

# Sekreční dráha a endocytóza (vesikulární transport)

# Nobelova cena 2013 za fyziologii a medicinu

secretion. With  
tive cell-free  
n, Rothman's  
isolating pro-  
lp vesicles to  
om one mem-  
en fuse with a  
rane. One of  
s they found,  
, proved to  
erpart among  
roteins that  
was isolating.  
s a moment  
in the field,"  
ologist William

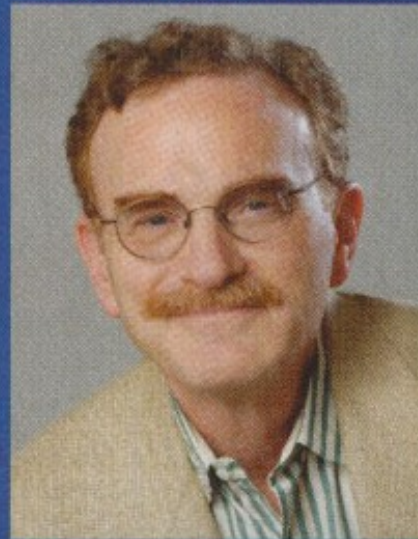
Dartmouth

h the discovery of many more  
parts, "it meant that the whole  
[transport] pathway was con-  
yeast to humans."

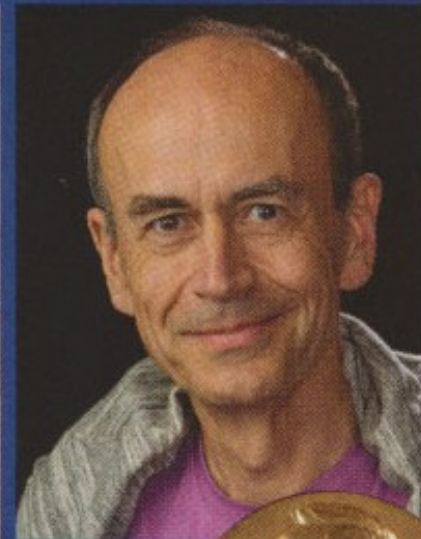
JAMES ROTHMAN



RANDY SCHEKMAN



THOMAS SÜDHOF



**MEDICINE**  
**NOBEL PRIZE 2013**



many of the same molecules."

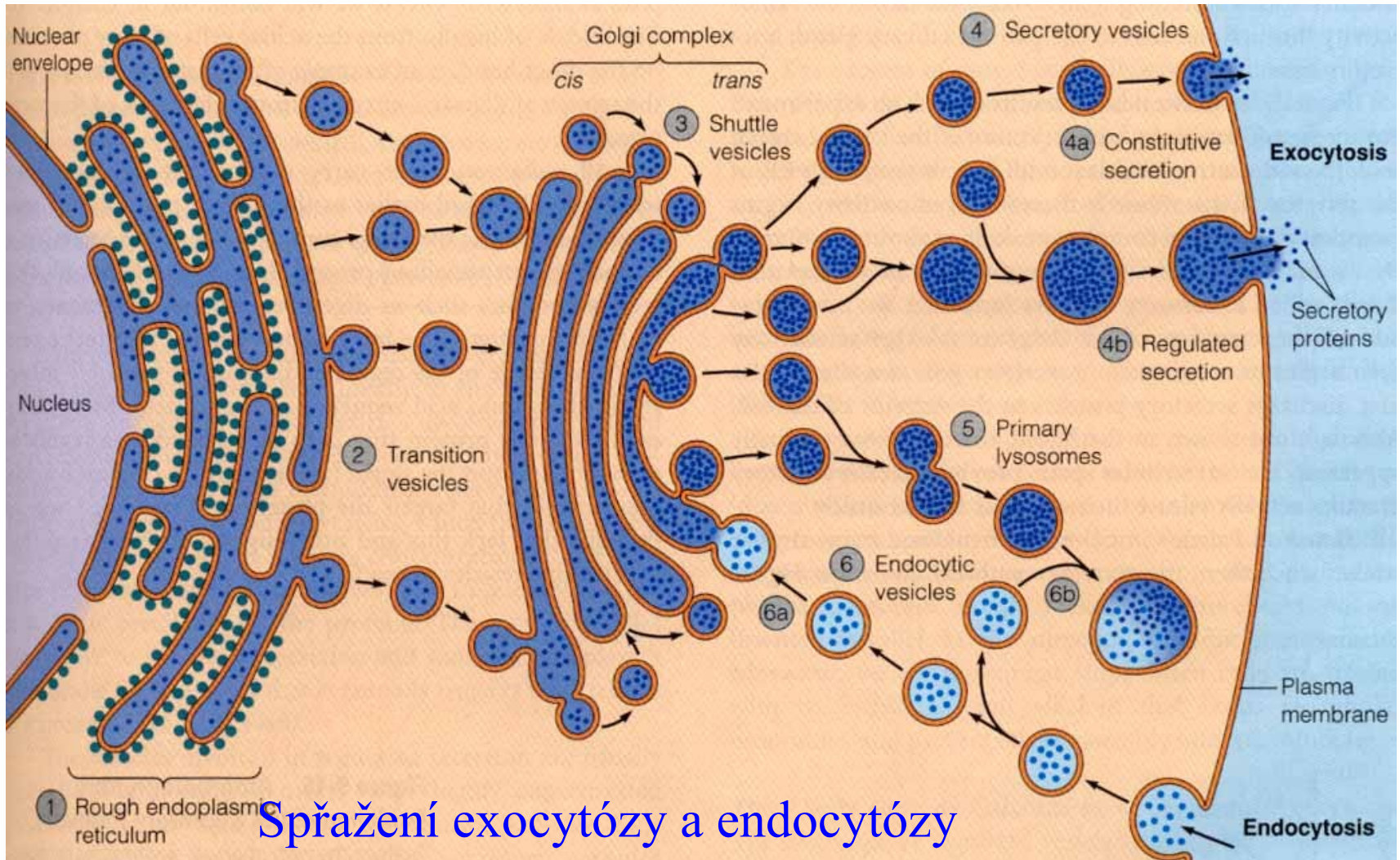
Many neuroscientists have long expected  
that Südhof would join the Nobel ranks. "The  
guy is on a mission: He won't rest until he's

membr  
and tri  
in resp  
calcium

The  
cially a  
early v  
has co  
the pro  
of syna  
Hundr  
work o  
has ide  
tant to  
Missle  
neuro  
malfun

By including Südhof  
membrane trafficking, th  
tute in Stockholm may  
future award devoted p

Charakteristika pojmů: endocytóza pinocytóza - fagocytóza  
(podle velikosti přijímaných částic)  
exocytóza (sekrece) regulovaná - konstitutivní  
(např. sekrece inzulínu vs. trávicích šťáv)



Spřažení exocytózy a endocytózy

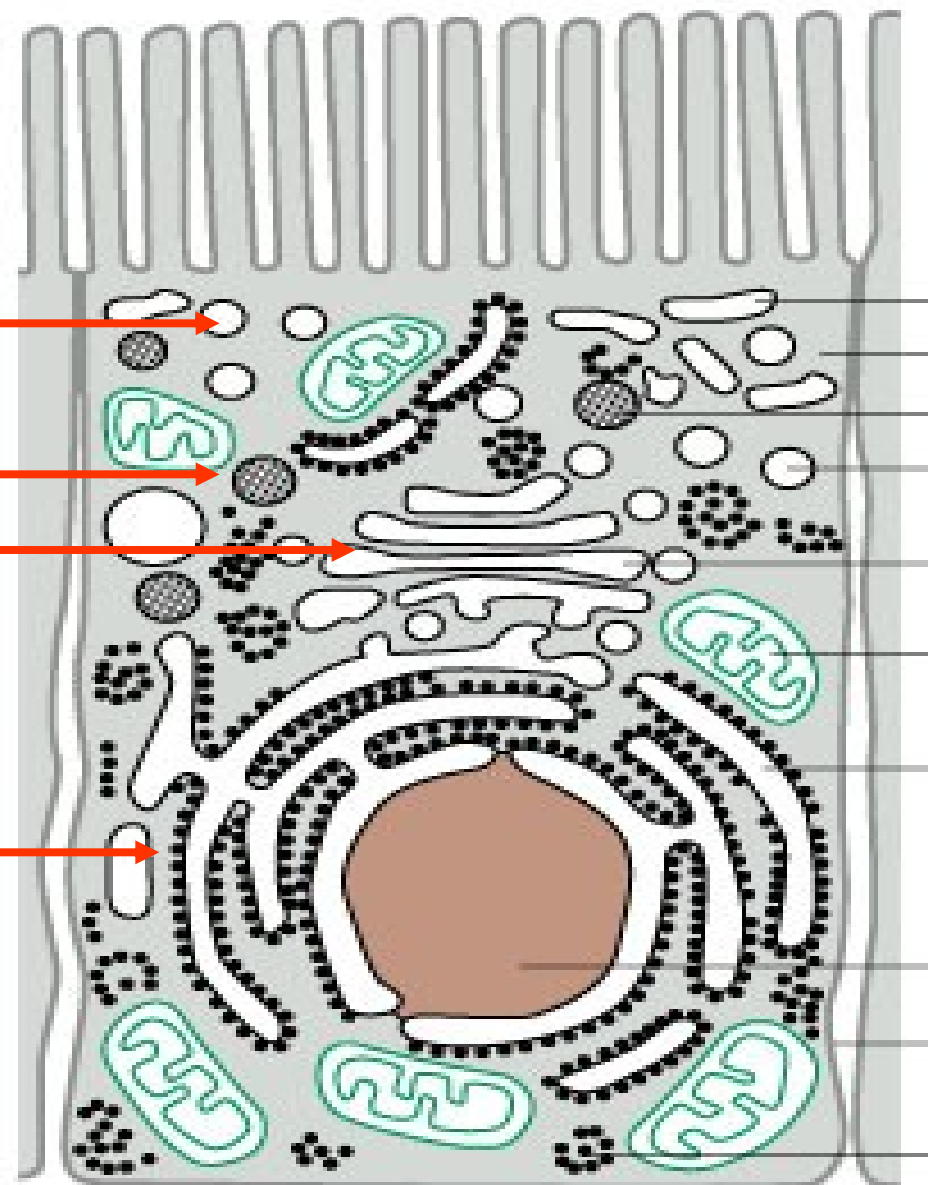
**Polarizované uložení organel  
u buněk resorpčního epitelu:**

