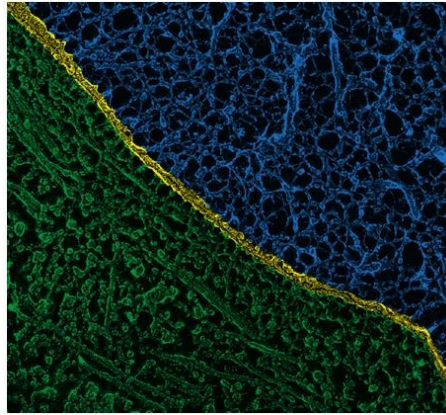




Povezovanje celic v tkiva

Lodish 4: 22. poglavje

Razdelitev poglavja

- Pritrjevanje celic in komuniciranje med njimi
- Pritrjevanje celic na medceličnino
- Kolageni v medceličnini
- Nekolagenske sestavine medceličnine

Razdelitev poglavja

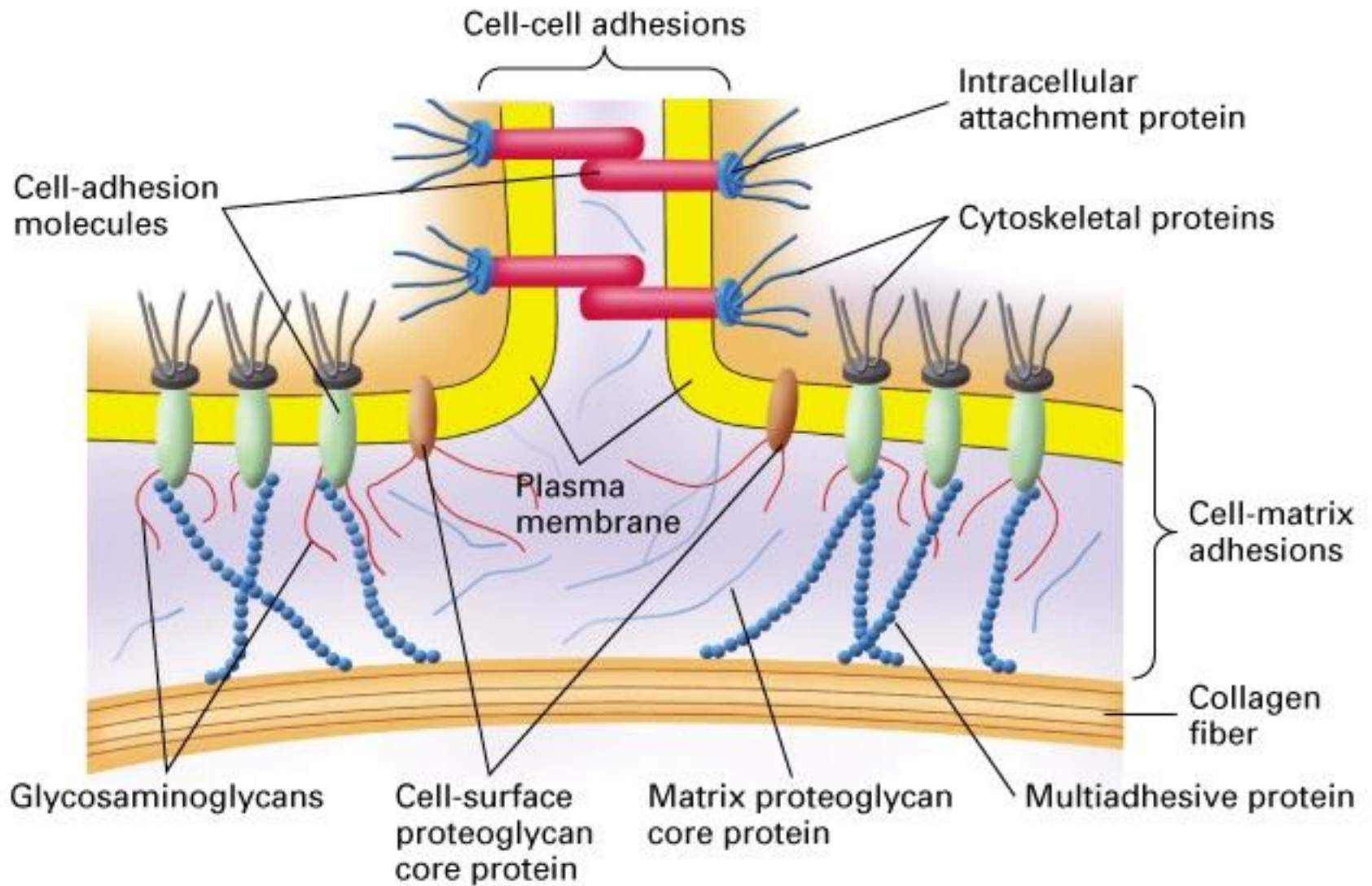
- Pritrjevanje celic in komuniciranje med njimi
- Pritrjevanje celic na medceličnino
- Kolageni v medceličnini
- Nekolagenske sestavine medceličnine

Membranski proteini in večceličnost

- adhezijske molekule (CAMs): združevanje enakih ali podobnih celic v tkiva
- medcelični stiki: stabilizacija povezav in komuniciranje
- celice izločajo zunajcelični matriks (ECM = medceličnina): povezovanje celic in zaloga hormonov, ki uravnavajo rast in razvoj

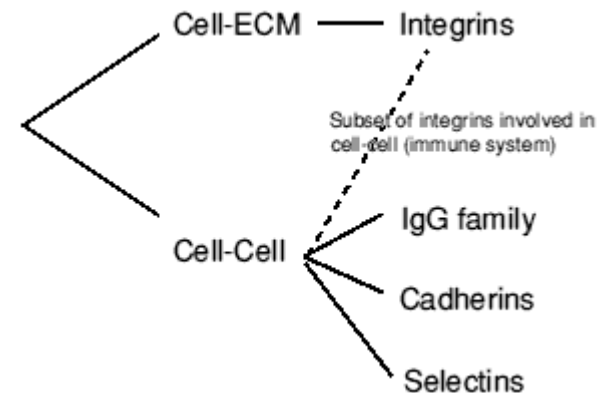
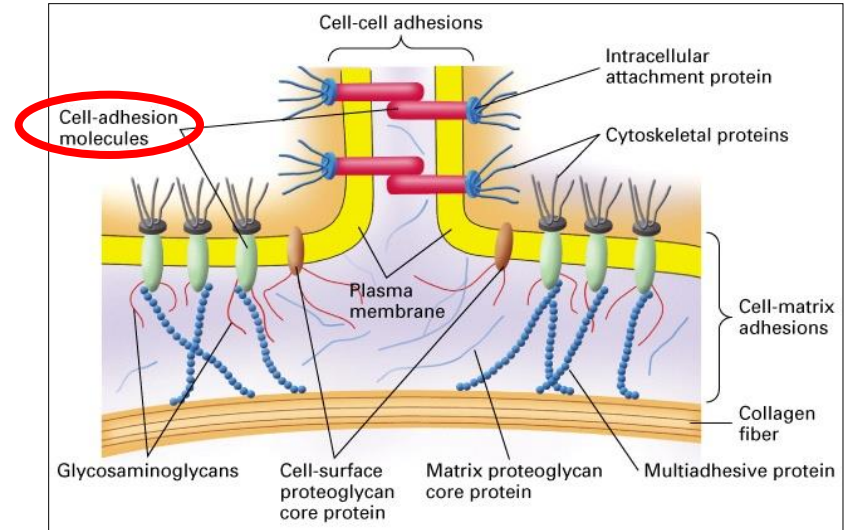
CAM = cell adhesion molecule

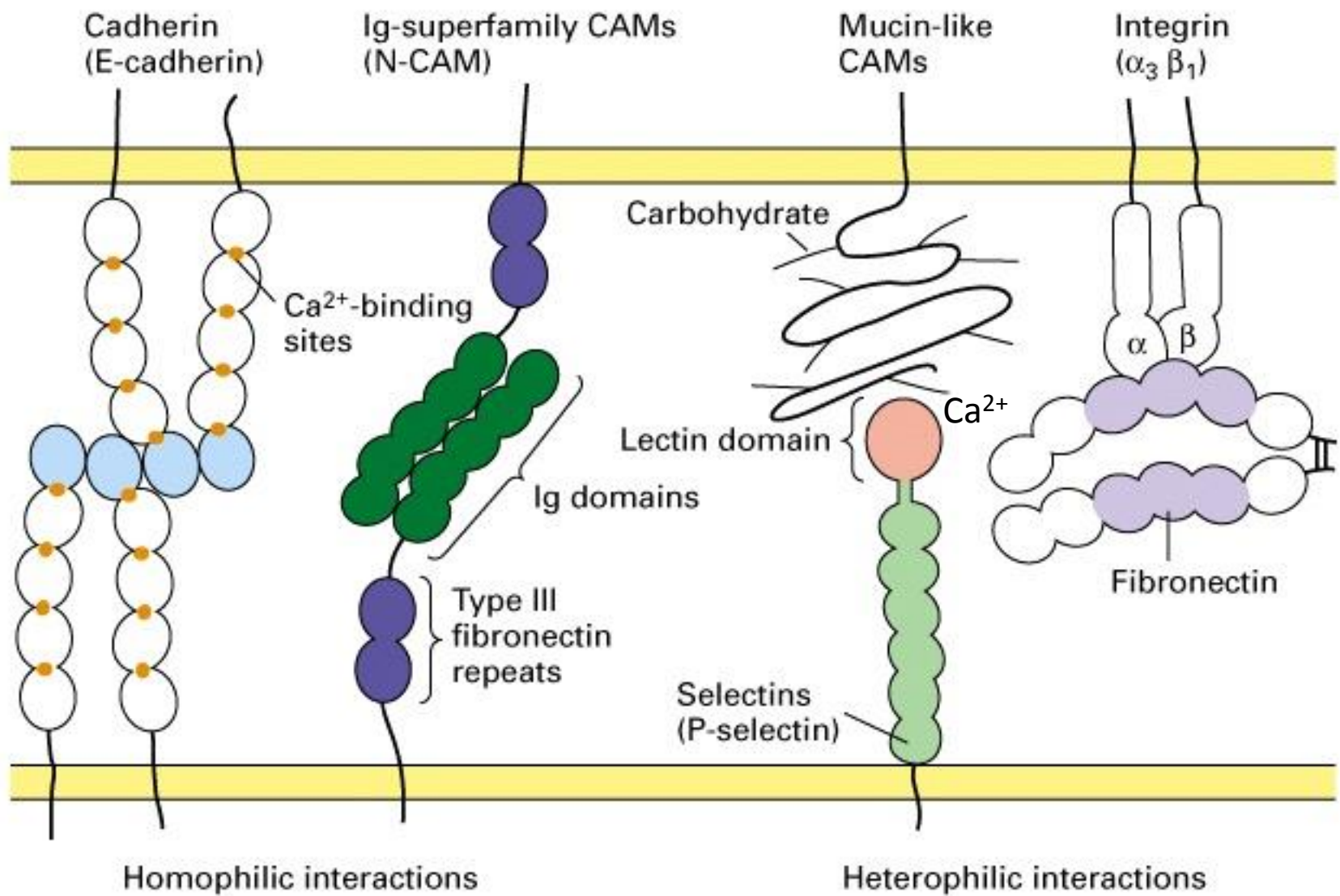
ECM = extracellular matrix



Adhezijske molekule (CAMs)

- Kadherini (Ca^{2+})
- CAM naddružine Ig
- Selektini (Ca^{2+})
- Mucini
- Integrini



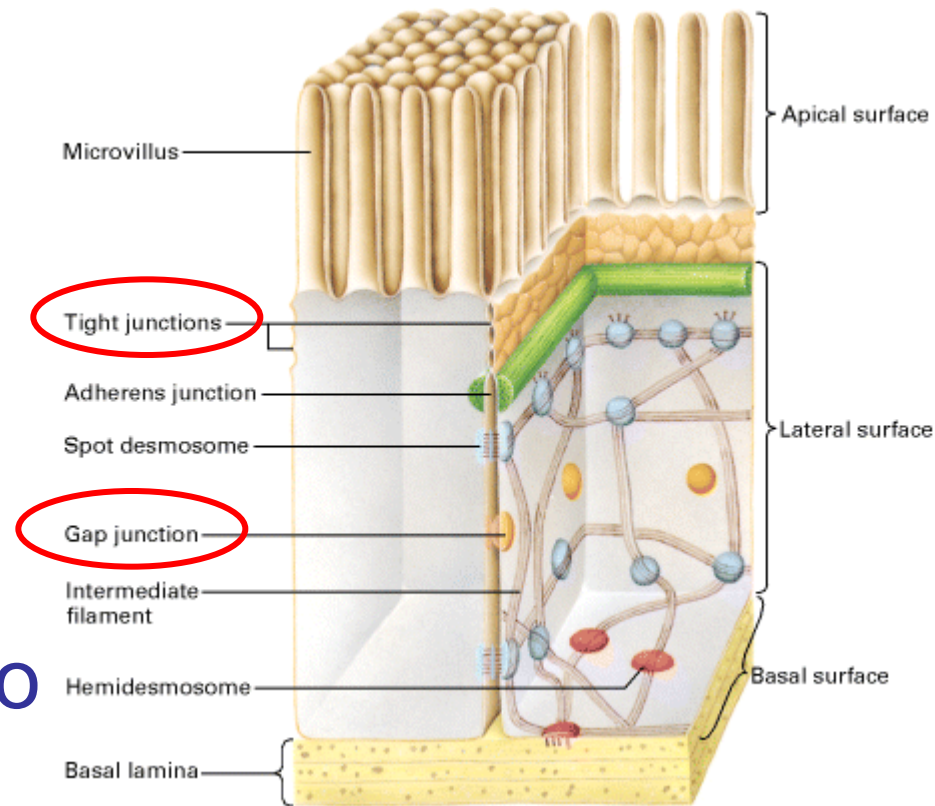


Za integrirano delovanje celic v tkivih so v glavnem odgovorni:

- presledkovni stiki
- tesni stiki
- medcelični stiki
- stiki celic z medceličnino



primarna je strukturna vloga s povezovanjem znotrajceličnega skeleta celice z znotrajceličnim skeletom sosednje celice ali z medceličnino

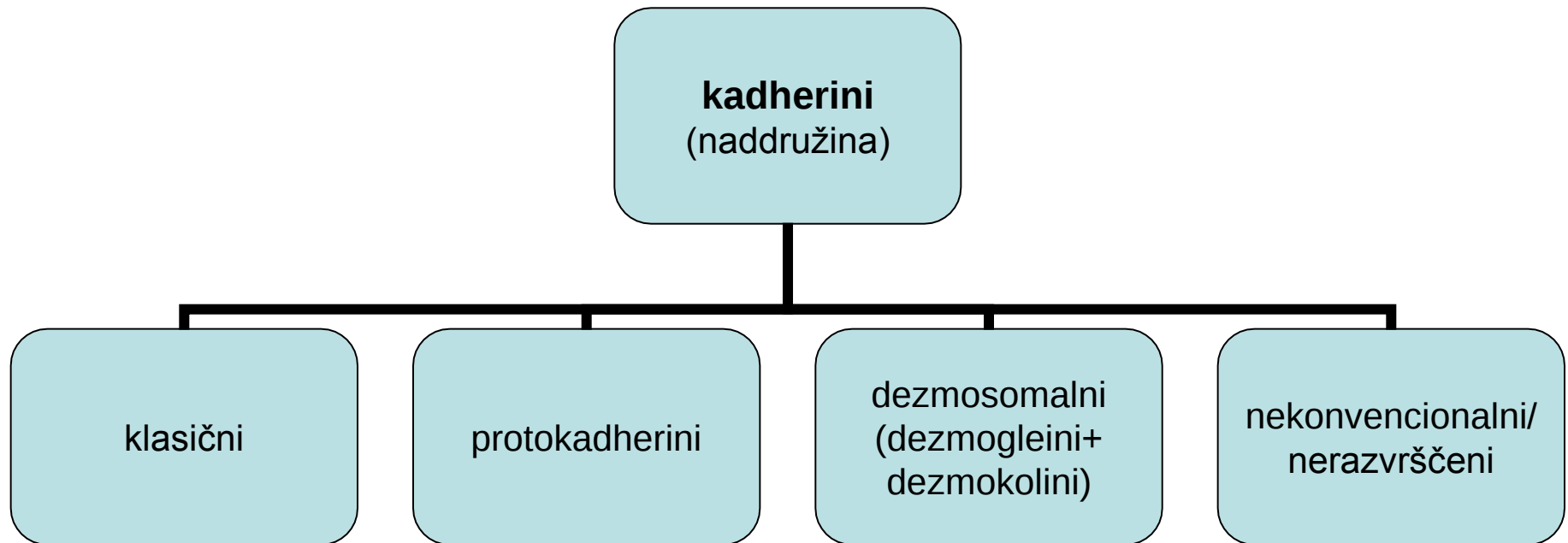


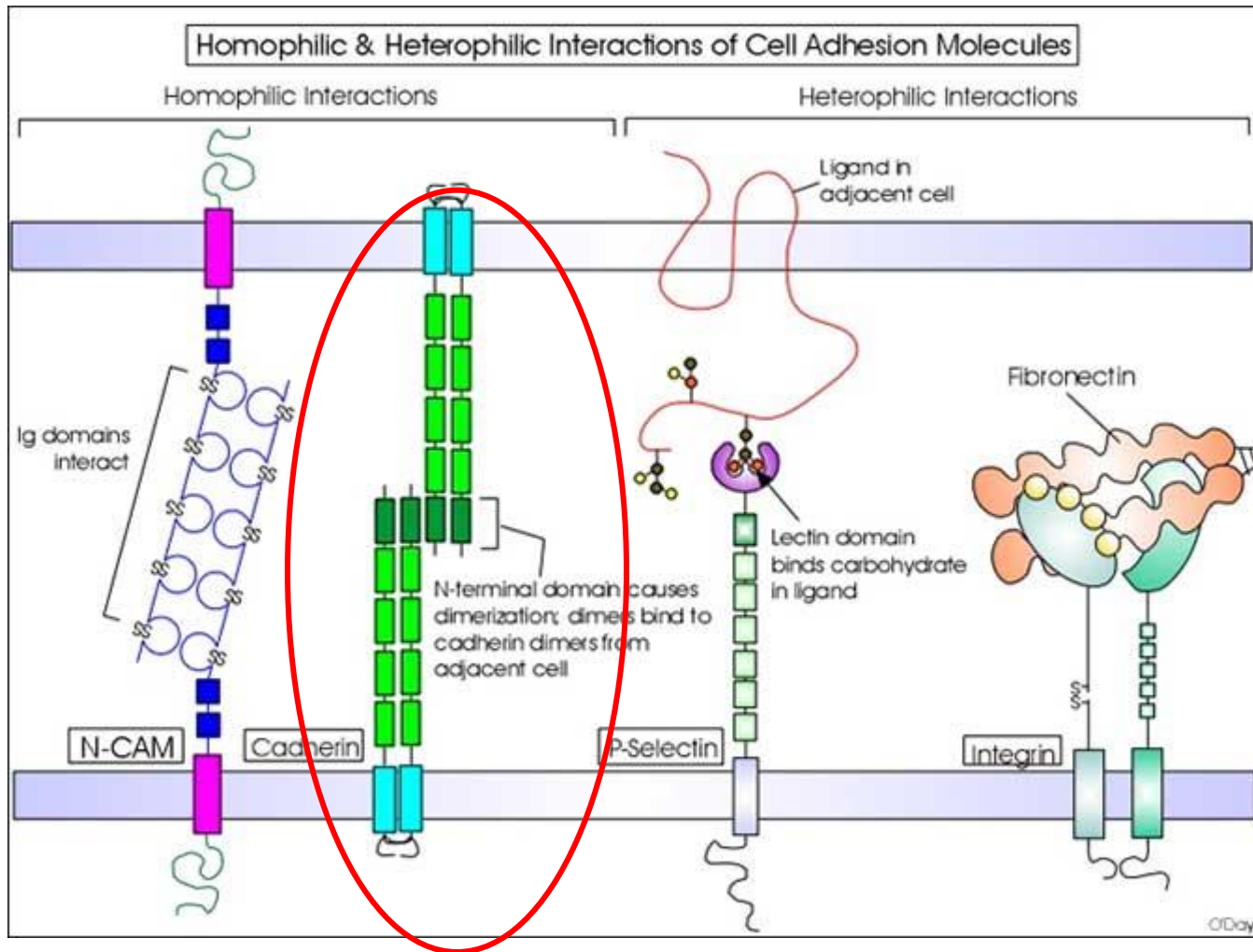
Adhezijske molekule (CAMs)

- **kadherini: funkcija odvisna od Ca^{2+}**
- naddružina imunoglobulinov
- selektini: funkcija odvisna od Ca^{2+}
- mucini
- integrini

Kadherini:

- transmembranski proteini tipa I
- kadherinske ponovitve (med njimi se veže Ca^{2+})
- vežejo se samo na kadherine istega tipa





Tip I integralni MP 720-750 AK, 50 - 60% identičnih ostankov.
 Za dimerizacijo in s tem za aktivnost so potrebni Ca^{2+} ioni.
 Porazdelitev različnih kadherinov je značilna za posamezna tkiva.
 Odrasli vretenčarji: največ E-kadherina.

