

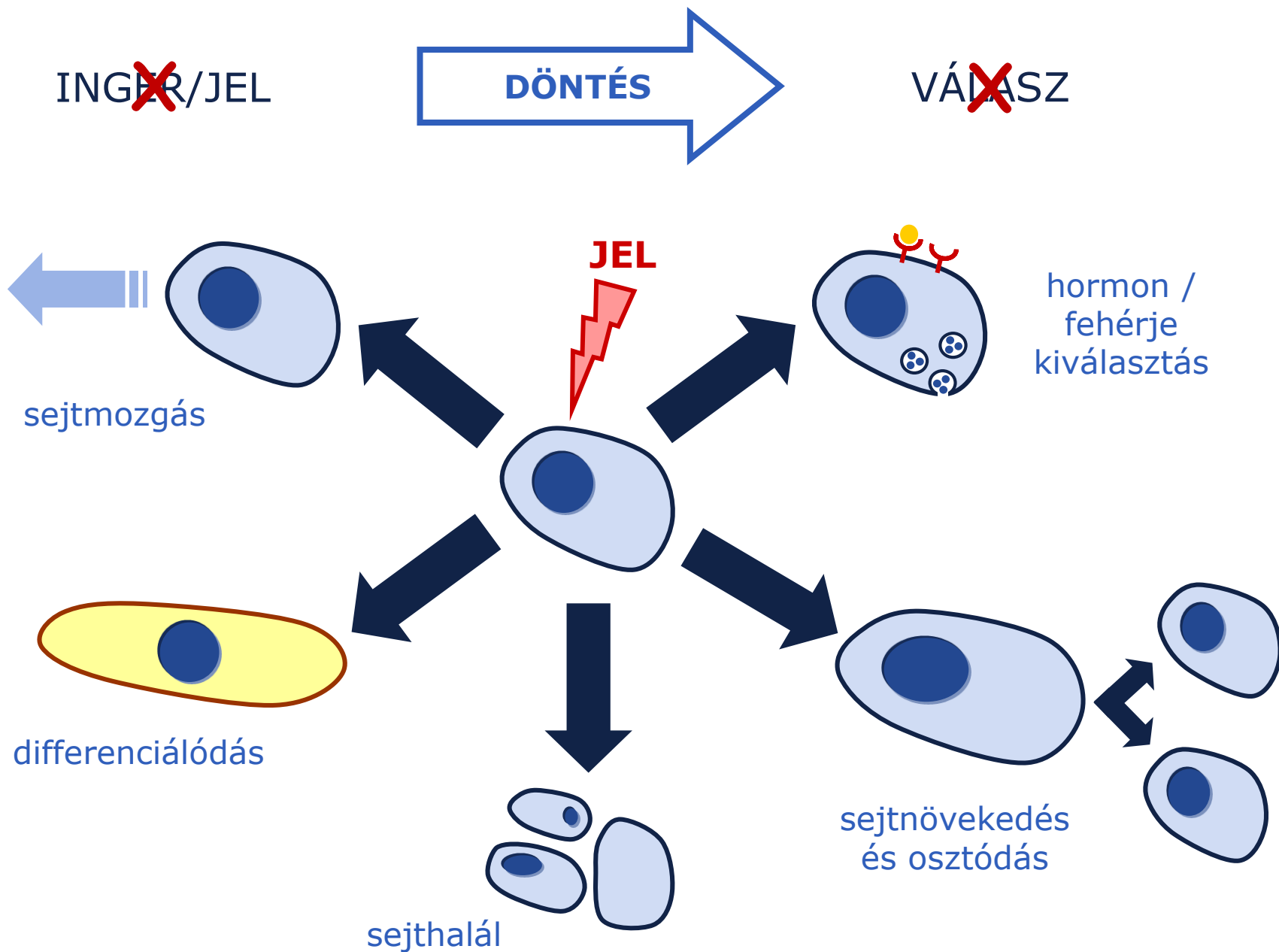
Hogyan dönt a sejt élet és halál között?

Egy rendszerbiológiai megközelítés

Kapuy Orsolya

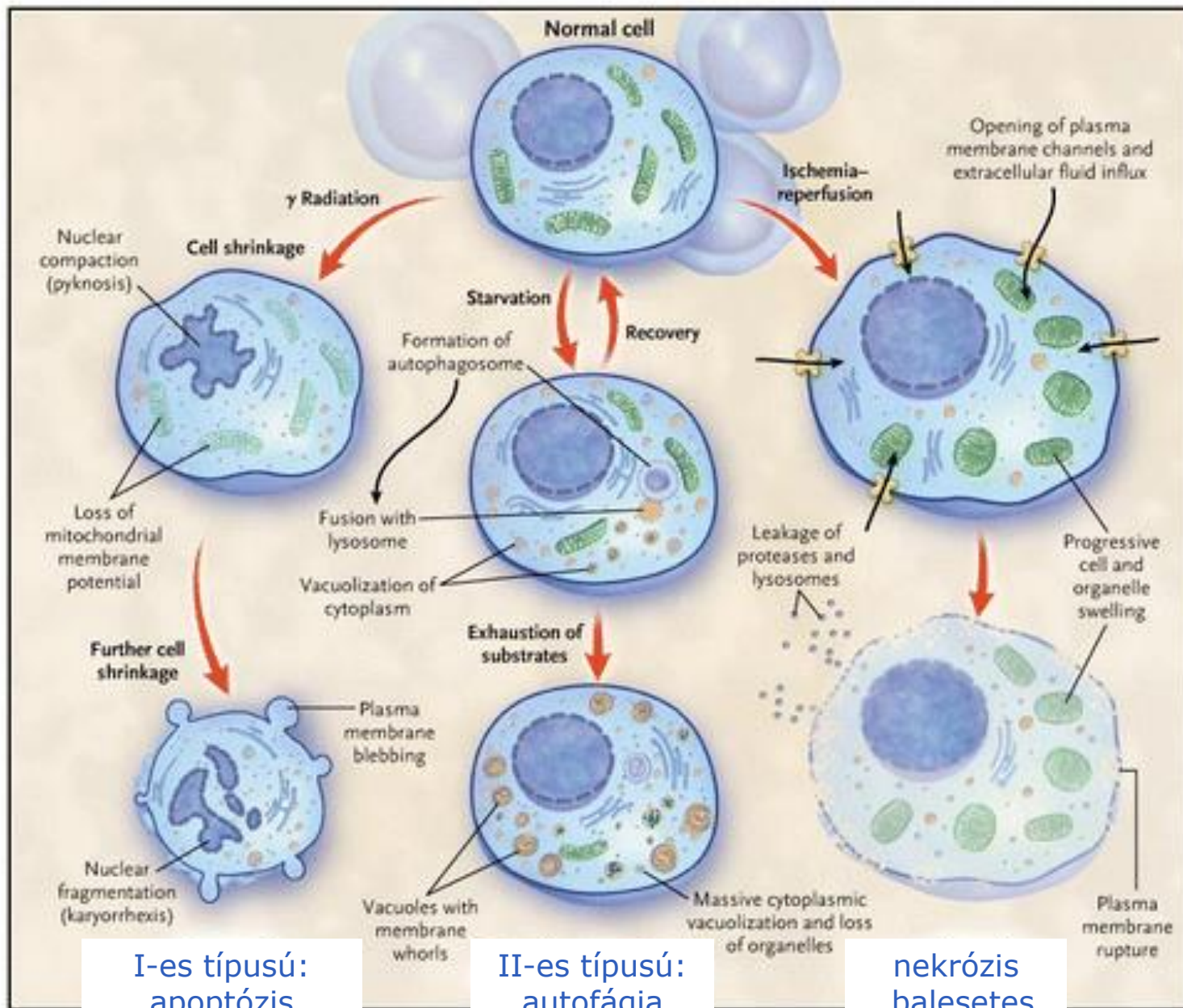
2017.03.30.

# Inger hatására történő szabályozott sejtválaszok



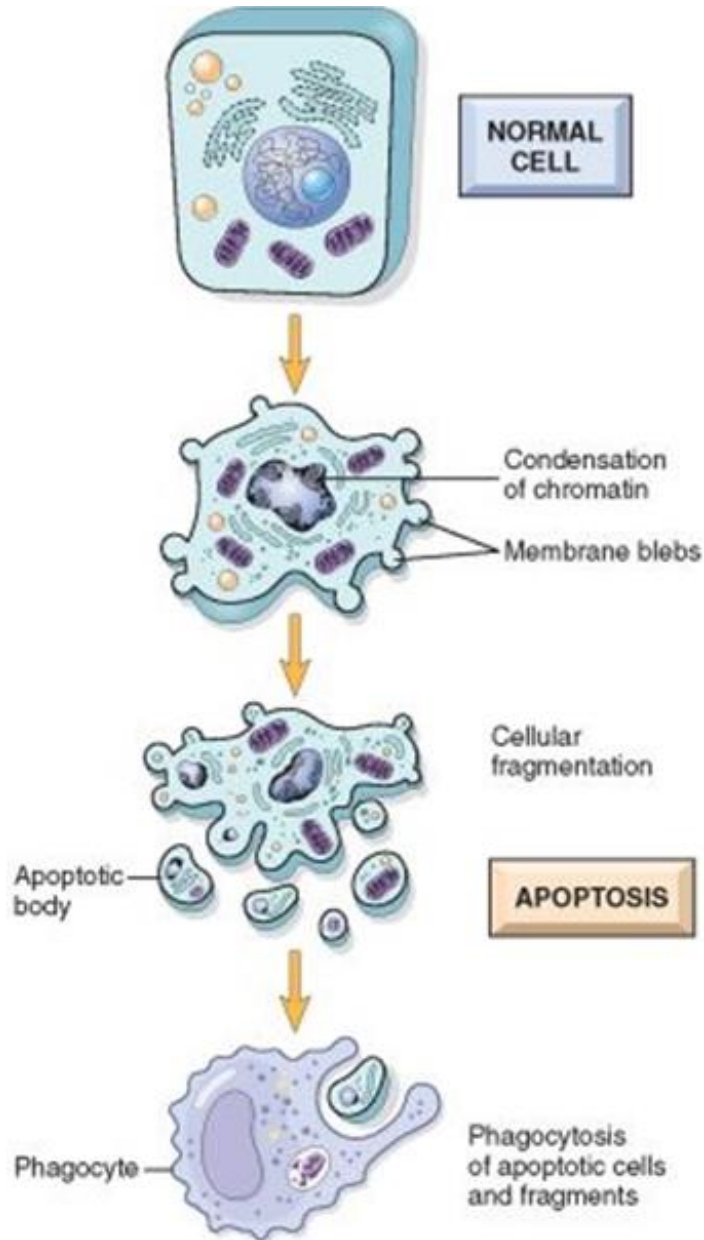
# Sejthalál típusai

PROGRAMOZOTT



NEM PROGRAMOZOTT

# Apoptózis mechanizmusa



I-es típusú programozott sejthalál:  
apoptózis – „öngyilkosság”

leggyakoribb induktorok:

1. halál receptor aktiváció
2. DNS károsodás
3. reaktív oxigén gyökök (ROS)

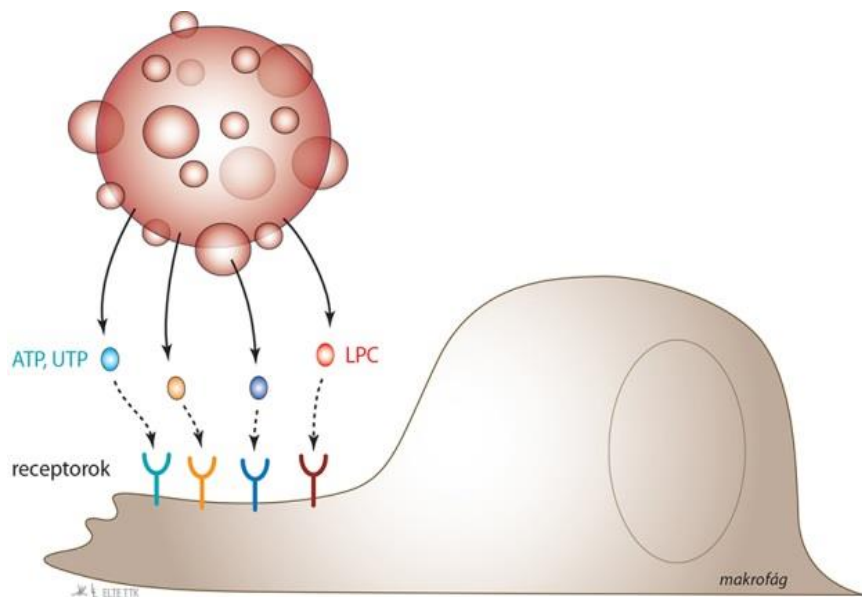
jellegzetes morfológiai és biokémiai jellemzők: kromatin aggregáció, sejtmagi és citoplazmás kondenzáció

⇒ sejtmag és citoplazma apoptotikus testekbe csomagolása

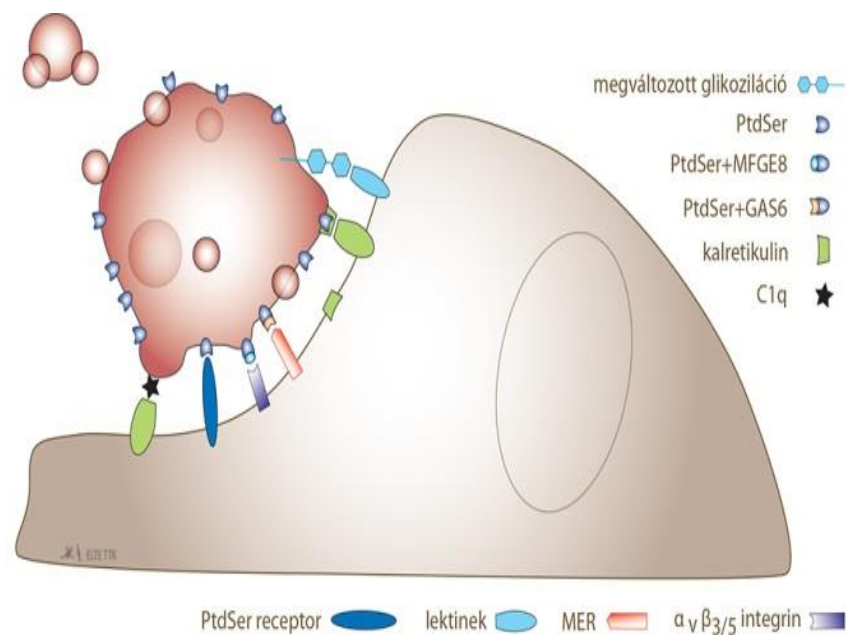
⇒ szomszédos sejtek és fagociták felfalják ⇒ nincs gyulladás

# Apoptotikus sejtmaradványok eltávolítása

## „TALÁLJ MEG” SZIGNÁL



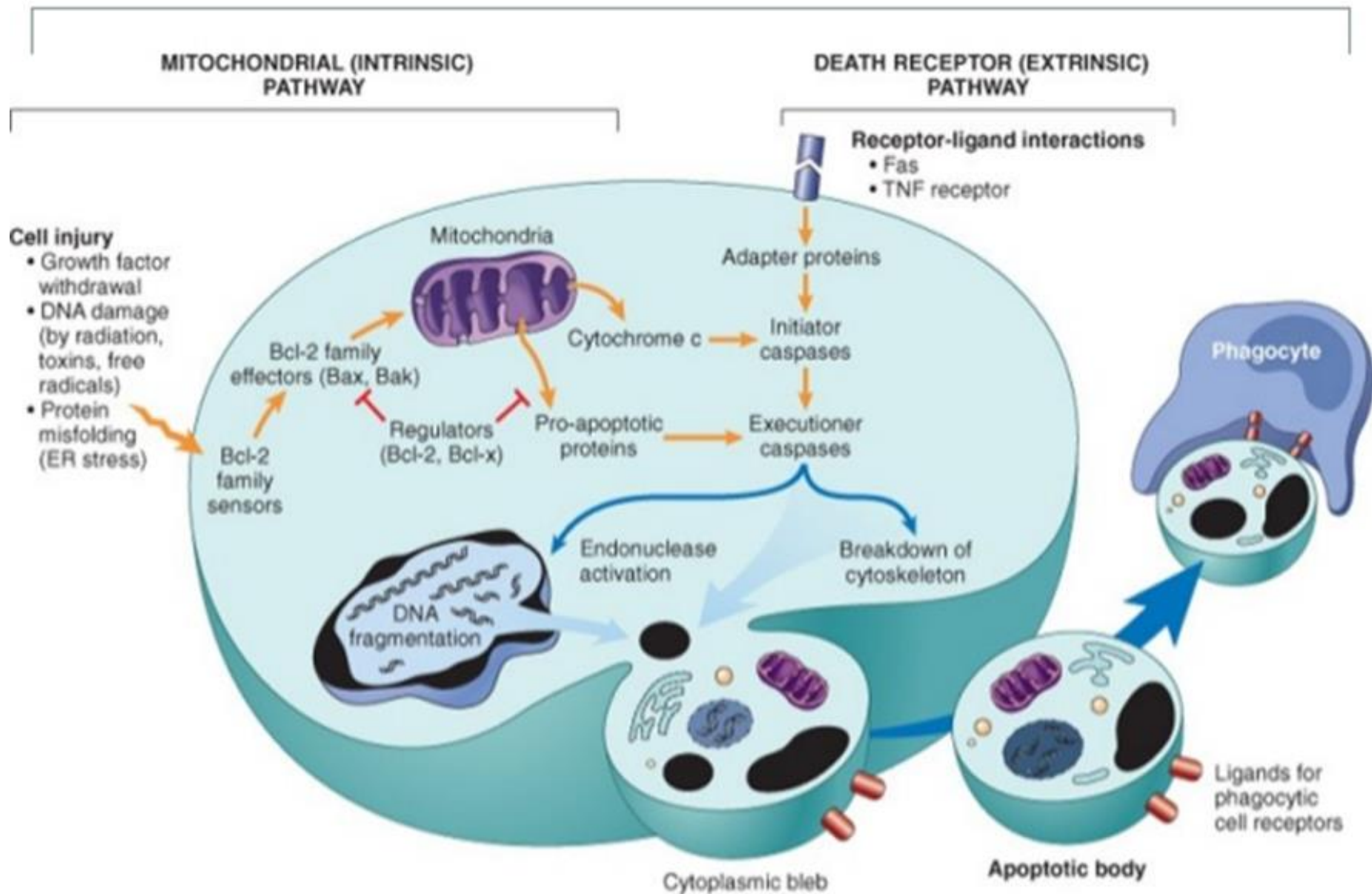
## „EGYÉL MEG” SZIGNÁL



kemotaktikus „találj meg” („find me”) szignálok kibocsátása  $\Rightarrow$  fagocitotikus aktivitással rendelkező sejteket (pl. szöveti makrofágok, monociták) vonzanak a közelébe

