

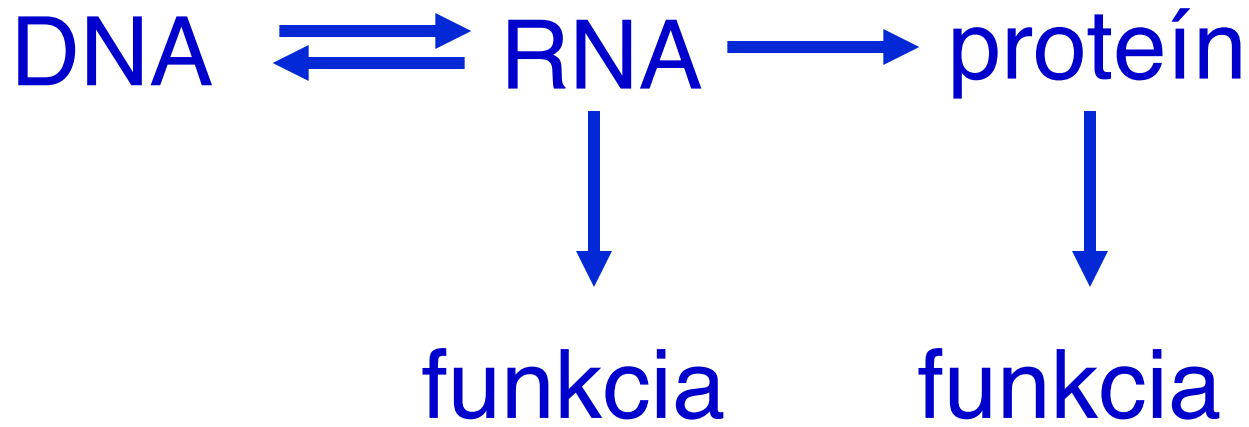
Bunková signalizácia

7.12.2017; Ľ. Tomáška, Katedra genetiky

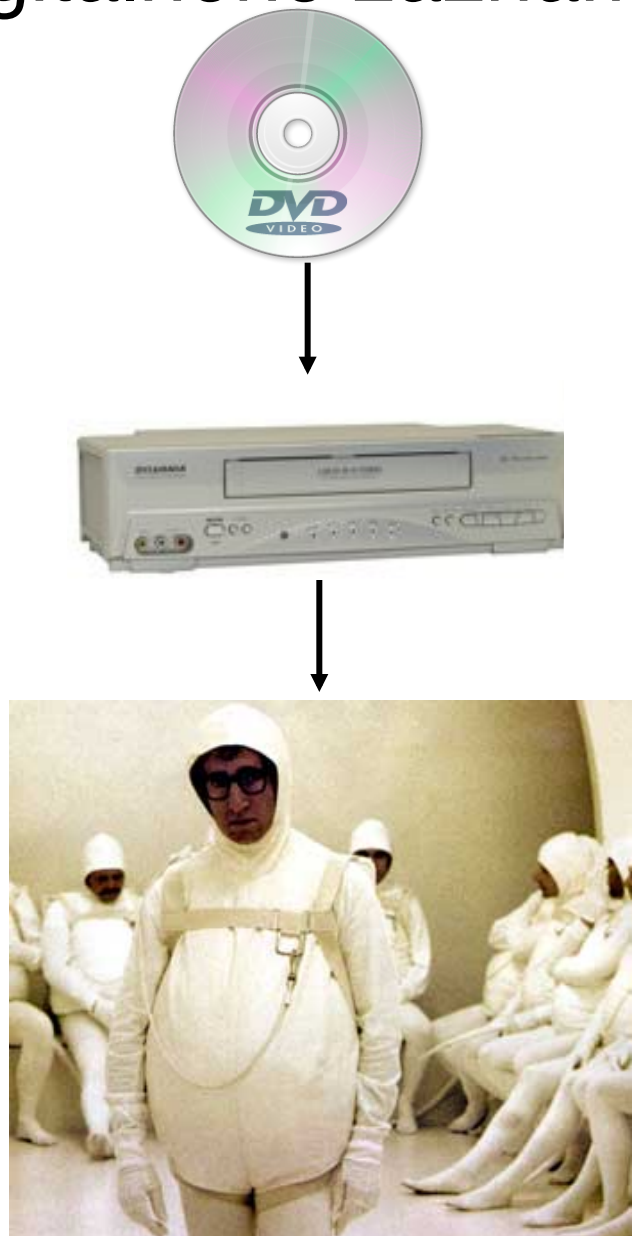
Campbell, N.A., Reece, J.B. (2006). Biologie.
Computer press a.s., str. 197-214.

<http://www.biocenter.sk/lt.html>
linka „Teaching“

Centrálne dogma molekulárnej biológie hovorí o smere prenosu genetickej informácie



Metaforou centrálnej dogmy je dekódovanie digitálneho záznamu



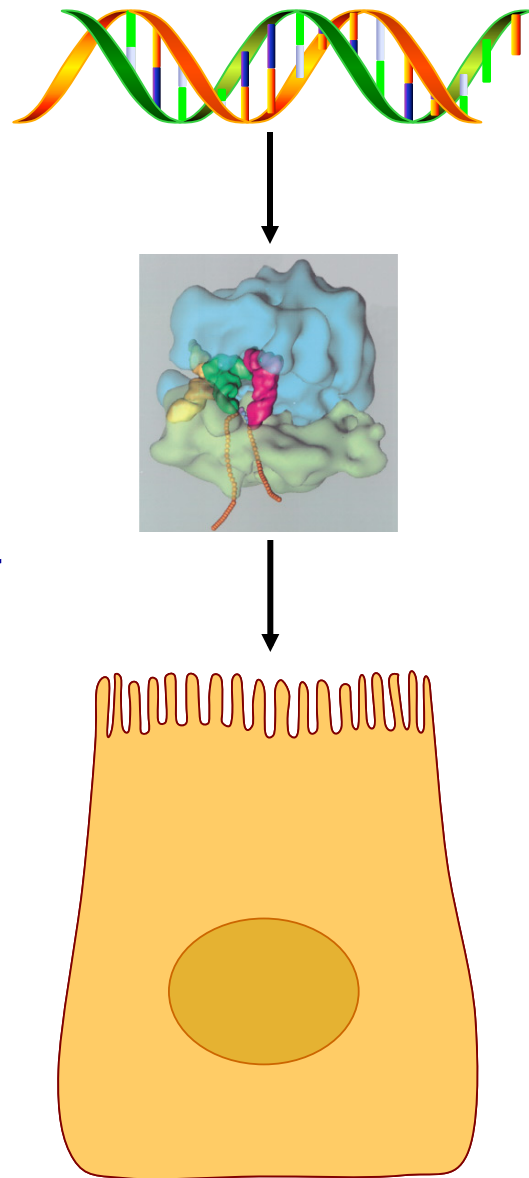
Kódovaná
inštrukcia

↓

Dekodér

↓

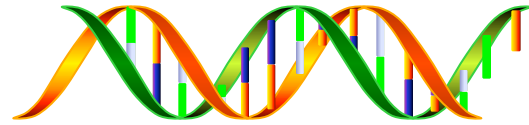
Interpretácia



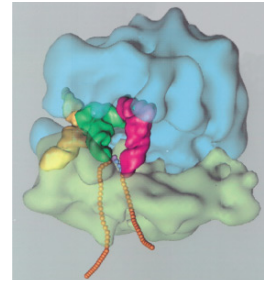
Táto metafora však nedokáže vysvetliť
„viacvýznamovosť“ genetickej informácie



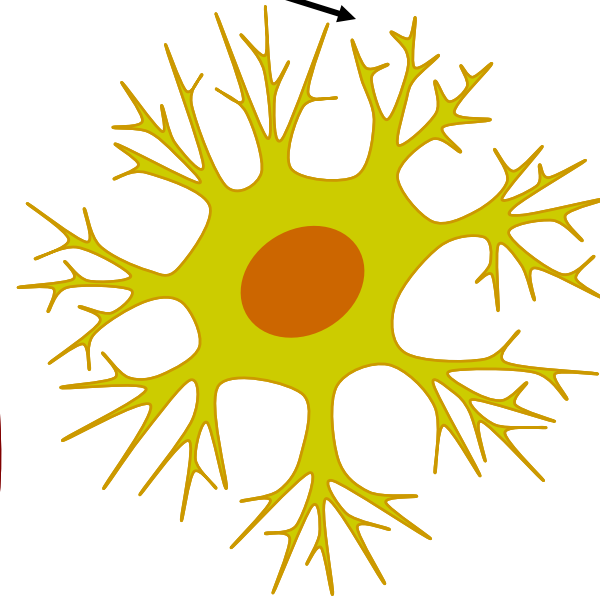
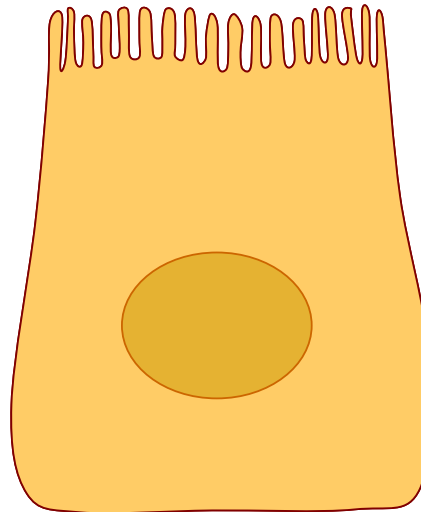
Kódovaná
inštrukcia



Dekodér

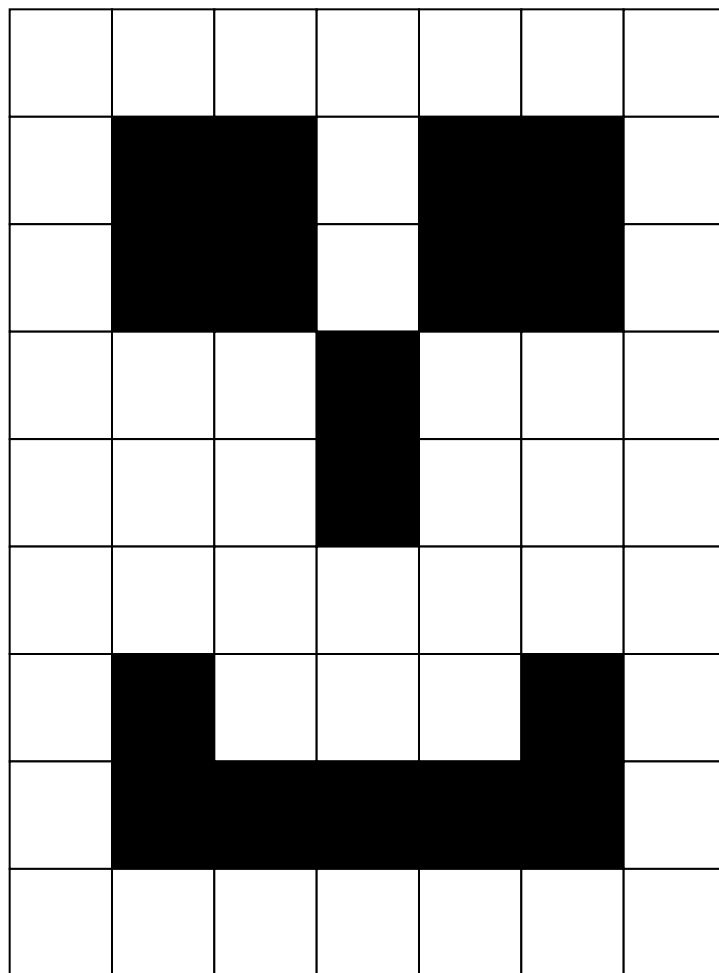


Interpretácia



Interpretácia kódovanej inštrukcie je závislá od kontextu

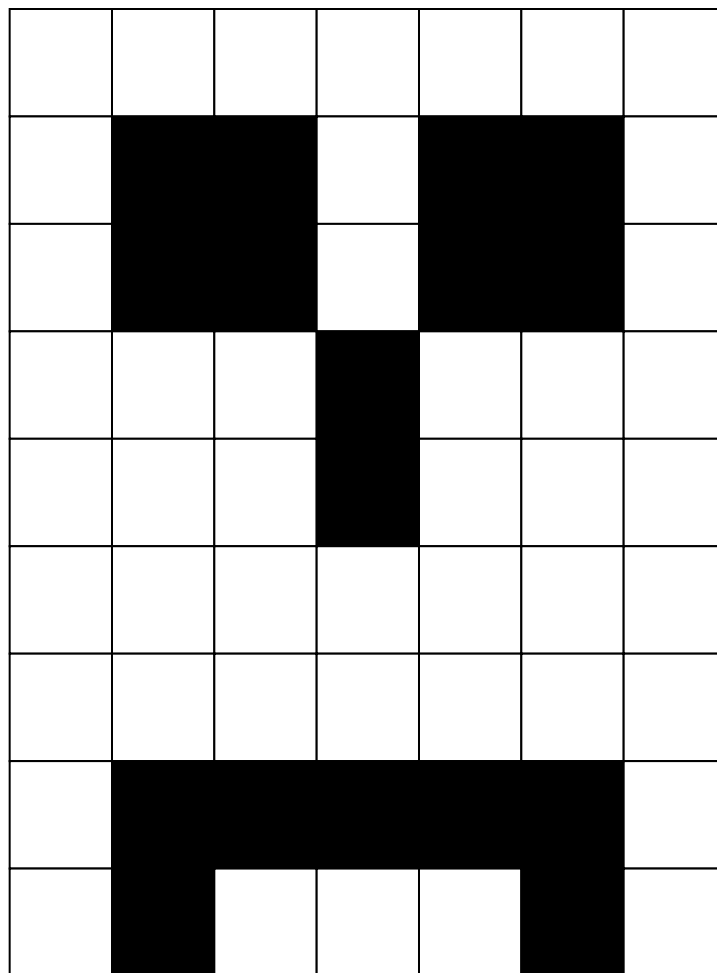
0000000011011001101100001000000100000000001000100111100000000



7x9

Interpretácia kódovanej inštrukcie je závislá od kontextu

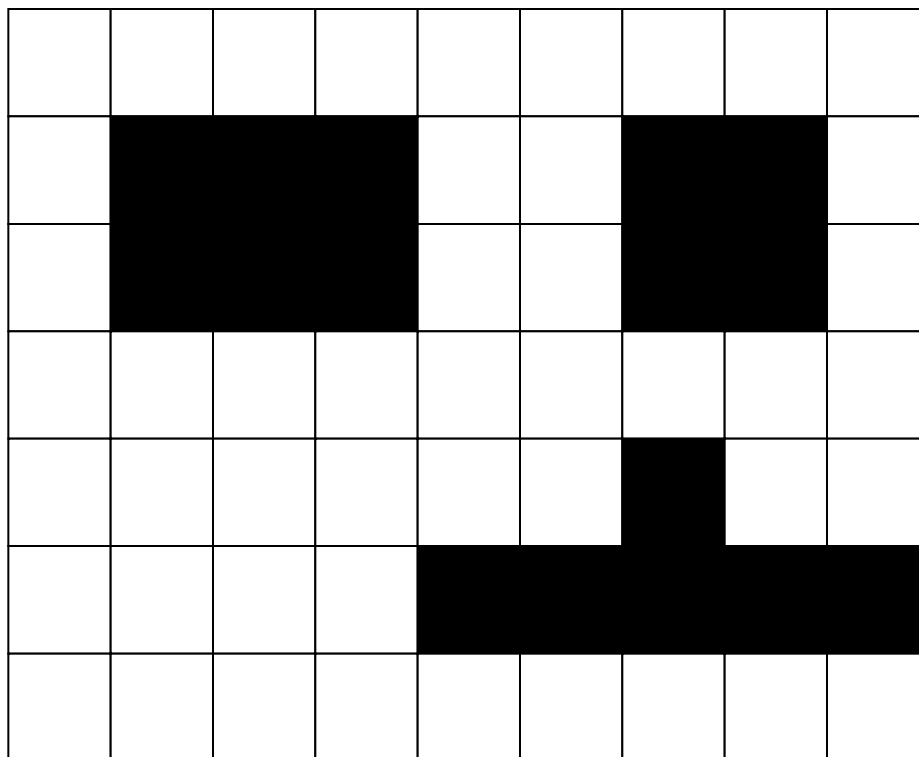
00000000110110011011000010000001000000000000000000000001111100100010



