, mohl by vytvořit „magnetické obrazce“.



**Cry byl původně objeven jako protein řídící cirkadiální rytmy**

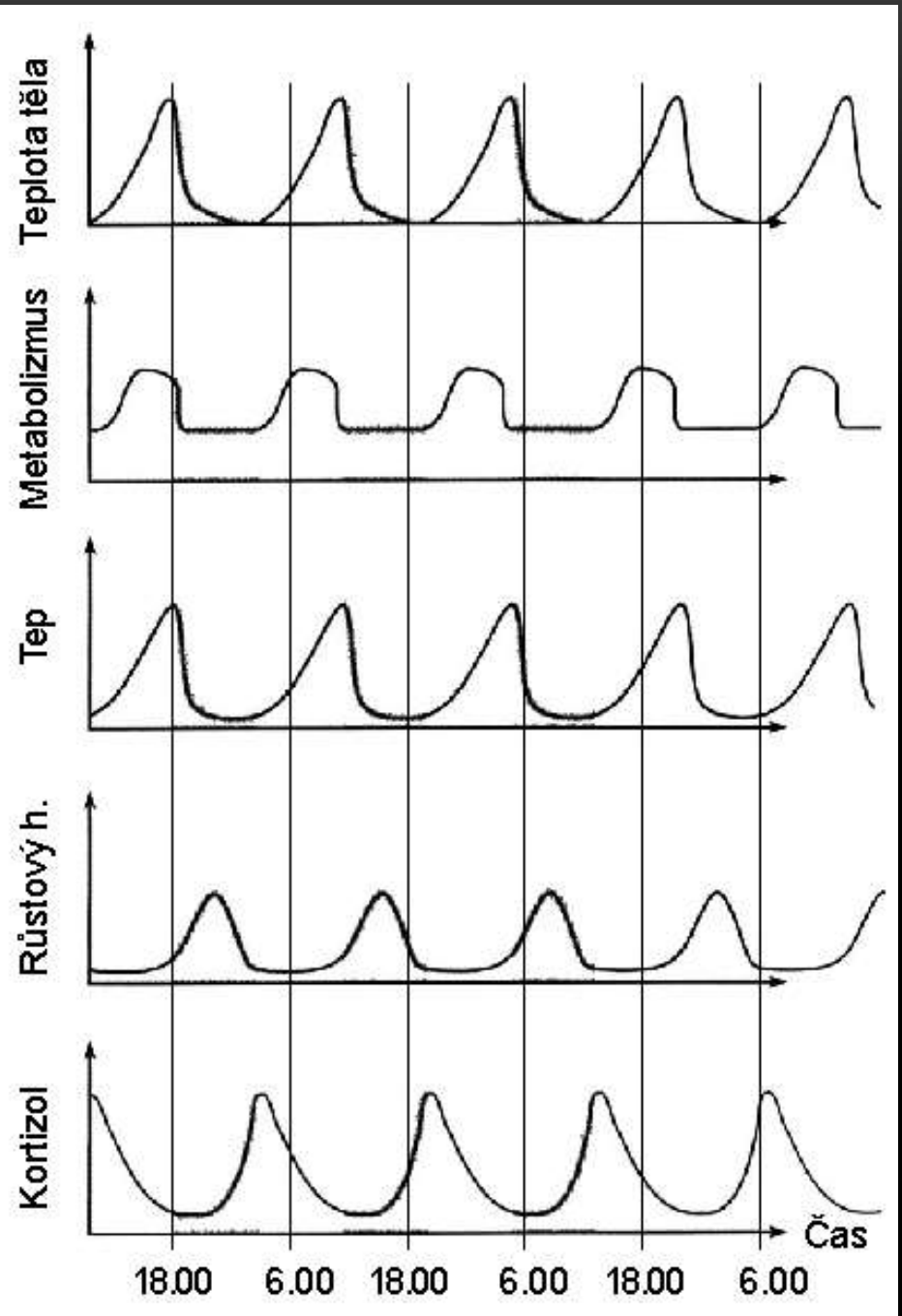
**Rytmické děje jsou přirozenou součástí funkce organismu.**

