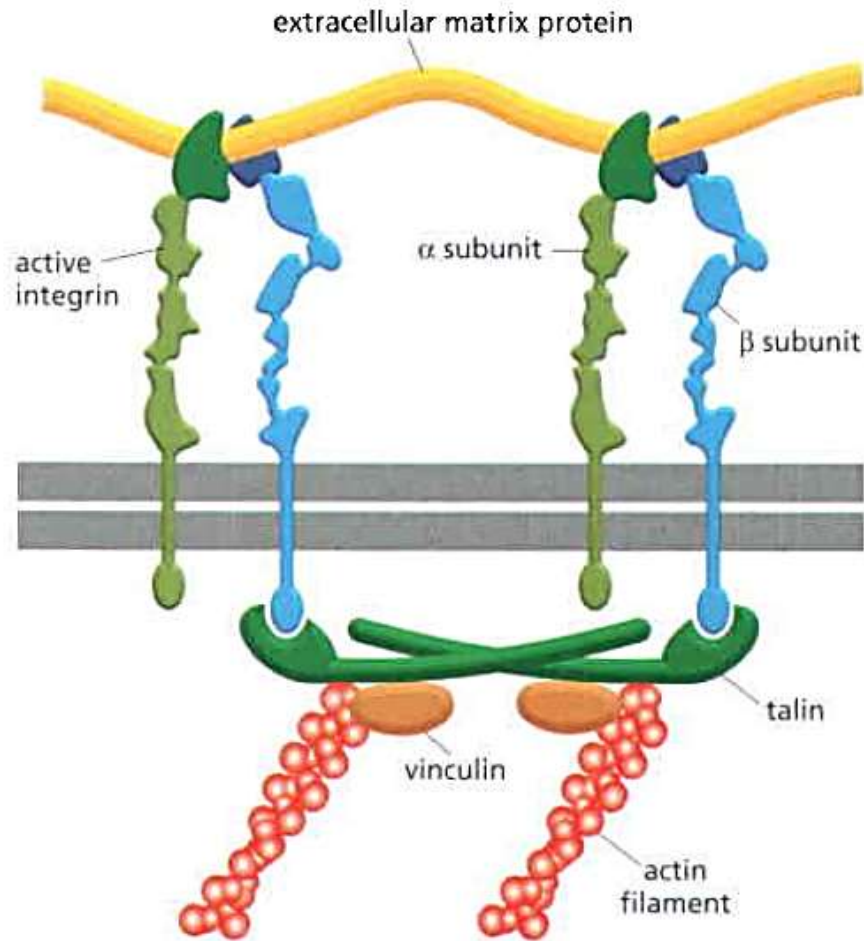


Integrini

So pglavitna skupina molekul, ki regulira vezavo celic na zunajcelični matriks. So $\alpha\beta$ heterodimeri. Imajo pomembne vloge pri prenosih signalov povezanih z diferenciacijo in proliferacijo celic, migracijo celic, celično smrtjo, itd.

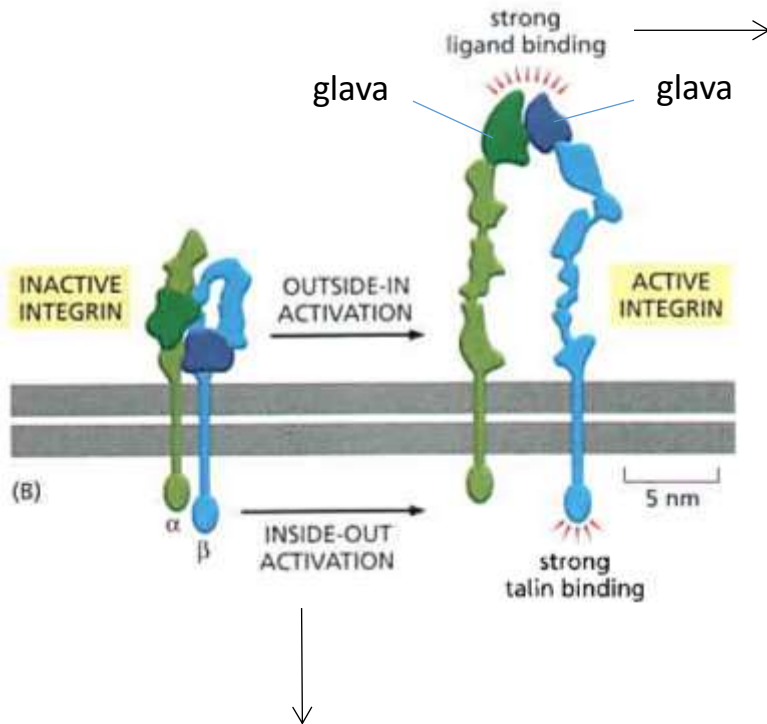
Zunajcelični del se povezuje z elementi ECM.



Znotrajcelični del se povezuje z elementi citoskeleta.

Integrini

So poglavitna skupina molekul, ki regulira vezavo celic na zunajcelični matriks.

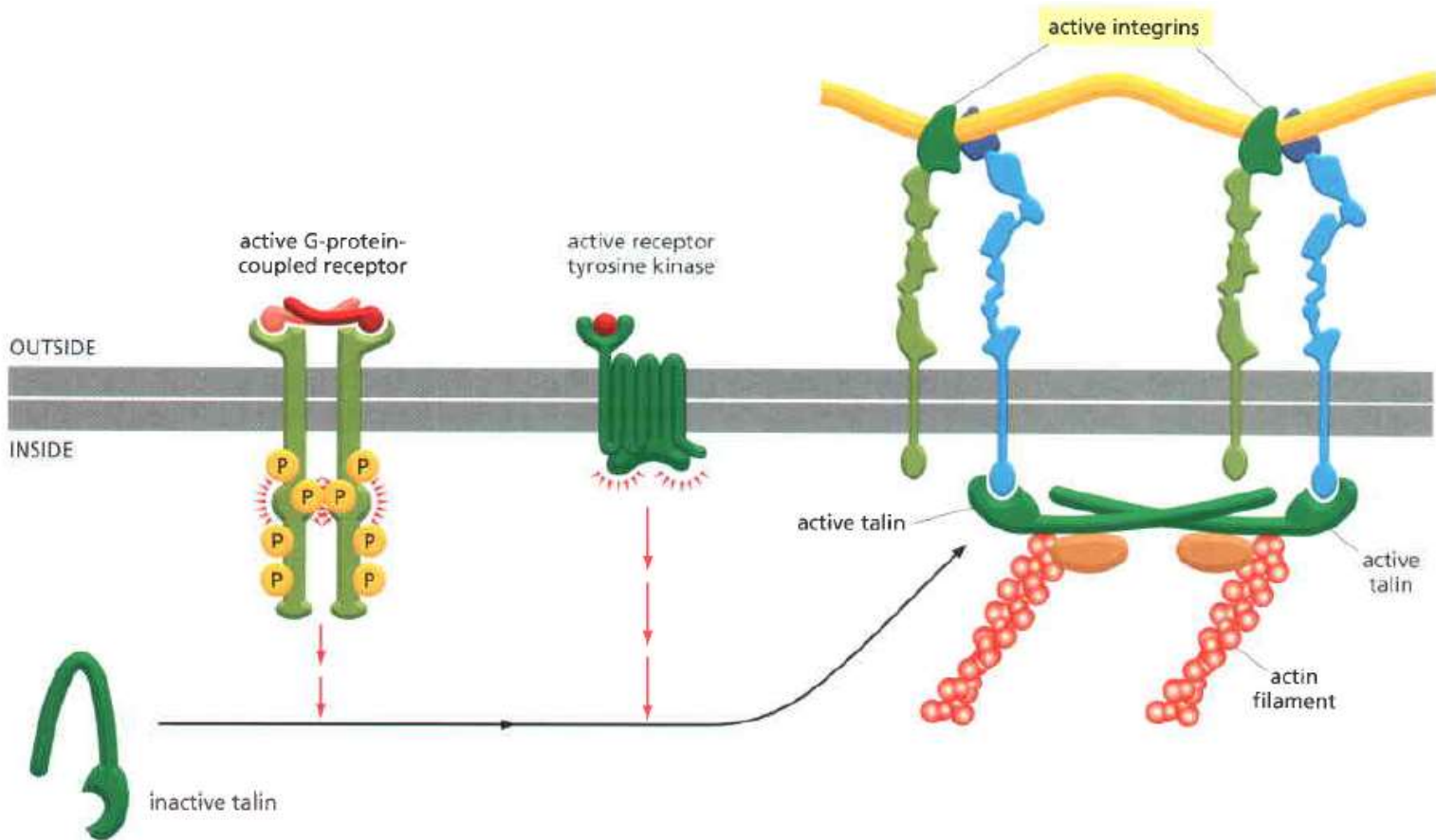


„**Outside-in**“ aktivacija preko vezave liganda (konformacijska sprememba celotnega proteina preko alosterične komunikacije. Znotrajcelični verigi se razmakneta – afiniteta za talin se poveča).

„**Inside-out**“ aktivacija preko vezave liganda (konformacijska sprememba celotnega proteina preko alosterične komunikacije. Znotrajcelični verigi se razmakneta – afiniteta za talin se poveča).

Integrini

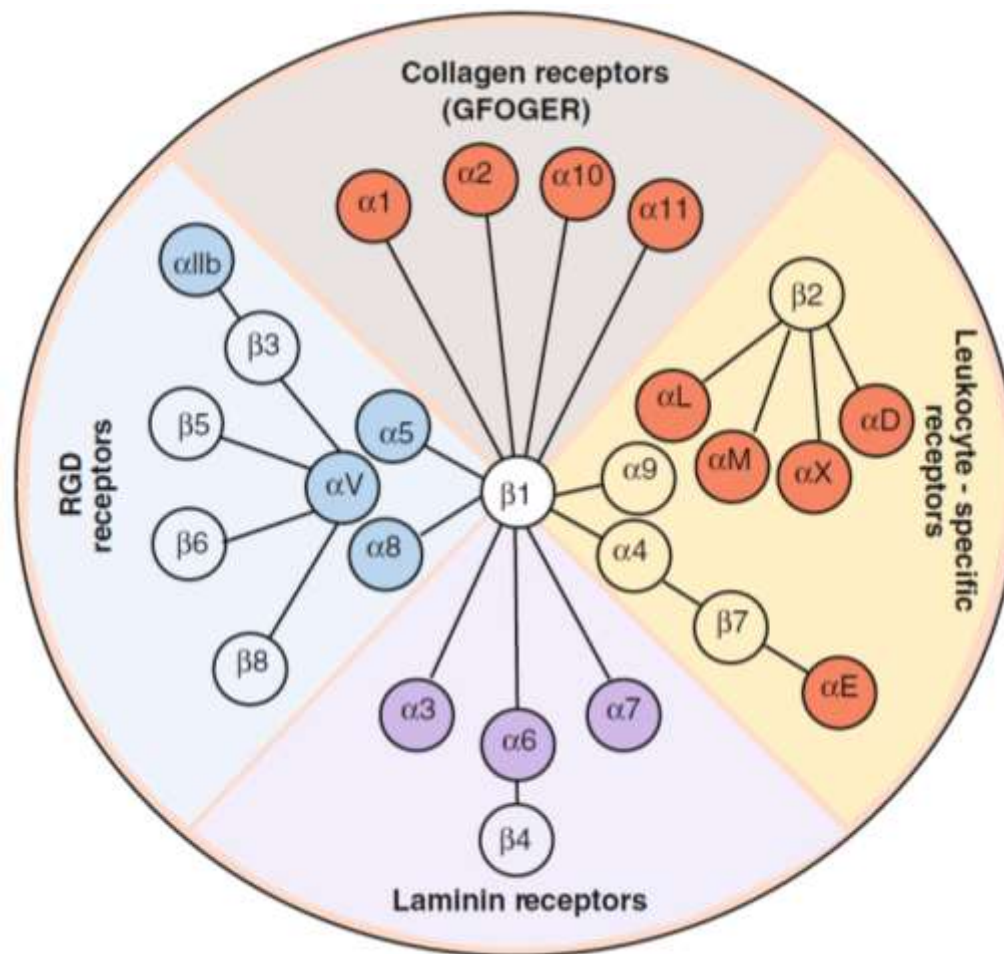
Alternativni načini znotrajcelične aktivacije integrinov.



Integrini

Pri višjih vretenčarjih poznamo 24 integrinov, ki jih dobimo s kombinacijo 18 α in 8 β podenot.

fibronektin
vitronektin



Integrini

Integrin	Human α chain characteristics	Cleavage	α I	Prototypic ligands/ recognition sequences	Additional ligands
α 1 β 1 (CD49a, VLA1)	1151 aa		X	collagens (collagen IV > collagen I (GFOGER); collagen IX)	semaphorin 7A
α 2 β 1 (CD49b, VLA2)	1181 aa		X	collagens (collagen I >collagen IV (GFOGER); collagen IX)	E-cadherin, endorepellin
α 3 β 1 (CD49c, VLA3)	1051 aa, splice variants α 3 A and α 3B	X		laminins (LN-511>LN-332>LN-211)	
α 4 β 1 (CD49d, VLA4)	1038 aa			fibronectin VCAM-1	
α 5 β 1 (CD49e, VLA5)	1049 aa	X		fibronectin (RGD)	endostatin
α 6 β 1 (CD49f, VLA6)	1073 aa, splice variants α 6A and α 6B	X		laminins (LN-511>LN-332>LN-111>LN-411)	
α 7 β 1	1137 aa, splice variants X1, X2, α 7A, α 7B	X		α 7X1 β 1: laminins (LN-511>LN-211>LN-411>LN-111) α 7X2 β 1: laminins (LN-111>LN-211>LN-511)	
α 8 β 1	1025 aa	X		fibronectin, vitronectin, nephronectin (RGD)	
α 9 β 1	1035 aa			tenascin-C, VEGF-C, VEGF-D	
α 10 β 1	1167 aa		X	collagens (collagen IV> collagen VI >collagen II (GFOGER); collagen IX)	
α 11 β 1	1188 aa, inserted domain 21 aa		X	collagens (collagen I>collagen IV (GFOGER); collagen IX)	
α L β 2 (CD11a)	1170 aa		X	ICAM-1, -2, -3, -5	
α M β 2 (CD11b)	1153 aa		X	iC3b, fibrinogen + more	
α X β 2 (CD11c)	1163 aa		X	iC3b, fibrinogen + more	
α D β 2 (CD11d)	1162 aa		X	ICAM-3, VCAM-1	
α I1 β 3 (CD41, GpIIb)	1039 aa	X		fibrinogen, fibronectin (RGD)	
α 6 β 4		X		laminins (LN-332, LN-511)	
α v β 1 (CD51)	1048 aa	X		fibronectin, vitronectin (RGD)	
α v β 3		X		vitronectin, fibronectin, fibrinogen (RGD)	tumstatin
α v β 5		X		vitronectin (RGD)	
α v β 6		X		fibronectin, TGF- β -LAP (RGD)	
α v β 8		X		vitronectin, TGF- β -LAP (RGD)	
α E β 7 (CD103, HML-1)	1178 aa	X	X	E-cadherin	
α 4 β 7				MadCAM-1, fibronectin, VCAM-1	

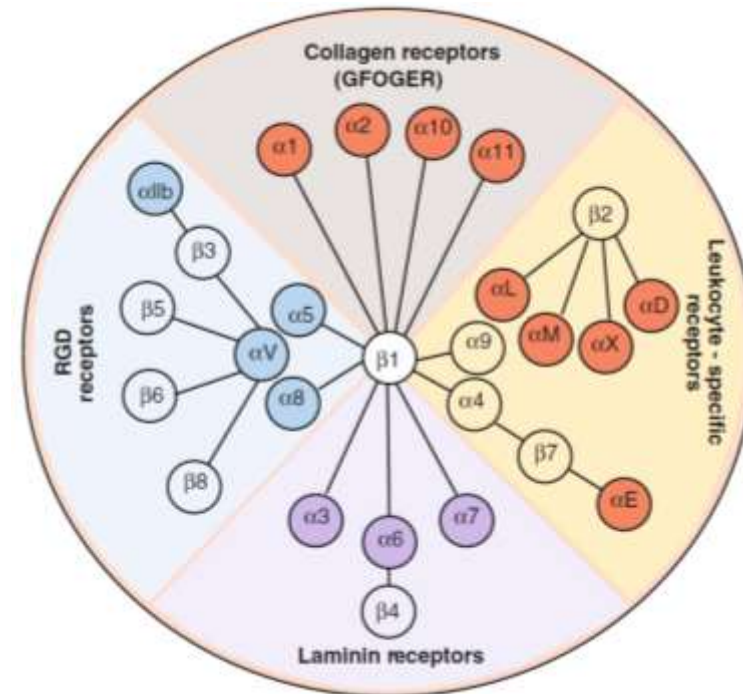
Integrini

Integrin β chain	Characteristics	Notes
β 1 (CD 29, Gp IIa)	798 aa, splice variants β 1A, β 1B, β 1C, β 1D	Splice variants β 1B and β 1C not present in mice, minor variants with unclear function
β 2 (CD18)	769 aa	
β 3 (CD 61, GP IIIa)	788 aa, splice variants β 3A, β 3B and β 3C	β 3A major form
β 4 (CD104, TSP-180)	1875 aa, splice variants β 4A-E	β 4A and β 4B major forms, similar function
β 5	799 aa, splice variants β 5A, β 5B	Both splice variants have similar functions
β 6	788 aa	
β 7 (LPAM-1, β P)	798 aa	
β 8	769 aa	

Integrini

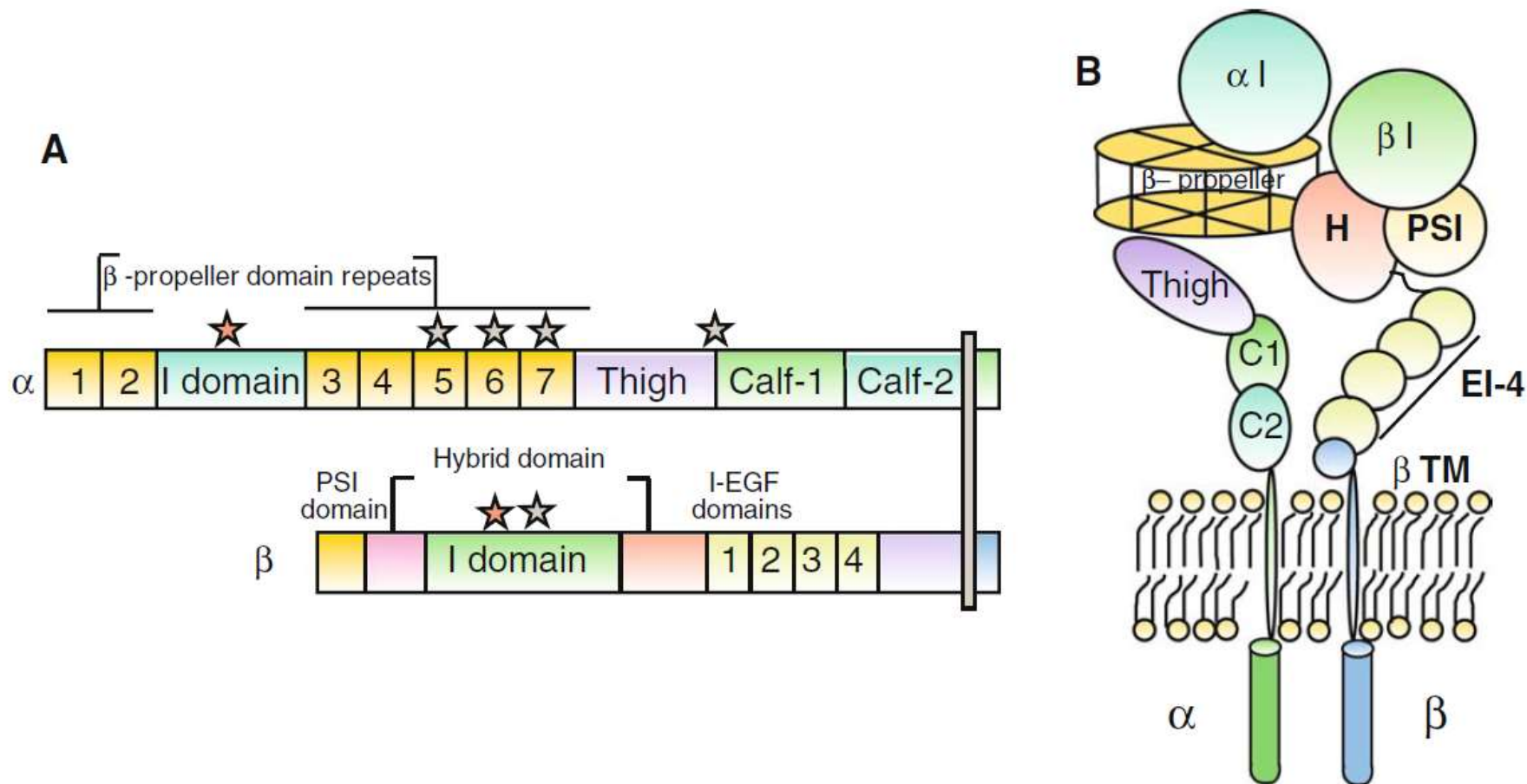
Integrin extracellular ligands

Ligand	Integrin
Adenovirus penton base protein	$\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$
Bone sialoprotein	$\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$
<i>Borrelia burgdorferi</i>	$\alpha_{IIb}\beta_3$
<i>Candida albicans</i>	$\alpha_M\beta_2$
Collagens	$\alpha_1\beta_1$, $\alpha_2\beta_1$, $\alpha_{11}\beta_1$, $\alpha_{IIb}\beta_3$
Denatured collagen	$\alpha_5\beta_1$, $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_{IIb}\beta_3$
Cytotactin/tenascin-C	$\alpha_8\beta_1$, $\alpha_9\beta_1$, $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_6$
Decorsin	$\alpha_{IIb}\beta_3$
Disintegrins	$\alpha_v\beta_3$, $\alpha_{IIb}\beta_3$
E cadherin	$\alpha_E\beta_7$
Echovirus 1	$\alpha_2\beta_1$
Epiligrin	$\alpha_3\beta_1$
Factor X	$\alpha_M\beta_2$
Fibronectin	$\alpha_2\beta_1$, $\alpha_3\beta_1$, $\alpha_4\beta_1$, $\alpha_4\beta_7$, $\alpha_5\beta_1$, $\alpha_8\beta_1$, $\alpha_v\beta_1$, $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$, $\alpha_v\beta_6$, $\alpha_v\beta_8$, $\alpha_{IIb}\beta_3$
Fibrinogen	$\alpha_5\beta_1$, $\alpha_M\beta_2$, $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_x\beta_2$, $\alpha_{IIb}\beta_3$
HIV Tat protein	$\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$
iC3b	$\alpha_M\beta_2$, $\alpha_x\beta_2$
ICAM-1	$\alpha_L\beta_2$, $\alpha_M\beta_2$
ICAM-2,3,4,5	$\alpha_L\beta_2$
Invasin	$\alpha_3\beta_1$, $\alpha_4\beta_1$, $\alpha_5\beta_1$, $\alpha_6\beta_1$
Laminin	$\alpha_1\beta_1$, $\alpha_2\beta_1$, $\alpha_6\beta_1$, $\alpha_7\beta_1$, $\alpha_6\beta_4$, $\alpha_v\beta_3$
MAdCAM-1	$\alpha_4\beta_7$
Matrix metalloproteinase-2	$\alpha_v\beta_3$
Neutrophil inhibitory factor	$\alpha_M\beta_2$
Osteopontin	$\alpha_v\beta_3$
Plasminogen	$\alpha_{IIb}\beta_3$
Prothrombin	$\alpha_v\beta_3$, $\alpha_{IIb}\beta_3$
Sperm fertilin	$\alpha_6\beta_1$
Thrombospondin	$\alpha_3\beta_1$, $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_{IIb}\beta_3$
VCAM-1	$\alpha_4\beta_1$, $\alpha_4\beta_7$
Vitronectin	$\alpha_v\beta_1$, $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$, $\alpha_{IIb}\beta_3$
von Willebrand factor	$\alpha_v\beta_3$, $\alpha_{IIb}\beta_3$



