

Buněčná biologie tkáňových systémů

Barbora Dvořánková

bdvorankova@seznam.cz

Materiály pro biologické aplikace



Buněčná biologie tkáňových systémů

- Buňka základ života
- Od buňky ke tkáním
- Pohybový aparát
- Kardiovaskulární soustava
 - Srdce
 - Cévy
- Dýchací soustava
- Trávicí soustava I (+zuby)
- Trávicí soustava II (přídatné orgány)
- Nervová soustava + oko
- Kůže
- Imunitní systém, transplantace
- Tkáňové inženýrství

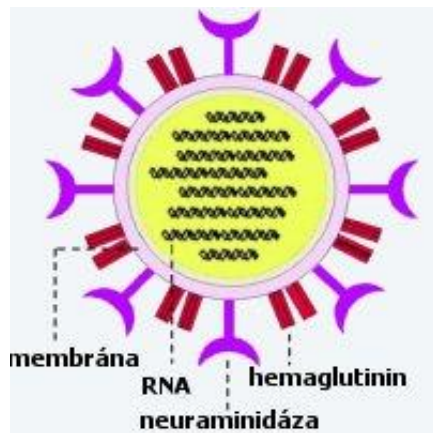
Buněčná biologie tkáňových systémů

- Biologie člověka pro gymnázia, I. Novotný, M. Hruška (Fortuna)
- Přehled anatomie, M. Elišková, O. Naňka (Nakladatelství Karolinum)
- Lékařská fyziologie, S. Trojan a kol. (Grada, Avicenum)
- Anatomie – I. Obecné základy anatomie, P. Petrovický (Nakladatelství Karolinum)

Buňka základ života

Znaky živých organizmů

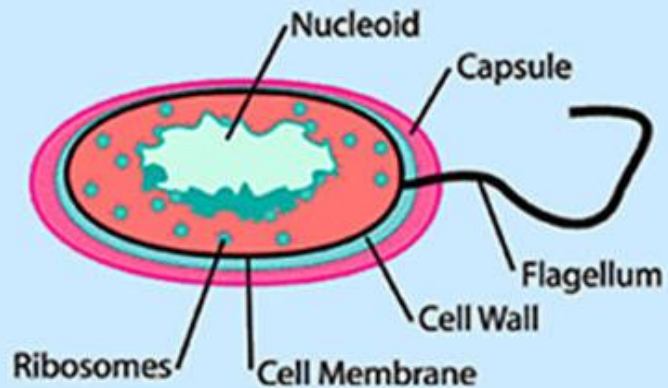
1. **Rozmnožování** – dědičnost, uchování genetického materiálu, oprava, mutace
2. **Metabolická funkce**, produkce proteinů
3. **Mezibuněčná komunikace**, chování buňky a její interakce s okolím



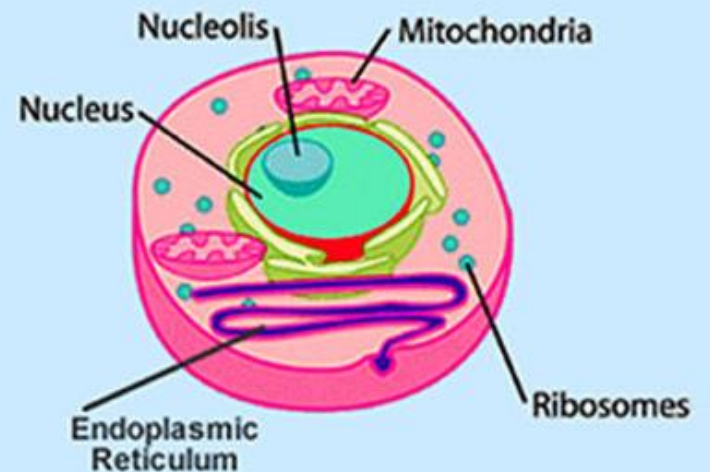
VIRY

Pomezí živé a
neživé přírody

PROKARYOTE



EUKARYOTE



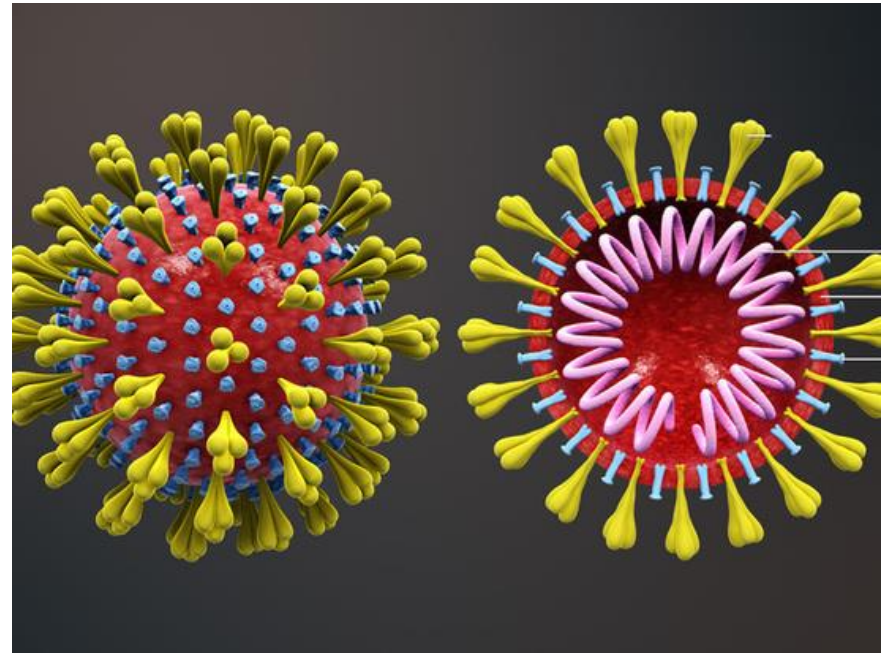
Viry

- Nebuněčné parazitické organizmy
- Jeden typ NK – DNA nebo RNA, jedno nebo dvě vlákna
 - DNA – transkripce a translace
 - RNA – může být jako mRNA – jen translace
- Využívají proteosyntetický aparát buňky
- Replikace své původní genetické informace – nové viriony

- Značně rozmanité co do velikosti a stavby

Viry - stavba

- Komplex bílkovin a nukleových kyselin
 - NK - virový genom
 - Bílkovinný obal – kapsida
 - Někdy ještě vnější membrána s glykoproteiny
 - Retroviry, koronaviry



Živočišná buňka

Genetický materiál - jádro

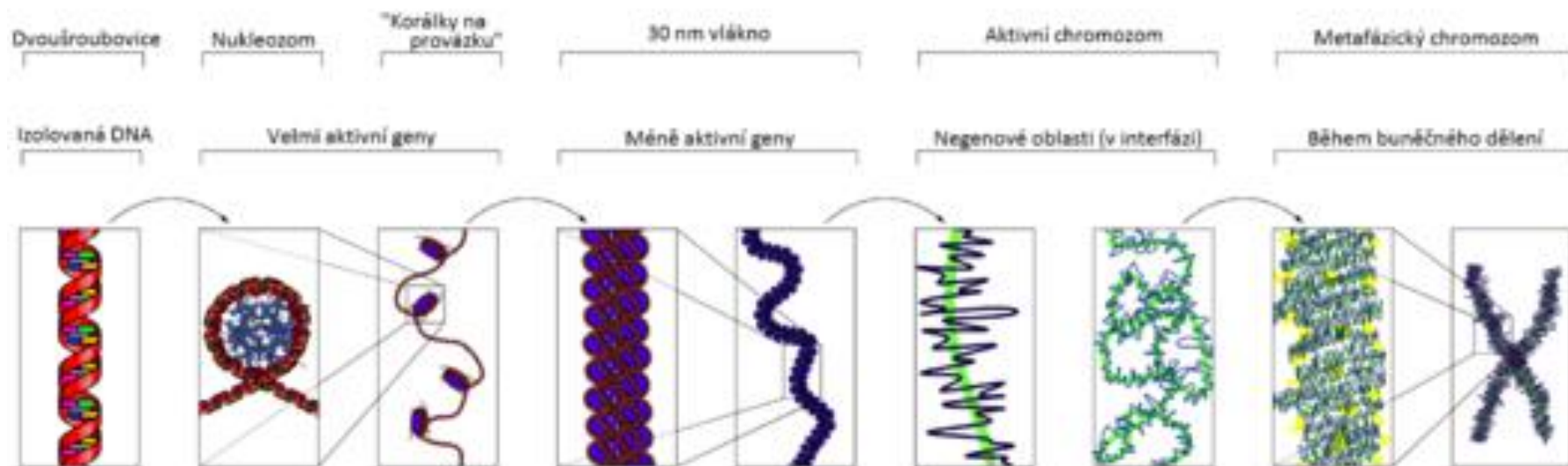
Nukleové kyseliny – DNA, RNA

DNA - 3×10^9 pb, 2 m, 20 000 genů

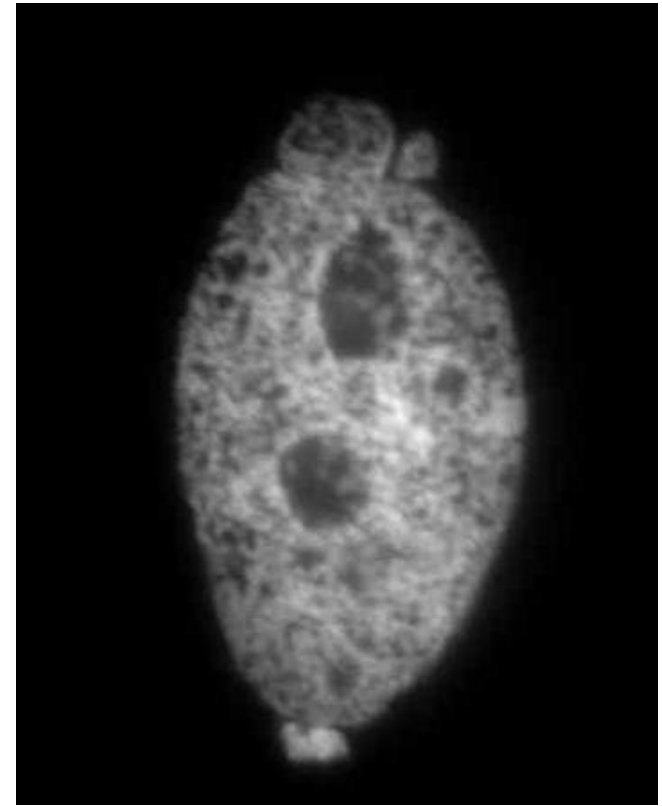
Chromatin – komplex DNA a histonů

Euchromatin x heterochromatin

pomocné proteiny – kondenzace 2 x 23 chromozomů



- Jaderná membrána
 - Vnitřní –vazba DNA + intermediární filamenta
 - Vnější – jako membrána ER, vazba ribozomů
 - Jaderné póry – transport látek přes membránu
- Karyoplazma, skelet, jadérka



