

6. prednáška

Vezikulárny transport

Fyziológia živočíšnej bunky

Iveta Herichová

Katedra živočíšnej fyziológie a etológie
Prírodovedecká fakulta
Univerzita Komenského Bratislava

1

Alberts • Johnson • Lewis • Raff • Roberts • Walter

Molecular Biology of the Cell

Fifth Edition

Chapter 13

Intracellular Vesicular Traffic

skrátená

Copyright © Garland Science 2008

2

The Nobel Prize for Medicine
 James Rothman and Randy Schekman of the US and Germany's Thomas Suedhof shared the prize for work on the body's cell transport system

Their work unlocks insights into diabetes, immune disorders and other diseases

The molecules produced in a cell are packaged in vehicles called vesicles. These vesicles transport molecules to precise places within and between cells

Randy W. Schekman
 University of California, Berkeley
 Born: 1948
 Discovered genes encoding proteins that are key regulators of vesicle traffic

James E. Rothman
 Yale University
 Born: 1950
 Discovered that a protein complex enables vesicles to fuse with their target membrane

Thomas C. Suedhof
 Stanford University
 Born: 1955
 Studied how calcium controls the process by which signals are transmitted from one nerve cell to another in the brain

Cell, Nucleus, Membrane, Vesicle, Proteins, Calcium, Molecules

Aké poznáte membránové bunkové organely?

1 hlasovanie

Source: nobelprize.org

3

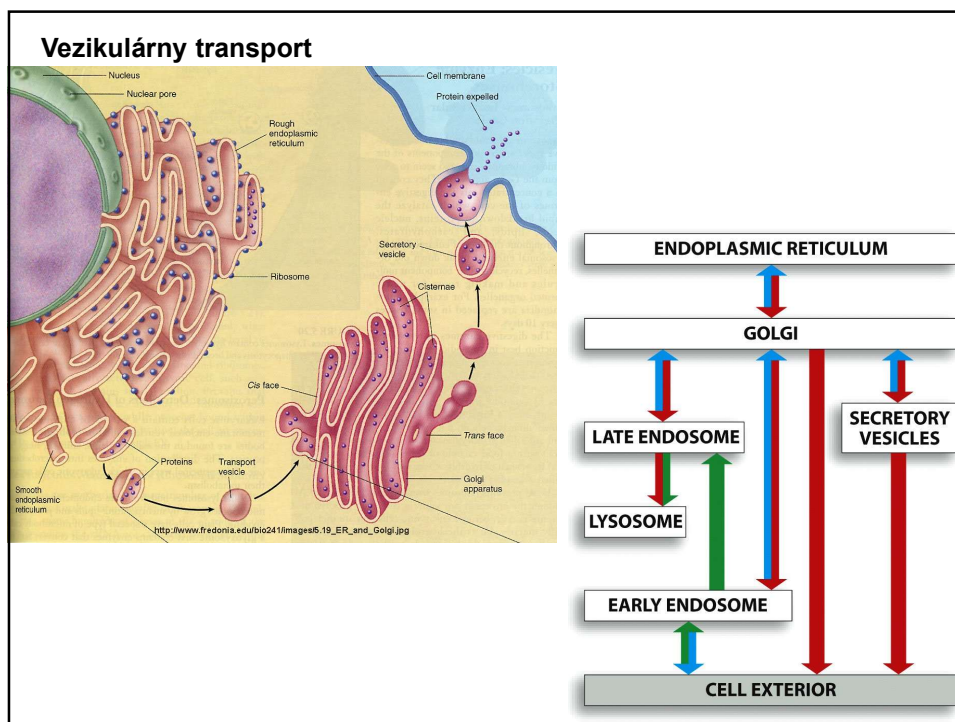
Vezikulárny transport

Vstupom do ER začína výstupná dráha transportovaných látok, transport zvyčajne prebieha cez Golgiho aparát, presne determinované transportné dráhy, ktoré sa ťahnu od ER k cytoplazmatickej membráne a od cytoplazmatickej membráne k lyzozómom.

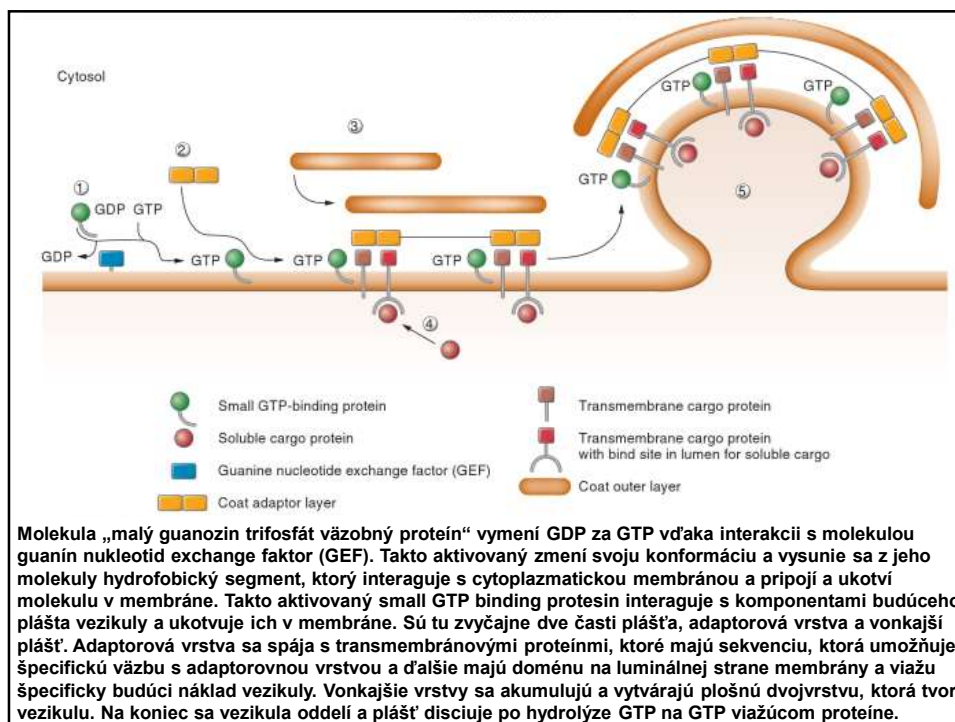
- proteíny aj lipidy prepravované týmito dráhami sú chemicky upravované (glykozilácia, disulfidické mostíky a i.)

Diagram illustrating the vesicular transport pathway: Cytosol → Endoplasmic reticulum → Golgi → Secretory granules → Regulated release → Cell surface. Other pathways include Endosome and Lysosome.

4



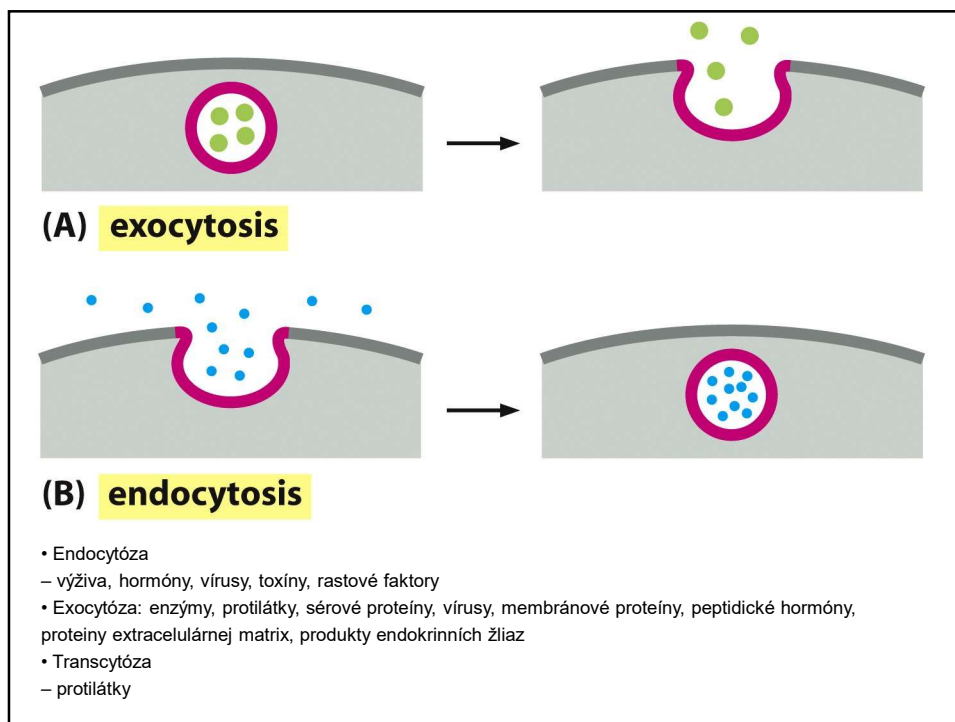
5



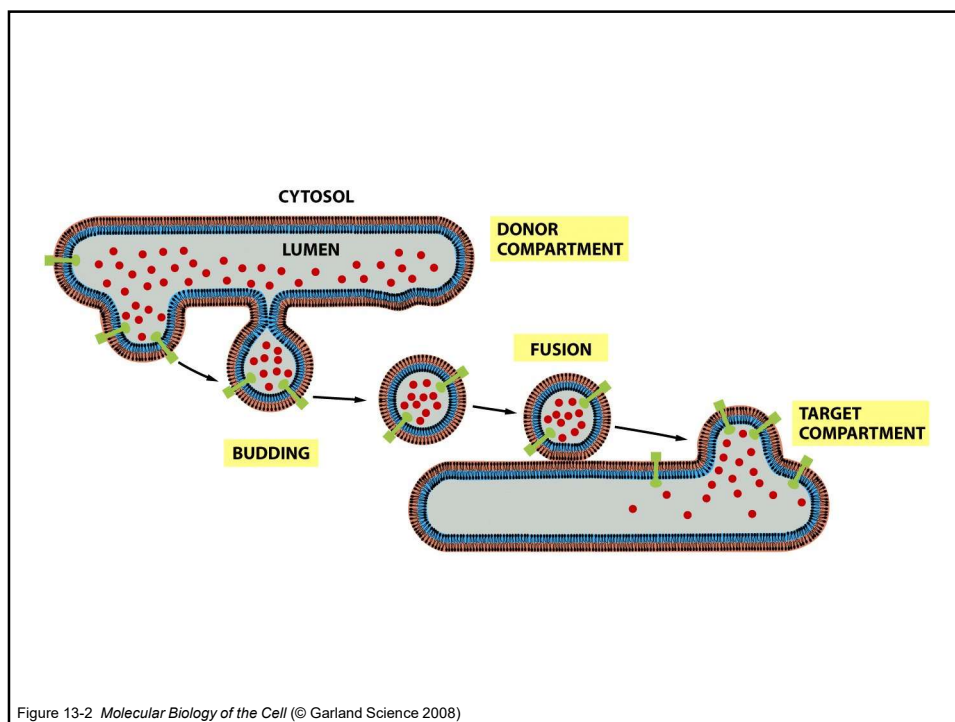
6

- aby mohla transportná vezikula plniť svoju funkciu, musia tam byť konkrétne proteíny vhodné pre cieľovú stanicu a musí fúzovať s vhodnou membránou
- tieto rozpoznávacie deje závisia na proteínoch spojených s membránou transportnej vezikuly
- vezikuly, ktoré pučia z membrány majú na svojej cytozolovej strane špecifický proteínový plášť – opláštené vezikuly

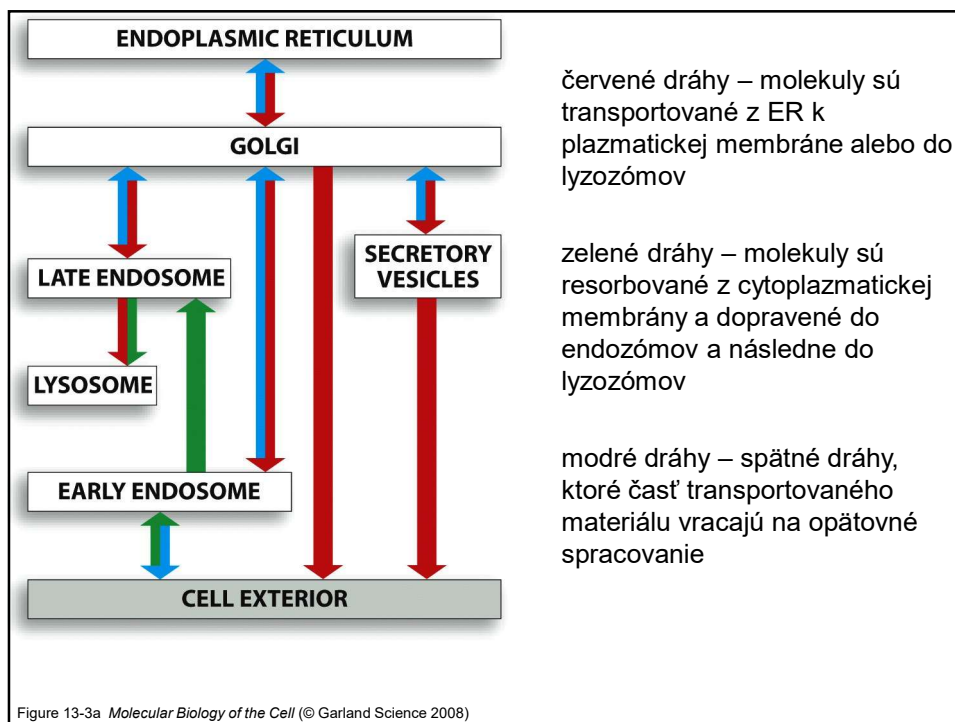
7



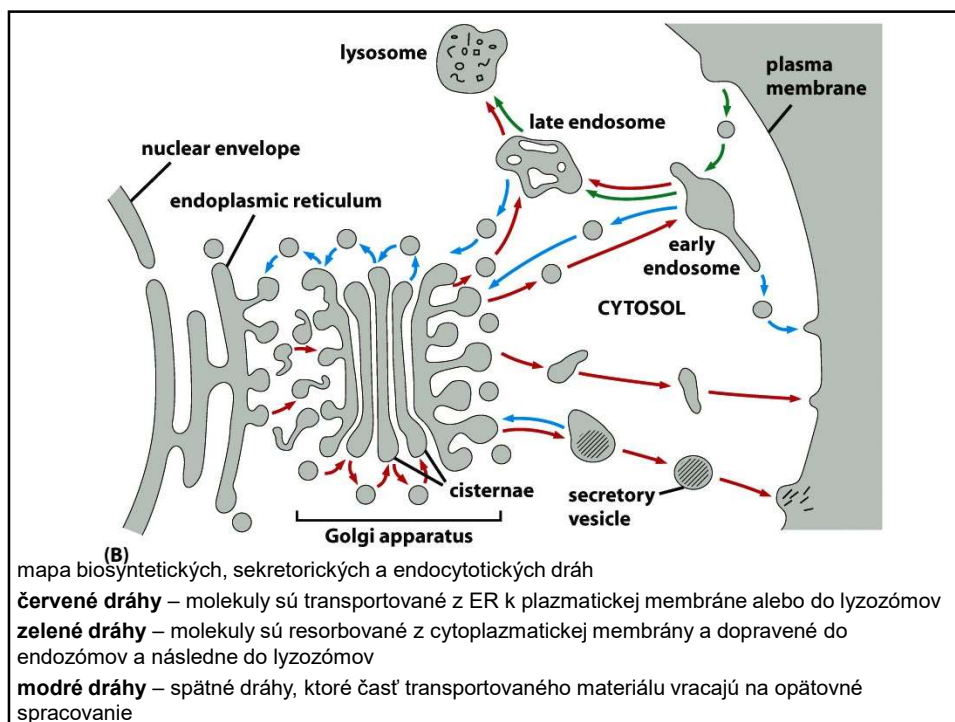
8



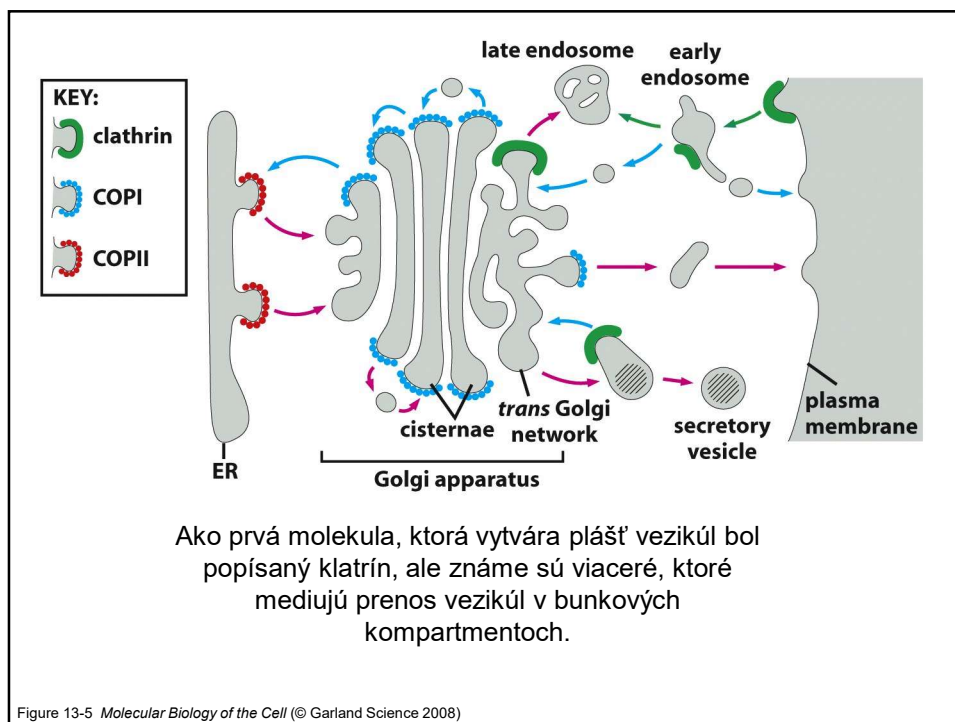
9



10



11



12

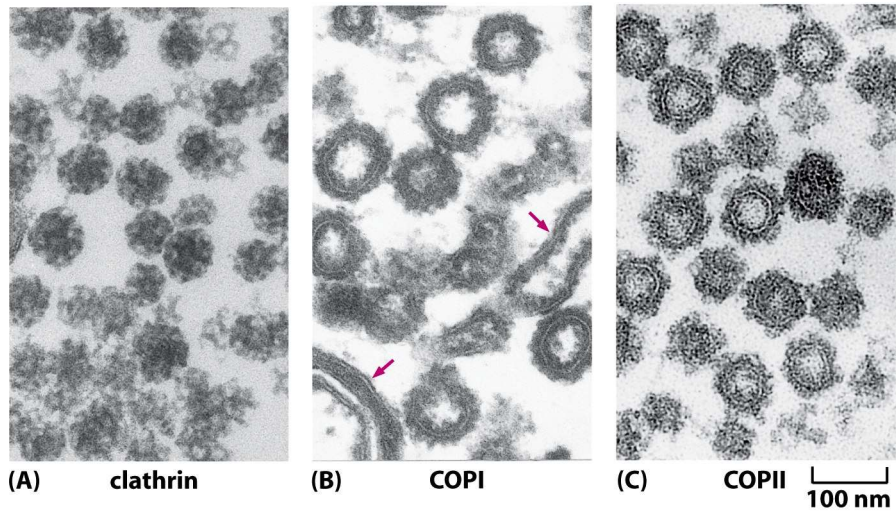


Figure 13-4 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

13

klathrinové vezikuly

pučia z Golgiho aparátu na počiatku sekrečnej dráhy
smerujúcej von z bunky a z cytoplazmatickej membrány na
začiatku endocytotickej dráhy vedúcej do vnútra bunky
- z cytoplazmatickej membrány sa každá vezikula oddeľuje
ako jamka s klathrinovým plášťom

14

Molekuly klathrinu sa na cytolozolovej strane membrány skladajú do siete podobnej košu a tak postupne membránu formujú do podoby váčku. Okolo ústia hlboko vchhlípeného klathrinom potiahnutého váčku sa ako krúžok zloží mlaý GTP-viažúci proteín dynamin. Dynamin hydrolyzuje GTP čím sa stiahne a odškrtí vačok od membrány.

Vezikulárny transport zahŕňa aj ďalšie druhy transportných vačkov, ktorých plášte sú tvorené inými proteínmi.

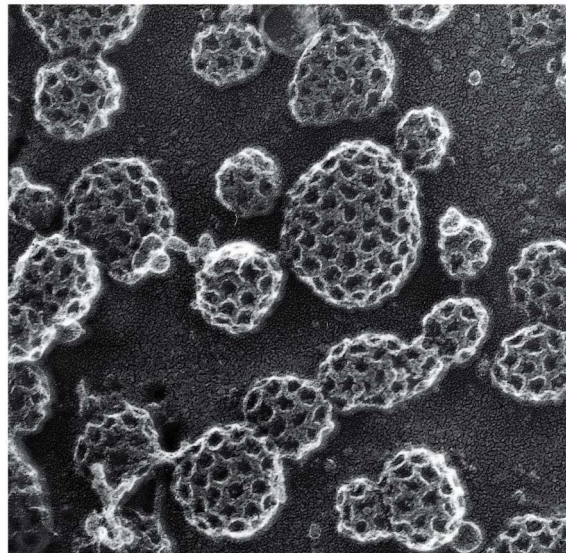
Obal váčku a jeho obsah nie sú náhodne spárované.

Pre zachytávanie špecifických molekúl, ktoré budú transportované sú dôležité proteíny nachádzajúce sa v plášti vezikuly – adaptíny.

Adaptíny napomáhajú zachytávaniu špecifických molekúl nákladu tak, že zachytávajú receptory nákladu, na ktoré sa prepravované molekuly viažu. Existuje minimálne 2 typy adaptínov (pre plazmatickú membránu a pre Golgiho aparát).

