

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory  
Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



**Jakub Dušek**

**Zapojení buněčných signálních systémů řízených malými G-proteiny  
v neuroregenerativních procesech**

**Involvement of cellular signal systems controlled by small G-proteins in  
neuroregenerative processes**

Bakalářská práce

Vedoucí práce: doc. RNDr. Jiří Novotný, DSc.

Praha, 2021

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 22. dubna 2021

Jakub Dušek

Podpis:

## **Poděkování**

Tímto děkuji svému školiteli doc. RNDr. Jiřímu Novotnému, DSc. za konzultace a cenné rady během tvorby této práce.

## Abstrakt

Ze současných reviews na téma „buněčná signalizace během neuroregenerace“ se G-proteiny opakovaně objevují jako významný zprostředkovatel signálu. Tato práce si stanovila za cíl zjistit v jaké míře souvisí malé G-proteiny s regenerací nervové tkáně a jakými molekulárními mechanismy dochází k indukci regenerace. V textu jsou do širšího společenského kontextu uvedeny patologie nervové soustavy, které jsou způsobeny traumaty nebo neurodegenerativním onemocněním. Stěžejní částí textu je popsání principu fungování jednotlivých rodin malých G-proteinů a jejich vlivu na obnovu nervové tkáně. Tato práce ukazuje, že malé GTPázy jsou pro neuroregeneraci opravdu klíčové a poukazuje na jejich značný terapeutický potenciál.

**Klíčová slova:** neuroregenerace; malá GTPáza; malý G-protein; Ras; signální systémy; neurodegenerace

## Abstract

G-proteins repeatedly seem as significant signal mediators according to actual „cellular signal during neuroregeneration“ reviews. This thesis aimed to find out how much small G-proteins correlate with neural tissue regeneration and which molecular mechanisms induce the regeneration. The thesis mentions pathologies of nervous system which are caused by traumas or neurodegenerative diseases in wider social perspective. Pivotal part of the text describes principles of functioning for each small GTPase family and its involvement in nervous tissue repair. This thesis demonstrates crucial role of small GTPases in neuroregeneration and points to considerable therapeutic potential of these GTPases.

**Key words:** neuroregeneration; small GTPase; small G-protein; Ras; signal systems; neurodegeneration

## Seznam použitých zkratk

### Zkratky s používaným českým překladem

AD	–	Alzheimerova choroba (Alzheimer disease)
ALS	–	Amyotrofická laterální skleróza
AMPA	–	$\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-metyl-4-isoxazolpropionová kyselina
AP	–	Adaptorový protein
BDNF	–	Mozkový neurotrofní faktor (Brain-derived neurotrophic factor)
COPI/II	–	Komplex obalového proteinu (Coat protein complex)
CNS	–	Centrální nervová soustava
DRG	–	Zadní kořen míšní (Dorsal root ganglion)
EE	–	Časný endozom (Early endosome)
ERK1/2	–	Kináza regulovaná mimobuněčným signálem (Extracellular signal-regulated kinase)
FD	–	Frontotemporální demence
GA	–	Golgiho aparát
GAP	–	Protein aktivující GTPázu (GTPase activating protein)
GDI	–	Disociační inhibitor guaninových nukleotidů (Guanine nucleotide dissociation inhibitor)
GDP	–	Guanosin difosfát
GEF	–	Faktor pro výměnu guaninových nukleotidů (Guanine nucleotide exchange factor)
GPCR	–	Receptor spřažený s G-proteinem (G-protein coupled receptor)
GTP	–	Guanosin trifosfát
HDAC	–	Histondeacetyláza
LE	–	Pozdní endozom (Late endosome)
MANF	–	Neurotrofní faktor odvozený z astrocytů mezimozku (Mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor)