7x9

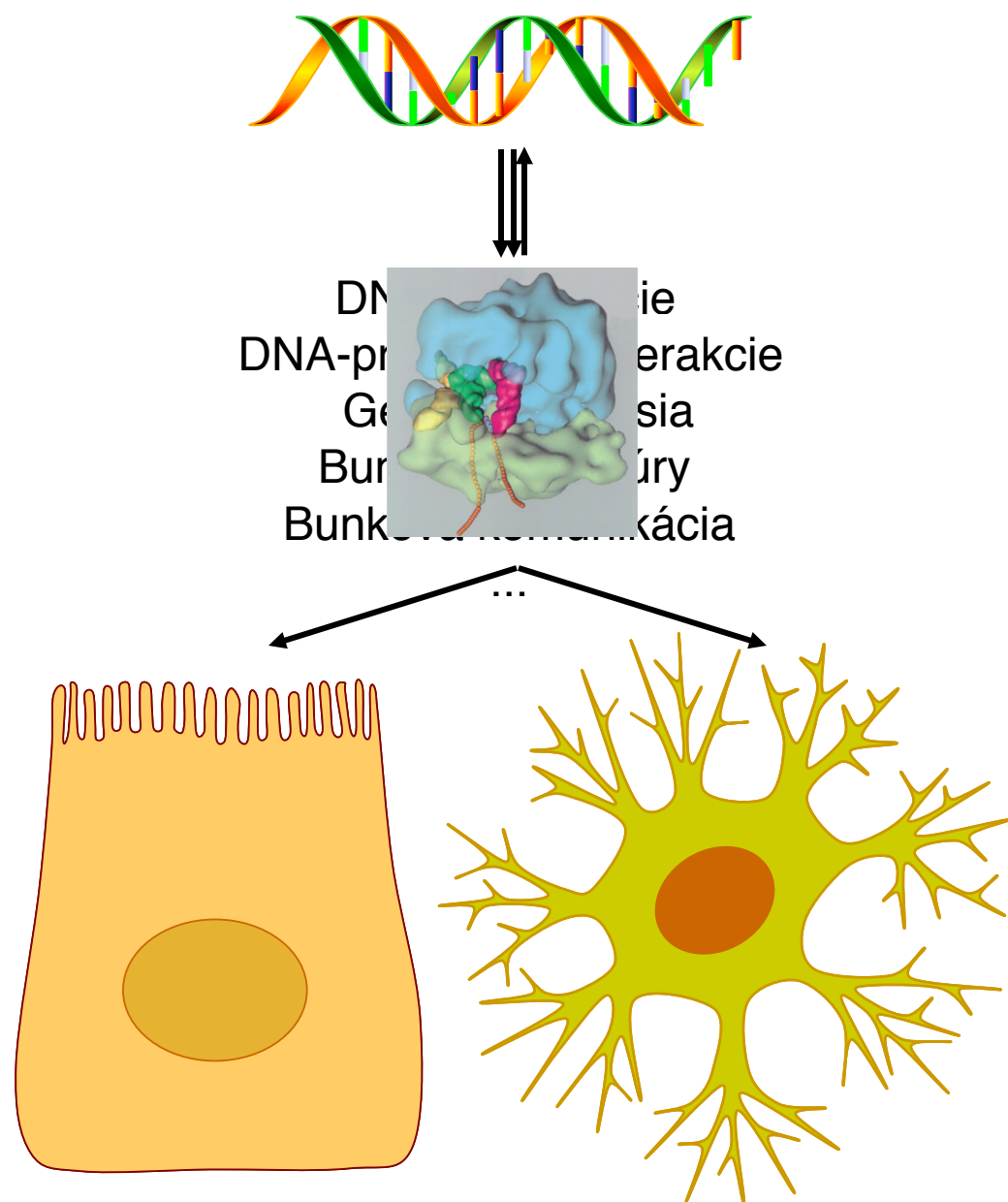
Interpretácia kódovanej inštrukcie je závislá od kontextu

000000001101100110110000100000010000000000010001001111100000000

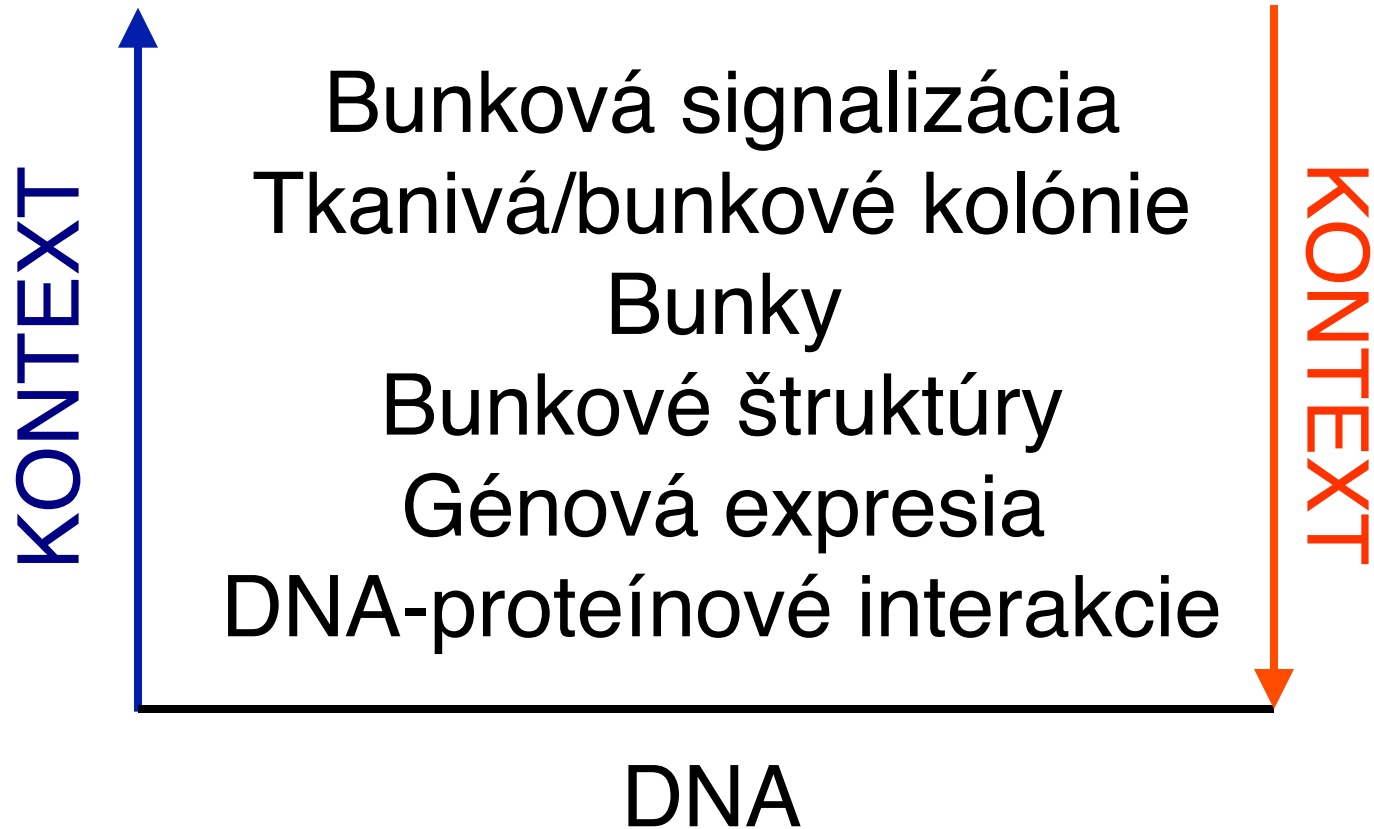


9x7

Interpretácia kódovanej inštrukcie je závislá od kontextu



Bunková signalizácia je dôležitou úrovňou interpretácie genetickej informácie



Bunky sú pod neustálym vplyvom rôznych signálov



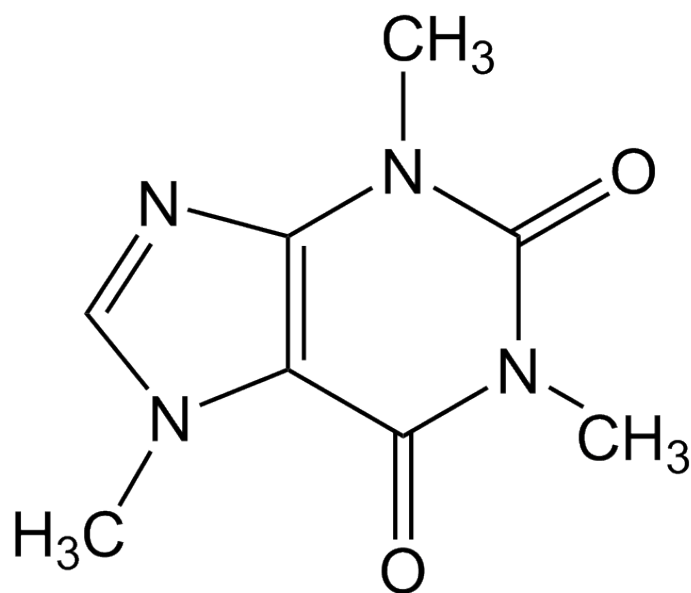
Zdrojom týchto signálov je často vonkajšie prostredie



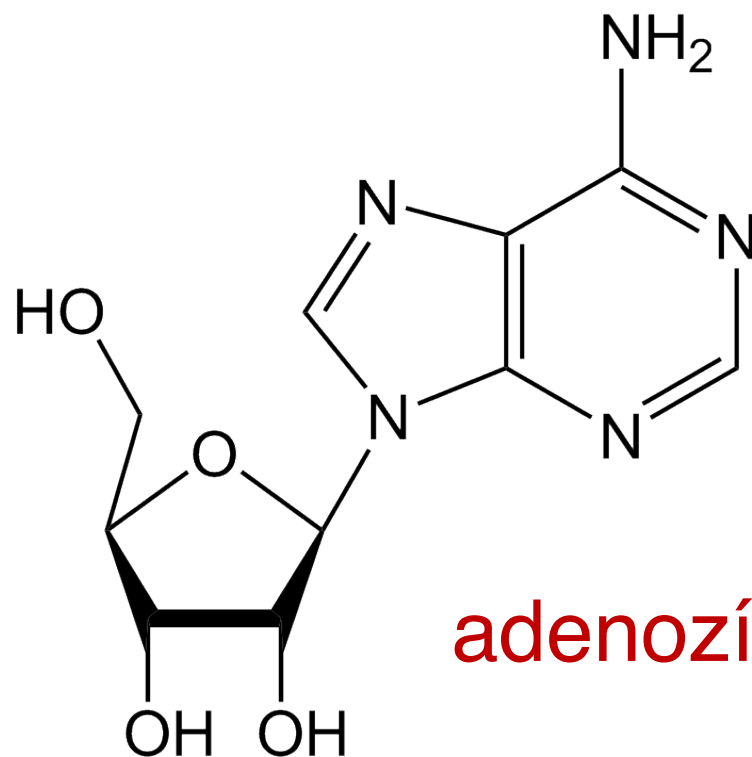
Zdrojom týchto signálov je často vonkajšie prostredie

Káva	180 mg / pohár
Čaj	90 mg / pohár
Kola	50 mg / pohár
Čokoláda	20 mg / pohár

Signály z vonkajšieho prostredia často imitujú
dôležité chemikálie produkované našimi bunkami



koфеín



adenozín

Bunkové signály sú esenciálnym nástrojom pri rozhodovaní buniek o ich ďalšom osude

Vonkajšie faktory:

Živiny
Rastové faktory
Teplota
...

Delenie

Kľudové štádium

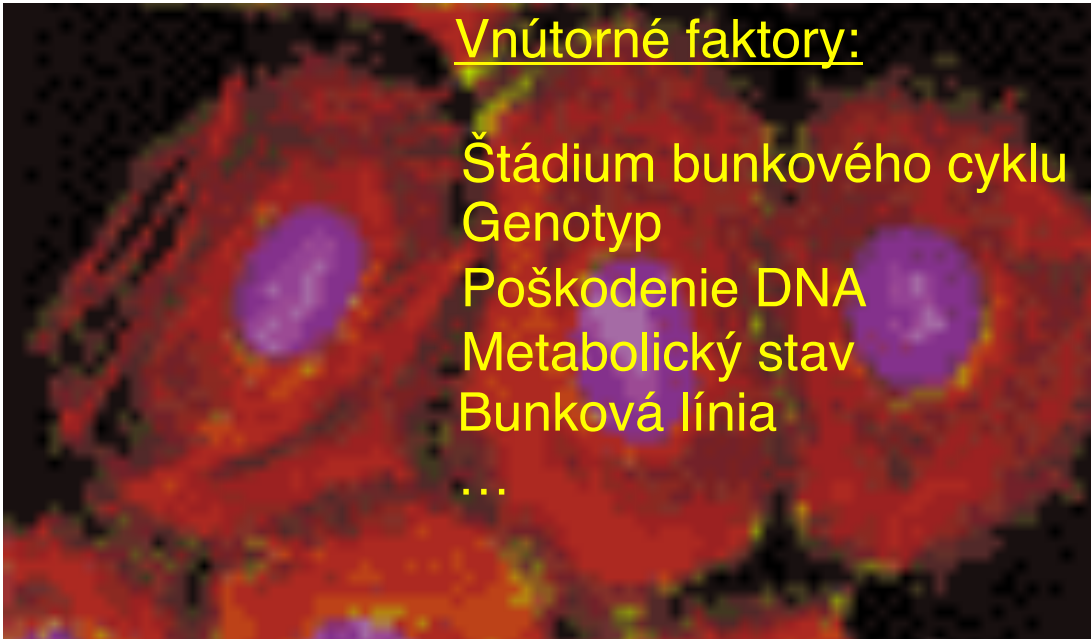
Vnútročné faktory:

Štádium bunkového cyklu
Genotyp
Poškodenie DNA
Metabolický stav
Bunková línia
...