Jadérka

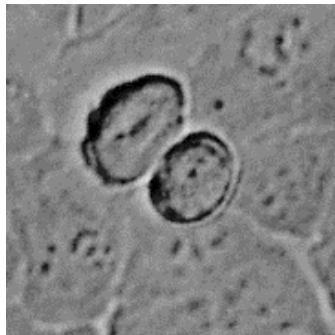
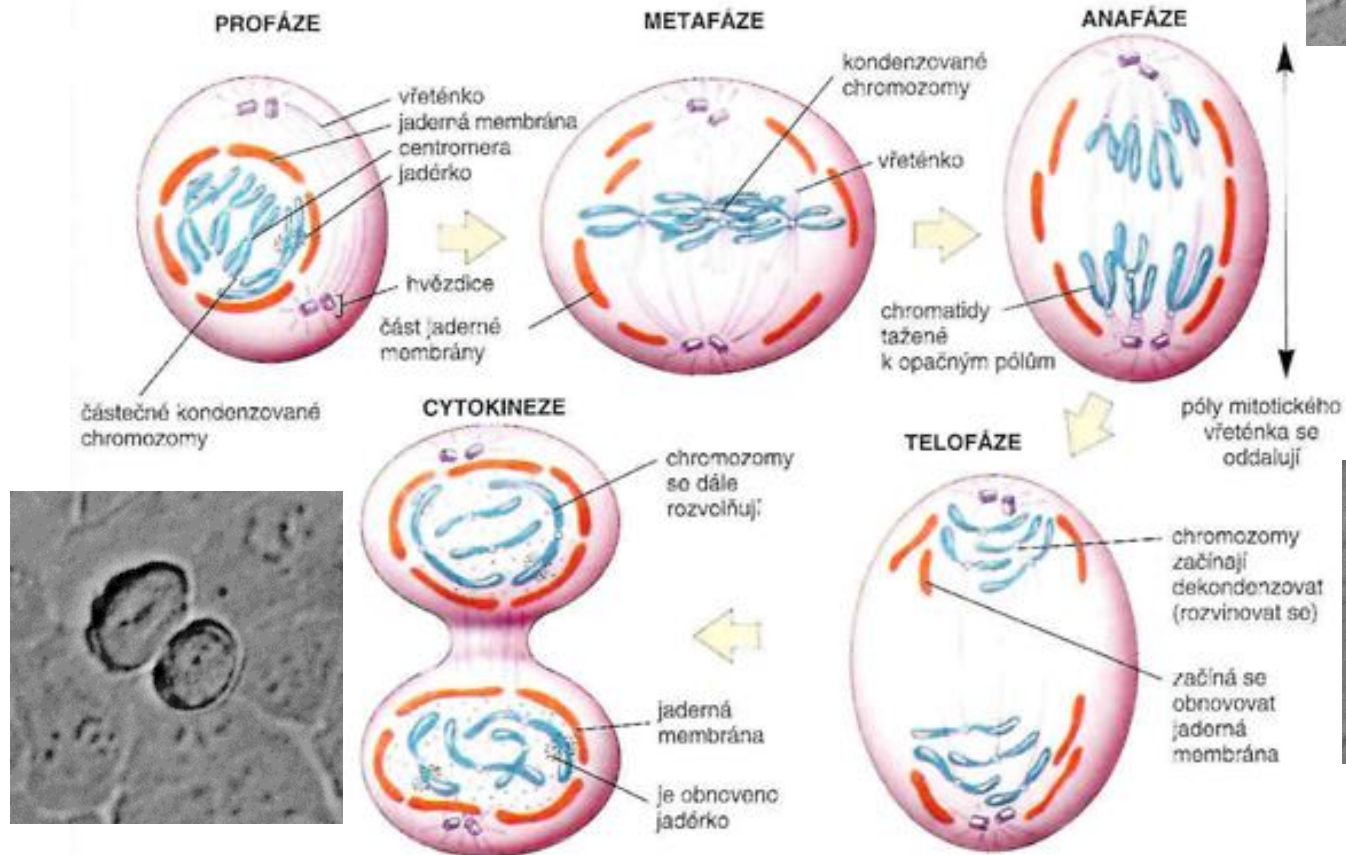
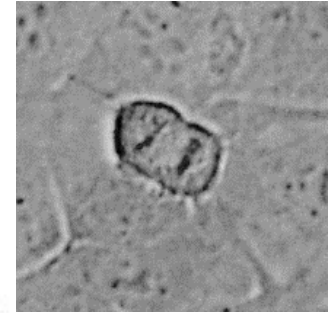
Funkční oblast v jádře - nemá membránu

Nahromaděna DNA akrocentrických chromozomů - obsahují geny pro rRNA

Syntéza rRNA – transport do cytoplasmy – do ribozomů

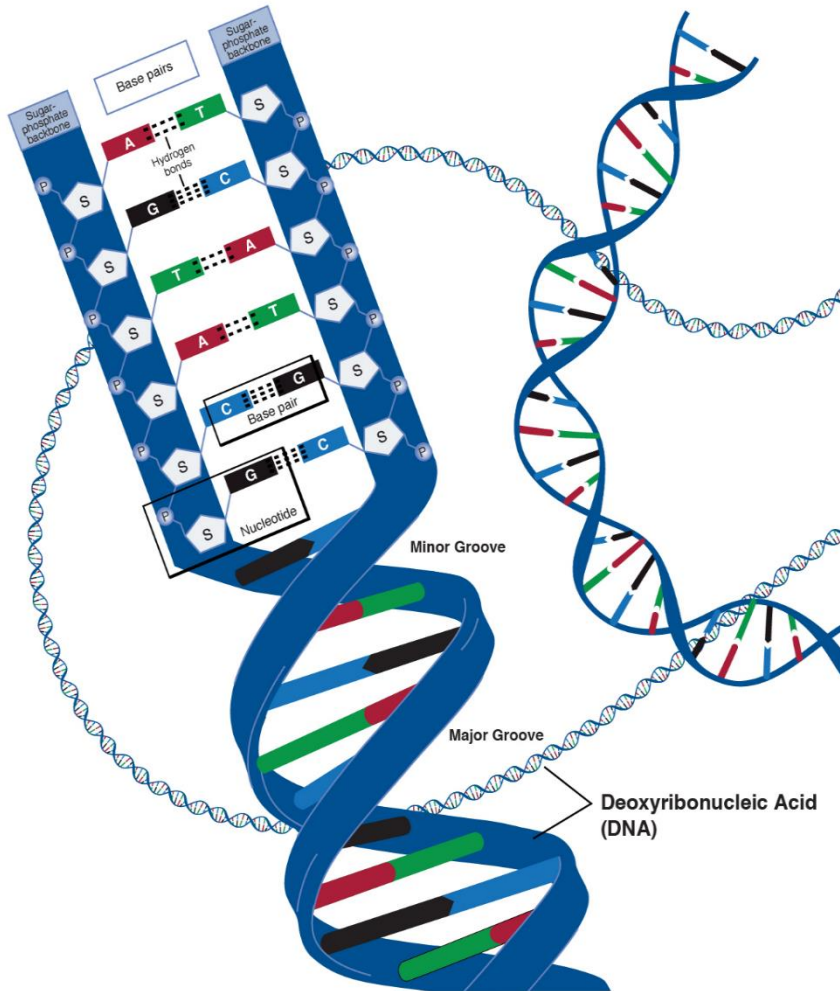
Replikace DNA → dělení buňky

Mitóza Meióza



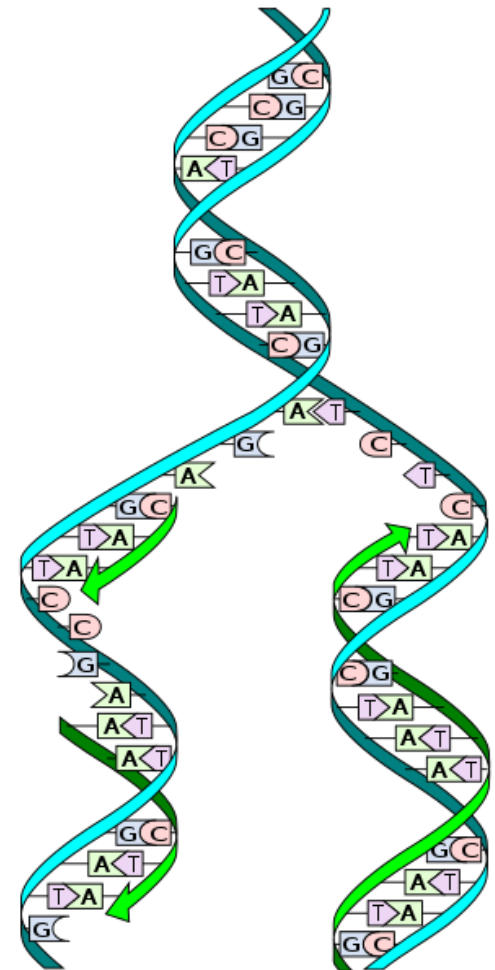
DNA

- Řetězec nukleotidů
 - Cukr deoxyribóza, fosfátová skupina, nukleová báze
- Purinové báze
 - Adenin, guanin
- Pyrimidinové báze
 - Cytosin, thymin



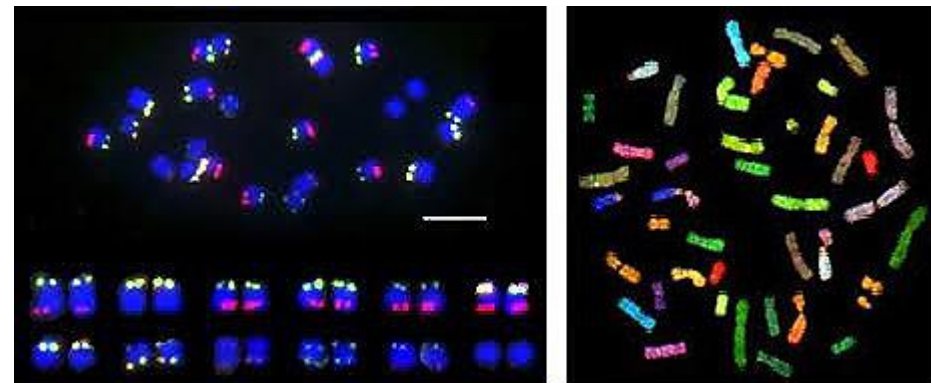
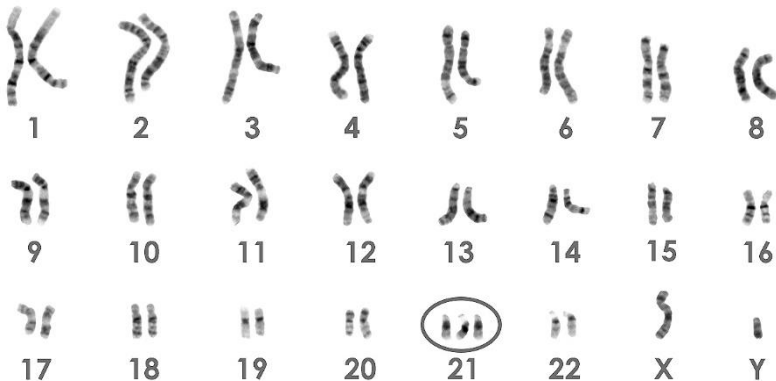
Replikace DNA

- Rozvinutí dvoušroubovice – odhalení bází
- Komplementarita – volné nukleotidy – nové vlákno - semikonzervativní replikace
- DNA polymeráza, replikace současně na více místech (10000)
- Při tomto procesu mohou vzniknout chyby – 1 na 10^7 nukleosidů
- Opravné procesy
- Vznik mutací (nežádoucích i žádoucích)
- S věkem počet mutací vzrůstá nádory
- Zkracování telomer, omezený počet dělení



Cytogenetické metody

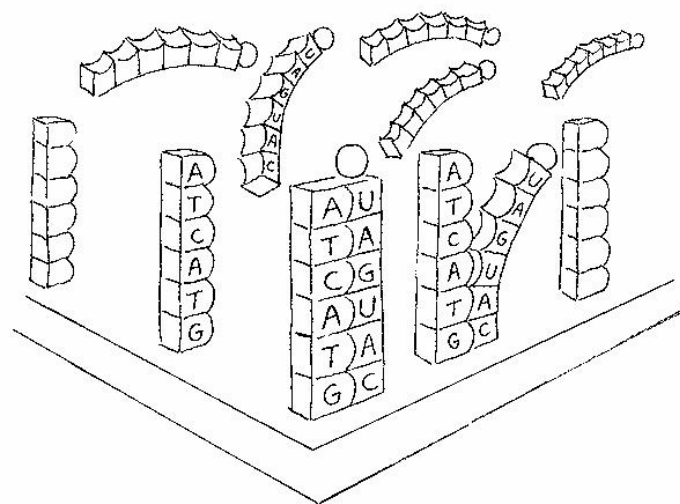
- Vyšetření karyotypu
 - Počet chromozomů
 - Zásadní chromozomální aberace
 - Vážné genetické poruchy, nádorové buňky
 - Fixace buněk v mitóze
- Fluorescenční in situ hybridizace – FISH
 - Fluorescenční sondy pro jednotlivé chromozomy
 - Citlivější a lépe hodnotitelné – mikródelece, translokace části chromozomů



- Testy DNA
 - Izolace DNA + přečištění
 - End-point PCR –
namnožení úseků DNA
 - Analýza – chromatografie,
ELFO
 - Real-time PCR -
kvantitativní sledování
daného úseku DNA
- Sekvenování – čtení
genetického kódu
 - Časově i finančně náročné,
přesná sekvence urč.
úseku