Endosomy, sekreční váčky

Lyzosomy

Golgiho aparát

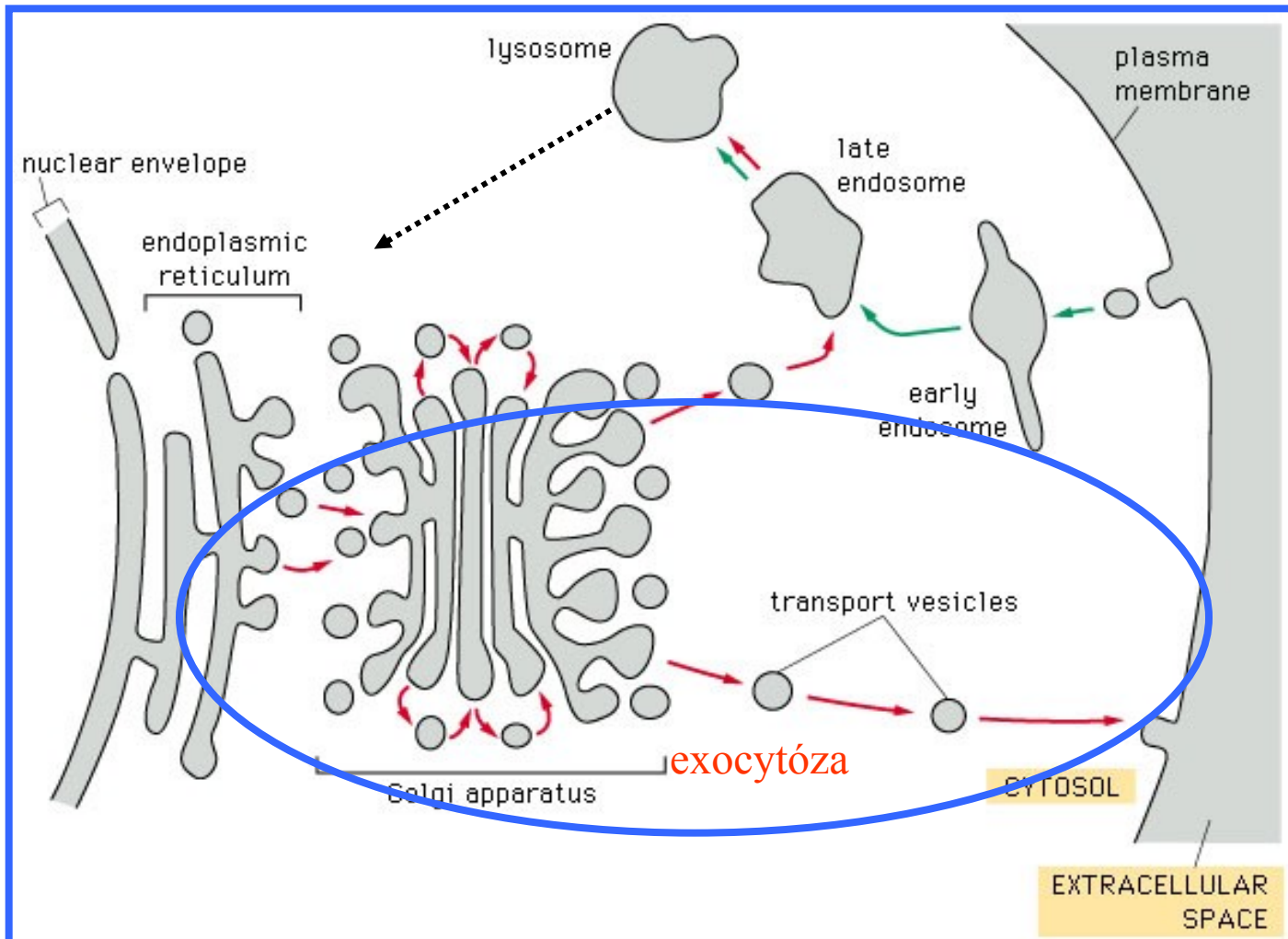
Endoplasmatické  
retikulum



15  $\mu\text{m}$

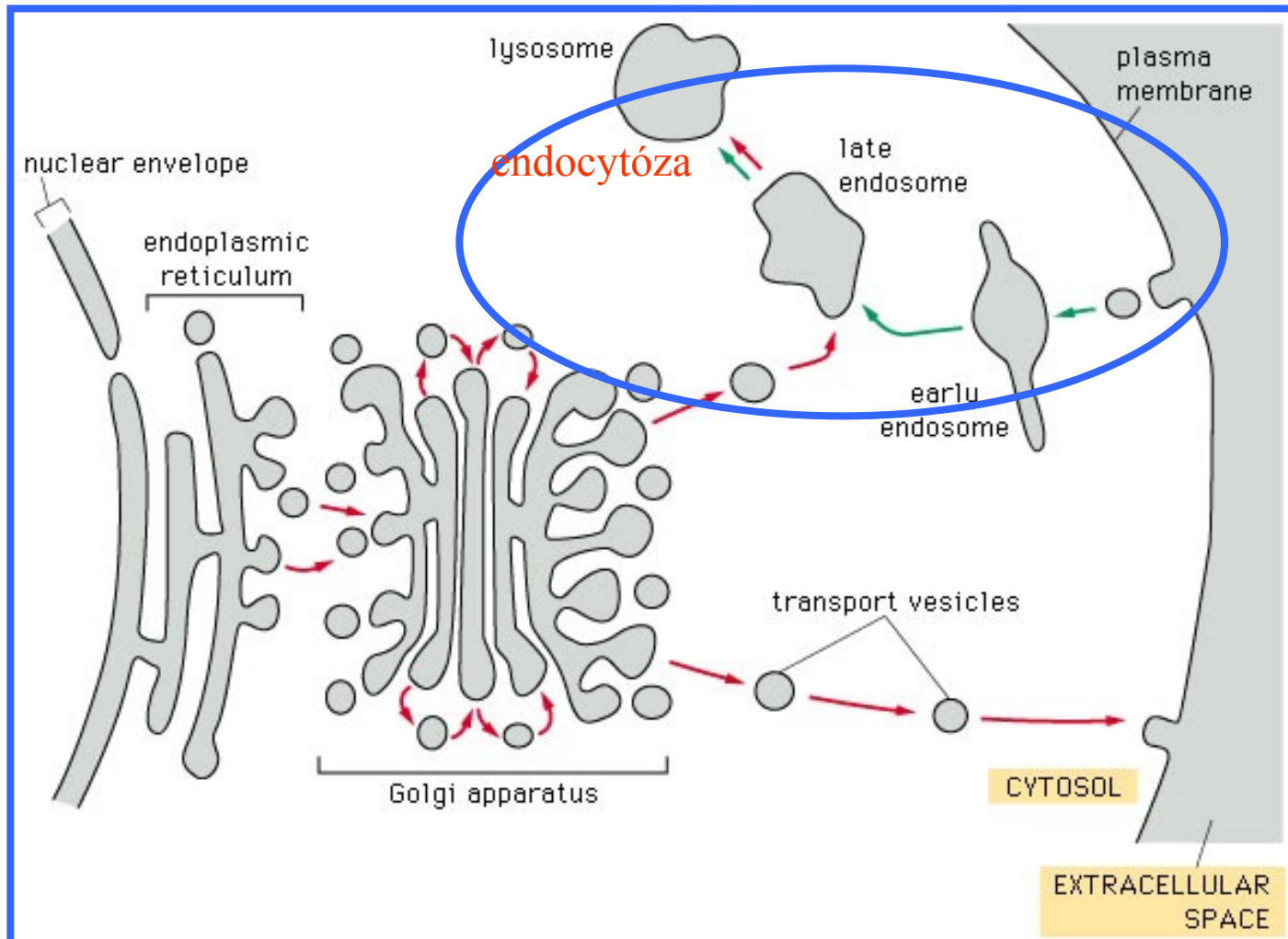
# Integrace sekreční dráhy a endocytózy: tok membrán

Proteiny syntetizované na ER jsou transportovány přes GA do sekrečních vesiklů, které splývají s PM nebo lyzosomy. Plocha PM se zvětšuje o povrch sekrečních vesiklů.



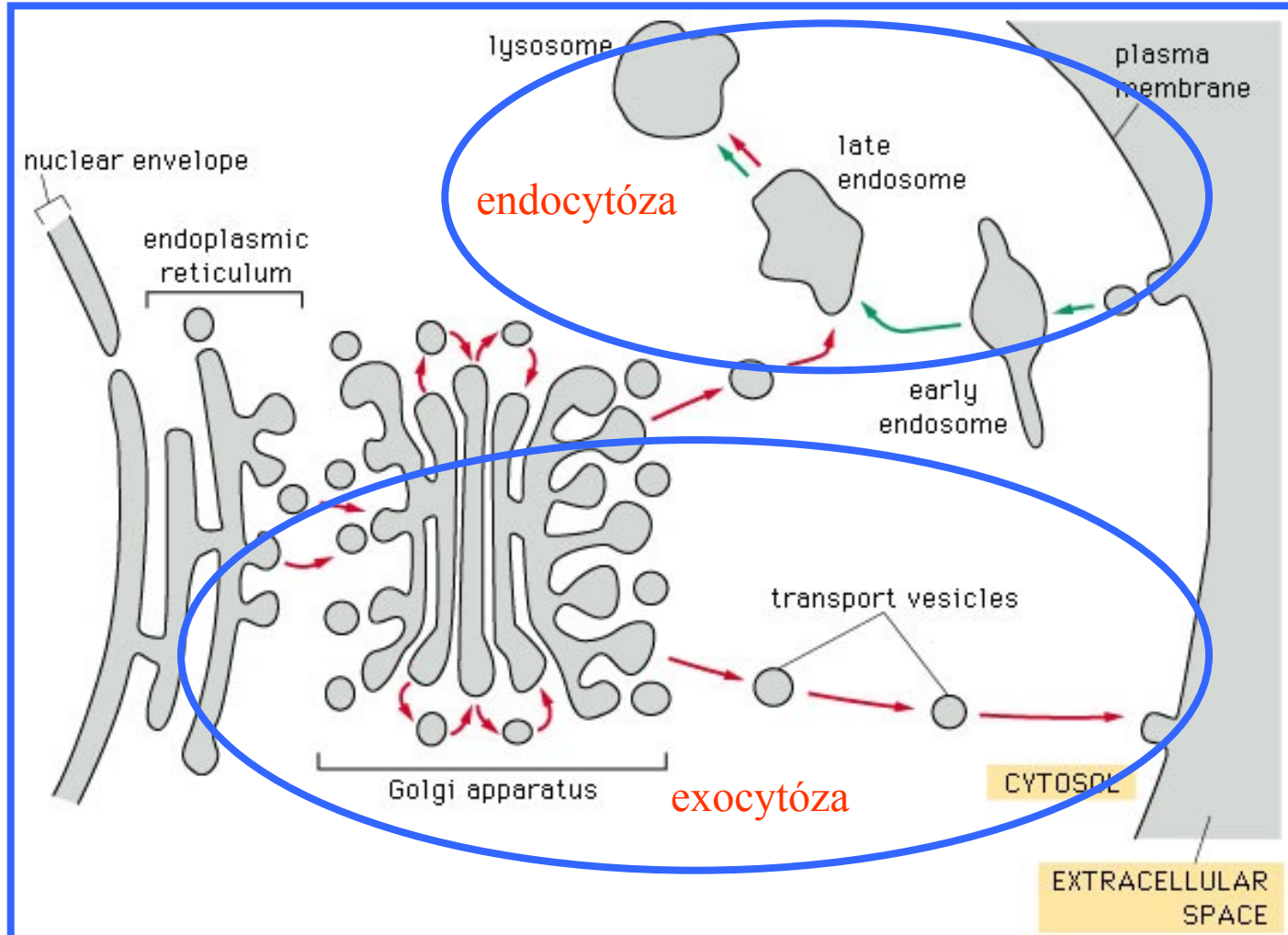
# Integrace sekreční dráhy a endocytózy: tok membrán

Plasmatická membrána se vchlipuje do cytoplasmu, odštěpuje se endosom a splývá s lysosomem. Vchlipováním měchýřků se plocha PM zmenšuje.



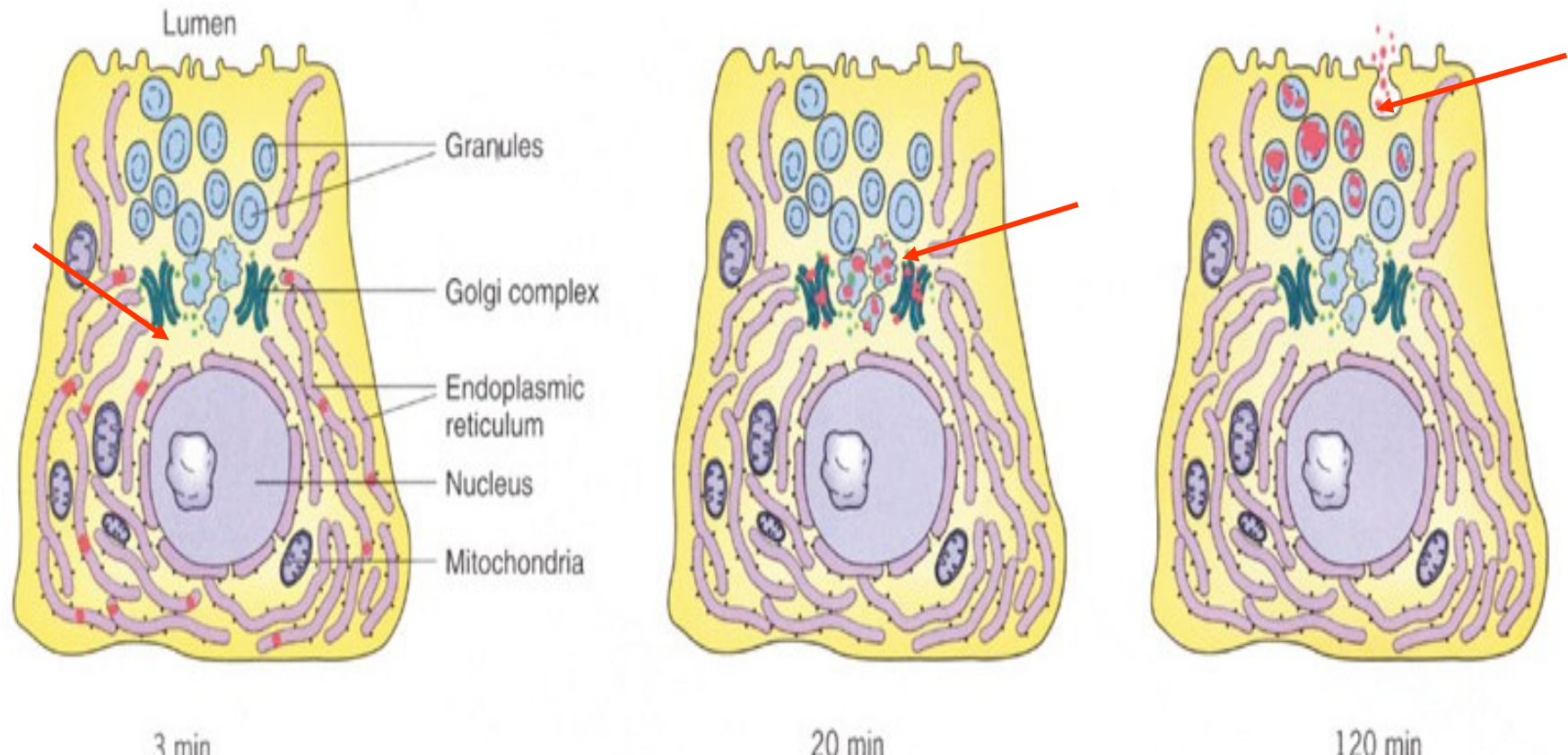
# Integrace sekreční dráhy a endocytózy: tok membrán