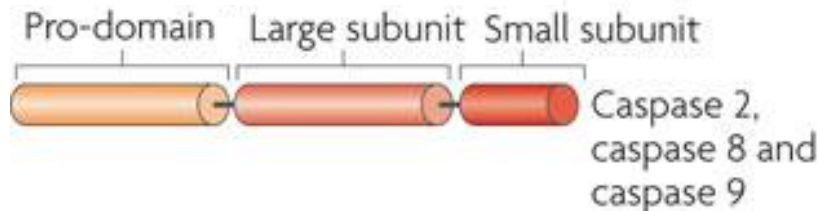
korai apoptózisban a sejtmembrán külső felszínének molekuláris mintázata (összetétele, töltésmintázata) megváltozik  $\Rightarrow$  apoptotikus membrán-mintázat

# Apoptózis típusai

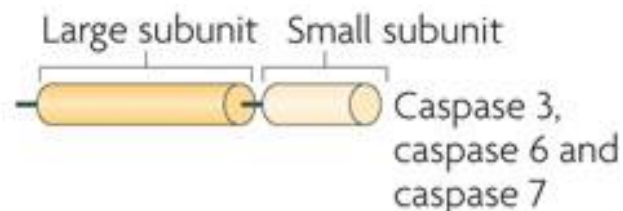


# Az apoptózis kulcsmolekulái a kaspázok

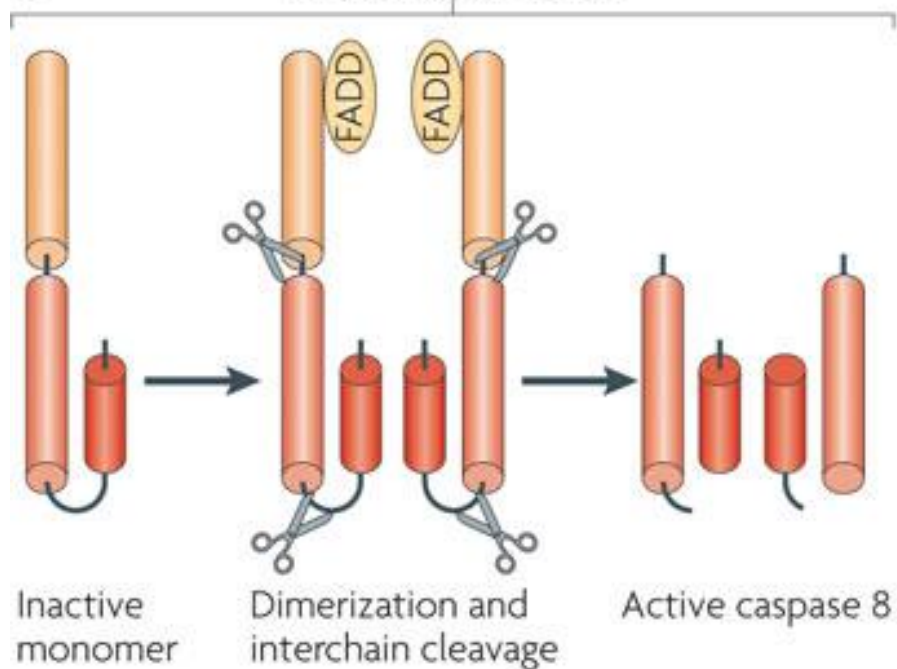
## Iniciátor kaspáz



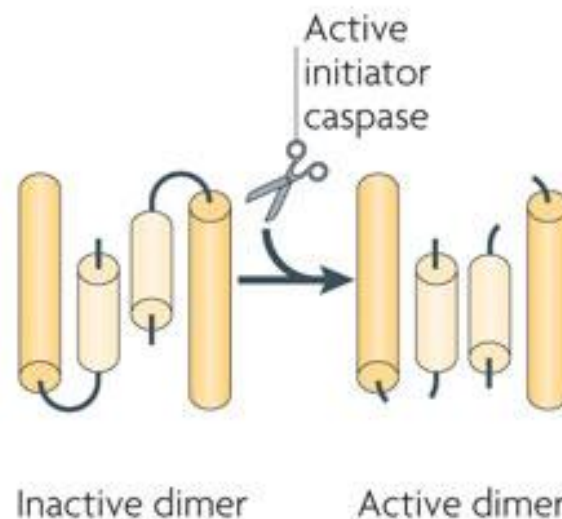
## Effektor kaspáz



### Caspase 8 activation



### Executioner caspase activation



# Apoptózis és nekrozis összehasonlítása

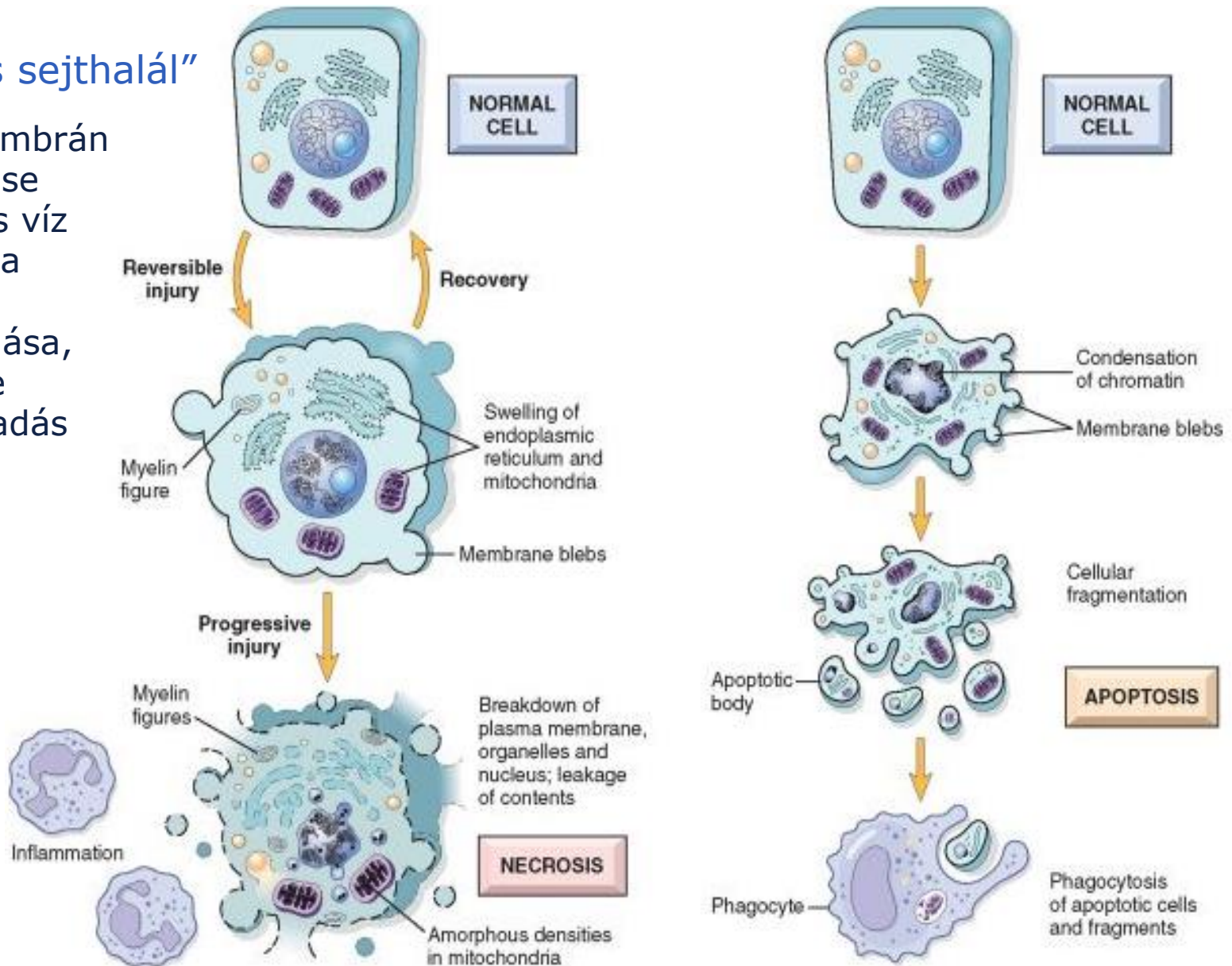
nekrozis  
„balesetes sejthalál”

plazmamembrán  
megsérülése

⇒ ion és víz  
beáramlása

⇒ sejt  
megdagadása,  
majd lízise

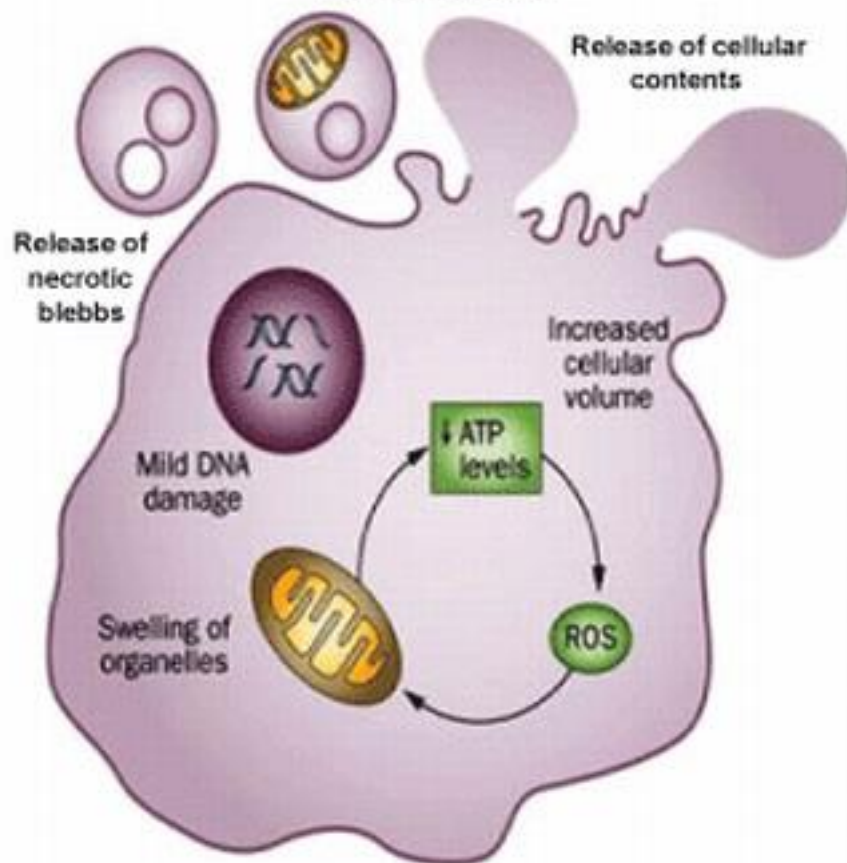
⇒ gyulladás



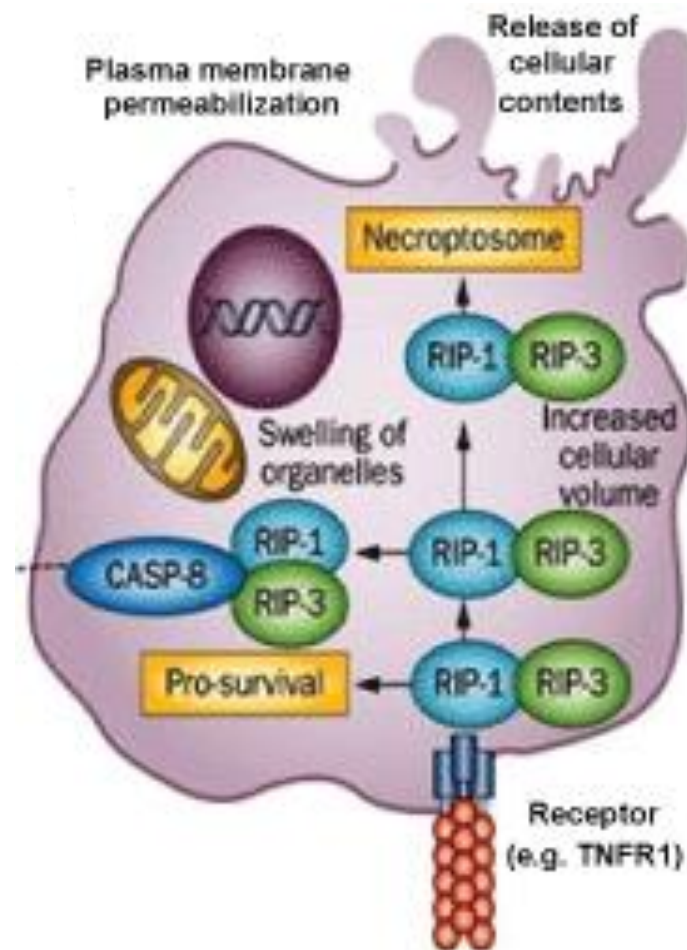


# Nekrózis és nekroptózis összehasonlítása

## NEKRÓZIS

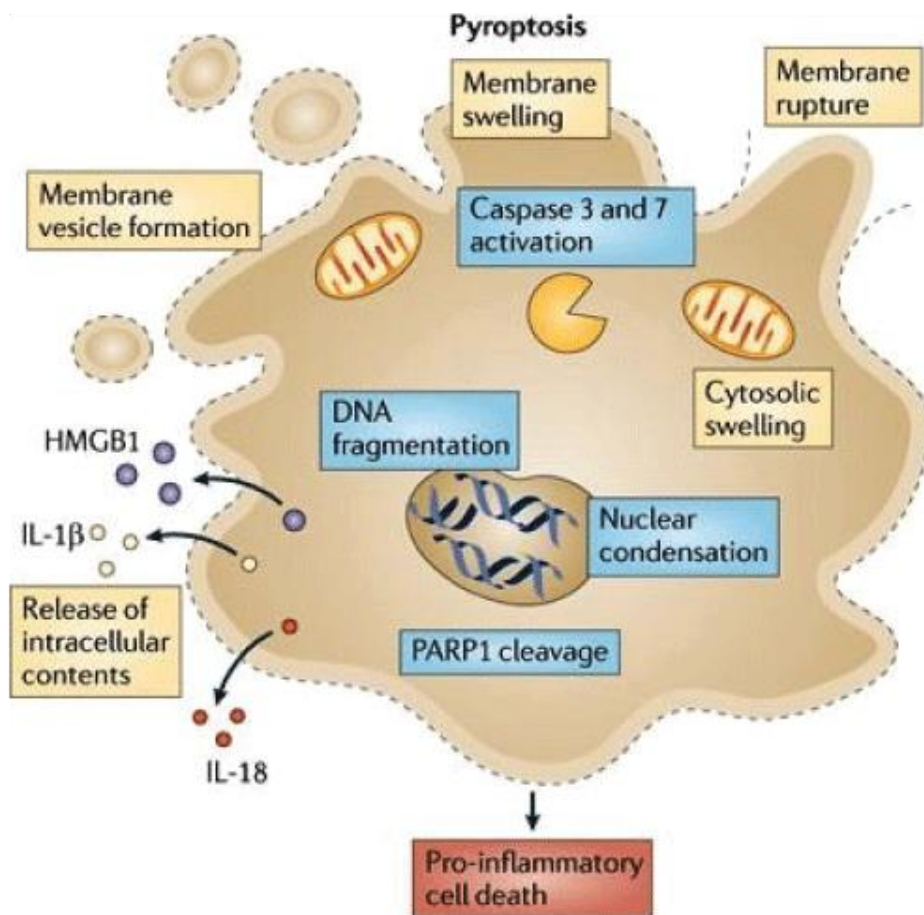


## NEKROPTÓZIS



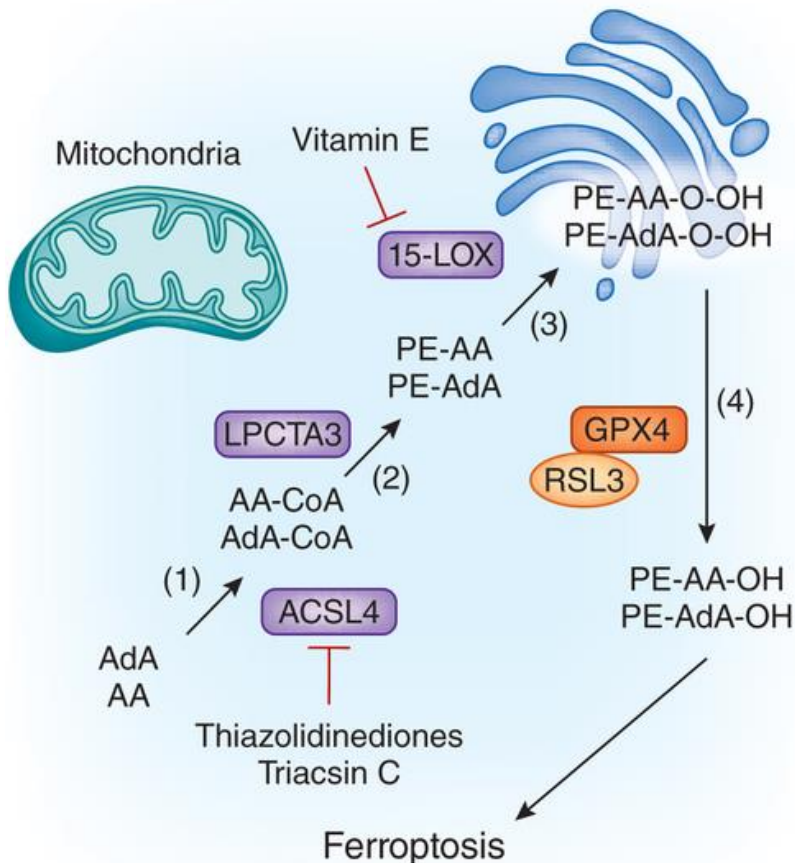
# Egyéb sejthalál típusok

## PIROPTÓZIS



- eredetileg a makrofág sejtek baktérium-infekció által indukált sejthalál formájának leírására használták
- aktív sejthalál formáról van szó, kaszpáz aktivációra van szükség, ugyanakkor a sejtek gyulladást indukáló interleukineket is kibocsátanak
- pórusok formálódnak a sejtmembránban, amit az aktin hálózat átrendeződése, a citoplazma duzzadása és a sejt egyes részeinek ozmotikus lízise követ. A inflammatorikus molekulák a pórusokon keresztül extracelluláris térbe jutnak

## FERROPTÓZIS



- vas ionok által függő programozott sejthalál. Indukciója a vas-függő módon akkumulálódó letális ROS vegyületek által történik
- intenzív ferroptózis a lipidperoxidok felhalmozódásához vezet
- lipofil antioxidánsok és kelátképzők gátolni tudják a ferroptózis indukálta sejthalált
- ferroptózis indukálható a celluláris cisztin felvétel gátlásával, ami az intracelluláris antioxidáns védő mechanizmus blokkolása által történik meg