TABLE 22-1**Major Cadherin Molecules on Mammalian Cells**

Molecule	Predominant Cellular Distribution
E-cadherin	Preimplantation embryos, non-neural epithelial tissue
P-cadherin	Trophoblast
N-cadherin	Nervous system, lens, cardiac and skeletal muscle

SOURCE: M. Takeichi, 1988, *Development* 102:639; M. Takeichi, 1991, *Science* 251:1451; H. Inuzuka et al., 1991, *Neuron* 7:69; and M. Donalies et al., 1991, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 88:8024.

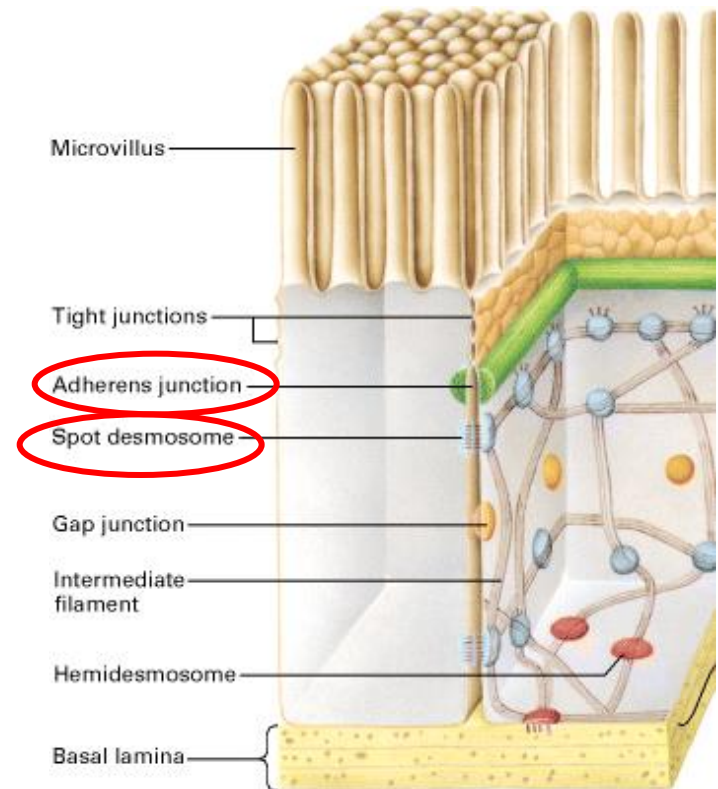
> 40 vrst kadherinov. Pomembna vloga pri diferenciaciji tkiv, vzpostavljanju povezav med nevroni etc.

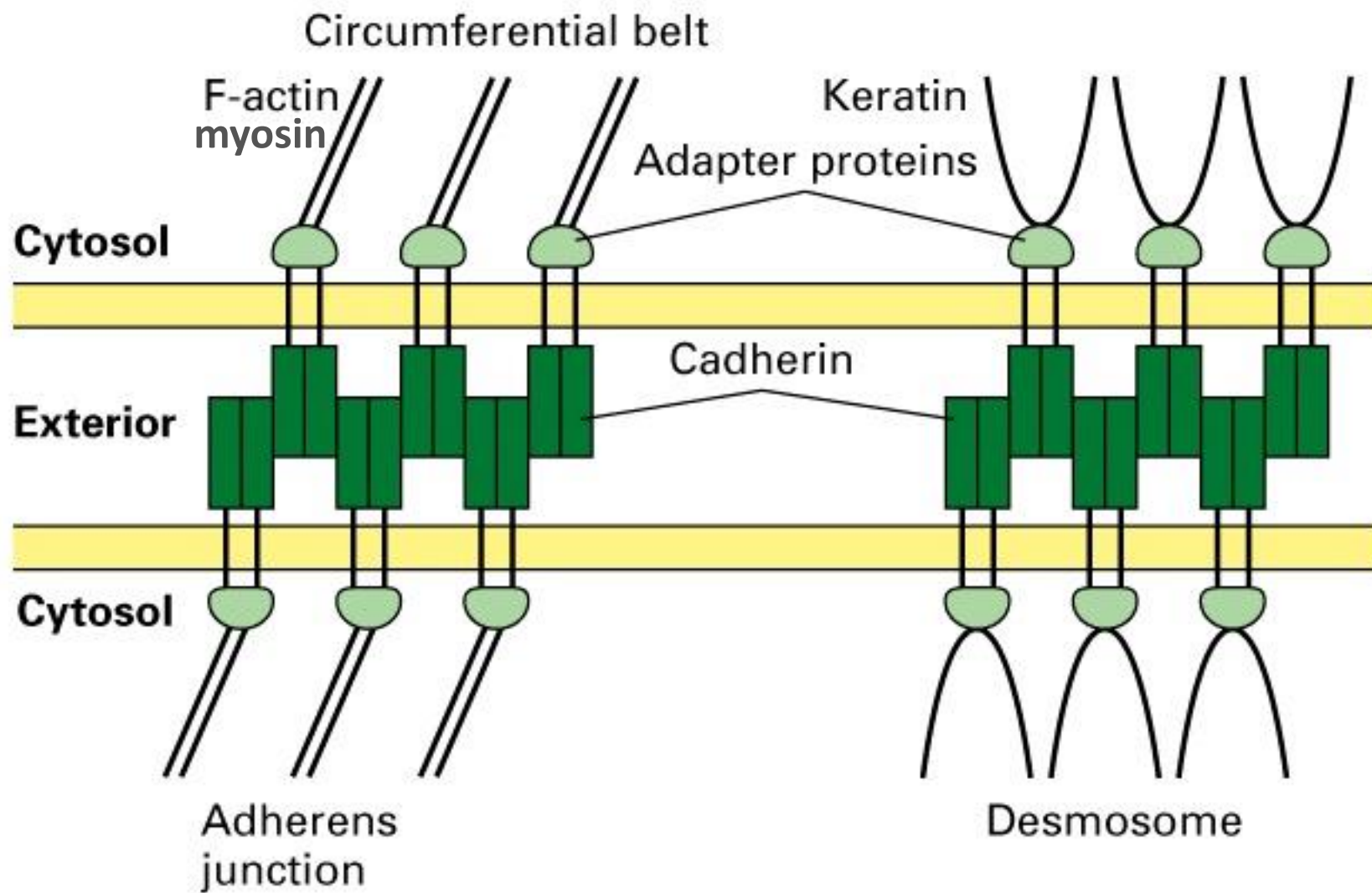
Izguba kadherinov na površini celic rakastih celic ⇒ metastaziranje.

E: epitelijski, P: placentalni, N: nevronski, T: brez citoplazemske domene, V: vaskularni

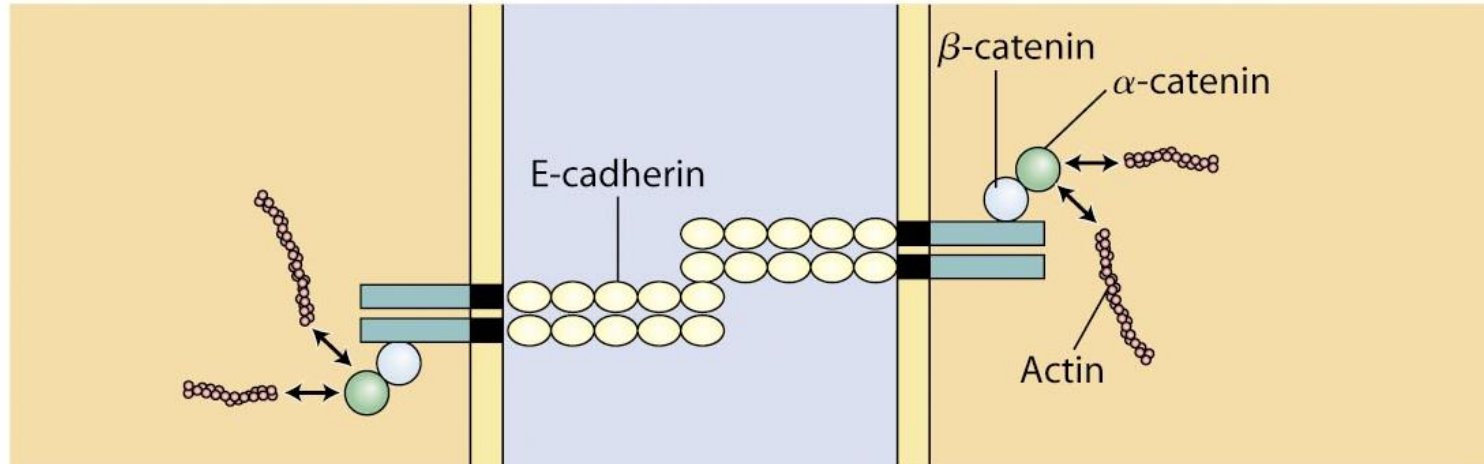
Medcelične povezave s kadherini

- **Adherenčni stiki:** pri epitelijskih celicah stiki, sestavljeni iz kateninov, ki povezujejo E-kadherine z obročem iz aktina in miozina.
- **Dezmosomi:** proteinske lehe iz plakoglobina so povezane s transmembranskimi povezovalci (dezmostein, dezmostolin).

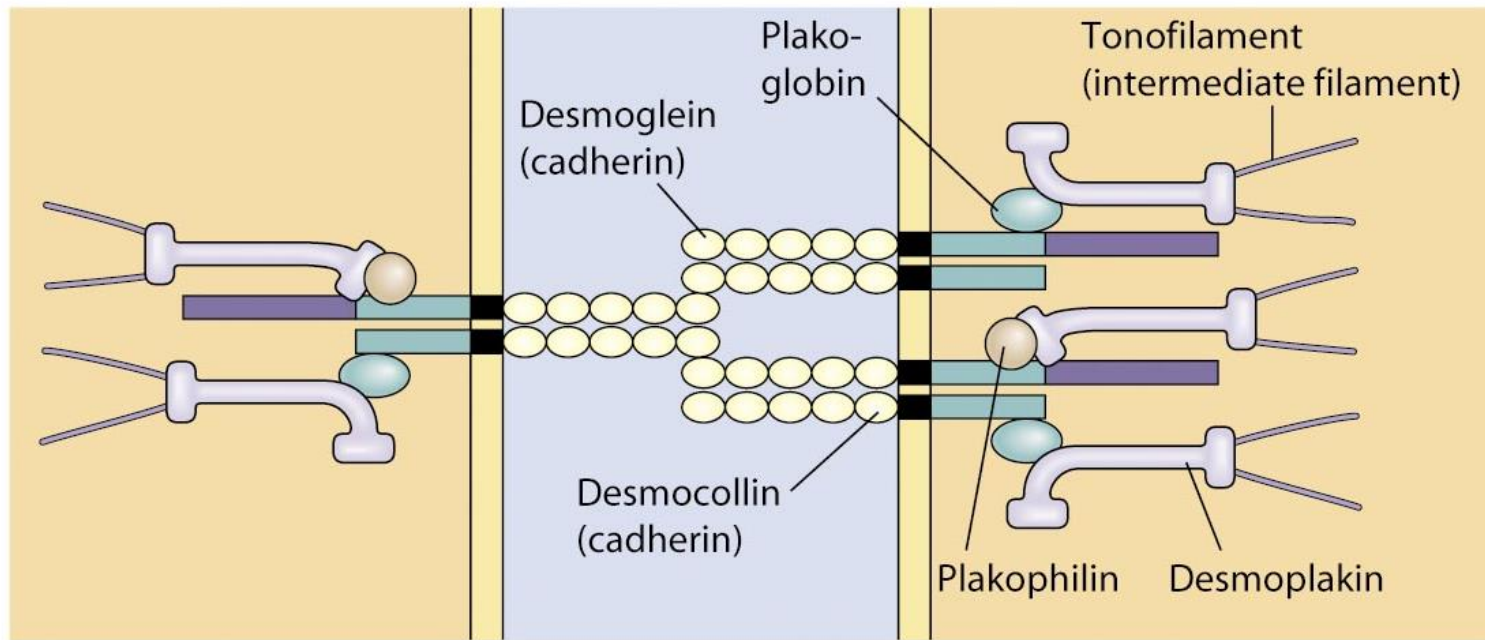


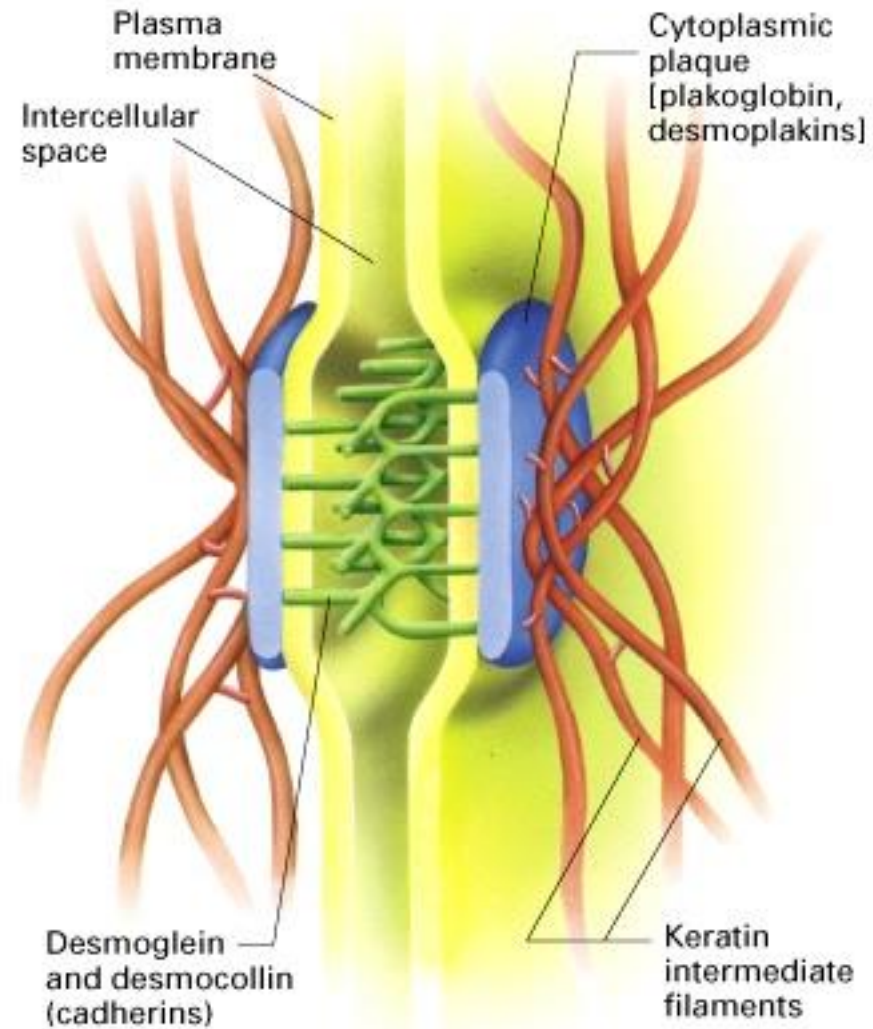


Adherenčni stik



Dezmosom

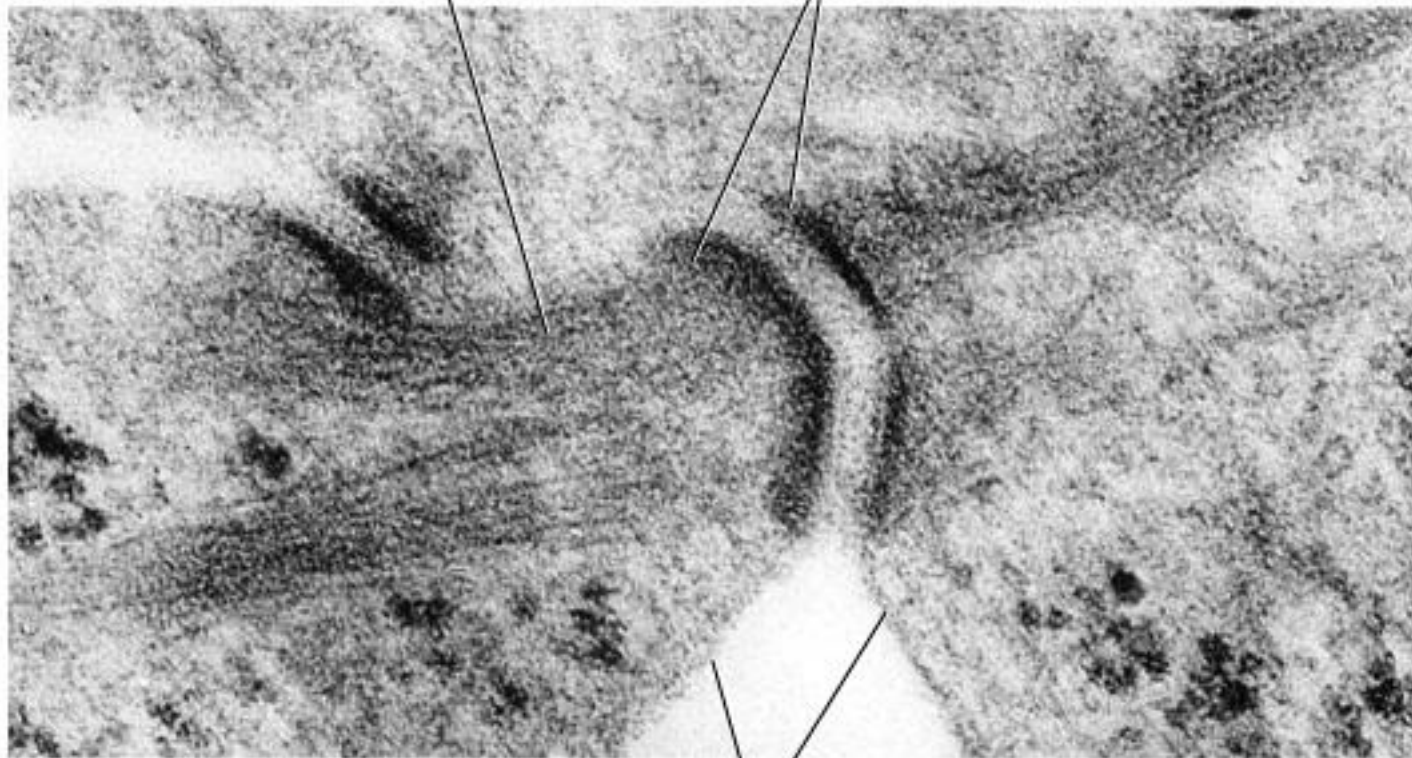




Dezmosom

Intermediate
filaments

Cytoplasmic
plaques

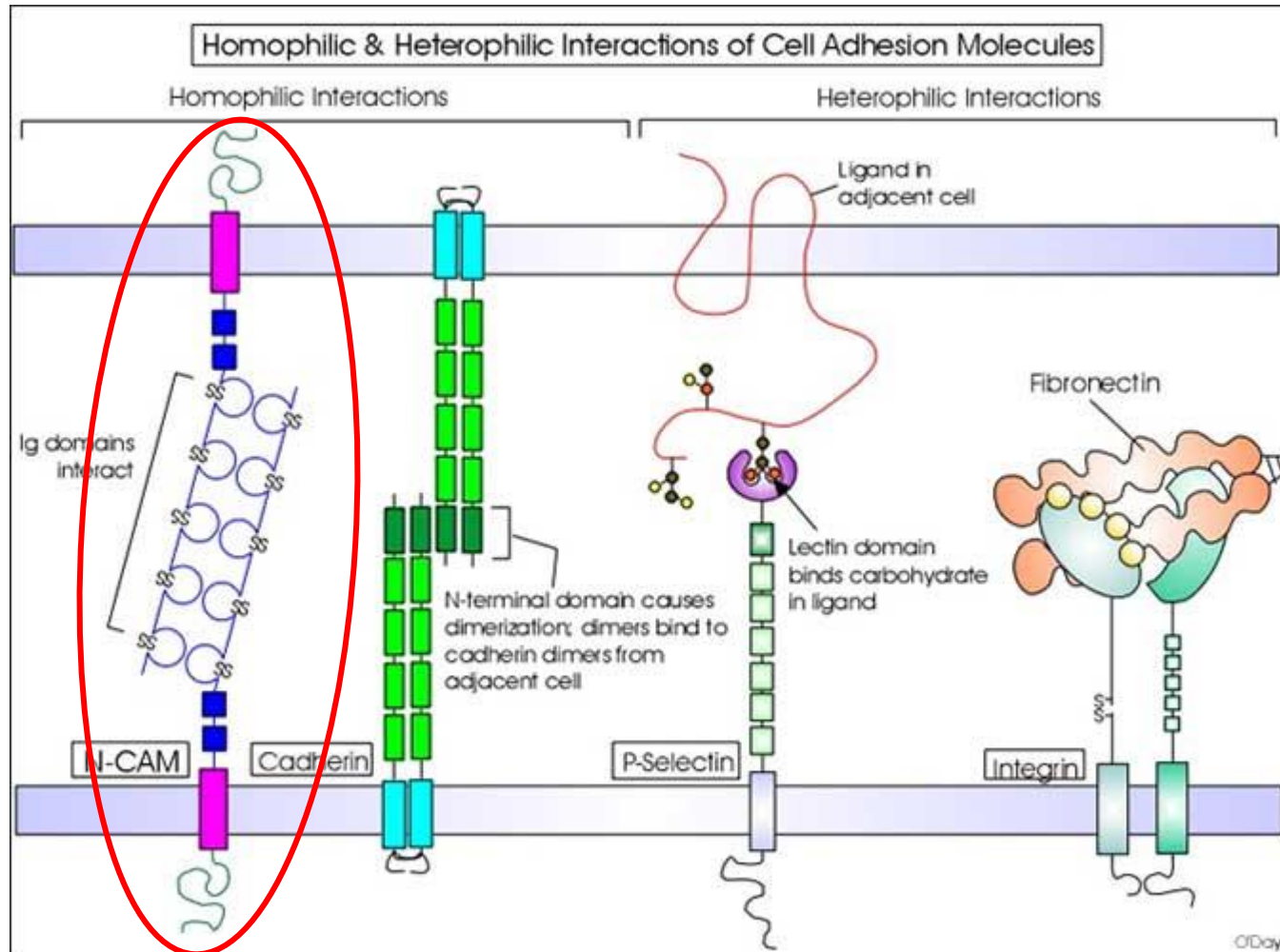


Plasma
membranes

0.2 μm

Adhezijske molekule (CAMs)