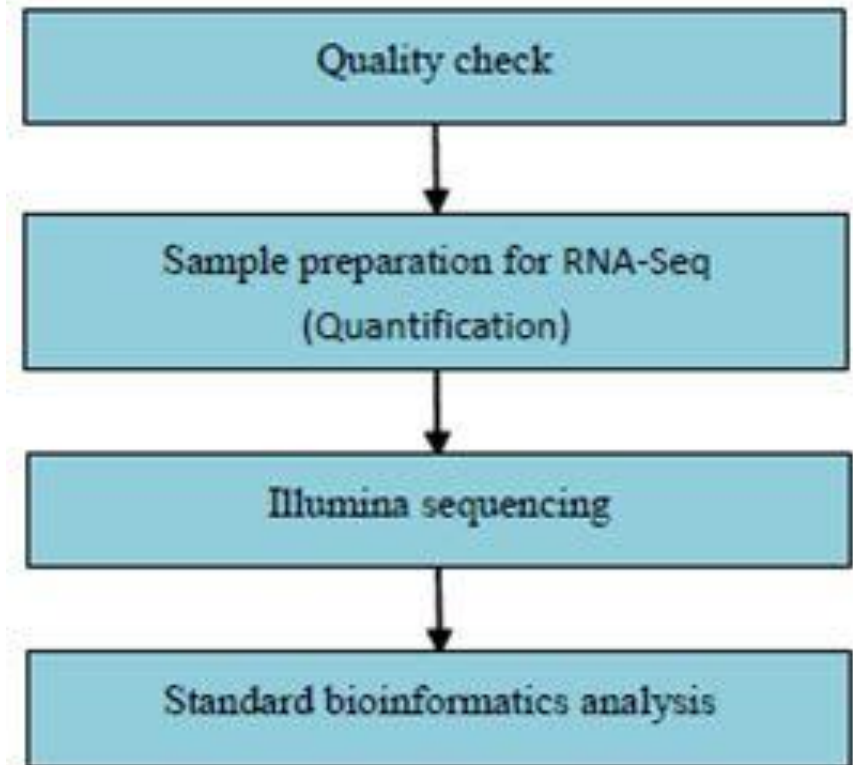
Genetická analýza

- Rozbor možných
genetických predispozic
 - Analýza na mikročipech,
hybridizace
(fragmentace) DNA
 - Bioinformatické
zpracování



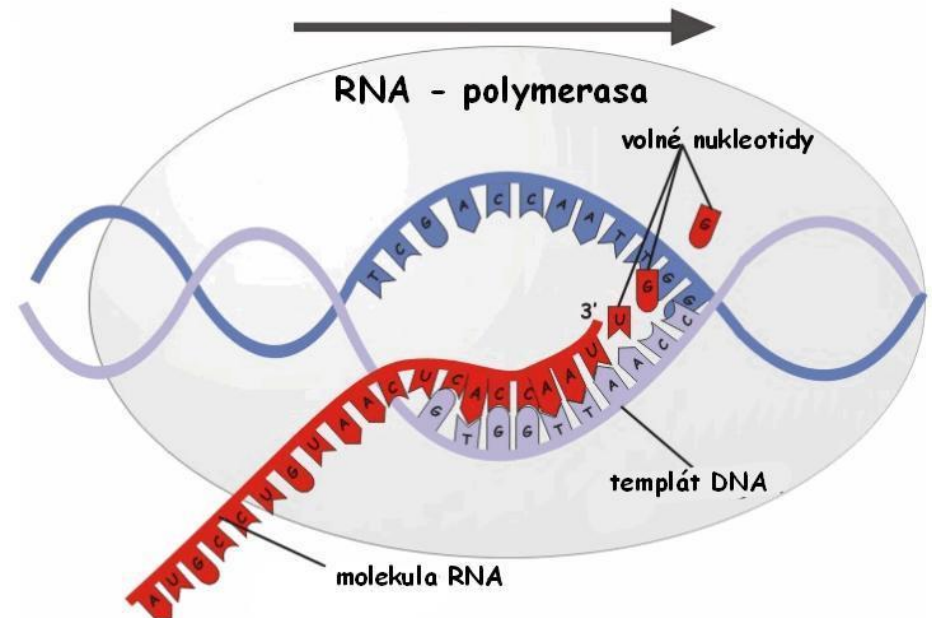
RNA sekvenování - kvantifikace

- Analýza genové exprese za určitých podmínek – vždy porovnání
- Základní lékařský výzkum
- Detekce biomarkerů
- Reakce na léky
- Vývoj léků

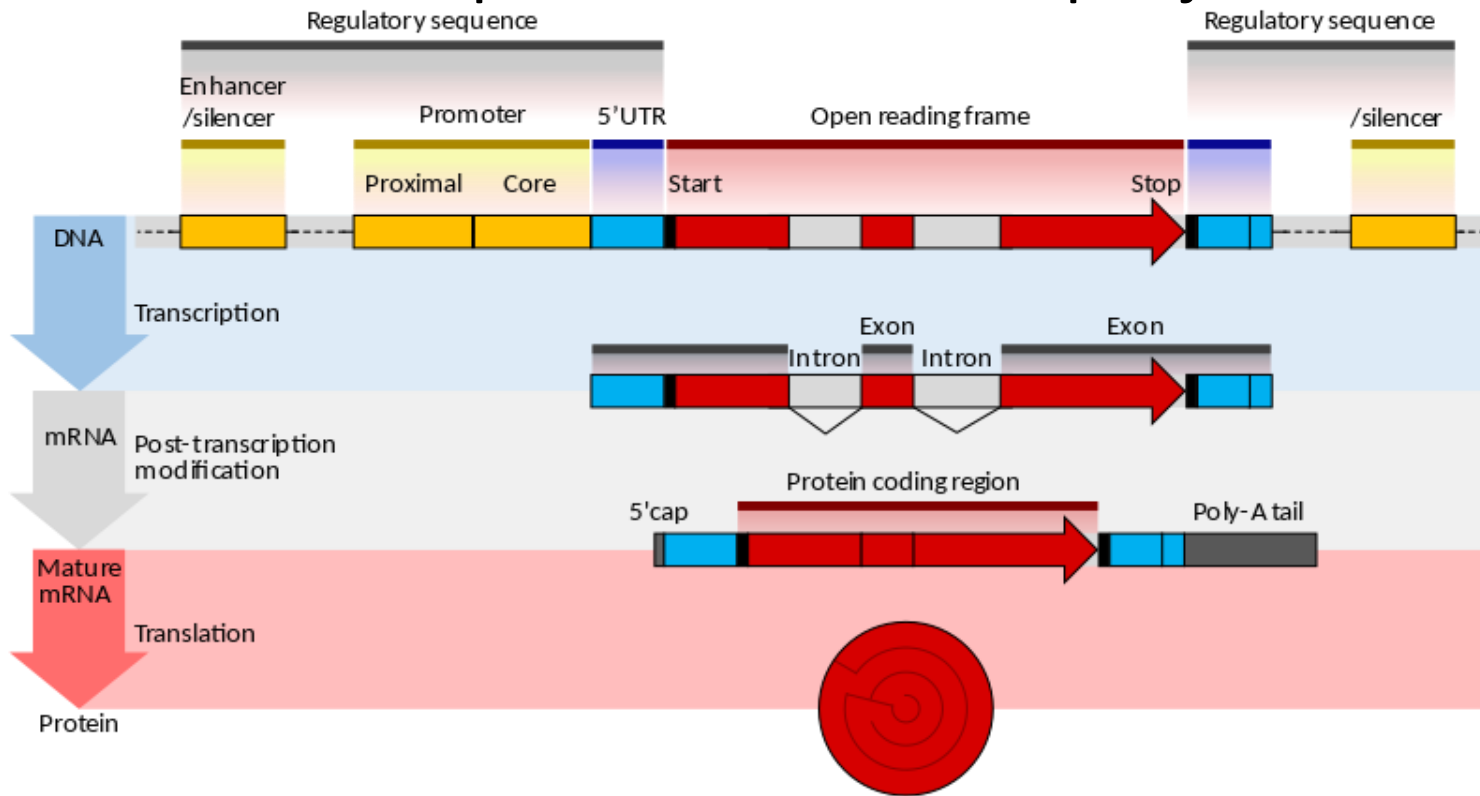


2. Produkce proteinů

- Transkripce DNA $\longrightarrow$ mRNA
- RNA polymeráza
- 1 vlákno DNA $\longrightarrow$ komplementární n. $\longrightarrow$ RNA
- adenin – uracil
- guanin – cytosin
- mRNA – jednovláknová

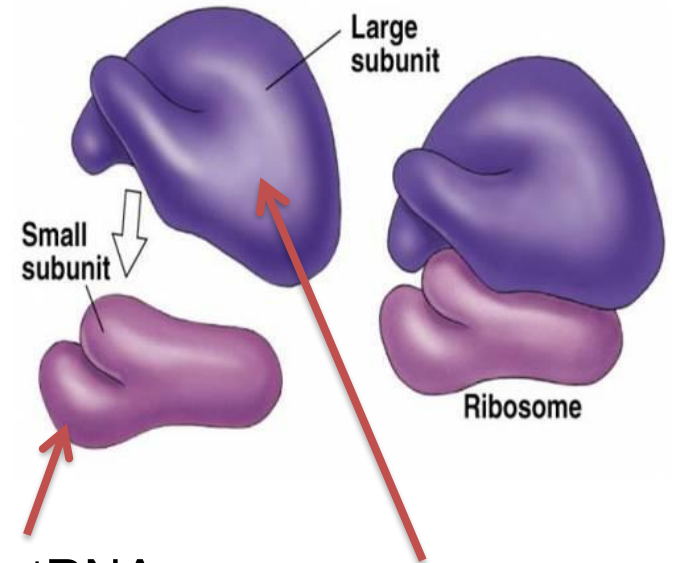
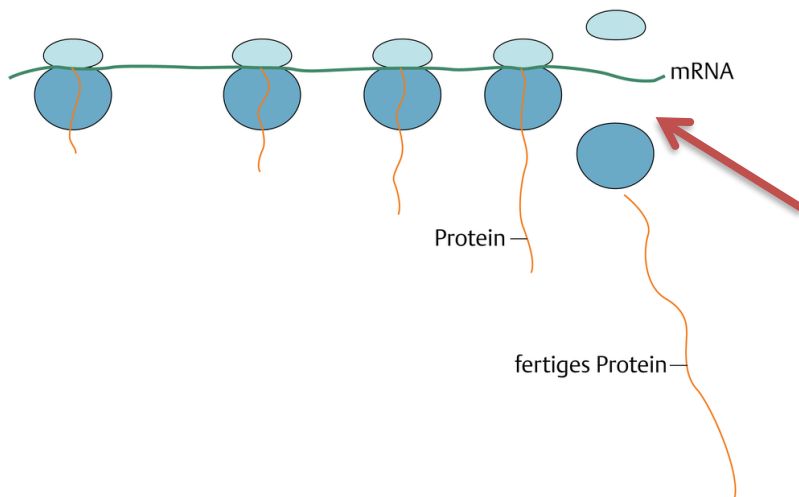


- Processing RNA – postranslační úpravy - **mRNA informační**
- Transport mRNA do cytosolu
- Tvorba a transport ribosomálních podjednotek



Translace

- mRNA → protein
- Ribozomy
- Nemají vlastní membránu
- Volně v cytoplazmě nebo uchycené na povrchu hrubého ER



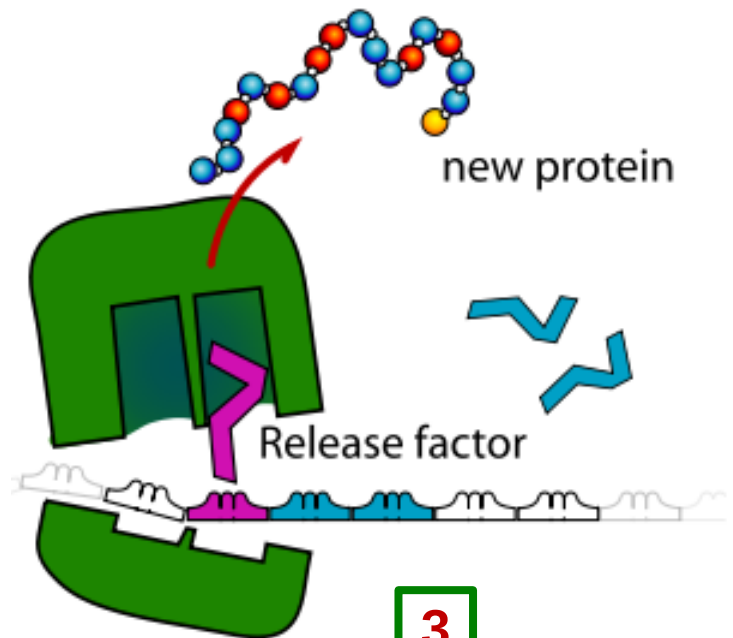
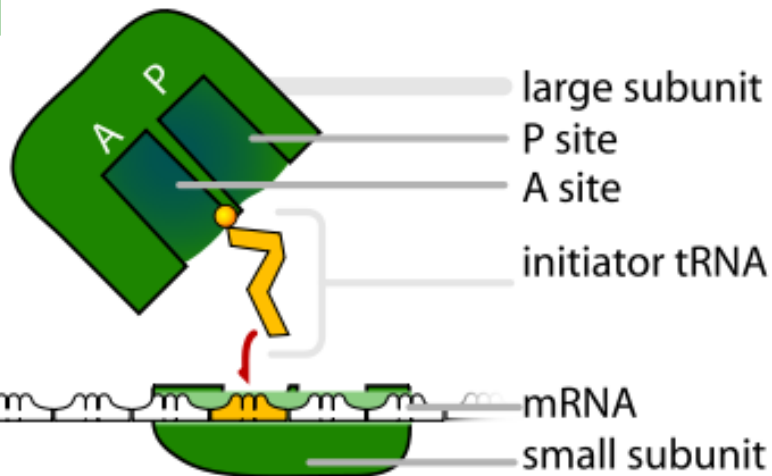
mRNA + tRNA +
aminokyseliny +
translační
faktory