MEK	–	Kináza mitogeny-aktivované proteinkinázy
NMDA	–	N-methyl-D-asparagová kyselina
NTF2	–	Jaderný transportní faktor (Nuclear transport factor 2)
PCD	–	Programovaná buněčná smrt (Programmed cell death)
NCAM	–	Nervová buněčná adhezní molekula (Neural cell adhesion molecule)
NGF	–	Nervový růstový faktor (Nerve growth factor)
PD	–	Parkinsonova choroba (Parkinson disease)
PI3K	–	Fosfatidylinozitol-3-kináza
PI4P5K	–	Fosfatidylinozitol-4-fosfát-5-kináza
PIP2	–	Fosfatidylinozitolbisfosfát
PKC	–	Proteinkináza C
PM	–	Plazmatická membrána
PNS	–	Periferní nervová soustava
RCC1	–	Regulátor chromozomové kondenzace – RanGEF (Regulator of Chromosome condensation)
RE	–	Recyklující endozom
RGC	–	Retinální gangliová buňka (Retinal ganglion cell)
RNA	–	Ribonukleová kyselina (Ribonucleic acid)
ROCK	–	Kináza asociovaná s Rho (Rho associated protein kinase)
RTK	–	Tyrozinkinázový receptor (Receptor tyrosin kinase)
TGN	–	Trans-Golgiho síť (Trans-Golgi network)

### **Zkratky bez používaného českého překladu**

ASAP1	–	Adenosine diphosphate ribosylation factor guanylate kinase 1
BICDR1	–	Bicaudal-B-related protein 1
C3	–	Complement component 3
CAS	–	Cellular apoptosis susceptibility

CRM1	–	Chromosomal maintenance 1
EHD1	–	EH domain-containing protein 1
EEA1	–	Early endosome antigen 1
GBF-1	–	Golgi-specific brefeldin A-resistance guanine nucleotide exchange factor
HOPS	–	Homotypic fusion and protein sorting
HTT	–	Huntingtin
IGF-1	–	Insuline-like growth factor 1
JNK	–	c-Jun N-terminal kinase
JRAB	–	Junctional Rab13-binding protein
LMTK1	–	Lemur tyrosine kinase 1
LRRK2	–	Leucine-rich repeat kinase 2
MARCKS	–	Myristoyled alanine-rich c-kinase substrate
MICAL	–	Molecule interacting with CasL 1
PAK	–	p21 activated kinase
PTEN	–	Phosphatase and tensin homolog
RCP	–	Receptor component protein
SRF	–	Serum response factor
TBCD	–	Tubulin-specific chaperone D
TDP-43	–	TAR DNA-binding protein 43
TI-VAMP	–	Tetanus neurotoxine-insensitive vesicle-associated membrane protein
VAP	–	VAMP-associated protein
WASP	–	Wiskott-Aldrich syndrome protein
WAVE	–	WASP-family verprolin-homologous protein

## Obsah

1	Úvod.....	1
2	Neuroregenerace .....	2
2.1	Patologické stavy .....	2
2.1.1	Traumata.....	2
2.1.2	Neurodegenerativní onemocnění.....	3
2.2	Průběh neuroregenerace .....	4
3	Monomerní G-proteiny a jejich receptory .....	6
3.1	G-proteiny Ras a tyrozinkinázové receptory .....	7
3.1.1	Signály pro přežití, nervovou diferenciaci .....	8
3.1.2	Ochrana axonu.....	9
3.1.3	Růst a regenerace axonu.....	9
3.2	G-proteiny Rho .....	11
3.2.1	Diferenciace neuronů a regulace navigace axonu .....	12
3.2.2	Růst a regenerace axonu.....	13
3.3	G-proteiny Rab .....	14
3.3.1	Biosyntetická dráha a růst axonu .....	16
3.3.2	Endocytóza a růst axonu .....	17
3.3.3	Recyklující endozomy a růst axonu .....	19
3.4	G-proteiny Arf.....	20
3.4.1	Sar.....	21
3.4.2	Arf .....	22
3.4.3	ARL (Arf like).....	24
3.5	G-proteiny Ran .....	25
3.5.1	Účast Ran v neuroregeneraci a neurodegeneraci .....	25
4	Závěr .....	26
5	Použitá literatura .....	27

# 1 Úvod

Nervová soustava je díky svému řídicímu postavením ve fyziologii organismu velmi komplexní, čemuž také odpovídá nutný trade-off mezi zvyšováním schopností nervové soustavy a zachováním její stability. Na základě toho převládají v prostředí CNS inhibitory plasticity, které omezují její regeneraci, zatímco u PNS, kde není potřeba zvyšování schopností, převládají stimulatory plasticity usnadňující regeneraci (Nagappan et al., 2020).