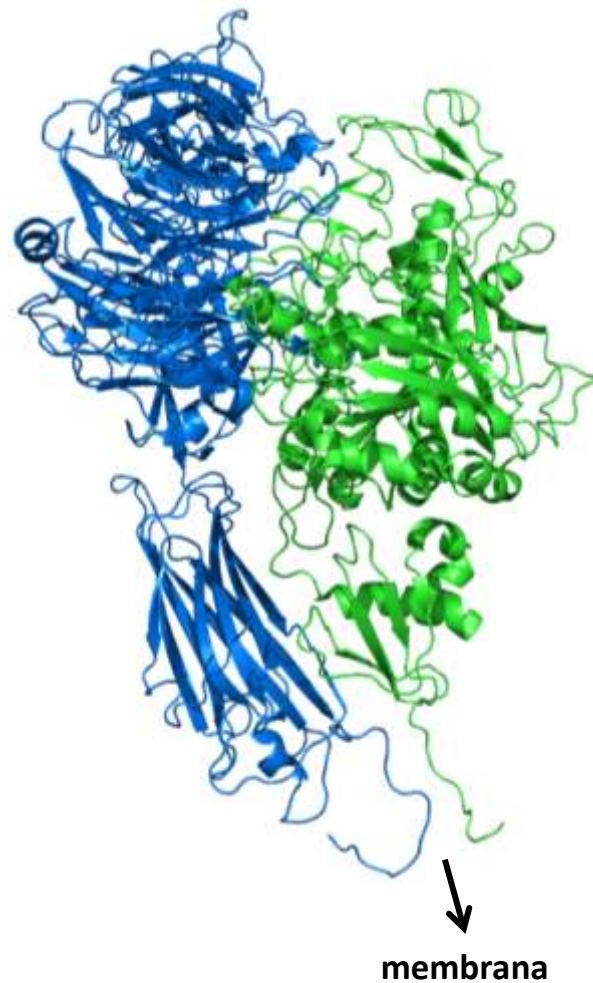
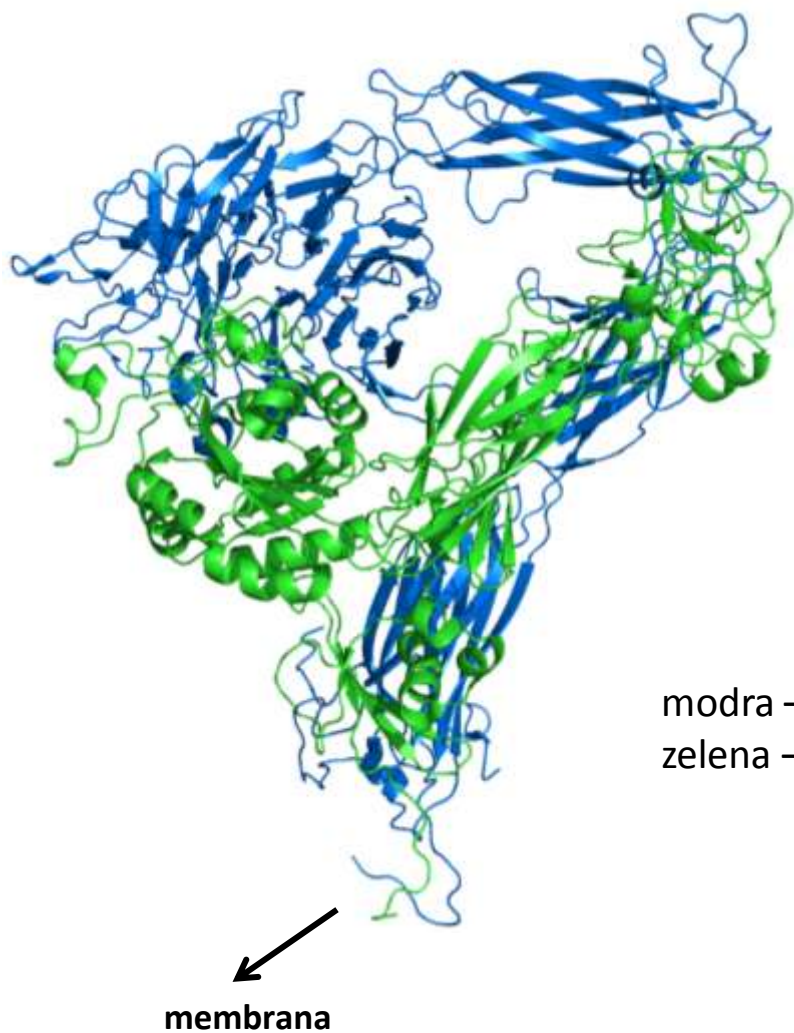
Integrini

So poglavitna skupina molekul, ki regulira vezavo celic na zunajcelični matriks. So $\alpha\beta$ heterodimeri.



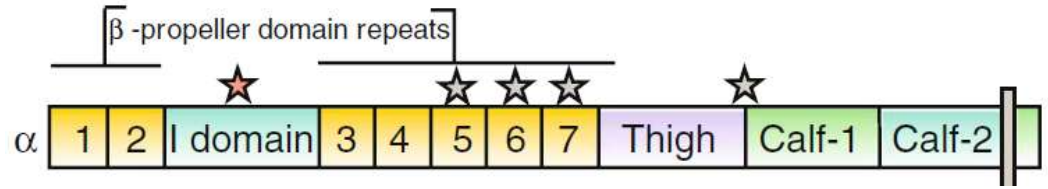
Integrini

Struktura integrina $\alpha V\beta 3$:

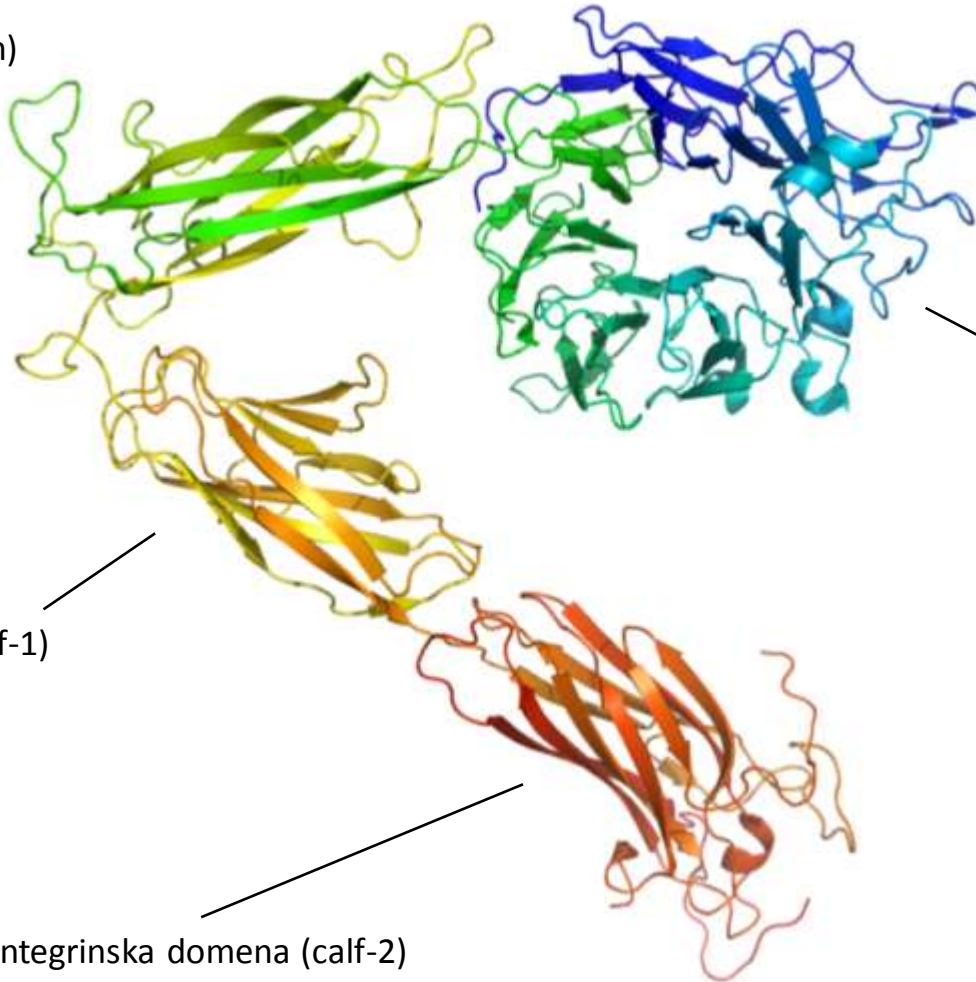


Integrini

Struktura integrina $\alpha V\beta 3$ – α podenota



integrinska domena (thigh)



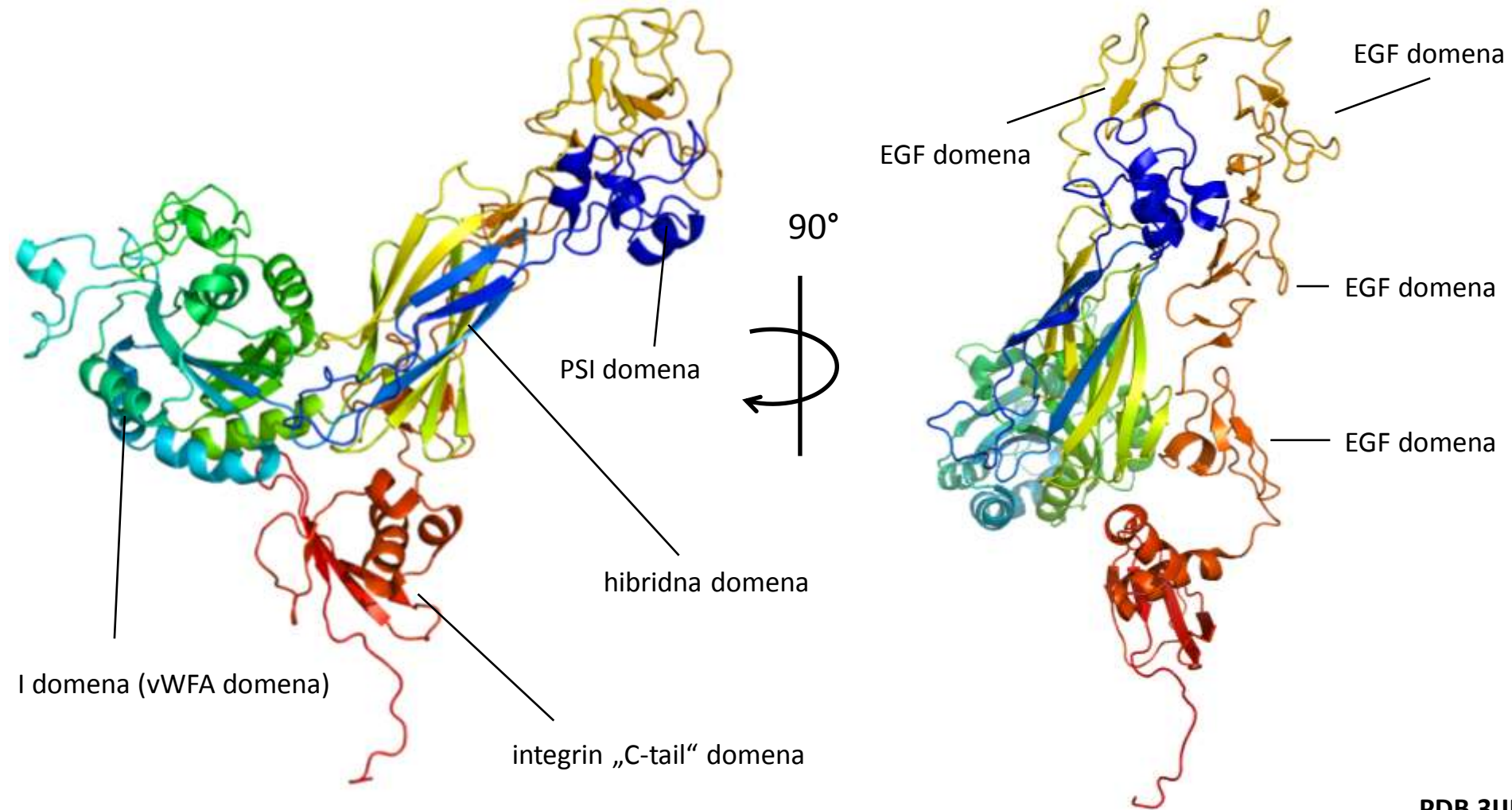
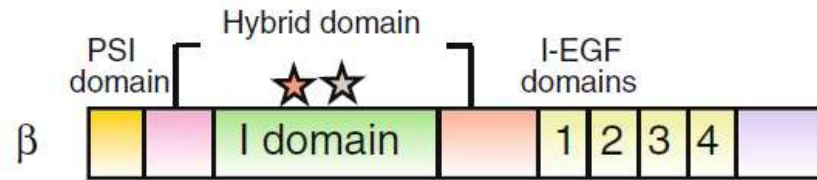
7-krilni beta propeler

integrinska domena (calf-1)

integrinska domena (calf-2)

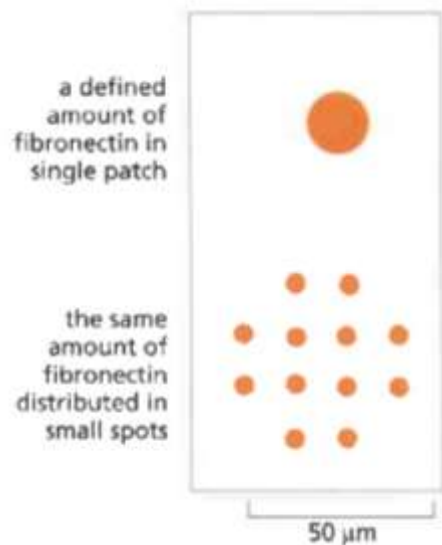
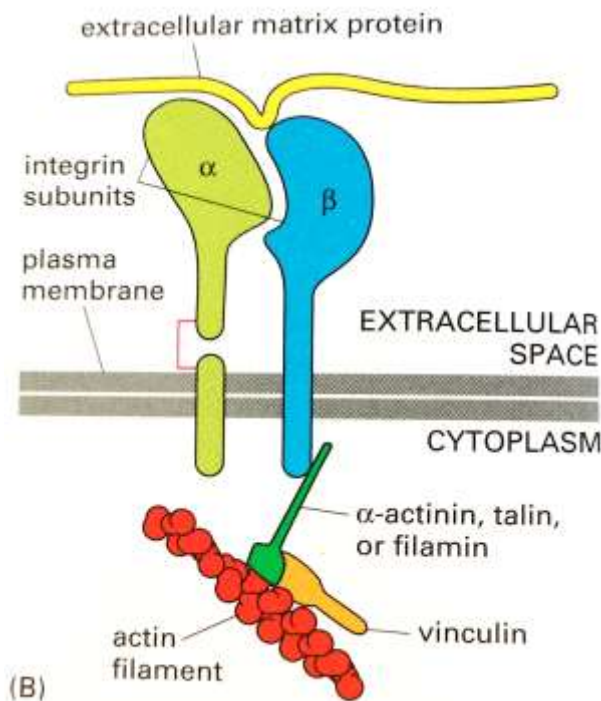
Integrini

Struktura integrina $\alpha V\beta 3 - \beta$ podenota:



Integrini

Kritična vloga integrinov je tvorba fokalnih stikov – povezave med citoskeletom in ECM. Pri mnogih tipih celic so le ustrezno pritrjene celice sposobne preživeti in se razmnoževati.



CELL DIES BY APOPTOSIS



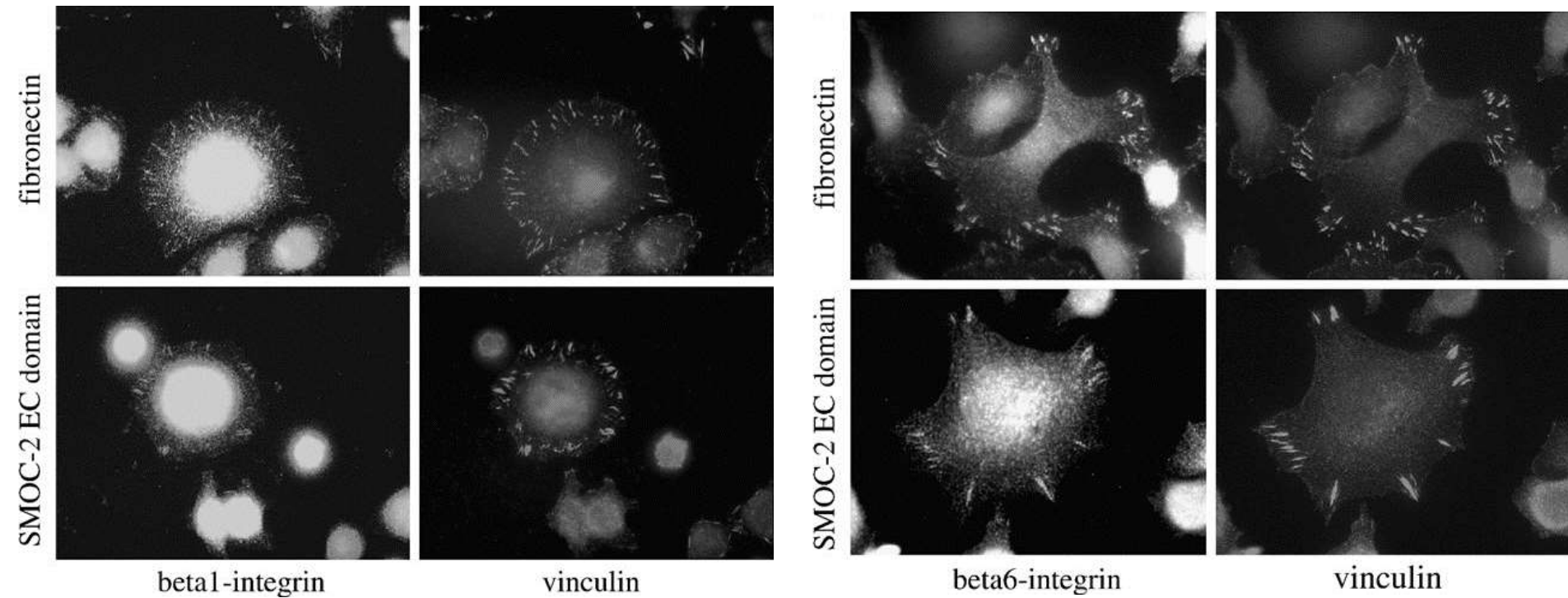
CELL SPREADS, SURVIVES, AND GROWS

fokalni stik

Integrini

Kritična vloga integrinov je tvorba fokalnih stikov – povezave med citoskeletom in ECM. Pri mnogih tipih celic so le ustrezno pritrjene celice sposobne preživeti in se razmnoževati.

Test tvorbe fokalnega stika – adhezija celic na podlago, prekrito z adhezivnim proteinom + kolokalizacija integrinov z vinkulinom.

