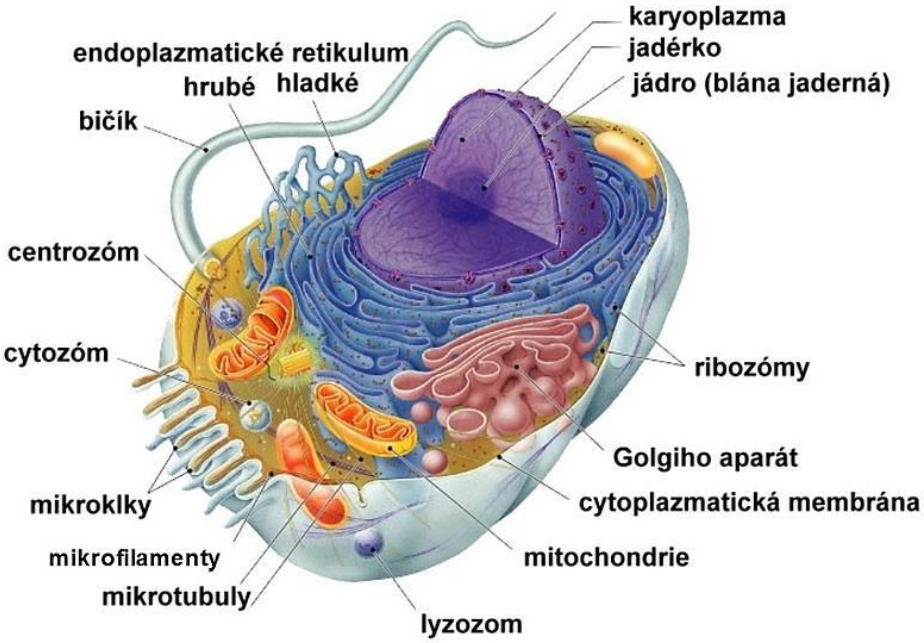
Molekulární biologie pro informatiky - 7

Molekulární struktura eukaryotické buňky

Eukaryotická buňka

Struktura buňky

- povrch buňky (CM, BS)
- základní cytoplazma
- jádro
- semiautonomní organely
- endomembránový systém (GA, ER)
- cytoskelet

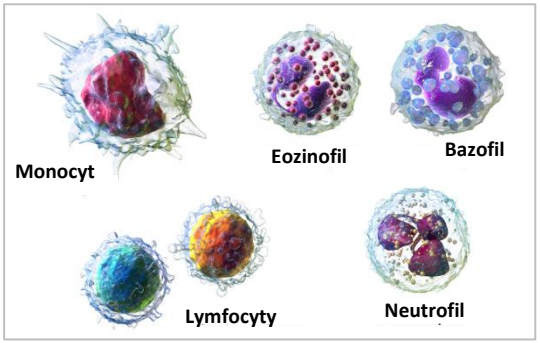


Buněčné kompartmenty

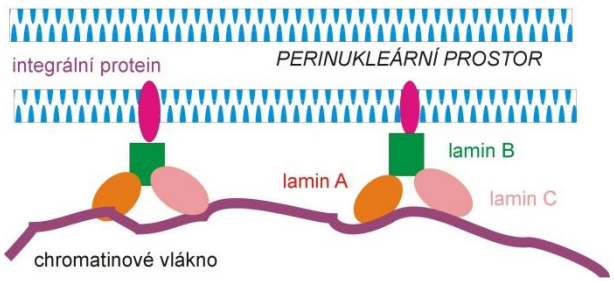
- oddělení a organizace chemických reakcí
- soustředění enzymů pro sled reakcí do jednoho kompartmentu
- metabolických děje odděleny od zbytku buňky
- výhody - protichůdné chemické procesy, mikroprostředí chemické reakce
  - oddělení nebezpečných rozkladných dějů, dělba práce mezi organelami
- nevýhody - koordinace procesů, biosyntéza organel, třídění proteinů

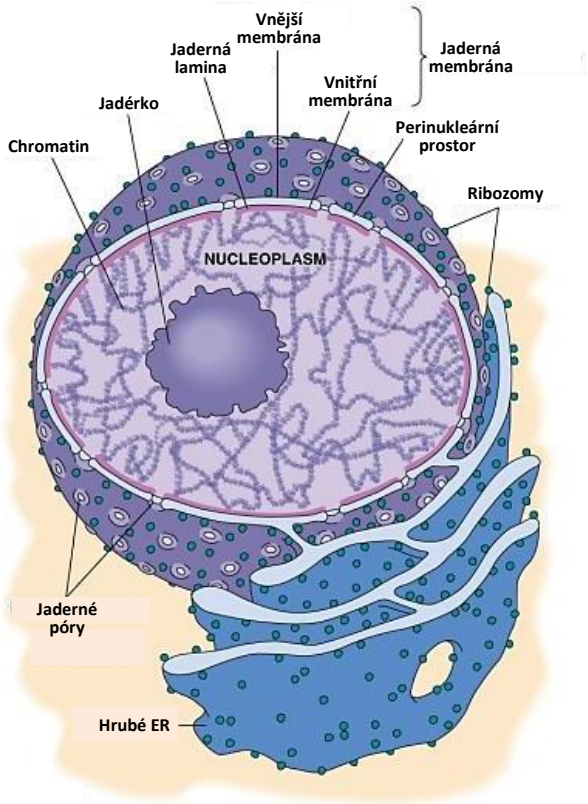
Jádro

- funkce genetická, metabolická, regulační
- různý tvar, výjimečně chybí (např. erytrocyty)
- hmota uvnitř jádra = chromatin



- **jaderná membrána**
  - dvě biomembrány (šířka 7-8nm)
  - perinukleární prostor (šířka 20-40 nm) navazuje na lumen ER
  - vnější membrána navazuje na membránu ER
  - jaderné póry skrz obě membrány
- **jaderná lamina**
  - vyztužení vnitřní membrány, vazba chromatinu
  - lamin A, B, C; proteiny asociované s membránou
- **jadérko**

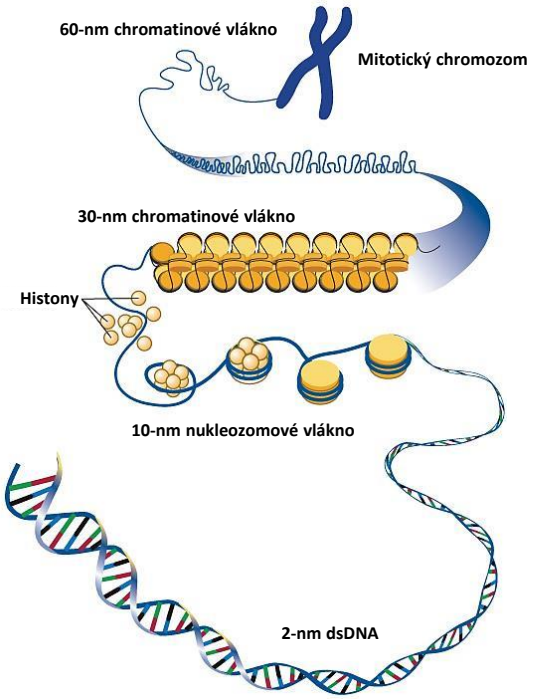




http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL2060/BIOL2060-18/CB18.html
http://xarquon.jcu.cz/edu/zbb/prednasky/07cytoskeleton/077nuclearskeleton/skelet_jaderny.htm
https://en.wikipedia.org/wiki/White_blood_cell#/media/File:Blausen_0909_WhiteBloodCells.png

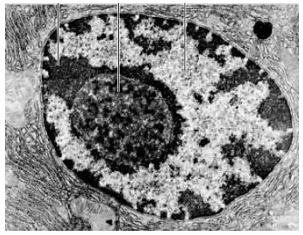
Chromatin

- dsDNA, histony a proteiny nehistonové povahy
- dvoušroubovice DNA - nukleozomový řetězec - 30-nm chrom. vlákno - 600-nm chrom. vlákno - mitotický chromozom
- euchromatin, heterochromatin

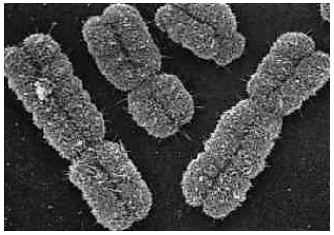


Chromozom

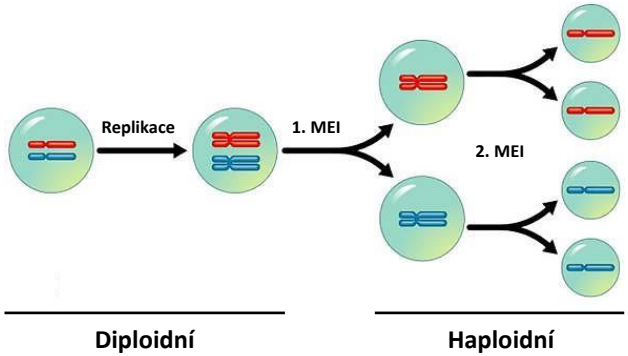
- v interfázním jádře rozprostřen v chromozomovém teritoriu
- při mitóze ve formě mitotického chromozomu
- daný počet u každého druhu organizmů
- haploidní sada chromozomů v pohlavních buňkách
  - jeden soubor chromozomů s kompletní genetickou informací
- diploidní sada chromozomů v somatických buňkách
  - dvě kompletní sady chromozomů



Interfáze



Mitotické chromozomy

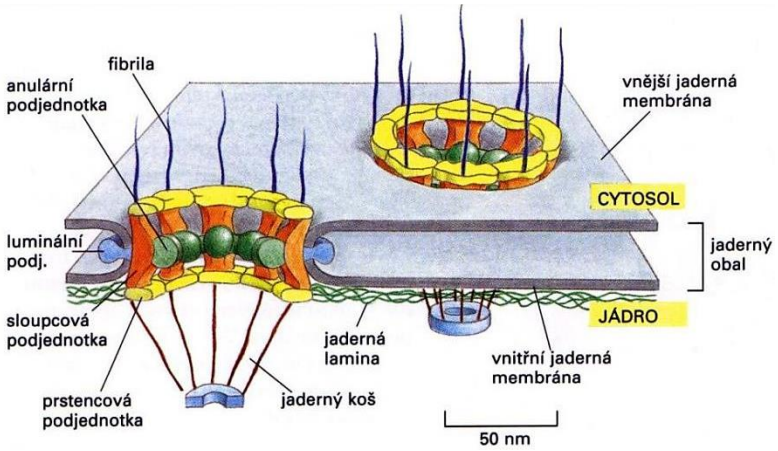


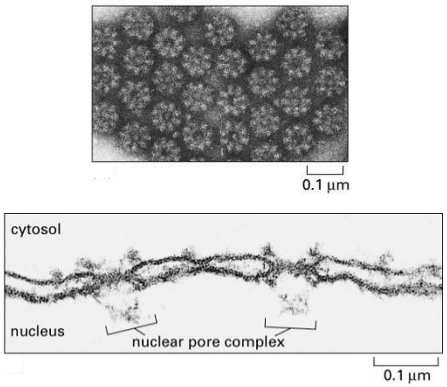
Transport přes jaderný pór

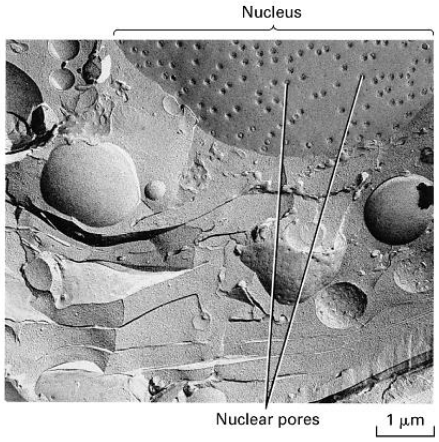
Jaderný pór

- 3000 - 4000 póru v jádře savčích buněk, průměr 120 nm, výška 200 nm
- komplex cca 100 různých proteinů (nukleoporinů), osmičetná symetrie
- cytoplazmatická strana - kruh s vlákny
- nukleoplazmatická strana - kruh v jaderné lamině, struktura ve tvaru koše

- **transport molekul mezi jádrem a cytoplazmou**
- pasivní transport - volná difuze menších molekul rozpuštěných ve vodě
- aktivní transport - selektivní transport molekul s třídícími signály
  - naložení přenášené molekuly na importiny/exportiny, vazba k jadernému póru, translokace
  - jednostranný transport zajišťuje Ran: Ran-GTP v jádře, Ran-GDP v cytoplazmě



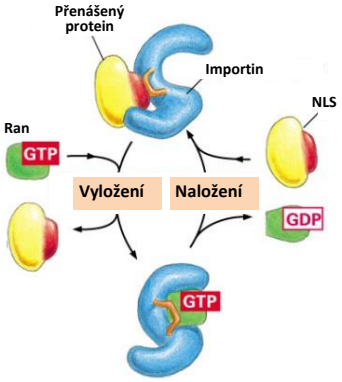


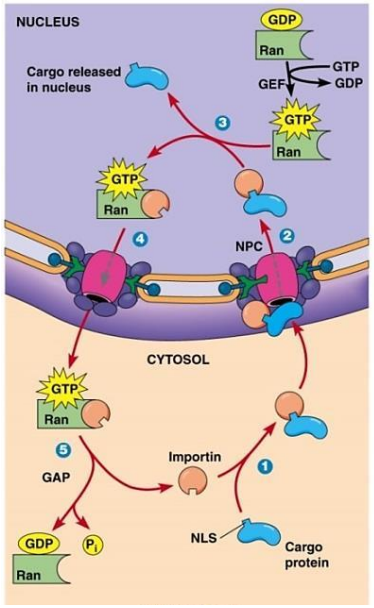


Transport přes jaderný pór

Transport do jádra (import)

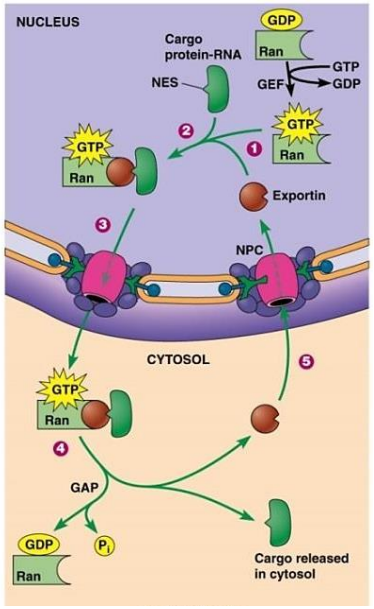
- jaderná lokalizační sekvence (NLS)
- NLS rozeznána importinem - vazba k póru - import do jádra
- vazba Ran-GTP na importin - vytěsnění přenášeného proteinu
- export Ran-GTP/importin z jádra
- RanGAP stimuluje hydrolýzu GTP na GDP
- disociace Ran-GDP/importin