**Předpovídají pravidelné změny bez ohledu na přechodné výkyvy denní nebo sezónní.**



Rytmicita s vazbou na prostředí

Cirkadiánní = asi 24 hod perioda



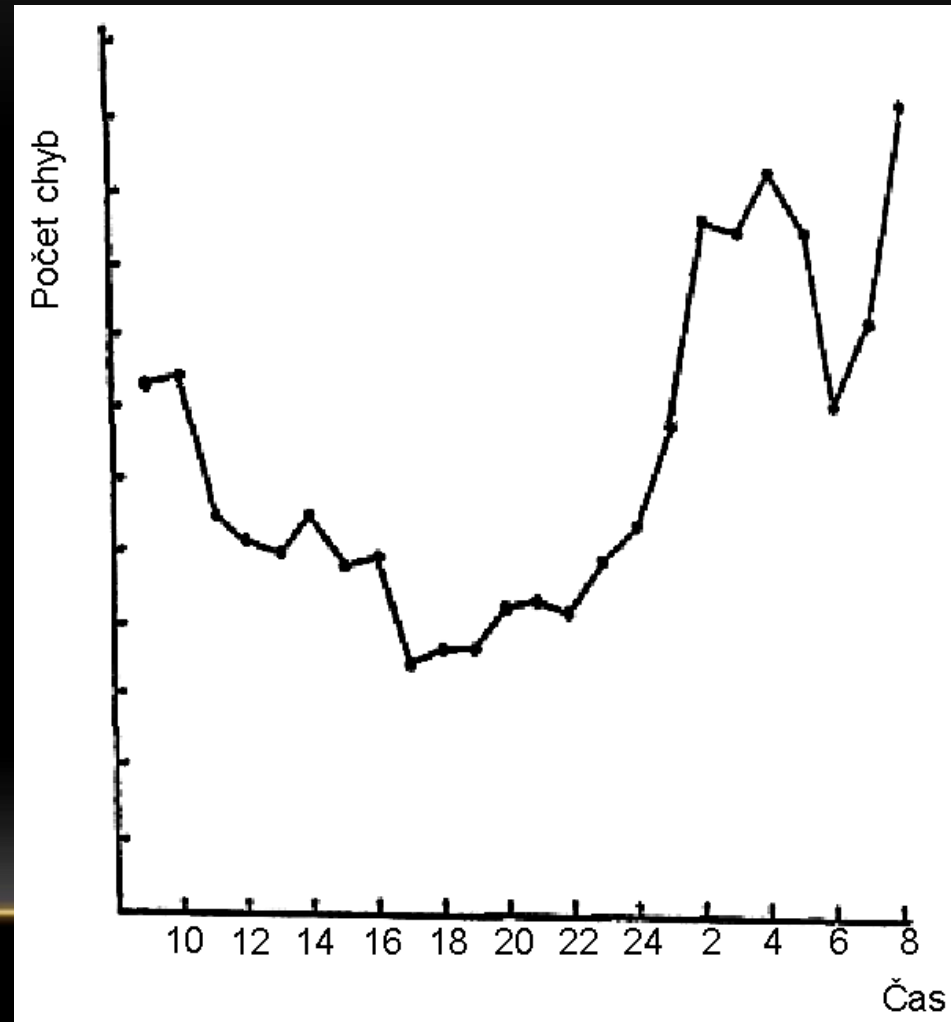


## Chronobiologie

## Chronopatologie

Pracovní výkon, učení soustředění, ale i účinnost léků závislá na denní době.

Při konfliktu hodin nebezpečí poruch spánku (jet lag), příjmu potravy (obezita, diabetes), onkologických poruch...