15

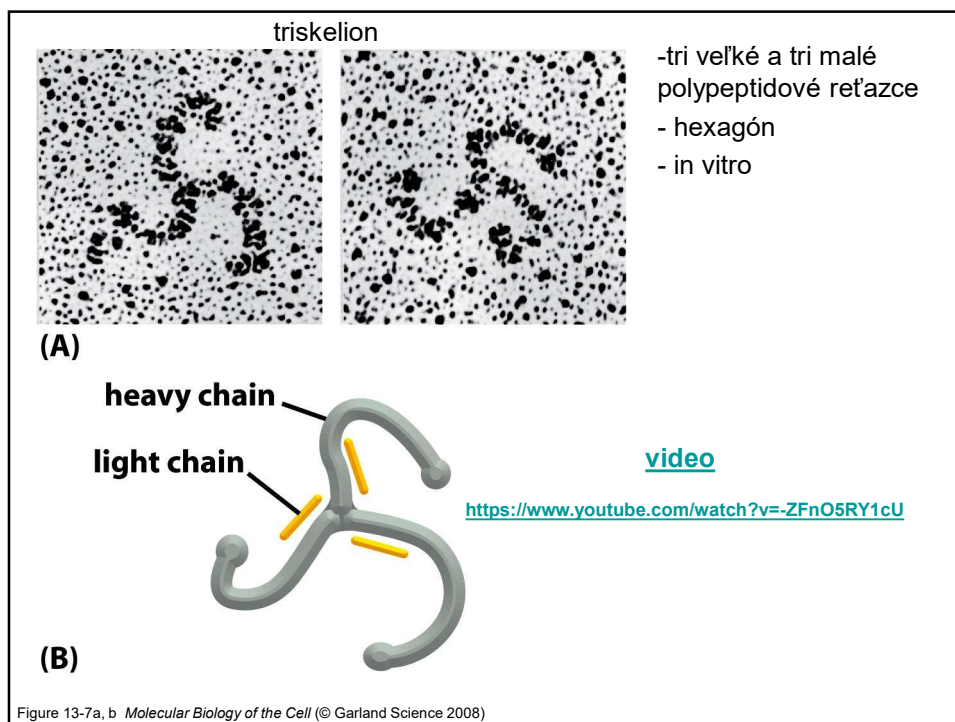
klatrínové molekuly na vezikulách fibroblastov



