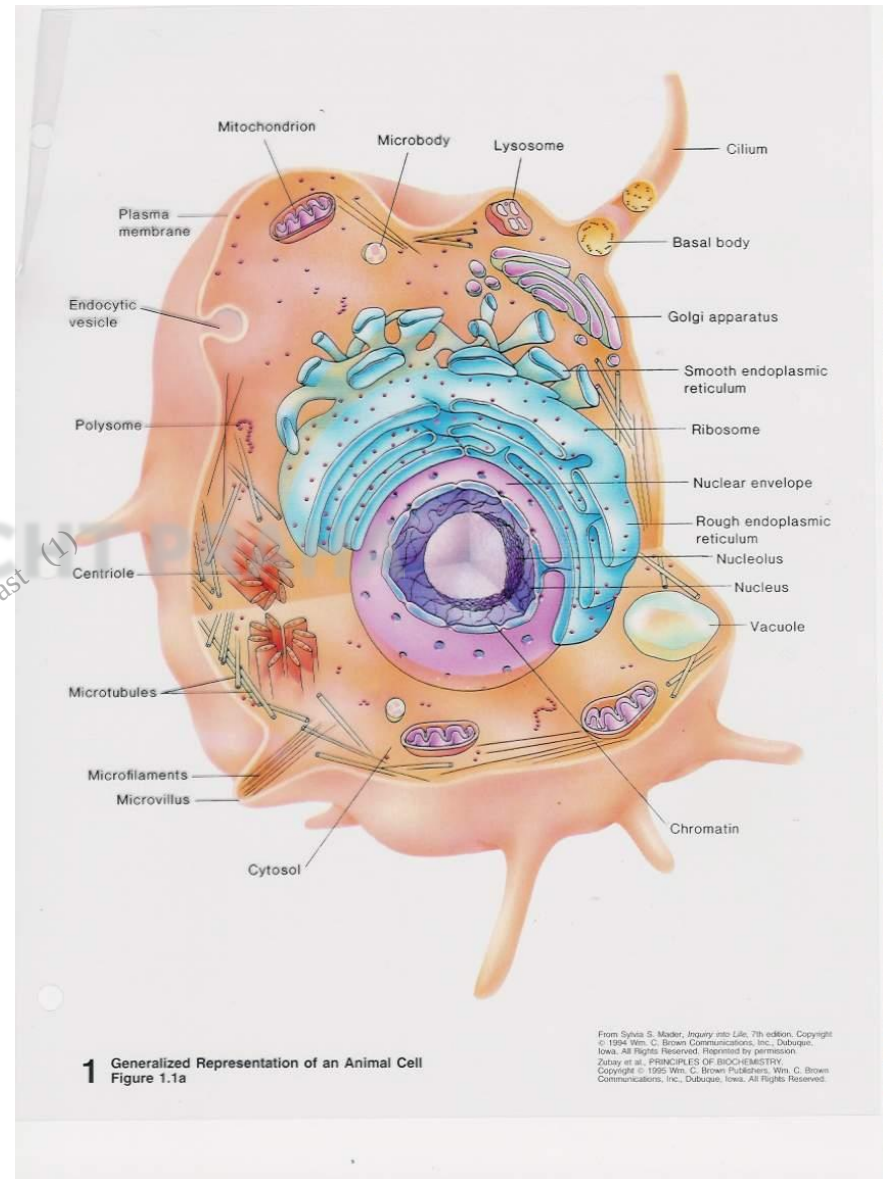


Biochemická organizace eukaryotní buňky

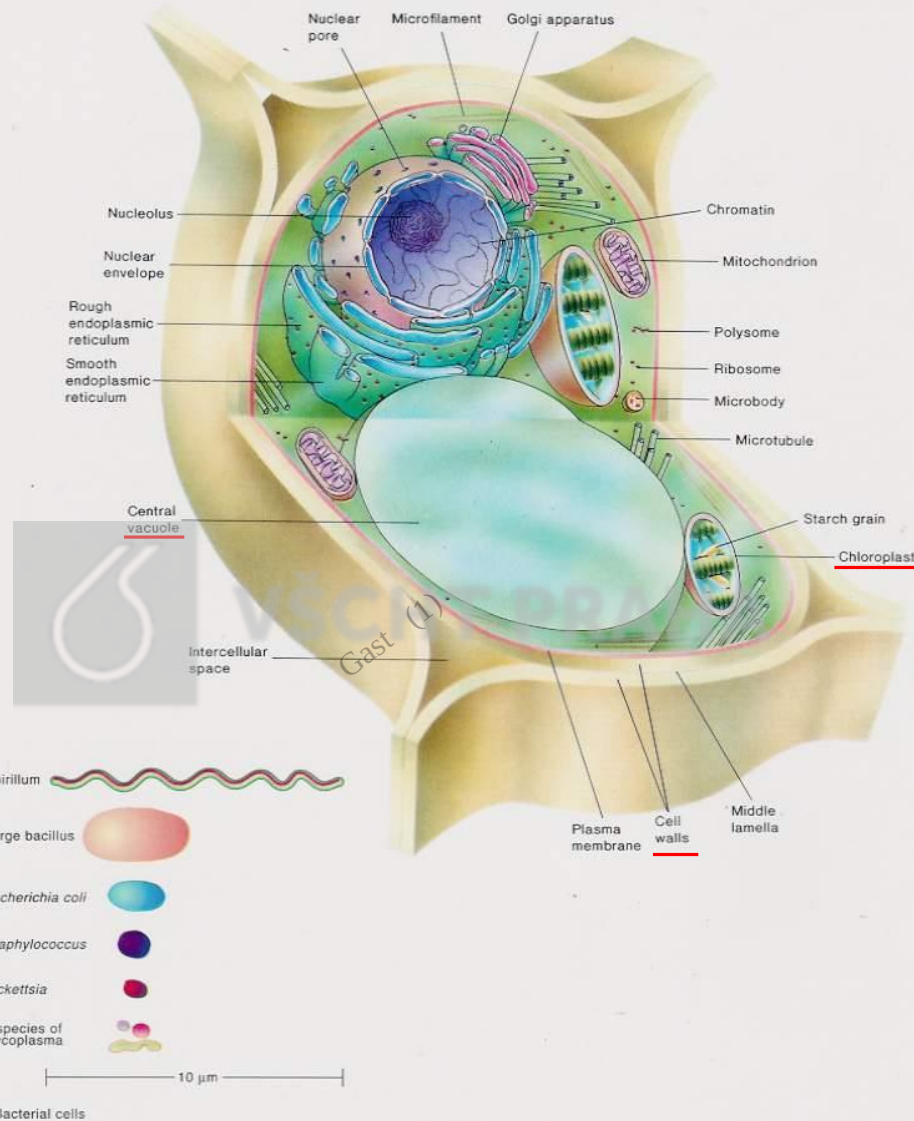


Gast (1)

Pozn.: Pod heslem „učebnice“ se v komentářích skrývá kniha M.Kodíček, O.Valentová a R.Hynek: Biochemie – chemický pohled na biologický svět, 2. vydání 2018.



Zubay G.L. et al: Principles of Biochemistry, 1995



2 Generalized Representation of a Plant Cell
Figure 1.1b

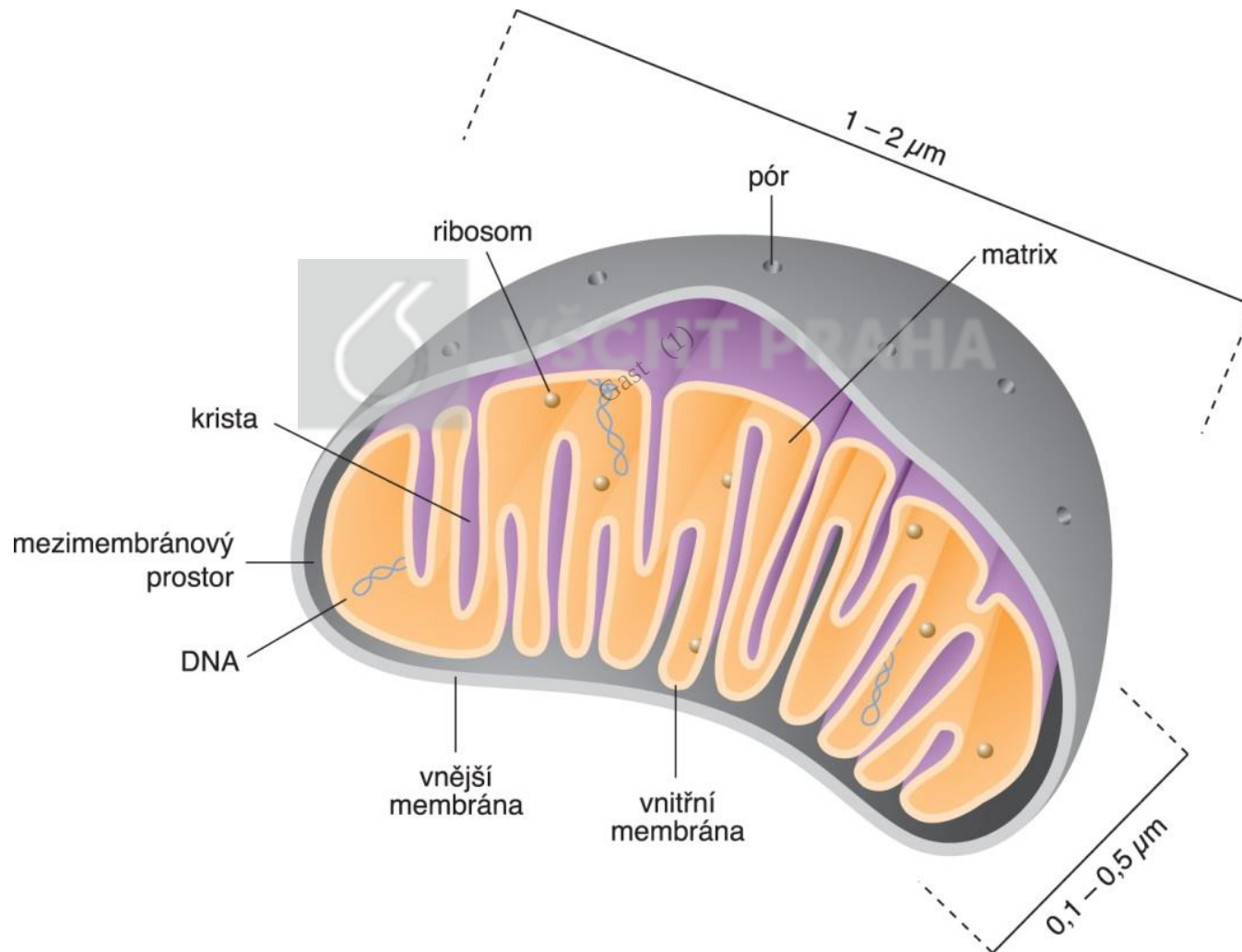
From Sylvia S. Mader, *Inquiry into Life*, 7th edition. Copyright © 1994 Wm. C. Brown Communications, Inc., Dubuque, Iowa. All Rights Reserved. Reprinted by permission.
Zubay et al., *PRINCIPLES OF BIOCHEMISTRY*. Copyright © 1995 Wm. C. Brown Publishers, Wm. C. Brown Communications, Inc., Dubuque, Iowa. All Rights Reserved.

MITOCHONDRIE

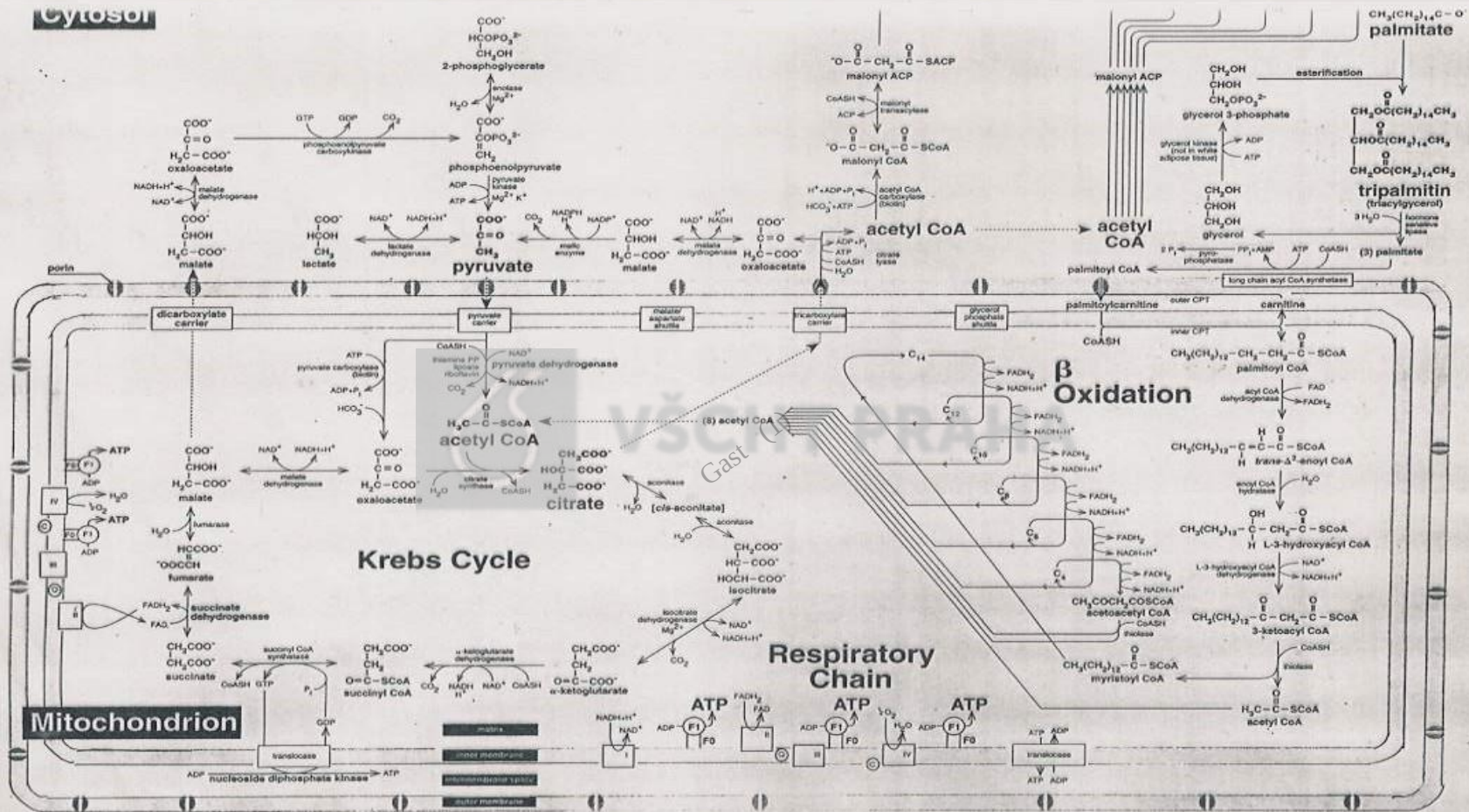
(elektronmikroskopický
obrázek tenkého řezu
játerní mitochondrie,
autor: Daniel S. Friend)



Mitochondrie (schema)