Transport z jádra (export)

- jaderná exportní sekvence (NEL)
- vazba Ran-GTP k exportinu - naložení exportovaného proteinu
- vazba k jadernému póru - export z jádra
- hydrolýza GTP na GDP - uvolnění přenášené molekuly
- mRNA exportována ve formě hnRNP
- spojení rRNA s importovanými ribozomálními proteiny, export podjednotek ribozomů



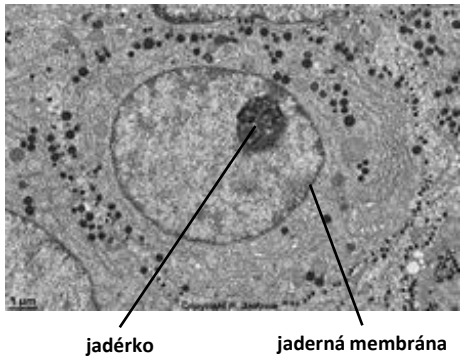
http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL2060/BIOL2060-18/CB18.html http://www.pha.jhu.edu/~ghzheng/old/webct/note6_4.htm#

Jadérko

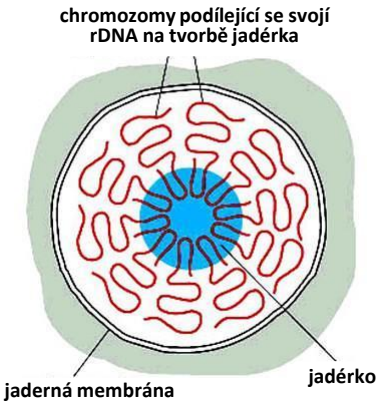
Syntéza molekul rRNA, sestavení ribozomálních podjednotek

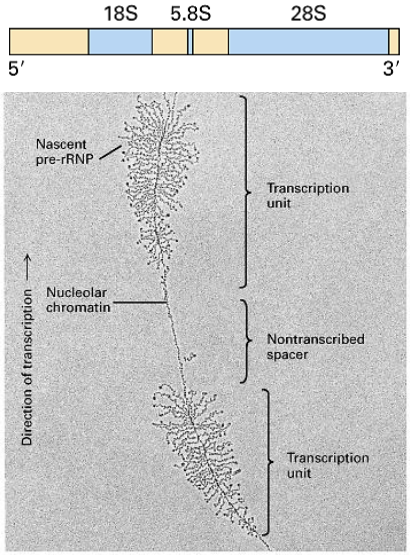
Organizátor jadérka (NOR, Nucleolus Organizer Region)

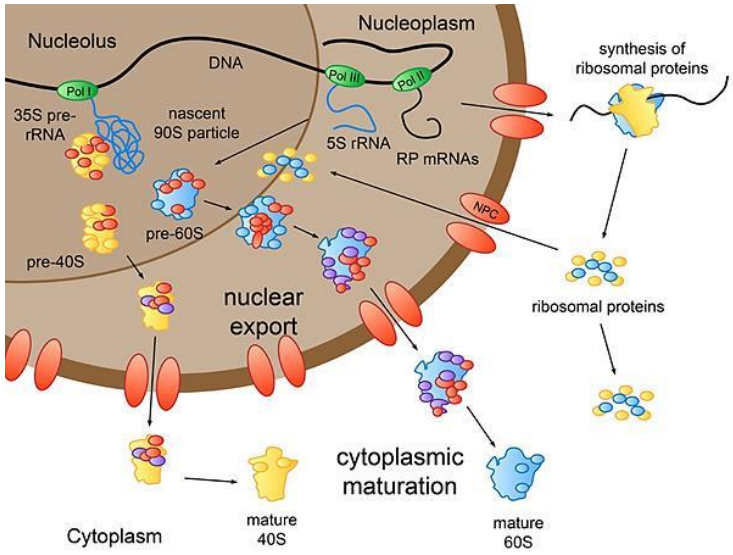
- krátká raménka akrocentrických chromozomů 13, 14, 15, 21, 22
- tandemové repetice rDNA (13,7 kb; geny pro rRNA)
- přepis rDNA do 45S pre-rRNA (RNA Pol I)
- štěpení na 18S, 5.8S a 28S rRNA (snoRNP)



5S rRNA přepisována mimo jadérko (RNA Pol III)
Import ribozomálních proteinů - sestavení ribozomálních podjednotek - export podjednotek



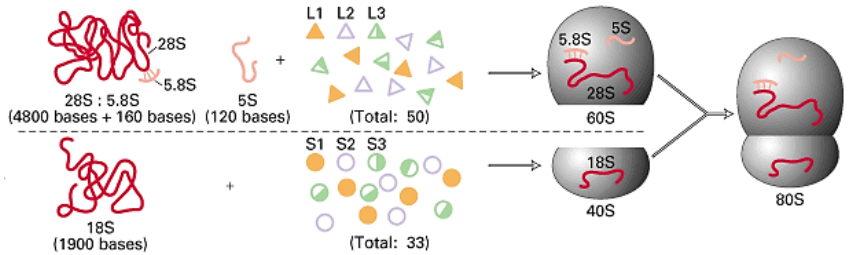




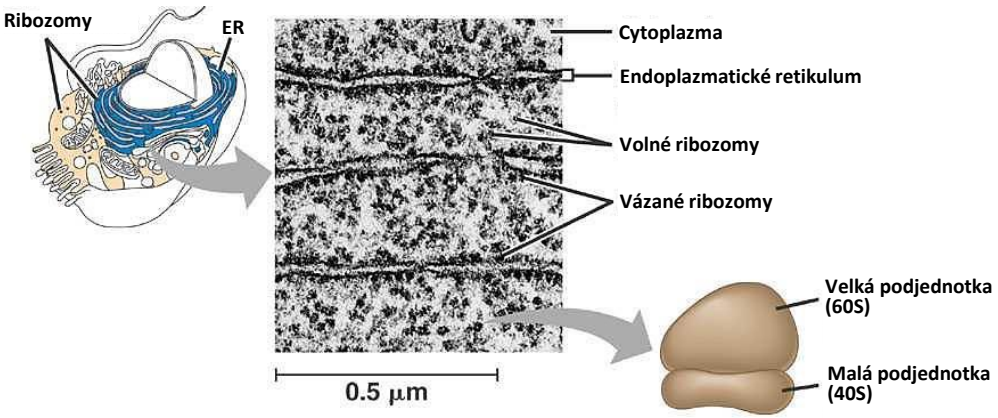
http://www.pha.jhu.edu/~ghzheng/old/webct/note6_4.html https://www.uni-mainz.de/FB/Medizin/Anatomie/workshop/EM/EMNucleolus.html
http://cryoem.berkeley.edu/~bgreber/website/pages/biogenesis.html

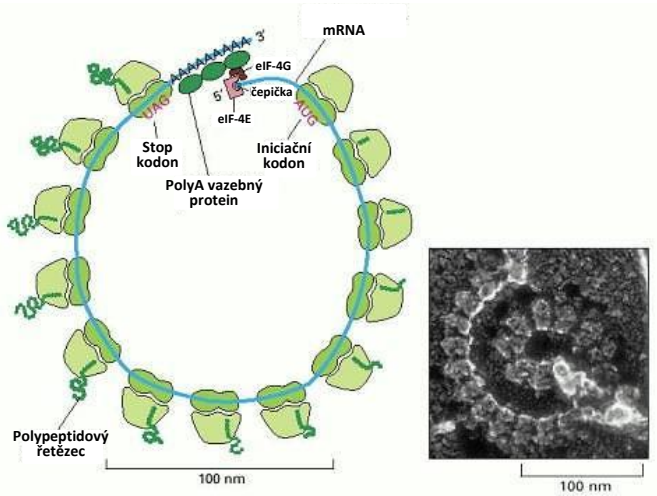
Ribozomy

- 15 - 25 µm, 80S, bez membrány
- volně v cytoplazmě, vázané na ER



- složené ze dvou podjednotek
  - vznik v jadérku, spojení v cytoplazmě
  - 60S: 5S, 5.8S, 28S rRNA; 50 L proteinů
  - 40S: 18S rRNA; 30 S proteinů
- syntéza proteinů na základě genetické informace uložené v mRNA
- polyribozom: řada ribozomů připojených na jedinou molekulu mRNA

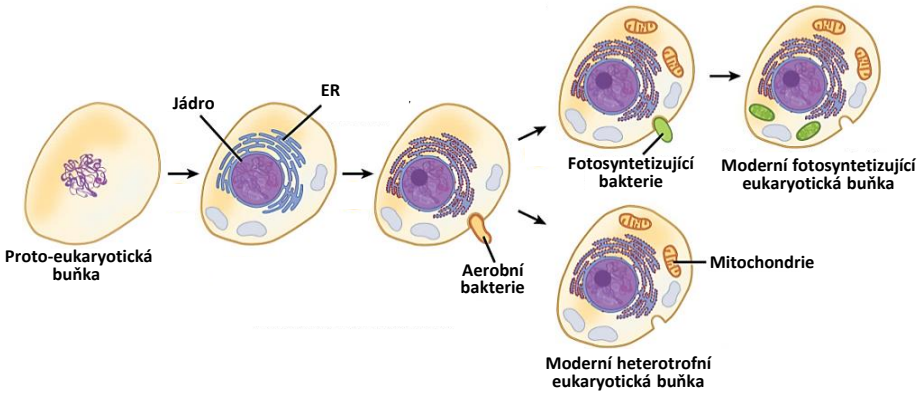




http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26829/figure/A1090/?report=objectonly
http://www.pha.jhu.edu/~ghzheng/old/webct/note6_4.html http://bio1151.nicerweb.com/Locked/media/ch06/ribosome.html

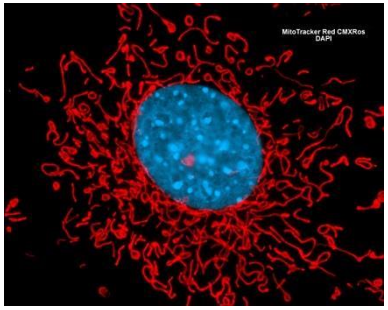
Semiautonomní organely

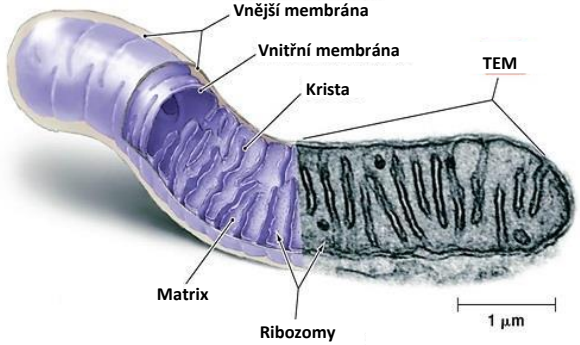
- energetická centra buňky
- vlastní genom a proteosyntetický aparát
- část proteinů řízena jadernými geny
- endosymbiotická teorie

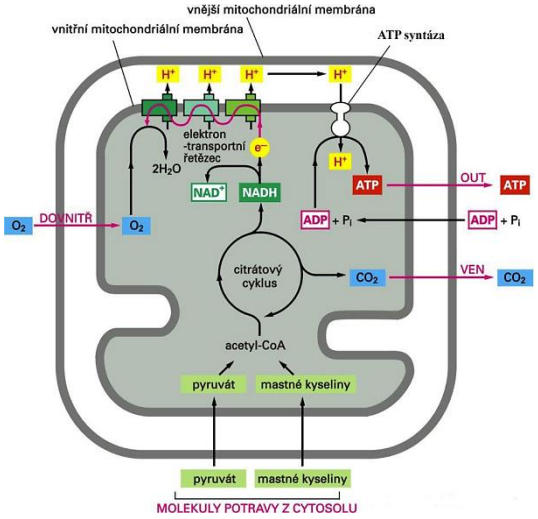


Mitochondrie

- 0,1 - 10 µm, organely buněčného dýchání, zisk ATP
- dvě biomembrány - vnější hladká, vnitřní zvrásněna (kristy)
- dva kompartmenty - mezi membránami, matrix mitochondrie mezi kristami
- enzymy oxidativní fosforylace a dýchacího řetězce na vnitřní membráně
- v matrix umístěny enzymy Krebsova cyklu a katabolismu MK





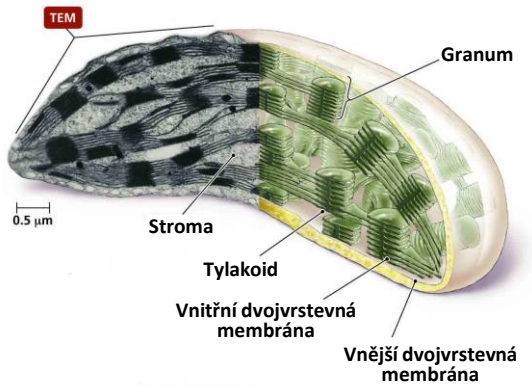


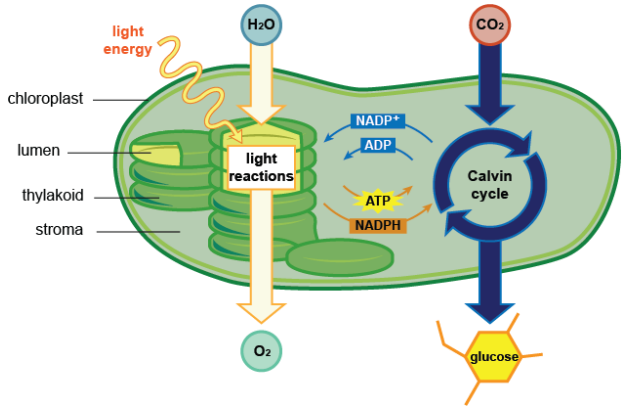
https://frombenchtobedside.wordpress.com/ http://archive.cnx.org/contents/420d9f1a-a15c-4ee5-b879-52dd4debf8d5@2/eukaryotic-origins
Michal Stoklasa, Mitochondrie anaerobních prvoků, Praha, 2015 http://www.biologyexams4u.com/2013/02/mitochondria-structure-and-function.html#.Vuar4Xqhlr8