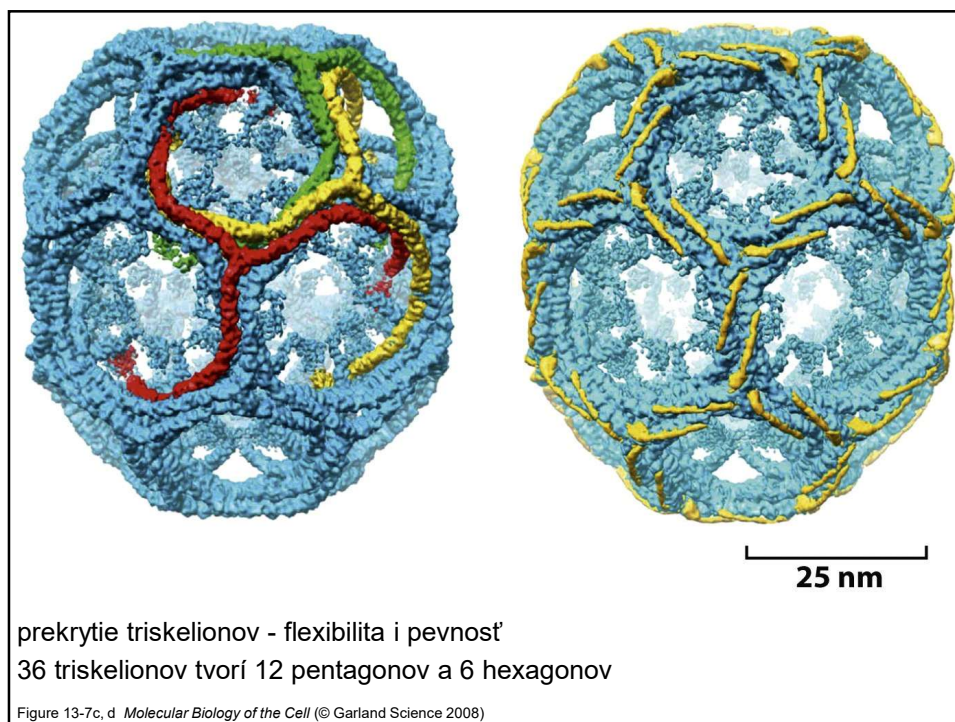
0.2 μm

Figure 13-6 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

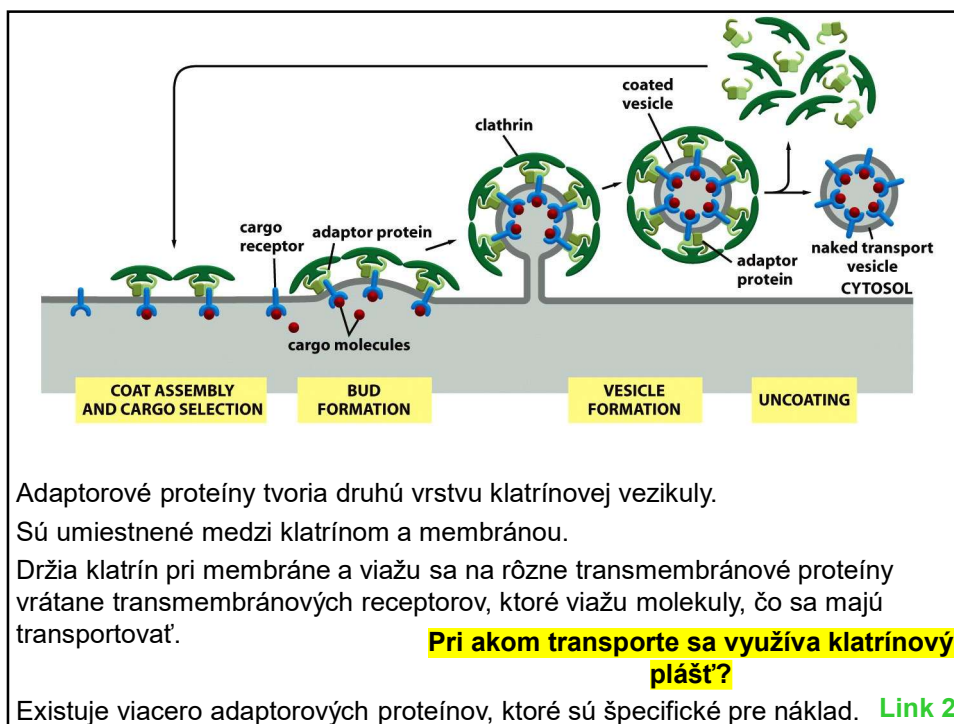
16



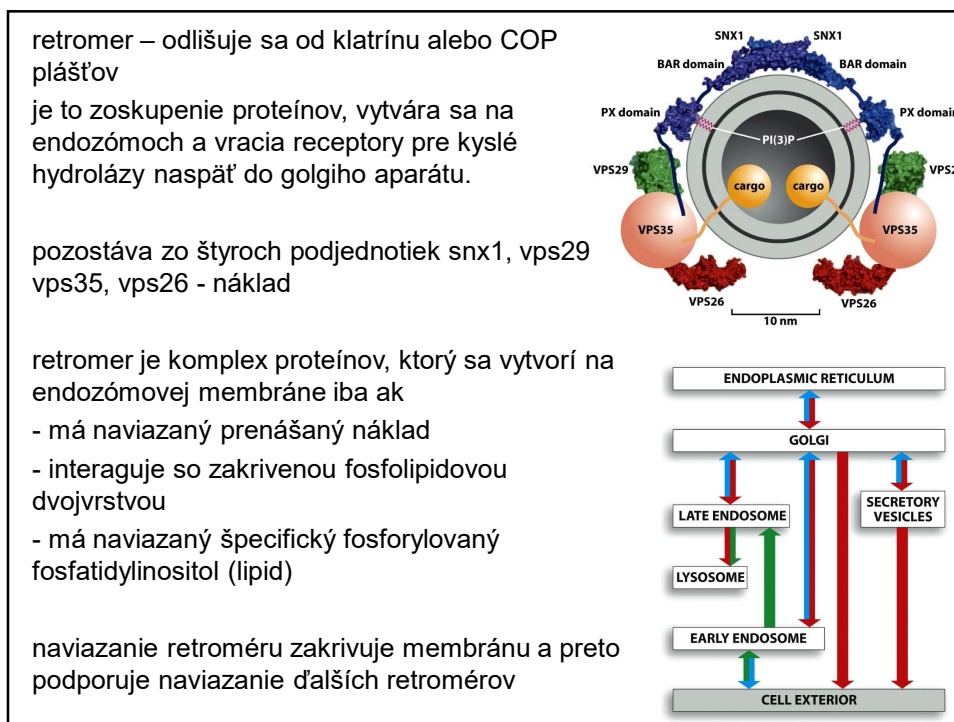
17



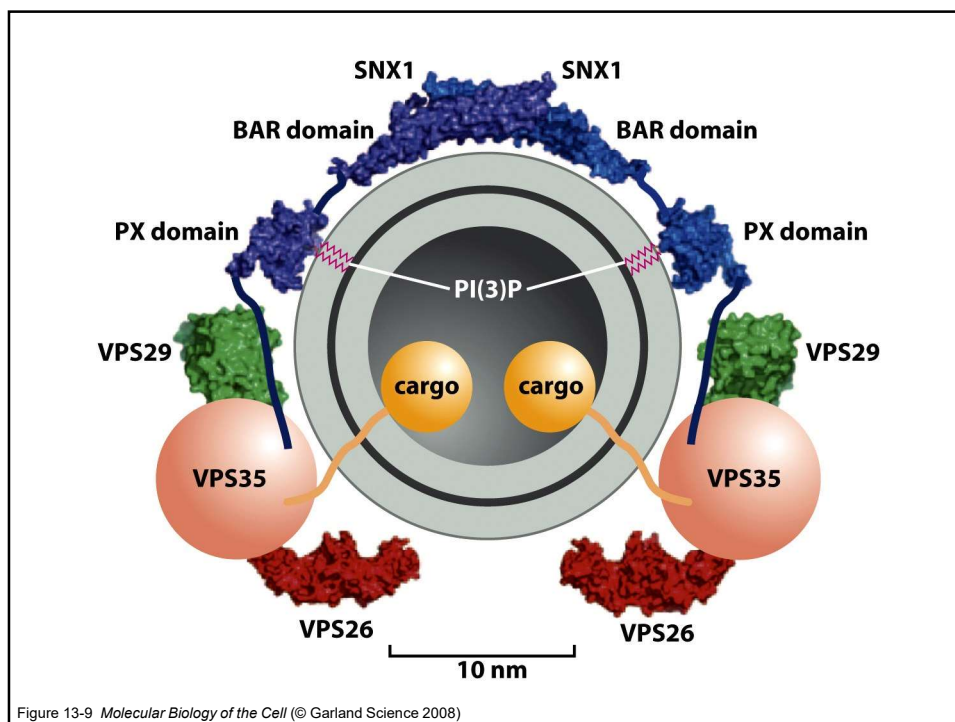
18



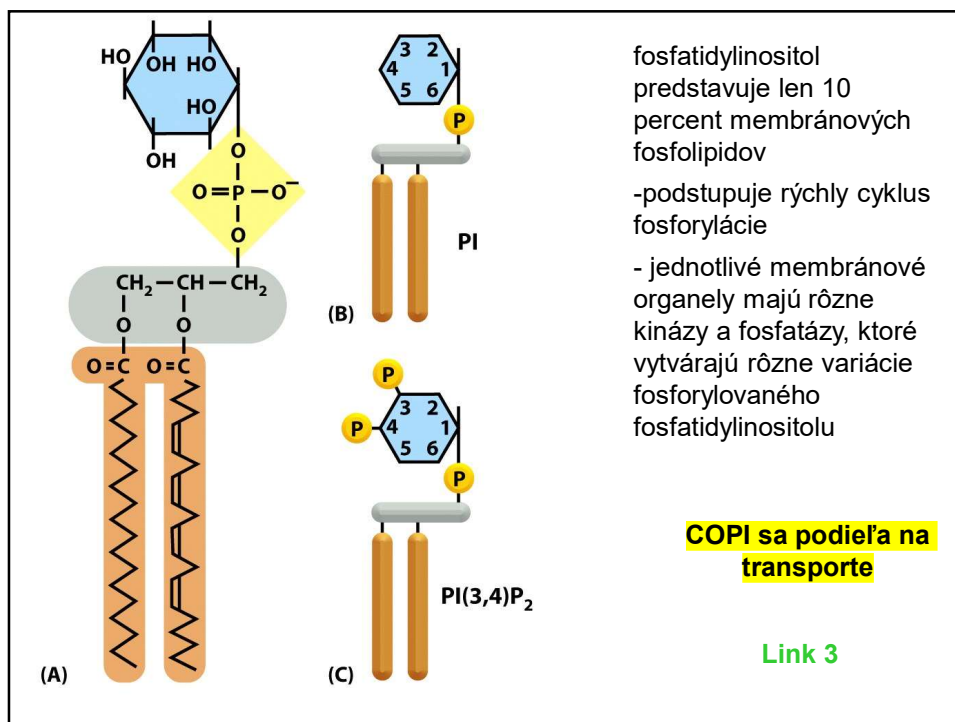
19



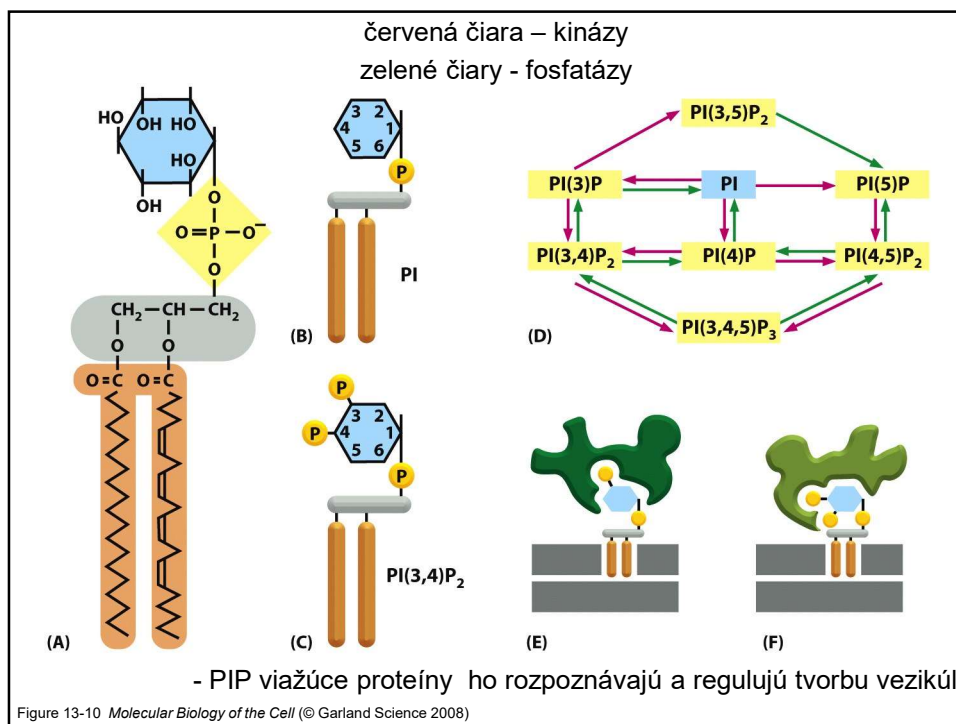
20



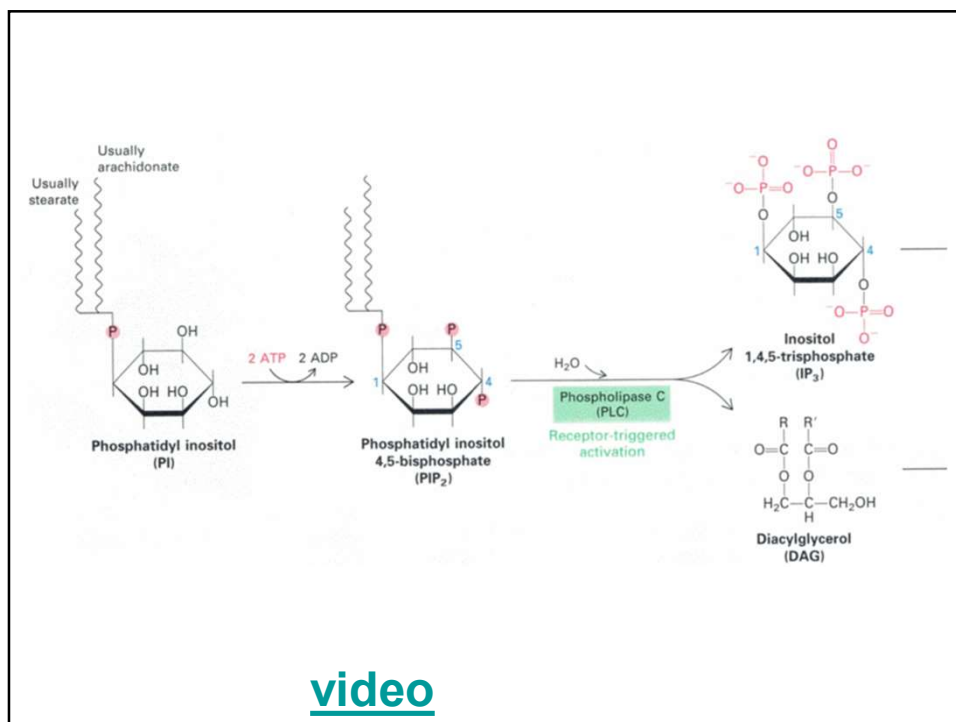
21



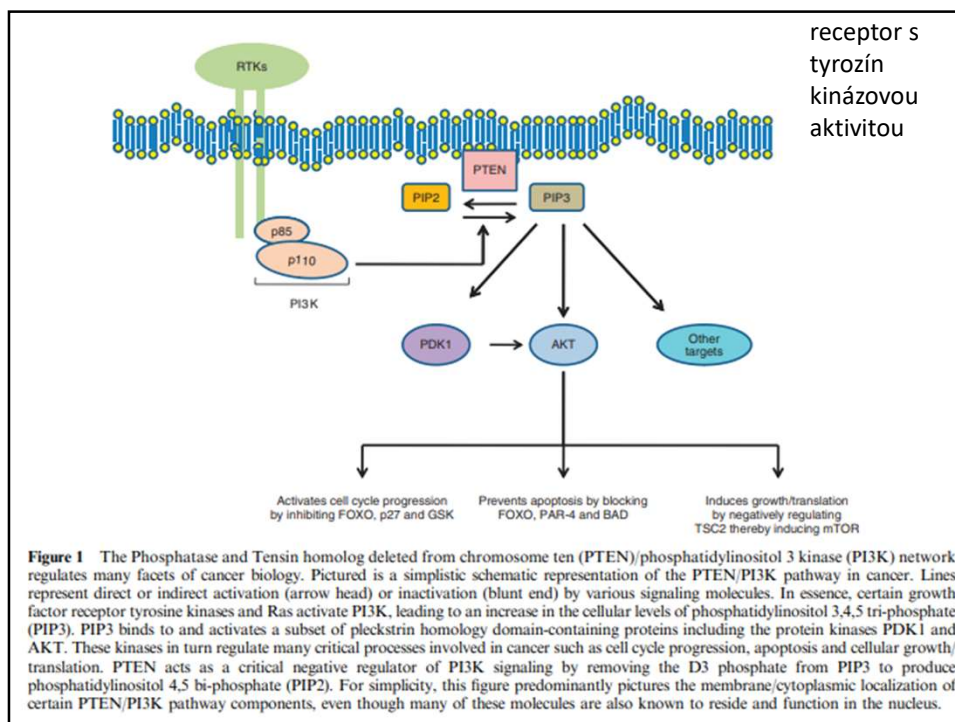
22



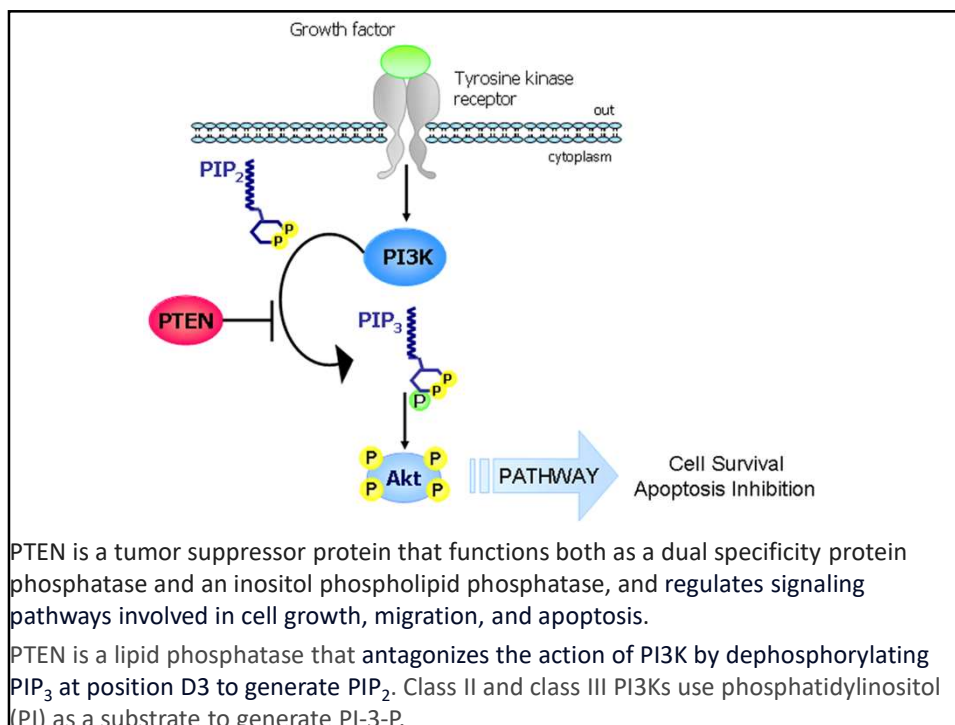
23



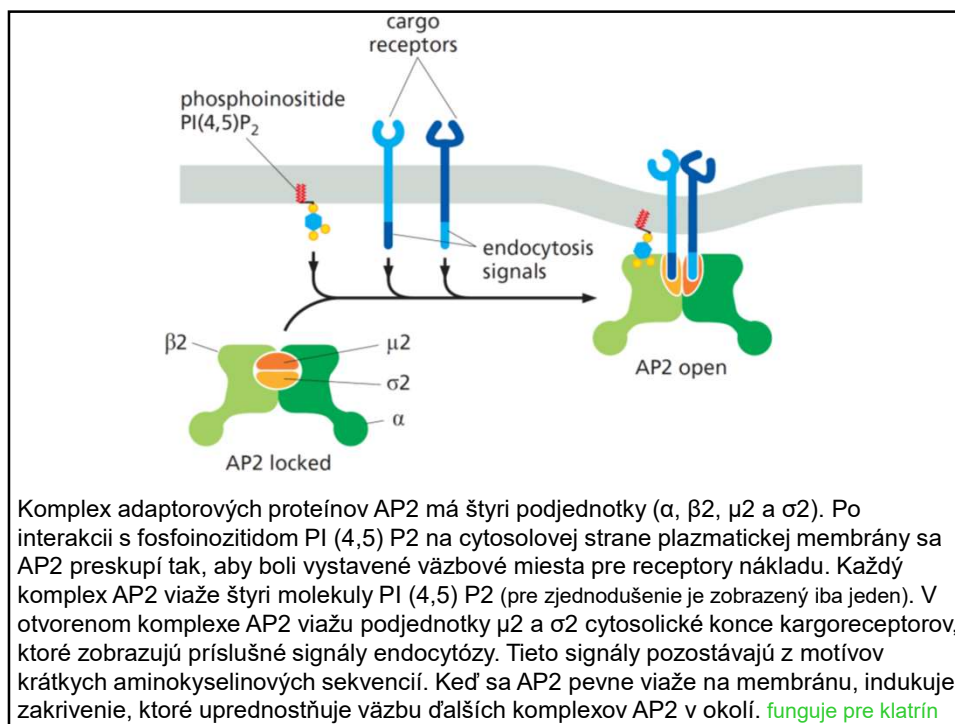
24



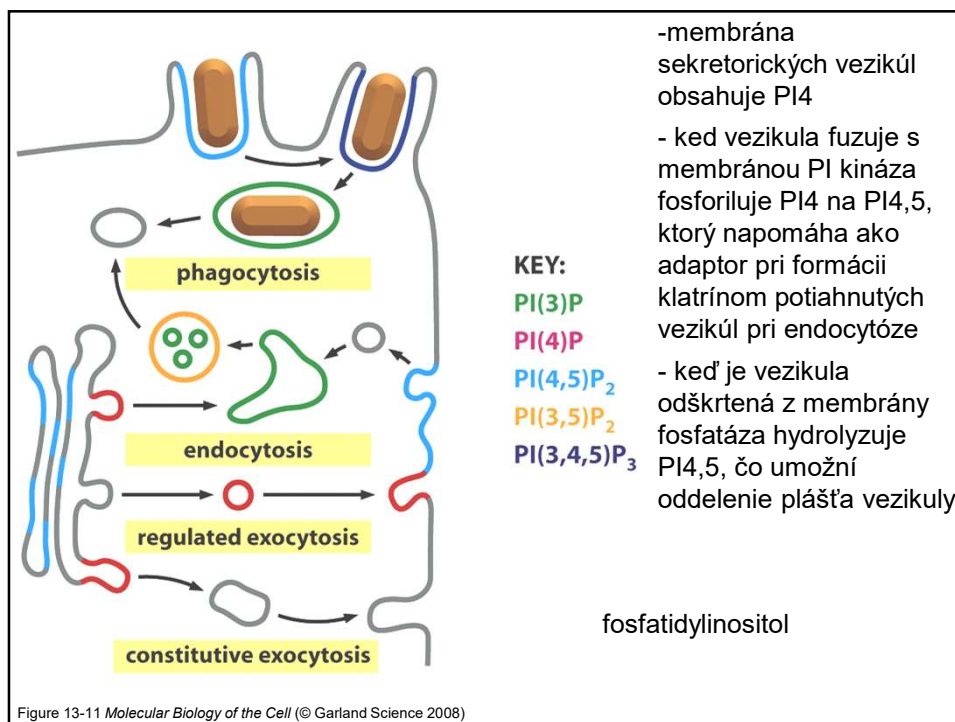
25



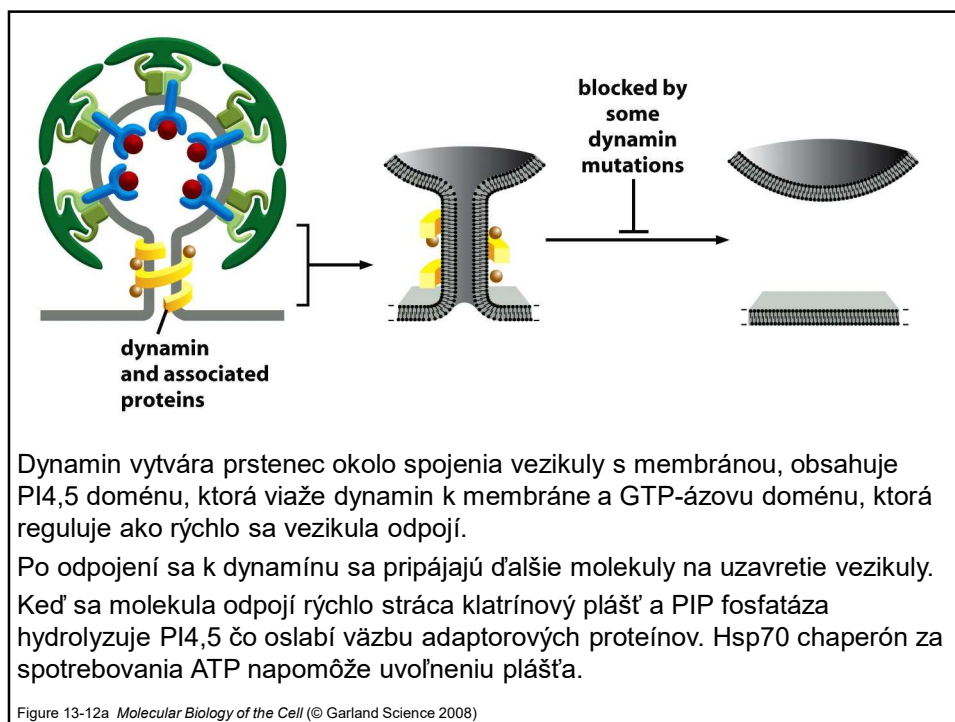
26



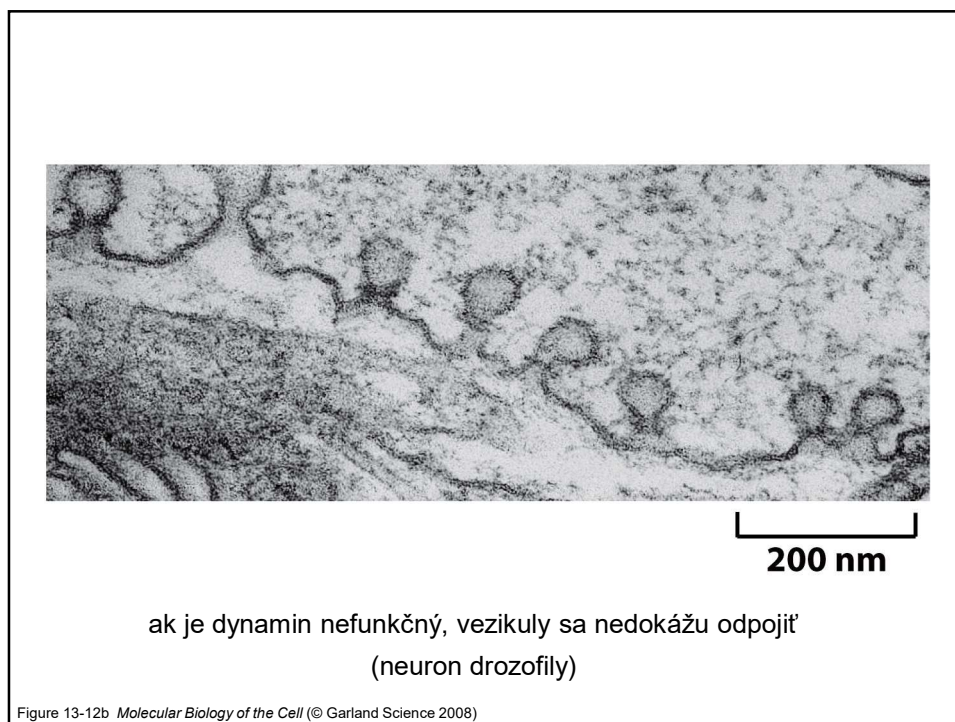
27



28



29



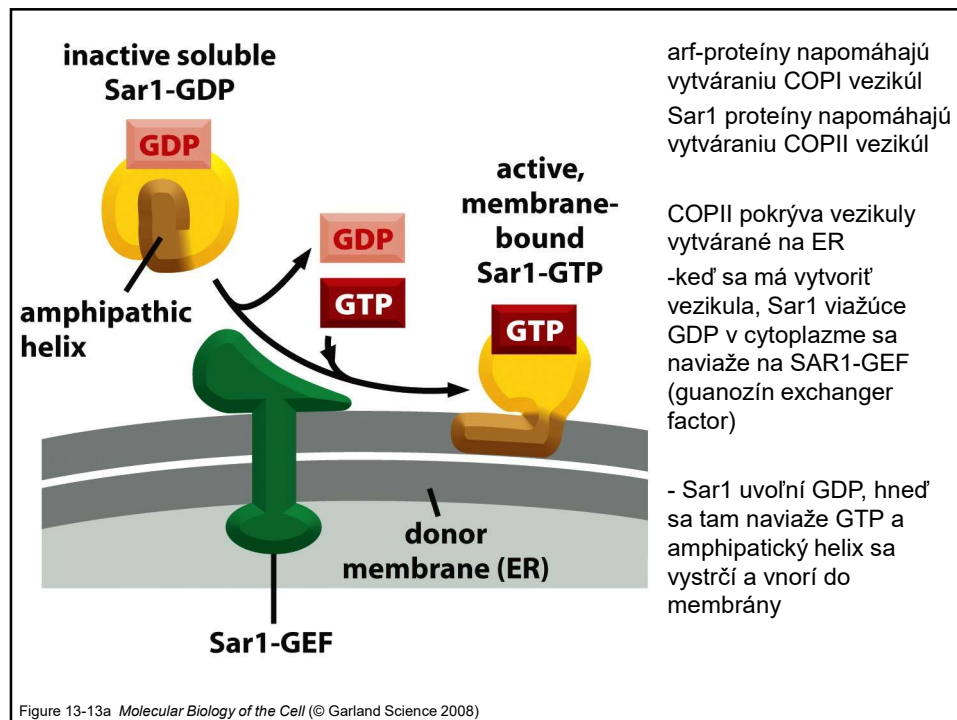
30

PIPs regulujú najmä klatrínové vezikuly na plazmatickej membráne a golgiho aparáte, na tvorbe klatrinových vezikúl na endozomoch a tvorbe COPI a II vezikúl na golgiho aparáte a endoplazmatickom retikule sa podieľajú najmä GTPazy

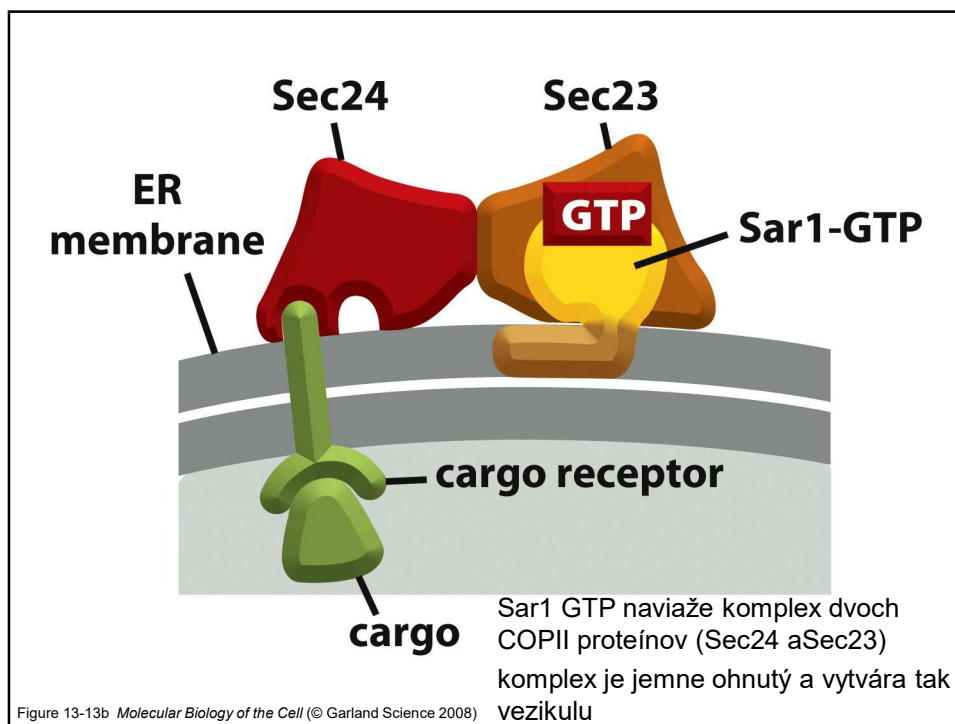
Na akom transporte sa podieľa COPII

[Link 4](#)

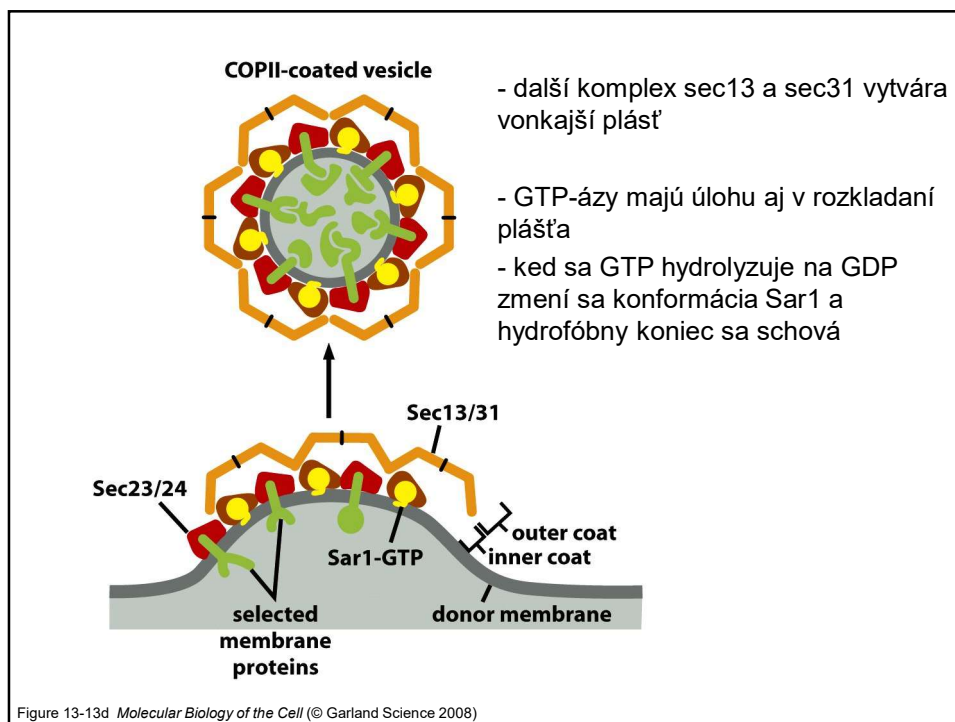
31



32

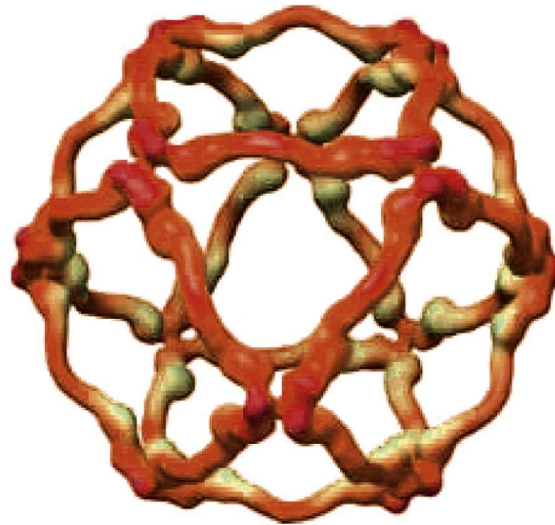


33



34

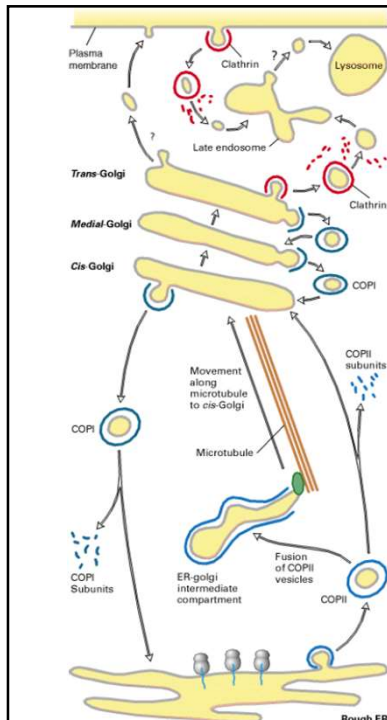
sec13 a sec31 sa aj in vitro poskladajú



25 nm

Figure 13-13c *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

35



- **COP-I** (tvorený alfa, beta, gama, delta, epsilon) Golgi-Golgi; Golgi->>ER (retrográdny)
- **COP-II** (tvorený Sec23/24; Sec13/31; Sec16) ER->>Golgi (anterográdny)
- **Klatrin** (T a L-reťazce, AP1-3) **sekrečné granule** postupujúce z trans-Golgi k PM alebo k endozómom, **endocytické** vezikuly, ktoré sú uvoľňované z PM a transportujú svoj obsah do vnútra bunky. -Sekrečná a endocytická cesta majú spoločné elementy

„cisternal progression“ Tri základné procesy sú:

- 1) tvorba (budding)
- 2) spojenie (docking)
- 3) fúzia

36

- vezikuly nemajú rovnaký tvar
- vezikuly tvorené z membrány sú relatívne ploché a tuhé, lebo obsahujú cholestrol a je pod nimi cytoskelet, je ťažké vytvoriť zahnutie
- vezikuly z vnútrobunkových štruktúr sa tvoria najmä tam, kde sú už membrány ohnuté
- transportné vezikuly majú rôzne tvary a veľkosti

Docking

1. *Rab proteins* and *Rab effectors* direct the vesicle to specific spots on the correct target membrane.
2. *SNARE proteins* and *SNARE regulators* mediate the fusion of the lipid bilayers.

37

transportné vezikuly obsahujú markery – organela, náklad, cieľové organely

Rab proteíny sú monomerické GTPázy (viac ako 60 typov)

Každý Rab proteín je asociovaný s jednou organelou a biosyntetickou resp. sekretorickou dráhou, každá organela má aspoň jeden Rab proteín na membráne.

Rab proteíny sa presúvajú medzi membránou a cytosolom a regulujú reverzibilné zoskupenia na membráne.

- Rab proteín spojený s GDP je inaktívny a spojený s iným proteínom, ktorý ho udržiava v cytoplazme

- ak sú Rab asociované s GTP viažu sa na membránu organely alebo transportnej vezikuly

- na membránu viazaný Rab-GEF aktivuje Rab na vezikulách aj na membráne.

Aktivovaný Rab sa viaže na Rab efektor, ktorý facilituje vezikulárny transport, docking a fúziu.

Hydrolýza GTP určuje koncentráciu aktívneho Rab proteínu.

Rab efektory sú rôzne (motorové proteíny, ukotvujúce proteíny, SNARE proteíny)

38

Table 13-1 Subcellular Locations of Some Rab Proteins

PROTEIN	ORGANELLE
Rab1	ER and Golgi complex
Rab2	<i>cis</i> Golgi network
Rab3A	synaptic vesicles, secretory granules
Rab4/Rab11	recycling endosomes
Rab5A	plasma membrane, clathrin-coated vesicles, early endosomes
Rab5C	early endosomes
Rab6	medial and <i>trans</i> Golgi cisternae
Rab7	late endosomes
Rab8	early endosomes
Rab9	late endosomes, <i>trans</i> Golgi network

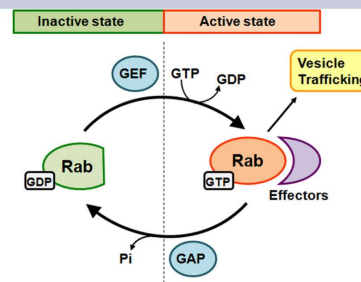
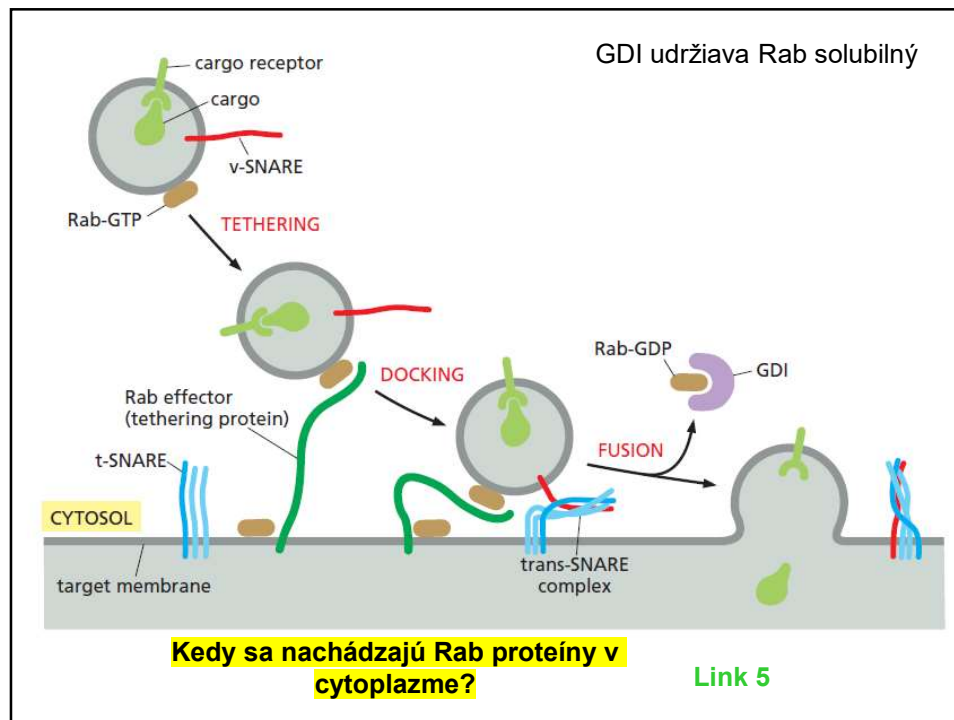


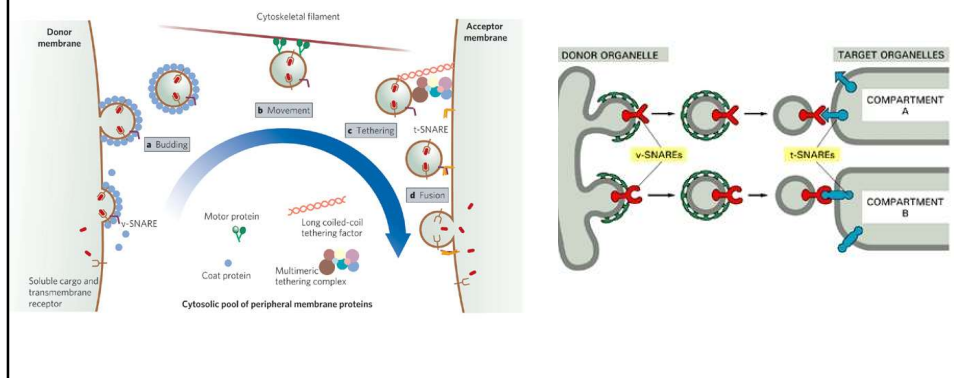
Table 13-1 Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

39



40

- krátke vzdialenosti - difúzia
- ak je vzdialenosť väčšia, je vezikula prenášaná motorovými proteínmi po cytoskeletových vláknach. Keď vezikula dorazí k cieľovej organeli, musí ju rozpoznať. Dôležitú úlohu v tom zohrávajú SNARE proteíny na povrchu vezikúl, ktoré sú špecificky rozpoznávané komplementárnymi SNARE proteínmi na povrchu cieľových membrán t-SNARE. Každá organela a každý typ transportných váčkov pravdepodobne nesie unikátne SNARE-proteíny.