Integrací sekrečních vesikulů se povrch PM zvětšuje, odštěpováním endosomů se plocha PM redukuje. Rozměr povrchu buňky se tedy nemění. Membránový materiál tak neustále prochází všemi kompartmenty – tok membrán



# Jak byla objevena sekreční dráha ER → GA → vesikly?

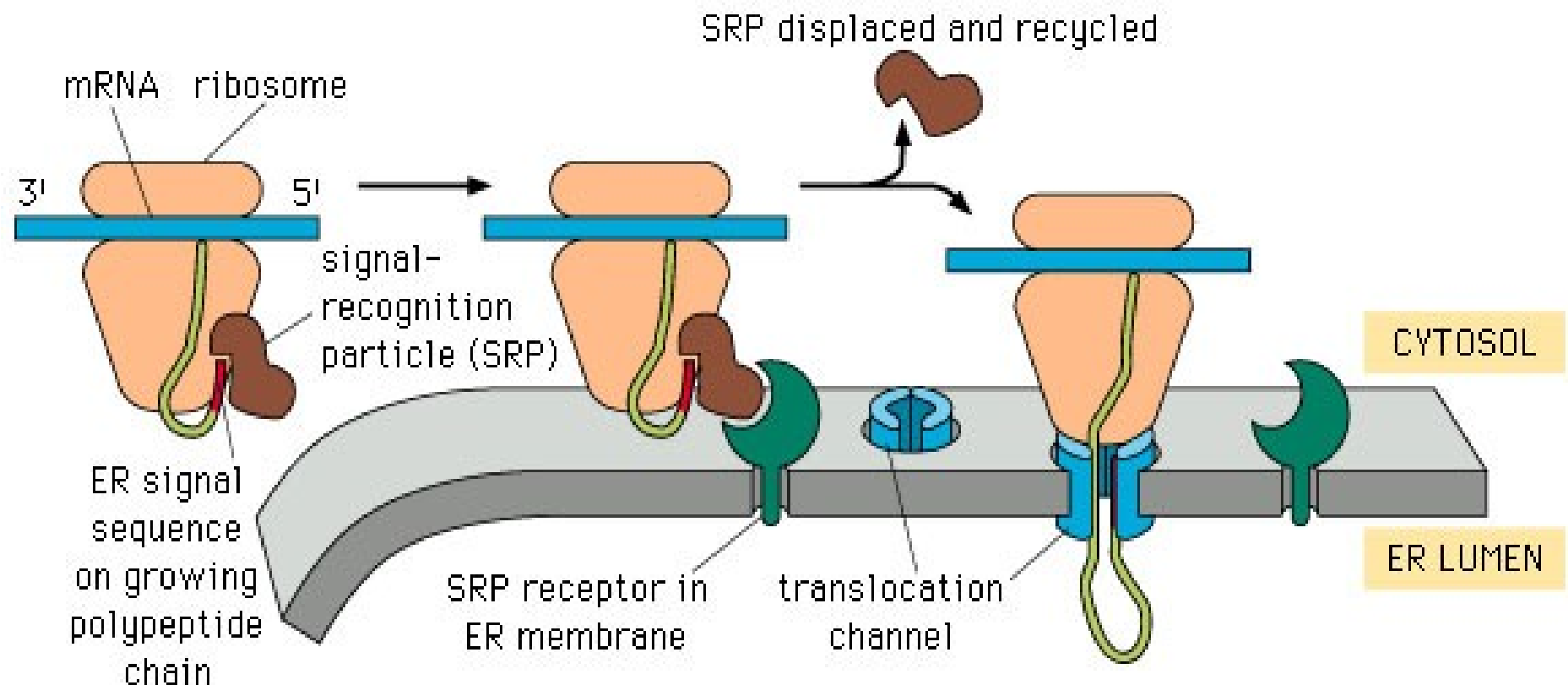
- ve **žlázových buňkách** jsou tyto kompartmenty abundantní (hojně zastoupeny)
- izotopové techniky prokázaly že po pulse-chase  $^3\text{H}$ -histidinu je radioaktivita (červené tečky) nejprve nad ER, pak GA a pak u povrchu buňky v zymogeních granulích



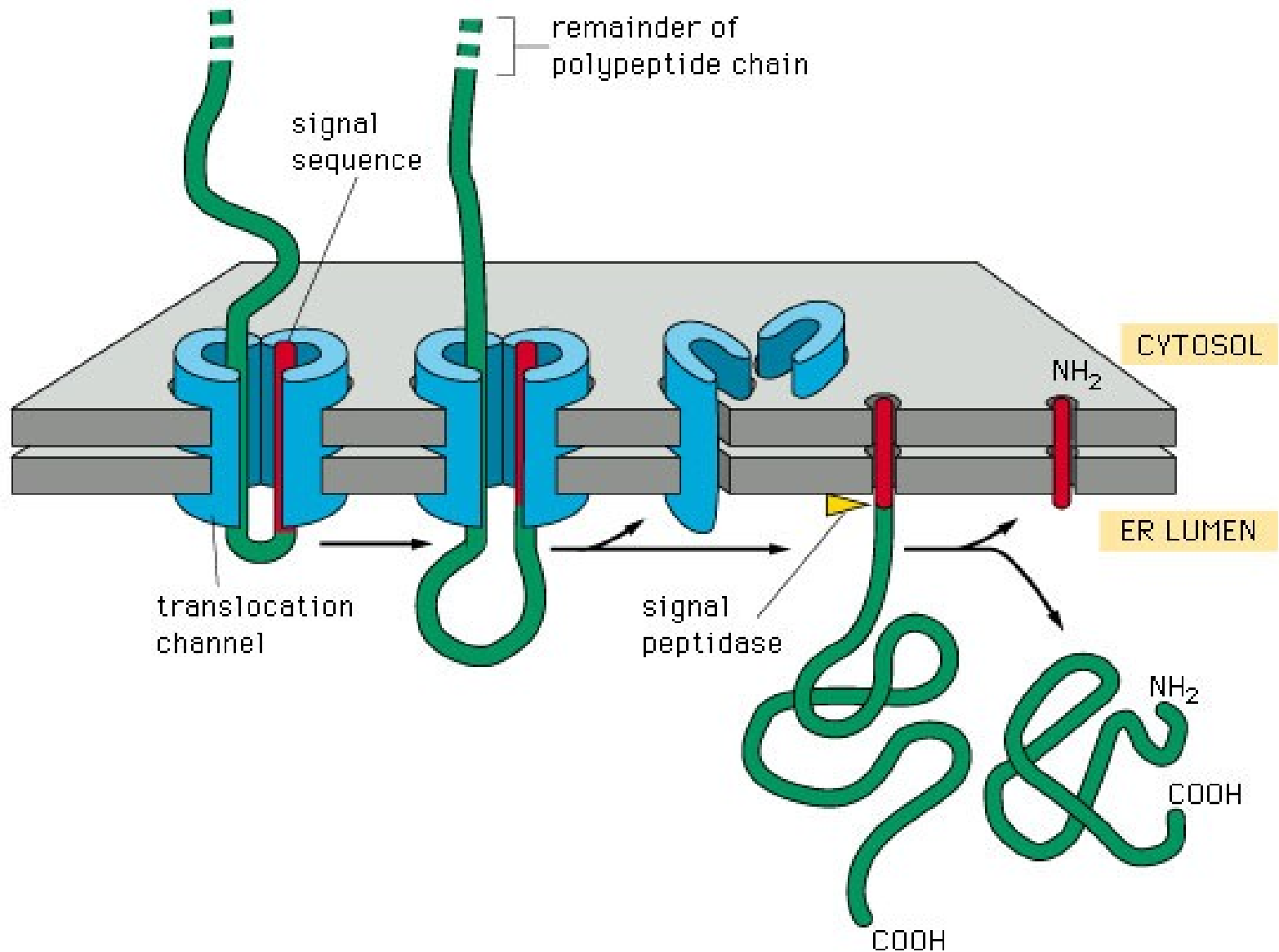


# Začátek sekreční dráhy: syntéza proteinů na ribosomech, vázaných na povrch membrán endoplasmatického retikula.

Syntéza sekrečního proteinu začíná na cytoplasmatických ribosomech. Po vytvoření **ER signální sekvence** se na ni naváže **SRP** částice, komplex se dostane na **SRP receptor** na povrchu ER, SRP se uvolní a ribosom se přesune na **translokační kanál**. Syntéza proteinu se obnoví, polypeptid je však nyní translokován do lumina ER.