katalytická
funkce rRNA—
peptidyltransfe-
ráza, vznik
peptidové vazby

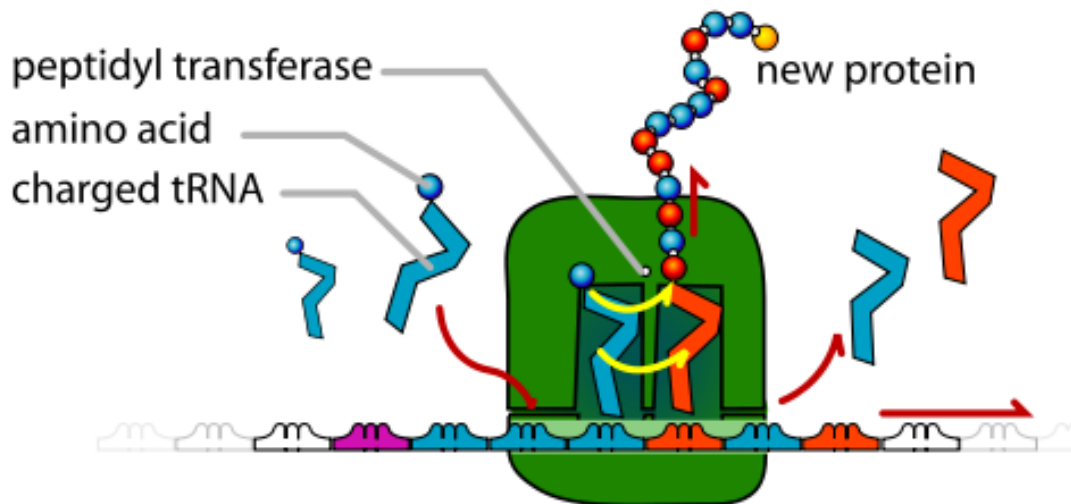
Při proteozyntéze se podjednotky
seskupují v ribozom a jsou
spřaženy pomocí mRNA v řetězec
polysom

Syntéza proteinů

1

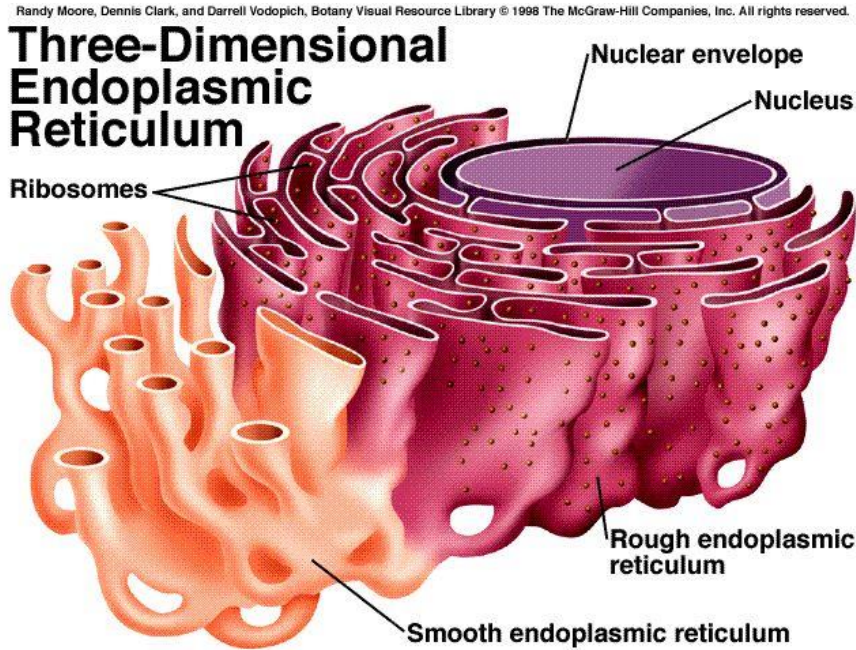


3



2

Posttranslační úpravy

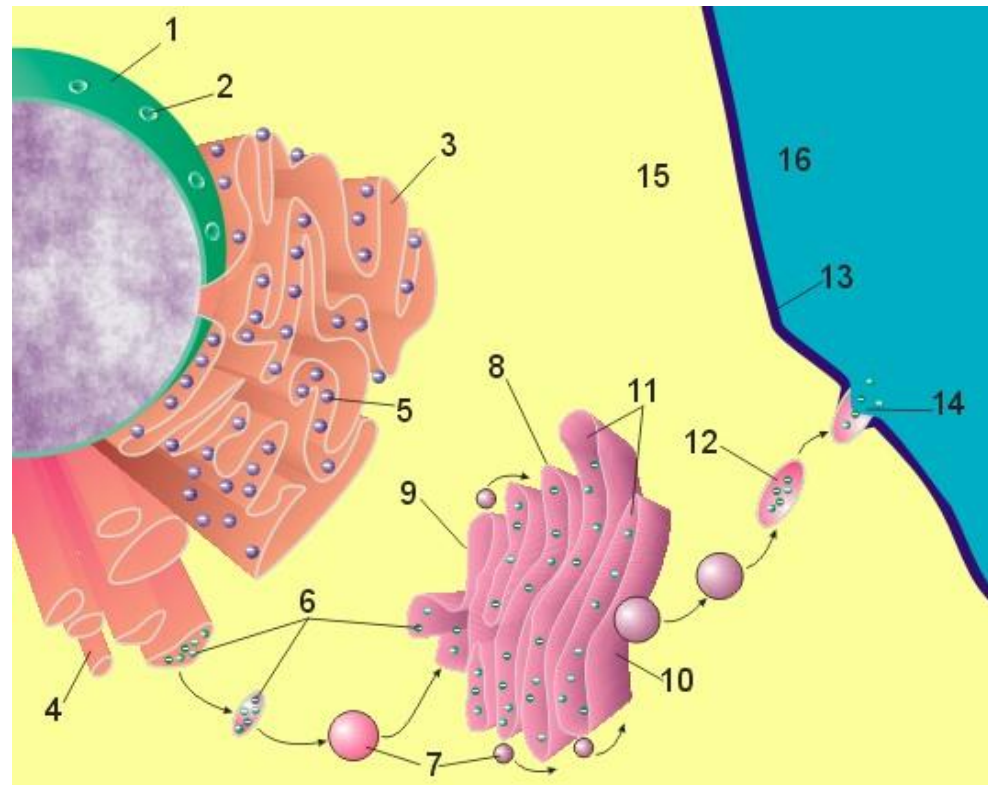


- Syntéza strukturálních i enzymatických bílkovin a jejich transport

- **Endoplasmatické retikulum**
- Největší orgán buňky, systém kanálků a cisteren
- Zvětšuje vnitřní povrch buňky- význam pro její metabolismus
- Napojeno na jádro a Golgiho aparát
- Drsné ER – syntéza bílkovin
- Hladké ER – odstraňování toxických látek, metabol. lipidů a hemu, Ca^{2+}

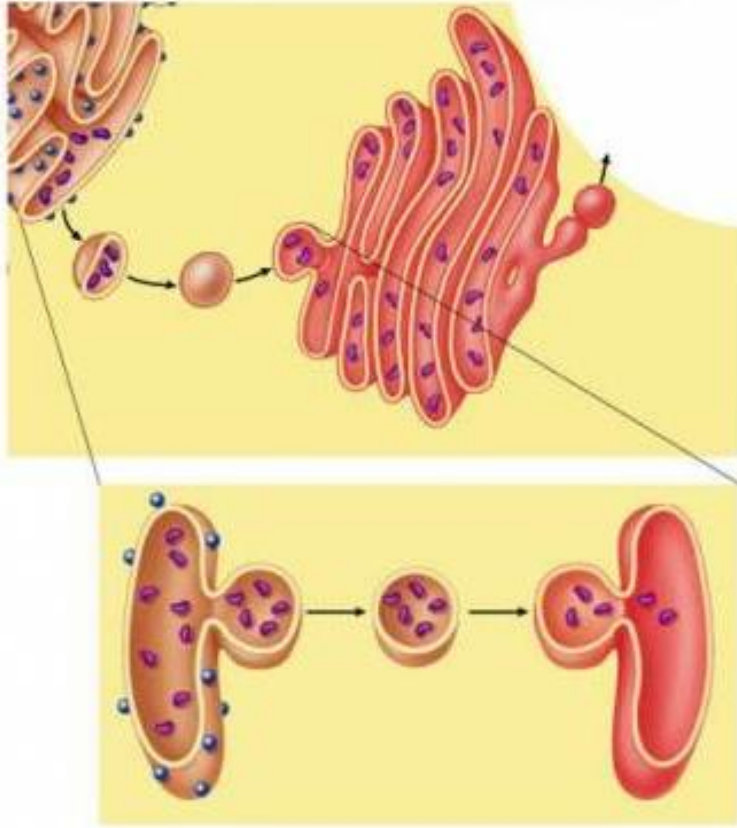
- **Translace do drsného retikula** - úpravy proteinů – na export
 - Vznik S-S můstků
 - Chaperony – **skládání proteinů do správného prostorového uspořádání**
 - Glykosylace – glykoproteiny
 - Připevnění membránových proteinů na GPI (glykofosfatidylinositol) kotvu  k cytopl. membráně
 - Rozložení proteinů, které se nepodařilo sbalit
- **Translace do cytoplasmy** – intracelulární využití

- **Golgiho komplex**
 - Soustava buněčných váčků, které slouží k úpravě, přechovávání a transportu bílkovin
- Posttranslační úpravy
 - Proteolytické štěpení
 - Navazování a odstraňování nebílkovinných složek
 - Syntéza polysacharidů



Syntéza imunoglobulinů
Váčky pro exocytózu
Materiál pro buněčné
stěny

Vezikuly

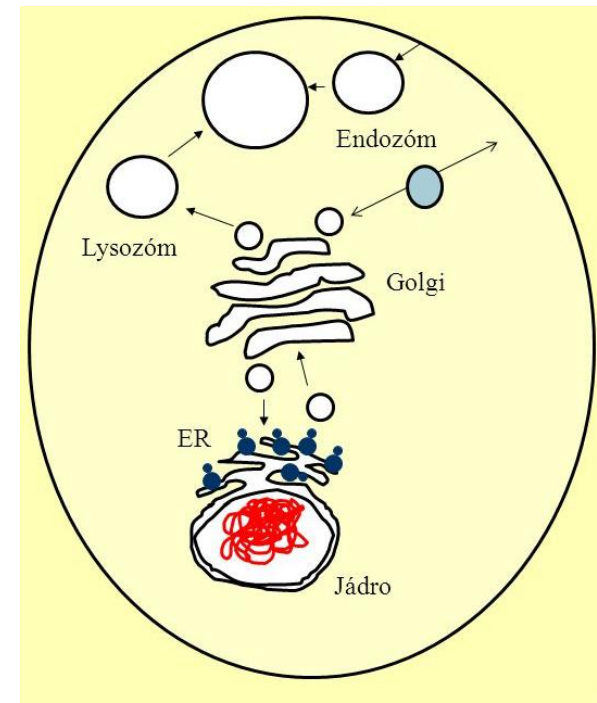


Transportní váčky

- Vnitrobuněčná struktura, fosfolipidová membrána
- Skladování a transport látek
- Někdy enzymy – další úprava proteinů či jejich trávení
- Exocytózou z membránových struktur
- Naplněny proteiny – určují jejich cíl