To vysvětluje velmi vysoký podíl úspěšně zotavených pacientů po úrazech PNS, zatímco úrazy CNS zanechávají u více než třetiny pacientů trvalé či dlouhodobé následky. Takto značný podíl trvalých postižení CNS a současně alarmující nárůst počtu lidí trpících neurodegenerativními onemocněními vede vědce k intenzivnímu zkoumání rozličných možností neuroregenerace. Jako velmi nadějná metoda pro léčbu patologií nervové soustavy se ukázalo cílení na malé G-proteiny a jejich kaskády.

Malé G-proteiny Ras jsou intenzivně zkoumány od 60. let minulého století (Harvey, 1964). Super-rodina malých GTPáz se dále dělí do pěti vzájemně podobných rodin, které přes své rozmanité funkce všechny fungují jako „molekulární spínač“. Tyto velmi malé proteiny zprostředkovávají v buňce přenos signálu, jenž ústí v buněčný růst, přestavbu aktinového či mikrotubulárního cytoskeletu nebo v zamezení apoptózy. Také určují identitu organel a účastní se regulace exocytotického, endocytotického i jaderného transportu. Samotné malé GTPázy jsou regulované svými GEF, GAP a GDI, přičemž tyto regulační molekuly jsou mnohdy společné pro několik GTPáz, čímž dochází k částečné konvergenci signálních drah. Konvergenci lze vysledovat i na úrovni efektorů. Tyto skutečnosti činí studium Ras GTPáz patřičně náročným a spousta z Ras proteinů ještě není zdaleka tak prozkoumána, jak by si zasloužila. Z výsledků výzkumů Ras proteinů je zřetelná jejich klíčová role v neuroregeneraci, v níž různými způsoby figurují všechny rodiny těchto proteinů. Ras GTPázy nabízí značný potenciál pro terapeutické využití, jenž by neměl být promrhán.



## 2 Neuroregenerace

Neuroregenerace je komplexní děj vedoucí k obnově nervové tkáně a funkčnosti. Význam tohoto děje je zřejmý při úrazech, ale i při neurodegenerativních onemocněních. Obojí má přitom různě veliké dopady na fyzické a mentální zdraví jedince a jeho okolí. Značné jsou také ekonomické a personální náklady související s léčbou a opětovným začleněním jedince do společnosti. Dopady na výše zmíněné se liší v závislosti na druhu poškození, úspěšnosti nebo neúspěšnosti regenerace a také na době trvání regenerace. Z těchto důvodů je neuroregenerace již několik dekad stále aktuální téma i přes mnohé významné úspěchy na tomto poli.

### 2.1 Patologické stavy

#### 2.1.1 Traumata

Při úrazech CNS bývají následky nezřídka devastující. Celosvětová incidence úrazů míchy je podle souhrnné studie 105/milion obyvatel, z toho polovina zranění si vyžádá operaci. Nejčastějšími příčinami přitom jsou autonehody a pády osob (Kumar et al., 2018). Podle statistik z USA je incidence trvalého poškození míchy 40/milion. Za povšimnutí také stojí, že ačkoliv pacienti svá zranění přežijí, jejich očekávaný věk dožití se snižuje i o několik desetiletí (National Spinal Cord Injury Statistical Center, Birmingham, Alabama, 2012). Oproti tomu incidenci poranění mozku uvádí jiná souhrnná studie 3000/milion obyvatel, při započítání nehlášených případů jejich odhad roste až na 6000/milion (Cassidy et al., 2004). K podobnému závěru u hlášených případů dospěli i výzkumníci v aktuálnější souhrnné studii. Incidence traumatu mozku podle nich činí 2600/milion. Jako hlavní příčiny úrazů byly označeny pády osob a autonehody (Peeters et al., 2015). Incidence dlouhodobého poškození mozku v USA činí 1100/milion (Zaloshnja et al., 2008). Poranění mozku jsou mnohonásobně častější než poranění míchy. Nejčastějšími příčinami poranění CNS jsou autonehody a pády. Zhruba třetina těchto poranění zanechá dlouhodobé nebo trvalé následky.