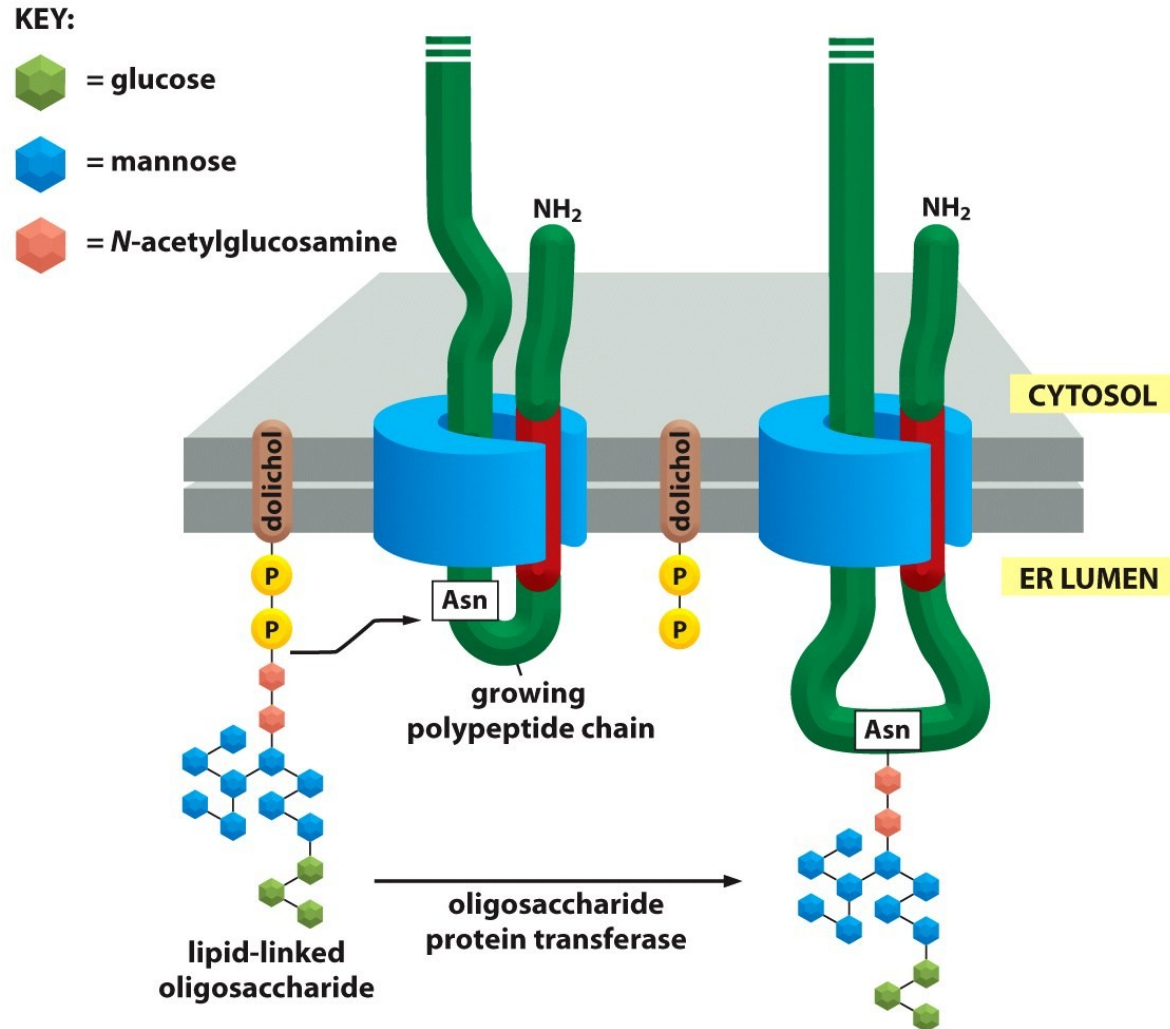


# Translokace proteinu do lumina ER

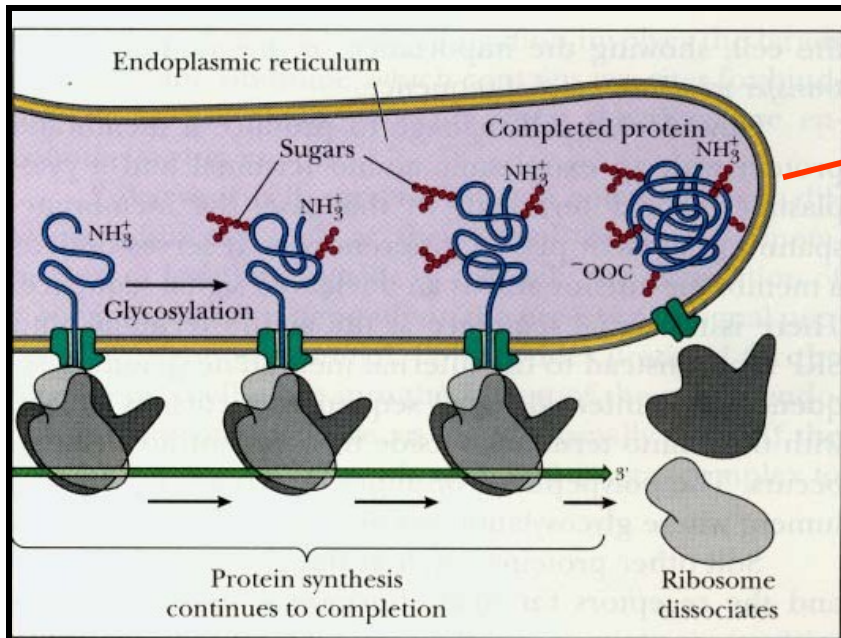


# Proteiny uvnitř ER jsou glykosylovány:

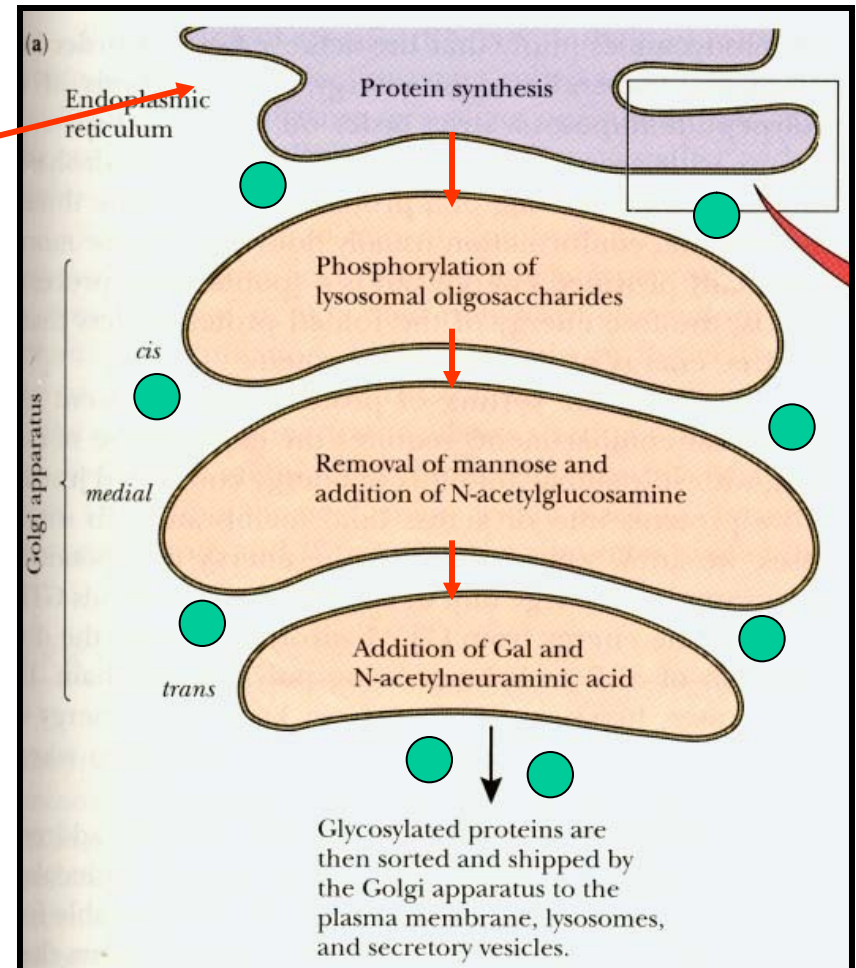
Oligosacharid, obsahující 14 monomerů, se syntetizuje na dolicholu a pak se navazuje na aminoskupinu asparaginu



Glykoproteiny, které jsou nyní v cisternách ER se, zabalený v membránových měchýřcích) dostávají do GA, kde se, opět v měchýřcích, přesouvají z jedné cisterny do další a jejich molekuly jsou chemicky upravovány. Z GA pak putují, zabalený v měchýřcích, do lyzozomů nebo do plasmatické membrány



proteins targeted to the inside of secretory vesicles or lysosomes, however, membrane proteins do not fully pass into the ER lumen, but remain embedded in the ER membrane. They then move, as integral parts of the transport vesicle membranes, to the Golgi apparatus, where they are glycosylated on segments that will ultimately lie on the ex-



V cisternách Golgiho aparátu jsou sekreční proteiny dále upravovány a nakonec rozdělovány do měchýřků podle funkce a místa určení

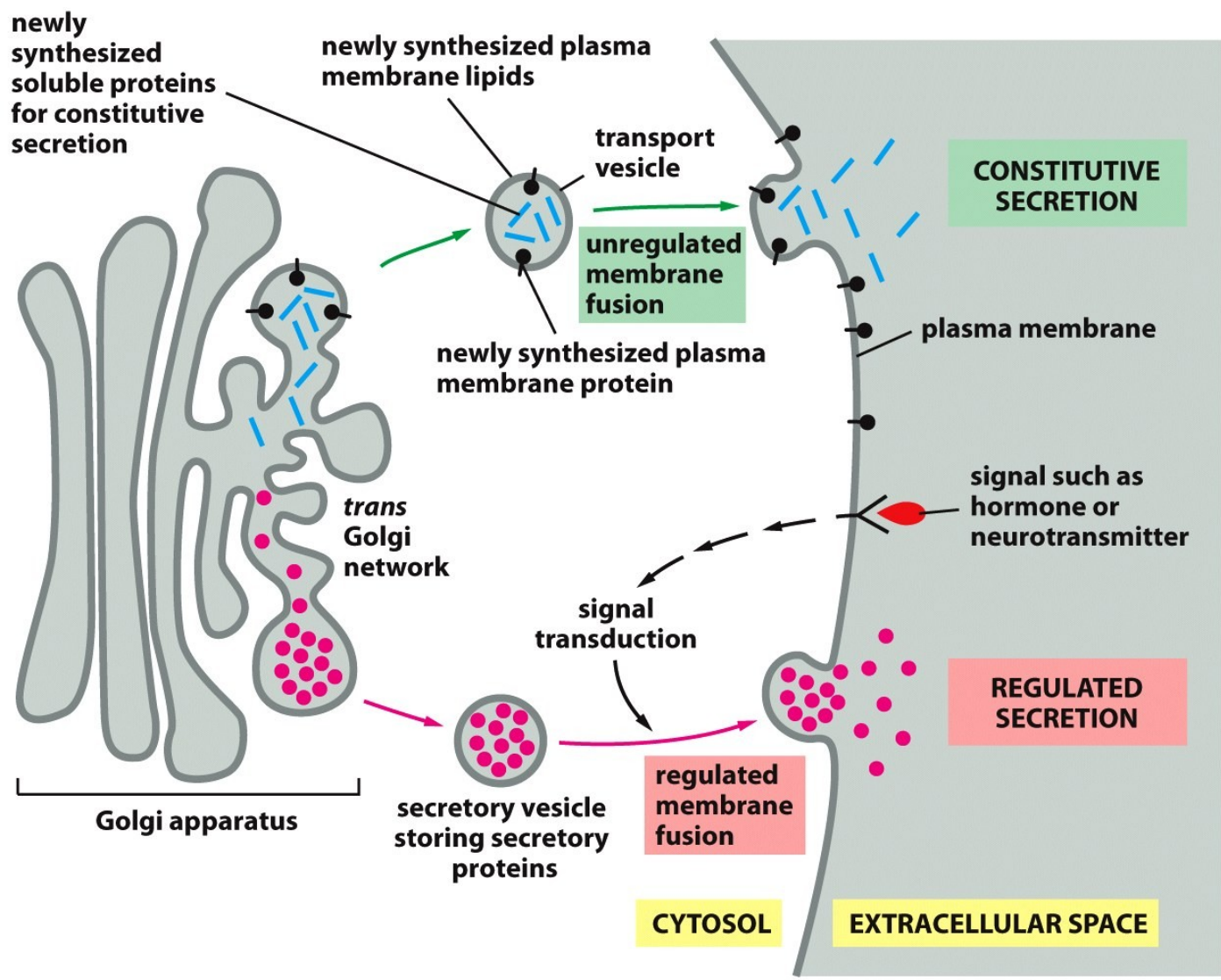


Figure 15-27 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

# Jak je kontrolován postup sekrečního produktu po sekreční dráze?

U kvasinek *S.cerevisiae* byly detekovány geny, jejichž produkty jsou potřebné pro průběh sekrece. Mutací těchto genů je blokována sekreční dráha v místě, kde schází genový produkt



Randy Schekman

# Jak se izolují sec mutanty?

Jestliže syntéza bílkovin pokračuje, ale sekrece je zastavena, vzrůstá specifická hmotnost buněk a v hustotním gradientu jsou těžší. Z frakce těžších buněk se případně izolují **teplotně senzitivní mutanty**: v pokojové teplotě 25°C probíhá sekrece proteinů normálně, avšak při zvýšení kultivační teploty na 37°C je sekrece zastavena na tom místě, kde schází teplotně denaturovaný protein.