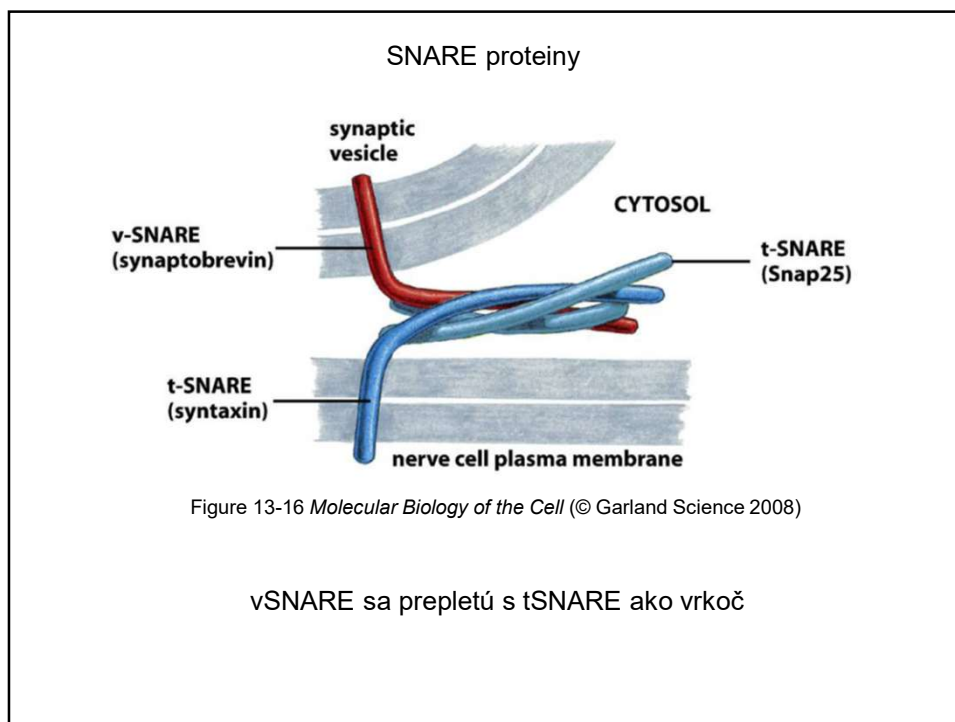


41

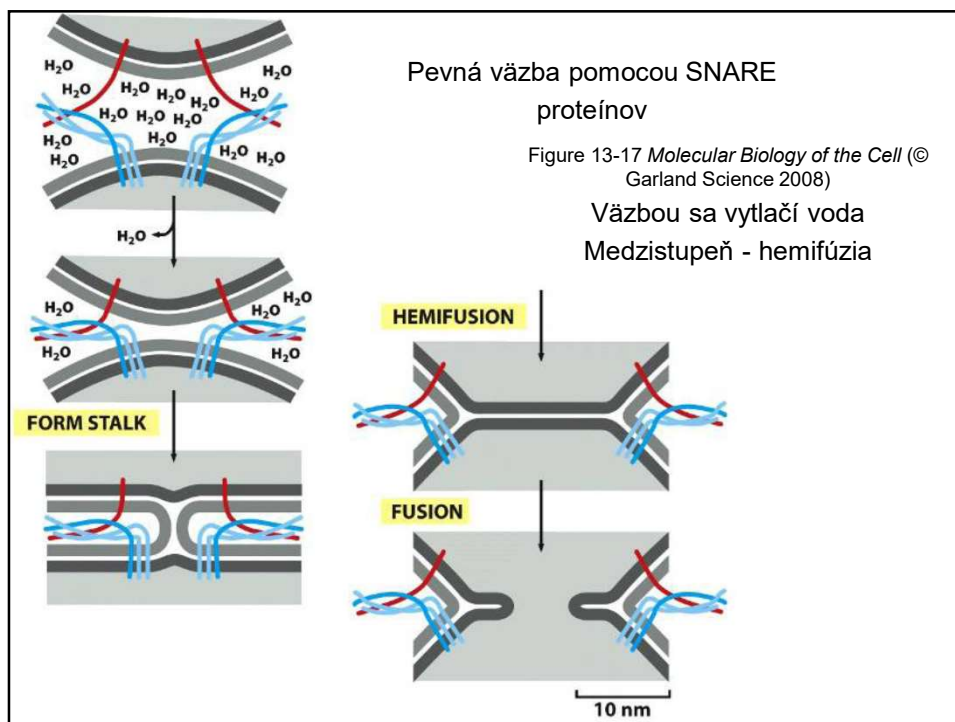
Interakcie medzi komplementárnymi SNARE-proteínmi zaisťujú, že transportné váčky fúzujú len so správnymi membránami.

Okrem transportu odovzdáva váčok aj svoju vlastnú membránu, na to, aby mohli dve lipidové membrány splynúť je potrebná špecifická reakcia a vzdialenosť 1,5nm. Na dosiahnutie tejto malej vzdialenosti je potrebné odstrániť z membrány vodu, čo je energeticky náročný proces. Môže prebehnúť vďaka fúznemu komplexu molekúl, ktoré to umožní.

42



43

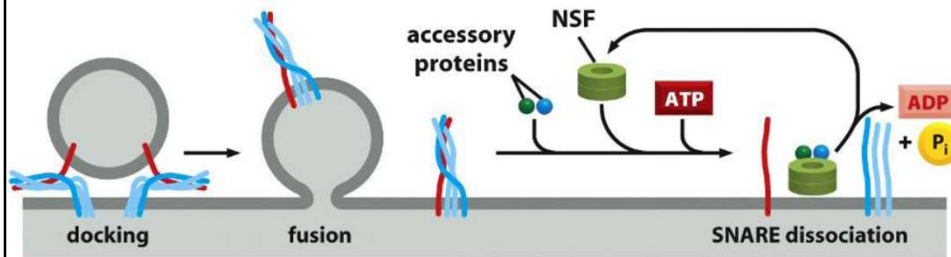


44

Disociácia SNARE po fúzii

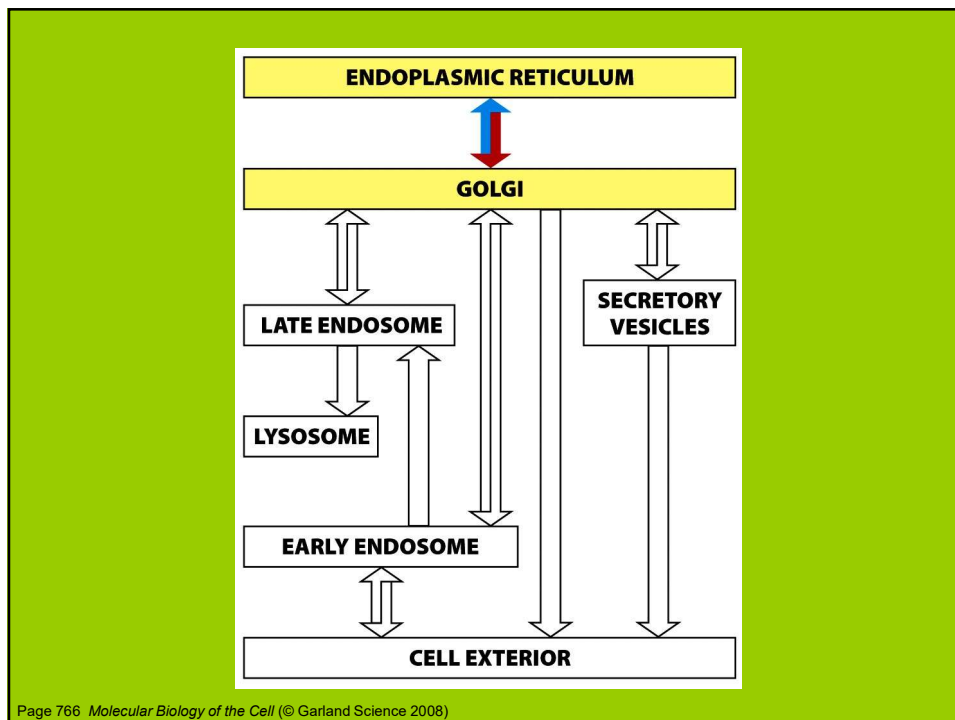
recyklácia

NSF sa viaže k SNARE cez adaptorové proteín a rozplieťa SNARE za hydrolyzy ATP



N-ethylmaleimide Sensitive Factor

45

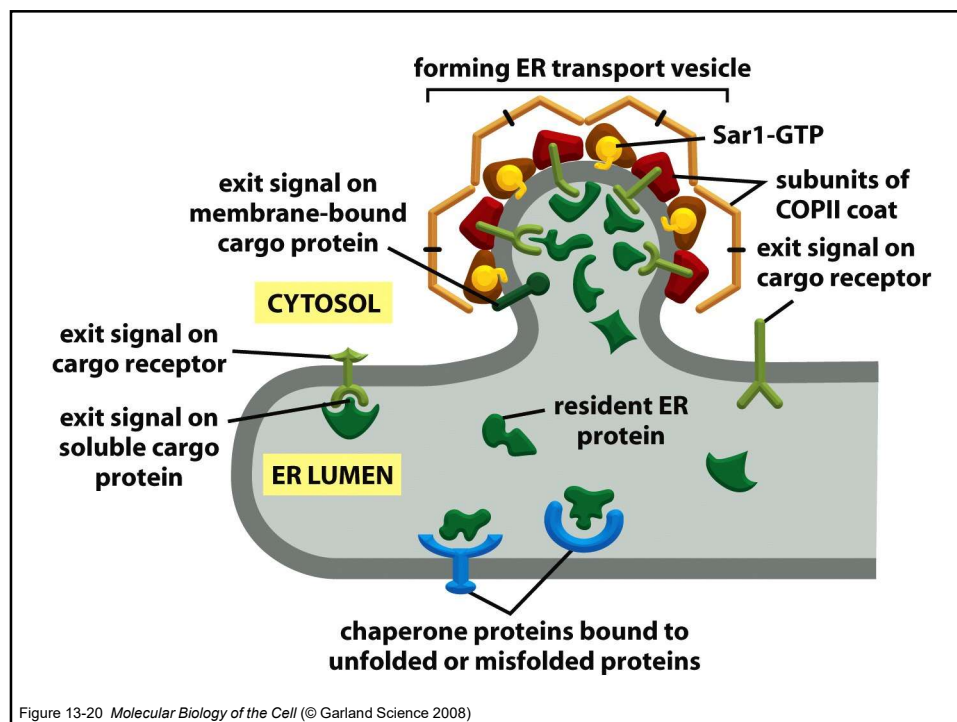


Page 766 Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

46

- molekuly opúšťajú endoplazmatické retikulum ER cez exit sites, na ktoré nie sú viazané ribozómy
- molekuly sú do vezikúl presúvané selektívne a potom sú koncentrované

47



48

Chaperón BiP kryje signálnu doménu, kým protilátka nie je dokončená

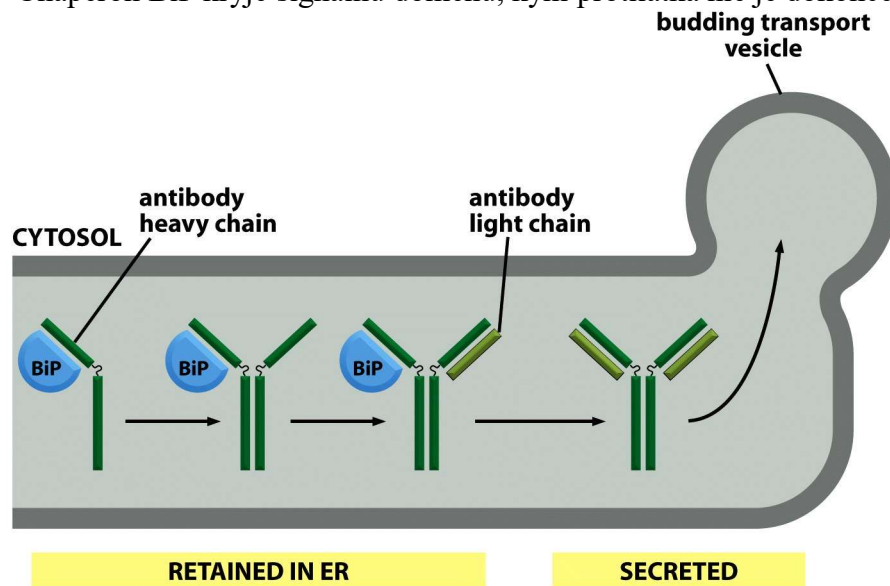


Figure 13-21 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

49

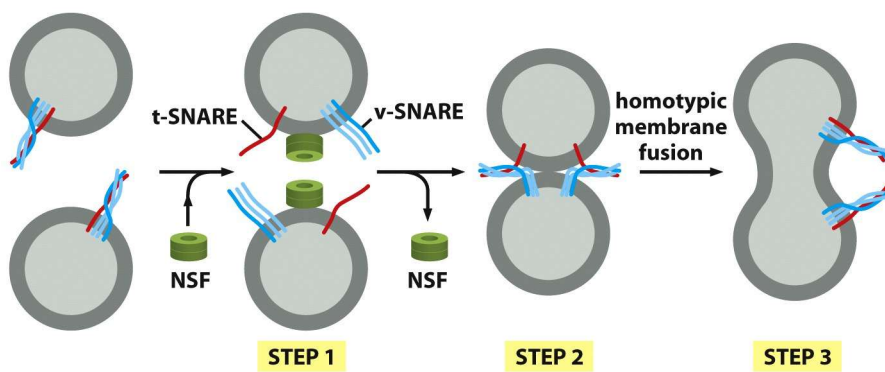
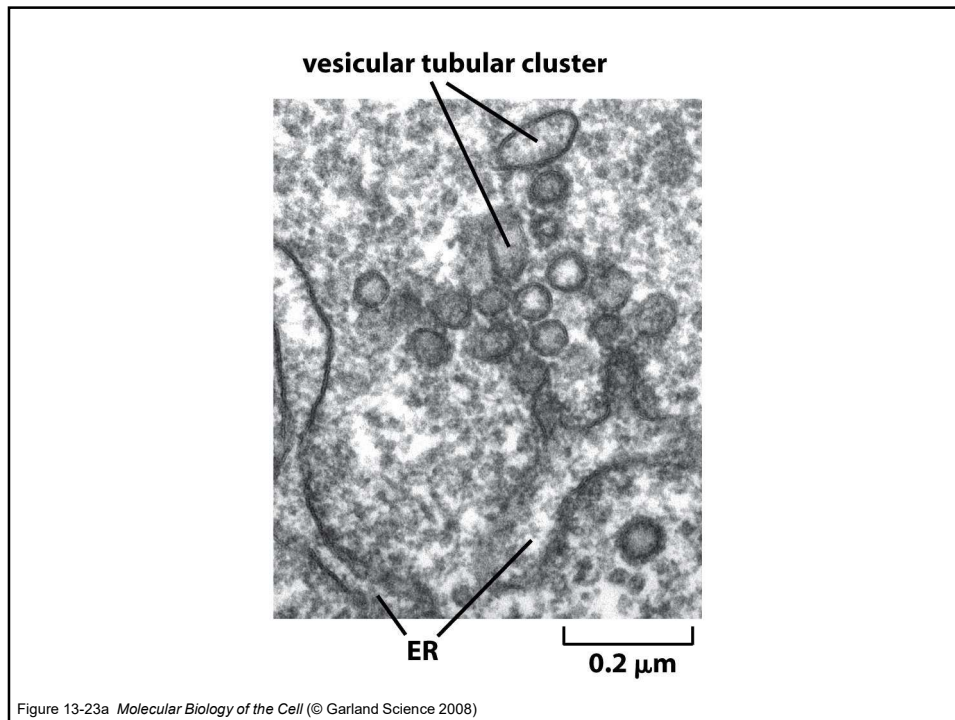
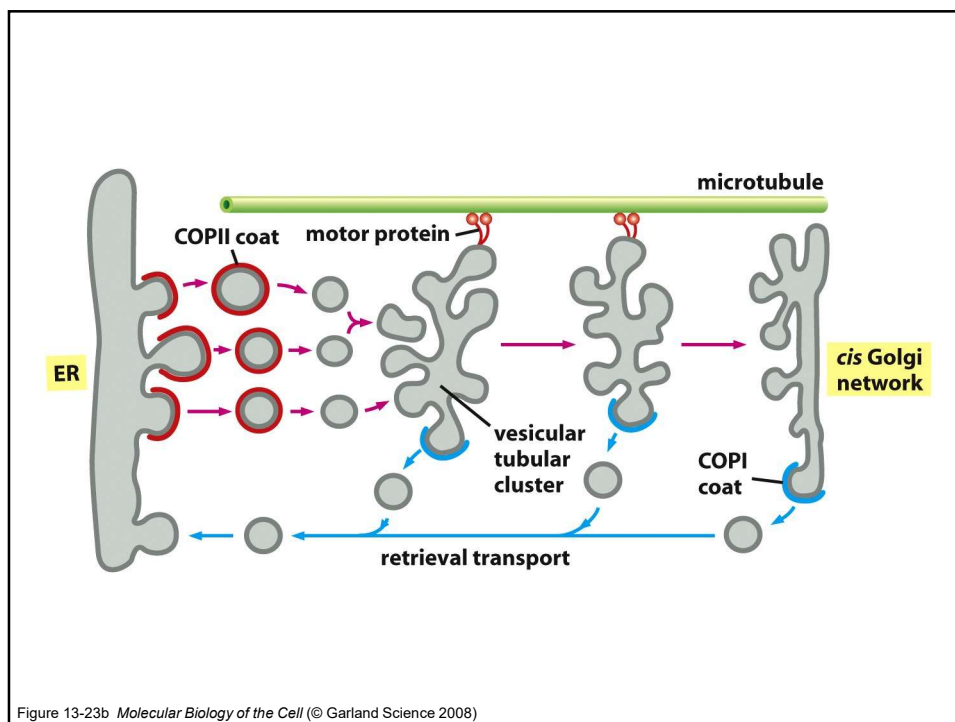