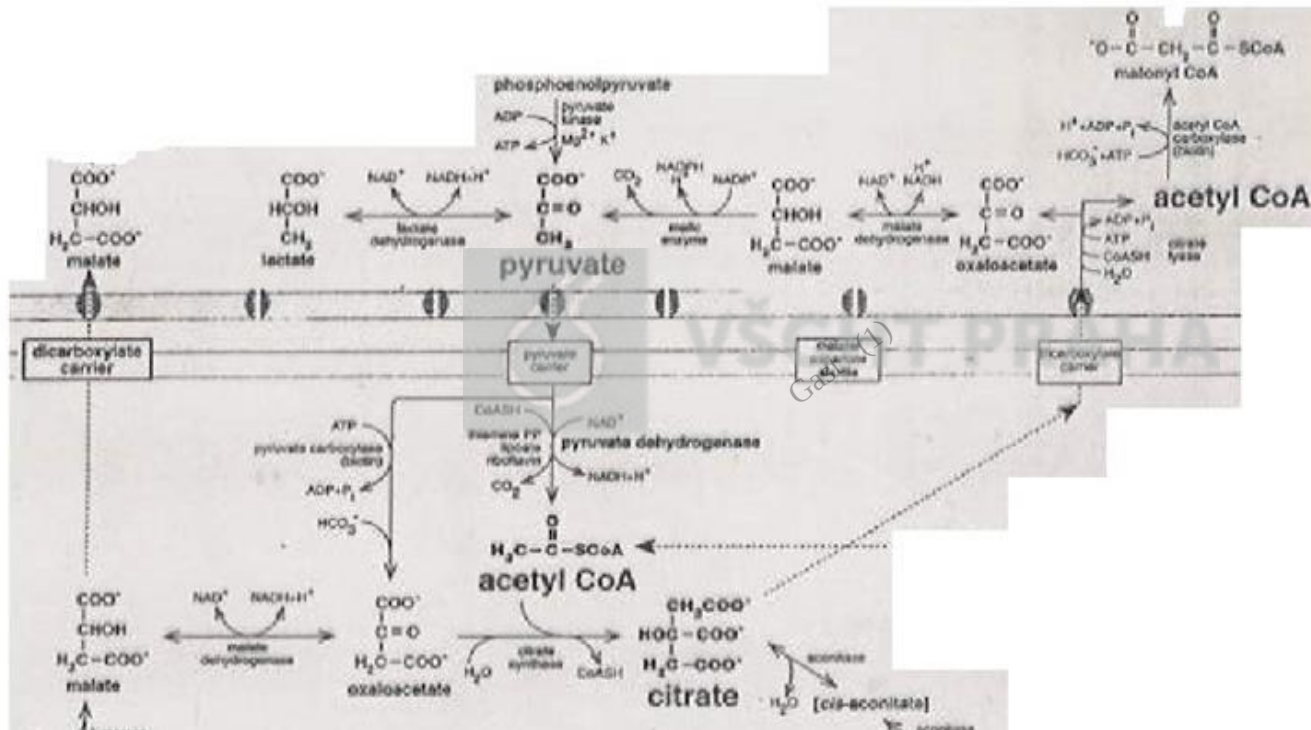


Mitochondrie (schema základních katabolických procesů)

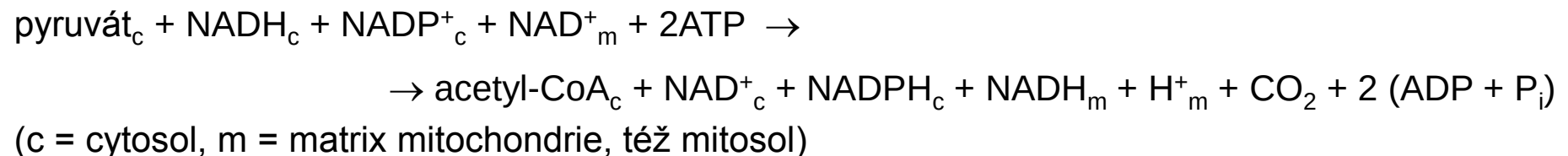


Pyruvát-malátový cyklus

(aneb Jak zapojit pyruvát z glykolysy do syntézy mastných kyselin?)



Salway J.G:
Metabolism
at a Glance, 1994



Pyruvát-malátový cyklus

(dojemná souhra metabolických procesů v cytosolu a mitochondrii)

Glykolyasa a biosynthesa mastných kyselin probíhá v cytosolu, ale oxidační dekarboxylace pyruvátu v mitochondrii (Učebnice, odd. 9.2)

Jak tedy získat acetyl-CoA z pyruvátu v cytosolu (viz předchzí slide)?

1: dvě molekuly pyruvátu vstupují do mitochondrie (sekundární aktivní transport spolu s H^+ ; učebnice odd. 5.9.1);

2: jedna molekula oxidačně dekarboxylována za vzniku acetyl-CoA a NADH, druhá karboxylována za vzniku oxalacetátu (známy z glukogeneze, učebnice str. 303 obr. 10.7);

3: připojení acetylu k oxalacetátu za vzniku citrátu (1. reakce citrátového cyklu, učebnice str. 270);

4: citrát transportován zpět do cytosolu;

5: citrát v cytosolu rozložen na acetyl-CoA a oxalacetát (enzym ATP-citrát lyasa EC 2.3.3.8):



6: oxylacetát redukován pomocí NADH z glykolysy;

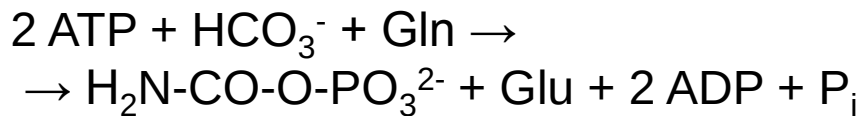
7: malát oxidačně dekarboxylován pomocí $NADP^+$ na pyruvát (jablečný enzym, učebnice str. 318).

Sumární rovnice na minulém slidu. Výsledek: v cytosolu vznikl z pyruvátu acetyl-CoA a z NADH NADPH, potřebný při synthese MK k redukcím.

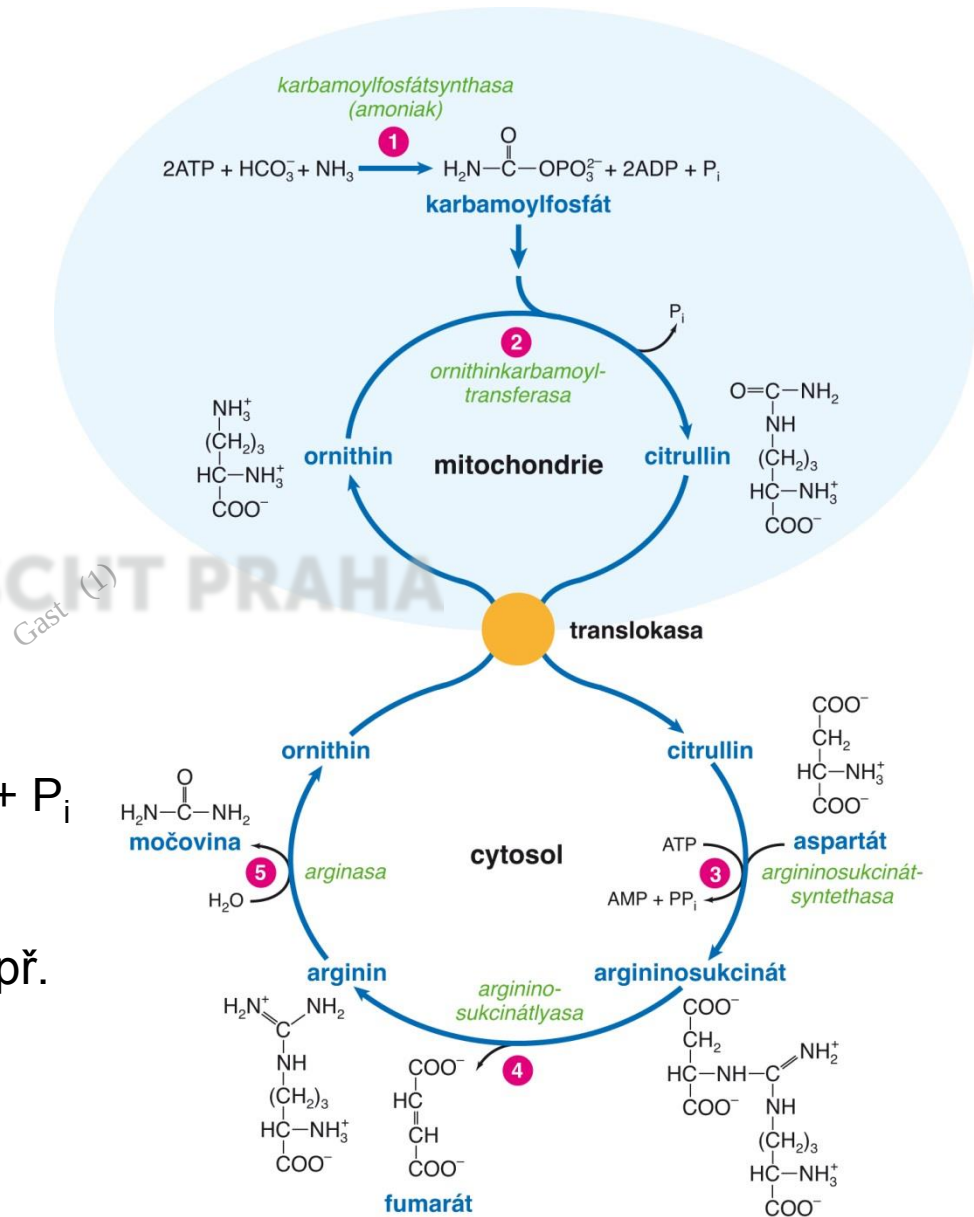
Domácí úkol: napište rovnice reakcí, popsanych v bodech 2,3,6 a 7)!

Močovinový cyklus

Poznámka na okraj:
vznik karbamoylfosfátu v cytosolu

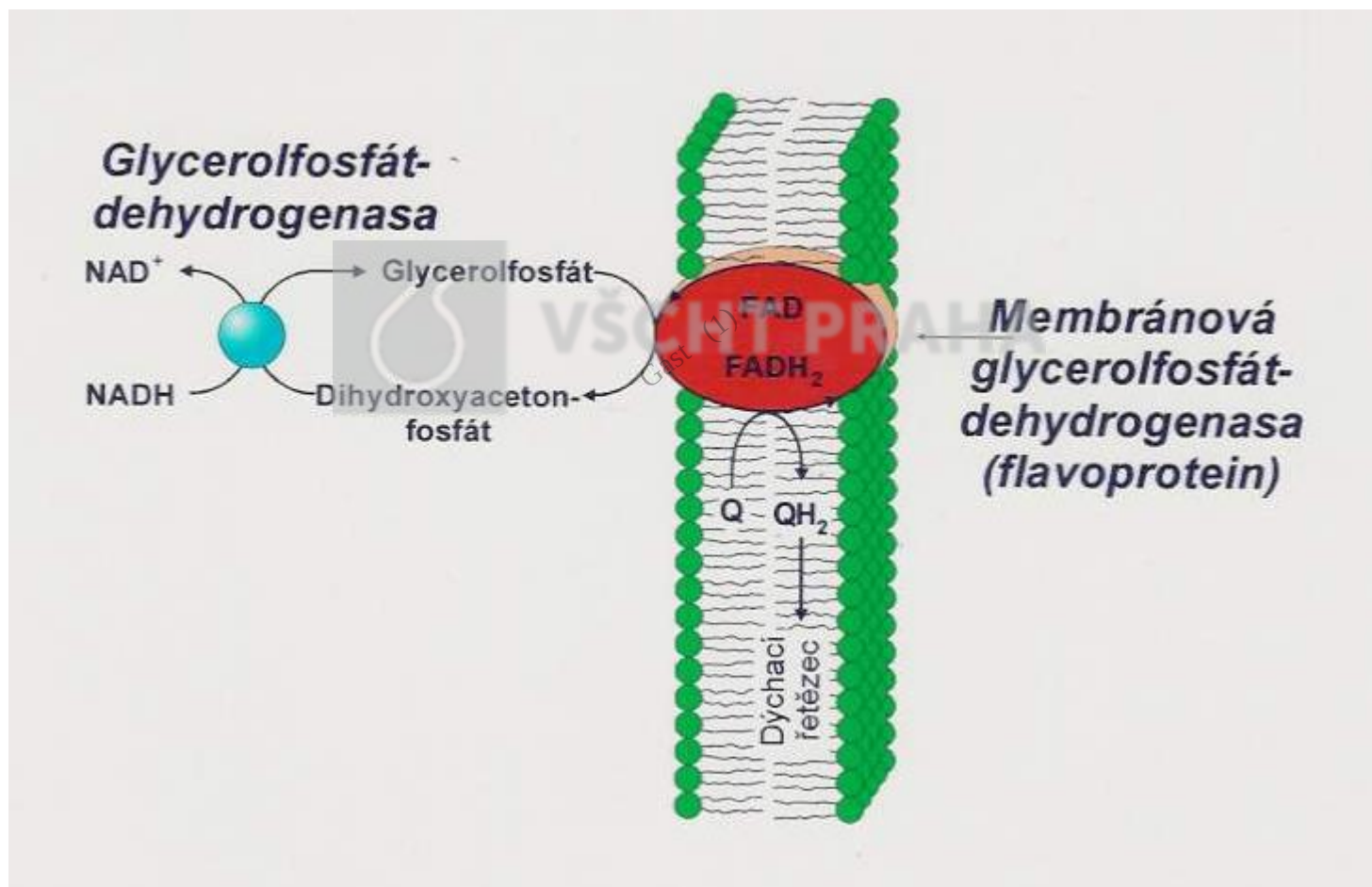


Karbamoylfosfát je prekursor mnoha anabolických procesů v cytosolu (např. syntéza pyrimidinových bází).

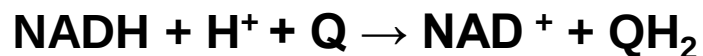


Jak zapojit cytosolové NADH do dýchacího řetězce?

glycerolfosfátové kyvadlo (postranní vstup do DŘ)

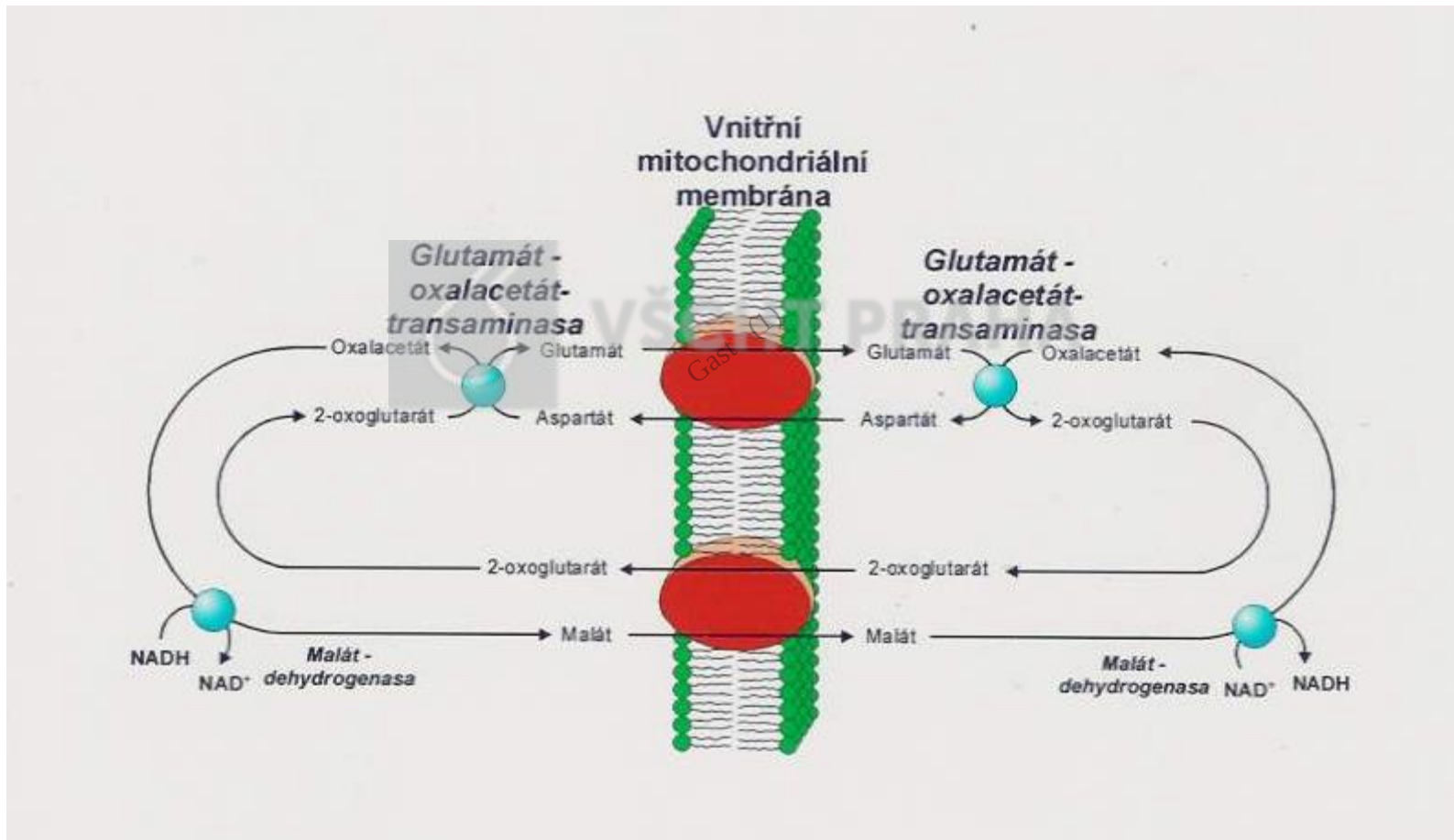


zisk: 2 ATP



Jak zapojit cytosolové NADH do dýchacího řetězce?

malát-aspartátové kyvadlo



zisk: 3 ATP (složitější → pomalejší)
(jediný výsledek: $\text{NADH}_c \rightarrow \text{NADH}_m$)

Příklady transportních systémů ve vnitřní mitochondriální membráně

Poznámky k jednotlivým systémům (začínáme vlevo nahoře, postupujeme po směru hodinových ručiček):

V mitosolu se fosforyluje ADP na ATP : membránová fosforylace, učebnice str. 249); je tam zapotřebí dodávat ADP a P_i a naopak odvádět ATP; ATP/ADP-translokasa využívá membránový potenciál (zde $\Delta\Psi$), fosfátový přenašeč naopak koncentračního spádu protonů.

