

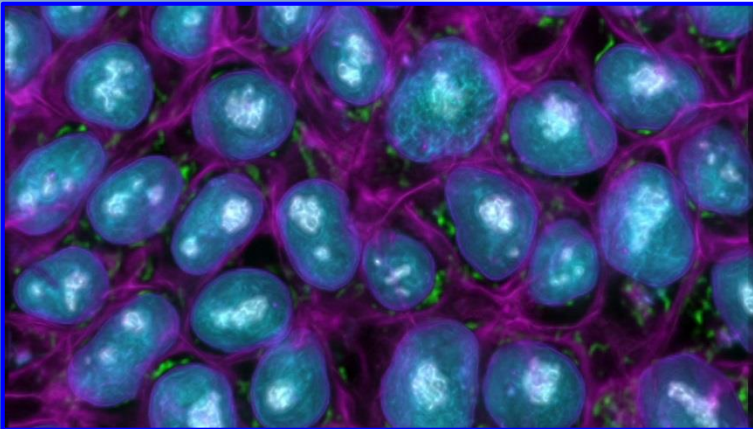
Mezibuněčné interakce a interakce mezi buňkou a ECM

Jana Šmardová

Jan Šmarda

Ústav experimentální biologie

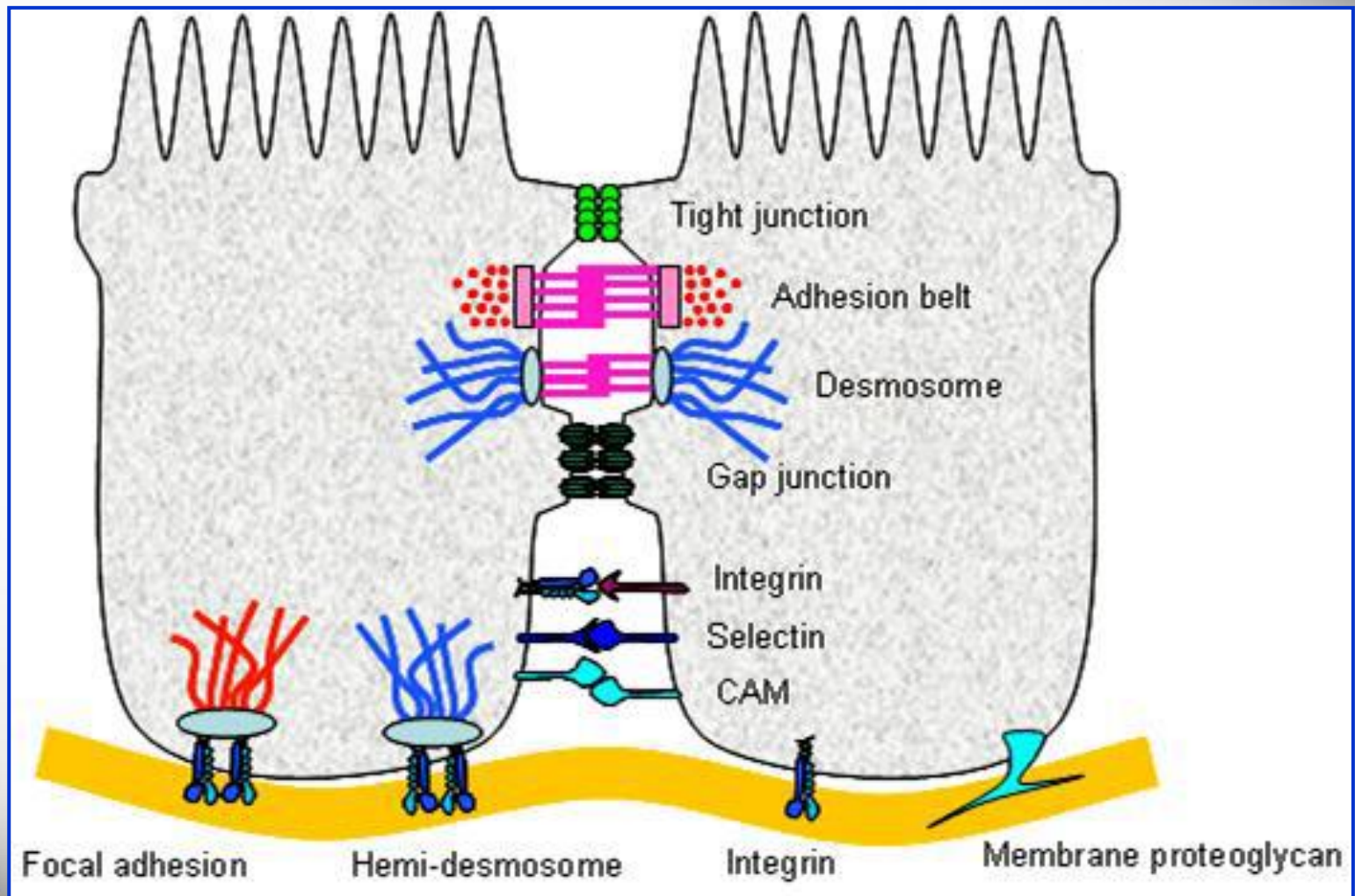
Přírodovědecká fakulta MU



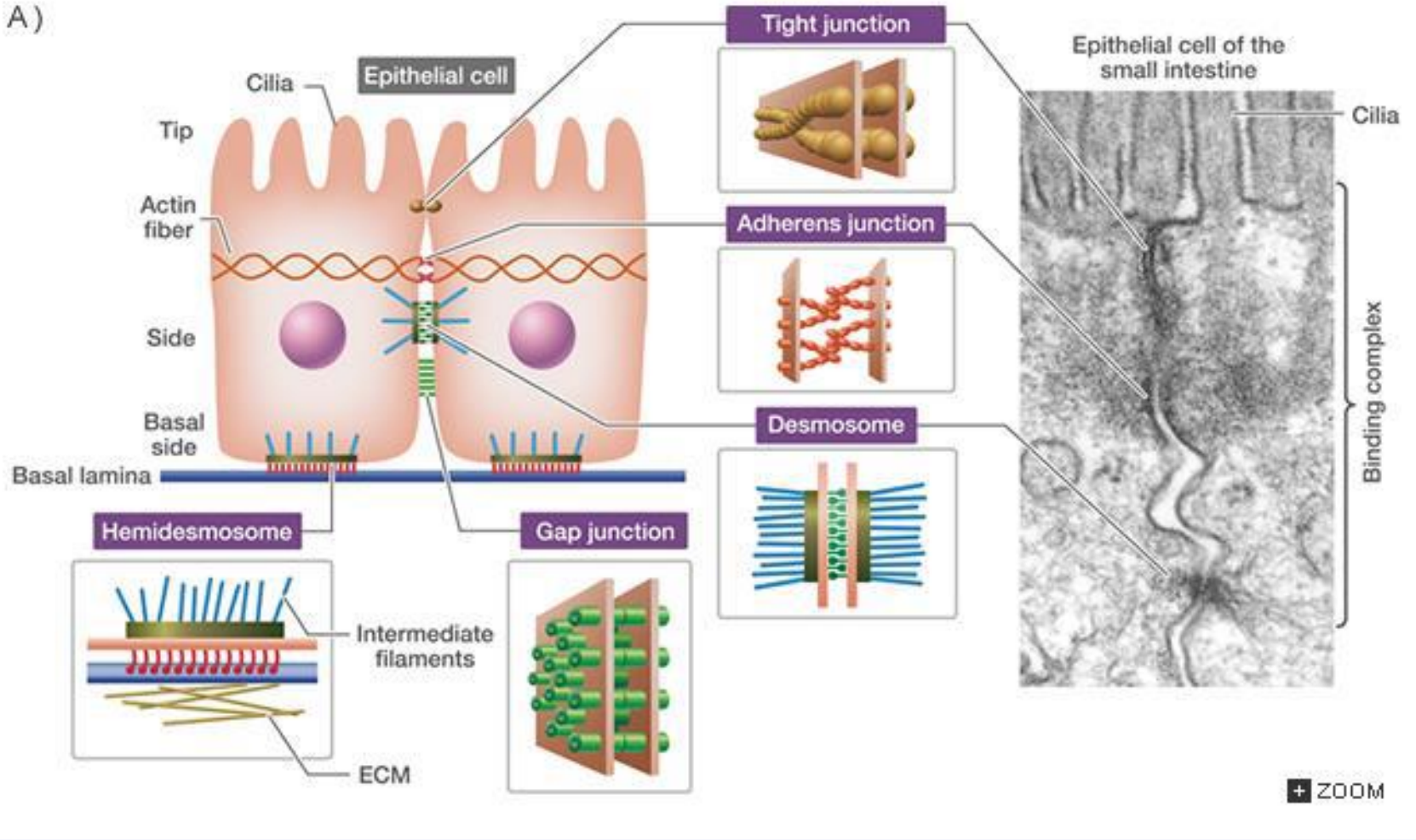
Přednáška kurzu Molekulární biologie eukaryot
17.10.2019

Osnova přednášky

- charakteristika buněčných interakcí
 - receptory CAM
- interakce mezi buňkami a substrátem (ECM)
 - fokální adheze
 - hemidesmosomy
- buněčné adheze (cell adhesions)
 - adherentní pásy
 - desmosomy
- mezibuněčné spoje (cell junctions)
 - těsné spoje (tight junctions)
 - mezerové spoje (gap junctions)



A)



(chybí fokální adheze)

Charakteristika buněčných interakcí

Charakteristika buněčných interakcí

- selektivní exprese **receptorů CAM** (cell adhesion molecules)
- **interakce CAM**: navzájem mezi buňkami (cell-cell) s ECM (cell-matrix)
- vazba na cytoskelet uvnitř buňky (stabilizace)
- **regulace změnou lokalizace** (membrána vs. vezikly)

4 rodiny CAM:

integriny

selektiny

ICAMs (immunoglobulin-like CAMs)

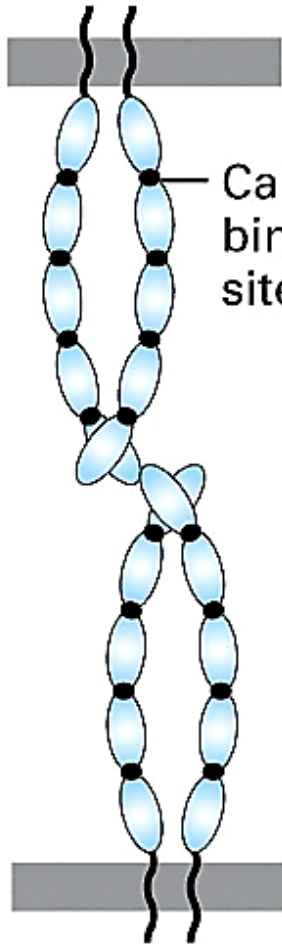
kadheriny

Charakteristika molekul CAM

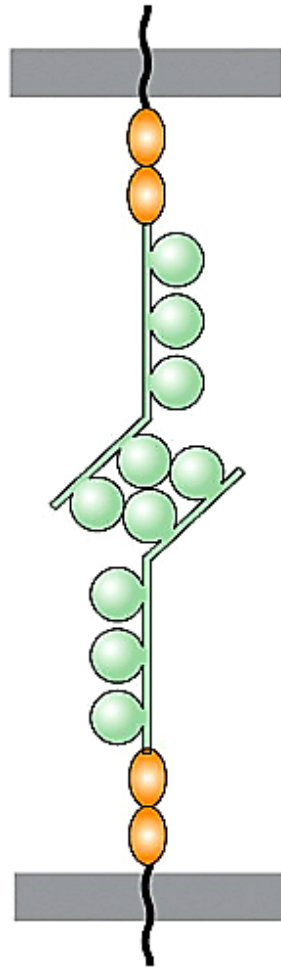
- 1 transmembránová doména
- 1 intracelulární vazebná doména → vazba na cytoskelet (AF, IF) přes asociované proteiny
- opakující se (vazebné) extracelulární domény
- **homofilní interakce:**
interakce se stejným typem CAM na jiné buňce
- **heterofilní interakce:**
interakce s jiným typem CAM nebo ligandem
- integriny, selektiny a kadheriny vyžadují **přítomnost iontů Ca^{2+}**

Homophilic interactions

Cadherins
(E-cadherin)

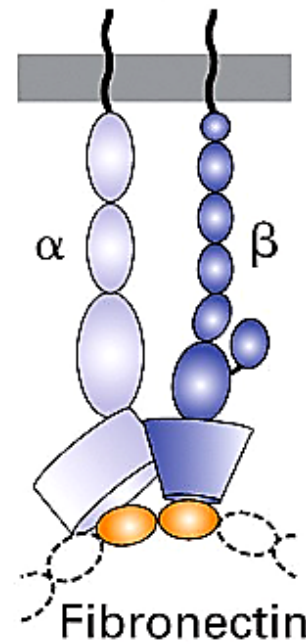


Ig-superfamily
CAMs (NCAM)

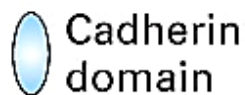
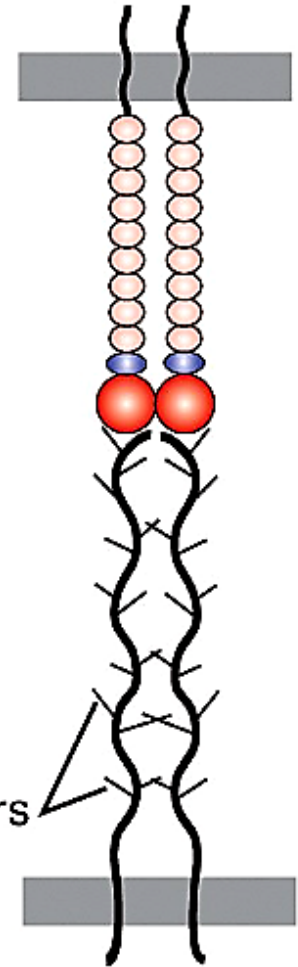


Heterophilic interactions

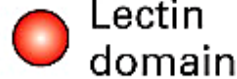
Integrins
($\alpha v \beta 3$)



Selectins
(P-selectin)

