

CELIČNA BIOLOGIJA

Celice → tkiva → organi → organizem.

CB preučuje strukturne in funkcijske značilnosti celic na celični in molekularni ravni. Povezuje se z genetiko, histologijo, biokemijo in medicino.

TEMELJI CELIČNE ZGRADBE IN FUNKCIJE

- celica
- informacija = gen (genotip)
- uresničitev informacije = protein (fenotip)
- lokalizacija (ureditev)
- funkcija

Vse to je potrebno za obstoj funkcionalne celice.

NIVOJI REALIZACIJE INFORMACIJE V CELICI

- genom (informacijska nit)
- polipeptid (protein)
- makromolekule
- supramolekularna organizacija
- subcelična organizacija

INFORMACIJA V CELICI ČLOVEKA

- v osnovi je poznana

Vprašanja:

- Kaj so geni v tej informaciji?
- Kakšni so njihovi produkti?
- Kje v celici se produkti genov nahajajo in kakšna je njihova vloga?
- GENOM (3GB) → CELIOM

KAKO RAZUMEVATI CELIČNO BIOLOGIJO?

- Dogajanja na molekularni ravni se odražajo na celični ravni, na tkivni ravni, na organih.
- Kontrolirane interakcije med molekulami zagotavljajo pravilno delovanje celic.

CELIČNA BIOLOGIJA IN MEDICINA

Proučuje delovanje celic (= pomembni dinamični procesi v medicini):

- delitev celic
- diferenciacija celic
- celična smrt

Pogoj je uravnoteženost vseh 3 procesov!

Za celico so značilni: kompleksnost, urejenost (celica porablja energijo), specializacija in diferenciacija.

Notranje površine v celici so povečane prav zaradi specializacije in diferenciacije.

CELIČNA MEMBRANA

- zahteva za življenje

Zgradba:

- 5µm – 10µm debela plast (= lipidni dvosloj)
- v lipidni dvosloj so vstavljene molekule lipida & molekule proteina (med njima je enako utežno razmerje, čeprav je proteinov manj; 1 protein = 50 lipidov)
- sladkorne skupine oz. ogljikovi hidrati so obrnjeni proti lumenu (izvenceličnini) oz. proč od citosola (tekoči del citoplazme, v katerega so vstavljeni organeli)
- imenujemo jo tudi model tekočega mozaika

Osnovne naloge membrane:

- ovira prehajanje vodotopnih molekul
- pri evkariontih predeljuje citoplazmo na predelke ali kompartmente
- omogoča selektivno propustnost snovi s pomočjo prenašalnih proteinov
- omogoča sprejemanje in prenašanje signalov v celico (hormoni)
- omogoča sodelovanje in pritrjanje na sosednje celice ali podlago.

Lipidna sestava membran: plazmalema, mielin (membrana Schwannove ovojnice; ovija nevrone), ER (ni treba, da je stabilna, more bit hitra)

- **Fosfolipidi:** delimo jih na glicerollipide in sfingomilein
- **Glikolipidi:** 3, 28, <1 (preprečijo neposreden stik med proteini ali lipidi; je neke vrste stabilizator)
- **Holesterol:** 23, 22, 6
- **Ostalo:** 14, 8, 27

ZGRADBA FOSFOLIPIDOV (fosfatidil holin – lecitin)

- Pravimo da so fosfolipidi **amfipatični** - na enem delu imajo polarne skupine (hidrofilne glave), na drugem pa nepolarne (hidrofobni repi).
- Osnova fosfolipidov (glicerollipidov) je **glicerol** (3-valenten alkohol).
- Ena izmed maščobnih kislin je nenasičena (dvojna vez). Tako preoblikuje maščobno kislino, zato le-ta v membrani zaseda več prostora in se ves čas vrti.
- Fosfatna skupina ima **negativen naboj**.

TIPI FOSFOLIPIDOV

- **etanolamin**
- **fosfatidilserin:** poleg pozitivnega in negativnega naboja ima še en negativen naboj, serin se nahaja le na citosolni strani in ima negativen naboj v celotni notranjosti membrane
- **holin** – osnova je glicerol
- **holin** – osnova je **serin**, ki nima dveh maščobnih kislin, temveč eno maščobno kislino in eno maščobno verigo. Tak je npr. **sfingomilein**.

Vsi naštetni so aminoalkoholi.

GLIKOLIPIDI

- maščobna kislina
- maščobna veriga
- serin

Osnova so sladkorji, po katerih jih tudi poimenujemo:

- **GALAKTOCEREBROZID**
- **GLUKOZA**

- **GANGLIOZID:** zakompliciran, pogosto prisoten v celicah (črevesje, živčevje), eden izmed gangliozidov (sladkor = receptor) se veže na koleratoksin, ki povzroči aktivno izločanje Na iz celice, kar privede do kolere (diareja, dehidracija).

HOLESTEROL – nahaja se predvsem v plazmalemi

- nepolarni CH rep
- polarna glava: OH
- steroidni obroči, ki imajo rigidno (trdno) strukturo: predstavljajo nepolarni del in dajejo trdnost
- holesterol zapolni prostore med fosfolipidi in tako naredi membrano bolj stabilno, saj se molekule tako manj premikajo

UREDITEV LIPIDOV V MICELE ALI DVOSLOJ

- **klinasta oblika molekule**

Na ta način se organizirajo detergenti; imajo samo en repek; micel znotraj nima vode.

- **valjasta oblika molekule**
- **nima prostih repkov**

GIBANJE LIPIDOV V MEMBRANI

- **lateralna difuzija:** gibanje molekul v eni plasti membrane (1,5 m/s)
- **rotacija**
- **upogibanje**
- **flip – flop:** molekula enega lipida preskoči iz enega sloja na drugega, kar se spontano zgodi samo enkrat na mesec, saj je to energetsko zelo zahteven proces, vendar pa je nujen na ER, zaradi nastanka lipidnih molekul, pri čemer sodelujejo encimi (lipaza...).

Na **FLUIDNOST** (kako hitro se lahko molekule v membrani gibljejo oz. kako tekoča je) membrane vpliva:

- **temperatura**
- **sestava membrane:**
 - dolžina hidrofobnih repov (daljši so, več povezav se med njimi vzpostavi)
 - -število dvojnih vezi (več jih je, bolj je tekoča membrana)
 - vsebnost holesterola

Primer: Razlika med margarino in oljem je v tem, da se v margarini tvori več kovalentnih vezi, ki zagotavljajo stabilnost membrane, v olju pa so razdalje med molekulami večje, manj je tudi vezi.

PREPUSTNOST LIPIDNEGA DVOSLOJA

Dvosloj je za različne molekule različno prepusten.

- **hidrofobne molekule:** O₂, CO₂, N₂, benzen (te so najlažje)
- **majhne nenabite polarne molekule:** H₂O, urea, glicerol
- **velike nenabite polarne molekule:** glukoza

- **ioni:** H^+ , Na^+ , HCO_3^- , Ca^{2+} ; so neprehodni, prehajajo s pomočjo transportnih proteinov (so najtežji)

ASIMETRIČNA RAZPOREDITEV LIPIDOV

- **Glikolipidi** se nahajajo v 2. polovici (sloju) – **E-sloj**, ki je obrnjen proti ekstracelularju. V tem sloju se nahaja tudi **FOSFATIDILHOLIN**.
- Glikolipidi preprečijo, da bi se membrane preveč približale in da bi se določeni encimi vezali na molekulo, branijo pa jo tudi pred določenim PH-jem.

V **P-sloju**, ki je obrnjen proti citosolu, se nahajata:

- **FOSFATIDILSERIN:** določeni encimi se lahko nanj primejo zaradi negativnega naboja, ki jih aktivira; po tem negativnem naboju makrofagi (čistilci, požiralci) prepoznajo umirajočo celico (lahko tudi v E-sloju)
- **FOSFATIDILETANOLAMIN**

MEMBRANSKI PROTEINI

Ime tekoči mozaik izhaja iz tega, ker se membranski proteini premikajo.

Vrste proteinov oz. njihove naloge:

- **transportni:** prenašajo snovi, ki ne morejo skozi membrano – omogočajo selektivno permeabilnost
- **vezavni:** vežejo se lahko na celične proteine ali na zunanje proteine (kolagen) ali na citoskeletne elemente
- **receptorski:** prenašajo informacije v celico (hormoni, rastni faktor)
- **encimi:** določajo dogajanje ob membrani in dogajanje v celici

Načini povezave proteinov z membrano:

- **transmembranski proteini:** prebadajo membrano na obeh straneh – gledajo na obe strani = so **AMFIPATIČNI** (imajo polarne in nepolarne dele); poznamo 2 vrsti: α -heliks (vezan na eno stran membrane) in β -listič (deluje kot prenašalci)
- **lipidno vezani protein:** imajo kovalentno vezano maščobno kislino, noben del ni direktno vsajen v membrano - ves protein gleda v citosol ali pa cel ven

Poznamo **integralne** (membrani lastne) in **periferne** proteine (niso stalno vezani na membrano, temveč le po potrebi, vezani so na druge - integralne proteine, vežejo se zaradi naboja). Za ločitev integralnih proteinov so potrebni detergenti.

α - helikalna oblika peptidne verige:

Vodik iz ene peptidne vezi se privlači s kisikom iz druge peptidne vezi → veriga se zvije. V pori polarne skupine gledajo proti notranjosti (omogočajo prehodnost), nepolarne - hidrofobne pa navzven (radikali) in se tako omogočajo pritrditev na lipidni del membrane. α - helikalna področja se ugreznejo v membrano.

β - listič: zvijanje je odvisno od zaporedja AK, gre za ploskovno razporeditev proteina, β - listič tvori steno pore

PLAZMALEMA ERITROCITA: je najbolje proučena.

Proteini v njem so poimenovani po pasovih - npr. **BAND 3:** nanj je vezan periferni protein = **ANKIRIN** (povezuje mrežo), nanj pa je vezan **SPEKTRIN** (dimeren), ki daje

oporo membrani ter vzdržuje obliko. Band 3 sodeluje pri prenašanju ogljikovega dioksida. DODAJ!!! SLIKCA

Zakaj smo zaspani po kosilu? V želodcu se tvori klorovodikova kislina, zato izmanjava HCl in HCO₃ poteka počasneje, Cl gre ven iz krvi, možgani pa posledično dobijo manj kisika.

(Pika) Encim v eritrocitu ogljikov dioksid spremeni v ogljikovo kislino, ta pa razpade na HCO₃ (skozi band 3 zapusti celico) in H⁺

GIBANJE PROTEINOV V MEMBRANI:

- **ROTACIJA**
- **LATERALNA DIFUZIJA**
- **ZADRŽEVANJE (OHRANJANJE) PROTEINOV:** pritrjanje proteinov izven membrane (na ekstracelularni matrix) in na citoskelet
 - Tesni stiki preprečijo, da bi proteini na enem delu membrane prešli na drugi del membrane.
 - Proteini se povežejo v komplekse proteinov. SLIKA!!!

GLIKOKALIKS = sladkorni ovoj okoli celice

- proteini imajo nase vezane različne sladkorne skupine

Glikokaliks leži nad bilipidno plastjo. Sestavljajo ga: **glikoproteini**, **proteoglikani** in **glikolipidi**. Razlika med njimi je v utežnem razmerju med sladkorno in proteinsko komponento.

Pri **glikoproteinih** je sladkorna komponenta manjša kot proteinska komponenta. (Enota na **2. mestu** je vedno večja!) Poznamo glikoproteine:

- **z N - vezani sladkorji:** (ASPARAGIN, N – ACETILGLUKOZAMIN) večji sladkorji (nekaj 10 skupin), imajo razvejano deblo
- **z O – vezani sladkorji:** vežejo se preko kisika; so krajši in nerazvejani (serin, N-acetilgalaktozamin)

Proteoglikani so skupina proteinov z velikimi sladkornimi komponentami. Vezani so preko serina (O-vezani sladkor). Sladkorna komponenta se imenuje **GLIKOZAMINOGLIKAN** (GAG) in je sestavljena iz zaporedja ponavljajočih se disaharidov, imajo karboksilno ali sulfatno skupino, nanj se vežejo kationi, okrog sladkorjev se nabere voda – tako se tvori želatinozen ovoj (gel), ki ščiti celico pred mehanskimi pritiski.

Eden izmed transmembranskih proteoglikanov se imenuje **SINDEKAN**. Je neposredno vgrajen v lipidni dvosloj in deluje na **rastne faktorje** (FGF). Le-ti kot sama molekula

niso aktivni, so vzpodbuda k obnavljanju tkiv in diferenciaciji. Povezati se mora s **HEPARAN SULFATOM** (ki je na proteoglikanu), in na ta način sproži **PROLITERACIJO** (razmnoževanje oz. delitev). Ob poškodni tkiv se FGF sprostijo iz proteoglikanov.

POMEN GLIKOZILACIJE:

- **mehanska zaščita celic** (ovoj)
- **kemijska zaščita** (varuje pred proteolitičnimi encimi, da ne bi razgradili celic in pred kislim pH-jem, ki je za celico škodljivo – deluje kot pufer)
- **omogoči specifično prepoznavanje med celicami** (spermij – jajčece, vezava levkocitov pri vnetni reakciji - selektini); tudi prepoznavanje protivirusov

MEMBRANSKE DOMENE: to so področja s specifično sestavo

- **membranski raft:** omejeno področje, ki lahko kot celota potuje po membrani; ima veliko količino holesterola in zato večjo debelino; ima glikolizirane lipide in proteine
- v področja **lipidnega rafta** se ujamejo proteini, ki imajo daljši transmembranski del; ponavadi so to receptorji oz. vezalni proteini; nanje se vežejo (proteini) **LEKTINI**, ki se uporabljajo zato, ker z njimi ugotovimo kje se nahajajo sladkorji (veže se namreč le na določen sladkor). Lektini se vežejo tudi na sosednje proteine, kar omogoča stabilizacijo.

MEDCELIČNINA

Glavne molekule, ki jo sestavljajo:

- **proteoglikani**
- **fibrilarni proteini** (kolagen, elastin, fibronektin)
- **bazalna lamina**

GLIKOZAMINGLIKANI (GAG)

- **HIALURONAN:** ima izključno karboksilne skupine, se ne veže na proteine, lahko deluje samostojno, lahko pa se več proteoglikanov veže v agregat
- GAG se vežejo na proteinsko osnovo
- GAG lahko veže veliko količino vode, v gel okoli njih pa se ujamejo hranila in rastni faktorji; zaradi hidratacije so tkiva bolj vodnata
- proteoglikani dajejo tkivom volumen

AGREGAT AGREKANA (= proteoglikan, ki se lahko poveže s hialuronan-om)

- hrustančno tkivo bogato s proteoglikani

Vloge hrustančnega tkiva (zapolnjuje prostor med celicami agregat agrekana):

- odpornost na mehanske pritiske
- vsebuje veliko vode, ki je nestisljiva
- je gladka površina
- prekriva sklepne površine
- agregat agrekana je najpogostejši proteoglikan v hranilnem tkivu

NALOGE PROTEOGLIKANOV:

- mehanska in kemijska zaščita celic
- vzdrževanje razdalje med celicami

- vezava obveščevalnih molekul (rastni faktorji)
- vezava ionov (Ca^{2+})

KOLAGENI: pogosto zastopana beljakovina pri vretenčarjih

Lahko so:

- **fibrilarni:** tvorijo nitaste strukture (npr. kolagen 1, ki ga je 90 %)
- mrežni: nahajajo se v bazalni lamini in so osnova za epitele (kolagen 4)
- **povezovalni:** ne delujejo sami
- **transmembranski**
- Kolageni so vlaknaste strukture. Izločajo oz. sintetizirajo jih fibroblasti. V tkivu so usmerjeni v smeri največjih raztezkov, kar preprečuje preveliko raztezanje tkiva.
- Kolagenske molekule se z vodikovimi vezmi povezujejo v kolagenski triplet. Ti tripleti se povezujejo v fibrile (kolagenske nitke), te pa v (progasta) vlakna, ki so dolga 200 – 300 mikrometrov (torej več kot celica).

SINTEZA KOLAGENA 1:

- poteka na ER
- **hidroksilacija proletina;** začetek proteina; potreben je C- vitamin
- **propeptidi;** na koncu proteina; preprečijo prehitro začetno delovanje proteinov (se ne spajajo)
- triplet se izloči z eksocitozo (=izločanje proteinov)
- proteolitični encimi odcepijo triplet od peptida
- encim **LIZILOKSIDAZA** poveže triplete s kovalentnimi vezmi in tako nastane kolagenska fibrila
- vezi so tako močne, da so ta vlakna bolj nategljiva od jeklenih nitk
- za povezovanje molekul v triplete je nujen C- vitamin

ELASTIN - spreminjanje konformacije

- ima nasprotno vlogo od kolagena
- zaradi razteznosti dajejo elastična vlakna elastičnost celemu tkivu
- primarna struktura so zanke, kasneje ko nanje deluje natezna sila se zravnavajo; mostički med njimi preprečijo razpad – stabilizirajo vlakno

Razmerje med elastičnim in kolagenskim tkivom nam pove lastnosti tkiva.

FIBRONEKTIN: sestavljen iz 2 verig (med katerima so minimalne razlike v zaporedju AK) s številnimi mesti na katere se vežejo kolageni, integrini (= proteini s katerimi se celica lahko veže na spodaj ležeča kolagenska vlakna), fibronektini, heparini (v medceličnini)

- RGD je mesto kamor se lahko integrini pritrdijo, veliki so cca. 100 AK
- Fibronektin je odgovoren za gibanje celic oz. njihovo smer (npr. usmerja potovanje nevrona)

BAZALNA LAMINA: je mrežna struktura, gre za preplet molekul, osnovno mrežo ji daje kolagen 4, ki je sestavljen iz **tripletoev**, molekule pa se vežejo v **mrežo** (v kateri je vsaka molekula sestavljena iz nitastega dela in glave) in ne v nitko.

V mrežo so vstavljeni **laminini** (različna mesta, s katerimi povežejo različne molekule med seboj): križna struktura iz 3 verig – proteinskih molekul, ki na enem delu vežejo **filaminarne molekule** (kolagen 1, 3), na drugem **kolagen 4**, na tretjem pa je **vezavno mesto za integrine**.

Naloga bazalne lamine:

- ločevanje epitela od veziva (vezivo ne sme prerasti epitela): preprečevanje arteroskleroze; vezivne celice se hitreje delijo kot epitelne
- podlaga za pritrjanje epitelnih celic, kar je bistveno za delovanje celic
- osnova za obnavljanje epitela: poškodovano mesto se najprej prekrije z lamino
- omogoča diferenciacijo epitelnih celic
- je makromolekularni filter: pomemben v ledvičnem glomerulu – tvorba urina

CAM – CELIČNE ADHEZIJSKE MOLEKULE

Skupni tistim proteinom, ki se vežejo na celico in tistim, ki se pritrjajo na podlago, so:

- **TRANSMEMBRANSKI PROTEINI:** gre za direktno povezavo, povezujejo se en z drugim (med sabo) in tako povežejo 2 celici; pritrjajo se na proteine ekstracelularnega matrixa (kolagen, bazalna lamina)
- **ADAPTERSKI PROTEINI:** pritrdijo transmembranske proteine na citoskelet (= opora celici; sestavljen iz mikrotubulov, intermediarnih filamentov); tako se povežejo skeleti
- **ADHEZIJSKI PROTEINI**

Nastajanje celic:

- pritrjanje celic ene na drugo s pomočjo transmembranskih proteinov, ki so enakomerno razporejeni po površini.
- na povezovalne proteine so vezani citoskeletni elementi, ki se potem še dodatno utrdijo z (dodatnimi) molekulami
- bolj skoncentrirane molekule med celicama pomenijo bolj trdne povezave

NAČINI POVEZAVE

- **HOMOFILNA POVEZAVA:** povezujejo se molekule enakega tipa; pri spenjanju celic ene na drugo (in ne na podlago)
- **HETEROFILNA POVEZAVA:** povežeta se različna proteina; pri pritrjanju celic na podlago in pri povezavah med celicami

PROTEINI, KI SODELUJEJO PRI VEZAVAH MED CELICAMI NA PODLAGO

1. INTEGRINI:

- so skupina molekul, ki omogočajo vezavo na ekstracelularni matrix;
- na vrhu imajo molekule, ki tvorijo α - in β - verigo; predstavljajo vezavno mesto za različne proteine (fibronektin, laminin);
- izjema (ker gre za povezavo med celicami) so manjša skupina integrinov, ki se lahko vežejo na naddružino imunoglobulinov

- različna kombinacija α - in β -podenot pomeni različne tipe proteinov
- na fibronektin se lahko vežejo z različno močjo
- integrini služijo za premikanje celice v določeni smeri
- jakost povezave molekul na podlago kontrolirajo s številom molekul, kar omogoča večjo fleksibilnost pritrjanja
- integrini so na citosolni strani pritrjeni na aktinske filamente
- niso vedno aktivni
- integrini nujno potrebujejo kovalentne ione - ponavadi so to Ca^{2+} ioni, saj lahko le-ti z izolacijo ločijo celico od podlage
- signalna molekula se poveže z receptorjem → ta aktivira integrin, ki se potem poveže s tarčno molekulo

2. KADHERINI:

- so najpogostejši proteini, ki povezujejo celice med sabo
- ime izhaja iz odvisnosti od kalcija
- sestavljeni so iz 5 zaporednih ponovitev ene molekule = 1 proteinska veriga
- med vezavnimi mesti se nahajajo Ca^{2+} ioni, ki stabilizirajo kadherine in omogočajo vezave oz. pritrditve na druge celice
- vedno nastopajo kot dimeri

Vrste kadherinov:

a) **klasični**: so vezani na aktin preko adapterskih proteinov

- **E** (epitelijski)
- **N** (nevtralni, fibroblastni)
- **P** (placentalni)

b) **neklasični**:

- **dezmosomalni** (dezmokolin, dezoglein)
- **protokadherini** (sinapse): pritrjajo se na intremediarnne filamente

3. SELEKTINI:

- vežejo se na ogljikove hidrate
- ime so dobili po lektinih
- povezujejo glikoproteine sosednje celice in tako vzpostavijo šibko povezavo

Vrste selektinov:

- **L** (levkocitni): usmerjajo levkocit iz krvne žile v področje vnetja (v vezivu)
- **E** (epitelijski)
- **P** (trombocitni)

Migracija levkocitov na mesto infekcije

2 vezavni molekuli:

- **integrini**: v neaktivnem levkocitu
- **sladkorni ostanki** na glikoproteinih
- selektini so zapakirani – niso na površini
- najprej se sprožijo **entotelne celice** = aktivacija entotela (na steni žile) → celica izloči produkte na površino → aktivacija levkocitov
- **Aktivacija močnejše povezave**: integrini se povežejo z I-CAM molekulo, vzpostavijo trdnejšo vez in levkocit se pritrdi na entotelno celico

4. NADDRUŽINA IMUNOGLOBULINOV

- **I-CAM molekule:** povezujejo se z integrini
- **N-CAM molekule:** najdemo jih pri nevronih (centralno živčevje)
- njihova osnovna naloga je **sortiranje celic v tkiva** (v embrionalnem razvoju)
- so molekule, ki služijo kot protitelesa (obramba pred infekcijami)
- posebnost nedružine imunoglobulinov je, da edine niso odvisne od kalcija (magnezija), ker gre za povezavo domen (na podoben način se vežejo protitelesa)
- gre za 4-5 zank, ki se lahko med seboj povežejo
- vežejo se na aktinske filamente

CELIČNE ADHEZIJSKE MOLEKULE

PROTEINI	VRSTA POVEZAVE	ODVISNOST OD Ca^+	NAČIN POVEZAVE
INTEGRINI	celica – ECM, celica - celica	DA, nekateri od Mg^{2+}	heterofilna
KADHERINI	celica - celica	DA	homofilna
SELEKTINI	celica - celica	DA	heterofilna
NADDRUŽINA IMUNOGLOBULINOV	celica - celica	NE	homofilna (N-CAM), heterofilna (I-CAM)

TRANSPORT SKOZI BIOLOŠKO MEMBRANO – celica ga mora regulirati

- a) **MEDCELIČNI (PARACELIČNI) TRANSPORT**
- b) **TRANSPORT SKOZI PLAZMALEMO**
- c) **ZNOTRAJCELIČNI TRANSPORT**

Prehod skozi dvosloj je odvisen od:

- **sestave dvosloja**
- **kemijske narave transportiranih molekul**

Plini prehajajo prosto, prav tako manjše hidrofobne in polarne molekule, ki se vedejo podobno kot plini. Večje nabite molekule in ioni ne morejo prehajat, zato jim pomagajo transportni proteini.

VRSTE TRANSPORTNIH PROTEINOV:

1. ATP ČRPALKE:

- encimi, ki porabljajo energijo ATP za premik ionov in topil čez membrano
- ustvarjajo koncentracijski gradient med kompartmenti

2. KANALI:

- ionske specifične pore, ki se kontrolirano prehodno odpirajo in zapirajo
- prenos žene električni ali kemijski gradient

3. PRENAŠALCI: membranski transportni proteini

- nimajo nobenih por
- ko sprejmejo snov se konformacijsko spremenijo in tako omogočijo prehajanje snovi
- to so encimom sorodni proteini
- omogočajo pasivno potovanje topljencev čez membrano
- izvor energije je ionski gradient
- mnogi delujejo sklopljeno – prenos enega iona je vezan s prenosom drugega = KOTRANSPORT

GLUKOZNI PRENAŠALNI PROTEINI – GLUKOZNI TRANSPORTERJI

- nahajajo se v črevesnih in jetrnih celicah
- ima vezavno mesto za vezavo glukoze
- ko je glukoza vezana, protein spremeni svojo obliko
- delujejo v obe smeri; npr. tudi iz jeter nosi glukozo v zunanost, če manjka OH

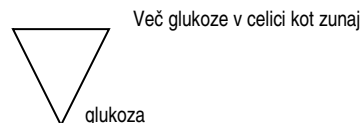
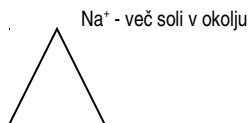
UNIORT(-ER): prenos ene snovi s pomočjo prenašalnih proteinov

KOTRANSPORT: prenos več snovi hkrati

- a) **SIMPORT (-ER):** kotransport 2 snovi v isti prostor; koncentracijski gradient je obrnjen
- b) **ANTIORT:** kotransport, pri katerem se snovi znajdeti v različnih delih membrane (sta si nasproti). Ponavadi gre za prenašanje kationov in anionov.

TRANSPORT GLUKOZE IN NATRIJEVIH IONOV: SIMPORT

- gradienta snovi sta postavljena na glavo



SIMPORTERJI:

ANTIORTERJI:

Na ⁺	sladkor		Na ⁺	H ⁺
Na ⁺	AK		Na ⁺	2Cl ⁻
Na ⁺	Cl ⁻		Cl ⁻	HCO ₃
Na ⁺	K ⁺	2Cl ⁻		
Na ⁺	H ₂ PO ₃ ⁻			

Poznamo glukozne, aminokislinske... uniporterje.

POMEMBNOST MEMBRANSKIH TRANSPORTNIH PROTEINOV V MEDICINI:

- Dedna oblika **CISTINURIJE**: okvara transportnega proteina za prenos AK (cistin) iz urina ali črevesja v kri. Cistin se kopiči v urinu, kar privede do nastanka ledvičnih kamnov.
- Napake v zgradbi določenih kanalov v celicah vodijo do motenj v delovanju srca (srčna aritmija).
- **GRAMICIDIN** (antibiotik) izloča določene vrste bakterij; je **ionofor** (v membrani dela kanale skozi katere prosto prehajajo ioni H⁺, Na⁺, K⁺; ko se ti ioni preveč nakopičijo pride do celične smrti).

DIFUZIJA LIPIDNO TOPNIH MOLEKUL (plinov: O₂, CO₂, H₂O)

Difuzija je pasiven proces in sicer gre za prehajanje molekul iz mest z višjo koncentracijo na mesta z nižjo koncentracijo (=v skladu z koncentracijskim gradientom). To je počasen proces in je odvisen od vrste molekul. Hitrost pasivne difuzije je proporcionalna (sorazmerna) stopnji hidrofobnosti snovi, ki prehaja. (GRAF!!!)

POSPEŠENA DIFUZIJA

- ionski kanali in prenašalci – prenašalni proteini:
 - prehod je lažji
 - prehajanje poteka v skladu s koncentracijskim gradientom
 - So učinkovitejši, hitrejši
- Prenašalne snovi, ki gredo skozi kanale, ne pridejo v stik s hidrofobno notranjostjo membrane (GRAF!!!)

KANALI – KANALSKI PROTEINI

- so integralni membranski proteini in hkrati transmembranske pore
- določeni kanali sodelujejo s črpalkami
- ionski kanali regulirajo električni membranski potencial

Aktivnost kanalov:

- Prenos poteka v skladu s padajočim koncentracijskim gradientom, zato je to energetsko ugoden proces.
- Prenos je učinkovit in hiter
- Prenos je selektiven – specifični kanali prenašajo specifične ione (npr. samo Ca^+ , samo K^+) → v srčni mišici imamo 60 vrst K^+ kanalov, ki so pomembni zaradi regulacije utripa srca.

Načini regulacije kanalov:

- a) **električni – napetostno odvisni** (sprememba membranskega potenciala)
- b) **kemijski – ligandni**: ekstrinzično (na zunanji strani) ali intrinzično regulirani
- c) **mehanski – stresni**: mehanska sprememba povzroči odpiranje in zapiranje kanalov; tako deluje npr. Cortijev organ v ušesu, ki je osnova, da slišimo

ATP ČRPALKE

- a) **PASIVNI TRANSPORT**: skozi kanal in s pomočjo prenašalcev
- b) **AKTIVNI TRANSPORT**: ATP-azni transporterji: prenašajo snovi iz mest z nižjo koncentracijo na z višjo koncentracijo – torej proti koncentracijskemu gradientu. Poznamo 2 vrsti aktivnega transporta: primarni (črpalke, ki jih poganja ATP) in sekundarni (sklopitev prenosa 2 snovi = kotransport). Razgradnja ATP-ja je energetsko ugoden proces, prenos snovi pa energetsko neugoden.
 - Črpalke porabljajo energijo ob hidrolizi ATP (iz oksiredukcijske reakcije). Posledica delovanja črpalk je **transmembranski koncentracijski (elektrokemični) gradient**.