- kadherini: odvisni od Ca^{2+}
- **naddružina imunoglobulinov**
- selektini: odvisni od Ca^{2+}
- mucini
- integrini

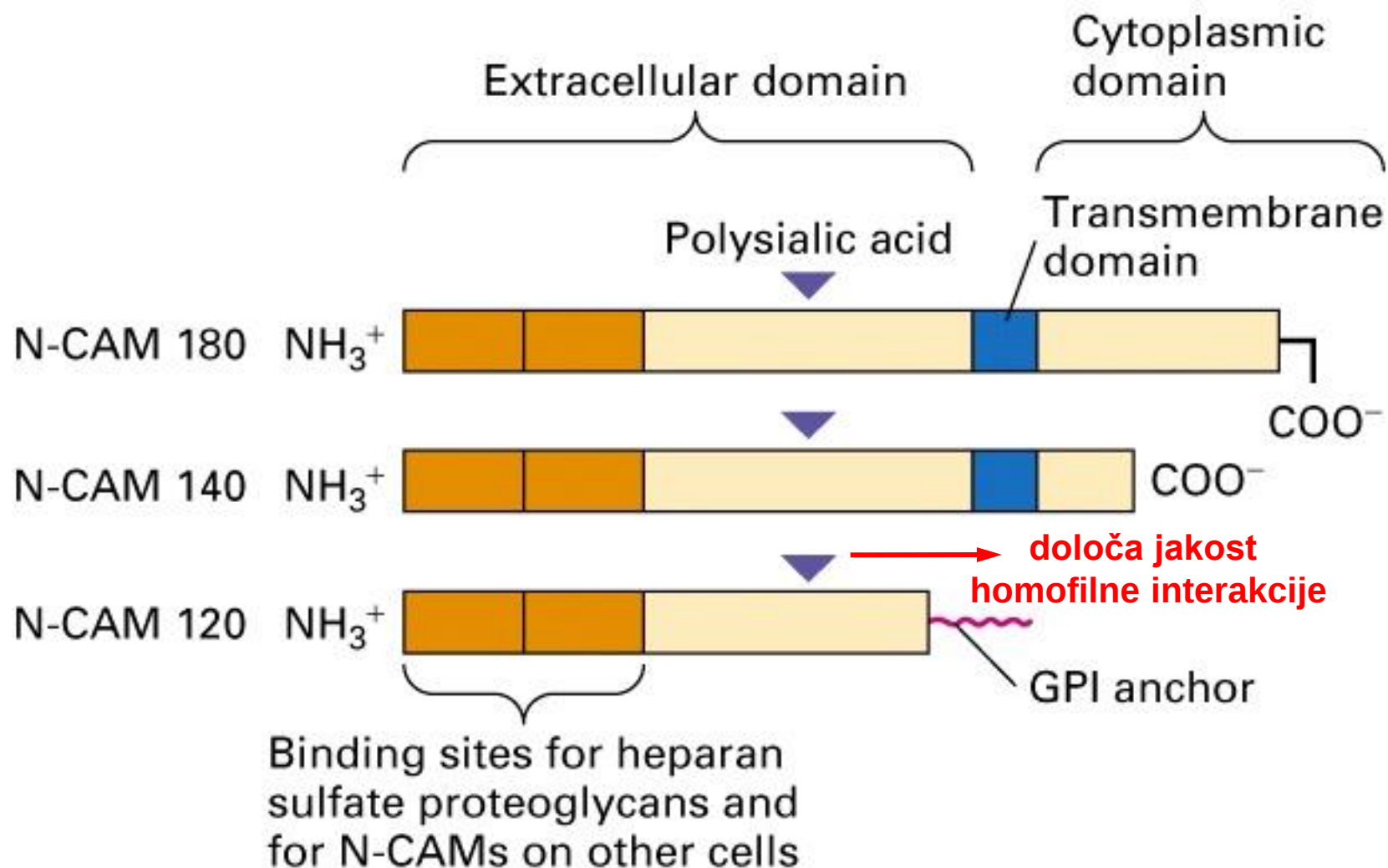


N-CAM = adhezijske molekule v nevronih (Neural-CAM).

Homofilna interakcija neodvisna od Ca^{2+} .

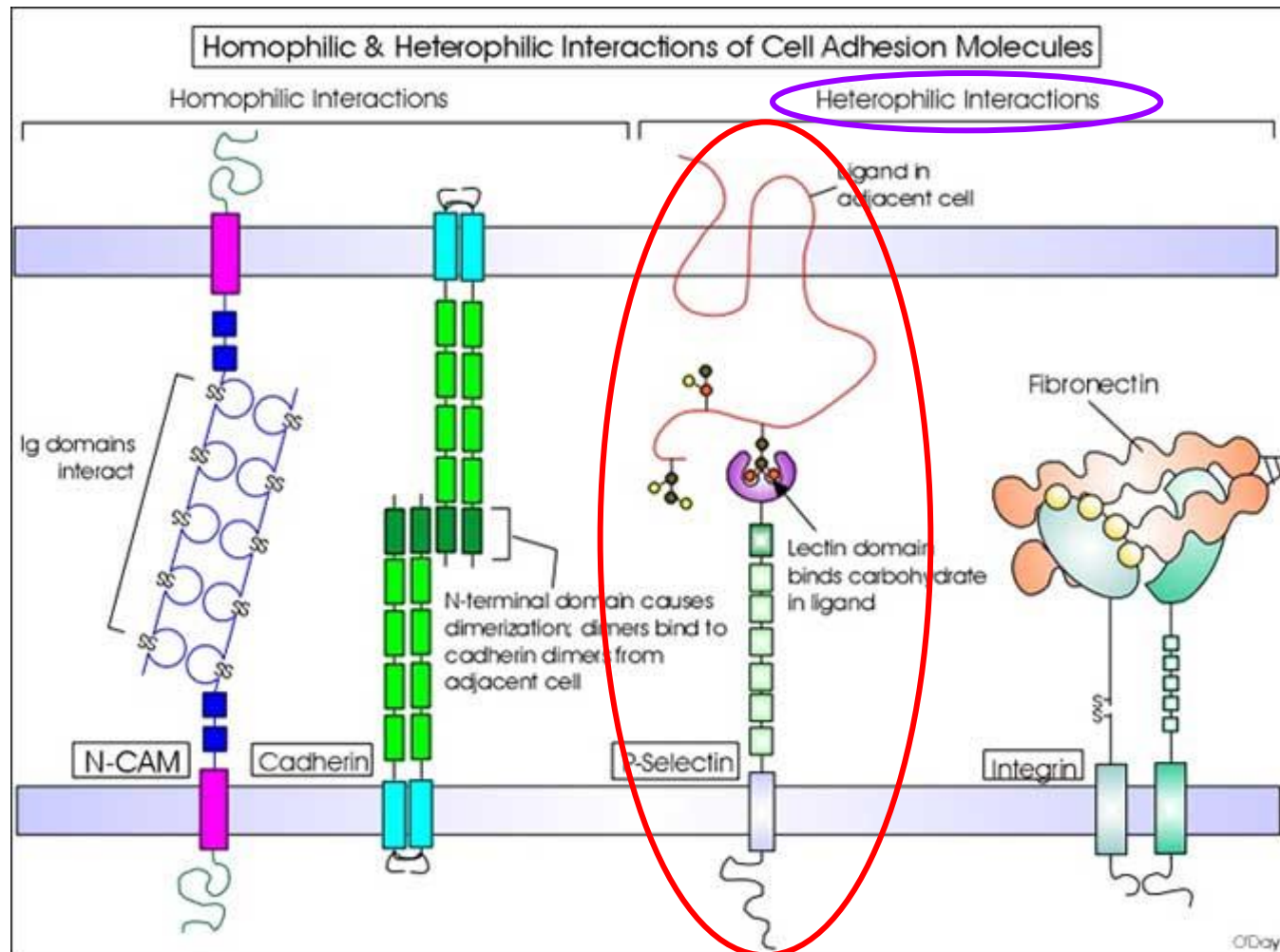
En gen, a alternativno izrezovanje intronov in različna glikozilacija.

Pomembni med morfogenezo, pri diferenciaciji mišičnih, živčnih in glialnih celic.



Adhezijske molekule (CAMs)

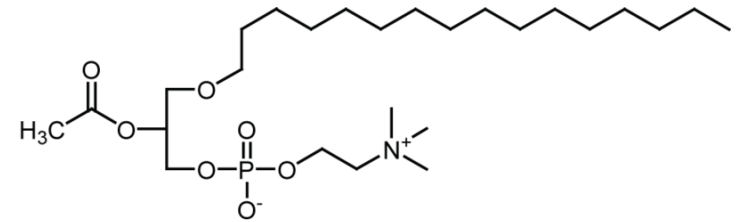
- kadherini: odvisni od Ca^{2+}
- naddružina imunoglobulinov
- **selektini: odvisni od Ca^{2+}**
- mucini
- integrini



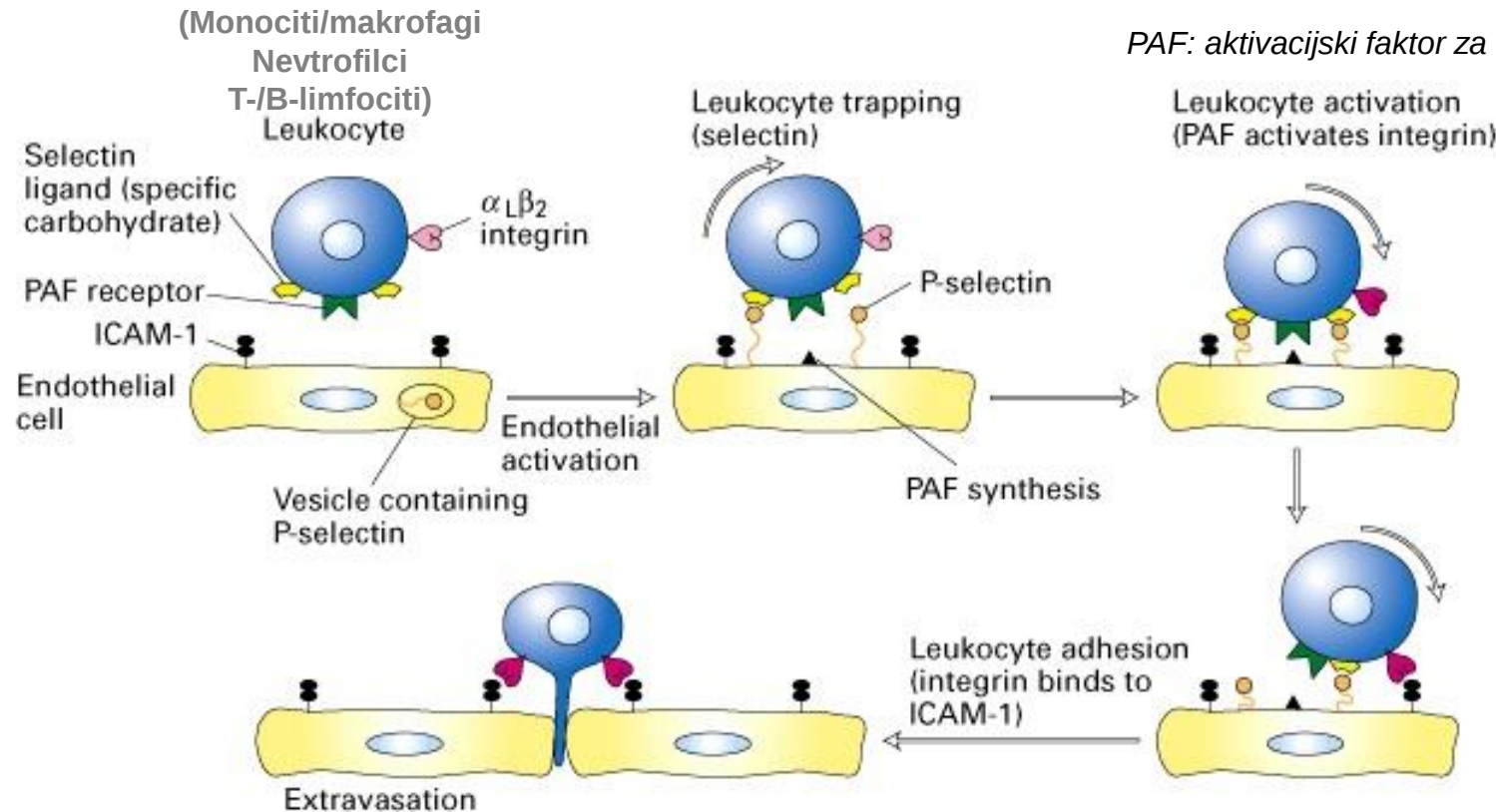
Selektini delujejo pri povezavah levkocitov z endotelijskimi celicami žilnih sten, pa tudi pri interakciji z elementi ECM.

P-selektin je v membrani endotelijske celice. Spada med lektine (vežejo oglj. hidrate); njegovo delovanje je odvisno od Ca^{2+} ionov.

Ključna vloga selektinov pri ekstravazaciji levkocitov



PAF: aktivacijski faktor za trombocite



P-selektin iz veziklov preide na površino po delovanju citokinov. Integrini na levkocitih se aktivirajo po interakciji PAF z receptorjem. Vežejo se na ICAM, ki spadajo med CAM iz naddružine Ig.

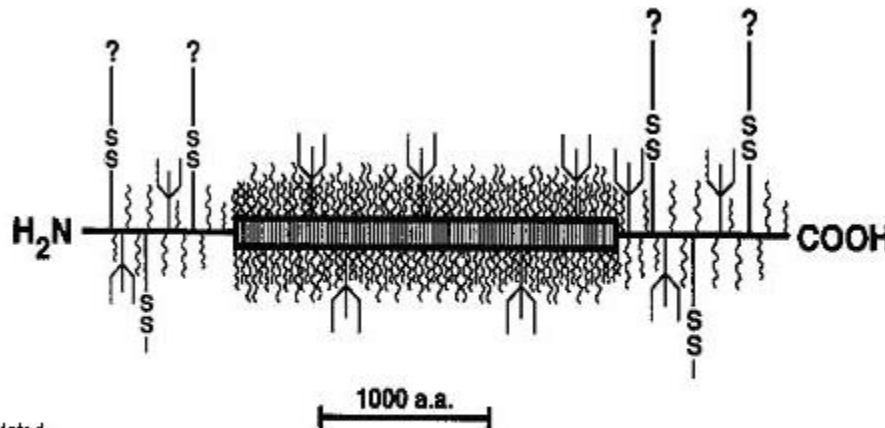
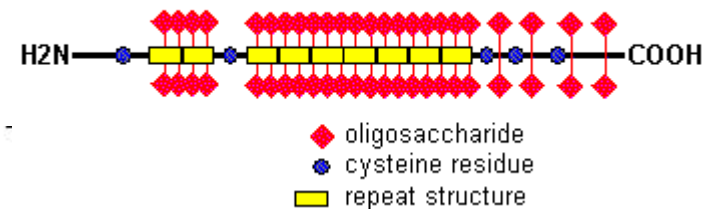
Adhezijske molekule (CAMs)

- kadherini: odvisni od Ca^{2+}
- naddružina imunoglobulinov
- selektini: odvisni od Ca^{2+}
- **mucini**
- integrini

Mucini:

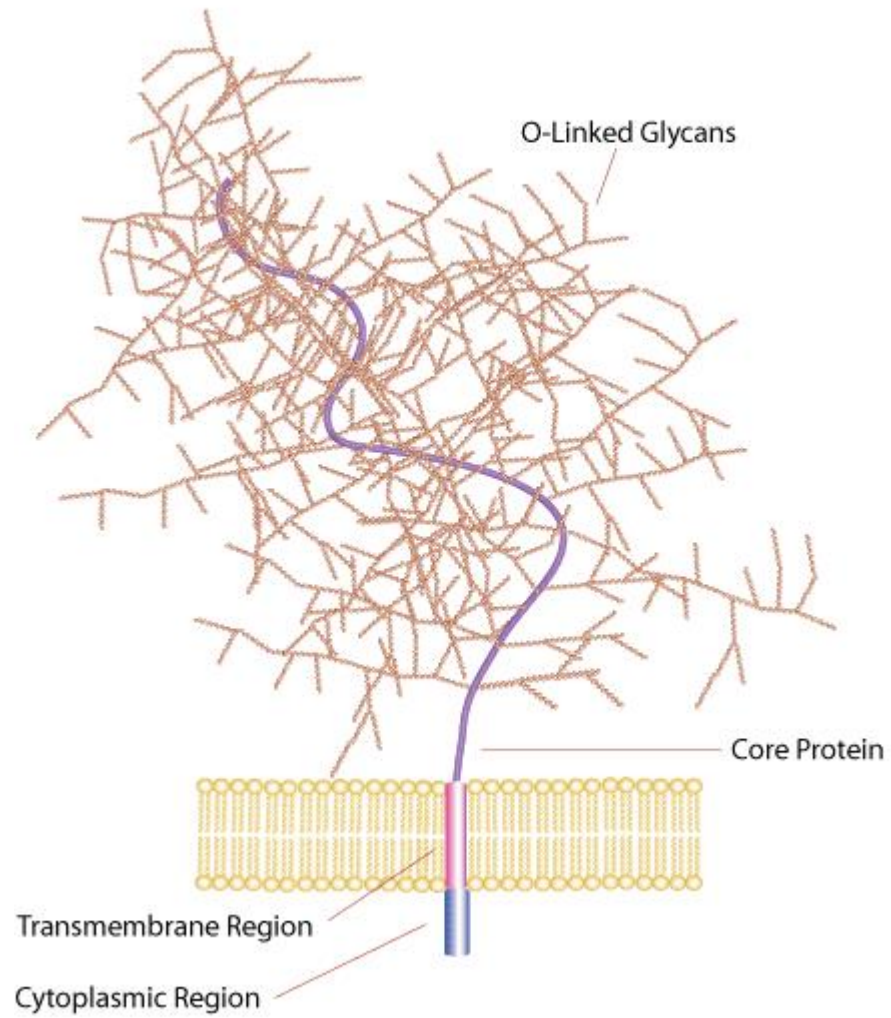
- izredno močno glikozilirani proteini, predvsem v osrednjem delu
- N- in C-konec sta bogata s Cys
- osrednji del sestavlja 50% Ser in Thr z >100 O-vezanih sladkornih verig
- združujejo se v agregate z $10^6 - 10^7$ Da (nekovalentne interakcije in S-S)
- pomembna sestavina sluzi
- za proteaze nedostopna bariera

Generic structure of a mucin monomer



- Glycosylated
- O-linked Oligosaccharides
- N-linked Oligosaccharides
- Disulfide bridges

Mucin



Razdelitev poglavja

- Pritrjevanje celic in komuniciranje med njimi
- Pritrjevanje celic na medceličnino
- Kolageni v medceličnini
- Nekolagenske sestavine medceličnine

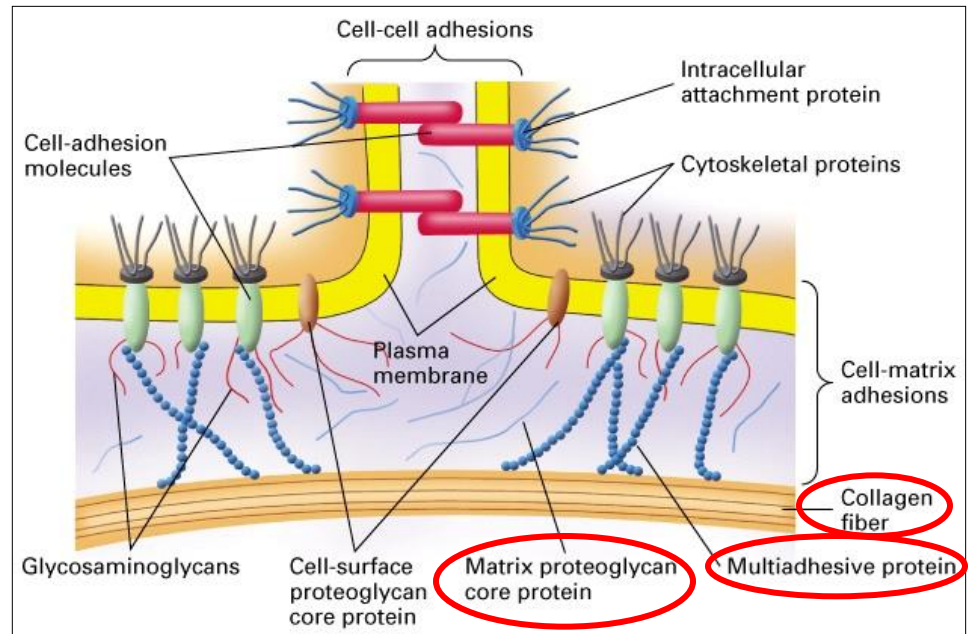
Glavne funkcije medceličnine (Ekstra Celularnega Matriksa - ECM)