Semiautomní organely

Chloroplasty

- thylakoidy - systém plochých vaků vzniklých vychlípením a odškrcením od vnitřní membrány
  - navrstveny do tzv. gran, fotosyntetické pigmenty (zelený chlorofyl)
- tři kompartmenty - prostor mezi dvojitou biomembránou obalu, lumen thylakoidů
  - stroma (matrix): vnitřní základní hmota, obsahuje DNA, ribozomy a inkluze





- **oxygenní fotosyntéza**

$$6\,CO_2 + 6\,H_2O \rightarrow C_6H_{12}O_6 + 6\,O_2$$

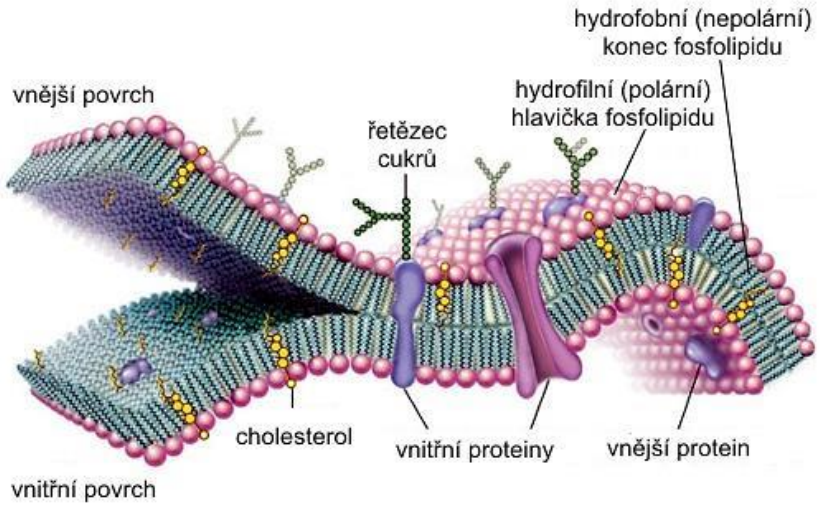
i) světelná fáze (thylakoidy)
- přeměna světelné energie na chemickou, vznik ATP a NADPH, vedlejším produktem je O_2

ii) temnostní fáze (stroma)
- uložení chemické energie fixací CO_2 do sacharidů, tvorba glukózy a zásobních látek (škrob)

http://clashtalk.kinja.com/take-a-minute-to-appreciate-photosynthesis-1742386609; http://www.biologydiscussion.com/chloroplasts/chemical-composition-of-chloroplasts-600-words-biology/788; http://www.shmoop.com/photosynthesis/inputs-architecture.html

Cytoplazmatická membrána

Funkce
- soudržnost buňky, ochrana před vnějšími vlivy
- tvar buňky, ukotvení cytoskeletu
- regulovaný transport látek (semipermeabilita)
- podíl na adhezi buněk a buněčné signalizaci



Složení

i) lipidy
- amfifilní dvojvrstva
- fosfolipidy, glykolipidy, cholesterol

ii) proteiny
- integrální, ukotvené s lipidy, periferní
- funkce: receptory, signalizace, transport látek, mezibuněčný kontakt, kontakt cytoskeletu

iii) sacharidy
- glykolipidy a glykoproteiny, glykokalyx na vnější straně buňky
- funkce: mechanická, informační, vazebná místa pro patogeny

Model tekuté mozaiky
- molekuly lipidů i proteinů v neustálém pohybu, pohyb proteinů v rámci fosfolipidové dvojvrstvy

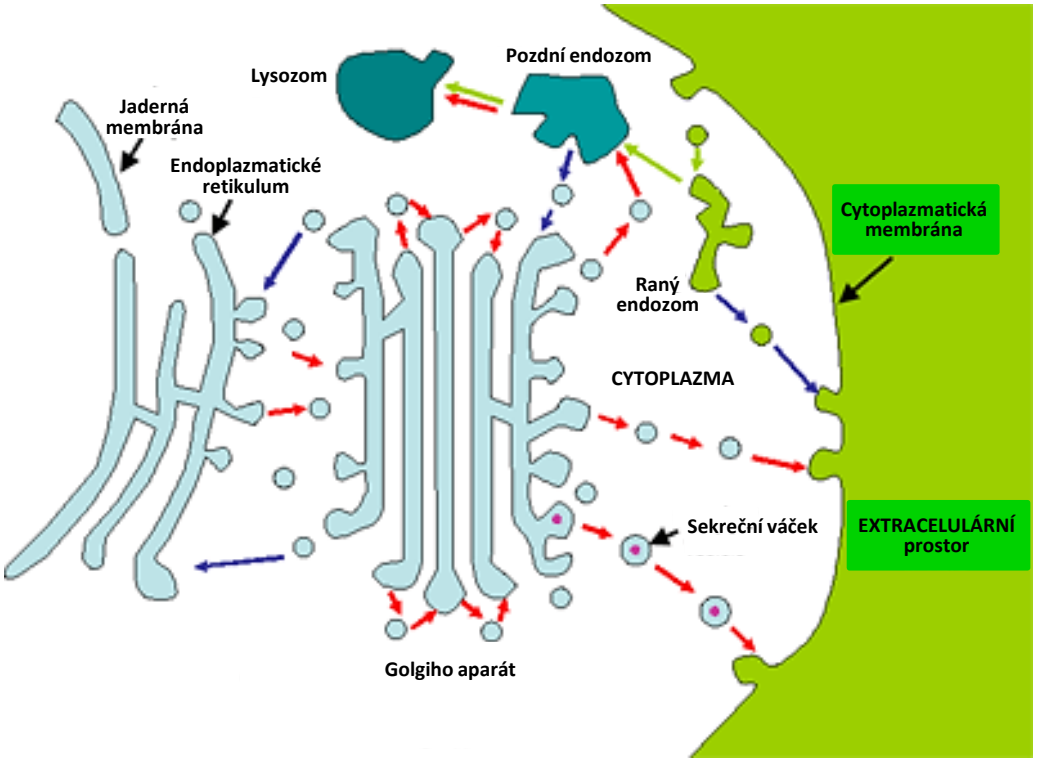
http://dl1.cuni.cz/mod/page/view.php?id=195338&lang=de

Transport mezi vnitrobuněčnými oddíly

Sekreční a endocytické dráhy

- spolupráce buněčných organel, transport materiálů mezi organelami
- propojení některých organel funkčním sledem pochodů (dráha)

- **sekreční (exocytická) dráha**
  - biosyntéza organel
  - vylučování molekul do mezibuněčného prostoru
- **endocytická dráha**
  - příjem a zpracování signálů a materiálu z vnějšího prostředí
- **vezikulární transport**
  - transport proteinů a lipidů mezi organelami
  - správné umístění molekul uvnitř a vně buňky



http://www.histology.leeds.ac.uk/cell/endo-exo.php

Transport mezi vnitrobuněčnými oddíly

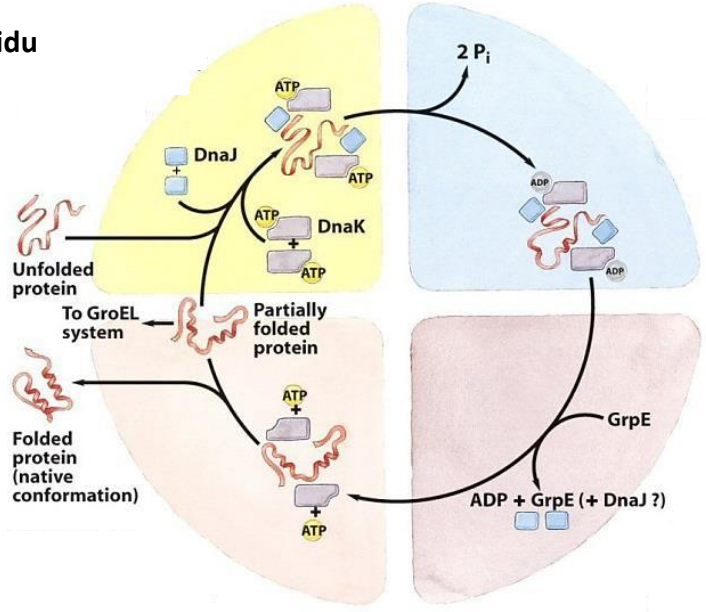
Chaperony

- podporují sbalování proteinů, brání agregaci proteinů
- vazba na hydrofobní aminokyseliny, konformace proteinu vytvořena až po syntéze celé molekuly
- proteinové rodiny - Hsp70, Hsp90, válcovité chaperoniny

Hsp70 a jejich regulátory

- vazba na nově vznikající proteiny na ribozomu, stabilizace částečně složených polypeptidů
- ve stresových podmínkách - vazba na chybně poskládané proteiny, sbalení proteinů po denaturaci
- působí při transportu proteinů
- DnaK: bakteriální Hsp70, podpůrné proteiny DnaJ a GrpE

Vazba DnaJ k nesloženému peptidu
Vazba komplexu k DnaK-ATP



DnaJ stimuluje hydrolýzu ATP
DnaK-ADP pevně váže nesložený protein

DnaK váže ATP
Uvolnění složeného proteinu

GrpE stimuluje uvolnění ADP

http://chemistry.umeche.maine.edu/CHY431/Folding4.html

Transport mezi vnitrobuněčnými oddíly

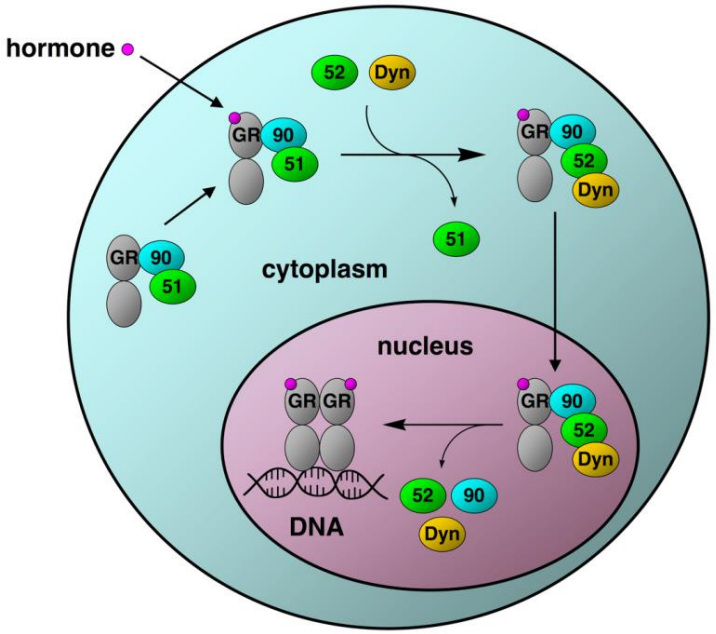
Hsp70 u savců

- Hsc73 (cytosol), BiP (ER), mHsp70 (mitochondrie), ctHsp70 (chloroplasty)
- Hsp40 - proteiny podobné DnaJ, vyhledávají specifické substráty
- ekvivalent GroE není třeba, Hsp70 si samy zajišťují výměnu ADP/ATP a uvolnění peptidu

Hsp90

- správné skládání a funkce receptorů pro steroidní hormony (kortizol, estrogen, progesteron, aj.)

- např. glukokortikoidový receptor (GR) - kortizol
- v klidovém stavu vazba s imunofilinem 51 a Hsp90, které udržují GR ve správné konformaci pro vazbu lignadu
- vazba kortizolu vyvolá konformační změnu, po které se vymění imunofilin 51 za 52
- imunofilin 52 váže dynein (Dyn), který připojuje komplex k cytoskeletu a zajišťuje jeho traslokaci do jádra
- v jádře se pomocné proteiny uvolní, GR dimerizuje a spouští expresi cílových genů

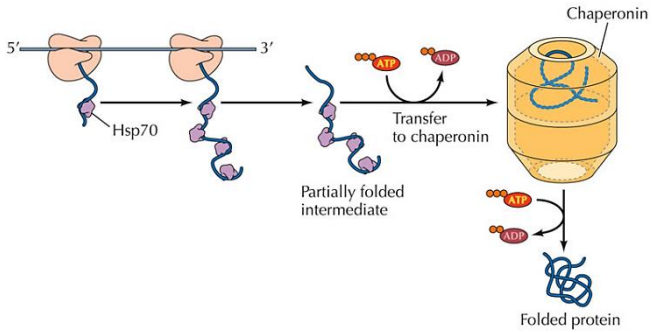


https://en.wikipedia.org/wiki/Hsp90#/media/File:Gr_hsp90_translocation.png

Transport mezi vnitrobuněčnými oddíly

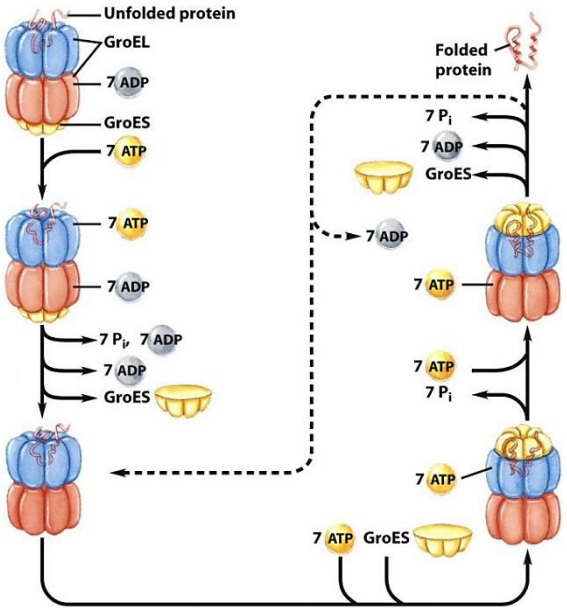
Hsp60, chaperoniny

- válcovité částice s prostorem odděleným od cytoplazmy
- skládání nových i denaturovaných proteinů
- Hsp70 a Hsp60 se často uplatňují postupně