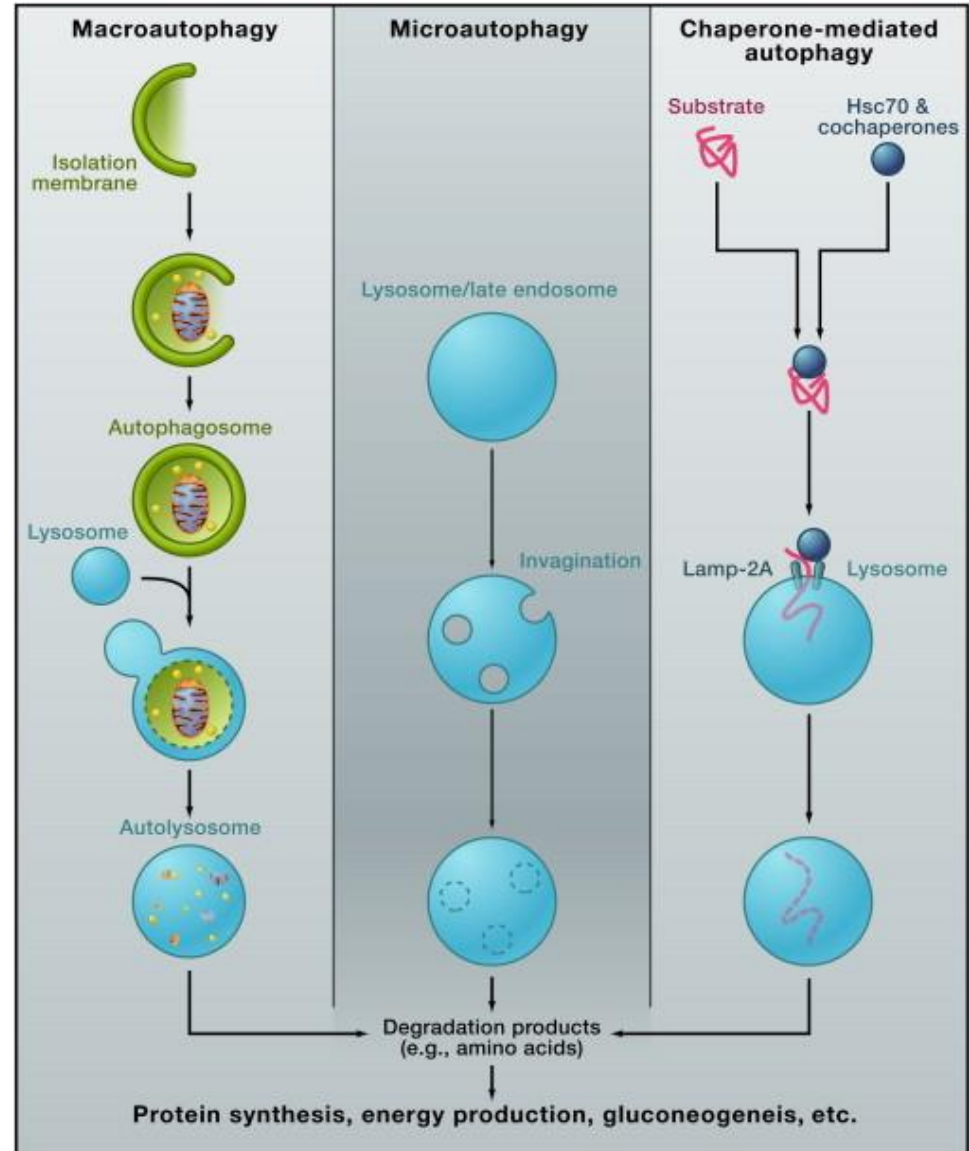
# Autofágia típusai

## 1. dajkafehérje-mediált autofágia

- csak fehérjék lebontására
- a dajkafehérjék felismerik a rosszul feltekeredett fehérjéket  $\Rightarrow$  megkötik azokat
- a keletkező komplex a lizoszóma receptorokhoz kapcsolódik
- a fehérjék letekeredve jutnak a lizoszómákba és ott lebomlanak
- csak megfelelő szignállal rendelkező fehérjék bomlanak le

## 2. mikroautofágia

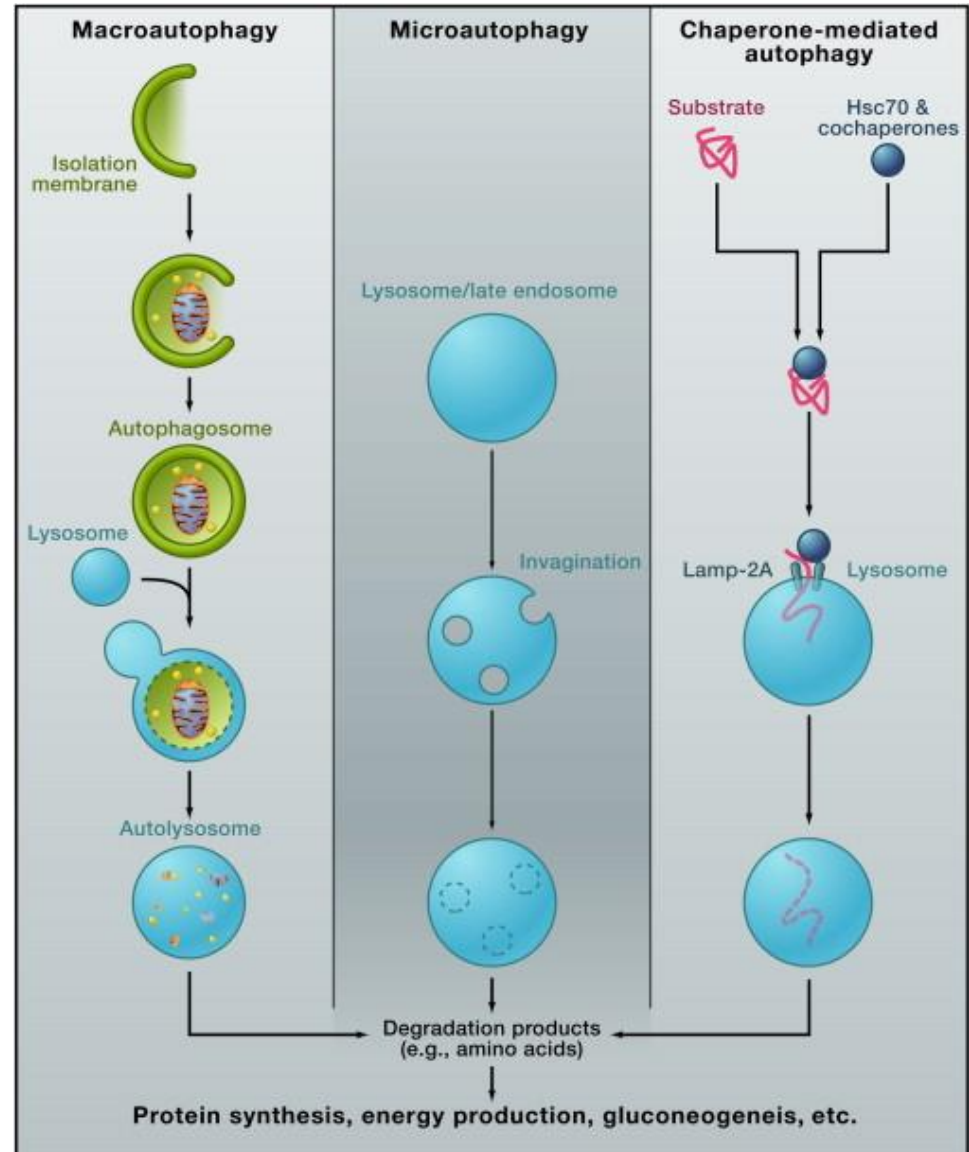
- a citoplazma régiókat vagy sejt szervecskéket a lizoszóma membrán körülveszi
- közvetlen bejutás és lebomlás a lizoszómában



# Autofágia típusai

## 3. makroautofágia

- sejtek mérete csökken
- izolációs membrán majd autofagoszóma kialakulása  
⇒ a citoplazmában létrejövő kettős membránnal határolt jellegzetes struktúrák, amelyek citoplazmát és gyakran sejtorganelleumokat tartalmaznak
- lizoszómával fuzionálva ún. autolizoszóma alakul ki  
⇒ savas hidrolázok irányította lebontás történik
- a degradálódott makromolekulák a permeázok segítségével kijutnak a citoplazmából és újra felhasználásra kerülnek



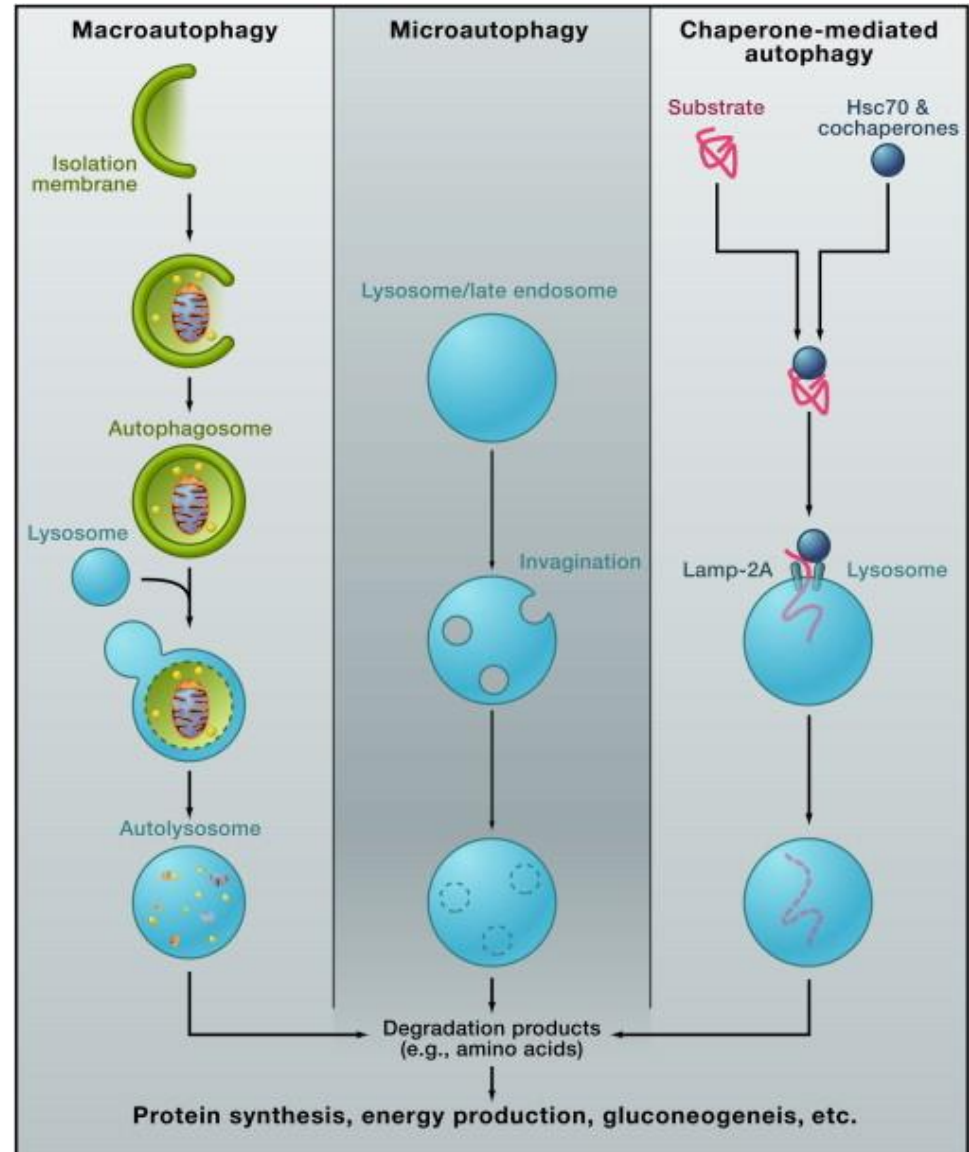
# Autofágia típusai

## makroautofágia funkciói:

- éhezés során fellépő energia- és aminosav hiány pótlása a degradálódott makromolekulák építőköveinek felhasználásával
- károsodott fehérjék, sejtszervecskék eltávolítása
- véd a fertőzésekkel szemben a patogének eltávolítása által
- sejtek stresszválaszaként működik (növekedési faktor vagy oxigén hiánya is autofágiát indukál)



elsődleges szerepe a sejtek túlélésének biztosításában rejlik



# Makroautofógia típusai

## lipofógia

a tárolt trigliceridek és koleszterin lebontása  
energia metabolizmus  $\Rightarrow$  éhezés során fontos

## mitofógia

szelektív lebontása a sérült mitokondriumoknak  
hibás működése ROS szintézishez vezet  
 $\Rightarrow$  sejthalál indukció

## ribofógia

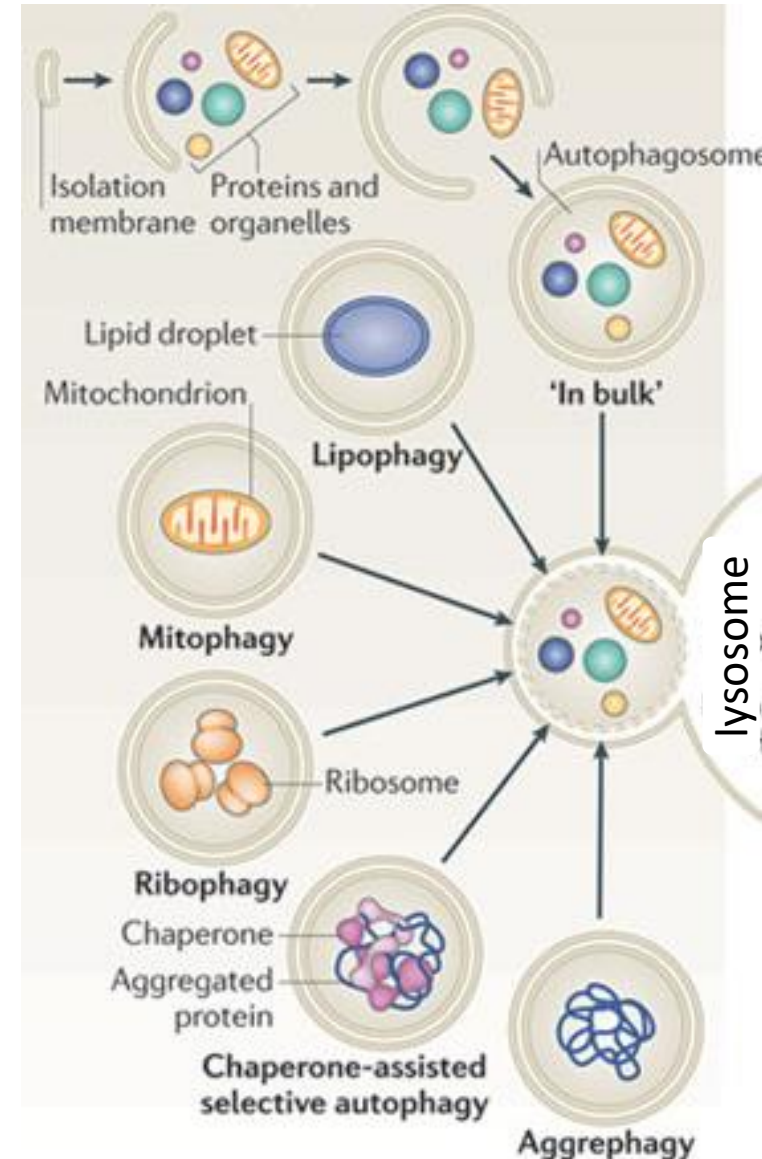
szelektív riboszóma lebontása éhezés során  
a riboszóma RNS-t és AS-t is tartalmaz  
 $\Rightarrow$  fontos biomolekula forrás

## aggrefógia

káros fehérjeaggregátumok eltávolítását végzi  
celluláris védőmechanizmus

## xenofógia

véd az intracelluláris patogénekkel szemben  
 $\Rightarrow$  baktériumok, vírusok, paraziták lebontása

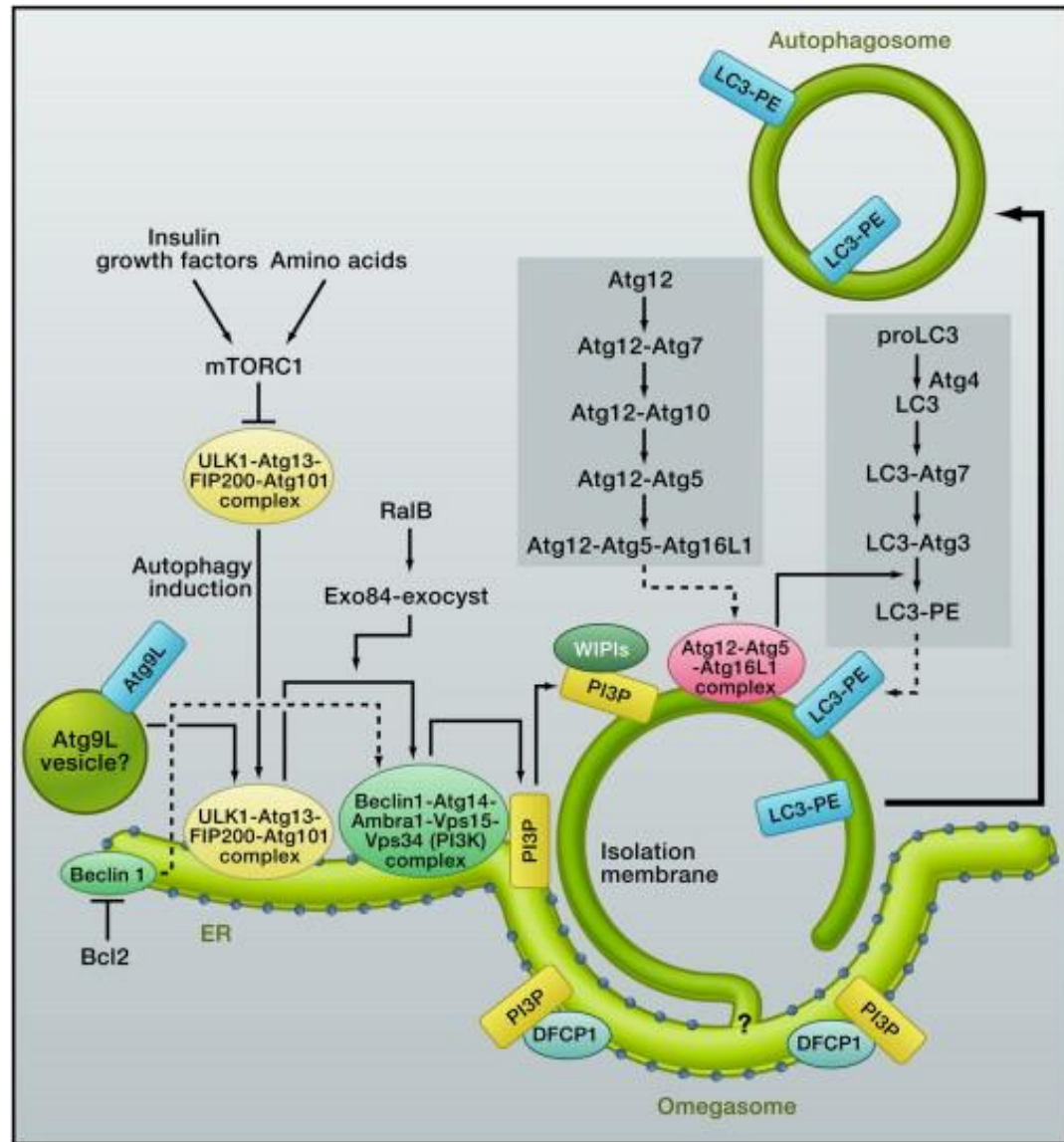


# Autofógia molekuláris mechanizmusa

- közel 30 autofógiával kapcsolatos gén = „ATG genes – **autophagy** related gene”
- konzervált fehérjék
- mTOR útvonal: tápanyagban gazdag környezetben legátolja a folyamatot
- az autofagoszóma képződéséhez szükséges fehérjék nagy része az endoplazmás retikulum membránjánál lokalizálódik
- foszfatidilinozitol-3-kináz (PI3K) komplex nélkülözhetetlen az autofógiához