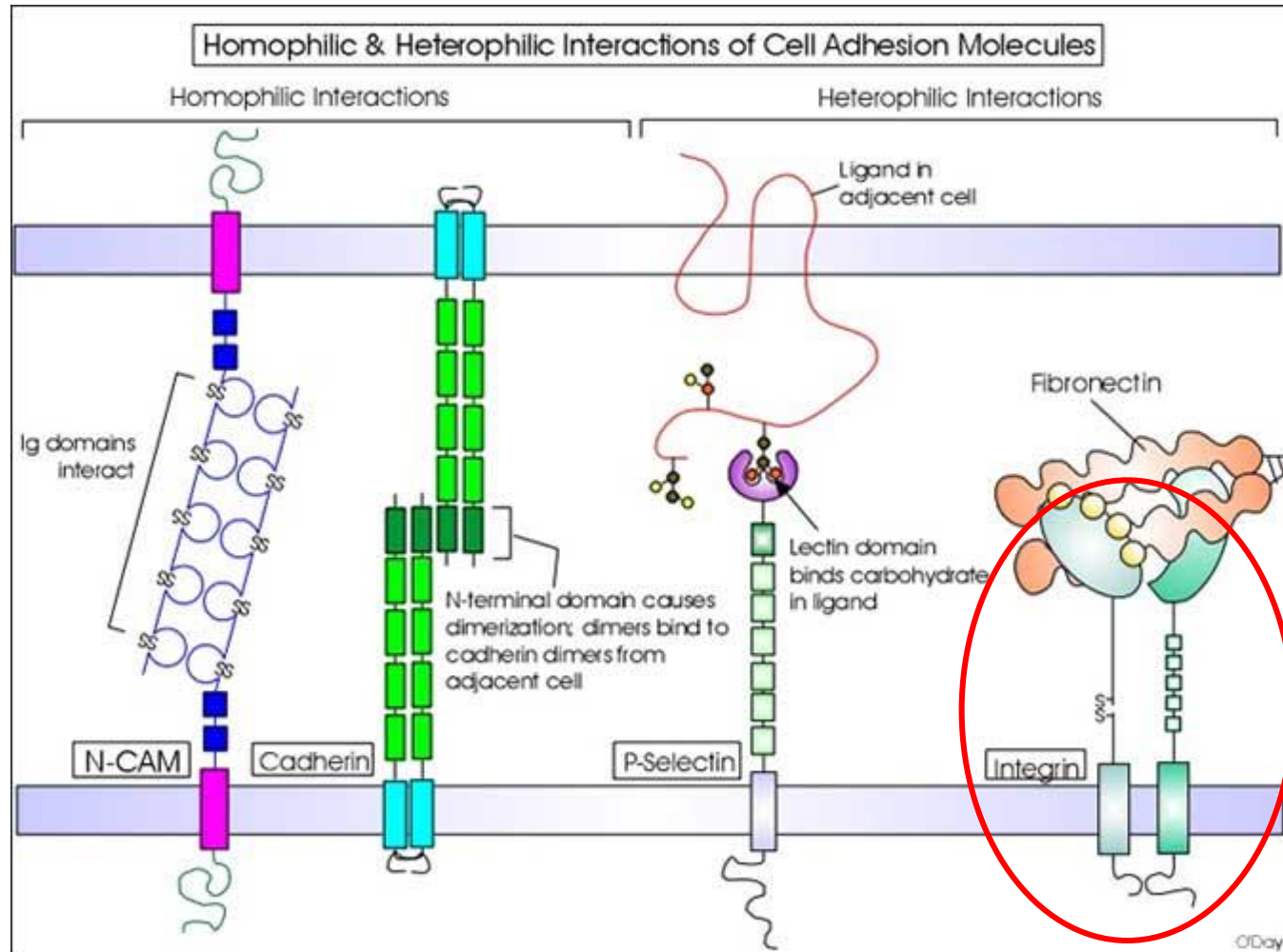
- Organiziranje celic v tkiva
- Koordinacija celičnih funkcij
- Platforma za migracijo celic
- Aktivacija signalnih poti, ki vodijo do diferenciacije in delitve celic ter izražanja genov

Proteinske sestavine medceličnine

- proteoglikani: viskozni, varujejo celice
- kolagenska vlakna: čvrstost
- multiadhezijski proteini: povezava elementov ECM z receptorji na površini celic

Prijemališča na celicah:
integrini, selektini in
proteoglikani





Integrini: heterodimeri (sesalci: 22 različnih vrst: $18 \alpha + 8 \beta$). Na isti celici je več različnih z različnimi specifičnostmi. Tarčne molekule vežejo sorazmerno šibko.

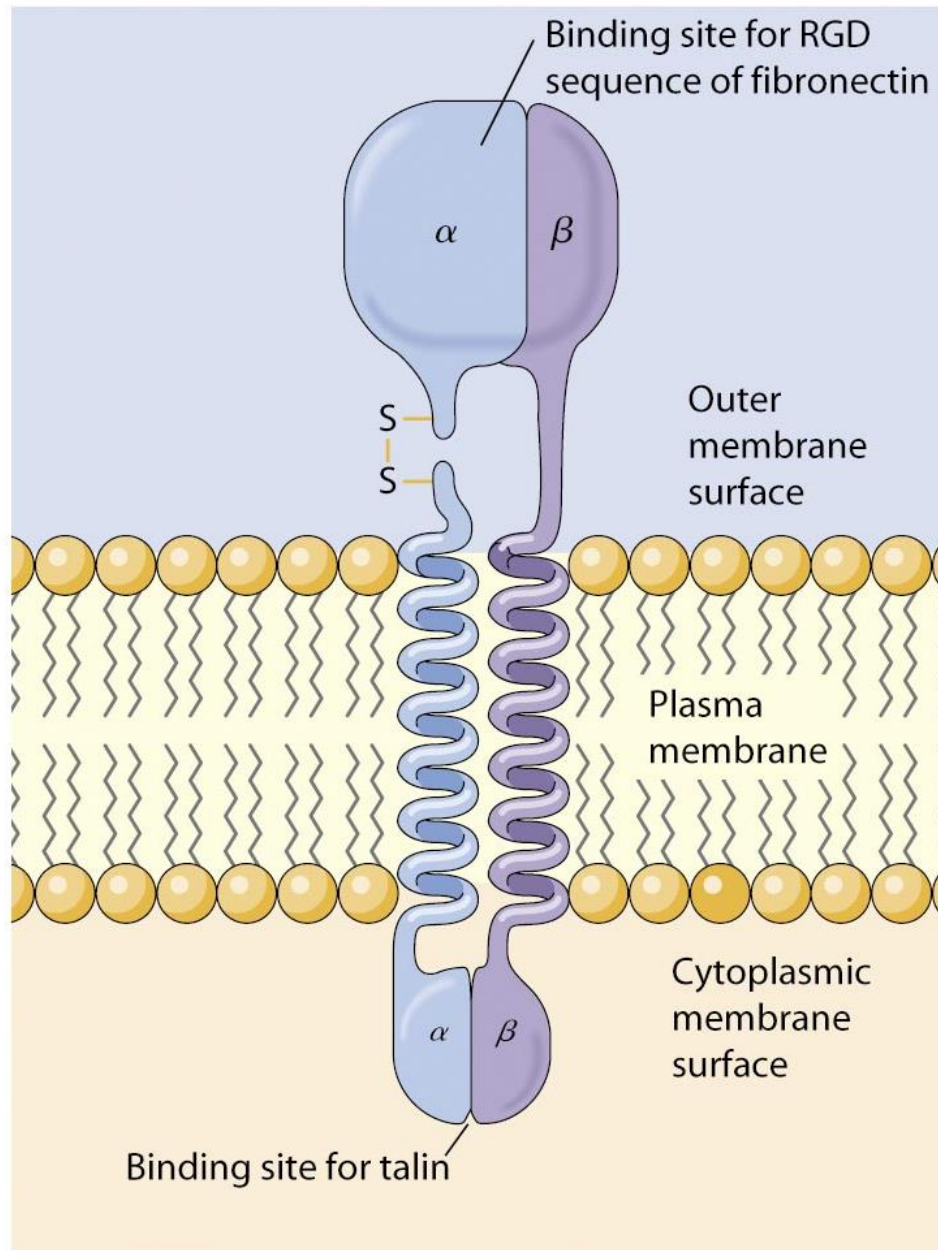


TABLE 22-2 Some Vertebrate Integrins and Their Ligands*

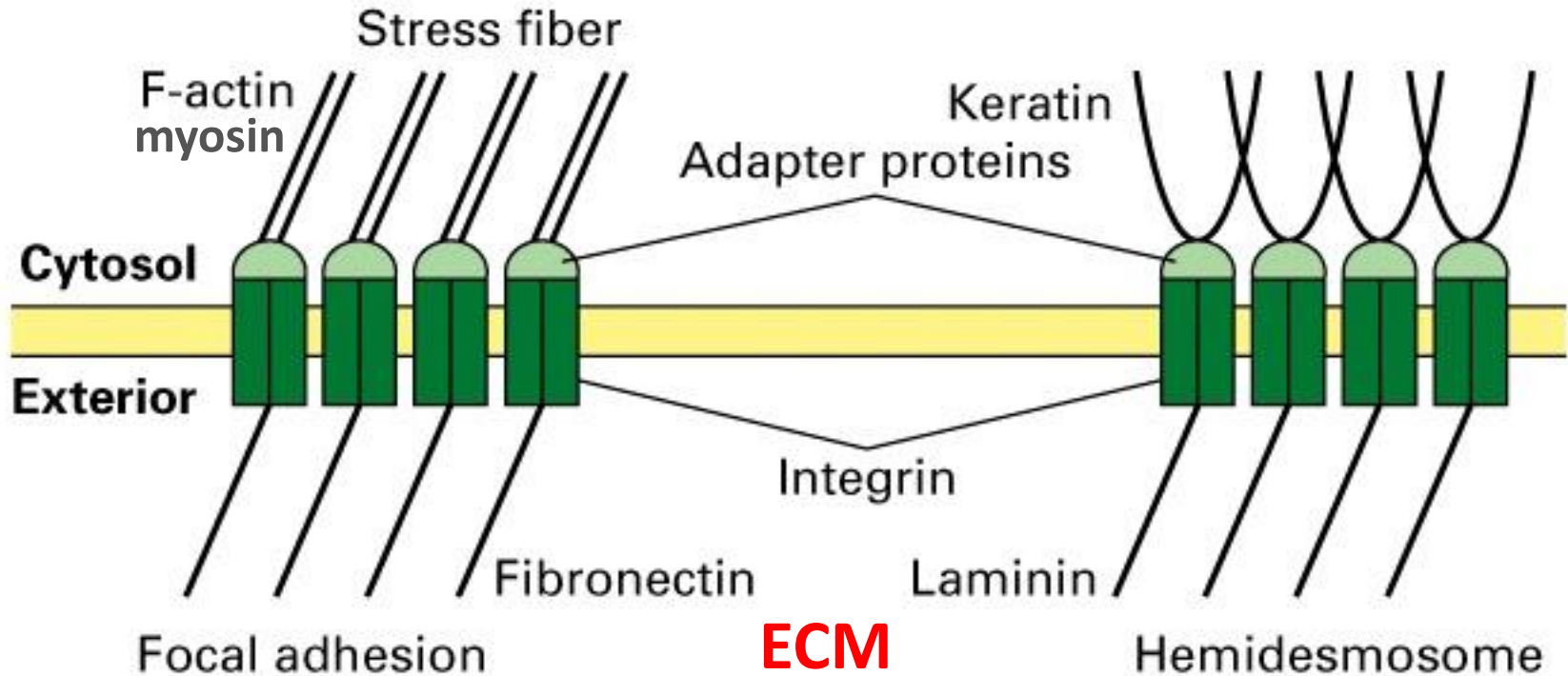
Subunits		Ligands
$\beta_1^{\dagger}$	α_1	Collagens, laminin
	α_2	Collagens, laminin
	$\alpha_3^{\dagger}$	Fibronectin, laminin
	α_4	Fibronectin; VCAM-1
	α_5	Fibronectin
	$\alpha_6^{\dagger}$	Laminin
	α_7	Laminin
	α_V	Fibronectin, vitronectin
β_2	α_L	ICAM-1, ICAM-2
	α_M	C3b, fibrinogen, factor X; ICAM-1
	α_X	Fibrinogen, C3b
$\beta_3^{\dagger}$	α_{IIb}	Fibrinogen, fibronectin, von Willebrand factor, vitronectin, thrombospondin
	α_V	Same as $\beta_3\alpha_{IIb}$; also osteopontin, collagen

*The integrins are grouped in subfamilies sharing a common β subunit. Ligands shown in red are vascular ligands; all others are proteins in the extracellular matrix.

[†]These subunits can have multiply spliced isoforms with different cytosolic domains.

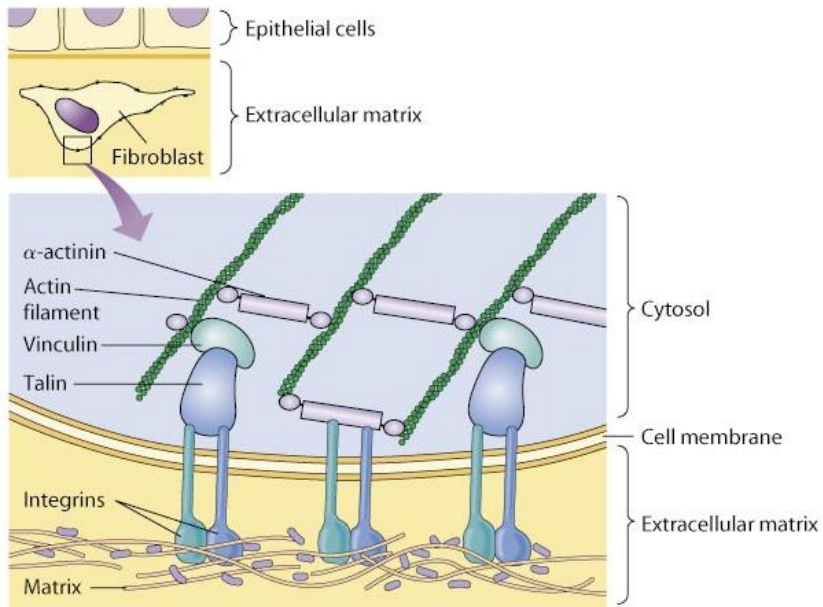
SOURCE: R. O. Hynes, 1992, *Cell* 69:11.

Povezave celic z ECM preko **integrinov**

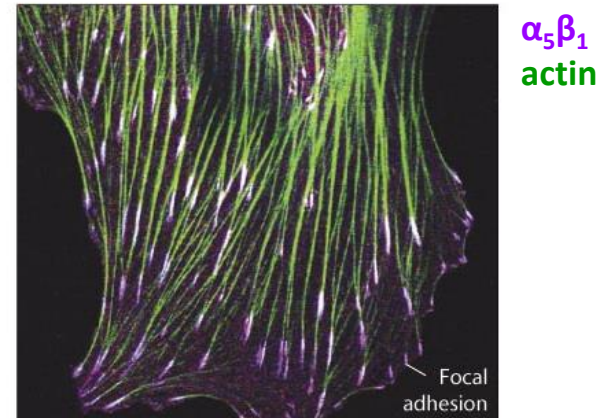


Npr. pri fibroblastih, kožnih keratinocitih in epiteljskih celicah.

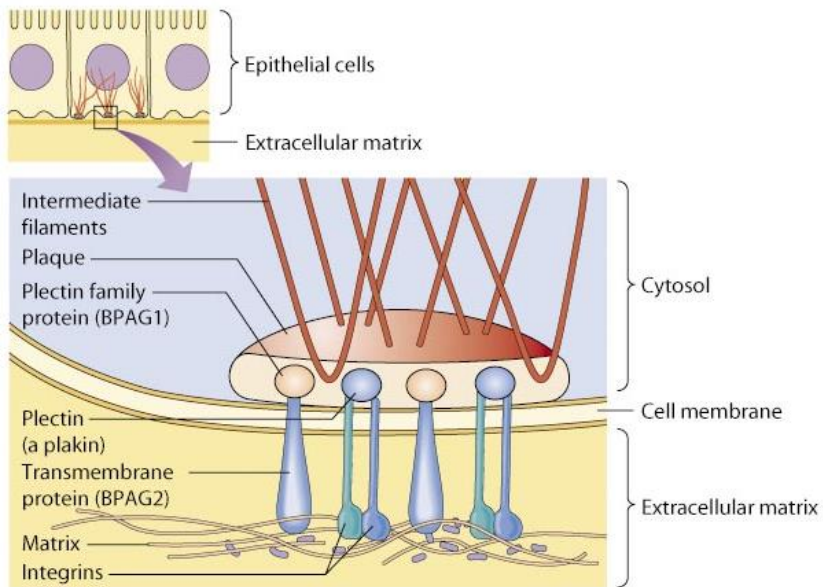
- **fokalne adhezije** (prenos mehanskih in drugih regulatornih signalov z ECM na celico),
- **hemidezmosomi** (povečanje rigidnosti epitelnega tkiva).