Chaperoniny GroEL a GroES u E. coli

- GroEL - 2 kruhy ze 7 podjednotek tvoří válec
- GroES - poklička válce
- vazba nesloženého proteinu na vnitřní stěnu kruhu GroEL válce, který není blokován GroES
- vazba ATP k obsazenému kruhu
- hydrolýza ATP, uvolnění ADP a GroES
- vazba ATP a GroES k obsazenému kruhu
- skládání proteinu v ohraničeném prostoru
- hydrolýza ATP, uvolnění GroES a složeného proteinu



Obdobné struktury u eukaryot

- mitochondrie Hsp60 a Hsp10
- chloroplasty Cpn60 a Cpn10
- po translokaci proteinu do mitochondrií a chloroplastů s ním nejdříve asociují Hsp40 a Hsp70, které zachovají jeho schopnost skládání a přenesou ho do chaperoninu, kde je skládání dokončeno

http://chemistry.umeche.maine.edu/CHY431/Folding4.html http://oregonstate.edu/instruction/bi314/summer09/Fig-08-23-0.jpg

Transport mezi vnitrobuněčnými oddíly

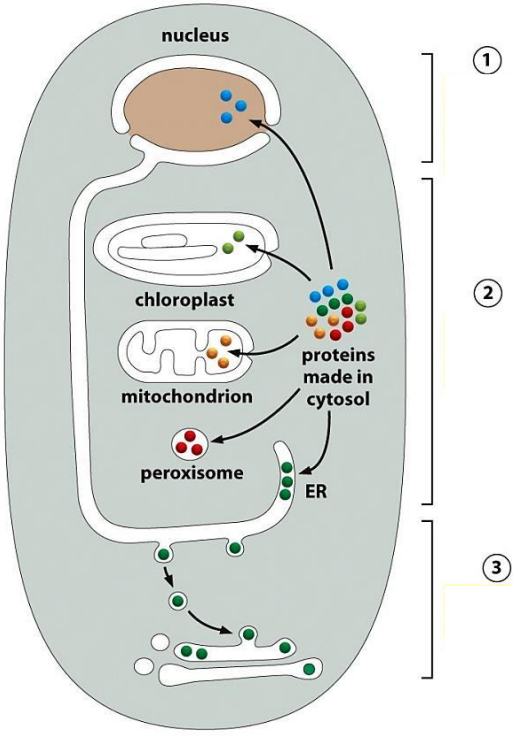
Třídění proteinů

- proteiny pro jádro, mitochondrie, chloroplasty a peroxizomy transportovány přímo z cytoplazmy
  pro Golgiho aparát, lysozomy, endozomy, extracelulární prostor přichází z ER

Adresová sekvence

- sekvence v proteinu určující do jaké organely má jít, protein bez této sekvence zůstává v cytosolu
- pořadí 15 - 60 aminokyselin
- přesné sekvence pro jednotlivé organely se mohou lišit, vliv **hydrofobních**, **kladně nabitých** a **záporně nabitých** aminokyselin

Funkce signálu	Příklad adresové sekvence
Import do ER	$^{+}H_3N$-Met-Met-Ser-Phe-Val-Ser-Leu-Leu-Leu-Val-Gly-Ile-Leu-Phe-Trp-Ala-Thr-Glu-Ala-Glu-Gln-Leu-Thr-Lys-Cys-Glu-Val-Phe-Gln-
Zadržení v lumen ER	-Lys-Asp-Glu-Leu-COO^{-}
Import do mitochondrií	$^{+}H_3N$-Met-Leu-Ser-Leu-Arg-Gln-Ser-Ile-Arg-Phe-Phe-Lys-Pro-Ala-Thr-Arg-Thr-Leu-Cys-Ser-Ser-Arg-Tyr-Leu-Leu-
Import do jádra	-Pro-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-
Import do peroxizomů	-Ser-Lys-Leu-



Tři mechanismy importu proteinů do membránových organel

1. transport jaderným pórem
2. proteinové translokátory (ER, mitochondrie, chloroplasty)
3. transportní váčky (sekreční dráha z ER)

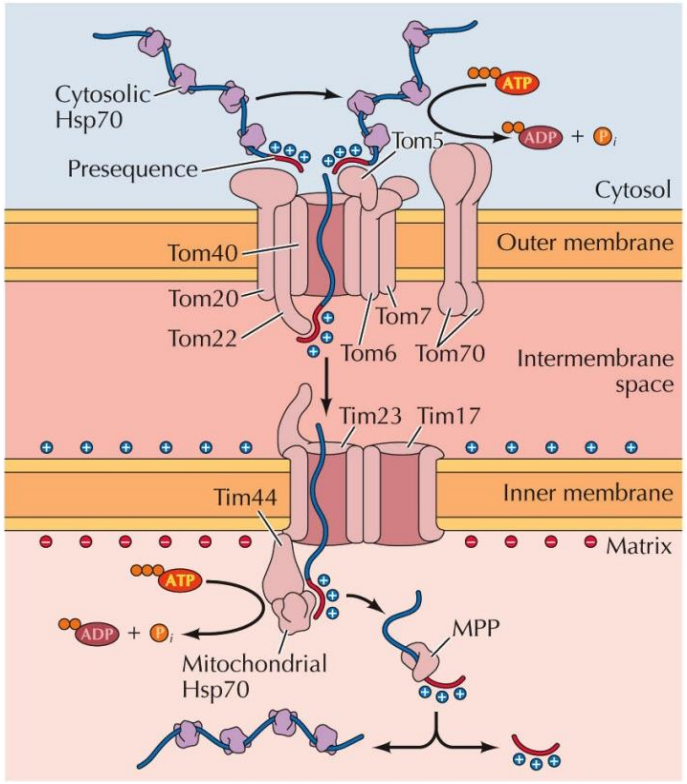
http://oregonstate.edu/instruction/bi314/fall12/proteinsorting.html

Import proteinů pomocí proteinových translokátorů

- vstup do mitochondrií a chloroplastů
  - proteinové translokátory v místech kontaktu obou membrán obalu organel
  - adresová sekvence na N-konci transportovaného proteinu
  - během přenosu je protein rozvinut a odstraněna adresová sekvence
  - po transportu přes membrány je protein opětovně složen

Import do mitochondrií

- do mezimembránového prostoru, do matrix
- **průběh importu do matrix**
  - cytosolické Hsp70 rozvinou transportovaný protein
  - receptor rozezná adresovou sekvenci
  - směřování proteinu do póru translokátoru
  - translokace proteinu vnější membránou (TOM)
    vnitřní membránou (TIM)
  - odštěpení adresové sekvence matrixovou proteázou
  - mHsp70 dokončuje translokaci a sbalení proteinu
  - translokace vnitřní membránou vyžaduje elektrochemický gradientu
  - průchod vnější i vnitřní membránou vyžaduje ATP



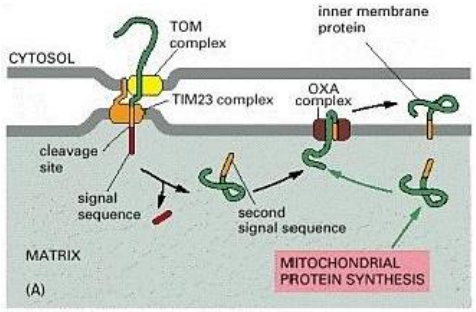
THE CELL, Fourth Edition, Figure 11.4 © 2006 ASM Press and Sinauer Associates, Inc.

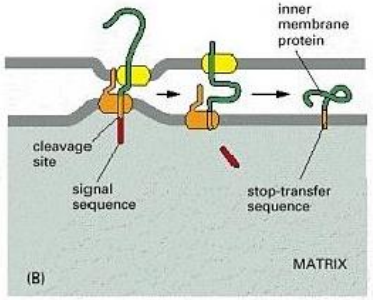
http://faculty.samford.edu/~djohnso2/44962w/405/_12mitochondria.html

Import proteinů pomocí proteinových translokátorů

Import do mitochondrií

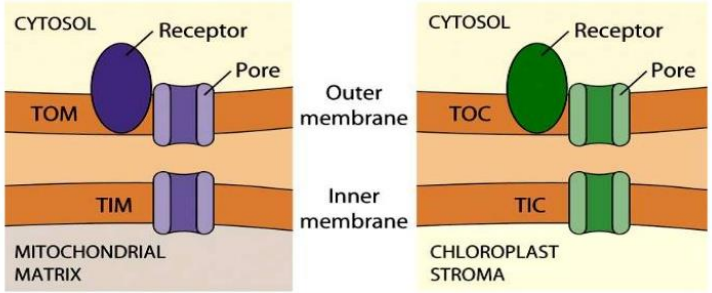
- translokace do mezimembránového prostoru
  - i) translokace do matrix, odstranění adresové sekvence, odhalení sekvence, která protein směřuje zpět přes vnitřní membránu do mezimembránového prostoru (komplex OXA)
  - ii) sekvence zastavující přenos přeruší translokaci vnitřní membránou odštěpení proteinu do mezimembránového prostoru
  - iii) translokace vnější membránou, vazba faktorů, které protein zadrží v mezimembránovém prostoru





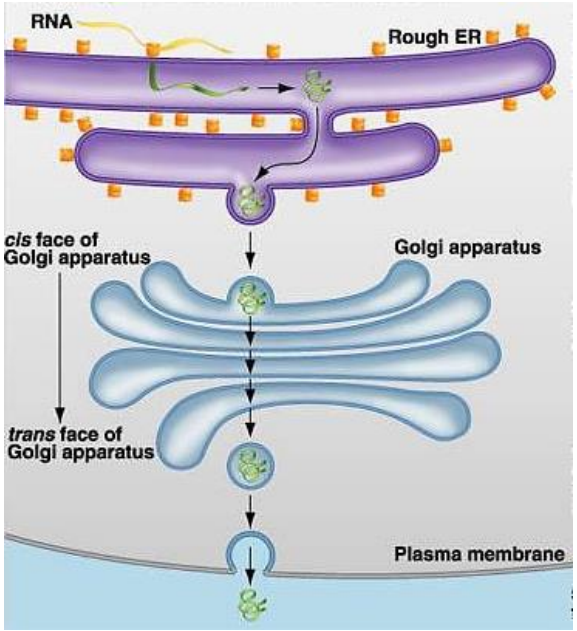
Import do chloroplastů

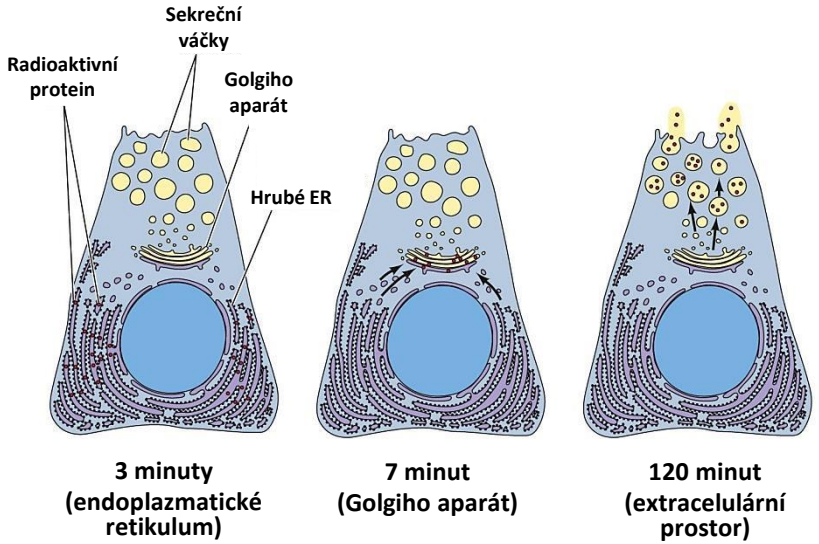
- obdoba transportu do mitochondrií
- komplex TOC ve vnější, TIC ve vnitřní membráně
- adresová sekvence 30 - 100 aminokyselin
- netřeba elektrochemický gradient
- proteiny určené do lumen tylakoidu mají dvě adresové sekvence postupně za sebou
- účast ctHsp70 a Cpn60/10 na správném sbalení translokovaného proteinu



Sekreční dráha

- cesta proteinu přes hrubé endoplazmatické retikulum - endoplazmatické retikulum - Golgiho aparát - - sekreční váčky - extracelulární prostor
- používána pro proteiny směřující do endoplazmatického retikula, Golgiho aparátu, lysozomů, plazmatické membrány a vně buňky
- sekreční váčky - dopravní prostředky obsahující proteiny z vnitřních organel
  - proteiny vyloženy po splynutí membrány váčku s membránou cílové organely
- poprvé pozorována u buněk žlázového epitelu pomocí radioaktivně značených aminokyselin



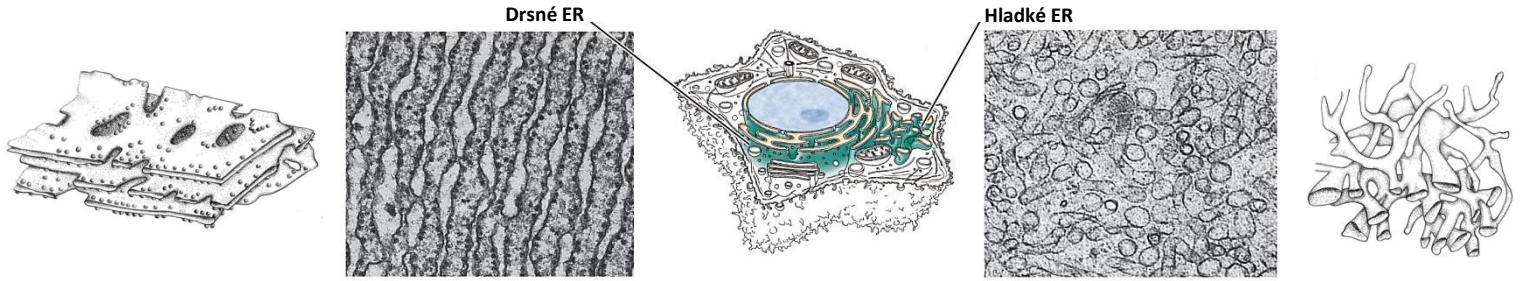


https://www.studyblue.com/notes/note/n/biology-101-chapter-4-6/deck/1098008 http://faculty.samford.edu/~djohnso2/44962w/405/_11protsorting.html