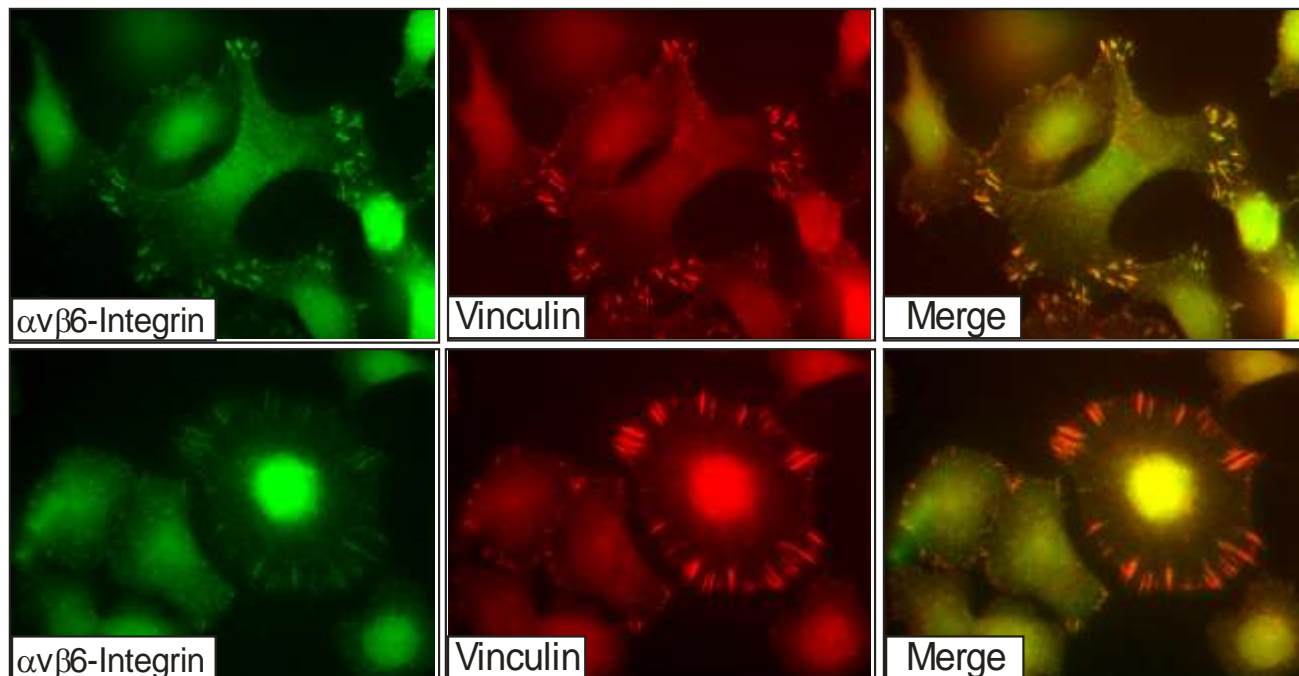


Integrini

Kritična vloga integrinov je tvorba fokalnih stikov – povezave med citoskeletom in ECM. Pri mnogih tipih celic so le ustrezno pritrjene celice sposobne preživeti in se razmnoževati.

Test tvorbe fokalnega stika – adhezija celic na podlago, prekrito z adhezivnim proteinom + kolokalizacija integrinov z vinkulinom.

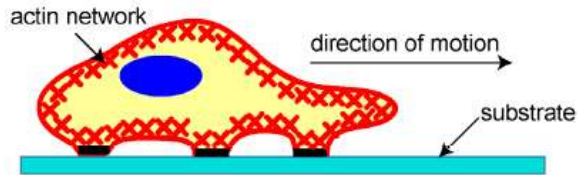
Fibronectin



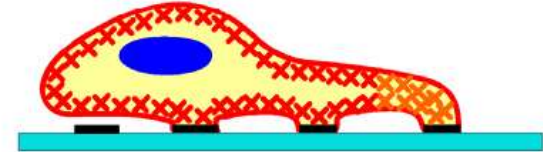
Integrini

Integrini sodelujejo tudi pri migraciji celic.

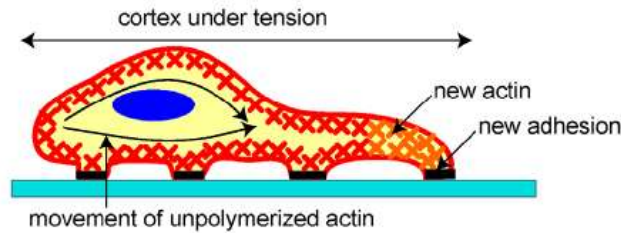
1) Protrusion of the Leading Edge



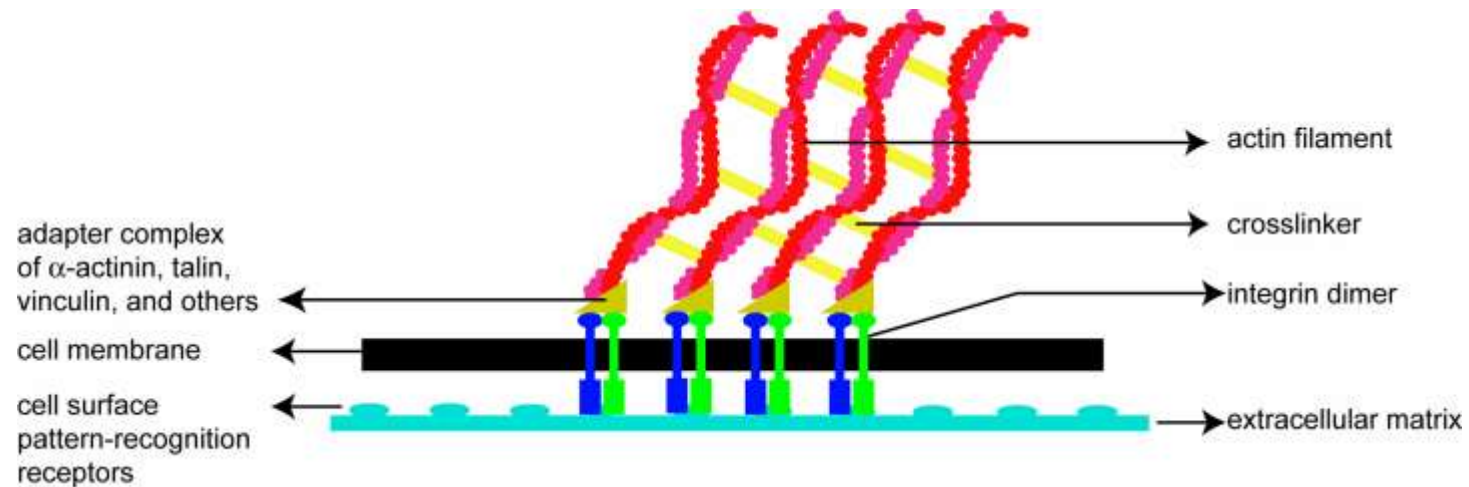
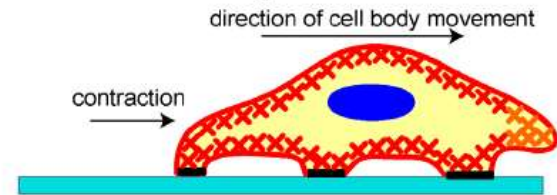
Deadhesion at the Trailing Edge



2) Adhesion at the Leading Edge

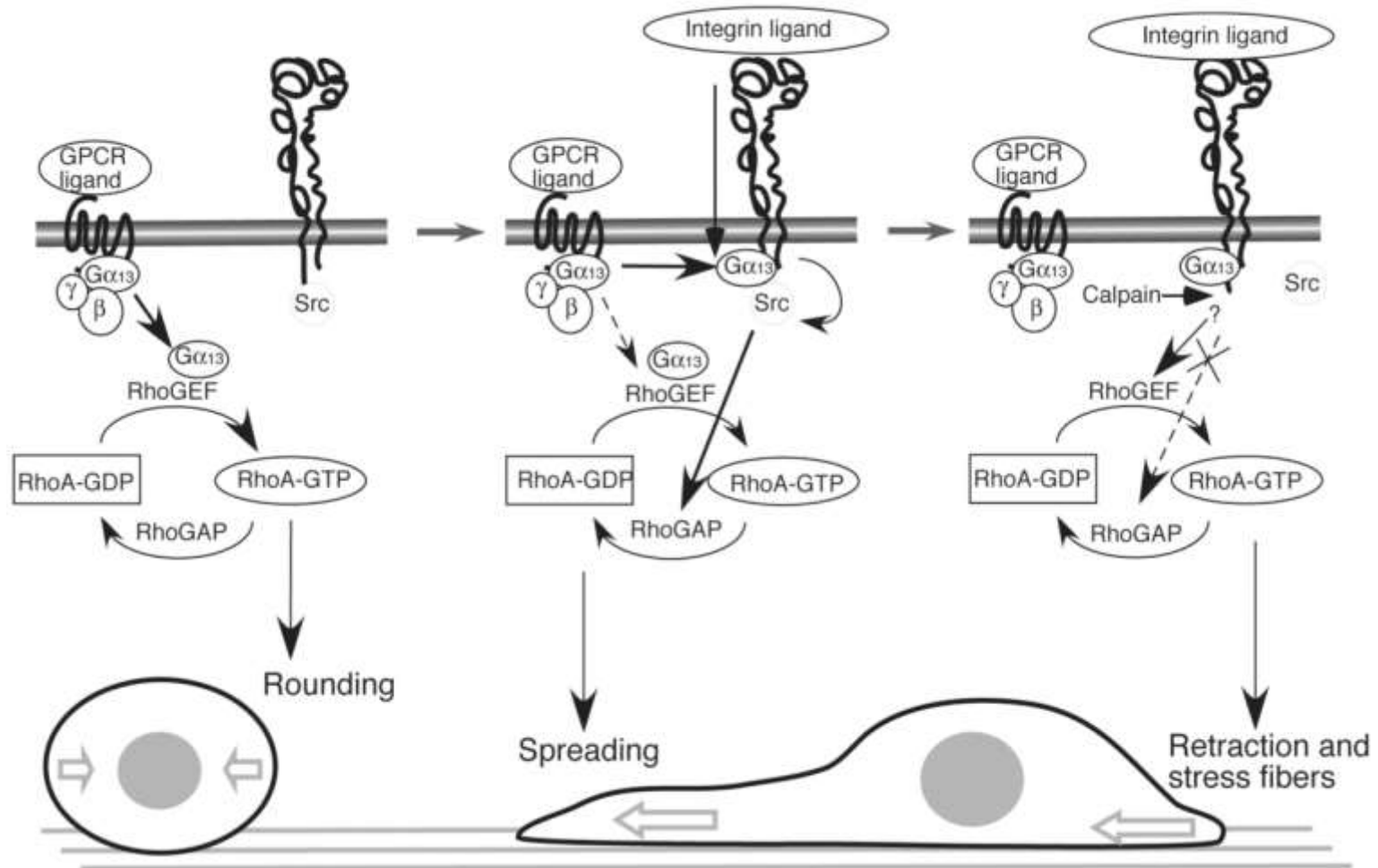


3) Movement of the Cell Body



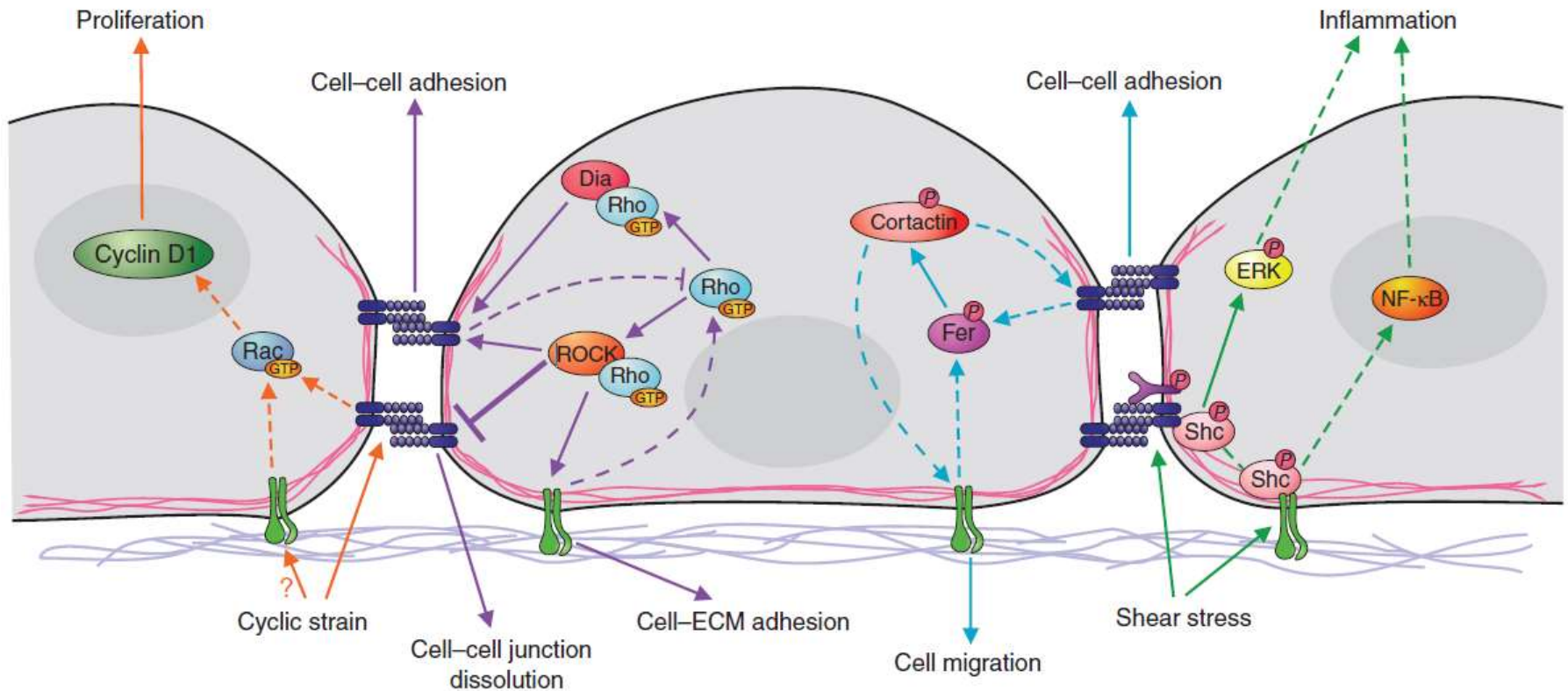
Integrini

Integrini sodelujejo tudi pri migraciji celic. Znotrajcelična regulacija poteka preko GPCR in Rho GTPaze (kemokini!).



Integrini

Integrini lahko delujejo koordinirano s kadherini in s tem sklopijo povezave stike celica-celica in celica-ECM.

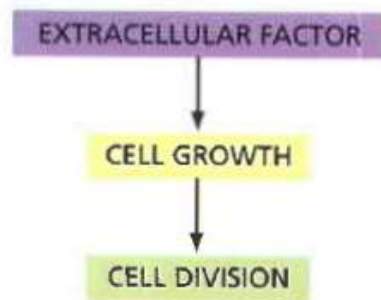


Rast in diferenciacija tkiv

Rast in število celic regulirajo:

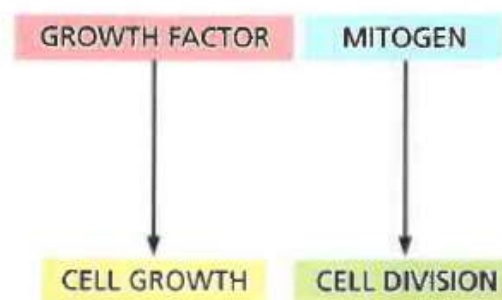
- Mitogeni – stimulirajo delitev celic
- Rastni faktorji – stimulirajo rast celic
- Preživetveni faktorji – zavirajo apoptozo
- Celična smrt

funkcije (in nomenklatura) se pogosto prekrivajo

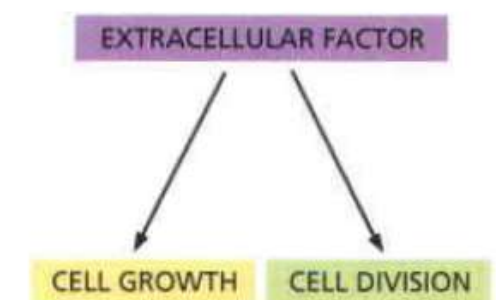


(A)

kvasovke



(B)



(C)

Rastni faktorji, citokini in hormoni

Na molekularnem nivoju delujejo na enak način – topne molekule, ki se z visoko afiniteto vežejo na receptorje na tarčnih celicah. Delujejo pri nizkih koncentracijah.

Rastni faktorji – izražajo se konstitutivno.

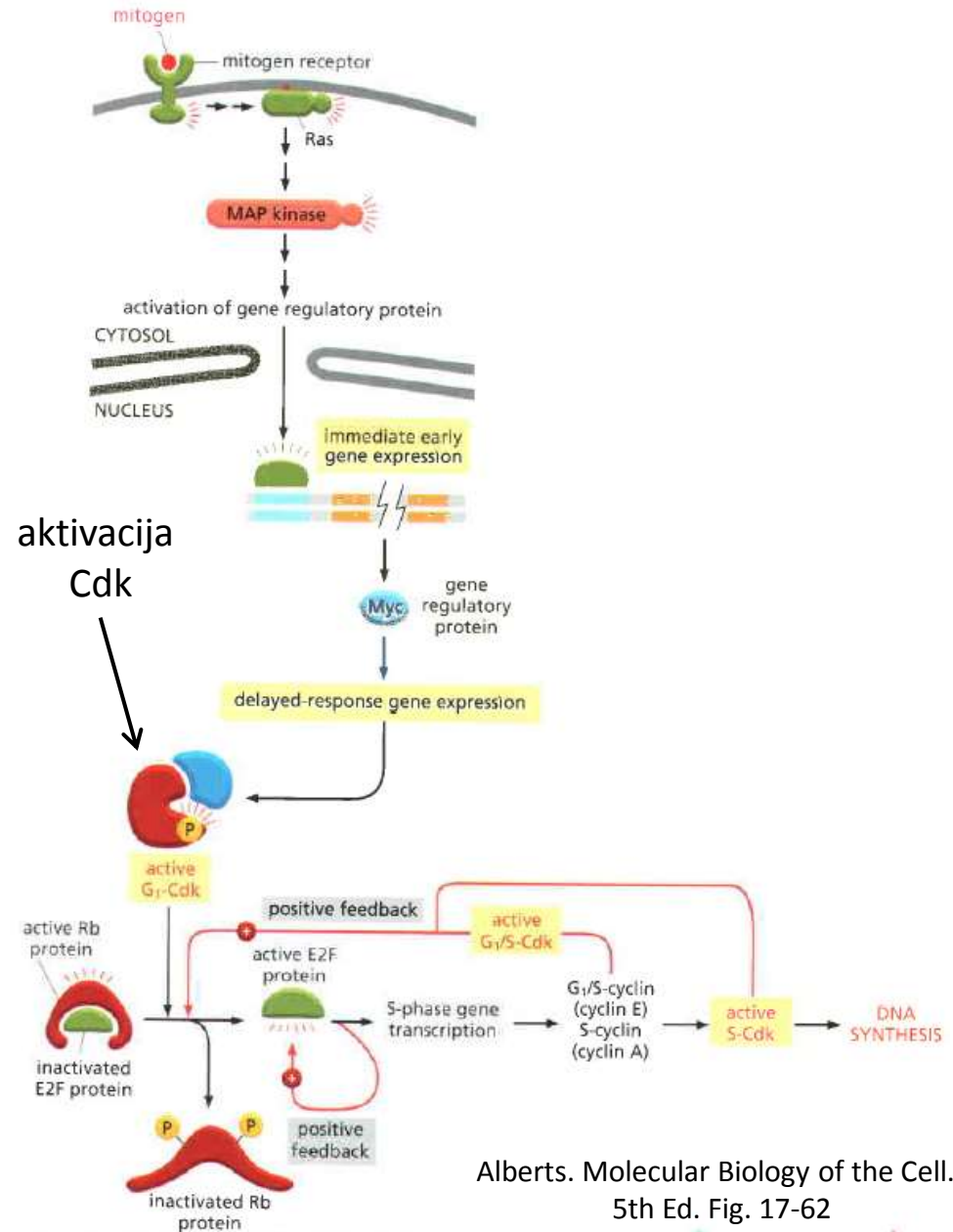
Citokini in *hormoni* se začnejo izražati kot odziv na specifičen signal. Delovanje je časovno omejeno (nekaj ur do nekaj dni).

Hormoni – delujejo pretežno endokrino, proizvajajo jih specifične žleze in delujejo le na specifične celice.

Citokini – delujejo pretežno avtokrino/parakrino, proizvajajo jih in delujejo lahko na veliko različnih vrst celic.

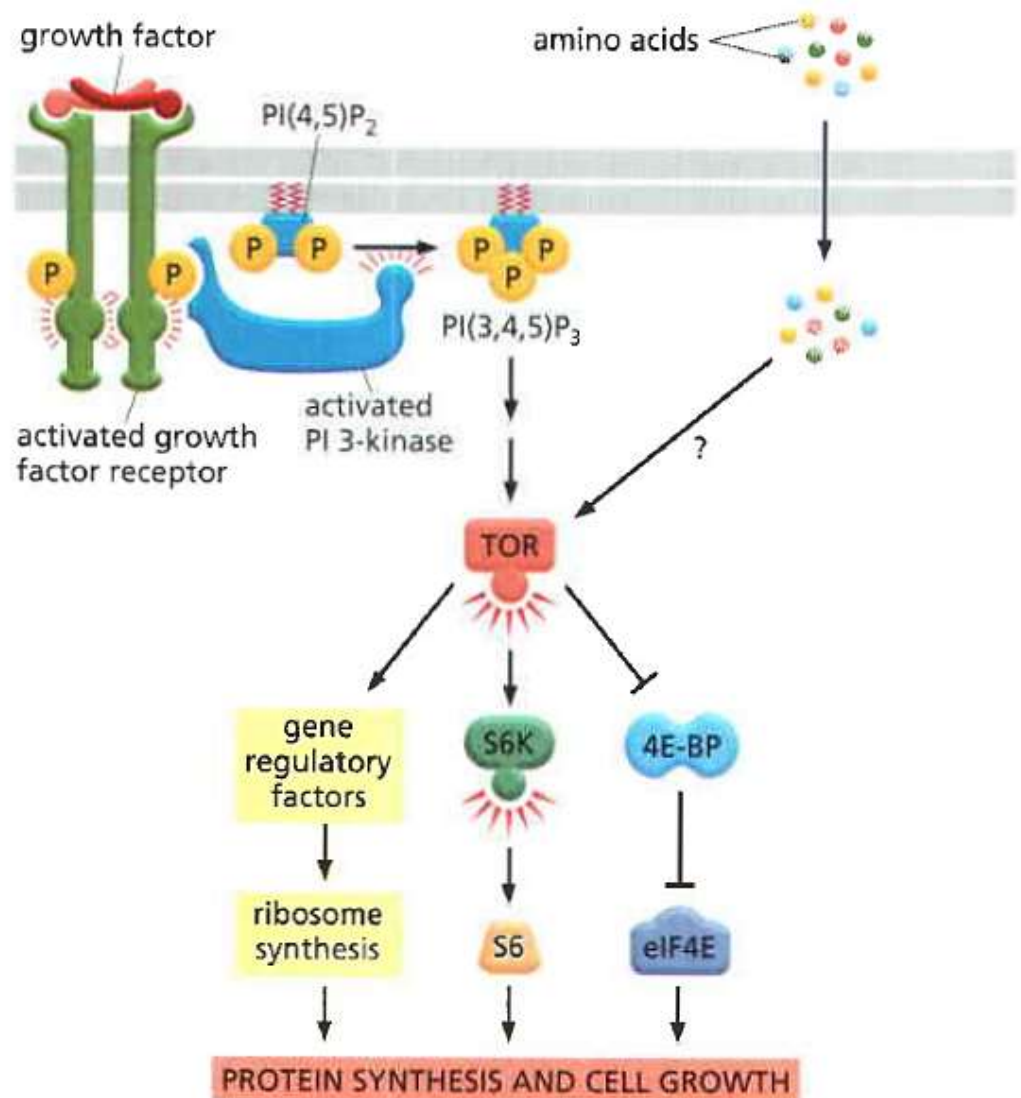
Mitogeni

Mitogeni stimulirajo prehod celic iz G1 v S fazo celičnega cikla.