VRSTE ATP ČRPALK (ATP-aze):

1. **P črpalke**: transportirajo (ione) protone: H^+ , K^+ , Na^+ , Ca^{2+}
 - ob transportu se fosforilira α podenota; porablja se ATP, sprošča se energija
 - **lokacije v celici**: plazmalema bakterijske celice, plazmalema evkariontov (natrij-kalijeva črpalka), plazmalema v želodčnem epiteliju, endoplazmatski (oz. sarkoplazmatski) retikulum v mišični celici
2. **V črpalke**: delujejo v vakuolah, znotraj celice
 - črpa protone v vakuolo
 - poskrbi za kislost celičnih kompartmentov (npr. v lizosomih)
 - gre za sklopitev prenosa ionov (kationov in anionov)
 - hidrolizira ATP
 - **lokacije**: GA, lizosom, endosom, v plazmalemi OSTEOKLASTOV, makrofagov, v sekrecijskih veziklih, v celicah ledvičnih tubulov (interkalarni del)
3. **F črpalke**: delujejo izključno v notranji membrani mitohondrijev
 - iz ADP in P_i sintetizirajo ATP; energijo ATP ustvarja z vrtenjem
 - sestavljen je iz ROTORja in STATORja, zato je to najmanjši elektromotor v naravi
 - transportira H^+
 - **lokacija**: plazmalema bakterij
 - ima 8 podenot

ABC TRANSPORTERJI:

- posebne črpalke, ki lahko črpajo toksine iz telesa (iz jeter, ledvic, izločal)
- so nujno potrebni, vendar pa lahko predstavljajo problem v zdravstvu (lahko zavrnejo zdravlilo, ker ga zaznajo kot strup)

PRIMERI NEKATERIH ČRPALK:**a) P črpalka Na^+ / K^+ ATP-aza** (oligosaharidi)

Na^+ in K^- se prenašata proti koncentracijskem gradientu, zato se mora sprostiti energija ATP.

Razmerje: $3\text{Na}^+ : 2\text{K}^-$

b) kalcij v in izven celice: nivo kalcija je potrebno kontrolirat, saj je razlika med koncentracijo kalcija v in izven celice je ogromna: 10^5

- **kalcijeva črpalka (kalcijeva ATP-aza):** leži na membrani in črpa kalcij ven iz celice
- **kalcijev kanal:** to je napetostno odvisen kanal, saj ga odpira električni impulz

USKLAJENO IN KOMPLEKSNO DELOVANJE TRANSPORTNIH SISTEMOV V CELICI

Potrebna je vzpostavitev elektrokemičnega in koncentracijskega gradienta.

SRČNA MIŠICA: Na^+ / K^+ / ATP-aza in Na^+ / Ca^{2+} antiporter

Kalija je več v celici, natrija (in kalcija) pa več izven celice.

ČREVESNE EPITELIJSKE CELICE (transport glukoze):

- **Na^+ / K^+ ATP-aza bazolateralne membrane (BL)** → ta črpalka poganja K^+ v celico v smeri proti koncentracijskem gradientu, Na^+ pa iz celice v skladu s konc. gradientom
 - **Na^+ / glukoza simport** → glukoza v celico proti gradientu, Na^+ v celico v skladu z gradientom
 - **glukoza uniporter BL** → transport glukoze v krvni kompartment
- o Kri ima visoko koncentracijo natrija, in nizko kalija.
 - o Epitelijske celice imajo nizko raven natrija in visoko kalija.
 - o V lumnu je glukoza in visoka raven natrija.

EPITELIJSKA CELICA V ŽELODCU (skrbi za zakisanje vsebine v želodcu)

- To so **PARIETALNE** (oksidacijske) celice, saj izločajo HCl.

- Klorov, vodikov in kalijev ion se aktivno transportirajo v lumen (izven celice). H^+ / K^+ ATP-aza zagotavlja energijo za ta prenos.
- Kalijevi ioni se reciklirajo nazaj v citoplazmo.
- $NaCl \rightarrow Cl^-$ (aktivni transport), H_2O (difuzija)
- Celica vsebuje tubuvezikularne kanikule, ki se po stimulaciji zlijejo s plazmalemo. Količina (tubuvezikularnih) veziklov, ki se vključijo v transport, je regulirana s količino izločene HCl .
- H^+ / K^+ ATP-aza deluje **elektronevtralno** (za izločene H^+ vnaša K^+).
- Med delovanjem se pH citosola ne spreminja (protoni izstopajo, OH^- nastaja v celici)
- Električna nevtralnost zagotavlja izhajanje klorovih in kalijevih ionov.
- Končni učinek sodelovanja transporterjev je zakisanje vsebine želodca (pH = 1-2; zelo kislo).

TRANSPORT SKOZI MEMBRANO ERITROCITA

a) v sistemskih kapilarah: visok pritisk CO_2 in nizek pritisk O_2

difuzija: eritrocit spusti kisik v različnih delih tkiv

b) v pljučnih kapilarah: nizek pritisk CO_2 , visok pritisk O_2

Šibka vezava v hemoglobinu \rightarrow proton se sprošča in s tem izprazni mesto za vezavo kisika na eritrocit.

ANIONIŠKI ANTIPTORTNI PROTEIN -ANIONIŠKI IZMENJEVALEC

CISTIČNO FIBROZNI TRANSPORTER (CFRT) je v osnovi klorov kanal. Regulatorni predel je v citosolu in je reguliran z vezavo ATP. CFRT je odgovoren za eno najpogostejših obolenj (na dihalih). V zdravih osebah natrijevi kanali in CFRT zagotavljajo v **GOBLETIVIH** celicah, iz žleznih celic, ki izločajo **MUKOS**, normalno hidracijo in nizko stopnjo viskoznosti apikalnih celičnih površin. To zagotavlja normalno funkcijo **migetalk** (čistijo epitelij) **v dihalnem epiteliju**. Pri bolnikih zaradi okvare CFRT kanala klor ne more iz celice. **Celica sprejema dodaten natrij**. Mukos postane odebeljen. Vanj se ujamejo bakterije, kar vodi v razgradnjo celic. V migetalčnih epitelijih migetalke ne utripajo in pojavljajo se kronične infekcije (npr. bronhitis...).

AKUTNA REGULACIJA CELIČNEGA VOLUMNA IN pH

- celični odgovor na **izgubo vode**: aktivacija anti/sin porterjev (aktivni prenos) → vnos v citosol KCl in NaCl, čemur pasivno sledi voda → celica se redihidrira
- celični odgovor na **višek vode** v celici: aktivacija kanalov, ki omogočijo izhod ozmolitov in Cl⁻ iz celice

CELIČNO KOMUNICIRANJE (prenos sporočil v celici)

a) ENDOKRINO OBVEŠČANJE

b) PARAKRINO OBVEŠČANJE

c) PRENOS PREKO ŽIVČNE CELICE

d) KONTAKTNO ODVISNO SIGNALIZIRANJE: sistem, kjer se 2 celici fizično dotikata; membransko vezane signalne molekule

CELIČNO SIGNALIZIRANJE

Sprejem in **prevajanje sporočil = temelj celičnega komuniciranja**

SIGNALI SO:

- o **Lokalni kemični mediatorji:** sproščajo se v neposredni bližini celic, gre za hitro delovanje in zato hiter odgovor
- o **Hormoni:** delujejo počasi, na razdalji, v nizkih koncentracijah
- o **Nevrotransmiterji:** hitro delovanje, na daljavo, visoke koncentracije (npr. odziv na bolečino)

Vsaka celica v telesu je sposobna odgovarjati na določeno vrsto signalov (ker ima specifične molekule).

Ista signalna molekula povzroči različne (heterogene) odgovore v različnih tarčnih celicah. Npr.

sproščanje acetilholina (nevrotransmiter) povzroči v različnih celicah različne odzive:

- o **v srčni mišični celici:** zmanjšana moč kontrakcije
- o **v žlezni celici:** izločanje
- o **v skeletni mišični celici:** skrčitev

Receptorji usmerjajo signale po znotrajceličnih signalnih poteh:

- o zunajcelična signalna molekula (**LIGAND**)
- o receptor
- o znotrajcelični signalni protein
- o **TARČNI PROTEIN:**
 - a) **metabolni encim:** spreminja metabolizem
 - b) **protein ki regulira gene:** direkten prenos sporočila do določenega gena
 - c) **citoskeletni protein:** spremenjena oblika ali gibanje celic
- o **ODGOVOR:**
 - a) preživetje
 - b) delitev
 - c) diferenciacija
 - d) smrt

PRENOS SPOROČIL

1. receptor

2. **moduliranje sporočila** (znotrajcelični signalni proteini)
3. **pomnoževanje signala**
4. **multipli cilji**

TEMELJI CELIČNEGA SIGNALIZIRANJA

- Prepoznavanje dražljajev na zunanji površini z receptorji.
- Prenos signala skozi membrano na citosolno stran (s pomočjo receptorjev), pri čemer signalne molekule ali ioni ostanejo zunaj celice.
- Prenos signalov do efektorskih molekul.
- Odgovori na celični ravni.
- Zavrtje delovanja dražljajev.

ZUNAJCELIČNE SIGNALNE MOLEKULE

- a) **VELIKE**, ki ne prehajajo plazmaleme (rabijo receptorje v plazmalemi), ker ne morejo prehajati skozi lipofilno notranjost dvosloja; "gibljejo" se v hidrofilnem citosolu (do tu pridejo). To so predvsem peptidne molekule oz. peptidni hormoni.
- b) **MALE** – hidrofobne molekule, ki jih vežejo znotrajcelični receptorji (prehajajo skozi lipofilno notranjost membran); v hidrofilnem citosolu potrebujejo prenašalce (receptorje), ki jih "vozijo okrog". To so predvsem steroidne signalne molekule oz. steroidni hormoni (delujejo v jedru, kjer se vežejo na specifičen gen).

TEMELJI PRENOSA SIGNALIZACIJE V CELICI

- a) **SIGNALIZIRANJE S FOSFORILACIJO** (dodajanje in odzemanje fosfatnih skupin):
kinaze, fosfataze
- s fosfatno skupino so proteini aktivirani
- b) **SIGNALIZIRANJE PREKO PROTEINOV, KI VEŽEJO GTP**
- vezava ATP pomeni aktivacijo

IZVOR DRAŽLJAJEV

Celične površine (proste, stike med celicami)

Encimi, ki jih vključuje celični signal?

1. **proteinske kinaze** (dodajanje fosfatne skupine) in **proteinske fosfataze** (odvzem fosfatne skupine)
2. **G – proteini** (proteini, ki vežejo GDP in GTP): **G-GTP** (ON), **G-GDP** (OFF)

RECEPTORJI CELIČNIH POVRŠIN (MEMBRANE)

1. **Z G-PROTEINI POVEZANI RECEPTORJI** (vključijo trimerne/G-proteine, ki so molekularna stikala = preklop med GDP in GTP obliko)
2. **Z IONSKIMI KANALI POVEZANI RECEPTORJI**
3. **Z ENCIMI POVEZANI RECEPTORJI** (znotraj celic imajo proteinske predele, ki delujejo kot encimi (v večini so to receptorji tirozinskih kinaz), ki fosforilirajo tirozine na izbranem proteinu v celico)

- G-protein sestoji iz treh podenot: α , β , γ .
- Stimulacija z G-proteinom vezanih receptorjev aktivira podenote G-proteina.
- Vezava ekstracelularnih molekul z receptorjem izzove aktivacijo G-proteina pod plazmalemo.
- Z G-proteini povezani receptorji in z encimi povezani receptorji povzročijo **KASKADO** znotrajceličnih signalov, ki spremenijo ravnanje celice.

tarča G-proteina: **MEMBRANSKO VEZAN ENCIM**

- encim, ki jih aktivira G-protein katalizirajo sintezo znotrajceličnih sekundarnih obveščevalcev
- številne znotrajcelične signalne molekule difundirajo v celici in sprožijo različne reakcije

tarča G-proteina: **IONSKI KANAL**

- odgovorni so za hiter prenos signalov čez sinapse v živčevju
- prevajajo kemične signale in onemogočajo sprostitvev nevrotransmitterjev iz celic
- ob vezavi nevrotransmitterjev ti receptorji menjajo konformacijo in s tem odprejo ali zaprejo kanale za ione.

tarča G-proteina: **Z ENCIMI POVEZANI RECEPTORJI**

- receptor ima obliko transmembranske molekule
- med delovanjem dimerne oblike signalne molekule se **tirozina** navzkrižno **fosfolirilirata** (dodatek fosforne skupine pomeni aktivacijo), nanju pa se vežejo **citosolni proteini**
- tirozinkinazno področje in receptor
- ti receptorji so hkrati encimi
- to so **transmembranski receptorji** z ligandnim vezavnim mestom zunaj in s citoplazemsko domeno, ki deluje kot encim
- ob vezavi liganda se dimerizirajo
- **Primer:** receptorji tirozinskih kinaz (npr. inzulin)

Receptorji **tirozinskih kinaz** aktivirajo **Ras** (vrsta t.i. monomernega G-proteina); če normalno deluje omogoča delitev celice.

Rakava obolenja so posledica motnje Ras proteina; ta je namreč neprestano aktiven, zato se celica neprestano deli.



ZNOTRAJCELIČNA SIGNALNA MOLEKULA	PRODUKT
Adenilantna ciklaza	Ciklični AMP
Fosfolipaza C	INOZITOL TRIFOSFAT in DIAGLICEROL
Kalcijev ion	Tarčni protein: KALMODULIN

ADENILANTNA CIKLAZA IN CIKLIČNI AMP (CAMP)

- dvig znotrajceličnega CAMP aktivira prepisovanje genov
- nastanek specifičnega proteina dobi specifičen odgovor
 - receptor
 - G-protein
 - Adenilantna ciklaza
 - CAMP
 - Različne kinaze in prenos signala v jedro
 - Prepisovanje tarčnih genov
 - Celični specifični odgovor (delitev, diferenciacija)

FOSFOLIPAZA C – INOZITOL TRIFOSFAT IN DIAGLICEROL (signalni molekuli)

- Cepi PIP_2 (fosfatidilinozitol bifosfat, ki je vedno na zunanji – citosolni strani) v IP_3 (inozitol 1,4,5 trifosfat)
- Aktivira 2 signalni poti
- Inozitol trifosfat je ligand za odpiranje kanalov v ER v mišici → sprošča se Ca^{2+} in omogoča skrčitev mišice

KALCIJEV ION; tarčni protein; KALMODULIN

- Kalcij (nahaja se v ER) sodeluje z različnimi proteini (jih aktivira), zato so odgovori tako različni. Prav zato je potrebno kontroliranje prehoda kalcija v citosol.
- Kalmodulin veže različno količino kalcijevih ionov.
- Ko se kalcij veže s kalmodulinom, ta spremeni obliko in tako prenese sporočilo.
- Sodeluje še z aktomiozinom (poleg s kalmodulinom).

SPOROČANJE – SIGNALIZIRANJE MED CELICAMI IN V CELICI

- temelj medceličnega »sporazumevanja« in »sodelovanja«
- zagotavlja komunikacijo (preko receptorjev) med celico in okoljem
- omogoča koordinirano delovanje celičnih sestavin, prenos sporočil znotraj celice
- v osnovi omogoča povezovanje med celicami in organizmom kot celota
- motnja komuniciranja je največkrat patološki dogodek

Obstajata 2 vrsti odgovorov:

- a) **počasni:** spremenjeno izražanje genov (trajanje v minutah ali urah); diferenciacija celic, tkiv, razvoj
- b) **hitri:** spremenjeno delovanje proteinov (trajanje v sekundah ali milisekundah)
 Ca^{2+} signaliziranje proži mnoge biološke procese – sodeluje pri oploditvi; Ca^{2+} aktivira določene poti

ZAKLJUČKI (SIGNALIZACIJA):

- celice v tkivih in organizmu komunicirajo s pomočjo raznolikih zunajceličnih signalov (hormoni, rastni faktorji), sosednje celice pa preko stikov na površinah
- zunajcelični signali delujejo preko receptorjev (prevajajo signale v drugo vrsto sporočil) na površinah

- v večini zunajcelične molekule ne prehajajo plazmaleme, pač pa omogočajo »prevod« signalov v različna znotrajcelična sporočila
- ločimo 3 razrede površinskih receptorjev
- Nekateri proteini regulirajo kanale v plazmalemi, drugi aktivirajo encime adenilantne ciklaze – naraste znotrajcelični cAMP, ki razvije sporočilni molekuli inozitol trifosfat (IP₃) in diaclicerol (DAG).
- IP₃ odpira kanale v membranah za vstop Ca²⁺ v citosol. Kalcij deluje kot t.i. sekundarni obveščevalec, ki spreminja aktivnost mnogih celičnih proteinov. TIROZINE NA IZBRANEM MESTU
- stimulacija G-proteinskih receptorjev povzroča hitre in reverzibilne odgovore celic

MEDCELIČNE POVEZAVE IN STIKI

Ločimo 3 stopnje, ki zagotavljajo normalno delovanje tkiva:

1. prepoznavanje
2. povezovanje
3. komuniciranje

- molekule se povezujejo s CAM molekulami
- povezujejo celice med seboj
- povežejo celice na ekstracelularni matriks (ECM)
- povezujejo celice v tkiva
- so stalno prisotne, kar zagotavlja lokalizacijo celice na določenem mestu
- se vzpostavljajo občasno in po potrebi
- lahko so komunikacijske povezave (prehod snovi)
- v osnovi jih gradijo CAM molekule
- nahajajo se na specializiranih predelih plazmaleme
- imajo vlogo v celičnem obveščanju

Načini prehoda snovi iz okolja v celico oz. med celice tkiv:

- a) pasivno čez celico – **TRANSCELULARNO**
- b) med celicami – **PARACELULARNO**
- c) **ENDOCITOZA**
- d) **s prenašalci** (ugreznitev membrane)

VRSTE POVEZAV IN STIKOV:

- a) **neprehodne povezave: tesni stik** ali **zonulae occludens** (ne omogočajo prehodov med celicami, ker popolnoma povežejo plazmalemi 2 celic)
- b) **adherentne povezave: pasasti dezmosom** ali **adherentni stik**
- c) **dezmosomi** (točkovna mehanska povezava sosednjih celic) in **hemidezmosomi** (točkovna mehanska povezava na ECM)
- d) **komunikacijske povezave: presledkovni stik** ali **nexus** (direktna povezava med sosednjima celicama)

POLARIZIRANA CELICA:

- je celica na meji 2 različnih kompartmentov
- razmejuje telo proti zunanosti ali notranjim lumnom (npr. lumen črevesa)
- v koži, dihalih, prebavilih... (kjer so notranji lumni)
- celica s površino meji na enem polu proti zunanosti (notranjosti) in z drugim proti sosednjim celicam

Apikalna in **bazolateralna membrana** imata povsem drugačni sestavi in vlogi. Naloga apikalne membrane je **sprejem oz. absorbcija snovi**, **bazolateralne pa komunikacija**.

Poznamo 2 pola:

- a) apikalni pol
- b) bazolateralni pol

Namestitev stikov v plazmalemi polariziranih celic v apikalno – bazolateralni smeri:

1. tesni stik
2. adherentni stik (pasovni dezmosom)
3. dezmosomi
4. presledkovni stik
5. hemidezmosomi

TESNI STIK ali ZOLLUAE OCCLUDENS

ZGRADBA:

- **transmembranski proteini:** OKLUDIN, KLAVDIN, JAM protein (vsi segajo iz 2 lateralnih površin)
 - **submembranski proteini:** ZO-1, ZO-2, ZO-3, CINGULIN (ZO = zolluae occludens)
 - tudi **aktin (citoskeletni protein)** lahko sodeluje pri sestavi tesnega stika
- Tesni stiki omogočajo **paracelično pot dodajanja učinkovin / zdravil v telo** in sicer gre za prehod med celicami, tako da pride snov v prostor izmenjave krvi (zelo pomembno v medicini). Prehod po medceličnici je lažji kot čez celico.

PRIMER: TESNI STIK V ACINUSNI CELICI PAROTIDE

- sestoji iz prepleta stičnih vezi
- razmejuje apikalno / bazolateralno plazmalemo
- popolnoma prekinja medcelični prostor
- stične povezave so tkivno specifično zgrajene, lahko tudi prilagodljive glede na spremembe v okolju (npr. v maternici, vagini)
- čez tesni stik normalne molekule ne morejo prehajati

POSLEDICA OBSTOJA TESNEGA STIKA

- preprečitev transporta med celicama (**paracelularna pot**) = **ZAJEZITVENA VLOGA**
- preprečitev lateralne difuzije med apikalno / bazolateralno plazmalemo = **VLOGA ZAVESE** (razlike v sestavi in delovanju A in BL plazmaleme v polariziranih celicah; tesni stik vzdržuje polarizirano stanje)
- nastanek čezcelične upornosti (**TRANSCELULARNE UPORNOSTI**), ki je posledica zaježitve (povzroča razlike v sestavi A / BL prostora):
 - o **tanko črevo:** $67\Omega\text{cm}^2$
 - o **žolčnik:** $1003\Omega\text{cm}^2$
 - o **sečni mehur:** $9 - 160\text{k}\Omega\text{cm}^2$

MESTA NAMESTITVE TESNIH STIKOV V TELESU (KOŽA – zunanje okolje - epitelij) - LOKALIZACIJA BARIERE

- **LOKACIJA:**
 - o v **SG2** (zarodni) plasti – bariera za patogene iz okolja ter bariera proti izgubi vode (nahaja se v medceličnem prostoru)
 - o vsi **notranji lumni** (endoteliji) imajo bariere: nosna votlina, krvne žile...

PREKINITVE STIKA:

- a) zaradi **patogenov** – **infekcije** – **UROTELIJ**: celice se odluščijo, prekinejo bariero, urin prehaja v telo
- b) zaradi **alergenov** – **astma** – **DIHALNI EPITELIJ**: pršice izločajo alergene; prekinitve stika omogoči vdor raznim toksinom (tujki) v dihala, kar povzroči astmo
- c) **mehanske poškodbe in staranja celic** – **EPITELIJI V PREBAVILIH**

POVZETKI (TESNI STIKI):

- pečatijo epiteljske celice
- preprečijo prehode snovi po medceličnem prostoru
- zagotavljajo polarizacijo celice na A in BL delu
- preprečujejo lateralno difuzijo med obema domenama plazmaleme
- posledično povzročijo TRANSEPITELIALNO (čezepiteljsko) upornost

ADHERENTNI STIK ali PASASTI DEZMOSOM ali ZONNULAE ADHERENS

- nahaja se kot pas okrog polariziranih celic
- **ZGRADBA:**
 - **transmembranski proteini:** **E-KADHERINI**
 - **submembranski proteini:** (α , β , γ) **KATENINI**
 - **elementi citoskeleta:** **AKTINSKI FILAMENTI**
- **POMEN:**
 - mehanska trdnost celic v A / BL delu (tesni stik je ne omogoča)
 - gibljivost celic (zaradi aktina; kjer je aktin, je tudi miozin)
 - pomen med razvojem tkiv

DEZMOSOM ali MACULAE ADHERENS

- glavna mehanska povezava med sosednjimi celicami (omogoča trdnost – npr. v koži)
- točkovna povezava (ojačitev) na citosolni strani obeh sosednjih celic
- veliko dezmosomov je v epitelih
- **ZGRADBA:**
 - medcelični prostor je razširjen
 - **transmembranski proteini:** **kadherini** (tečejo skozi plazmalemi dveh sosednjih celic in so odvisni od kalcija): specifična kadherina sta **DEZMOGLEIN** in **DEZMOKOLIN**
 - **submembranski (adapterski) proteini:** **kateni** – specifična sta **PLAKOGLOBULIN** in **DEZMOPLAKIN**
 - **elementi citoskeleta:** **intermediarni filamenti:** **KERATINI** – tečejo iz lateralne plazmaleme v notranjost celic

DEZMOSOMI (prisotni tudi v nepolariziranih celicah) **IN HEMIDEZMOSOMI V KOŽNIH CELICAH** (med sabo so povezani, kar omogoča pritrjanje na podlago)

DEZMOGLEINI IN KOŽNA OBOLENJA

PEMPHIGUS FOLIACEUS: bolezen, kjer protitelesa proti DEZMOGLEINU 1 povzročijo izgubo adhezije keratinocitov v površinski plasti epidermisa.

Plasti epidermisa: (v vseh je prisoten dezmoglein 1)

- poroženela
- zrnata
- spinozna
- bazalna (prisoten je dezmoglein 3)
- bazalna lamina

FOKALNI STIK ali TOČKOVNI STIK ali ADHEZIVNI PLAK

- specifičen za celice, ki jih gojimo v celičnih kulturah
- stik med ECM in aktinskimi filamentami celic
- omogoča pritrjanje in plazenje celic po podlagi
- omogoča pritrjanje gibljivih celic – levkocitov med imunskim odgovorom:
KEMOTAKTIČNA MIGRACIJA
- zagotavlja pritrjanje celic v celičnih kulturah na podlago
- omogoča (ali pa onemogoča) prenos sporočil: **PROLIFERACIJA**

HEMIDEZMOSOM ali POLDEZMOSOM

- nahajajo se na bazi (izključno bazalno)
- pomembni so zaradi povezave z ECM in povezave med epitelom in vezivom
- **ZGRADBA:**
- **elementi citoskeleta:** intermediarni filamenti: **KERATINI**
- **submembranski proteini:** **TALIN, LAKTININ, VINKULIN, PLEKTIN**
- **transmembranski proteini:** **INTEGRINI $\alpha 6$ in $\beta 4$, BULLOUS PEMPFIGOID ANTIGEN 1,2** (le-ta antigen je specifičen protein, ki sega od plaka skozi celično membrano v ECM; velikokrat je vzrok, da prihaja do problemov med povezavami epitelijских celic in vezivom)

PRIMER AVTOIMUNEGA OBOLENJA: PEMFIGUS BULLOUS

- nastajanje protiteles proti dvema antigenoma v plaku
- krežeča telesa proti **bullous pemphigoid antigenu** sprožajo lokalno reakcijo, ki povzroči izločanje **evzikofilnega kemotaktičnega faktorja** (EKF), ki pritegne evzinofilca
- **EVZINOFILCI** sproščajo **proteaze**, ki cepijo povezave med plakom hemidezmosoma in bazalno lamino; posledica je luščenje kože in vnetni odgovor.

PRIMER OBOLENJA, KOT POSLEDICA MOTENJ: KOŽNA OBOLENJA

- dedna obolenja zaradi motenj v zgradbi (mutacije) **KERATINOV**
- **epidermalysis bullosa simplex (EBS)**
- **epidermalytic hyperkeratosis (EH)**

PRESLEDKOVNI STIK ali NEXUS ali GAP JUNCTION

- direktna povezava = komunikacija med sosednjima celicama (ni mehanska / fizična povezava, ampak komunikacijska)
- majhne odprtine skozi plazmalemi sosednjih celic
- prehod mogoč molekulam z molekulsko maso manjšo od 1000 in premerom odprtin 1,5 nm
- nahajajo se v praktično vseh celicah z izjemo medcelične skeletne mišičnine, eritrocitov in krožečih krvnih limfocitov
- **ZGRADBA:** molekule proteina **KONEKSINA** (4-krat prehajajo plazmalemo), ki se organizirajo v skupine po 6 (koncentrična razporeditev, tako da se ustvari odprtina – tu je stik) in tako tvorijo **POLKONEKSON**
- **KONEKSON** = 12 molekul koneksina
- koneksom in polkonekson delujeta po principu zaslonke
- **1 presledkovni stik** sestavlja več kot **1000 koneksonov**
- poznamo **dve vrsti KONEKSONOV:** **HOMOMERNE** (zgrajeni iz iste vrste proteinov) in **HETEROMERNE** (iz različnih vrst koneksinskih proteinskih molekul)
- ena vrsta koneksinov je za eno vrsto celic
- razmik sosednjih membran je 2 nm.

KAJ PREHAJA?

- o anorganski ioni (kalcij)
- o aminokisliline
- o nukleotidi (ciklični AMP)
- o vitamini
- o ITP
- o prenaša se **akcijski potencial**

NALOGE:

- **metabolna komunikacija** med sosednjimi celicami (glukoza): sinhronizacija delovanja jetrnih celic (draženja jetrnih celic in odgovor tkiva)
- **informacijska komunikacija** (cAMP)
- **prenos akcijskega potenciala** – v srčni mišici ima presledkovni stik vlogo električne sinapse - za ritmično krčenje (brez zakasnitve v prenosu) – Ca^{2+}

MEDICINSKI POMEN PRESLEDKOVNIH STIKOV

- Med **EMBRIOGENEZO** živčne celice komunicirajo preko presledkovnih stikov. Obdajajoče ektodermalne celice ne izražajo presledkovnih stikov s celicami nevalne cevi (npr. epidermalne celice)
- Zagotovljen je normalen razvoj ovarijev in zorenje jajčnih celic. Napaka v koneksinih vodi žensko v sterilnost.

PRESLEDKOVNI STIKI MED OSTEOCITI

- presledkovni stiki so prisotni na stikih med izrastki osteocitov
- služijo prehranjevanju; omogočajo povezavo med osteociti in s tem prenos hraniv od kapilar v periferijo; omogočajo torej prehranjevanje na daljavo
- velikost in število presledkovnih stikov se spreminja v odvisnosti od faze celičnega ciklusa ali v odvisnosti od vzpostavitve celice stresom v okolici

PRESLEDKOVNI STIK – REGULACIJA DELOVANJA**a) znotrajcelični dražljaji:****ZAPIRANJE:**

- o znižanje celičnega pH-ja
- o naraščanje citosolne koncentracije kalcija

b) zunajcelični dražljaji: DOPISI NASLEDNJO URO!!**POMEN PRESLEDKOVNIH STIKOV**

- poškodbe celic
- **regulacija** z zunajceličnimi dražljaji – **dopamin** (mrežnica v očesu)
- presledkovni stiki in rakaste celice
- **sinhrono utripanje migetalk** v migetalčnem epiteliju (in s tem čiščenje)
- motnje v delovanju srčne mišice
- vrsta gluhosti
- vrsta slepote: **katarakt**
- **defektni mielin** in **degeneracija perifernih živcev** (CX-23) X = vezana točkovna mutacija

ZAKLJUČKI:

- komunikacijska mesta v plazmalemi
- omogočena je **metabolna, informacijska povezanost** celic
- (el. sinapsa)
- stik je reguliran s kalcijevimi ioni
- ima pomembno vlogo med razvojem tkiv – **diferenciacija** celic
- zagotavlja **sinhrono delovanje** celic v tkivih

CITOSKELET

- nahaja se v citosolu (= citoplazma brez organelov), v katerem se nahaja preplet proteinskih niti (polimere), ki jih sestavljajo podenote (monomere); le-te sestavljajo citoskelet
- dinamična struktura
- njegova organiziranost se stalno spreminja
- ob citoskeletu se transportirajo tovari v obliki veziklov ali proteinskih kompleksov
- citoskeletni elementi sodelujejo pri delitvi celice

GLAVNE NALOGE:

- zgradba in opora
- znotrajcelični transport
- krčljivost (kontrakcija) in gibanje
- prostorska ureditev (skrbijo za notranjo organiziranost in lokacijo elementov)

3 OSNOVNI TIPI CITOSKELETA:

a) AKTINSKI FILAMENTI (najtanjši elementi):

STRUKTURA:

PREMER: MONOMERE:

FUNKCIJE: - str

b) MIKROTUBULI (najdebelejši elementi)

STRUKTURA:

PREMER:

MONOMERE:

FUNKCIJE:

c) INTERMEDIARNI FILAMENTI (vmesna debelina)

STRUKTURA: iz protofilamentov

PREMER: 10 nm

MONOMERE: različni nitasti proteini

FUNKCIJE:

CELIČNA BIOLOGIJA

2006-11-27

POLIPEPTIDI INTERMEDIARNIH FILAMENTOV (IF)

Keratini so značilni za epiteljske celice – v koži, jetrnih celicah, sečnem mehuru...