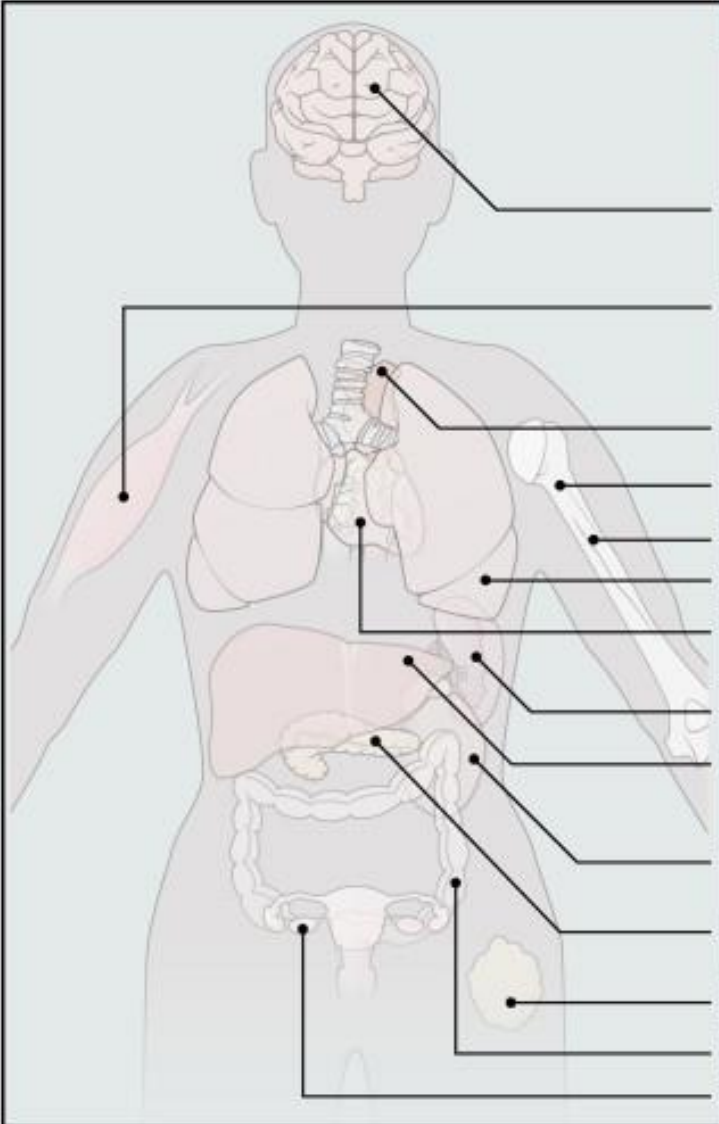


detektálás: citoplazmában található LC3I hasítás során egy autofagoszóma membránlipidjéhez kötött LC3II formává alakul





# Autofagia



Organ	Roles of Autophagy	Diseases
General function	Starvation-induced amino acid production; constitutive turnover of cytoplasmic contents; selective degradation of p62, damaged mitochondria, microbes, etc.; life-span extension/antiaging	Tumor suppression and progression
Brain	Prevention of aggregate formation; Parkin-dependent mitophagy; regulation of food intake and energy balance	Parkinson disease Alzheimer disease
Muscle	Maintenance of muscle mass	Myopathies : (Danon disease, XMEA, Bethlem myopathies, UCMD) Lysosomal storage diseases
Thymus	Negative selection	
Bone marrow / Hematopoiesis	Erythropoiesis; maintenance of hematopoietic stem cell	
Bone		Paget disease?
Lung	Regulation of airway responsiveness	Cystic fibrosis
Heart	Adaptation to hemodynamic stress; prevention of age-dependent dysfunction	Cardiac hypertrophy
Immune/ lymphoid system	Regulation of cytokine production; development of T cells and B cells	Infection
Liver	Prevention of hepatocellular degeneration; suppression of hepatic tumors; lipid droplet elimination; gluconeogenesis	$\alpha_1$ -antitrypsin deficiency Hepatocellular carcinoma?
Kidney	Maintenance of podocyte and tubular cell integrity	
Pancreas	$\beta$ -cell adaptation to high-fat diet; prevention of trypsin autoactivation	Diabetes Acute pancreatitis
Adipose tissue	Adipogenesis	Obesity
Intestine	Maintenance of Paneth cell function	Crohn disease
Embryos	Preimplantation development	

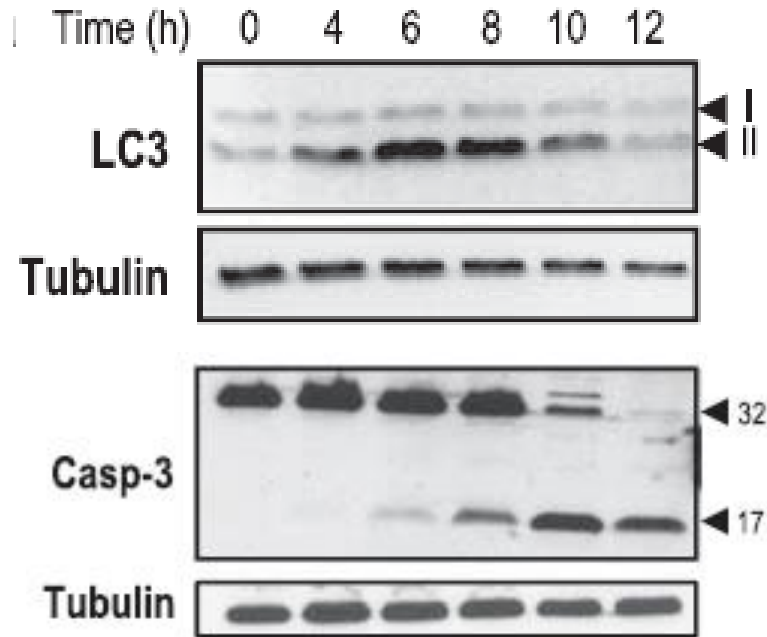
# Autofágia és apoptózis kapcsolata

## Stressz célpont:

Növekedési faktor

## Stresszor:

Interleukin-3-elvétel (túlélési szignál) 24 h-ra

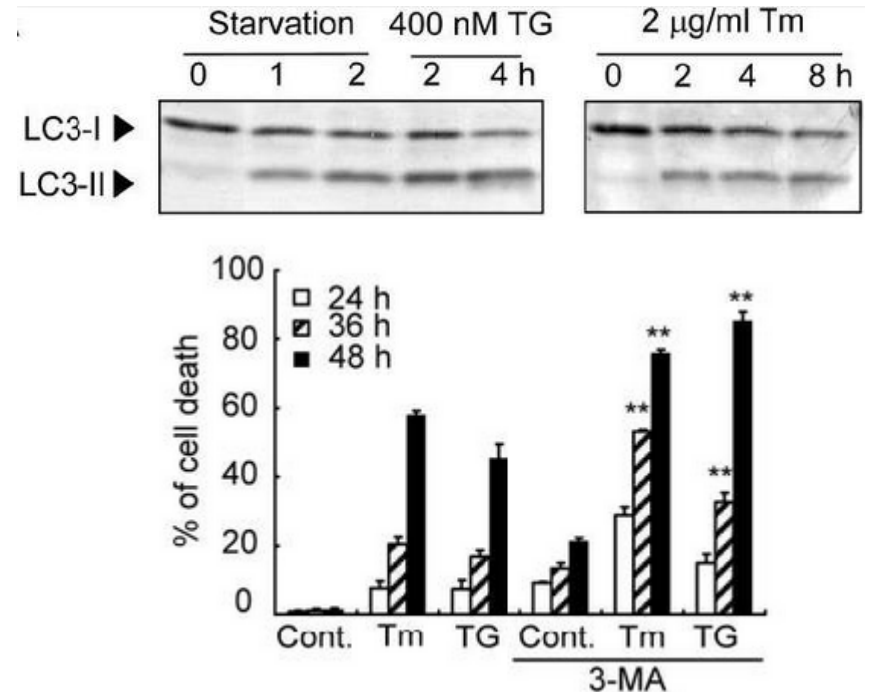


## Stressz célpont:

Endoplazmás retikulum

## Stresszor:

Thapsigargin 36 h-ra  
Tunicamycin 36 h-ra



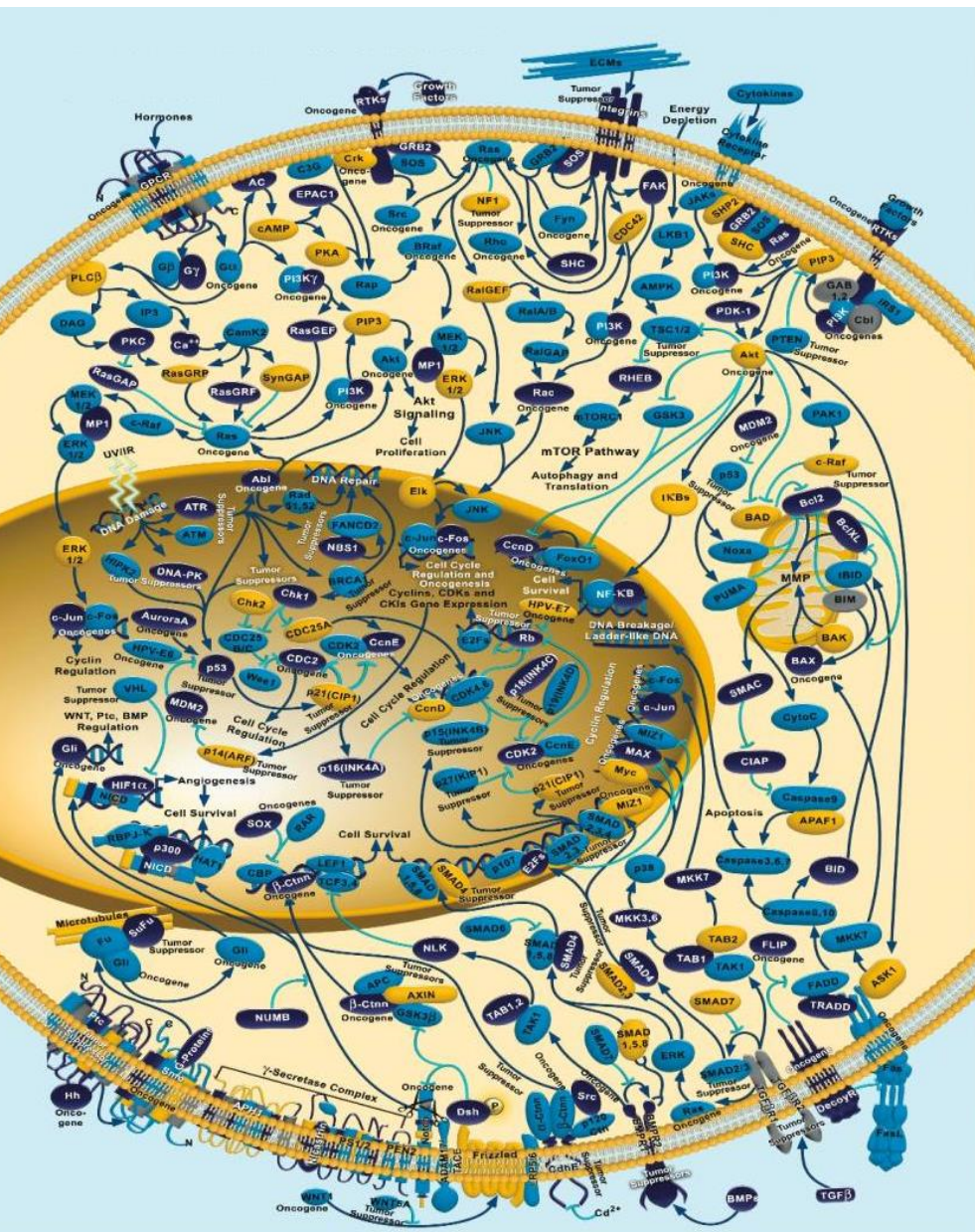
Cell Death Dis. 2010;1:e18.

Wirawan E, Vande Walle L, Kersse K, Cornelis S, Claerhout S, et al.

Mol Cell Biol. 2006 (24):9220-31.

Ogata M, Hino S, Saito A, Morikawa K, Kondo S, Kanemoto S, Murakami T, Taniguchi M, Tanii I, Yoshinaga K, Shiosaka S, Hammarback JA, Urano F, Imaizumi K.

# A sejt működését irányító fehérjehálózat dinamikai viselkedése



molekuláris  
biológiai kísérletek

matematikai  
modellezés

rendszerbiológia

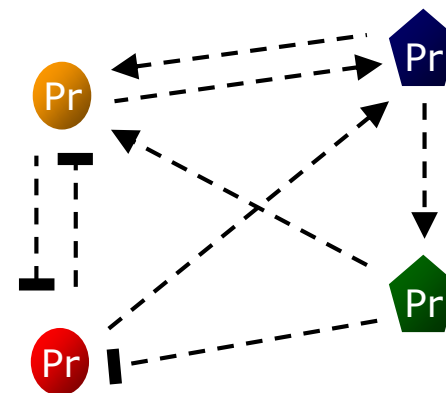
a hálózat viselkedését  
meghatározó dinamikai  
kapcsolatok feltárása

# Matematikai modellezés alapjai

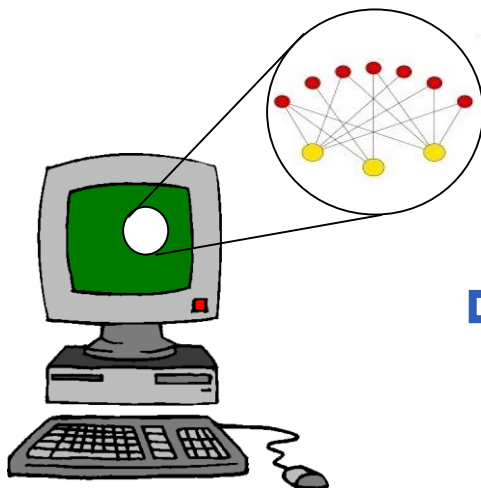
Pr - protein



publikált és/vagy új eredmények



rendszerbiológia



online adatbázisok

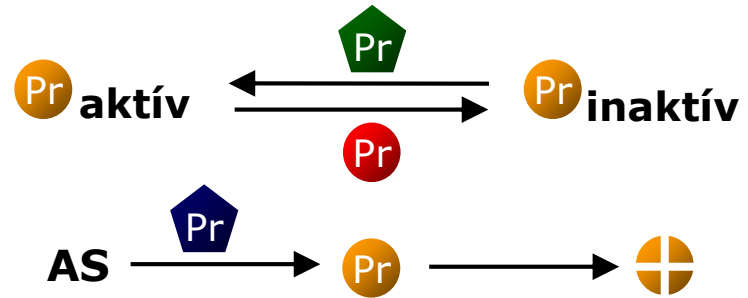
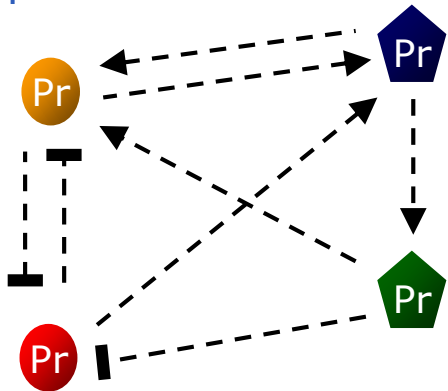


bioinformatikai  
analízis hálózati  
kapcsolatok  
jóslására



# Szabályozási rendszer jellemzése

Pr - protein



reakciókinetikai  
egyenletek felírása

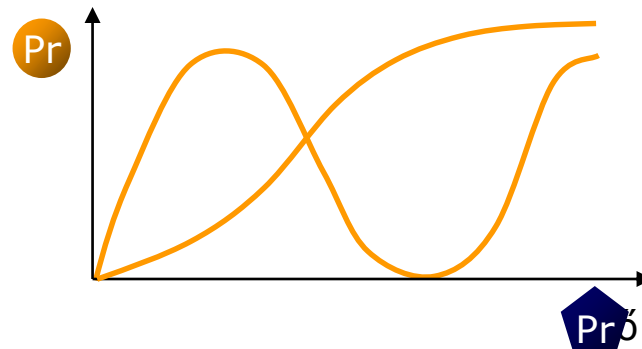
$$\frac{d \text{Pr}}{dt} = \text{pozitív} - \text{negatív}$$

szintézis / aktiváció
degradáció / inaktiváció

$$\frac{d \text{Pr aktív}}{dt} = k_{\text{syn}} * \text{Pr} + k_{\text{act}} * \text{Pr} * \text{Pr inaktív} - k_{\text{inact}} * \text{Pr} * \text{Pr aktív} - k_{\text{deg}} * \text{Pr aktív}$$