# Suprachiasmatické jádro a řízení motorické aktivity. Po vyřazení SCN se rytmus rozpadá

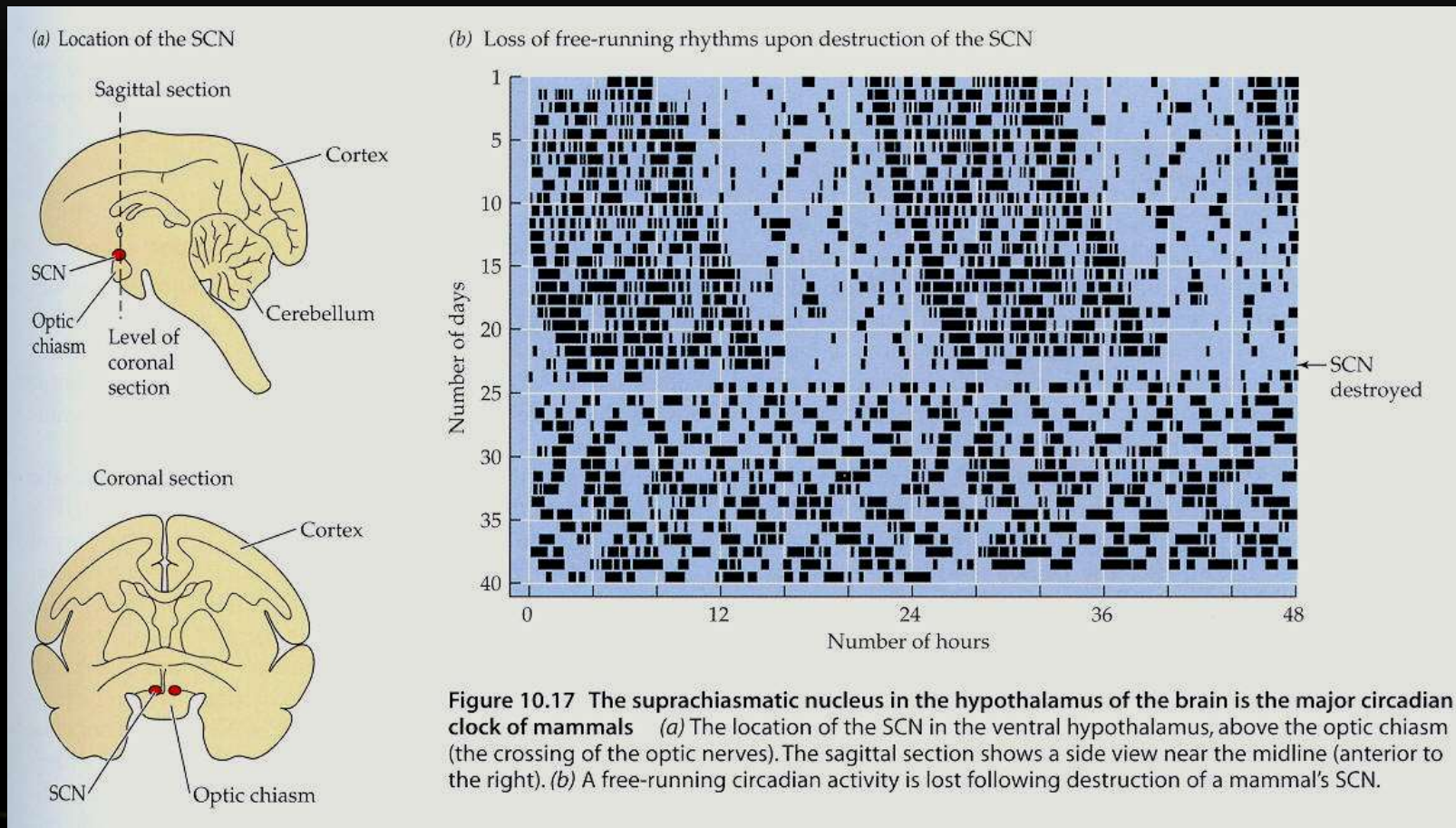
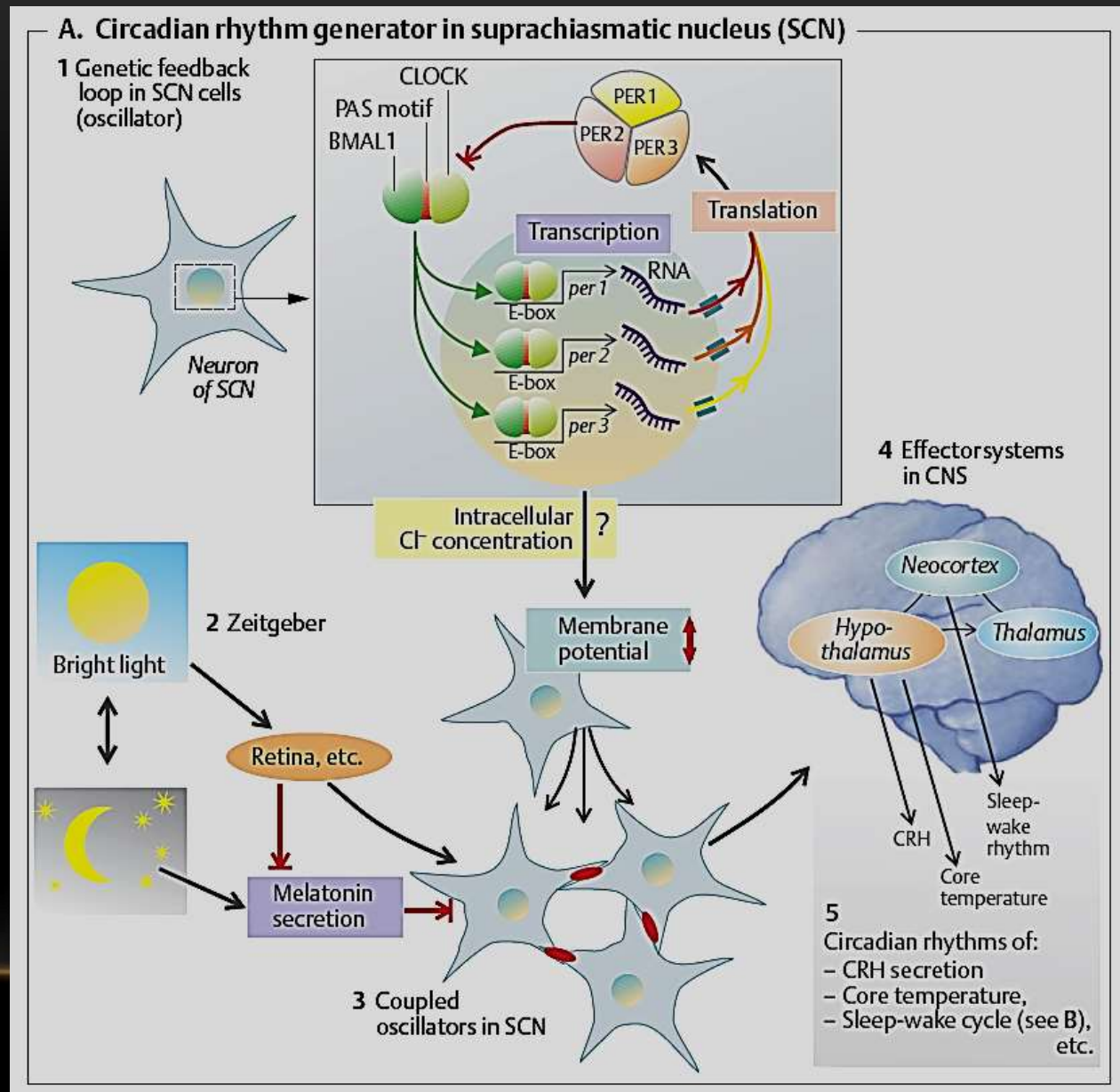