Najdemo jih tudi v nekaterih profuktih epiteljskih celic lasje, nohti – trdi keratini.. mehki keratini ali citokeratini so pa tisti v celicah

- 20 različnih keratinov, ki so tkivno specifični
- Keratini označujejo diferenciacijsko stopnjo celice
- V epiteljskih celicah se povezujejo na epiteljsko membrano preko dezmosomov, ali na ECM preko hemidezmosomov
- VIMENTIN - V mezentinskih celicah, v fibroblastih, v krvnih celicah – celice mezodermalnega izvora
- DEZMIN – v vseh (gladke, srčna, prečno-progaste) mišičnih celicah
- GLIA KISLI PROTEINI:; sestavljajo intermediarne filamente v glia celicah
- PERIFERIN – v perifernih živčnih tkivih,
- 4. POLIPEPTIDI, KI IZGRAJUJEJO...: A) NF-L:
- NF-M
- NF-H

TI TRIJE SE POVEZUJEJO V DIMERE.

NESTIN: polipeptid, ki se pojavlja med razvojkem živčnega sistema

5. skupina: ŽIVČNI LAMINI: izgrajujejo jedrno lamino

A in C ustvajta jedrno mrežo

B pa povezuje v jedrno membrano

Lamini kažejo največjo dinamiko – med mitozo se popolnoma razgradijo in povzročijo razpad jedrne ovojnice. To je dovisno od fosforilacije

NETIPIČNI POLIPEPTIDI: FILENTIN, FAKININ – najdemo v očesni leči

ZGRADBA POLIPEPTIDA JE:

1. centralna »paličasta« domena
2. N-terminalna glava
3. C-terminalni rep

Centralna paličasta domena – sestavljena iz več alfa ovitih heliksov

1. COIL (klobčič) 1 – poddomeni 1A, 1B
2. COIL 2 – poddomeni 2A, 2B
3. povezovalni (L) Ne-alfa-heliksni (vijačni odseki)

STRUKTURNA PODOBNOST INTERMEDIARNIH FILAMENTOV

Razlike med amino glavami in karboksilnimi repi.

NASTANEK INTREMEDIARNIH FILAMENTOV

Najprej se povežeta dve monomeri v dimer – s paličasto regijo se ovijeta ena v drugo.

Še vedno gre za polimerizirano strukturo.

2. dve dimneri se paralelno pšovežeta v tetramer- nista več polimerizirani, imata amino glavo in karboksilen rep

3. intremediarni filament niso polarizirana struktura – ne ločimo plus in minus konca; za sestavljanje ni potrebna energija (ATP)

4. tetrameri se nato zaporedno vežejo v porotofilament – ti se pararelno povežejo med seboj v protofibrilo – te se nato povežejo v IF, debeline 10 nanometrov

- IF so neobčutljivi na delovanje kemijskih dejavnikov, koliko kažejo dinamike je

NIVOJI DELOVANJA IF:

- delujejo na nivoju organelov – vzdržujejo lego in delovanje organelov
- na celičnem (tkivnem) nivoju: vzdržujejo celično integriteto, odporni proti različnim mehanskim stresom, so tkivno specifični – pomembno v ontologiji, ker IF ostanejo nespremenjeni<-<lahko določimo tip celice in se odločimo za ustrezno kemoterapijo

AKCESORNI PROTEINI IF

LAMIN-B RECEPTOR; vezava lamina na notranjo membrano jedrne ovojnice

FILAGRIN: povezava keratinov v tonofilamente

ANKIRIN: vezava VIMENTINA ns plazmalemo

PLEKTIN: vezava vimentina, vezana na MAP, spektrin

BRAG 1: hemidezmosomi

PLAKOGLOBIN... pika

PEKTIN: povezuje IF med seboj in z mikrotubuli in z aktinskimi filamentami – osrednji povezovalni protein citoskeleta

IF IN ORGANIZACIJA ORGANELOV:

- IF so odgovorni za specifično lego mitohondrijev v mišičnih celicah – DEZMIN – njegova okvara pomeni dislokacijo mitohondrijev in razpad miofibril
- Vzdrževanje lege GA, ustrezne lokacije lizosomov v celici
- IF so v epiteljskih celicah CITOKERATINI, v srčnih celicah pa je DEZMIN.
- Če ne pride do pravilnega sestavljanja IF pride do hudih posledic: mutacija – moteno sestavljanje v bazalnih celicah (keratin 14 in keratin 5) – celice se poškodujejo, postanejo občutljive na mehanske dražljaje – pride do EPIDERMOLYSIS BULLOSA SIMPLEX – mehurjavost kože – pride do infekcij.. izpostavljeni so predeli, ki so podvrženi mehanskim pritiskom – podplati, dlani

DEZMIN: IF ki se pojavlja v mišičnih celicah, obdaja Z linijo okrog in okrog

Mutacija dezmina – DEZMINOPATIJE – pojavijo se okvare v mišičju

Okvare ori nastajanjanu nevrofilamentov: aksoni živčnih celic so nabiti z IF – moten transport aksonov – NEVROPATIJE – ALS – amilotrofna lateralna skleroza – pojavlja

JEDRNA LAMINA: sestavljena je iz laminov A in C, ki se sestavljata mrežo

- pomembna za vdževanje jedrne ovojnice, regulira prehod preko jedrnih por

SHEMA SESTAVLJANJA LAMINA

1. lamin polipeptid
2. dimer
3. zaporedna vezava (glava-rep)
4. paralelna vezava dimerov

CITOSKELTE IN BOLEZNI:

GLAVNE ZNAČILNOSTI:

- okvare niso maligne, tkivna identiteta se ohrani
- okvare spremljajo citosolni proteinski agregati
- okvare se s starostjo slabšajo v mišičnih in živčnih tkivih, izboljšujejo v epitelijih
- okvare katastrofalne za tkiva, podvržena mehanikim silam
- monogenske okvare redke, tipično prizadeto le eno ali malo tkiv

GENI ZA CITOSKELETNE PROTEINE:

GENI ZA PROTEINE IF – 70 GENOV:

- 2 gena za proteine leče – filenzin, fakinin
- 3 geni za proteine tipa V – lamin A....

KERATINOPATIJE:

Vzrok predvsem mutacije vijačničnih motivov paličaste regije

DEZMINOPATIJE:

Funkcija: povezava Z-diska, določanje lege mitohondrijev

ALEKSANDROVA BOLEZEN:

MUTACIJA GFAP – degeneracija astrocitov

3 oblike bolezni: infantilna, juvenilna, adultna

NEVROFILAMENTI IN BOLEZNI:

IF V LEČI IN KATARAKTA: konginentalni, infantilni, juvenilni začetki sive mreže

PROKARIONTSKA CELICA: notranja in zunanja plazmalema, celična stena, DNA (bakterija)

EVKARIONTSKA CELICA: izoblikovano morfološko jedro, eritrociti sekundarno izgubijo jedro

Glavna razlika: dedno informacijo prostorsko ločena od citoplazme, razlikujeta se pšo tem, da je pri evkiontih citoplazma močno strukturirana, pojavljajo se membrane, ki tvorijo zaključene celote, ki opravljajo specifične funkcije

- PREDELKI ALI KOMPARTMENTI = ORGANELI
- 1. ustvarja v celici funkcionalno različna okolja
- 2. kompleksen distribucijski sistem (prenašanje molekul)
- 3. specifične molekule
- 4. značilen set encimov
- 5. z membrano obdana struktura

PREDELKI EVKARIOTSKE CELICE:

PEROKSISOMI: okidacijski encimi, oksidacija maščobnih kislin, alkohola (škodljiva snov)

ENDOSOMI: vakuole, ki so vključene v vnos materiala iz okolja

LIZOSOMI: intracelularna prebava, vsebujejo hidrolitične encime, ki razgrajujejo različne substrate

MITOHONDRIJI, KLOROPLASTI: produkcija ATP (sinteza ATP

GA: glikozilacija (dodajanje sladkorjev na molekule), sortiranje, modificiranje proteinov

ER: sinteza proteinov, lipidov, kalcija

CITOSOL: sinteza proteinov, in termediarni metabolizem

JEDRO: genom, mesto sinteze DNA, RNA

Lego teh predelkov vzdržuje citoskelet. Sinteza specifičnih proteinov za te predelke se začne v citosolu.

POT PROTEINOV: proteini imajo sortirni signal, če ga nima bo protein ostal v citosolu (npr. proteini citoskeleta, razen laminov)

Iz citosola gredo proteini na svoja tarčna mesta – njihov transport je različen:

- Transport preko por: iz citosola v jedro
- Transmembranski transport (translokatorji): iz citosola v mitohondrije in v ER
- Vezikularni transport: s pomočjo posebnih mešičkov: iz ER v GA in nato naprej proti LIZOSOMom in iz zunanjih površin navznoter

*Na mitohondriju i drugih organelih mora bit receptor, ki prepozna signal...

DVA TIPA SORTIRNEGA SIGNALA:

- v obliki signalne krpe: iz Ga v lizosome, jedro
- v obliki signalnega peptida: iz citosola v ER in mitohondrije; sestavljajo hidrofobne ali pozitivno nabite AK

PREGLED RAZVRŠČANJA PROTEINOV:

Jedro, peroksisomi, mitohondriji, kloroplasti; prosti ribosomi v citosolu.. Pika

TRANSPORT MOLEKUL IZ CITOSOLA V JEDRO OZ. OBRATNO (OBOJESMERNI TRANSPORT)

- poteka preko jedrnih por
- transport makromolekul v jedro in iz jedra skozi jedrne pore: encimi se transportirajo, ki omogočajo podvojevanje, prepisovanje, transportirajo se transkripcijski faktorji, proteini, ki sestavljajo ribosome

JEDRNI PORNKI KOMPLEKS:

- jedrna ovojnica je sestavljena iz dveh koncentrično ločenih membran: notranja in zunanja membrana. Na določenih mestih pride do povezave med njima, tu se razvijejo jedrne pore. Prostor, ki ga omejujeta se imenuje perinuklearni prostor.

Pod notranjo membrano leži jedrna lamina, nanjo pa se lahko veže kromatin, ki ga sestavljajo histoni in DNA in nehistski proteini. Zunanja membrana je na določenih mestih povezana z ER.

MODEL JEDRNEGA PORNEGA KOMPLEKSA: iz najmanj 50 različnih proteinov, skozi jedrni porni kompleks se prenašajo velike in majhne molekule – prenašajo se čpreko centralnega transporterja (26 nm) – obdaja ga poseben proteinski obroč, ki se lateralno povezuje na jedrno ovojnico – proteinske niti segajo tako proti citosolu (citoplazmatski obroč) in jedru (jedrni proteinski obroč)

- citoplazmatski filament
- zunanja, in notranja jedrna membrana
- periferno od centralnega transporterja se nahajajo ... za transport manjših molekul

PRENOS PROTEINA IZ CITOSOLA V JEDRO: centralni transporter naj bi deloval kot diafragma

JEDRNI LOKALIZACIJSKI SIGNAL

Bazične AK – lizin, arginin, ki imata + naboj

Poznamo enojni in dvojni signal.

Protein, ki se transportira se nahaja v zviti obliki (funkcionalna oblika)

NUKLEOPORINI:

JEDRNI RECEPTORJI – KARIOFERINI

- proteini, ki izgrajujejo jedrni porni kompleks

Jedrni vnosni (importni) receptor – importin

Iznosni (eksportni) signal

.. receptor – eksportin (molekule, ki se transportirajo iz jedra v citosol)

Importini in eksportini so si po zgradbi zelo podobni. Oboji so jedrni receptorji – karioferini.

Jedrni lokalizacijski signal

FG ZAPOREDJE v nukleoporinih

F= fenilalanin

G= glicin

HIDROLIZA GTP Z Ran proteini = energija za transport

Ran – molekularno stikalo – dve konformacijski obliki: z GTP (aktivna oblika) in z GDP (neaktivna oblika)

Z Ran proteinom sta povezana še GAP (GTP-ase Activating protein) in GEF (guanin exchange factor).

Razlika v polimerizaciji GAP in GEF določa smer transporta.

Ran GDP – v citosolu

Ran GTP - v jedru

HIDROLIZA GTP Z Ran DOLOČA SMER JEDRNEGA TRANSPORTA

PREREZI:

- ramenskega sklepa
- prečni prerez čez nadlaktnico
- vzdolžni prerez skozi karpalne kosti – zapestne koščice..
- karpalni kanal
- prečni prerez čez 2. falango
- interossea palmares in dorsales

04.december 2006

USMERJANJE PROTEINOV V PEROKSISOME

- sporočilno zaporedje Ser-Lys-Leu (serin, lizin, leucin) na COOH koncu – PTS1
- sporočilno zaporedje 9 AK na NH₂ (amino) koncu – PTS2
- v peroksisomih so encimi za sintezo horestelora in za produkcijo žolčnih kislin
- proteini v peroksisomi se v celoti sintetizirajo v citosolu
- ta sporočilna zaporedja morejo prepoznati peroksini (receptorji): npr. peroksin 5, prepoznajo sporočilno zaporedje na peroksisomskem proteinu, in ga usmerjajo proti peroksisomski membrani, tam so proteini, ki ta kompleks prepoznajo, ga vežejo ob transklokatorju in omogočijo prehod v peroksisome.
- Proteini se transportirajo v zviti obliki (funkcionalna konformacija)

NASTANEK PEROKSISOMOV

Ko peroksisom kopiči peroksisomske encime s tem raste, se zažme in se razdeli na dva nova peroksisoma.

Zelo pomembni so za delovanje tkiva, pojaljajo se hude okvare. Npr. ZELLWEGERJEV SINDROM – sindrom praznih peroksisomov – odsotnost signalnega sporočila, mol. Ne prepoznajo in (peroksisomi) se izločajo navzven – smrt takoj po rojstvu.

POSTTRANSLACIJSKI TRANSPORT

- Po končani sintezi proteinov v citosolu (translaciji)
- sinteza proteina se začne v citosolu, na ER sinteza proteina teče dalje
- prenos proteina, ki se ni še dokončno transportiral – zato ga imenujemo KO... !!!

ENDOPLAZEMSKI RETIKULUM

Volumen ER predstavlja 10% vsega volumna, in 50% vseh membran v celici

- zrnati – GER – na citosolni strani so prisotni ribosomi - granularni
- gladki – AER – membrane so prazne – agranularni
- ima centralno vlogo v sintezi lipidov in proteinov (transmembranskih – ER, GA, lizosomi, endosomi, sekrecijski vezikli, plazemska membrana)
- lipidi sestavljajo membrane mitohondrijev in peroksisomov
- sinteza proteinov, ki delujejo v lumnih ER, GA, lizosomov, ali pa se ti proteini izločijo v procesu endocitoze
- vodotopni proteini

GLADKI ER:

1. celice, ki sintetizirajo steroidne hormone iz holesterola
2. HEPATOCITI:
 - a) lipidne komponente lipoproteinov
 - b) detoksifikacija lipidotopnih učinkovin in škodljivih snovi, nastalih v metabolizmu – citokrom P450 – se odstranjujejo iz telesa z urinom
 - c) skladiščenje kalcija – kasneje se sproščajo po potrebi – npr. v mišicah – ob kontrakciji se vključijo po kalcijevih kanalih, po njej pa se odstranjujejo s kalcijevo črpalko

MIKROSOMI

- umetna tvorba, ki predstavljajo fragmente ER
- najprej celico fizikalno razgradimo (homogeniziramo) in te homogenate centrifugiramo pri razl. hitrostih – cisterne se razbijejo na fragmente (mikrosome)
- z njimi so ugotovili mehanizem sinteze proteinov na ER

SIGNALNA HIPOTEZA:

- sinteza signalnega peptida na ribosomu v citosolu
- vezava SRP (signal recognition particle) na ribosom in signalni peptid
- vezava kompleksa SRP – ribosom na receptor za SRP ob translokatorju na membrani ER (sinteza proteina se začasno ustavi)
- signalni peptid se umesti v translokator, sinteza proteina se nadaljuje
- sprostitvev SRP in receptorja, ribosom ostane vezan na translokator

*translokator = multiproteinski kompleks, sestavljen iz številnih podenot, ki ustvarja kanale po katerem se protein naprej transportira; obstaja v aktivni (je doprt in omogoča sintezo) in neaktivni obliki; Sec61 = translokator na membrani

DVOJNO ODPIRANJE Lahko se odpira v ravnini same membrane in omogoči, da se hidrofobno zaporedje

FUNKCIJA SIGNALNEGA PEPTIDA

- po končani sintezi in translokaciji proteina skozi translokator se signalni peptid odcepi s signalno peptidazo
- služi kot startni signal ... ? Pika?

PREHOD TOPNIH PROTEINOV PREKO MEMBRANE ER

- Signalni protein deluje kot start signal
- Z dodajanjem novih AK se protein pomika v lumen
- Signalna peptidaza odcepi signalni peptid, translokator se tudi lateralno odpre in hidrofobna sekvenca izstopi se umesti v dvosloj
- Sekretijski proteini...

ORIENTACIJA MEMBRANSKIH PROTEINOV

- hidrofobna sekvenca (20-25AK) omogoči z alfa heliks regijo vgraditev proteina v membrano (transmembranski protein)
- Enojno prehajanje membrane – dve varianti (karboksilni ali amino konec v ER)
- Večkratno prehajanje membrane – več alfa heliks hidrofobnih regij

VGRADITEV Transmembr. Proteina, KI ENKRAT PREHAJA MEMBRANO

- sinteza proteina se začne na enak način kot sekretijski protein
- v notranjosti proteina je sekvenca iz hidrofobnih AK, ki jo imenuje stop transfer sekvenca
- ko pride do translokatorja deluje kot start transfer
- protein se pomika v notranjost ER toliko časa, dokler v translokator ne pride druga hidrofobna sekvenca, ki zaustavi nadaljnje pomikanje v lumen – zato jo imenujemo stop-transfer-sekvenca

VGRADITEV S POMOČJO NOTRANJE SIGNALNE SEKVENCE KOT START TRANSFER SIGNAL

- ko se signalni peptid umesti v translokator, deluje hkrati kot aktivator translokatorja in kot stop-transfer-sekvenca
- kako se bo peptid umestil je odvisno od naboja – ali bo amino ali karboksilni konec v ER

VGRADITEV PROTEINA, KI DVAKRAT PREHAJA MEMBRANO ER

- notranja signalna sekvenca deluje kot start-transfer-signal (stop – start – stop)
- notranji signalni peptidi se ne odcepijo!
- 1. signal deluje kot start – transfer signal
- 2. signal deluje kot stop-transfer-signal (sinteza teče do konca le na citosolni strani)
- Kolikokrat bo protein prehajal membrano je odvisno do start in stop sekvenc.

POST TRANSLACIJSKA TRANSLOKACIJA PROTEINOV V ER

4. Prenos proteina s pomočjo BiP – binding protein (šaperon – vzdržujejo obliko)
3. Vezava proteina ob Sec 61 translokacijski kanal

2. Prepoznavanje signalne sekvence z Sec 62/63 kompleksom

1. Sinteza proteina na prostih ribosomih v citosolu

ZVIJANJE PROTEINOV V FUNKCIONALNO KONFORMACIJO LUMEN ER-a

- Šaperon BiP se veže na polipeptidno verigo in omogoči zvijanje in setavljanje proteina v ER.
- Oblikovanje disulfidnih vezi (mostičkov) med cisteini – proteinska disulfidna izomeraza
- GLIKOZILACIJA: dodajanje sladkorjev na protein

VEZAVA OLIGOSAHARIDA (OS) NA PROTEIN

- oligosaharid se veže samo na Amino skupino AK ASPARAGINA – te oligosaharide imenujemo n-vezani oligosaharidi
- OS se predhodno sintetizira

GLIKOZILACIJA PROTEINOV V LUMNU ER

- Dolihol se sladkorjem obrne v lumen
- Dodajo se še 4 manoze (skupaj 9) in 3 glukoze
- OS se s po
-
- močjo oligosahariltransferaze... ?

Asn – asparagin

-N-acetil glukozamin (2)

-Manoza (9)

- Glukoza (3)

Zadnje tri = Dolihol

oligosaharil – transferaza

GPI SIDRO

Glycosylphosphatidylinositol

vezava GPI sidra poteka na

- v raftih so GPI sidra

IZHOD IN RAZGRADITEV NAPAČNO ZVITIH PROTEINOV

- transportirajo se preko Sec 61 kompleks
- nanj se vežejo UBIQUITINI, ki označujejo napačne proteine
- grejo čez proteasomi – tu se razgradijo napačno zviti proteini (pH=7,2)

VLOGA TRANSLOKATORJEV FOSFOLIPIDOV

ER membrana: ENCIMI SKRAMBLAZE – poskrbi da oba sloja simetrično rasteta

Plazemska membrana: ENCIMI FLIPAZE – vzdržujejo asimetrično porazdelitev;

selektivno prenašajo fosfatidil serin iz zunanega v citosolni enosloj in iz citosolnega v zunanji enosloj

PRENOS FOSFOLIPIDOV IZ ER-a V MEMBRANO MITOHONDRIJA

- Membrane peroksisomov niso v direktnem stiku z ER
- Fosfolipidi se ne morejo prosto prenašati – prenašalci fosfolipidov = proteini, ki specifično vežejo lipid v membrani ER, disociirajo in prenesejo fosfolipid do membrane mitohondrija ali peroksisoma

VEZIKULARNI TRANSPORT

BIOSINTETSKO-SEKRECIJSKA IN ENDOCITITSKA POT

Glej shemo! Pika

Pot proteinov iz notranjosti celice (iz ER) na zunanjo površino (lizosomi).

Endocitotska pot vključuje zgodnji in pozni endosom. Prenos od zunaj v notranjost.

- Prenos poteka s pomočjo mešičkov ali veziklov. Mešiček se zlije s tarčnim kompartmentov.
- Ohranjanje originalne orientacije proteinov in lipidov.
- lumni GA in ER so ekvivalentni ekstracelularnem prostoru
- sladkorji bodo vedno na ekstracelularni strani

PLAŠČNI (POKRITI) VEZIKLI

VLOGA PROTEINSKEGA PLAŠČA:

- deluje kot membranski pripomoček za upognitev membrane ter nastanek vezikla

RAZLIKE MED VEZIKLI:

- a) različna proteinska sestava plašča
- b) različna zgradba (vidna pod EM)
- c) različna vloga v transportnih poteh

TIPI VEZIKLOV

1. COP II – POKRITI VEZIKLI iz ER v GA
2. COP I – POKRITI VEZIKLI; sodelujejo pri transportu iz GA v ER in med cisternami GA
3. KLATRIN-ski POKRITI VEZIKLI: sodelujejo pri prenosu iz trans Golgijevega mrežja v lizosome in iz plazmaleme v endosome

GOLGIJEV APARAT

1. vstopno mesto – Cis regija
2. izhodno mesto – trans regija

1. CIS Golgijevo omrežje: predel GA, ki je najbližje ...
2. Golgijeva skladovnica
 - cis
 - medialne cisterne
 - trans cisterne
3. Trans golgijevo omrežje

Povprečno se nahaja med 4 in 6 cistern.

KRIOSOM – več ali le eden

GA je izrazito polarizirana struktura (vstopno in izstopno mesto).

Cis in trans mrežje sta pomembni sortirni mesti. V cis se sortirajo proteini. V trans se produkti razvrščajo po 3 različnih poteh.

Vsak od teh kompartmentov vsebuje različne encime, ki omogoča dodajanje spec. Sladkorjev ali sintezo lipidov.

FUNKCIONALNI PREDELKI GA

V cis omrežju poteja fosforilacija manoz – značilna za lizosomske encime. V cis mrežju poteka odstranjevanje manoz z oligosaharidov.

Medialna cisterna – nadakjuje se odstranjevanje manoz, dodajajo se drugi sladkorji enacetilglukozamin

Transcisterna – dodajata se ..., dodaja se sialična kislina(nosi neg. naboj), pride do sulfatacije

3 poti: ena pot vodi do lizosomov, 2 poti pa vodita do celične površine

V Ga nastajata dve vrsti oligosaharidov: kompleksni (raznoliki sladkorji) in enostavni (sladkor manoz).

VISOKOMANOZNI OLIGOSAHARIDI (procesiranje lizosomskih encimov): fosforilacija manoz, fosforilirana manoz je prepoznaven znak za lizosomski encim

TRANSPORT IZ GA

1. sortiranje v trans G omrežju
 2. transport vezikolov do ciljnega mesta
-
1. brez ustreznega signala – konstitutivna sekrecija - oskrbovanje s proteini, navzven se izločajo protitelesa
 2. proteini s signalom: lizosomi in sekrecijska zrna – regulirana sekrecija koncentrirajo se v posebnih veziklih – sekrecijska zrna – kopičijo se v citosolu in se pod vplivom signala se njihova membrana zlije s ctoplazemsko membrano – npr. sproščanje pepsina, tripsina

LIZOSOMI

V obliki vreč, obdani z membrano, heterogena skupina organelov, ki variira med seboj po velikosti in po vsebini.

Vsebujejo številne hidrolitične encime (proteaze, nukleaze, glikozidaze, lipaze, fosfataze, sulfataze, fosfolipaze). Te delujejo pri kislem pH-ju – pH je 5 in je optimalen za delovanje lizosomskih encimov. Da se vzdržuje pH poskubi posebna protonska črpalka (V- črpalka) v membrani lizosoma. pH v citosolu = 7.2

Transport AK; monosaharidov, nukleotidov

Da ne pride do samorazgradnje - avtolize lastne membrane lizosoma: notranjost membrane je močno glikolizirana – onemogoča delovanje encimov.

TRANSPORT LIZOSOMSKIH ENCIMOV V LIZOSOME

Vežejo lizosomske encime in s tem koncentrirajo. Lizosomski encimi se vezani na receptorje,

Med klatrinskim plaščem – omogoča da se brst z lizosomskimi encimi odcepi.

Imamo gol vezikel, ki na lumenski strani nosi... Pridejo do poznega endosoma, se zlijejo z nejno membrano – kisel pH, povzroči

Sproščeni encimi se najprej fosforilirajo (da se ne vežejo na receptorje in se vračajo nazaj v GA).

Pozni endosom se spremeni v lizosom.

Substrat za razgradnjo v lizosomih je zelo različen:

3 poti substrata do lizosomov:

- Endocititska pot: Makromolekule prehajajo z endocitozo, se združijo z vezikli ...

- Fagocitotska pot: sprejem bakterij odmrle celice; uvihanje membrane, FAGOSOM – z njim se združijo primarni vezikli in nastane lizosom
- AVTOFAGIJA: razgrajujejo se celici lastni organeli – GA – na ta način se odstranjujejo nefunkcionalni organeli – obdajo se z membrano in nastane tvorba – AVTOFAGOSOM (heterofagosom)

Encimi ne prebavijo vsega kar celice sprejme – te snovi se kopičijo v lizosomih – ta se počasi stara in se spremeni v terciarni lizosom – rizodiarna telesa – po njih sklepamo na starost celice.

LIZOSOMSKE MOTNJE KOPIČENJA

- GM, ganglioziidoza: pomanjkanje galaktozidaze, nakopiči se gangliozid GM: mentalna zaostalost, povečana jetra, smrt pri 2 letih
- Tay-sachs
- Fabry
- Sandhoff
- Gaucher
- Sulfatidna lipidozna
- Farber: odsotnost ceramidaze, kopiči se ceramid
- Illusion Cell Disease – ne pride do fosforilacije manoz, direktno se izločijo na celično površino

KONSTITUTIVNA IN REGULIRANA SEKRECIJSKA POT(EKSOCITOTSKA POT)

Vsebina veziklov se izloči navzven – vodi do povečanja celične površine – eksocitoza. Da ne bi prišlo do tega poteka uravnotežen proces – endocitoza – celična površina ostaja enaka.

Recikliranje membran – fundamentalen proces v celici

2 poti iz trans G omrežja: konstitutivna sekrecija (neregulirana)

Selektivna pot – odvisna od hormonov ali nevrotansmitterjev:

- kopičijo se produkti v sekrecijskih zrnih, ta se nabirajo v celici
- eksocitoza je odvisna od povečane konc. Kalcija

RAZVRŠČANJE PROTEINOV DOLOČENIH ZA APIKALNO, BAZO-LATERALNO PLAZMALEMO

ENDOCITOZA: 2 osnovna tipa: delitev temelji na velikosti veziklov: a) vezikli veliki do 150 nm = PINOCITOZA – celično pitje, sprejem makromolekul

b) vezikli veliko več kot 150 nm = fagocitoza – celično žrtje – sprejem večjih artiklov – bakterijskih celic...

NESELEKTIVNA endOCITOZA

VISOKOSELEKTIVNA endOCITOZA: vezava na specifične receptorje – receptorska endocitoza

Pri večceličnih organizmih je fagocitoza omejena na omejen št. Celic in predstavlja obrambo pred škodljivimi organizmi – obramba pred infekcijo. Pri človeku je endocitoza omejena na neutrofile in na makrofage (odstranijo dnevno odmrle eritrocite).

Pseudopodiji so membranski izvihki, ki rastejo in vedno bolj obdajajo bakterijo. Tako preide bakterija v notranjost celice – nastane fagosom.

So bakterije, ki so izogone lizosomskemu sistemu in uničijo makrofage.

ENDOCITOTSKA POT OD PLAZMALEME DO LIZOSOMOV

RECEPTORSKA ENDOCITOZA: receptorji so transmembranski proteini

Poglobljena mesta – pokrite jamice

Na citosolno domeno je vezan adaptin, nato se vežejo še katrinske molekule

- katrinski vezikel kmalu razpade in dobimo gol vezikel, ki v membrani vsebuje receptorje – selektivna endocitoza. Gol vezikel se združi z zgodnjim endosomom, ki povzroči docepitev liganda (receptorja). Receptorji se lahko vrnejo na površino, lahko pa se transportirajo do poznega endosoma in nastane lizosom – tam poteka razgradnja sprejeta materiala.

PRIMER. Sprejem holesterola – preko posebnih lipoproteinskih partiklov – LDL partikel = zgrajen in enega sloja fosfolipidov, kamor je vgrajen tudi holesterol

V notranjosti se nahaja 1500 molekul holesterola, ki je zaestren. V lipidni enosloj je vgrajen APO protein.