Rastni faktorji

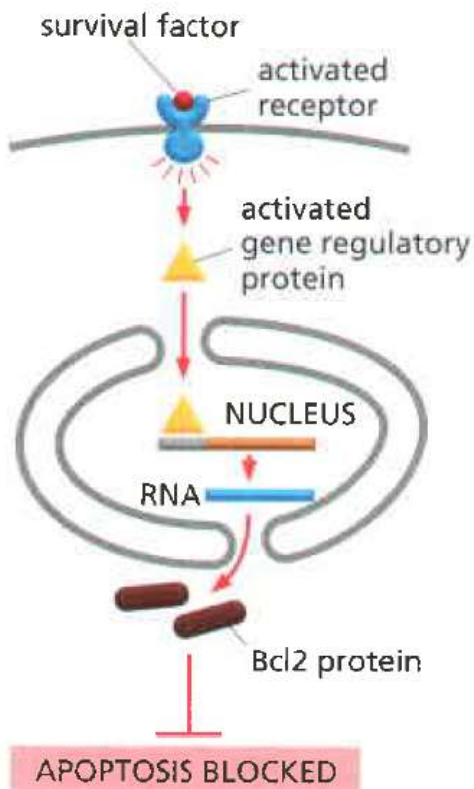
Rastni faktorji stimulirajo sintezo proteinov in celično rast.



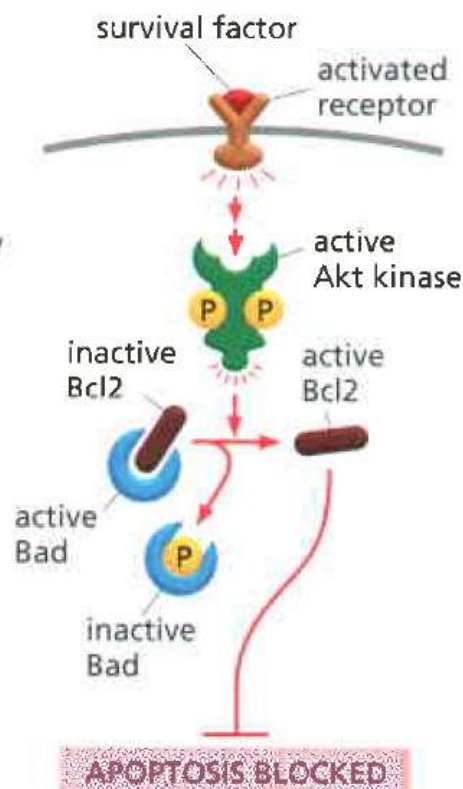
Preživetveni faktorji

Preživetveni faktorji blokirajo apoptozo.

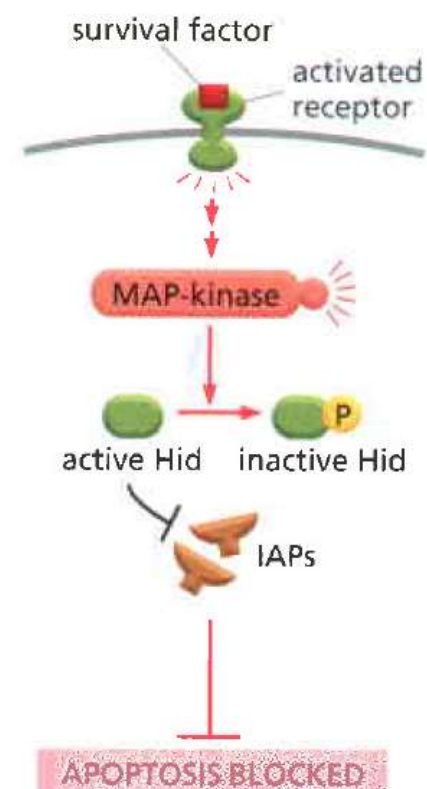
(A) increased production of anti-apoptotic Bcl2 protein



(B) inactivation of pro-apoptotic BH3-only Bcl2 protein



(C) inactivation of anti-IAPs



Citokini

Citokini so majhni (gliko)proteinini, ki regulirajo obnašanje celic imunskega sistema.

Proizvajajo jih lahko levkociti ali druge celice.

Limfokini – izločajo jih limfociti.

Monokini – izločajo jih monociti.

Interlevkini – delujejo med levkociti.

Vežejo se na receptorje na površini tarčne celice in sprožijo znotrajcelični signal.

Na tarčne receptorje se vežejo z visoko afiniteto ($10^{-10} - 10^{-12}$ M)

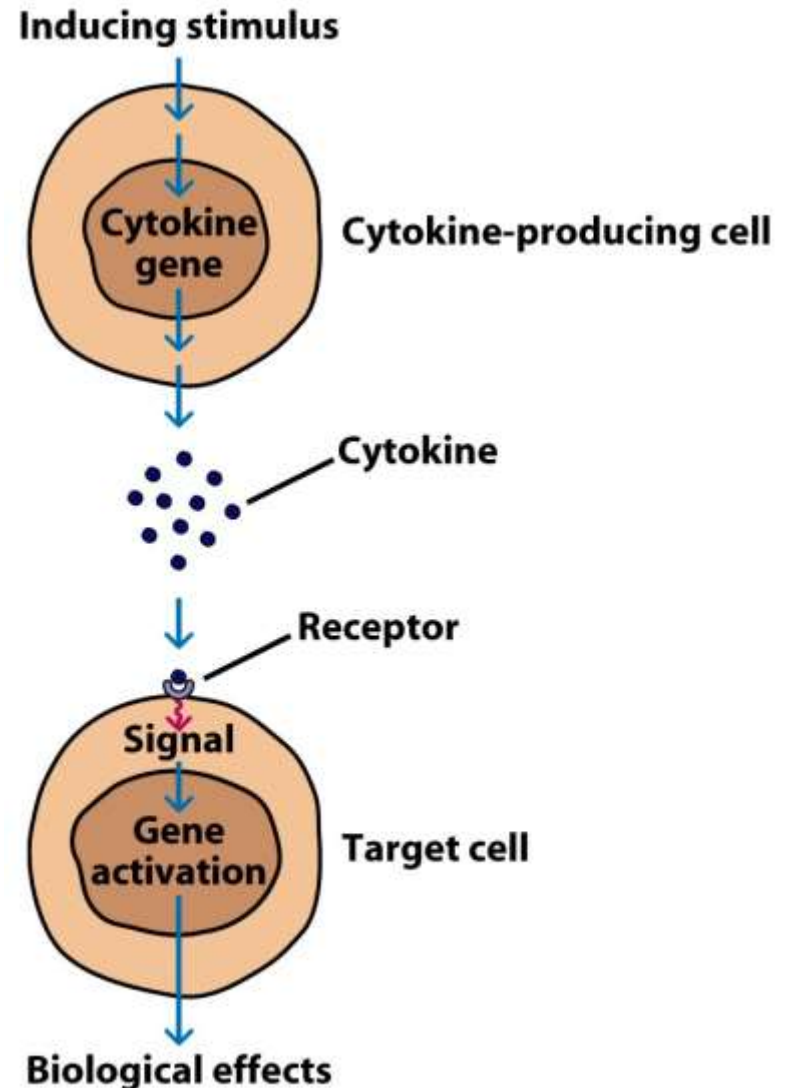


Figure 12-1a
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Citokini

Delovanje citokinov

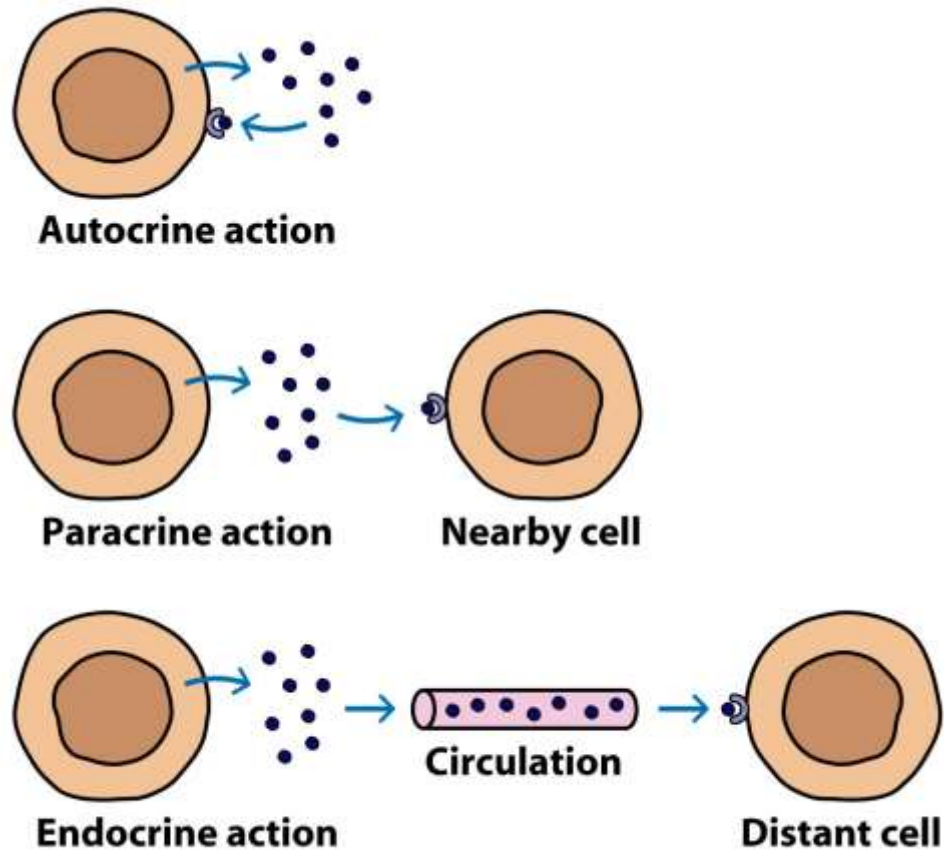


Figure 12-1b
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

Citokini

Lastnosti signaliziranja s citokini

Pleiotropija

Redundanca

Sinergija

Antagonizem

Indukcija kaskad

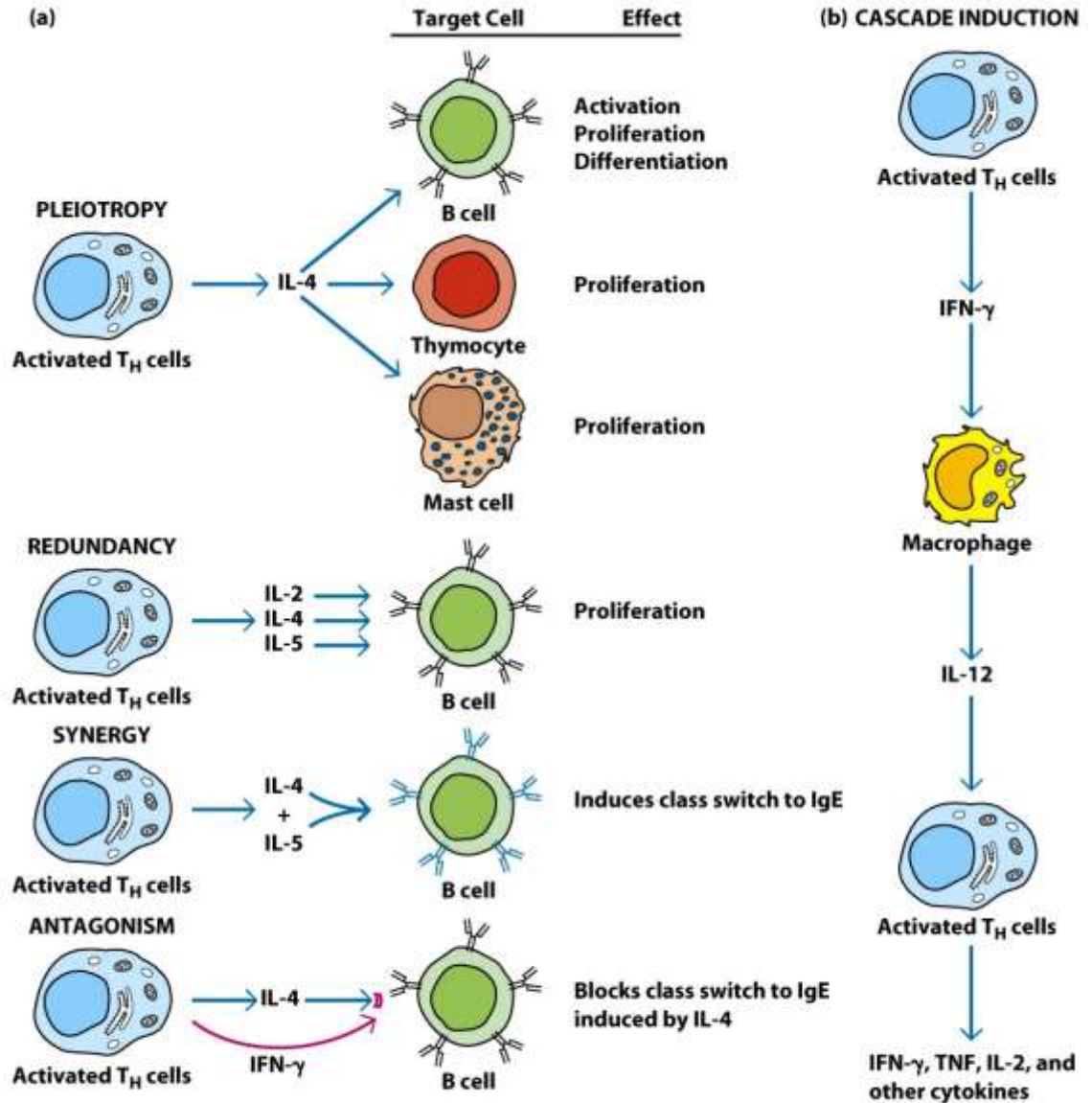


Figure 12-2
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
 © 2007 W. H. Freeman and Company

Citokini

Signaliziranje preko receptojev citokinov

RECEPTOR FAMILY

Class I cytokine receptors (hematopoietin)

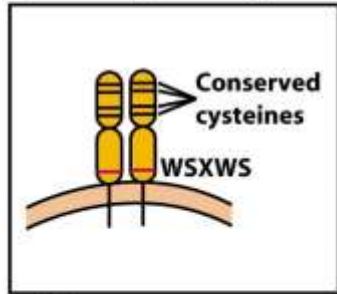


Figure 12-6b
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

LIGANDS

- | | |
|-------|----------------|
| IL-2 | IL-21 |
| IL-3 | IL-23 |
| IL-4 | IL-27 |
| IL-5 | GM-CSF |
| IL-6 | G-CSF |
| IL-7 | OSM |
| IL-9 | LIF |
| IL-11 | CNTF |
| IL-12 | Growth hormone |
| IL-13 | Prolactin |
| IL-15 | |

RECEPTOR FAMILY

Class II cytokine receptors (interferon)

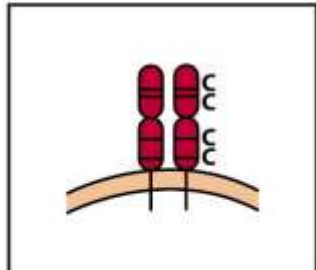


Figure 12-6c
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

LIGANDS

- IFN- α
- IFN- β
- IFN- γ
- IL-10
- IL-19
- IL-20
- IL-22
- IL-24
- IL-26
- IL-28
- IL-29

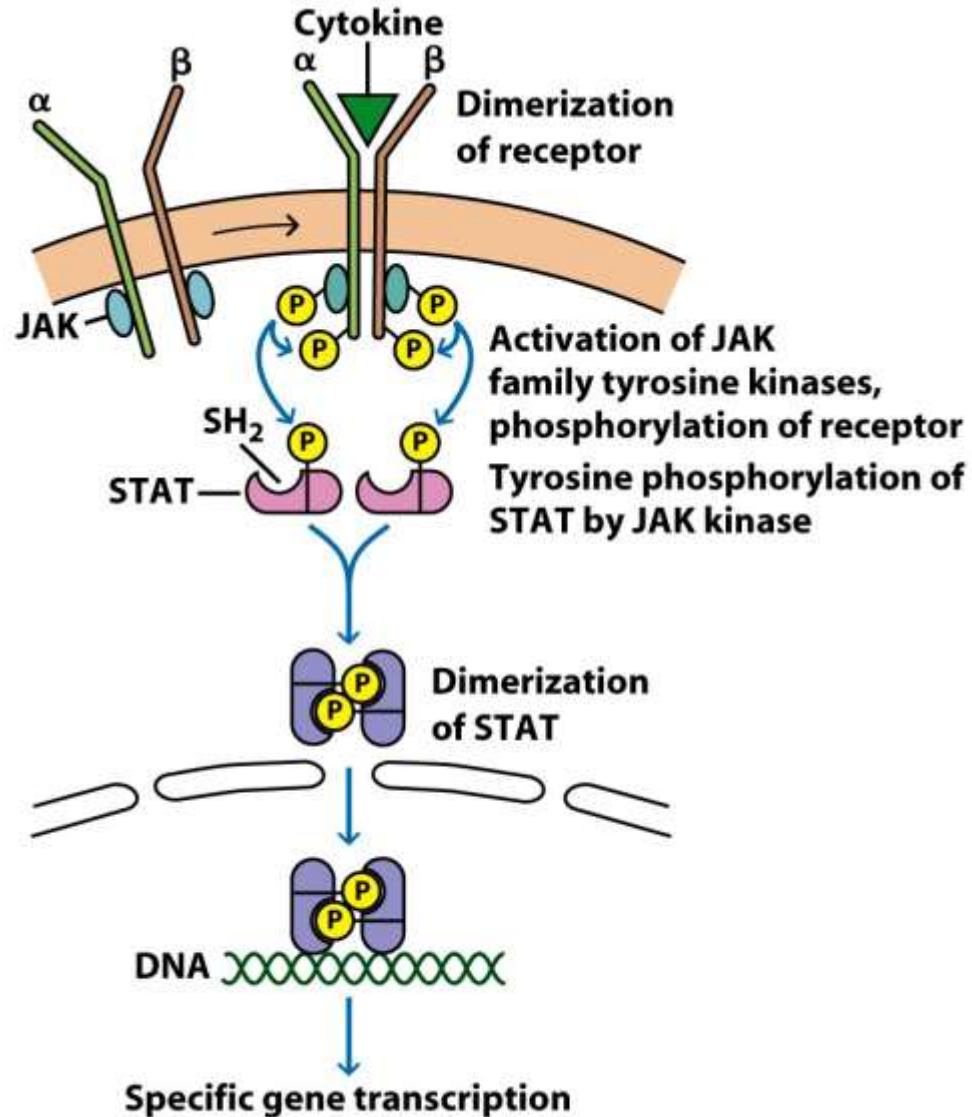
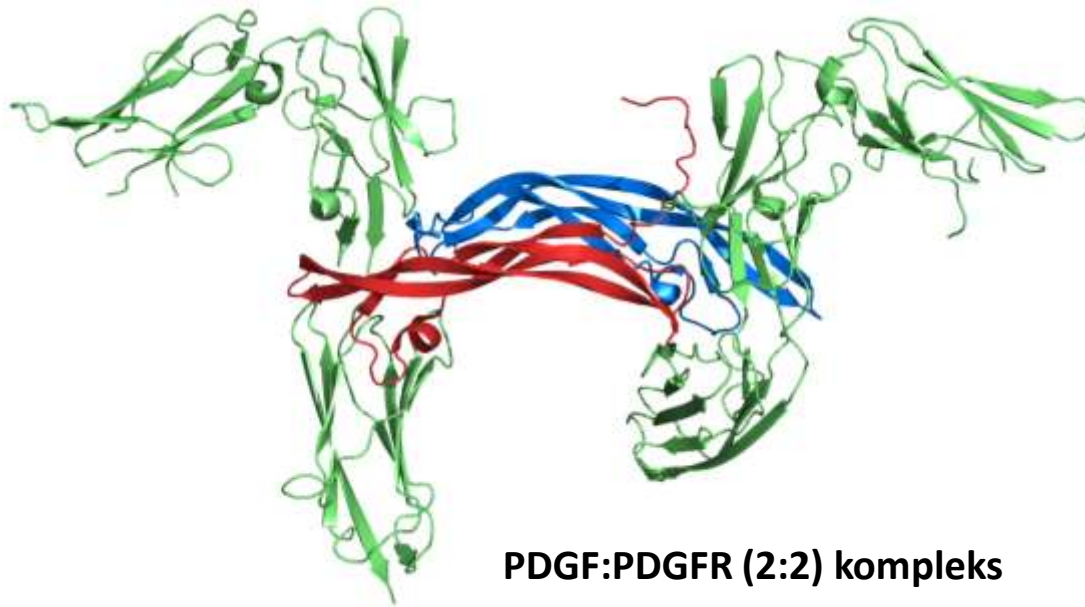


Figure 12-10
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Trombocitni rastni faktor

Trombocitni rastni faktor (PDGF) je bil eden prvih odkritih mitogenov. Najdemo ga v serumu, ne pa v krvni plazmi → iz trombocitov se izloči ob strjevanju krvi. Ima pomembno fiziološko vlogo pri celjenju ran. Obstaja v 5 izooblikah. Za PDGF obstajata 2 različna receptorja (PDGFR, oba spadata med receptorske tirozinske kinaze) z različno specifičnostjo.