Figure 10.17 The suprachiasmatic nucleus in the hypothalamus of the brain is the major circadian clock of mammals (a) The location of the SCN in the ventral hypothalamus, above the optic chiasm (the crossing of the optic nerves). The sagittal section shows a side view near the midline (anterior to the right). (b) A free-running circadian activity is lost following destruction of a mammal's SCN.

# Molekulární hodiny a zpětnovazebná smyčka synchronizovaná světlem

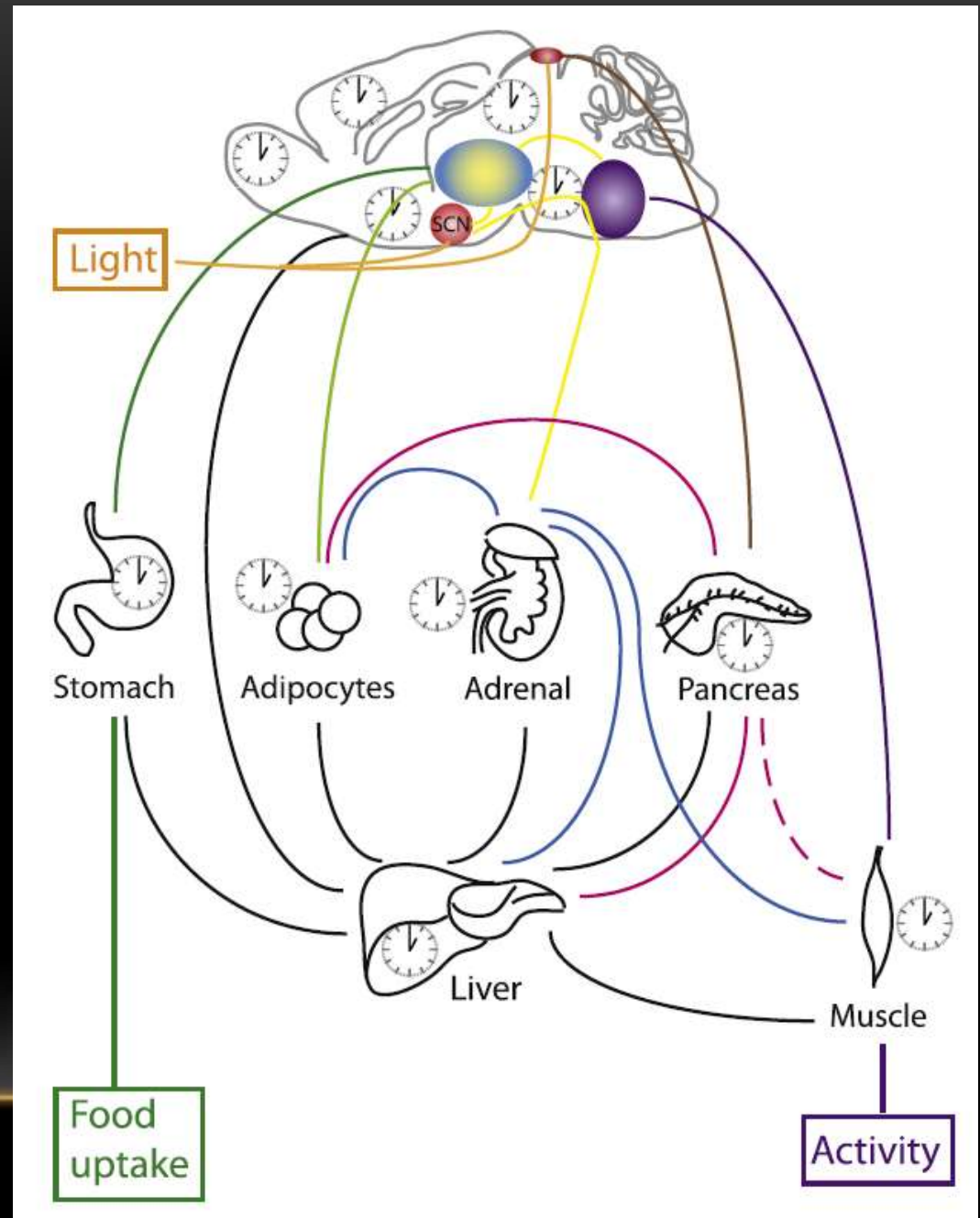


# Centrální a periferní oscilátory

Circ. hodiny jsou v různých orgánech odpovědných za řízení metabolismu a pohybu.

Master clock v SCN je synchronizuje.

SCN a pineální orgán citlivé na světlo.