Holesterol se po krvi ne prenaša samostojno. Če je moten transport in sprejem LDL partiklov, ti zastajajo v krvi, kar vodi do arterioskleroze ali celo do srčnega infarkta.

RECEPTORSKO POSREDOVANA ENDOCITOZA LDL PARTIKLOV

Nastane nezaestren holesterol.. gre ven in sodelje pri izgradnji membran

Družinska hiperholesterolemija – večji riziko za infarkt... Receptor se ne vgradi v membrano, lahko imajo napake v svoji strukturi in se ne morejo vezati.

CIKEL TRANSFERINA

Z receptorsko Endocitozo se sprejema tudi beljakovina, ki nosi železo – TRANSFERIN. Nato se izoblikuje klitrinski vezikel.

Epidermalni rastni faktor lahko deluje na celico le, če se veže na receptor.

RECIKLIRANJE SINAPTIČNIH VEZIKLOV

1. Arrival of a nerve impulse at the terminus of a neuron triggers the fusion of synaptic vesicles with the plasma membrane, realising neurotransmitters.

...

TRANSCITOZA

Iz ene celične površine na drugo – se izogne lizosomskemu veziklu. Sprejem protiteles pri mladičih – nimajo svojega lastnega imunskega sistema – dobijo ga z dojenjem.

Reciklirajoči endosom z vezikli oskrbi bazalno membrano

***HETERODIMER: povežeta se TIP1 (kisli keratin) in TIP2 (bazični keratin)

1,2 KERATINI so značilni za epiteljske celice (mehki keratini = citokeratini) in produkte epiteljskih celic (trdi keratini – lasje)

- speci

CELIČNO JEDRO

170-190

Okoli njega je citoskelet.

Je center v celici, kjer se nahaja DNA – hranjenje informacij. Dna je ločena od ostalega dela celice z jedrno ovojnico. Jedro je kompartment, kjer se hrani informacijska bit.

Sinteza DNA in RNA in prepis iz DNA v RNA (transkripcija / translacija)

Sinteza proteinov poteka le v citosolu.

Geni so včasih dostopni, včasih pa ne. Jedro regulira dostop do informacije.

V jedru je genotip = geni na DNA.

Fenotip je izraznost.

JEDRO:

- Skladišče dednega materiala
- Mesto prepoisovanja – sinteze Rna in procesiranja
- Urejanje ribosomalnih podenot
- Proctor kjer se DNA podvojuje
- Transportno mesto – kontroliran transport v obe smeri

POznamo celice brez jedra (trombociti), z enim ali več jedri (levkociti).

Brez jedra:

- ERITROBLAST – ERITROCIT (nimajo organelov)

Več jeder:

- KOŽNE CELICE POVRHNJICE
- HEPATOCITI, CELICE SRČNE MIŠICE, MEGAKARIOCITI
- EPITELIJSKE CELICE SEČNEGA MEHURJA, ENDOTELIJ – ROŽENICA
- FOLIKULARNE TIROIDNE CELICE
- RAKAVO SPREMENJENA CELICA (ima pogosto več jeder, ta so spremenjena, motnja rpi delitvi celice)

Jedro sestoji iz jedrne ovojnice – iz 2 membran – zunanja nosi ribosome, obrnjena porti citosolu

Jedrna lamina

Nukleoplazma – iz kromatina: iz evkromatina In heterokromatina (razlika v spiralizaciji)

Nucleolus ali jedrce – specializiran center

Interfazno jedro je edino jdro, ki obstaja.

Jedrni porni kompleksi ali jedrne pore

JEDRNA OVOJNICA

- povezana z ER
- medmembranski proctor
- jedrna lamina
- kromatin – pripenja se na notranjo jedrno membrano
- jedrna pora

JEDRNA LAMINA IN LAMINI

- preplet intermediarnih filamentov laminov
- NLS mesta – kjer se na lamine vežejo kromatini

- Lamini LA
- Lamini LB
- Lamini LC

Vezava laminskega receptorja z lamini, ki se križno povezujejo, na to strukturo se pripne še kromatin in nastane stabilna struktura.

Heterokromatin leži ob notranji jedrni membrane, mesta por so prosta. Kjer je jedrna pora ni kromatina – je pa poleg.

- LAMIN B ostaja vezan s fragmenti jedrne ovojnice. Je kot sidro, na katerega se vežejo kromosomi, kar omogoča nastanek novih jeder.

- Stopnja FOSFORILACIJA LAMINOV se spreminja
JEDRCE ALI NUKLEOLUS

- nahaja se na sredini
- setavine: jedrni proteini 10%, RNA molekule 30%, DNA, jedrni fosfolipidi...
- karakteristika jedrc za vrsto celic in fiziološko stanje: velikost, oblika, število (v določeni celici imamo določeno število jedrc, ki imajo določeno velikost in obliko) – identifikacija odstopanj od normalnih celičnih stanj
- jedrce je mesto RNA (r-RNA) sinteze in je mesto nastajanja ribosomalnih podenot
- jedrce sestoji iz zrnatega (mesto sinteze ribosomalnih podenot – podenot ribosomov) in nitastega predela (r-DNA z r-RNA geni)

NITASTI PREDEL:

- prepisovanje r-Rna genov
- procesiranje pre r-RNA molekul
- urejanje r-RNA v ribosome
- mesto za usmerjen process v celici

ZRNATI DEL: urejanje proteinov v podenote ribosomov

NUKLEOLARNI ORGANIZACIJSKI CENTER – NOR

- povprečni ima celica med 5-10 krat 10 na šesto ribosomov
- r(ribosomalni)-RNA geni sestavljajo NOR: 18 r-RNA, 5*8, 28 – r-DNA
- 18 S r-RNA, 5*8 S, 28 S, 45 S r-RNA (procesiranje r-RNA molekul)
- 200 genov za 5,8; 18; 28 S r-RNA
- 2000 genov za 5 S r-RNA
- r-RNA geni se nahajajo na kromosomih 13, 14, 15, 21, 22, (1)

UREJANJE RIBOSOMSKIH PODENOT

SLIKA : Pika

SISTEMSKI ERITERMATOZNI LUPUS – KRONIČNO POTEKAJOČA DERMATOZA – avtoimuna bolezen

- nastanek pritetels proti lastnim sestavinam (komponentam) jedra (DNA, histoni, kromosomski proteini)
- to povzroča stimulacijo limfocitov B – vnetje
- poškodovana so mnoga tkiva zaradi vnetnih pojavov
- kot npr. koža, ledvica
- bolezen je pogostejša pri ženskah

2007-01-12

SINTEZA PROTEINOV ZA M FAZO

- M fazni kompleks ali M- faktor
- Cdk/cyB
- Sinteza določenih vrst proteinov

G2 KONTROLA: postreplikativna kontrola

V G2 fazi je že sintetiziran M-fazni kompleks ali M-faktor. Njegova aktivnost omogoča prehod v M fazo.

- proteini, ki preverjajo DNA stanje (npr. prelom...):
 - Aktivacija kinaz (dodatek fosforne skupine na Cdc25)
 - Inhibitorni fosfat ostane vezan – M faktor je neaktiven
 - Ustavitev v G2 fazi

B-ciklini in M-fazni kompleks – M-Cdk

- aktivnost M faktorja v različnih fazah CC: v interfazi ni nobene aktivnosti, med vso mitozo pa je aktiven – od profaze do metafaze

MITOZA

Celična delitev genetskega materiala na dva enaka kromosomska seta v dve hčerinski celici – to dogajanje vodi M faktor.

- ciklusi, ki potekajo med mitozo: ciklus kromosomov, celičnih organelov, centrosomni ciklus
- substrati M-faznega kompleksa: (M-Cdk med mitozo fosforirira so: jedrno ovojnico, kromatin, citoskelet

KROMOSKI CIKLUS

- kondenzacija kromatina (kromatin je substrat M-Cdk)
- kondenzacija kromosomov
- segregacija – razdvajanje
- dekonenzacija

CIKLUS CELIČNIH ORGANELOV

- uravnoteženo dogajanje

M-CENTROSOMNI CIKLUS:

- en faktor aktivira podvojitev centrosomov: na prehodu iz G1 v S fazo
- napake v tem ciklusu povedejo do kromosomskih napak

OBLIKOVANJE IN DELOVANJE DELITVENEGA VRETENA (DV)

- M faktor je v večini odgovoren za delitev celice
- Vrste niti Dv: astralne(izhajajo iz centrosoma radialno), polne (iz enega pola na drugega) kromosomske (, segajo do kromosomv)

OSNOVNE ZNAČILNOSTI MIKROTUBULOV:

- oblikovanje iz organizacijskega centra – centrosoma (CyB/Cdk)
- polarne strukture
- dinamična nestabilnost (se razmnožujejo)
- gbibanje poteka (tudi) ob sodelovanju gibalnih proteinov

M - PROFAZA IN METAFAZA

- fosforilacija laminov (CyB/Cdk) – posledica je razpad jedrne ovojnice
- M-Cdk fosforilirajo lamine!!!!
- Dostop niti delitvenega vretena do kromosomov
- usmerjanje mikrotubulov

rast in krčenje MT v vse smeri – dinamična nestabilnost

katastrofični dogodki

podaljševanje življenjske dobe daljših MT

povečevanje št. MT

Glavno vlogo pri oblikovanju delitvenega vretena imajo GIBALNI PROTEINI (polni in astralni MT).

KRP – kinezinom sorodni proteini – usmerjeni gibalni proteini

DINEINI: proti minus koncu usmerjeni gibalni proteini

PROMETAFAZA!!!

POLIMERIZACIJE IN DEPOLIMERIZACIJE V KINETOHORNIH MT (na + koncih)

PROFAZA IN PROMETAFAZA – »lovljenje kromosomov«

- neprijet kromosom
- lateralna vezava kinetohora na astralne MT
- drsenje kromosoma proti polu
- unipolarno pripenjanje
- bipolarno pripenjanje
- kinetohor pripenja večje št.niti DV

POLIMERIZACIJE IN DEPOLIMERIZACIJE V KINETOHORNIH MT

- počasna depolimerizacija
- polimerizacija tubulinskih podenot
- hitra izguba tubulinskih podenot
- počasna depolimerizacija

hitra(levo) in počasna (desno) polimerizacija – pomik v ekvatorialno ravnino

METAFAZA:

- kromosomi oscilirajo (delujejo sile – stanje preverjanja statusa DNA)
- ravnotežje sil v ekvatorialni ravnini

V anafazo preidemo s depolimerizacijo na + strani mikrotubula (kinetohrona stran)

Aktivno vlečenje kromosomov z motornimi proteini in anafaza A

ANAFAZA

- krajšanje kinetohornih MT
- kromatide k polom
- sile nastajajo v glavnem v kinetohoru

ANAFAZA B:

1. Drsenje prekrivajočih polnih MT iz nasprtonih polov razmika polov
2. Vlečne sile (dinenini) na stralnih MT in razmik polov

Kdo omogoči ločitev kromatid?

Bistven je prehod iz M faze v A fazo

- anafazni promocijski kompleks je odgovoren za dogajanje od metafaze naprej (ko ni več M-faznega kompleksa)
- kohezini povežejo obe kromatidi in se pojavijo v S fazi pa vse do metafaze
- v metafazi se aktivira encim – separaza – ta razcepi kohezine, zato se lahko kromosom deli na 2 ločeni kromatidi
- M-Cdk niso več aktivni
- Aktivira se APC
- Separaze cepijo kohezine

TELOFAZA:

- inaktivacija M – faznega kompleksa
- posledice: potek dogodkov v nasprotnem smislu kot v profazi
- set kromosomv prispe na pol (defosforilacije v kromatinu)
- oblikuje se jedrna ovojnica
- nastaja kontraktilni obroč
- vzrok: defosforilacije
- prekinitev učinkov na substrate v M fazi
- aktivacija spec. Seta MT

KONTROLA CIKLUSA MED MITOZO:

- Kontrola pripenjanja kromosomov v kinetohorih na niti DV
- Pripenjanje vseh kromosomov omogoča prehod preko stop kontrolne točke v mitozu

Nepopravljanje napake v 3. kontrolni točki: NERAZADVAJANJE – ZAUSTAVITEV V METAFAZI: Downov sindrom – mongoloidne osebe

18 December 2006

KROMATIN

KROMATIN IN DNA

- mali jarek
- veliki jarek

Kot spirala se vežeta okrog DNA in predstavljata mesto, kjer vstopa.

Oblikovanost kromatina je odločilna za delo molekule – dostop do informacij.

Kromatin je lahko v obliki linearne ali krožne molekule. Kot krožna molekula nastopa v mitohondrijih, kjer je v superspiralizirani obliki.

KROMATIN je v interfazi celičnega ciklusa, KROMOSOM pa med mitozo; gre za isto strukturo v različnih oblikah.

KROMOSOMI ČLOVEKA:

- 2n: 46 kromosomov = 23 parov DNA molekul
- 1. kromosom = 10 mikrometrov = 7,2 cm
- 174 cm – dvojni zapis v diploidni celici
- 3 pg DNA/n genom
- 3*10 na deveto bp

KROMATIN – HISTONI

Bazični proteini, ki se vežejo na DNA

Več vrst histonskih proteinov: H1, H2A, H2B, H3, H4

KROMATIN – OKTAMER IN NUKLEOSOM

- Oktamer: 8 histonov (2*4)
- DNA (146 baznih parov) = nukleosom = osnovna gradbena enota kromatina

KROMATIN – NUKLEOSOM, H1 HISTON

- je neke vrste zamašek, preprečuje da bi se DNA odvila iz oktamera
- kjer DNA zapušča nukleosom

NUKLEOSOM:

POvezovalna DNA (izven nukleosomov) in oktamer se z razgraditvijo povezovalne DNA-nukleaze spremeni v oktamer – ta se razgradi v oktamerni histonski kompleks in 146 nukleinska veriga

KROMATIN

- 2 kopiji štirih vrst histonov gradijo nukleosom
- med nukleosomi je t.i. povezovalna DNA iz 10-90 baznih parov DNA
- vezava histonov ni odvisna od določenega nukleotidnega zaporedja
- histoni so evolucijsko najbolj konzervativni proteini
- vsaka povezovalna regija ima še dodatni histon H1
- okrog oktamerov je dvainpolkrat zavita DNA z 146 baznimi pari
- histon H4 se pri govedu in grahu razlikuje le v 2 AK

Jedro vsebuje kromosome, le-ti pa sestojijo iz kompleksa med DNA in proteini.

Dna v jedru v povezavi s proteini označujemo kot kromatin

Večino proteinov gradi pet vrst histonov

Histoni so bazični proteini s pozitivnim nabojem zaradi vsebnosti AK arginin in lizin
Na DNA so negativno nabite fosfatne skupine

Kromatin vsebuje tudi NEHISTONSKE PROTEINE (npr. prepisne faktorje – berejo DNA)

KROMATIN – NUKELOSOMI

- 46 DNA molekul pri človeku (1,7 m) je shranjenih v jedru somatskih celic s povprečno 10 mikrometri premera (torej majhen proctor)
- Med repnimi deli histonskih molekul in molekulami, ki modficirajo te histone, prihaja do modifikacij (spreminjajo afiniteto povezave med histoni in molekulami)
- MODifikacije histonov zagotavljajo različno stopnjo povezovanja med DNA in histoni v jedru

- nukleosomi zvišajo (kondenziranje - pakiranje, spiralizacija) DNA v jedru.

NUKELOSOMSKE MODIFIKACIJE

- vključuje kemisjke modifikacije:
- - modifikacije potekajo na repih histonov H3 in H4, tudi na H1
- Spremembe so reverzibilne (manjša afiniteta pomeni oslabitev povezave – bolj dostopen odsek za branje – dostop do genov)
- Dodajo ali odvzemajo se: acetilne skupine na lizin, fosfatne skupine na lizin in agrinin, metilne skupine na agrinin in lizin

KROMATIN – STOPNJE KONDENZACIJE

VLOGA H1

SPIRALIZACIJA IN PAKIRANJE KROMATINSKE NITI: 10 nm debela nit

- dostopna v jedrih interfaze aktivnih celic
- ta se še naprej spiralizira v 30 nm nit – to je 2. stopnja kondenzacije
- 30 nm fibrile

RAZNOLIKOST ZGRADBE 30 nm FIBRIL:

Nekje sploh ni histonov – na nekaterih odsekih so nehistski proteini

KROMATINSKE ZANKE:

- velikost 400 nm
- obseg: 50 – 100 kb DNA
- histonske modifikacije – remodeliranje kromatina
- uredite kromatina v zanke ni naključna – strogo vodena – zanke se nahajajo tam, kjer mora biti dostop do genov hiter

KROMATIN IN KROMOSOMSKO OGRODJE

KROMATIN IN KONDENZINI:

- Vloga: vezava na DNA in kondenzacija kromatina
- Poraba ATP – aktivni proces

NEHISTONSKI PROTEINI:

VRSTE: več vrst regulatornih proteinov

Nameščeni pretežno v nespiraliziranih delih DNA

Pomen: regulacija delovanja genov

SPREMEMBE V KROMATINSKI ZGRADBI DOPUŠČAJO DOSTOP DO DNA

- remodelirni kompleks
- Disociacija vezavnih proteinov
- Obnova standardni nukleosom
- izražanje genov, DNA podvojevanje – procesi, ki zahtevajo dostop do DNA/histonov
 - Dostop do DNA (genov) je lokliziran in časovno omejen.
 - izpostavijo se samo deli genoma, ki jih celica v določenem času "potrebuje"
 - KRK (remodelirni kompleks) sestavljajo encimi (proteini), ki ob porabi ATP remodelirajo strukturo nukleosomov

- To omogoči: dostop encimov, ki sodelujejo v podvojevnaju DNA, obnovi, izražanju genov
- Med mitozo je KRK neaktiven, posledica tega je, da mitotski kromosomi so strukturno nespremenljivi (maksimalno zaviti) – je gluh, nedostopen

STOPNJA KONDENZACIJE = STOPNJA SPIRALIZACIJE

- 2 nm, 11nm, 30 nm, 300 nm, 700 nm, 1400 nm
- stopnja je več kot 5000- kratna

KROMOSOMSKO OGRODJE IN KROMOSOM

KROMOSOM: maksimalno spiraliziran kromatin prisoten med delitvijo

- kromosomski teritoriji v jedru: kromatin 6 in 3 – pomembno je kje se nahaja in kako je dostopen
- krožna DNA v mitohondrijih ima prav tako stopnje spiralizacije (vendar manj kot jedrna DNA) – nima histonov – iz superspiraliziranega kromosoma gre v krožno DNA in nato dobimo superspiralo

HETEROKROMATIN IN EVKROMATIN

- dve različni stanji
- evkromatin je manj spiraliziran odsek v interfaznem jedru, heterokromatin bolj in je v tesni povezavi z notranjo jedrsko ovojnico
- EVKROMATIN se nahaja v delih kromosomov, kjer je mnogo genov

je kondenziran v zanke 30 nm fibril

od področij heterokromatina je ločen s t.i. izolatorji.

Izolatorske zanke se nahajajo v bližini jedrnega pornega kompleksa.

- HETEROKROMATIN: je lokaliziran v centromerni (pritrajajo se niti delitvenega vretena) in telomerni (na koncu) regiji ter v vmesnih predelih (transpozoni in povezovalna DNA)
- Je močno kondenziran (spiraliziran)
- Podvojuje se v pozni S fazi interfaze
- Ima omejeno sposobnost crossing over-ja

VRSTE HETEROKROMATINA:

- Konstitutivni – prisoten v vseh celicah, v vseh obdobjih življenja celice, vedno prepisno zavrt predel kromatin, ima pozicijski učinek (mora biti na določenem mestu), lega: centromerna, na posameznih predelih kromosoma, distalni kraj
- Ne vsebuje genov, ali izjemoma posamezne gene in ponavljajoča zaporedja

- Centromerni – humani – heterokromatin

Iz 170 nukleotidov, ki se ponavljajo (alfa satelitna DNA)

Tandemne ponovitve: od 2000 – 30 000-krat na centromero.

- Fakultativni – občasno prisoten

SKLERODERMA – avtoimuno obolenje

- protitelesa, ki prepoznavajo proteine v heterokromatski centromerni regiji
- obolenje veziva z depoziti kolagena v koži in stenah žil
- unačilen izgled pacientov v področju ust
- specifična protitelesa prepoznavajo centromerne proteine na kromosomih

FAKULTATIVNI HETEROKROMATIN:

- samo pri ženskah : en x je v jedru despiraliziran, en x je fakultativni heterokromatin, je maksimalno spiraliziran in se nahaja ob notranji jedrni ovojnici (Barrovo telo) – je neaktiven. Pri moških je x vedno aktiven.
- CpGmet – metilirani citozini v CpG otokih
- AcH – acetilirani histoni (veliko ga je v evkromatinu)
- Met H3 – metilirani H3

Evkromatin je lahko prepisno aktiven, heterokromatin pa je transkripcijsko neaktiven.

2. SEMESTER

2007-02-13

- Cell Biology and genetics (Neil Lamb)
- Basic concepts in medical genetics

CELIČNI CIKLUS in CELIČNA SMRT

PREHOD IZ M-FAZE V A FAZO – pobeg iz metafaze in s tem tudi mitoze – je največja kontrolna točka – tukaj celica največkrat greši.

- V **G2 fazi** je kromosom iz 2 kromatid, povezanih s kohezini po vsej dolžini, kar je pomembno za nastanek S-faze in more obstajati vse do metafaze. Kohezine ločijo (cepijo) **SEPARAZE**, na 2 pola. **APC (anafazni promocijski kompleks)** postane aktiven pri prehodu iz metafaze v anafazo in začne postopek ločevanja sestrskih kromatid (**ubinkvitacija**).

TELOFAZA

M-fazni kompleks naprej od metafaze ni več aktiven – **padec aktivnosti M-faznega kompleksa**. Posledice so: ni več fosforilacije, dogodki potekajo v nasprotnem smislu kot v profazi.

Obratno zaporedje dogodkov kakor v profazi pomeni:

- set hčerinskih kromosomov (kromatidni kromosomi) prispe na pol (defosforilacija v kromatinu)
- oblikovanje jedrne ovojnice okrog kromosomov.
- oblikovanje kontraktilnega obroča

Vzroki:

- prekinitev učinkov na substrate v M-fazi.
- aktivacija specifičnega seta mikrotubulov in proteinov, ki delujejo v citokinezi.
- defosforilacija kromatina in defosforilacija laminov.

NERAZDVAJANJE – ZAUSTAVITEV V METAFAZI

- neparalelno pripet kromosom
- na kinetohornem mestu se sproščajo Mad2 proteini in povzročijo zaustavitev (npr. ena kromatida se ne pritrdi na niti delitvenega vretena) v mitozii
- posledice nerazdvajanja kromosomov: Downov sindrom (Mongoloidne osebe)

CELIČNI CIKLUS

- zagotovi 2 hčerinski celici
- v primeru napake v poteku zagotavlja:
 - a) popravilo
 - b) odstranitev celice (celična smrt) – prepreči prenos na potomce
 - c) ne omogoča popravila napake – celični ciklus se nadaljuje

CELIČNA SMRT

- vstop v celično smrt iz vseh stop kontrolnih točk

Vzrok: ustavitev celičnega ciklusa zaradi nezmožnosti popraviti napako

Posledica: odstranitev celice, preprečitev prenosa napake naprej v novo generacijo celic

2 vrsti celične smrti: **APOPTOZA** in **NEKROZA** ter **MITOTSKA SMRT**.

NEKROZA

- poškodbeno pogojena
- ni genetsko vodena
- litični propad celic
- razgradnja celic in tkiv
- izzove vnetni odgovor

APOPTOZA

- pogojena razvojno ali z dražljaji iz okolja
- genetsko pogojena – vedno teče na enak način - programirana smrt
- celica razpade na z membrano obdane koščke, ki vsebine ne sproščajo v okolje
- ne izzove vnetnega odgovora (ni povišane temperature ipd.)
- poteka zelo hitro (težka razdelitev)
- pomembna med razvojem tkiv in organov

Morfološki potek apoptoze:

- spremembe v sestavi membran
- spremenjen transport ionov
- delovanje **kaspaz** (proteaze), ki cepijo razne substrate – kontrolirana razgradnja
- razpad celičnih sestavin, vendar se le-te ne sproščajo v okolje
- nastanek z membrano obdanih **apoptotskih teles**
- fragmentacija celice
- odstranitev celice

a) APOPTOZA V CELICAH, KI SE DELIJO

b) APOPTOZA V CELICAH, KI SO PRETEŽNO V G1 ALI V G0 FAZI

- V človeškem organizmu vsak dan z apoptozo odmre cca. 10 milijard celic.
- Apoptoza mora biti blokirana v mišičnih in živčnih celicah – celice ne smejo propadati.
- Zaviranje apoptoze povzroči nastanek tumorjev, avtoimunske bolezni.
- Povečana stopnja apoptoze omogoča različna nevrodegenerirana obolenja.

Vzroki, ki izzovejo apoptozo:

- razvojno pogojena
- vplivi iz okolja (npr. sevanje, UV...)
- DNA poškodbe (STOP) točke in vstop v anafazo
- virusne infekcije
- pomanjkanje (ali višek – celice se stalno delijo) rastnih faktorjev
- izguba povezav celica – ekstracelularni matriks

Mitogeni rastni faktorji, ki delujejo preko Mik proteina tako, da aktivirajo p53 protein – postane stabilen.

Neprestano delovanje mitogenov povzroči razgradnjo p53 proteina – ta vključi gene, lahko se ustavi celični ciklus ali pa se vključi apoptoza

APOPTOZA, GENI, PROTEINI

a) ANTIAPOPTOTSKI ali PREŽIVETVENI GENI:

- Bcl2 družina

b) PROAPOPTOTSKI GENI ali GENI SMRTI:

- Bax, Bad, Bid...

KASPAZE:

- citosolne aspartatne proteaze
- delujejo bodisi kot neaktivne ali pro-kaspaze bodisi kot aktivne kaspaze
- ločimo iniciatorske in efektorske kaspaze
- cepijo zelo različne proteine v celicah

Aktivacija kaspaz:

- prenos sporočil iz iniciatorskih na efektorske kaspaze
- C8 ali C9 aktivirajo podrejene kaspaze po verižni reakciji C3, C7...

SUBSTRATI KASPAZ:

- AKTIN
- GELSOLIN
- KERATINI
- LAMINI
- snRNP
- ciklin

EFEKTROSKE KASPAZE:

Prokaspaze 8 ali 9 aktivirajo:

- C7 – skrčitev citoplazme
- C6 – razpad lamina
- C3 – fragmentacija DNA in jedra
- oblikovanje apoptoskih teles
- C7 – PARP inhibicijo DNA obnove

DOMENA SMRTI: citosolna stran, na njo se vežejo adapterski proteini, ki omogočajo aktivacijo kaspaz

RECEPTORJI SMRTI:

- trimerizacija receptorjev
- vezava liganda
- vezava prokaspaz preko adapterskih proteinov na citosolni domeni
- primer receptorja – *FAS* protein

AKTIVACIJA KASPAZ – INTRINZIČNA POT

Proapoptotški proteini se premaknejo v citosolno stran in se vgradijo v membrano mitohondrija – v njej nastanejo pore, skozi katere prehaja CITOHRON C, ki se veže na adapterski protein, kar omogoči aktivacijo kaspaz 9.

EKSTRINZIČNA POT:

Različni ligandi trimerizirajo

USODA APOPTOTSKIH TELES:

- Cd51 protein – preko tega se prepoznavajo celice

- izločitev iz telesa ali
- fagocitoza – profesionalna (makrofagi)
- neprofesionalna (sosednje celice)
- brstenje celice – fragmentacija
- fragmenti so obdani z membrano in lahko vsebujejo koščke jedra

2007-02-16

prof. Veranič

KROMOSOMSKE NEPRAVILNOSTI

pogoste v citogenetiki – posledice so spontani splavi

MUTACIJE:

TOČKOVNE – v okviru posameznega gena

KROMOSOMSKE – avtosomni in spolni kromoosmi

Numerične: **poliploidija** (evploidija) – tetraploidija, triploidija, **aneuploidija** - monosomija, trisomija

Strukturne: (prelom in ponovno združenje) a) kromatidne (S in G2 faza)

- c) kromosomske (G0 ali G1 faza): 1. intrakromosomske (enojni prelom, dvojni prelom – delecija, duplikacija)
- 2. interkromosomske (translokacija)

IZOKROMOSOM: kromosom, ki nastane zaradi preloma – dobimo 2 kromosoma, sestavljena iz 2 daljših (q) ali 2 krajših (p) krakov – ne spojijo se pravi konci. Posledica preloma na x kromosomu – Kartengerjev sindrom (sterilnost...).

DELEC IJA: poznamo 2 vrsti: a) intersticijsko ali b) terminalno

nastopi lahko eden ali dva preloma

- a) zvijanje niti, prosta konca se zlepita med seboj
- b) del kromosoma se ne spoji z drugim prostim koncem

DUPLIKAC IJA: v okviru kromosomov so redkejše

- mora priti do dveh prelomov
- na eni kromatidi dobimo duplikacijo, na drugi pa delecijo

INVERZIJA: dva preloma (nekje v sredini) – kos se obrne okrog in se spoji s prostimi konci – nepravilna spojitev

KROŽNI KROMOSOM: nastane, ker se telomerne regije odcepijo – vsak prosti konec kromosomov se rad spoji z drugim koncem kromosomov

- lahko se normalno prenaša po celici
- sindrom značilen pri tvorbi krožnega kromosoma: sindrom mačjih oči: zenice imajo ovalno obliko

RECIPROČNA TRANSLOKAC IJA:

- na 2 homolognih kromosih pride do preloma in izmenjave dednega materiala
- derivativni kromosomi – ime dobijo po tistem kromosomu, ki ima centromerno regijo – spremenjen kromosom

ROBERTSONOVA TRANSLOKACIJA: 2 kromosoma morata biti koncentrična – na kratkem koncu so zapisi za RNA; ti zapisi so več ali manj enaki; spojita se 2 q kraka, 2 p kraka pa odpadeta – ni nobenih sprememb

POSLEDICE RECIPROČNE TRANSLOKACIJE:

- genom, ki je uravnotežen – geni pa niso razporejeni na pravih kromosomih; 2 translocirana kromosoma, in 2 iz druge gamete; taka oseba ne kaže nobenih fenotipskih sprememb, do težav pa pride v mejozi, ker se v profazi združijo vse homologne regije kromosomov – nastanejo križne strukture, sestavljene iz 4 kromosomov, problem pa nastane, ko se začnejo kromosomi ločevati (8 možnosti – 16 polgamet)

POSLEDICE ROBERTSONOVE TRANSLOKACIJE:

- dobimo le 3 kromosome, ker sta se 2 združila in tako dobimo kromosom, ki nosi informacijo dveh prejšnjih kromosomov – dobimo osebo »translokacijski heterozigot« - oseba bo imela 45 kromosomov, vendar bo imela kljub temu celo dedno informacijo – trije kromosomi se bodo v 1. fazi mejotske delitve med seboj spojili
- potomci takšnega heterozigota, je večja možnost za pojav Downovega sindroma: 47 kromosomov, 21. kromosom je odveč – lahko pa tudi 46 kromosomov (Robertsonova translokacija)

ROBERTSONOVA TRANSLOKACIJA UDELEŽENA PRI UČLOVEČENJU?

velike opice (šimpanz, orangutan,,)

- 24 parov kromosomov, od tega 7 parov akrocentričnih avtosomov

človek:

- 23 parov kromosomov, od tega 5 parov akrocentričnih akrosomov
- pojav dodatnega metacentričnega kromosoma

2007-02-20

GEN

Gen je neko zaporedje na DNA, ki kodira protein.