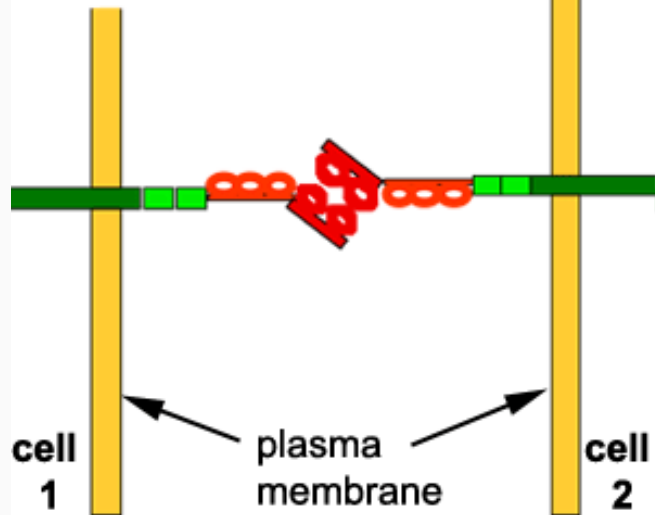


Type III
fibronectin
repeat

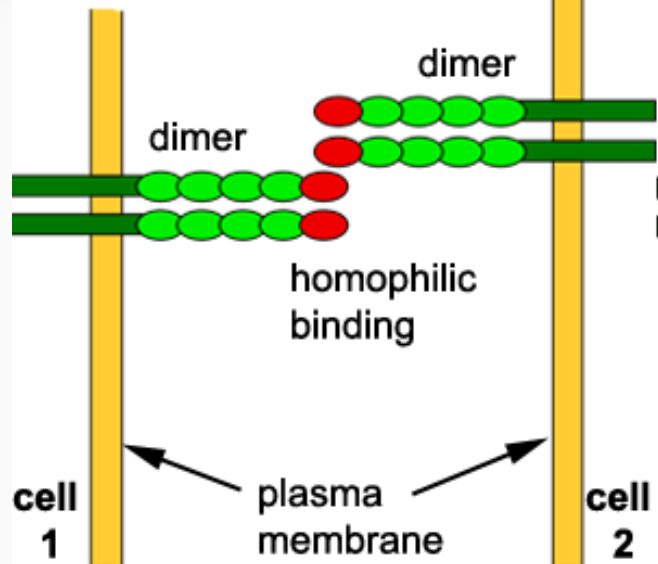


Glycoprotein

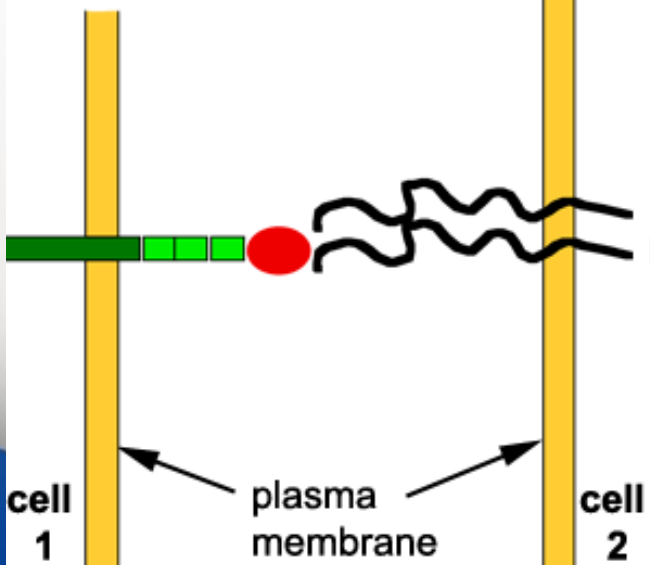
Immunoglobulin Superfamily



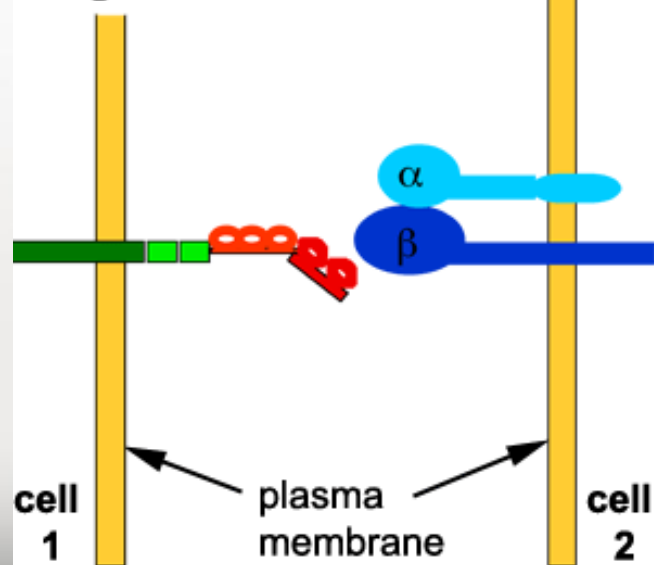
Cadherins



Selectins



Integrins

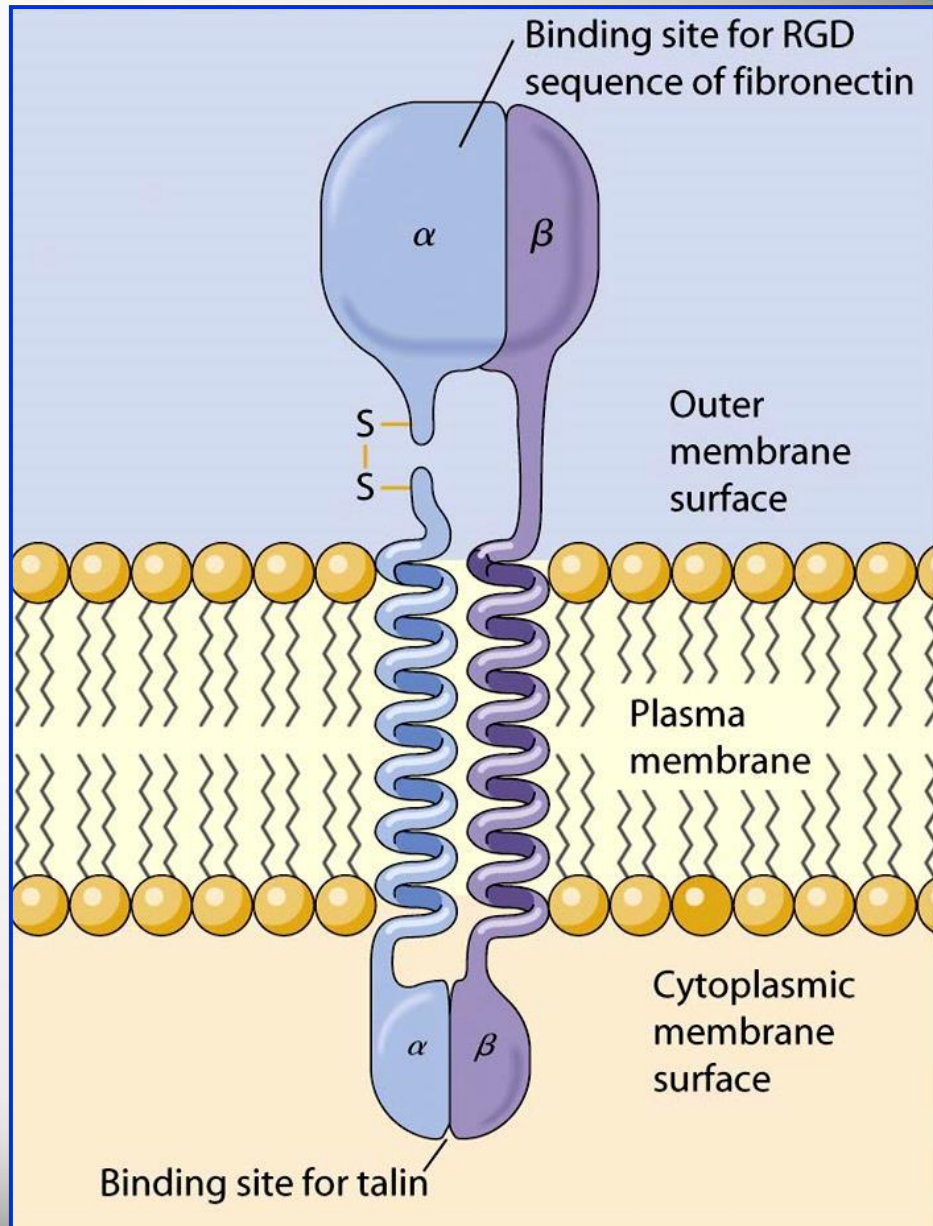


Integriny

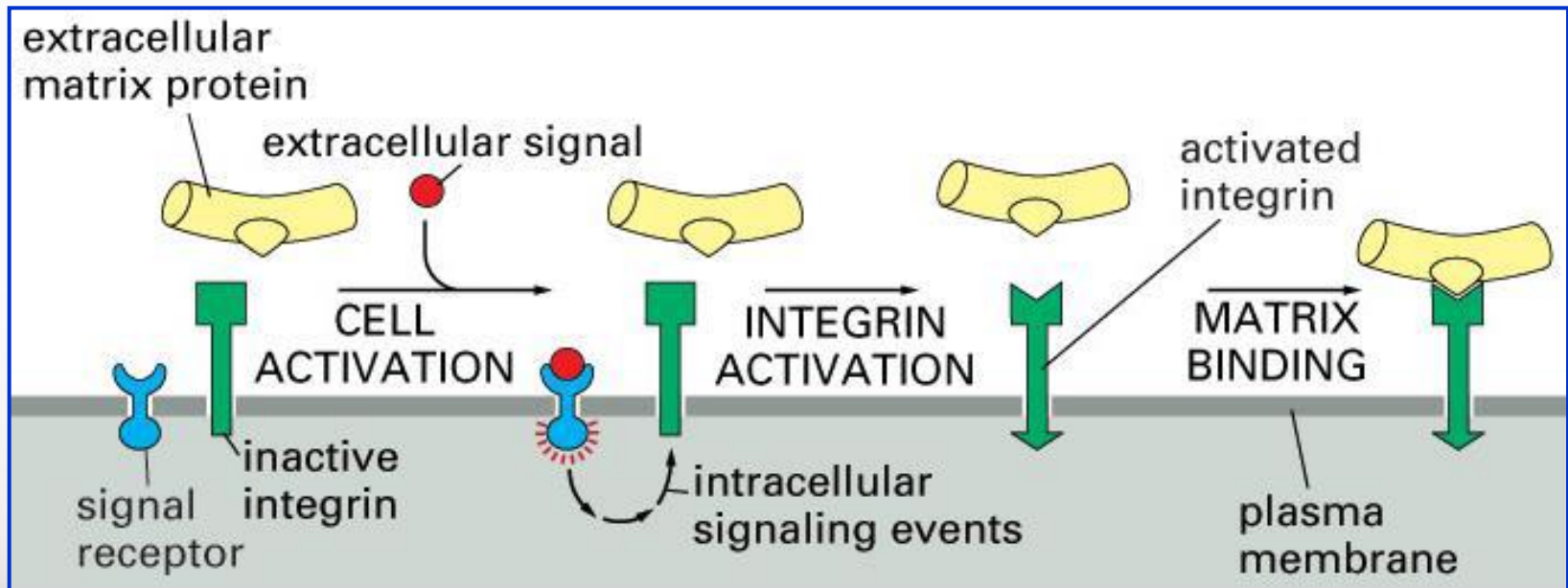
- hlavní komponenta interakcí buněk s ECM
- heterodimery: α (18 typů) a β (8 typů) **podjednotka**
- různé kombinace (24) podjednotek → odlišná afinita k ligandům (= specifické sekvence AA v ECM); možnost interakcí s různými ligandy (nízká specifita)

Funkce:

- **fokální adheze** (vazba na AF) – vazba k bazální lamině nebo jiným typům ECM
- **pohyb buněk v ECM** (fibroblasty, leukocyty)
- **interakce trombocytů**, resp. **gamet** při fertilizaci
- zprostředkovávají **signalizace** (inside-out i outside-in)



Interakce mezi integriny a receptory pro růstové faktory



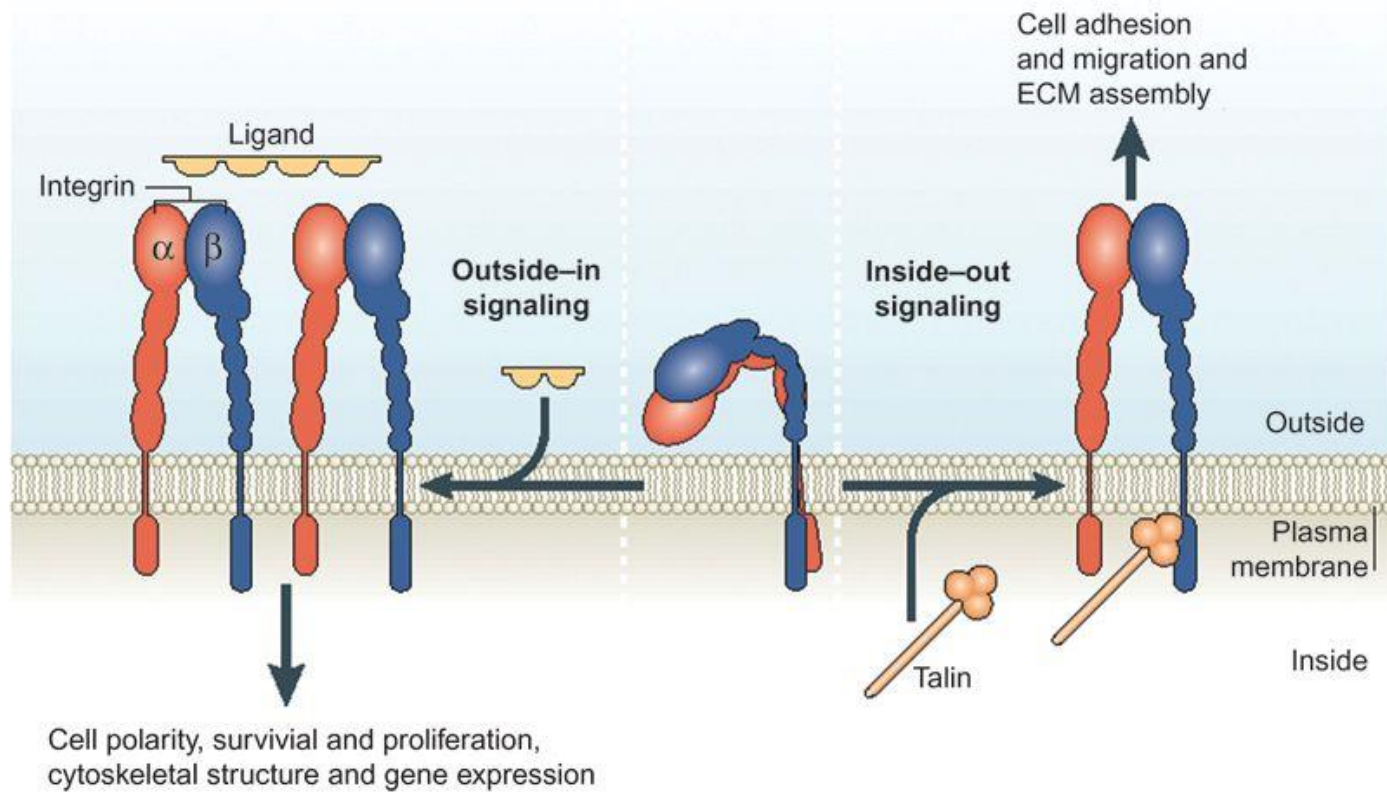
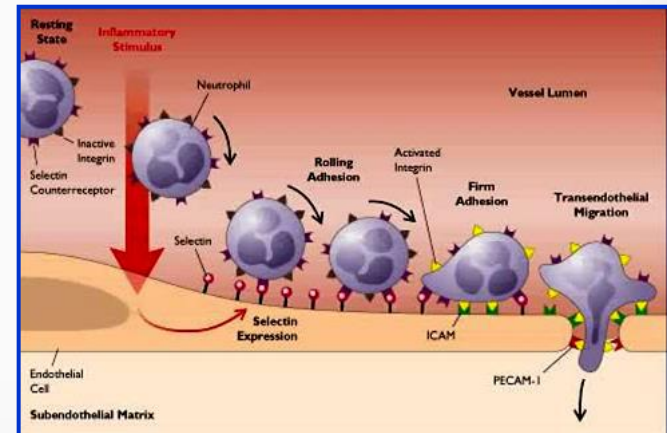


FIGURE 9-8: Bidirectional integrin signaling. Integrins can signal in two directions. During inside-out signaling, intracellular activators, such as talin or kindlins, bind to the β -integrin tail, leading to conformational changes that result in integrin activation. Integrins can also behave like traditional signaling receptors in transmitting information into cells by outside-in signaling. Binding of an integrin to its extracellular ligand changes the conformation of this integrin and leads to its activation. Current data favor a model in which integrin activation is associated with a conformational transition of the integrin's ectodomains from a closed and bent form to an open and extended form. However, the exact relationship between specific conformations and integrin activation remains controversial. In addition, inside-out and outside-in integrin signaling, even though conceptually segregated, are often closely linked. For example, integrin activation by inside-out signaling can increase ligand binding, resulting in outside-in signaling (From Shattil et al. 2010).



Leukocyte Adhesion Deficiency (LAD)

- dědičná (AR) porucha tvorby CD18 (podjednotka $\beta 2$)
- nedostatečná adheze leukocytů k endotelu cév → imunodeficience, časté bakteriální infekce
- transplantace kostní dřeně



Canine Leukocyte Adhesion Deficiency (CLAD)

- vysoká frekvence: irský setr
- mutační analýzy, genetické testy

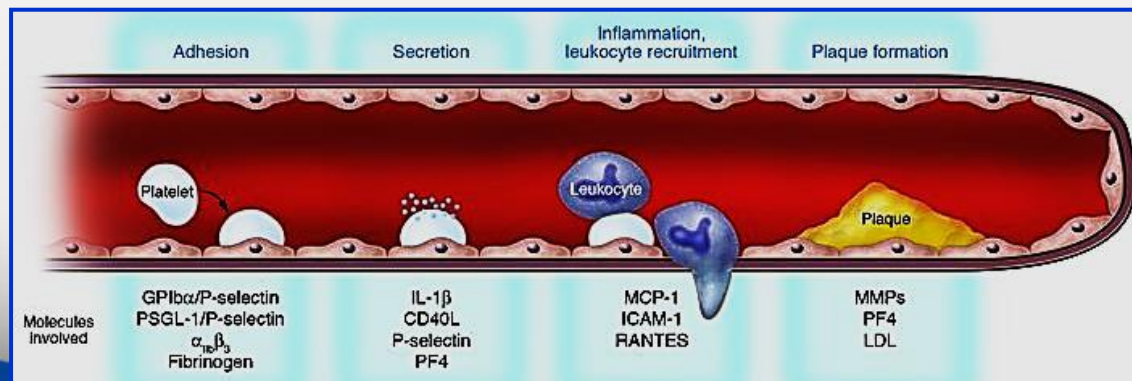
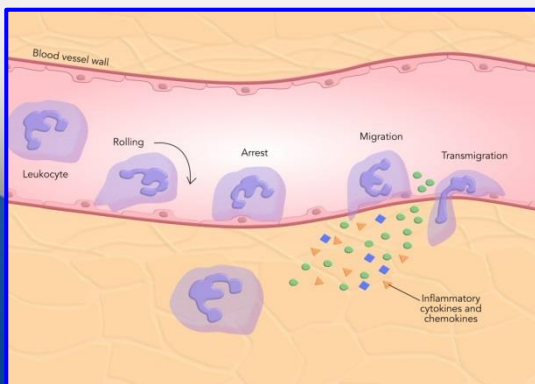


Selektiny

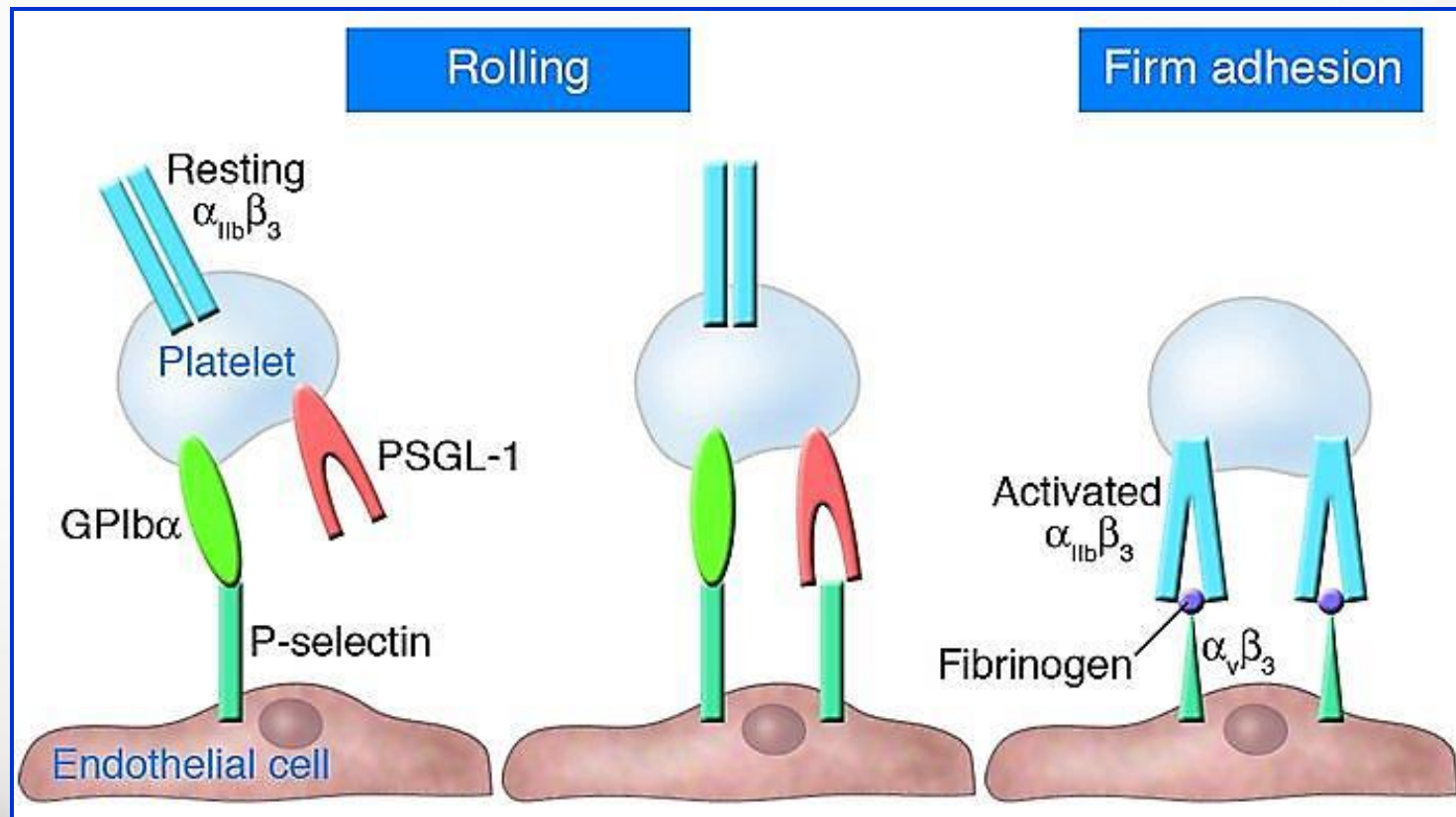
- **Ca²⁺-dependentní lektinová doména:** interakce s oligosacharidy glykoproteinů a glykolipidů
- exprimovány výlučně na povrchu buněk vaskulárního systému: **L-** (leukocyty), **P-** (trombocyty/*plateles*) a **E-selektiny** (endotelie)

Funkce:

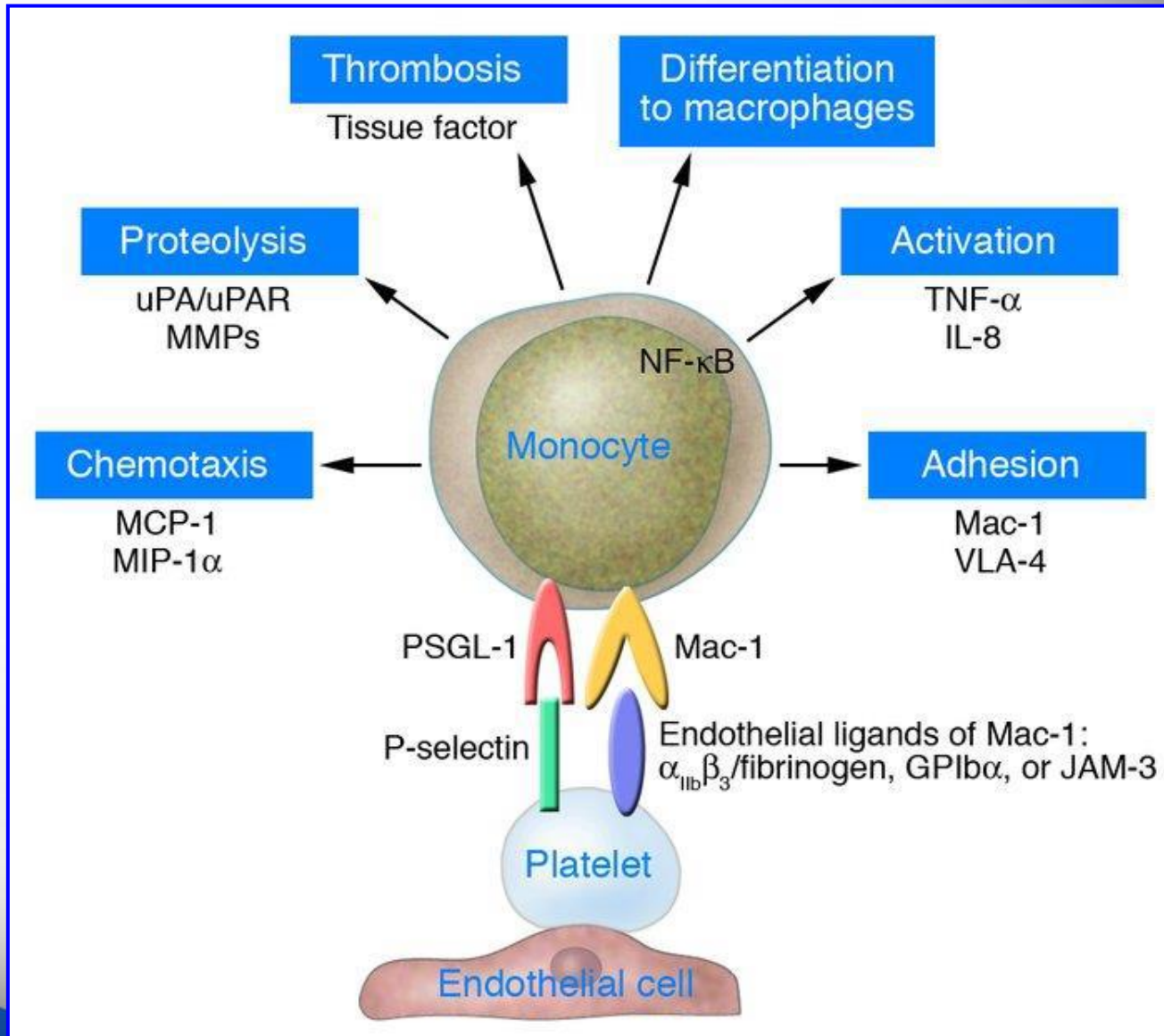
- při zánětu, trombóze **endoteliální buňky** exprimují **P-selektin** = specifický signál pro interakci s dosud volně cirkulujícími trombocyty, neutrofily,...