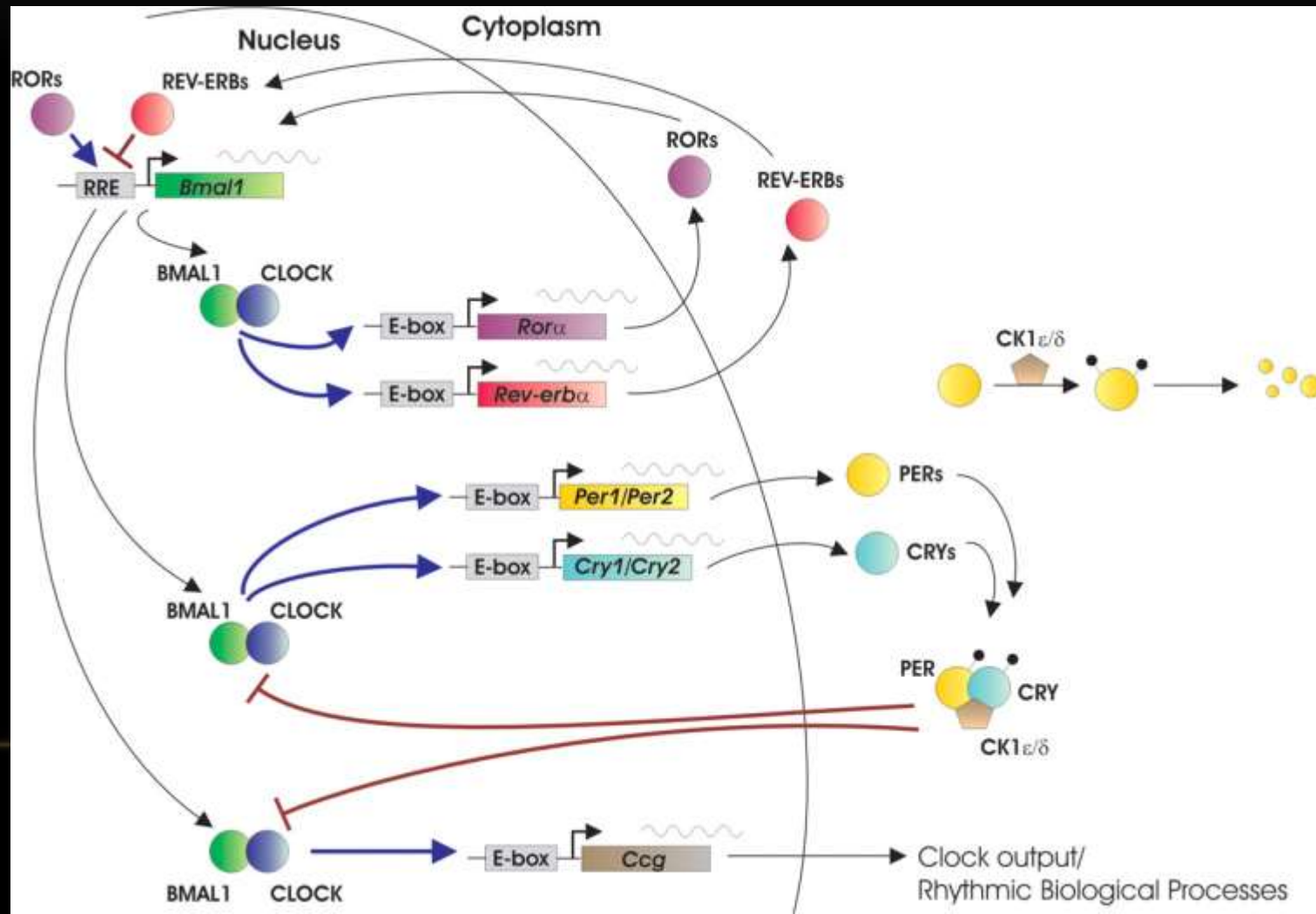




Ve zpětnovazebné smyčce jsou pozitivními elementy transkripční faktory CLOCK and BMAL1. Ty dimerizují a iniciují transkripci genů *Period* a *Cryptochrome*. Negativní zpětná vazba je zajištěna PER:CRY dimery, které translokují zpátky do jádra, kde potlačují svou vlastní transkripci působením na CLOCK:BMAL1 komplex, kterému brání v dimerizaci. Jiná regulační smyčka je indukována CLOCK:BMAL1 heterodimery.

Cyklující faktory řídí transkripci regulačních Ccg genů. Ty zajišťují downstream efekty.