Transport malát a citrátu je metabolicky důležitý.

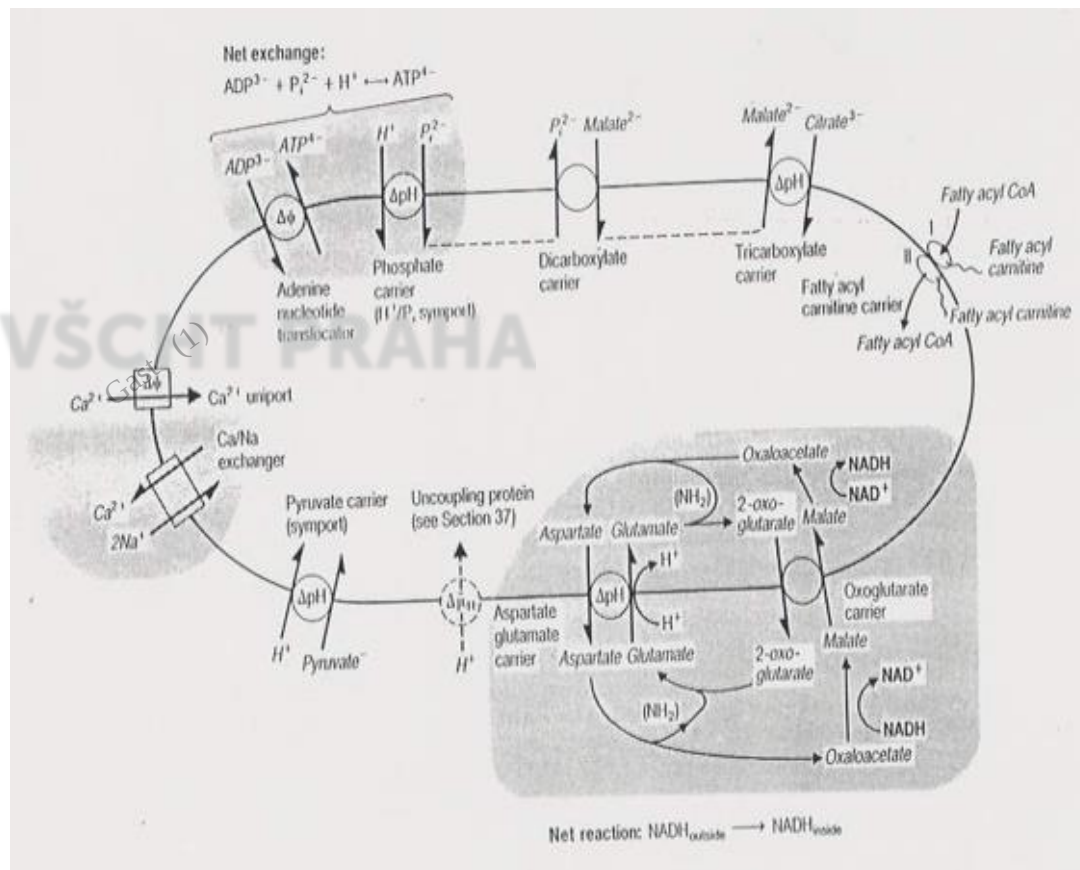
Karnitinový přenašeč – viz učebnice str. 164.

Malát aspartátové kyvadlo popsány na minulém slidu.

„Uncoupling protein“ reguluje proton-motivní sílu.

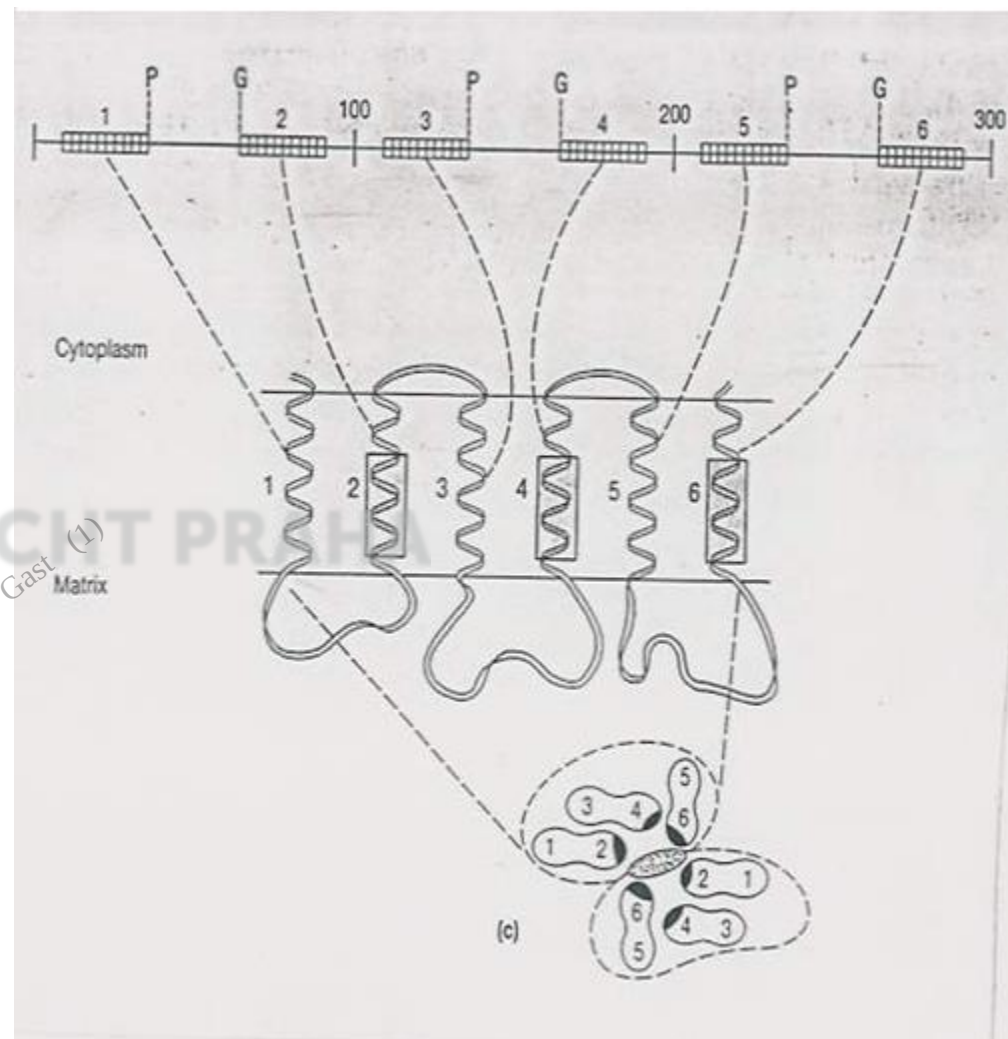
Pyruváttranslokasa – viz učebnice str. 267.

Transport Na^+ a Ca^{2+} je významný pro udržení biněčné iontové homeostasy.



HOMOLOGNÍ STRUKTURA PŘENAŠEČŮ ANIONTŮ V MITOCHONDRIÁLNÍ MEMBRÁNĚ

- základní jednotka (100 AK) se 3x opakuje
- krátká smyčka (≈ 45 AK) na straně matrix
- konzervované zbytky Pro a Gly na koncích transmembránových úseků
- amfipatické transmembránové helixy (helixy 2, 4 a 6)
- funkční jednotka: dimer s hydrofilním kanálkem



Elektronmikroskopický obrázek krysího hepatocytu (jaterní buňka)

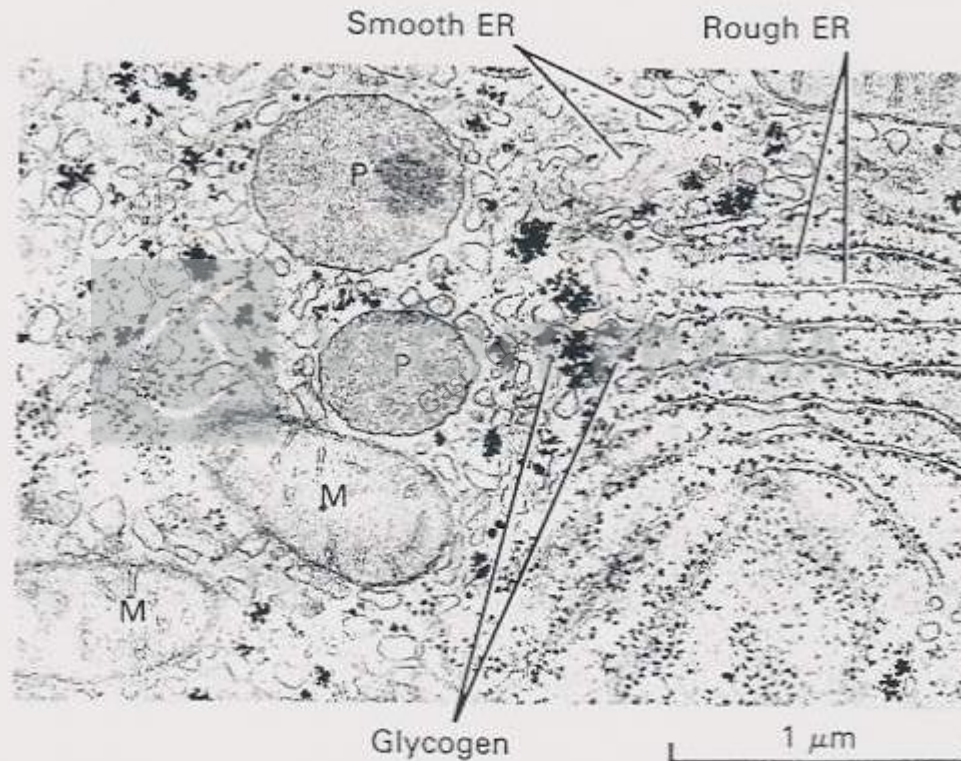
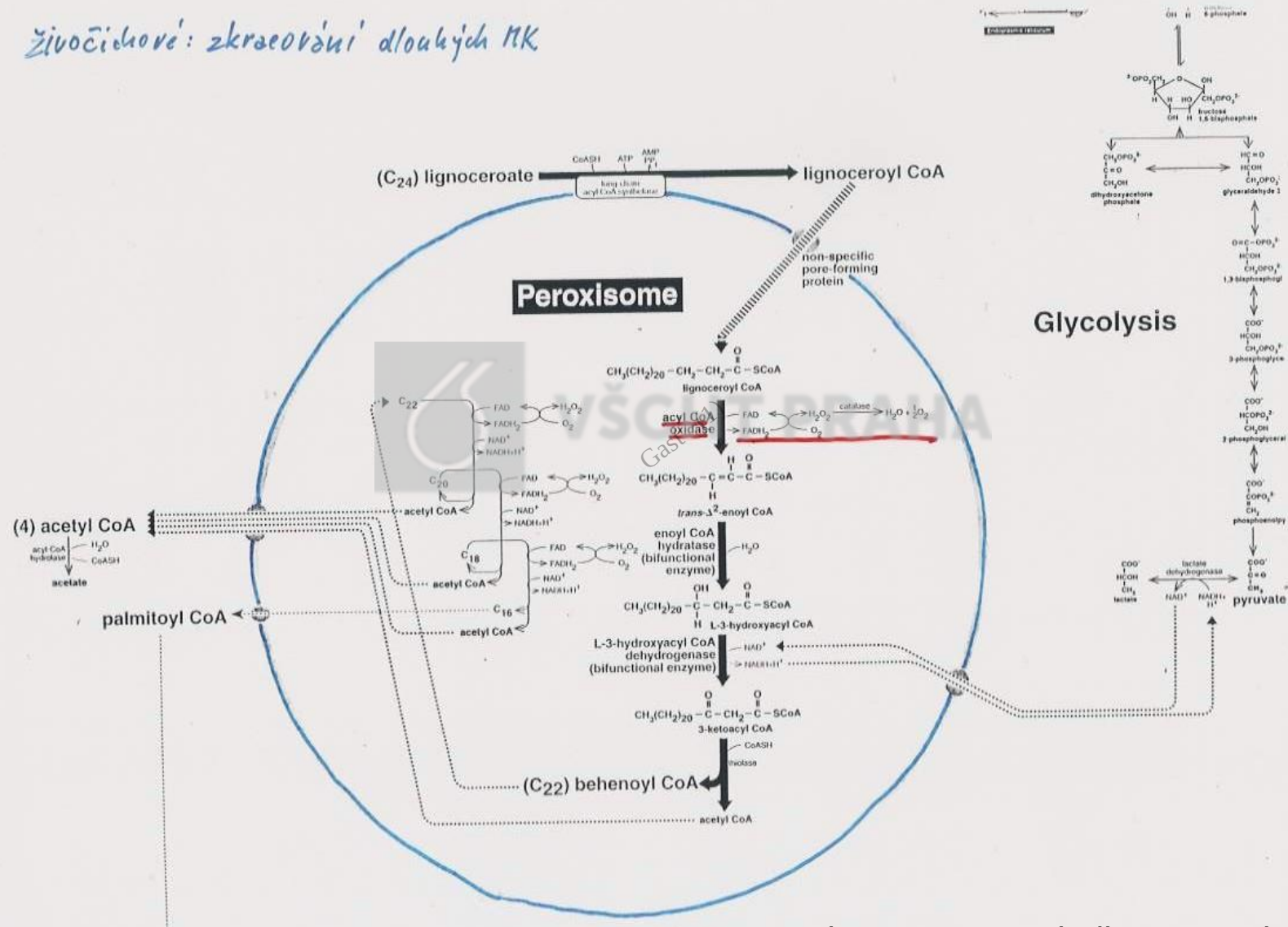