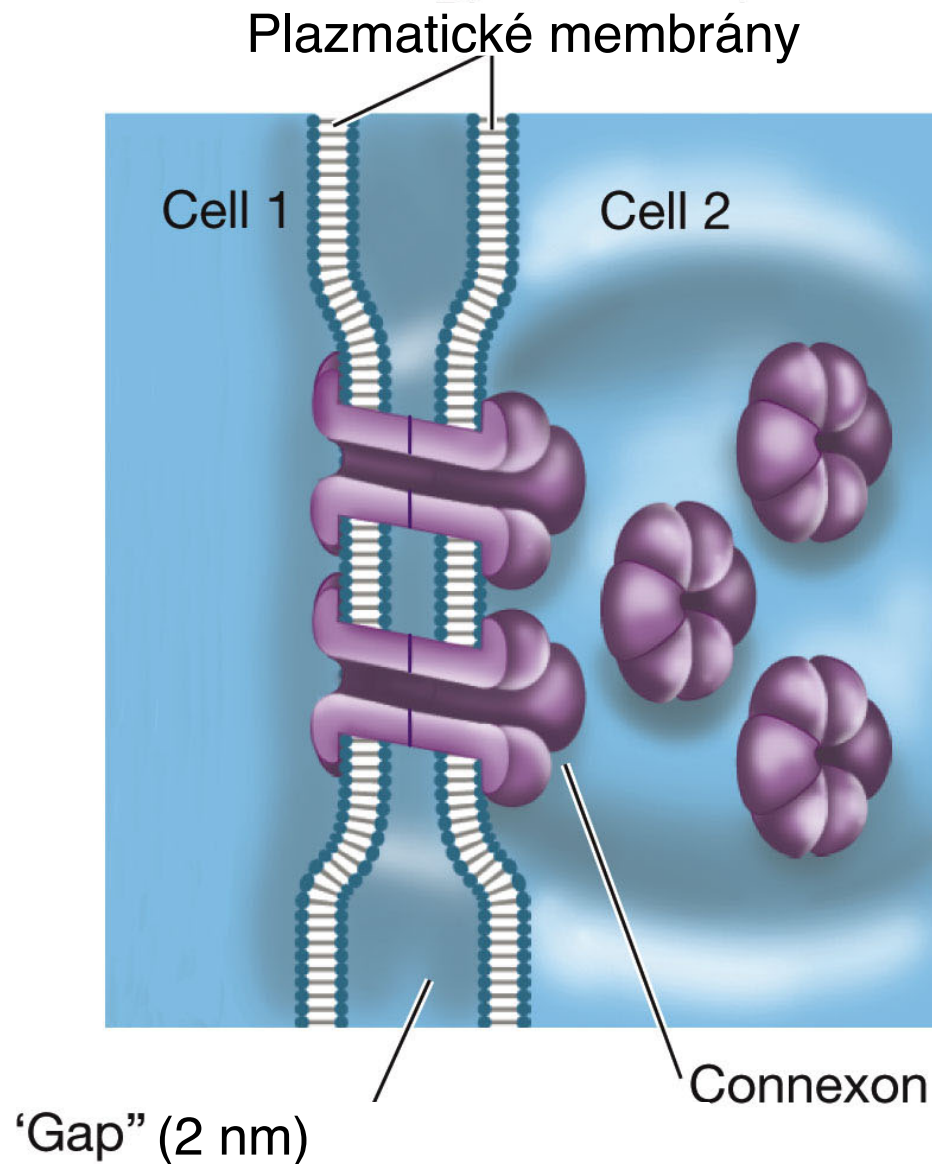
Diferenciácia

Starnutie

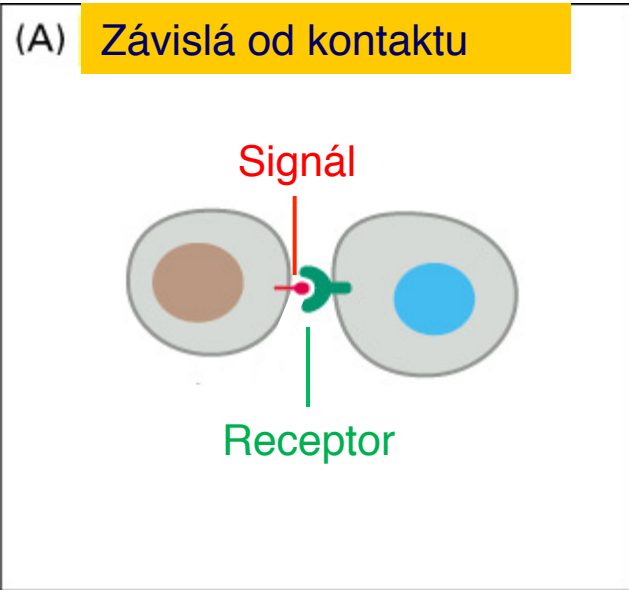
Apoptóza



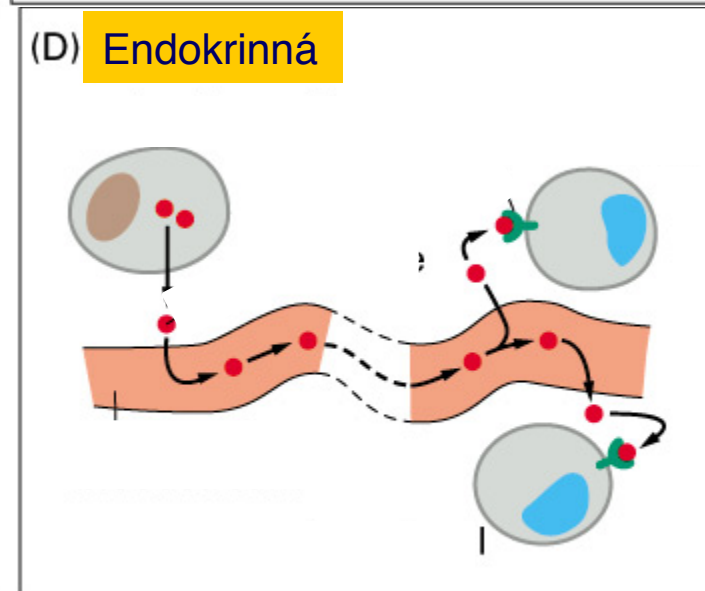
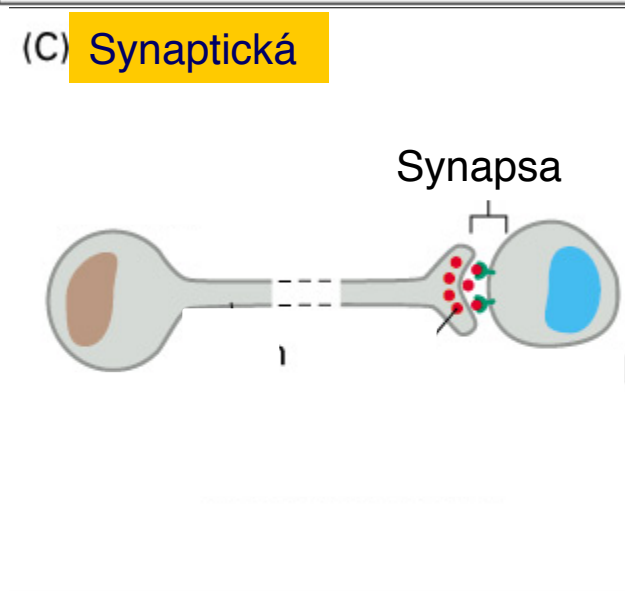
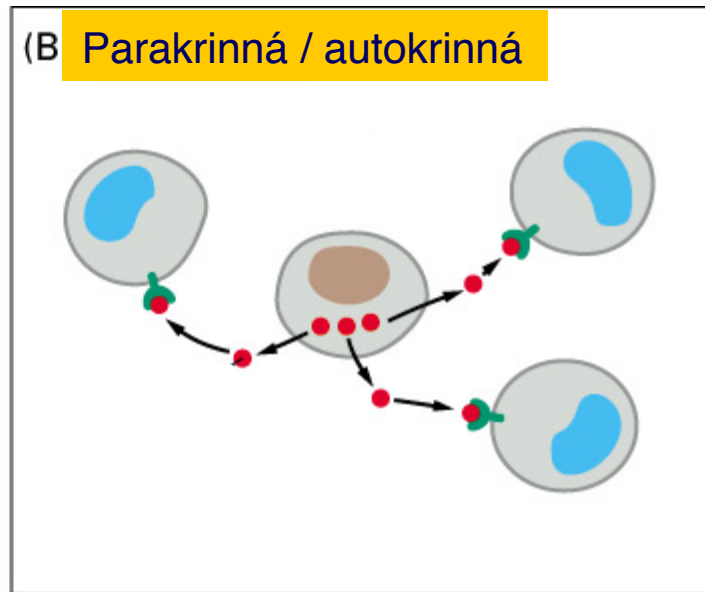
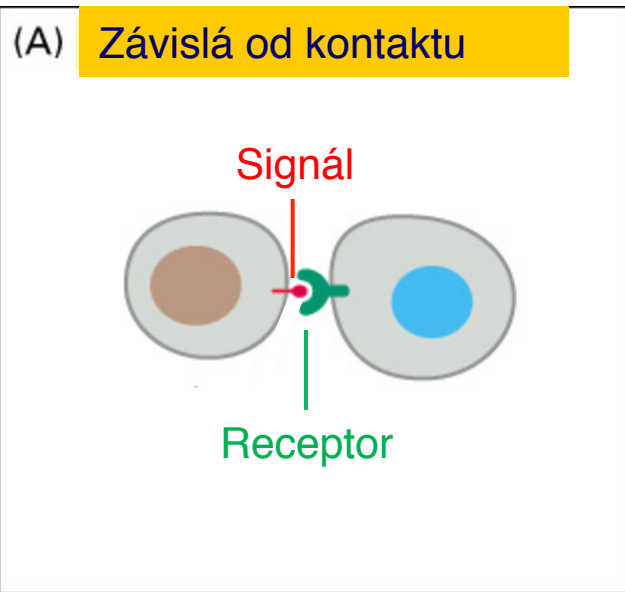
Gap junctions zabezpečujú priamu komunikáciu medzi bunkami



Existujú viaceré formy medzibunkovej signalizácie



Existujú viaceré formy komunikácie medzi bunkami

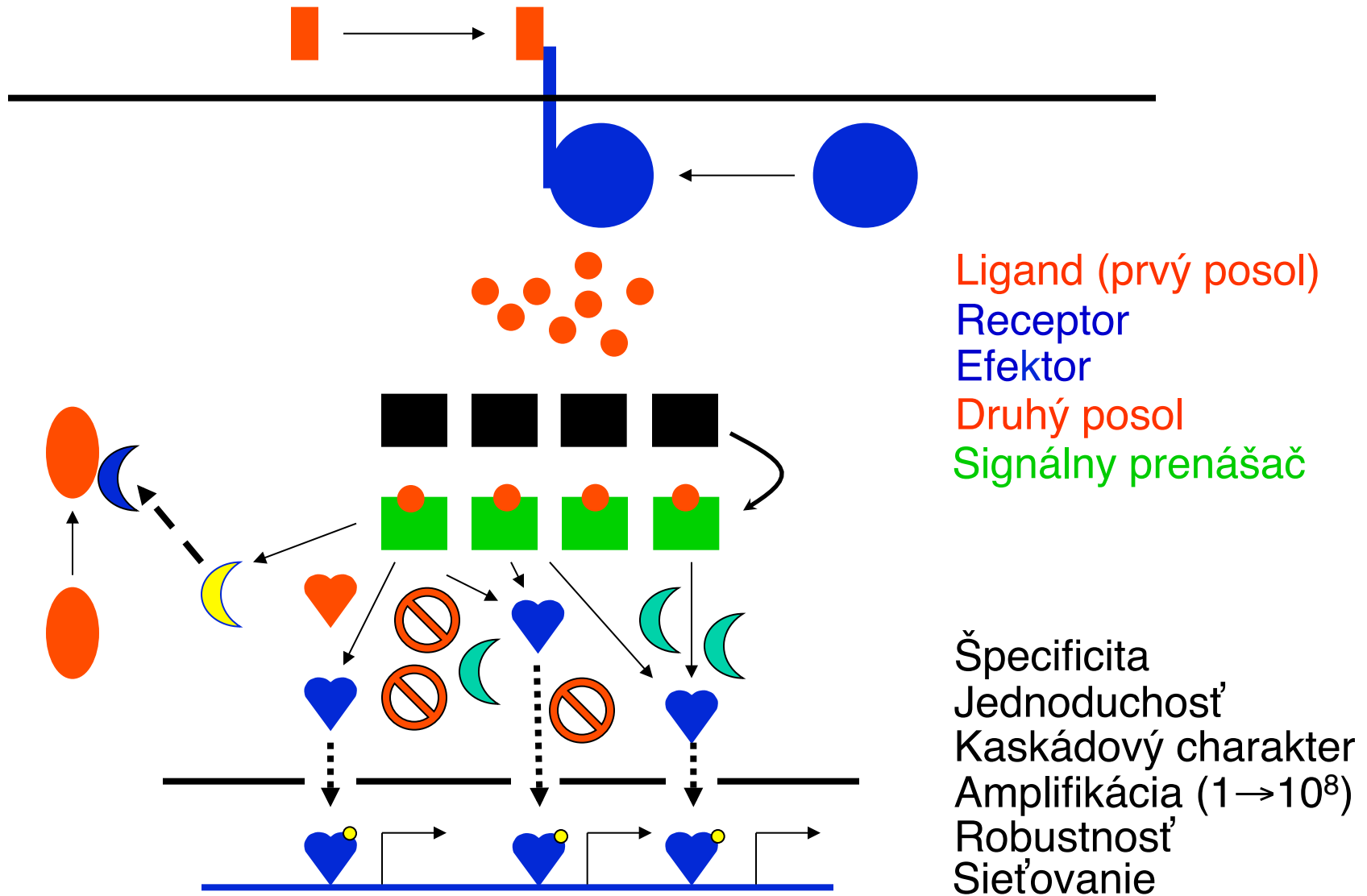


Formy bunkovej komunikácie je možné prirovnať k nasledovným formám komunikácie medzi ľuďmi:

- Telefonická konverzácia
- Rozprávanie s ľuďmi na recepcii
- Vyhlásenie v rozhlase
- Rozprávanie samého (samej) so sebou

SYNAPTICKÁ
PARAKRINNÁ
ENDOKRINNÁ
AUTOKRINNÁ

Bunkové signálne dráhy majú niektoré univerzálne vlastnosti

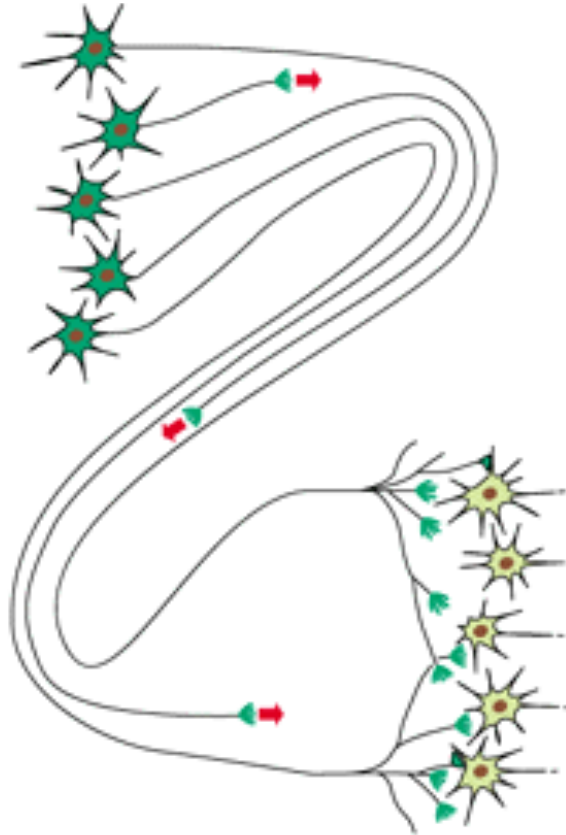


Mnohobunkové telá produkujú veľký počet ligandov, ktoré prostredníctvom väzby na receptor špecificky ovplyvňujú cieľové bunky

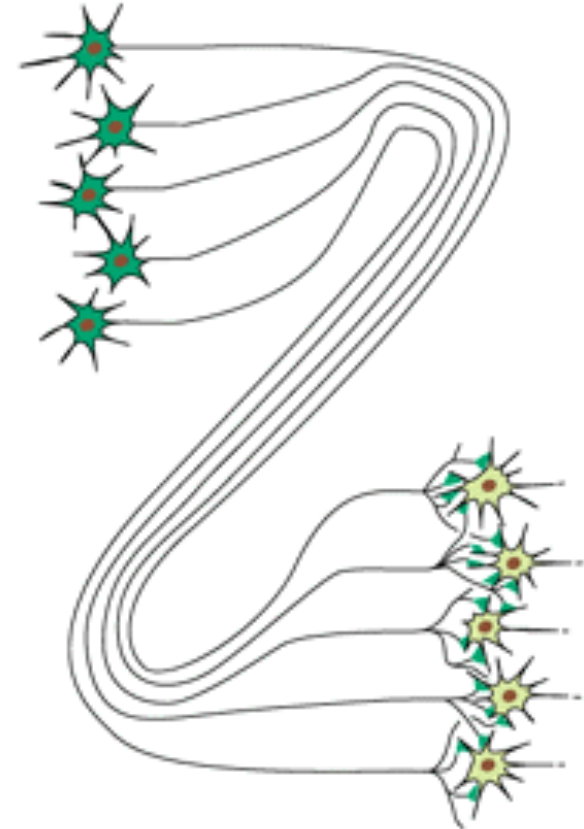
Tvorba neurónov



Rast axónov a dendritov



Tvorba synáps



Aká je chemická povaha signálu indukujúceho rast neurónov?