Figure 13-22 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

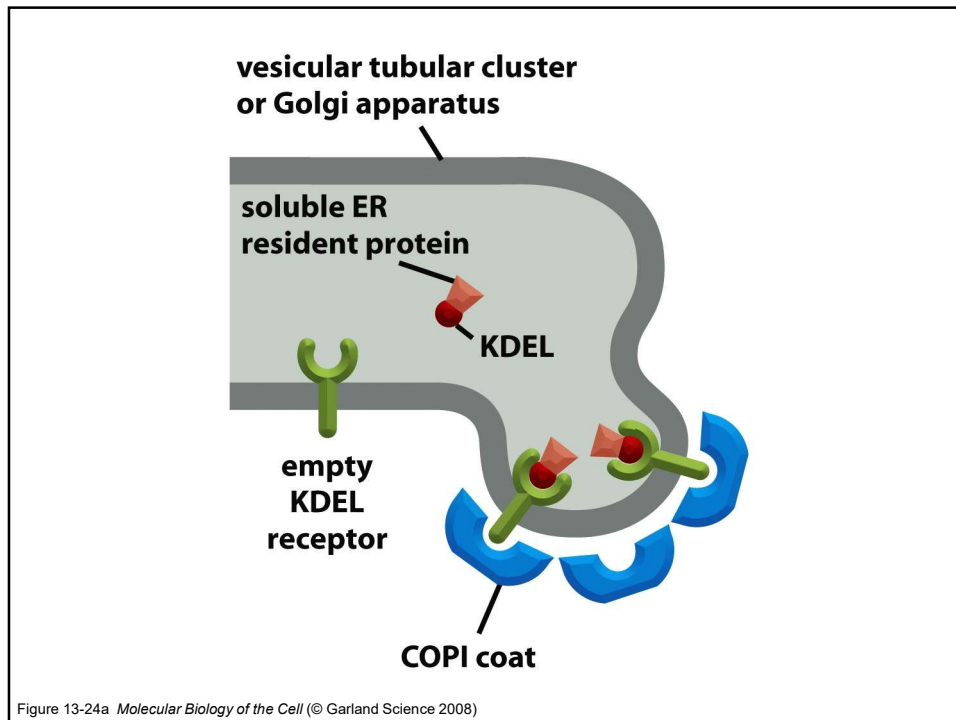
50



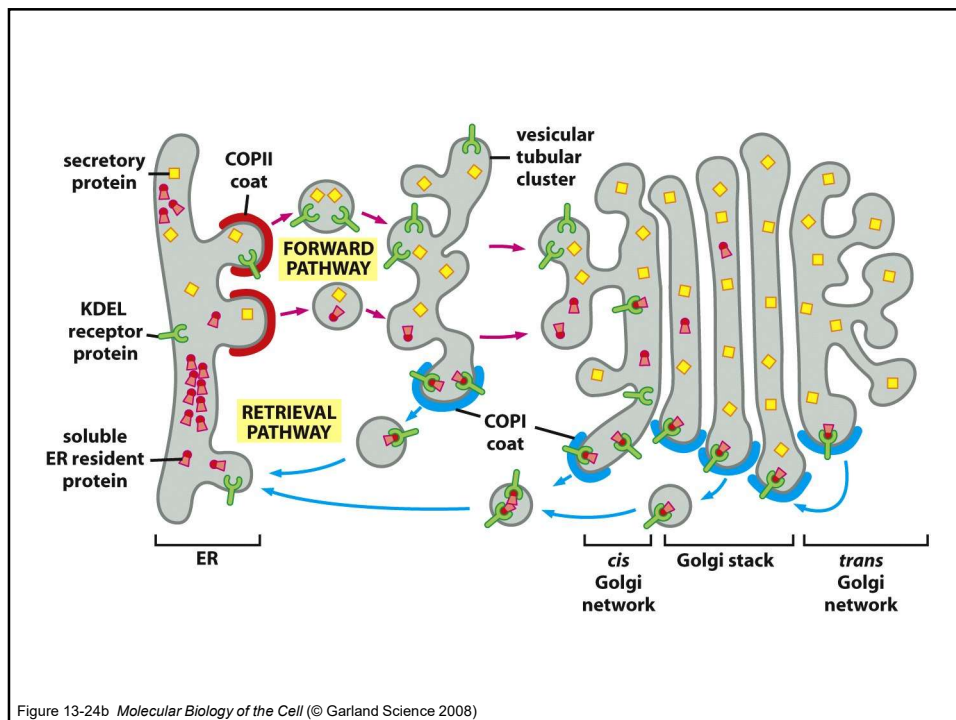
51



52



53



54

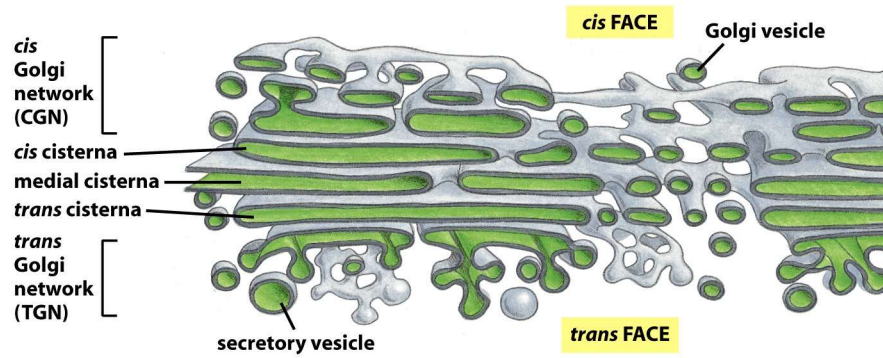


Figure 13-25a *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

55

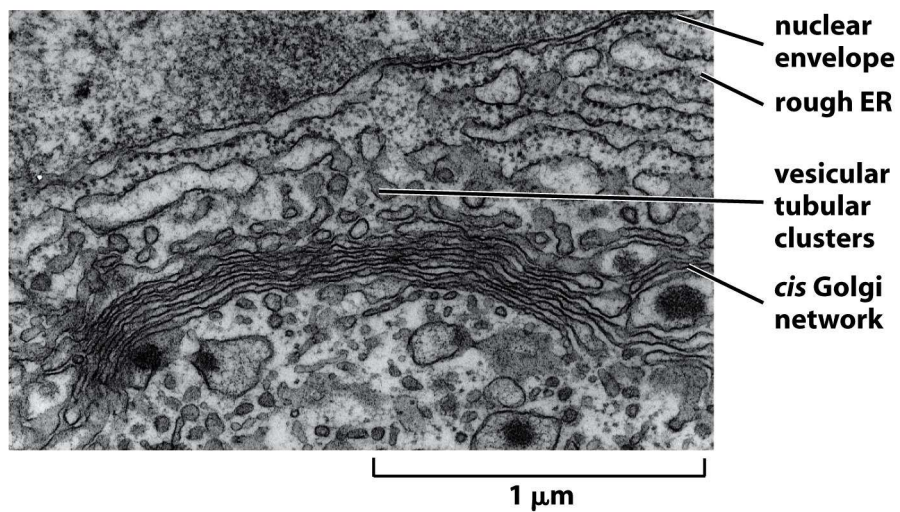
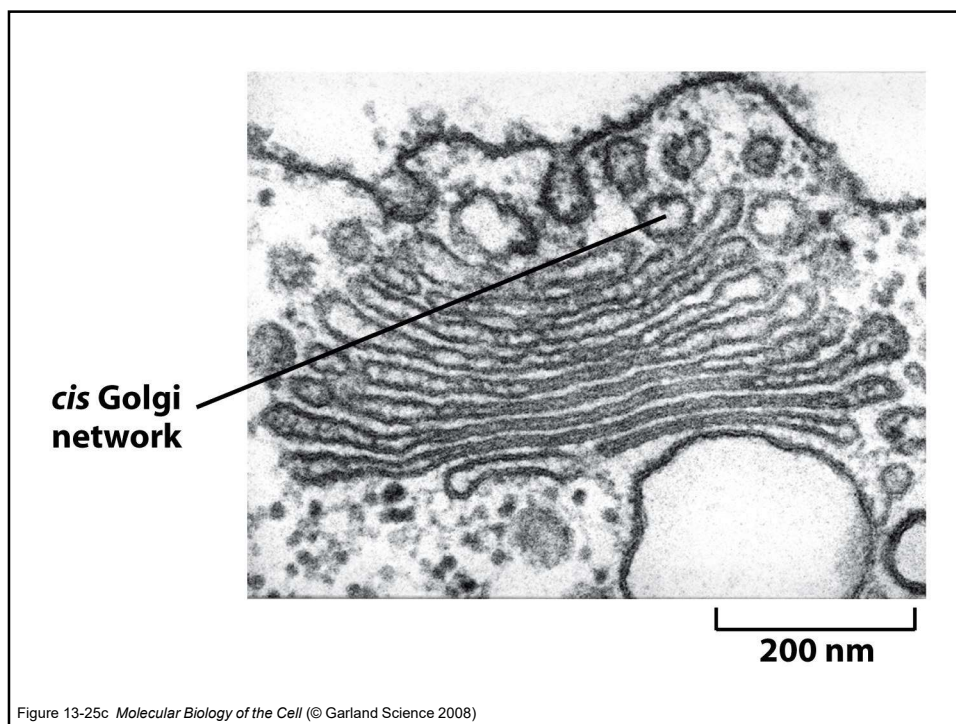


Figure 13-25b *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

56



57



58

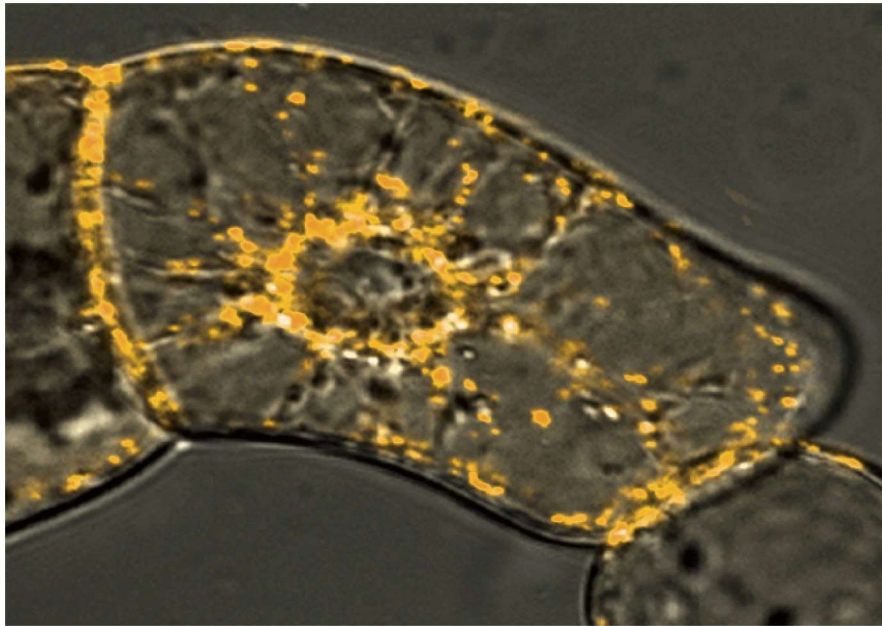


Figure 13-26b *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

59

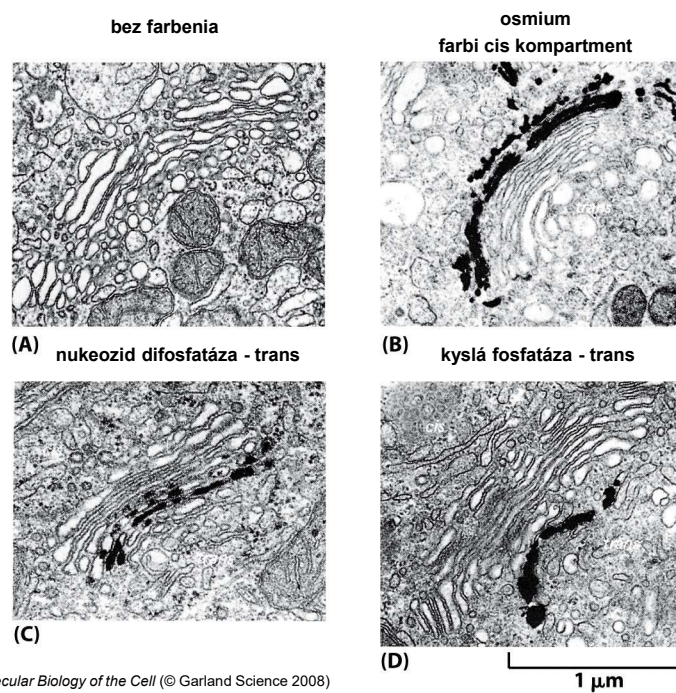
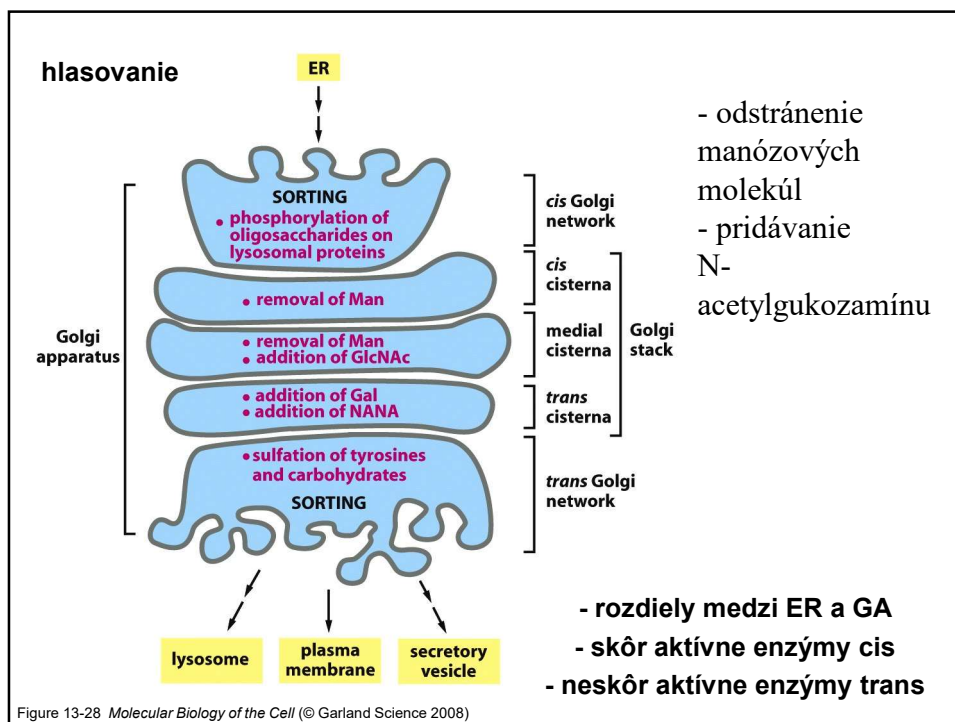
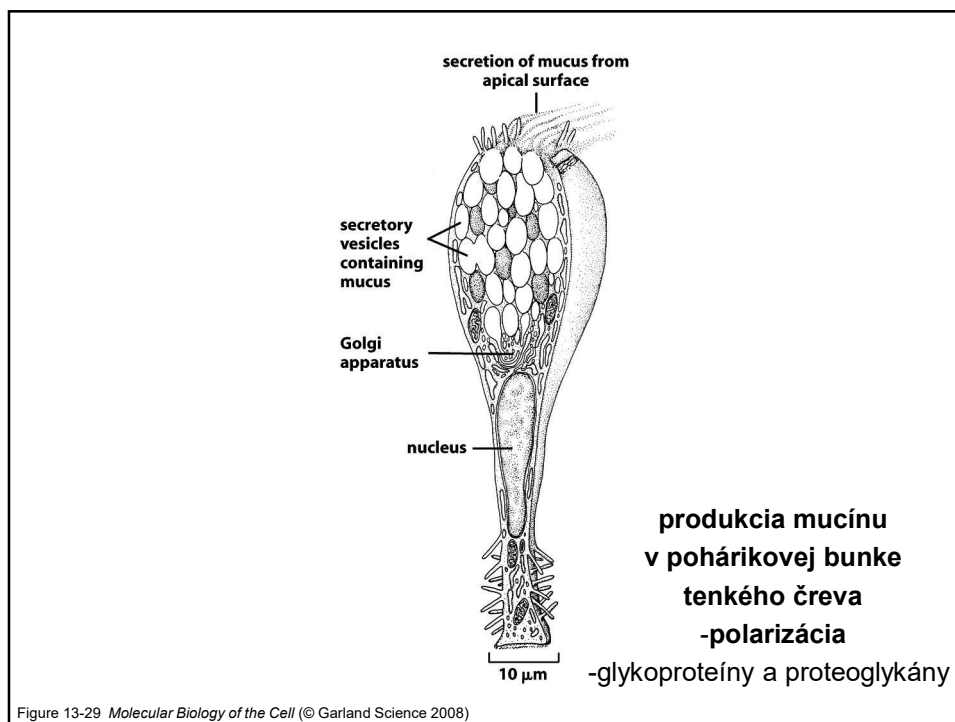