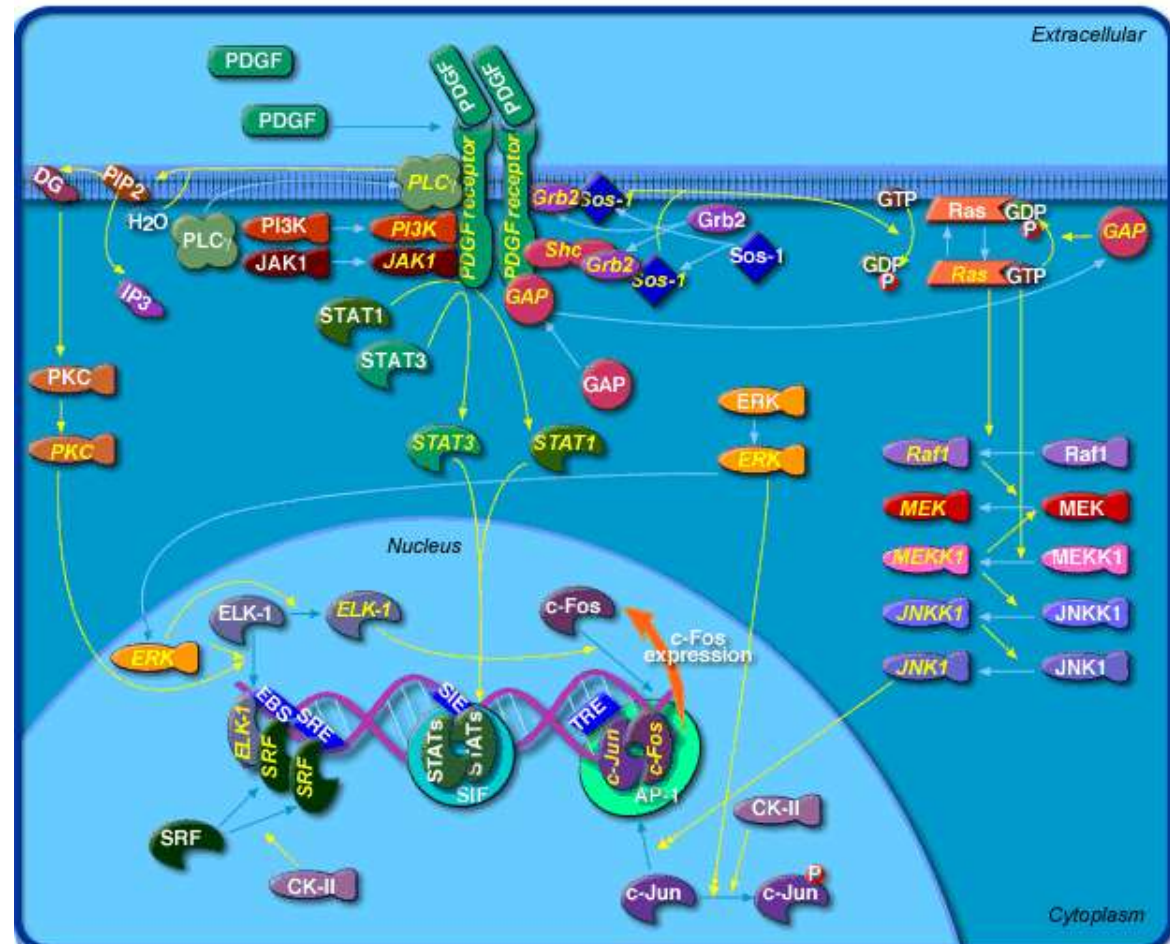


PDGF deluje na širok spekter celic (fibroblasti, glia celice, gladke mišične celice).

Trombocitni rastni faktor

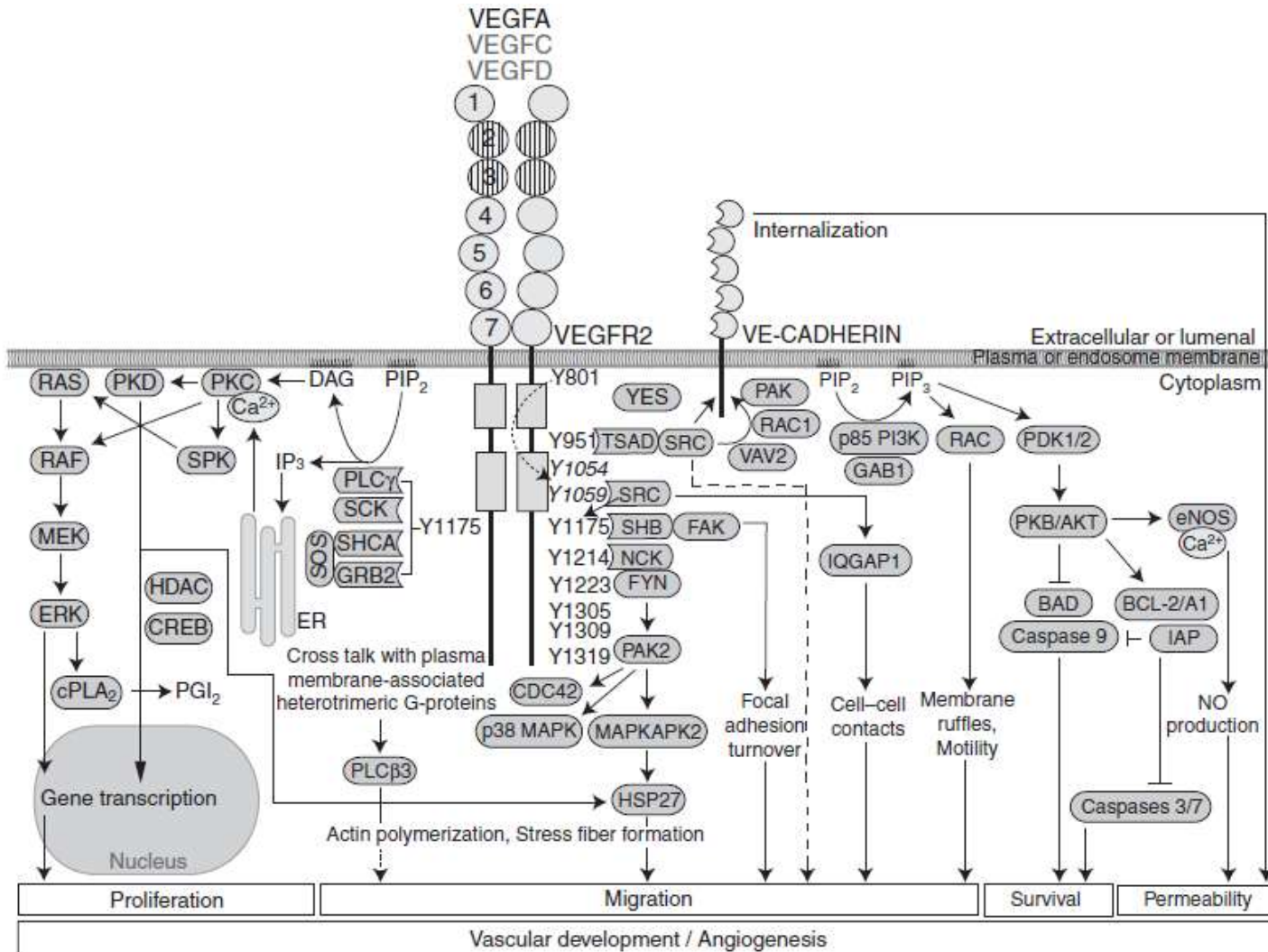
Trombocitni rastni faktor (PDGF) je bil eden prvih odkritih mitogenov. Najdemo ga v serumu, ne pa v krvni plazmi → iz trombocitov se izloči ob strjevanju krvi. Ima pomembno fiziološko vlogo pri celjenju ran. Obstaja v 5 izooblikah. Za PDGF obstajata 2 različna receptorja (PDGFR, oba spadata med receptorske tirozinske kinaze) z različno specifičnostjo.

ERK=MAPK



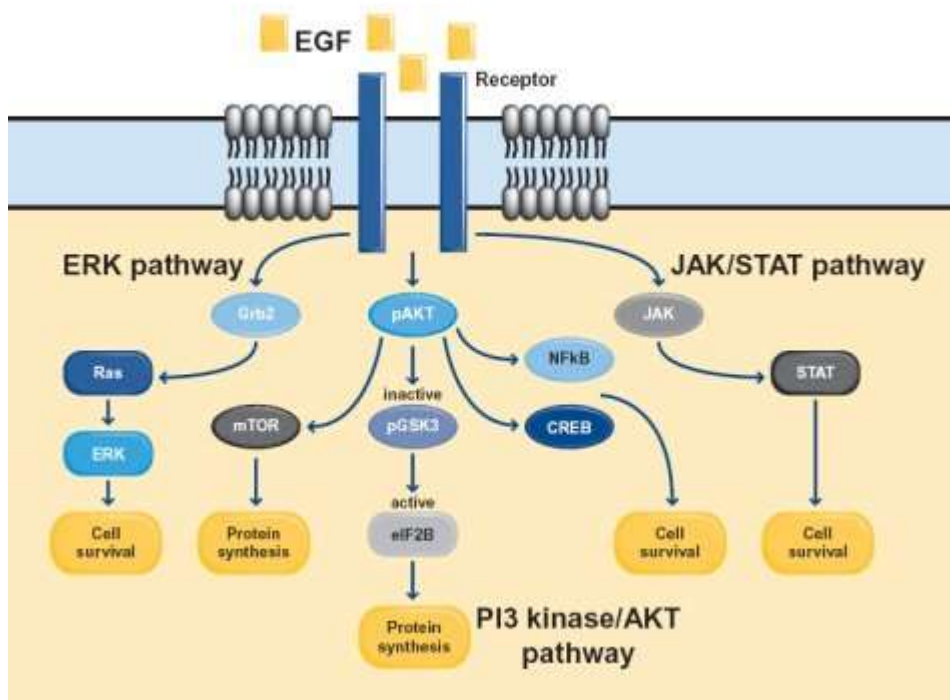
Vaskularni endotelijski rastni faktor

Vaskularni endotelijski rastni faktor (VEGF) je po strukturi in mehanizmu delovanja podoben PDGF. Receptorja VEGF (VEGFR1 in VEGFR2) se nahajata primarno na endotelijskih celicah. Veže *heparin*.



Epidermalni rastni faktor

Epidermalni rastni faktor (EGF): receptor (EGFR) se nahaja zlasti na epiteljskih celicah (ter nekaterih drugih). Aktivira se z dimerizacijo in vpliva na diferenciacijo, rast in preživetje celic. Receptor je iz družine ErbB receptorjev. EGF proizvajajo epiteljske celice, trombociti, makrofagi ter številne tumorske celice.



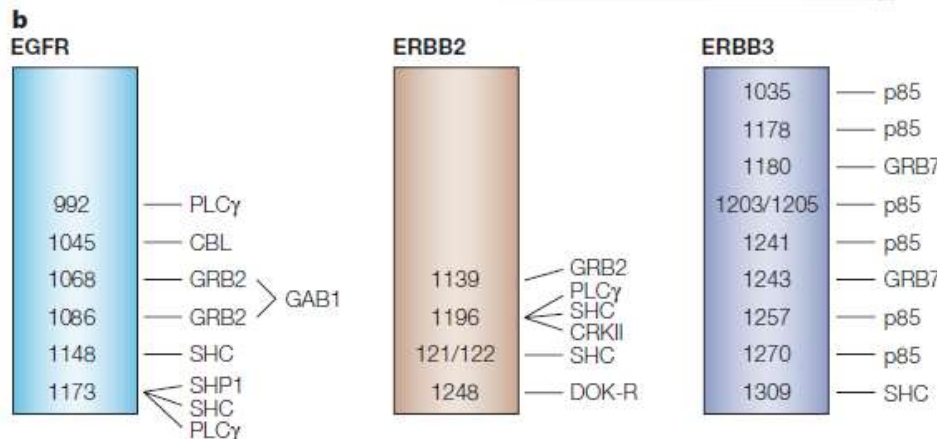
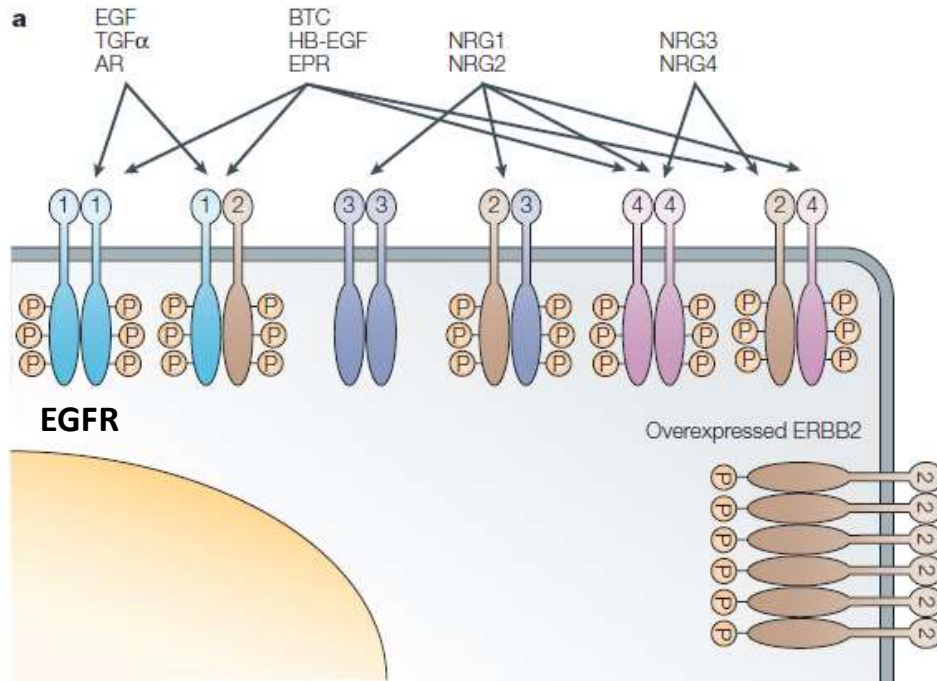
<http://www.abcam.com>

ERK pot – aktivacija MAP kinaz



Receptorji ErbB

ErbB receptorji vežejo EGF in homologne rastne faktorje.



TGF α – transformirajoči rastni faktor α proizvajajo makrofagi, živčne celice, keratinociti, hipofiza. Stimulira proliferacijo epitelijskih in živčnih celic.

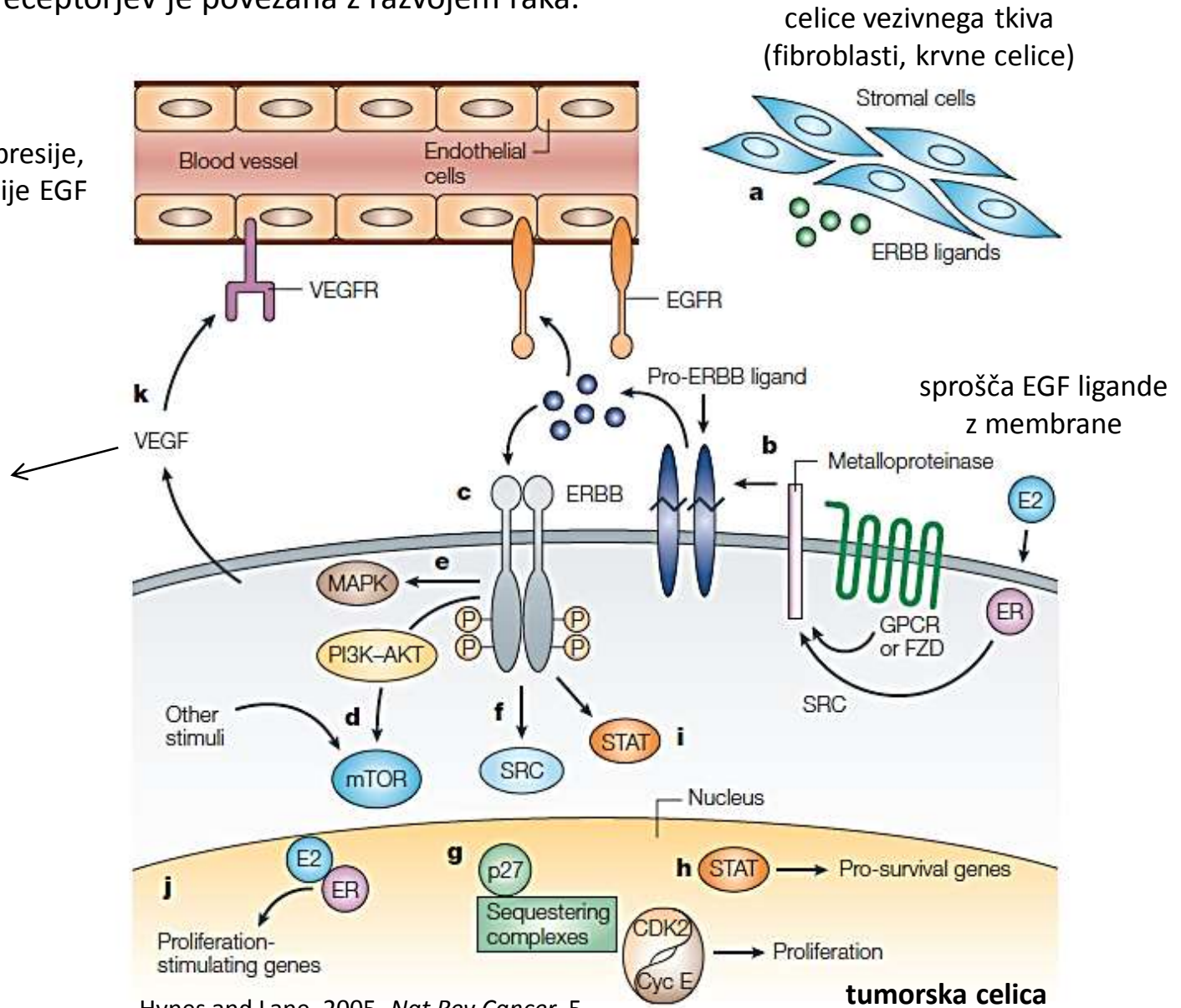
AR – amfiregulin
 BTC – betacelulin
 HB-EGF – heparin vezaven EGF
 EPR - epiregulin
 NRG - neuregulini

Receptorji ErbB

Povišana aktivnost ErbB receptorjev je povezana z razvojem raka.