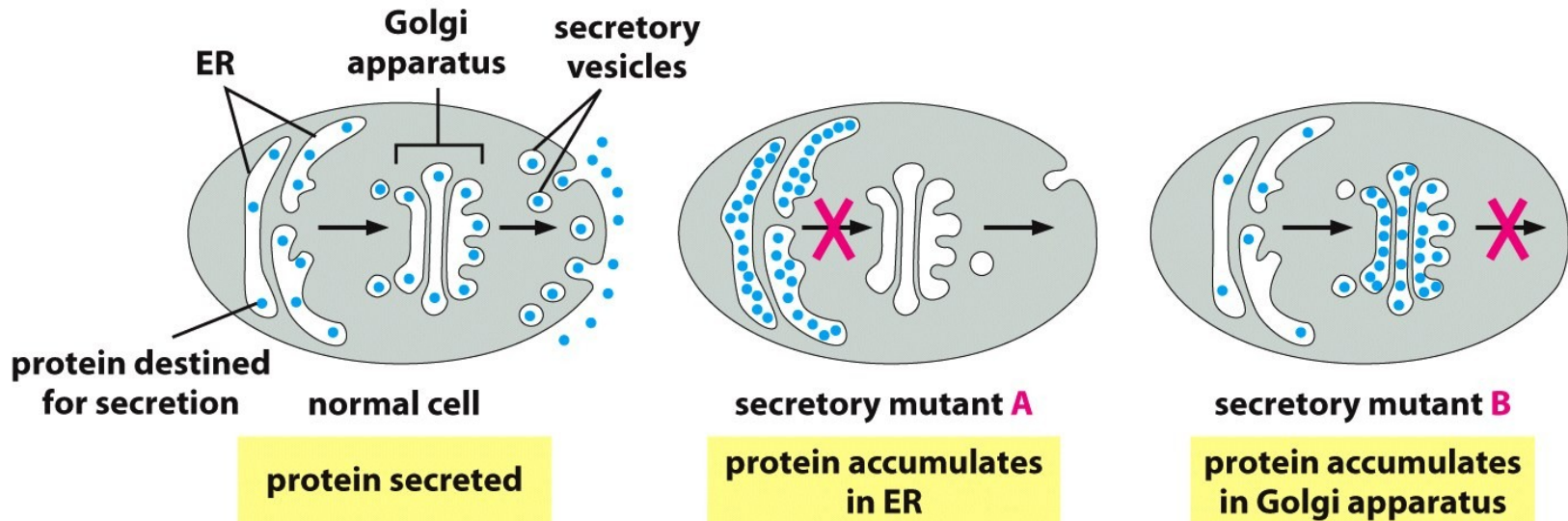
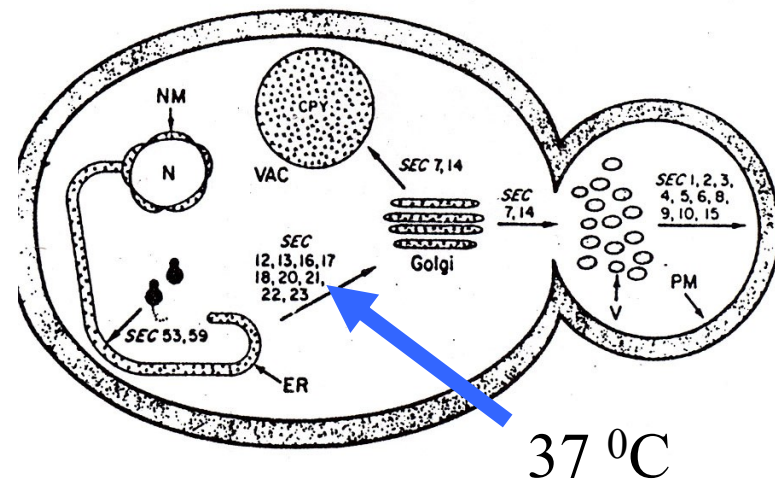
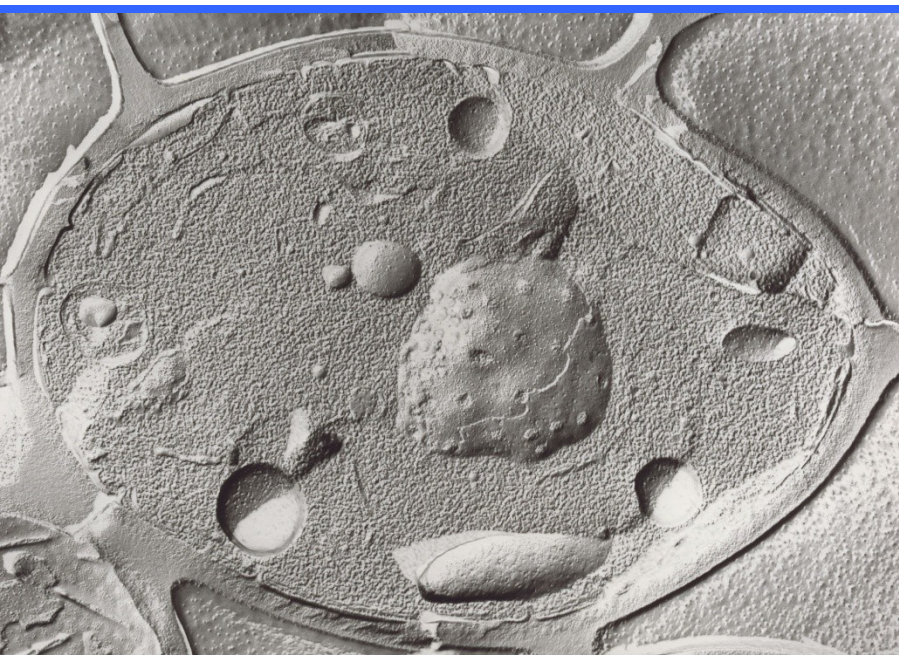


Figure 15-30 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

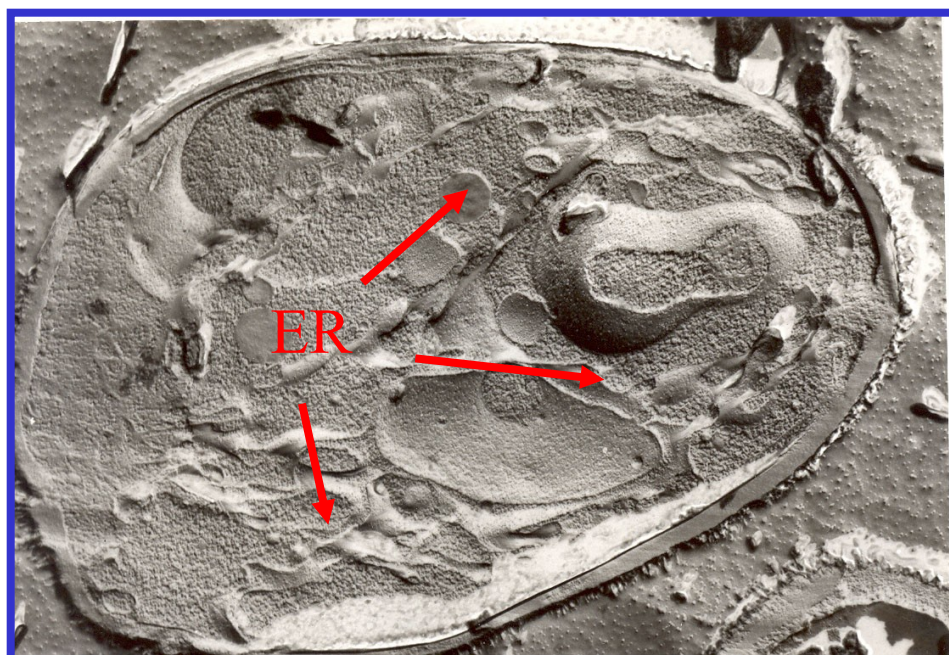
Sekreční mutanta *S. cerevisiae* sec 18, přenos z 25 °C do 37 °C



25 °C



37 °C

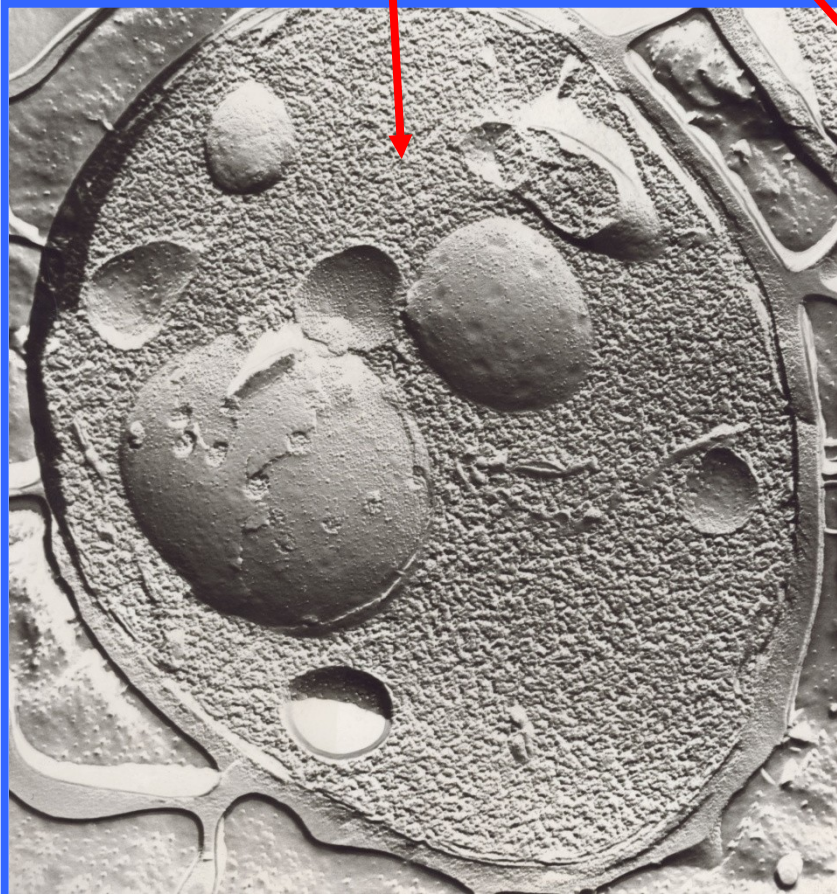
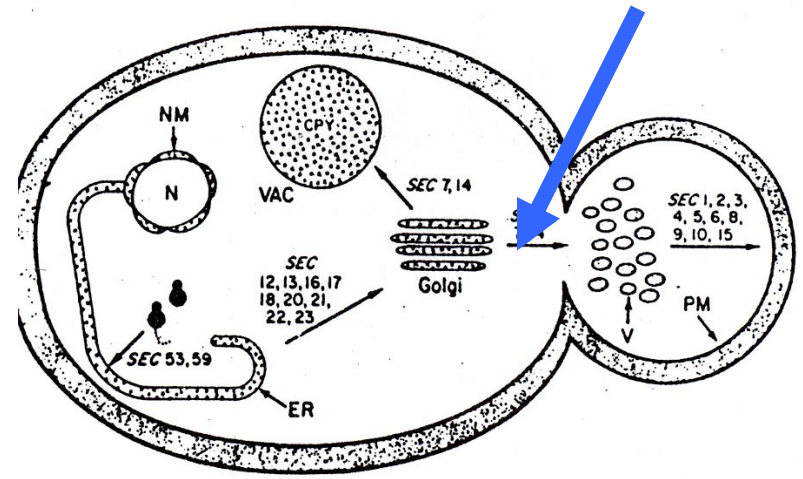