Figure 13-27 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

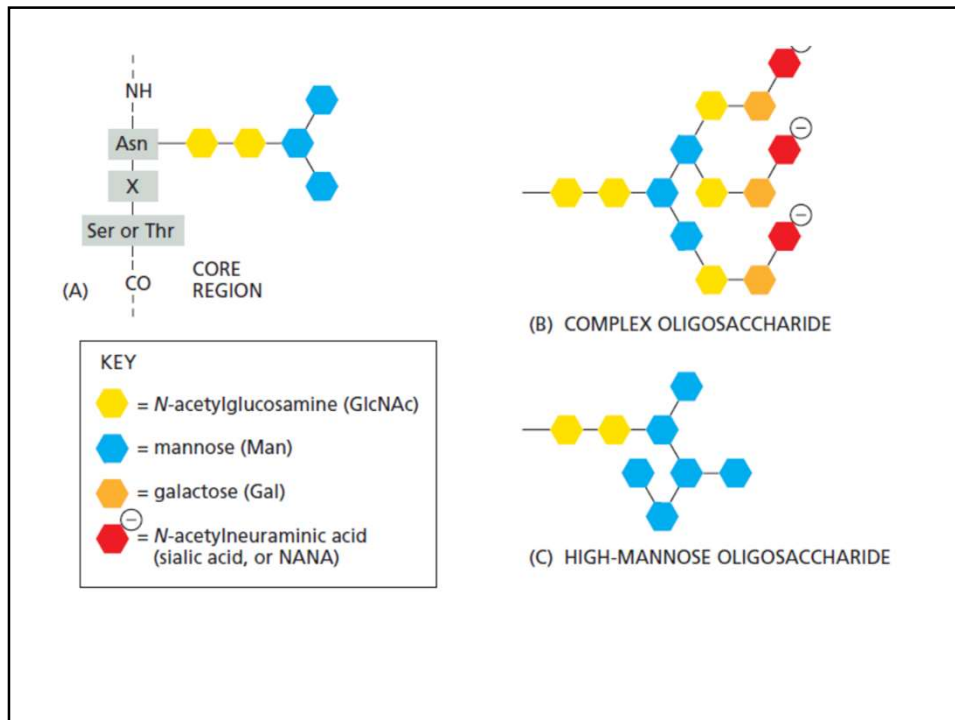
60



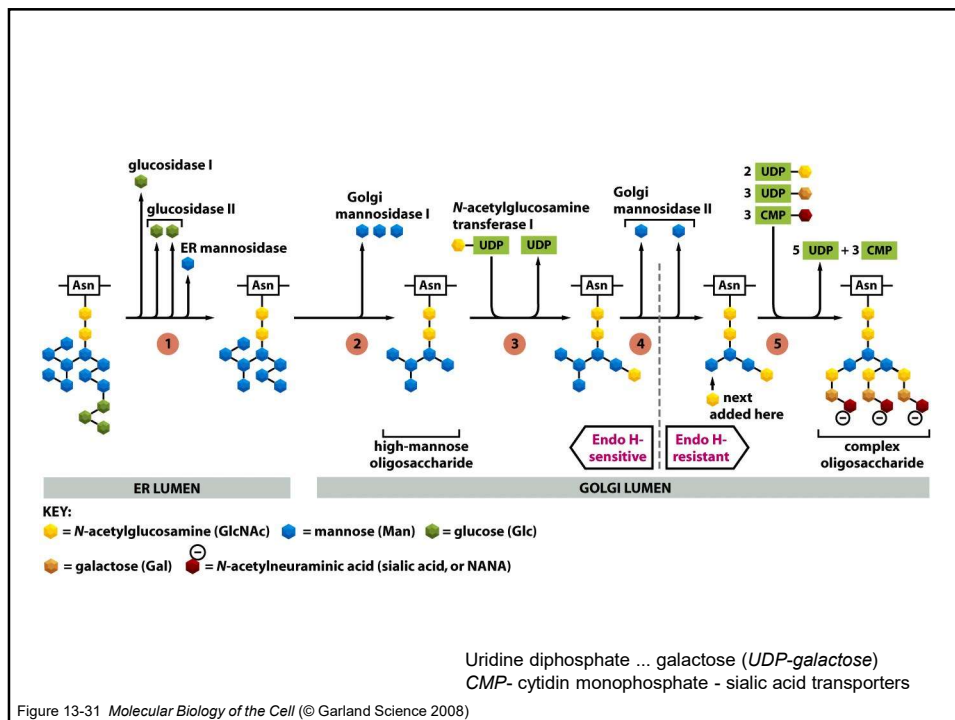
61



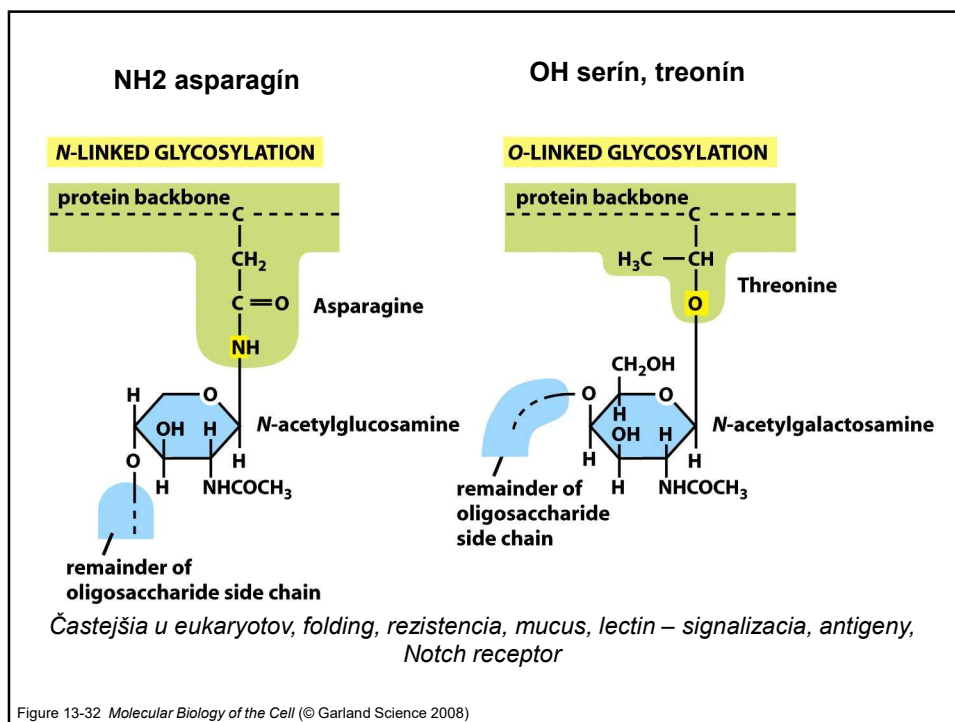
62



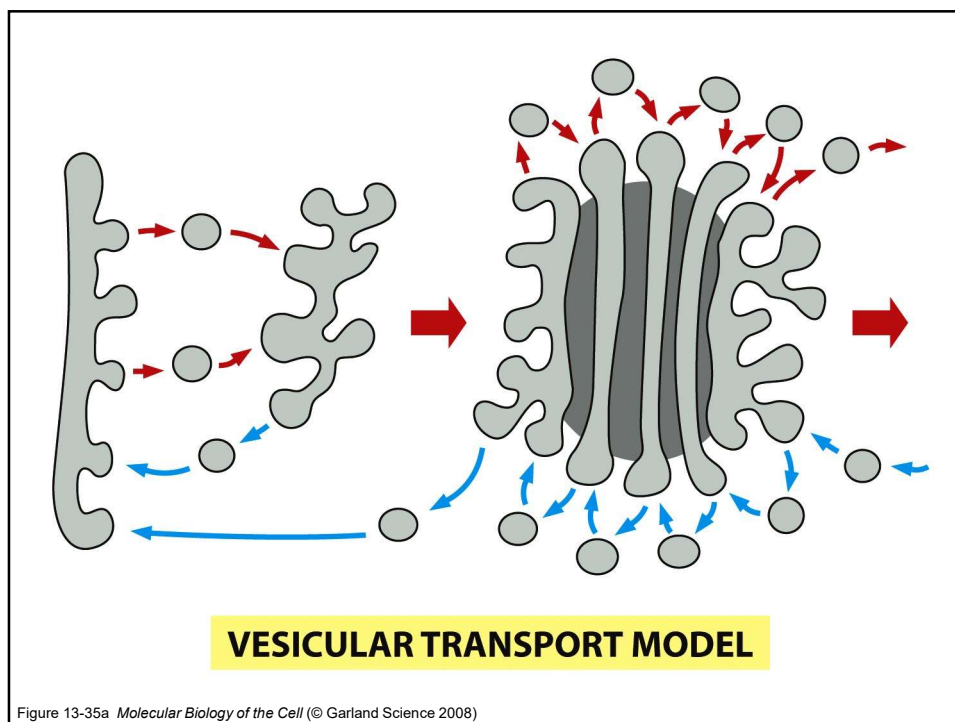
63



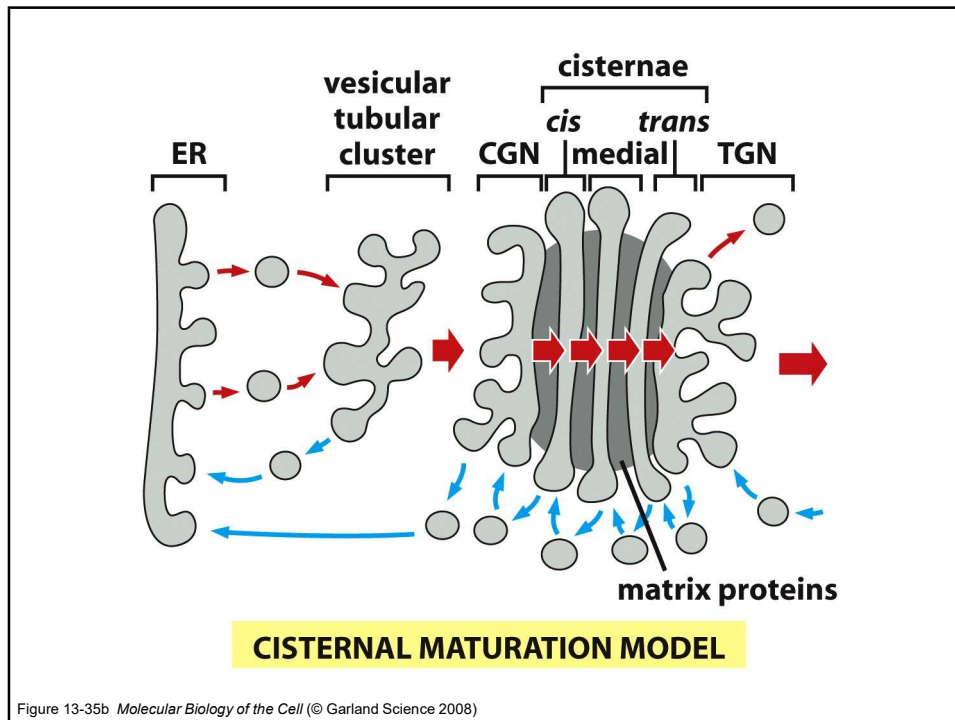
64



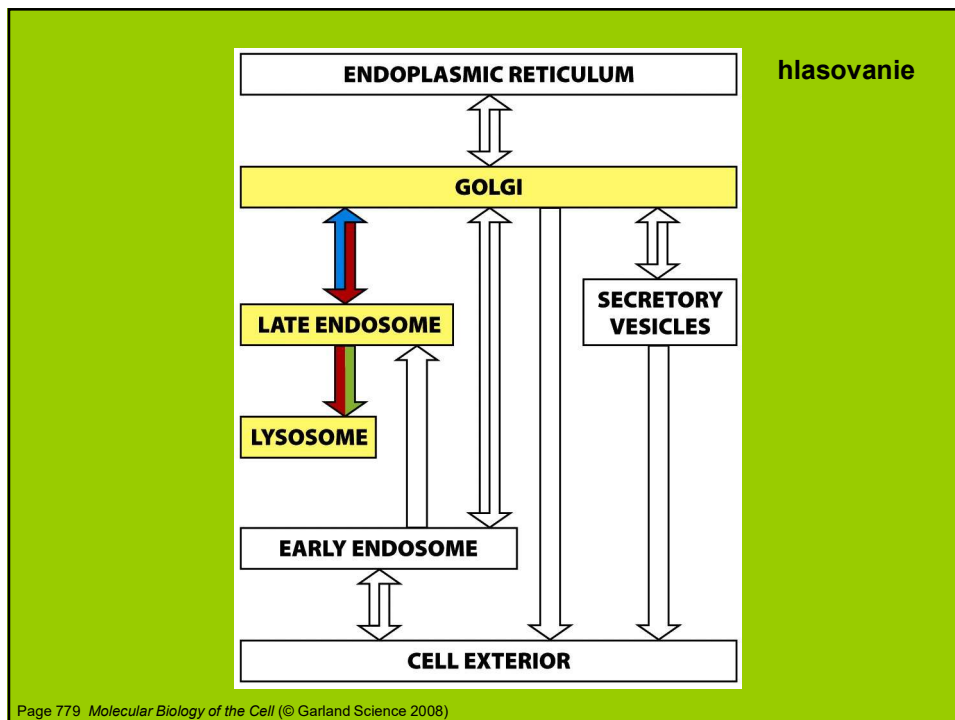
65



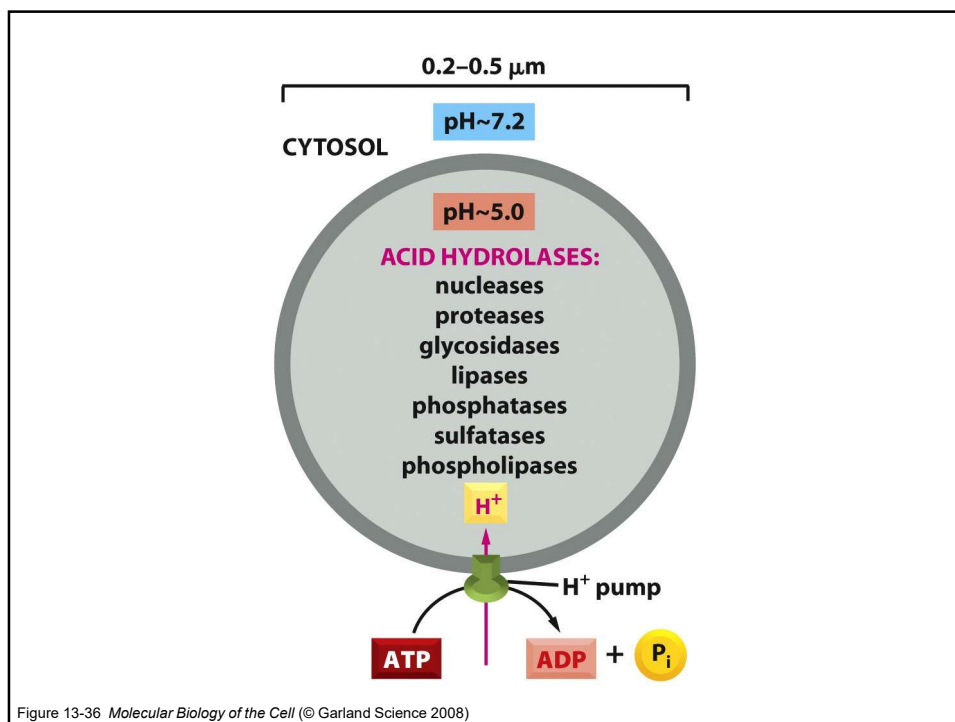
66



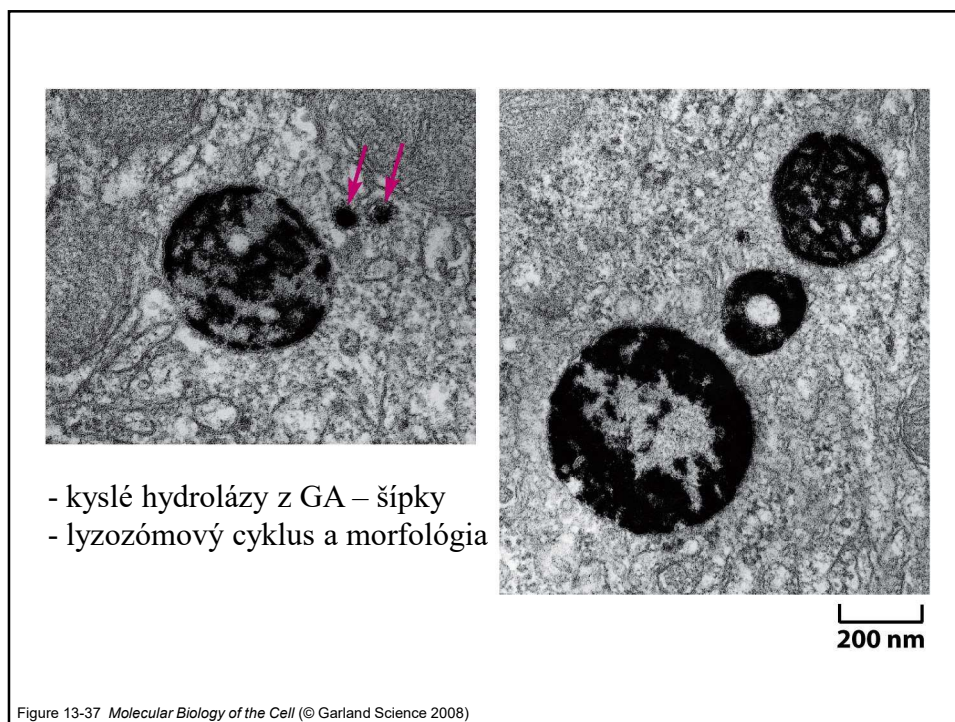
67



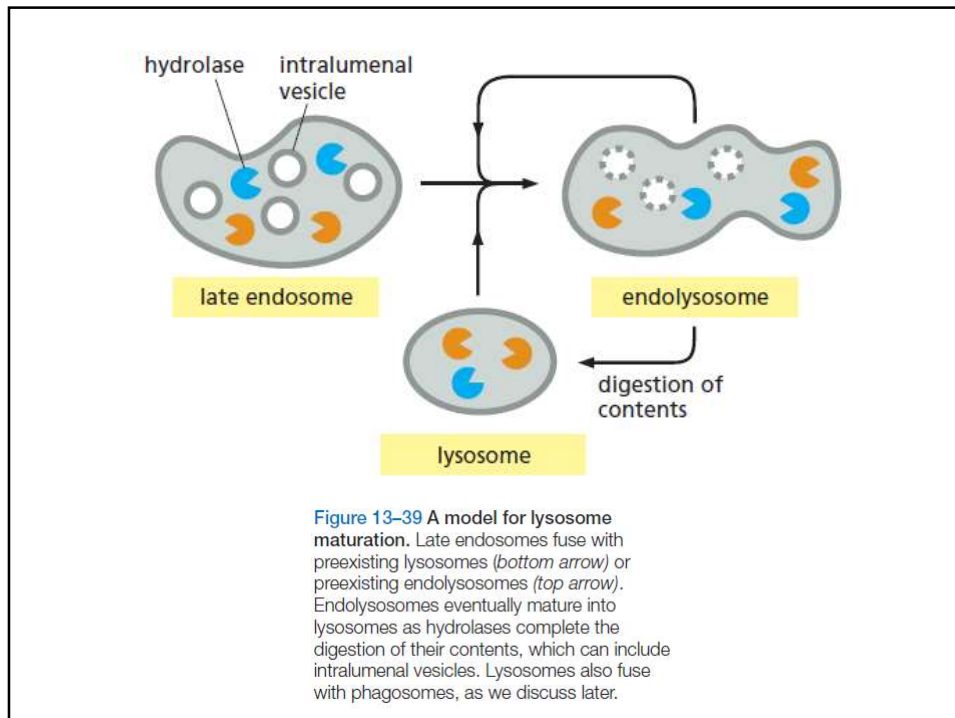
68



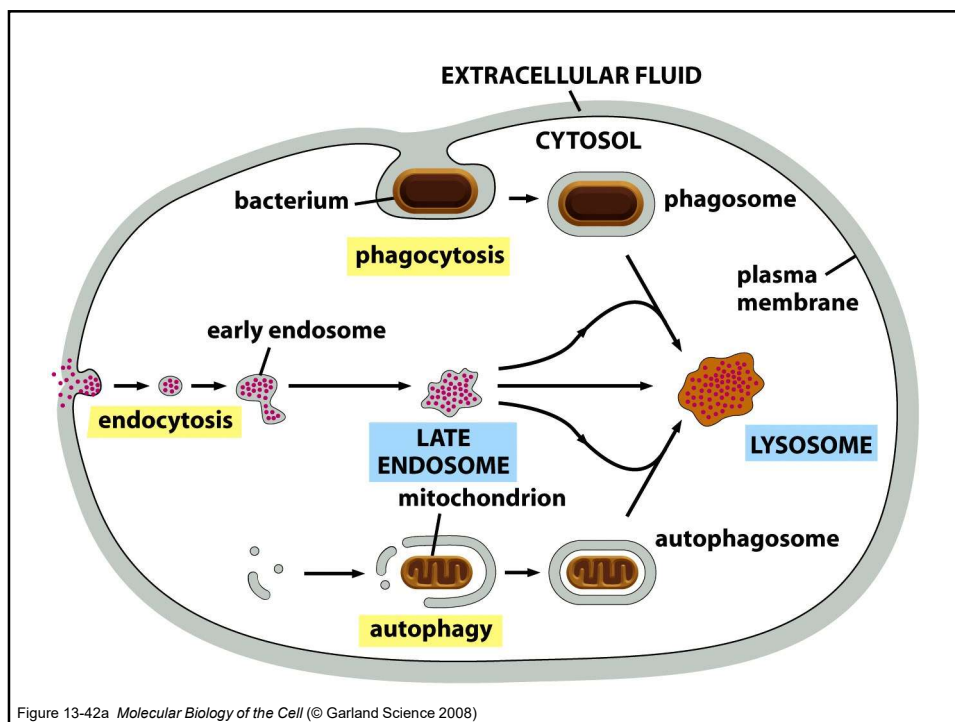
69



70

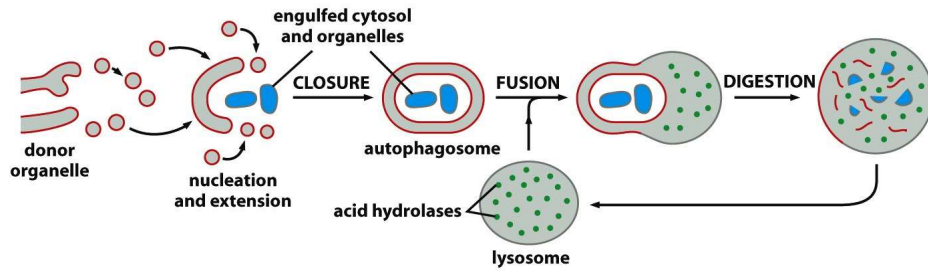


71



72

Autofágia

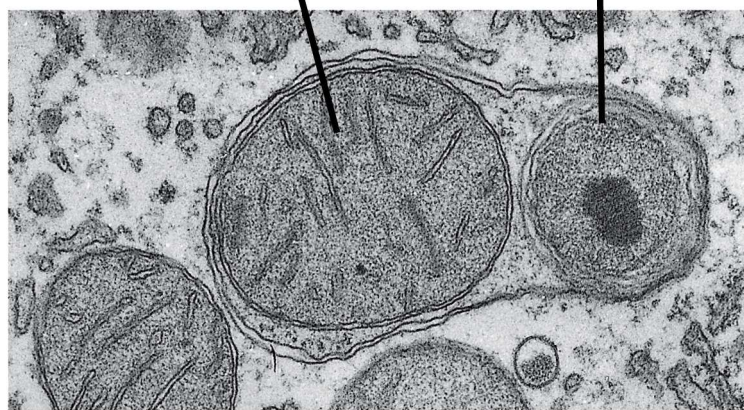


- bunková odpoveď na stres alebo hladovanie
- vo vzťahu k nádorovým ochoreniam: duálna úloha

Figure 13-41 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

73

mitochondrion peroxisome

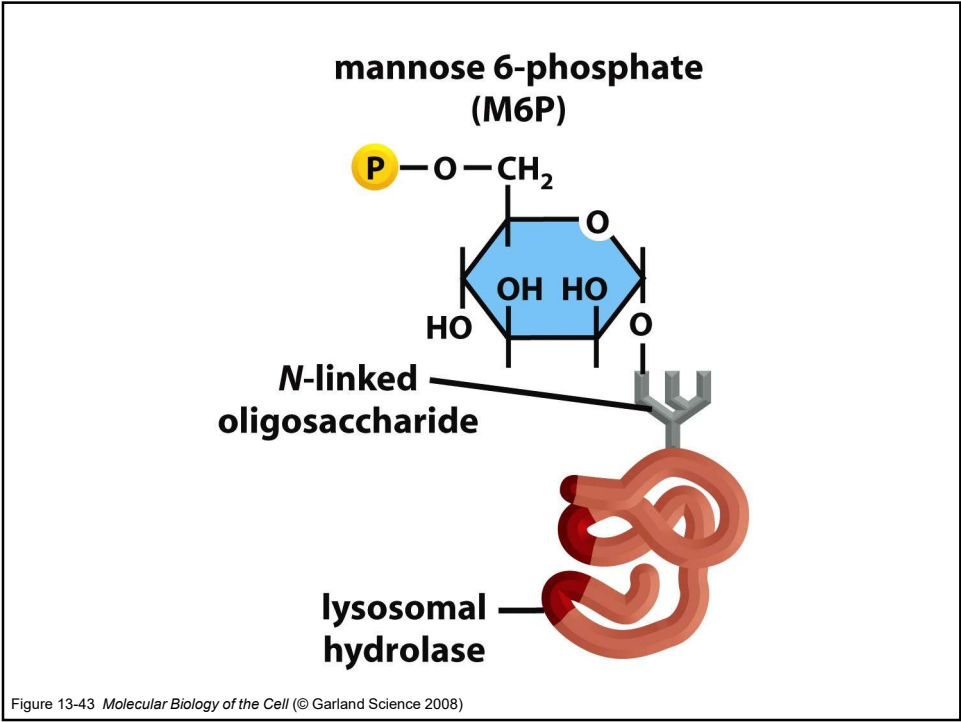


autofagozóm

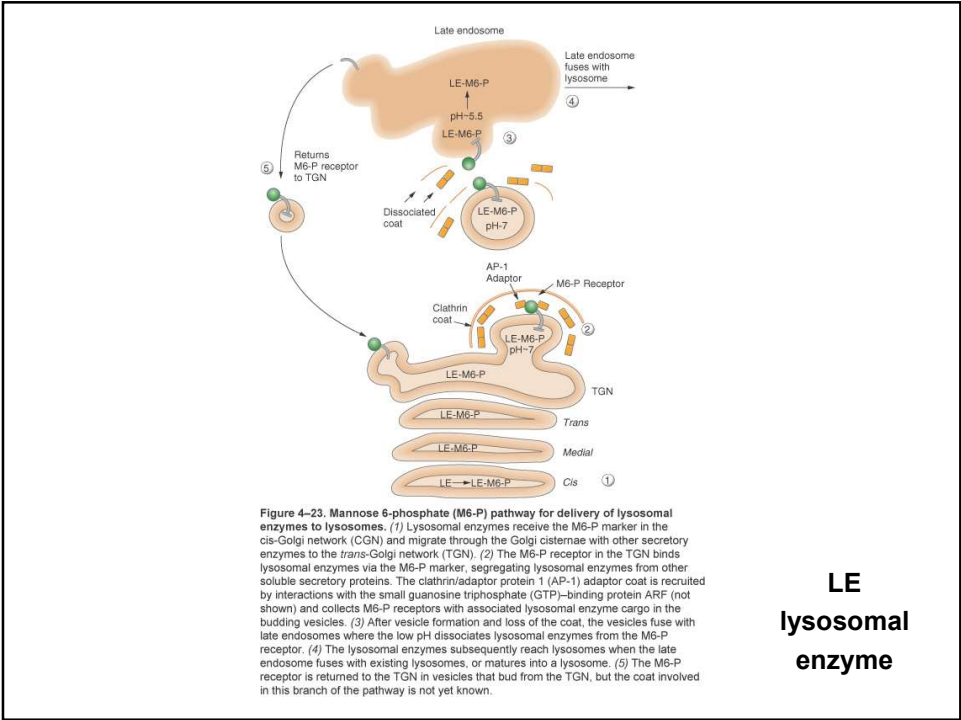
1 μm

Figure 13-42b *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

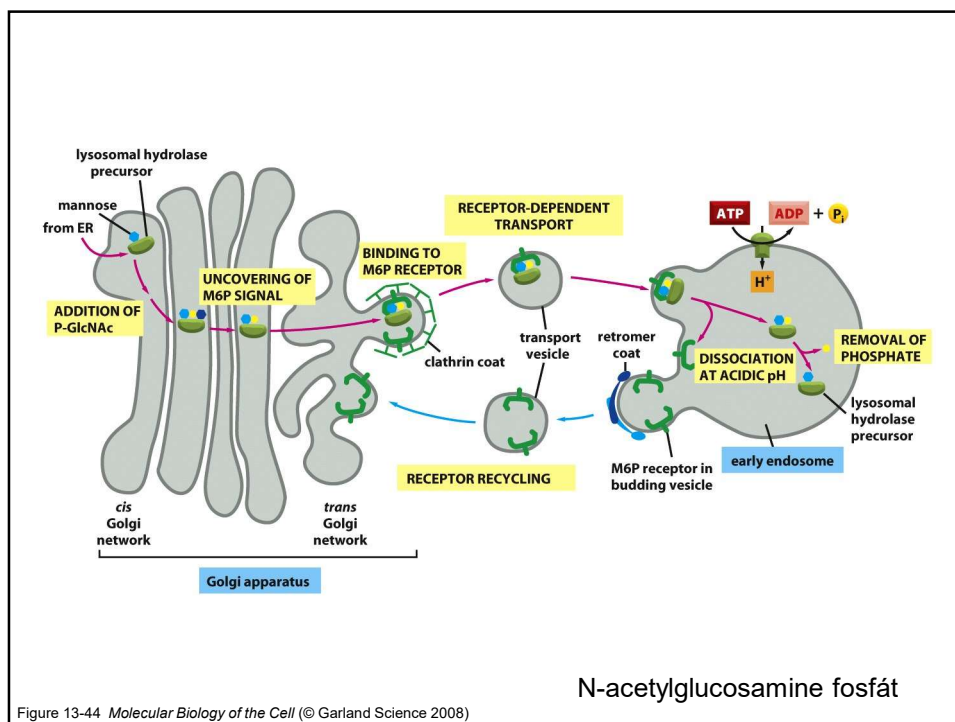
74



75



76



77

Hurler's disease

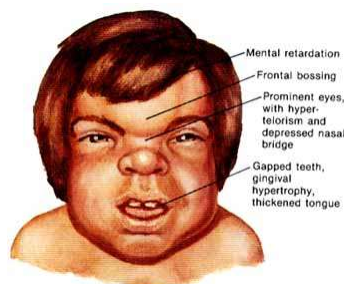
deficiency of **alpha-L iduronidase**, an **enzyme** responsible for the degradation of **mucopolysaccharides** in **lysosomes**, mutácia v géne

skeletálne deformity a oneskorený psychomotorický vývoj.

Nástup príznakov sa objavuje približne 6-8 mesiacov po narodení. K ďalším znakom patrí zákal rohovky, organomegália, postihnutie srdca, nízky vzrast, hernie, faciálna dymorfia a hirzutizmus.

Rádiologické vyšetrenie skeletu odhalí obraz charakteristický pre dysostózu multiplex.

Po druhom roku života sa môže objaviť hydrocefalus.



78

I-Cell Disease (Mucopolidosis Type II)

chýbajú takmer všetky hydrolytické enzýmy, lebo chýba manóza 6 fosfát

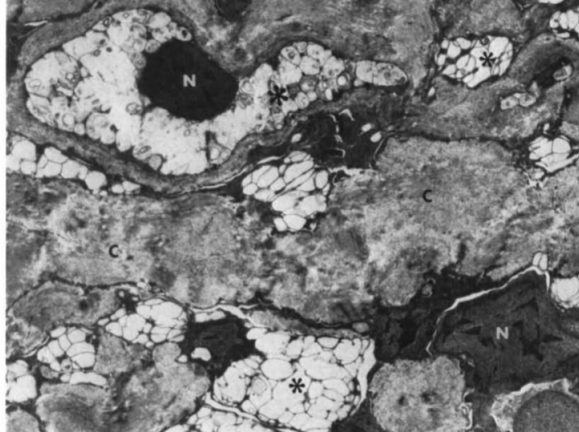
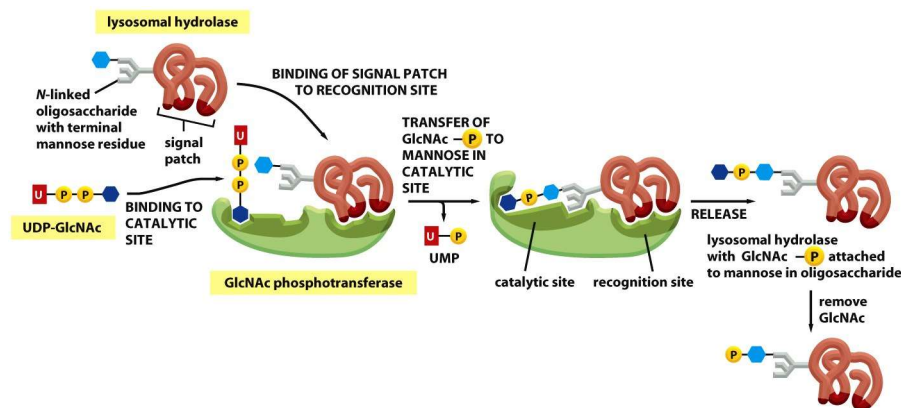


Fig. 3. In the superficial stroma of the conjunctiva, histiocytes and fibroblasts are numerous. The cytoplasm of these cells shows an alveolar reticulated appearance, as abnormal storage material (asterisks) has distended the cells, displaced their nuclei (N), and seemingly excluded other cytoplasmic organelles. E, epithelium; C, collagenous connective tissue. ($\times 5,400$.)