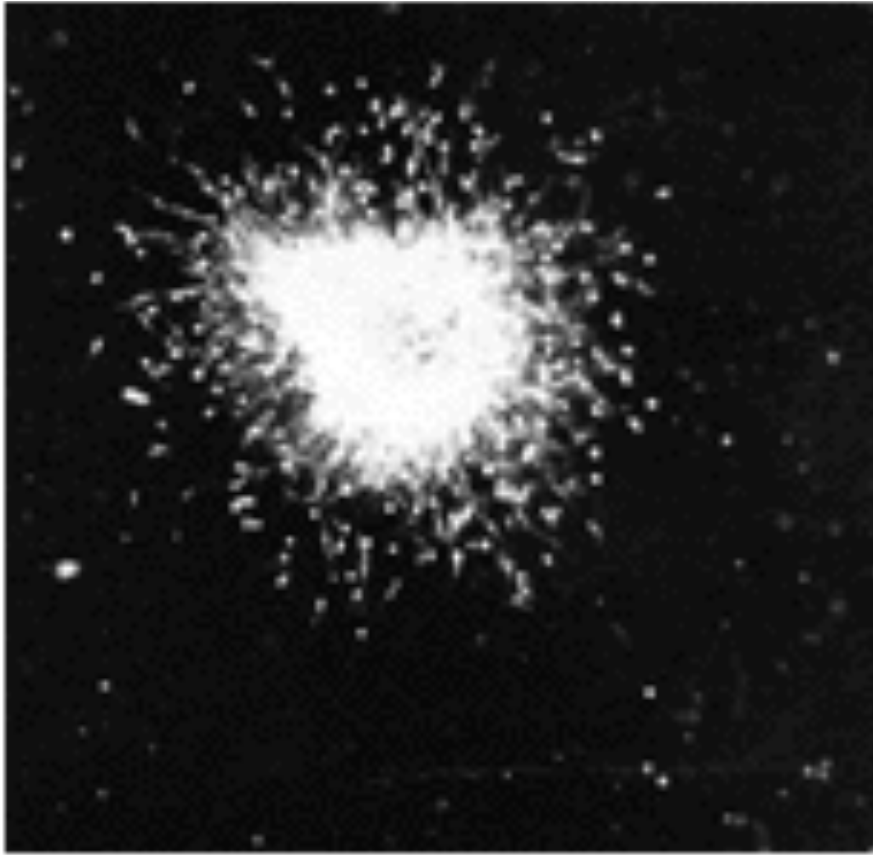


Rita Levi-Montalcini (1909-2012)

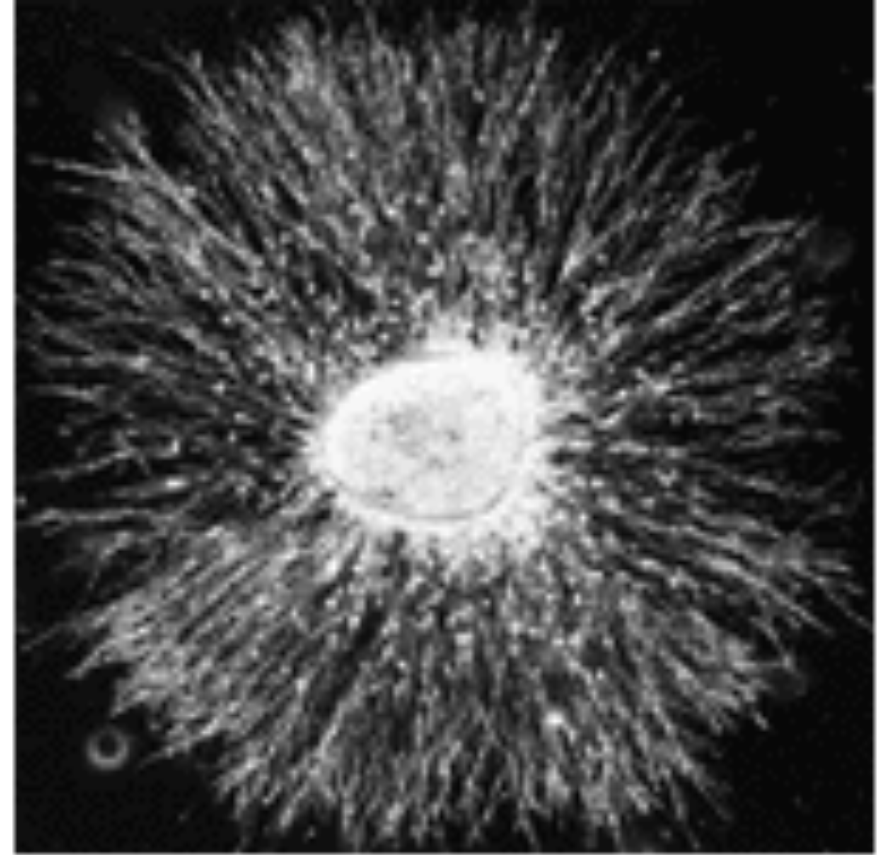


Paola Levi-Montalcini (1909-2000)

Chemický signál stimuluje rast neurónov

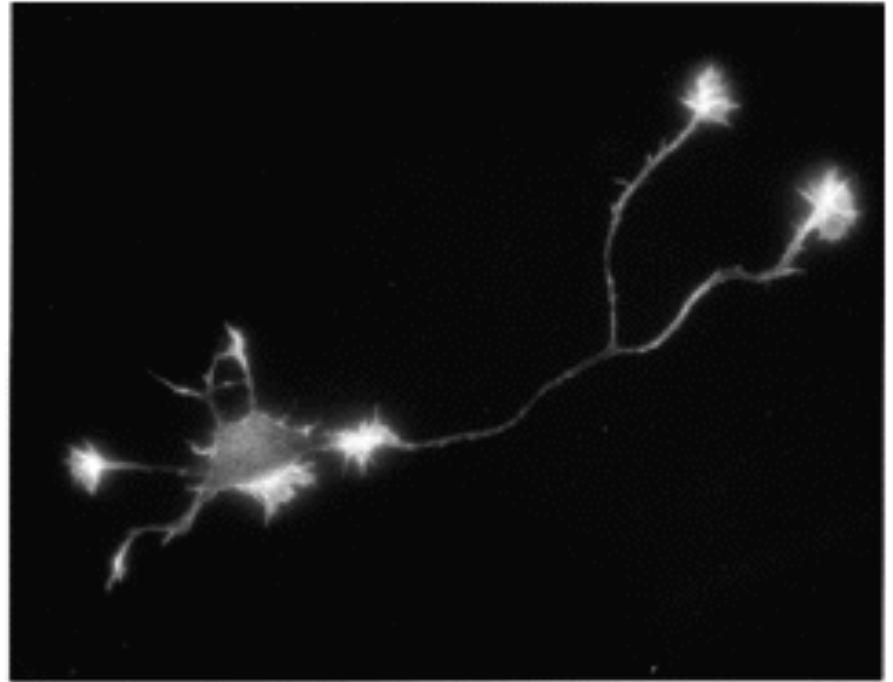
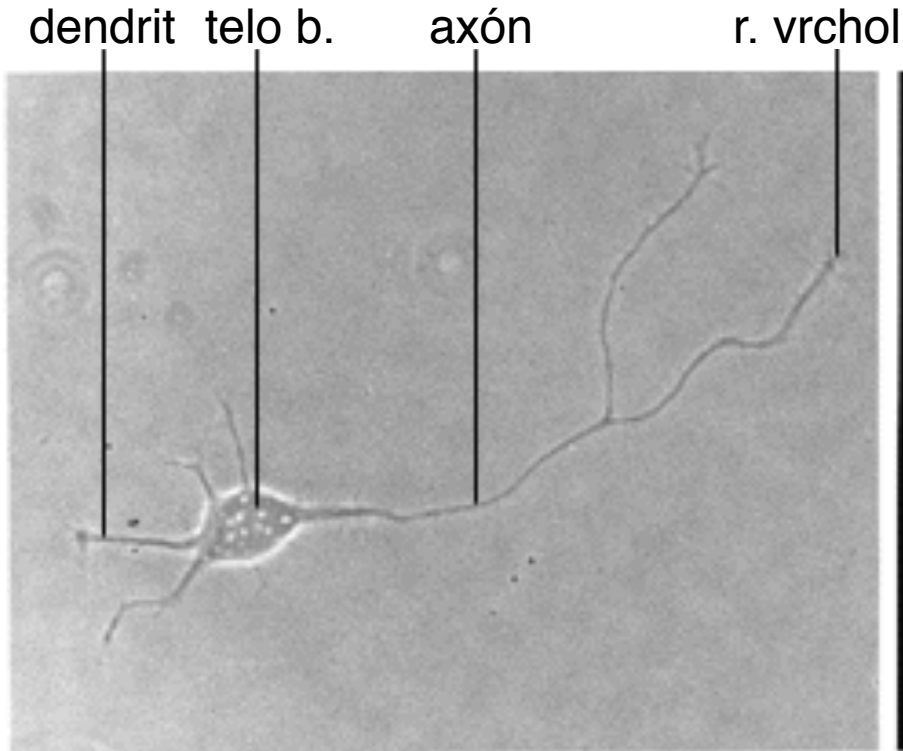


Kontrola



+signál

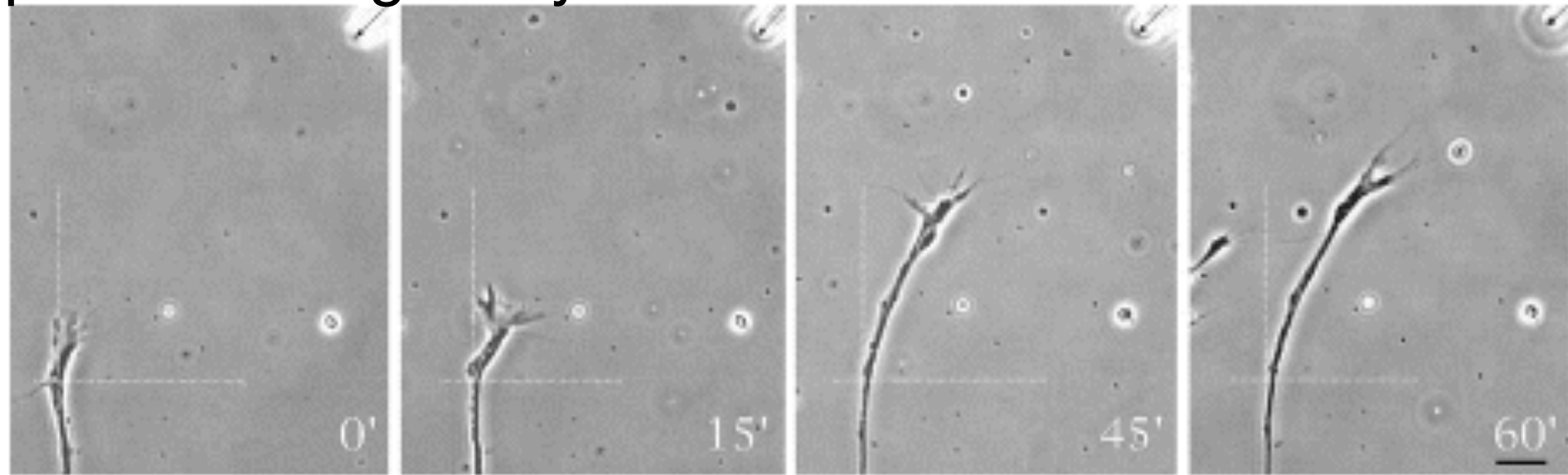
Rastové faktory sa podieľajú na navigácii neurónov počas neurogenézy



10 μm

Fluorescenčne zafarbený aktín

Rastové faktory sa podieľajú na navigácii neurónov počas neurogenézy



CHEMOATRAKCIA

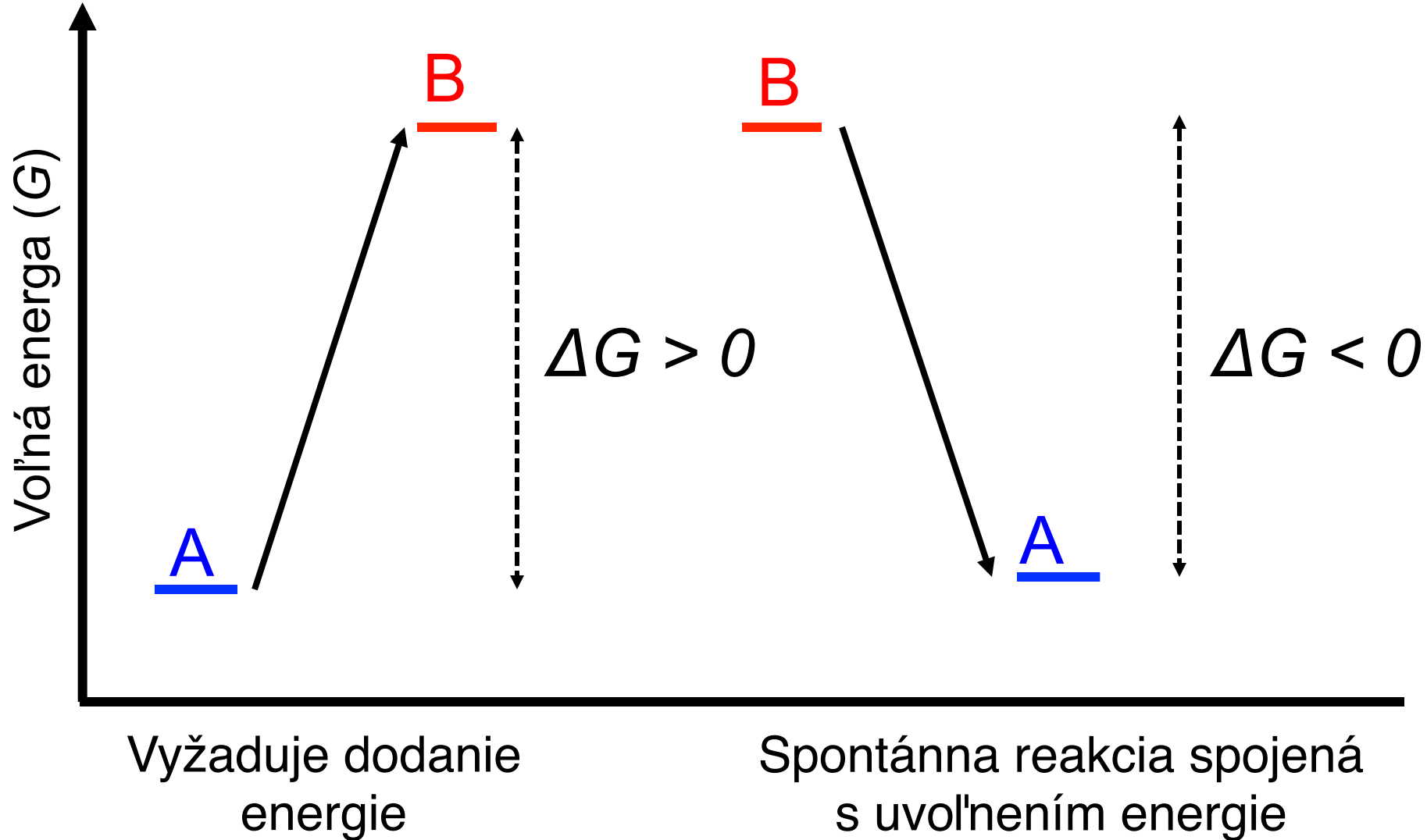
The active substance is a polypeptide called (neuronal growth factor, NGF)