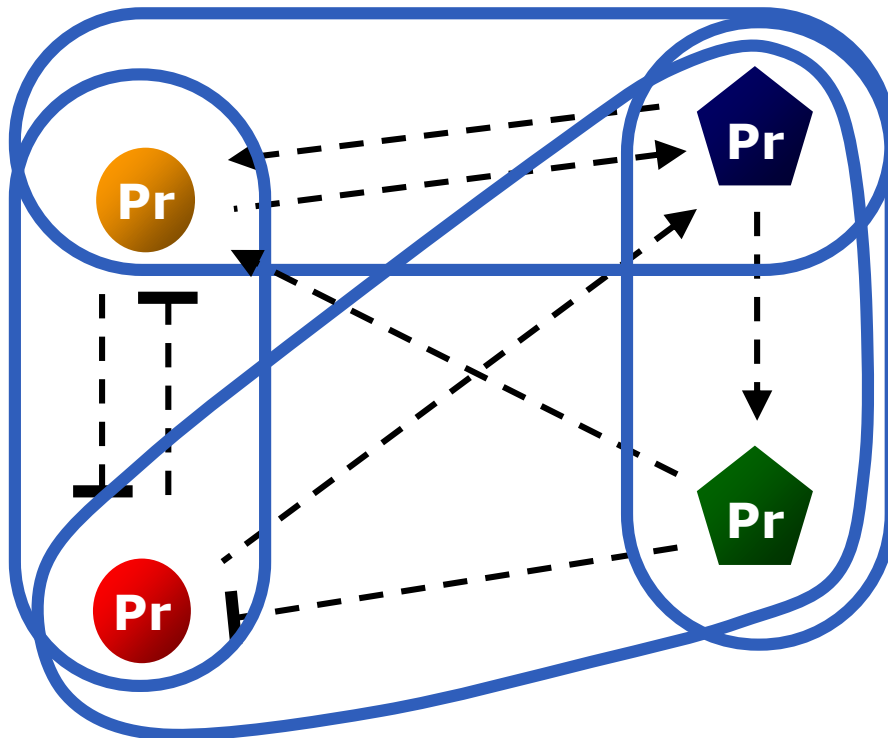


a fehérjehálózat  
minőségi vizsgálata



# Szabályozási motívumok

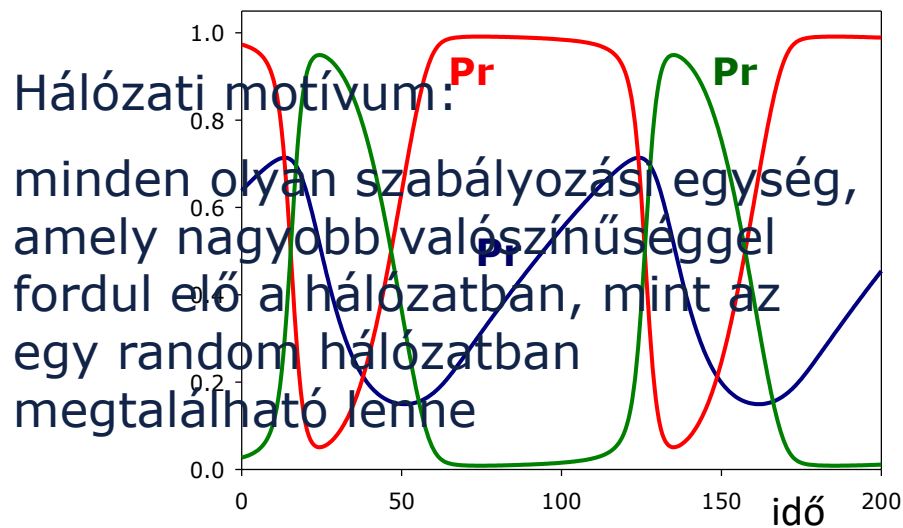
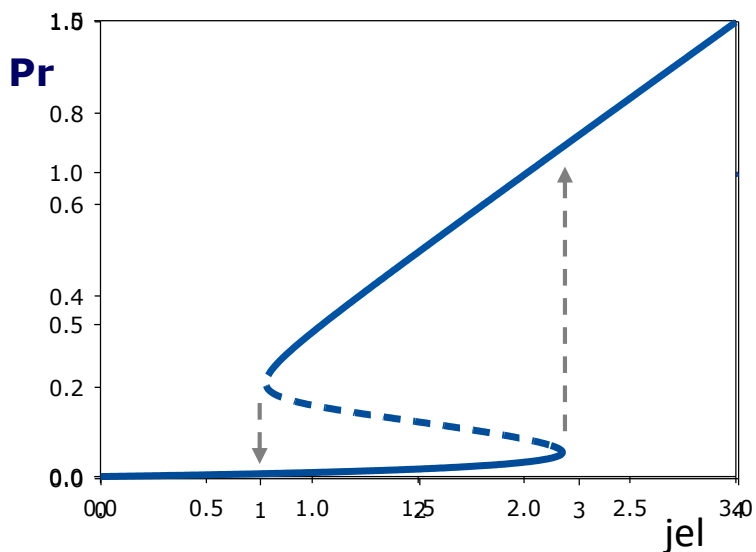
Pr - protein



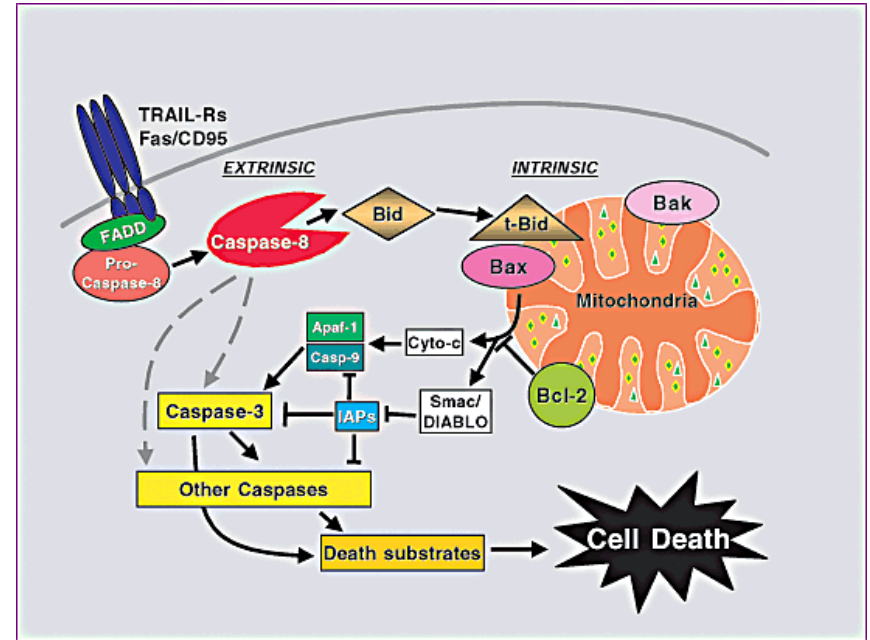
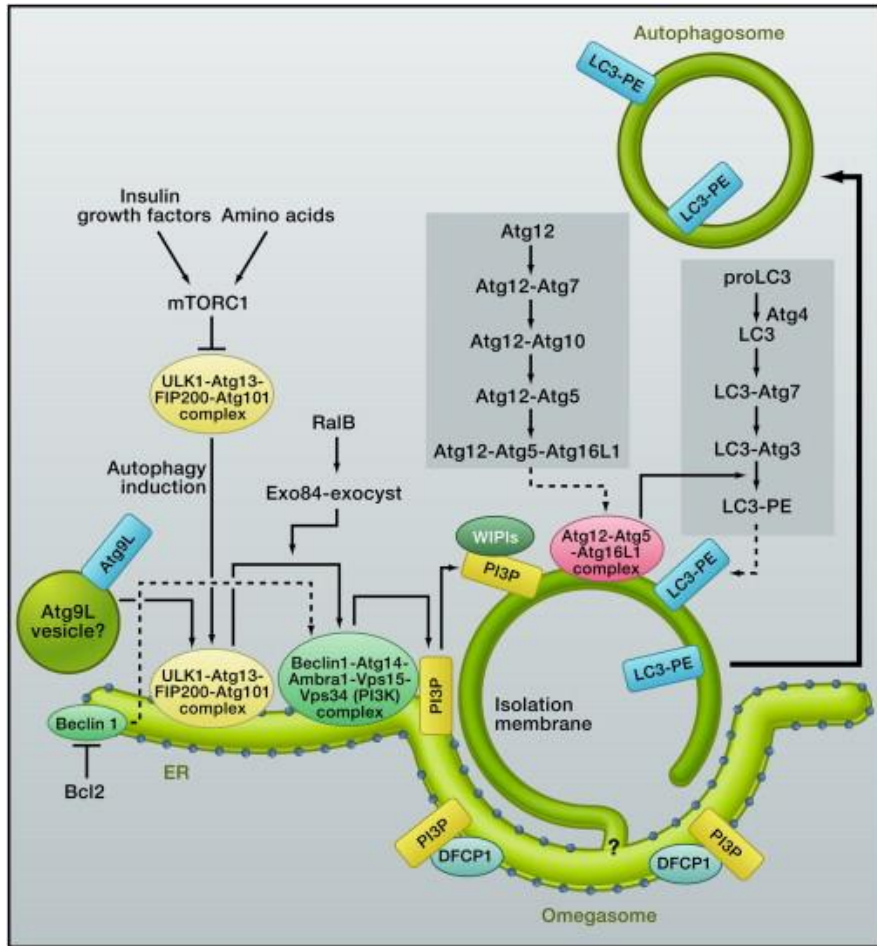
pozitív visszacsatolás

dupla negatív visszacsatolás

negatív visszacsatolás



# Autofágia és apoptózis kapcsolata



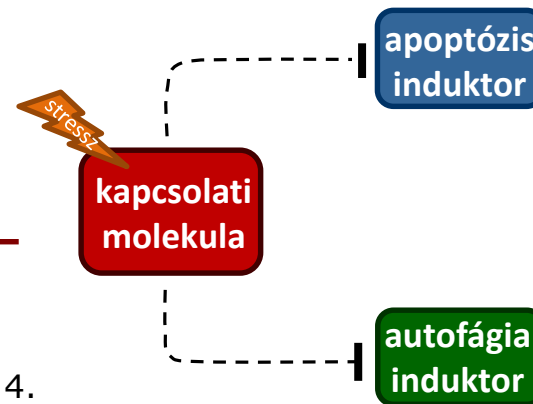
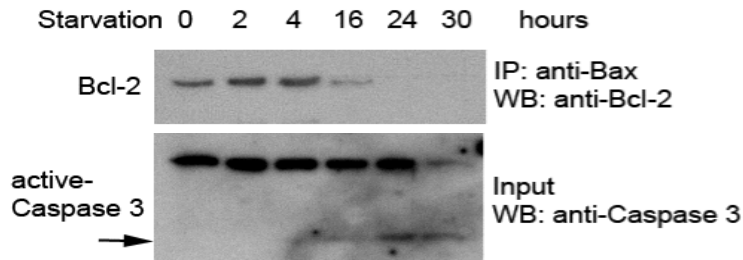
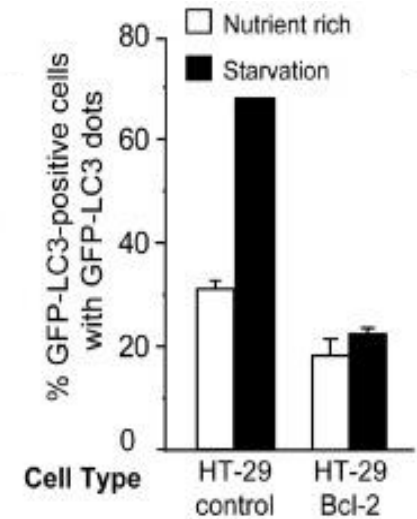
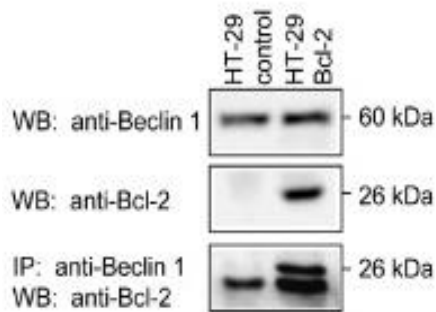
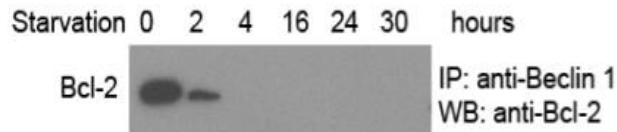
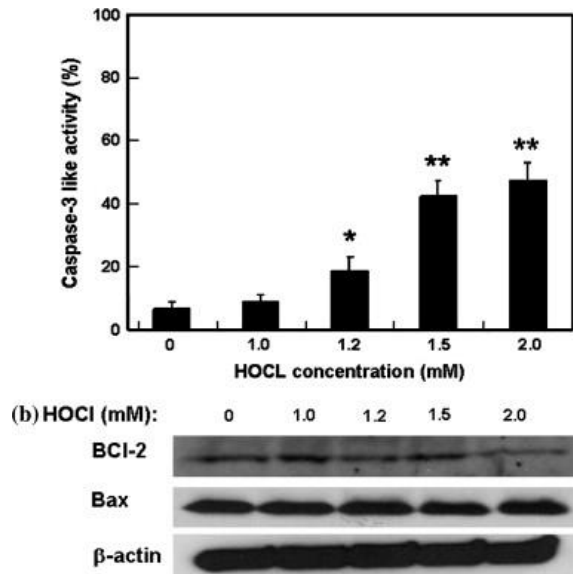
apoptózis induktor → APOPTÓZIS

autofágia induktor → AUTOFÁGIA

*Cell.* 2011;147(4):728-741  
Mizushima N, Komatsu M.

*Nature Medicine* 8, 216 - 218 (2002)  
Wilfried Roth & John C. Reed

# Keresztkapcsolat az autofágia és apoptózis között



Autophagy. 2008 Oct;4(7):949-51. Epub 2008 Oct 14.  
Wei Y, Sinha S, Levine B.

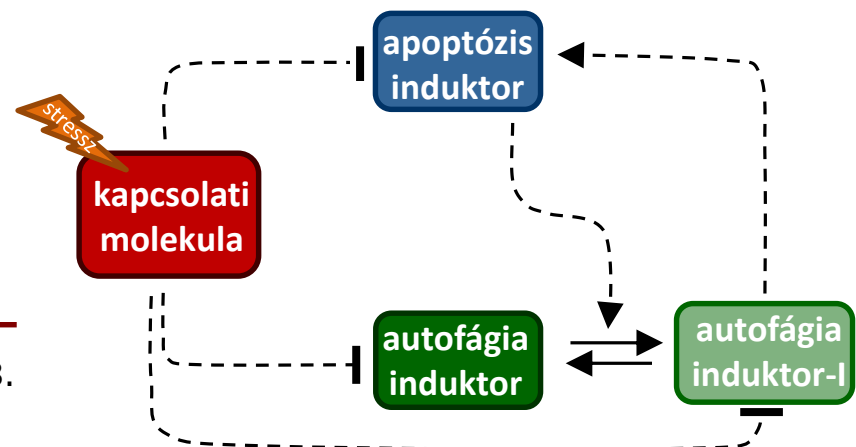
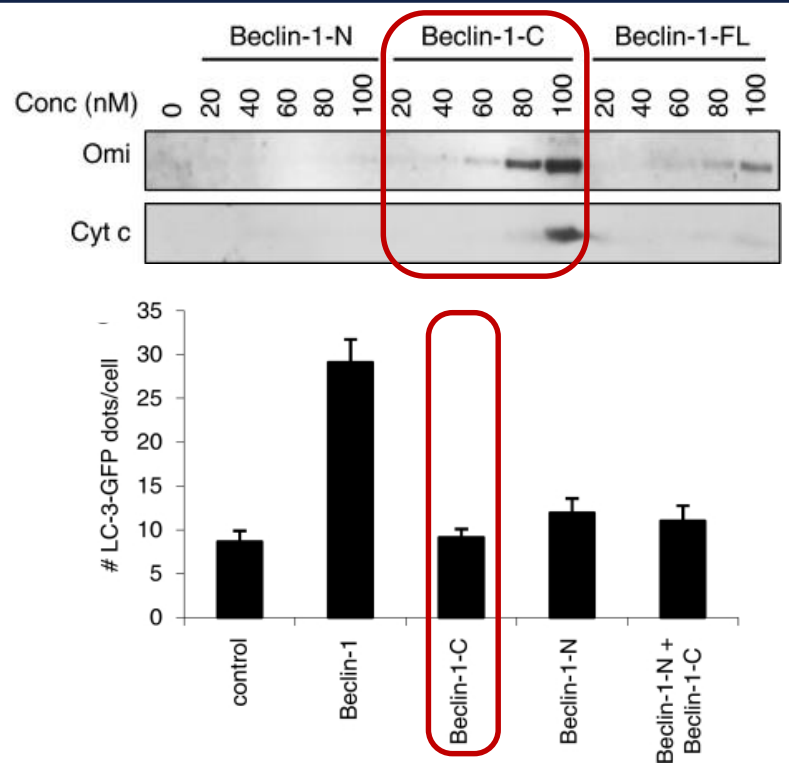
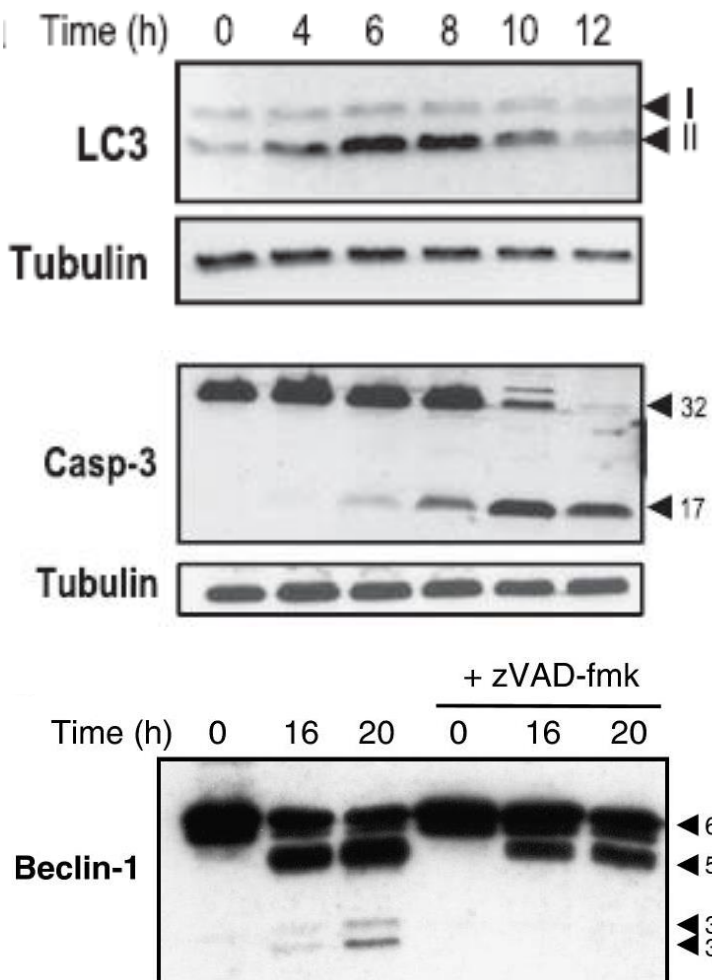
J Autoimmun. 2007 Sep-Nov;29(2-3):78-86. Epub 2007 Jun 4.  
Salunga TL, Cui ZG, Shimoda S, Zheng HC, Nomoto K, et al.

Cell. 2005 Sep 23;122(6):927-39.