79



dve väzobné miesta

Uridine diphosphate N-acetylglucosamine
N-acetylglucosamine GlcNAc

manoza musí byť
forsforylovaná, aby
ho M6P receptor
rospoznal

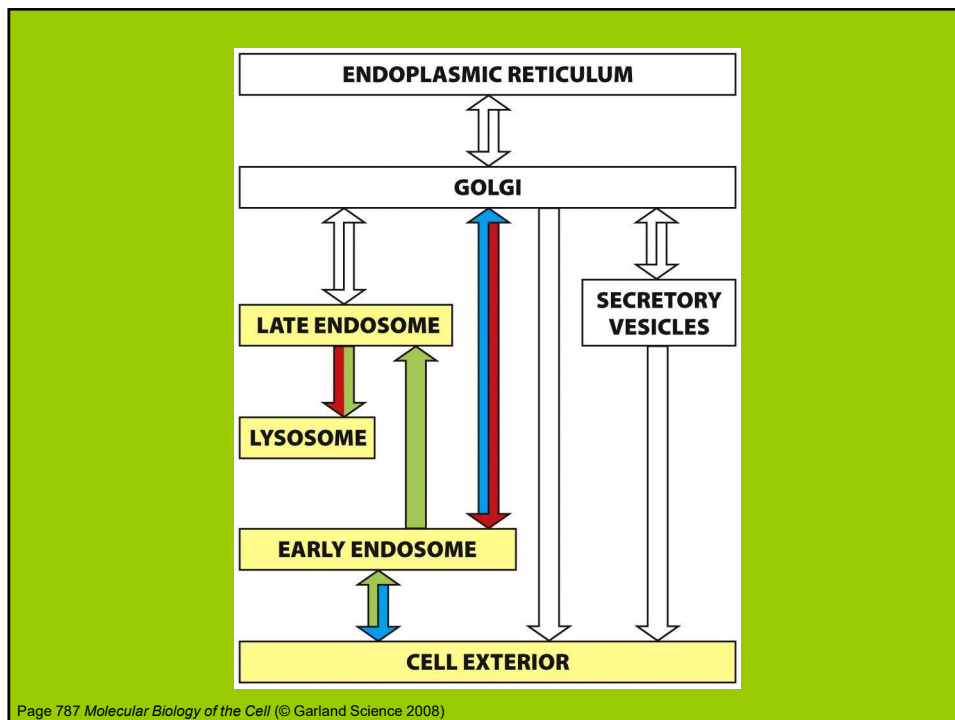
Figure 13-45 Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

80

niektoré lyzozómy sú vylúčené exocytózou

- nestráviteľné zvyšky
- melanocyty vylučujú takto pigment, ktorý potom resorbujú keratinocyty

81



82

fagocytóza
makrofágom
- erythrocyty
- pseudopodia

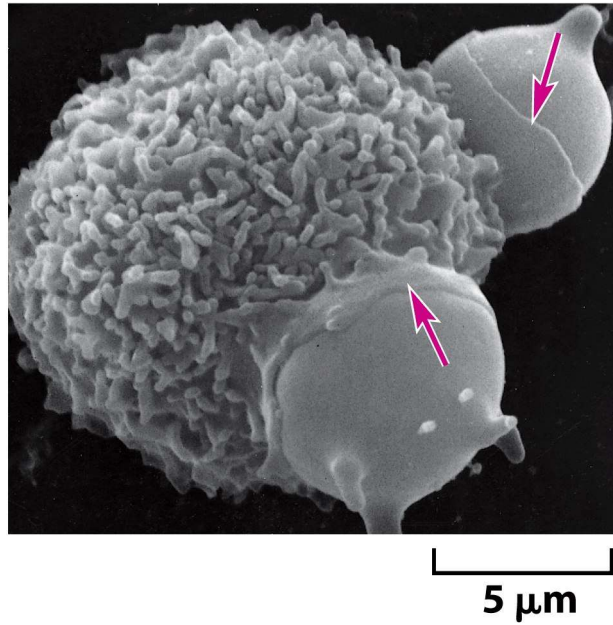


Figure 13-46 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

83

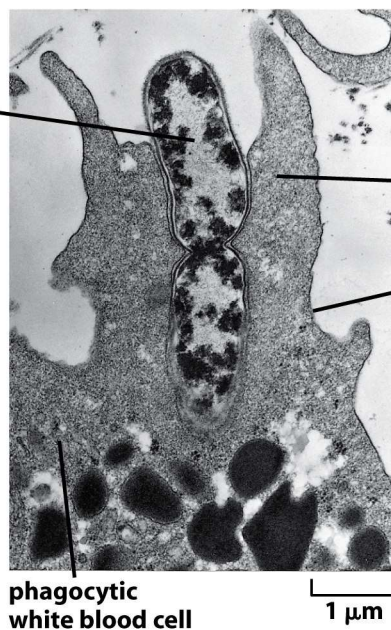
zmeny
plazmatickej
membrány
počas
fagocytózy

deliaca sa
baktéria

bacterium

pseudopod

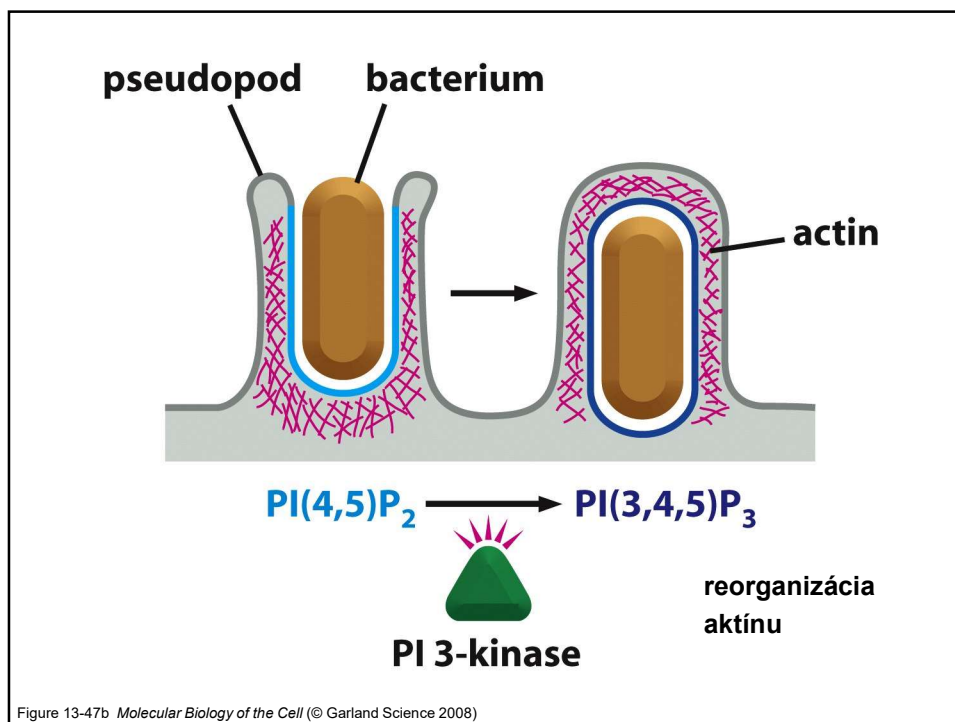
plasma
membrane



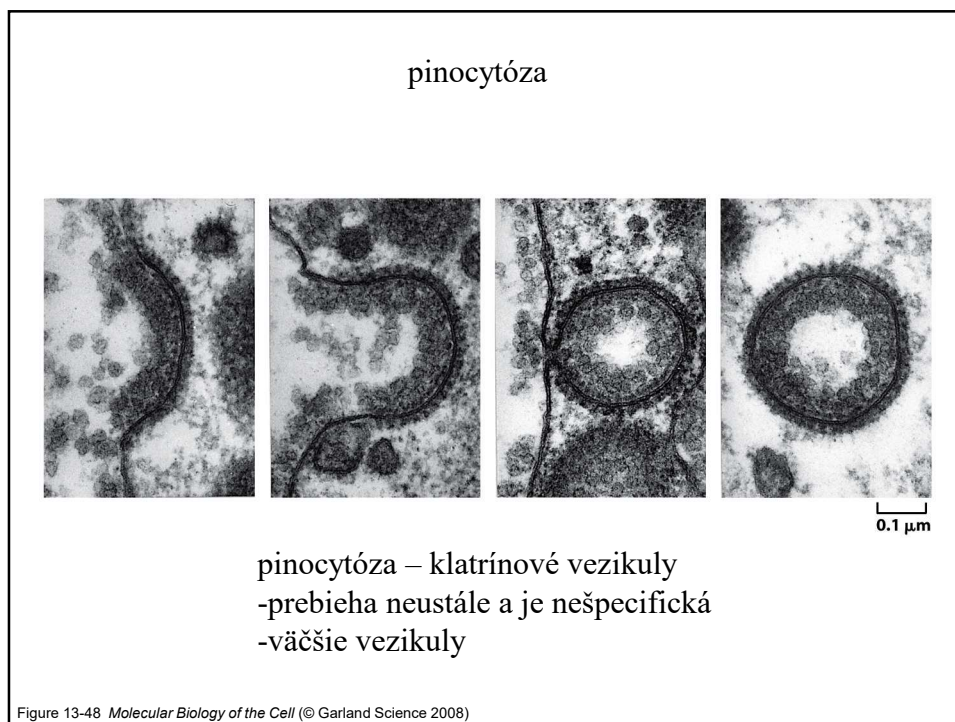
phagocytic
white blood cell

Figure 13-47a *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

84



85



86

alternatívny spôsob pinocytózy – kaveloly
 membránové lipidové zoskupenia – cholesterol, glycosfingolipidy
 nemajú proteínový plášť
 endozómy, alebo transcytóza
 ostávajú v cieľových štruktúrach
 niektoré vírusy

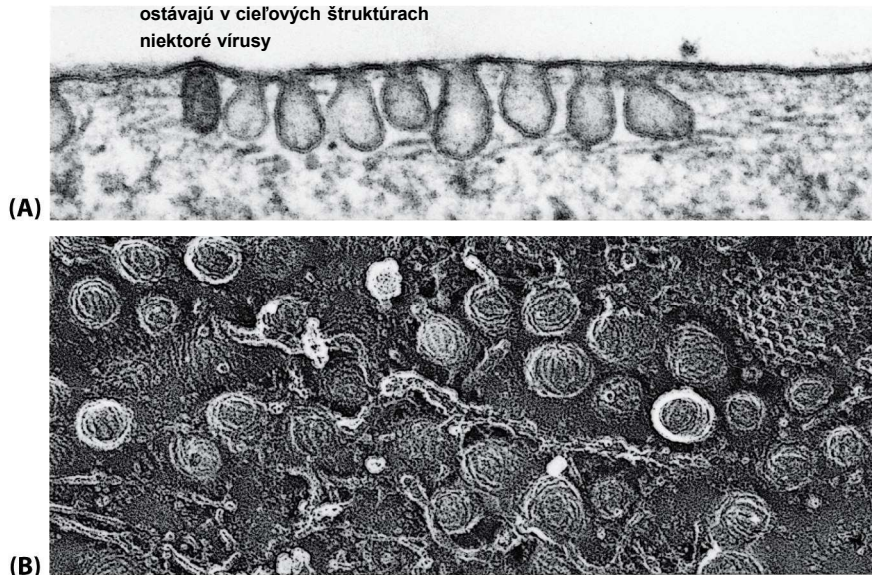
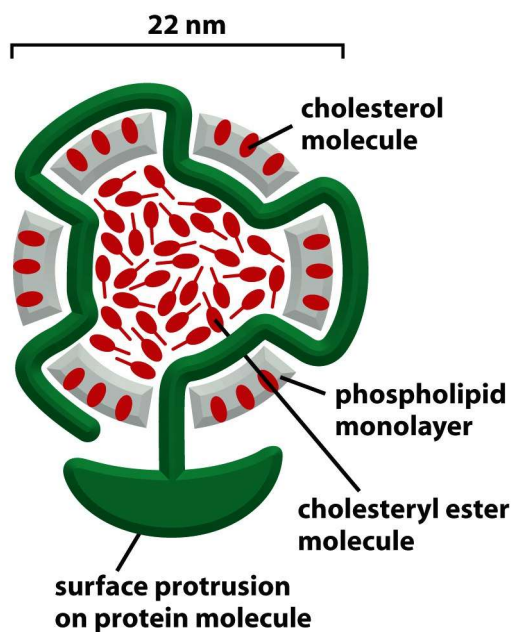


Figure 13-49 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

87



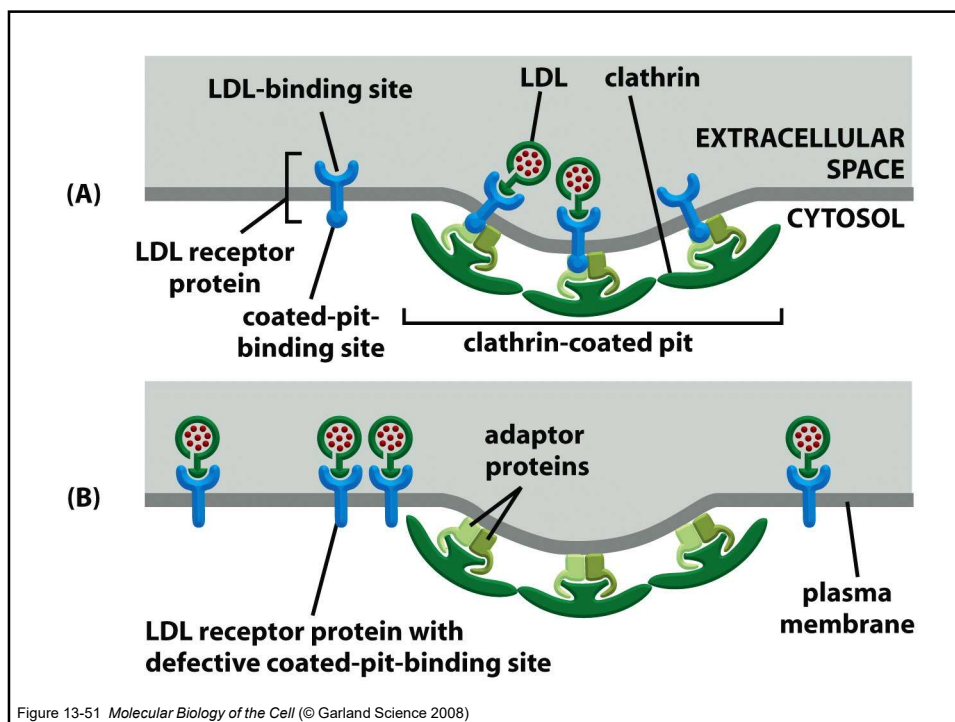
receptorom
 mediovaná
 endocytóza

1500
 cholesterolových
 molekúl
 naviazaných na
 masťné kys.