Promotorska regija je področje, kamor RNA polimeraza sede, RNA pa začne prepisovati templetno stran in ji dodajati komplementarne baze.

Templetna veriga:

Kodirajoča veriga: enako zaporedje

POLOŽAJ GENOV NA DNA

Promotorji orientirajo DNA polimerazo.

GEN

- DNA segment – 75 nukleotidov do preko 2300 nukleotidov
- informacija se prepíše le iz ene polinukleotidne verige-templetne verige
- geni ležijo na obeh DNA polinukleotidnih verig
- izbiro templetne verige omogoča položaj pro

SESTAVA EVKARIONTSKEGA GENA (razcepljeni geni)

- kodirajoče zaporedje je sestavljeno iz nekaj fragmentov – eksoni in introni

- na začetku je promotorska regija (začetek prepisovanja – INICIACIJSKO MESTO), sledi neprevedeni del, nato pa START KODON, ki začne prvi del eksona, nato sledijo vmes introni, nato STOP KODON (konec informacije za protein), sledi območje neprevedenega dela, kjer je POLIADENILACIJSKI SIGNAL (mesto kjer se RNA odcepi), potem je konec prepisovanja ali TERMINACIJSKO PODROČJE.
- ko se začne sinteza RNA, se na 5' koncu prilepi KAPA (berz kape so tiste, ki se ne prevedejo v proteine)
- po dodatku kape se nadaljujejo prepis do terminacijskega področja
- na 3' koncu dobi dodatek poli A konca (služi za zaščito in pravilno usmerjanje RNA)

GEN – INTRON IN EKSON

ekson – intron – ekson

donorsko receptorsko zaporedje

1. začetek prepisa
2. dodatek kape
3. nadaljevnaje prepisovanja
4. dodatek poli A (po cepitvi z endonukleazo) na 3' – OH konec
5. izrezovanje in urejanje primarnega prepisa

EN GEN – 2 PRODUKTA

iz istega gena oz. primarnega materiala se lahko tvorita 2 ali več različnih proteinov
primer: protein KALCITONIN (ščitnica) – njemu soroden protein je CGRP (živčevje)

***CIS-TRANS TEST (gen=cistron)

- uporaba dveh mutacij in dveh homolognih DNA:

CIS položaj

TRANS položaj

- CISTRON je področje na dna, ki se lahko komplementira, kadar sta mutaciji v CIS položaju in se ne more komplementirati, kadar sta mutaciji v TRANS položaju.

****EN GEN – 2 PRODUKTA

*****2 MUTACIJI V TRANS POLOŽAJU

- mutacije v neprekrivajočih se eksonih se komplementirajo
- gen ni cistron

GEN

- geni imajo lahko več kakor en produkt (alternativna definicija gena: če je v celici določen produkt, potem je zanj v genomu gotovo tudi gen)
- vsi geni se ne izražajo v vseh celicah – tkivih – izraznost je odvisna od okolja in spola
- različne celice tvorijo različne gene; celica ima regulacijski sistem, ki odloča o tem, kateri geni se bodo izražali

VRSTE GENOV

1. geni ki kodirajo polipeptide (mRNA geni)
2. geni, ki kodirajo rRNA ali tRNA
3. genske družine:
 - preproste (vsi geni so enaki)
 - kompleksne (geni so podobni, imajo pa različne produkte)
4. psevdogeni – geni, ki so izgubili funkcijo
5. protoonkogeni, onkogeni
6. tumorsupresorski geni

Vrste kromosomov (3 tipi):

- metacentrični
- submetacentrični
- akrocentrični (majhen p krak)

Na p kraku se nahajajo ribosomalni geni. Ribosomalna RNA se nahaja v kompletu, kjer se nahajajo 3 rRNA molekule, ki oblikujejo manjšo in večjo podenoto.

GENSKE DRUŽINE

So skupine genov, ki nastanejo iz izvornega gena. Prihaja do podvojitve tega gena. Dobimo več kopij gena, osnovni gen pa ostane funkcionalen- kopije lahko mutirajo- dobimo različne produkte iz sorodnih genov- nastanek različnih proteinov.

Primer: hemoglobin je nastal iz mioglobina (po funkciji je podoben hemoglobinu- prenaša kisik); hemoglobin ima večjo kapaciteto za prenos kisika; še naprej se je razvijal- variante hemoglobina: alfa, beta hemoglobin.

Psevdogeni so geni ki so izgubili funkcijo- sposobnosti za prepisovanje; lahko pa se tudi RNA prepíše, a se nato ne more prevesti v protein oz. se prevede v protein, ki pa nato ni funkcionalen.

Primer: stari vretenčarji lahko tvorijo C vitamin (razen primatov) – gen za tvorbo C vitamina je pri vretenčarjih prisoten kot psevdogen (dobiti ga moramo z zelenjavo, sadjem).

Tumorsupresorski geni

Onkogen: gen, ki povzroči nastanek rakaste transformacije. Nastanejo iz normalnih cel. genov- protoonkogenov (nujno potrebni za delovanje organizma). sodelujejo pri regulaciji cikla s pomočjo rastnih faktorjev, receptorjev za rastne faktorje, prenašalnih informacijskih molekul,

KAKO NASTANE ONKOGEN?

1. retrovirus prenese modificiran proto onkogen v celico (v- src)
2. okužba z DNA virusom, ki v celico vnese gen za E6 protein (pRb)
3. točkovna mutacija protoonkogenega povzroči aktivnejši produkt (ras)
4. translokacija protoonkogenega v področje aktivnejšega promotorja (myc – Burkitt limfom)
5. recipročna translokacija povzroči združitev dveh protoonkogenov (Philadelphia kromosom)

MUTACIJA PROTOONKOGENA V ONKOGEN JE DOMINANTNA (potrebna je ena mutacija za izražanje).

TUMORSUPRESORSKI GENI (tumorski zaviralni geni)

1. ugotavljajo napake DNA (p53 – varuh genoma)
2. popravljajo poškodbe DNA (BRCA 1)
3. potek celičnega cikla (pRb – E2F)

Mutacije TSG so recesivne – potrebni sta 2 mutaciji za izgubo funkcije.

PREDSTAVITEV PRIMERA:

- starost 15 mesecev
- upočasnen razvoj otroka
- oftalmolog je potrdil RETINOBLASTOM: tumor očesa, ki se razvije v embrionalni retini iz celic retinoblastov. Večinoma se razvije pred 2. letom starosti.
- Dedna oblika retinoblastoma nastane zaradi mutacije gena Rb1 pri starših ali pri nastanku gamet, sporadična oblika pa zaradi mutacije v retinoblastih otroka.
- Pri dedni obliki obstaja verjetnost razvoja tumorja na drugem očesu ter drugje v telesu (osteosarkomi).
- ali je njegov retinoblastom genetsko pogojen – potek preiskave: kariotip krvnih celic pri Tonetu potrdi genetsko mutacijo 46 xy, del (13) (q 14) – delecija
- kromosomi njegovih staršev so potrdili normalen kariotip
- torej gre za delecijo Rb1 gena – dedna oblika

PETEK, manjka
TOREK, 27.02.2007

MOZAICIZEM – prisotnost dveh ali več genotipov v različnih celicah organizma

M-SOMATIČNI (v somatskih celicah) – v telesnih celicah med razvojem postzigotično – pomembno mesto in čas nastanka, v katerem tkivu in na katere kromosome se nanaša (vplivajo na izraznost)

M – GONADALNI (več populacij gamet) – med gametogenezo

VZROKI ZA MOZAICIZEM: mutacije

KROMOSOMSKI MOZAICIZEM

prisotnost različnih kariotipov v populaciji celic, ki izvirajo iz ene začetne somatske celice

ZARODNI MOZAICIZEM: pojav nastanka primarne mutacije postzigotično

- starši nosijo normalne somatske celice in mutirane, del zarodnih celic razvije mutirane spolne celice – posledica je, da imata lahko zdrava starša prizadete potomce (za gene, ki se izražajo avtosomno dominantno)

UNIPARENTALNA DISOMIJA – posledica nerazdvajanja v 2. mejotski delitvi
2 kromosoma prideta od istega starša

- lahko dobimo trisomatsko celico, disomatsko ali pa normalno celico

MENDELOVI ZAKONI

1. ZAKON O ENOTI DEDOVANJA – identična recipročnost hibridov?
2. ZAKON O LOČEVANJU ALELOV – nerazdvajanje in mozaicizem
3. **ZAKON O NAKLJUČNI IZBIRI ALELOV NA NEHOMOLOGNIH KROMOSOMIH**
aleli različnih genov, katerih lokusi ležijo na nehomolognih kromosomih, se v gamete razporejajo neodvisno. št. variant: 2^n $n=23$ – variabilnost!!
 - haploidni spermiji nosijo naključni izbor
 - Mendlovi zakoni veljajo za monogenske lastnosti (bolezni)
 - neodvisna segregacija – izbira nealelnih genov za brahidaktilijo (kratki prsti) in alkaptonurijo (manjkajo določeni encimi za razgradnjo metabolitov, posledično se kopiči v urinu fenilalanin in tirozin – rjavo obarvan – moten urin)
 - dokaz, da sta oba gena na ločenih DNA molekulah

VEZANO DEDOVANJE – neveljavnost 3. Mendlovega zakona

- neodvisna segregacija lokusov 1(1*) in 2(2*)... Mendel
- vezana segregacija lokusov 1(1*) in 3(3*) – ne velja 3. Mendlov zakon
- pri vezanem dedovanju je manjša variabilnost kakor v primeru veljavnosti 3. Mendlovega zakona

MIKROHIMERIZEM – osebe, ki nosijo dve ali več celičnih linij v telesu, ki izhajajo iz dveh različnih zigot

Vzrok za nastanek:

- nosečnost – obstoj fetalnih celic v telesu matere in materinih v telesu potomca
- transfuzija krvi
- dvojčki
- transplantacije organov
- spolno občevanje

Problem: možnost izražanja tujega genotipa in zavrnitvenega procesa, (avtoimunske bolezni).

VRSTE DEDOVANJ

MENDELSKO

- monogeno s popolno dominanco ali recesivnostjo
- mnogo odstopanj

AVTOSOMNO DEDOVANJE – dedovanje na avtosomih: dominantno ali recesivno

SPOLNO VEZANO DEDOVANJE – delovanje na spolnih kromosomih:

- po x kromosomu: dominantno ali recesivno
- po y kromosomu (Holandrično)

NEMENDLSKI

MULTIFAKTORSKO in POLIGENSKO

IZVENKROMOSOMKO ali MATERINSKO ali MITOHONDRIJSKO DEDOVANJE – dedovanje lastnosti, ki so zapisane na mitohondrijski DNA

AVTOSOMNO DOMINANTNO DEDOVANJE

- npr. pege, jamice v ličnicah, poraščenost
- dominanten gen se fenotipsko izraža v homozigotnem in heterozigotnem stanju - **DD / Dd**
- eden od staršev je prizadet
- veljata 1. in 2. Mendlov zakon

Zakoničnosti:

- prizadeti starši lahko imajo zdrave potomce
- prizadete osebe se pojavljajo v 50% potomcev
- lastnosti se izražajo skoraj v vsaki generaciji
- značilna je anticipacija – večja moč izražanja v sledečih (mlajših) rodovih; gen (lastnost) se izraža v vsaki naslednji generaciji prej in z večjo jakostjo
- odstotek prizadetih glede na spol je enak
- značilen je vertikalni prenos lastnosti v rodovniku (prizadeti starši imajo prizadete potomce)
- neprizadeti družinski člani imajo običajno neprizadete starše in normalne otroke (razen če gre za novo mutacijo)
- prizadeti družinski člani imajo običajno neprizadete partnerje, potomci so neprizadeti in prizadeti (1:1)
- dominantni homozigoti so relativno redki (če sta oba starša heterozigota)
- ni fenotipske razlike med dominantnimi homozigoti in heterozigoti (ni prenašalcev)
- pogoste so nove mutacije

ANTICIPACIJA

primer: širitev nestabilnih tripletnih ponovitev (CAG)

- gen, ki je odgovoren za pojav bolezni izraža ti. trinukleotidne ponovitve CAG
- ponovitve se večajo s starostjo (prag izraznosti je nad 36 ponovitev)

Bolezni za katere je značilna anticipacija:

- **HUNTINGTONOVA BOLEZEN:** avtosomna dominantna bolezen, ki se izraža progresivno s starostjo kot nevrodegenerativne spremembe v začetku z blagimi kognitivnimi simptomi in težavami v gibanju. Gre za degeneracijo bazalnih ganglijev v možganih.
- **MIOTONIČNA DISTROFIJA:** avtosomni dominantno dedovani sindrom, izraža se v nesposobnosti mišic, da se po kontrakciji sprostijo – relaksirajo

- polidaktilija (več prstov), pritlikavost

DRUŽINSKA HIPERHOLESTEROLEMIJA:

Dg.: ishemična srčna obolenja, visok nivo LDL (holesterol), pomanjkanje LDL receptorjev

Pg.: prezgodnja smrt zaradi ishemije srca

G.: avtosomno dominantno obolenje zaradi mutacije receptorja za LDL

Obstajajo 4 vrste mutacij gena za LDL receptor: sinteza, prenos ER → GA, vezava LDL, internalizacija.

LEIDENSKA MUTACIJA

- pomanjkanje faktorja 5.
- hiperkoagulativna stanja in rizik razvoja venskih tromboz
- pretvorba fibrinogena v krvni strdek
- spremenjena izraznost v 50%

AVTOSOMNA LETALNA DOMINANTNOST

- postzigotična somatična mutacija omogoča preživetje odraslim osebam
- mutacija v vseh somatičnih celicah je letalna
- če se pojavi mutacija v gametogenezi osebki umrejo, zato se ne deduje
- gre za mutacijo G proteina, ki ji sledi maligna rast
- primer: Mc Cune Albrightov sindrom

AVTOSOMNO DOMINANTNO DEDOVANJE

- celičnomolekularne osnove dominantnosti

- V večini gre za gene, ki določajo pomembne strukturne proteine v celicah, katerih mutacija se izrazi v okvari celičnih struktur in funkcij, četudi ne-mutirani alel proizvaja znatno količino normalnega proteina.

Primeri: ahondroplazija (pritlikavost)
porfirija (metabolno obolenje)

RECESIVNO: ravno čelo, zaokrožena brada, nedlakavost

2007-03-06

SPOLNO VEZANO DEDOVANJE

Bolezen je lahko genska (dedna), vendar ni nujno dedovana. Lastnosti so dedne, vendar ne vedno dedovane.

SPOLNI KROMOSOMI nosijo: gene, ki določajo spol in gene, ki z določitvijo spola nimajo zveze.

SPOLNO VEZANA DEDOVANJA:

X kromosom (4000 genov)

X spolno vezano – recesivno ali dominantno

Y kromosom (nekaj genov)

Y spolno vezano ali HOLANDRIČNO

RECESIVNO X VEZANO DEDOVANJE:

- X^hX^h homozigotnost – se izrazi
- X^hX^H heterozigotnost – se ne izrazi; prenašalka
- X^hy hemizigotnost – se izraža
- veljajo Mendlovi zakoni
- verjetnost izražanja lastnosti je večja pri moških kakor pri ženskah (recesivnost žensk in hemizigotnost pri moškem pomeni izraznost)
- prizadet moški prenaša lastnost preko hčera na polovico svojih vnukov – fantov
- dedovanje ne poteka nikoli direktno iz očeta na sina
- nosilci – prenašalci imajo spremenjeno izraznost – ekspresivnost
- lastnost (bolezen) se torej prenaša preko prenašalcev (ženske), ki so običajno asimptomatične
- če je mati prenašalka, je 50% verjetnosti, da bodo hčerke prenašalke in 50%, da bodo sinovi prizadeti
- sinovi prizadetih očetov niso nikoli prizadeti

- BARRovo telo pri ženski (količina izražene dedne informacije na x je pri moškem in ženski enaka)

Pojav: ALELNA INAKTIVACIJA ali LIONIZACIJA

DEDNE EPIGENSKE SPREMEMBE

Spremembe v vzrocu (načinu) genskega izražanja (ekspresije) kjer ni vzrok zanje sprememba v DNA zaporedju.

Tovrstne dedne spremembe se odražajo v » celičnem spominu« med normalnim

INAKTIVIRANI X

št. X kromosomov – 1 = št. Barrovih telesc

KLONSKA INAKTIVACIJA X KROMOSOMA

- naključna inaktivacija x kromosoma

HEMOFILIJA: po poškodbi bi se moral fibrinogen pretvoriti v fibrinski strdek; mutacije gena za faktor 8 (hemofilija a) ali mutacija gena za faktor 9 (hemofilija b).

Možnosti genotipov in križanj:

- p (prenašalka), n (normalen), h (hemofilik)
- $X^H X^h$ **p** $X^h y$ **n**
- $X^h X^h$ **h** $X^h y$ **n**
- $X^H X^H$ **n** $X^h y$ **h**
- $X^H X^h$ **p** $X^h y$ **h**

DI-George hemofilija – analiza restrikcijskih fragmentov omogoča test in tako lahko ugotovimo kdo je prenašalec mutiranega gena.

Za recesivno spolno vezano dedovanje je značilen nastanek novih mutacij.

Različni pripeljejo do istega tipa bolezni (oz. genotipa).

Primeri:

DUSCHENN-ova in BECKER-jeva MIŠIČNA DISTROFIJA:

sindrom pomanjkanja glukoze-6-fosfat dehidrogenaze (G6PD)

motorične težave, slabenje mišične moči, povišan serumski nivo mišične kreatin kinaze (ki se sprošča iz poškodovanega tkiva); odsotnost distrofina pod membrano mišičnih fibril, umiranje mišičnih fibril.

- bolezen je posledica mutacije v distrofinskem genu na Xp21.1. – gre v večini za delecijo tega gena.
- prizadete so mišice, ki degenerirajo
- v 2/3 gre za nove mutacije
- Teoretično obstoji še možnost, da je mati gonadalni mozaik.

POMANJKANJE PIRUVAT DEHIDROGENAZE (PDH)

- respiratorne težave, podhranjenost, ni shodila do 18. meseca, ugotovljen povišan nivo laktatov v krvi, po biopsiji kože test pokaže znižan nivo PDH
- PD je med najbolj kompleksnimi encimi
- molekula je velikanka – večja kot ribosomo
- sodeluje v metabolizmu piruvata v mitohondrijih
- PDH je iz več podenot sestavljen encim. $\alpha 1$ podenoto tega kodira X kromosom.
- PDH lahko povzroča mentalno zaostalost zaradi prizadetosti možgan.
- Encim lahko ugotovimo z encimskim testom v kulturi fibroblastov iz biopsije kože.
- KLONALNA INAKTIVACIJA X pa povzroča težave pri interpretaciji rezultatov tega testa. Obstoji verjetnost, da vsi fibroblasti v kulturi izhajajo iz ene ali nekaj prekursorskih celic. Torej lahko zgrešimo gen zaradi inaktivacije x kromosoma v teh celicah. Zato morami ugotoviti ali imamo opravka z dvema klonoma celic.
- UGOTAVLJANJE CELIČNIH KLONOV: izvor za bioptični material so lasne koreninice – te niso prav klonalnega izvora temveč se vsaka razvije iz zelo

malega števila celic – zato je mogoče ugotoviti bimodalno razporeditev nivoja encimov v prenašalcih.

INAKTIVACIJA ABNORMALNEGA X KROMOSOMA – sindrom imunske pomanjkljivosti

- preživijo le T celice z aktivnim normalnim x kromosomom

- BARVNA SLEPOTA
- LUSKAVICA

Ženska je lahko prizadeta v primeru x vezanega recesivnega dedovanja, kadar:

- je hči prizadetega moškega in matere prenašalke
- se inaktivira normalni x kromosom v ključnih celicah, kjer se gen izraža
- nastopi x / avtosomna translokacija (v tem primeru se translocirani gen na avtosomu vedno izraža)
- v primeru XO (Turnerjev sindrom)

SPOLNO X VEZANO DOMINANTNO DEDOVANJE

- moški prenašajo gen (lastnost) na svoje hčerke in ne na sinove
- heterozigotne ženske prenesejo gen na polovico svojih otrok
- žene so prizadete bolj pogosto kakor moški
- tovrstno dedovanje in obolenja so redka
- težko ga ločujemo od avtosomnega dominantnega dedovanja
- primer: HIPERTHROSIS (dlakavost po celem telesu)
- primer: Xg krvna skupina
- Rettov sindrom

Y VEZANO DEDOVANJE, HOLLANDRIČNO DEDOVANJE

y KROMOSOM:

- akrocentrični in najmanjši kromosom
- večji del genetsko enaktiven iz konstitutivnega heterokromatina (ponavljajoča nekodirajoča zaporedja)
- vsebuje malo genov, ki so zelo sorodni genom na x
- vsebuje nekaj genov specifičnih za y, ki soodločajo o diferenciaciji testisov
- ima psevdosomno regijo – majhen prel homologen x, ki vstopa med mejozo v rekombinacijo – ti geni edini ne kažejo spolno vezanega načina dedovanja na spolnih kromosomih
- y kromosom je Dna v našem genomu, ki je v 2n celicah v haploidnem stanju

Vse geni se dedujejo izključno po moški liniji.

09.03.2007 (prof. Jezernik) – urejeno!!!

POLIGENO IN MULTIFAKTORSKO DEDOVANJE

- nemendelsko dedovanje
- **poligeno:** dedovanje po mnogih genih na različnih lokusih (nehomologni geni)
- **multifaktorsko:** poligeno dedovanje, ki ga modificirajo faktorji iz okolja

- **fenokopija:** sprememba fenotipa zaradi dejavnikov iz okolja, ki razvije fenotip značilen za specifičen gen

POLIGENO DEDOVANJE

- se nanaša na bolezni, ki so posledica **aditivnih učinkov različnih genov**
- vsak od teh kot samostojen gen, ne bi povzročil bolezni. Vsak od sodelujočih genov ima največkrat različen vpliv.
- nekateri geni so nosilci odločilnega rizika za bolezen, prispevek ostalih pa je manjši in različen.

MENDELSKO	MULTIFAKTORSKO
vse ali nič	aditivno z več fenotipi (komplementarnost in suplementarnost)
če nosiš gen, izražaš znak (dominantnost)	izraznost nastopi nad določenim pragom
tveganje izražanja v življenju ne narašča	tveganje izražanja v življenju narašča

KOMPLEKSNO DEDOVANJE

- termin, ki se uporablja v primerih, kjer so bolezni lahko rezultat različnih vzrokov
- lahko je vzrok en sam gen, ki se deduje mendelsko
- ali pa gre za aditivne učinke različnih genov (poligeno)
- lahko je izzvano zaradi vplivov okolja (diete, infekcije) – npr. sladkorna bolezen
- ali je rezultat kombinacije več učinkov (multifaktorsko)

POJAVLJANJE BOLEZNI KOMPLEKSNEGA DEDOVANJA

- kompleksne bolezni se pogosteje pojavljajo med sorodniki v prvi liniji kakor med sorodniki v drugi liniji (tete, strici, stari starši, vnuki)
- pojavnost upada z oddaljenostjo sorodnosti
- verjetnost pojavljanja tovrstnih bolezni pri potomcih je večja, če gre za prizadetost več kakor enega družinskega člana
- **PRIMERI:** (poligeno dedovanje) barva oči, prstni odtis, krvni tlak, razcep neba in žrela (genomska mutacija), zajčja ustnica

ZAKONITOSTI POLIGENEGA / MULTIFAKTORSKEGA DEDOVANJA

- nemendelsko dedovanje
- množica nealelnih genov
- kumulativno dedovanje (kopičenje fenotipskih učinkov)
- vpliv okolja
- razporeditev znakov v populaciji je Gausova
- regresija in prag (če spočneta otroka velik moški in velika ženska, je otrok normalne rasti – ni zelo velik)
- značilno za kompleksne lastnosti (način hoje, barva oči...)
- **PRIMERI BOLEZNI:**
 - diabetes mellitus (insulinsko odvisen)
 - hipertenzija (52% odstotek dedovanja)
 - arteroskleroza
 - peptični ulcer (v želodcu)
 - shizofrenija (85%)
 - astma (80%)

IZVENKROMOSOMSKO ali MATERINSKO ali MITOHONDRIJSKO DEDOVANJE

ZNAČILNOSTI MITOHONDRIJSKE (MT) DNA:

- n (haploidnost, »poliploidnost«)
- en kromosom
- krožna

- specifičen kod
- v celoti informativna (nima praznih prostorov vmes, v celoti je gen)
- **ni popravljanja DNA okvar**
- spremenljiva v času (evolucijsko pomembna, pomembna v forinzi)

ZNAČILNOSTI DEDOVANJA:

- prenos informacije iz jedra v mitohondrij
- oploditev – vloga spermalne celice med oploditvijo in po oploditvi, celici se združita, spermij pa se razgradi (spermiji ne morejo prineset mitohondrijev v jajčno celico)
- moški ne prenašajo lastnosti na potomce
- moški in ženske so prizadeti enako pogosto
- vsi potomci prizadetih žensk so lahko prizadeti
- izražanje je odvisno od stopnje prizadetosti – števila in razporeditve mitohondrijev v hčerinskih celicah
- izražanje je progresivno s starostjo (odvisno od starosti)
- **PRIMER:** LHON (Leberjeva optična atrofija) – prizadetost vidnega živca
- **heteroplazmija** (koliko okvarjenih – v % - mitohondrijev se prenese)

2007-03-13

MULTIPLI ALELI ali POLIMORFNI GENI (aleli) ali GENSKI (alelni) POLIMORFIZEM

- geni (znaki) so prisotni v več variantah v populaciji
- če dve kopiji genov ali DNA segmentov v osebkju (vsaka podedovana od enega starša) lahko ločujemo (sta različni) sta ta dva zapisa različna alela
- kadar je na določenem genskem lokusu več alelov prisotnih v populaciji govorimo o polimorfnih genih – alelih. Vsak osebek nosi le dva alela na določenem lokusu.
- polimorfizem omogoča ločevanje med dvema kopijama kromosomskih regij

VRSTE POLIMORFIZMOV:

- sprememba posameznega nukleotida
- variacije v številu posameznih ponovitev
- različni aleli (genski segmenti ali geni)

KRVNE SKUPINE (=molekule na površinah eritrocitov) KOT GENETIČNI MARKERJI:

1. se vedno točno izražajo
2. niso pod vplivom faktorjev iz okolja
3. reakcija s serumom vedno dokazuje prisotnost antigena (izzovejo antigeni odgovor)
4. izražajo se neodvisno drug od drugega
5. so pomembne za določanje sorodstvenih zvez (očetovstvo, sodna praksa, kriminalistiki)

IZRAŽANJE (9. kromosomom; 1 gen s 3 aleli; Mendelsko dedovanje)

GENOTIP	FENOTIP
A0 in AA	A - dominantno
B0 in BB	B - dominantno
AB	AB - kodominantno
00	0 - recesivno

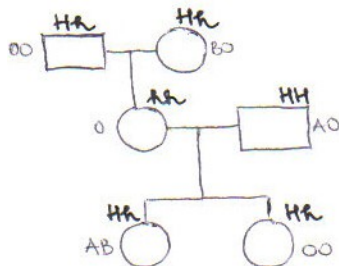
ABO ANTIGENI

skupina	A	B	AB	0
aglutinogeni	anti-B	anti-A	nima	anti-A in anti-B
antigen	A antigen	B antigen	A and B antigen	nima antigenov

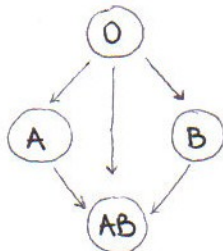
Transferaze v Golgijev aparatu dodajo terminalne sladkorje.

BOMBAY: krvne skupine določata osnova – H in gen I, ki določa terminalni sladkor!

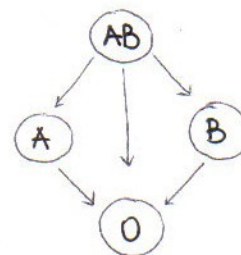
Bombay: H-dominantno



kompaktibilnost eritrocitov



kompaktibilnost krvne plazme

**Rh- ženska in Rh+ moški in njun Rh+ fetus**

Celice iz Rh+ fetusa prodirajo v krvni obtok ženske; senzibilizirana žena proizvaja protitelesa, ki napadejo Rh+ krvne celice; v naslednji Rh+ nosečnosti protitelesa napadejo krvne celice v fetusu.