Sekreční dráha

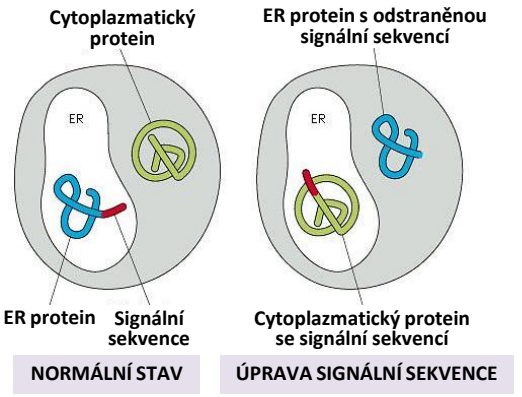
Endoplazmatické retikulum (ER)

- systém plochých váčků a kanálků, návaznost na jaderný obal a perinukleární prostor
- dává vzniknout Golgiho aparátu, lysozomům, plazmatické membráně
- funkce: biosyntéza proteinů a lipidů, přeprava látek transportními váčky, reakce na podněty z vnějšího prostředí (Ca^{2+} signalizace), skladovaní buněčných produktů
- drsné - s ribozomy, syntéza proteinů
- hladké - bez ribozomů, metabolismus lipidů a polysacharidů, detoxifikační reakce, zásobárna Ca^{2+}



Import proteinů do ER

- adresová sekvence pro ER = signální sekvence
- odstranění signální s. z proteinu ER umístí protein do cytosolu
- začlenění signální s. do cytoplazmatického proteinu způsobí jeho nasměrování do ER



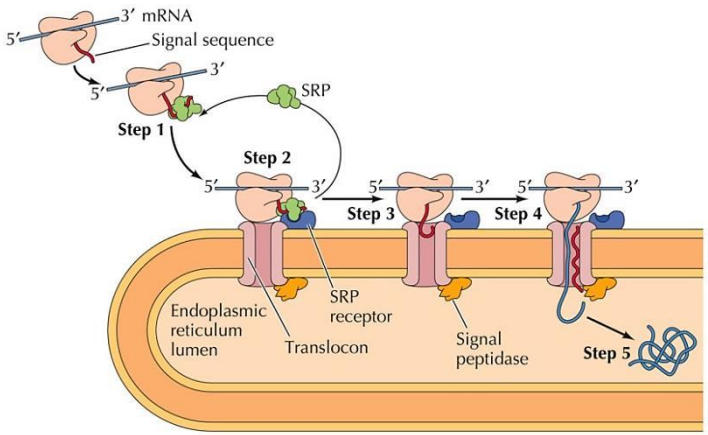
http://faculty.samford.edu/~djohnso2/44962w/405/_11protsorting.html

Sekreční dráha

Syntéza proteinů v drsném ER

- kromě vlastní syntézy proteinů v ER probíhá sbalování proteinů, tvorba disulfidických vazeb, sestavování oligomerních proteinů, prvotní místo glykosylace
- ER je hlavní křižovatka v dopravě proteinů po buňce

i) volné proteiny jsou uvolněny do lumen ER - proteiny z lumen organel, sekretované ven z buňky
ii) membránové proteiny zůstávají zanořeny v membráně ER - proteiny vyskytující se v membránách organel, plazmatické membráně



Proteiny lumen ER

- začátek syntézy proteinu na volných ribozomech
- vazba SRP k signální sekvenci, pozastavení translace
- SRP receptor přitahuje komplex ribozom/peptid/ /SRP
- vazba ribozomu k translokačnímu komplexu
- vazba GTP, začlenění signální sekvence do membránového kanálku
- hydrolýza GTP, uvolnění SRP, spuštění translace
- rostoucí peptid prochází membránou ER
- odštěpení signální sekvence signální peptidázou
- uvolnění peptidu do lumen ER

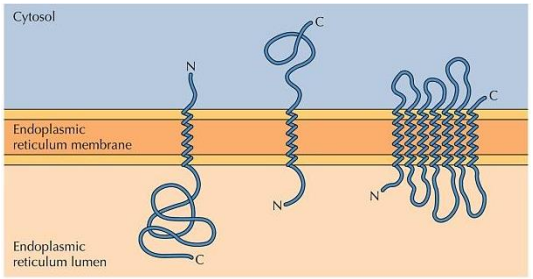
http://faculty.samford.edu/~djohnso2/44962w/405/_11protsorting.html

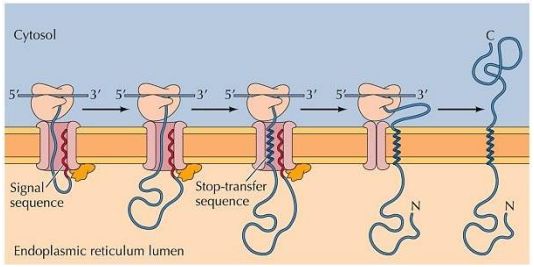
THE CELL, Fourth Edition, Figure 10.8 © 2006 ASM Press and Sinauer Associates, Inc.

Sekreční dráha

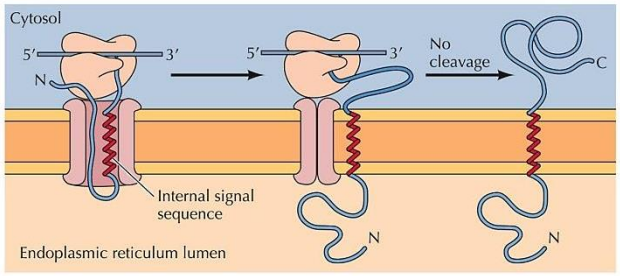
Začlenění proteinu do membrány ER

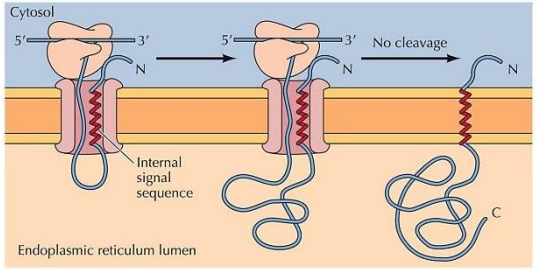
- různé orientace proteinu a počet jeho průchodů přes membránu
- sekvence zastavující přenos, vnitřní signální sekvence
  - α-šroubovice, 20 - 25 aminokyselin, interakce s fosfolipidy
  - vnitřní s.s. rozeznána pomocí SRP, neštěpena signální peptidázou
  - jejich orientace určují orientaci proteinu v membráně



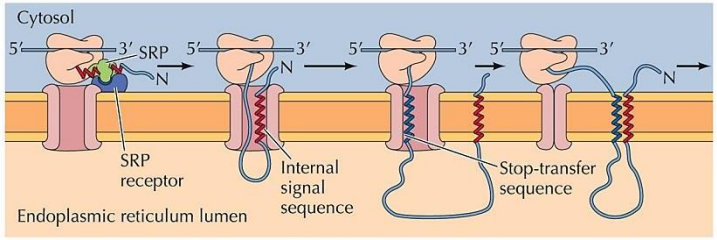


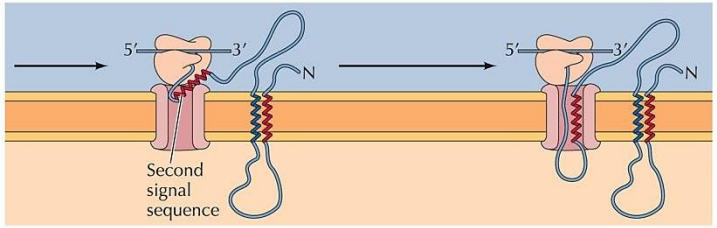
- různé orientace proteinu





- protein procházející membránou několikrát - střídání vnitřních s.s. a sekvencí zastavujících přenos



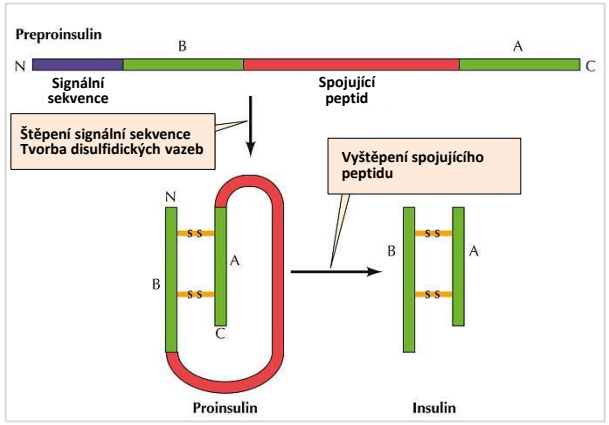


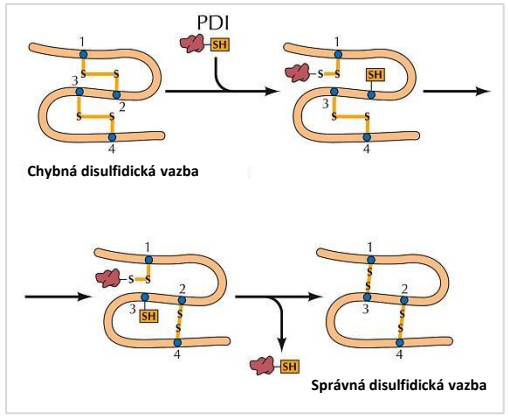
THE CELL, Fourth Edition, Figure 10.8 © 2006 ASM Press and Sinauer Associates, Inc.

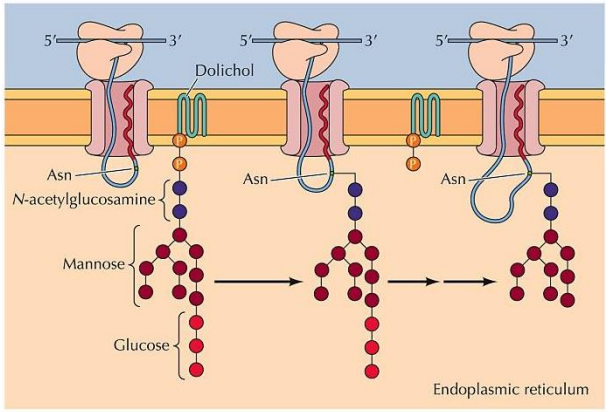
Sekreční dráha

Sbalování a úprava proteinů v ER

- sbalování - chaperony rodin Hsp70 (BiP) a Hsp90 (Grp94)
- štěpení - odstranění některých AK po translaci
  - vždy odstranění iniciačního Met a signální sekvence, u některých proteinů i jiné sekvence
  - např. inzulín: syntetizován jako preproinzulín, do lumen ER uvolňuje proinzulín
    vyštěpení a degradace interní sekvence
    spojení 2 výsledných polypeptidů disulfidickou vazbou → inzulín
- tvorba disulfidických vazeb - disulfid izomeráza, stabilizace proteinu
- glykosylace - připojení oligosacharidů







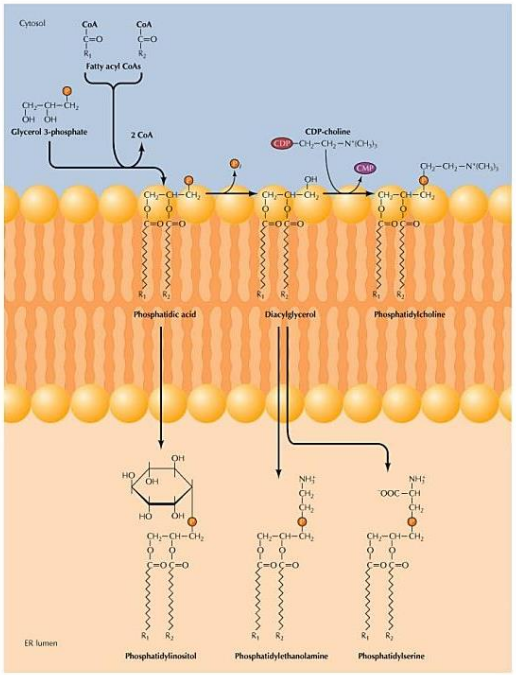
http://faculty.samford.edu/~djohnso2/44962w/405/_11protsorting.html

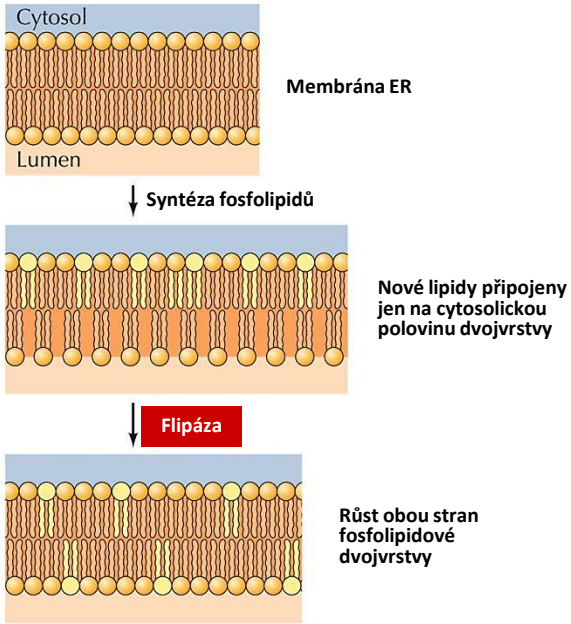
THE CELL, Fourth Edition, Figure 10.8 © 2006 ASM Press and Sinauer Associates, Inc.

Sekreční dráha

Hladké endoplazmatické retikulum

- syntéza membránových lipidů (fosfolipidy, glykolipidy, cholesterol)
- syntéza na cytosolické straně membrány ER
- syntéza fosfolipidů
  - vznik kyseliny fosfatidové z glycerol-3-fosfátu a mastných kyselin nesených CoA
  - začlenění kyseliny fosfatidové do membrány a její další konverze
  - translokace fosfolipidů přes membránu, flipázy





http://faculty.samford.edu/~djohnso2/44962w/405/_11protsorting.html

THE CELL, Fourth Edition, Figure 10.8 © 2006 ASM Press and Sinauer Associates, Inc.