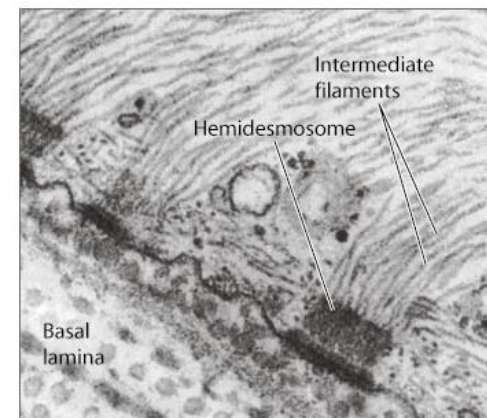
(a) Focal adhesion



(b) Immunofluorescence



(c) Hemidesmosome



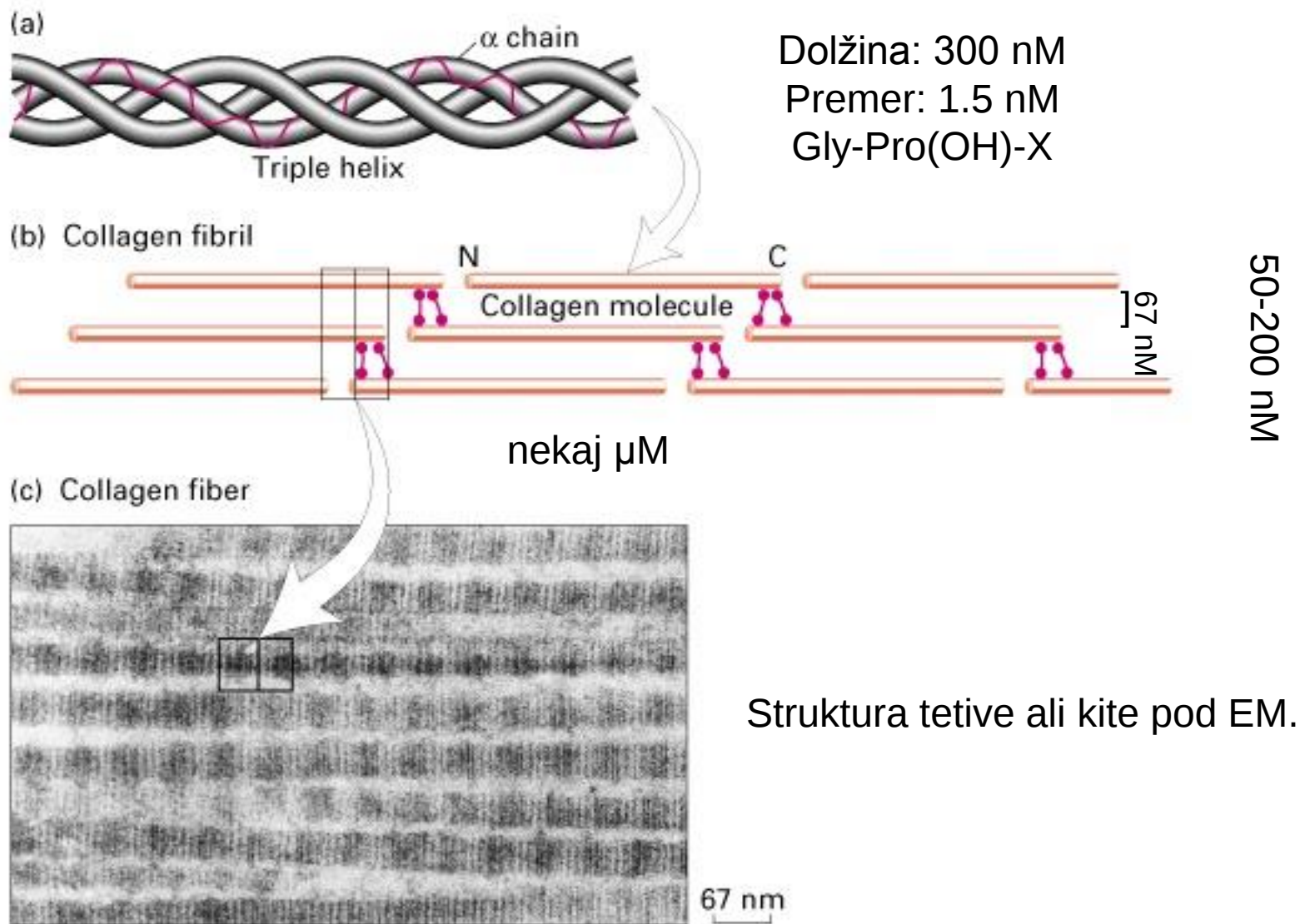
(d) Electron micrograph

Razdelitev poglavja

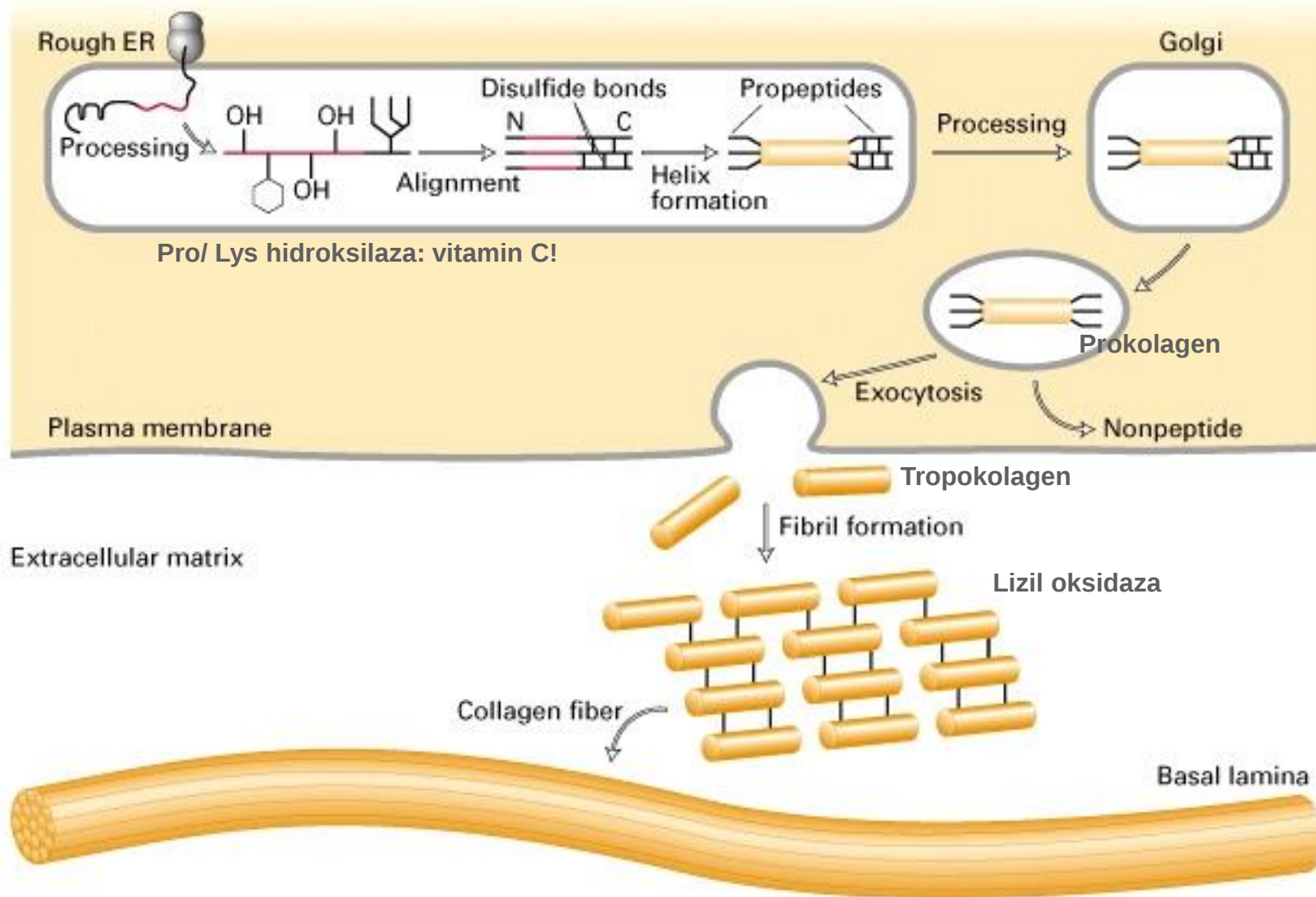
- Pritrjevanje celic in komuniciranje med njimi
- Pritrjevanje celic na medceličnino
- **Kolageni v medceličnini**
- Nekolagenske sestavine medceličnine

Kolageni

- najpogostejši proteini v živalskem svetu
- izločajo jih fibroblasti in epitelijske celice
- obstaja vsaj 16 tipov kolagenov
- >80% vsega kolagena je tipov I, II in III
- ti tvorijo vlakna, tip IV pa 2D mrežo ...
- omogočijo odpornost tkiva na natezno silo
- osnovni strukturni element je trojna vijačnica



Na mg je kolagensko vlakno tipa I močnejše od jeklenega vlakna!



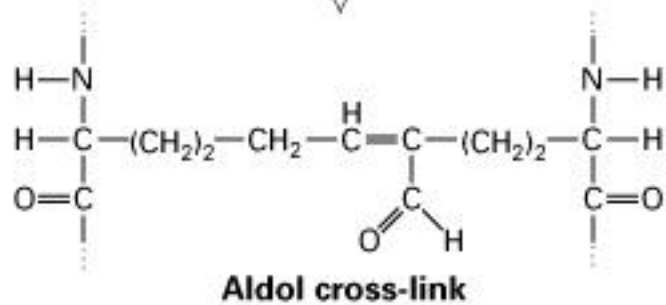
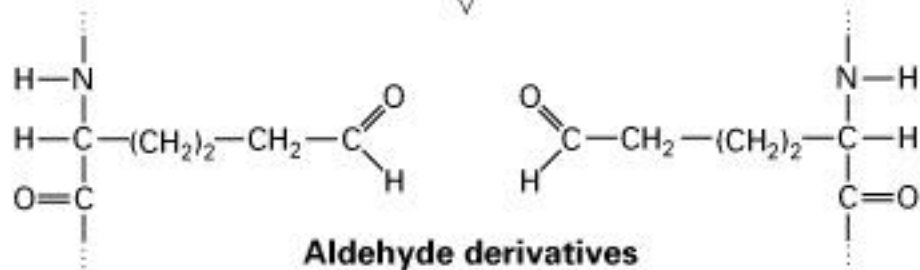
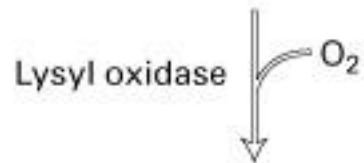
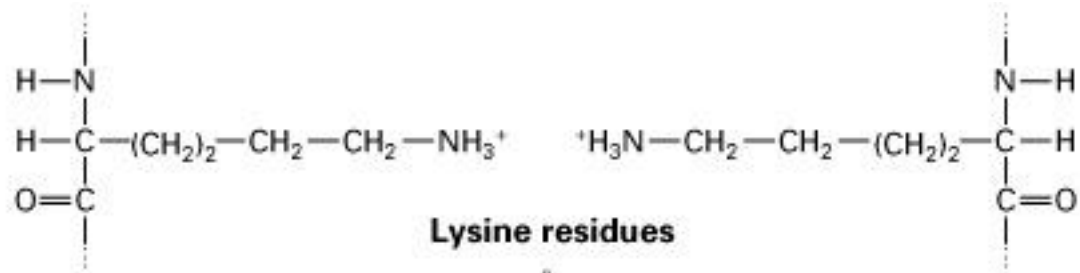
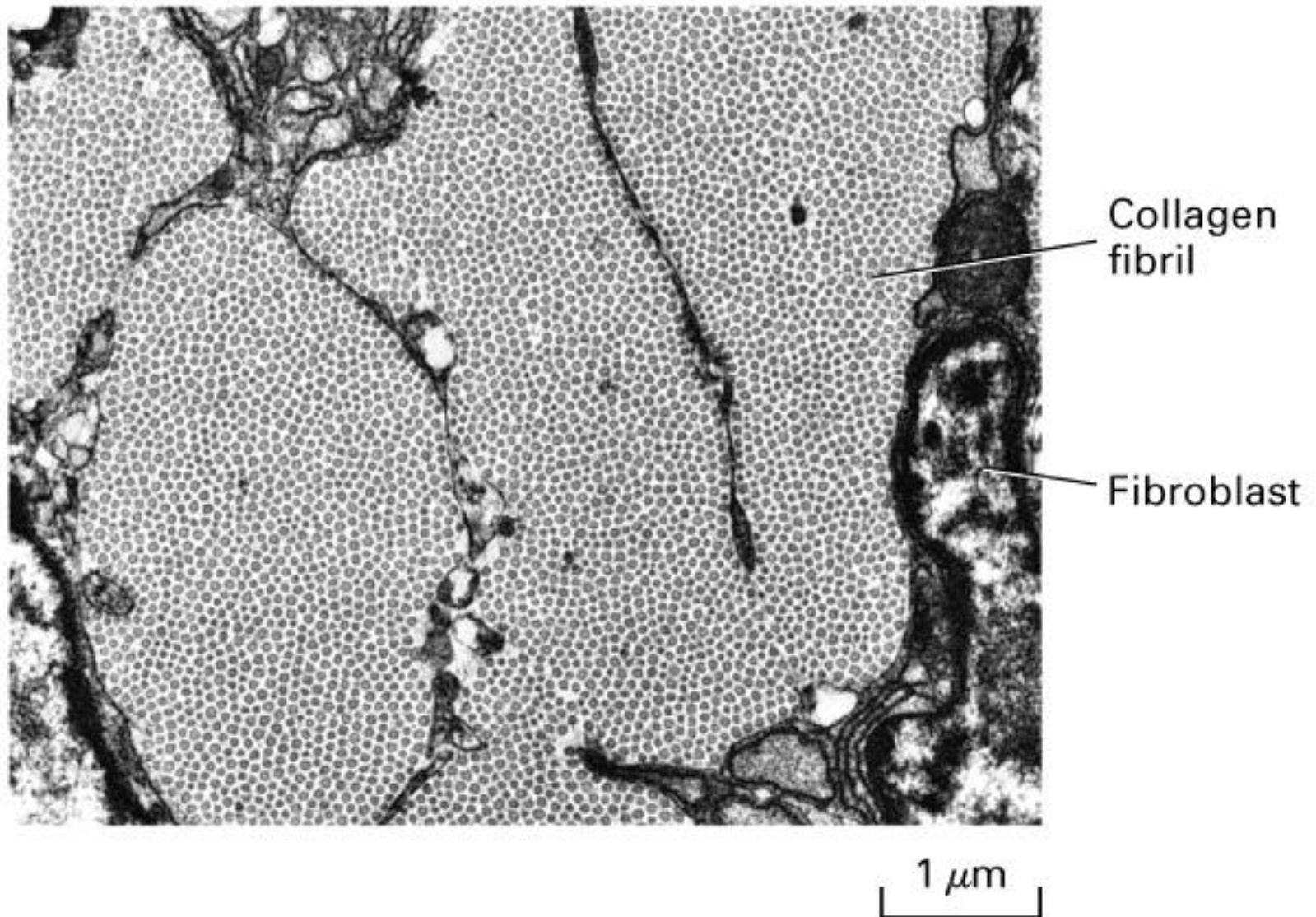


TABLE 22-3 Major Collagen Molecules

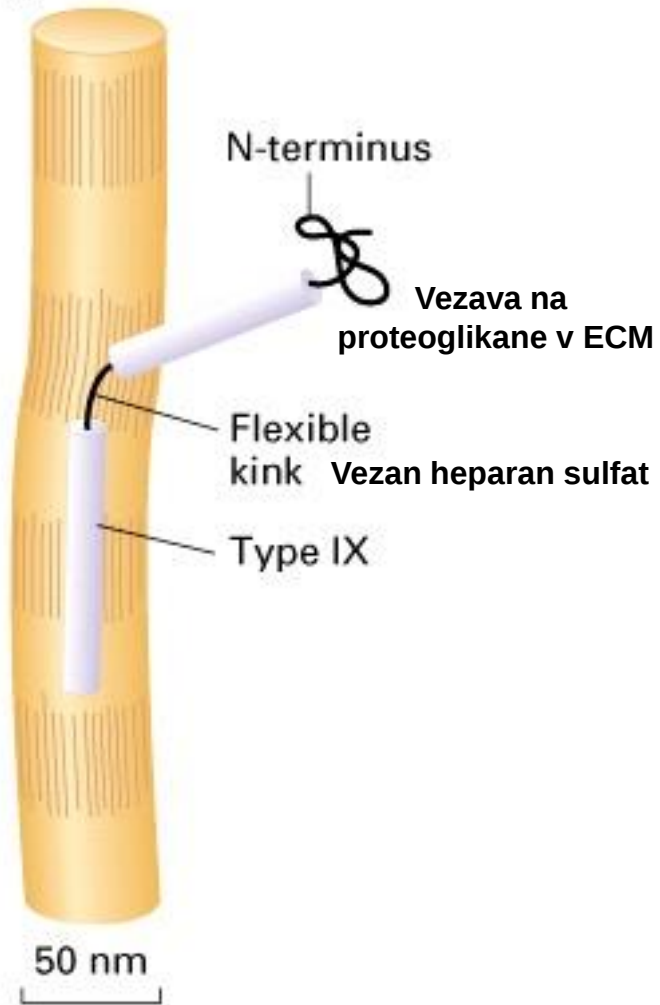
Type	Molecule Composition	Structural Features	Representative Tissues
Fibrillar Collagens			
I	$[\alpha 1(I)]_2[\alpha 2(I)]$	300-nm-long fibrils	Skin, tendon, bone, ligaments, dentin, interstitial tissues
II	$[\alpha 1(II)]_3$	300-nm-long fibrils	Cartilage, vitreous humor
III	$[\alpha 1(III)]_3$	300-nm-long fibrils; often with type I	Skin, muscle, blood vessels
V	$[\alpha 1(V)]_3$	390-nm-long fibrils with globular N-terminal domain; often with type I	Similar to type I; also cell cultures, fetal tissues
Fibril-Associated Collagens			
VI	$[\alpha 1(VI)][\alpha 2(VI)]$	Lateral association with type I; periodic globular domains	Most interstitial tissues
IX	$[\alpha 1(IX)][\alpha 2(IX)][\alpha 3(IX)]$	Lateral association with type II; N-terminal globular domain; bound glycosaminoglycan	Cartilage, vitreous humor;
Sheet-Forming Collagens			
IV	$[\alpha 1(IV)]_2[\alpha 2(IV)]$	Two-dimensional network	All basal laminae

source: K. Kuhn, 1987, in R. Mayne and R. Burgeson, eds., *Structure and Function of Collagen Types*, Academic Press, p. 2; M. van der Rest and R. Garrone, 1991, *FASEB J.* 5:2814.

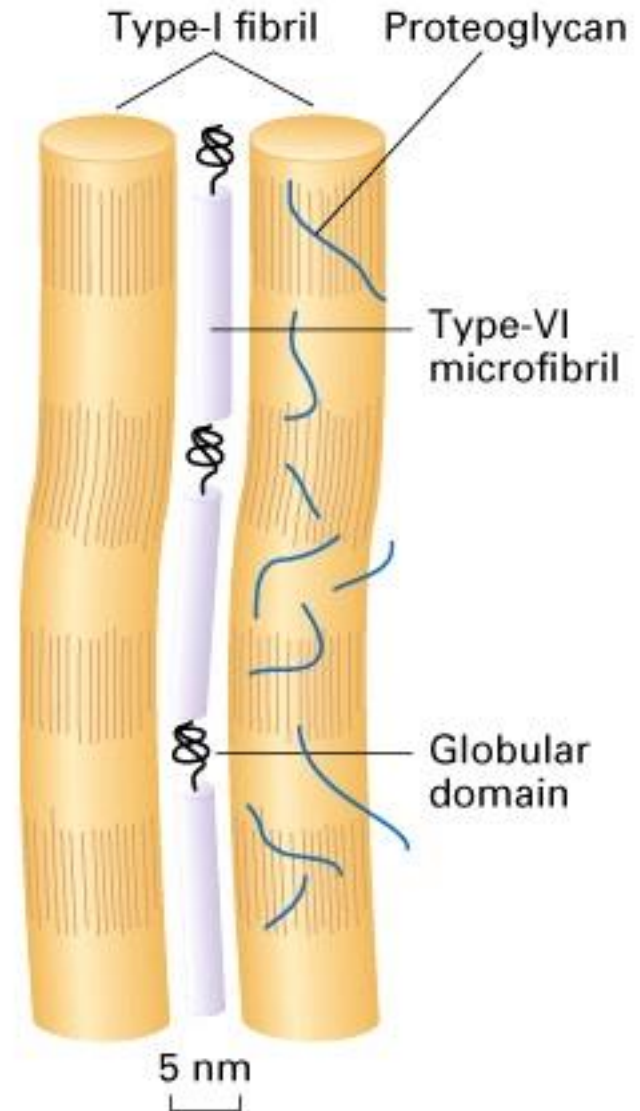


Prerez skozi kito: zgrajena je pretežno iz fibrilov, ki jih sestavljajo molekule kolagena tipa I.

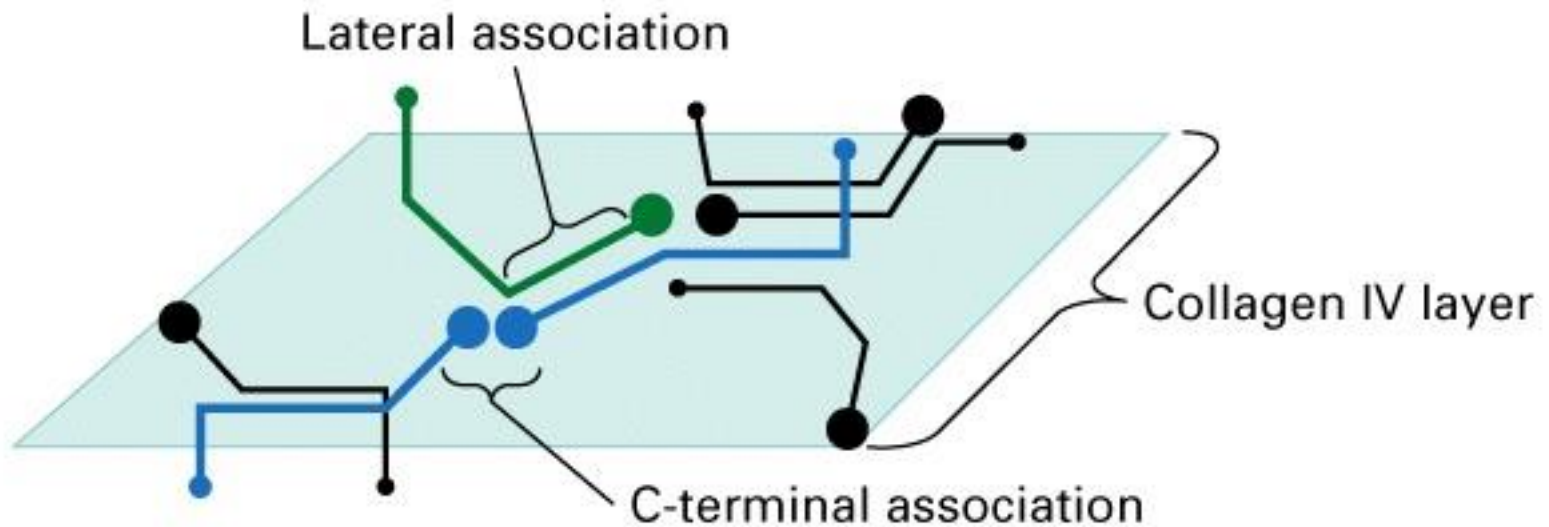
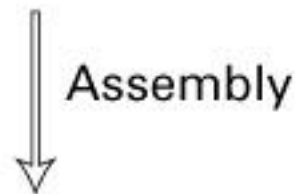
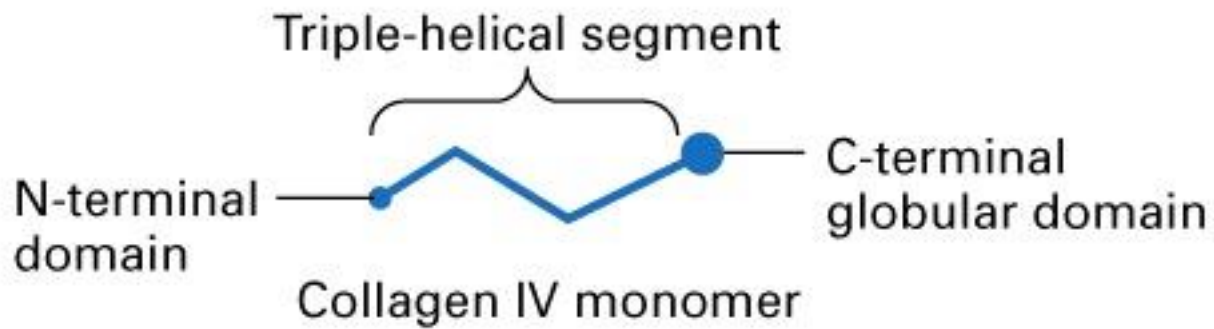
Type-II fibril