Schopnost regenerace CNS se navíc stárnutím snižuje (Wang et al., 2007). Míšní axony však mohou dorůst. Záleží při tom na vzdálenosti poranění od mateřského ganglia, která je nepřímo úměrná úspěšnosti zahojení (Richardson et al., 1984). Bylo zjištěno, že při poranění míšních axony neodumírají, ale atrofují. Díky tomu lze obnovit jejich funkci i dlouho po úrazu (Kwon et al., 2002). Z dalších studií vyplynulo, že i mozková tkáň může být po traumatu určitým způsobem obnovena. Nicméně základním předpokladem zůstává akutní

chirurgická péče po úrazu. I přesto dochází k masivnímu úmrtí buněk a pozdějšímu omezení funkcí (Galvano et al., 2017).

Traumata končetin zpravidla nebývají pro PNS devastující. To je dáno uložením nervové tkáně v končetinách, její anatomii a poměrně vysokou schopností obnovy (Richardson et al., 1980). Z rozsáhlé studie vyplynulo, že hospitalizovaní pacienti s traumatem končetin měli poškozenou PNS v 1,6 % případů. K poškození nervů došlo nejčastěji při rozdrčení končetin (Taylor et al., 2008). U většiny pacientů lze napravit poškozenou nervovou tkáň, jako neléčitelné se úrazy ukázaly být u 2,5 % pacientů. Očekává se, že procento úspěšnosti zákroků se bude zvyšovat s pokroky na poli tkáňového inženýrství (Scholz et al., 2009). I přes vysoké procento úspěšnosti je chirurgická náprava nervů považována za jednu z nejobtížnějších operací (Lundborg, 2000). Kromě dříve užívané metody, při které se opětovně propojily obě části poškozeného nervu, se nyní začíná běžně užívat metoda transferu nervu – přenos nervu z dárcovské tkáně na tkáň příjemce (Moore, 2014).

### **2.1.2 Neurodegenerativní onemocnění**

S rapidním nárůstem průměrného věku dožití narůstá i počet lidí trpících neurodegenerativními onemocněními. Při těch dochází v mozku ke ztrátě neuronů a synapsí. Mezi tato onemocnění spadá, kromě dobře známé Alzheimerovy choroby (AD) a Parkinsonovy choroby (PD), také například amyotrofická laterální skleróza (ALS), frontotemporální demence (FD), supranukleární paralýza, kortikobazální degenerace, demence s Lewyho tělísky, mnohočetná systémová atrofie a Huntingtónova choroba. Avšak první dvě výše zmíněná onemocnění jsou nejrozšířenější, a proto se jim dále budu věnovat.

Alzheimerova choroba je onemocnění charakteristické postupným snižováním kognitivních a paměťových schopností. V terminální fázi jsou lidé trpící AD odkázáni na péči druhých. V roce 2011 trpělo tímto nejrozšířenějším druhem demence celosvětově 24 miliónů lidí, přičemž podle odhadů se počet každých 20 let zdvojnásobí (Reitz et al., 2011). Podle srovnávací studie z roku 2019 touto chorobou trpí v České republice zhruba 150.000 lidí, což odpovídá prevalenci 1,5 %. Výzkumníci vypočetli, že v České republice bude v roce 2050 takto postiženo 280.000 lidí. V souznění s předchozí studií vyplývá, že počet nemocných se rapidně zvyšuje po 70. a 80. roku života (Jean Georges, 2019; Reitz et al., 2011). V současnosti již existují metody, jak detekovat budoucí nástup AD. Pomocí testů funkčnosti vizuální paměti lze predikovat onemocnění až 15 let před jeho nástupem (Kawas et al., 2003). Pro diagnostiku je nicméně rozhodující nález A $\beta$ -ložisek, která značí plak v podobě proteinů

amyloidu  $\beta$ . Ložiska se anterográdně rozrůstají a tím současně vzrůstá i závažnost onemocnění. (Thal et al., 2002). V současnosti neexistuje způsob jak vyléčit AD, existují pouze léky zmírňující negativní dopady na nemocného. K tomu se používá inhibitor cholinesterázy a memantin, přičemž ani kombinace těchto léků nepřidává žádné benefity (Porsteinsson et al., 2008).