MYŠ

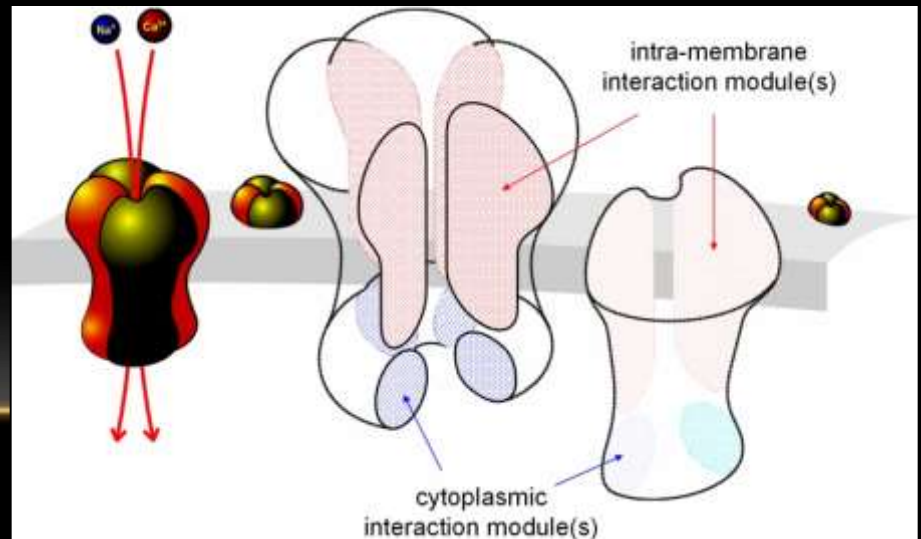


Jaké jsou možné mechanismy magnetorecepce?  
Co víte o kryptochromech?

**Možná otázka**

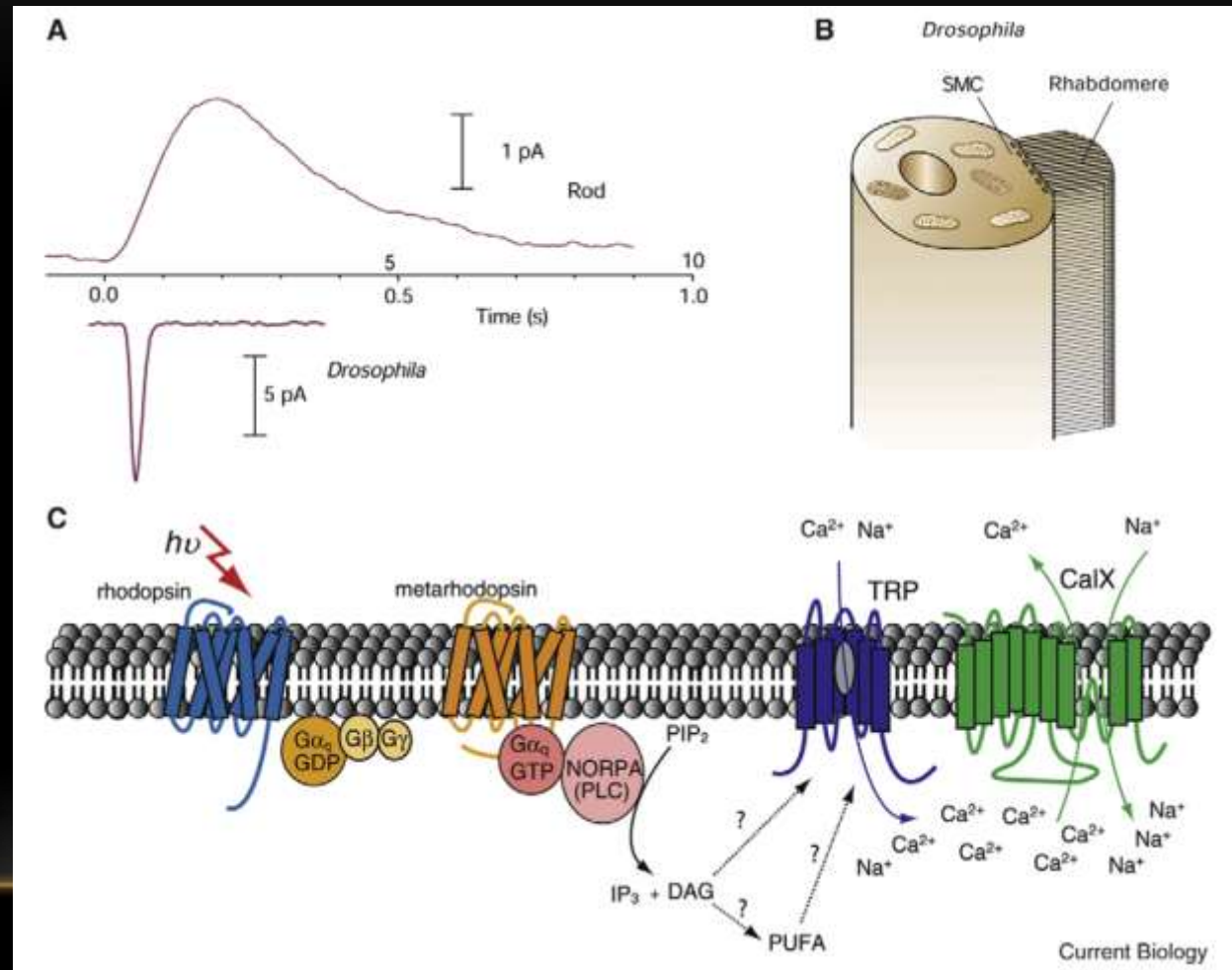
# CÍTĚNÍ PŘES TRP KANÁLY

## TRP – TRANSIENT RECEPTOR POTENTIAL



Objeveny v oku octomilky 1969

Univerzální buněčné sensory změn v okolním prostředí – slouží i organismům  
Evoluční specializace na zrak, čich, chuť, sluch, dotek, osmolalitu, teplotu, bolest.