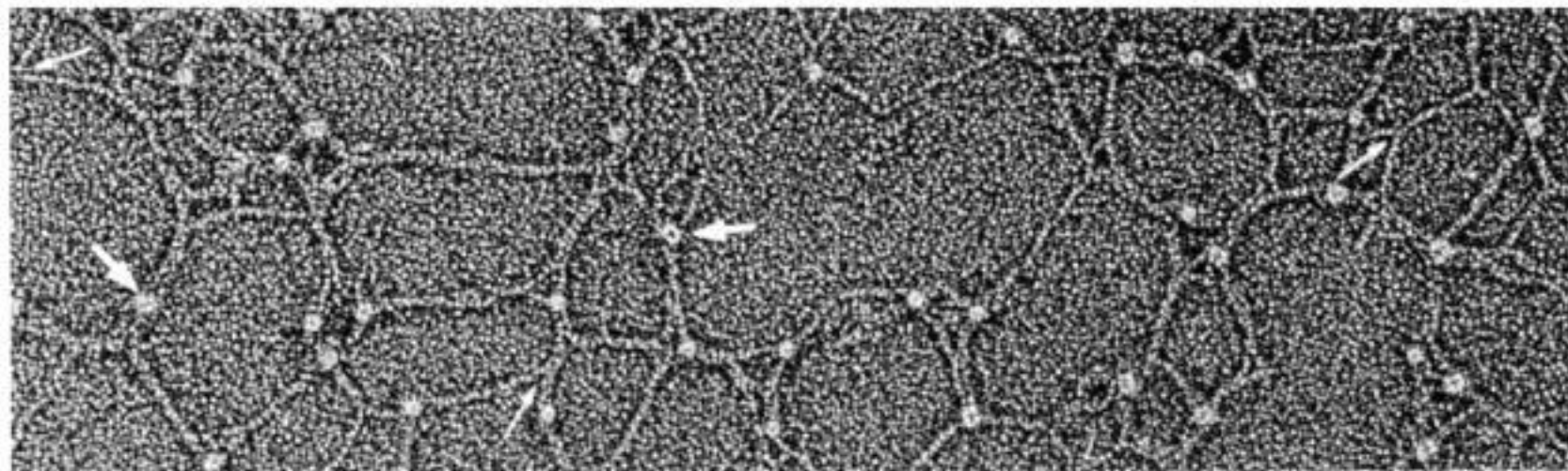
Glavna kolagenska sestavina hrustanca.
Odpornost proti večjim deformacijam oblike.



Kolagenska struktura v tetivi oz. kiti.



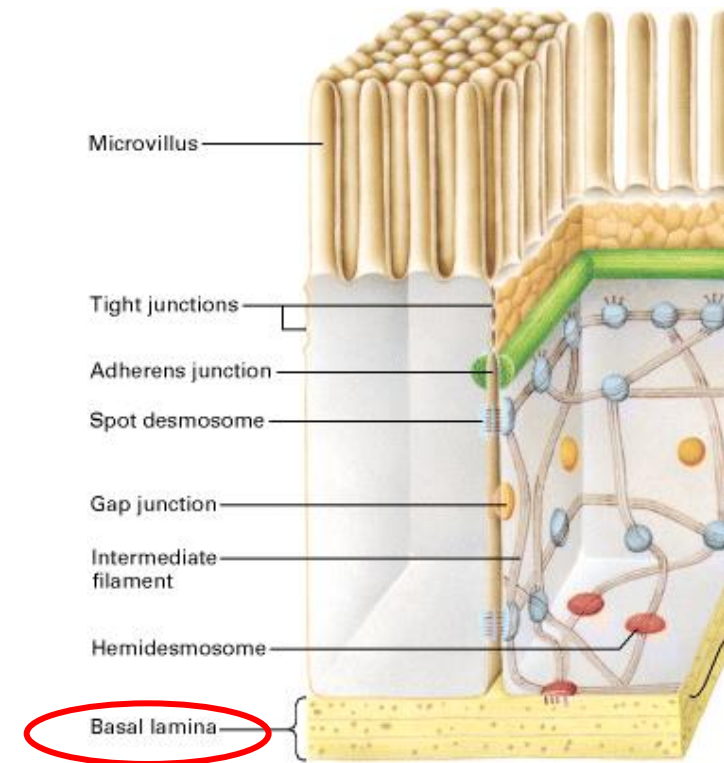
Type IV network

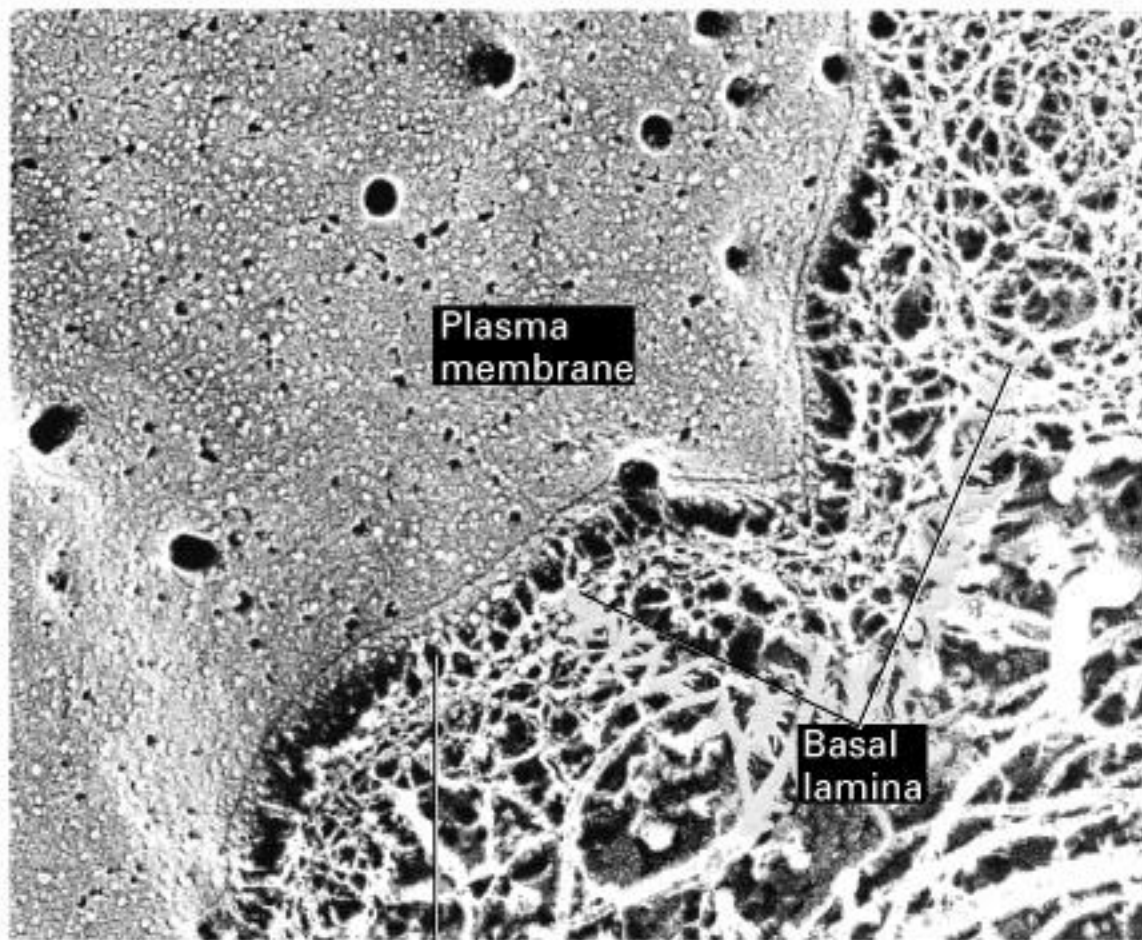


250 nm

Bazalna lamina

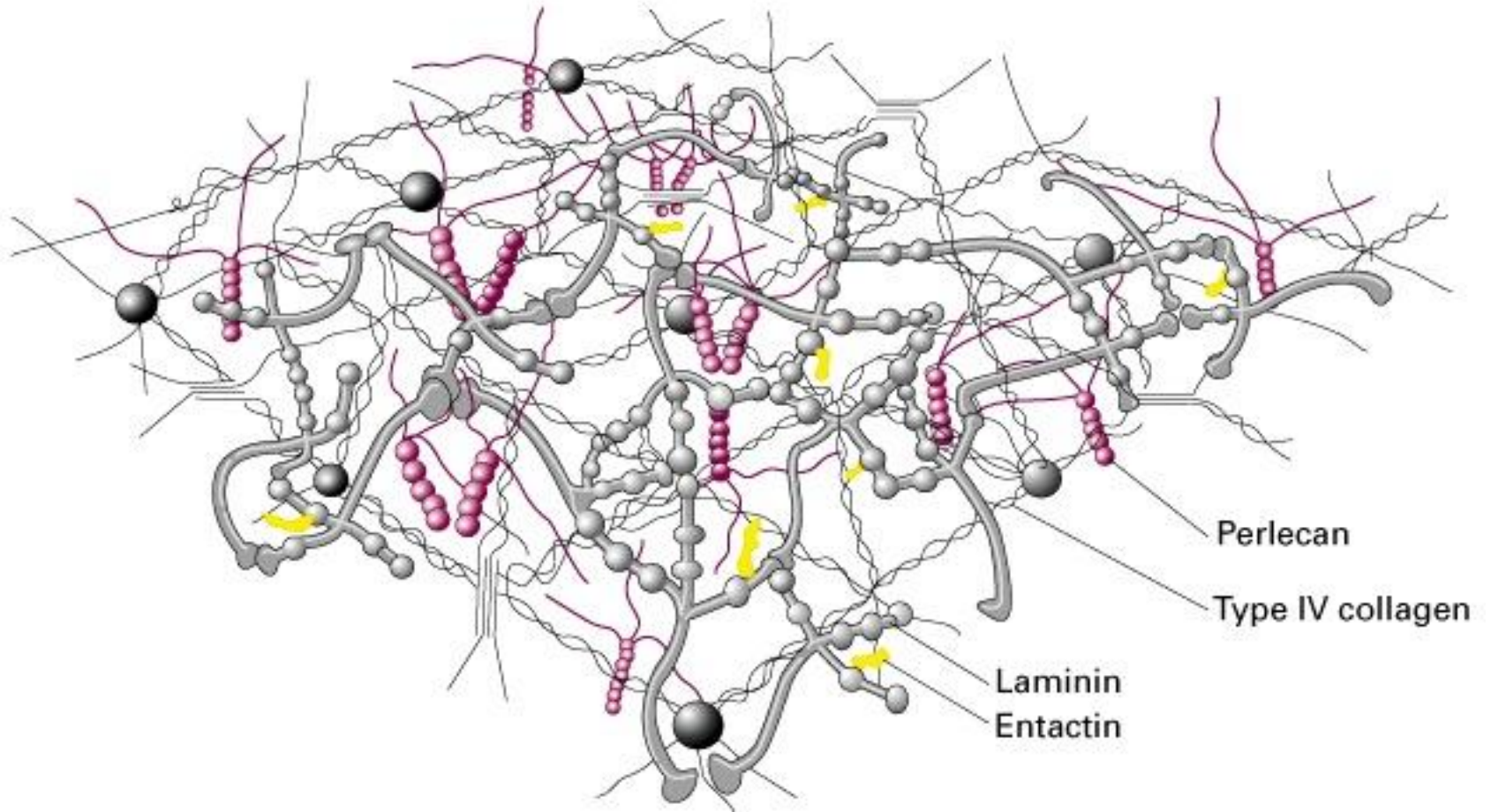
- 60 nm – 100 nm debela plošča
- sestavljena iz komponent ECM
- podlaga za epitelijske in endotelijske celice
- obkroža mišične celice in adipocite
- večinski komponenti sta kolagen IV in laminin



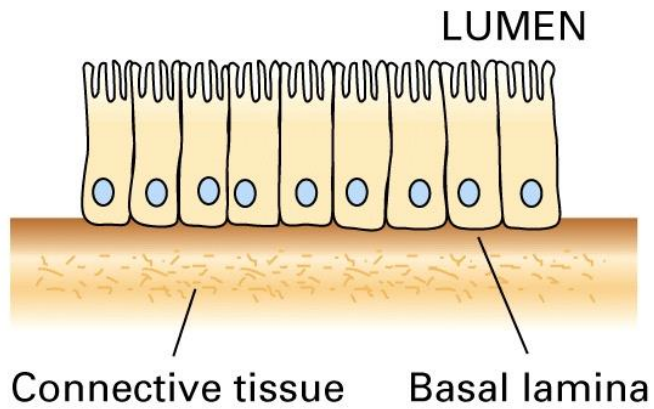


Cell-surface
receptor proteins

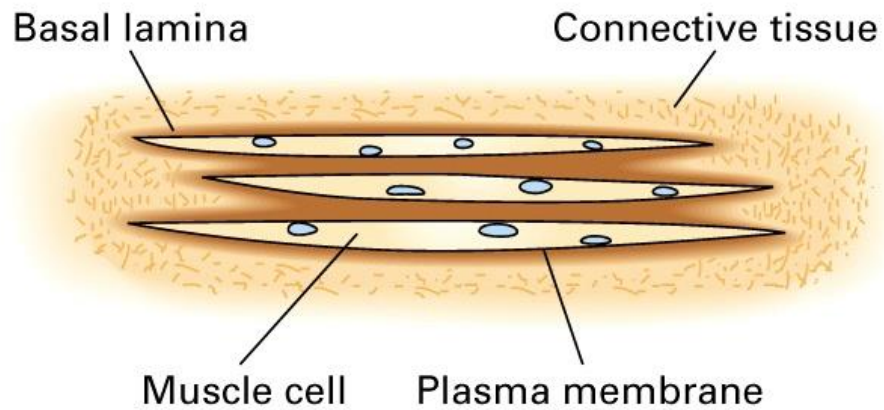
Collagen
fibers



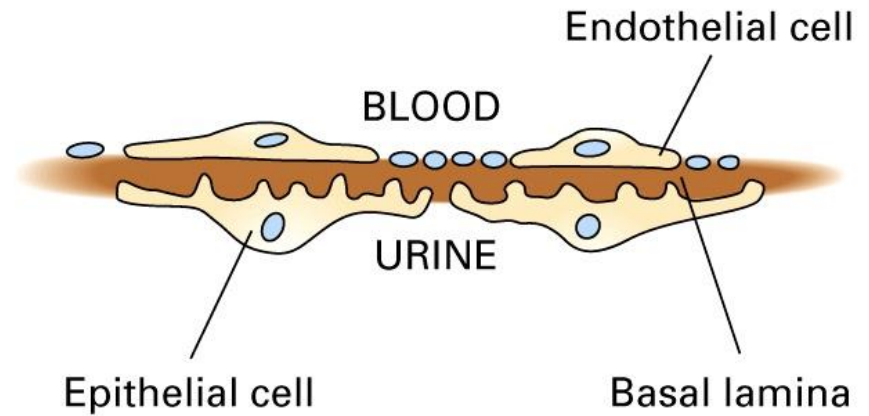
(a) Epithelial sheet



(b) Muscle



(c) Kidney glomerulus



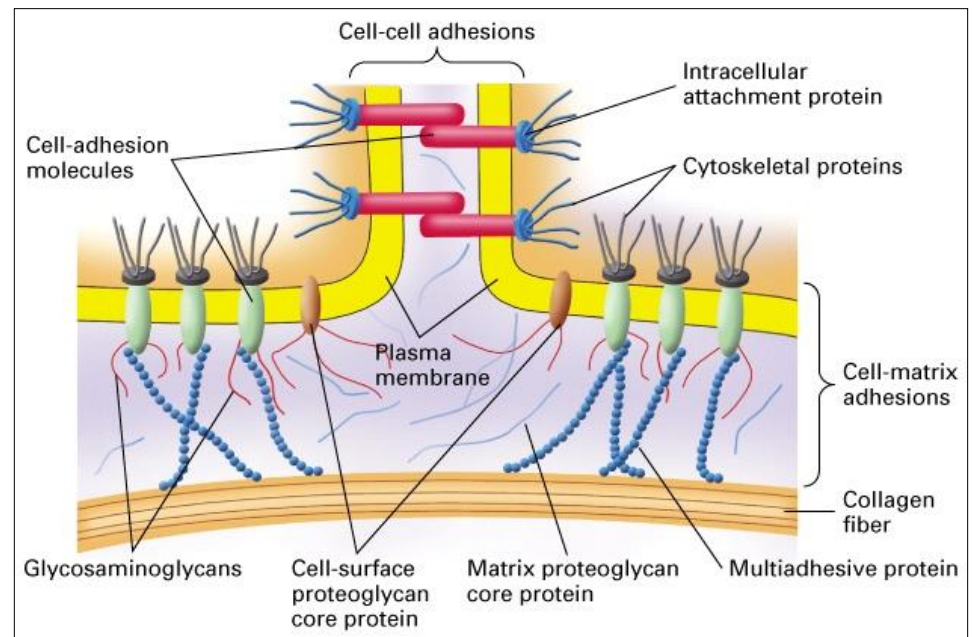
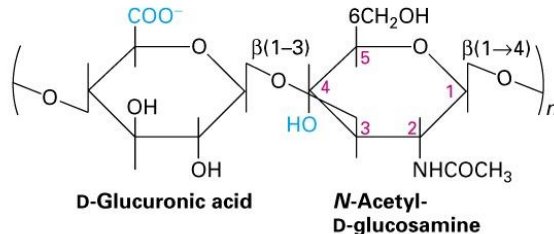
Razdelitev poglavja

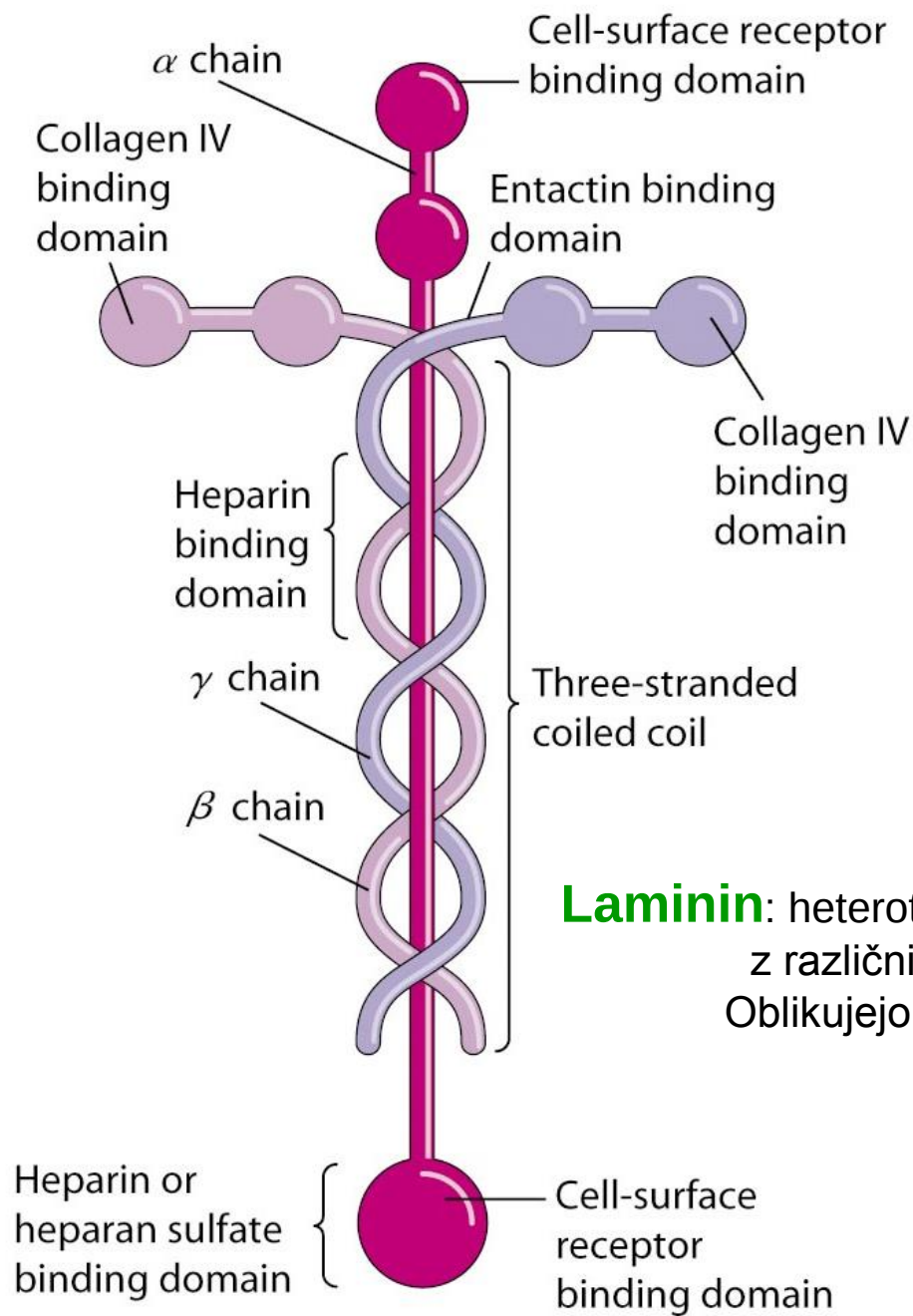
- Pritrjevanje celic in komuniciranje med njimi
- Pritrjevanje celic na medceličnino
- Kolageni v medceličnini
- **Nekolagenske sestavine medceličnine**