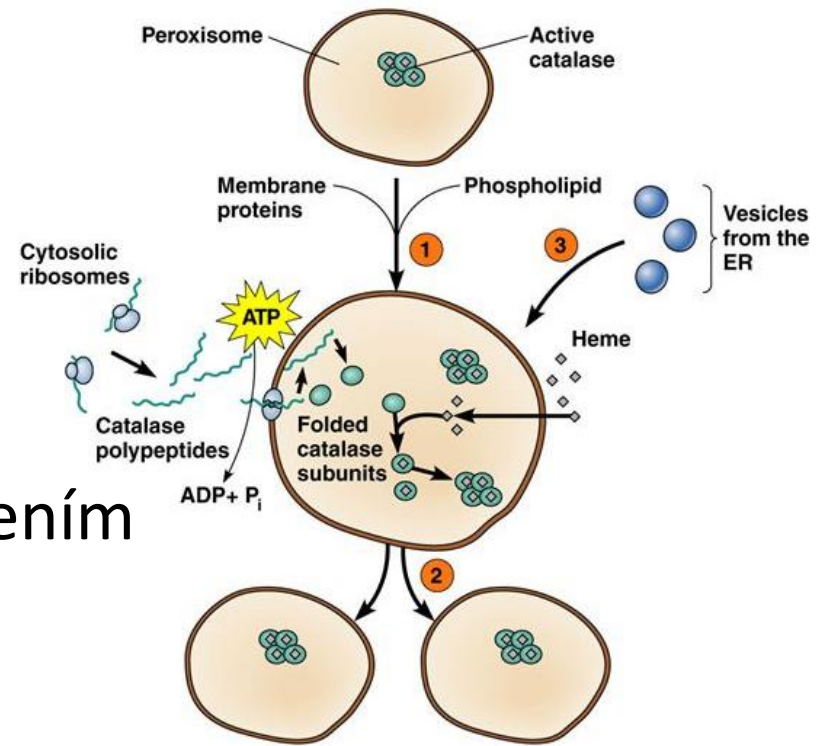
Mikrotělíška: Lyzozomy

- Z hladkého ER či GA
- Hydrolytická degradace org. látek (cukry, tuky bílkoviny, cca 50 enzymů, pH 5)
 - Primární l. - jen hydrolázy
 - Sekundární l. – hydrolázy + materiál
 - Terciární l. – materiál, který nelze rozložit
 - V buňce – lipofuscin
 - Z buňky ven
- Autofagie – likvidace opotřeb. struktur
- Narušené buňky - narušení lysozomů – autolýza
- Lyzozomální onemocnění
 - Vrozená – hromadění materiálu, CNS, makrofágy
 - Získaná

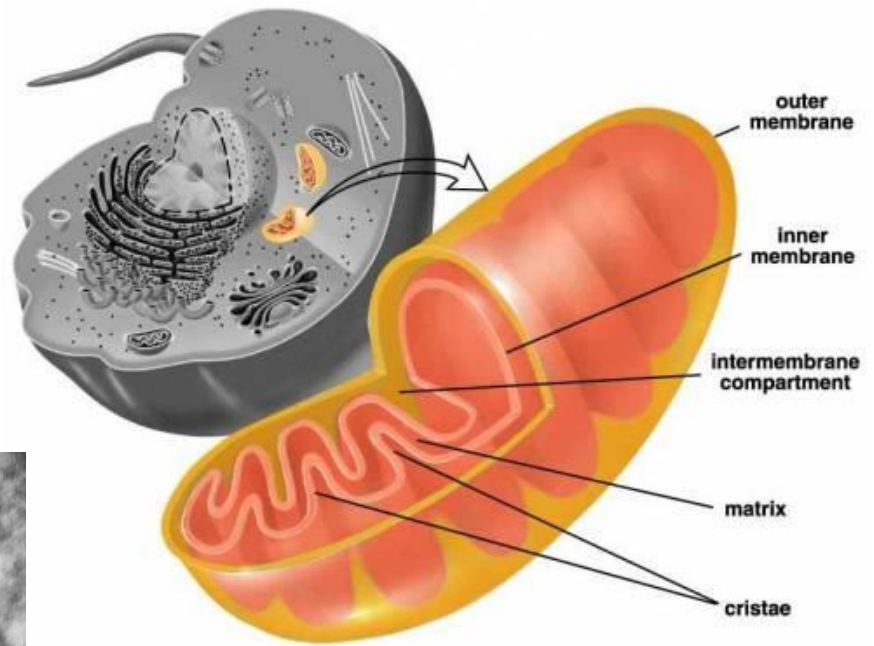
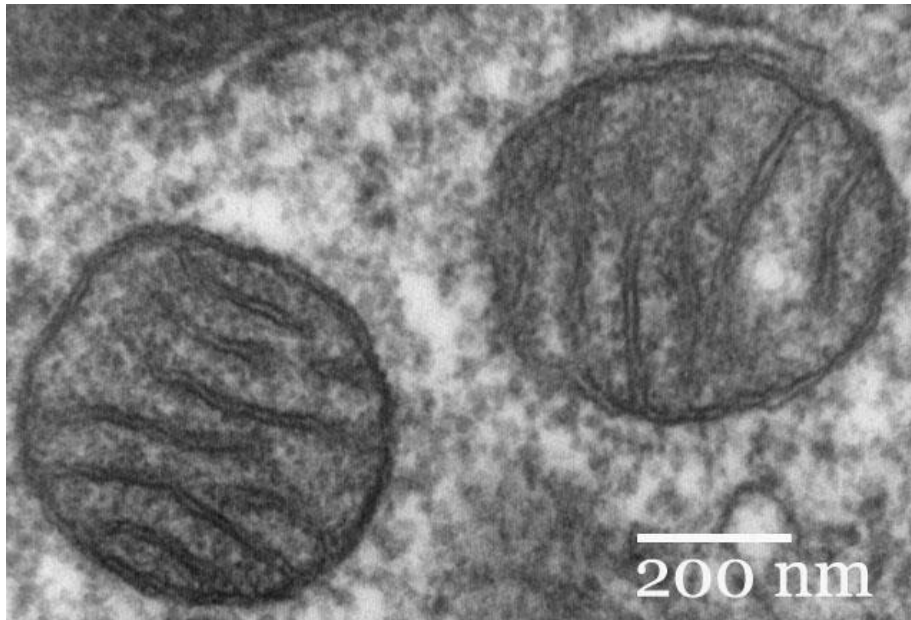


Peroxisomy

- Metabolické dráhy
- Likvidace jedovatých substancí
- Jednoduchý obal, množení dělením
- Sít' (játra) nebo jednotlivě
- Metabolismus lipidů
 - Degradativní oxidace MK
 - Tvorba žlučových kyselin, cholesterolu
 - Detoxikace O radikálů
- Bílkoviny z cytosolických ribozomů – PTS značka – „patřím do peroxizomu“ – vstup přes specializovaný receptor



Mitochondrie



Zdroj energie v buňce

Výroba ATP

Mitochondrie

- Semiautonomní organela
- Evolučně připomínají bakterie
- Vnější membrána – hodně propustná, látky 5 kDa , transport proteinů z cytosolu přes speciální komplex
- Mezimembránový prostor – podobný cytosolu, málo proteinů
- Vnitřní membrána – velká plocha, kristy;
 - speciální stavba, téměř nepropouští ionty
 - zásadní pro metabolické pochody
- Matrix – hustá, bohatá na proteiny (enzymy), Ca; DNA, RNA, ribozomy

Mitochondrie - funkce

- Metabolické pochody – buněčné dýchání, rozklad látek (ne glykolýza!), energie pro výrobu ATP
 - **Krebsův cyklus** – matrix mitochondrie – propojen s dalšími drahami energetického metabolismu
 - **dýchací řetězec** – rozklad org. látek (pyruvát, MK) - **syntéza ATP**
 - Glukoneogeneze, transaminace a deaminace AMK, β -oxidace mastných kyselin
- Řídí buněčný cyklus, diferenciaci buněk, buněčnou smrt
- V tukové tkáni - produkce tepla
- Zásobárna Ca – vnitřní homeostáza buňky

Mitochondrie

- Zmnožení mitochondrií – tam kde jsou velké energetické nároky - kosterní, srdeční sval, mozek
- Mitochondriální DNA
 - Pozůstatek genomu bakterií, některé geny přešly do jádra
 - Kóduje některé proteiny v mitochondriích (většina import z cytoplazmy)
- mtDNA – dědí se pouze po matce
 - Mitochondriální Eva -společný předek, před 140000 lety

Mitochondrie

- Poškození mtDNA O radikály + stárnutí - mutace ↪

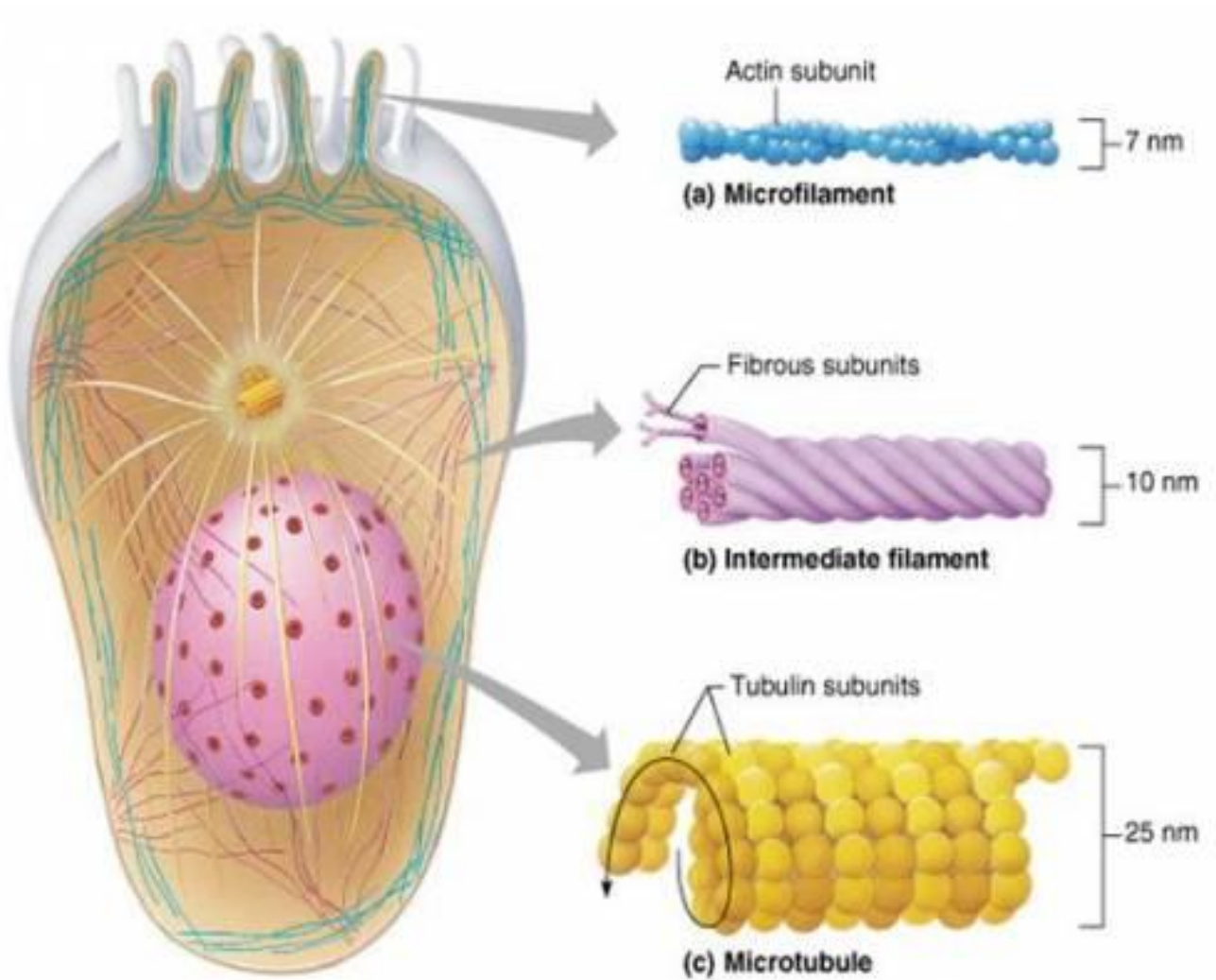
Selektivní degradace mitochondrií

Parkinsonova choroba?