Pattingre S, Tassa A, Qu X, Garuti R, Liang XH, Mizushima N, Packer M, Schneider MD, Levine B.



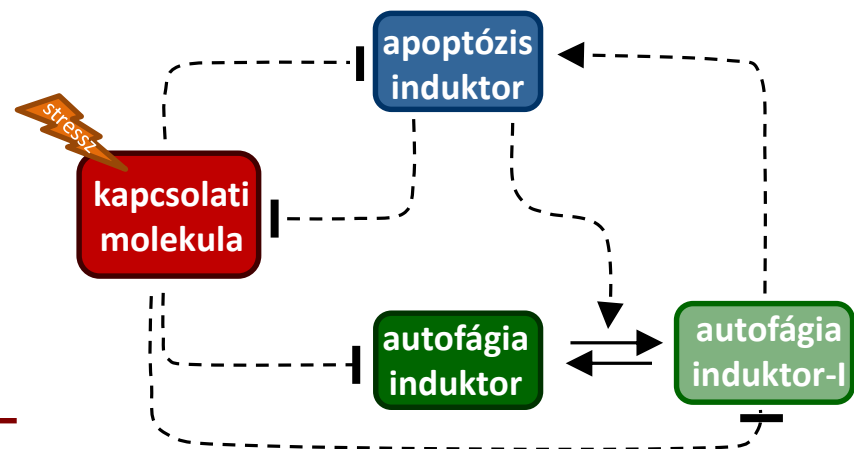
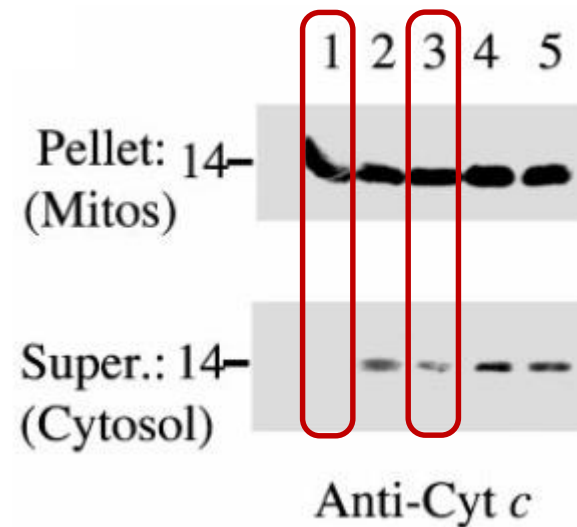
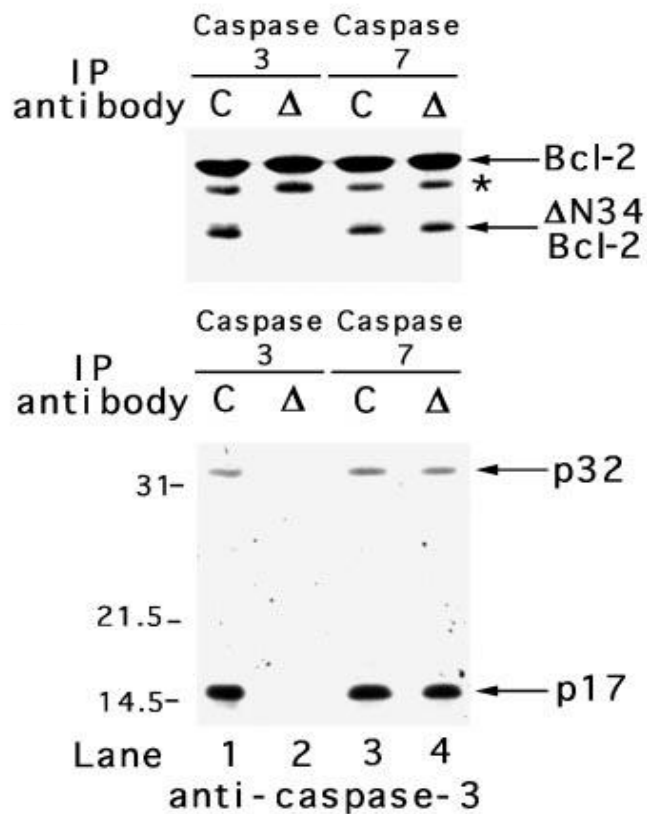
# Az apoptózis és az autofágia induktorok kapcsolata



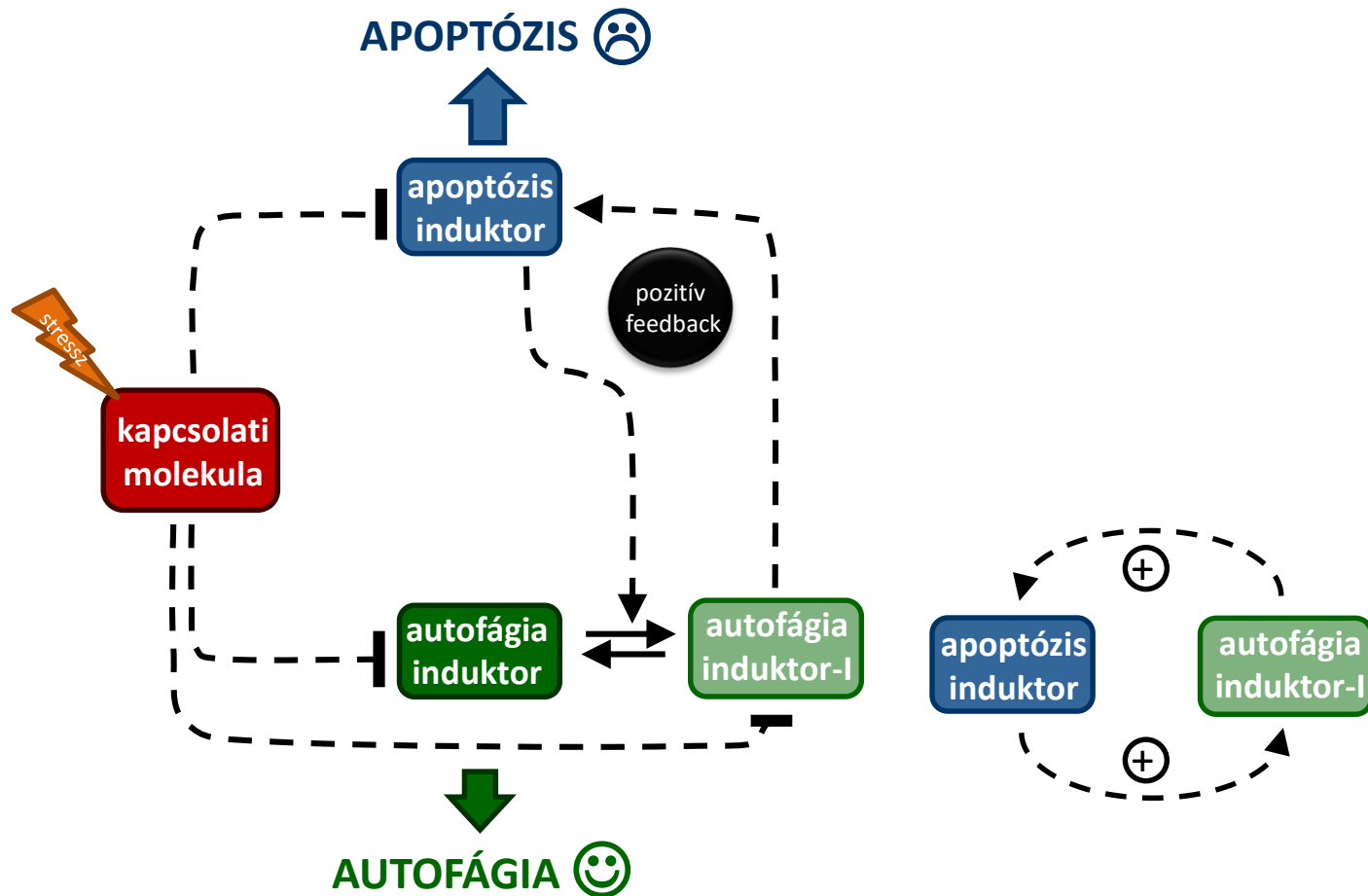
Cell Death Differ. 2010 Feb;17(2):268-77. Epub 2009 Aug 28.  
Luo S, Rubinsztein DC.

Cell Death Dis. 2010;1:e18.  
Wirawan E, Vande Walle L, Kersse K, Cornelis S, Claerhout S, et al.

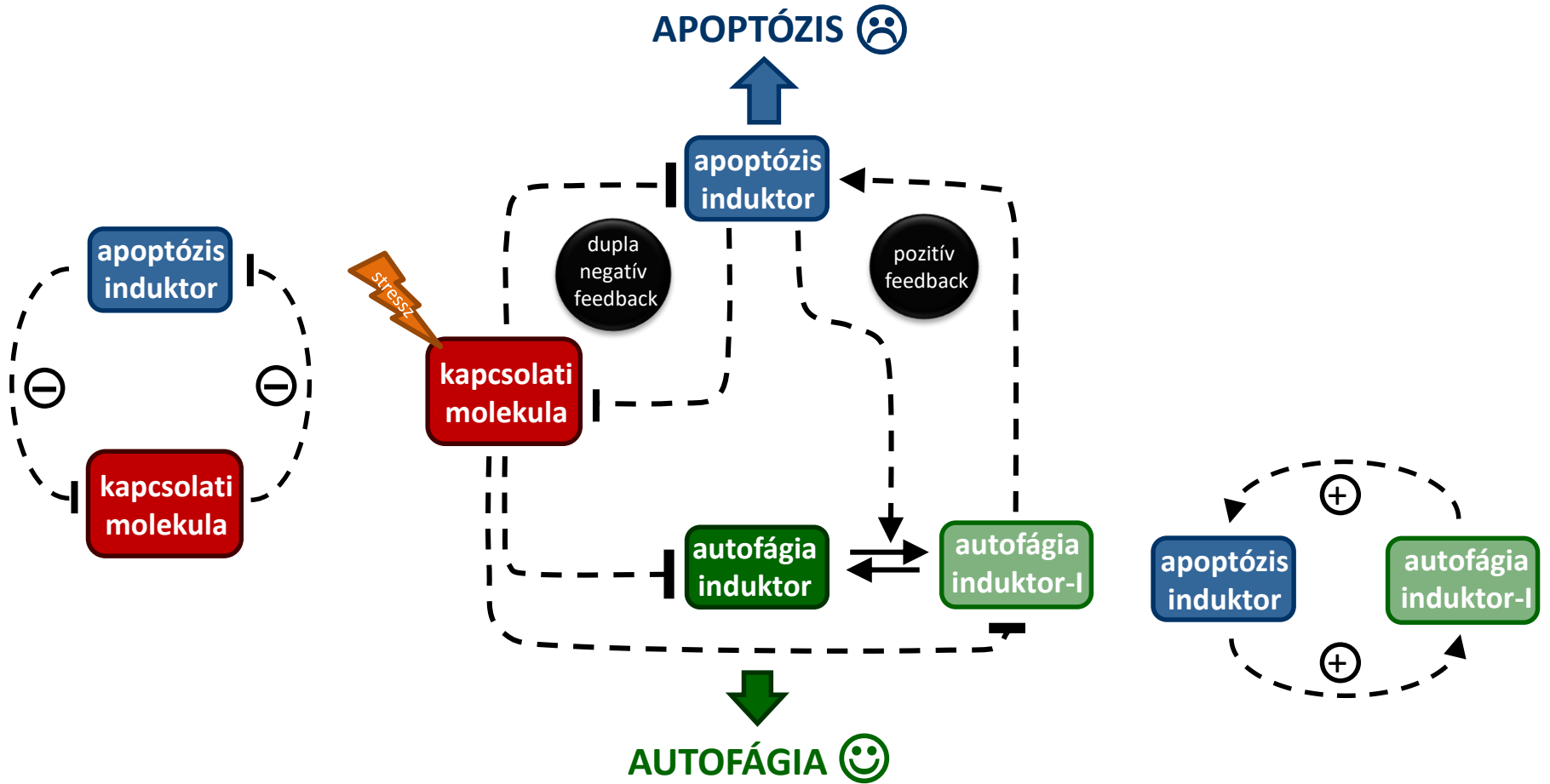
# A kapcsolati molekula és az apoptózis induktor kapcsolata



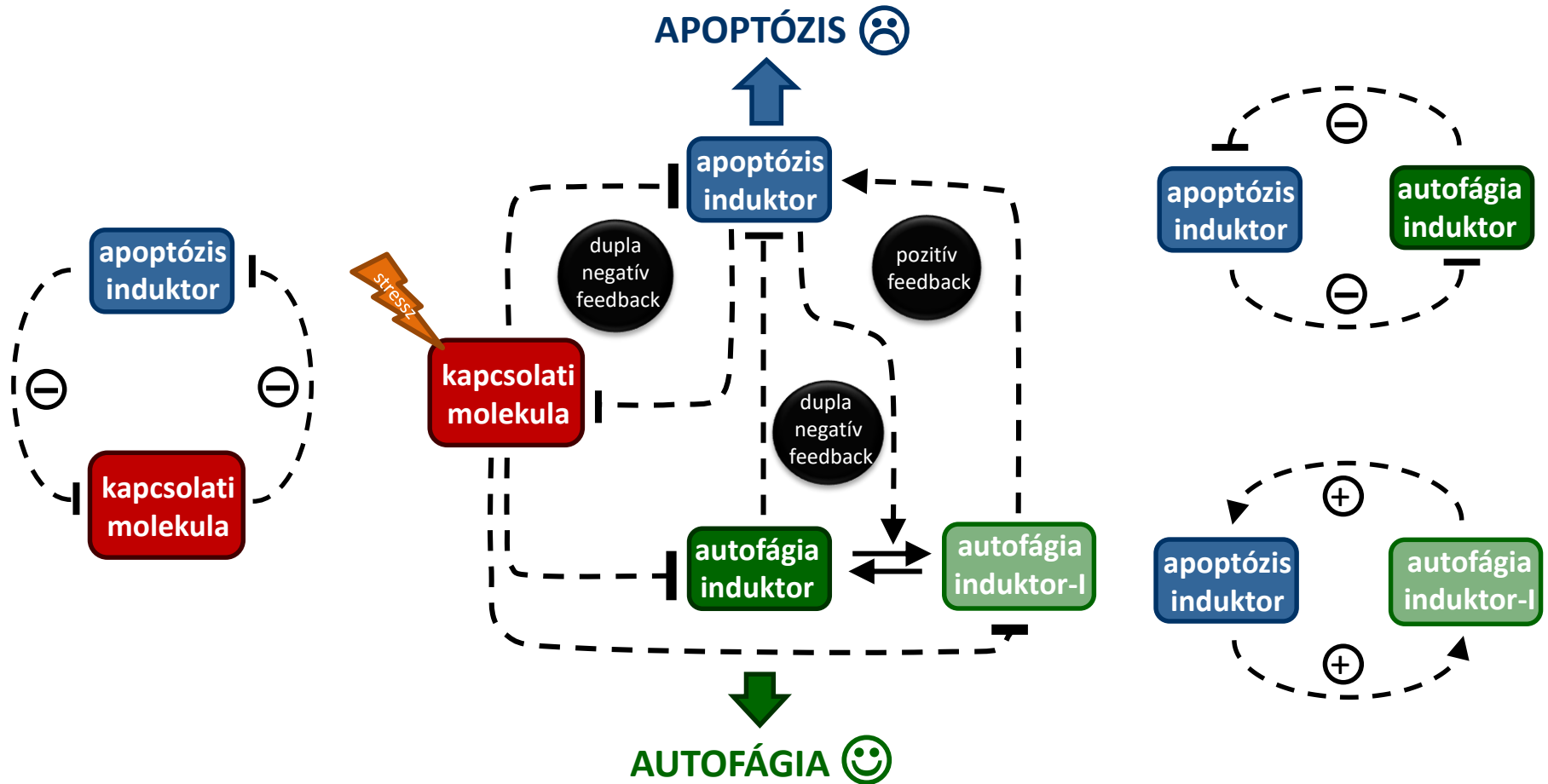
# A működést meghatározó hálózati diagram



# A működést meghatározó hálózati diagram



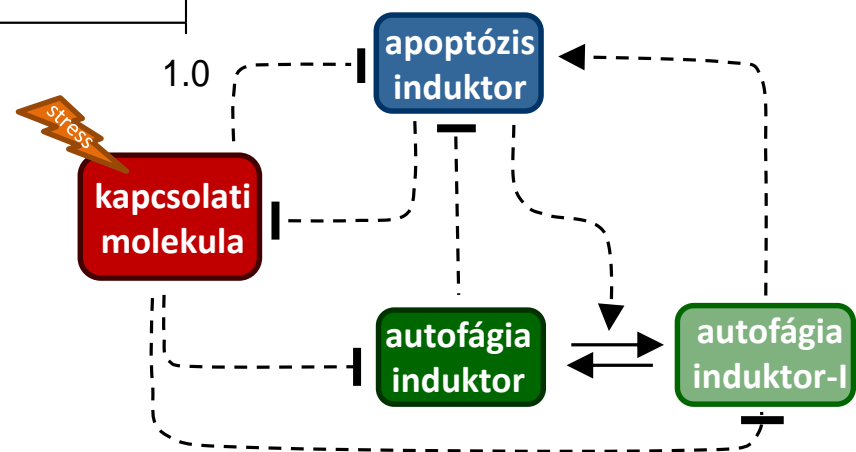
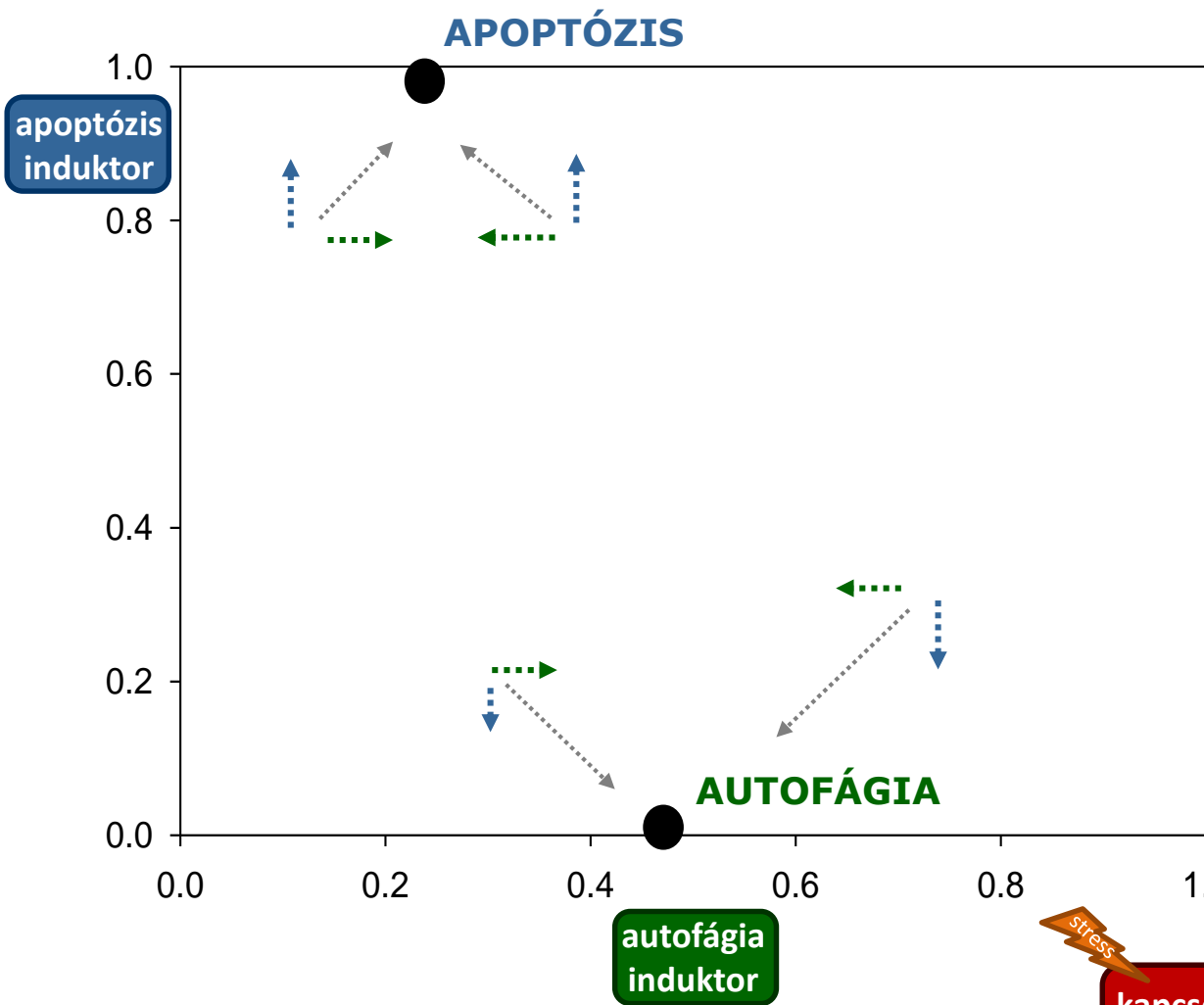
# A működést meghatározó hálózati diagram