MHC (= Major Histocompatibility Complex) POLIMORFIZEM

- najboljši primer za polimorfizem - najbolj polimorfni geni v človeškem telesu
- pri presaditvah organov povzročajo komplikacije
- produkti teh genov so MHC molekule (antigeni), ki so najbolj heterogena skupina molekul v našem telesu
- vsak osebek – celice – nosijo specifične antigene na plazmalemi
- ti geni (antigeni) določajo tkivno- celično histokompatibilnost ali ne-histokompatibilnost
- antigene na vseh somatskih celicah prepoznava T celice (limfociti) s svojimi receptorji

LIMFOIDNA CELICA

T celice (citotoksične, ubijalke, pomagalko)	B celice
dozorijo v timusu, tankem črevesu in v koži	dozorijo v kostnem mozgu
receptorji	plazmatka
T celice napadajo, izločajo citokine in aktivirajo B celice	sproščene iz tkiv dozorevajo v celice, ki izločajo protitelesa (proizvodnja protiteles)
CELIČNA IMUNOST	HUMORALNA IMUNOST

2 skupini MHC Genov: MHC II glikoprotein (na celicah, ki prezentirajo antigene) – iz alfa in beta verige (vmes je mesto, kjer celice predstavlja antigen), heterodimeren, 2 karboksilni skupini; MHC I glikoprotein (na vseh celicah beta 2 mikroglobulin)

- T-limfociti z receptorji ločujejo med telesu lastnimi in telesu tujimi antigeni
- T-limfociti »šolajo« lastne receptorje za prepoznavanje antigenov na MHC molekulah

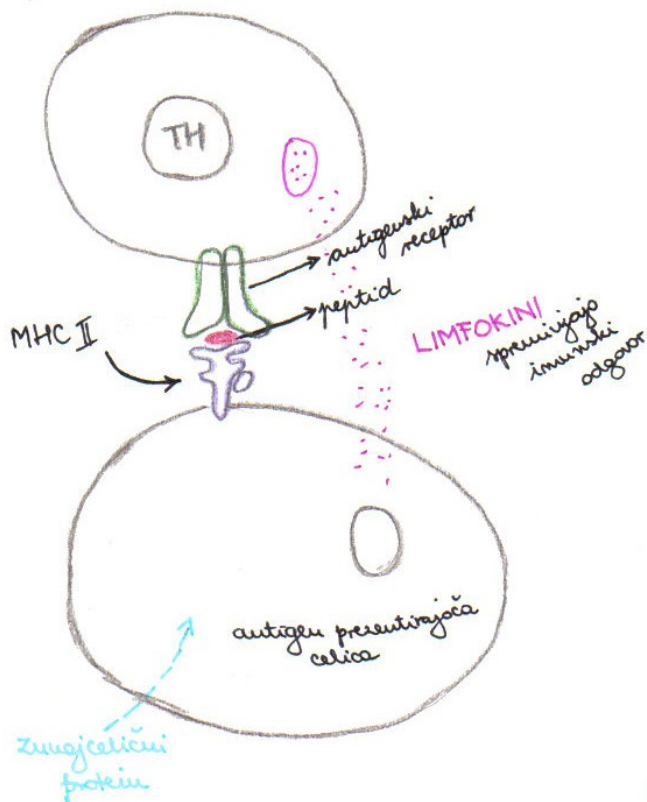
PREPOZNAVANJE TUJIH ANTIGENOV NA POVRŠINI ANTIGEN PREZENTIRAJOČIH CELIC (npr. dendritičnih celic, makrofagov ali B celic) MHC II antigen

SLIKA 1

PREPOZNAVANJE TUJIH ANTIGENOV INFICIRANI CELICI (MHC I antigen) slika 2

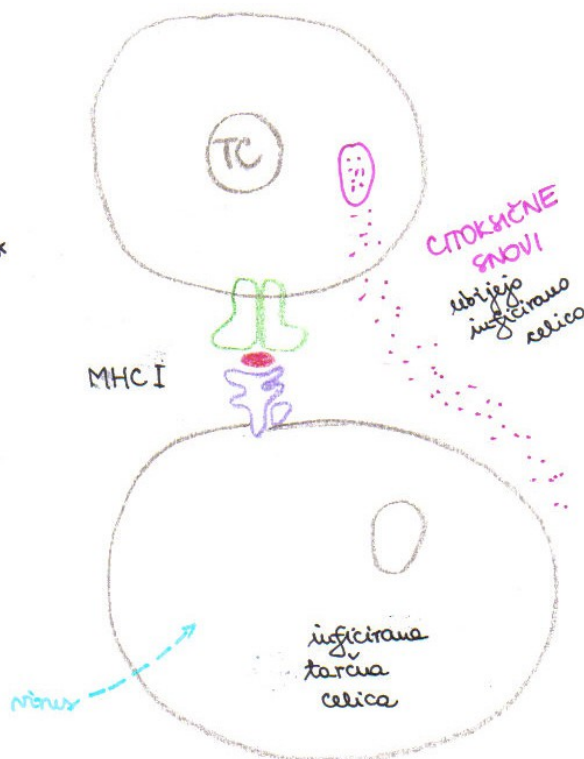
slika 1

TH – T celica pomagalka



slika 2

TC – citoksična T celica



16.03.2007

REKOMBINACIJA

20. marec 2007

NEKATERI PRIMERI DEDOVANJ

ROBERTSONOVA TRANSLOKACIJA (RT)

slika 1

RT je centralna fuzija dolgega kraka dveh akrocentričnih kromosomov 13,14,15, 21 ali 22. in sicer **heterologno** [npr. rob (14;21)] ali **homologno** [npr. znotraj para kromosomov rob (21;22)]. Nosilec RT je **translokacijski heterozigot**, ki nosi 45 kromosomov.

Konkreten primer: Prisoten je Robertsov translocirani kromosom sestavljen iz dolgih krakov kromosomov 13 in 15. Torej je bila vsaka celica disomatična za kromosom 15 in disomatična za kromosom 13.

Če je nosilec translokacije 13/15 oče, gre za **Patau sindrom** ali **trisomijo 13**.

VZROKI:

- RT ključuje 3 namesto 4 kromosome (**translokacija** je lahko vzrok tudi za Downov sindrom)
- lahko je vzrok v **oogenezi**
- del gamet je **aneuploidnih**

- lahko je povzročena med **spermatogenezo**, kar povzroči zmanjšano število spermijev (zaradi nerazdvajanja med mejozo)

V primeru ponovne nosečnosti lahko obstaja verjetnost velikega števila kromosomsko neuravnoteženih gamet, kar predstavlja velik rizik za trisomijo 13. Izgleda da poteka neke vrste selekcija v mejozi proti nebalansirani segregaciji, predvsem v spermatogenezi pri moških.

RT doprinese 5% Downovih sindromov (trisomija 21. kromosoma – 21, 14/21)

Rob (13; 14) v 40 % med vsemi uravnoteženimi RT

Posledice: zastoj v rasti, polidaktilija

MIKRODELECIJA

SLIKA 2

mikrodelecija 22q11 je vzrok za sindrom Di George – manjka timus, prisotne so srčne okvare, hipokalemija, spremenjen videz obraza
normalen kariotip

- mikrodelecij ni mogoče izslediti z običajno citogenetsko analizo (premajhan ločljivost)
- vloga te mikrodelecije ni znana, prizadene pa razvoj živčnih celic
- ta prognoza ne omogoča preživetja oseb čez 1 leto
- delecija je nastala na novo, starši niso nosilci
- obstaja verjetnost, da je eden od staršev mozaik za to delecijo
- verjetnost za drugega otroka s to okvaro je 1%

AHONDROPLAZIJA

slika 3

- kratka ramena in roke, prominenten obraz = klinični dokazi
- to je displazija skeleta in se pojavlja med 1 na 10000 ali 50000 rojstev
- je avtosomna dominantna okvara
- gre za mutacijo glicina v argini na AK 380 v fibroblastnem receptorju za rastni faktor, za to je odločilen gen 3 na kromosomu 4p16.3.
- V 80% gre za novo mutacijo. Obstaja povečan rizik pojava ahondroplazije s starostjo očeta (povečan rizik mutacij med spermatogenezo)
- diagnoza je potrjena z DNA testom iz krvnega vzroca na prisotnost mutacije v FGFR3 genu
- mutacija je bila v heterozigotnem stanju

HEMOFILIJA

SLIKA 4

Hemofilija A je x vezana recesivna bolezen

Mutiran gen za faktor VIII (F8C)

50% verjetnosti je, da sta Sara in Julija prenašalki hemofilije.

VEZNAO DEDOVANJE lokusov na isti DNA

npr. CA ponavljanja v intronu 13 v velikem genu F8C (znotraj genski polimorfizem)

ta ima za posledico postavitev diagnoze na osnovi vezanega dedovanja, kajti verjetnost rekombinacije med poimorfnimi zapisi z rekombinacijo je minimalna.

za vezano dedovanje ne velja 3. Mendlovo pravilo

d... abnormalni F8C gen

Sara je torej prenašalka, saj je podedovala d alel od mame.

GENI, KI KODIRAJO IMUNOGLOBULINE

- so sposobni graditi katerokoli strukturo v našem telesu
- celična (varuje pred vdorom tujkov v telo – limfociti jih fagocitirajo, makrofagi prepoznajo tujek in ga uničijo) in humoralna imunost (proizvodnja protiteles – imunoglobulinov –

prepoznajo tuj antigen). Limfociti (T celice– dozoriyo v timusu in B celice - dozoriyo v kostnem mozgu)

B limfocit: razvije se v plazmatki, ki je sposobna proizvest imunoglobulinske molekule. Imunoglobulini so lahko vezani na površino celice ali pa so sploščeni in krožijo po telesu. Imunoglobulinska molekula: simetričen dimer (slika 5)
variabilni del je spremenljiv.. hipervariabilni segment

y globulini – za osnovno celično imunost

2007-03-23

IMUNOGLOBULIN

PROTITELO Fc SEGMENT

Ig A	alfa
Ig D	delta
Ig E	eta
Ig G	gama
Ig M	ni

težka veriga = H

lahki verigi (lambda in kapa)

VARIABILNI GENSKI SEGMENTI ZA LAHKI IN TEŽKO VERIGO Ig
SLIKA 1

VARIABILNI SEGMENTI ZA KAPA / LAMBDA VERIGO IN ZA TEŽKO VERIGO
SLIKA 2

Geni za V lambda, V_{kapa} V_H ležijo na treh različnih kromosomih. Variabilni geni so mnogoštevilni in različni. Variabilni Geni so oddaljeni od svojih konstantnih genov na istih DNA molekulah.

OBLIKOVANJE FUNKCIONALNE PREPISNE ENOTE

IZHIODIŠČE = zarodna DNA

DOGODEK = rekombinacija - zruževnaje ustreznih DNA segmentov

PREPIS = FUNKCIONALNA PREPISNA ENOTA

DNA ---- hRNA

(iz hRNA puščica dol) urejanje

mRNA

IgG gen

ZAGOTAVLJANJE PRAVEGA POLOŽAJA SEGMENTOV MED REKOMBINACIJO – ZA
TEŽKO VERIGO

prepoznavna zaporedja – lokalizacija

povezujejo se določeni segmenti med seboj

slika 3

ČASOVNI POTEK REKOMBINACIJE

SLIKA 4

1. DX JHX DX

ALTERNATIVNA PRELOMNA MESTA MED REKOMBINACIJO

SLIKA 5

veča variabilnost

ZAGOTAVLJANJE PRAVEGA BRALNEGA OKVIRJA V PRELOMNIH MESTIH – preprečevanje nastanka STOP KODONA

- adicije in delecije baz (N)na prelomnih mestih
- slika 6

ČAS REKOMBINACIJE

plazmatka – razvojno IgM

pred interakcijo z antigenom preklop

-sinteza 2 vrst Ig

B CELICE V RAZVOJU

- sinteza ene vrste Ig

slika 7

PREKLOP NA SINTEZO DVEH VRST PROTITELES

- IgM in IgD

DNA pred vdorom antigena

slika 8

NASTANEK FUNKCIONALNE TRANSKRIPCijske ENOTE PO VDORU ANTIGENA

slika 9

VZROKI HIPERVARIABILNOSTI Ig MOLEKUL

GENSKA KNJIŽICA ŠT. SEGMENTOV

Vh večje od 100

JH približno 4

DH

MEMBRANSKO VEZANI ALI SEKRECIJSKI IMUNOGLOBULINI

S – sekrecijski konec – hidrofilne AK

M – membranski konec- hidrofobne AK

SLIKA 10

ALELNO IZKLJUČEVANJE

SLIKA 11

GENSKI VZROKI RAZNOLIKOSTI

- različne vrste konstantnih delov težke verige genov
- veliko število variabilnih genov
- veliko število genskih segmentov
- somatična rekombinacija
- somatične variacije zaradi nestalnih rekombinacijskih mest
- somatične MUTACIJE

3. april 2007 (z Nevo zamudile – dodaj!)

MIGRACIJA KLIČNIH CELIC IN PROLIFERACIJA MED RAZVOJEM

BMP4 IZ EKSTRAEMBRIONALNEGA EKTODERMA



EPIBLAST → PRIMITIVNA PROGA → ALANTOIS → ZADNJE ČREVO → UROGENITALNI GREBEN → ROJSTVO

MOŠKE (XY) KLIČNE CELICE: MITOZA → USTAVITEV V GO → ROJSTVO
mejotski inhibitorni faktor

ŽENSKÉ (XX) KLIČNE CELICE: MITOZA → MEJOZA → ROJSTVO

IZRAŽANJE GENOV MED MIGRACIJO

Pod vplivom faktorja **BMP4** se izražata dva gena, ki imata pomembno vlogo med migracijo in sicer:

- **FRAGILIS**: epiblast, baza alantoisa (ko se to prepisovanje preneha, se začne prepisovanje gena stella); fragilis je transmembranski protein; transdukcija antiproliferativnih signalov in vloga pri adheziji – združevanje kličnih celic na bazi alantoisa
- **STELLA**: alanois, genitalni greben; ima vlogo proteina v RNA procesiranju in modifikaciji kromatina – vzdrževanje pluripotentnega stanja migrirajočih primordialnih kličnih celic, utišanje transkripcije genov specifičnih za somatske celice

GENSKA KONTROLA PROLIFERACIJE IN MIGRACIJE

- **White spotting (W)**: gen, ki kodira transmembranski receptor **Kit** na migrirajočih celicah
- **Steel**: gen, ki kodira **Steel protein** – ligand na celicah vzdolž poti
- pomembno vlogo ima še **fibronektin**, ki transira pot do genitalnega grebena

POMEN MEJOZE

1. redukcija števila kromosomov
2. vzpostavitev pogojev za določitev spola
3. naključna razporeditev očetovih in materinih homologov (omogoča variabilnost)
4. prekrížanje – rekombinacija (omogoča variabilnost)

SPERMATOGENEZA

- spermiji nastajajo v semenskih cevkah
- v eni semenski cevki se proizvede od 100-150 milijonov spermijev

XY PRIMORDIALNE KLIČNE CELICE (PGC)

- migracija v genitalni greben
- naselitev spolnih vrvic s PGC
- izvotlitev spolnih vrvic in nastanek semenskih cevk
- iz semenskih cevk nastanejo Sertolijeve celice (prehrambena in zaščitna vloga, izločajo pa tudi številne faktorje)
- delitev PGC in nastanek A1 spermatogonijev
- nastanek celospolne zrelosti

VLOGA BMP8b

- ta faktor se začne sintetizirati s spolno zrelostjo
- sinteza v spermatogonijih
- rekulacija začetka spermatogeneze med puberteto
- visok nivo BMP8b je nujen za diferenciacijo spermatogonijev
- odsotnost BMP8b ni spermatogeneza

POVEZAVA MED SPERMATOGONIJI IN SERTOLIJEVIMI CELICAMI

- N-kadherini na površini obeh celic
- glikozilarnsferaza na spermatogonijih in receptor s sladkorjem na Sertolijevih celicah
- razvoj od spermatogonijev do spermijev poteka v zajedah med Sertolijevimi celicami
- Sertolijeve celice so močno nagubane, v gubah nastajajo spermatogoniji

FAZE SPERMATOGENEZE:

1. pomnožitev spermatogonijev
2. obdobje mejotskih delitev
3. spermiogeneza

- V spermatogenezi so pomembne intersticijske celice, ki se nahajajo med semenskimi kanalčki (ne pa v njih). Najpomembnejša je **Leidigova celica**, ker izloča testosteron.
- Sertolijeve celice segajo vse od baze pa do lumna
- Bolj se pomikamo od baze proti lumnu, bolj so diferencirane moške spolne celice.

Pod vplivom faktorja BMP8b se začne nastanek **spermatogonijev A1** (matične celice). Lahko pa je produkt delitve spermatogonijev A1, nastanek spermatogonijev A2, pa vse do **spermatogonijev A4**. Le-ti gredo lahko v celično odmrtje ali pa se razvijejo v intermediarne spermatogonije. Le-ti pa so že določeni, da se bodo razvili v spermije. Intermediarni spermatogoniji se mitotično delijo in se razvijejo v **spermatogonije G** – iz njih pa nastanejo **primarni spermatociti**. Prehod spermatogonijev v spermatocite regulira **GDNF** (sinteza v Sertolijevih celicah). Če je koncentracija GDNF visoka, zagotavlja delitev v nove spermatogonije. GDNF je pod kontrolo **FSH** (folikelstimulirajoči hormon). Med zalogo matičnih spermatogonijev in tistih, ki se bodo razvili v spermije, mora biti ravnotežje.

Sekundarni spermatociti so že haploidne celice. Z mitozo nastanejo spermatide. Te grejo v spermiogenezo, da potem nastanejo spermiji.

SPERMIOGENEZA

- oblikovanje akrosoma; akrosom vsebuje številne hidrolitične encime in je pomemben za prehod skozi zono pellucido
- oblikovanje bička; biček omogoča gibanje spermija
- zamenjava histonov s protamini (še bolj bazični proteini kot histoni)
- utišanje transkripcije; zaradi zvijanja transkripcija ne poteka več
- vzpostavitev genomske specifične metilacije DNA – za razvoj zarodka sta potrebna oba genoma (jajčni in spermalni)

Ko je spermij povsem oblikovan, ločimo na njem **glavico**, na kateri je akrosom, na bazi glavice se nahajata centriola, vmes je **vrata** (okrog aksoneme so oviti mitohondriji) in **repek** (aksonemska zgradba $9 \times 2 + 2$ mikrotubula).

KAPACITACIJA

= niz fizioloških sprememb, s katerimi postane spermij sposoben oploditve jajčeca

- odstranitev holesterola s plazmaleme spermija – lipidni rafti se skoncentrirajo na anteriornem delu glavice
- odstranitev določenih proteinov in sladkorjev s površine spermija – odmaskiranje proteionov pomembnih za vezavo na zono pellucido
- membranski potencial spermijeve plazmaleme postane še bolj negativen zaradi izhajanja K⁺ ionov – odprtje kalcijevih kanalov, aktivacija cAMP, fuzija membran med akrosomsko reakcijo
- fosforilacija proteinov – potovanje šapronov na površino spermijeve glavice – vloga pri oblikovanju receptorjev za vezavo hna zono pellucido jajčne celice
- spremeni se zunanja akrosomska membrana – priprava na fuzijo s plazmalemo spermija

OOGENEZA

- poteka v ovariju, ki se razvije iz genitalne gube
- poteka v korteksu genitalne gube

ŽENSKÉ KLIČNE CELICE

- **XX KLIČNE CELICE:** mitoze med migracijo in v ovariju → vstop v mejozo → ustavitev v profazi ob rojstvu
- foliklove celice obdajo preživele xx klične celice – **primordialni folikel**
- **oocit** – izločanje rastnih in diferencijskih faktorjev, sinteza proteinov ZP1, 2 in 3
- **FSH** (folikelstimulirajoči hormon), **LH** (luteinizirajoči hormon) – s spolno zrelostjo se mitoza nadaljuje

JAJČNA CELICA ali OVUM

- značilna je **totipotentnost**
- je ena največjih celic v organizmu (100-120 μm), ima veliko jedro, okrogle ali ovalne oblike (zaradi večjega volumna)
- v obdobju mirovanja poteka **akumulacija** – proteini, ribosomi in tRNA, mRNA, morfogenetski faktorji
- **plazmalema** - fuzija, pretok ionov v času oploditve
- **zona pellucida** - zunanja ovojnica, zaščita jajčne celice, iz 3 glikoproteinov, ki imajo pomembno vlogo pri vezavi spermija
- **cumulus, corona radiata** (venec celic direktno v cumulusu)
- v korteksu se nahajajo aktinski filamenti, ki oblikujejo mikrovile; kortikalna zrna (hidrolitični encimi, mukopolisaharidi, adhezivni glikoproteini, hialini proteini)

OOGENEZA

- 2. – 7. meseca nosečnosti poteka delitev **OOGONIJEV** (7 milijonov)
- dve poti: diferenciacija v **primarni oocit** ali **odmrtje**
- vstop v 1. mejotsko delitev – **diploten** (faza mirovanja – diktioten)
- **primordialni folikel** = primarni oocit + ploščati epitelij folikolovih celic (ob rojstvu okrog 1 milijona)
- nadaljevanje mejoze ob spolni zrelosti – menstrualni cikel, dozori samo 400-500 primarnih oocitov

2007-04-10

HIPERAKTIVACIJA

- o različne regije ženskega genitalnega trakta – izločanje različnih, regionalno specifičnih molekul – vpliv na gibanje spermijev
- o hiperaktivacija – močnejše in hitrejše gibanje
- o hiperaktivacija je povezana z odprtjem Ca-kanalov, specifičnih za spermije
- o gre za prehod iz asimetričnega udarjanja, v hitro, sinhrono udarjanje bička
- o za prehod skozi kumulus sta pomembni hiperaktivacija in hialuronidaza na spermijevi membrani

TERMOTAKSIS

- spermiji zaznajo temperaturni gradient stopinji C med ampulo in istmusom
- plavanje iz hladnejšega mesta na toplejše (v ampulo)
- samo kapacitirani spermiji zaznajo gradient

KEMOTAKSIS

- poteka v ampulni regiji
- jajčece in celice kumulusa izločajo molekule, ki privlačijo spermije
- folikularna tekočina privlači samo kapacitirane spermije

INTERAKCIJA MED JAJČECEM IN SPERMIJEM
OVIRE NA SPERMIJEVI POTI:

1. korona radiata – plast foliklovih celic, hialuronidaza
2. zona pellucida – glikoproteini ZP1, ZP2, ZP3

OPLODITEV JAJČECA PRI SESALCIH

1. vezava spermija na zono pelucido
2. akrosomska reakcija
3. prodiranje skozi zono pelucido
4. fuzija plazemskih membran
5. spermijevo jedro vstopi v jajčno celico

1. ZONA PELUCIDA

STOPNJE V VEZAVI SPERMIJA NA ZONO PELUCIDO

1. šibka vezava med proteini spermija in perifernimi proteini na zoni pelucidi
2. močnejša povezava med proteinom SED1 spermija in zono pelucido
3. močnapovezava med spermijem (galaktoziltransferaza) in ZP3
4. sprožitev akrosomske reakcije

SED1

- veže se na kompleks proteinov zone pelucide
- veže se le na neoplojeno jajčno celico
- spermij brez SED1 se ne more vezati na jajčece

ZP3 – GLAVNI GLIKOPROTEIN ZA VEZAVO SPERMIJA

- galaktoziltransferaza v spermijevi membrani se veže na N-acetilglukozaminske preostanke ZP3
- povezava aktivira specifične G proteine
- odprejo se Ca-kanali
- eksocitoza akrosomskega vezikla
- ZP3 sproži akrosomsko reakcijo (po njej spermij obdaja notranja akrosomska membrana; predel, kjer pride do zlitja med notranjo akrosomsko membrano in ostalo plazmalemo bička – ekvatorialna regija)

PREHOD SKOZI ZONO PELUCIDO

- o z akrosomsko reakcijo se odstranita spermijevo in zunanja akrosomska membrana
- o izpostavi se notranja akrosomska membrana
- o proteaze akrosoma lizirajo zono pelucido in oblikujejo v njej luknjico skozi katero prodira spermij
- o med prehodom se proteini na notranji membrani akrosoma (pH=20) vežejo na ZP2 zone pelucide

AKROSOMSKA REAKCIJA

EKSOCITOZA VSEBINE AKROSOMA:

- o β -N-ACETILGLUKOZAMINIDAZA – cepi oligisaharidne komponente
- o AKROZIN – proteaza, razgradnja proteinov ZP

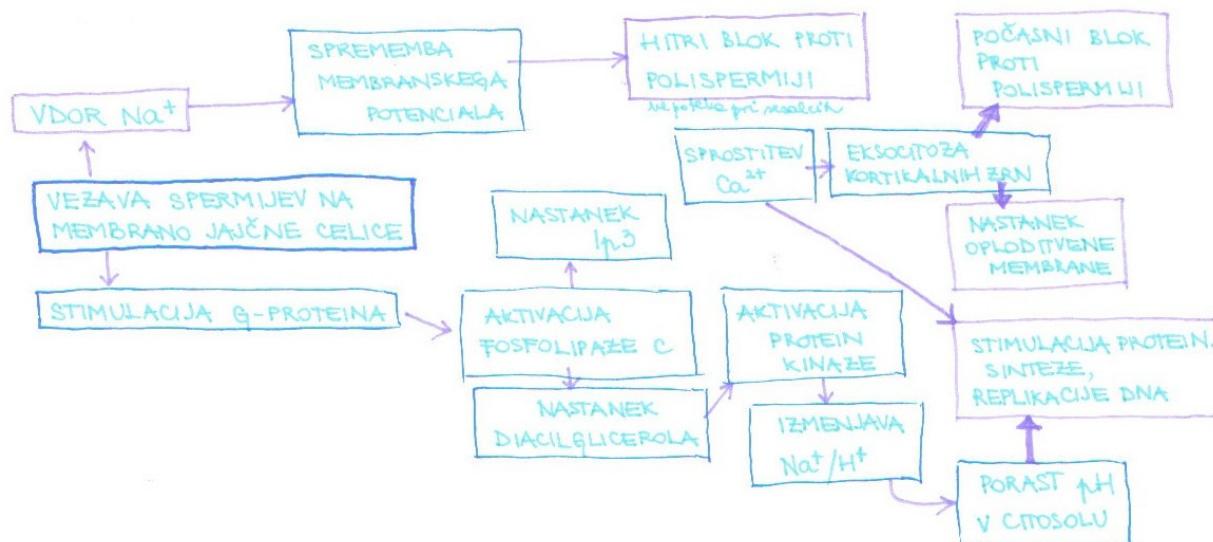
FUZIJA GAMET

- na mestu vezave jajčece izoblikuje številne mikrovile
- fuzija med spermijem in jajčecem se začne v ekvatorialni regiji spermijeve membrane
- v fuzijo vključena CD9 protein jajčeca in protein IZUMO spermija (podoben Ig), ki omogočata zlitje

KORTIKALNA REAKCIJA

- eksocitoza vsebine kortikalnih zrn
- proteaze razgradijo ZP3 (N-acetilglukozaminidaza) in ZP2
- preprečena vezava ostalih spermijev in s tem preprečena polispermija (= oploditev z večjim številom spermijev - v večini primerov je smrtna)

POTEK DOGODKOV V JAJČNI CELICI OB OPLODITVI



DOGODKI V JAJČNI CELICI

- glutation v jajčecu sprosti disulfidne vezi med protamini
- ob vstopu spermija je jedro jajčeca v metafazi 2. mejoze
- Ca privede do inaktivacije MAP kinaze
- proteoliza ciklina B in securina
- začetek sinteze DNA ločeno v Ž in M pronukleusu
- centrosom iz spermija oblikuje ater v jajčecu iz proteinov jajčeca
- mikrotubuli omogočijo potovanje obeh pronukleusov
- po stiku sledi razgradnja jedrne ovojnice
- kondenzacija kromatina v kromosome, ureditev kromosomov na delitveno vreteno
- pravo 2n jedro se izoblikuje šele na dvceličnem stadiju
- mitohondriji spermija se razgradijo
- centriol služi kot organizacijski center za nastanek novega delitvenega vretena

ZA NORMALEN RAZVOJ STA POTREBNA TAKO OČETOV KOT MATERIN GENOM

GENOMSKO VTISNENJE (IMPRINTING) KONTROLIRA RAZVOJ ZARODKA
SLIKA 1

DOLOČITEV SPOLA

1. FENOTIPIČNA – vpliv okolja

- HAPLOFENOTIPIČNA
- DIPLOFENOTIPIČNA

2. GENOTIPIČNA – posebni geni

- HAPLOGENOTIPIČNA – določen med mejozo
- DIPLOGENOIPIČNA – spol določen z oploditvijo

DOLOČITEV SPOLA PRI SESALCIH

1. PRIMARNA DOLOČITEV SPOLA – oblikovanje gonad

- odvisna od prisotnosti y kromosoma
- XY, XXXY ali XXXXY je še vedno moški
- XO se razvije kot ženska, začetek ovarija, vendar se ta ne razvije

2. SEKUNDARNA DOLOČITEV SPOLA – zunanje značilnosti (genitalije, prsi, itd.)

- odvisna od vrste gonad – produkcije hormonov

VPLIV Sry NA RAZVOJ GONAD

- sertolijeve celice izločajo antimullerjev hormon (AMH)

AMH

- iz družinme TGF β rastnih in diferenciacijskih faktorjev
- izločajo ga fetalne sertolijeve celice že med razvojem zarodka
- povzroči degeneracijo muellerjevega kanala

SRY

- Y kromosom je povezan s faktorjem za determinacijo testisov
- SRY (spol določujoča regija na Y) leži na p kraku Y
- transgenske miši (XX) s SRY oblikujejo testise
- SRY je nujen, ne pa zadosten - potrebni so še drugi geni

VLOGA SRY:

- soroden visoko mobilni skupini (HMG) proteinov
- deluje kot transkripcijski faktor
- modificira strukturo kromatina z upogibanjem DNA
- ključni tarčni geni niso znani

SOX9 – avtosomni testis določujoči gen

- XX z ekstra kopijo SOX9 se razvije kot moški tudi brez SRY
- knock-out SOX9 miši z genotipom XY ne razvijejo testisov
- tudi če je SRY prisoten se testisi brez SOX9 ne morejo oblikovati
- SOX9 je reguliran in aktiviran s SRY
- SOX9 sproži razvoj testisov

Fgf9 – FIBROBLASTNI RASTNI FAKTOR 9

- izzove proliferacijo in diferenciacijo sertolijevih celic
- sproži migracijo celic mezonefrosa v gonade, kjer oblikujejo testisove vrvice, ki potem naselijo sertolijeve celice

Sf1 – STEROIDOGENI FAKTOR 1

- predstavlja vez med SRY in razvojem v moško smer
- pomemben za nastanek bipotentnih gonad
- nivo Sf1 v embriju XX upada, v razvijajočih testisih ostaja aktiven
- v sertolijevih celicah skupaj z SOX9 odgovoren za transkripcijo AMH
- v Leydigovih celicah pa aktivira gene za encime vključene v sintezo testosterona

OBSTAJAJO FAKTORJI, KI KONTROLIRAJO RAZVOJ OVARIJEV?