zaradi mutacij, povišane ekspresije, avtokrine/parakrine produkcije EGF ligandov

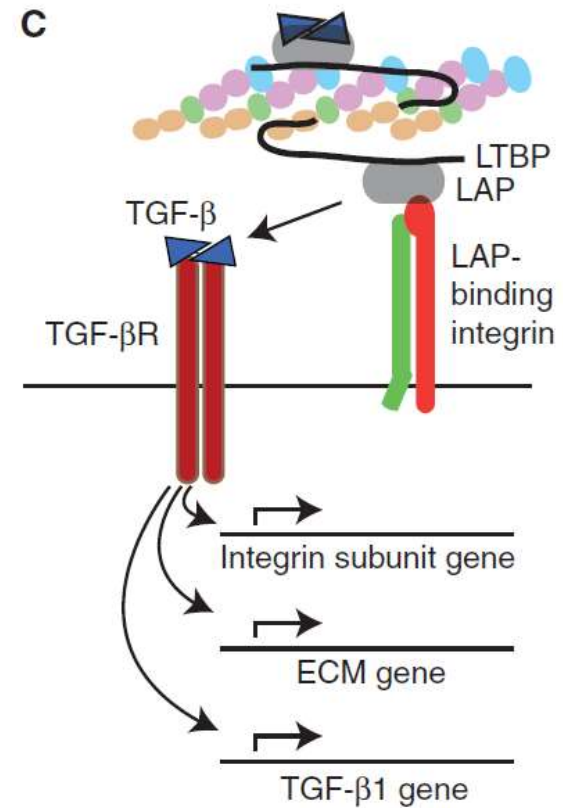
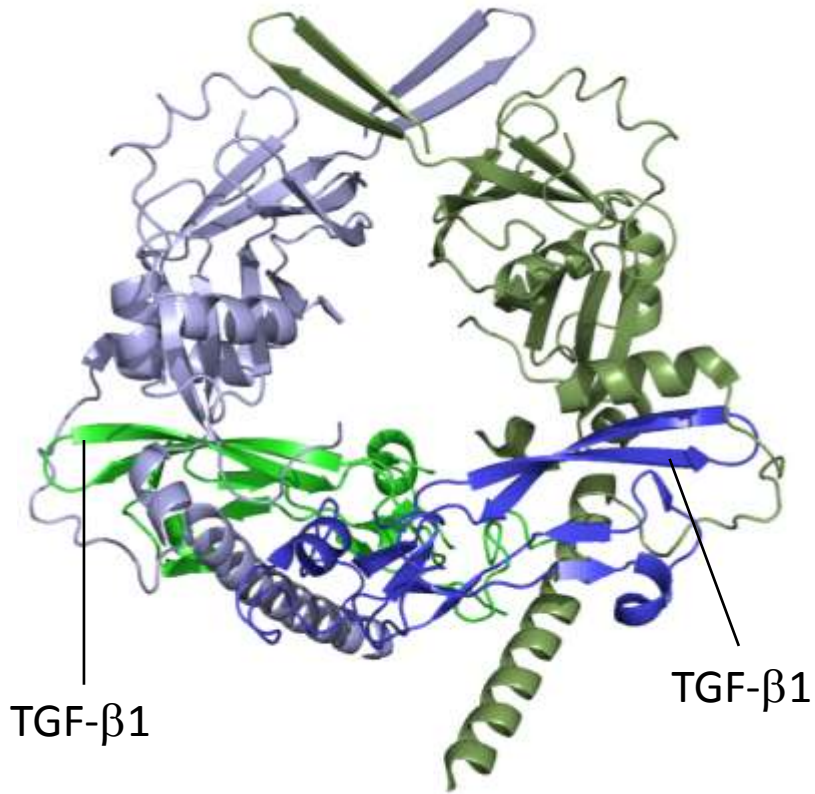
stimulira angiogenezo



tumorska celica

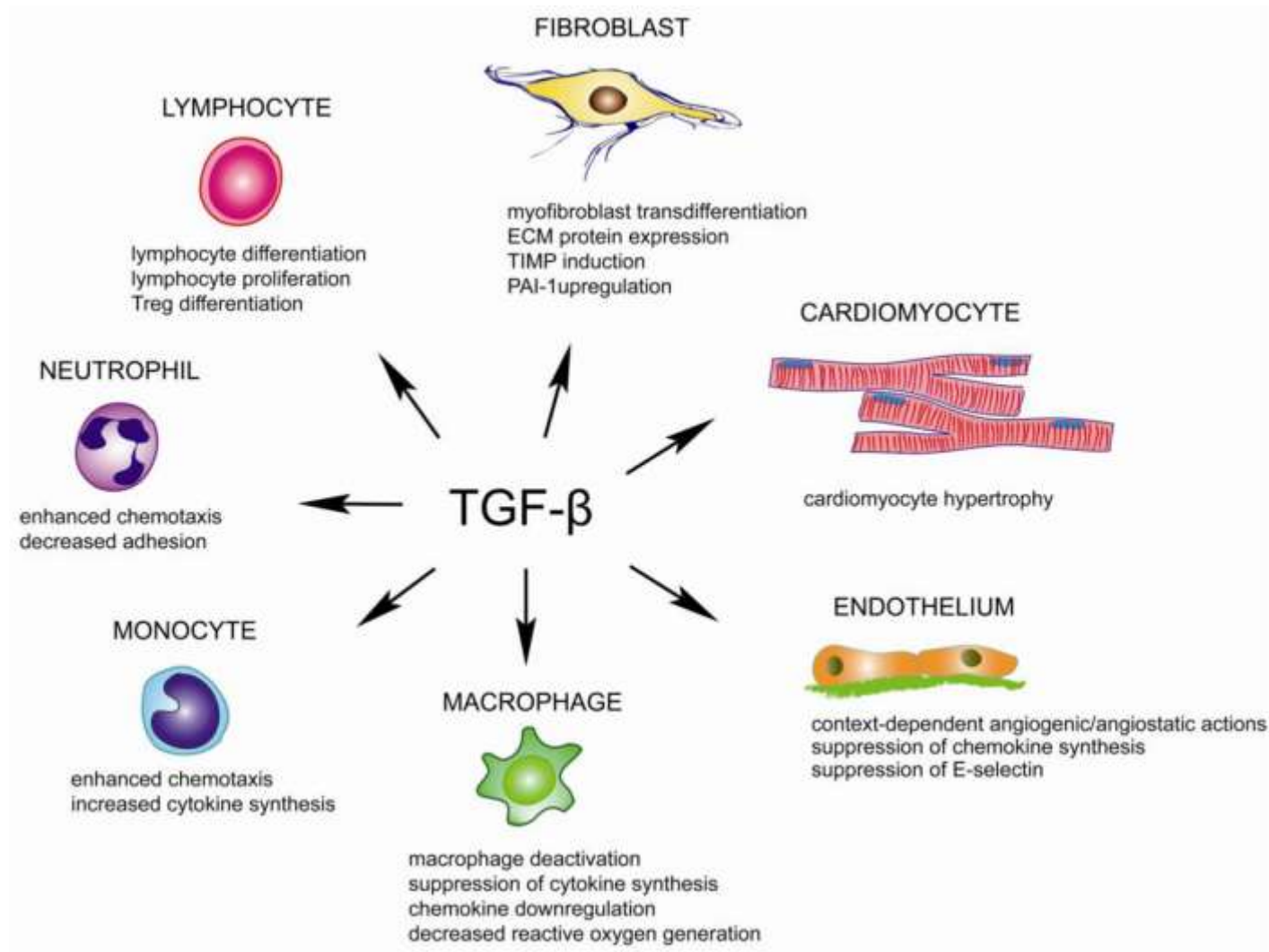
TGF- β

Transformirajoči rastni faktor β (TGF- β) spada v istoimensko naddružino rastnih faktorjev in obstaja v vsaj treh izooblikah. V ECM se nahaja v latentni dimerni pro-obliki in se aktivira ob stiku z integrinom αV .



TGF- β

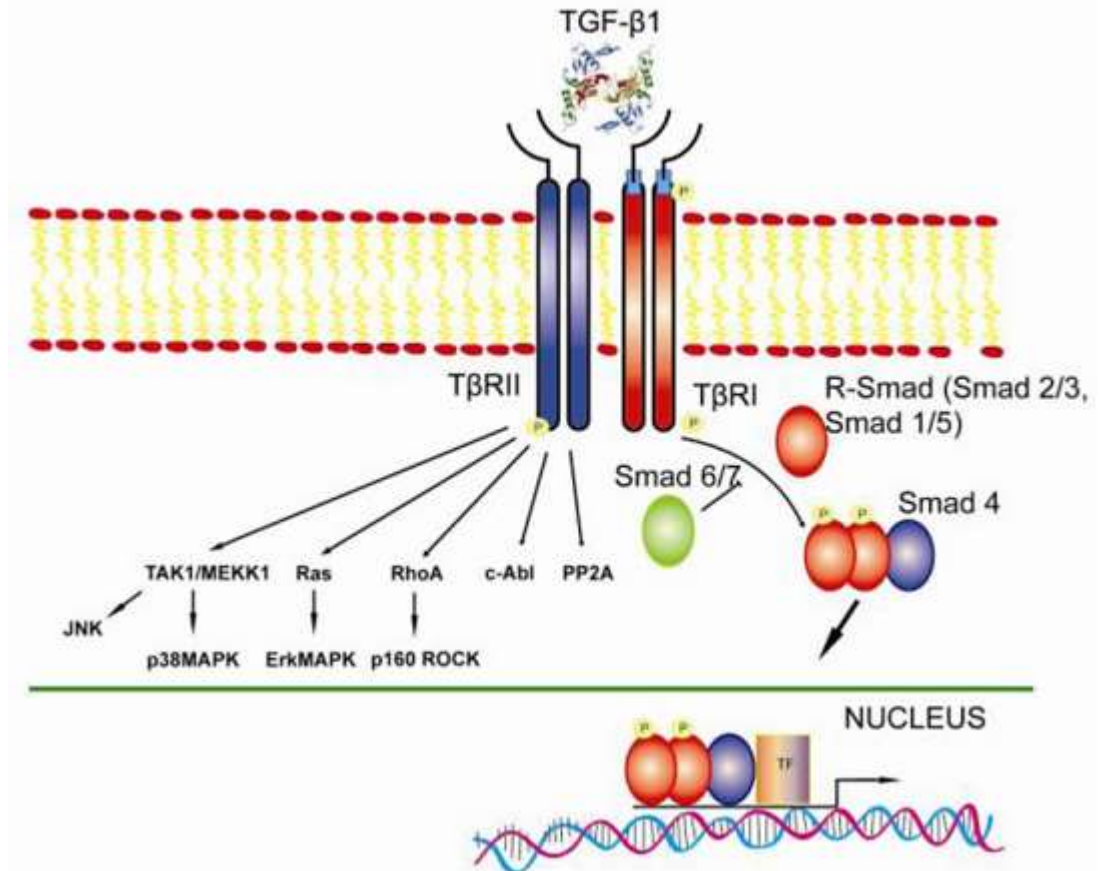
TGF- β lahko deluje **stimulirajoče** ali **inhibitorno** (Alberts, MBC, 5th Ed.).



TGF- β

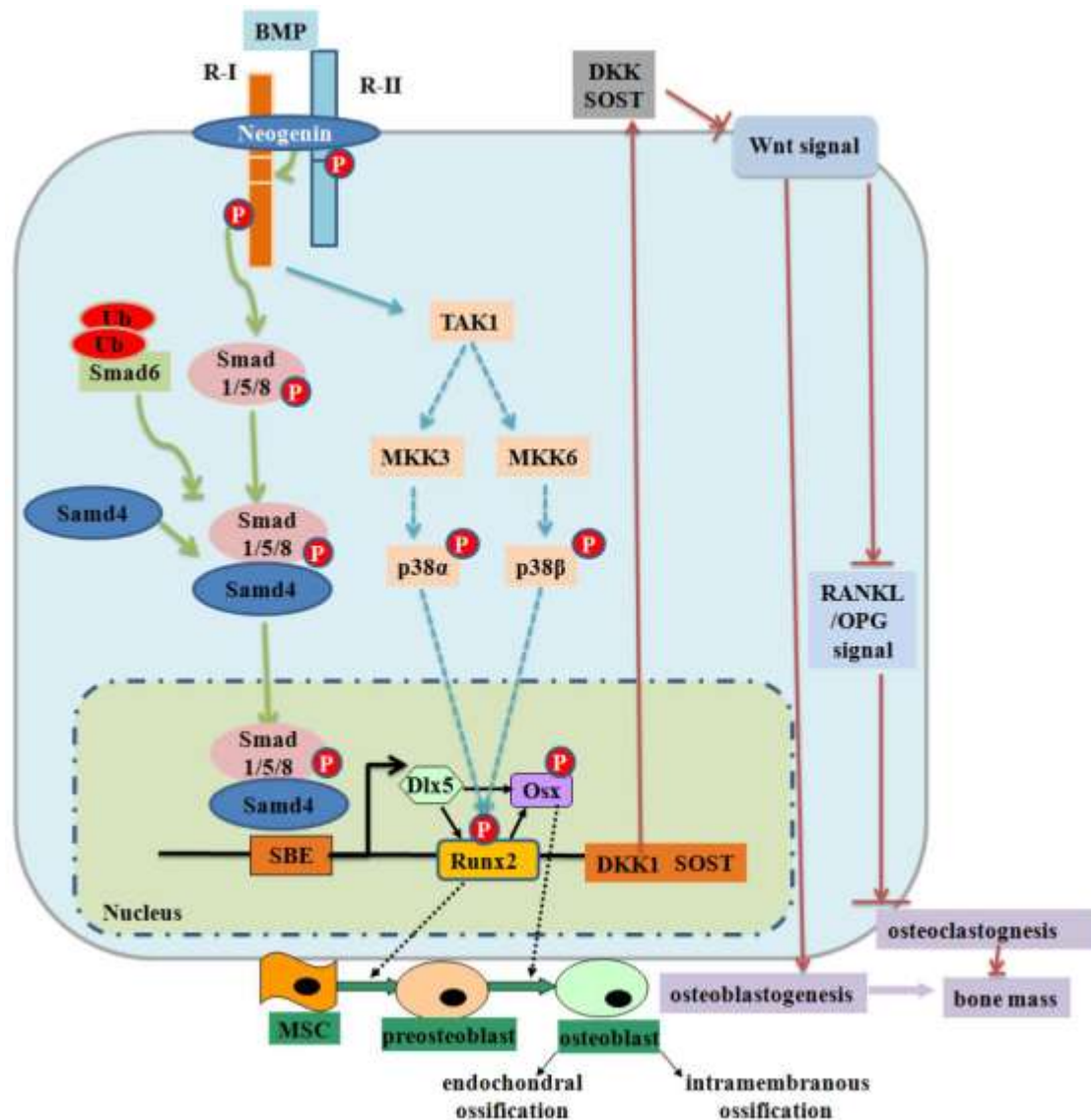
Transformirajoči rastni faktor β (TGF- β) spada v istoimensko naddružino rastnih faktorjev in obstaja v vsaj treh izooblikah. V ECM se nahaja v latentni dimerni pro-obliki in se aktivira ob stiku z integrinom αV . Sintetizirajo ga številni tipi celic in tudi deluje na različne celice.

Deluje preko dveh signalnih poti: od Smad odvisne in od Smad neodvisne



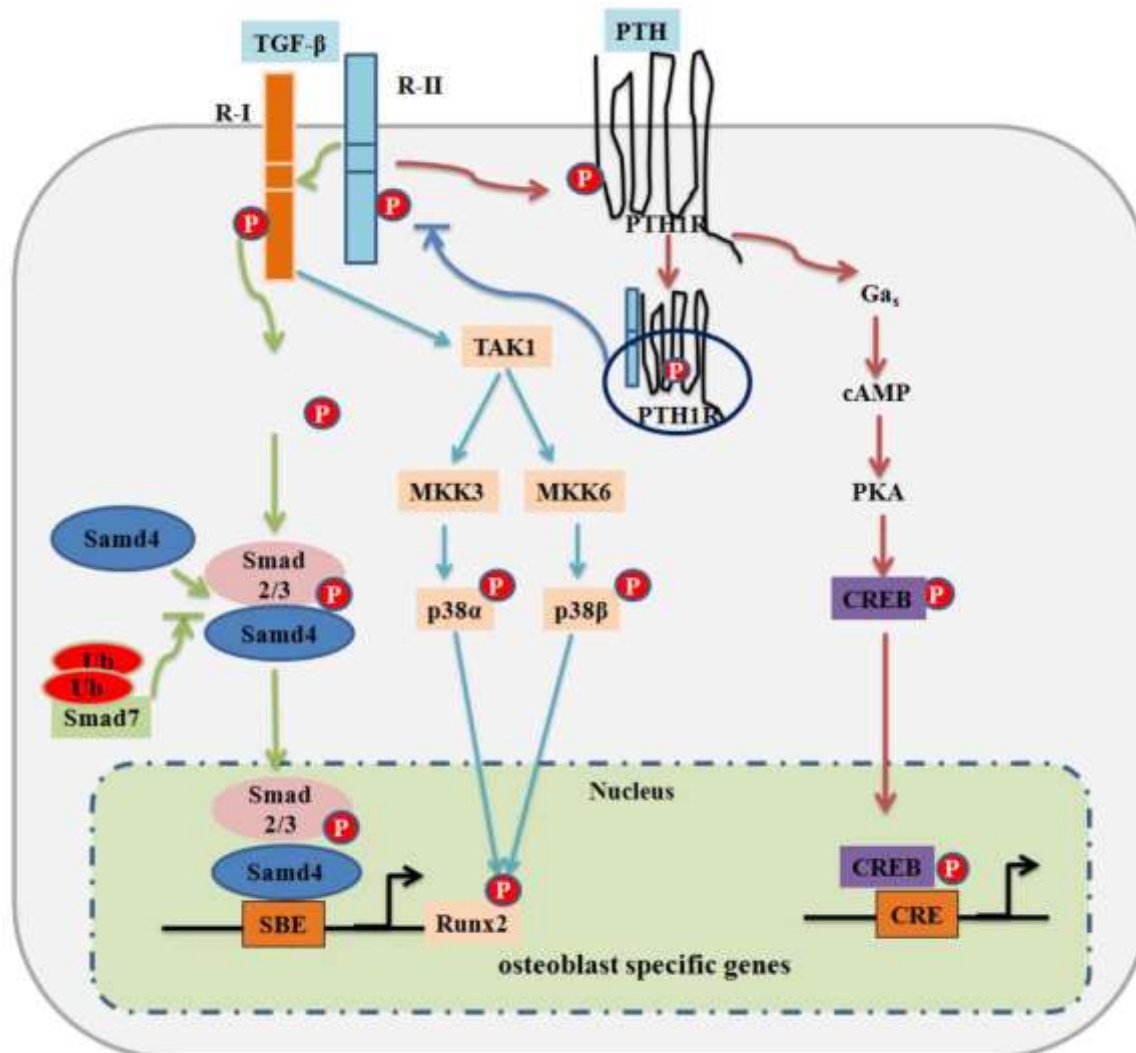
Kostni morfogeni proteini

Kostni morfogeni proteini so člani družine TGF- β . Regulirajo izgradnjo kostnega tkiva. V celotnem procesu regulacije osteoblastov sodelujejo še TGF- β , Wnt proteini, paratiroidni hormon, idr.



Kostni morfogeni proteini

Kostni morfogeni proteini so člani družine TGF- β . Regulirajo izgradnjo kostnega tkiva. V celotnem procesu regulacije osteoblastov sodelujejo še TGF- β , Wnt proteini, paratiroidni hormon, idr.

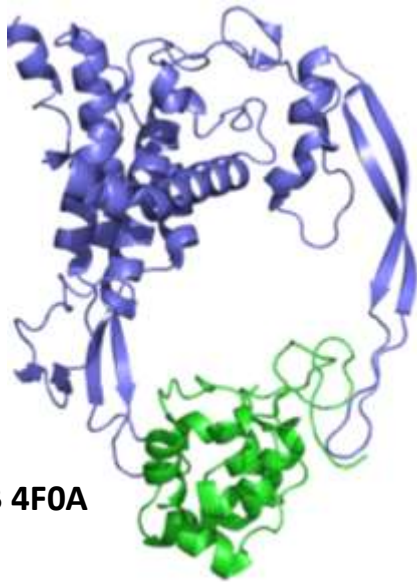


Parathormon (PTH) je najbolj pomemben regulator koncentracije kalcija in fosfata v ECM. Sintetizira se v obščitnici v odziv na znižanje konc. Ca. Zavira izločanje Ca in mobilizira rezerve iz kosti. Stimulira delovanje osteoblastov.

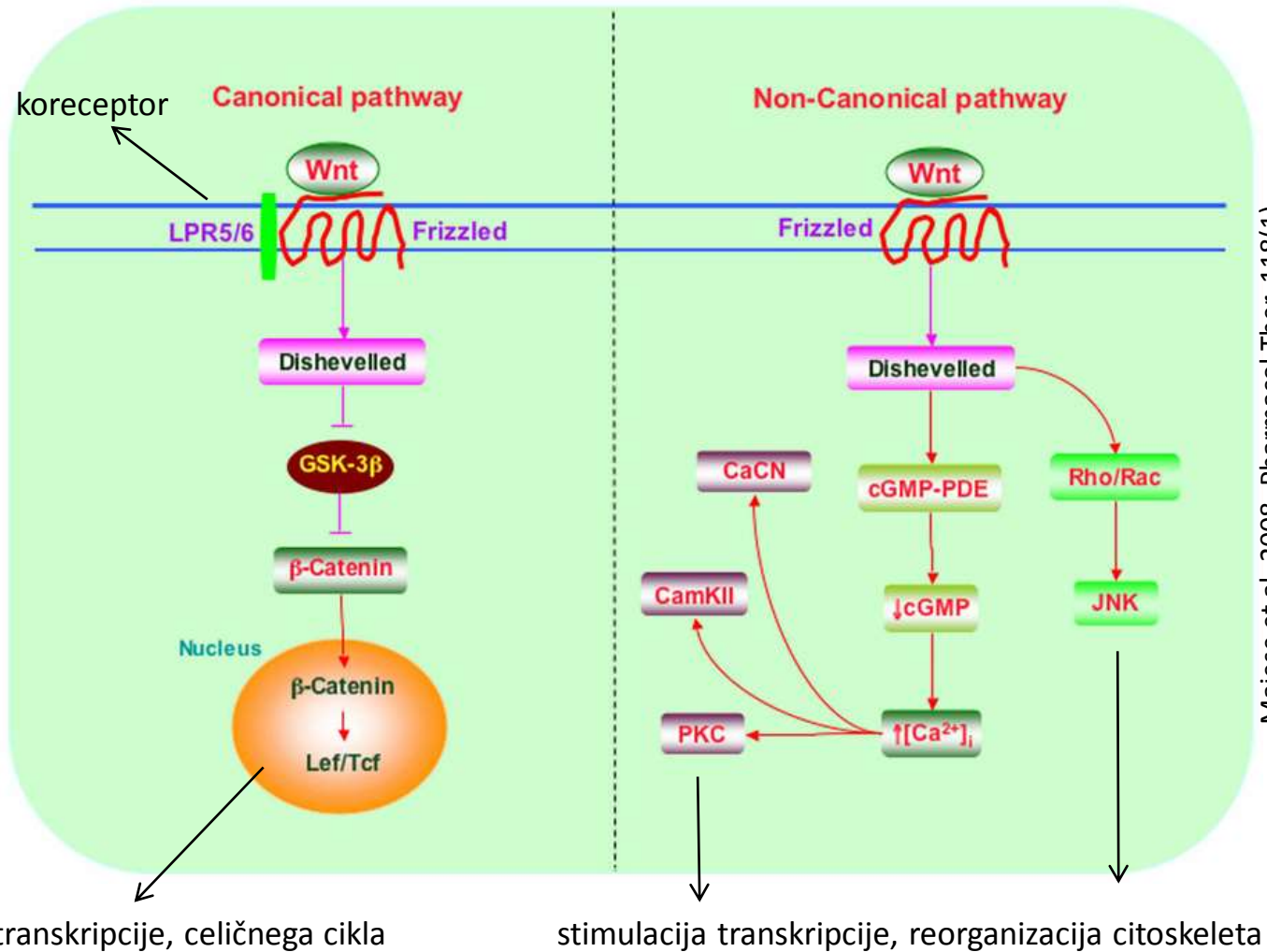
Wnt

Wnt proteini so regulatorni glikoproteini, veliki 350 – 400 ostankov, z ohranjenim vzorcem 23-24 cisteinskih ostankov. Do sedaj je znanih vsaj 19 homologov. Receptorji Wnt so posebna družina z G proteini sklopljenih receptorjev s sedmimi transmembranskimi vijačnicami – Frizzled.