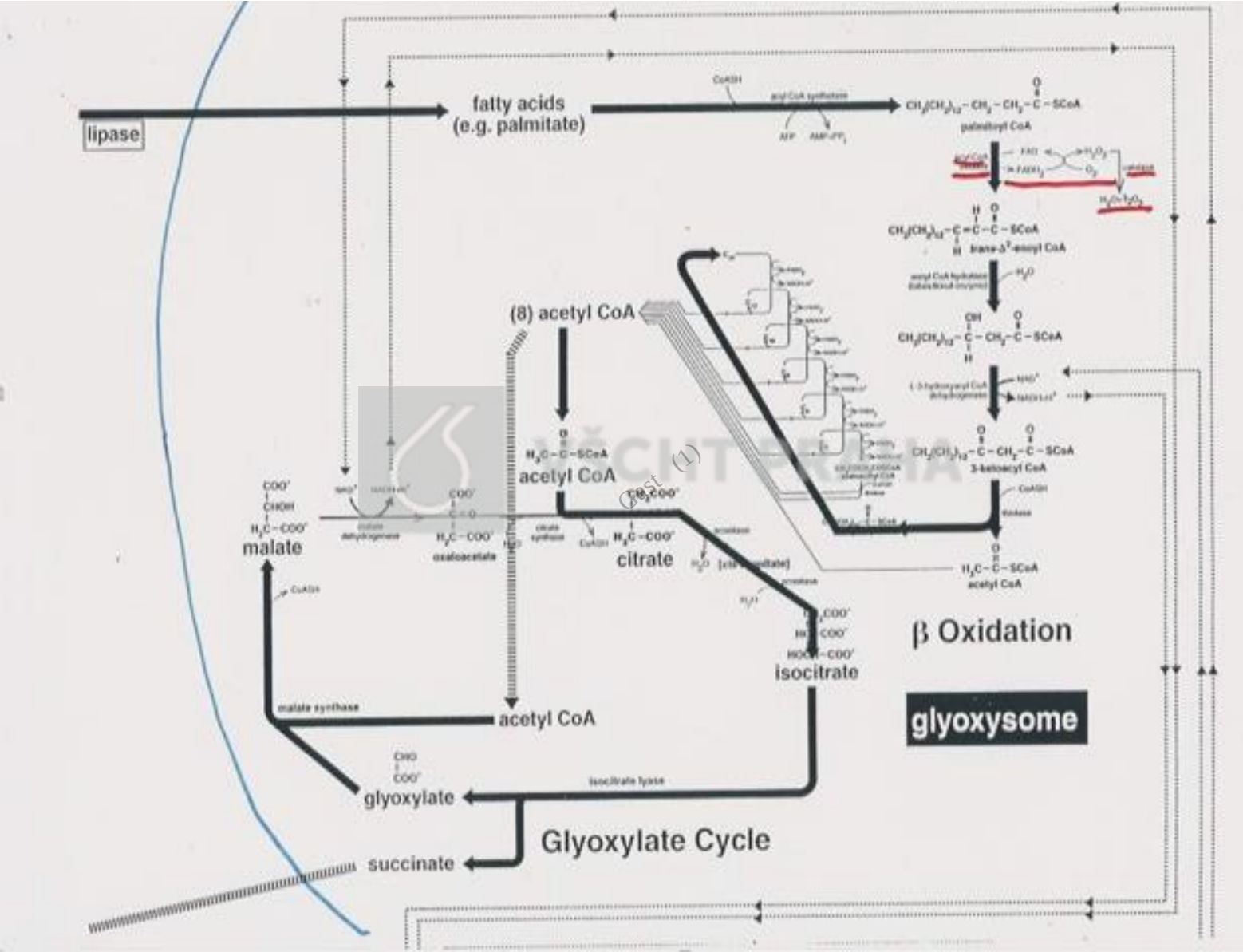
Figure 5-31 A higher-magnification micrograph of a section of a rat hepatocyte, showing two mitochondria (M), two peroxisomes (P), rough and smooth endoplasmic reticula, and glycogen rosettes. *Courtesy of P. Lazarow.*

Zkracování dlouhých mastných kyselin v peroxisomu

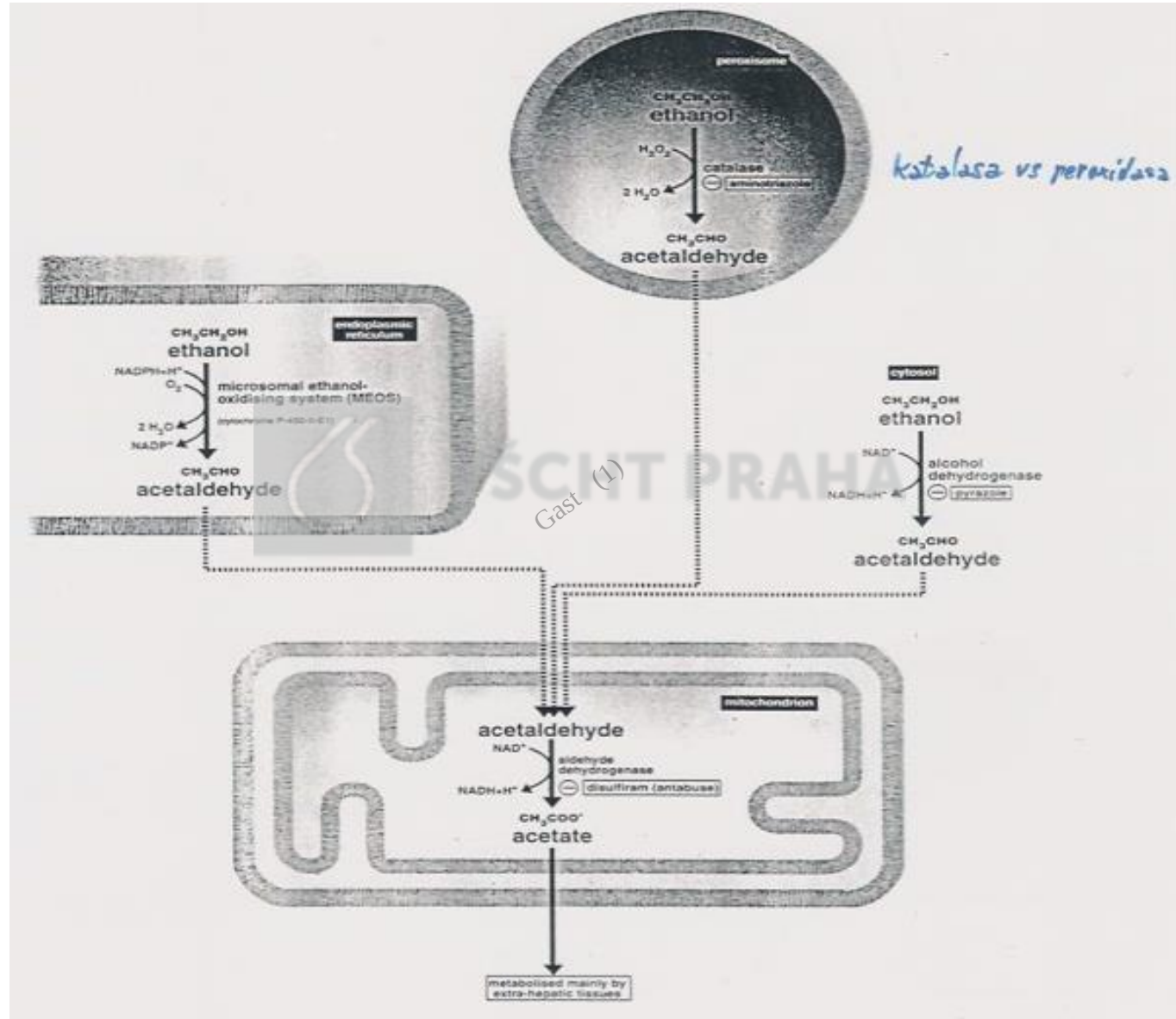
živočišné: zkracování dlouhých MK



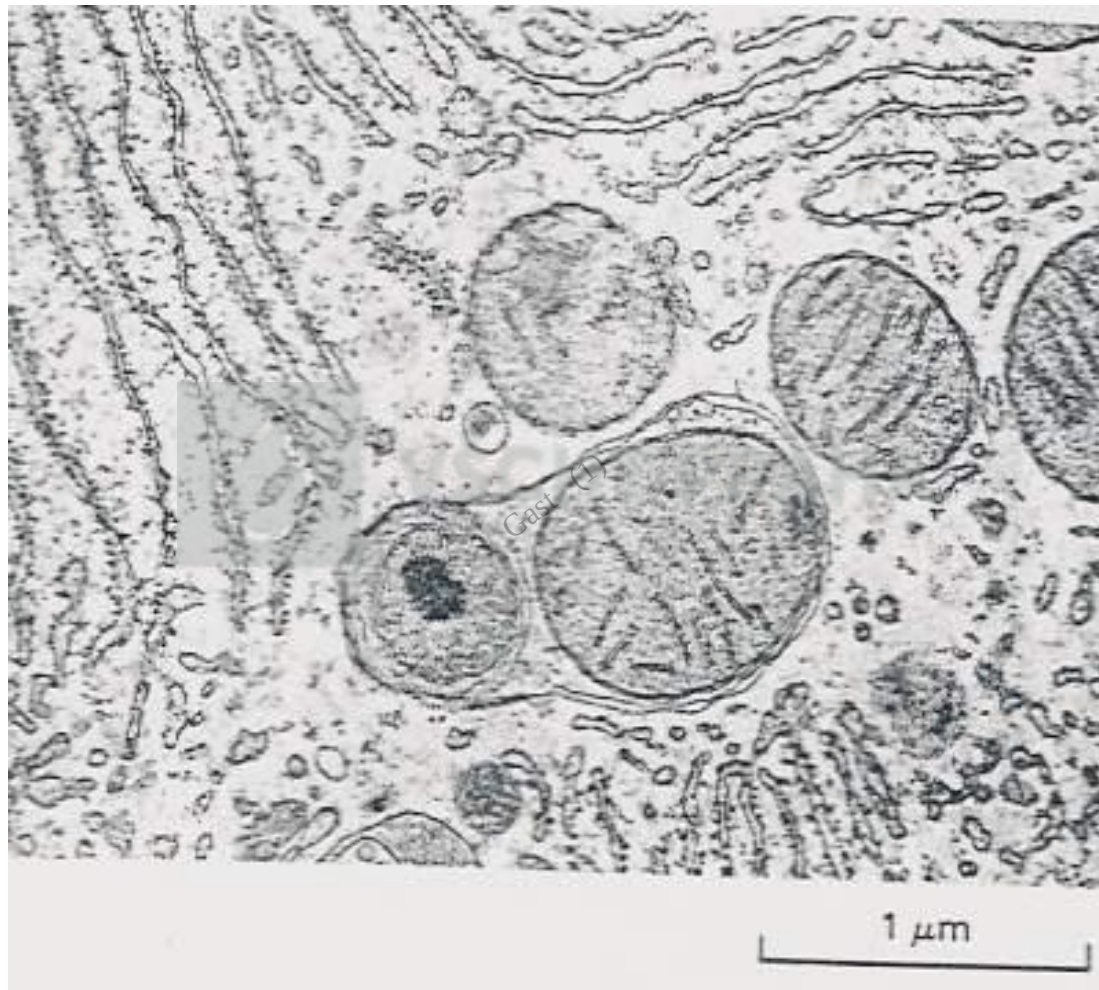
β-Ox. MK a glyoxylátový cyklus v glyoxysomu („rostlinný peroxisom“)



Různé způsoby oxidace ethanolu na acetaldehyd



Sekundární lysosom aneb pohřeb mitochondrie



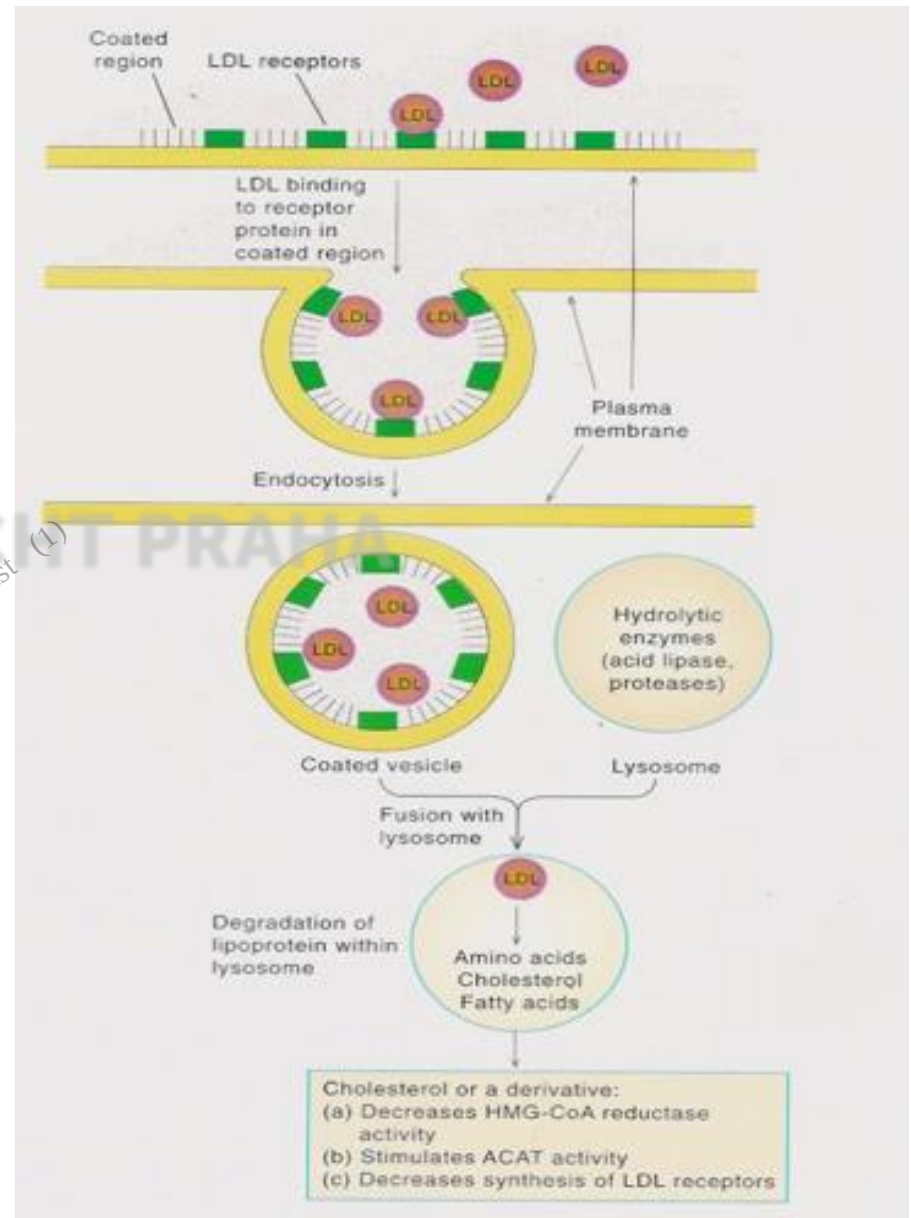
Endocytosa LDL (zjednodušené schema)

Vazba LDL na specifický receptor prostřednictvím jeho proteinů

Endocytosa: Vchlípení buněčné membrány a vznik endosomu

Spojení endosomu s tzv. primárním lysosome, který vznikl odštěpením z endoplasmatického retikula a obsahuje hydrolytické enzymy