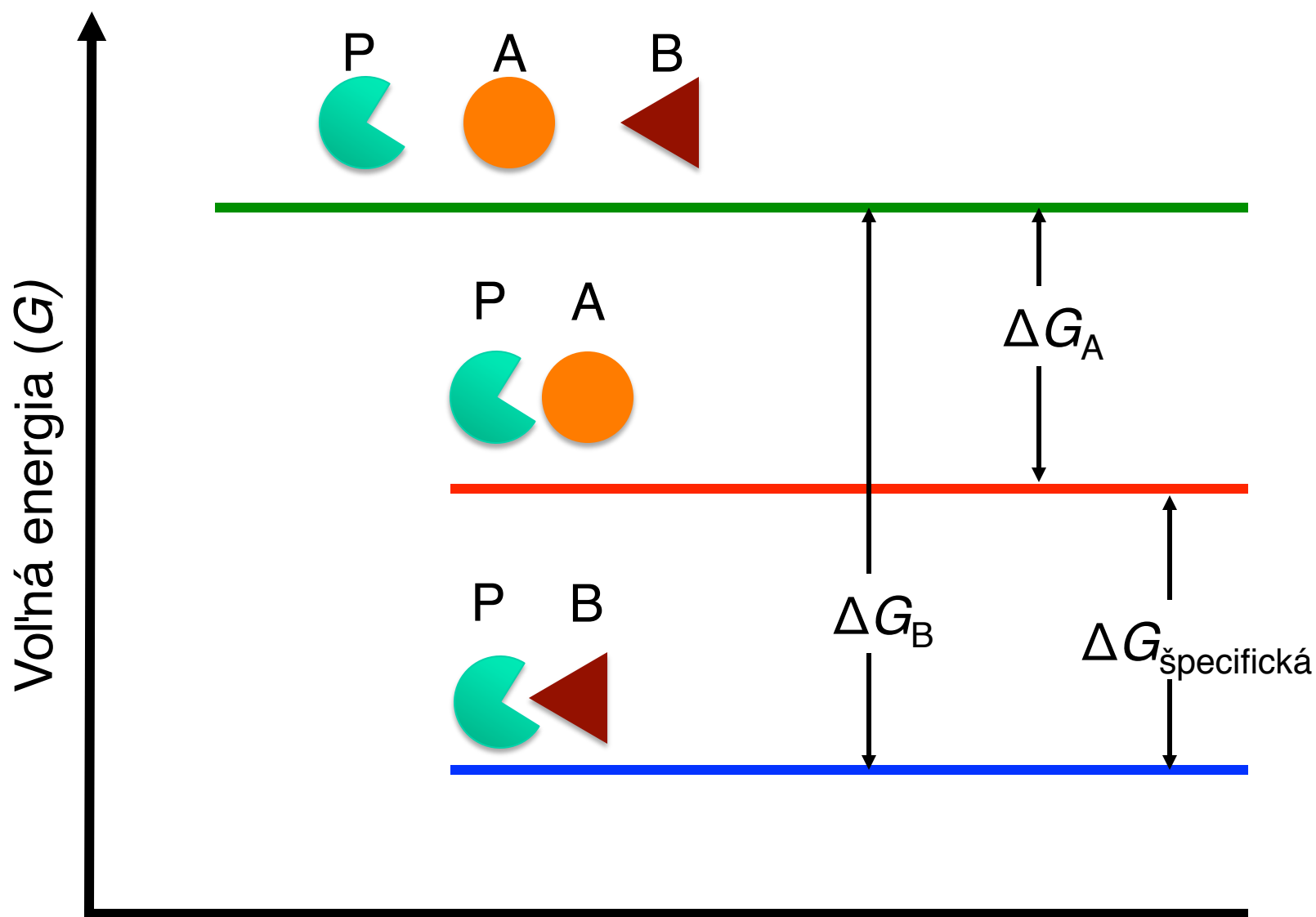
Stanley Cohen (1922-)

Väzba ligandu na receptor prebieha spontánne, ak je spojená s uvoľňovaním energie (i.e. $\Delta G < 0$)

$$\Delta G = G_B - G_A$$

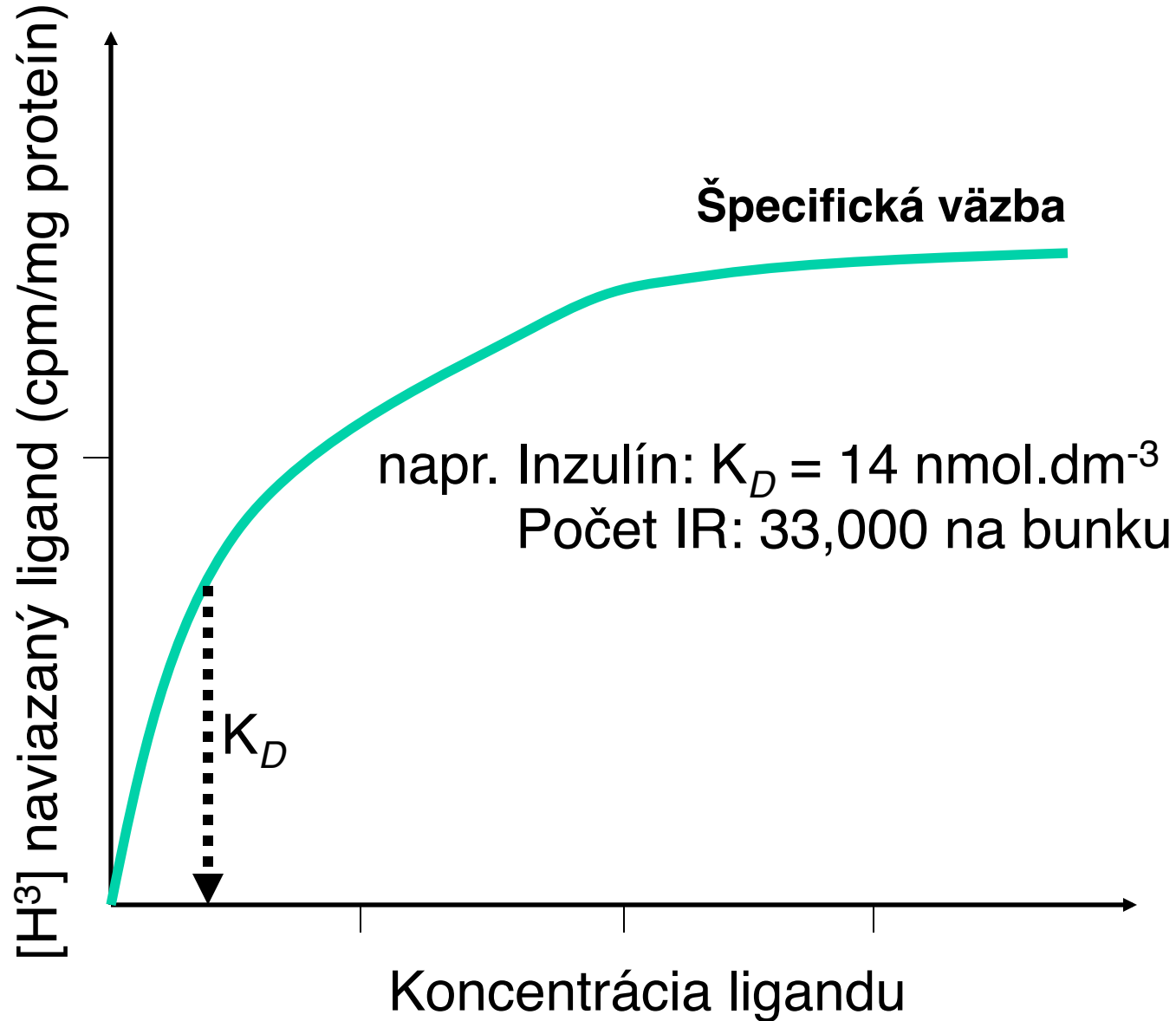


Špecifická väzba proteínu (P) k ligandu (B) je zabezpečená uvoľnením vyššej energie a porovnaní s na nešpecifický ligand (A)



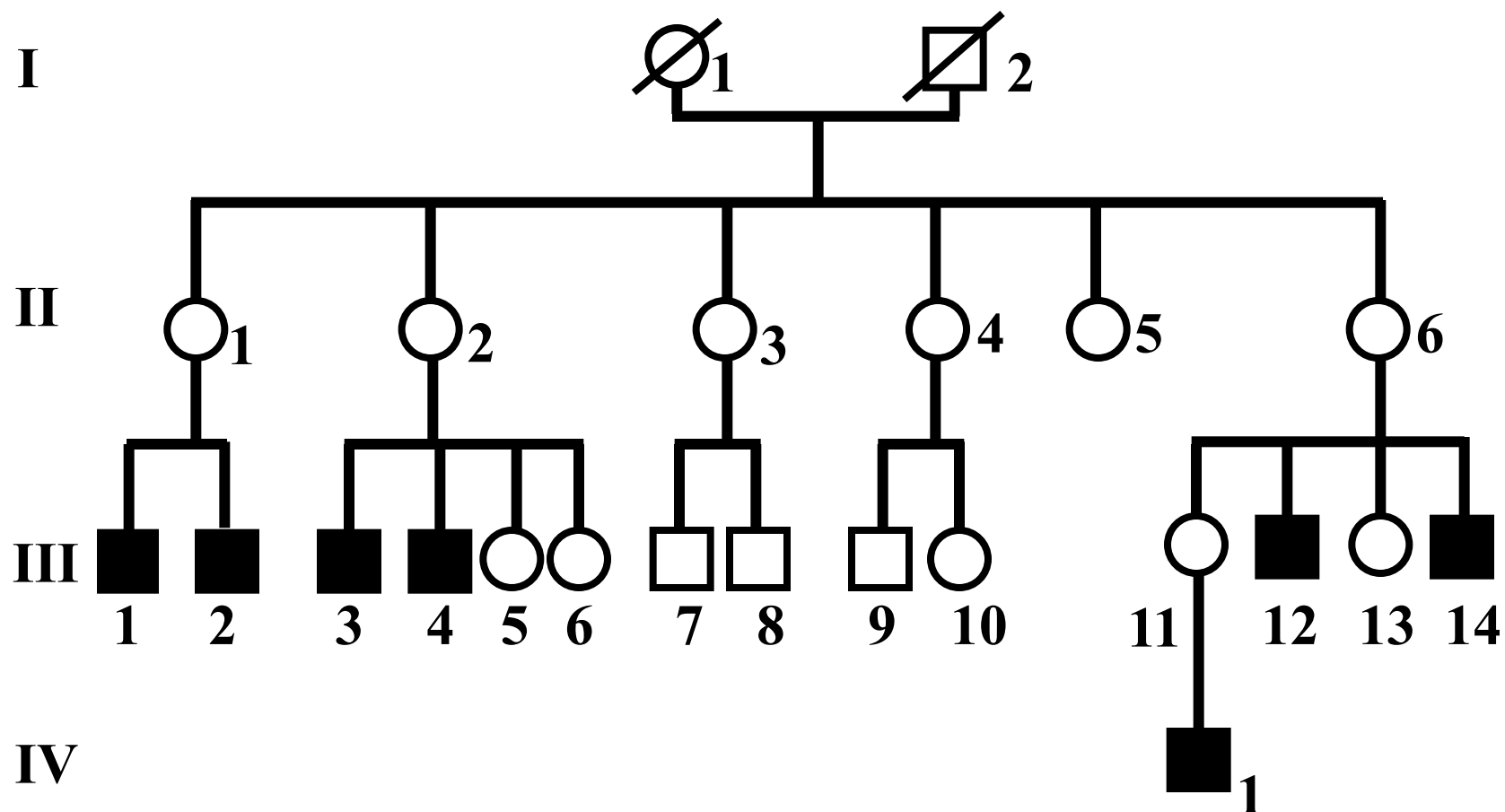
Ako je možné vyjadriť špecificitu interakcie medzi ligandom a receptorom?

Afinitu interakcie ligand-receptor vyjadruje K_D



Zmeny v kinetických parametroch väzby ligandu na receptor môžu mať závažné fyziologické následky:

Kennedyho choroba (spinálna a bulbulárna svalová atrofia)



Zmeny v kinetických parametroch väzby ligandu na receptor môžu mať závažné fyziologické následky:

Kennedyho choroba (spinálna a bulbulárna svalová atrofia)

$$K_D \text{ (normál)} = 0.19 \pm 0.06 \text{ nmol.dm}^{-3}$$

$$K_D \text{ (pacient)} = 0.34 \pm 0.17 \text{ nmol.dm}^{-3}$$

Poznanie kinetických parametrov väzby ligandu na receptor sú dôležité pre vývin dôležitých farmakologických látok

Ligand – agonista- antagonist
adrenalin – isoproterenol - alprenolol

K_D / odpoved':

Adrenalin: 5×10^{-6} M / $\uparrow$ cAMP

Isoproterenol: 0.4×10^{-6} M / $\uparrow$ cAMP

Alprenolol: 0.0034×10^{-6} M / --- cAMP

Väzba ligandu na receptor indukuje v bunke
sériu reakcií

Jednou z těchto reakcí je produkcia nízkomolekulových látok, tzv. druhých poslov

EXPERIMENT

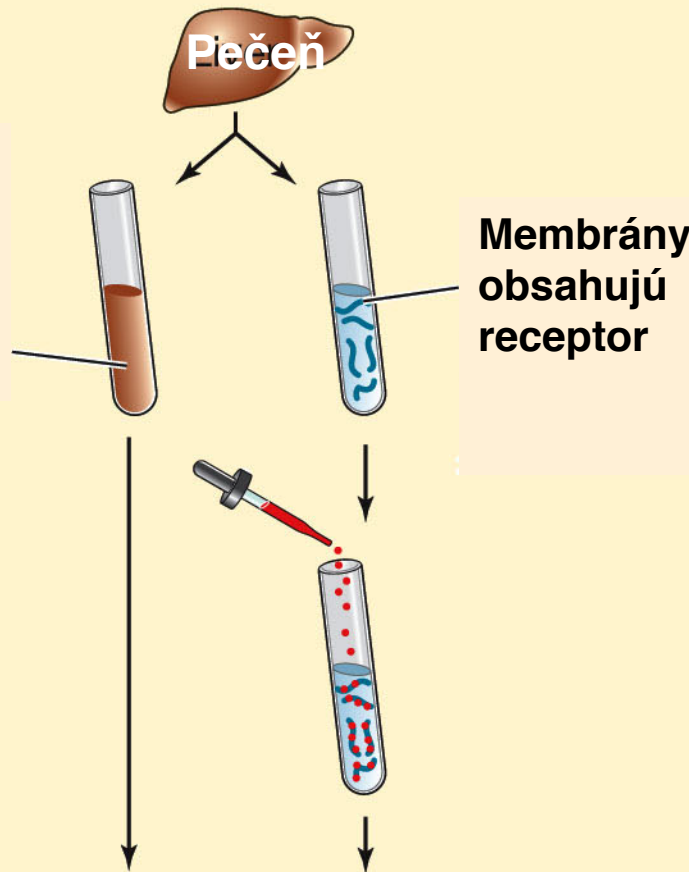
HYPOTÉZA: Nízkomolekulové látky rozpustné v cytoplazme participujú na prenose bunkového signálu

METÓDA

Cytoplazma obsahuje neaktívny efektorový enzým

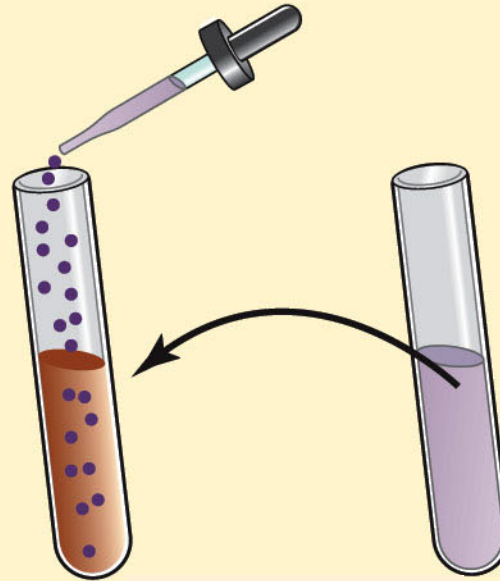
Pečeň

Membrány obsahujú receptor



Jednou z týchto reakcií je produkcia nízkomolekulových látok, tzv. druhých poslov