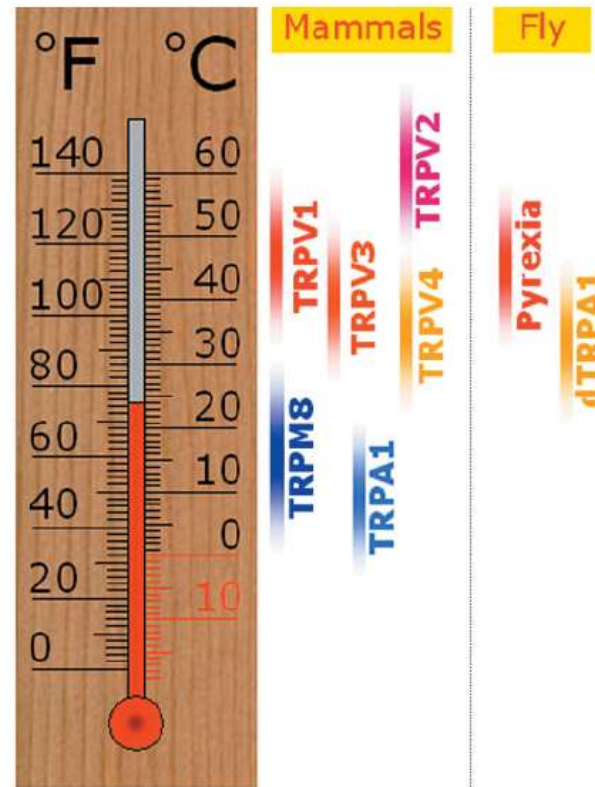


TRP superrodina je specifická třída kanálů, které se otevírají v odpověď na celou škálu chemických a fyzikálních stimulů. Díky této škále vrátkování, TRP kanály slouží jako univerzální senzory, které dovolují buňkám a celým organizmům detekovat změny v jejich prostředí.

Během evolučního vývoje došlo k pozoruhodné specializaci těchto bílkovinných komplexů tak, že mohou měnit svou konformaci vlivem různých chemických i fyzikálních podnětů: mohou hrát roli při zraku, čichu, chuti (sladka, hořka a umami), sluchu, doteku, osmolality, pH, teploty, bolesti od kvasinky a háďátka přes Drosophilu k člověku. Tedy téměř všech prozkoumaných modalit.

Některé TRP kanály jsou přímo receptory, zatímco jiné jsou efekторы výše stojících s G-proteinem spřažených receptorů. Některé TRP kanály fungují jako buněčná čidla, která převádějí změny okolního prostředí na produkci druhých poslů uvnitř buněk, a to především vápníku, čímž dochází k aktivaci nebo modulaci činnosti dalších receptorů.

## Různé teplotní nastavení



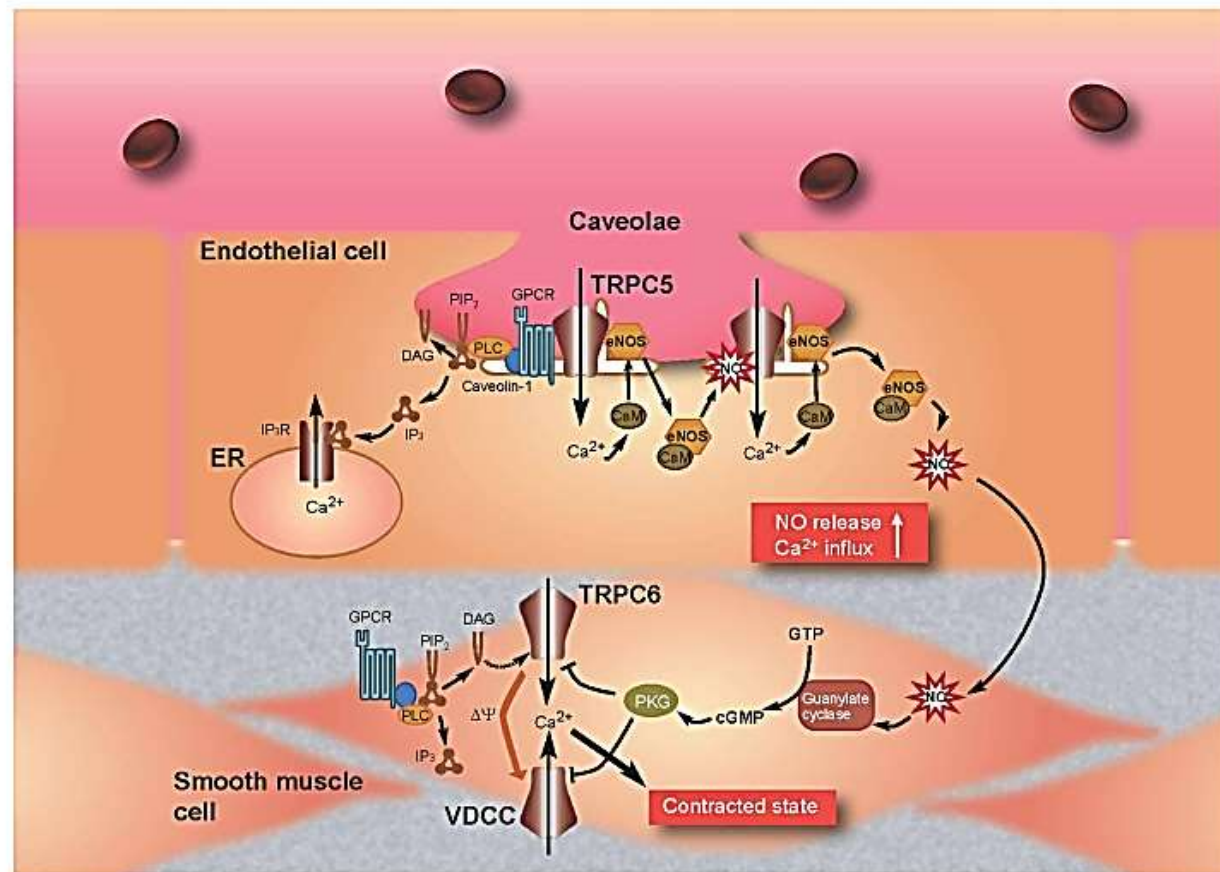
**Figure 2** Activation range of human and *Drosophila* thermoTRPs. Indicative temperature range for activation of mammalian and *Drosophila* thermoTRPs in heterologous expression systems. Note that TRPM8 and TRPA1 are activated upon cooling, whereas all other indicated channels are heat activated.