Hydrolysa proteinů a lipidů



Zubay G.L. *et al*: Principles of Biochemistry, 1995

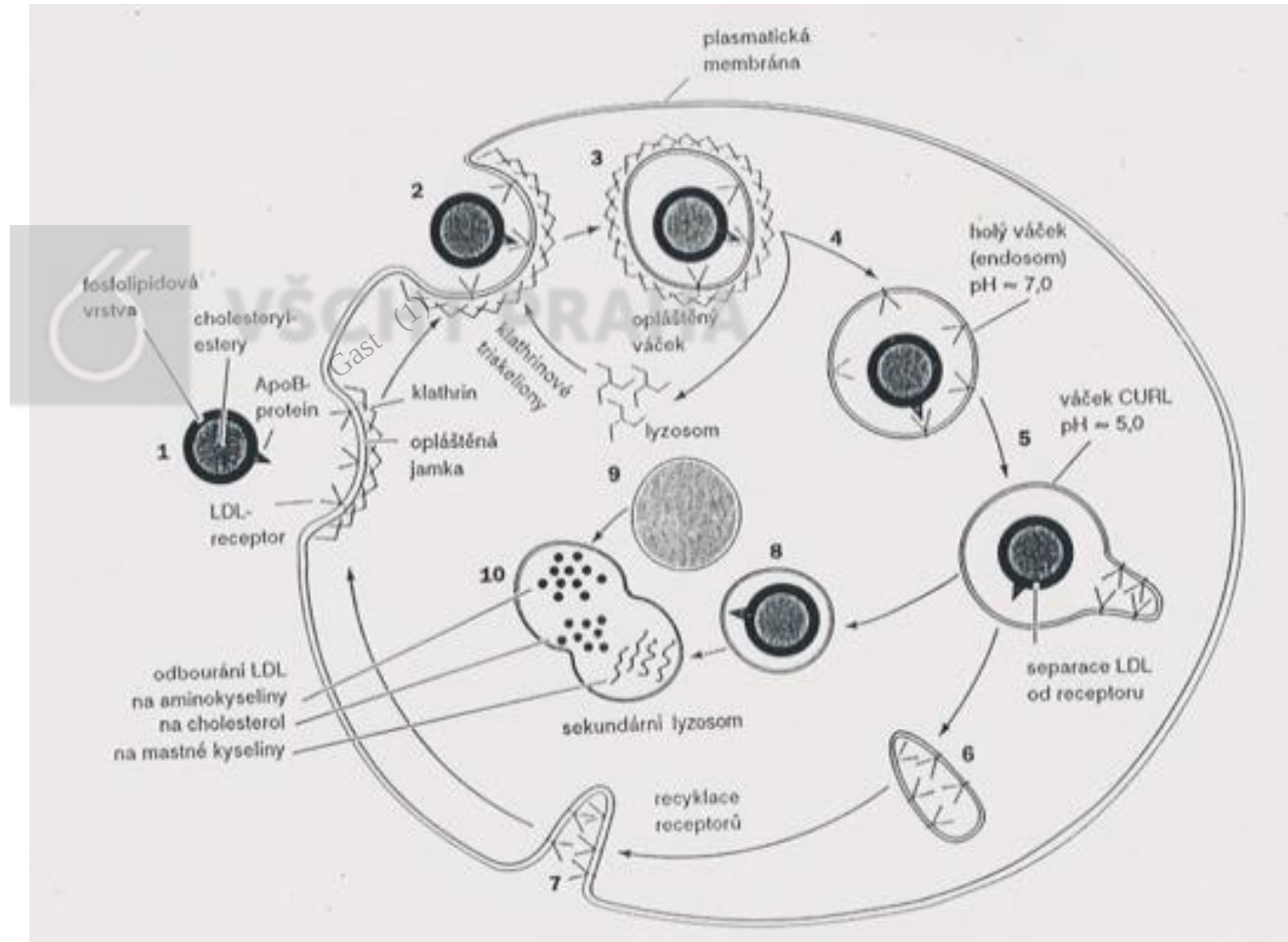
Endocytosa LDL (podrobné schema)

Vysvětlivky (srovnej s předchozím slidem!):

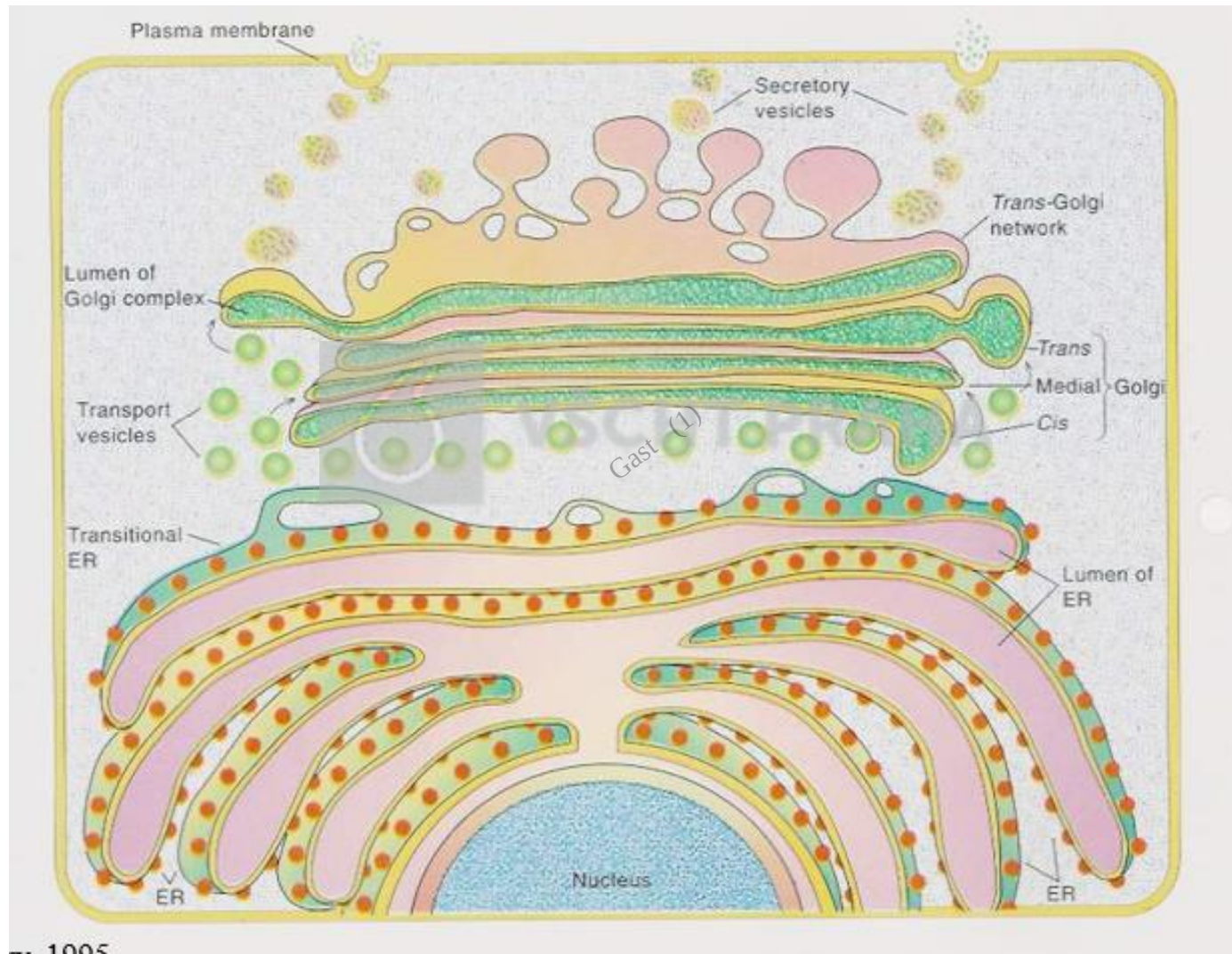
2: klathrin: viz učebnice str. 160 a 169

5: snížení intralysosomálního pH (primární aktivní transport protonů), proto se uvolní LDL z vazby na receptor; receptorové molekuly se shromáždí v jedné části membrány, která je pak uvolněna a začleněna zpět do buněčné membrány (kroky 6 a 7)

10: spojení váčku s LDL s primárním lyzozomem, vznik sekundárního lysosomu; hydrolytický rozklad látek



Hrubé endoplasmatické retikulum a Golgiho aparát

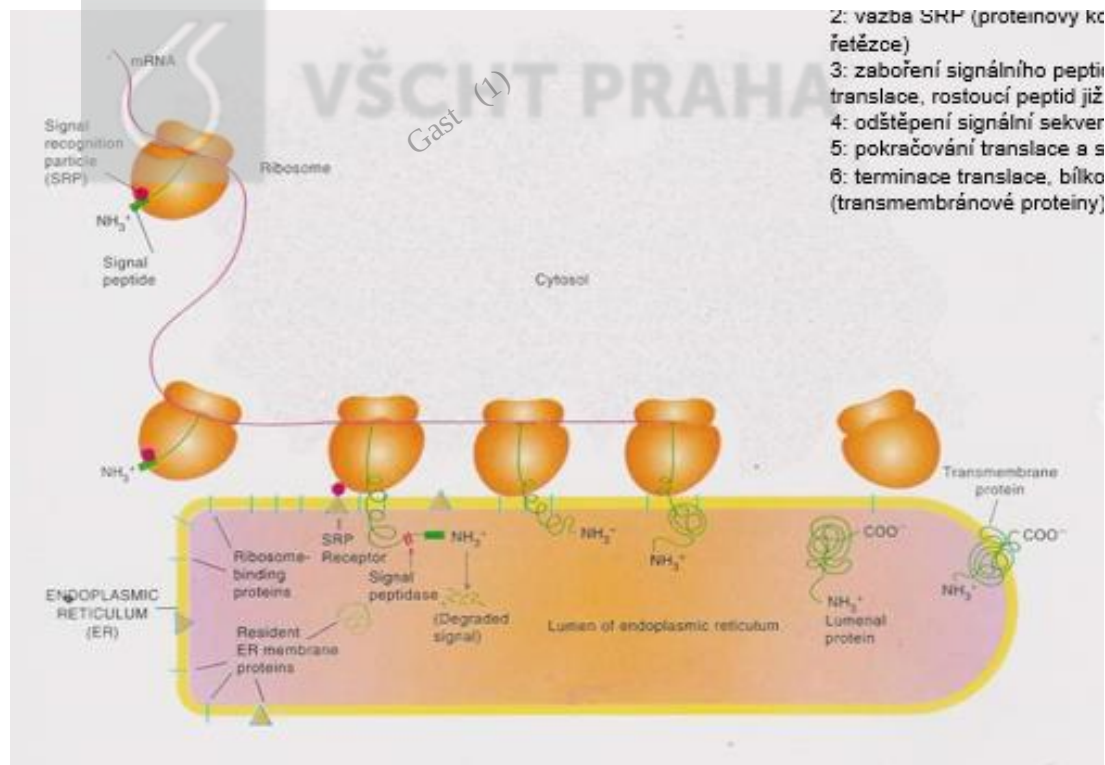


© 1995

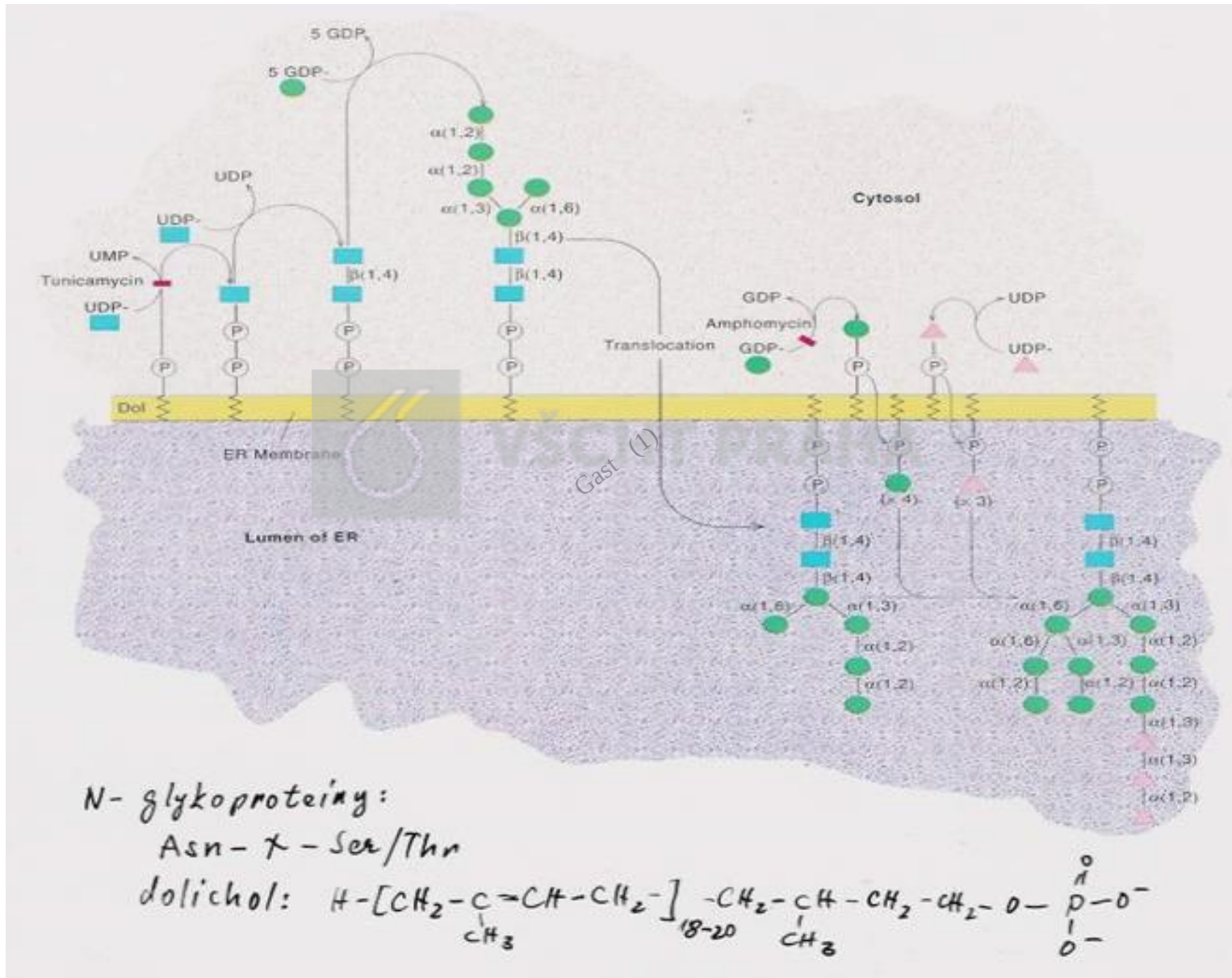
Translace na hrubém endoplasmatickém retikulu

Průběh translace:

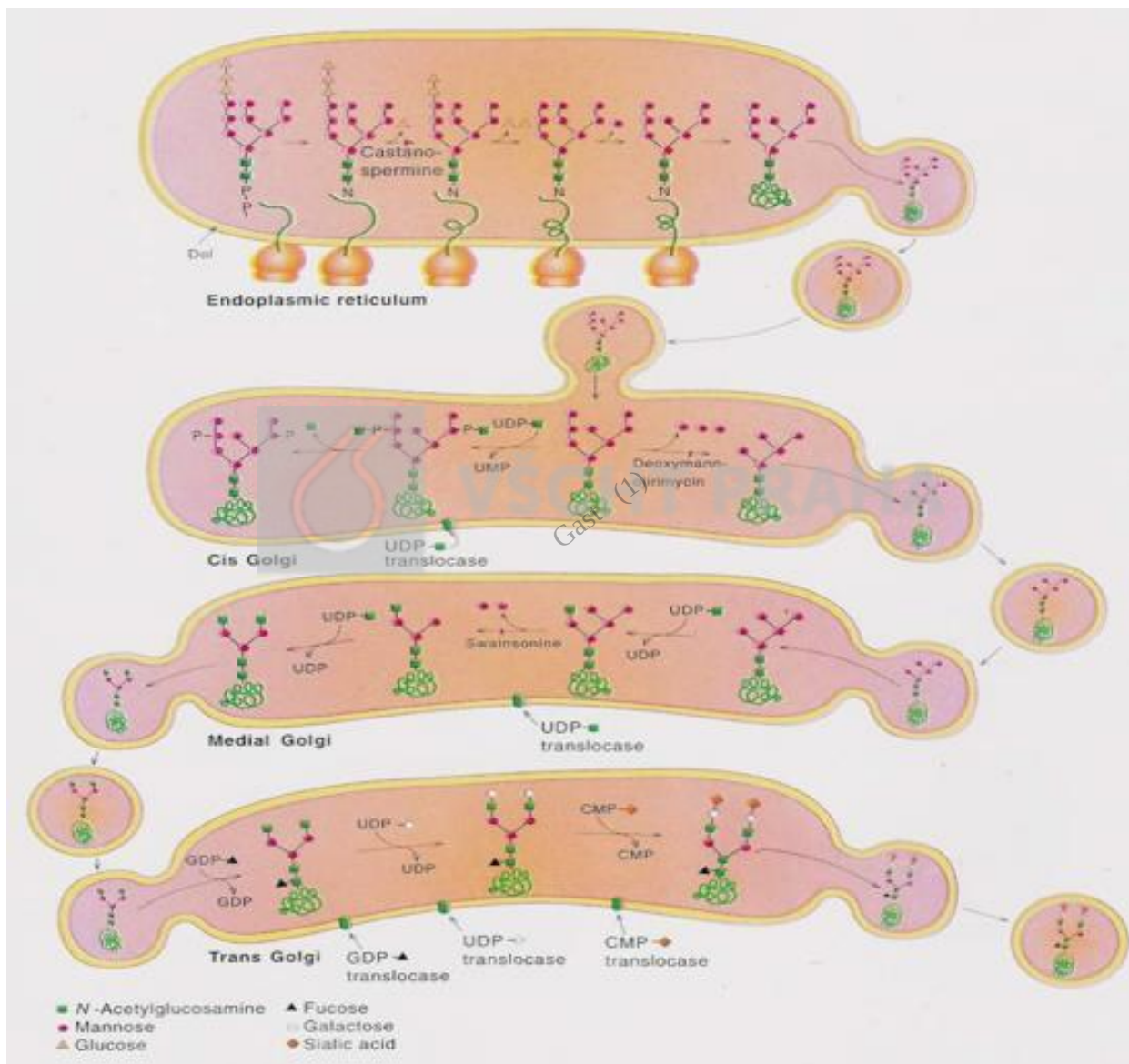
- 1: syntéza signálního peptidu (presekvence): — $\approx$ 20 hydrofobních aminokyselin (slouží k průchodu peptidového řetězce do lumen ER)
- 2: vazba SRP (proteinový komplex, signal recognition particle, brání prodlužování peptidového řetězce)
- 3: zaboření signálního peptidu do membrány ER a vazba SRP na SRP-receptor (odblokování další translace, rostoucí peptid již proniká do lumen ER)
- 4: odštěpení signální sekvence peptidasou v lumen ER
- 5: pokračování translace a svinování vynikajícího řetězce
- 6: terminace translace, bílkovina buď pronikla celá do lumen ER nebo zůstala částečně v membráně (transmembránové proteiny)



Syntéza oligosacharidové části N-glykoproteinů (1. část)



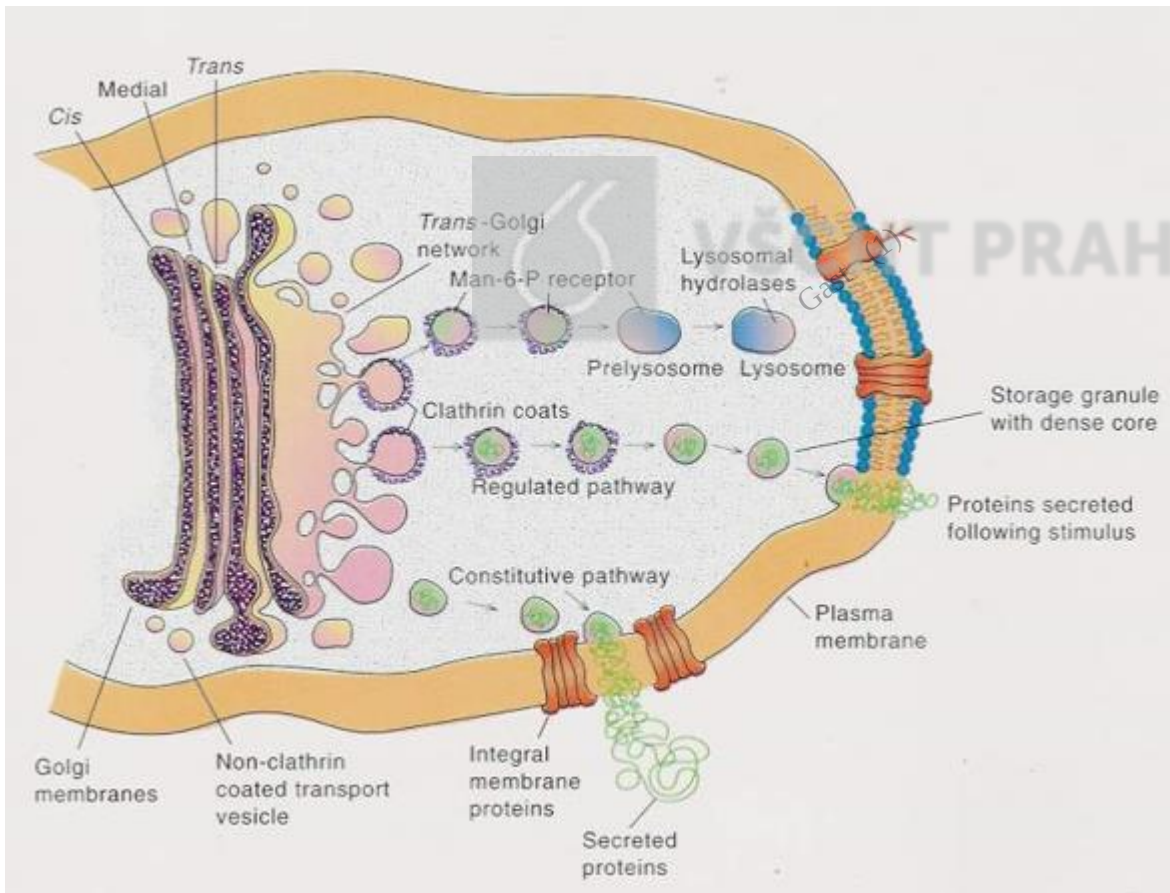
Syntéza sacharidové části N-glykoproteinů (2. část)



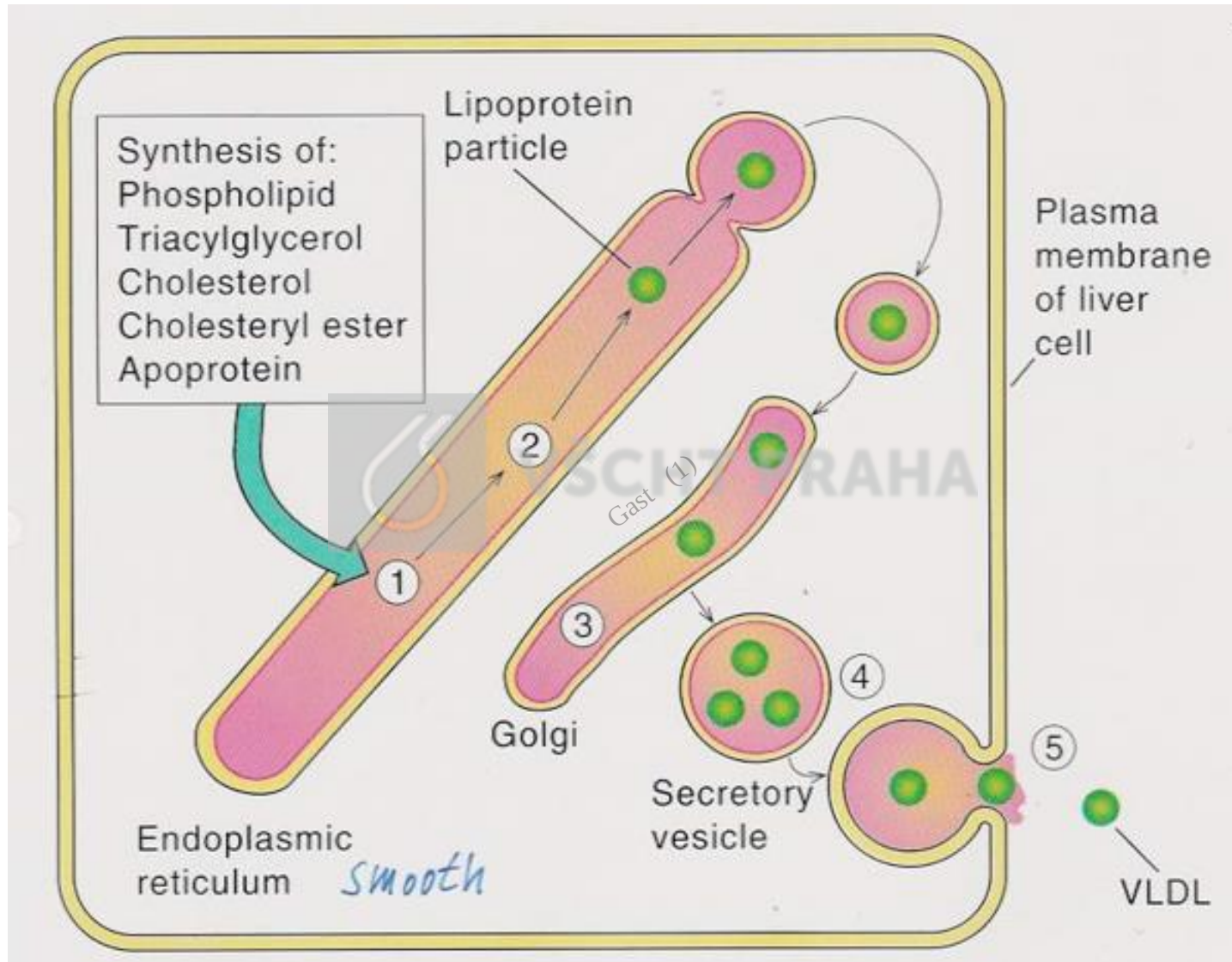
Směrování („targeting“) proteinů z endoplasmatického retikula

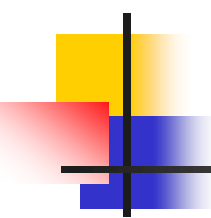
Základní možnosti směrování proteinů

- 1: proteiny zůstávají v lysozomech
- 2: proteiny jsou na základě vnějšího impulsu sekretovány z buňky
- 3: proteiny jsou konstitutivně (vždy) sekretovány z buňky



Funkce hladkého endoplasmatického retikula



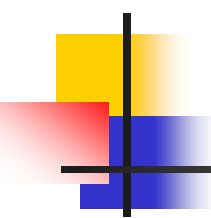


CYTOSKELET

Soustava vláknitých bílkovinných struktur v cytosolu eukaryotních buněk

FUNKCE

- **Mechanická odolnost a udržení charakteristického tvaru buněk**
- **Transport uvnitř buňky (neurony až 1 m)**
 - příklady: adenovirus ($r = 45 \text{ nm}$)
 - ve vodě potřebuje k pohybu na vzdálenost $10 \mu\text{m}$ asi 10 s
 - v cytosolu na tutéž vzdálenost asi 1,5 h
 - pohyb chromosomů při dělení buňky
- **Možná i další**

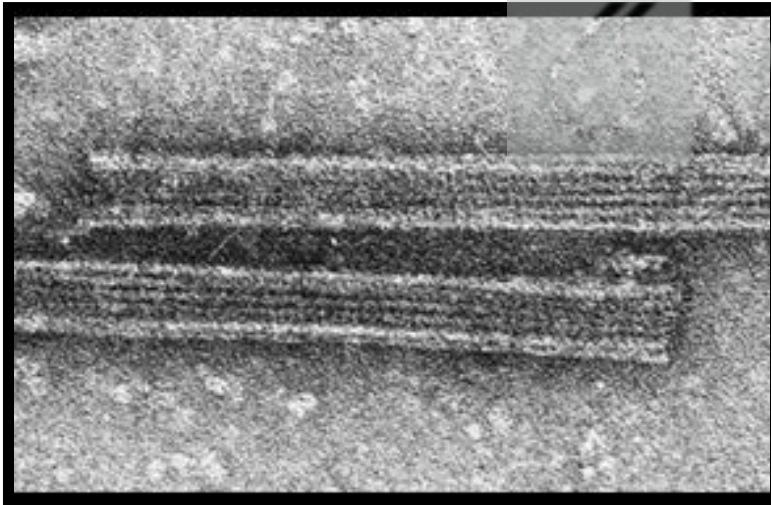


Složky cytoskletu

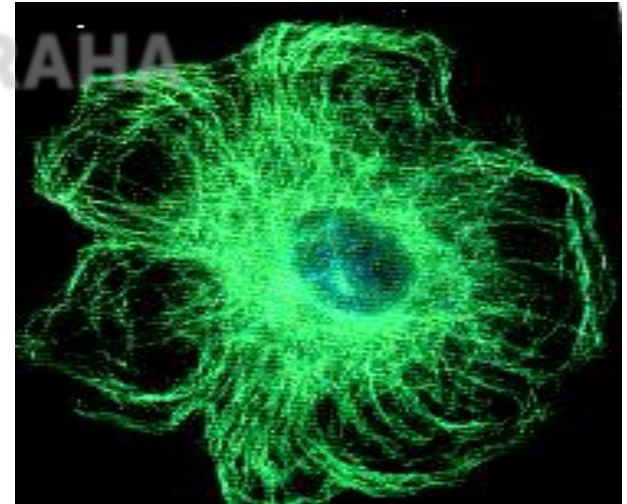
Struktura	Tloušťka	Strukturní proteiny	Vazba NTP	Asociované proteiny
mikrotubuly	25 nm	α -tubulin β -tubulin	GTP	MAPs MIP
intermediární filamenta	10 nm	kyselé a bazické keratiny vimentin desmin lamin A, B, C	-	?
mikrofilamenta	7 nm	aktin	ATP	myosiny

Mikrotubuly pod mikroskopem

Elektronová mikroskopie



Fluorescenční mikroskopie



ŠCIT PRAHA
Gast (1)