- lahko so osebki brez gonad
- Ž spol se ne razvije z izključitvami
- za razvoj ovarijev so potrebni geni: **DAX1, WNT4**

FENOTIPSKA SPREMEMBA SPOLA XY Z DVEMA DAX1

DAX1 – TESTIS ZAVIRAJOČI GEN NA X KROMOSOMU

- izraža se v genitalnem grebenu Ž in M, pri moškem kmalu po SRY
- SRY in DAX1 se izražata v istih celicah in oba sta potrebna za razvoj testisov
- v XX gonadah se izraža samo DAX1

WNT4 – OVARIJ DOLOČUJOČI GEN NA AVTOSOMU

- izraža se v bipotentnih gonadah
- v XX gonadah se vzdržuje aktiven, v XY gonadah pa preneha delovati

ANDROGEN NEOBČUTLJIVOSTNI SINDROM

- XY osebkimajoSRY in testise s sintezo testosterona in AMH
- nimajoreceptorjev za testosteron odgovarjajopa na estrogene (adrenalka)
- kljub ženskemu fenotipu imajotestise in producirajoin odgovarjajona AMH
- Muellerjev vod degenerira
- oseba se razvije kot normalna, vendar sterilna ženska brez uterusa in oviduktov, ter s testisi v trebuhu

PSEVDOHERMAFRODITIZEM (PHF)

- imajosamo eno vrsto gonad, sekundarni spolni znaki ne ustrezajogondam
- moški PHF: testisi in ženski sekundarni spolni znaki
- ženski PHF: ovariji in moški fenotip (kongenitalna adrenalna hiperplazija)

PRAVI HERMAFRODITI

- imajom in Ž gonadno tkivo
- nastopi v primeru translokacije Y na X
- Y se lahko nahaja na transkripcijsko aktivnem ali neaktivnem X kromosomu, SRY se lahko prepisuje ali pa ne
- gonadni mozaik za izražanje SRY lahko razvije testis, ovarij ali ovotestis
- odvisno od % celic, ki izražajo SRY v prekurzorskih sertolijevih celicah

17.04.2007

CELIČNE IN MOLEKULARNE OSNOVE EMBRIONALNEGA RAZVOJA**OBLIKE CELIČNIH AKTIVNOSTI MED RAZVOJEM:**

1. RAST, DELITEV, CELIČNA SMRT
2. OBLIKOVANJE MEHANSKIH POVEZAV (med drugimi celicami ali z ECM), GIBANJE
3. SINTEZA SPECIFIČNIH PROTEINOV (le-ti omogočajo celici opravljanje specifičnih funkcij ob specifični strukturi) – DIFERENCIACIJA
4. ODDAJANJE IN SPREJEMANJE SIGNALOV

Vse celice nosijo enak genom. Kdaj bodo celične aktivnosti vstopile v igro in katere je odvisno od genoma vsake celice posebej.

FAZE RAZVOJA:

1. BRAZDANJE – delitve, sinteza DNA
2. GASTRULACIJA – gibanje celic, oblikovanje osnovnega načrta telesa, intenzivne migracije celic, postavljeni so temelji za razvoj tkiv in organov
3. ORGANOGENEZA – oblikovanje tkiv in organov
4. RAST

OBLIKE BRAZDANJA

NAČIN BRAZDANJA	RAZPOREDITEV RUMENJAKA	SIMETRIJA BRAZDANJA	PRIMERI
HOLOBLASTIČNO (popolno brazdanje)	IZOLECITALNA CELICA (malo rumenjaka, enakomerno razporejeno)	RADIALNO	morski ježek
		ROTACIJSKO	sesalci
	MEZOLECITALNA (zmerna količina rumenjaka, na vegetativnem polu)	RADIALNO	dvoživke
MEROBLASTIČNO (nepopolno brazdanje)	TELOCITALNA (veliko rumenjaka, na vegetativnem polu)	DISKOIDALNO	ribe ptiči
		SUPERFICIALNO	žuželke
	CENTROLECITALNA (veliko rumenjaka, v sredini)		

dobimo 2 blastomeri, 2. faza poteka pravokotno na 1. fazo, dobimo 4 blastomere, 3. brazda pa poteka ekvatorilano in dobimo stanje 8 blastomer (če poteka natanko po ekvatorju dobimo 8 enakih blastocist, če ne pa malo manjše celice). Nadaljne brazde potekajo zelo različno.

ZNAČILNOSTI BRAZDANJA PRI SESALCIH

- brazdanje poteka počasi
- brazdanje je rotacijsko !!!!!!!!!!!!!!! (Neva)
- zgoden začetek asinhronih delitev
- zgodnja aktivacija genoma, začetek transkripcije - nastanek 2 blastomer, translacija – nastanek 4 blastomer
- kompakcija – stisnitev blastomer in oblikovanje stikov (tesni in presledkovni stiki)

NEVA!!!!

OD OVULACIJE DO IMPLANTACIJE

šele po 2 dneh se zaključi 1. delitev (v jajcevodu), 3. dan dobimo štadij module, v vseh teh štadijih je oplojena jajčna celica obdana z zono pellucido, ki preprečuje, da bi se jajčna celica vsidrala že v jajcevodu (pride do izvenmaternične nosečnosti), 4. dan pride modula v samo maternico in nato sledi formiranje in levitev blastociste – blastocista se dolušči od zone pellucide in gola blastocista se lahko vsidra v endometrij maternice.

KAVITACIJA

- izločanje tekočine celic trofoblata v morulo – nastanek votline – **blastocel**
- delovanje Na-črplak v membranah celic trofoblata – črpanje Na⁺ v votlino
- vdor vode, povečanje votline
- notranja skupina celic potisnjena na eno stran obroča iz celic trofoblata – **blastocista**

BLASTOCISTA

- TROFOBLAST (=TROFOEKTODERM)
 - a) citotrofoblast
 - b) sinciotrofoblast
- NOTRANJA SKUPINA CELIC (= EMBRIOBLAST)
- BLASTOCEL

TROFOBLAST

- tvori **HORION** – embrijev delež placente – preko horiona prehaja do zarodka kisik in še nekatere druge snovi
- izloča proteaze, ki omogočijo razgradnjo zone pellucide
- omogoči adhezijo na endometrij
- prva vezava – **L-SELEKTIN** trofoblata na sulfatirane polisaharide celic endometrija
- druga vezava – **INTEGRINI** trofoblata se vežejo na kolagen, fibronektin in laminin uterusa
- trofoblast izloča proteaze: kolagenaza, stromelizin, plazminogen aktivator – **IMPLANTACIJA** (=proces vgraditve)

NOTRANJA SKUPINA CELIC

Iz nje se razvijejo:

- zarodek (embrio)
- rumenjaka vrečka
- amnion – votlina v kateri se zarodek razvija
- alantoid – prispeva žile
- **PLURIPOTENTNOST NOTRANJE SKUPINE CELIC – ICM** (Inner Cell Mass): celice notranje skupine celic lahko razvijejo v katerokoli drugo celico, razen v trofoblast – zato se ne more razviti celoten organizem)

GENSKA REGULACIJA TROFOBLASTA IN ICM

- **TROFOBLAST:**

eomesodermin

Cdx2

- **ICM:**

Oct4

Nanog

Stat3

SLIKA 1 - Neva

GASTRULACIJA

izoblikujejo se 3 klični listi (ekto – najbolj zunaj, mezo (vezivno tkivo, mišičje...) in endo (iz nje se oblikuje prebavna cev, najbolj noter)-DERM) ki predstavljajo osnovo za vsa tkiva in organe

4 OBLIKE GASTRULACIJE:

- gastrulacija z luščenjem ali DELAMINACIJA: celice se na stopnji blastule delijo navznoter v blastocel in to samo tiste, ki so pravokotne na..

- IMIGRACIJA:

- INVAGINACIJA

- EPIBOLIJA ali obraščanje

pogosto gre za kombinacijo 2 oblik gastrulacij: pri sesalcih – delaminacija in invaginacija

EKSTRAEMBRIONALNE OVOJNICE

a) RUMENJAKOVA VREČKA

ZGRADBA:

- ekstraembrionalni endoderm
- splanhnični mezoderm

VLOGA:

- izvor primordialnih kličnih celic
- nastanek prvih krvnih celic zarodka
- nastanek prvih krvnih žil

b) AMNION:

NASTANEK: razmik celic epiblasta – kavitacija

ZGRADBA:

- ekstarembriionalni ektoderm
- somatični mezoderm

VLOGA:

- neposredno obdaja in ščiti zarodek
- pomen amnionske tekočine
- uporaba za citogenetske raziskave

c) HORION

ZGRADBA:

- trofoblast
- somatični mezoderm

VLOGA:

- oskrba s kisikom
- izmenjava snovi med materino in zarodkovo krvjo
- izločanje hormonov – zadržanje zarodka v uterusu
- produkcija regulatorjev imunskega odgovora – mati ne zavrne zarodka (ga ne prepozna kot tujek)

d) ALANTOIS

NASTANEK: z izbočenjem zadnjega dela črevesa

ZGRADBA:

- ekstraembrionalni endoderm
- splahnčni mezoderm

VLOGA:

- ostane povezan z zadnjim črevesom: mesto povezave = sečni mehur
- prispeva glavni žilni sistem v obtoku plod-placenta (stare alantoidne arterije in vene so arterije in vene popkavnice)

PLACENTA:

o ZARODKOV DELEŽ:

trofoblast

mezodermalne celice iz ICM

o MATERIN DELEŽ:

decidua (uterus obogaten z žilami – oskrba s kisikom in hrano)

ENOJAJČNI DVOJČKI:

- t) nekateri imajo skupen horion in 2 amniona (se razvijata vsak posebej)
- u) 2 zarodka se razvijata v 1 amnionu (le 1% dvojčkov se rodi na tak način) – pride do zraščanih otrok – siamski dvojčki

ENDODERM

PREBAVNA CEV

24.04.2007

NASTAJANJE RAZLIČNIH CELIC, TKIV MED RAZVOJEM

▪ TOTIPOTENTNA CELICA

je celica, ki se lahko razvije v popoln organizem, npr. opljena jajčna celica ali blastomera po prvem brazdanju (enojajčni dvojčki)

▪ PLURIPOTENTNA CELICA

je celica, ki se lahko razvije v katerokoli celico telesa, ne more pa se razviti v celoten organizem

▪ MULTIPOTENTNA CELICA

je specializirana celica za razvoj v prav določeno smer z določeno funkcijo, npr. krvna matična celica se lahko razvije le v eritrocite, levkocite in trombocite.

▪ MATIČNA CELICA

je celica, ki se lahko neomejeno dolgo deli. Pod ustreznimi pogoji se diferencirajo v različne tipe celic

▪ EMBRIONALNA MATIČNA CELICA

izvira iz notranje skupine celic (embrioblasta) blastociste tik pred implantacijo v uterus. Ta celica se lahko razvije v katerokoli celico po izvoru iz ekto., endo- in mezoderma.

▪ TKIVNA (odrasla) MATIČNA CELICA

je nediferencirana celica, ki se nahaja v diferenciranih tkivih, Lahko se diferencira le v celice tkiva, v katerem se nahaja. ne more se razviti v katerokoli celico telesa.

▪ EMBRIONALNA ZARODNA CELICA

je celica, ki izvira iz primordiale klične celice. Te celice se nahajajo v zasnovah gonad v katerih se normalno razvijajo v gamete. Tudi te celice se lahko diferencirajo v tkiva vseh treh kličnih listov.

EMBRIONALNE MATIČNE CELICE (EMC)

1. izvor iz notranje skupine celic
2. sposobnost neomejenega števila delitev, brez diferenciacije
3. izražajo in vržejojo stabilen, diploiden in normalen kariotip
4. so pluripotentne – diferencirajo se v celice, ki izvirajo iz vseh treh ključnih listov
5. so klonogene – posamezna EMC se lahko razvije v kolonijo genetično enakih celic – klon
6. izražajo transkripcijski faktor Oct-4, ki vzdžuje EMC na nediferencirani, proliferativni stopnji
7. njihovo proliferacijo in diferenciacijo je možno inducirati
8. izgubijo G1 kontrolno točko, večino časa so v S fazi, za začetek replikacije ni potreben zunanji signal
9. ne kažejo inaktivacije X- kromosoma

DIFERENCIACIJA

- vse celice v telesu imajo enak genom kot zigota
- genom se med razvojem ne spreminja
- nastajanje strukturno in funkcijsko različnih celic pod vplivom enakega genoma – diferenciacija
- celice telesa se ne razlikujejo med seboj, ker bi vseboval različne gene, temveč ker izražajo različne gene

VRTSE RAZVOJA IZ JAJČNE CELICE

- **MOZAIČEN RAZVOJ:** odvisen od determinant oz. njihove asimetrične razporeditve v jajčni celici,
- **REGULACIJSKI RAZVOJ:** determinante ne igrajo nobene vloge, ves razvoj je odvisen med interakcijami med celicami

INDUKCIJA

- je vrsta interakcij med dvema ali več celicami (ali tkivi), ki so si blizu in ki imajo različne lastnosti
- **INDUKTOR:** celice (tkivo), ki daje signale(e), ki spremenijo celično obnašanje drugega tkiva
- **RESPONDER:** tkivo, ki je inducirano

VRSTE INDUKTIVNIH INTERAKCIJ

- **INSTRUKTIVNE INTERAKCIJE:** signal z induktorja je nujen za izražanje genov v responderju (brez induktorja se celice ne morejo diferencirati v določeno smer)
- **PERMISIVNE INTERAKCIJE:** responder je že specificiran, potrebuje le okolje, ki omogoča izražanje teh specifičnih znakov

INTERAKCIJE EPITELIJ – MEZENHIM (mezenhim je vedno induktor, epiteliji pa responderji)

ORGAN	EPITELIJ	MEZENHIM
kožne strukture (lasje, mlečne žleze)	epidermis (ektoderm)	dermis (mezoderm)
roke, noge	epidermis	mezenhim
jetra, pankreas	epitelij (endoderm)	mezenhim
pljuča, timus, ščitnica	epitelij (endoderm)	mezenhim
zobje	čeljustni epitelij	mezenhim

REGIONALNO SPECIFIČNA INDUKCIJA

- indukcija med mezenhimom dermisa (induktor) in epidermisom (responder)
- PRIMER = ptič:
 - perut – široka peresa
 - bedro – ozka peresa
 - noga – luske, kremplji

GENSKO SPECIFIČNA INDUKCIJA

- mezenhim da navodila epiteliju, katere gene naj aktivira, epitelij pa se ravna po teh navodilih samo toliko, kolikor to dovoljuje genom. (primer: dvoživke)

MEHANIZMI INDUKTIVNIH INTERAKCIJ

- **S TESNIM KONTAKTOM:** signalna molekula na površini ene vcelce s epoveže z receptorjem druge celice
- **PARAKRINA INTERAKCIJA:** ena celica izloča signalne molekule, ki difundirajo k sosednjim celicam
- **SIGNALI IZ ECM:** ECM ene celice inducira spremembe v drugi celici

PARAKRINI FAKTORJI

RASTNI IN DIFERENCIACIJSKI FAKTORJI

a) DRUŽINA FGF (fibroblastni rastni faktorji):

- **FGF1-** regeneracija
- **FGF2-** oblikovanje krvnih žil
- **FGF7-** razvoj kože
- **FGF8-** razvoj ekstremitet, leča

b) DRUŽINA HEDGEHOD:

- **DESERT HEDGEHOD:** spermatogeneza
- **INDIAN HEDGEHOD:** postnatalna rast kosti
- **SONIC HEDGEHOD:** živčni sistem, razvoj vretenc iz somitov, ekstremitetni brst
- mutacija gena: degenaracija ekstremitet, cyclopia (eno oko v sredini)

c) DRUŽINA Wnt:

- nastanek mišic iz somitov
- specifikacija celic srednjih možganov
- polarnost ekstremitet
- proliferacija matičnih celic
- razvoj urogenitalnega sistema

d) NADDRUŽINA TGF- β :

- **TGF – β 1,2,3,5:** oblikovanje ECM, regulacija celični delitev, nastanek vodov v ledvicah in pljučih
- **BMP:** nastanek kosti, regulacija celičnih delitev, celične smrti, diferenciacije, razvoj ledvic
- **NODAL, AKTIVIN:** specifikacija mezoderma, levo-desno

MORFOGENETSKA VLOGA ECM

1. kontrola diferenciacije
2. oblikovanje prostora
3. olajšanje migracije
4. pospešitev morfogeneze
5. pospeševanje rasti
6. omogočanje stabilnega substrata za adhezijo
7. oblikovanje tkiv

MORFOGENETSKA VLOGA PLAZMALEME

MOLEKULE MEMBRANE POMEMBNE ZA MORFOGENEZO:

1. **SAM – integrini**

2. CAM – adherini

- a) od kalcijevih ionov odvisne
- b) imunoglobulinom podobne molekule – od kalcijevih ionov neodvisne

VLOGA:

1. zagotavljanje tkivne integritete
2. posredovanje komunikacij
3. olajšanje gibanja celice
4. odcepljanje in pritrjanje celic
5. sortiranje

VLOGA CITOSKELETA V MORFOGENEZI:

1. znotrajcelično gibanje
2. sprememba oblike celice
3. celično gibanje
4. morfološka stabilnost

Ne vem točno, kam to vstaviti... ☺

CELIČNA BIOLOGIJA

2006-11-27

POLIPEPTIDI INTERMEDIARNIH FILAMENTOV (IF)

Keratini so značilni za epiteljske celice – v koži, jetrnih celicah, sečnem mehuru...

Najdemo jih tudi v nekaterih profuktih epiteljskih celic lasje, nohti – trdi keratini.. mehki keratini ali citokeratini so pa tisti v celicah

- 20 različnih keratinov, ki so tkivno specifični
- Keratini označujejo diferenciacijsko stopnjo celice
- V epiteljskih celicah se povezujejo na epiteljsko membrano preko dezmosomov, ali na ECM preko hemidezmosomov
- VIMENTIN -. V mezentinskih celicah, v fibroblastih, v krvnih celicah – celice mezodermalnega izvora
- DEZMIN – v vseh (gladke, srčna, prečno-progaste) mišičnih celicah
- GLIA KISLI PROTEINI:; sestavljajo intermediarne filamente v glia celicah
- PERIFERIN – v perifernih živčnih tkivih,
- 4. POLIPEPTIDI, KI IZGRAJUJEJO...: A) NF-L:
- NF-M
- NF-H

TI TRIJE SE POVEZUJEJO V DIMERE.

NESTIN: polipeptid, ki se pojavlja med razvojem divčnega sistema

5. skupina: ŽIVČNI LAMINI: izgrajujejo jedrno lamino

A in C ustvajta jedrno mrežo

B pa povezuje v jedrno membrano

Lamini kažejo največjo dinamiko – med mitozo se popolnoma razgradijo in povzročijo razpad jedrne ovojnice. To je dovisno od fosforilacije

NETIPIČNI POLIPEPTIDI: FILENTIN, FAKININ – najdemo v očesni leči

ZGRADBA POLIPEPTIDA JE:

4. centralna »paličasta« domena
5. N-terminalna glava
6. C-terminalni rep

Centralna paličasta domena – sestavljena iz več alfa ovitih heliksov

4. COIL (klobčič) 1 – poddomeni 1A, 1B
5. COIL 2 – poddomeni 2A, 2B
6. povezovalni (L) Ne-alfa-heliksni (vijačni odseki)

STRUKTURNA PODOBNOST INTERMEDIARNIH FILAMENTOV

Razlike med amino glavami in karboksilnimi repi.

NASTANEK INTREMEDIARNIH FILAMENTOV

Najprej se povežeta dve monomeri v dimer – s paličasto regijo se ovijeta ena v drugo.

Še vedno gre za polimerizirano strukturo.

2. dve dimmeri se paralelno pšovežeta v tetramer- nista več polimerizirani, imata amino glavo in karboksilen rep

3. intremediarni filamenti niso polarizirana struktura – ne ločimo plus in minus konca; za sestavljanje ni potrebna energija (ATP)

4. tetrameri se nato zaporedno vežejo v porotofilament – ti se pararelno povežejo med seboj v protofibrilo – te se nato povežejo v IF, debeline 10 nanometrov

- IF so neobčutljivi na delovanje kemijskih dejavnikov, koliko kažejo dinamike je

NIVOJI DELOVANJA IF:

- delujejo na nivoju organelov – vzdržujejo lego in delovanje organelov
- na celičnem (tkivnem) nivoju: vzdržujejo celično integriteto, odporni proti različnim mehanskim stresom, so tkivno specifični – pomembno v ontologiji, ker IF ostanejo nespremenjeni<-<lahko določimo tip celice in se odločimo za ustrezno kemoterapijo

AKCESORNI PROTEINI IF

LAMIN-B RECEPTOR; vezava lamina na notranjo membrano jedrne ovojnice

FILAGRIN: povezava keratinov v tonofilamente

ANKIRIN: vezava VIMENTINA ns plazmalemo

PLEKTIN: vezava vimentina, vezana na MAP, spektrin

BRAG 1: hemidezmosomi

PLAKOGLOBIN... pika

PEKTIN: povezuje IF med seboj in z mikrotubuli in z aktinskimi filamenti – osrednji povezovalni protein citoskeleta

IF IN ORGANIZACIJA ORGANELOV:

- IF so odgovorni za specifično lego mitohondrijev v mišičnih celicah – DEZMIN – njegova okvara pomeni dislokacijo mitohondrijev in razpad miofibril
- Vzdrževanje lege GA, ustrezne lokacije lizosomov v celici
- IF so v epitelijskih celicah CITOKERATINI, v srčnih celicah pa je DEZMIN.
- Če ne pride do pravilnega sestavljanja IF pride do hudih posledic: mutacija – moteno sestavljanje v bazalnih celicah (keratin 14 in keratin 5) – celice se

poškodujejo, postanejo občutljive na mehanske dražljaje – pride do EPIDERMOLYSIS BULLOSA SIMPLEX – mehurjavost kože – pride do infekcij.. izpostavljeni so predeli, ki so podvrženi mehanskim pritiskom – podplati, dlani

DEZMIN: IF ki se pojavlja v mišičnih celicah, obdaja Z linijo okrog in okrog
 Mutacija dezmina – DEZMINOPATIJE – pojavijo se okvare v mišičju
 Okvare ori nastajanjanu nevrofilamentov: aksoni živčnih celic so nabiti z IF – moten transport aksonov – NEVROPATIJE – ALS – amilotrofna lateralna skleroza – pojavlja
 JEDRNA LAMINA: sestavljena je iz laminov A in C, ki se sestavljata mrežo
 - pomembna za vdževanje jedrne ovojnice, regulira prehod preko jedrnih por

SHEMA SESTAVLJANJA LAMINA

5. lamin polipeptid
6. dimer
7. zaporedna vezava (glava-rep)
8. paralelna vezava dimerov

CITOSKELTE IN BOLEZNI:

GLAVNE ZNAČILNOSTI:

- okvare niso maligne, tkivna identiteta se ohrani
- okvare spremljajo citosolni proteinski agregati
- okvare se s starostjo slabšajo v mišičnih in živčnih tkivih, izboljšujejo v epitelijih
- okvare katastrofalne za tkiva, podvržena mehasnkim silam
- monogenske okvare redke, tipično prizadeto le eno ali malo tkiv

GENI ZA CITOSKELETNE PROTEINE:

GENI ZA PROTEINE IF – 70 GENOV:

- 2 gena za proteine leče – filenzin, fakinin
- 3 geni za proteine tipa V – lamin A....

KERATINOPATIJE:

Vzrok predvsem mutacije vijačničnih motivov paličaste regije

DEZMINOPATIJE:

Funkcija: povezava Z-diska, določanje lege mitohondrijev

ALEKSANDROVA BOLEZEN:

MUTACIJA GFAP – degeneracija astrocitov
 3 oblike bolezni: infantilna, juvenilna, adultna

NEVROFILAMENTI IN BOLEZNI:

IF V LEČI IN KATARAKTA: konginentalni, infantilni, juvenilni začetki sive mreže

PROKARIONTSKA CELICA: notranja in zunanja plazmalema, celična stena, DNA (bakterija)

EVKARIONTSKA CELICA: izoblikovano morfološko jedro, eritrociti sekundarno izgubijo jedro

Glavna razlika: dedno informacijo prostorsko ločena od citoplazme, razlikujeta se pšo tem, da je pri evkriontih citoplazma močno strukturirana, pojavljajo se membrane, ki tvorijo zaključene celote, ki opravljajo specifične funkcije

- PREDELKI ALI KOMPARTMENTI = ORGANELI
- 6. ustvarja v celici funkcionalno različna okolja
- 7. kompleksen distribucijski sistem (prenašanje molekul)
- 8. specifične molekule
- 9. značilen set encimov
- 10. z membrano obdana struktura

PREDELKI EVKARIONTSKE CELICE:

PEROKSISOMI: okidacijski encimi, oksidacija maščobnih kislin, alkohola (škodljiva snov)

ENDOSOMI: vakuole, ki so vključene v vnos materiala iz okolja

LIZOSOMI: intracelularna prebava, vsebujejo hidrolitične encime, ki razgrajujejo različne substrate

MITOHONDRIJI, KLOROPLASTI: produkcija ATP (sinteza ATP

GA: glikozilacija (dodajanje sladkorjev na molekule), sortiranje, modificiranje proteinov

ER: sinteza proteinov, lipidov, kalcija

CITOSOL: sinteza proteinov, in intermediarni metabolizem

JEDRO: genom, mesto sinteze DNA, RNA

Lego teh predelkov vzdržuje citoskelet. Sinteza specifičnih proteinov za te predelke se začne v citosolu.

POT PROTEINOV: proteini imajo sortirni signal, če ga nima bo protein ostal v citosolu (npr. proteini citoskeleta, razen laminov)

Iz citosola gredo proteini na svoja tarčna mesta – njihov transport je različen:

- Transport preko por: iz citosola v jedro
- Transmembranski transport (translokatorji): iz citosola v mitohondrije in v ER
- Vezikularni transport: s pomočjo posebnih mešičkov: iz ER v GA in nato naprej proti LIZOSOMom in iz zunanjih površin navznoter

*Na mitohondriju i drugih organelih mora bit receptor, ki prepozna signal...

DVA TIPA SORTIRNEGA SIGNALA:

- v obliki signalne krpe: iz Ga v lizosome, jedro
- v obliki signalnega peptida: iz citosola v ER in mitohondrije; sestavljajo hidrofobne ali pozitivno nabite AK

PREGLED RAZVRŠČANJA PROTEINOV:

Jedro, peroksisomi, mitohondriji, kloroplasti; prosti ribosomi v citosolu.. Pika

TRANSPORT MOLEKUL IZ CITOSOLA V JEDRO OZ. OBRATNO (OBOJESMERNI TRANSPORT)

- poteka preko jedrnih por
- transport makromolekul v jedro in iz jedra skozi jedrne pore: encimi se transportirajo, ki omogočajo podvojevanje, prepisovanje, transportirajo se transkripcijski faktorji, proteini, ki sestavljajo ribosome

JEDRNI PORNKI KOMPLEKS:

- jedrna ovojnica je sestavljena iz dveh koncentrično ločenih membran: notranja in zunanja membrana. Na določenih mestih pride do povezave med njima, tu se razvijejo jedrne pore. Prostor, ki ga omejujeta se imenuje perinuklearni prostor. Pod notranjo membrano leži jedrna lamina, nanjo pa se lahko veže kromatin, ki ga sestavljajo histoni in DNA in nehistski proteini. Zunanja membrana je na določenih mestih povezana z ER.

MODEL JEDRNEGA PORNKEGA KOMPLEKSA: iz najmanj 50 različnih proteinov, skozi jedrni porni kompleks se prenašajo velike in majhne molekule – prenašajo se čpreko centralnega transporterja (26 nm) – obdaja ga poseben proteinski obroč, ki se lateralno povezuje na jedrno ovojnico – proteinske niti segajo tako proti citosolu (citoplazmatski obroč) in jedru (jedrni proteinski obroč)

- citoplazmatski filament
- zunanja, in notranja jedrna membrana
- periferno od centralnega transporterja se nahajajo ... za transport manjših molekul

PRENOS PROTEINA IZ CITOSOLA V JEDRO: cenralni transporter naj bi deloval kot diafragma

JEDRNI LOKALIZACIJSKI SIGNAL

Bazične AK – lizin, arginin, ki imata + naboj

Poznamo enojni in dvojni signal.

Protein, ki se transportira se nahaja v zviti obliki (funkcionalna oblika)

NUKLEOPORINI:

JEDRNI RECEPTORJI – KARIOFERINI

- proteini, ki izgrajujejo jedrni porni kompleks

Jedrni vnosni (importni) receptor – importin

Iznosni (eksportni) signal

.. receptor – eksportin (molekule, ki se transportirajo iz jedra v citosol)

Importini in eksportini so si po zgradbi zelo podobni. Oboji so jedrni receptorji – karioferini.

Jedrni lokalizacijski signal

FG ZAPOREDJE v nukleoporinih

F= fenilalanin

G= glicin

HIDROLIZA GTP Z Ran proteini = energija za transport

Ran – molekularno stikalo – dve konformacijski obliki: z GTP (aktivna oblika) in z GDP (neaktivna oblika)

Z Ran proteinom sta povezana še GAP (GTP-ase Activating protein) in GEF (guanin exchange factor).

Razlika v polimerizaciji GAP in GEF določa smer transporta.

Ran GDP – v citosolu

Ran GTP - v jedru

HIDROLIZA GTP Z Ran DOLOČA SMER JEDRNEGA TRANSPORTA

PREREZI:

- ramenskega sklepa
- prečni prerez čez nadlaktnico
- vzdolžni prerez skozi karpalne kosti – zapestne koščice..
- karpalni kanal
- prečni prerez čez 2. falango
- interossea palmares in dorsales

04.december 2006

USMERJANJE PROTEINOV V PEROKSISOME

- sporočilno zaporedje Ser-Lys-Leu (serin, lizin, leucin) na COOH koncu – PTS1
- sporočilno zaporedje 9 AK na NH₂ (amino) koncu – PTS2
- v peroksisomih so encimi za sintezo horestelora in za produkcijo žolčnih kislin
- proteini v peroksisomi se v celoti sintetizirajo v citosolu
- ta sporočilna zaporedja morejo prepoznati peroksini (receptorji): npr. peroksin 5, prepoznajo sporočilno zaporedje na peroksisomskem proteinu, in ga usmerjajo proti peroksisomski membrani, tam so proteini, ki ta kompleks prepoznajo, ga vežejo ob translokatorju in omogočijo prehod v peroksisome.
- Proteini se transportirajo v zviti obliki (funkcionalna konformacija)

NASTANEK PEROKSISOMOV

Ko peroksisom kopiči peroksisomske encime s tem raste, se zažme in se razdeli na dva nova peroksisoma.

Zelo pomembni so za delovanje tkiva, pojaljajo se hude okvare. Npr. ZELLWEGERJEV SINDROM – sindrom praznih peroksisomov – odsotnost signalnega sporočila, mol. Ne prepoznajo in (peroksisomi) se izločajo navzven – smrt takoj po rojstvu.

POSTTRANSLACIJSKI TRANSPORT

- Po končani sintezi proteinov v citosolu (translaciji)
- sinteza proteina se začne v citosolu, na ER sinteza proteina teče dalje
- prenos proteina, ki se ni še dokončno transportiral – zato ga imenujemo KO... !!!