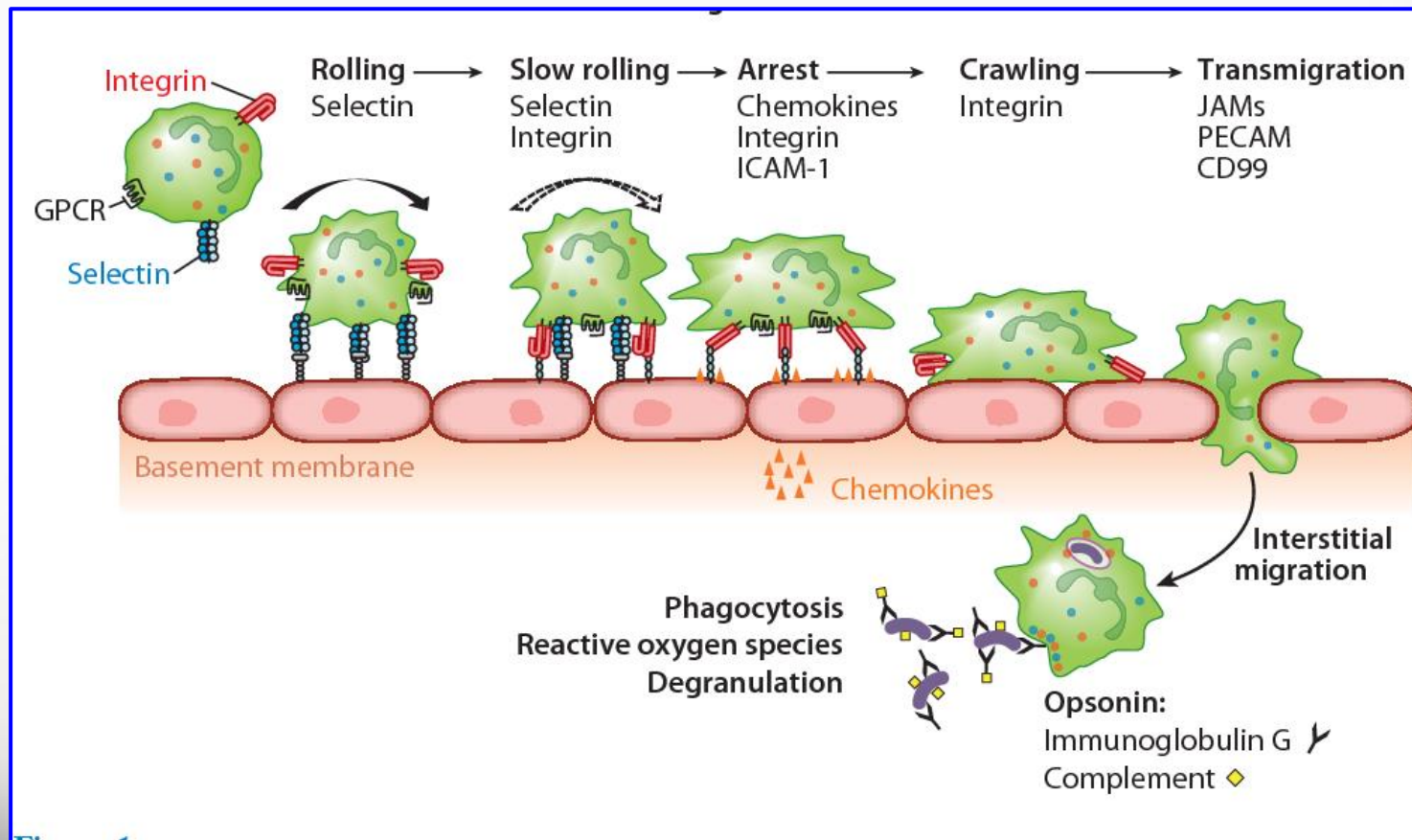
Selektiny umožňují interakci endotelií s buňkami pohybujícími se v krevním řečišti



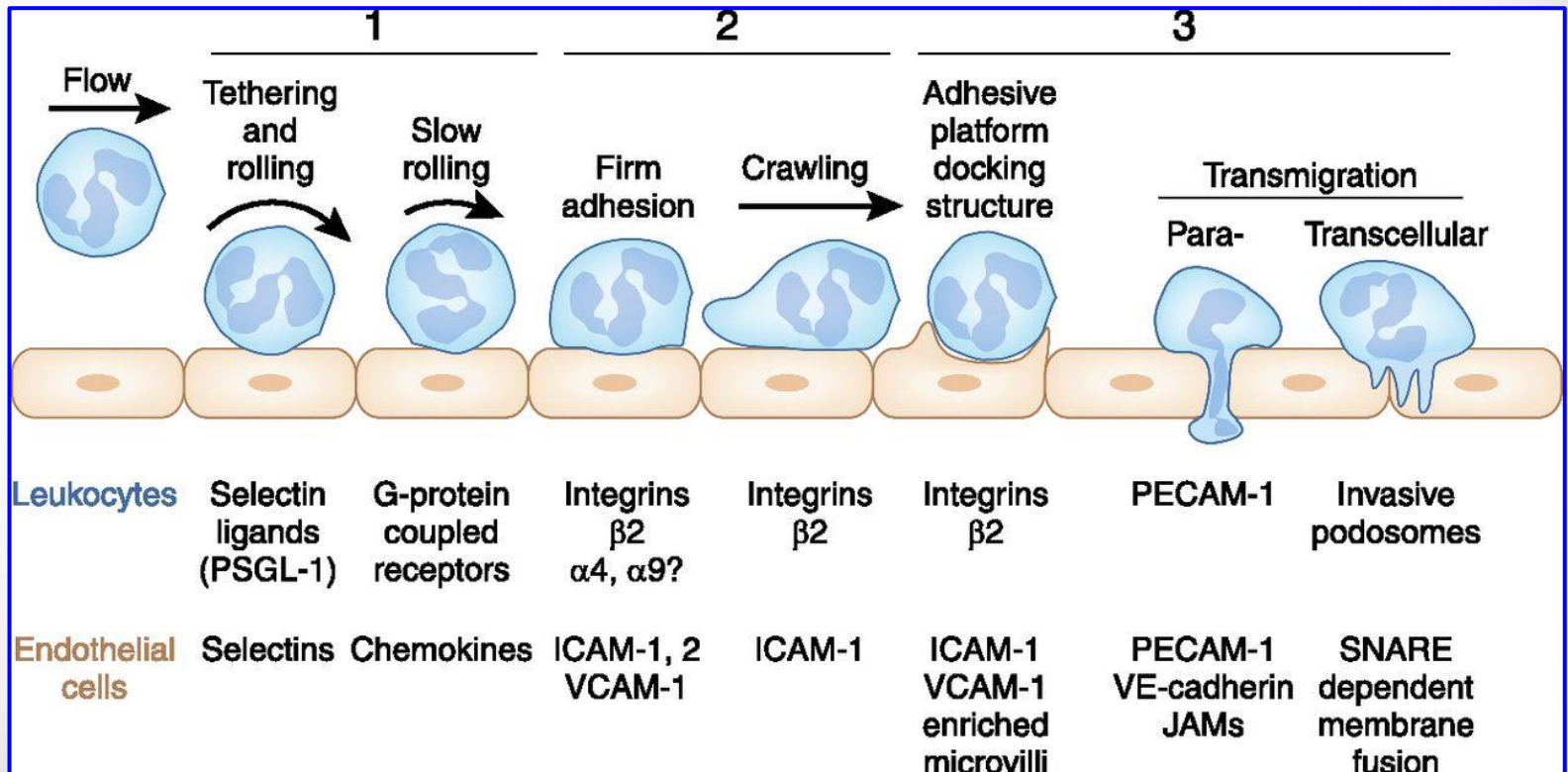
PSGL-1 (CD162): *P-selectin glycoprotein ligand-1*
GP Ib (CD42b): *Platelet glycoprotein Ib*



Úloha CAMs v zánětové kaskádě



Úloha CAMs v zánětové kaskádě



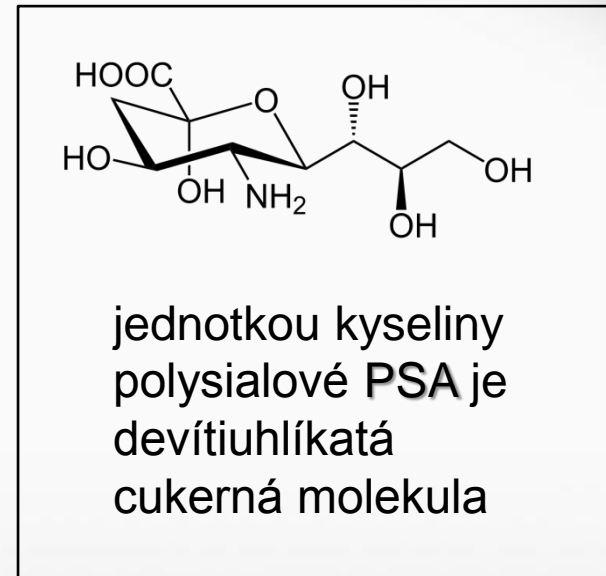
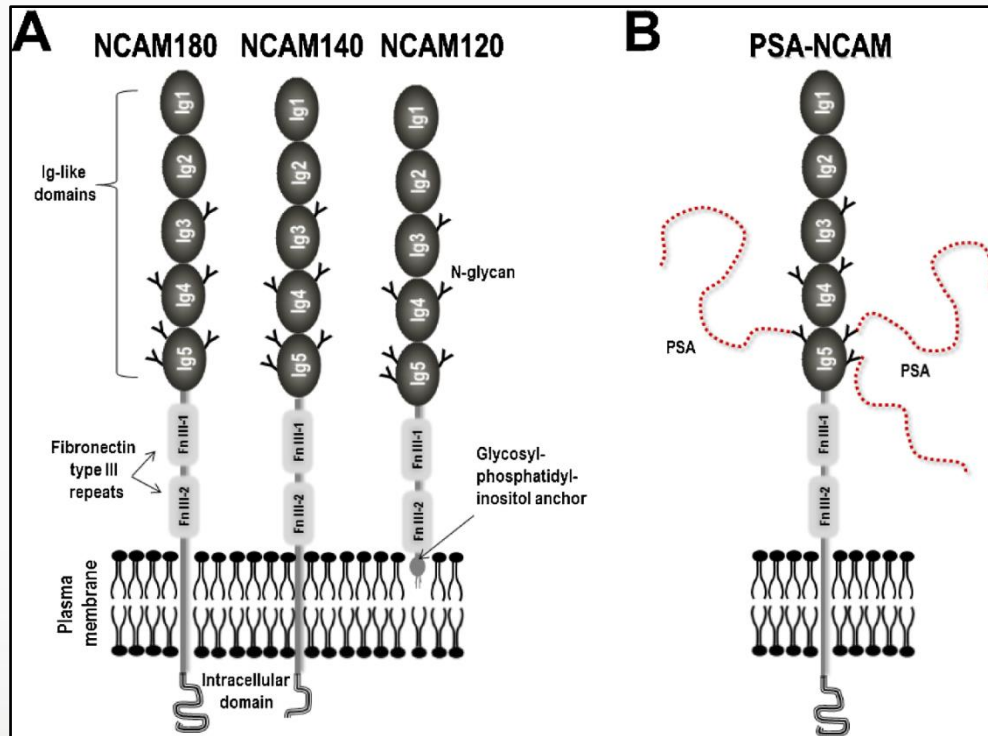
ICAMs

- opakující se extracelulární vazebná doména (Ig-like)
- stovky různých druhů (buněčná specifita, odlišná struktura, rozdílná afinita k ligandům) – bezobratlí i obratlovci
- specifita interakcí během embryogeneze, aktivace signálních drah

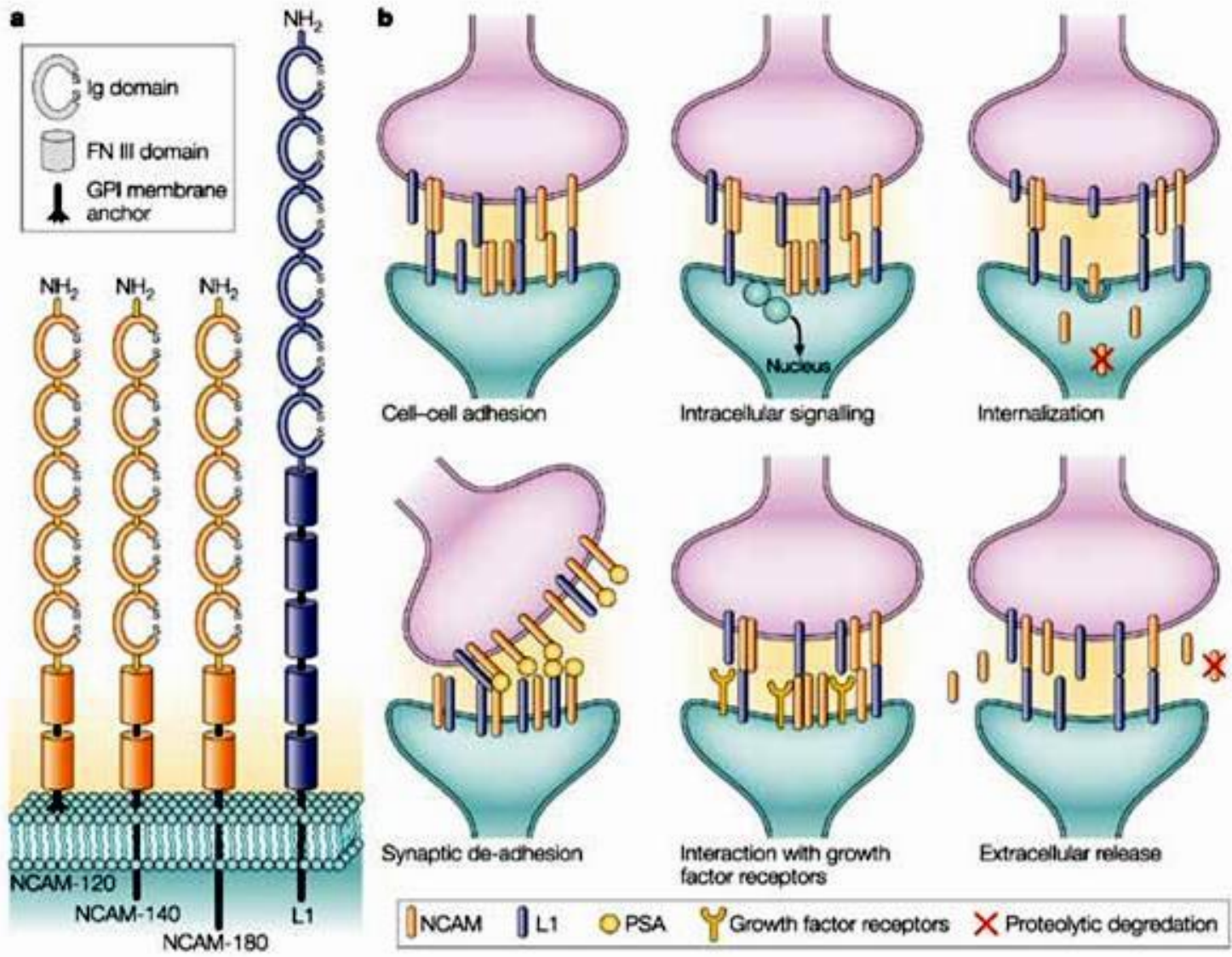
N-CAM (neural cell adhesion molecule)

- neurony, glie (homofilní interakce) – vývoj CNS
- 1 gen → alternativní sestřih → 20 izoformem

N-CAM (neural cell adhesion molecule)



- 5 Ig domén (≈ 100 AA) a 2 Fn - fibronektinové domény
- 3 formy: NCAM180, 140, 120 ← alternativní sestřih
- všechny mohou být odštěpeny a solubilizovány
- vazba PSA (kyselina polysialová/neuroaminová) mění strukturu a funkci



Kadheriny (Cadherins)

- v molekule 5x extracelulární **doména CAD** (115 AA)
- vysoká variabilita cytoplazmatické domény
- v cytoplazmě vazba na AF – **kateniny** (α a β)
- pouze zajištění mezibuněčných interakcí (ne s ECM)
- tkáňově specifické typy (změny během diferenciacce):