Struktura a vznik mikrotubulů

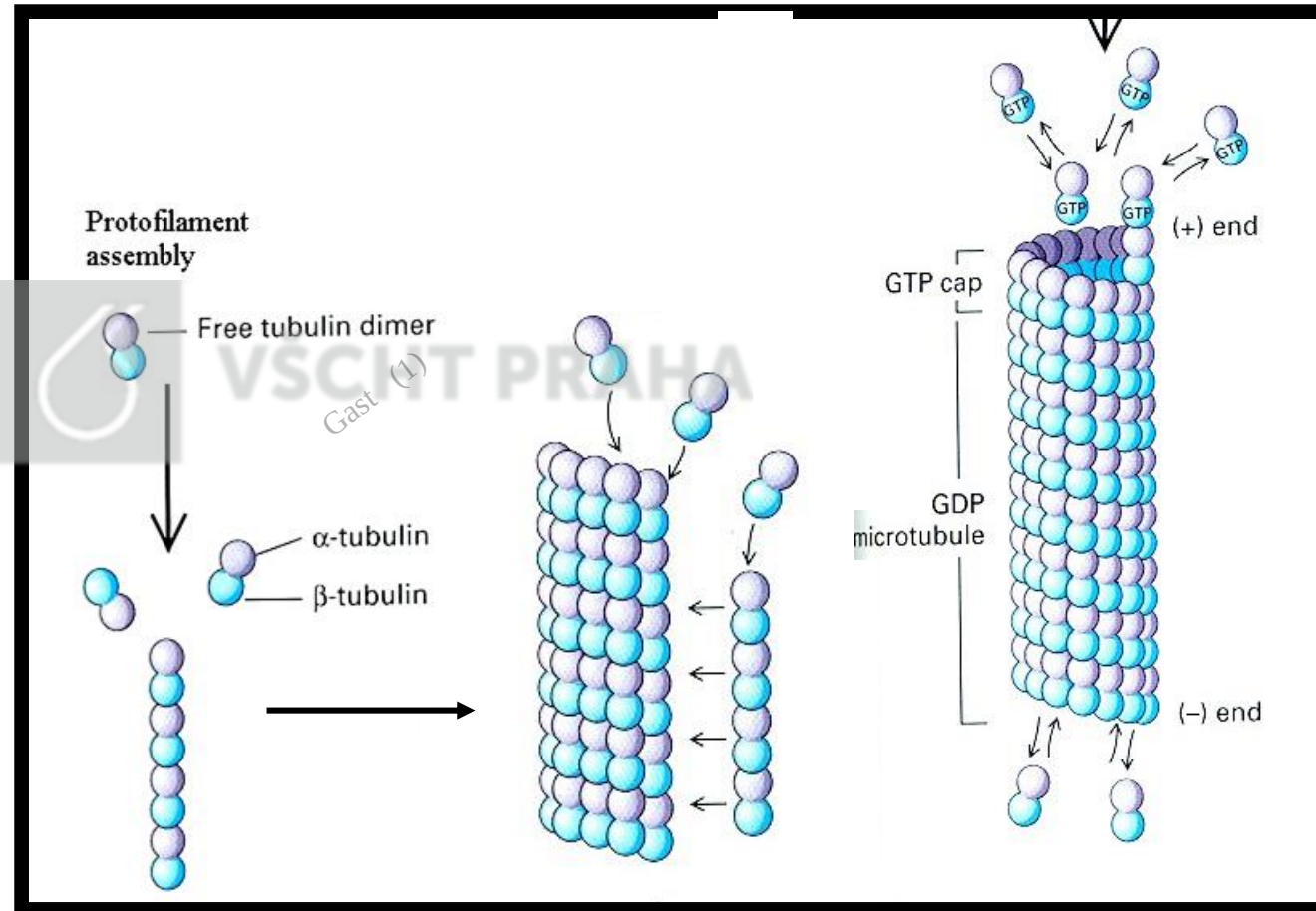
Základní jednotka:
nekovalentní heterodimer
 α - a β -tubulinu

Protofilamenta: nekovalentní
lineární polymery těchto dimerů

Vlastní mikrotubulus:
13 – 16 protofilament
lze rozlišit + a – konec
polarizace buňky (železnice)

Velmi dynamický systém:
růst směrem k + konci,
odbourávání od - konce

**Pro připojení jednoho dimeru
na + konci je zapotřebí energie,**
získaná hydrolysou jedné
molekuly GTP
(v přítomnosti Mg^{2+})

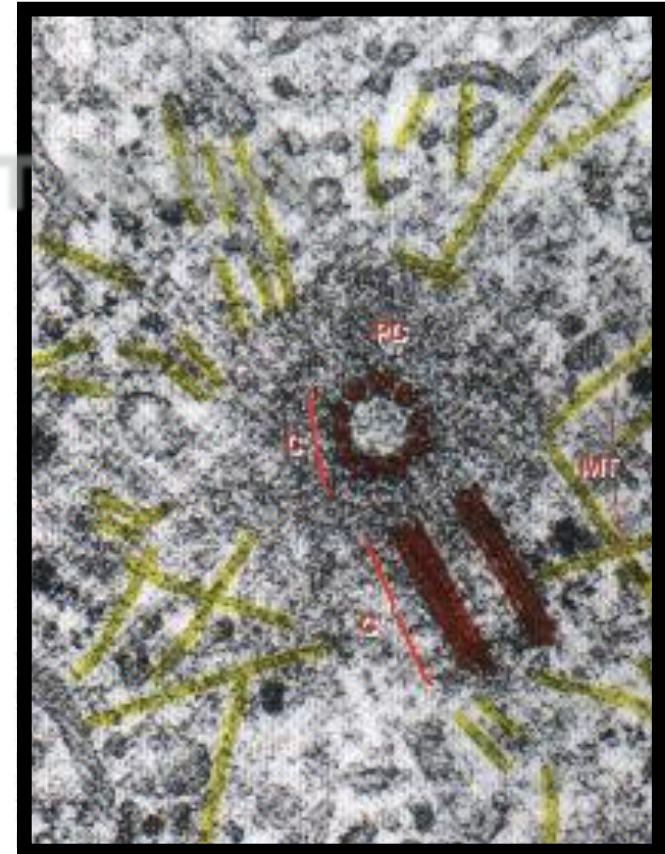
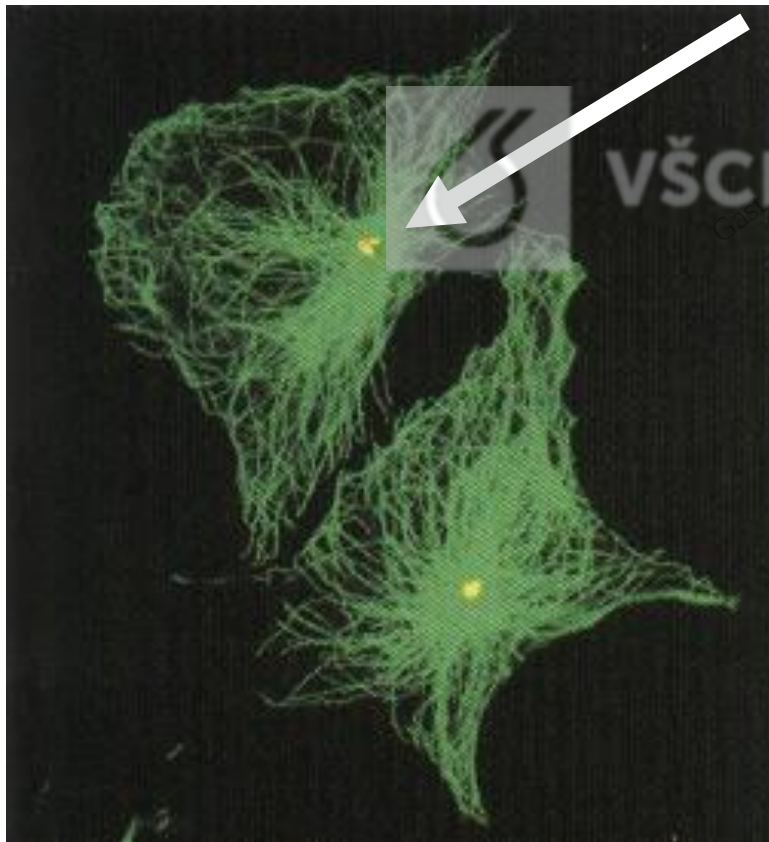


MTOC – microtubule organisation centre, též centrosom

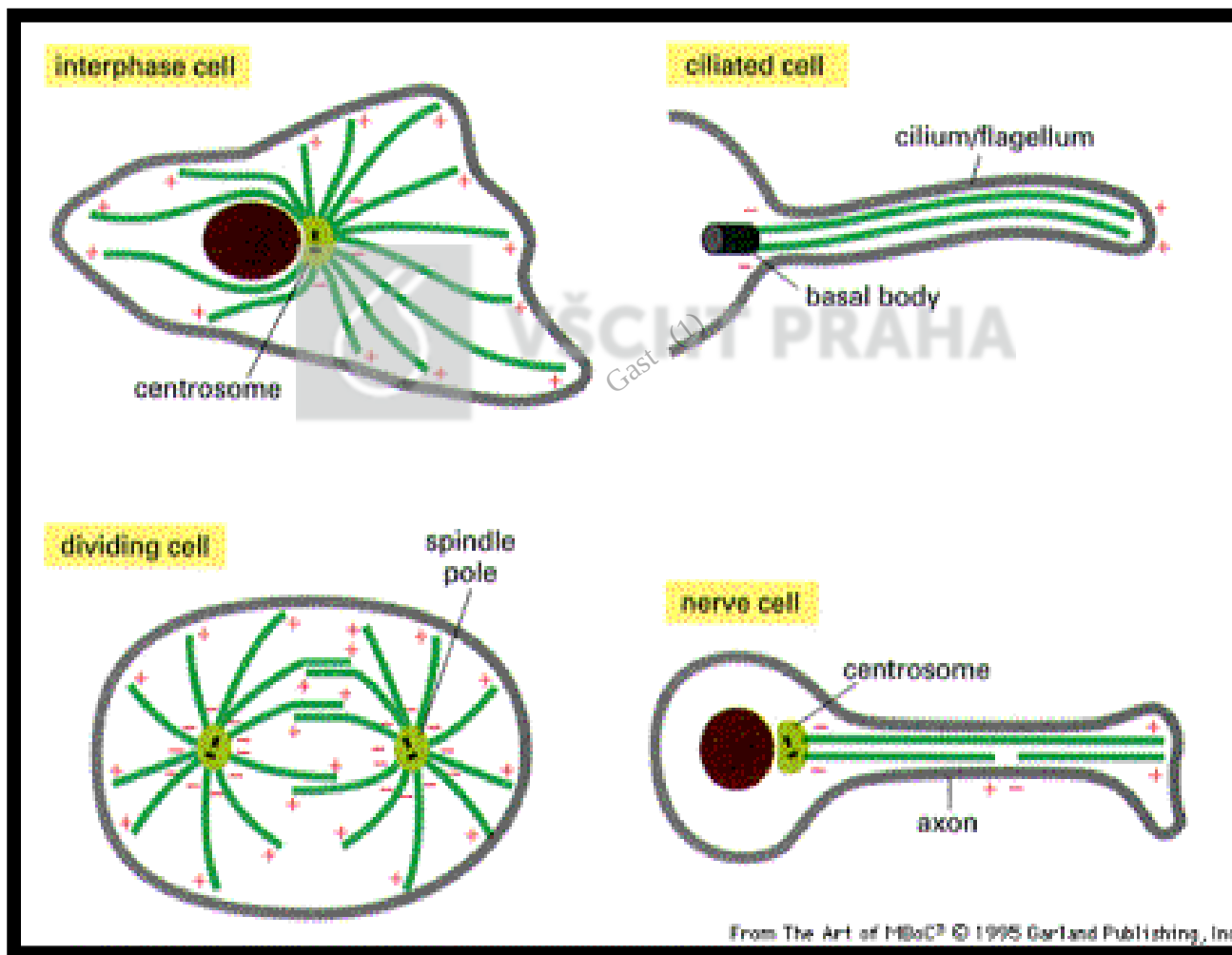
„Hlavní nádraží“ - mikrotubuly jsou v něm zakotveny - koncem

Nalézá se poblíž jádra

Centrum mnoha důležitých buněčných funkcí, důležité pro dělení buňky



MTOC – schema v různých buňkách



MAPs (microtubule associated proteins) - mikrotubulární motory

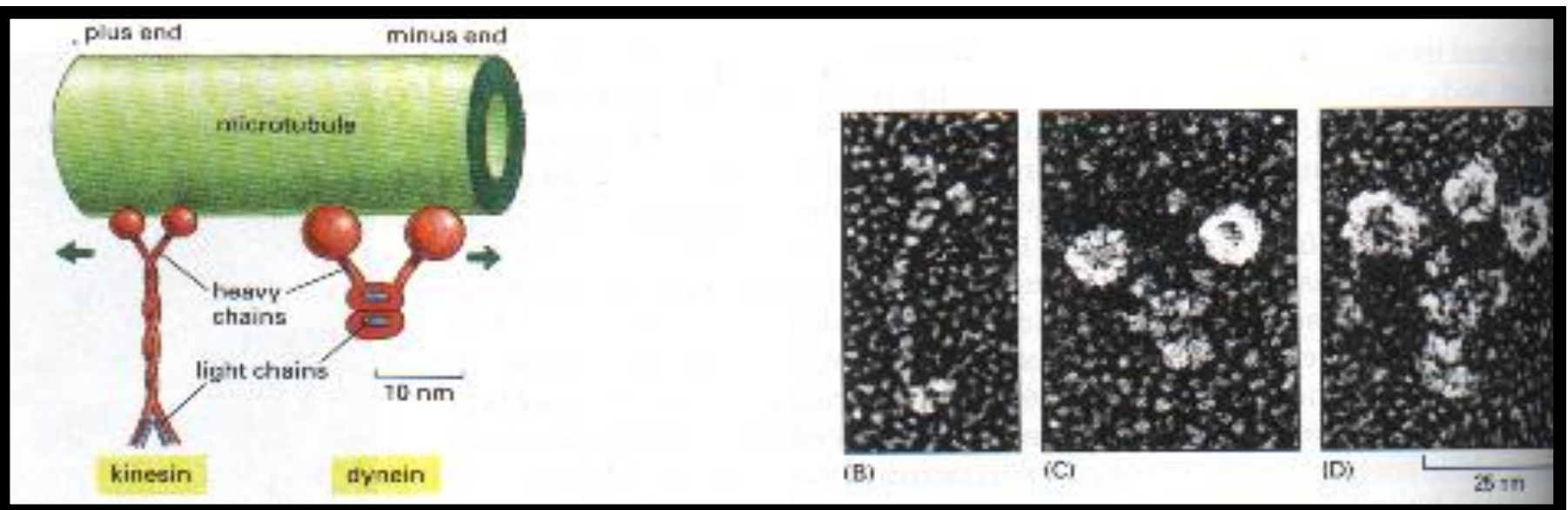
Proteiny zajišťující transport částic (molekul, chromosomů organel) po vláknech mikrotubulů

Mají specifická vazebná místa pro jednotlivé „pasažéry“.