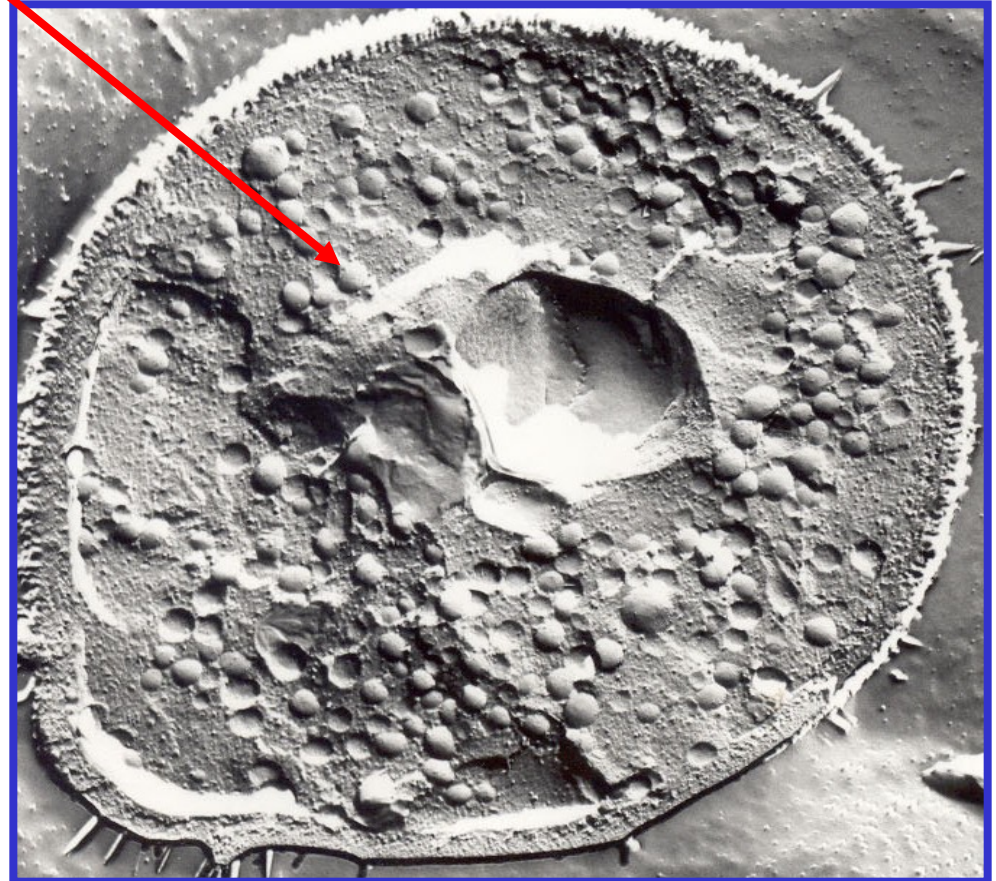
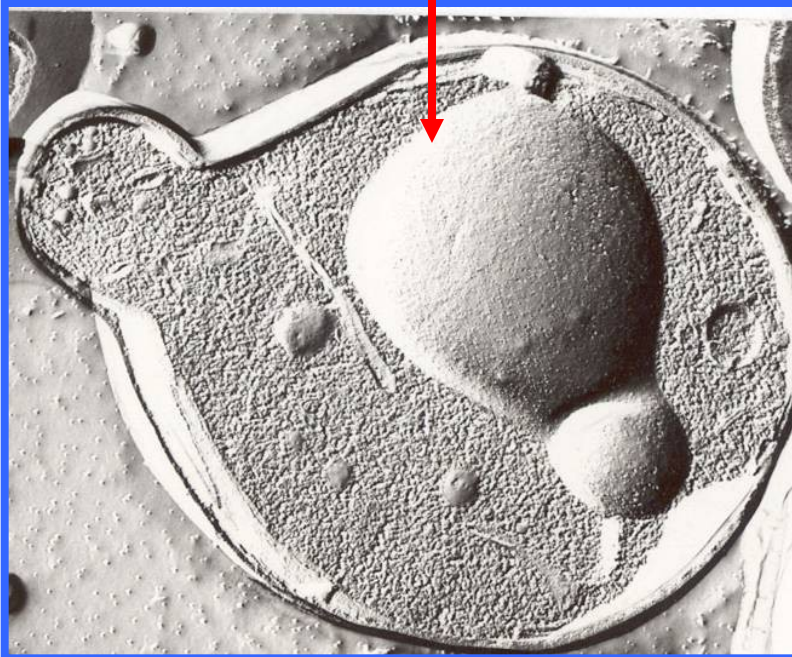
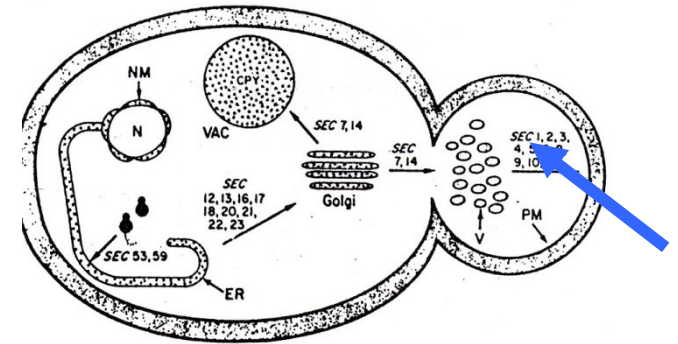
# Sekreční mutanta *S. cerevisiae*

sec 7

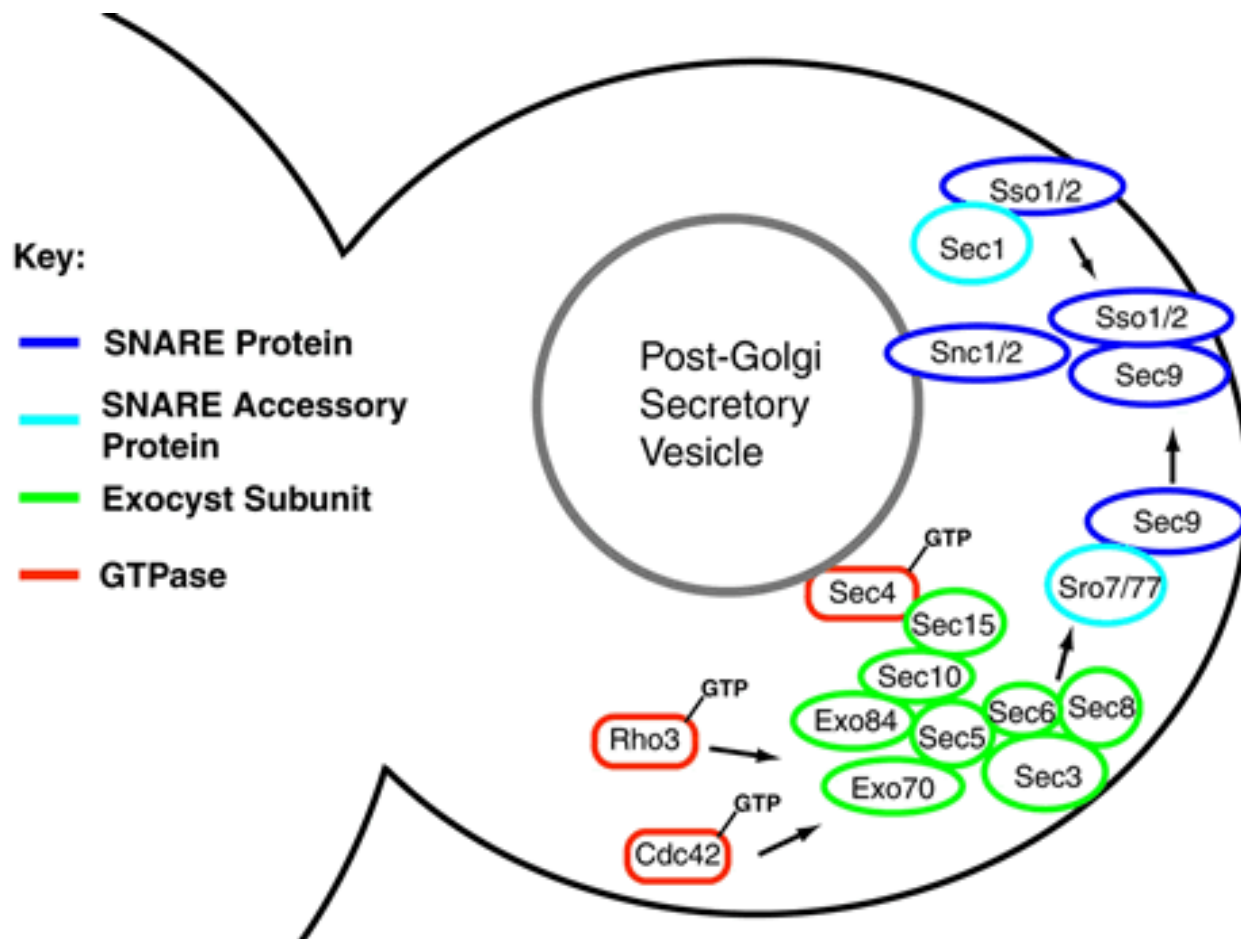
Transfer z 25 °C do 37 °C



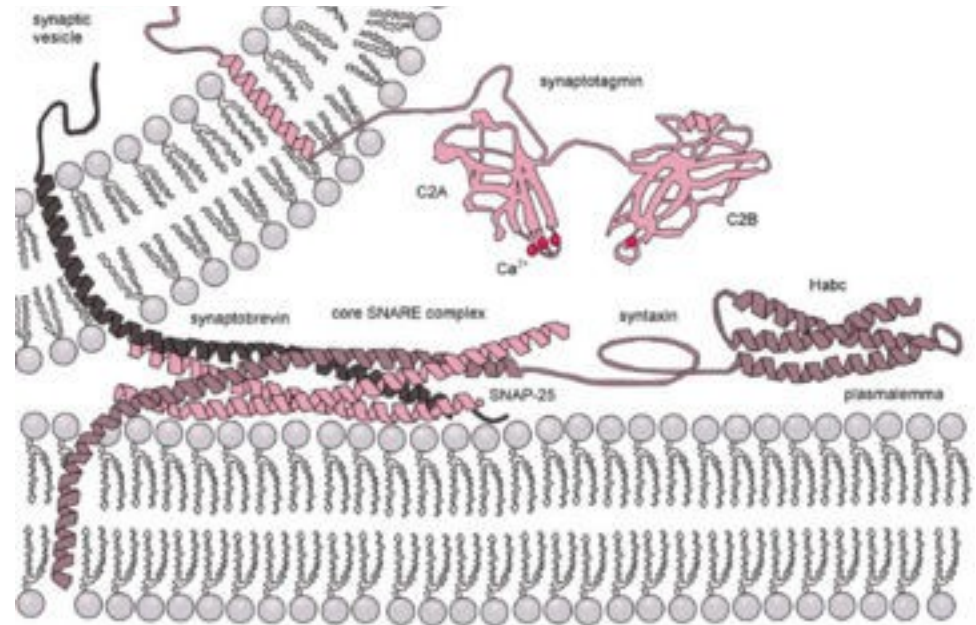
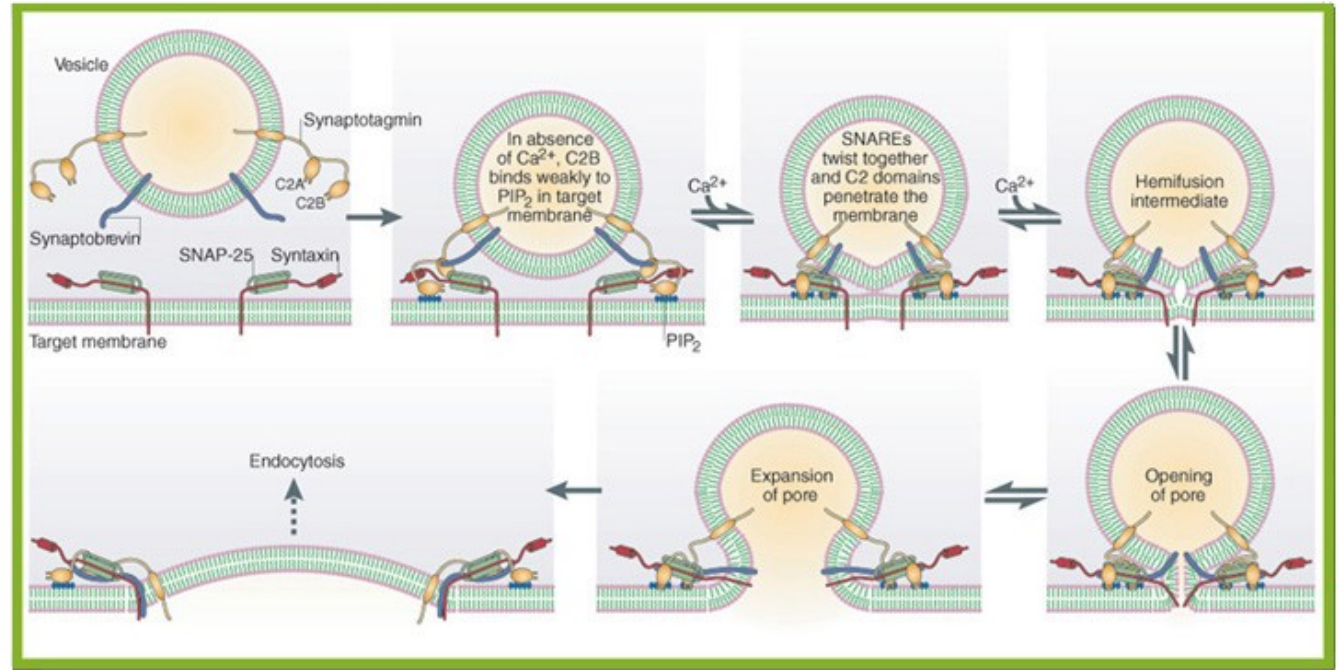
Sekreční mutanty kvasinek: sec 1  
25 °C → 37 °C