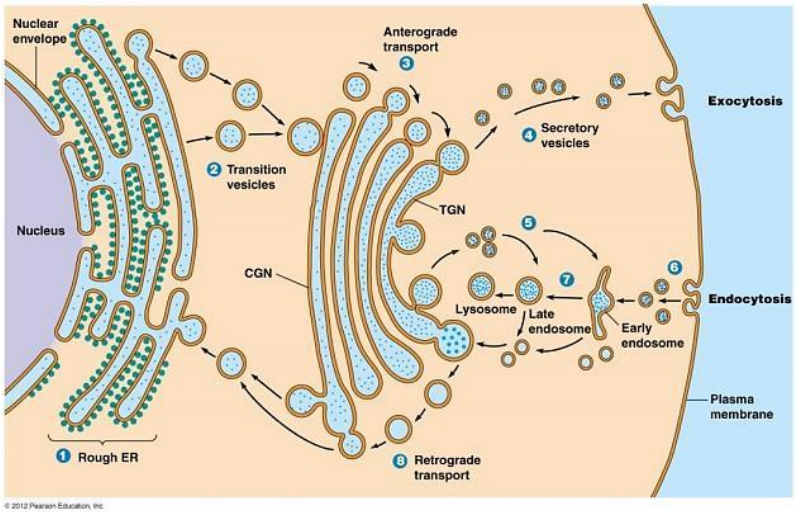
Sekreční dráha

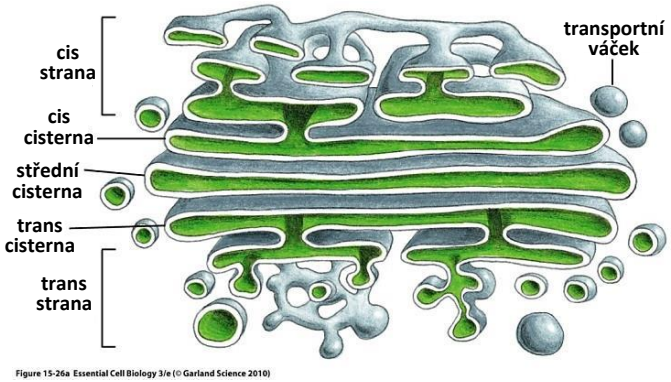
Vezikulární transport z ER

- směřuje do Golgiho aparátu, lysozomů, plazmatické membrány, extracelulárního prostoru
- proteiny a lipidy po cestě upravovány (glykosylace, tvorba disulfidických vazeb)
- náklad váčků je specifický, daný receptory v membráně váčku
- proteiny určené pro lumen ER mají na C-konci adresovou sekvenci Lys-Asp-Glu-Leu (KDEL)

Golgiho aparát (GA)

- systém plochých nádrží (cisteren) a kanálků
- funkce: zpracování, třízení a modifikace proteinů z ER (glykosylace proteinů), syntéza glykolipidů
- cis strana - vznik nových cisteren fúzí váčku z ER
- trans strana - pučení váčků, které směřují zpět do ER, zpět do GA, ven z buňky; vznik lysozómů



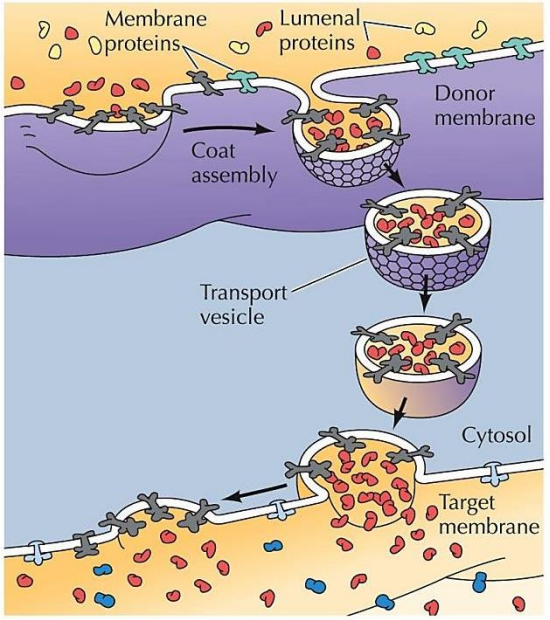


http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL2060/BIOL2060-12/12_08.jpg http://slideplayer.com/slide/2759214/

Sekreční dráha

Transportní váčky

- různé typy váčků pro transport specifického nákladu
- kyvadlová dopravu mezi organelami
- opláštěné váčky - proteinový obal na cytosolické straně váčků napomáhá tvarovat membránu do podoby váčku a podílí se na zachycení specifických molekul
  - po odškrcení váčku plášť odstraněn a váček fúzuje s cílovou mem.



Typ váčku	Proteiny pláště	Výchozí organela	Cílová organela
Klathrinový	klathrin + adaptin 1	GA	lysozom
Klathrinový	klathrin + adaptin 2	plazmalema	endozom
COP	proteiny Coat	ER	GA
		cisterna GA	cisterna GA
		GA	ER

Klathrinové váčky

- nakládaná molekula - receptor - adaptin - klathrin
- zesíťování molekul klathrinu, který narušuje membránu, postupně vzniká jamka a váček s klathrinovým pláštěm
- dynamin se váže kolem ústí váčku a za hydrolýzy GTP se stáhne a odškrtí váček od membrány

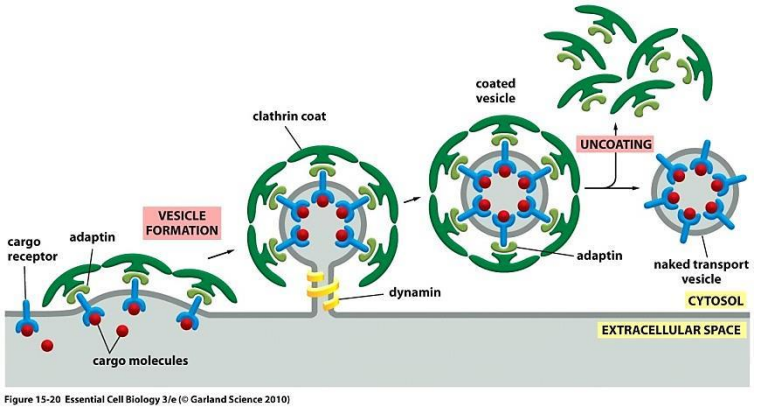


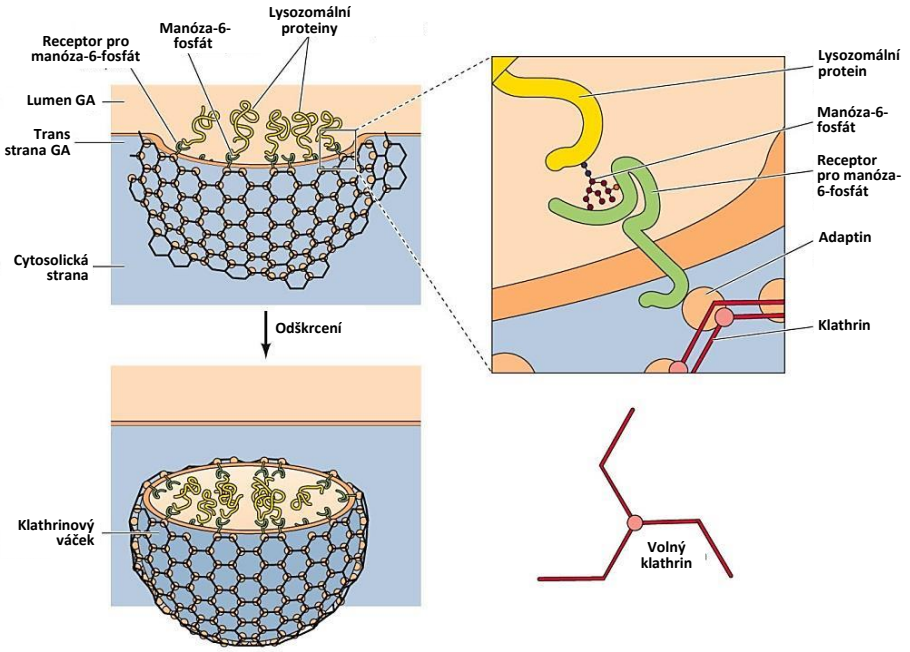
Figure 15-20 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

http://faculty.samford.edu/~djohnso2/44962w/405/_11protsorting.html

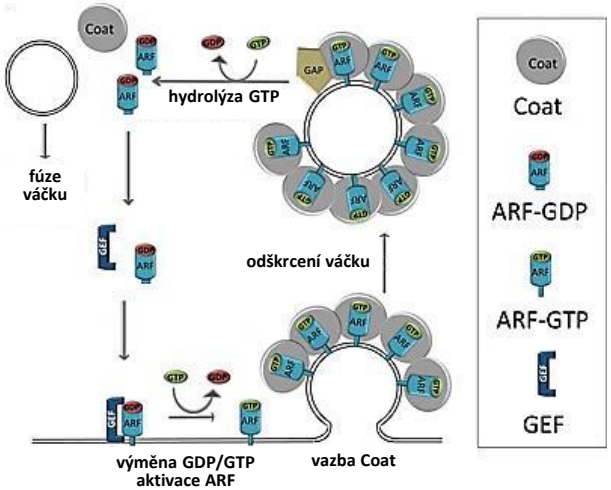
Sekreční dráha

Klathrinové váčky

- proteiny určené pro transport z GA do lysozomů označeny přítomností manóza-6-fosfát
- receptor pro manóza-6-fosfát v membráně na trans straně GA
- přes cytosolické adaptiny se k receptoru váží klatriny, které spojí svoje řetězce v sít a zahajují pučení váčku



THE CELL, Fourth Edition, Figure 10.36 © 2006 ASM Press and Sinauer Associates, Inc.



COP váčky

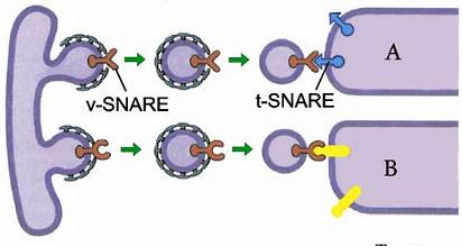
- přeprava molekul mezi ER a GA, v rámci GA
- plášťový protein Coat, pomocný protein ARF (GTPáza)
- ARF-GTP se spojuje s membránou GA, je nutný pro vazbu Coat proteinů a podílí se na tvorbě váčků
- po vytvoření a odškrcení váčku hydrolýza ARF-GTP na ARF-GDP
- rozložení COP, fúze váčku s cílovou membránou

THE CELL, Fourth Edition, Figure 10.8 © 2006 ASM Press and Sinauer Associates, Inc.

Sekreční dráha

Doručení váčků

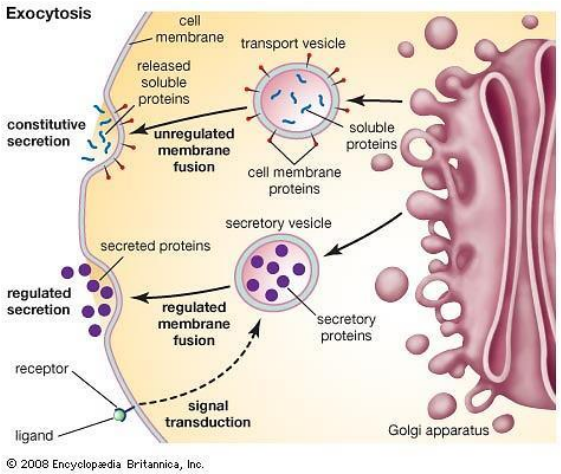
- navádění váčků k cíli závisí na proteinech SNARE
- v-SNARE na povrchu váčků, t-SNARE na povrchu cílových membrán
- unikátní SNARE pro každou organelu a typ transportních váčků
- interakce proteinů NSF a SNAP zodpovídá za fúzi váčku s cílovou membránou



Sekrece molekul z buňky

i) řízená sekrece molekul po přijetí signálu
- transportní váčky splývají a tvoří větší váček
- po přijetí signálu jeho exocytóza
- sekrece specifických molekul u žlaznatých buněk

ii) konstitutivní
- sekrece průběžná, bez signálu

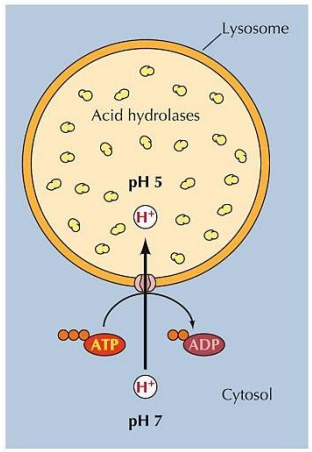


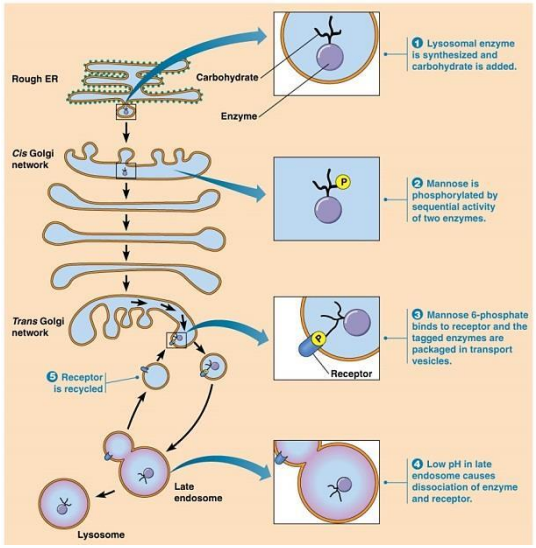
http://faculty.samford.edu/~djohnso2/44962w/405/_11protsorting.html http://www.utm.utoronto.ca/~w3bio315/pdf/OLD-PDF/2009%20Fall/lecture16.pdf

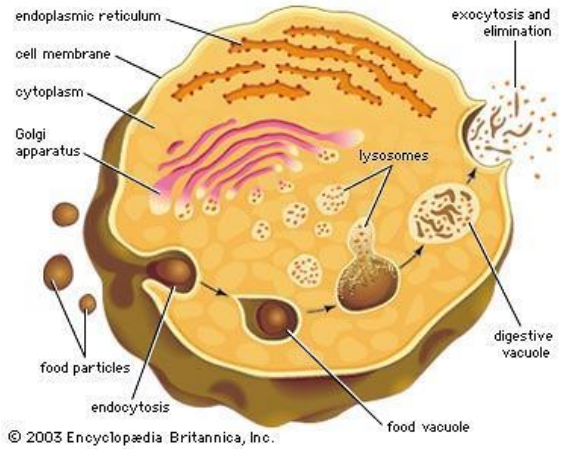
Sekreční dráha

Lysozomy

- funkce: nitrobuněčné trávení, rozklad materiálu z nitra i vnějšku buňky
- uzavřené váčky s cca 50 typy kyselých hydroláz na rozklad všech organických složek buňky
- hydrolázy fungují při pH ~ 5, kyselé pH udržují ATP dependentní H^+ pumpy
- proteiny v membráně lysozomu chráněny glykosylací
- primární lysozom vniká odškrcením od GA - po splynutí s endozomem vzniká sekundární (aktivní) lysozom - terciální lysozom s nestravitelnými zbytky odstraňovanými exocytózou
- přes 30 genetických chorob člověka s mutantními geny pro lysozomální enzymy
  - např. Gaucherova nemoc: glukocerebrosidáza na rozklad glykolipidů, léčba aplikací enzymu







http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL2060/BIOL2060-12/12_08.jpg http://faculty.samford.edu/~djohnso2/44962w/405/_11protsorting.html