Molekulární identifikace teplotně aktivovaného iontového kanálu TRPV1, který se uplatňuje v přenosu bolestivých podnětů na primárních nociceptivních neuronech, vedla k prudkému zvýšení zájmu fyziologů o další iontové kanály této skupiny a díky rozsáhlým genomickým projektům ukázala existenci obecných molekulárních principů sensorické transdukce.

U člověka bylo dosud identifikováno 27 genů pro TRP receptory a jejich fyziologická úloha byla prokázána v souvislosti s některými onemocněními, jako jsou poruchy metabolismu hořčíku (hypomagnezémie), polycystická onemocnění ledvin, nebo mukolipidózy (poruchy odbourávání glykoproteinů a jejich hromadění ve tkáních).

Některé podtypy TRP receptorů se nacházejí v nedráždivých buňkách, jako jsou např. keratinocyty, ledvinný epitel a prostata.

NO  
zprostředkovaná  
dráha vedoucí k  
relaxaci hladké  
svaloviny endotelu



**FIGURE 4 | Model for TRPC5-mediated feedback of  $\text{Ca}^{2+}$  and NO signaling in endothelial cells and attenuation of  $\text{Ca}^{2+}$  entry through TRPC6 by NO in smooth muscle cells.** Stimulation of G protein-coupled receptors (GPCRs) (such as the ATP-activated P2Y receptor) induces  $\text{Ca}^{2+}$  influx and activation of eNOS as a consequence of binding of  $\text{Ca}^{2+}$ -CaM and release of eNOS from caveolin-1. TRPC5 undergoes eNOS-dependent S-nitrosylation after GPCR stimulation, resulting in amplified  $\text{Ca}^{2+}$  entry and secondary activation of eNOS to amplify production of NO. NO diffuses out of endothelial cells into adjacent smooth muscle cells and stimulates the

guanylate cyclase, which leads to the activation of PKG in smooth muscle cells. In the most prevailing hypothesis, the magnitude of continuous  $\text{Ca}^{2+}$  influx through VDCC, which critically determines the contractile status of vascular smooth muscle cells, decreases and increases by membrane hyperpolarization and depolarization, respectively. TRPC6 likely functions as a depolarization ( $\Delta\psi$ )-inducing channel or a direct  $\text{Ca}^{2+}$ -entry pathway, activated in response to receptor stimulation. The NO/cGMP/PKG pathway suppresses TRPC6 and VDCC activity to induce relaxation of smooth muscle.



Studium TRP kanálů je zajímavé nejen pro jejich univerzální roli ve smyslové transdukci, ale i směřuje k hlubšímu porozumění mechanismů, které se uplatňují při vzniku některých onemocnění nervového systému a k cílenému hledání prostředků pro jejich léčbu. Jejich studiem se blížíme pochopení Ca citlivých mechanismů Ca regulace neexcitabilních buněk jako je aktivace T buněk, řízení apoptózy, proliferace, sekrece a buněčné migrace.

Charakterizujte funkci a význam TRP kanálů.

**Možná otázka**

- Závěrem: Buňky konzervativně využívají již vyzkoušených mechanismů k předávání signálů. Schopnosti buněk vidět, slyšet, čichat se svými mechanismy neliší od schopností regulovat vývoj, zrání, diferenciaci, transport, metabolismus a homeostázu. Studiem smyslových schopností poznáváme obecná pravidla molekulární komunikace.