ENDOPLAZEMSKI RETIKULUM

Volumen ER predstavlja 10% vsega volumna, in 50% vseh membran v celici

- zrnati – GER – na citosolni strani so prisotni ribosomi - granularni
- gladki – AER – membrane so prazne – agranularni
- ima centralno vlogo v sintezi lipidov in proteinov (transmembranskih – ER, GA, lizosomi, endosomi, sekrecijski vezikli, plazemska membrana)
- lipidi sestavljajo membrane mitohondrijev in peroksisomov
- sinteza proteinov, ki delujejo v lumnih ER, GA, lizosomov, ali pa se ti proteini izločijo v procesu endocitoze
- vodotopni proteini

GLADKI ER:

2. celice, ki sintetizirajo steroidne hormone iz holesterola

2. HEPATOCITI:

d) lipidne komponente lipoproteinov

e) detoksifikacija lipidotopnih učinkovin in škodljivih snovi, nastalih v metabolizmu – citokrom P450 – se odstranjujejo iz telesa z urinom

f) skladiščenje kalcija – kasneje se sproščajo po potrebi – npr. v mišicah – ob kontrakciji se vključijo po kalcijevih kanalih, po njej pa se odstranjujejo s kalcijevo črpalko

MIKROSOMI

- umetna tvorba, ki predstavljajo fragmente ER
- najprej celico fizikalno razgradimo (homogeniziramo) in te homogenate centrifugiramo pri razl. hitrostih – cisterne se razbijejo na fragmente (mikrosome)
- z njimi so ugotovili mehanizem sinteze proteinov na ER

SIGNALNA HIPOTEZA:

- sinteza signalnega peptida na ribosomu v citosolu
- vezava SRP (signal recognition particle) na ribosom in signalni peptid
- vezava kompleksa SRP – ribosom na receptor za SRP ob translokatorju na membrani ER (sinteza proteina se začasno ustavi)
- signalni peptid se umesti v translokator, sinteza proteina se nadaljuje
- sprostitvev SRP in receptorja, ribosom ostane vezan na translokator

*translokator = multiproteinski kompleks, sestavljen iz številnih podenot, ki ustvarja kanale po katerem se protein naprej transportira; obstaja v aktivni (je doprt in omogoča sintezo) in neaktivni obliki; Sec61 = translokator na membrani
 DVOJNO ODPIRANJE Lahko se odpira v ravnini same membrane in omogoči, da se hidrofobno zaporedje

FUNKCIJA SIGNALNEGA PEPTIDA

- po končani sintezi in translokaciji proteina skozi translokator se signalni peptid odcepi s signalno peptidazo
- služi kot startni signal ... ? Pika?

PREHOD TOPNIH PROTEINOV PREKO MEMBRANE ER

- Signalni protein deluje kot start signal
- Z dodajanjem novih AK se protein pomika v lumen
- Signalna peptidaza odcepi signalni peptid, translokator se tudi lateralno odpre in hidrofobna sekvenca izstopi se umesti v dvosloj
- Sekrecijski proteini...

ORIENTACIJA MEMBRANSKIH PROTEINOV

- hidrofobna sekvenca (20-25AK) omogoči z alfa heliks regijo vgraditev proteina v membrano (transmembranski rprotein)
- Enojno prehajanje membrane – dve varianti (karboksilni ali amino konec v ER)
- Večkratno prehajanje membrane – več alfa heliks hidrofobnih regij

VGRADITEV Transmembr. Proteina, KI ENKRAT PREHAJA MEMBRANO

- sinteza proteina se začne na enak način kot sekrecijski protein
- v notranjosti proteina je sekvenca iz hidrofobnih AK, ki jo imenuje stop transfer sekvenca
- ko pride do translokatorja deluje kot start transfer
- protein se pomika v notranjost ER toliko časa, dokler v translokator ne pride druga hidrofobna sekvenca, ki zaustavi nadaljnje pomikanje v lumen – zato jo imenujemo stop-transfer-sekvenca

VGRADITEV S POMOČJO NOTRANJE SIGNALNE SEKVENCE KOT START TRANSFER SIGNAL

- ko se signalni peptid umesti v translokator, deluje hkrati kot aktivator translokatorja in kot stop-transfer-sekvenca
- kako se bo peptid umestil je odvisno od naboja – ali bo amino ali karboksilni konec v ER

VGRADITEV PROTEINA, KI DVAKRAT PREHAJA MEMBRANO ER

- notranja signalna sekvenca deluje kot start-transfer-signal (stop – start – stop)
- notranji signalni peptidi se ne odcepijo!
- 1. signal deluje kot start – transfer signal
- 2. signal deluje kot stop-transfer-signal (sinteza teče do konca le na citosolni strani)
- Kolikokrat bo protein prehajal membrano je odvisno do start in stop sekvenc.

POST TRANSLACIJSKA TRANSLOKACIJA PROTEINOV V ER

4. Prenos proteina s pomočjo BiP – binding protein(šaperon – vzdržujejo obliko)
3. Vezava proteina ob Sec 61 translokacijski kanal
2. Prepoznavanje signalne sekvence z Sec 62/63 kompleksom
1. Sinteza proteina na prostih ribosomih v citosolu

ZVIJANJE PROTEINOV V FUNKCIONALNO KONFORMACIJO LUMEN ER-a

- Šaperon BiP se veže na polipeptidno verigo in omogoči zvižanje in setavljanje proteina v ER.
- Oblikovanje disulfidnih vezi (mostičkov) med cisteini – proteinska disulfidna izomeraza
- GLIKOZILACIJA: dodajanje sladkorjev na protein

VEZAVA OLIGOSAHARIDA (OS) NA PROTEIN

- oligosaharid se veže samo na Amino skupino AK ASPARAGINA – te oligosaharide imenujemo n-vezani oligosaharidi
- OS se predhodno sintetizira

GLIKOZILACIJA PROTEINOV V LUMNU ER

- Dolihol se sladkorjem obrne v lumen
- Dodajo se še 4 manoze (skupaj 9) in 3 glukoze
- OS se s po
-
- močjo oligosahariltransferaze... ?

Asn – asparagin

-N-acetil glukozamin (2)

-Manoza (9)

- Glukoza (3)

Zadnje tri = Dolihol

oligosaharil – transferaza

GPI SIDRO

Glycosylphosphatidylinositol

vezava GPI sidra poteka na

- v raftih so GPI sidra

IZHOD IN RAZGRADITEV NAPAČNO ZVITIH PROTEINOV

- transportirajo se preko Sec 61 kompleks
- nanj se vežejo UBIQUITINI, ki označujejo napačne proteine
- grejo čez proteasomi – tu se razgradijo napačno zviti proteini (pH=7,2)

VLOGA TRANSLOKATORJEV FOSFOLIPIDOV

ER membrana: ENCIMI SKRAMBLAZE – poskrbi da oba sloja simetrično rasteta

Plazemska membrana: ENCIMI FLIPAZE – vzdržujejo asimetrično porazdelitev;

selektivno prenašajo fosfatidil serin iz zunanjšega v citosolni enosloj in iz citosolnega v zunanji enosloj

PRENOS FOSFOLIPIDOV IZ ER-a V MEMBRANO MITOHONDRIJA

- Membrane peroksisomov niso v direktnem stiku z ER
- Fosfolipidi se ne morejo prosto prenašati – prenašalci fosfolipidov = proteini, ki specifično vežejo lipid v membrani ER, disociirajo in prenesejo fosfolipid do membrane mitohondrija ali peroksisoma

VEZIKULARNI TRANSPORT

BIOSINTETSKO-SEKRECIJSKA IN ENDOCITITSKA POT

Glej shemo! Pika

Pot proteinov iz notranjosti celice (iz ER) na zunanjo površino (lizosomi).

Endocitotska pot vključuje zgodnji in pozni endosom. Prenos od zunaj v notranjost.

- Prenos poteka s pomočjo mešičkov ali veziklov. Mešiček se zlije s tarčnim kompartmentov.
- Ohranjanje originalne orientacije proteinov in lipidov.
- lumni GA in ER so ekvivalentni ekstracelularnem prostoru
- sladkorji bodo vedno na ekstracelularni strani

PLAŠČNI (POKRITI) VEZIKLI

VLOGA PROTEINSKEGA PLAŠČA:

- deluje kot membranski pripomoček za upognitev membrane ter nastanek vezikla

RAZLIKE MED VEZIKLI:

- a) različna proteinska sestava plašča
- b) različna zgradba (vidna pod EM)
- c) različna vloga v transportnih poteh

TIPI VEZIKLOV

1. COP II – POKRITI VEZIKLI iz ER v GA
2. COP I – POKRITI VEZIKLI; sodelujejo pri transportu iz GA v ER in med cisternami GA
3. KLATRIN-ski POKRITI VEZIKLI: sodelujejo pri prenosu iz trans Golgijevega mrežja v lizosome in iz plazmaleme v endosome

GOLGIJEV APARAT

3. vstopno mesto – Cis regija
4. izhodno mesto – trans regija
4. CIS Golgijevo omrežje: predel GA, ki je najbližje ...
5. Golgijeva skladovnica
- cis

- medialne cisterne
- trans cisterne

6. Trans golgijevo omrežje

Povprečno se nahaja med 4 in 6 cistern.

KRIOSOM – več ali le eden

GA je izrazito polarizirana struktura (vstopno in izstopno mesto).

Cis in trans mrežje sta pomembni sortirni mesti. V cis se sortirajo proteini. V trans se produkti razvrščajo po 3 različnih poteh.

Vsak od teh kompartmentov vsebuje različne encime, ki omogoča dodajanje spec. Sladkorjev alik sintezo lipidov.

FUNKCIONALNI PREDELKI GA

V cis omrežju poteja fosforilacija manoz – značilna za lizosomske encime. V cis mrežju poteka odstranjevanje manoz z oligosaharidov.

Medialna cisterna – nadakjuje se odstranjevanje manoz, dodajajo se drugi sladkorji enacetilglukozamin

Transcisterna – dodajata se ..., dodaja se sialična kislina(nosi neg. naboj), pride do sulfatacije

3 poti: ena pot vodi do lizosomov, 2 poti pa vodita do celične površine

V Ga nastajata dve vrsti oligosaharidov: kompleksni (raznoliki sladkorji) in enostavni (sladkor manoza).

VISOKOMANOZNI OLIGOSAHARIDI (procesiranje lizosomskih encimov): fosforilacija manoz, fosfotilirana manoza je prepoznaven znak za lizosomski encim

TRANSPORT IZ GA

3. sortiranje v trans G omrežju
4. transport vezikolov do ciljnega mesta

3. brez ustreznega signala – konstitutivna sekrecija - oskrbovanje s proteini, navzven se izločajo protitelesa
4. proteini s signalom: lizosomi in sekrecijska zrna – regulirana sekrecija koncentrirajo se v posebnih veziklih – sekrecijska zrna – kopičijo se v citosolu in se pod vplivom signala se njihova membrana zlije s ctoplazemsko membrano – npr. sproščanje pepsina, tripsina

LIZOSOMI

V obliki vreč, obdani z membrano, heterogena skupina organelov, ki variira med seboj po velikosti in po vsebini.

Vsebujejo številne hidrolitične encime (proteaze, nukleaze, glikozidaze, lipaze, fosfataze, sulfataze, fosfolipaze). Te delujejo pri kislem pH-ju – pH je 5 in je optimalen za delovanje lizosomskih encimov. Da se vzdržuje pH poskbi posebna protonska črpalka (V- črpalka) v membrani lizosoma. pH v citosolu = 7.2

Transport AK; monosaharidov, nukleotidov

Da ne pride do samorazgradnje - avtolize lastne membrane lizosoma: notranjost membrane je močno glikolizirana – onemogoča delovanje encimov.

TRANSPORT LIZOSOMSKIH ENCIMOV V LIZOSOME

Vežejo lizosomske encime in s tem koncentrirajo. Lizosomski encimi se vezani na receptorje,

Med klatrinskim plaščem – omogoča da se brst z lizosomskimi encimi odcepi. Imamo gol vezikel, ki na lumenski strani nosi... Pridejo do poznega endosoma, se zlijejo z njeno membrano – kisel pH, povzroči sproščeni encimi se najprej fosforilirajo (da se ne vežejo na receptorje in se vračajo nazaj v GA). Pozni endosom se spremeni v lizosom.

Substrat za razgradnjo v lizosomih je zelo različen:

3 poti substrata do lizosomov:

- Endocitotska pot: Makromolekule prehajajo z endocitozo, se združijo z vezikli ...
- FAGocitotska pot: sprejem bakterij odmrle celice; uvijanje membrane, FAGOSOM – z njim se združijo primarni vezikli in nastane lizosom
- AVTOFAGIJA: razgrajujejo se celici lastni organeli – GA – na ta način se odstranjujejo nefunkcionalni organeli – obdajo se z membrano in nastane tvorba – AVTOFAGOSOM (heterofagosom)

Encimi ne prebavijo vsega kar celice sprejme – te snovi se kopičijo v lizosomih – ta se počasi stara in se spremeni v terciarni lizosom – rizodiarna telesa – po njih sklepamo na starost celice.

LIZOSOMSKE MOTNJE KOPIČENJA

- GM, gangliozi: pomanjkanje galaktozidaze, nakopiči se gangliozid GM: mentalna zaostalost, povečana jetra, smrt pri 2 letih
- Tay-sachs
- Fabry
- Sandhoff
- Gaucher
- Sulfatidna lipidozna
- Farber: odsotnost ceramidaze, kopiči se ceramid
- Illusion Cell Disease – ne pride do fosforilacije manoz, direktno se izločijo na celično površino

KONSTITUTIVNA IN REGULIRANA SEKRECIJSKA POT(EKSOCITOTSKA POT)

Vsebina veziklov se izloči navzven – vodi do povečanja celične površine – eksocitoza. Da ne bi prišlo do tega poteka uravnotežen proces – endocitoza – celična površina ostaja enaka.

Recikliranje membran – fundamentalen proces v celici

2 poti iz trans G omrežja: konstitutivna sekrecija (neregulirana)

Selektivna pot – odvisna od hormonov ali nevrottransmiterjev:

- kopičijo se produkti v sekrecijskih zrnih, ta se nabirajo v celici
- eksocitoza je odvisna od povečane konc. Kalcija

RAZVRŠČANJE PROTEINOV DOLOČENIH ZA APIKALNO, BAZO-LATERALNO PLAZMALEMO

ENDOCITOZA: 2 osnovna tipa: delitev temelji na velikosti veziklov: a) vezikli veliki do 150 nm = PINOCITOZA – celično pitje, sprejem makromolekul

b) vezikli veliko več kot 150 nm = fagocitoza – celično žrtje – sprejem večjih artiklov – bakterijskih celic...

NESELEKTIVNA endOCITOZA

VISOKOSELEKTIVNA endOCITOZA: vezava na specifične receptorje – receptorska endocitoza

Pri večceličnih organizmih je fagocitoza omejena na omejen št. Celic in predstavlja obrambo pred škodljivimi organizmi – obramba pred infekcijo. Pri človeku je endocitoza omejena ne neutrofilce in na makrofage (odstranijo dnevno odmrle eritrocite).

Pseudopodiji so membranski izvihki, ki rastejo in vedno bolj obdajajo bakterijo. Tako preide bakterija v notranjost celice – nastane fagosom.

So bakterije, ki so izogone lizosomskemu sistemu in uničijo makrofage.

ENDOCITOTSKA POT OD PLAZMALEME DO LIZOSOMOV

RECEPTORSKA ENDOCITOZA: receptorji so transmembranski proteini

Poglabljena mesta – pokrite jamice

Na citosolno domeno je vezan adaptin, nato se vežejo še katrinske molekule

- katrinski vezikel kmalu razpade in dobimo gol vezikel, ki v membrani vsebuje receptorje – selektivna endocitoza. Gol vezikel se združi z zgodnjim endosomom, ki povzroči docepitev liganda (receptotnja). Receptorji se lahko vrnejo na površino, lahko pa se transportirajo do poznega endosoma in nastane lizosom – tam poteka razgradnja sprejeta materiala.

PRIMER. Sprejem holesterola – preko posebnih lipoproteinskih partiklov – LDL partikel = zgrajen in enega sloja fosfolipidov, kamor je vgrajen tudi holesterol

V notranjosti se nahaja 1500 molekul holesterola, ki je zaestren. V lipidni enosloj je vgrajen APO protein.

Holesterol se po krvi ne prenaša samostojno. Če je moten transport in sprejem LDL partiklov, ti zastajajo v krvi, kar vodi do arterioskleroze ali celo do srčnega infarkta.

RECEPTORSKO POSREDOVANA ENDOCITOZA LDL ARTIKLOV

Nastane nezaestren holesterol.. gre ven in sodelje pri izgradnji membran

Družinska hiperholesterolemija – večji riziko za infarkt... Receptor se ne vgradi v membrano, lahko imajo napake v svoji strukturi in se ne morejo vezat.

CIKEL TRANSFERINA

Z receptorsko Endocitozo se sprejema tudi beljakovina, ki nosi železo – TRANSFERIN. Nato se izoblikuje klatrinski vezikel.

Epidermalni rastni faktor lahko deluje na celico le, če se veže na receptor.

RECIKLIRANJE SINAPTIČNIH VEZIKLOV

1. Arrival of a nerve impulse at the terminus of a neuron triggers the fusion of synaptic vesicles with the plasma membrane, realising neurotransmitters.

...

TRANSCITOZA

Iz ene celične površine na drugo – se izogne lizosomskemu veziklu. Sprejem protiteles pri mladičih – nimajo svojega lastnega imunskega sistema – dobijo ga z dojenjem.

Reciklirajoči endosom z vezikli oskrbi bazalno membrano.

05.01.2007

DELITVE CELIC – OBNOVA CELIC

Celični ciklus je najbolj kompleksno dogajanje na nivoju celic. Namen kontrole je preprečevanje nastanka za celice škodljivih dogodkov in zlasti prenosa takih sprememb na hčerinske celice ter omogočiti celici, da popravi poškodbo.

KONTROLNA MESTA:

- G1 (prereplikacijska kontrola)
- S (replikacijska kontrola)
- G2 (postreplikacijska kontrola)
- M (kontrola predelitve) – dednega materiala

STOP KONTROLNE TOČKE: mesta, kjer se ciklus ustavlja, če je karkoli narobe v procesu celičnega delovanja (ciklusa)

- G1 stop kontrolna točka je nameščena v zadnji tretjini G1 faze
- S stop kontrolna točka deluje med vso S fazo – kontrola podvojevanja DNA – kromosomov (kontrola pravilnosti replikacije)
- G2 stop kontrolna točka je nameščena v zadnji tretjini G2 faze celičnega ciklusa
- M stop kontrolna točka je nameščena med metafazo in anafazo – kontrola predelitve - razporejanja (segregacije) kromosomov

HIERARHIJA IN PRINCIPI DELOVANJA KONTROLNIH TOČK:

- Princip domin
- Princip vse ali nič
- Nadrejenost 1. kontrolne točke

KAJ SE PREVERJA?

- DNA (status)
- OKOLJE (rastni faktorji, hormoni) – odločajo o tem, ali se bo celica delila ali ne
- PRITRDITEV ali NEPRITRDITEV na podlago
- Je Dna podvojena? Ali so vsi kromosomi pritrjeni na niti delitvenega vretena? Ali Dna ni poškodovana? Je okolje primerno?

KAJ SE KONTROLIRA NA NIVOJU DNA V POSAMEZNIH KT?

- G1 prelomi DNA molekule
- S verodostojnost replikacije
- G2 prelomi na nivoju podvojene DNA
- M razdvajanje – razporejanje kromosomov na kromatide

KATERE SO GLAVNE MOLEKULE V REGULACIJI CC?

- ciklini (Cy) – nadrejene molekule
- ciklinske kinaze (Cdk)
- kompleksi (Cdk/Cy) – aktivni in neaktivni

KAKO DELUJEJO KOMPLEKSI?

- regulacija

- sinteza
- povezovanje
- inhibicija (preprečuje delovanje kompleksa)
- fosforilacija
- defosforilacija in aktivacija kompleksa

KOMPLEKSI V FAZAH CC:

- M FAZNI KOMPLEKS – Cdk2/CyB
- START KINAZNI KOMPLEKS – Cdk4,6/CyD
- S FAZNI KOMPLEKS Cdk2/CyE

PRINCIP DELOVANJA KOMPLEKSOV

Delovanje na različne specifične substrate

- start kinazni kompleks omogoča transkripcijo genov (substrat = transkripcijski faktorji)
- S – omogoča podvojevanje DNA
- M – substrat so mikrotubuli, ki omogočajo predelitev

USODA KOMPLEKSOV V CC:

- M kompleks: ciklin se pojavi, ko se mora končati mitoz, se razgradi

KAJ SO SUBSTRATI STARTKINAZNEGA KOMPLEKSA (faza G1)?

- specifični proteini: Rb protein – glavni substrat: sporoča naprej v DNA, da se z geni nekaj dogaja, motnja Rb proteina povzroča raka na očesu
- Rb protein se po delovanju CyD/Cdk fosforilira
- Start kinazni kompleks torej fosforilira specifične substate

KAKŠNA JE VLOGA Rb PROTEINA?

- Rb nefosforiliran in aktiven – E2F (transkripcijski faktor) vezan in neaktiven = ni prepisa genov
- Rb fosforiliran in neaktiven, E2F sproščen in aktiven = prepis genov

Rast je predfaza, ki omogoča delitev.

Rb je stikalo v celici, ki preklaplja med nekativnim in aktivnim stanjem

Startkinazni kompleks – Rb stikalo (sprostitelj E2F) – prepisni faktor

E2F omogoča, da celica prepíše določene gene (npr. gene, katerih proteini so nujno potrebni za potek S faze CC)

Rb omogoča branje specifičnih genov.

V fazi S potrebujemo DNA polimerazo (za podvojevanje).

2007-01-08

CELIČNI CIKLUS – KONTROLA MITOGENA STIMULACIJA CC V G1 FAZI

MITOGENI so snovi, ki stimulirajo celično proliferacijo in rast. Izločajo jih določene celice kot rastne faktorje (činitelje), na primer:

- **EGF** – epidermalni rastni faktor

- **TGF beta** – transformirajoči rastni faktor

DELOVANJE MITOGENOV

Receptorji sprejemajo signale preko rastnih faktorjev in preko kinaz prenašajo sporočilo iz citoplazme v jedro. V jedru delujejo na specifične gene – **Myc gen**. Produkt je **Myc protein**, ki se veže na določene gene in aktivira **ciklin D gen** in **E2F gen**. Posledica aktivacije teh dveh genov je nastanek transkripcijskega faktorja E2F in ciklina D, ki sta potrebna, da potečejo dogodki, tako kot morajo teči v G1 fazi celičnega ciklusa.

- Mitogeni stimulirajo start kinazni in S fazni kompleks.
- Delujejo preko receptorjev – vplivajo na začetek in prehod v S fazo (signaliziranje)

Sosledje dogodkov v G1 fazi: Mitogeni – receptor – aktivna/neaktivna oblika – G1 dogodki – branje genov, sinteza proteinov

Mitogeni vplivajo na:

- oblikovanje in aktivnost Cdk 4,6/CyD kompleksa
- substrat kompleksa je Rb protein
- Rb protein vodi dogodke v G1 fazi in omogoča prehod v S fazo (v določenih fazah receptorji ne sprejemajo signalov)

Kako deluje start kinazni kompleks?

- deluje na Rb protein – postane aktiven in ta nato sintetizira cikline E in A (tvorita S fazni kompleks, nastaneta tik pred stop kontrolno točko) in DNA polimerazo (potrebna za podvajanje)

POTEK V G1 STOP KONTROLNI TOČKI

Start kinzani kompleks – Rb/E2F – transkripcija, prehod iz G1 – v S fazo

Rb/E2F kompleks (lahko deluje kot inhibitor) lahko pomeni tudi gensko represijo, kar povzroči, da celica ostaja v G0 fazi (celični cikel se ne nadaljuje)

- **PROTEIN p53**: ima odločilno vlogo v poteku CC, je inhibiran, je normalno prisoten v celicah, je »stražar« normalnega stanja celic; npr. če pride do sevanja z X žarkom in se prelomi DNA, p53 se veže na p21 gen, ki postane inhibitor in zavre start kinazni kompleks – ni prepisa specifičnih genov (Rb ni fosforiliran, E2F vezan, neaktiven – celica ostane v G0 fazi.
- P53 mora zaznat poškodbo DNA molekule in jo javit naprej
- V 50% rakavih obolenj je p53 mutiran.

START KINZANI KOMPLEKS IN p53

Radiacija – prelom DNA – kopičenje p53 – ekspresija inhibitorja p21 – inhibicija ciklinov – ni fosforilacije Rb proteina...

MOTNJE V POTEKU CELIČNEGA CIKLUSA

VZROKI: sevanje (enojni ali dvojni prelomi DNA vijačnice), kemijski (zdravila), biološki (virusi)

POSLEDICE: ustavitev v STOP točkah (ustavitev celičnega ciklusa)

REŠITEV SITUACIJE:

- popravilo napake in nadaljevanje (v genomu imamo mehanizem, ki ustavlja CC in popravi napake – omogoča preživetje)

- napake ni mogoče popraviti, celica aktivira dogajanja, ki privedejo do (samo)uničenja celice oz. celične smrti (koristno dejanje)
- napaka ni popravljena, vendar pa se CC nadaljuje (najslabša možnost, saj se napaka prenese na hčerinske celice)

RAKAVA CELICA IN CC

- nelegitimni prehod skozi posamezne kontrolne točke
- širitev mutiranega genoma v hčerinske celice – klon z isto napako

MEDICINA

- **G1:** mutacije proteinov Rb in p53 (nadrejena proteina)
- **S:** mutacije genov, ki popravljajo DNA med ali po replikaciji
- **G2:** nesposobnost popravljanja postreplikativne DNA
- **M:** neustavitev CC zaradi napake med predelitvijo kromosomov (vodijo do sindromov)

CELIČNI CIKLUS – S FAZA

- Replikacija zagotavlja: **prenos informacije** iz materinskih celic na hčerinske celice, **konstantnost informacije, relativno nespremenljivost informacij.**
- CC v S fazi: sinteza DNA in histonov,
- Kontrola v S fazi je usmerjena v verodostojnost replikacije (popolna identičnost prenosa informacije) in rereplikacijski blok (poskrbi, da se velika količina DNA se ne podvoji dvakrat) – prisotna je ves čas podvojevanja DNA molekul
- Podvojitev DNA pomeni: sintezo DNA polinukleotidov
- Semikonzervativno podvojevanje DNA ali semikonzervativna replikacija: podvojitev DNA ob podlagi starševske osnove (templeta) in nastanek dvojnovijačne hčerinske DNA sestavljene iz ene starševske enojne verige in novonastale enojne verige
- Hčerinska celica prejme enovijačno starševsko verigo.

ZAKAJ SEMIKONZERVATIVNO PODVOJEVANJE?

- ker encimi za podvojevanje rabijo podlago
- prednost takega podvojevanja: po podvojitvi obstoji še originalna enojna starševska veriga (kontrola, primerjava, popravljanje)
- glavni encim podvojevanja je DNA polimeraza; dodaja samo v določeno smer in na določeno podlago

DNA podvojevanje in DNA polimeraza

- Prepis iz DNA v DNA
- Vedno rabi templet ali podlago za delovanje
- Potreben je DNA konec (3-OH konec na deoksiribozi)
- Potrebne so 4 vrste deoksiribonukleozid trifosfatov
- Obvezno delujejo v smeri 5' proti 3'

ANTIPARALELNA REPLIKACIJA:

Vodilna stran: 5' proti 3' (sintetizira se v smeri odpiranja vijačnice – v levo)

Sledilna stran: 3' proti 5'

- razvije vodilno (teče neprekinjeno) in sledilno stran sinteze.

- zaradi smeri podvojevanja 5' proti 3' teče sinteza v nasprotnih smereh – antiparalelno
- na sledilni strani nastajajo z zakasnitvijo okazakijevi koščki (fragmenti), ki se sintetizirajo v nasprotni smeri odpiranja vijačnice
- DNA primaza začne sintezo z RNA

S FAZA – OKAZAKIJEVI KOŠČKI:

- nastanek nove RNA osnove (primaza)
- dodajanje novih DNA nukleotidov na osnovo (DNA polimeraza)
- zamenjava RNA osnove za DNA nukleotide
- povezovanje Okazakijevih koščkov

OKAZAKIJEVI FRAGMENTI:

Nastajajo na sledilni strani vijačnice

Sinteza začne z DNA primazo (okrog 10 ribonukleozid trifosfatov) – RNA nukleotidni templet

Nadaljuje se z DNA polimerazo... (glej zgoraj)

S FAZA SEMIDISKONTINUIRANO PODVOJEVANJE

- podvojevanje DNA je semikonzervativno in semidiskontinuirano

Na vodilni strani teče neprekinjeno, na sledilni pa v koščkih – Okazakijevih fragmentih.

REPLIKON je osnovna enota replikacije.

ENOSMERNI REPLIKON:

Definirata ga Origo - izvor replikacije (genetsko utemeljen) in Terminacijska točka – konec replikacije.

- smer je v desno

DVOSMERNI REPLIKON: en origo in 2 terminacijski točki

Replikon prokariontov, mitohondrijev (enosmeren) in evkariontov.

Številčni (multipli) replikoni v naših celicah so eno in dvosmerni.

Vsak kromosom ima številne replikone.

SSB proteini

Kooperativna vezava SSB

Odvijanje vijačnice – helikaze (gibalni proteini; odvijajo dvojno vijačnico; nato vežejo SSB proteine) in topoizomeraze.

S faza:

- 500 obratov DNA/sek
- Kromosom človeka 150 + 10 na 6 nukleotidov
- Replikacija z 1 replikonom: 800 ur
- S faza ima povprečno 100 replikonov na kromosom
- čas replikacije: 1 ura ali manj

TELOMERNI REGIJA – KONEC KROMOSOMA

- problem replikacije koncev linearnih kromosomov – sledilna stran
- smer: 5' proti 3'
- telomerna regija se podvojuje na poseben način; s pomočjo telomeraze; konec verige umetno začasno podaljša (da začne delovati polimeraza), nato se podaljšek odreže

sosledje dogodkov:

- vezava telomeraze na templet nosilno stran
- podaljševanje 3' konca
- končanje sledine strani z DNA polimerazo

V zarodnih celicah je dolžina telomer ves čas konstantna.

Rakave celice zmanjšujejo dolžino telomer, nato pa zopet dolžna raste.

V somatskih celicah dolžina telomer skozi življenje pada.

Problem podvojevanja na koncu kromosoma

- krajšanje telomer z vsako delitvijo
- telomere zgoraj naštetih se ne
- telomere in staranje (progerias ali Gilfordov sindrom) – otrok zglada kot starček

KONTROLA MED S FAZO

- DNA polimerazna aktivnost:

1. sinteza DNA polinukleotidov
2. eksonukleazna aktivnost – izrezovanje napačno podvojenega nukleotida in ustavljanje sinteze

- RE-replikacijski blok:

Zagotavljanje samo enkratne podvojitve DNA med S fazo

MUTACIJE »PROLIFERATIVNIH« GENOV

- rak debelega črevesa
- napaka v delovanju genov, ki kontrolirajo proliferacijo (xeroderma pigmentosum) – občutljivost kože na UV sevanje, pojav kožnih in nevroloških sprememb - kožni tumorji