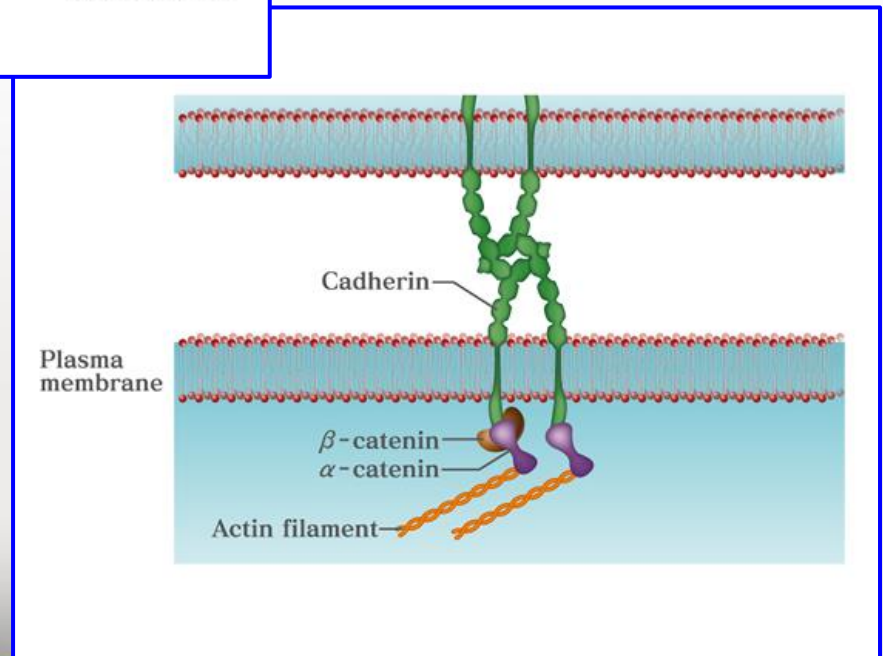
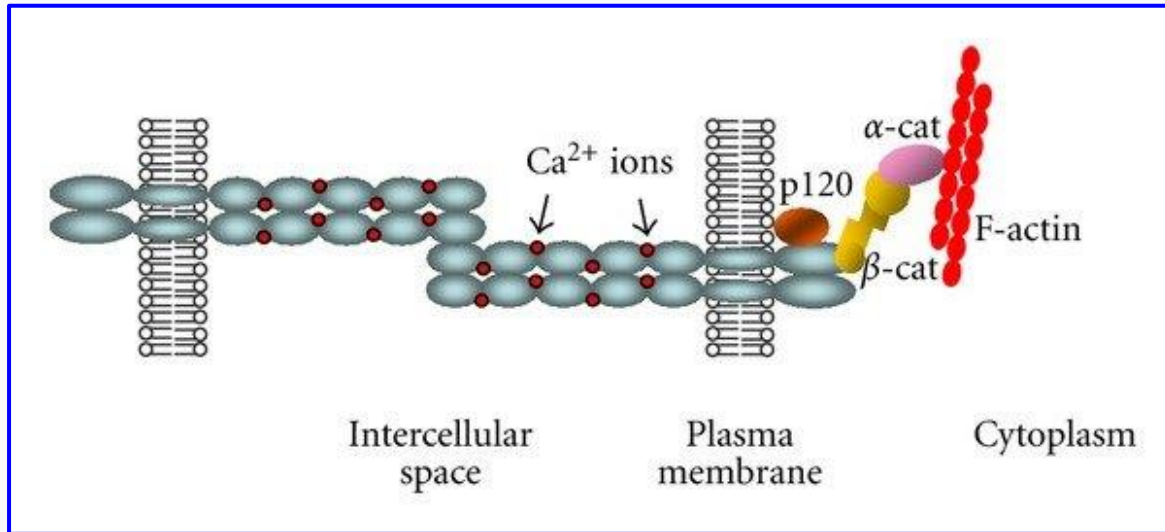
E = epitely, embryonální buňky

P = placenta

N = nervové buňky, svalové buňky

VE = vaskulární endotelie

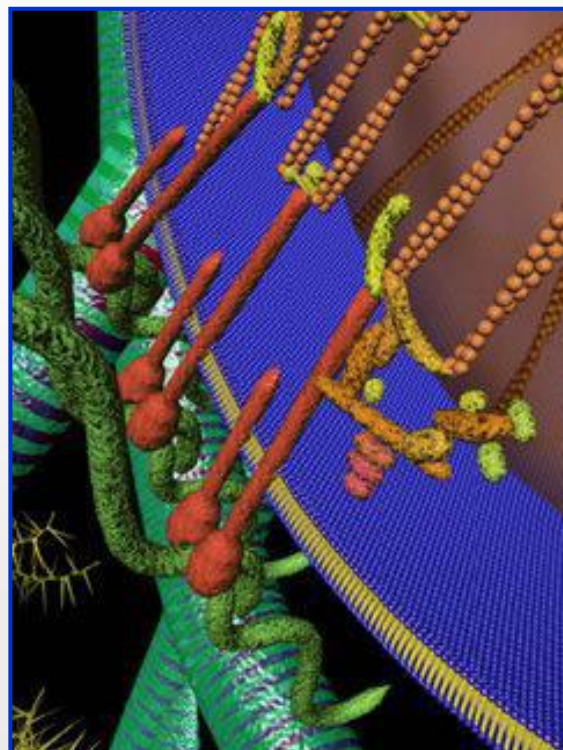
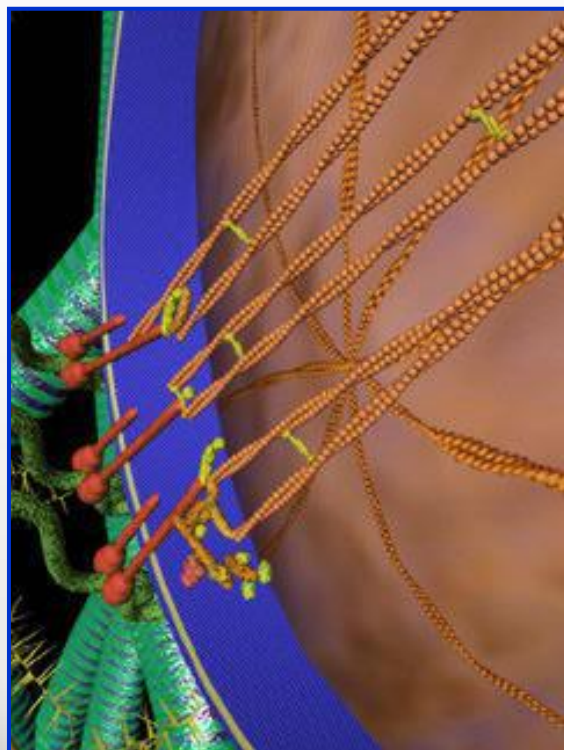
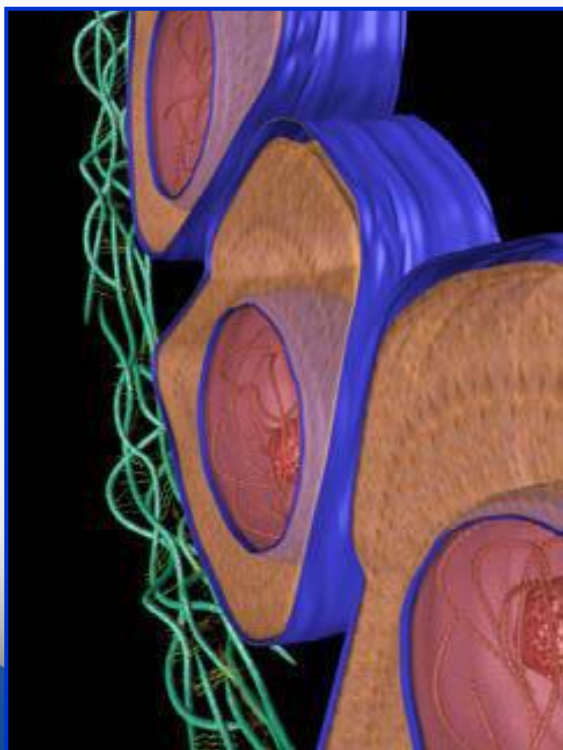
Interakce **kadherinů** dvou sousedních buněk



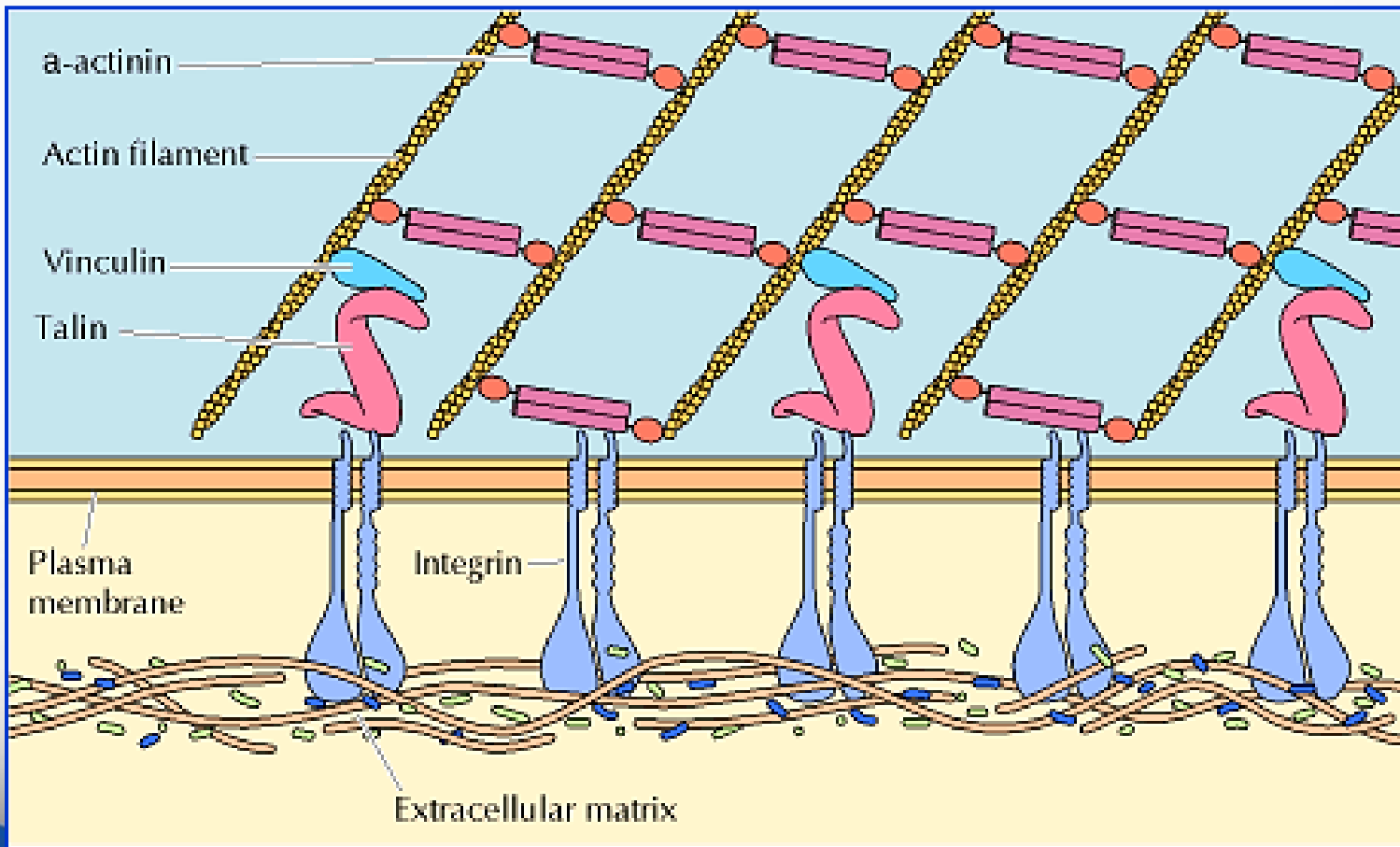
Interakce mezi buňkami a substrátem (ECM)

Fokální adheze

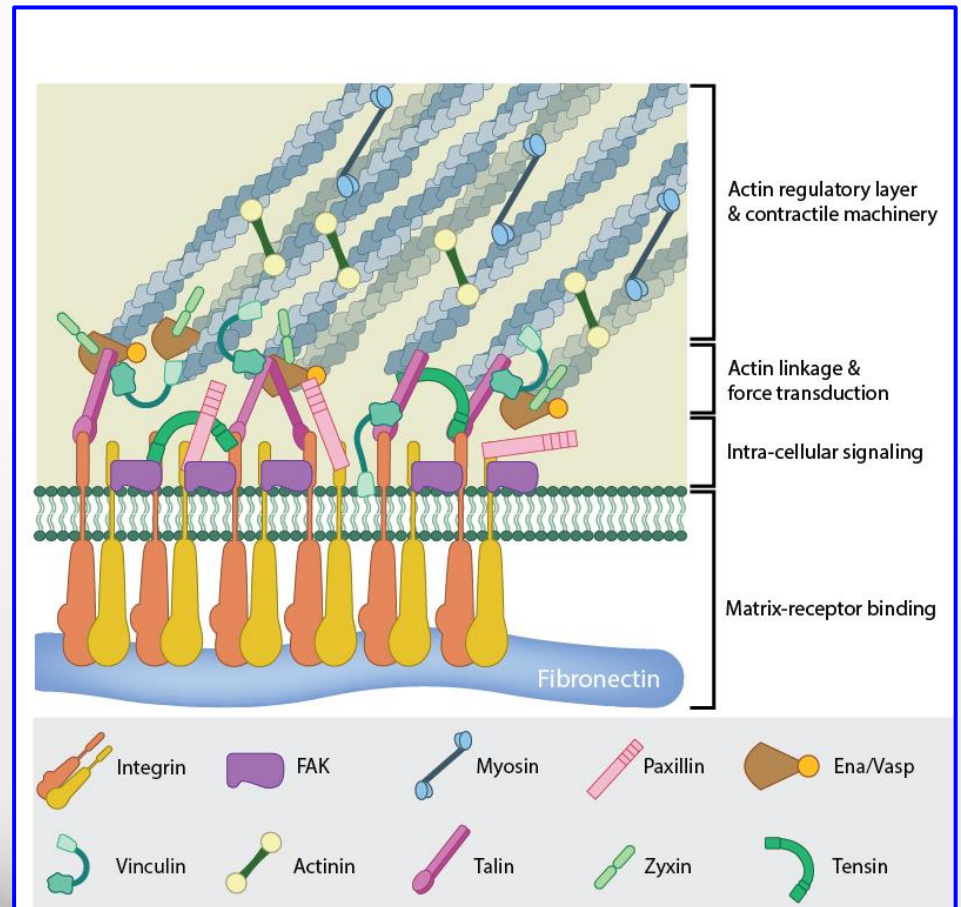
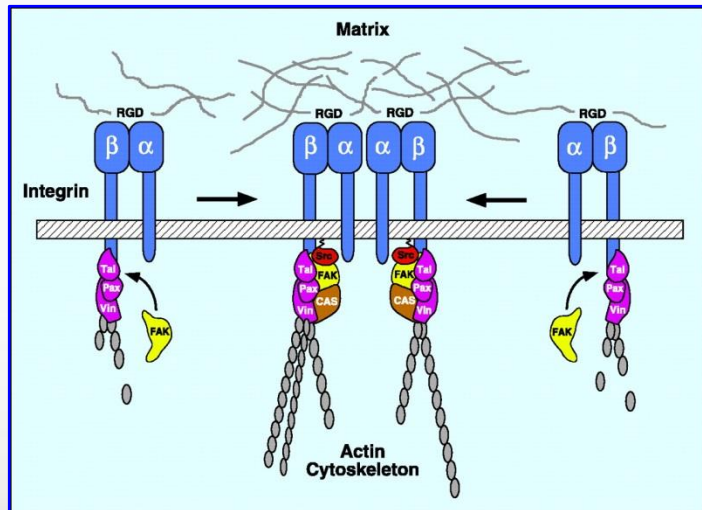
- připojení **aktinových filament (AF)** k ECM prostřednictvím CAMs (**integriny**)



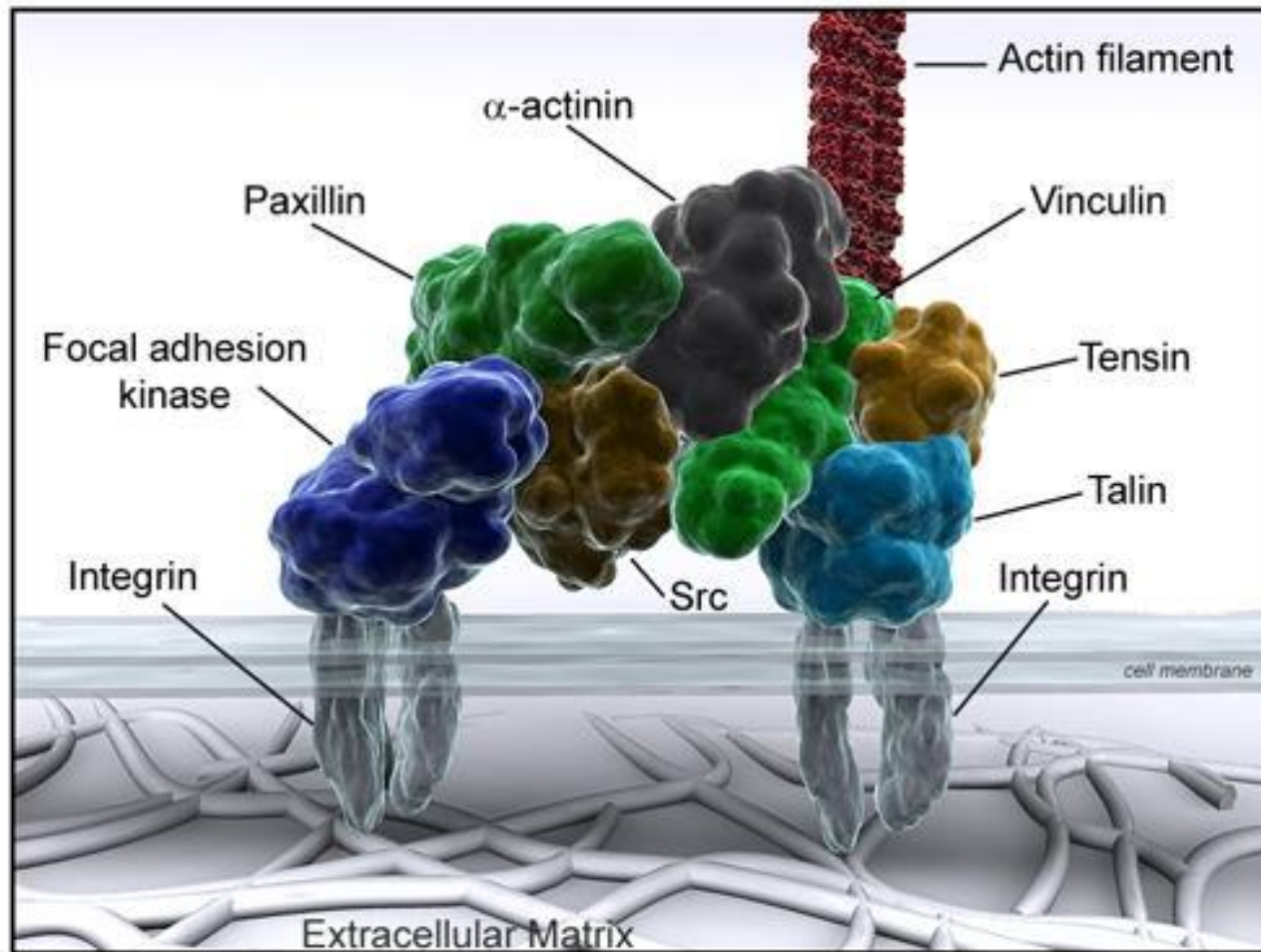
Struktura fokálních adhezí

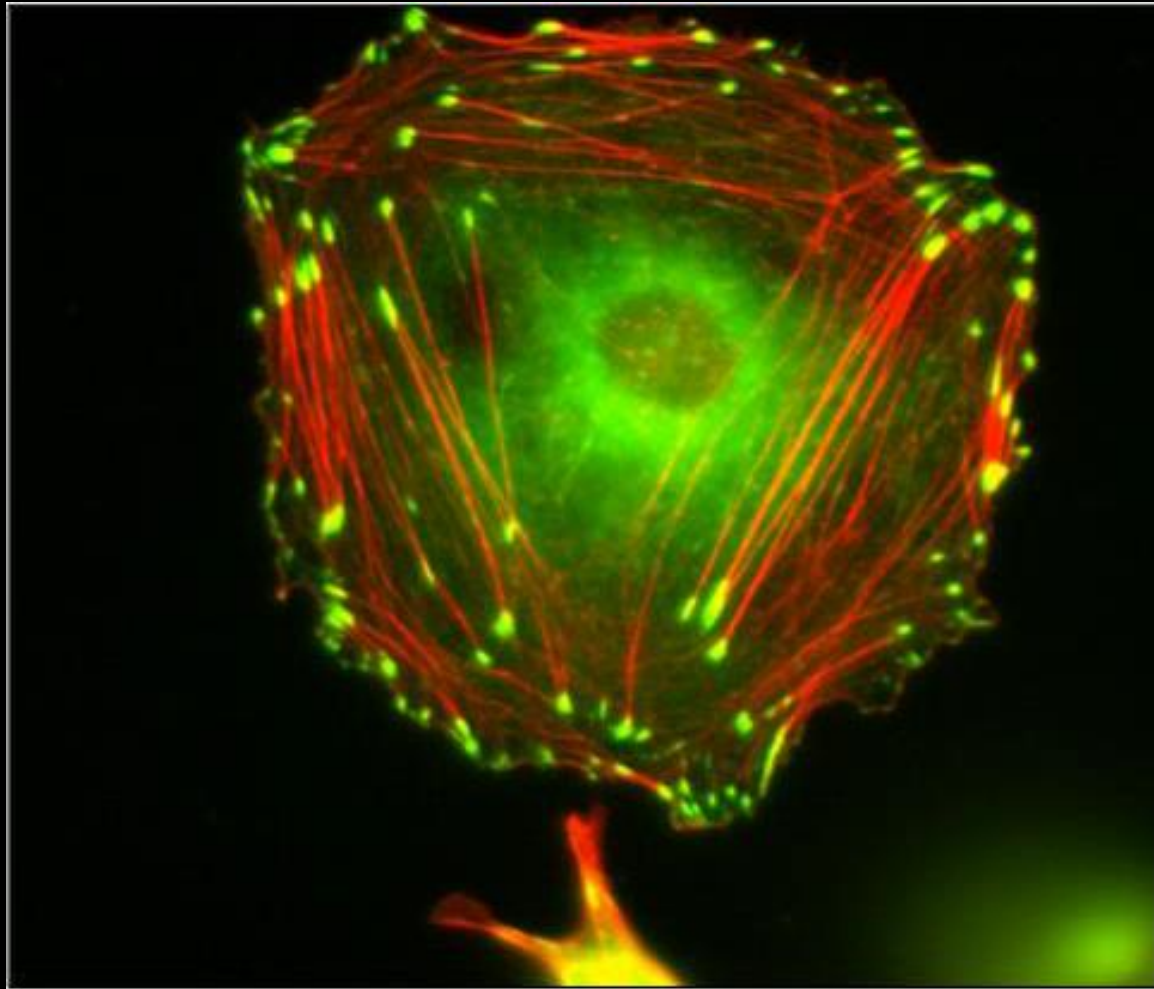


Fokální adheze ukotvují aktinová filamanta epiteliální buňky k bazální membráně (prostřednictvím integrinů)