Endocytická dráha

Endocytóza

- příjem částic, molekul a kapaliny z vnějšího prostředí
- malé molekuly přijímány u všech buněk, velké částice přijímány fagocytujícími buňkami
- pohlcovaný materiál obklopen plazmalemou - pučení dovnitř buňky - odškrcení endocytického váčku - fúze s lysozomem

i) pinocytóza

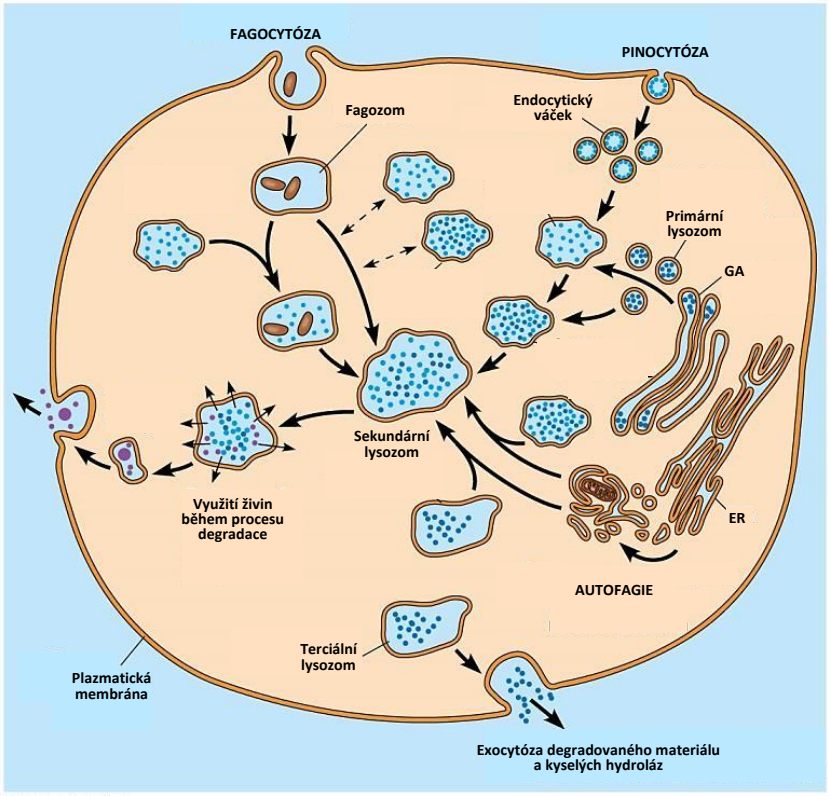
- pohlcení kapaliny a malých molekul
- využití klathrinových jamek a váčků
- neutrální, nerozlišuje přijímaný materiál

ii) fagocytóza

- pohlcení velkých částic pomocí fagozomů
- vazba částice k povrchovým receptorům - tvorba pseudopodií obklopujících částici - tvorba fago-zomu - fúze s lysozomem - fagolysozom

iii) autofagie

- rozklad vlastních struktur
- staré organely, hladovějící buňky
- uzavření organely v membráně z ER - tvorba autofagozomomu - fúze s lysozomem

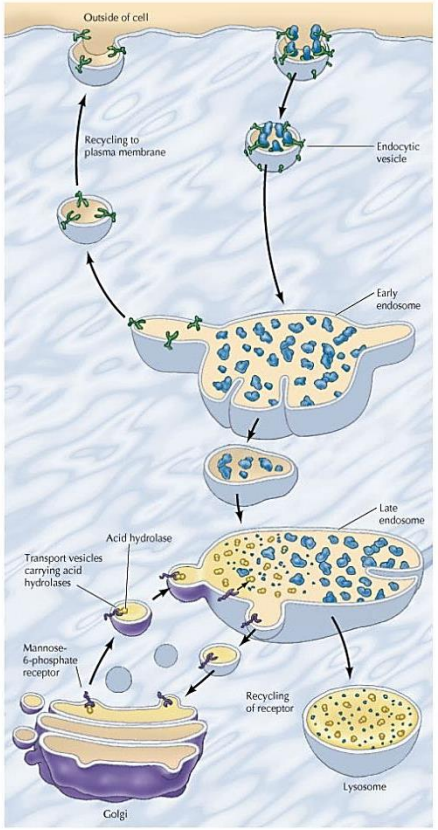


http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL2060/BIOL2060-12/12_08.jpg

Endocytická dráha

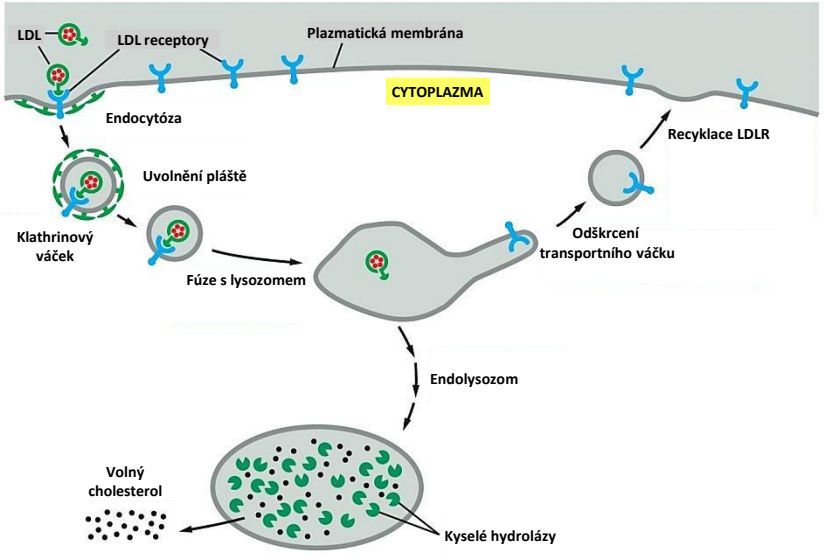
Endocytóza přes povrchové receptory

- selektivní zvýšení koncentrace látek v buňce
- vazba molekul k příslušným receptorům - uzavření komplexu receptor/ligand do klathrinových váčků - odstranění obalu váčku - fúze s lysozomem - zpracování pohlceného materiálu, recyklace receptorů
- např. cholesterol

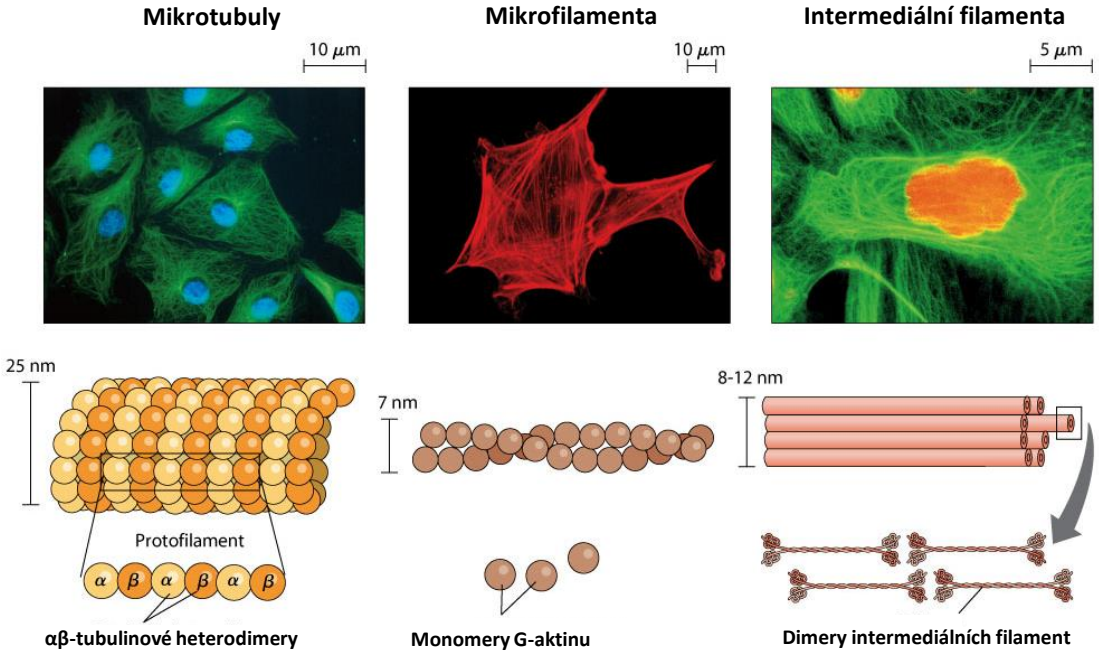


Cholesterol

- nezbytný pro tvorbu membrán
- v krvi vázán na proteinovém nosiči (lipoprotein)
- nízkodenzitní lipoprotein (LDL) vzniká v játrech a dopravuje cholesterol k buňkám
- vazba LDL s cholesterolem na LDLR - klathrinová endocytóza - fúze s lysozomem - uvolnění LDL od LDLR v kyselém prostředí lysozomu - recyklace receptorů - rozložení LDL - uvolnění cholesterolu do cytoplazmy
- porucha LDLR receptoru: hromadění cholesterolu v krvi, vývoj aterosklerózy, srdeční infarkty v raném věku

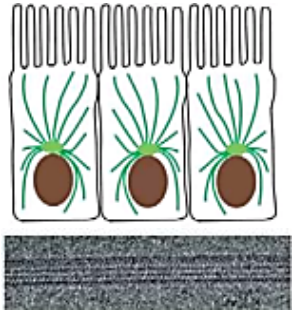


Cytoskelet

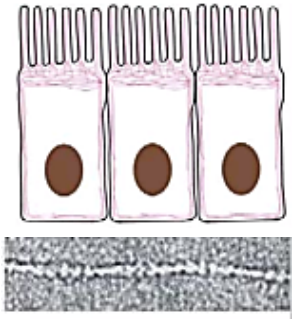


	Mikrotubuly	Mikrofilamenta	Intermediální filamenta
Struktura	Dutý válec, stěna z 13 protofilament	Dva propletené řetězce F-aktinu	8 protofilament
Monomery	α-tubulin β-tubulin	G-aktin	Cytokeratin, vimentin, desmin, neurofilamenta, nestin, laminy
Polarita	(+) a (-) konce	(+) a (-) konce	---
Funkce	Organizace a udržení tvaru a polarity buňky	Kontrakce svalů	Podpora buněčných struktur
	Pohyb chromozomů	Pohyb buněk, cytokineze	Udržení tvaru buňky
	Intracelulární transport	Proudění cytoplazmy	Tvorba jaderné laminy a lešení
	Pohyb organel	Udržení tvaru buňky	Zesílení axonů nervových buněk
	Pohyblivost buněk (axonema)	Intracelulární transport	Organizace svalových vláken

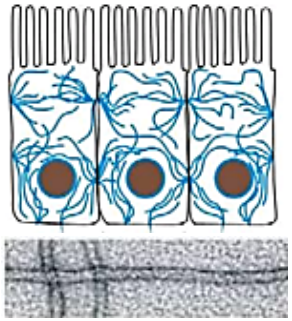
Mikrotubuly



Mikrofilamenta



Intermediální filamenta



Spoje buněk

- struktury zajišťující trvalé spojení sousedních buněk a spojení buněk s extracelulární matrix (ECM)
- důležité pro morfologii a funkci epitelů s těsným uspořádáním buněk
- vyžadují napojení na cytoskelet

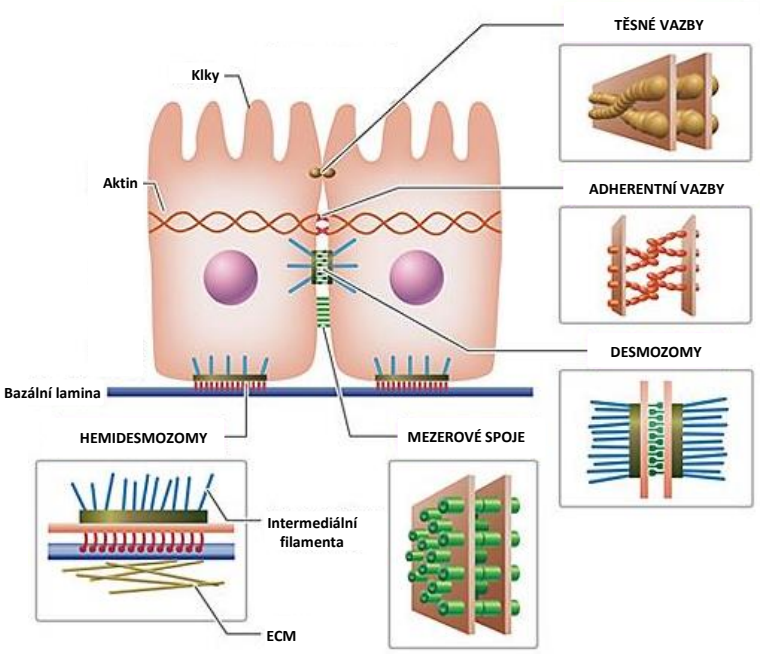
Těsné vazby
- brání průniku molekul a tekutiny