EXPERIMENT



VÝSLEDOK

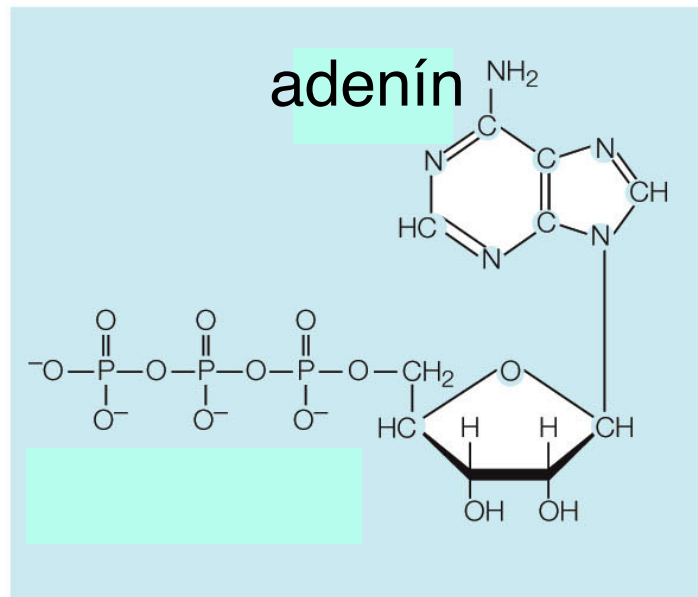
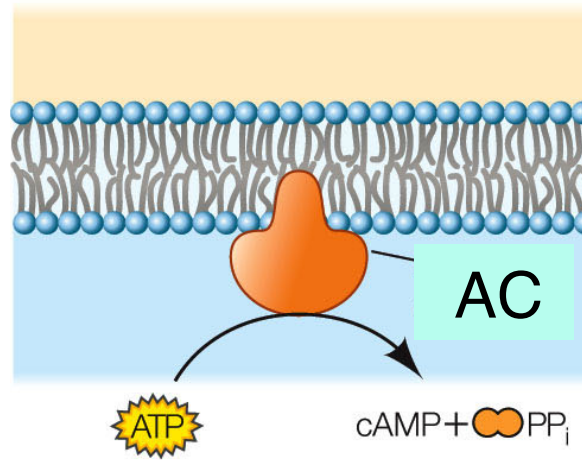
Aktívny efektorový enzým je prítomný v cytoplazme

ZÁVER: Rozpustná nízkomolekulová látka (druhý posol) je produkovaný v bunkách ošetrovaných hormónom a aktivuje efektorové enzýmy v cytoplazme

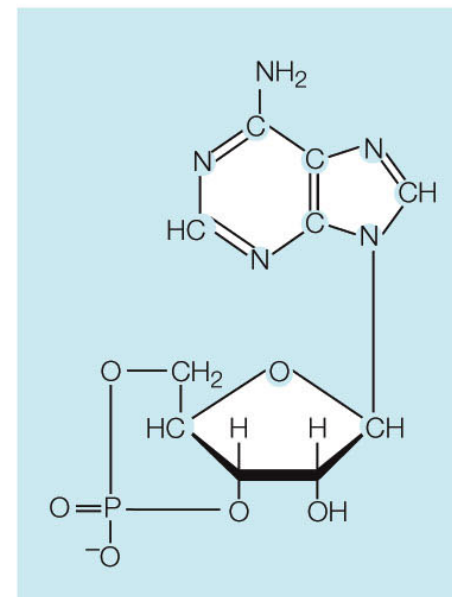
Cyklický adenosín monofosfát (cAMP)

Je typickým príkladom druhého posla

AC-adenylyl cykláza



ATP



Cyclic AMP (cAMP)

Ďalším typom reakcií spúšťaných v bunkových signálnych dráhach sú rôzne typy **reverzibilných** modifikácií proteínov

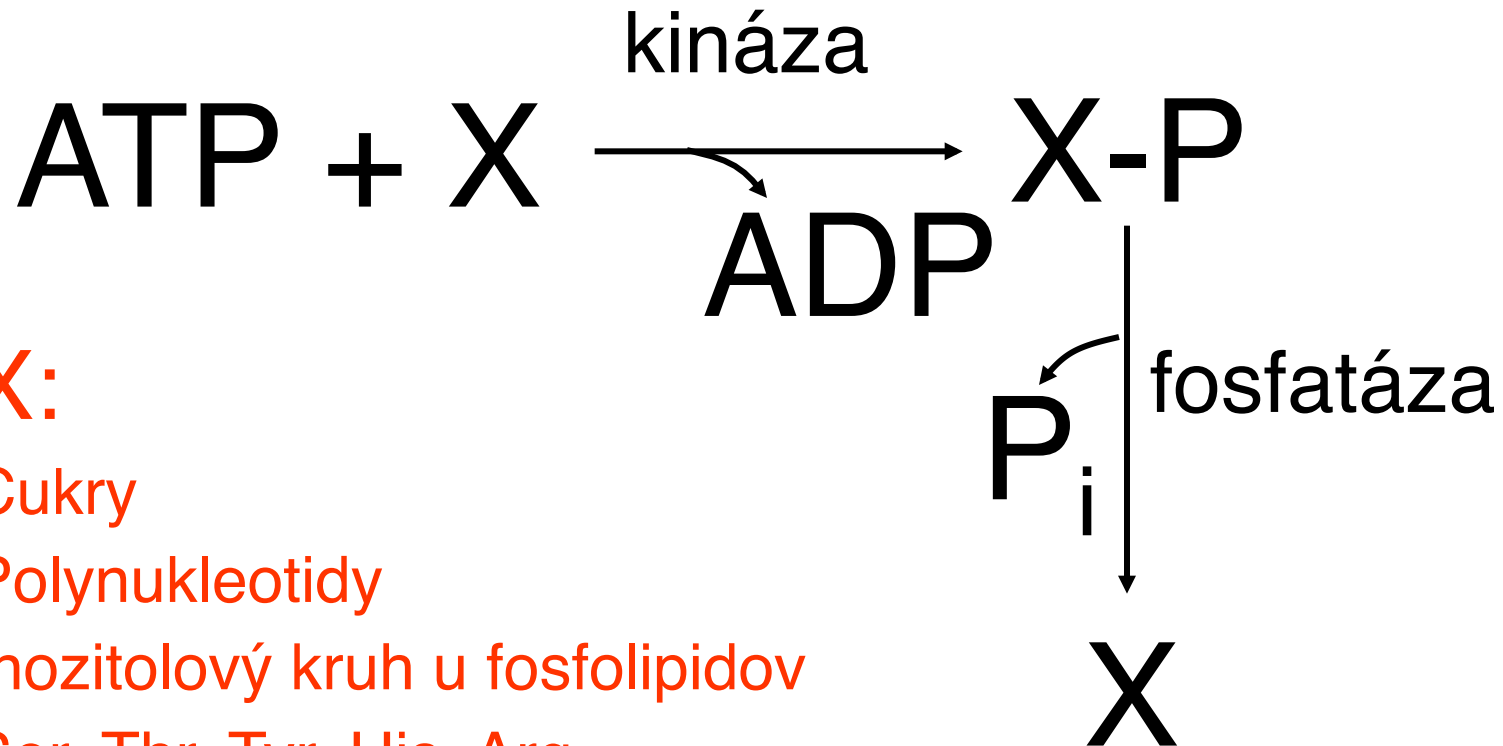
Fosforylácia ($-\text{PO}_4^{-3}$)

Metylácia ($-\text{CH}_3$)

Acetylácia ($-\text{COO}^-$)

...

Fosforylácia je katalyzovaná enzýmami nazývanými **kinázy**



X:

Cukry

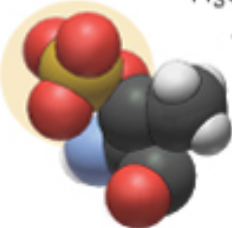
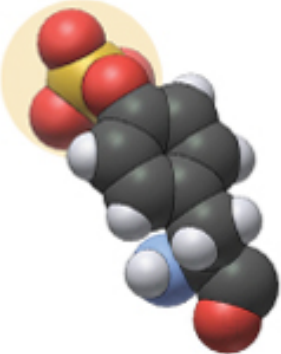
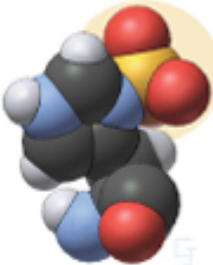
Polynukleotidy

Inozitolový kruh u fosfolipidov

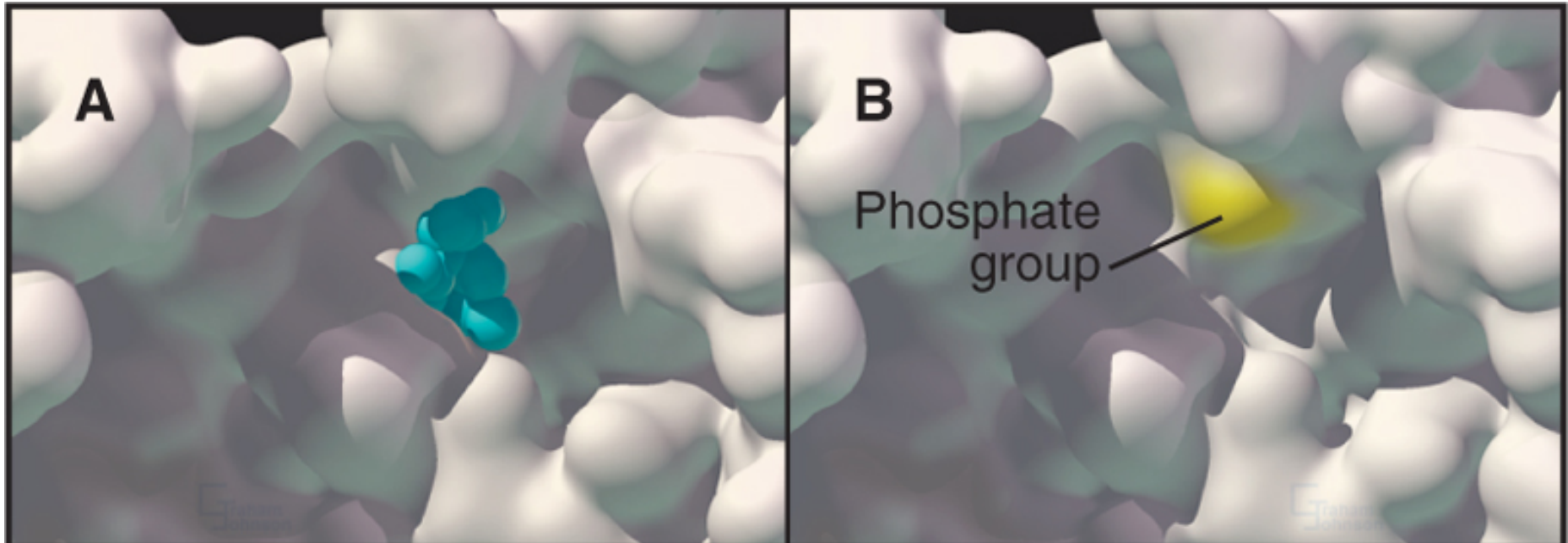
Ser, Thr, Tyr, His, Arg

zvyšky na proteínoch

Najčastejšie sa vyskytujúce fosfo-aminokyseliny

Fosfoserín ne <chem>[O-]P(=O)([O-])OCC(N)C(=O)O</chem>	Fosfotreonín ine <chem>CC(C(N)C(=O)O)COP(=O)([O-])[O-]</chem>	Fosfotyrozín ie <chem>[O-]P(=O)([O-])Oc1ccc(cc1)CC(N)C(=O)O</chem>	Fosfohistidín ne <chem>[O-]P(=O)([O-])n1c[nH]c(CCN1C(=O)O)c2ccccc2</chem>
---	---	---	---

Fosforylácia môže dramaticky zmeniť biochemické vlastnosti modifikovaných proteínov



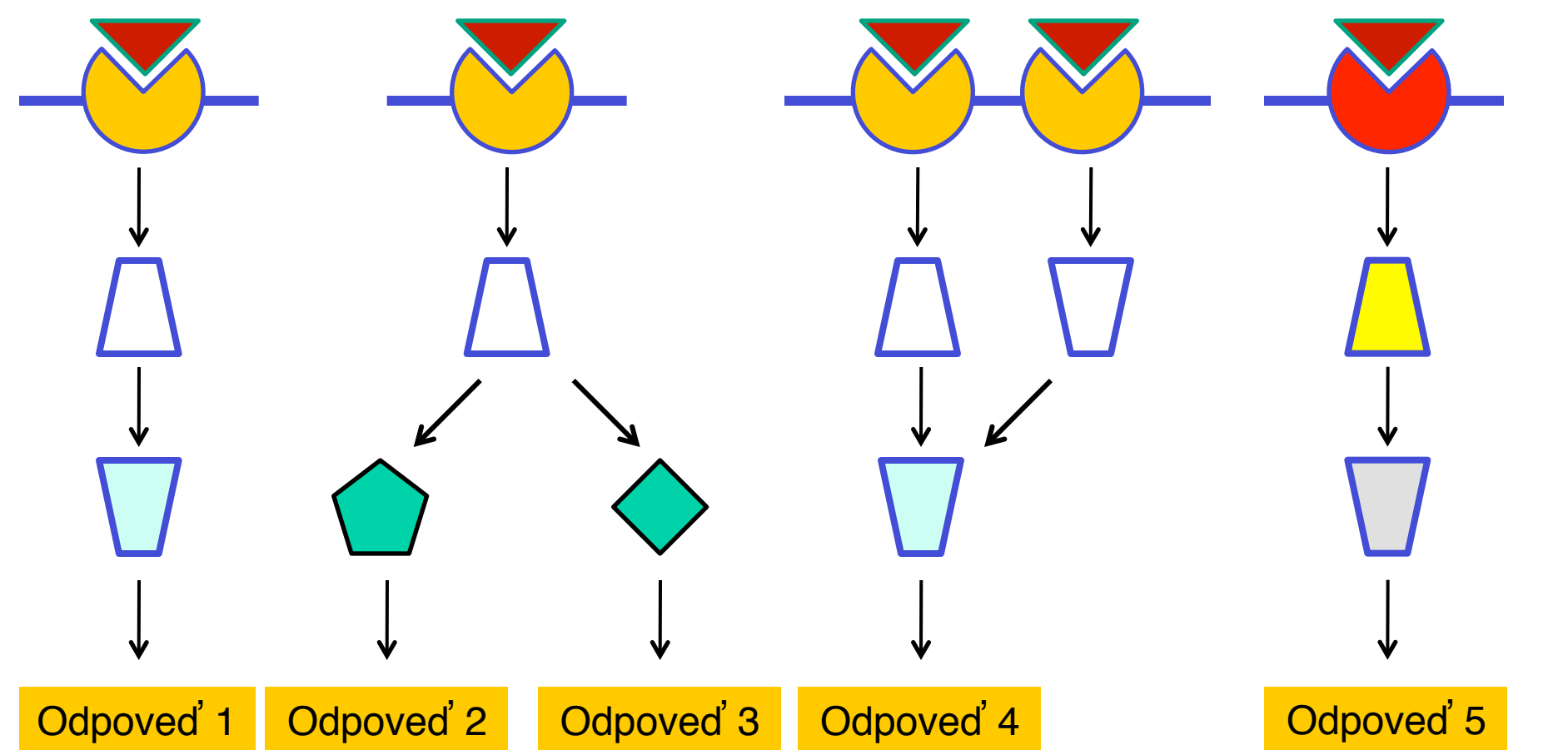
isocitrát dehydrogenáza

Inzulín uvoľňovaný z β -buniek pankreasu indukuje v cieľových bunkách zvýšený príjem glukózy



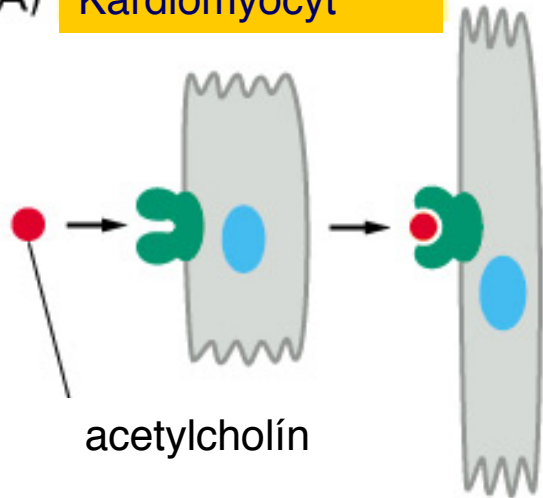
<http://vcell.ndsu.nodak.edu/animations/>
<https://www.youtube.com/watch?v=FkkK5ITmBYQ>