Struktura fokálních adhezí



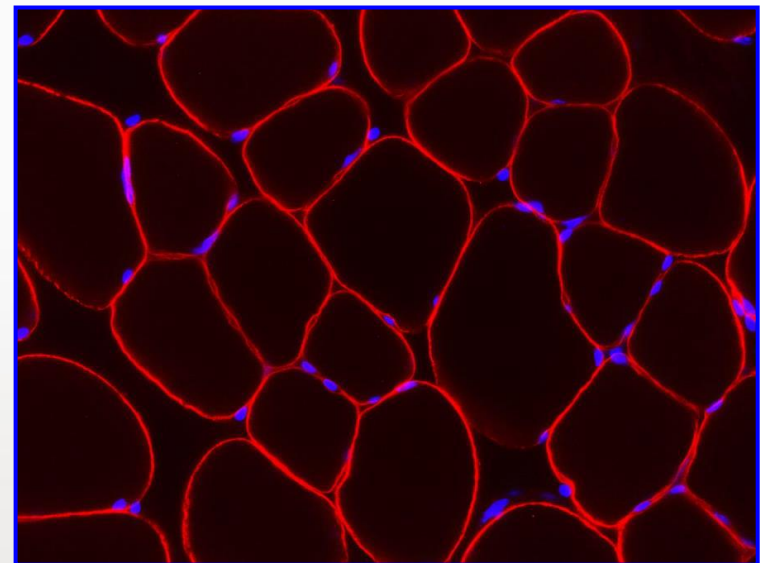
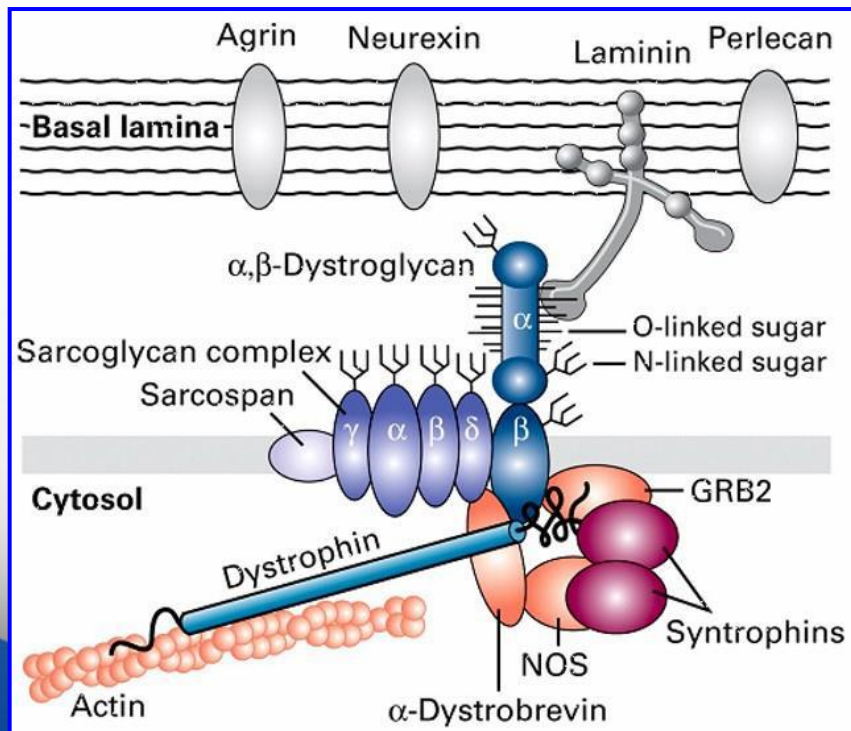


fokální adheze (vinculin) / F-aktin



Muskulární dystrofie

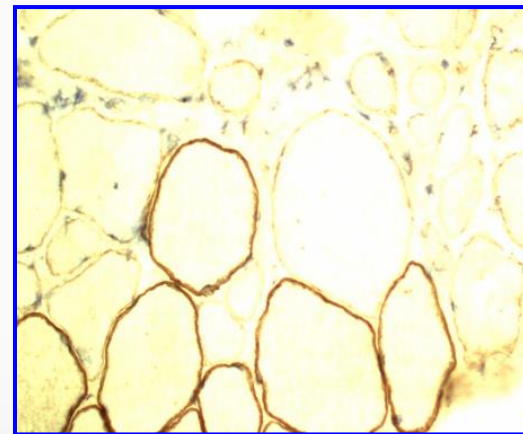
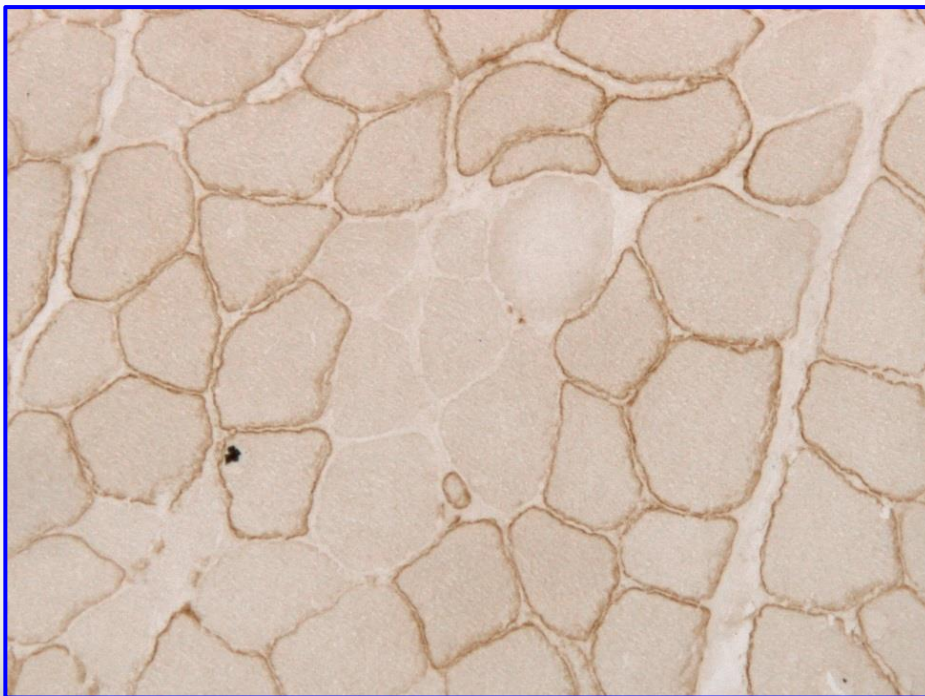
- genetické poruchy interakcí mezi aktinem a ECM
- Duchenova, Beckerova MD
- **mutace v genu pro dystrofin** (interakce aktin – dystroglycan)



dystrofin / DAPI
(normální exprese)



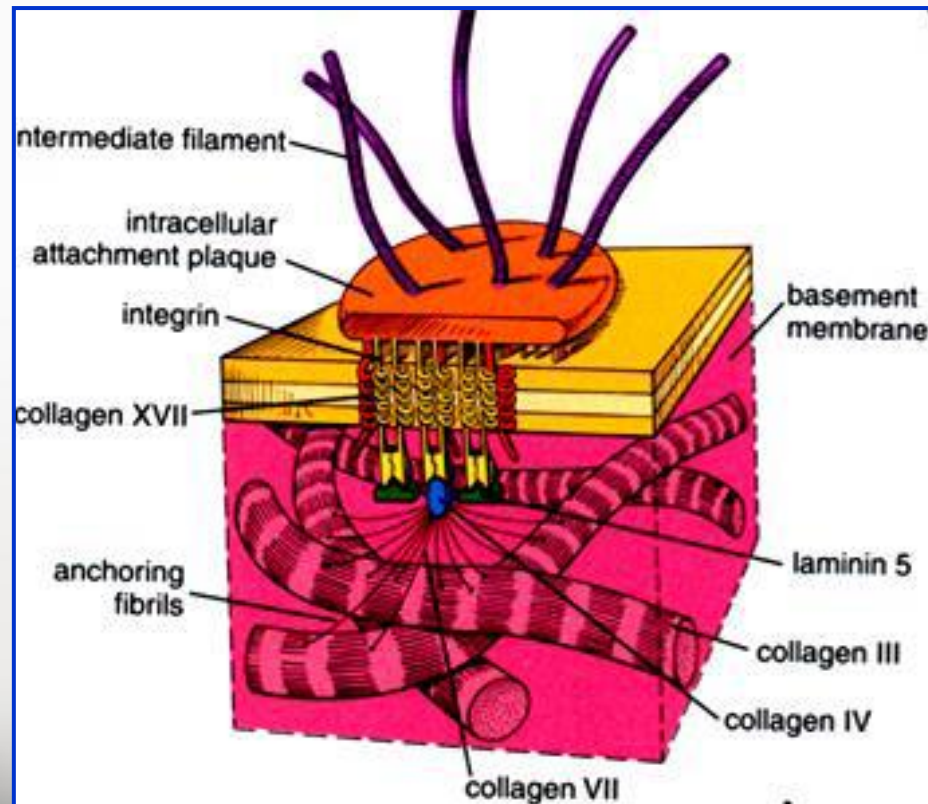
Imunohistochemický obraz **dystrofinopatie** (svalová tkáň)



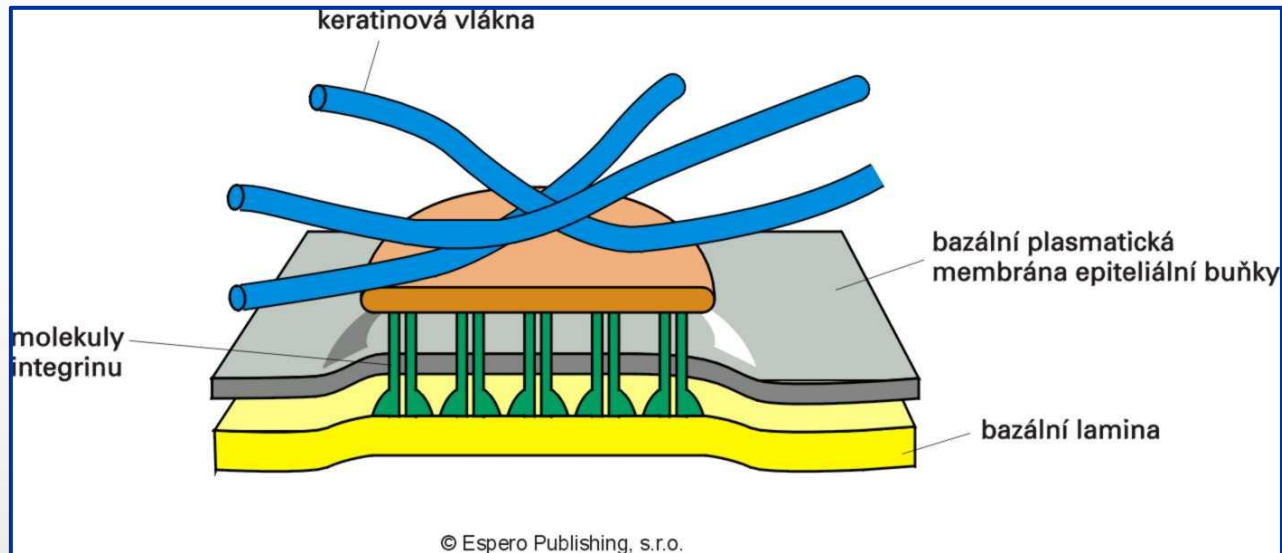
dystrofin

Hemidesmosomy

- připojení **intermediárních filament (IF)** epiteliálních buněk k bazální lamině prostřednictvím CAMs (**integriny**)

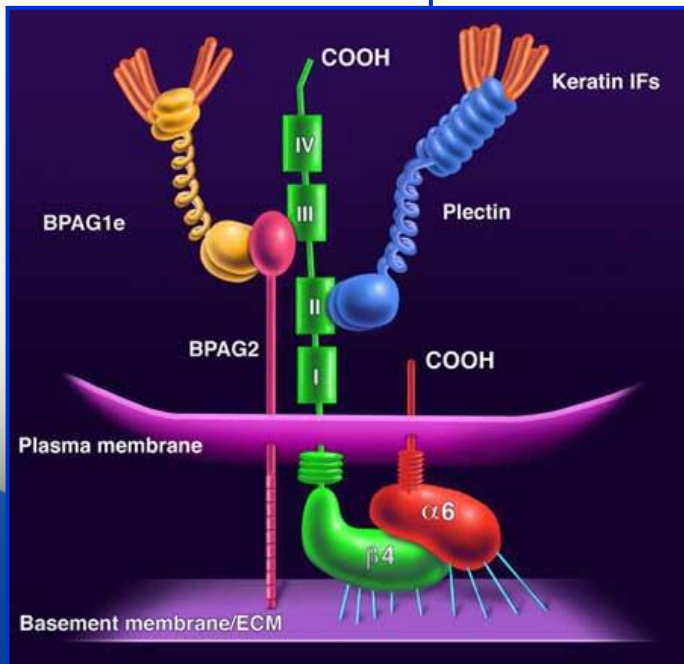
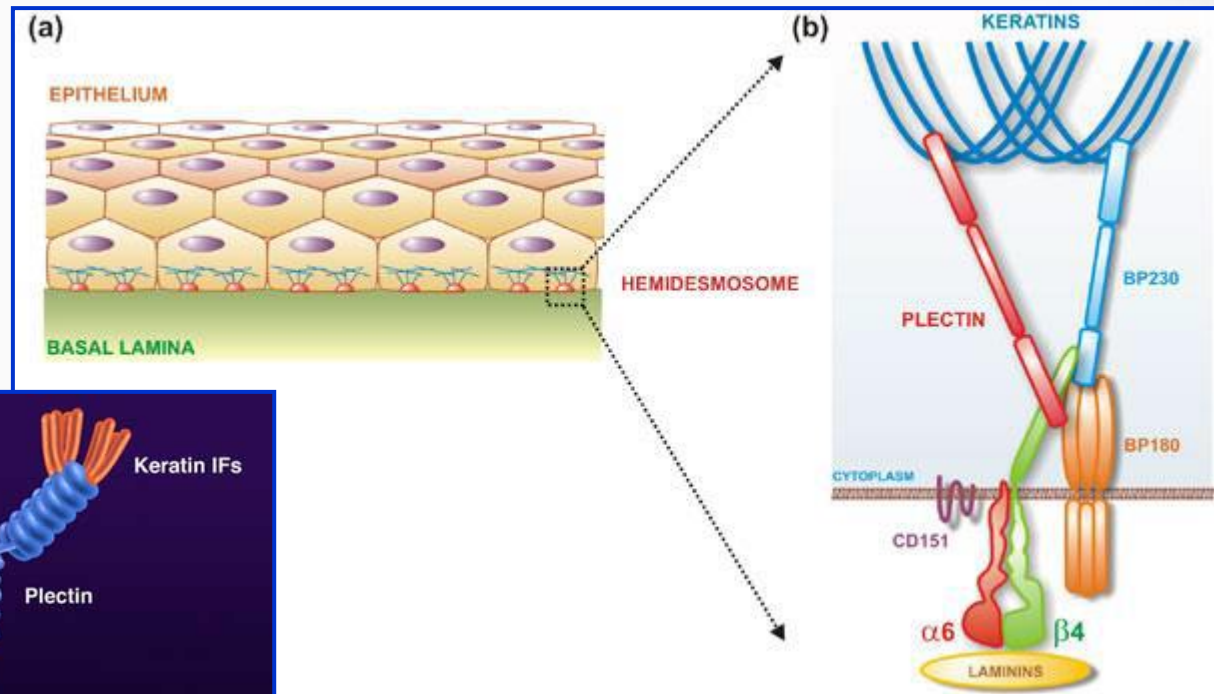


Hemidesmosom ukotvuje **intermediární filamenta** epiteliální buňky k bazální membráně (prostřednictvím integrinů)



Hemidesmosomy v epitelech

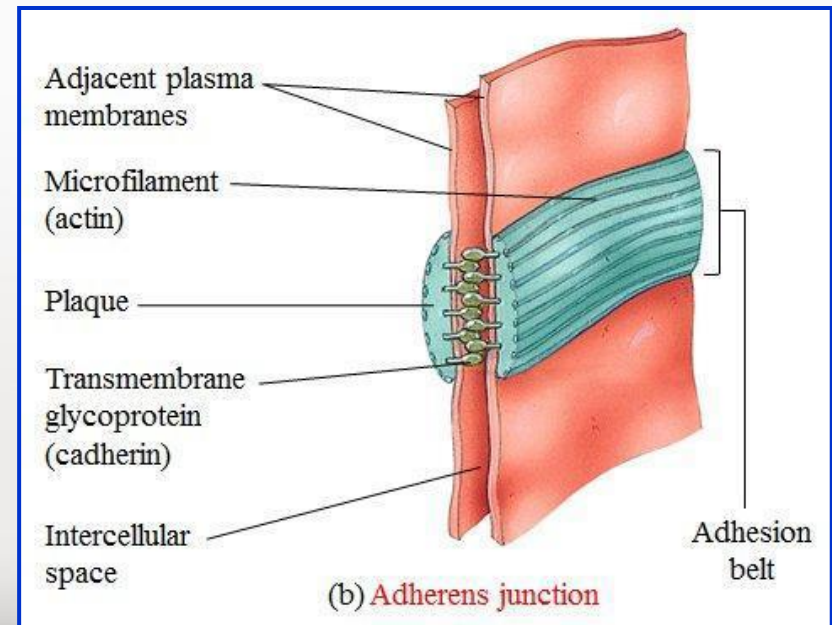
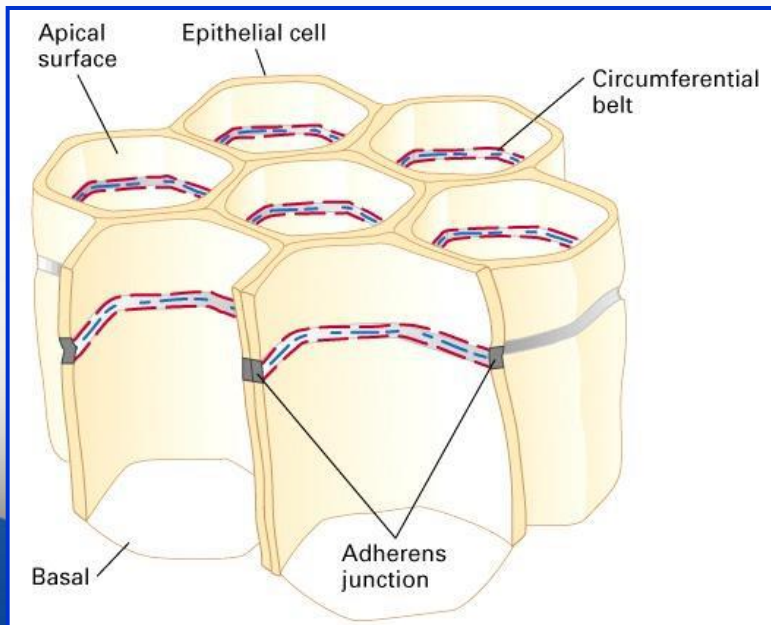
- Integrin $\alpha6\beta4$ (CAM) \rightarrow plectin \rightarrow cytokeratin (IF)