Hlavním rysem Parkinsonovy choroby je progresivní snižování motorických funkcí. To se projevuje třesem, zhoršenou chůzí, pády, nestabilitou nebo třeba zhoršením psaní a řeči (Jankovic and Kapadia, 2001). Po Alzheimerově chorobě je PD druhým nejrozšířenějším neurodegenerativním onemocněním (de Lau and Breteler, 2006). Prevalence se liší podle několika faktorů. Hlavními faktory jsou geografie a s ní související vystavení se toxickému prostředí, genetické predispozice a psychický stav. Do 70 let činí prevalence 0,5-1 % a u lidí starších 80 let se prevalence postupně navyšuje až na 1-3 % (Tanner and Goldman, 1996). Právě kvůli rozdílnosti metodik a roztržitosti dat je pro zjištění skutečné světové prevalence zapotřebí rozsáhlé, dlouhodobé studie s jasně danými diagnostickými kritérii, standardizovanými daty a kontrolní populací ke srovnání (Muangpaisan et al., 2011). Jako lék na potlačení symptomů a zpomalení průběhu nemoci se v současnosti používá především Levodopa (Fahn et al., 2004). Na Levodopu se však postupem času tvoří rezistence a snižuje se senzitivita odpovědi. Z tohoto důvodu se doporučuje starším pacientům voperovat implantát, který stimuluje neurony hlubokého mozku, čímž také velmi účinně potlačuje symptomy PD (Tir et al., 2007).

## **2.2 Průběh neuroregenerace**

Nervová soustava se vyvinula tak, že musí být schopna balancovat mezi zvyšováním schopností organismu a zachováním své stability. Pro zachování stability je plasticita NS inhibována extracelulárním prostředím a nitrobuněčnými faktory. Tyto inhibitory se následně při patologii NS stávají brzdami, které leckdy i kompletně znemožní regeneraci. V NS se ovšem nachází i stimulatory. Podíl mezi těmito brzdami a stimulatory neuroplasticity je mezi CNS a PNS odlišný. Jelikož u PNS je zredukované rozšiřování svých schopností, nachází se tam především stimulatory. V CNS převažují inhibitory plasticity, aby byla zachována stabilita. Oba typy NS se tak nachází v rovnováze (Nagappan et al., 2020).

Systém regenerace v PNS je následující. Distální, oddělená část axonu podstupuje Walleriánskou degeneraci – proces, při němž je odstraňován poškozený myelin. Zároveň jsou do místa chemoatraktanty lákány imunitní buňky, především makrofágy (Namikawa et al., 2006). Imunitní buňky (neutrofil, makrofágy, dendritické buňky) mají v prvních hodinách a

dnech po zranění zásadní vliv na regeneraci (Serpe et al., 2002). Makrofágy moduluji Schwanovy buňky na opravné Schwanovy buňky, sekretují velké množství růstových a regeneračních faktorů, cytokinů a extracelulární matrix (Perry et al., 1987). Ihned po poškození axonu dojde k vylití  $Ca^{2+}$  do axoplazmy (Ziv and Spira, 1997), což indukuje přeměny v cytoskeletu a tvorbu růstového kuželu (Kamber et al., 2009). Zároveň je tak po příchodu vápníkové vlny do těla neuronu ovlivněna genová exprese (Cho et al., 2013). Na základě těchto signálů je syntéza proteinů přesunuta do místa poškození, kde tak dochází ke zvýšené lokální translaci (Taylor et al., 2009).