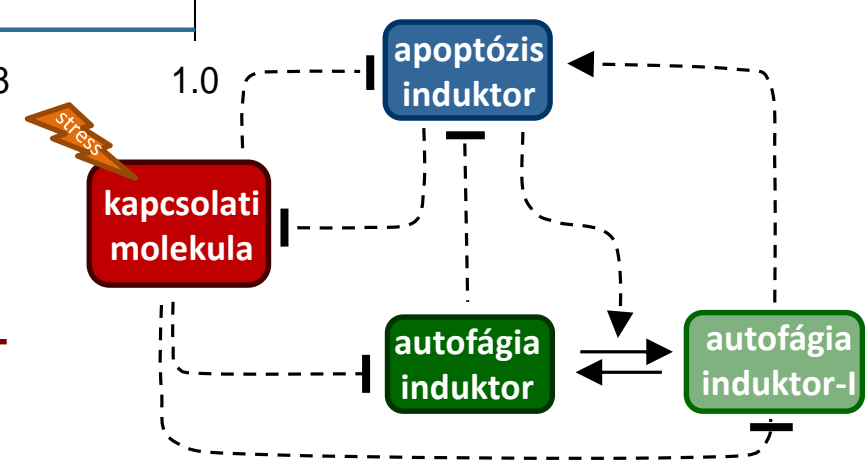
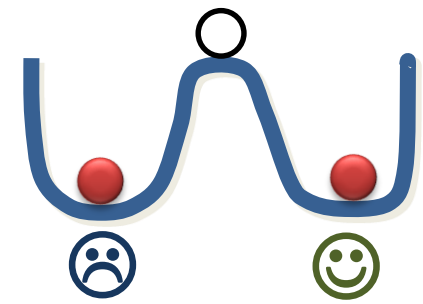
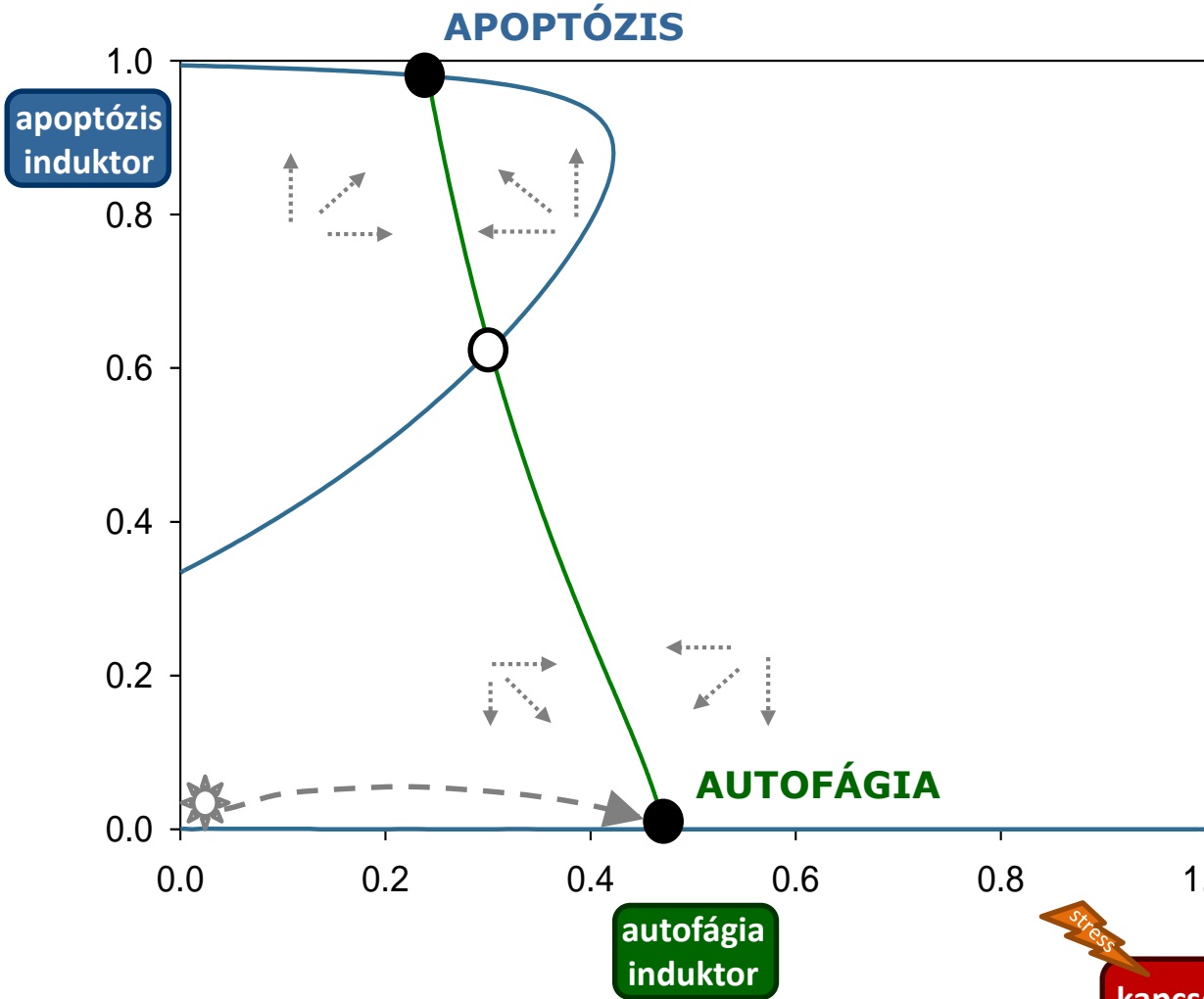
Hogyan képes ugyanaz a kapcsolati molekula két ellentétes folyamatot szabályozni ?

Mi a szerepük a különböző visszacsatolási hurkoknak ?

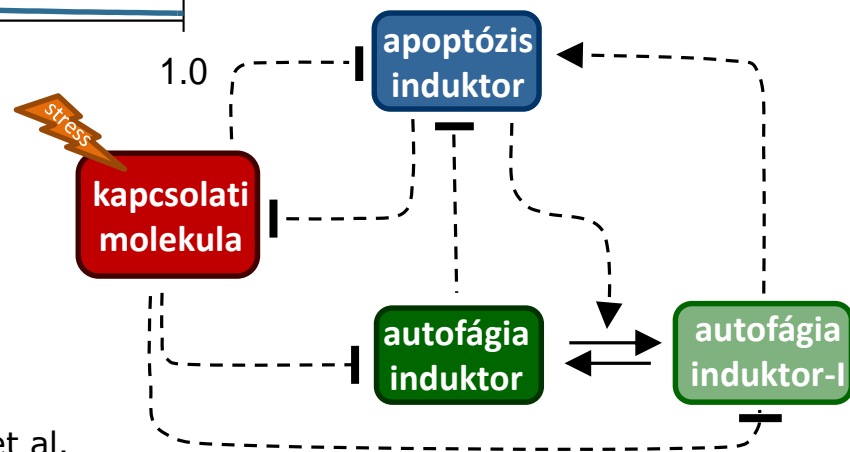
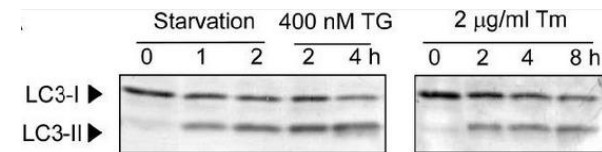
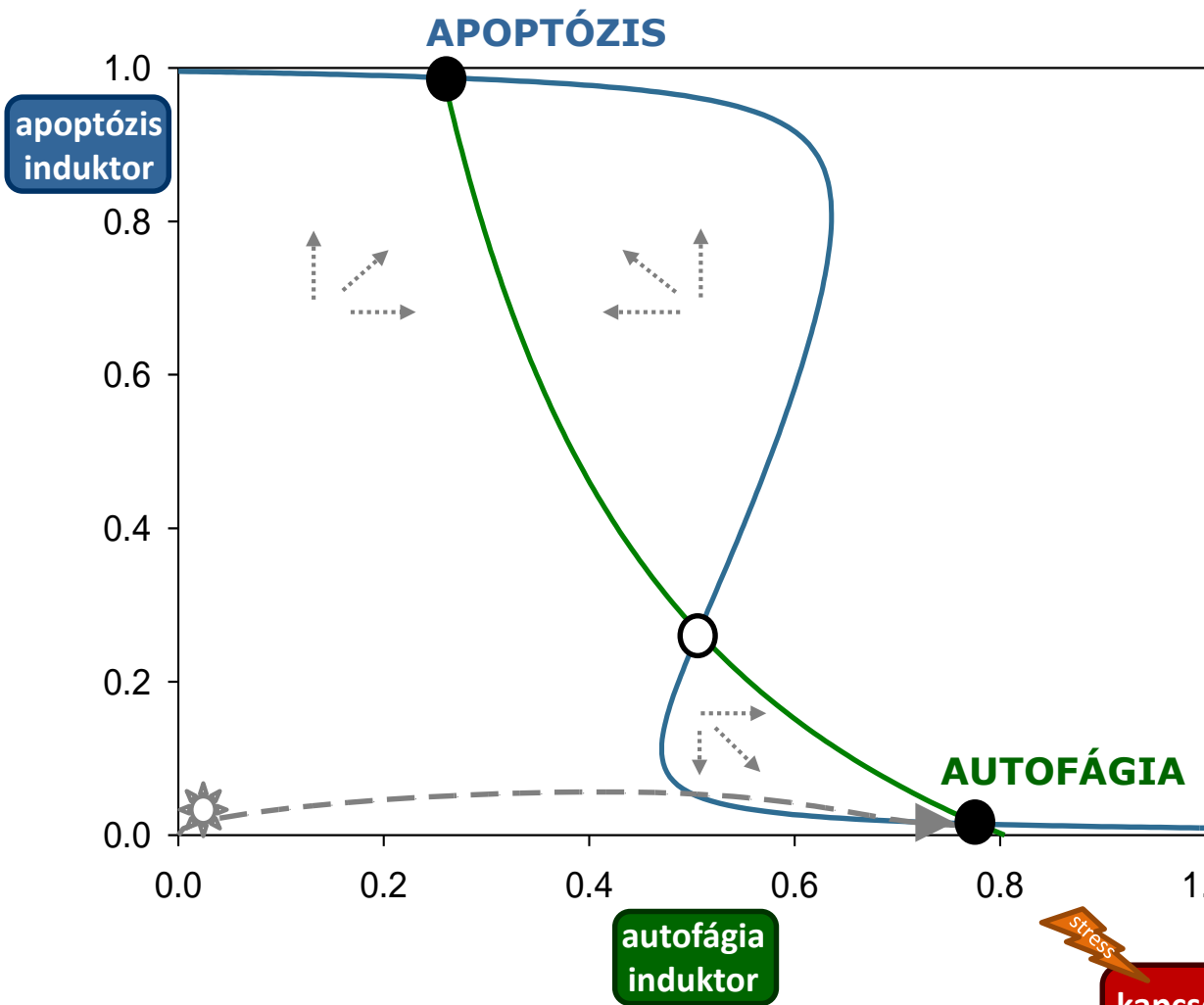
# Alternatív egyensúlyi állapotok



# Alternatív egyensúlyi állapotok – fiziológias körülmények



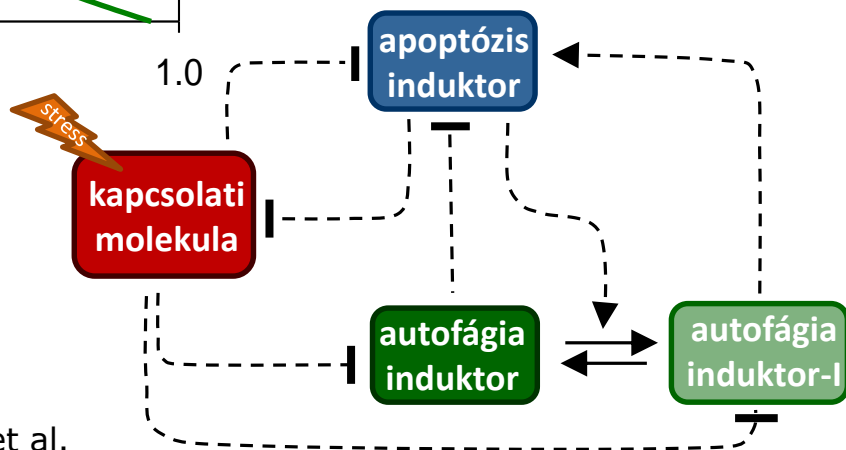
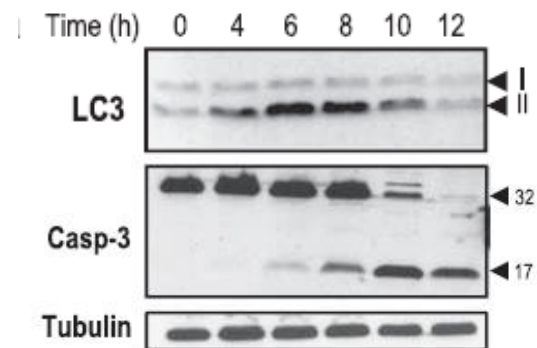
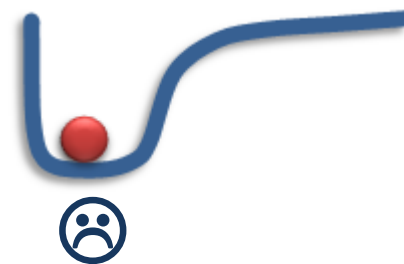
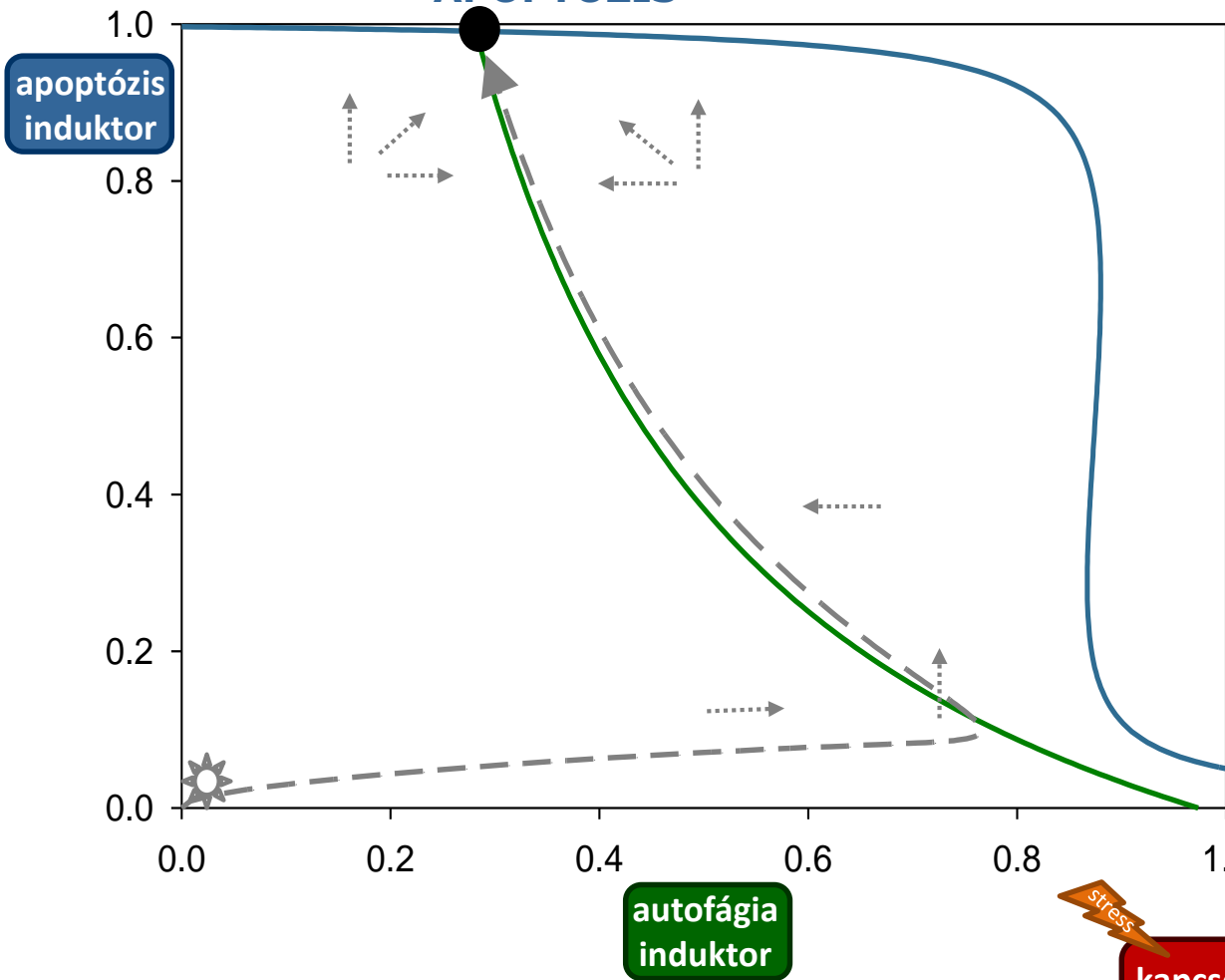
# Alternatív egyensúlyi állapotok – alacsony stressz szint