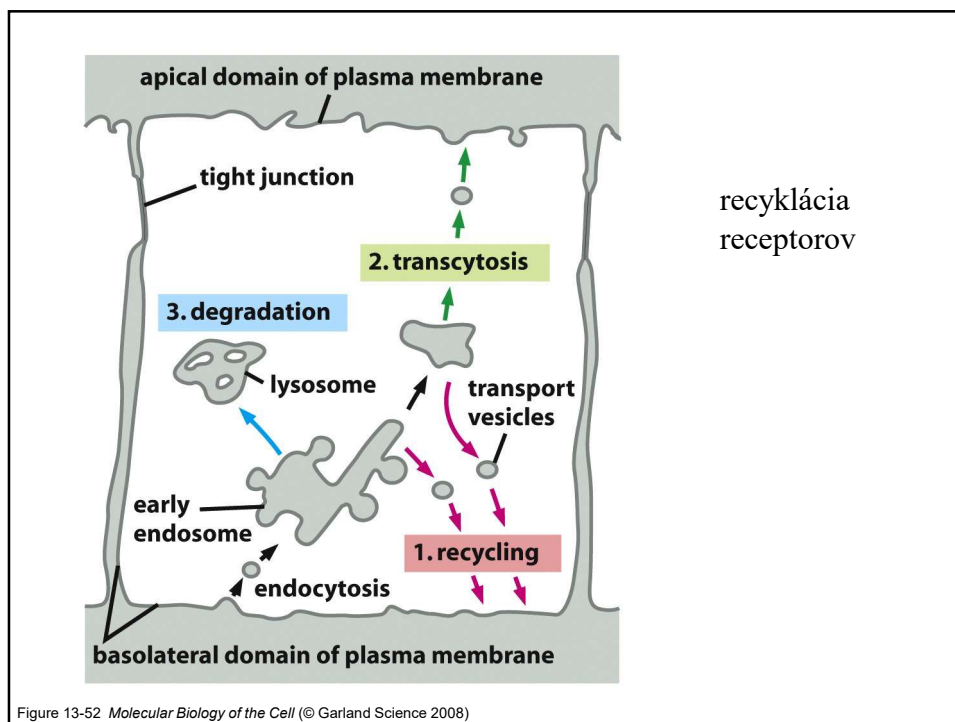
monolayer

Figure 13-50 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

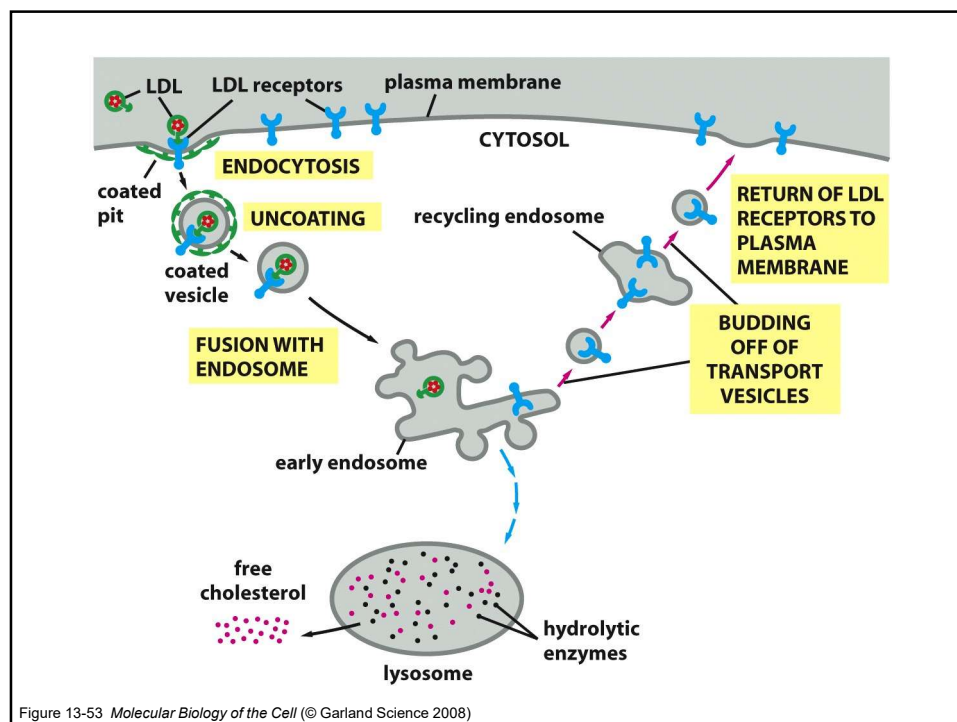
88



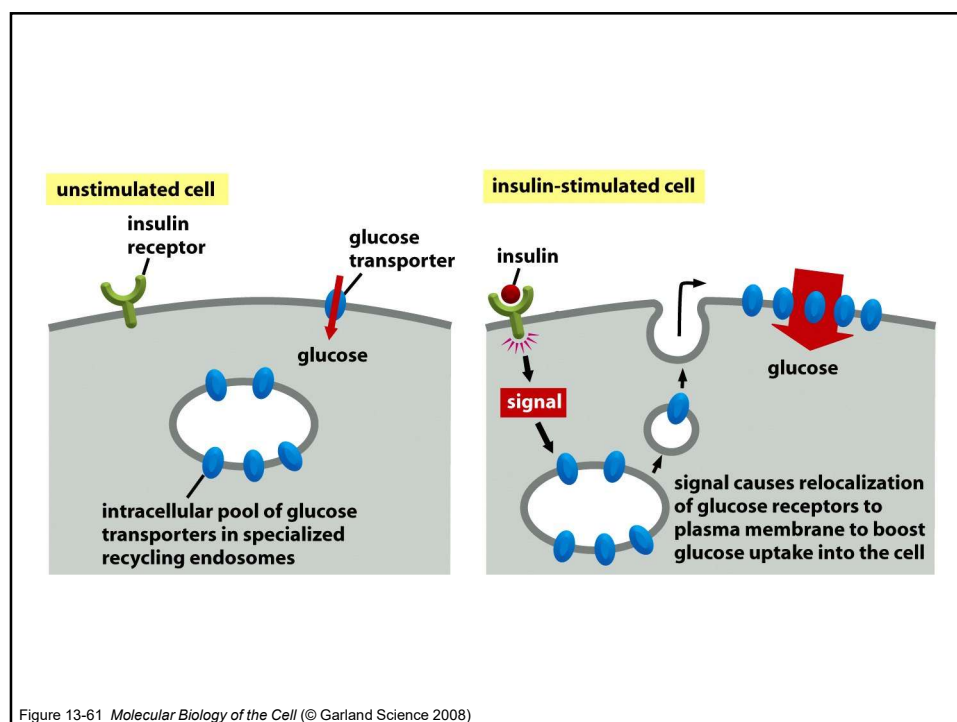
89



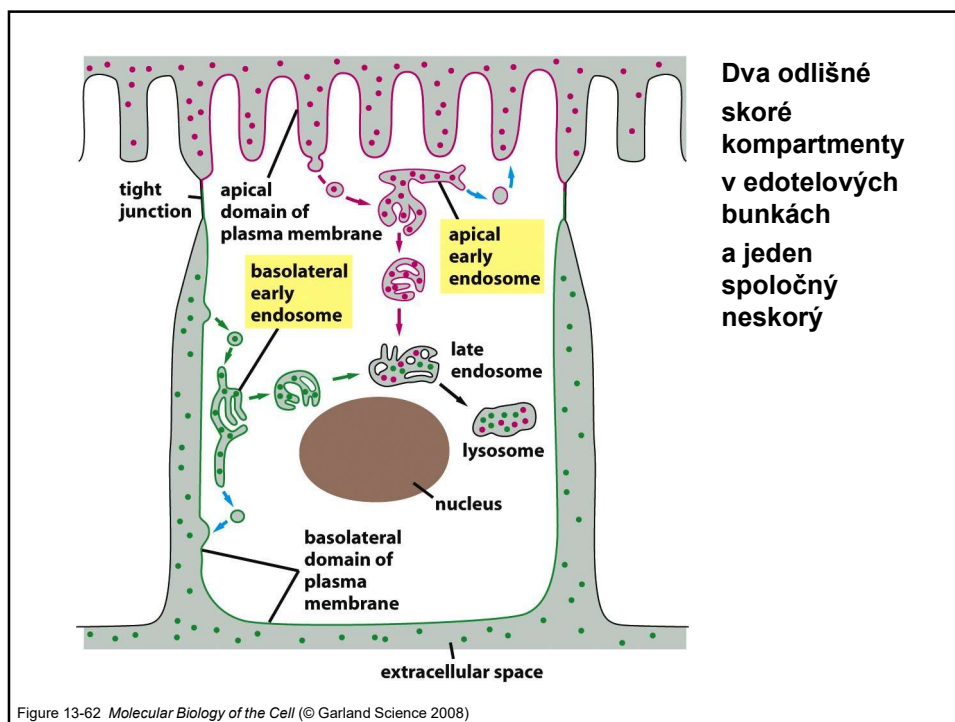
90



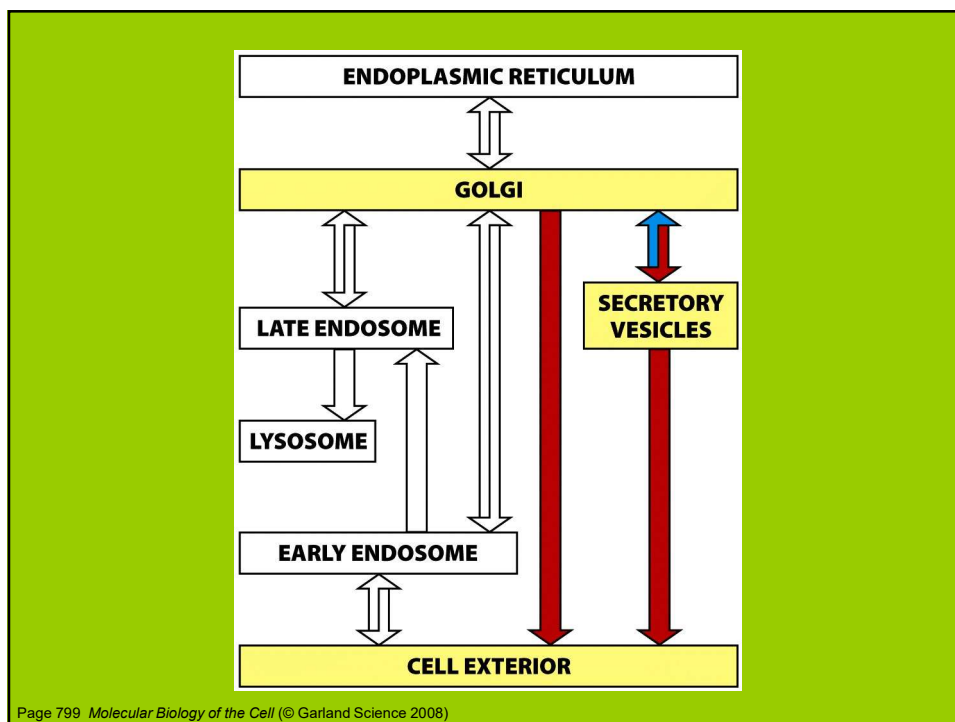
91



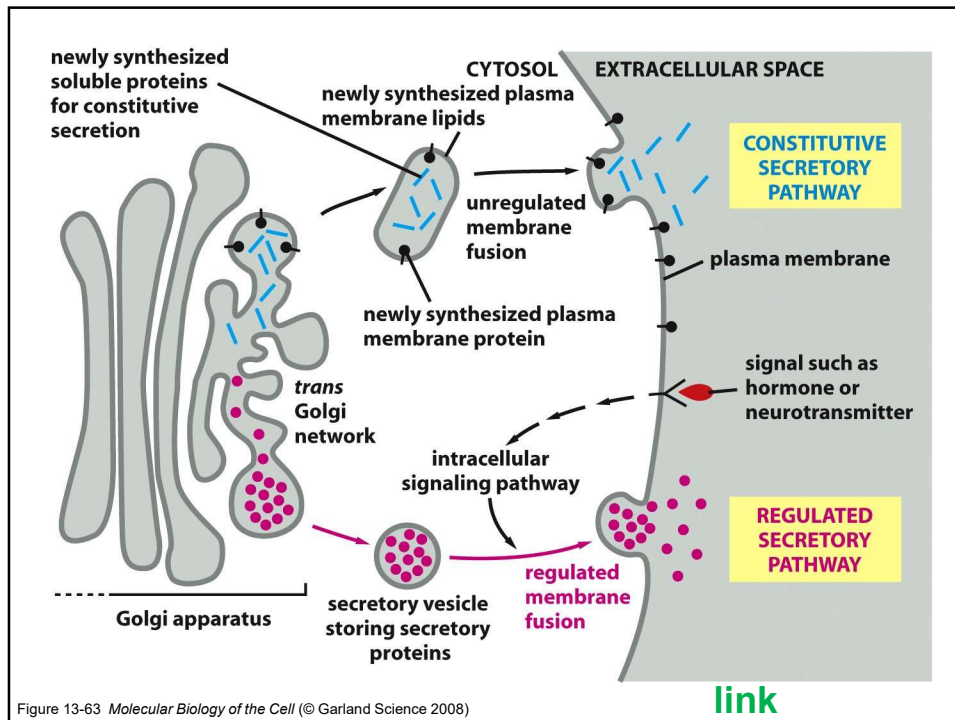
92



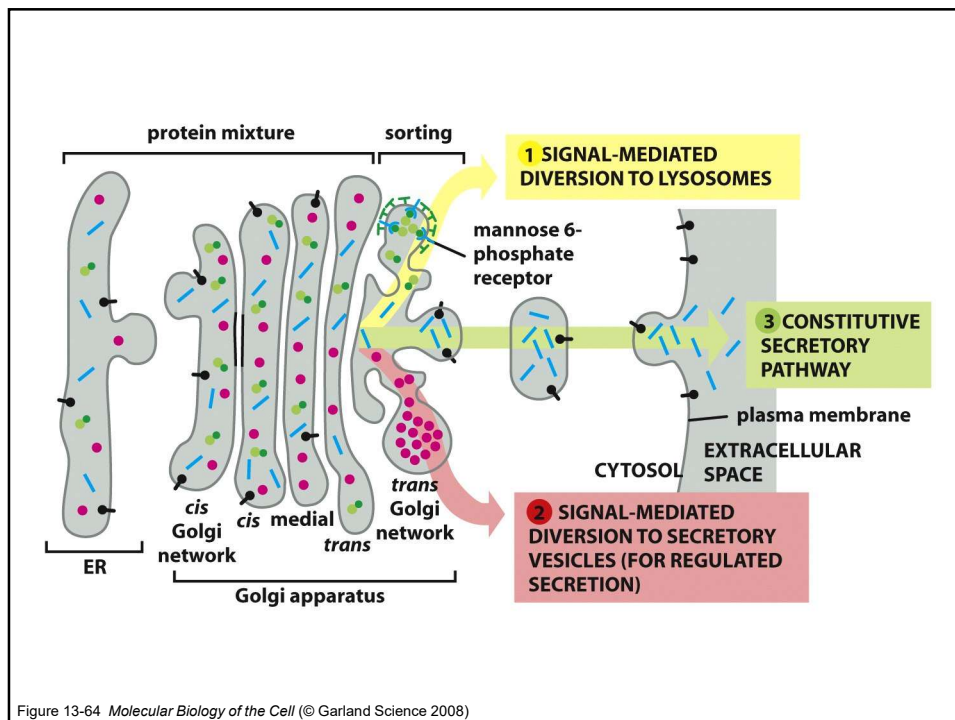
93



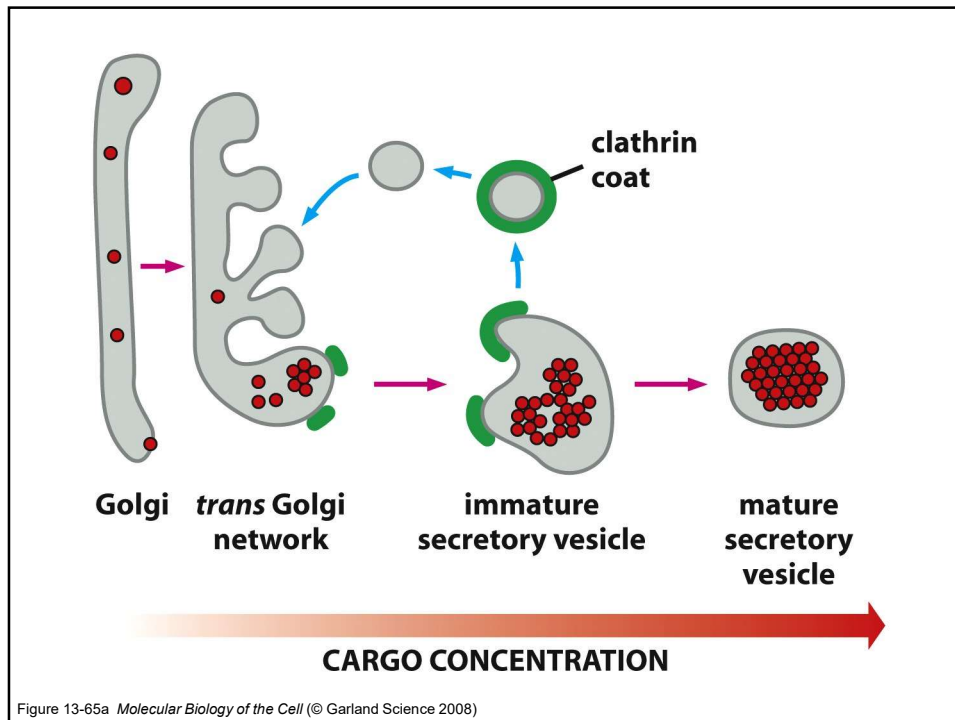
94



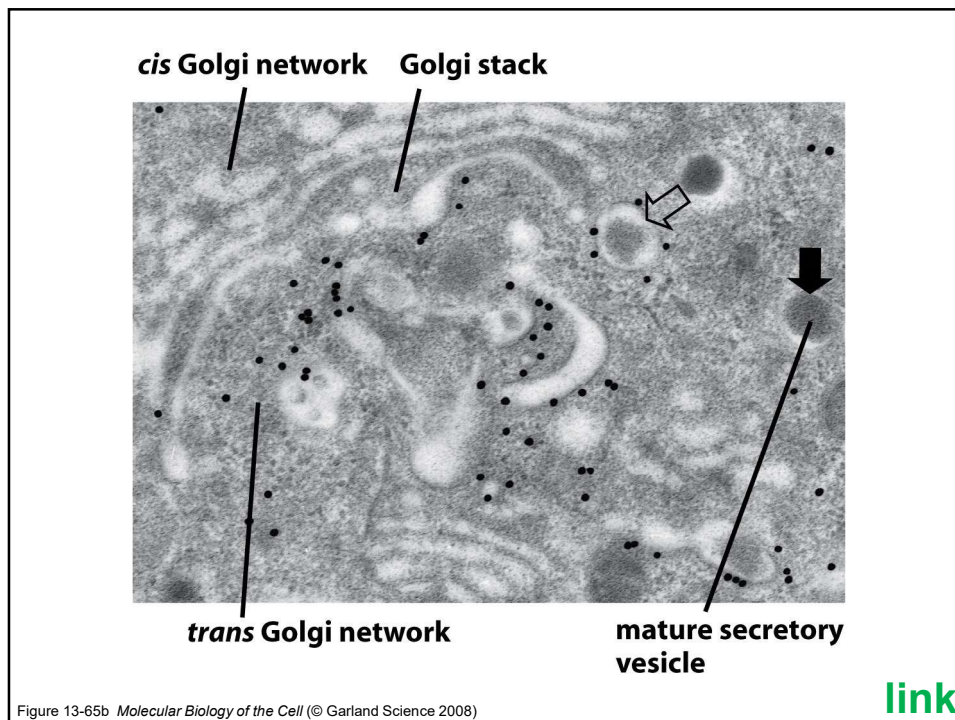
95



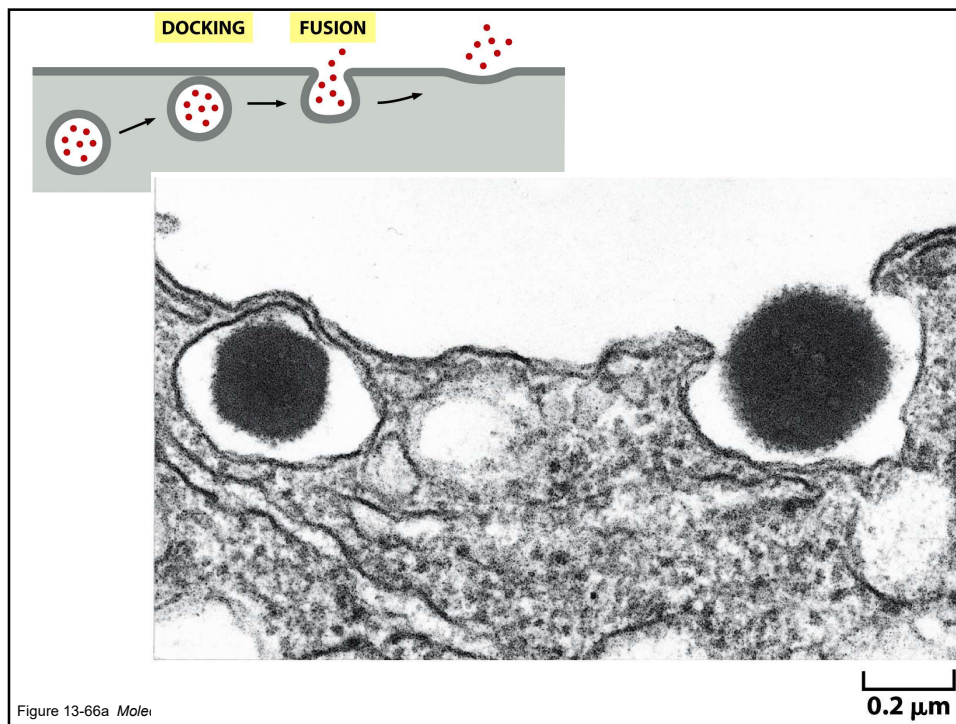
96



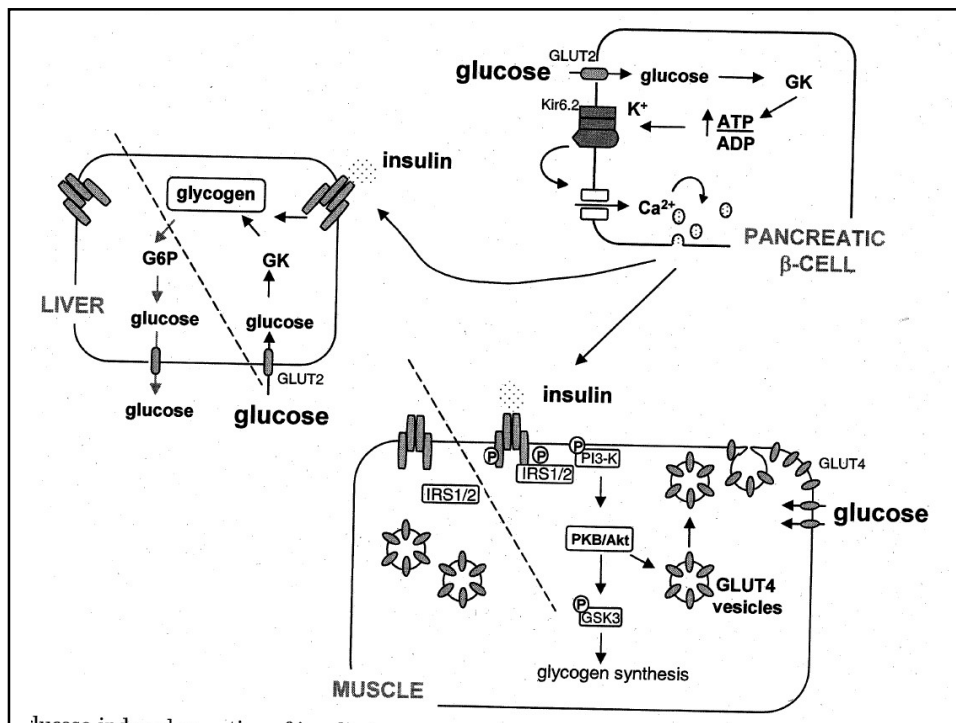
97



98



99



100

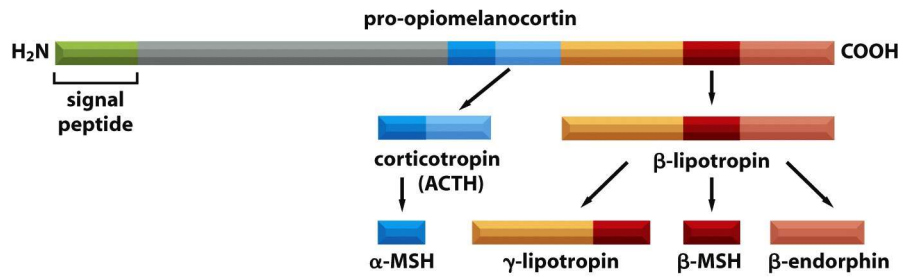
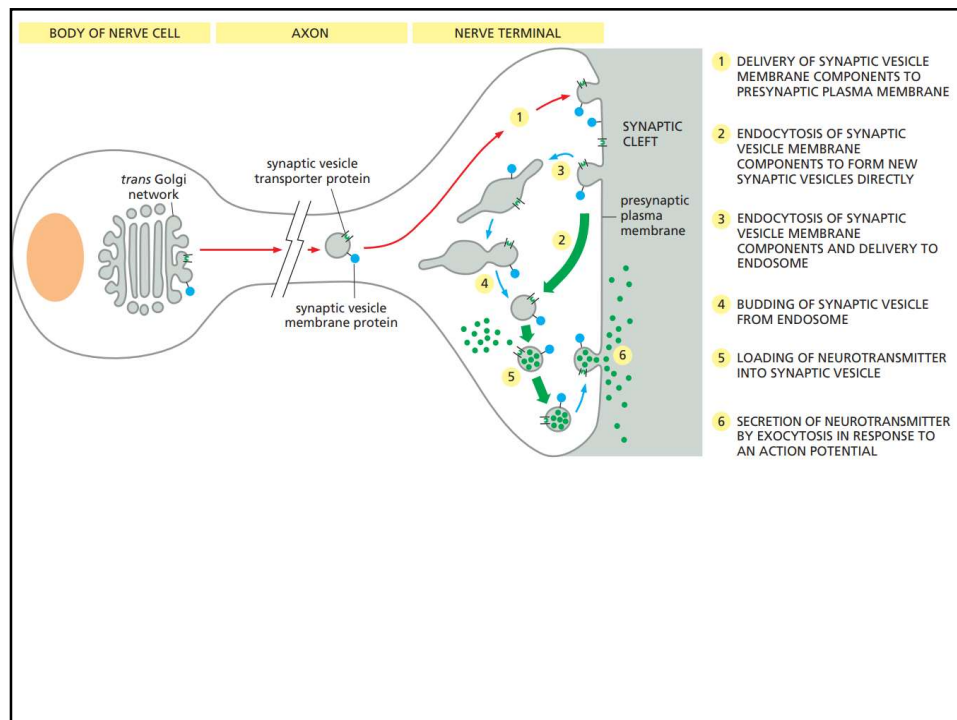
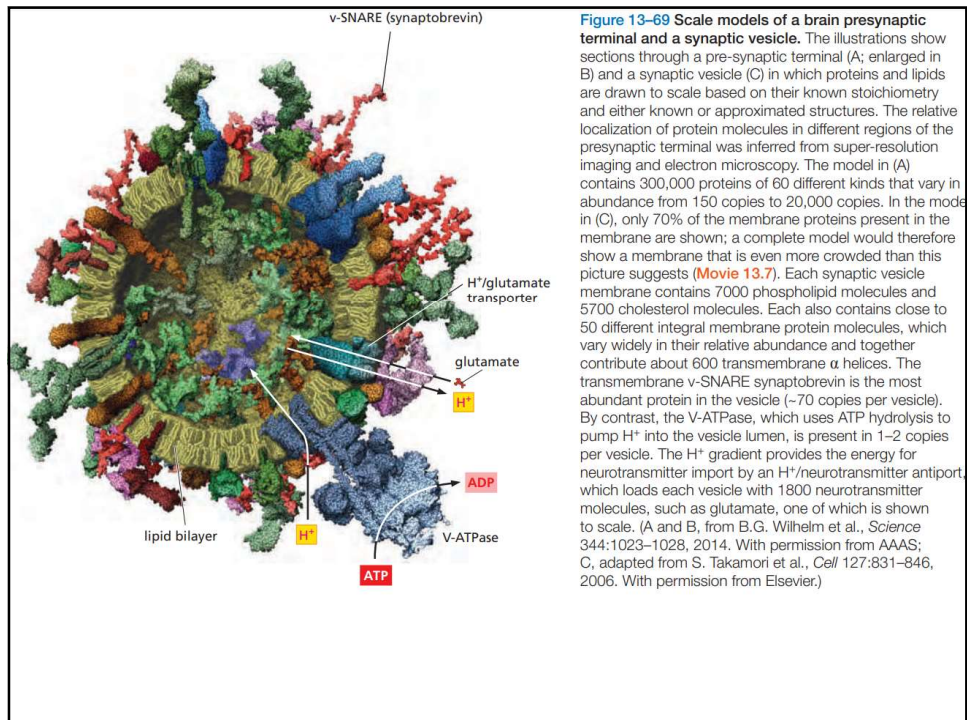


Figure 13-67 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

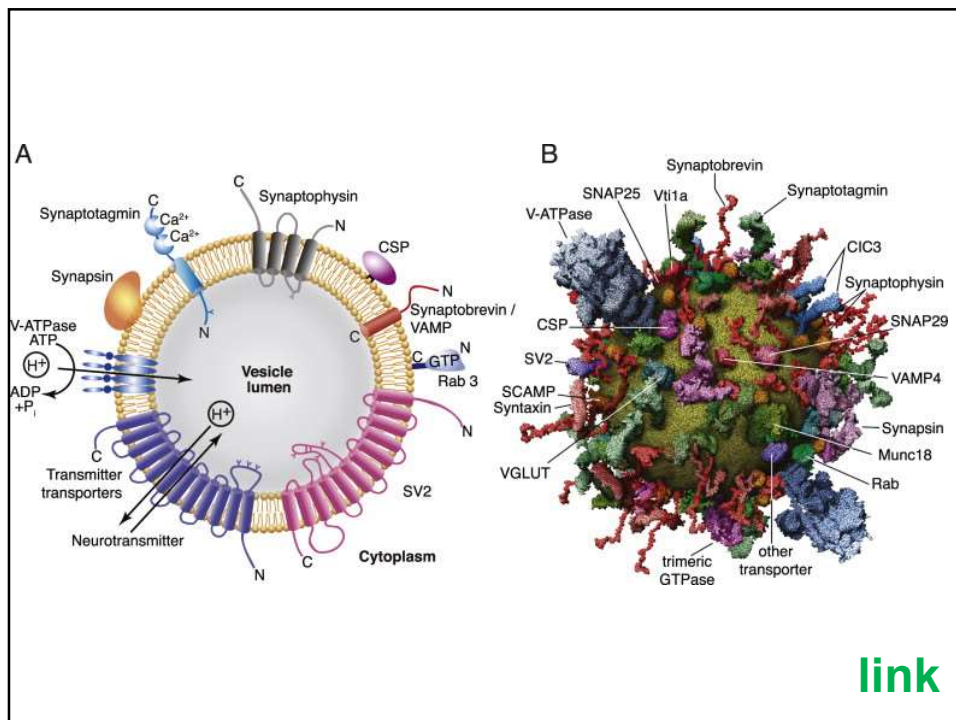
101



102



103



[link](#)

104

Ďakujem za pozornosť