Nekolagenske sestavine medceličnine

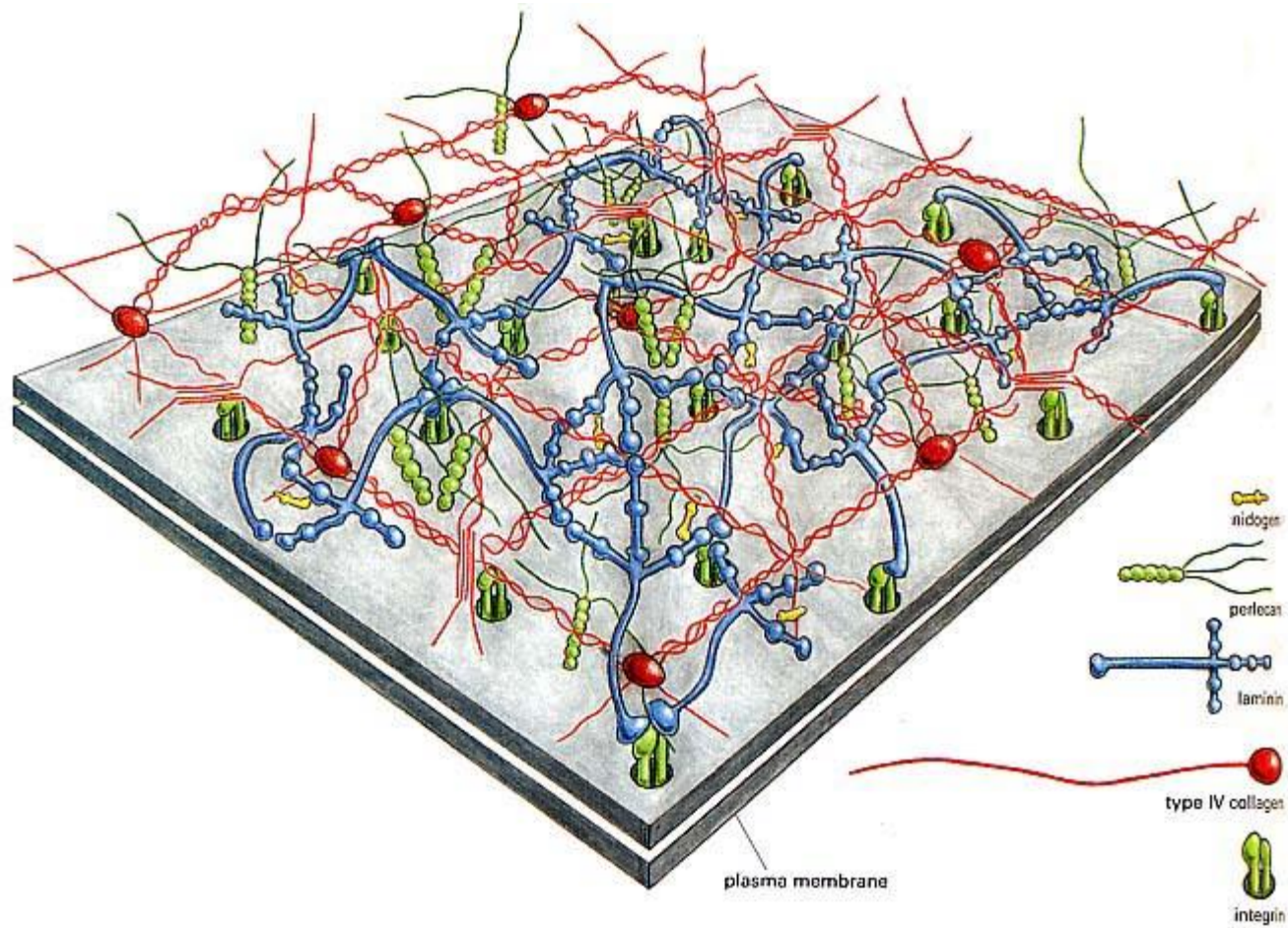
- **Multiadhezijski proteini:** povezuje ostalih sestavin s površinskimi receptorji.
- **Proteoglikani:** viskozni, varujejo celice, dajejo volumen.
- **Hialuronan:** polisaharid, ki se hidratizira v gel.

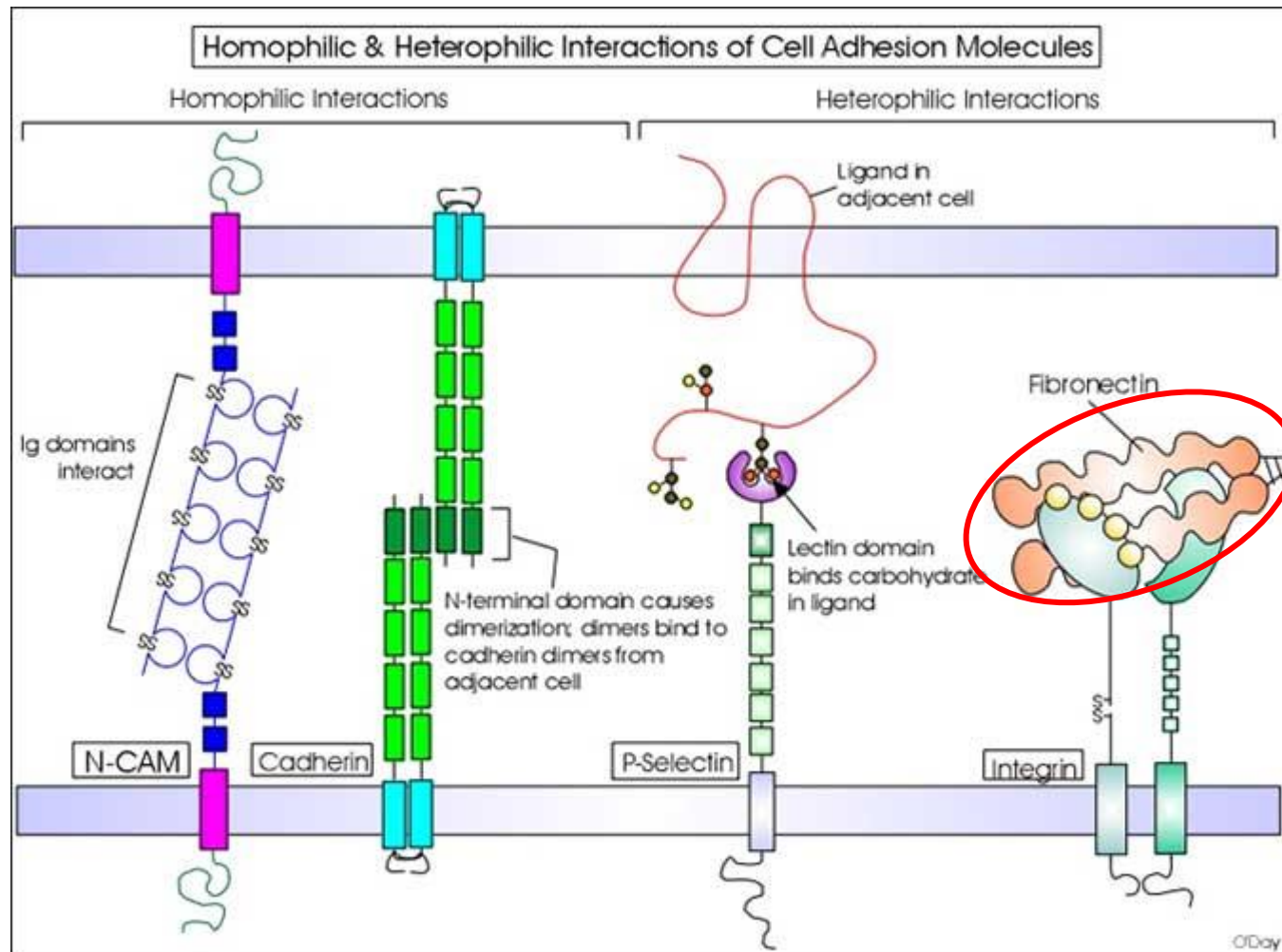
(a) Hyaluron ($n \leq 50,000$)





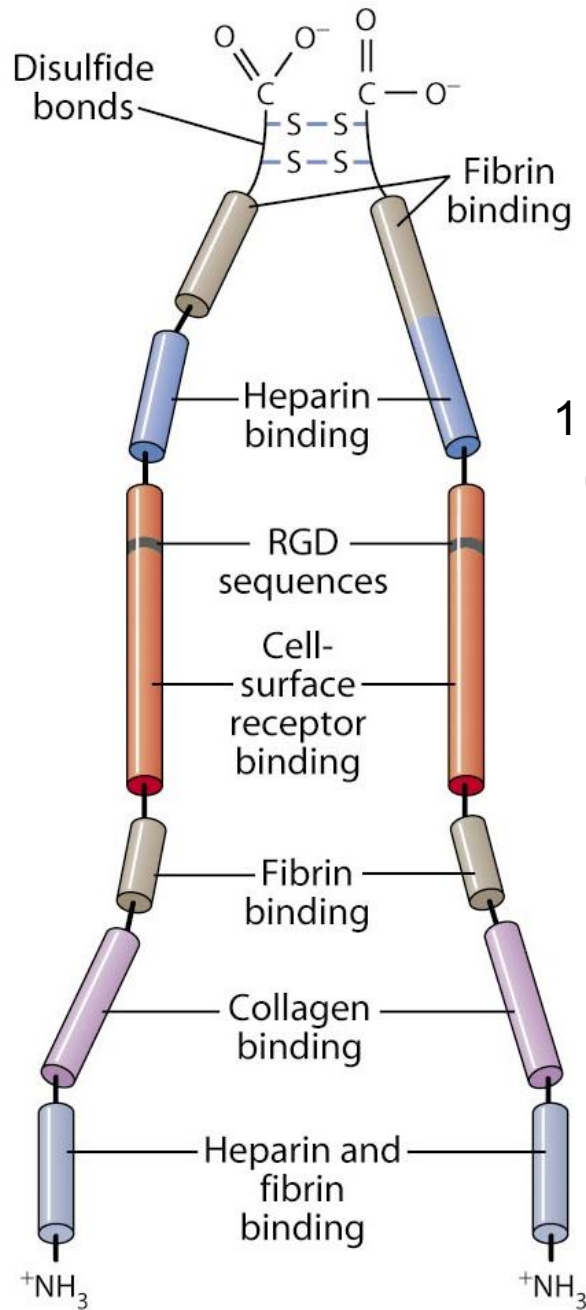
Laminin: heterotrimer, M~820 kDa; izooblike z različnimi verigami A, B, C (α , β , γ). Oblikujejo mrežaste preplete z drugimi sestavinami bazalne lamine.



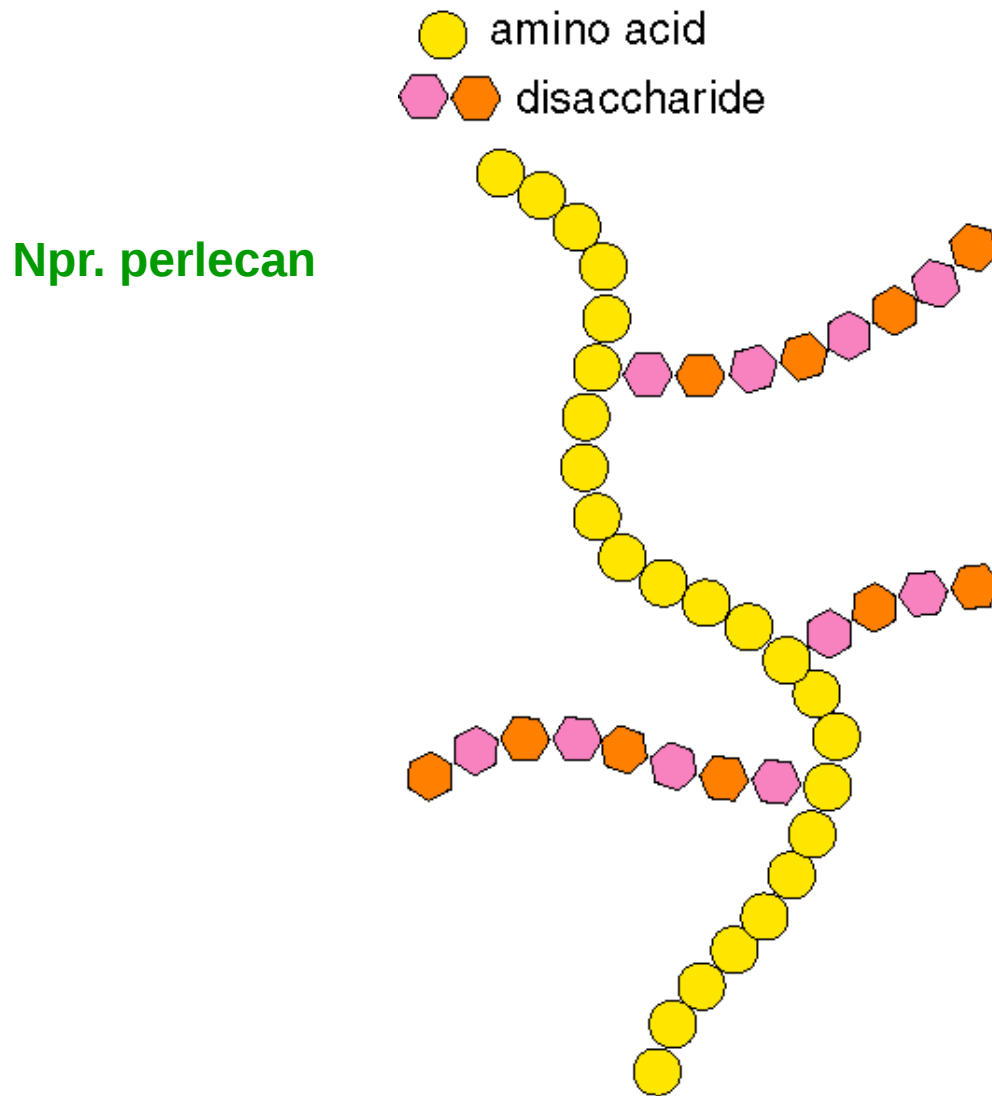


Fibronektin: multiadhezijski protein, povezuje se predvsem z vlaknastimi kolageni (I, II, III, V). Pospešuje potovanje imunskih celic na mesto poškodb, uravnava obliko in organiziranost celičnega skeleta, migracijo celic, celično diferenciacijo, razvoj embrija.

Fibronektin



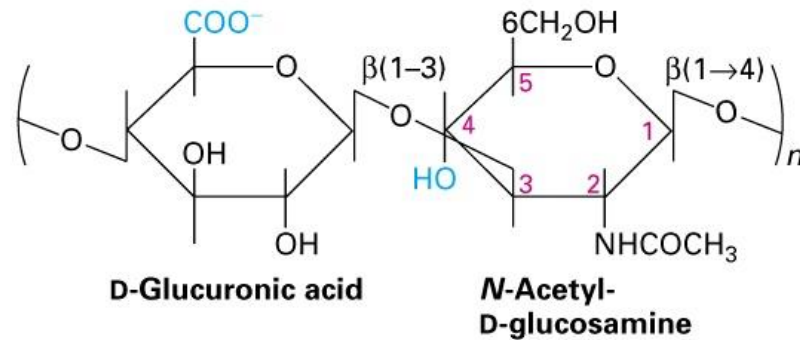
1 gen, vsaj 20 različnih produktov
(alternativno izrezovanje RNA)



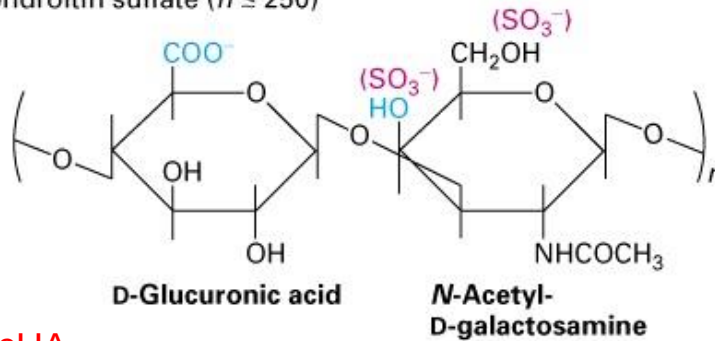
Zgradba proteoglikanov: delež aminokislin je majhen, prevladujejo linearni polimeri disaharidov glikozaminoglikanov (GAG).

Štirje razredi GAG

(a) Hyaluron ($n \leq 50,000$)

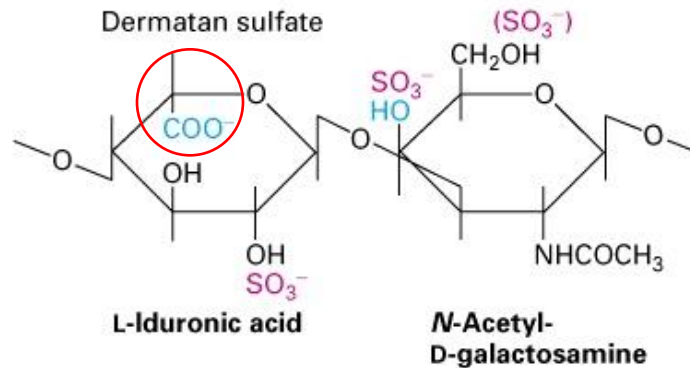


(b) Chondroitin sulfate ($n \leq 250$)