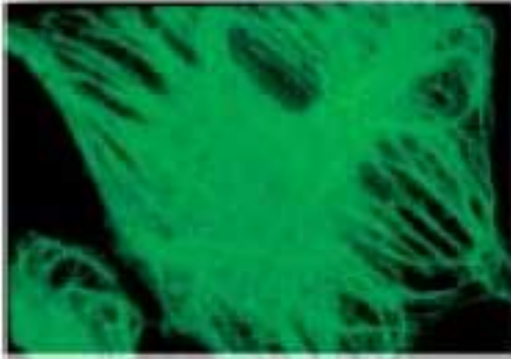
- Mitochondriální onemocnění - mutace v jaderné DNA, mtDNA – poruchy oxidativní fosforylace
 - Degenerativní onemocnění – poškození mozku, myopatie, encefalomyopatie
 - Poruchy zraku (nerv, okohybné svaly)
 - Poruchy ledvin a endokrinních žláz



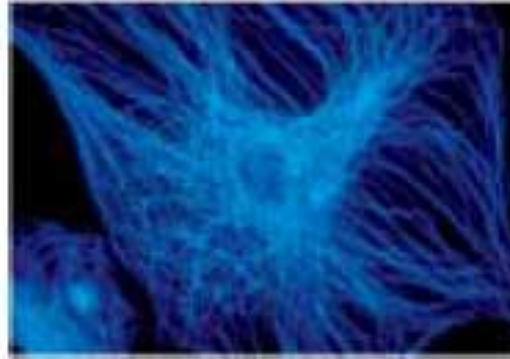
Cytoskeleton



intermediárne filamenty



mikrotubuly



mikrofilamenty

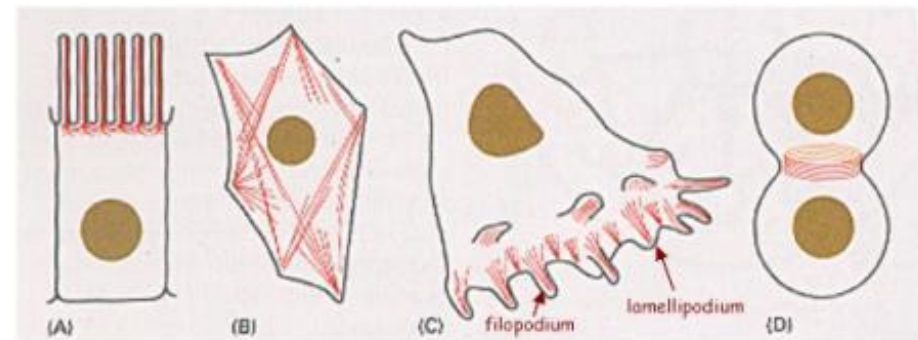
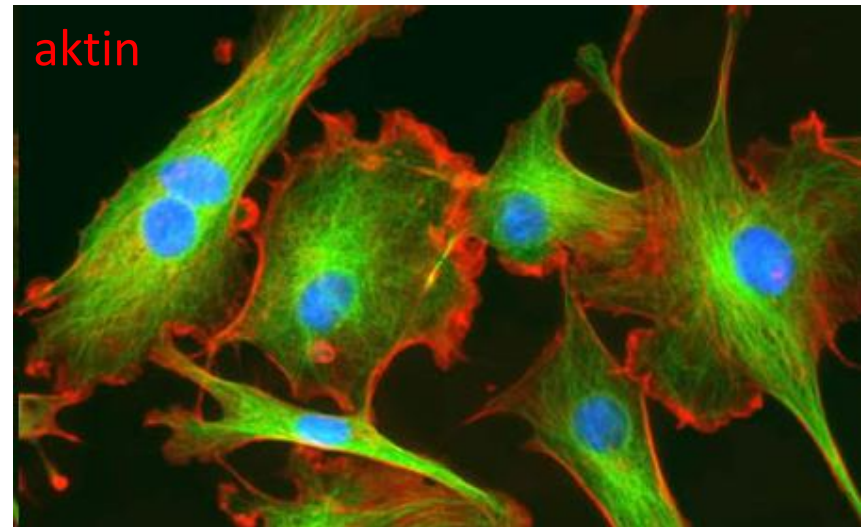


Obr. Vizualizácia cytoskeletu pomocou fluorescenčného mikroskopu

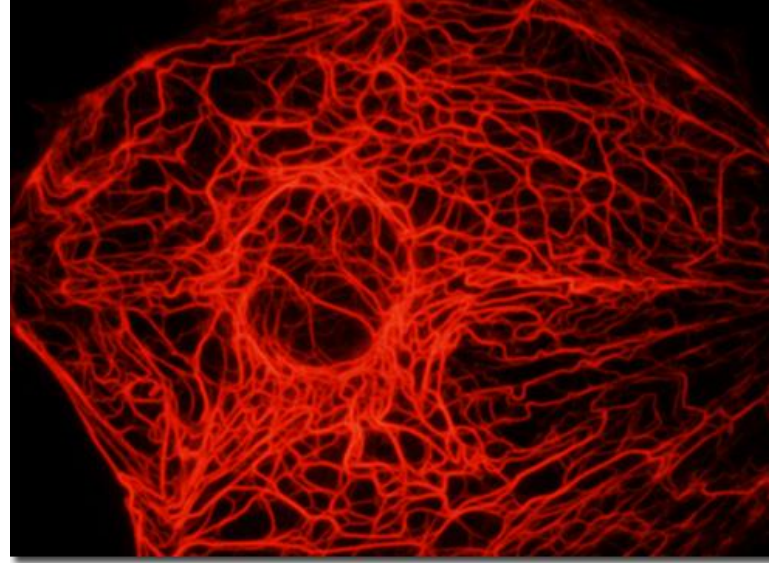
- Dynamický systém proteinových vlákien a tubulů
- Vlákna cytoskeletu – nosná štruktúra
- Asociované proteíny – pripojené na cytoskelet, plní funkcie
- Opora bunky
- Transport látok
- Buněčné dělení
- Ukotvení transmembránových receptorů

Mikrofilamenta

- Hustá síť pod povrchem
- Krátká, pružná – vytvářejí stresová vlákna
- **Aktin** (tenká v.)
- Asociován s myosinem (silná v.)
- Slouží k pohybu buňky
- K pohybu váčků a struktur uvnitř buňky
- mikrovilky enterocytů
- hladká svalovina
- buňky tvořící panožky
- buněčném dělení

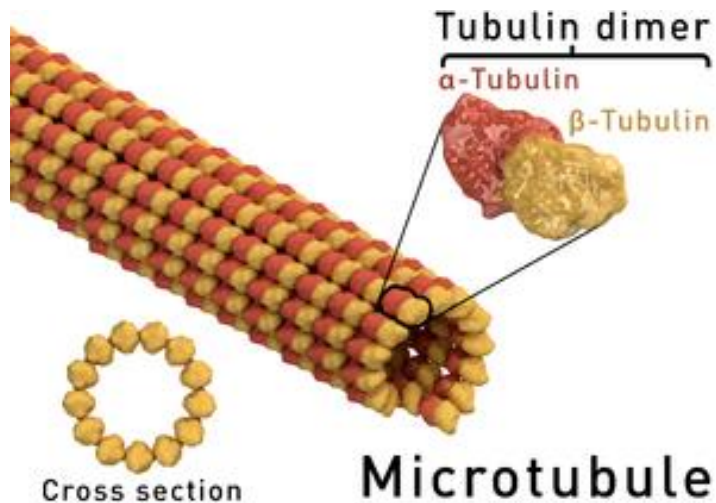


Střední (intermediární) filamenta



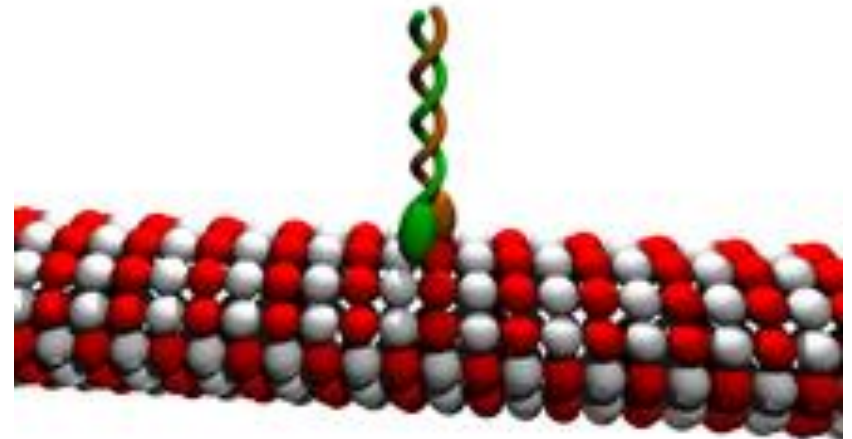
- Poskytují mechanickou pevnost
- Silná vlákna, neschopná kontrakce, pevnost v tahu, charakteristická pro typ buňky
- Kolem jádra, cytoplasmatická síť
- Ukotvení v desmozomech – mezibuněčné s.
- V jádře – jaderná lamina

- Dutý útvar z tubulinů, 13 protofilament
- 2 různé jednotky – α (disociace) a β (syntéza)
- α konec -, β +
- Ukotveny v centrozómu
- Dynamická nestabilita



Mikrotubuly

- Transport struktur a látek po buňce
- Kineziny (k +) a dineiny (k -) – spotřeba ATP
- Vazba – uvolnění z vazby – změna konformace



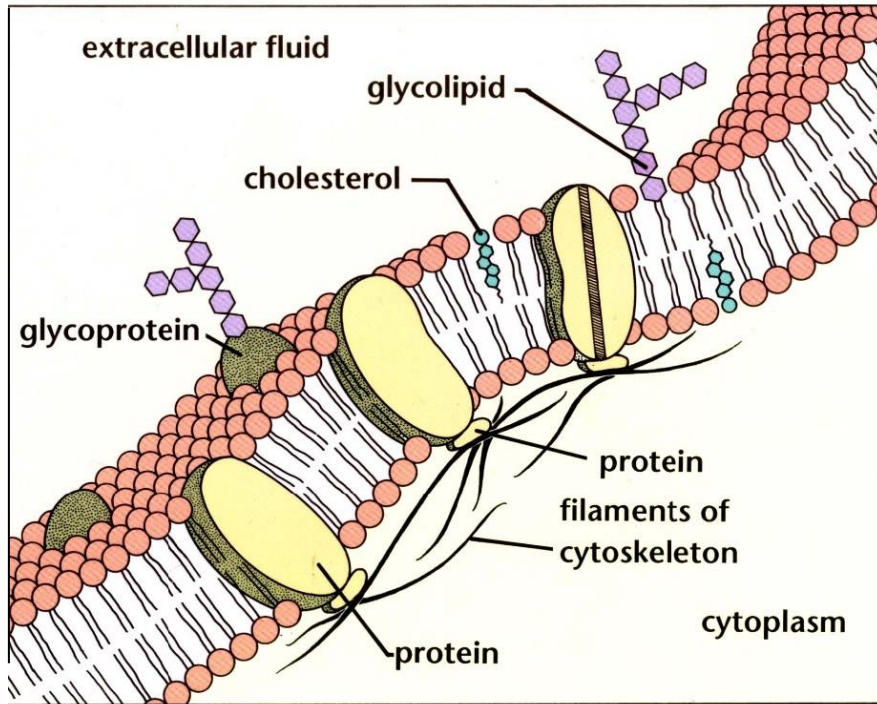
Cytoplazma

- Vnitřní prostředí buňky (bez jádra)
- Umožňuje součinnost všech organel buňky
- Tekutá hmota - cytosol
- Voda (75-80 %), bílkoviny, tuky, cukry a soli
- Bílkoviny tvoří koloidní soustavu – v různých funkčních stavech se může měnit viskozita cytosolu
- Studium proteinového složení vnitřního prostředí buňky - proteomika

Buněčné inkluze

- Produkty buněčné látkové výměny, které se dočasně nebo trvale ukládají v cytoplazmě
- Endogenní – vznikají prvotně v buňce
 - Kapénky tuku
 - Polysacharid glykogen (jaterní, svalové buňky)
 - Bílkoviny
 - Pigmenty
 - Rozpad hemoglobinu
 - Melanin
 - Lipofuscin – pigment z opotřebování
- Exogenní - buňka přijímá z okolí (fagocytóza)
 - Prach a saze

Cytoplazmatická membrána



- Dvě vrstvy fosfolipidů
- Fosfolipidové molekuly jsou bipolární – hydrofilní konce jsou na povrchu dvojvrstvy, hydrofobní směřují dovnitř
- Proteiny, cholesterol