Wnt8

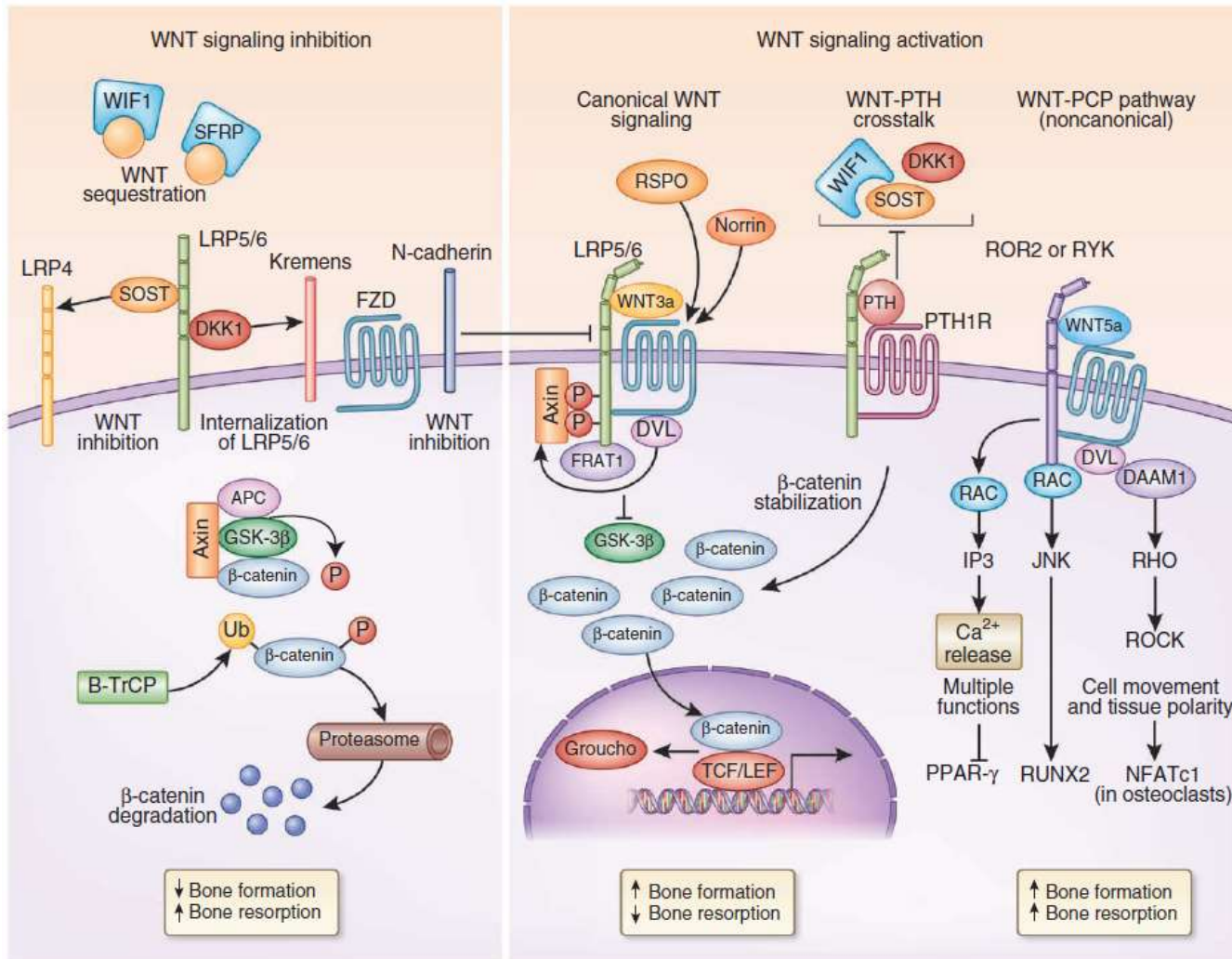


zunajcelična domena
Frizzled 8



Wnt

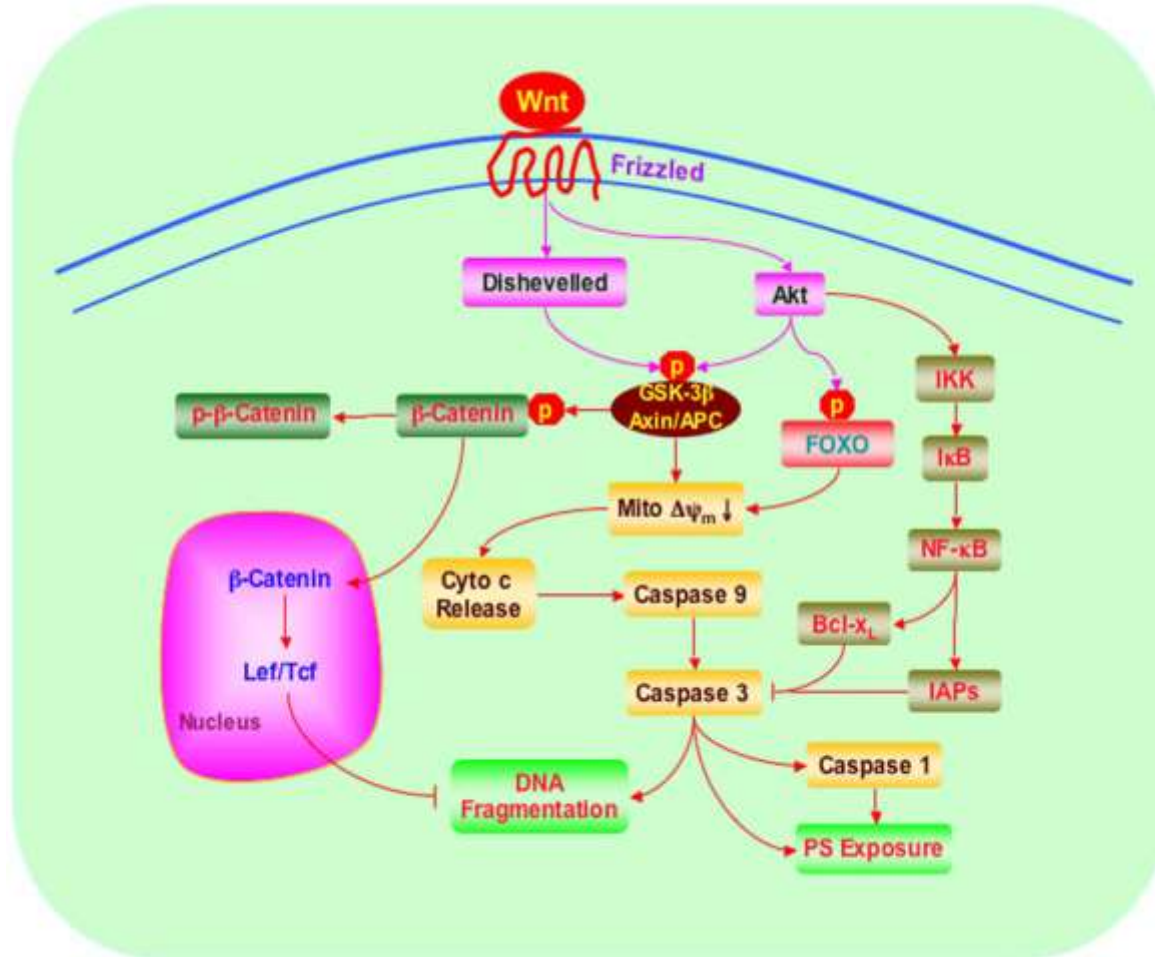
Wnt proteini so regulatorni glikoproteini, veliki 350 – 400 ostankov, z ohranjenim vzorcem 23-24 cisteinskih ostankov. Do sedaj je znanih vsaj 19 homologov. Receptorji Wnt so posebna družina z G proteini sklopljenih receptorjev s sedmimi transmembranskimi vijačnicami – Frizzled.



Debbie Maizels

Wnt

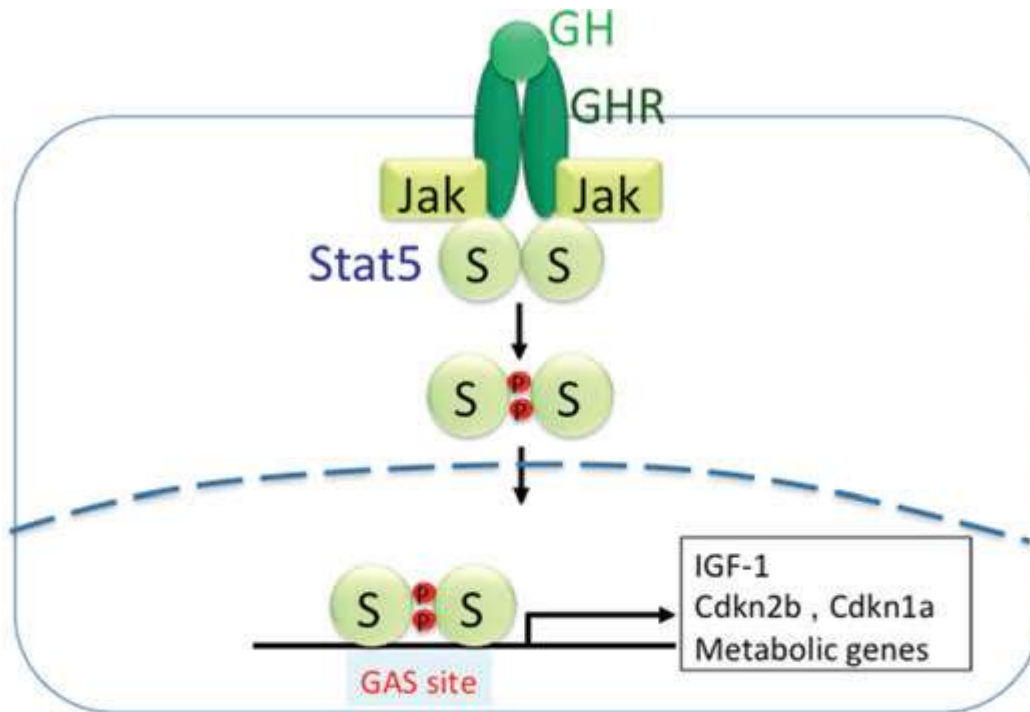
Wnt proteini delujejo tudi kot preživetveni faktorji.



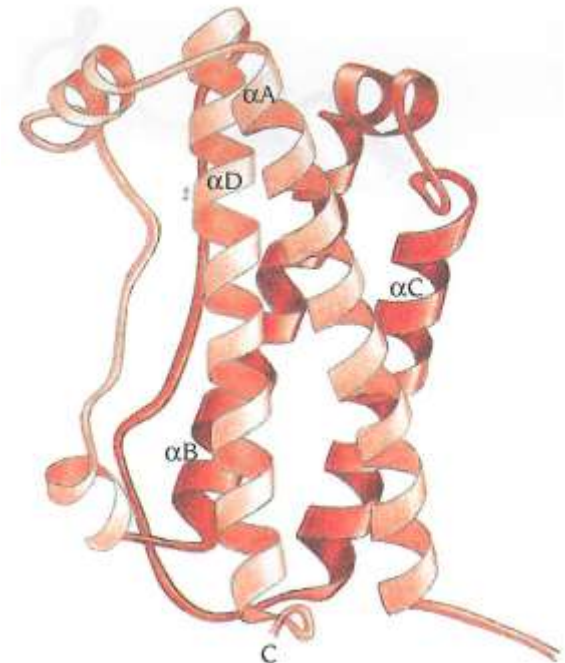
The wnt homepage: <http://www.stanford.edu/group/nusselab/cgi-bin/wnt/>

Rastni hormon

Rastni hormon oz. **somatotropin** je mitogen, ki ga proizvaja žleza hipofiza. Njegova primarna tarča so hepatociti, kjer sproži sintezo **inzulinu podobnih rastnih faktorjev** in **steroidnih hormonov**.



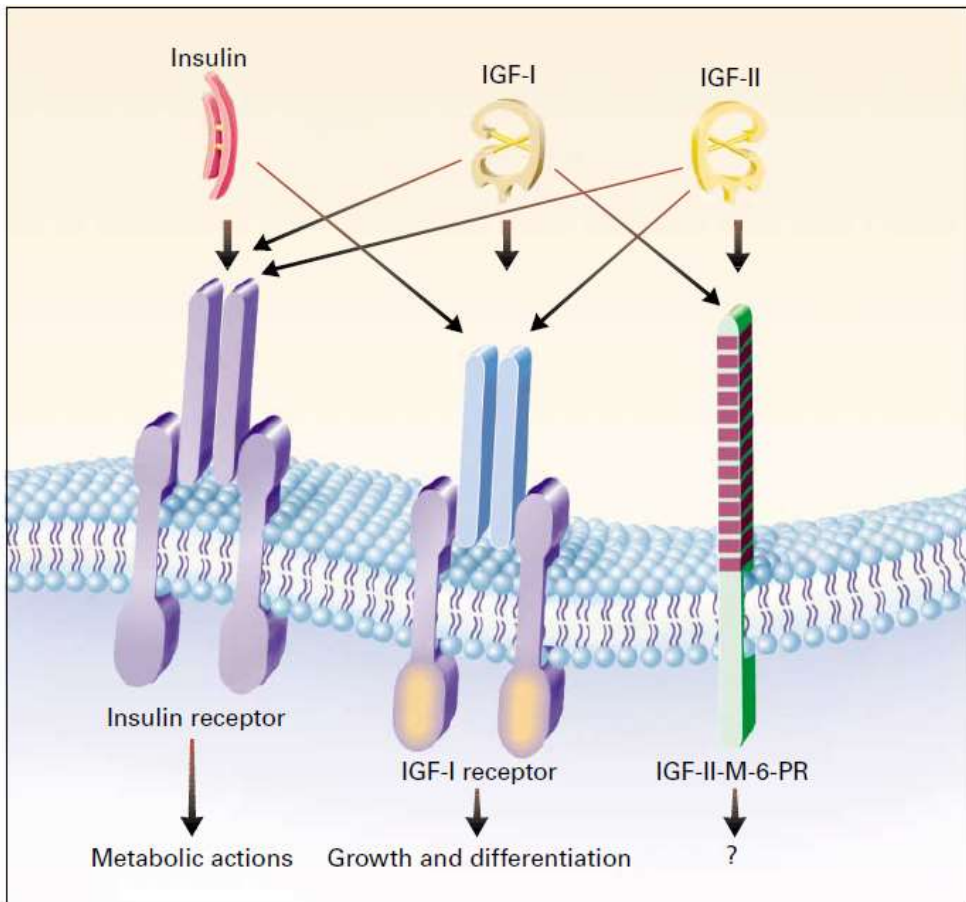
IGF-1 : growth
Cdkn2b , Cdkn1a: cell cycle inhibitors
Metabolic genes : lipid, bile acid, steroid, drug metabolism



struktura HGH

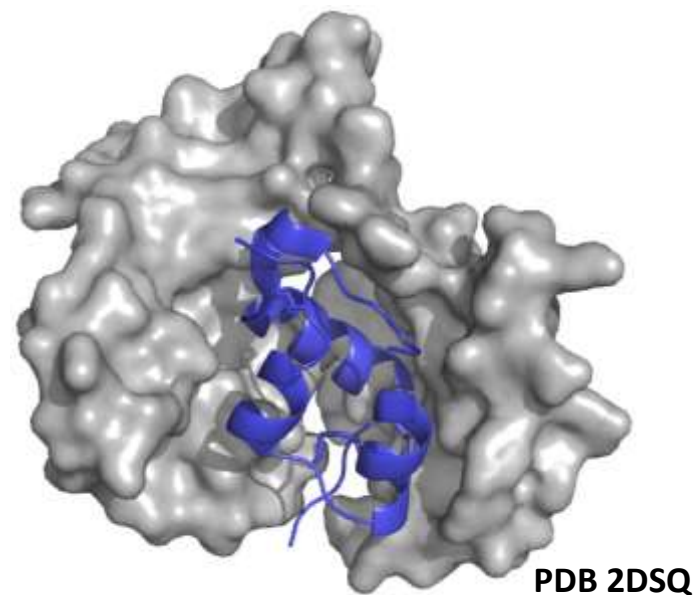
Inzulinu podobni rastni faktorji

Sistem inzulinu podobnih rasti faktorjev (IGF) je sestavljen iz dveh ligandov (IGF), dveh receptorjev (IGFR) in šestih IGF vezavnih proteinov (IGFBP), ki regulirajo prenašanje in sproščanje IGF v telesu.



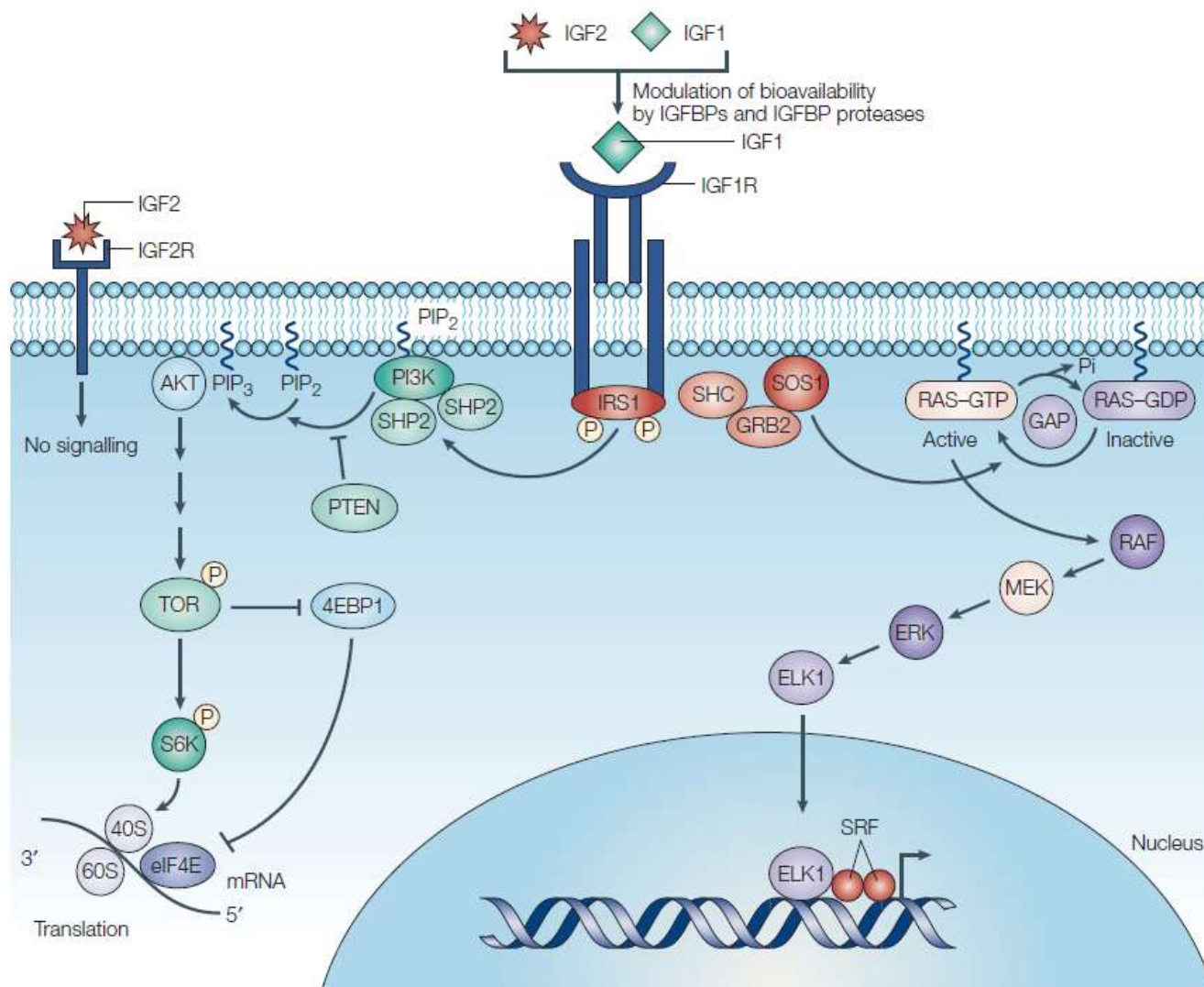
receptorska tirozinska kinaza

Kompleks IGFBP-4 in IGF-1



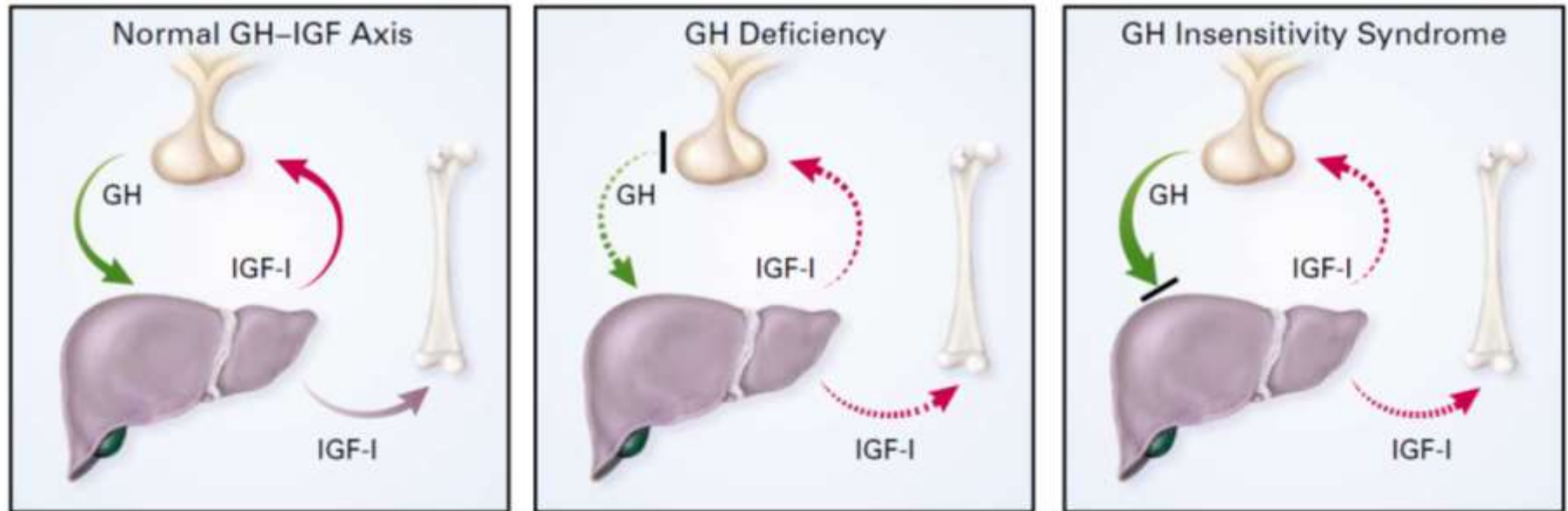
Inzulinu podobni rastni faktorji

Sistem inzulinu podobnih rasti faktorjev (IGF) je sestavljen iz dveh ligandov (IGF), dveh receptorjev (IGFR) in šestih IGF vezavnih proteinov (IGFBP), ki regulirajo prenašanje in sproščanje IGF v telesu.