Adherentní vazby
- propojují mikrofilamenta sousedních buněk

Desmozomy
- propojují intermediální filamenta sousedních buněk

Mezerové spoje
- spojují cytoplazmy sousedních buněk

Hemidesmozomy
- připojují intermediální filamenta k bazální lamině



Polarita epiteliálních buněk

- apikální povrch - mikroklky a řasinky
  - pohyb hlenů v dýchací trubici, vajíčka ve vejcovodu, umístění receptorů
- laterální povrch - adherentní, mezerové a těsné vazby a desmozomy
  - spojení buněk přes speciální ligandy a cytoskelet
- bazální povrch - hemidesmozomy a adhezivní plaky, ukotvení buněk v bazální lamině

http://csls-text3.c.u-tokyo.ac.jp/active/11_06.html

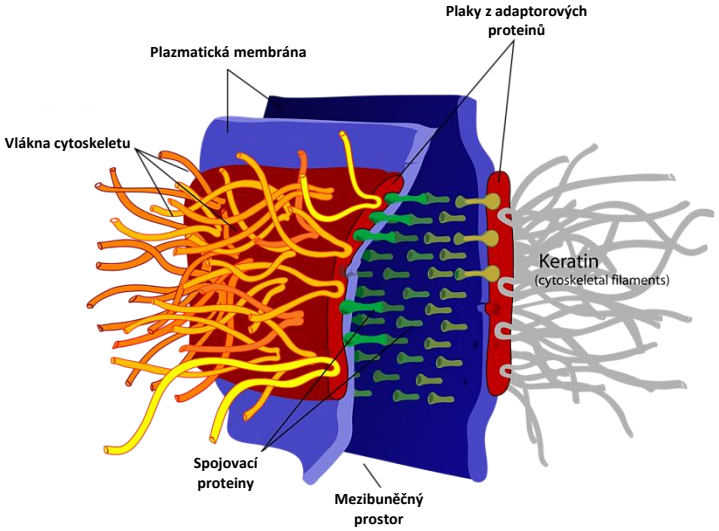
Spoje buněk

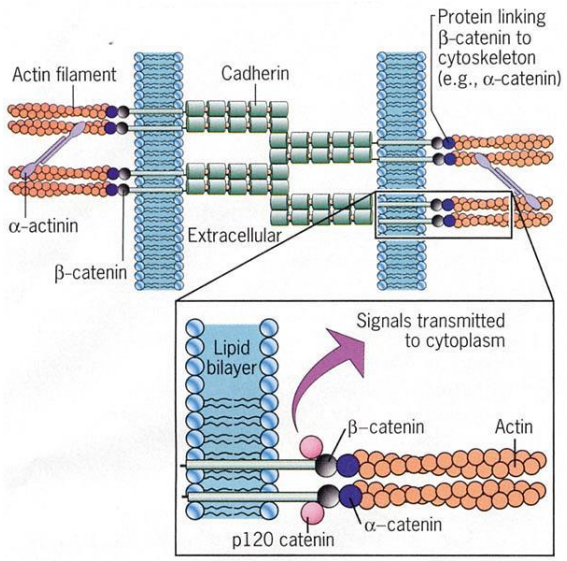
Adherentní spoje, desmozomy a hemidesmozomy obsahují plaky

- destičky nahromaděných adaptorových proteinů na cytosolické straně plazmatické membrány
- ukotvení transmembránových spojovacích proteinů, které váží ECM či proteiny sousední buňky
- vazba cytoskeletu

Adherentní vazby

- kadheriny - spojovací proteiny, homofilní vazby v přítomnosti Ca^{2+}
  - svými extracelulárními doménami přemosťují mezibuněčný prostor
- adaptorové proteiny - kateniny (α, β, p120), vinkulin
- interakce s mikrofilamenty (F-aktin)





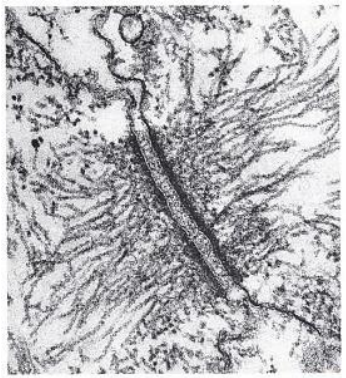
http://yxsj.baiduyy.com/whole/image/chapter7/7.26.jpg

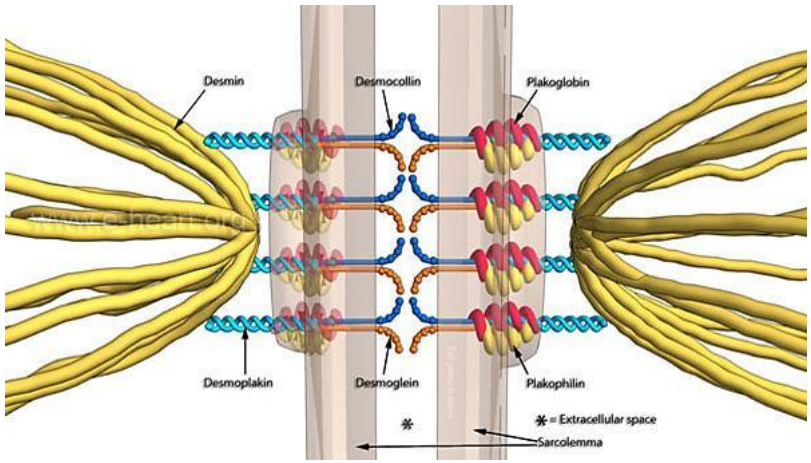
https://en.wikipedia.org/wiki/Desmosome#/media/File:Desmosome_cell_junction_en.svg

Spoje buněk

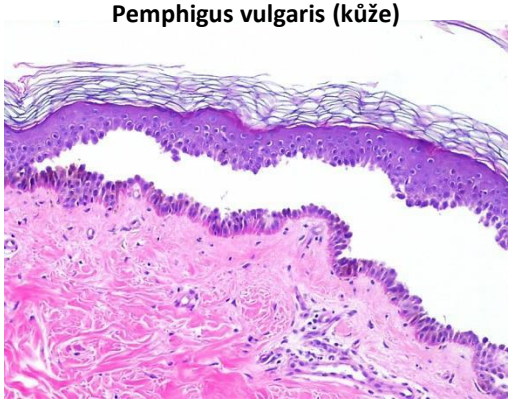
Desmozomy

- silná adheze buněk (střevní epitel, kůže, srdce)
- spojovací proteiny - speciální kadheriny desmocolin a desmoglein
- adaptorové proteiny tvoří silné plaky - plakofilin, plakoglobin, desmoplakin
- Pemphigus vulgaris - autoimuitní onemocnění kůže, tvorba protilátek proti desmogleinu
  - narušena adheze epitelu, mezi buňky proniká tělní tekutina, tvorba puchýřů





Pemphigus vulgaris (kůže)



Hemidesmozomy

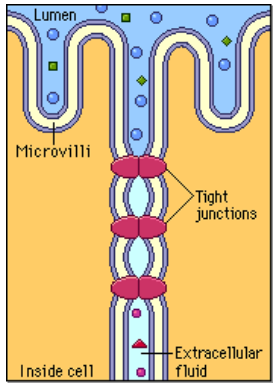
- propojení buněk s bazální laminou a tím ECM
- podobnost s desmozomy, avšak místo kadherinů používají jako spojovací proteiny integriny, které se váží k laminům bazální membrány

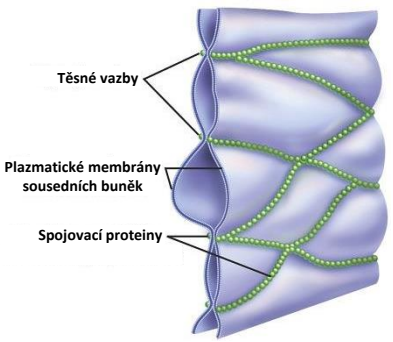
http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL2060/BIOL2060-17/CB17.html
http://dermaamin.com/site/histopathology-of-the-skin/68-p/2023-pemphigis-vulgaris-.html http://slideplayer.com/slide/4173835/

Spoje buněk

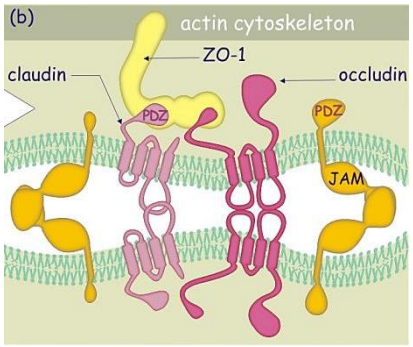
Těsné vazby

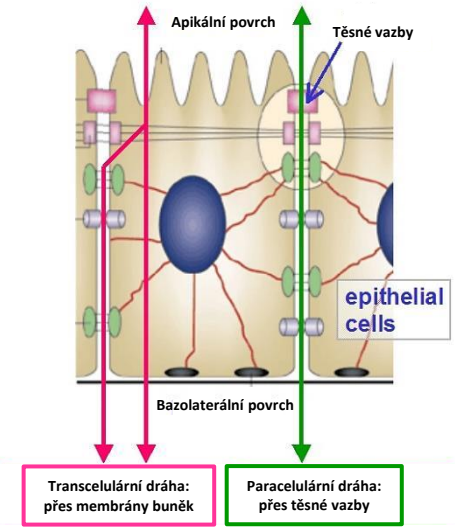
- spojovací proteiny - claudin, ocludin, JAM (junction adhesion molecules)
  - těsné uspořádání, homofilní interakce s proteiny sousední buňky
- podíl na polarizaci buněk, brání laterálními pohybu membránových molekul
- překážka pro průchod tekutin a molekul přes vrstvu buněk, oddělení tělních dutin
- rozhodují o průchodu molekul transbuněčnou či parabuněčnou drahou
- transport glukózy přes střevní epitel
  - vstup do buňky na apikální straně přes Na^+/glukóza synportní protein
  - export glukózovým transportérem na bazolaterálním povrchu



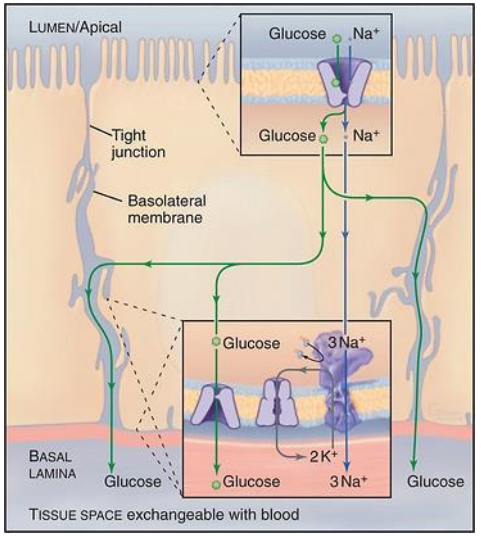


Spojovací proteiny





Transport glukózy ve střevech

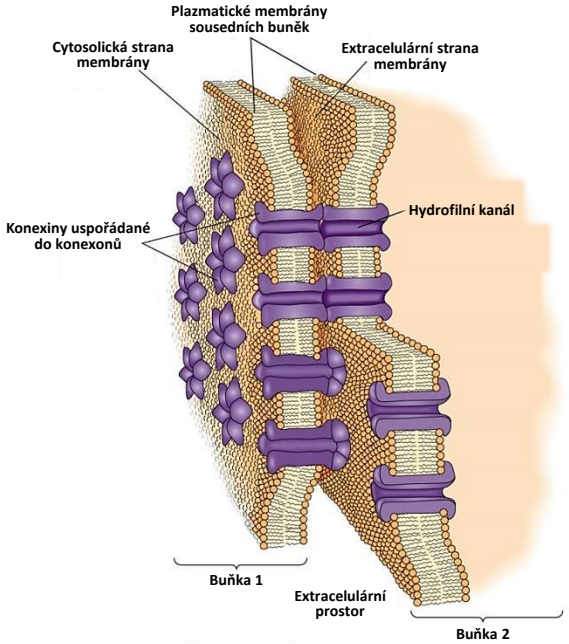


http://clinicalgate.com/membrane-physiology/ http://bio100.class.uic.edu/f06pm/lect06.htm http://klinphys.charite.de/for721/f_summary_e.htm
http://www.phschool.com/science/biology_place/biocoach/biomembrane2/tight.html; http://www.bio.davidson.edu/bernd/Lab/EpithelialInfoWeb/Tight%20Junctions.html

Spoje buněk

Mezerové spoje

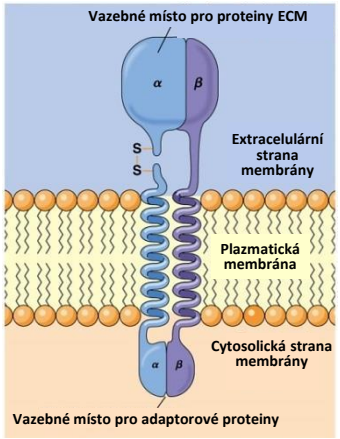
- 6 molekul membránového proteinu konexinu uspořádaných do kruhu tvoří dutý válec konexon
- konexony dvou sousedních buněk tvoří hydrofilní kanál, který propojuje cytoplazmy buněk
- přímá chemická a elektrochemická komunikace buněk
- tok malých molekul mezi buňkami (ionty, cukry, cAMP)



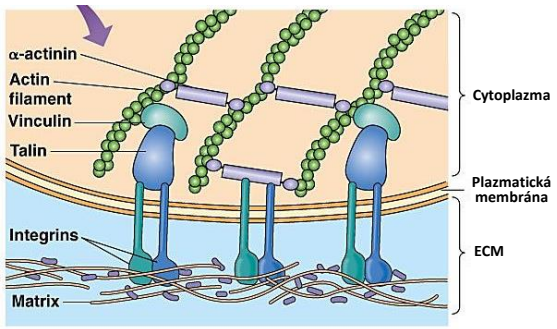
Spojení buněk s ECM

- fokální adheze a hemidesmozomy, integriny
- rozdíl v napojení na cytosklelet - fokální adheze váží mikrofilamenta
  - hemidesmozomy váží intermediální filamenta

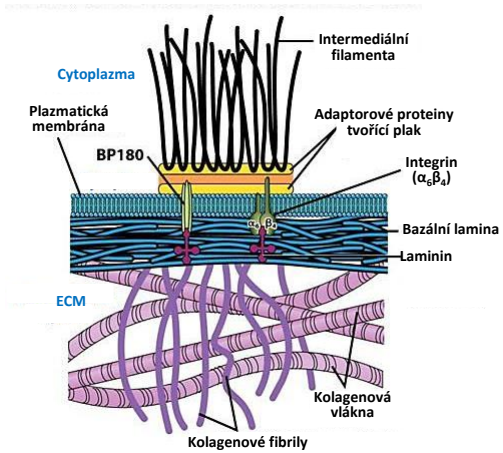
Integrin



Fokální adheze



Hemidesmozom



http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL2060/BIOL2060-17/CB17.html https://quizlet.com/12976144/cell-bio-lecture-11-flash-cards/