Jeden ligand môže indukovať viac typov bunkových odpovedí



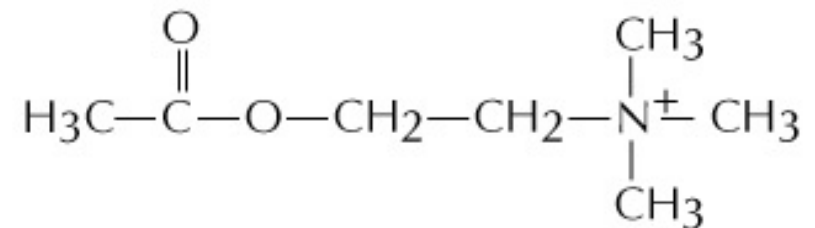
Jeden ligand môže indukovať viac typov bunkových odpovedí

(A) Kardiomyocyt

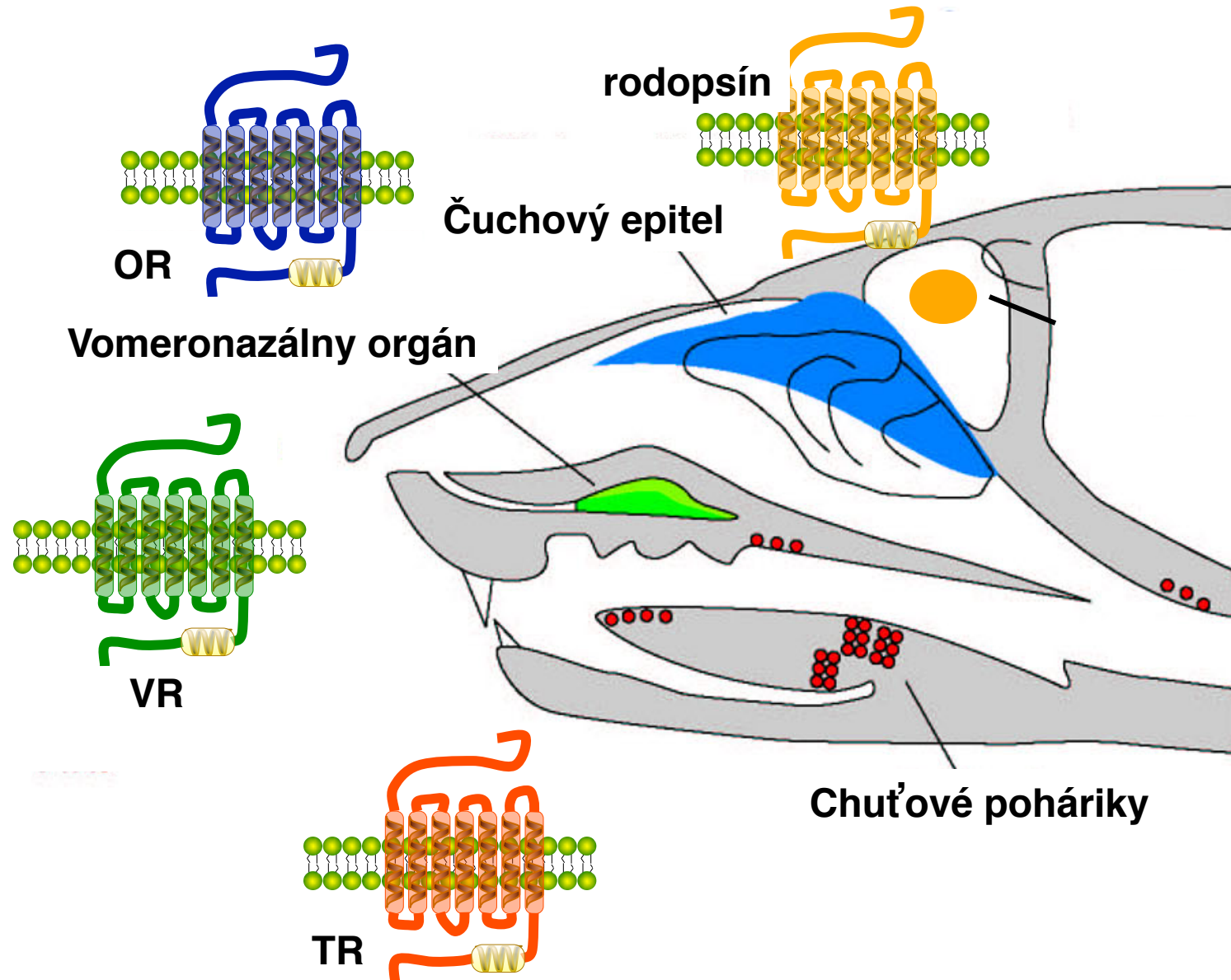


ZNÍŽENIE RÝCHLOSTI A
INTENZITY KONTRAKCIE

(D) acetylcholín



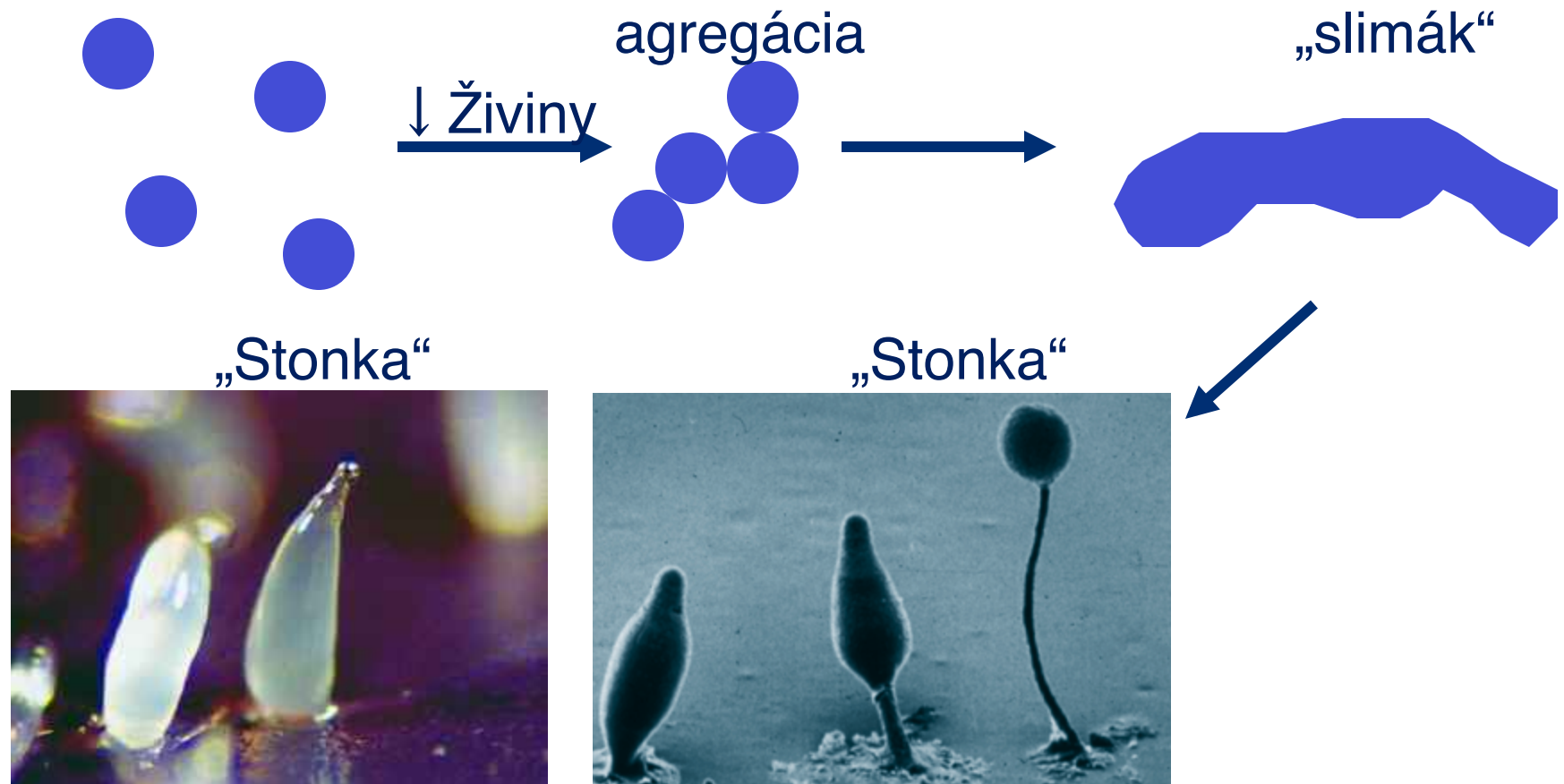
Jeden typ receptora je využívaný na rôzne účely
Príklad: svetlo, chuť, čuch



Dictyostelium discoideum –
jednoduchý model bunkovej diferenciácie

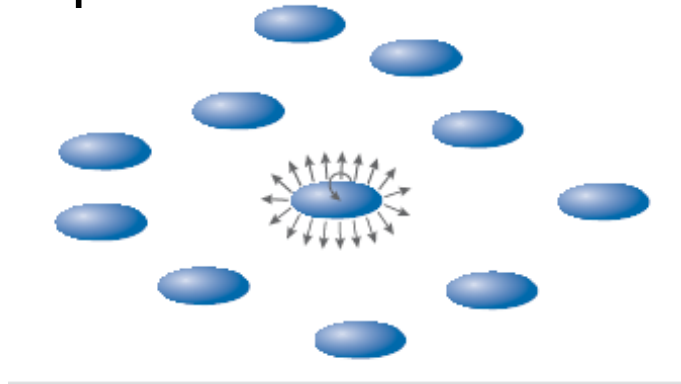


Dictyostelium discoideum – jednoduchý model bunkovej diferenciácie

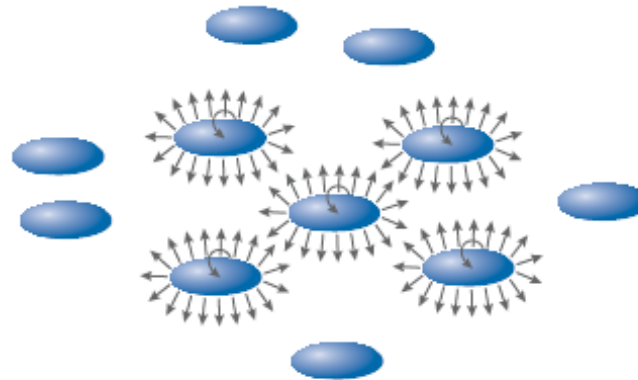


Koordinované správanie buniek u *Dictyostelium discoideum* je zabezpečované vďaka ich schopnosti merať bunkovú hustotu (*quorum sensing*)