Polotekutá

Selektivně permeabilní

Ochrana před vnějšími vlivy

Cytoplazmatická membrána

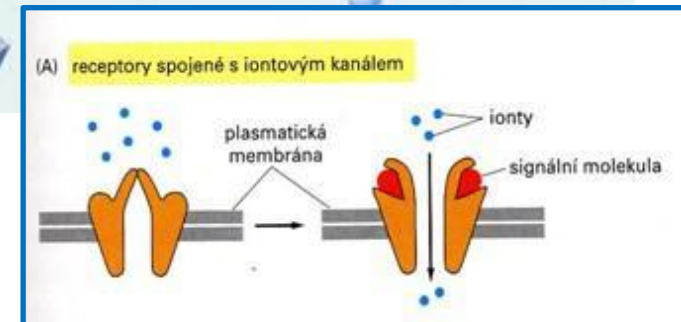
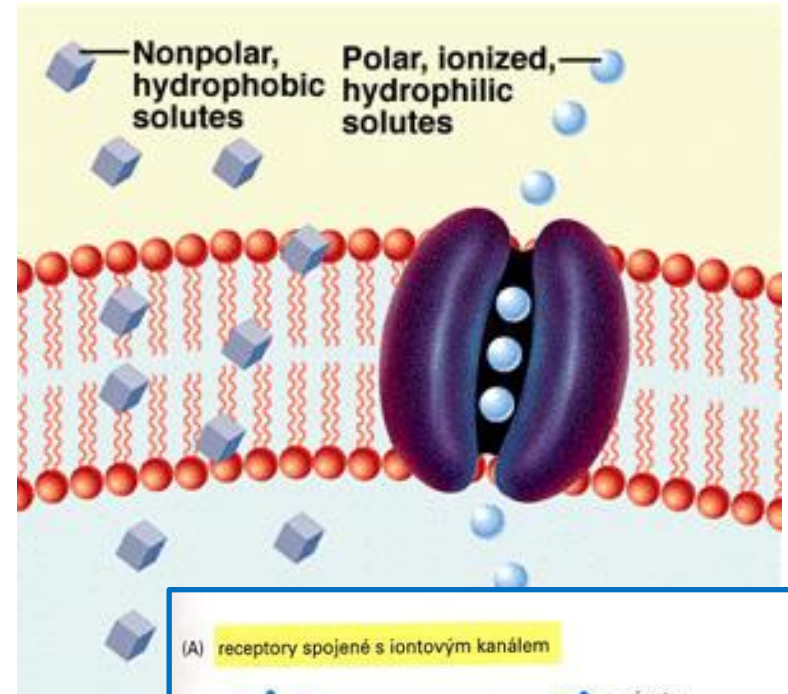
- Buněčná adheze
 - Výměna iontů
 - Buněčná signalizace
 - Ukotvení cytoskeletu
 - Tvar buňky
 - Uchycení k ECM
 - Formování tkání
 - Průnik látek přes membránu
- Organely vyčnívající z buňky – přesahující cytoskelet
 - Cílie – řasinky - mikrotubuly
 - Filopodia – panožky - aktin
 - Mikroklky – aktin



Průchod látek membránou - pasivní

1. Prostá difuze

- buňka ji nereguluje - po koncentračním spádu
- probíhá do vyrovnání koncentrace
- plyny, molekuly lipofilní povahy, elektrolyty
- závisí na koncentračním spádu, na teplotě, na velikosti molekuly



Transmembránové kanály

iontové kanály (Na, K ionty)

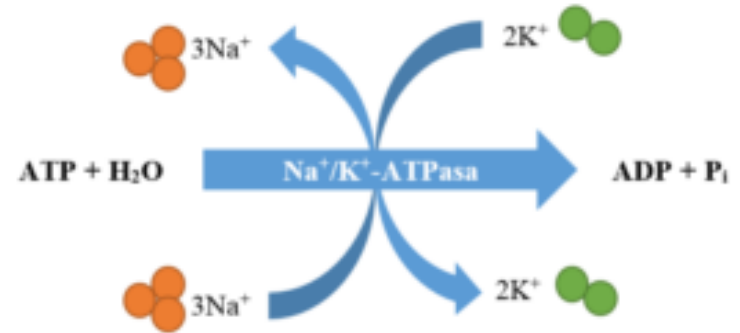
2. Usnadněná difuze

- dočasné spojení přenášené látky s "nosičem"
- komplex je rozpustný v lipoidní vrstvě membrány a šíří se jí po koncentračním spádu
- bez spotřeby energie
- aminokyseliny, mono a disacharidy, fosfátové ionty

Aktivní transport

- Vytváří koncentrační gradient
- Spotřeba energie
- Vysoce selektivní proces, který je omezen na určité úseky membrány
- Primární transport – proti gradientu, v opačném směru než jednoduchá či usnadněná difuze
- Sekundární transport – spojuje pohyb několika molekul
 - Symport – stejně
 - Antiport - proti

Membránová pumpa

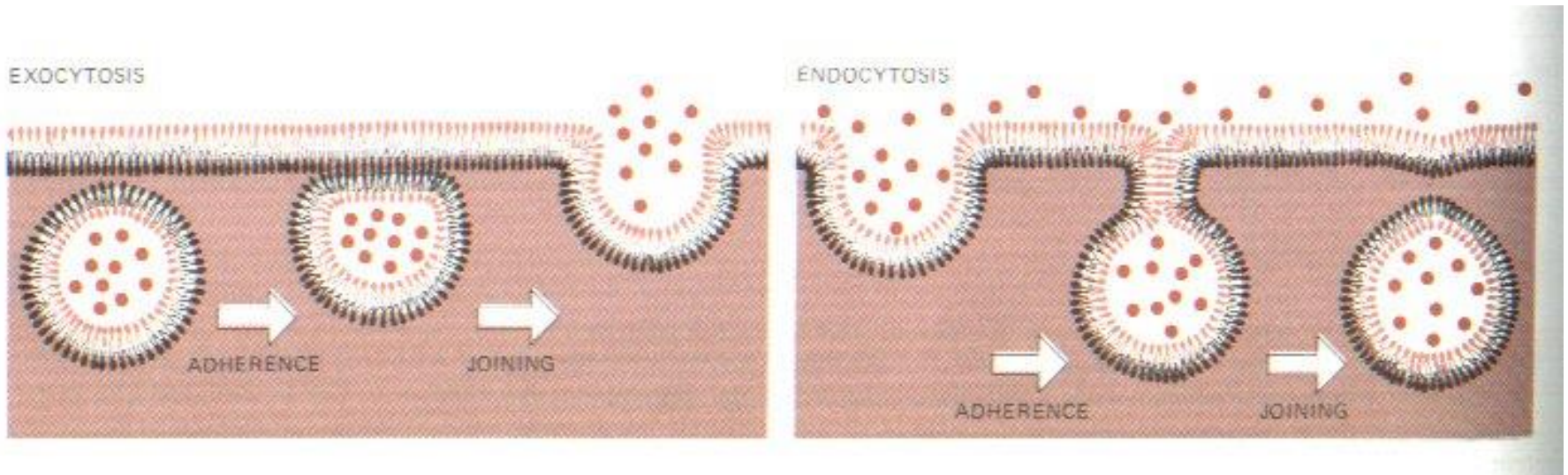


protein na buněčné membráně, aktivní transport,
spotřeba ATP (ATPázy)

- sodíko-draslíková pumpa
- protonová pumpa
- Ca²⁺ pumpa v membránách organel - svalové vlákno
- vstřebávání živin v trávicí soustavě střevním epitelem
- vstřebávání odpadních látek z krve exkrečními epitelem v ledvinách

Endocytóza – dovnitř buňky (fagocytóza, pinocytóza, endocytóza zprostředkovaná receptorem)

Exocytóza – látka se dostává z buňky ven

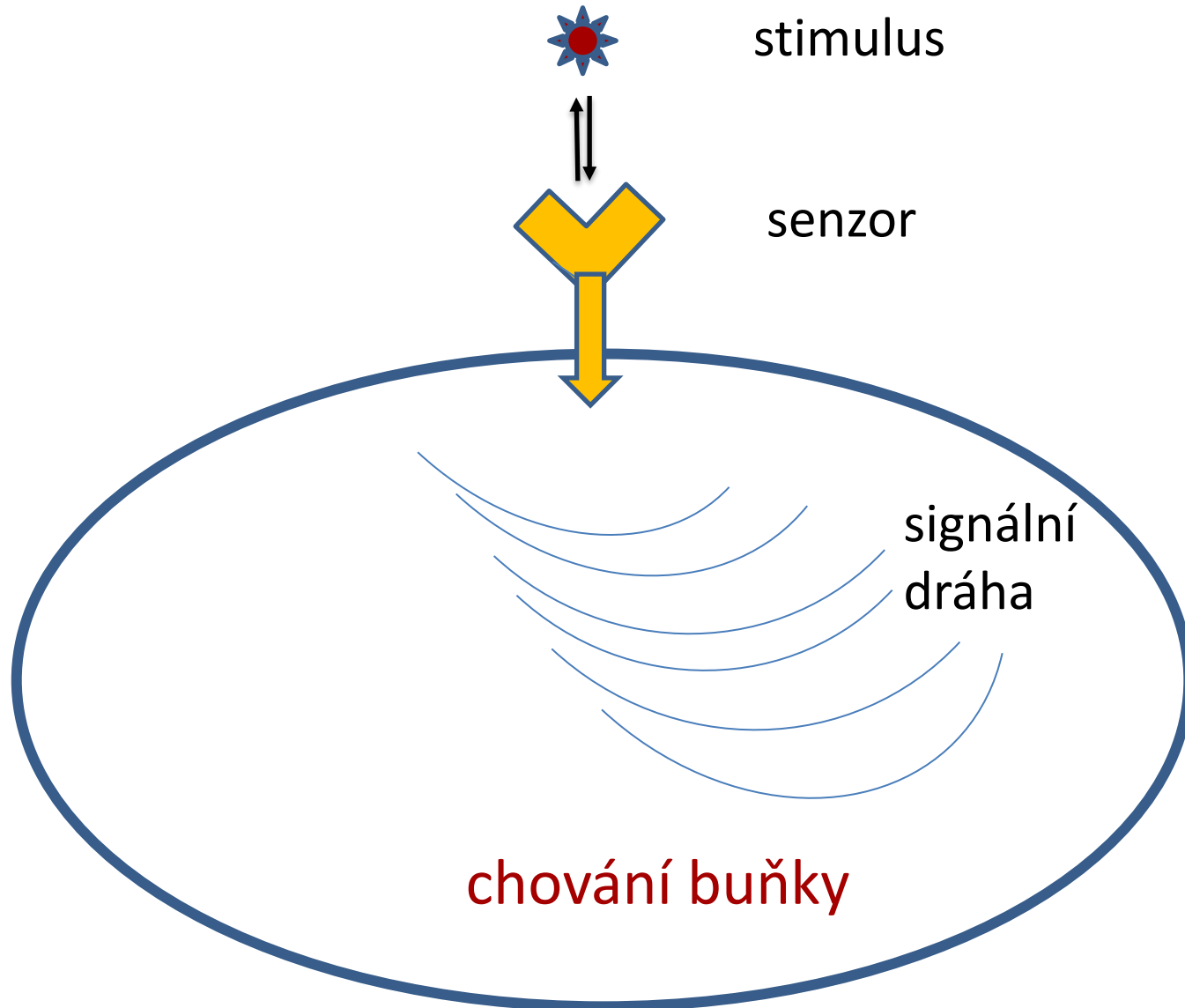


3. Komunikace s okolím

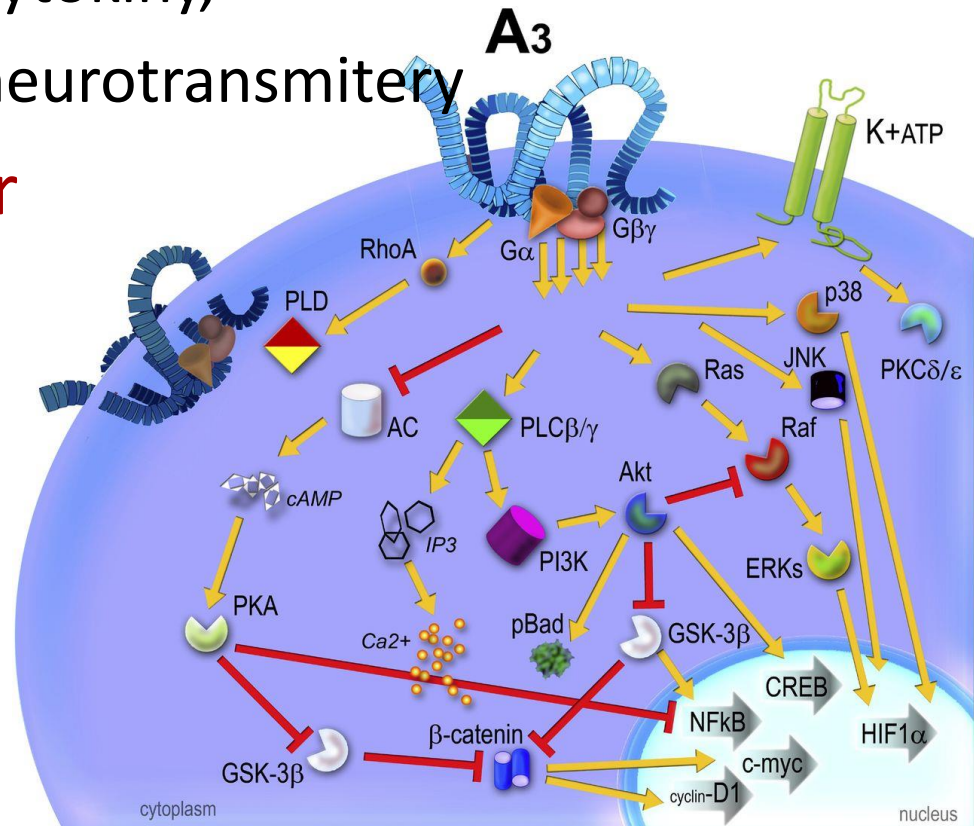
Buněčná signalizace - souhrn všech prostředků, jež používají buňky ke vzájemné komunikaci.