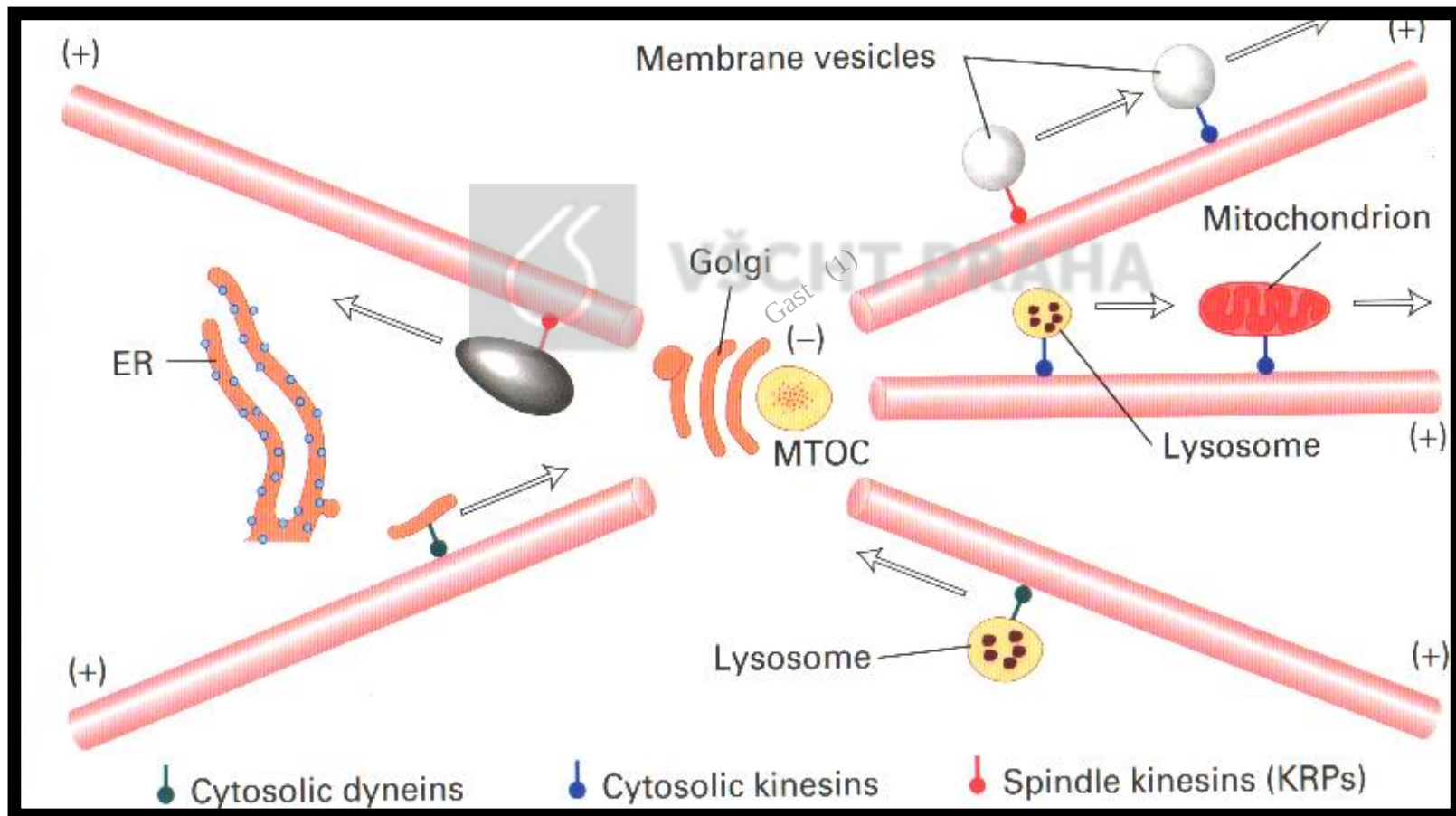
Kinesiny: jezdí od – k +, jednoduchá molekula,
zvláštní skupina: „spindle kinesins“, podílejí se na dělení buněk pohybem po dělicím vřetánku

Dyneiny: Jezdí od + k -, komplex více bílkovin

Na jeden krok hydrolyzují jednu molekulu ATP.

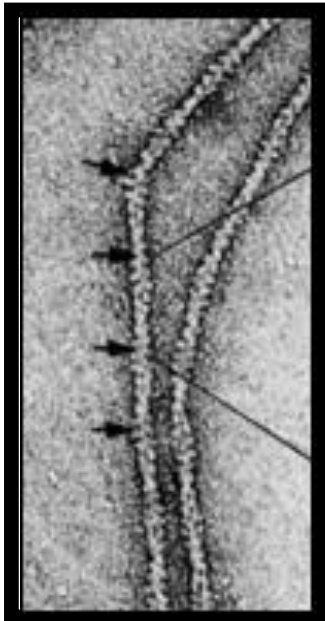


Takže nic volně neplave

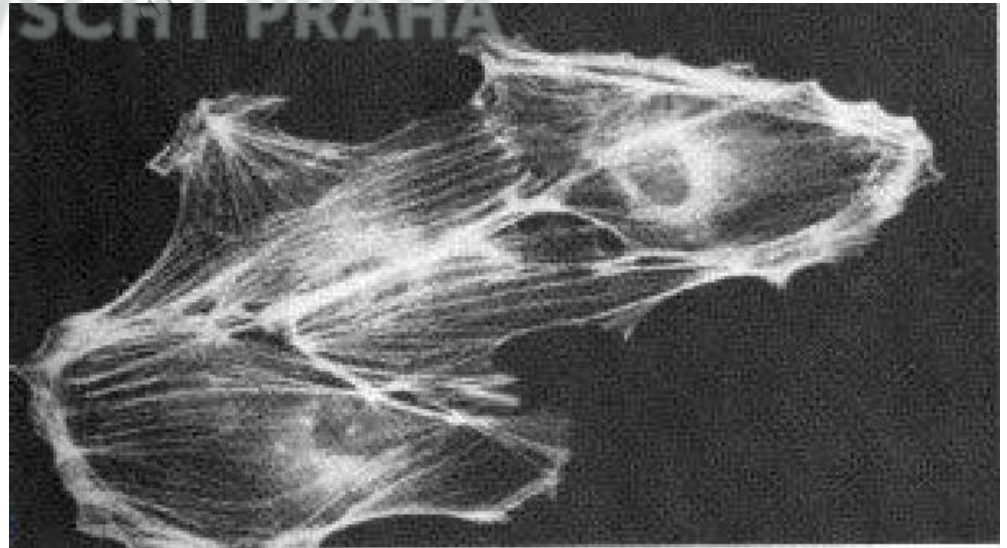


Mikrofilamenta

Elektronová mikroskopie



Fluorescenční mikroskopie



VŠCHT PRAHA

Mikrofilamenta

Základní složka: šroubovicové vlákno tvořené monomery G-aktinu (globulárního)

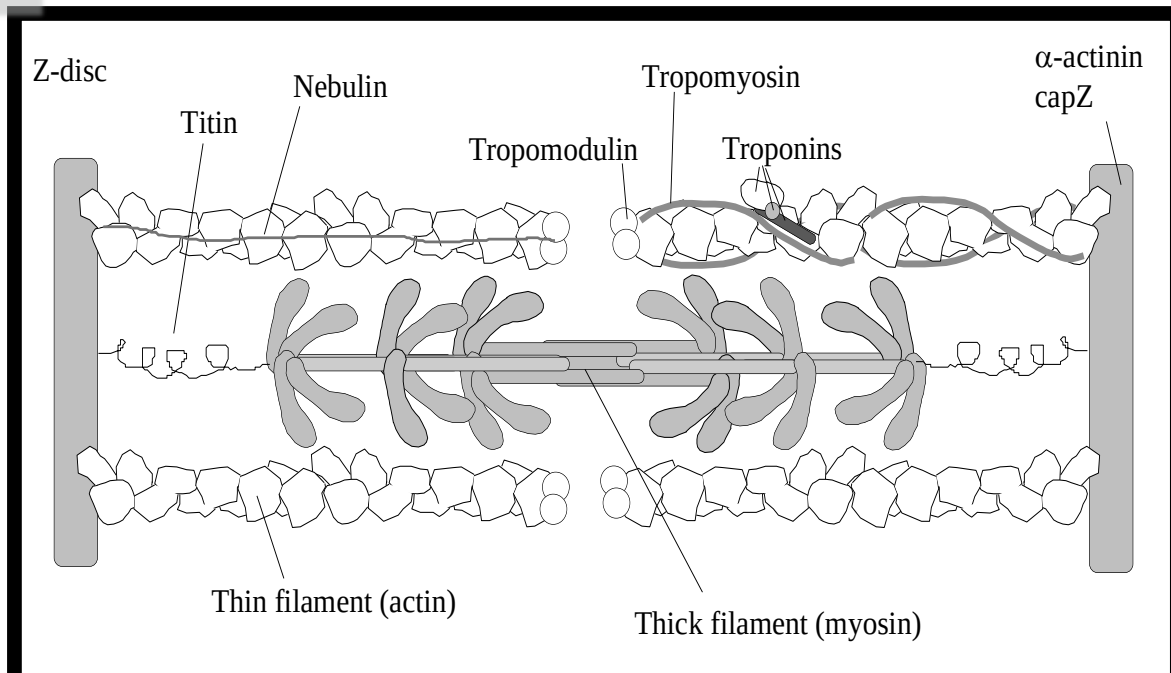
Hlavní složky: F-aktin polymer G-aktinu) a myosin (učebnice str. 75),

vzájemný pohyb je spojen s hydrolysou ATP

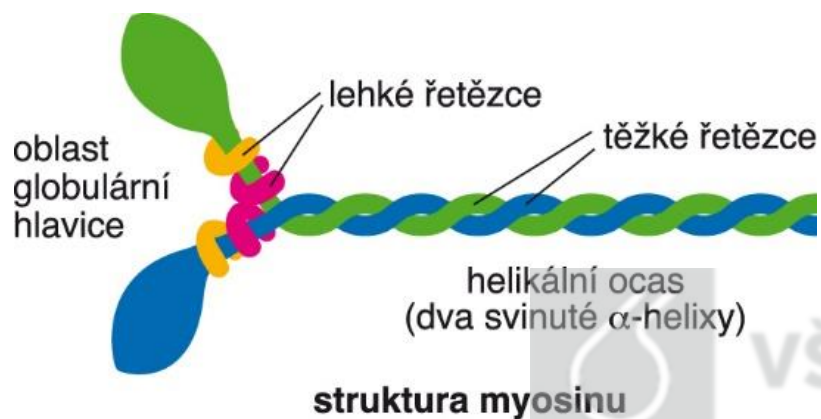
Jsou orientovány: + a – konec. Stablnější než mikrotubulární síť.

Mikrofilamenta jsou zodpovědná za pohyb buněk jako celku

**Bílkovinná struktura
příčně-pruhovaného svalu**

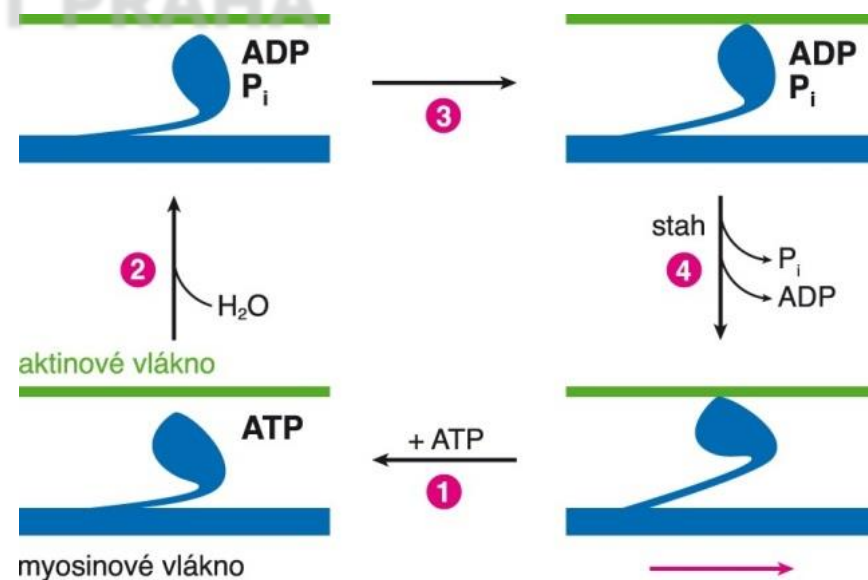


Myosiny – aktinové motory



Vzájemný pohyb aktinového a myozinového vlákna , spojený s hydrolysou ATP (učebnice str. 75)

Gast (1)



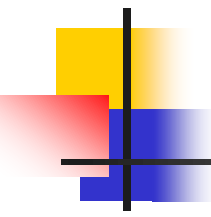
Inetermediární filamenta

Elektronová mikroskopie



Fluorescenční mikroskopie





Inetermediární filamenta

Velmi heterogenní složení, závisí na druhu tkáně

Nejstabilnější struktura cytoskeletu, vlákna nejsou orientována

Zodpovědná za mechanickou stabilitu buněk a tkání; nezajišťují pohyb, a proto nepotřebují NTP.



Kyselé a basické keratiny (chlupy, vlasy, nehty...)

Neurofilmenta (axony nervových buněk)

Vimentin (zejména důležitý při vývoji zárodku)

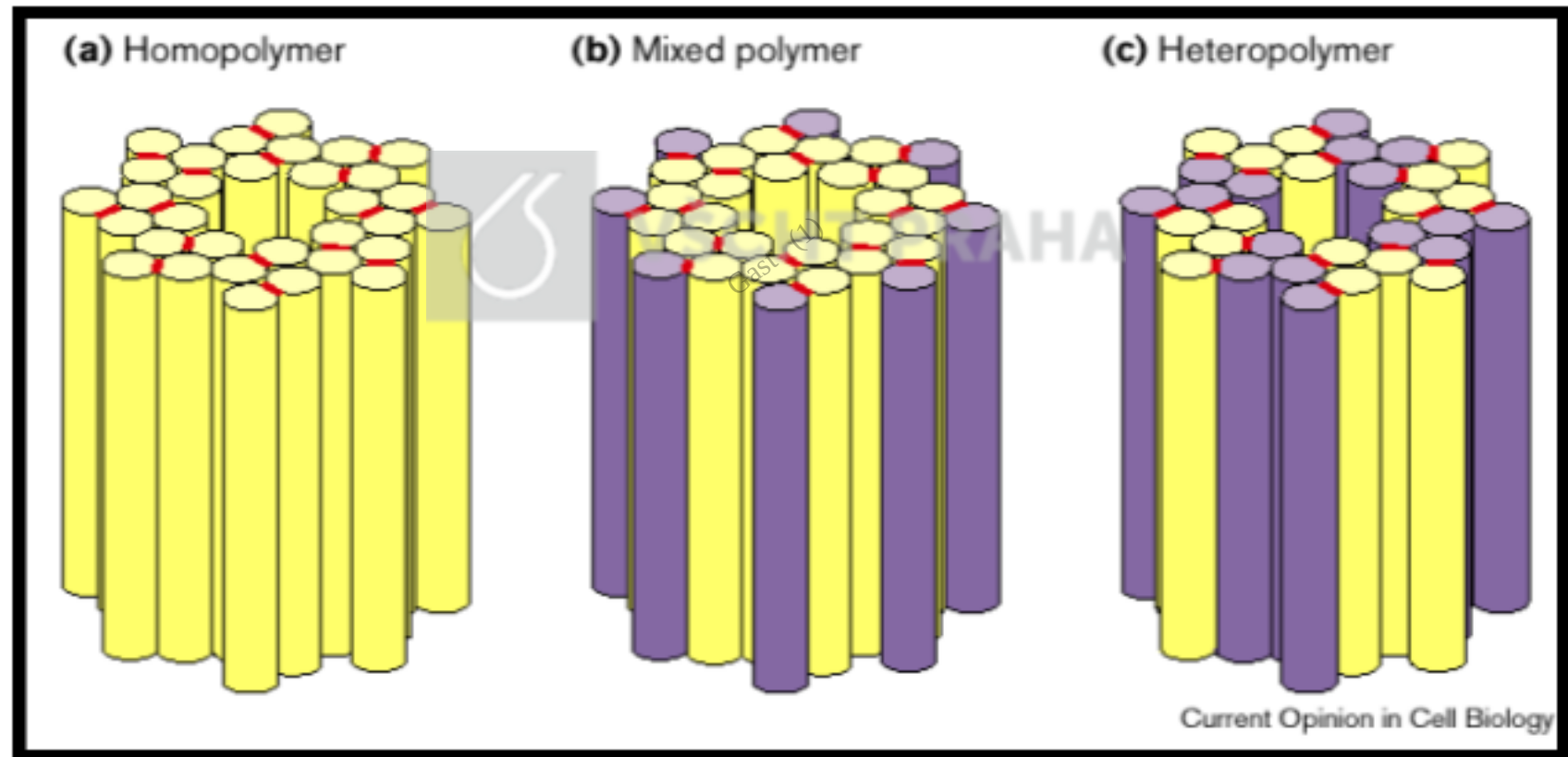
Desmin (ve svalové tkáni)

Lamininy (báze epithelových tkání)

Laminy (připojení jaderního obsahu na jadernou membránu)

Atd.

Jednotlivé složky intermediárních filament mohou kopolymerovat



Propojení jednotlivých složek cytoskeltu