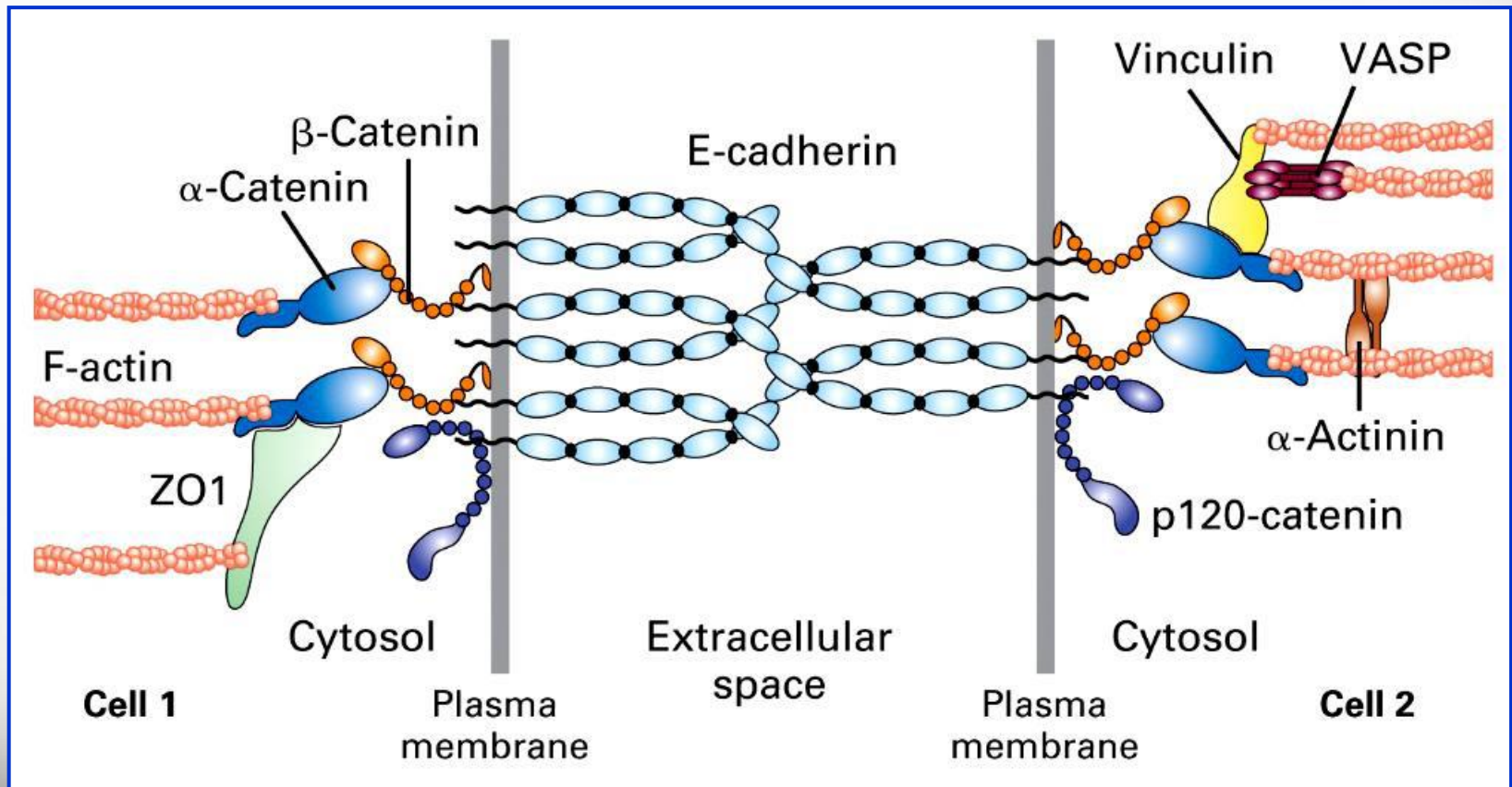
Buněčné adheze (cell adhesions)

Adhezní pásy (adhesion belts)

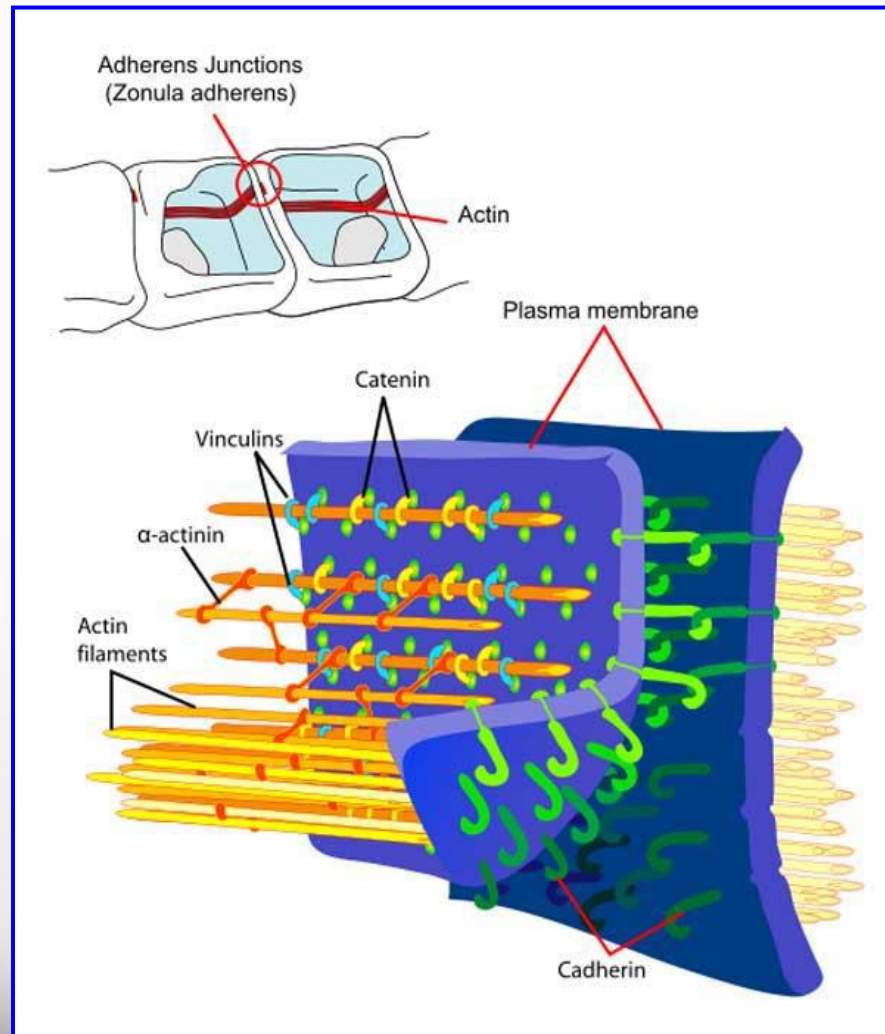
- vazba na **aktinová filamenta** (AF) → propojení AF v sousedních buňkách prostřednictvím CAMs
- **kadherin** - β -**katenin** - α -**katenin** – AF
- místa lokalizace: **cytoplazmatické plaky** (vnitřní strana plazmatické membrány)