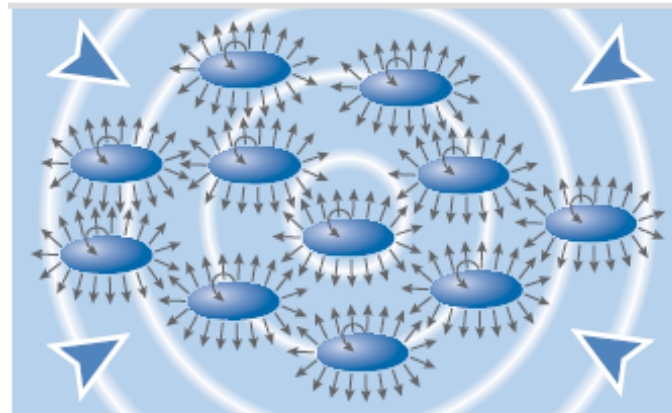
Produkcia
„autoinduktora“



Indukcia
odpovede
susedov

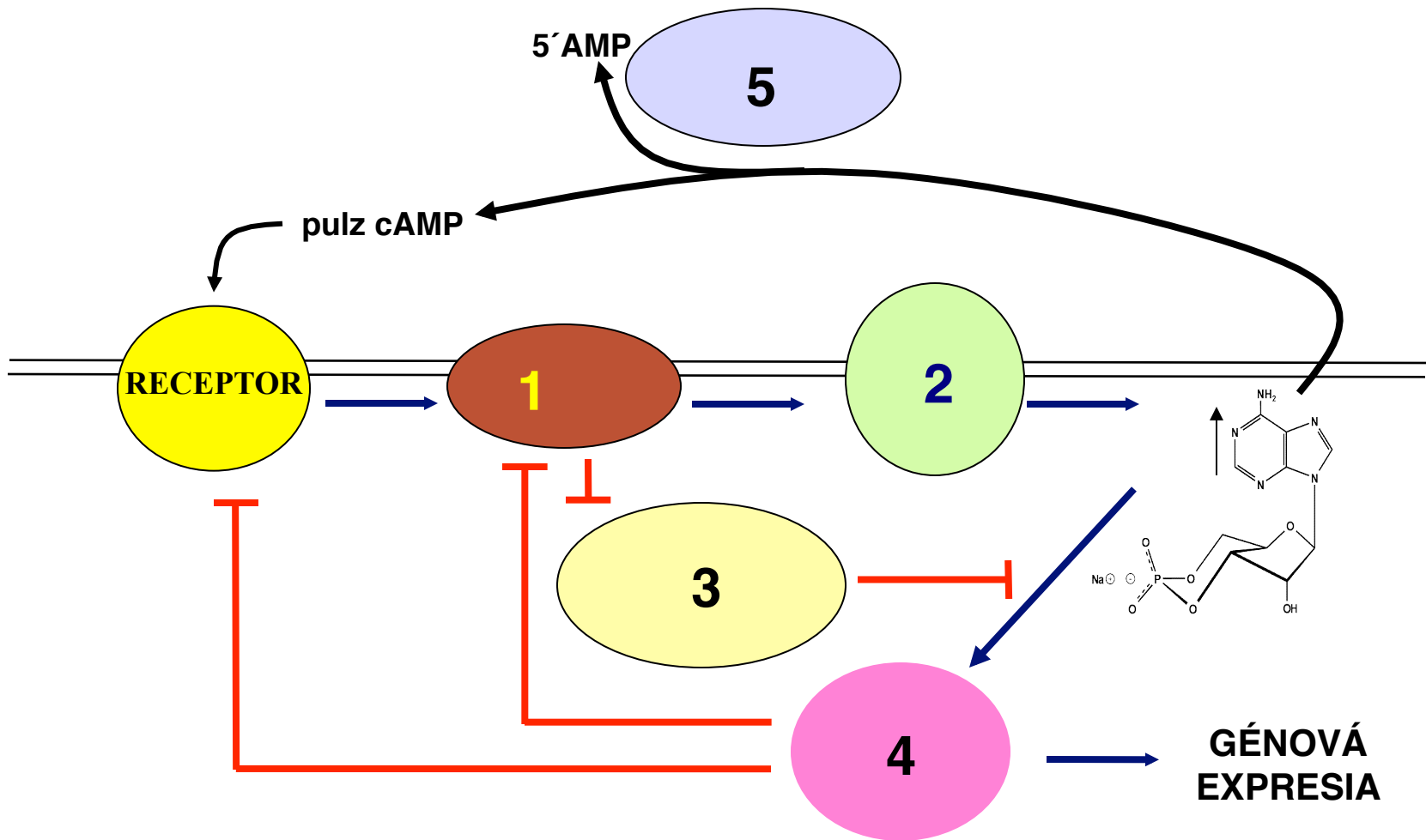


Špecifická
odpoveď
bunkovej
populácie

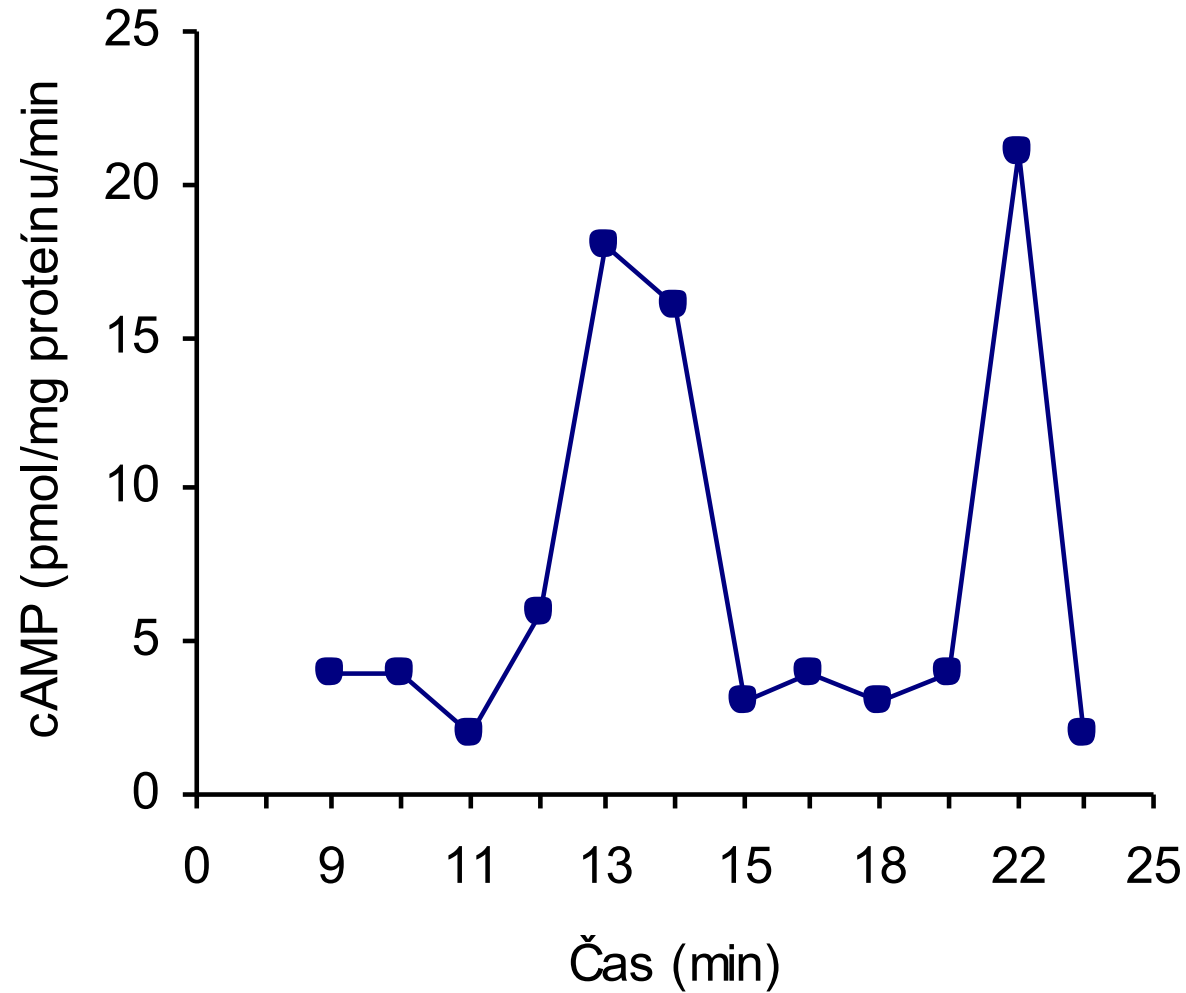


AGREGÁCIA

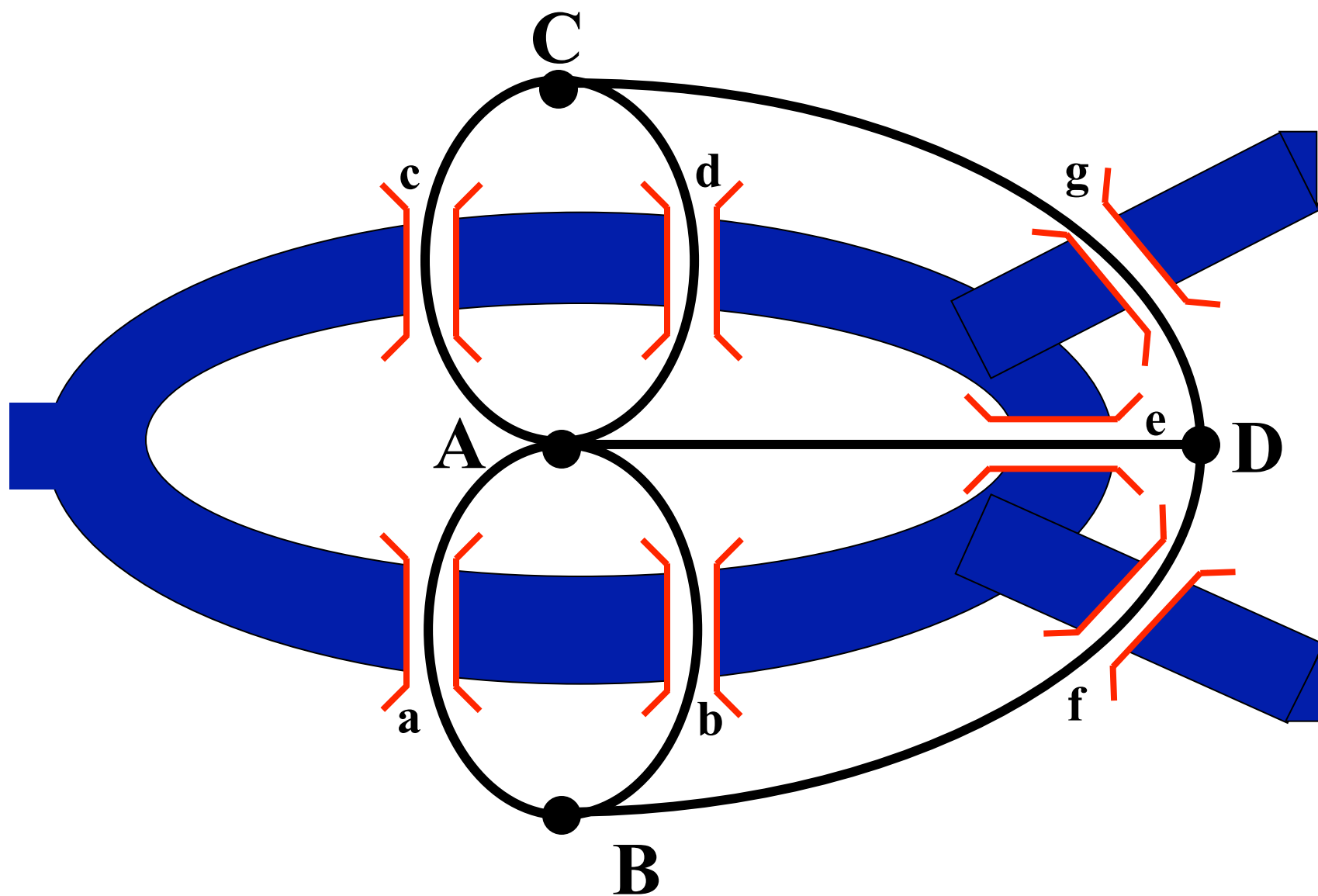
Signálna sieť zodpovedná za agregáciu *Dictyostelium* obsahuje niekoľko spätnoväzobných interakcií



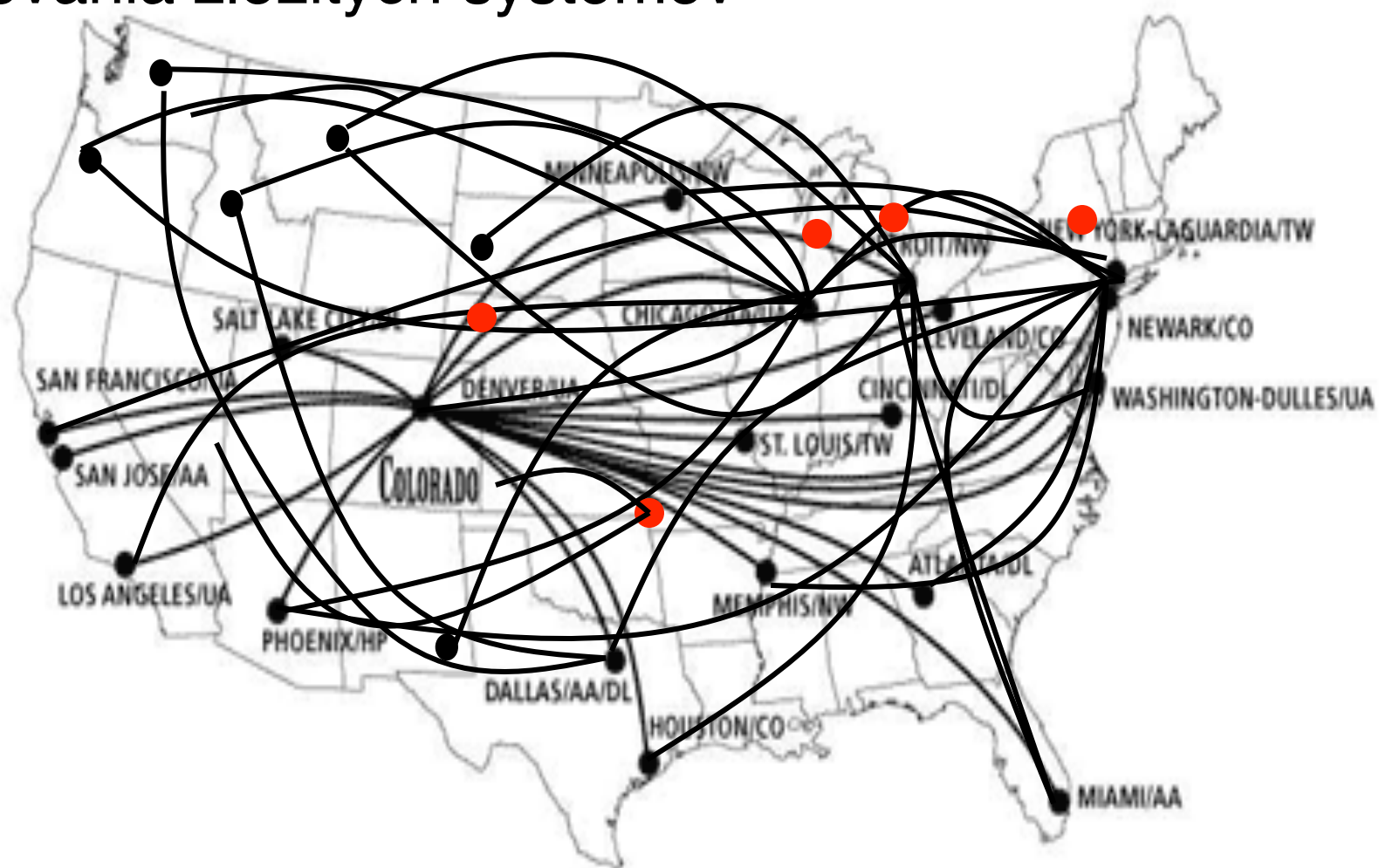
Signálne siete spôsobujú neintuitívne správanie buniek



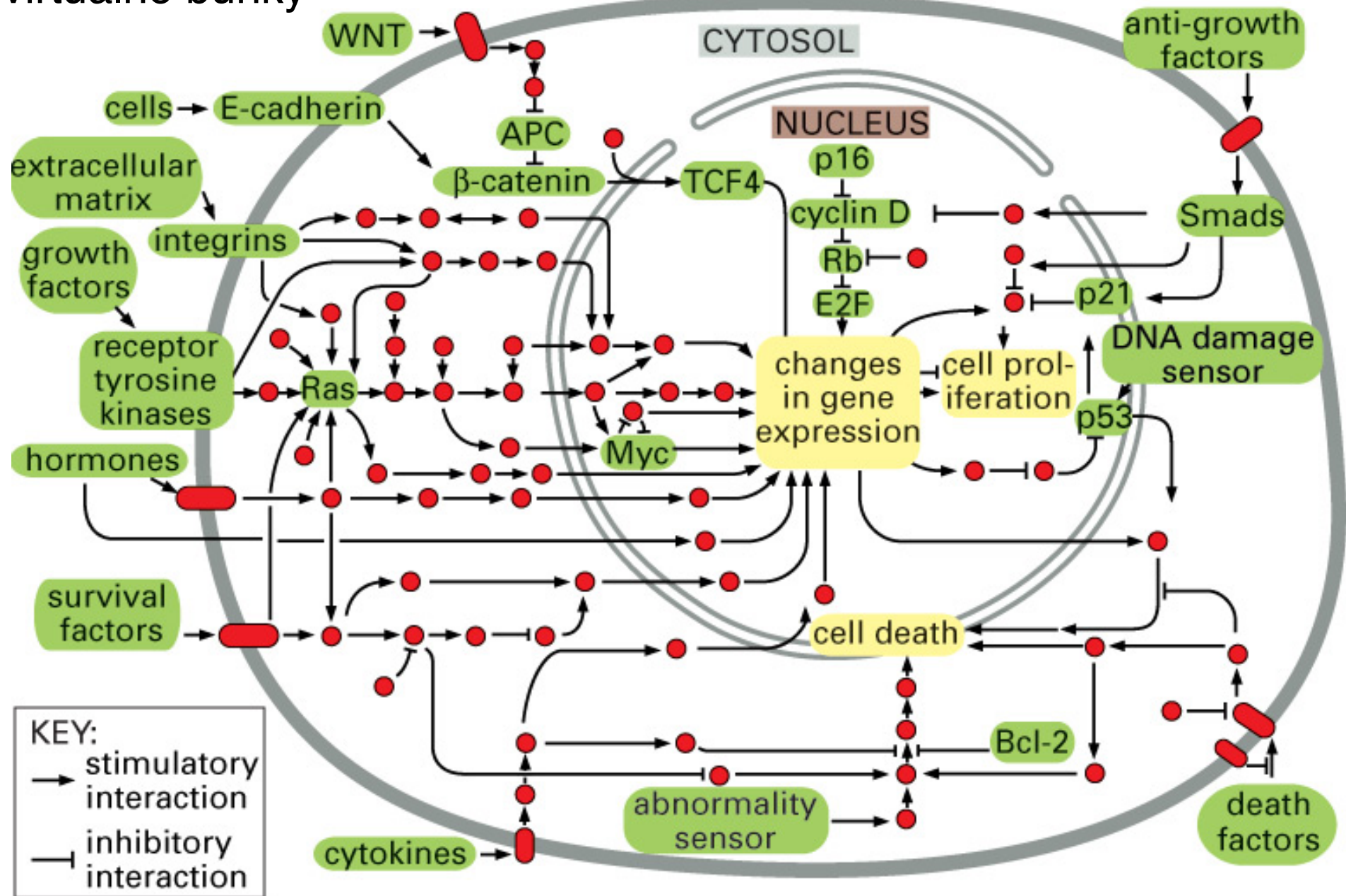
Analýza sietí je dôležitá pre detailné pochopenie fungovania zložitých systémov



Analýza sietí je dôležitá pre detailné pochopenie fungovania zložitých systémov



Detailný popis bunkových signálnych dráh pomôže modelovať virtuálne bunky



Biológia+

+chémia+matematika+informatika

Systémová biológia

Na týchto linkách je možné pozrieť si krátke videá ilustrujúce niektoré z experimentálnych techník využívaných pri štúdiu bunkovej signalizácie:

<http://www.ibiology.org/ibioeducation/exploring-biology/cell-bio/signaling/ten-craziest-things-cells-do.html>

<http://www.cellsignal.com/contents/resources-applications-western-blotting-amp-immunoprecipitation/western-blotting-protocol-video/wb-protocol-video/>

<http://www.jove.com/video/2359/western-blotting-sample-preparation-to-detection>

<http://www.jove.com/video/3495/assaying-the-kinase-activity-of-Irrk2-in-vitro>

<http://www.jove.com/video/3203/imaging-estrogen-receptor-rat-pial-arterioles-using-digital>

<http://www.jove.com/video/51285/profiling-of-estrogen-regulated-micrnas-in-breast-cancer-cells>

<http://www.jove.com/video/51809/determination-protein-ligand-interactions-using-differential-scanning>