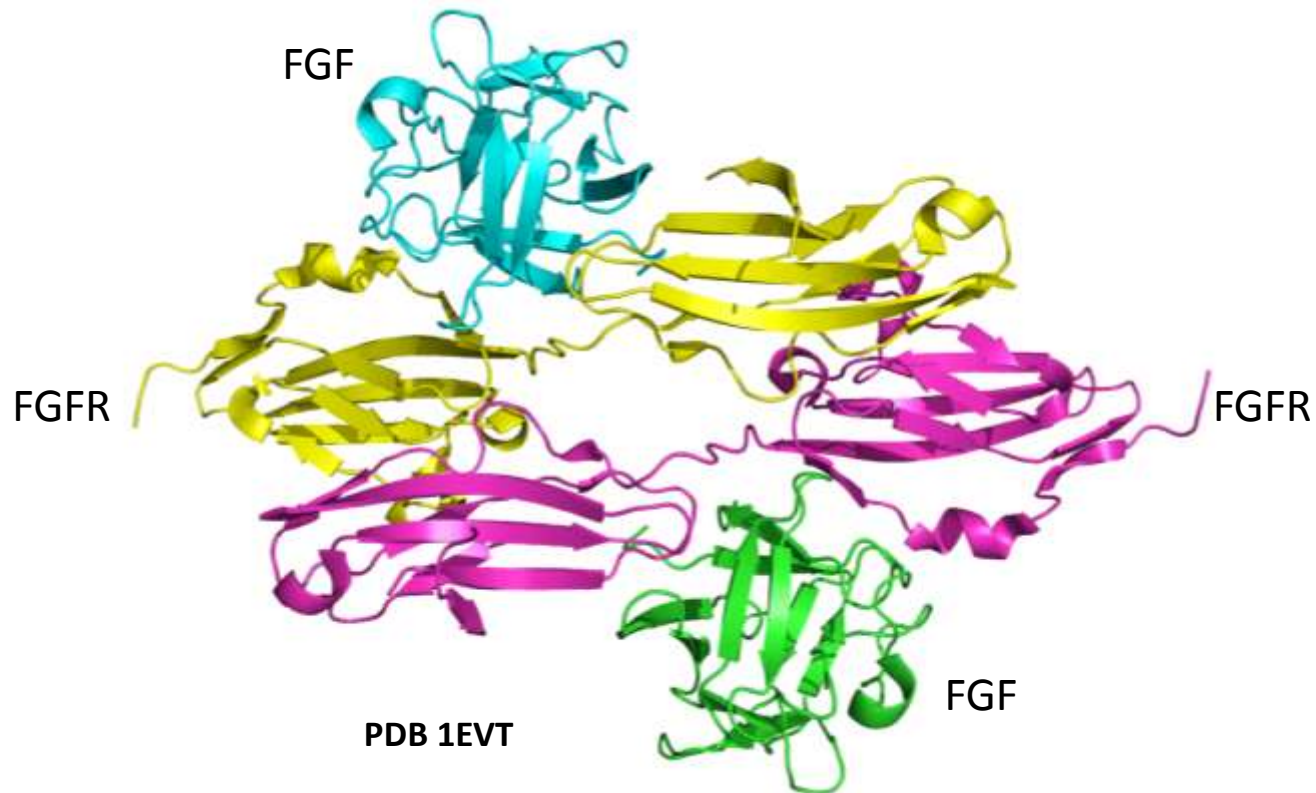
Inzulinu podobni rastni faktorji

IGF-I je mitogen, katerega produkcijo regulira GH. IGF-II je aktiven zlasti v embrionalnem razvoju.



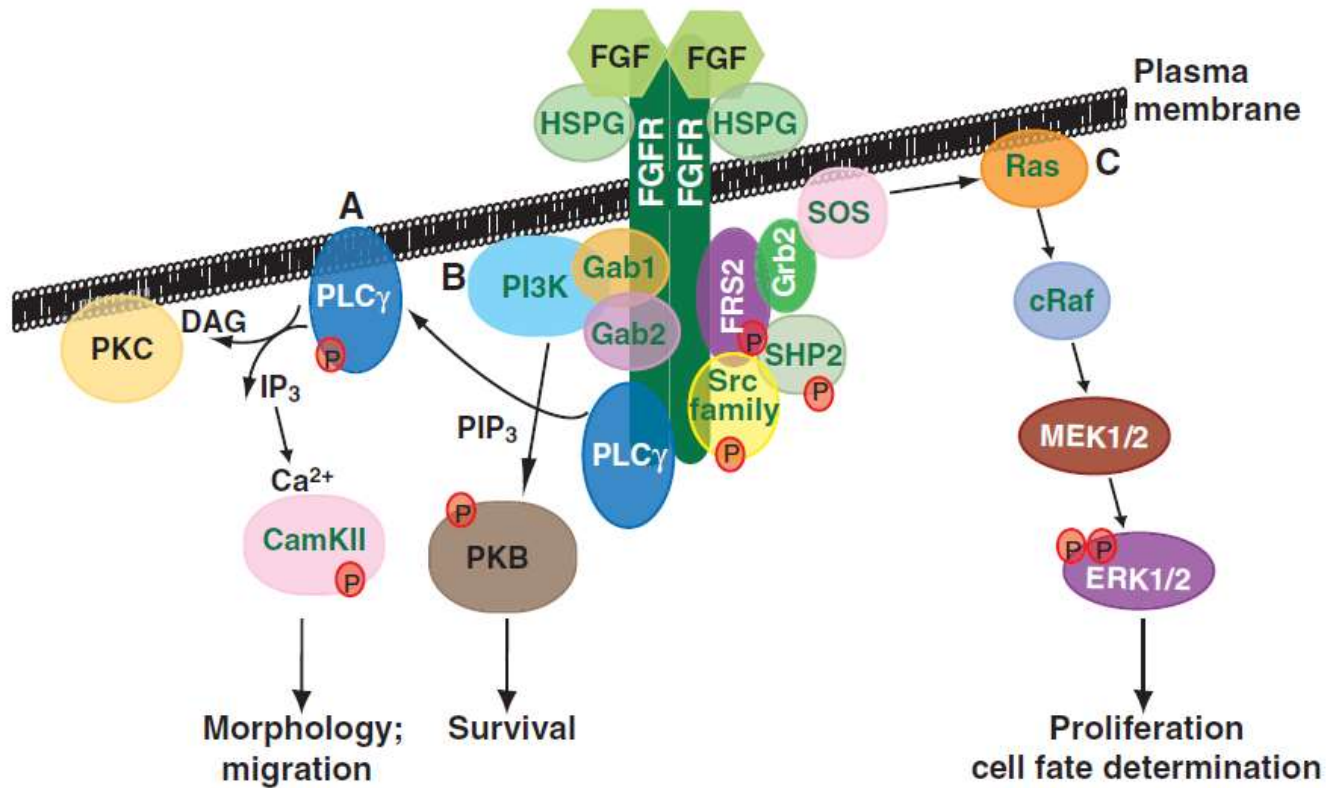
Fibroblastni rastni faktorji

Fibroblastni rastni faktorji so sistem več kot 20 ligandov, ki interagirajo s številnimi produkti štirih receptorskih genov (*FGFR1-4*). Receptorji so tirozinske kinaze s tremi zunajceličnimi Ig domenami. Stehiometrija kompleksa je 2:2, vezava vsakega liganda na receptor pa je dodatno stabilizirana s heparan sulfatom (HSPG; končna stehiometrija 2:2:2).



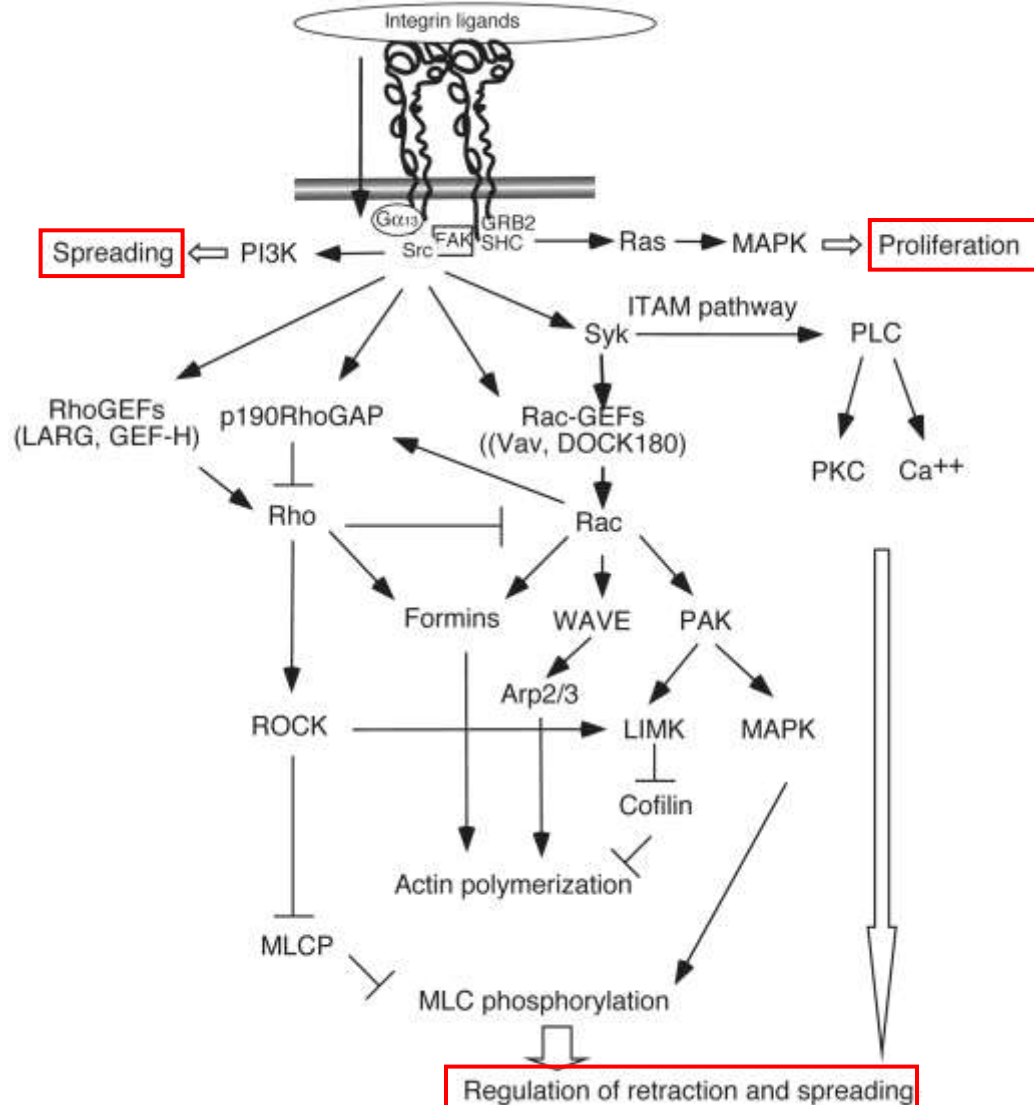
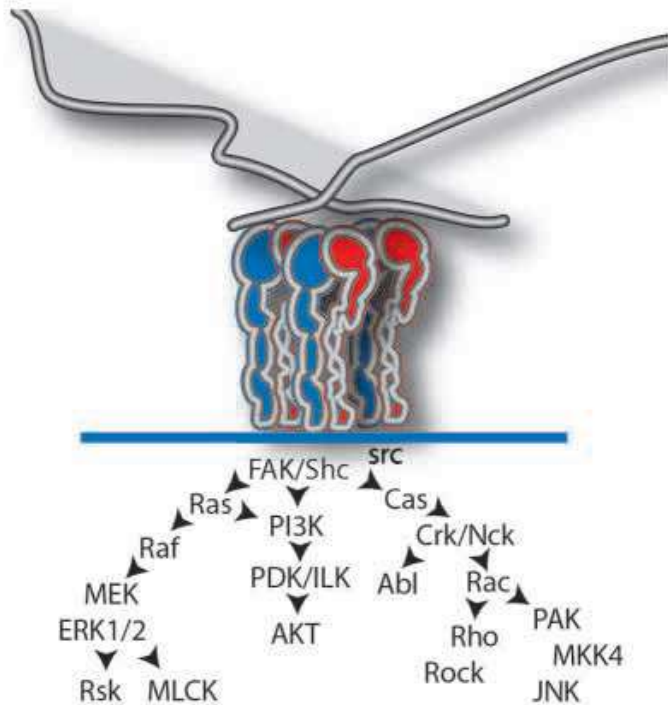
Fibroblastni rastni faktorji

Fibroblastni rastni faktorji regulirajo embrionalni razvoj (zlasti mezoderma in nevroektoderma), celjenje ran, angiogenezo, itd.



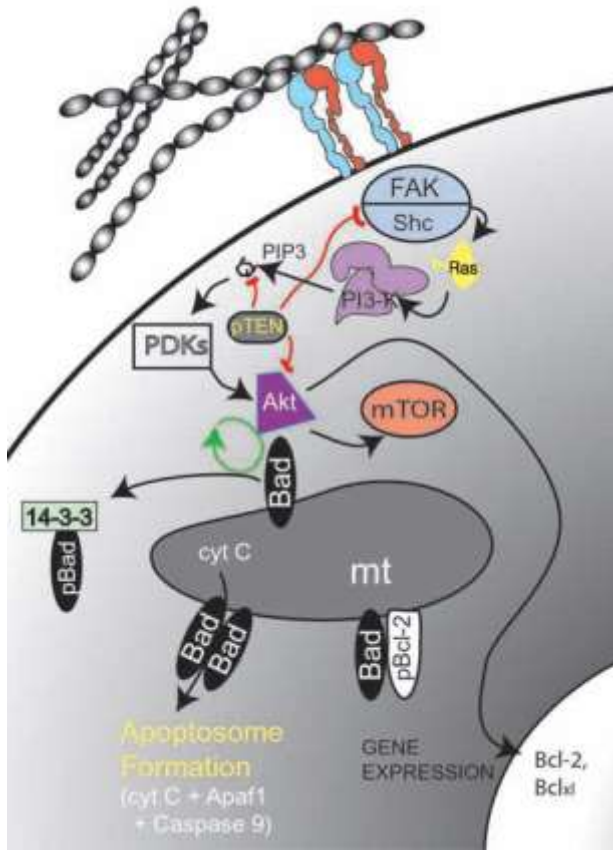
Signaliziranje preko integrinov

Integrini primarno aktivirajo fokalnimi stiki povezano kinazo (FAK) in Src kinazo. Ti dalje aktivirata MAPK in PI3K poti.

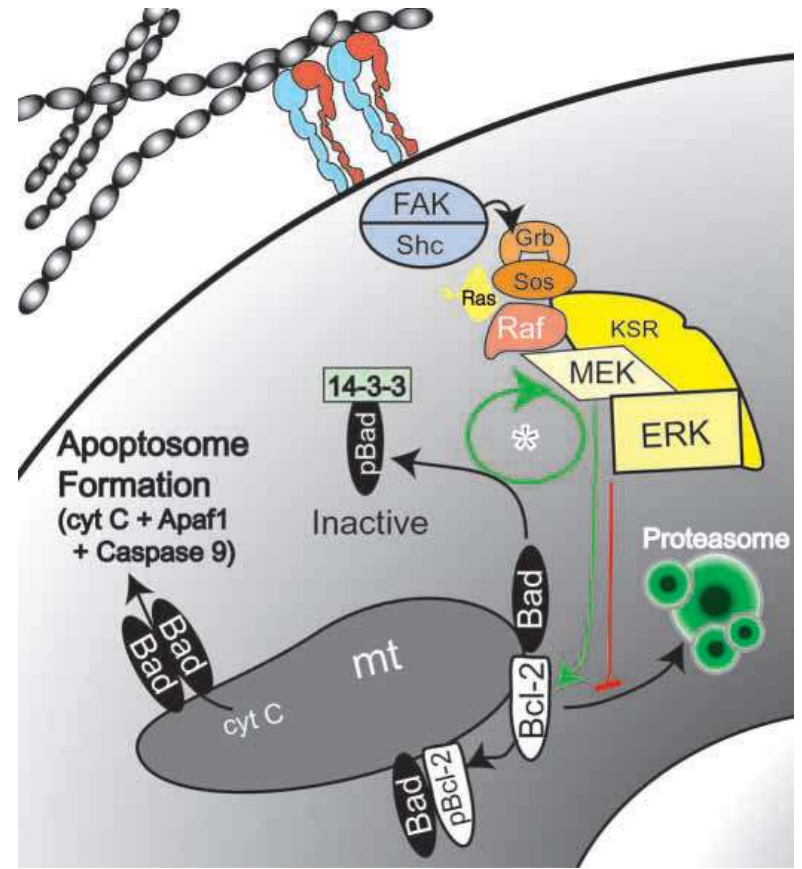


Signaliziranje preko integrinov

V nepritrjenih celicah se sproži apoptoza hitreje kot ob odsotnosti rastnih faktorjev. Na ECM pritrjeni integrini delujejo kot inhibitorji apoptoze. Inhibirajo tako intrinzično kot ekstrinzično pot apoptoze.



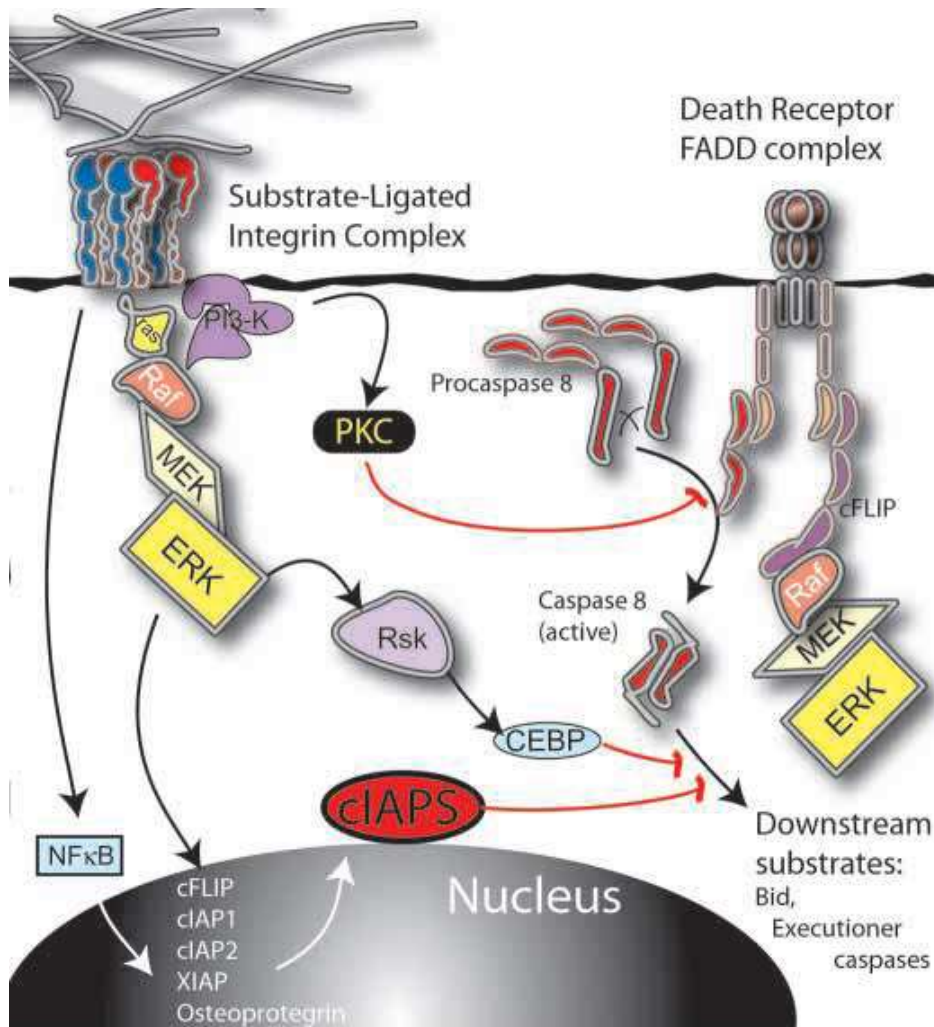
Kinaza Akt fosforilira mTOR in Bad ter preko NF- κ B poveča sintezo antiapoptotskih proteinov.



ERK fosforilira Bcl-2 in prepreči njegovo ubikvitinacijo. MEK fosforilira Bad in pospeši njegovo odstranjanje s 14-3-3 proteini.

Signaliziranje preko integrinov

V nepritrjenih celicah se sproži apoptoza hitreje kot ob odsotnosti rastnih faktorjev. Na ECM pritrjeni integrini delujejo kot inhibitorji apoptoze. Inhibirajo tako intrinzično kot ekstrinzično pot apoptoze.



Ekstrinzično pot apoptoze integrini inhibirajo preko sinteze inhibitorjev apoptoze.

Signaliziranje preko integrinov

Integrini pri razvoju raka in tumorski angiogenezi.