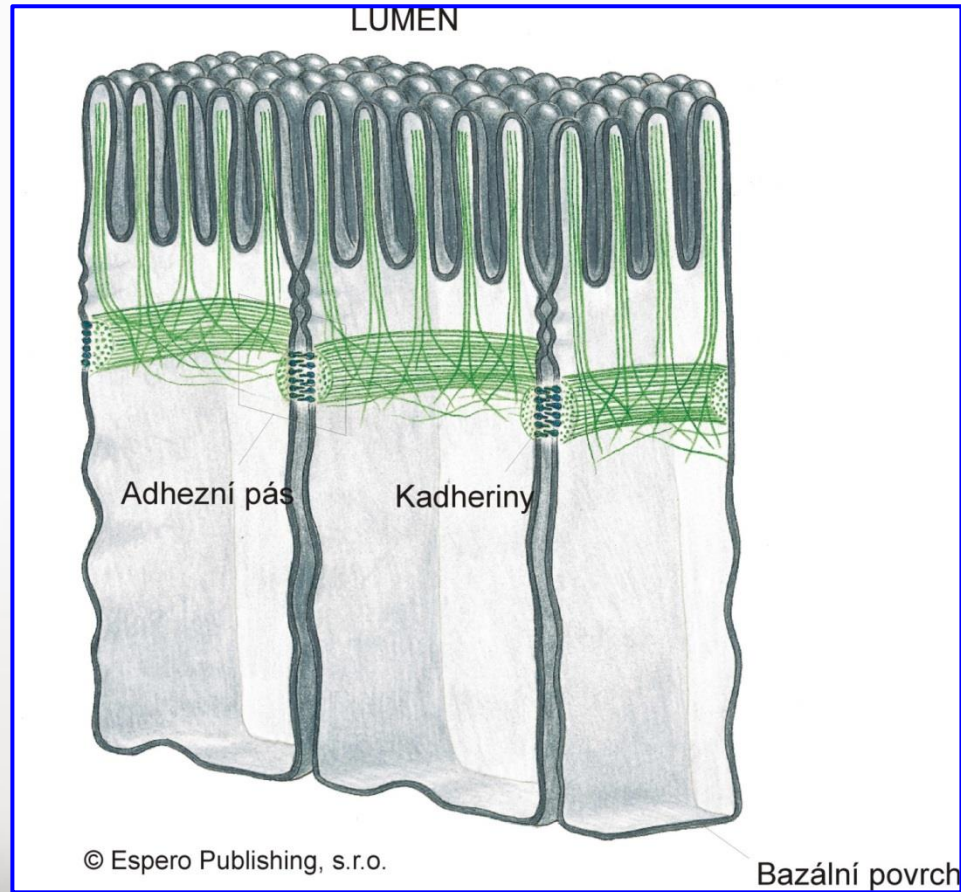
Adhezní pásy

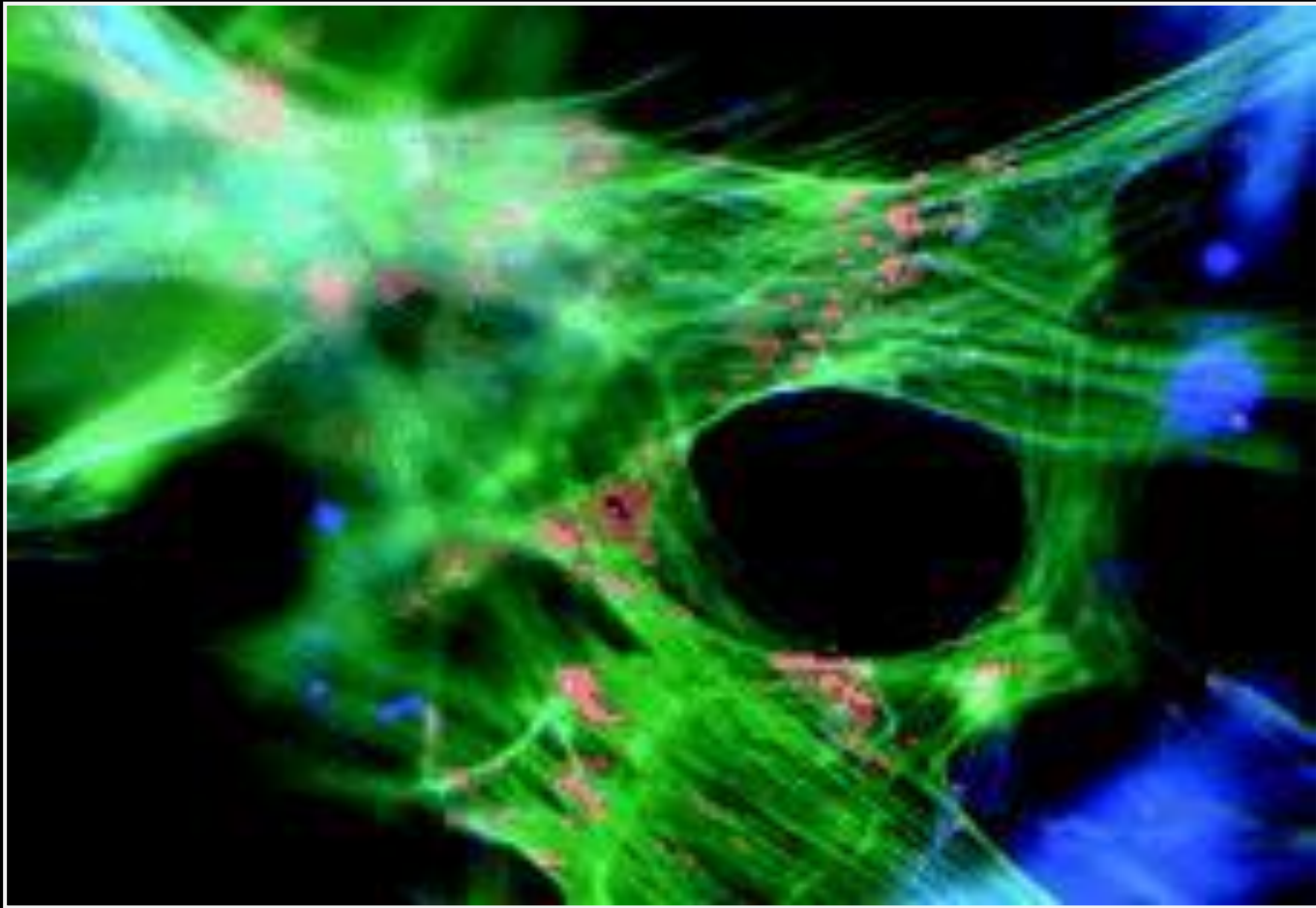


Adhezní pásy



Adhezní pásy epiteliálních buněk tenkého střeva

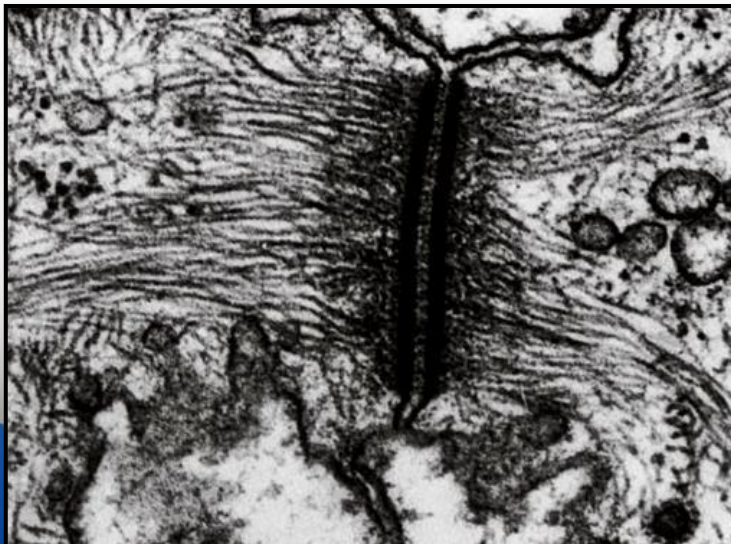




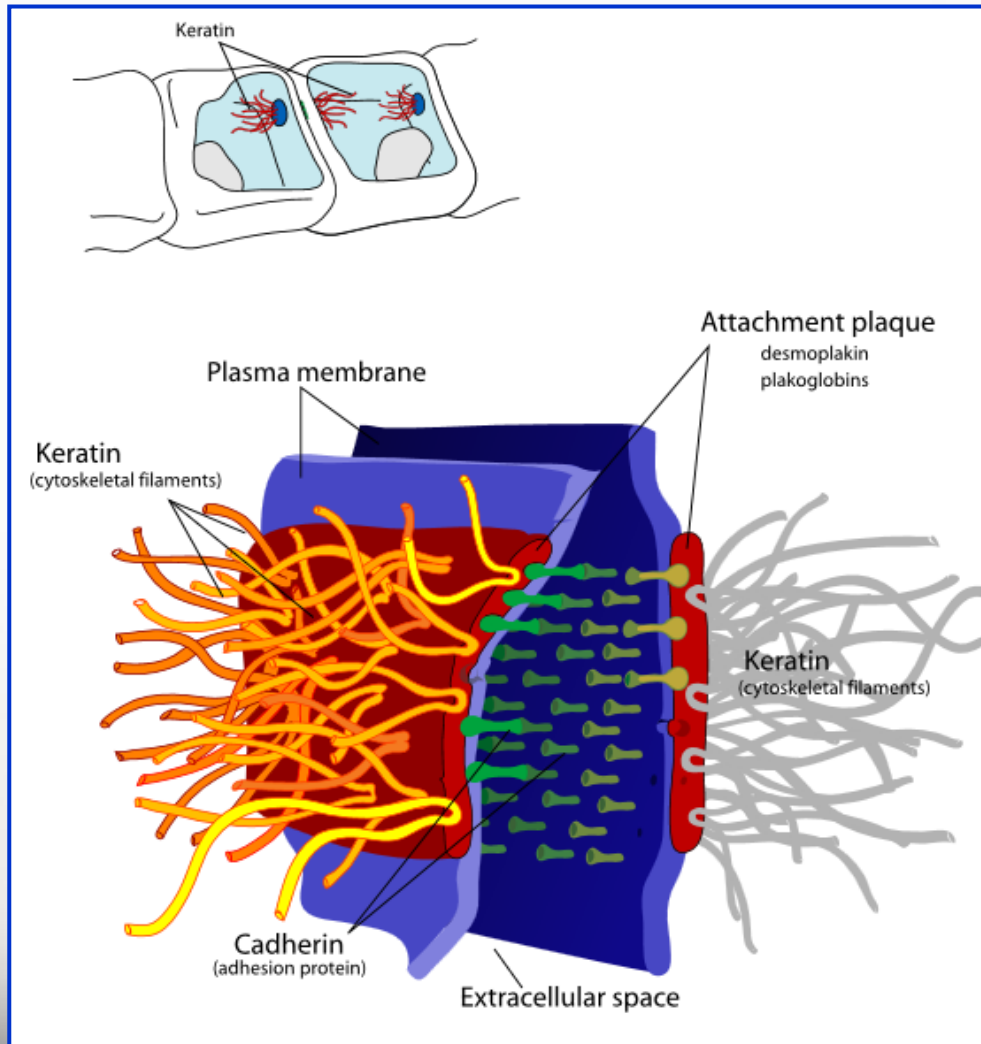
aktin / β -katenin

Desmosomy

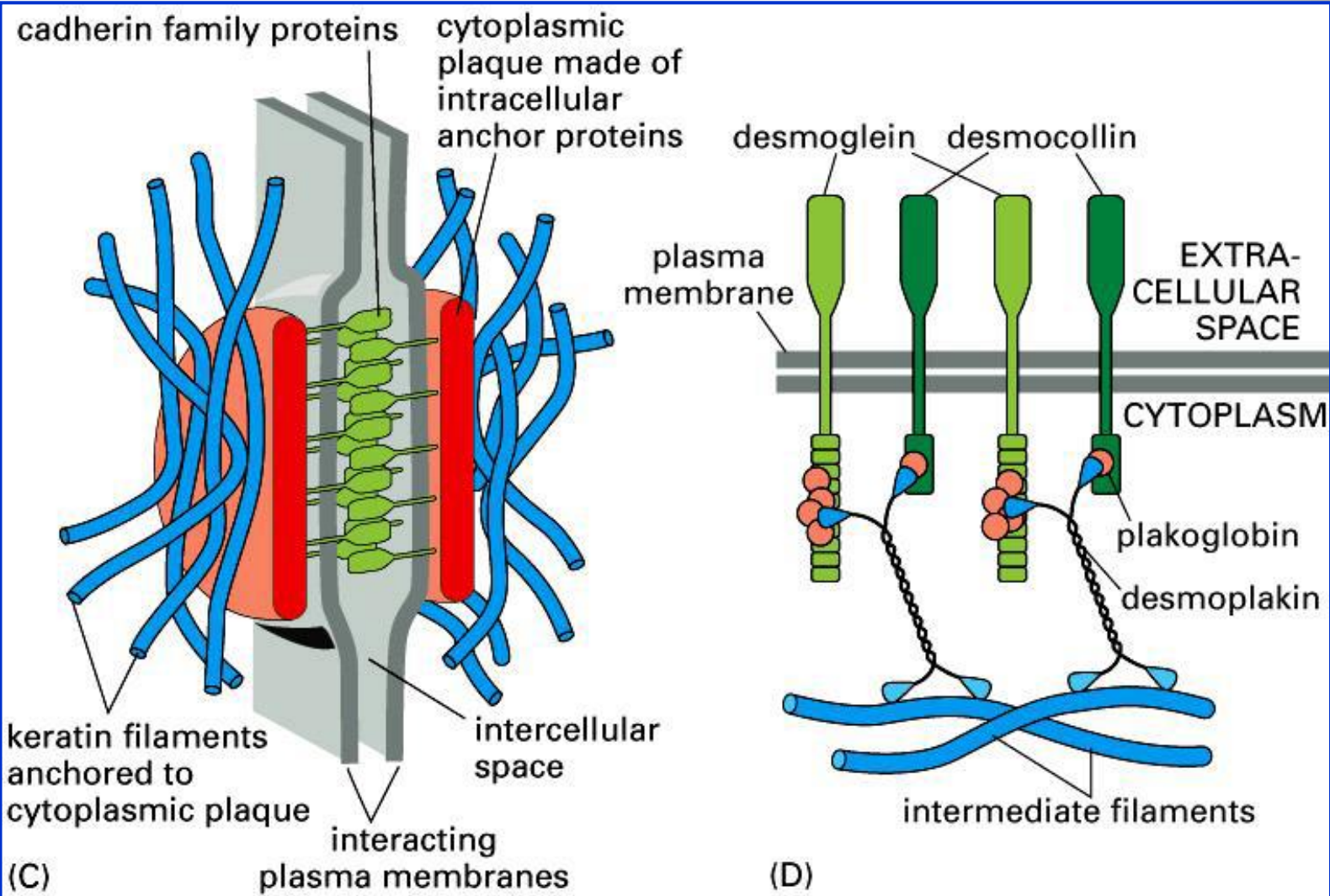
- vazba na **intermediární filamena (IF)** → propojení IF v sousedních buňkách prostřednictvím CAMs
- **kadheriny (desmoglein, desmocollin) – plakoglobin, plakofilin – desmoplakin – IF**
- místa lokalizace: **cytoplazmatické plaky** (vnitřní strana plazmatické membrány)



Desmosomy



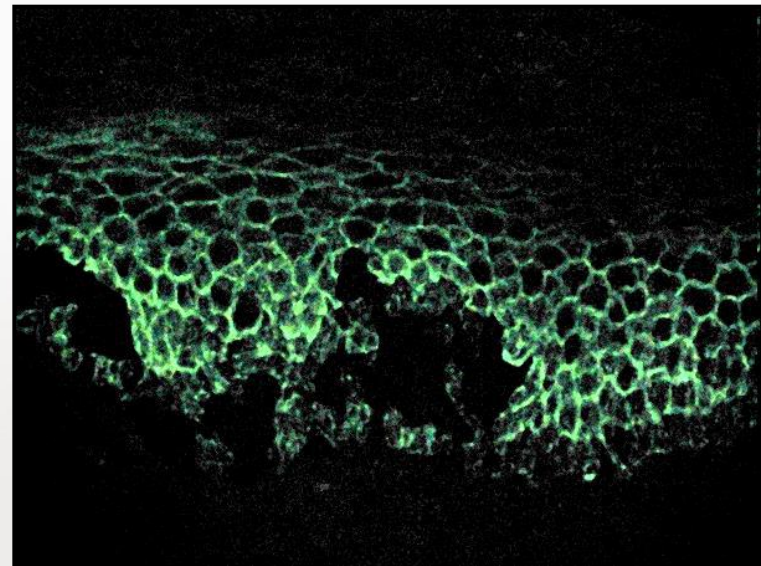
Desmosomy





Pemphigus vulgaris

- autoimunitní onemocnění kůže a sliznic
- syntéza protilátek proti **desmogleinu 1 a 3**
- poruchy adhezivních vlastností epitelů → tvorba puchýřů
- léčba kortikoidy

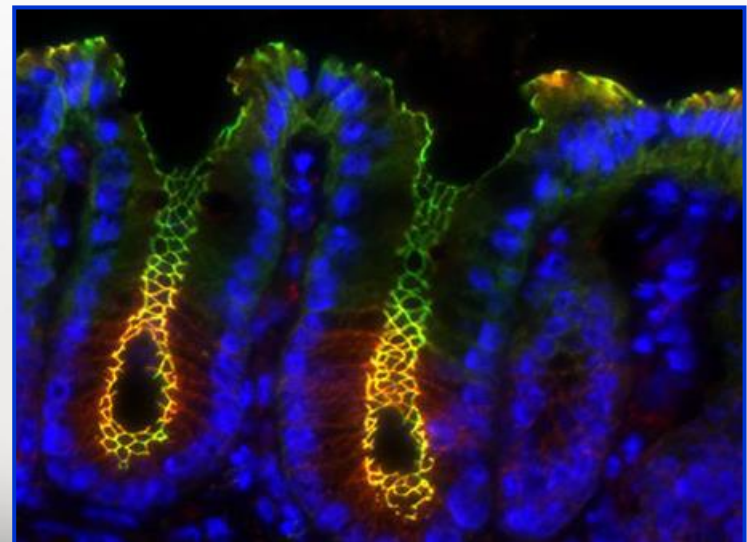
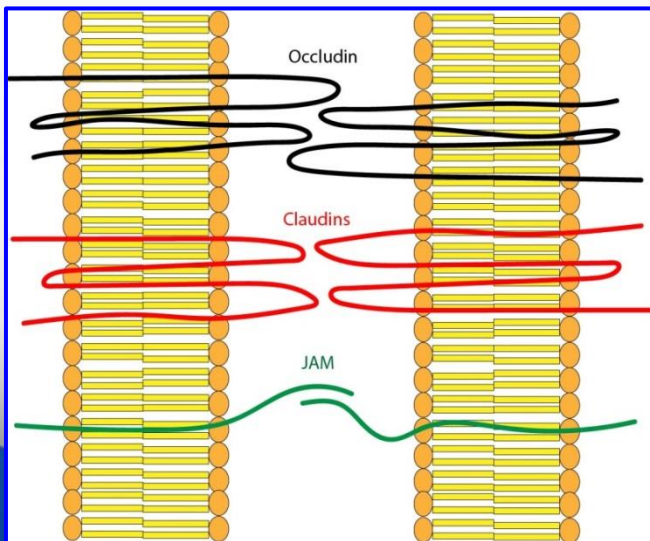


nakupení autoprotilátek IgG v oblasti desmozomů

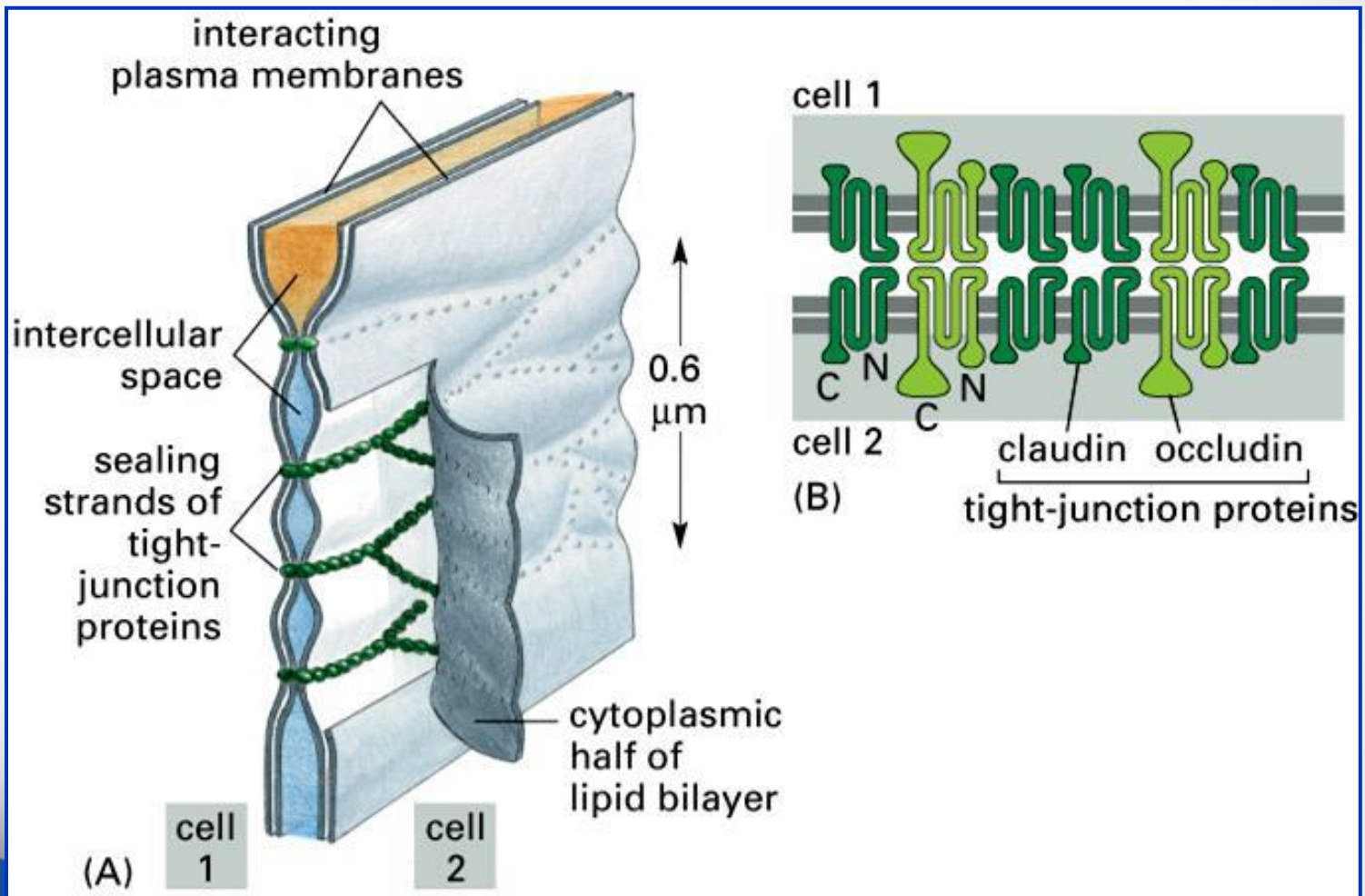
Buněčné spoje (cell junctions)

Těsné spoje (tight junctions)

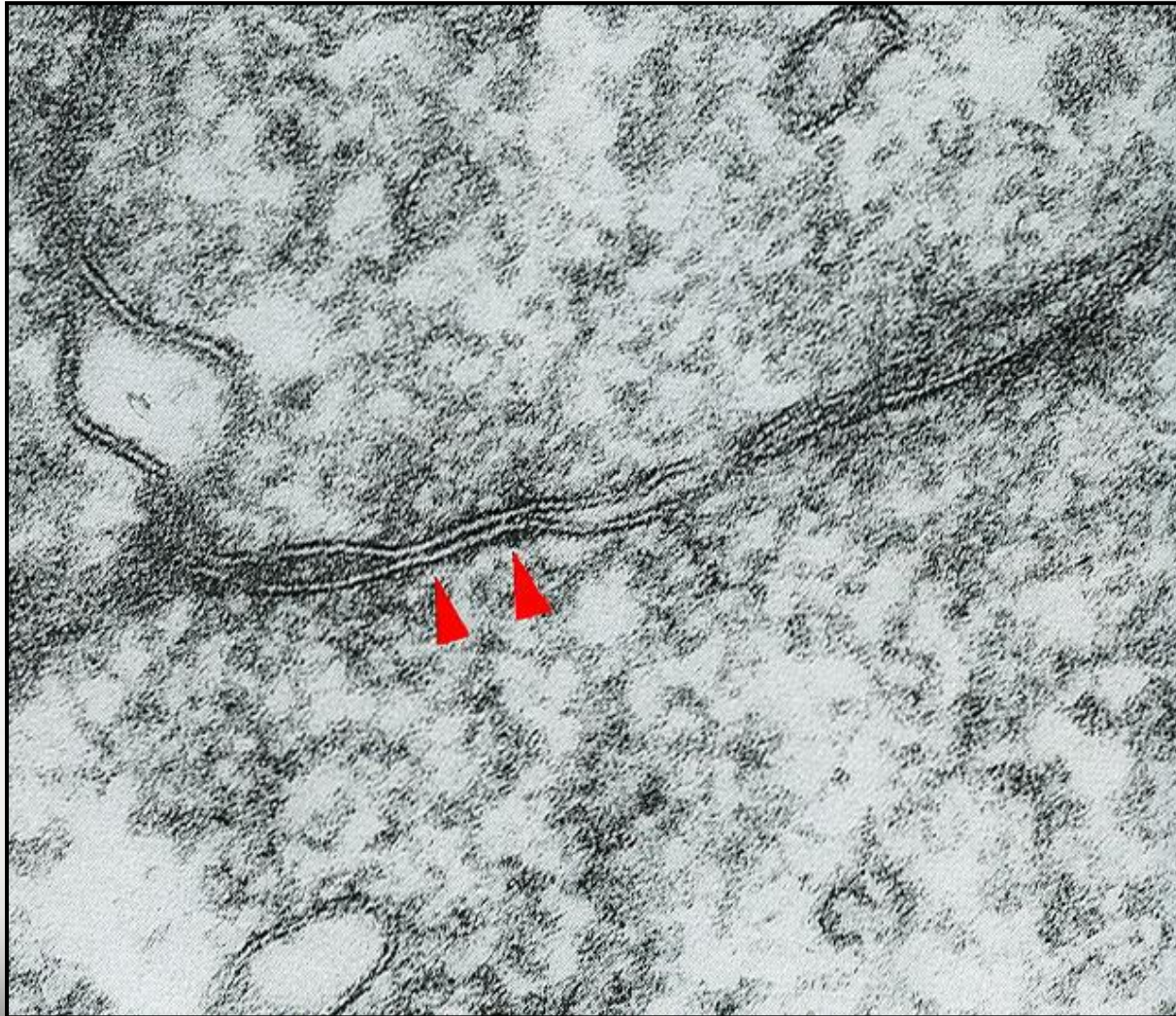
- spojení sousedních buněk v epitelu, obvykle v blízkosti apikální strany
- účelem zabránit průchodu molekul mezi buňkami (bariера proti difuzi)
- **claudiny**, **occludin**, **JAMs** (junction adhesion molecules – patří do superrodiny ICAMs)



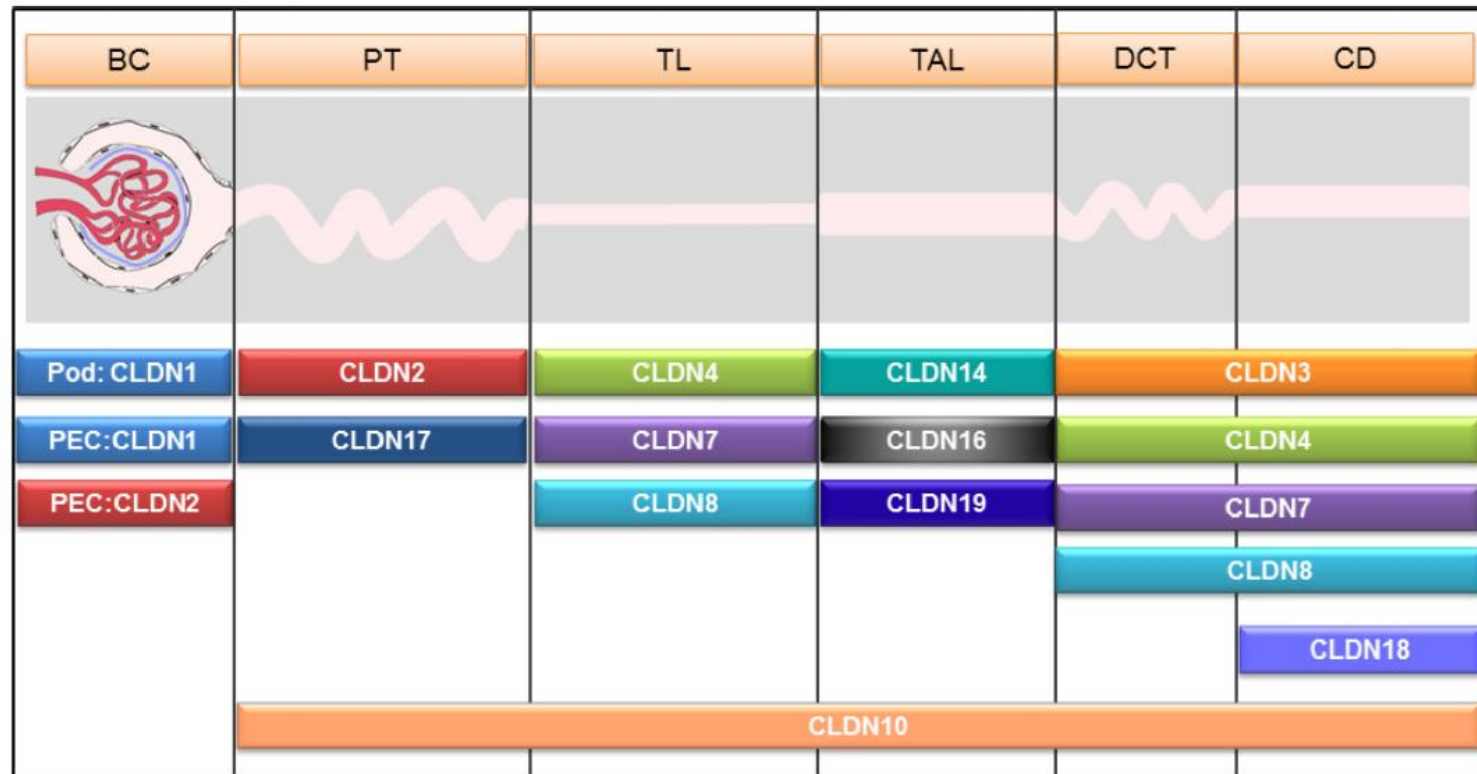
Těsné spoje



Těsné spoje mezi buňkami trofoblastu



Profil exprese claudinů podél nefronů v ledvinách



- exprese různých claudinů v různých částech nefronu je zřejmě odrazem specifických transportních funkcí jednotlivých úseků nefronu