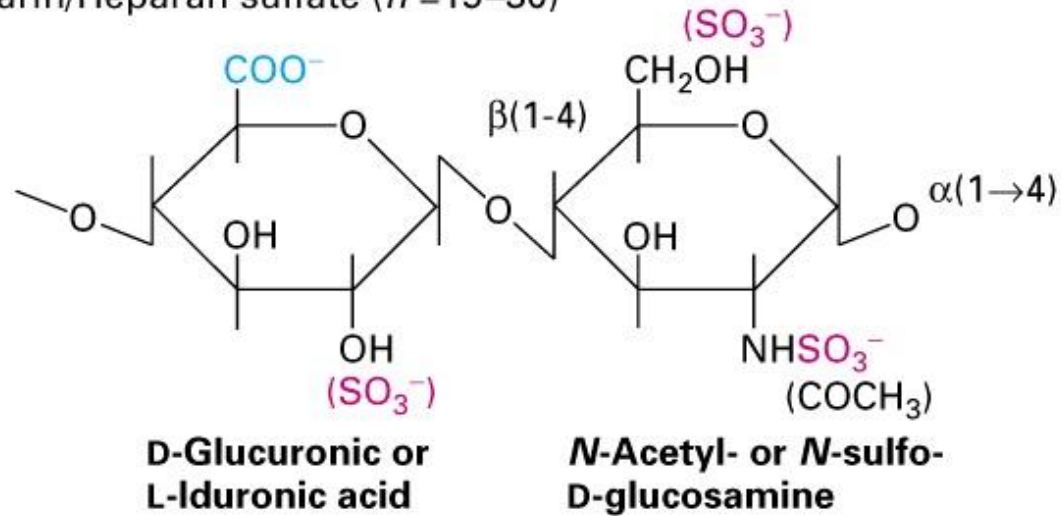


5-epimer D-GlcUA

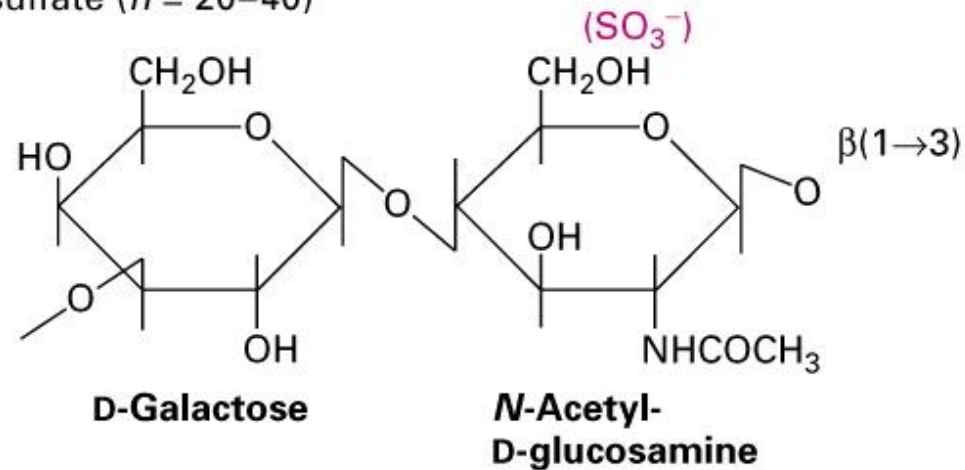
Dermatan sulfate

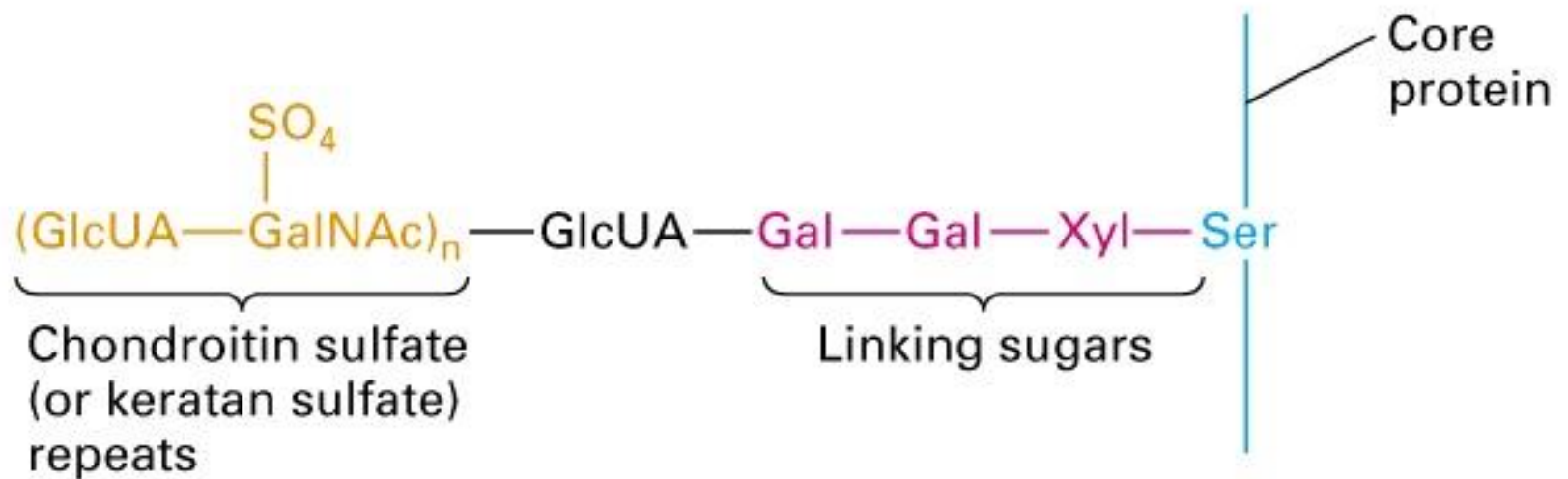


(c) Heparin/Heparan sulfate ($n = 15-30$)



(d) Keratan sulfate ($n = 20-40$)



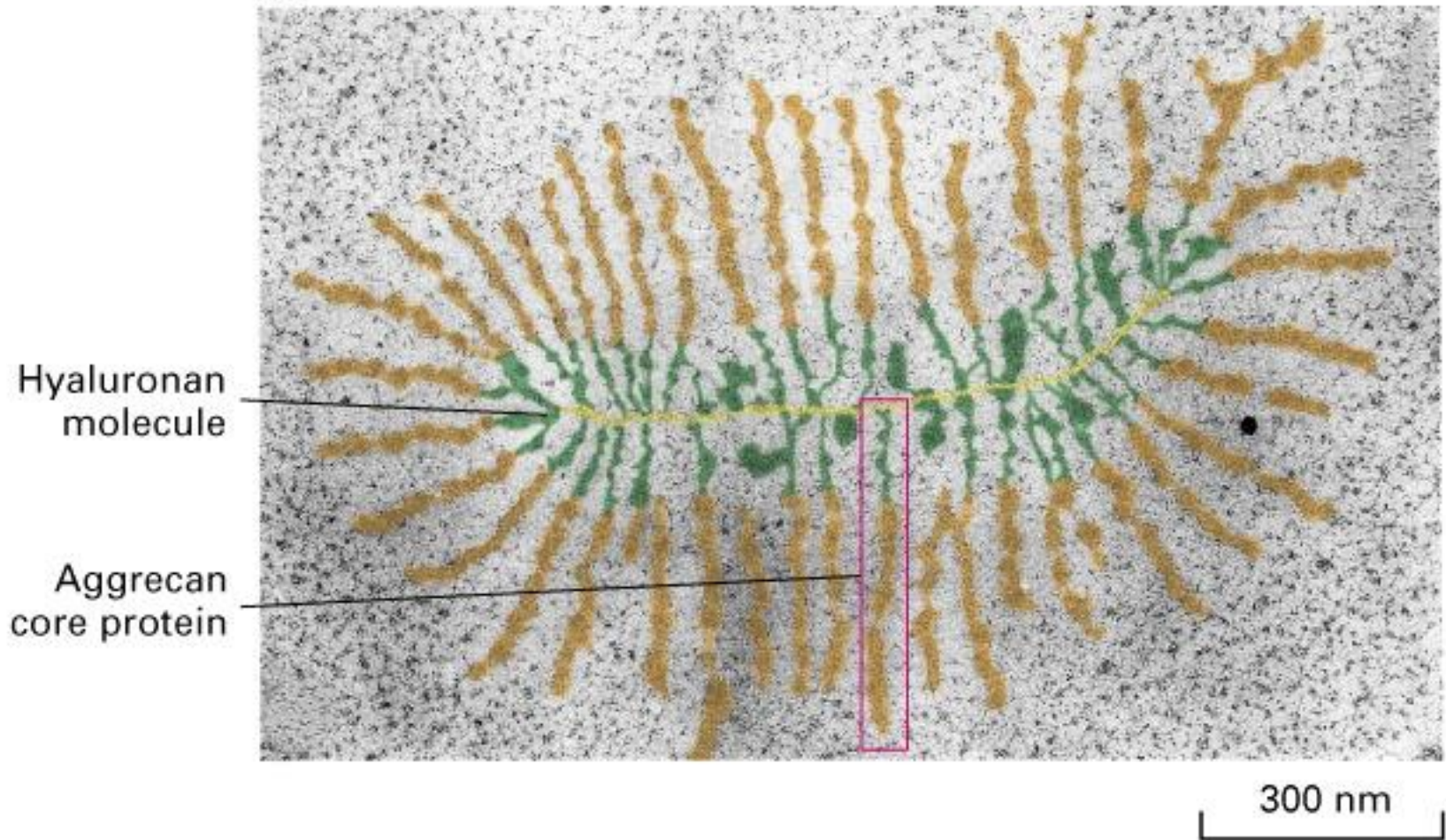


Gal = galactose

GalNAc = *N*-acetylgalactosamine

GlcUA = glucuronic acid

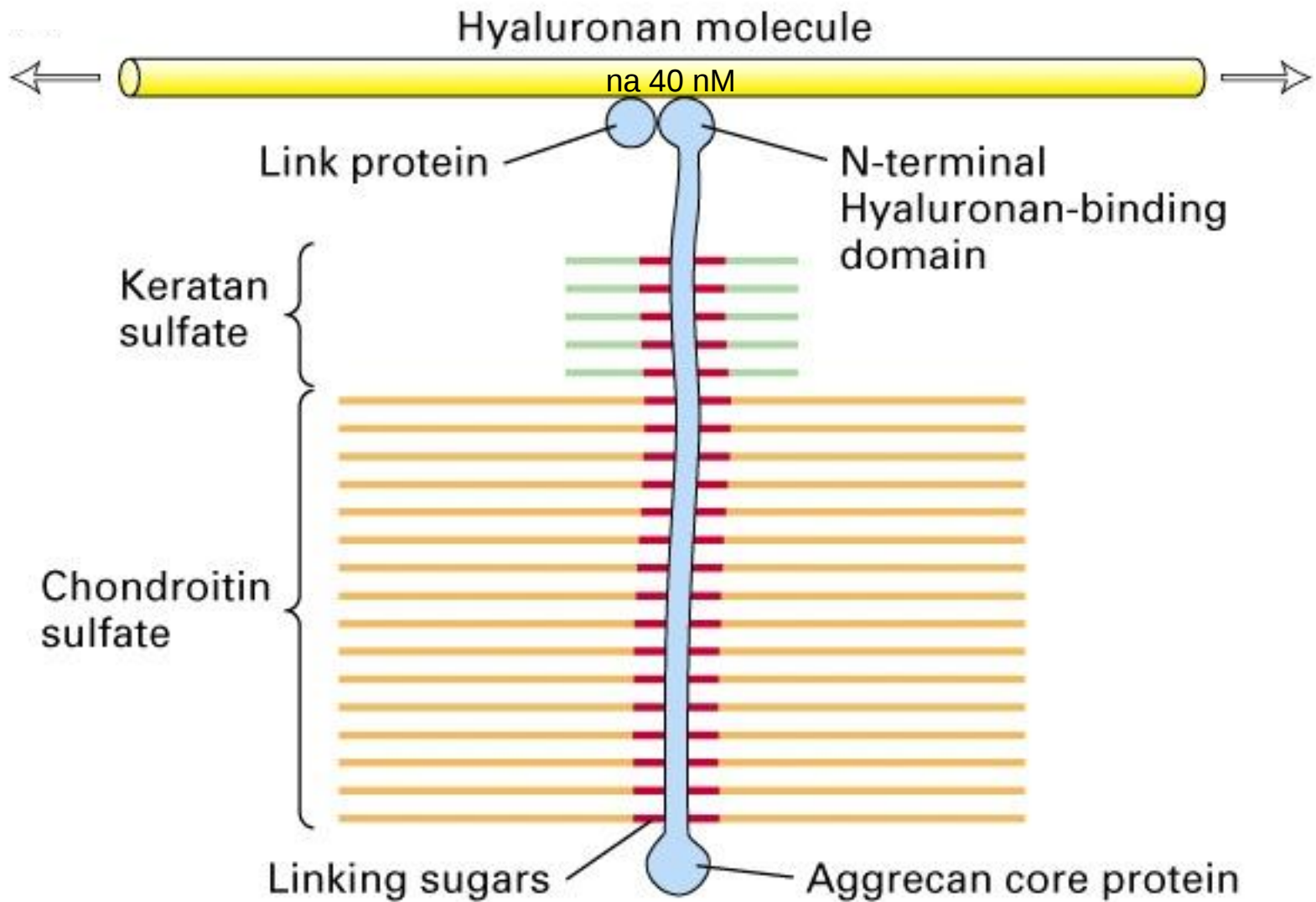
Xyl = xylose



Proteoglikanski agregat v hrustancu: osrednji proteoglikan - agrekan se povezuje v 40 nm intervalih s hialuronanom.

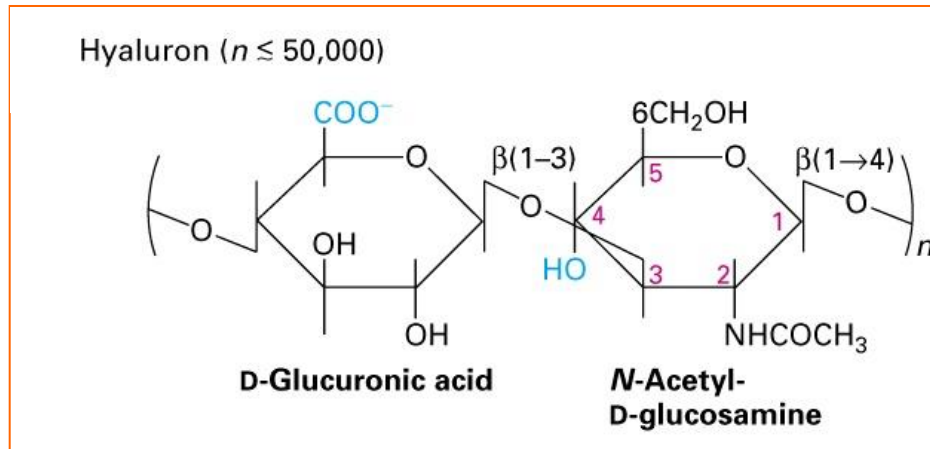
Agrekan (250 kDa) + GAG → 2 MDa, celoten agregat >200 MDa.

Lastnosti gela ⇒ prožnost, amortizacija, odpornost proti deformaciji

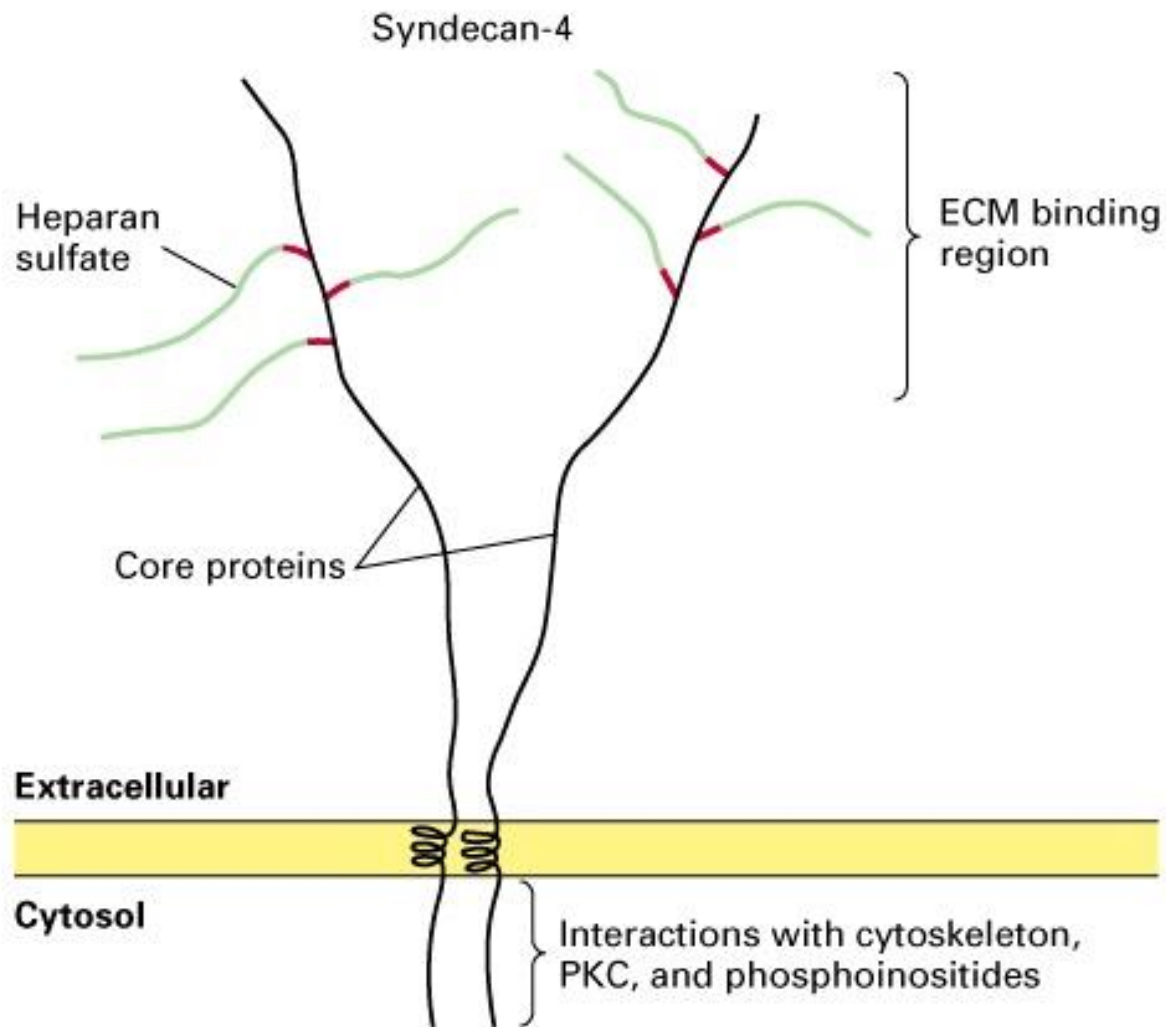


Hialuronan = hialuronska kislina = hialuronat

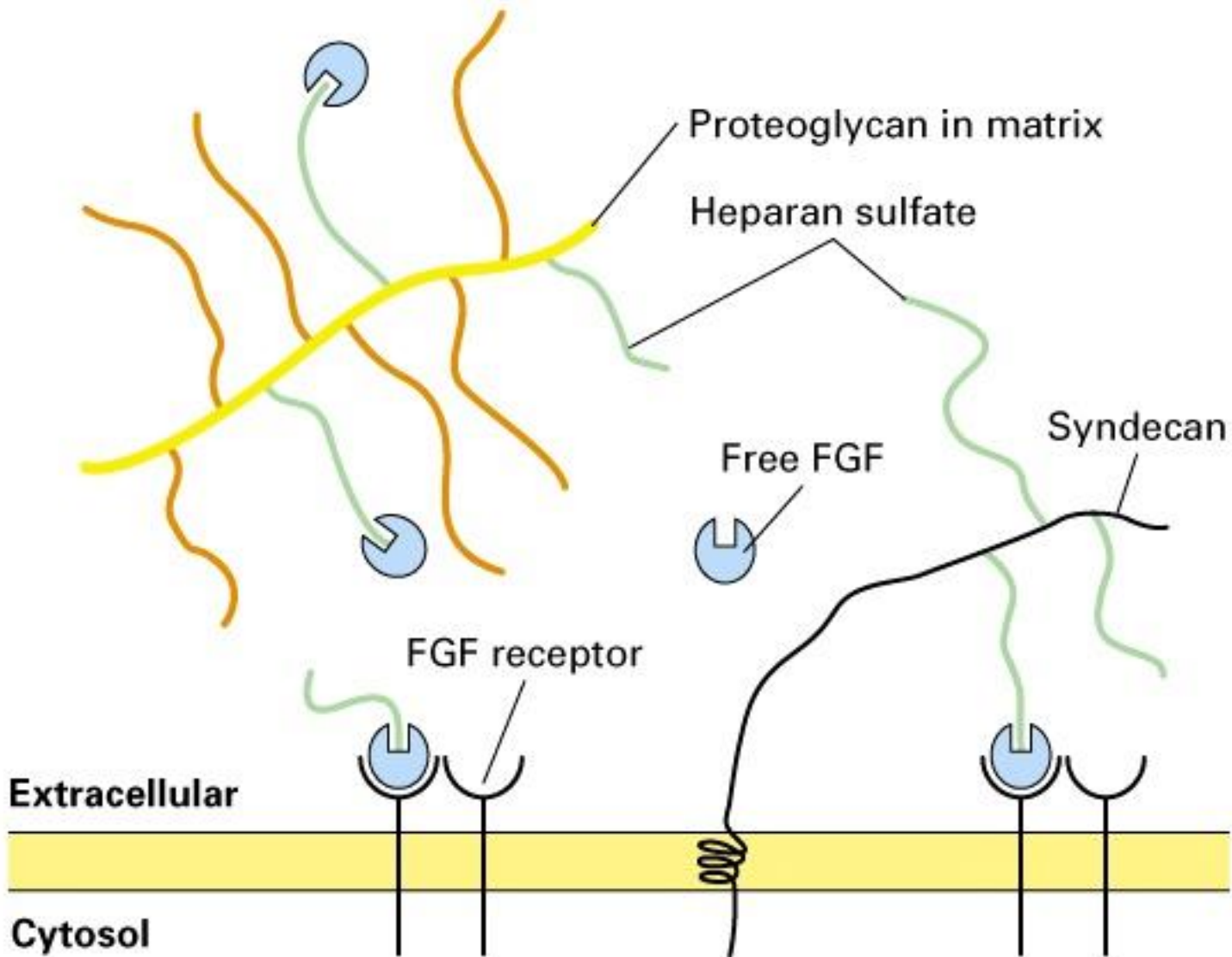
Ena od glavnih komponent ECM



- edini ekstrac. oligosaharid, ki ni kovalentno vezan na protein (5 – 20.000 kDa)
- človek: ~15 g hialuronana, 2/3 se ga razgradi in ponovno sintetizira v 1 dnevu
- večinska sestavina sinovialne tekočine, povečuje njeno viskoznost (+lubricin)
- pomembna sestavina sklepnega hrustanca; obkroža hondroците
- pomembna sestavina kože
- veže veliko vode in tvori viskozen gel (s 1000-krat večjim vol. – turgorski tlak → odpor kompresijskim silam)
- veže se na receptor CD44 (tvori plašč → prepreči interakcije c.-c. c.-ECM → migriracija, proliferacija celic)
- biosinteza: membranske hialuronan-sintaze
- razgradnja: hialuronidaze
- osnova za vezavo agrekana → HMW agregati; amortizacijski učinek hrustanca



Proteoglikan na celični površini: sindekan. Na Ser-ostanke se preko trisaharidnega mostička vežejo GAG.



Moduliranje aktivnosti fibroblastnega rastnega faktorja (FGF) s heparansulfatnimi proteoglikani. Prost rastni faktor se ne more vezati na receptorje, po vezavi na verige heparansulfata (npr. na sindekanu) pa se lahko.