Proteiny, potřebné k exocytóze sekrečního váčku (post-Golgi secretory vesicle), definované na základě genetické analýzy sekrečních mutant kvasinek

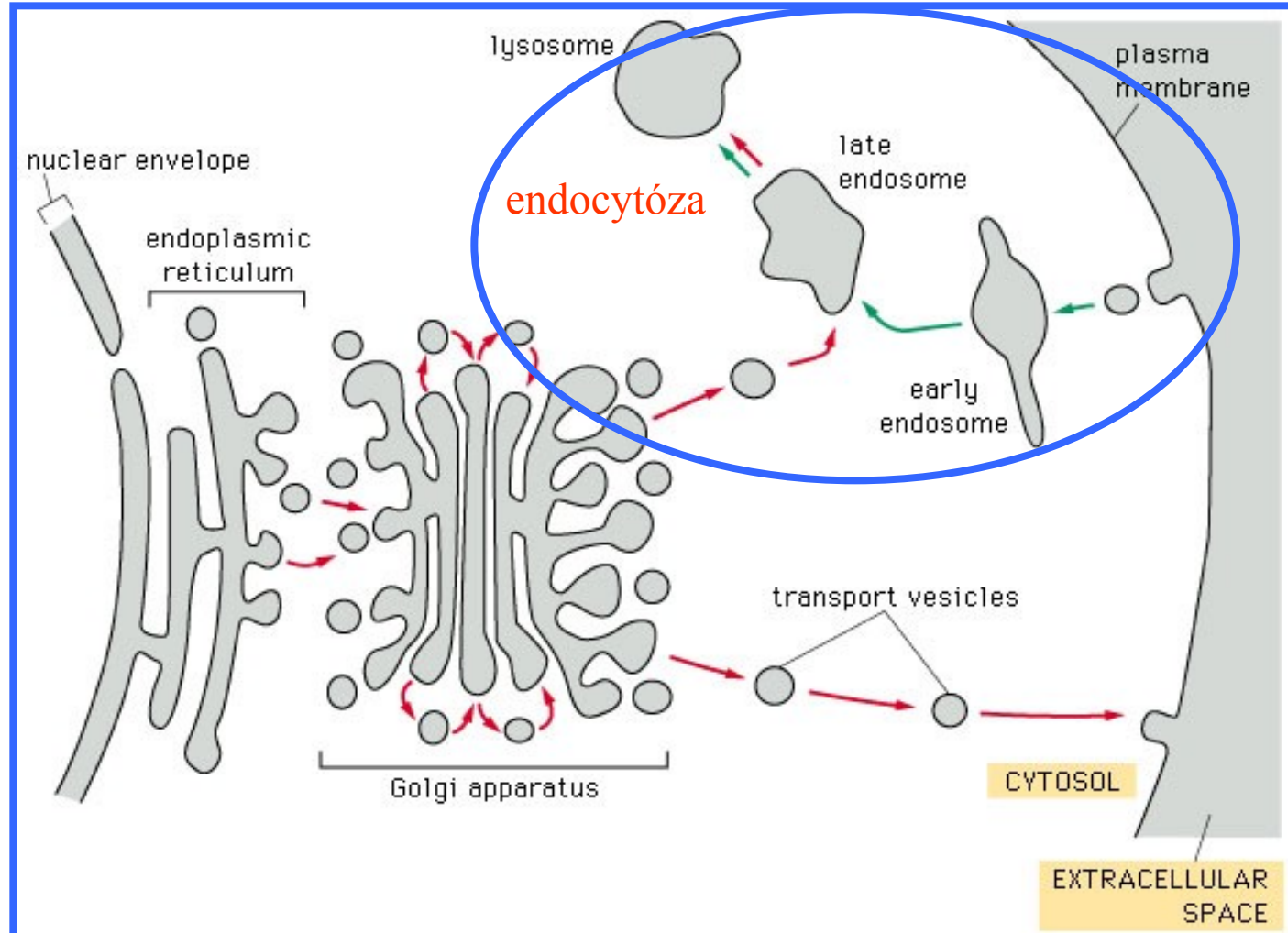


Molekulární  
 mechanizmy fuze  
 membrány  
 sekrečního váčku s  
 plasmatickou  
 membránou:  
 interakce  
 membránových  
 proteinů startuje  
 fuzi membrány.  
 Plocha plasmatické  
 membrány se zvětší  
 o povrch měchýřku.



# Endocytóza: tok makromolekul a částic obalených membránou do cytoplasmy.

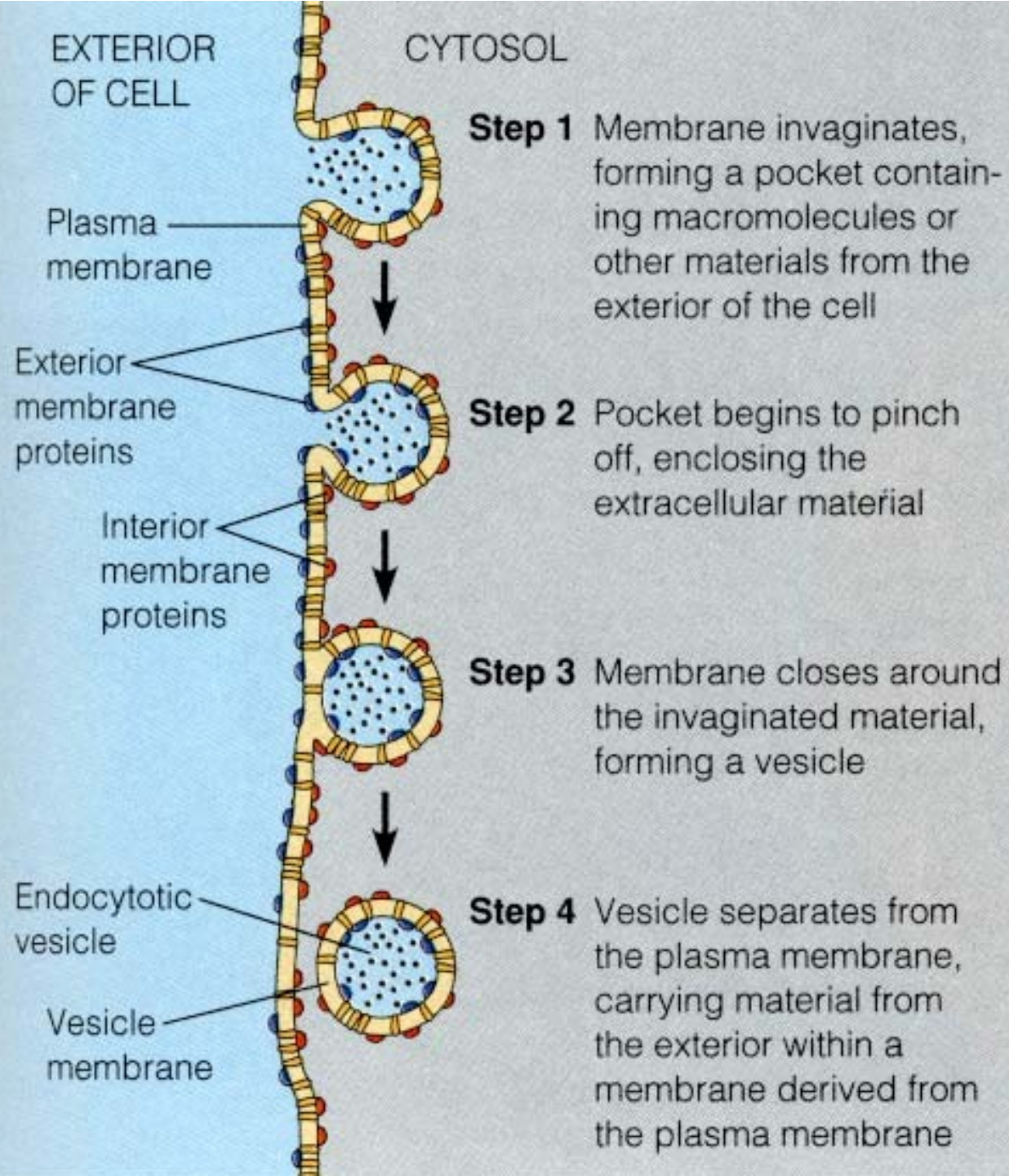
Endocytóza začíná vchlípením plasmatické membrány a odštěpením membránového váčku. Váčky se spojují navzájem a spojují se také se sekrečními měchýřky, které do endosomů přepravují hydrolytické enzymy. Tak jsou vytvářeny lyzosomy. Z lyzosomů jsou uvolňovány cukry a aminokyseliny do cytoplasmy.



Endocytóza:  
invaginace plasma-  
tické membrány, na  
jejíž receptory jsou  
navázány makro-  
molekuly z okolí  
buňky