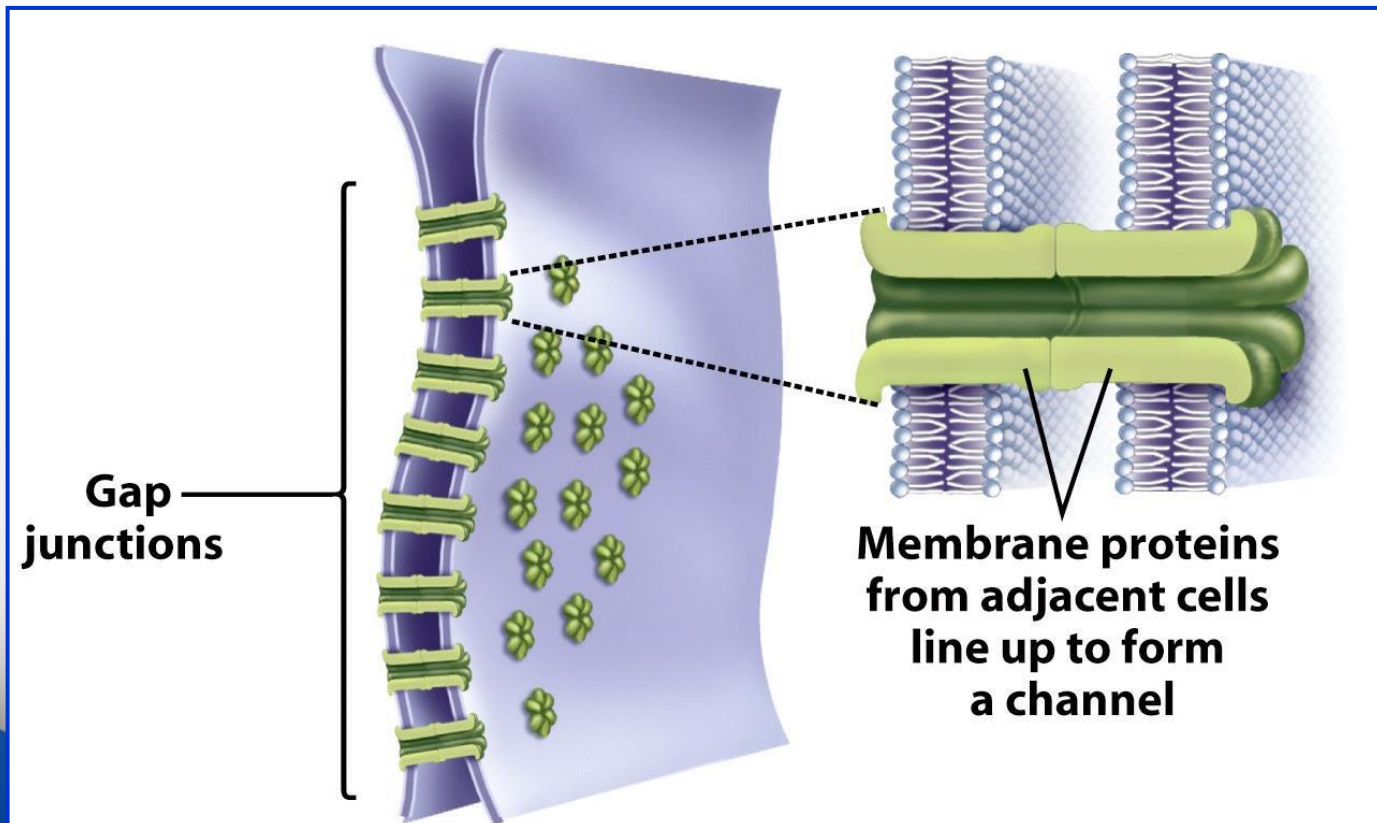


Hypomagnesemie (dědičná varianta)

- mutace v genu kódujícím **claudin 16** (3q27)
 - **porucha transportu hořčíku**
 - hladina Mg^{2+} v séru regulována ledvinami (reabsorbce v proximálním tubulu)
 - nízká hladina Mg^{2+} v krvi → křeče
 - identifikováno 15 různých mutací *CLDN16*
-
- recesivní mutace claudinu 19: spojeny s poruchou transportu Mg^{2+} a Ca^{2+}
 - claudin 14: Ca^{2+}
 - claudiny 4 a 8: Cl^- , Na^+

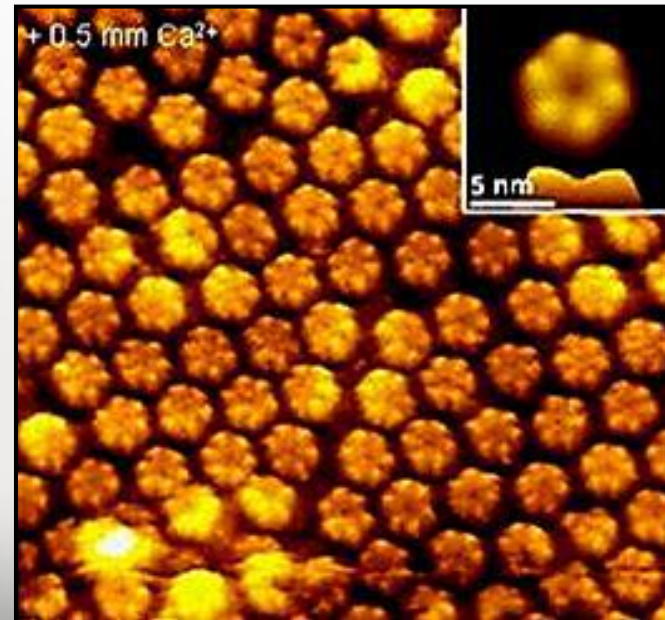
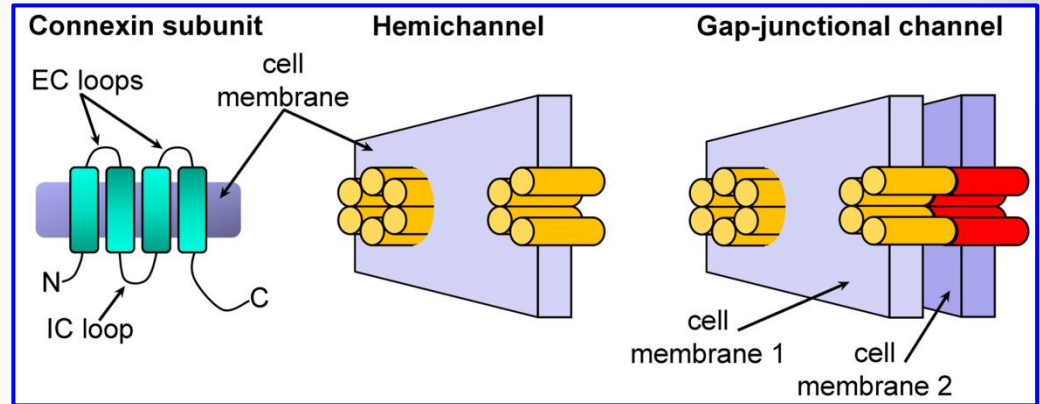
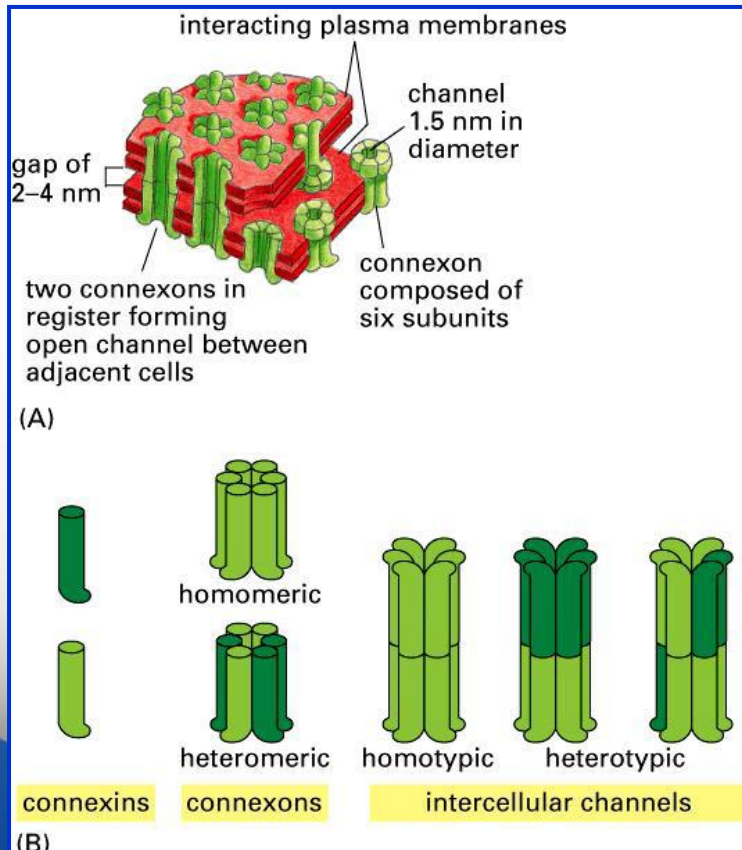
Mezerové spoje (gap junctions)

- spoje mezi buňkami umožňují průchod vody a malých rozpustných molekul = „kanálky“ o průměru 1,5 nm



Stavba mezerových spojů

- **konexin** (6 molekul) → konexon (homomerní nebo heteromerní)



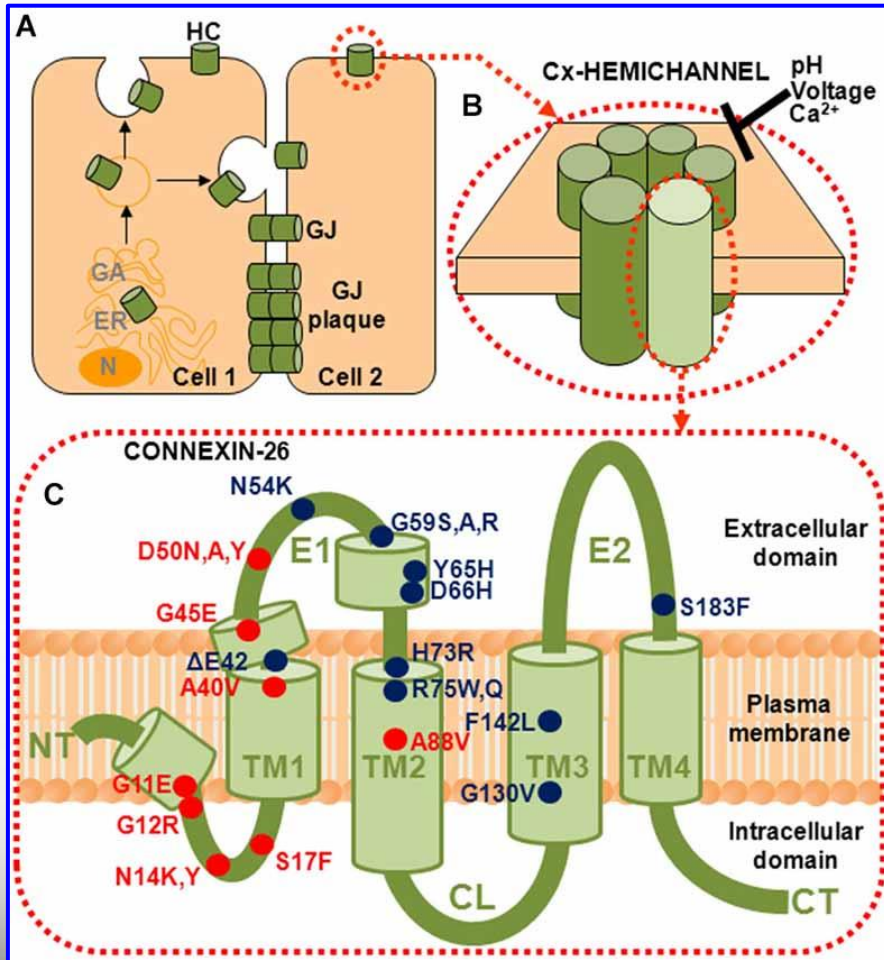


Onemocnění způsobená mutacemi v genech pro konexiny

- mutace (ztráta funkce, získání funkce) v deseti různých (> 20) genech pro konexiny způsobují více než 28 různých onemocnění
- široké spektrum postižení: onemocnění kůže, ztráta vlasů, hluchota, vývojová onemocnění, leukodystrofie, spastická paraplegie, lymfedémy, šedý zákal,...

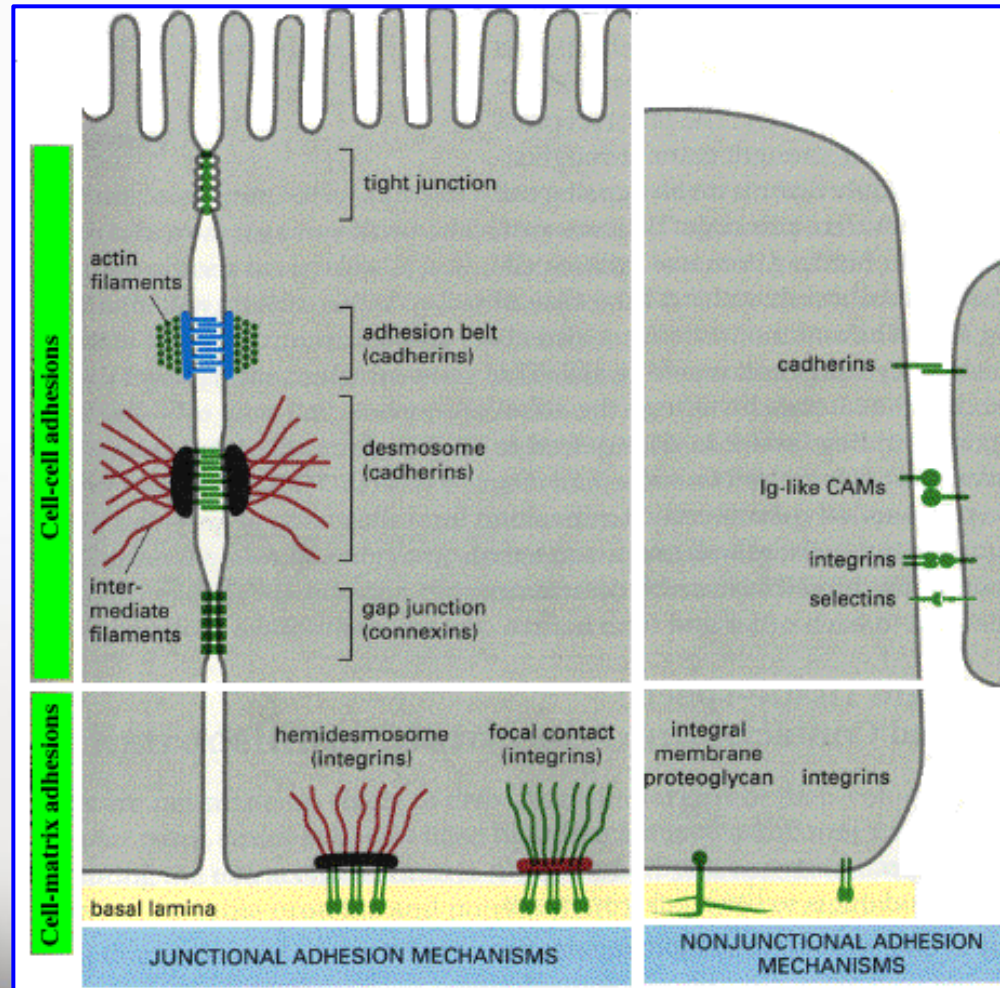


Mutace konexinu 26

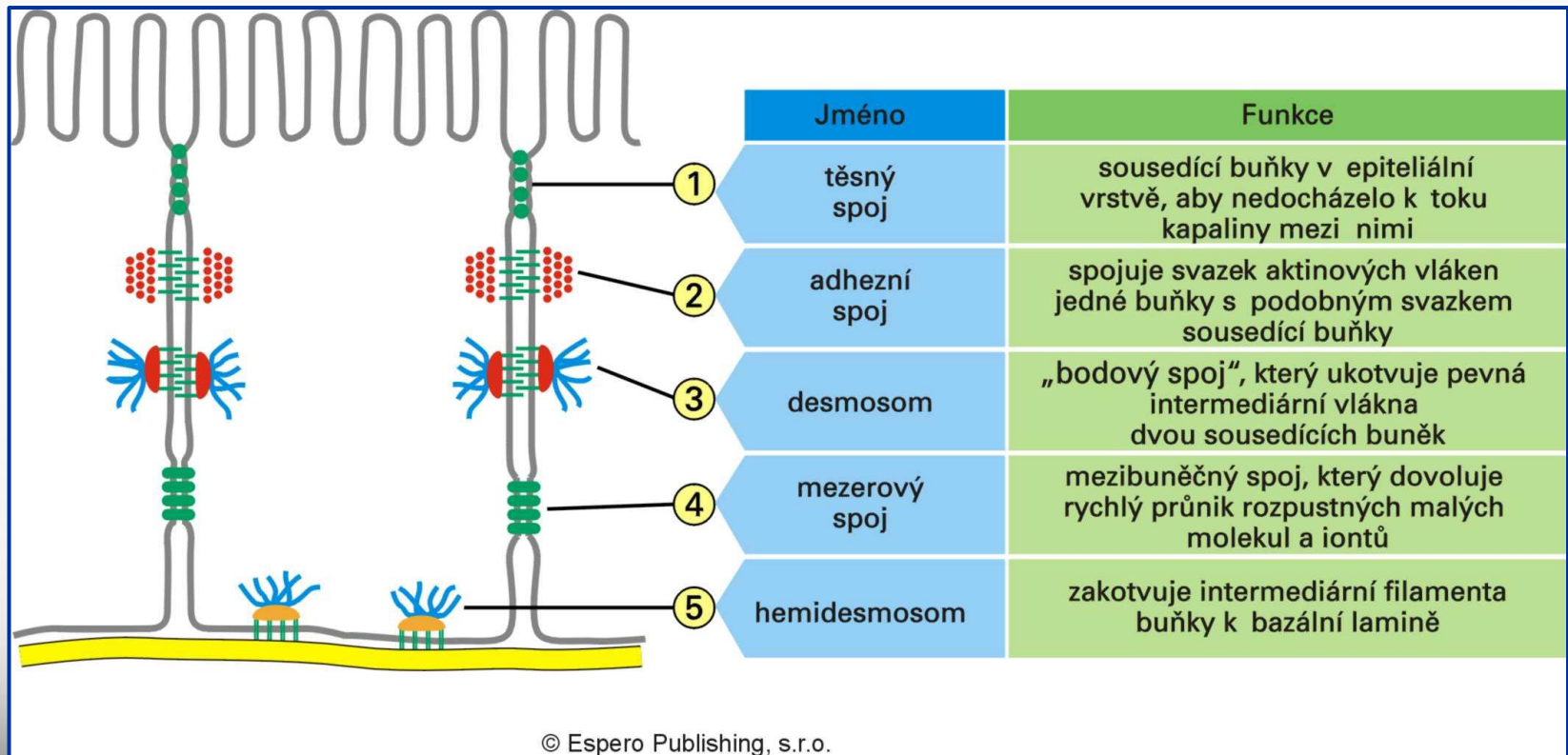


- pozice 18 mutací v molekule konexinu 26, které jsou spojeny s hluchotou (deafness) (**modře**) nebo syndromem KID (keratitis-ichthyosis-deafness) (**červeně**)

Hlavní typy mezibuněčných spojů v epitelech živočichů (shrnutí)



Hlavní typy mezibuněčných spojů v epitelech živočichů



(chybí fokální adheze)

Místo závěru...