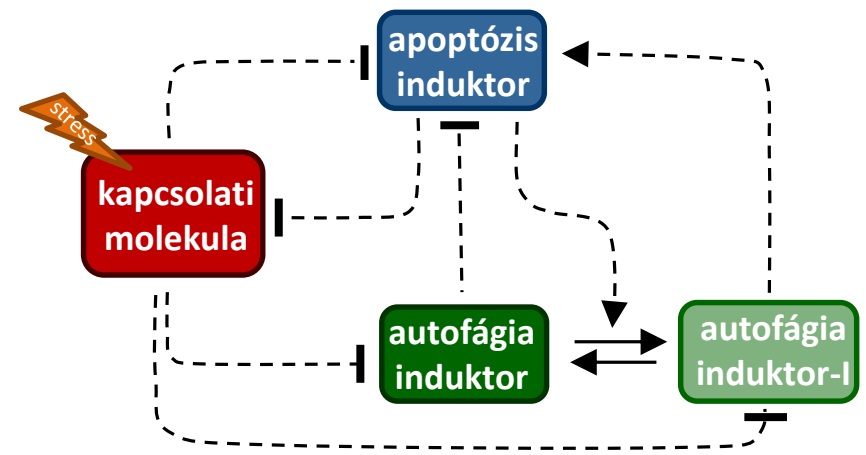
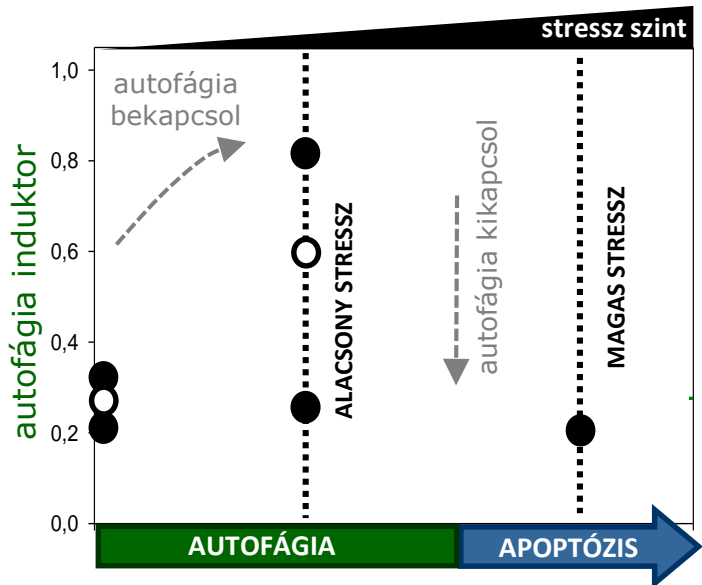
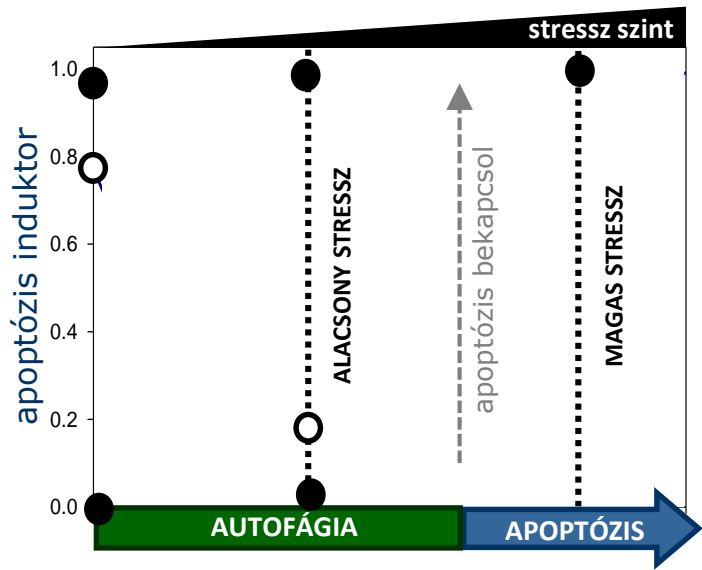


# Alternatív egyensúlyi állapotok – magas stressz szint

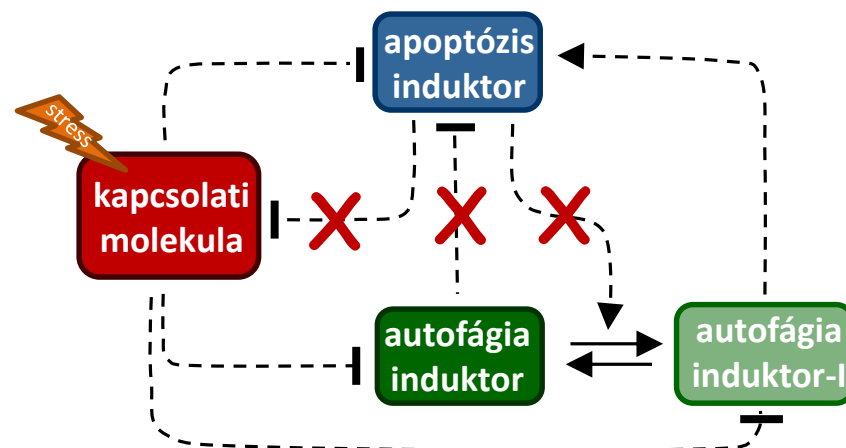
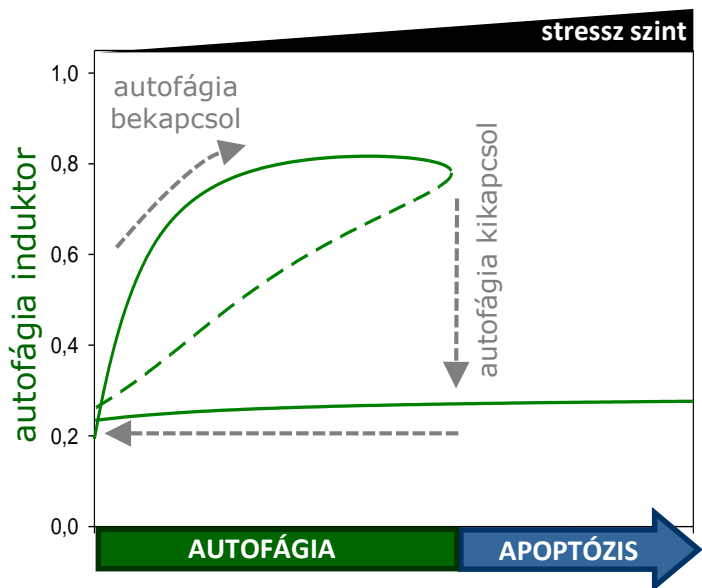
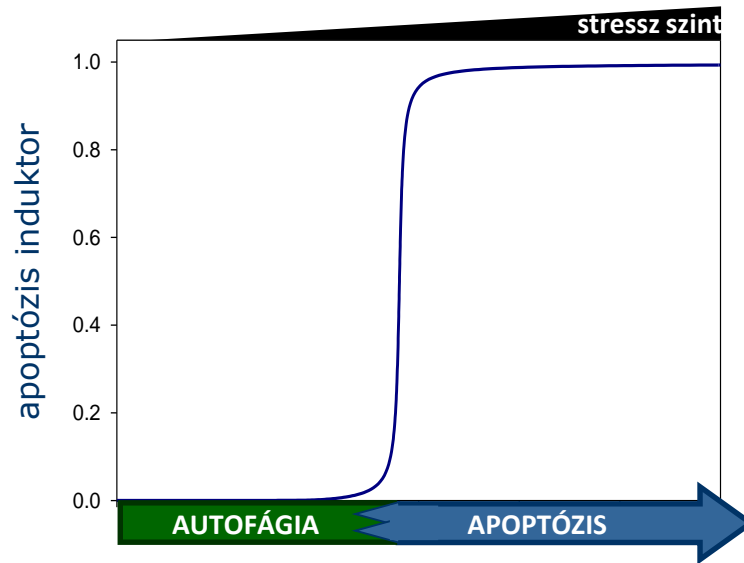
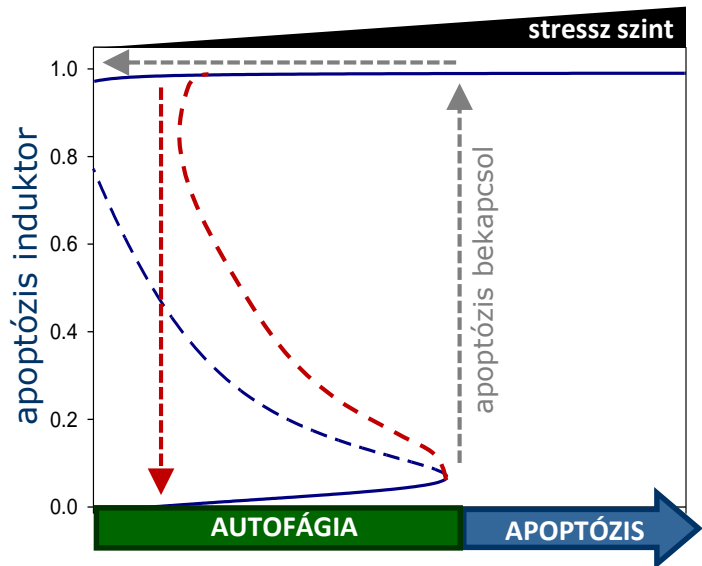
## APOPTÓZIS



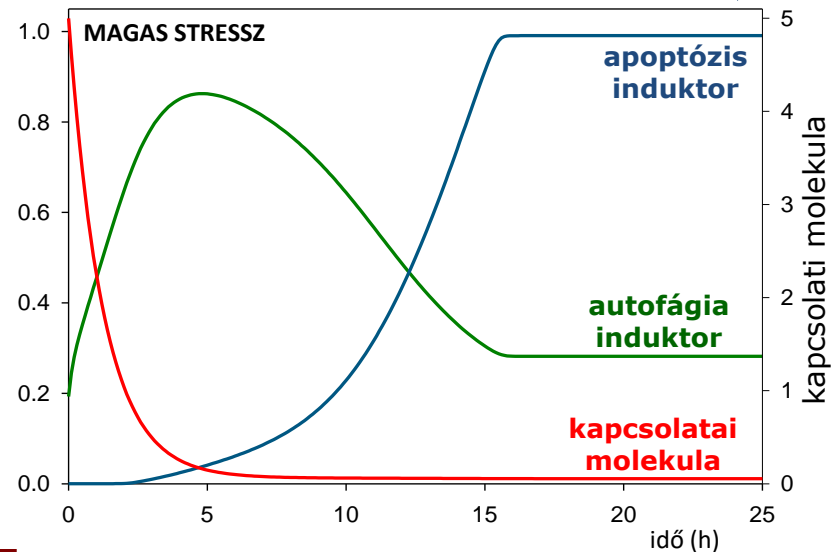
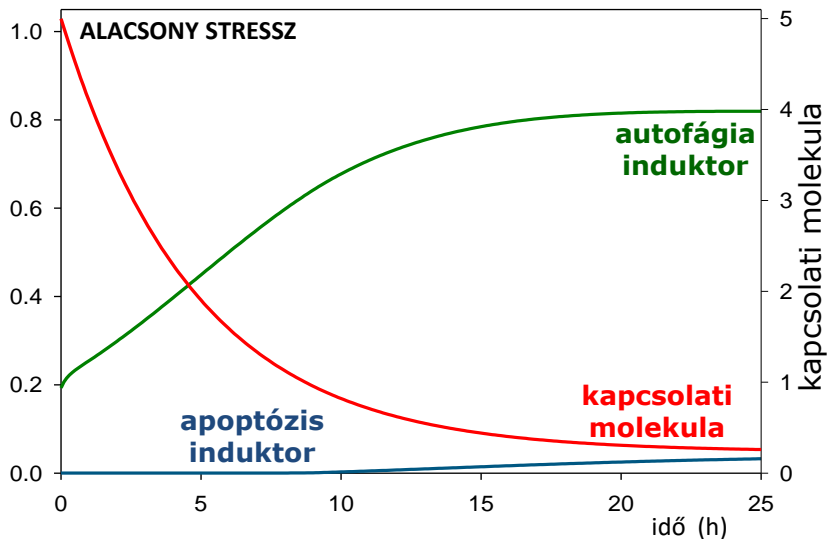
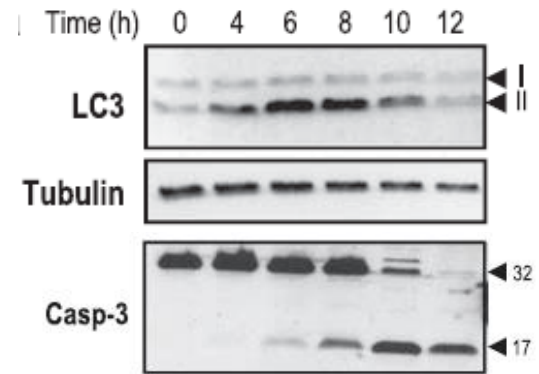
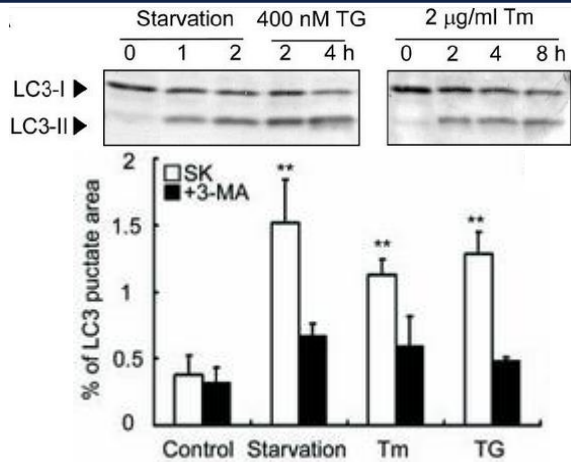
# Kétállású kapcsoló szerepe a döntési folyamatban



# Kétállású kapcsoló szerepe a döntési folyamatban



# Kétállású kapcsoló szerepe a döntési folyamatban



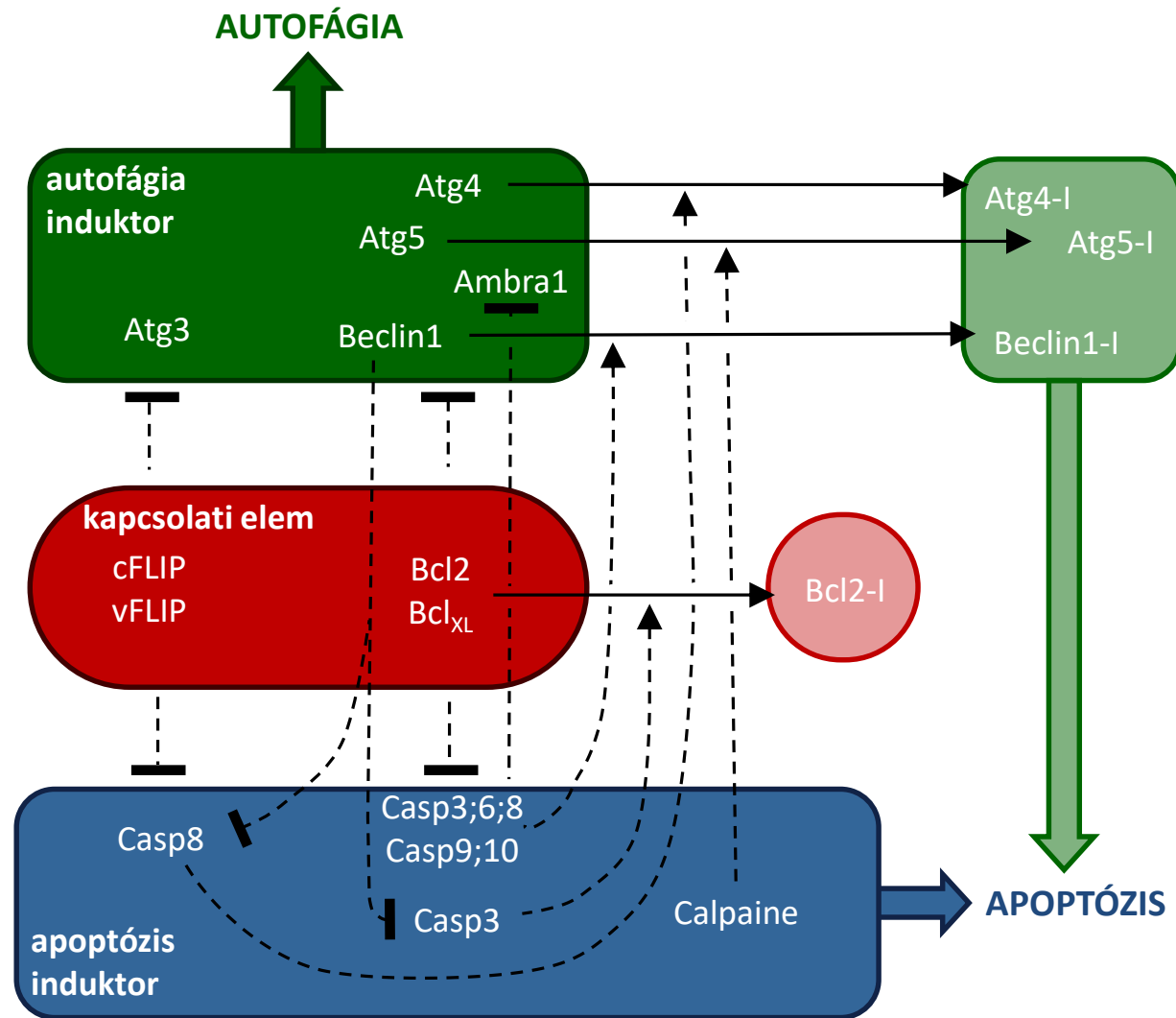
Cell Death Dis. 2010;1:e18.

Wirawan E, Vande Walle L, Kersse K, Cornelis S, Claerhout S, et al.

Mol Cell Biol. 2006 (24):9220-31.

Ogata M, Hino S, Saito A, Morikawa K, Kondo S, Kanemoto S, Murakami T, Taniguchi M, Tanii I, Yoshinaga K, Shiosaka S, Hammarback JA, Urano F, Imaizumi K.

# Robosztus szabályozási hálózat



# A molekuláris biológia és a modellezés kapcsolata