1. Odpověď jen na specifický signál
2. Specificita – přítomnost receptorů
3. Stejný signál – různá odpověď u různých typů buněk – podle vybavení receptory

Buněčná signalizace



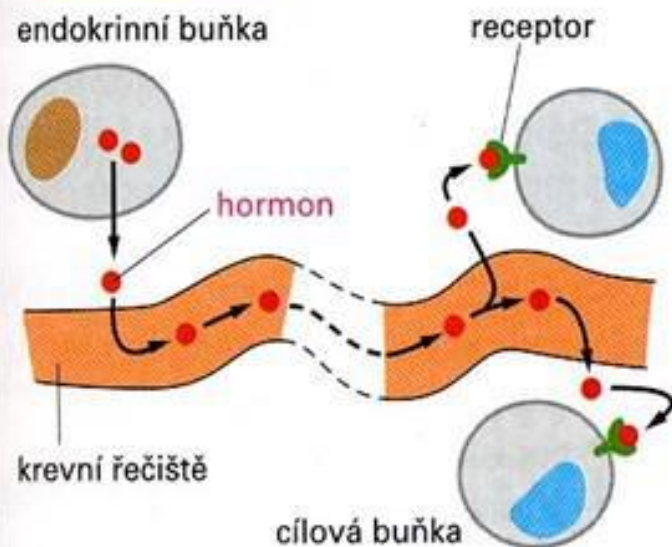
- Diferenciace, růst, dělení, pohyb, sekrece atd.
- Signál – **vylučovaná molekula**
 - Na povrch buňky
 - Do mezibuněčného prostoru
 - Proteiny na membráně, cytokiny, hormony, růstové faktory, neurotransmitery
- Příjem signálu – **receptor**
- Buněčná komunikace
 - Signální molekuly
 - Přímý kontakt



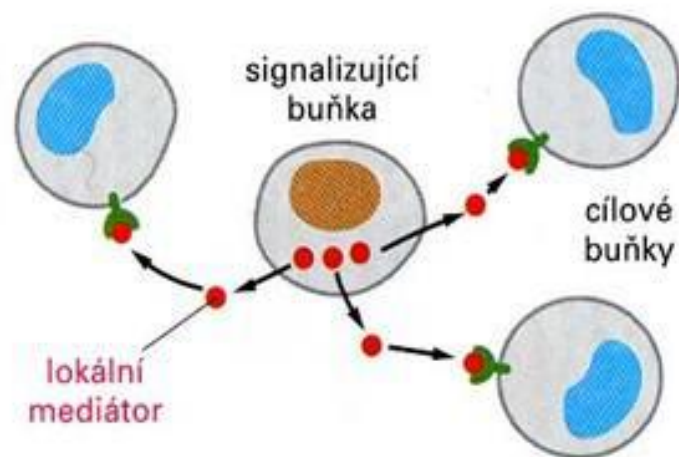
Typy signalizace

- Endokrinní – hormonální – ovlivnění po celém těle
- Parakrinní – lokální mediátory, jen okolí buňky
- Autokrinní – buňka ovlivňuje sebe samu
- Synaptická – jen u nervových buněk – signalizace pomocí neurotransmiteru
- Přímý kontakt

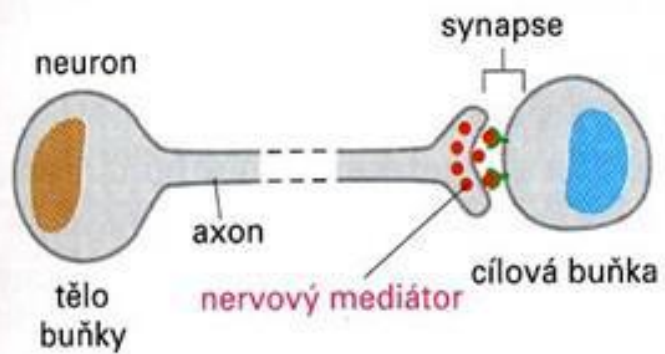
(A) **ENDOKRINNÍ**



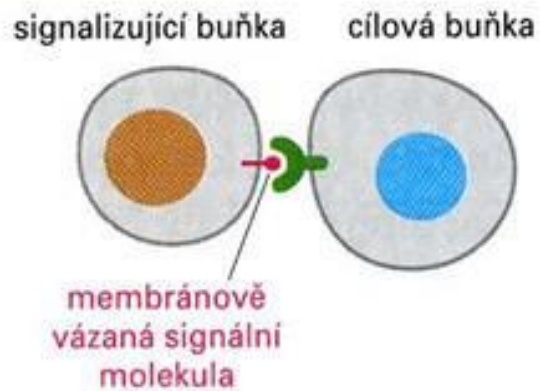
(B) **PARAKRINNÍ**



(C) **NERVOVÉ**



(D) **DOTYKOVÉ**



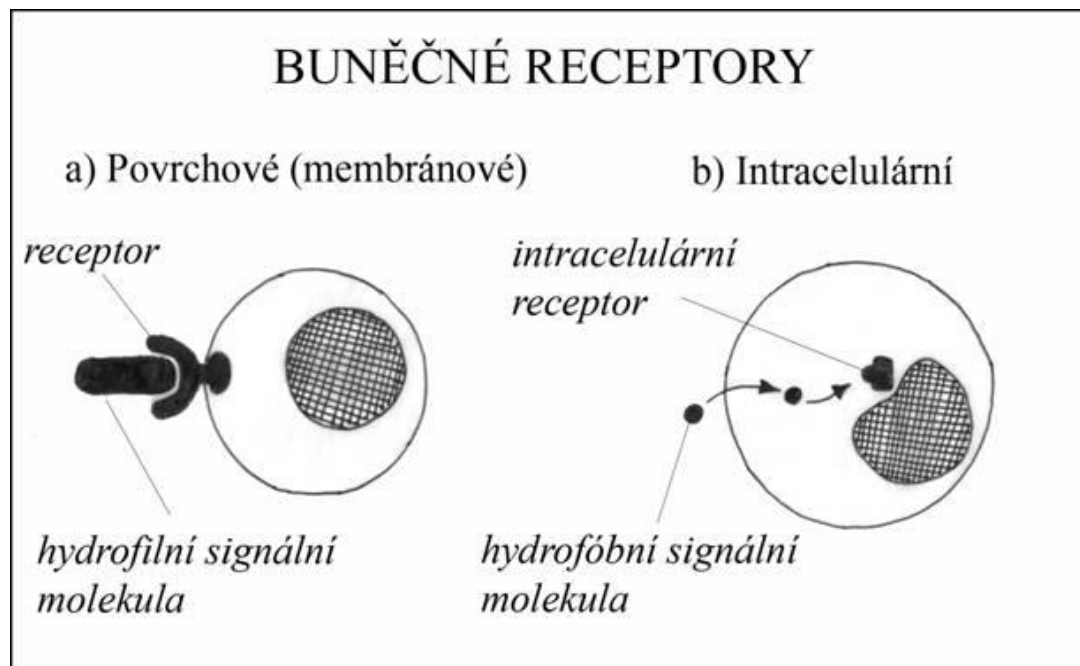
Receptor

- Bílkovina, která váže specifické molekuly a spouští buněčnou odezvu na tyto ligandy
- Periferní membránové, transmembránové
 - imunitního systému
- intracelulární
 - v cytoplazmě
 - v jádře

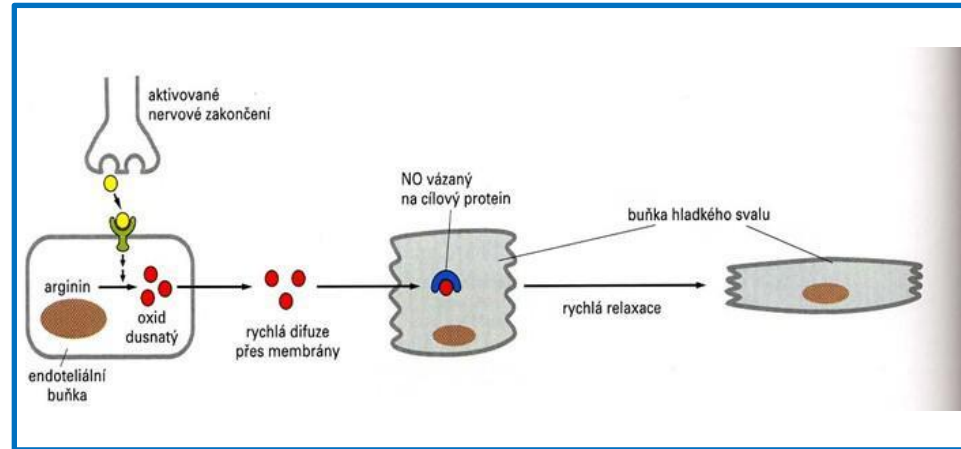
Vazba ligandu



odezva

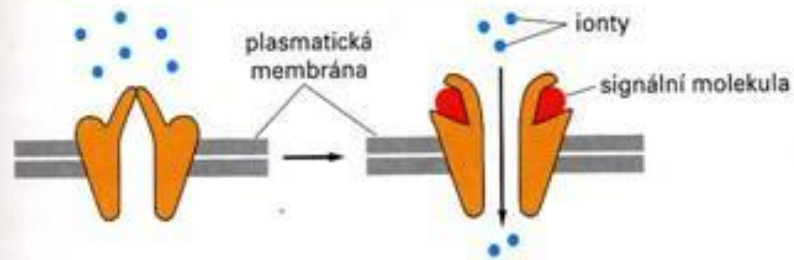


Signální molekuly

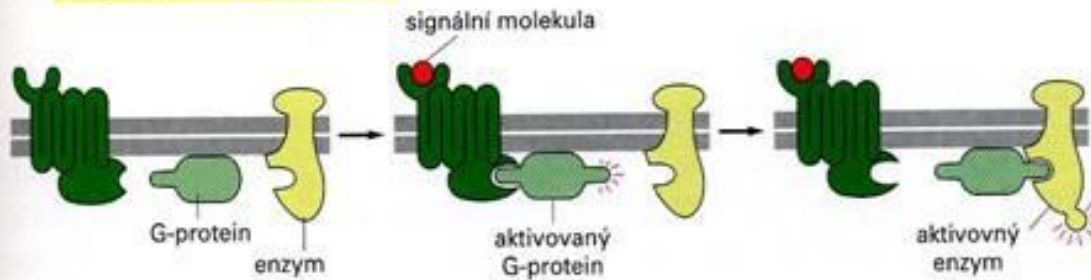


- Hydrofobní – projdou lipofilní membránou + malé anorganické molekuly – váží se na **cytoplazmatické či jaderné receptory** – ovlivňují transkripci genů
- Hydrofilní - přes receptory v cytoplazmatické membráně
 - Nutný přenos signálu od receptoru do nitra buňky

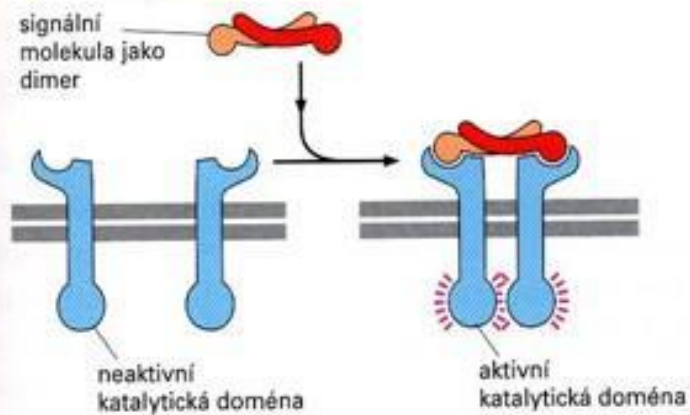
(A) receptory spojené s iontovým kanálem



(B) receptory vázané na G-protein



(C) receptory vázané na enzym



Signalizační kaskáda

- Signál na receptor
- Transformace signálu na vnitrobuněčný
- Amplifikace signálu
- Distribuce sign.molekul na vnitrobuněčné terče
- Změna buněčné funkce