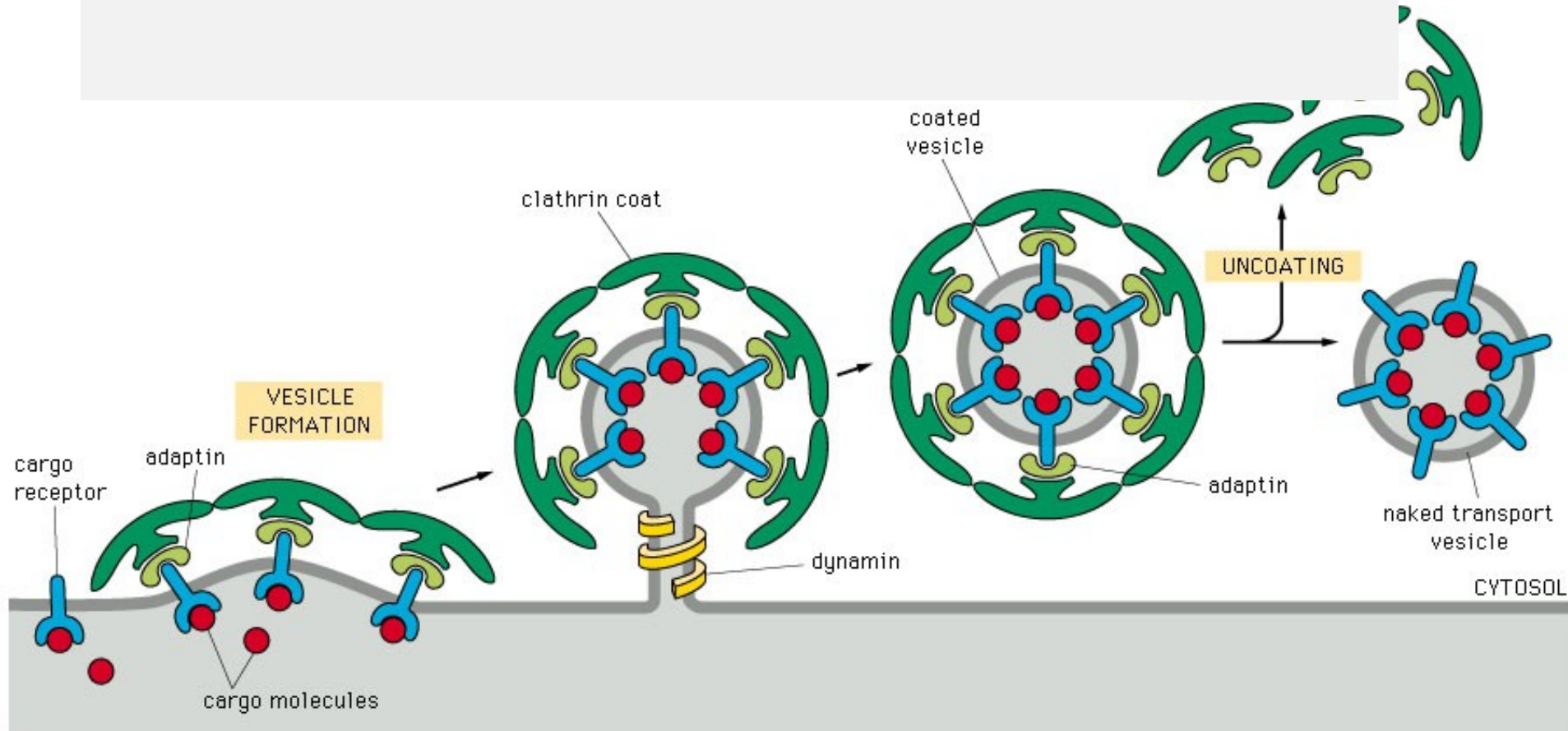
Tvorba a odštěpení  
váčku – endosomu

Vyžaduje kooperaci s  
bílkovinami, které  
měchýřek obalují a  
odštěpují

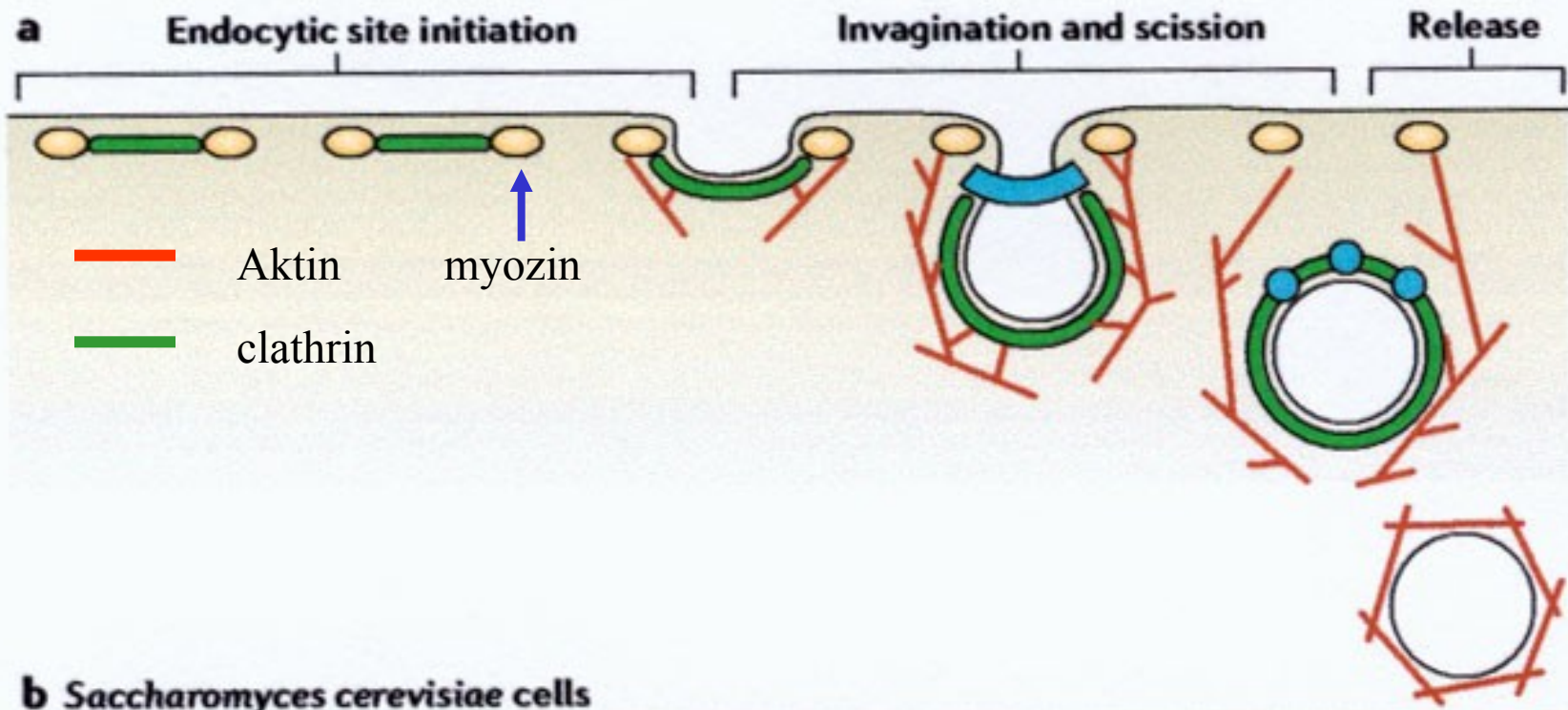


## Organizace molekul pláště receptorové jamky a endosomu:

Receptory po navázání ligandy se shlukují v receptorové jamce. Z vnitřní strany se na receptory navazují adaptiny a clathrinové molekuly – ty se organizují do „klíčky“ a ta se odtrhne od PM

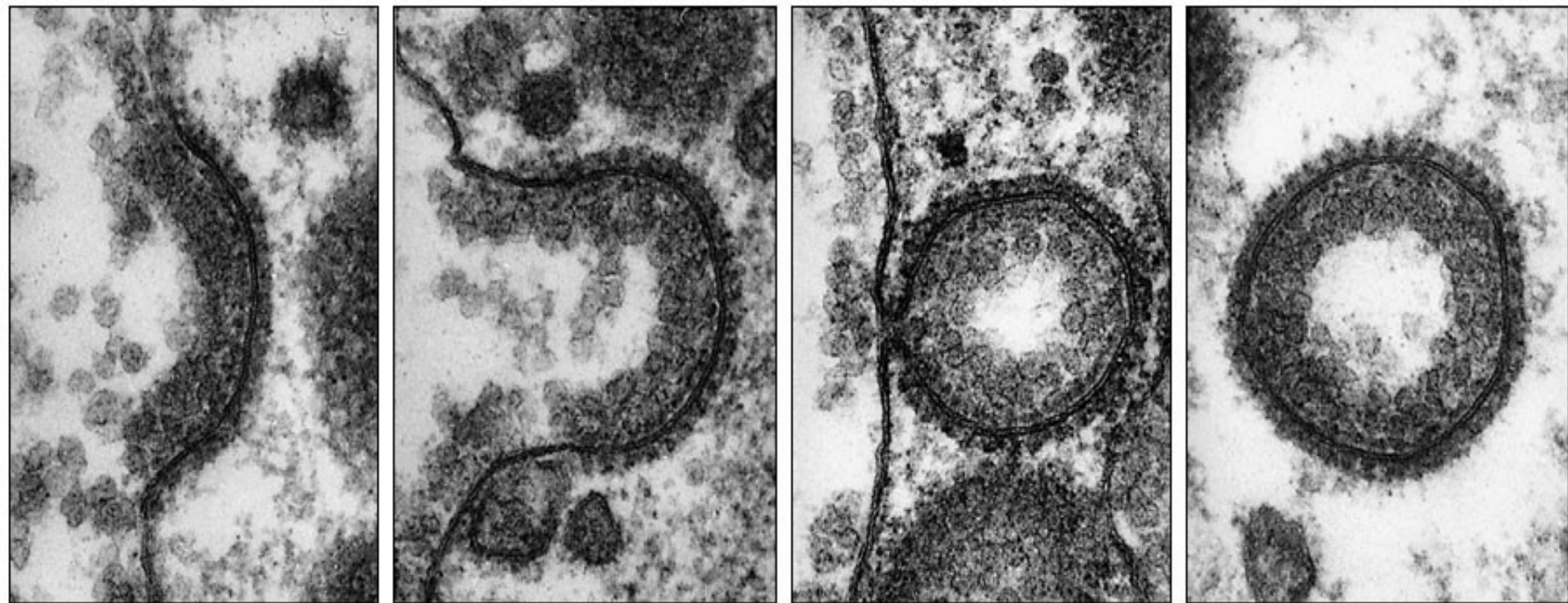


Organizace molekul, které řídí místo tvorby receptorové jamky a odštěpení endosomu od plasmatické membrány: molekuly clathrinu vytváří kolem vchlipujícího se měchýřku „klíčku“, na jejím povrchu pak polymerizují vlákna aktinu, který spolu s myozinem pomáhá odštěpení endosomu a jeho pohybu do cytoplasmy





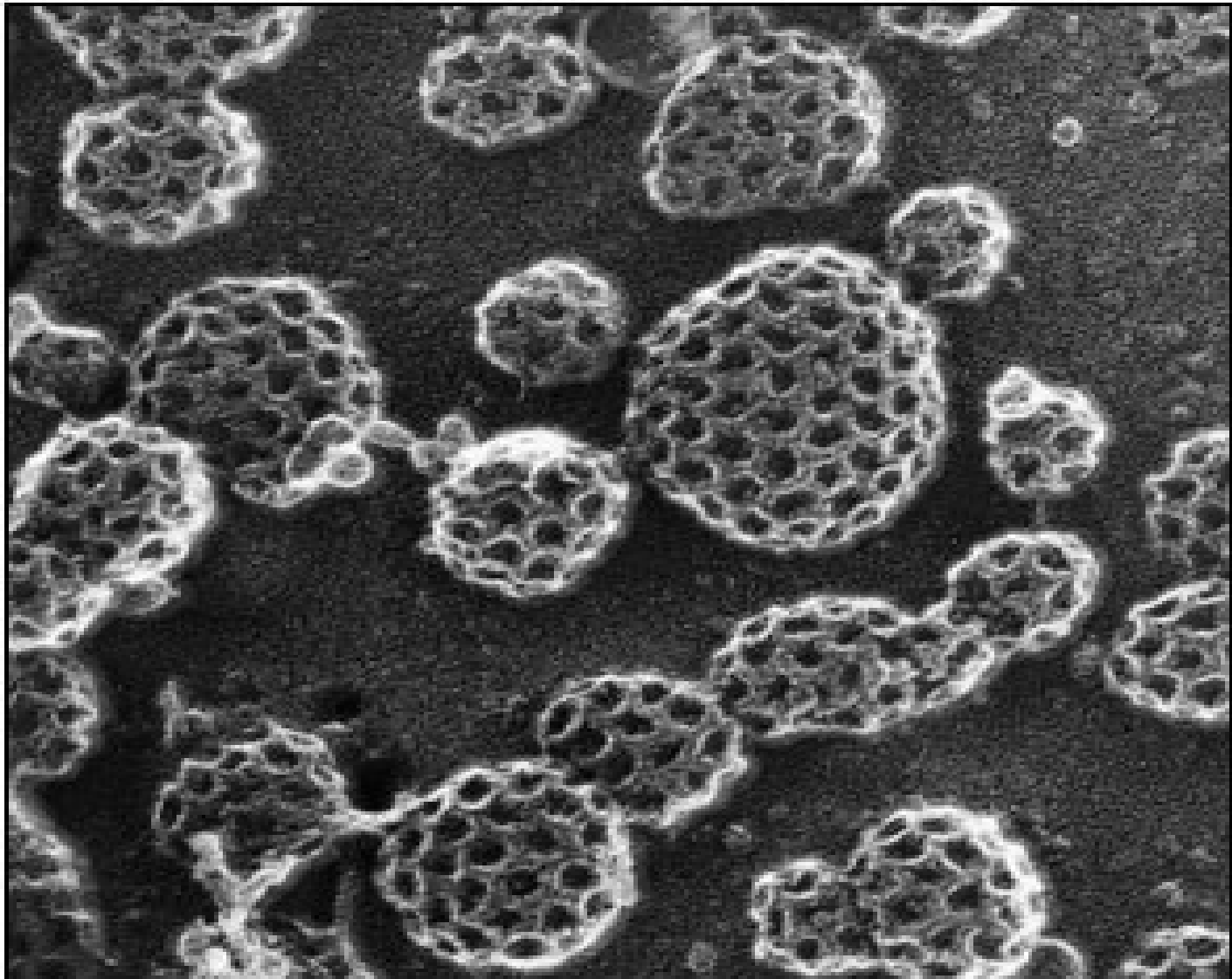
Endocytóza: invaginace plasmatické membrány.  
Tvorba a odštěpení váčku - endosomu



(A)

0.1  $\mu\text{m}$

ELM obrázek izolovaných endosomů, pokrytých klatrinovou „klecí“



(B)



0.2  $\mu\text{m}$

# Poznatky o sekreční dráze a endocytóze u kvasinek se dají aplikovat při studiu patogeneze řady lidských chorob

Sekreční dráha receptoru pro cholesterol a endocytóza cholesterolu (LDL částic) do buňky.

U **hypercholesterolemie** se vyskytují 4 místa poruch v průběhu sekrece a endocytózy

Hypercholesterolemie je příčinou vzniku **arteriosklerózy**