Důležitou roli během regenerace hrají Schwanovy buňky. Ty produkují značné množství proteinů extracelulární matrix, především laminin a fibrinonektin, které retrográdně značí cestu od poškozených axonů k tělu neuronu (Bailey et al., 1993). Poté, co je vyznačena cesta, vyžadují axony pomocné faktory, které navedou materiál určený k opravě do místa zranění. To řeší znovu Schwanovy buňky, které zvýší expresi adhezních proteinů a kadherinů, zejména adhezních molekul nervové buňky (NCAM) a N-kadherinu (Thornton et al., 2005). Další regenerační mechanismus spočívá ve schopnosti Schwanových buněk sekretovat během poranění neurotrofní faktory – mozkový neurotrofní faktor (BDNF), ciliární neurotrofní faktor (CNTF) a gliální neurotrofní faktor (GDNF) (Frostick et al., 1998). Obdržení neurotrofních faktorů umožňuje poškozené buňce započít regenerační program, jehož výsledkem je růstový kužel. Neurotrofní faktory mají poté za úkol správně navést růstový kužel. Adhezní molekuly produkované Schwanovými buňkami se shlukují s adhezními molekulami růstového kuželu a navigují růstový kužel až k místu zranění. Ideálně pak dochází k tvorbě nové synapse (Steward et al., 2012).

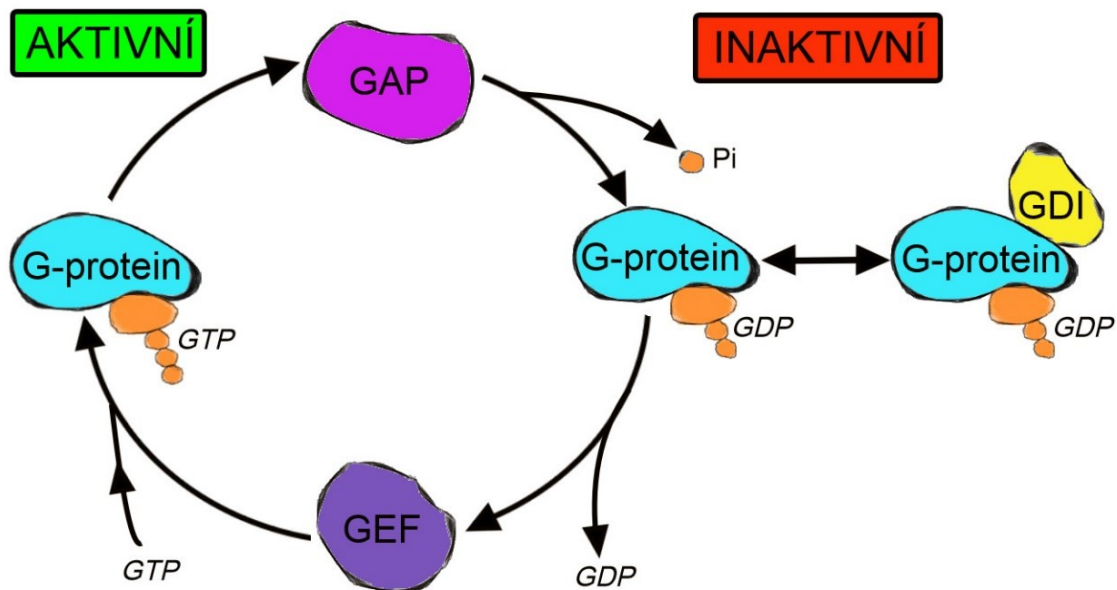
V CNS je systém regenerace obtížnější. Především kvůli odlišnému prostředí, jež se vyznačuje přítomností gliových buněk namísto Schwanových. Při poškození totiž vytvoří gliové buňky z extracelulární matrix nepropustnou jizvu, ve které se vyskytují molekuly inhibující regeneraci (McKeon et al., 1991). Oligodendrocyty, které při zranění zemrou, již nejsou obnoveny na rozdíl od Schwanových buněk, které v PNS po zranění znovu proliferují (Grossman et al., 2001). Je dobré připomenout, že při smrti neuronů jsou také částečně poškozena synaptická propojení blízkých či vzdálených neuronů. Rozsah nápravy poškození CNS může být tedy větší, než se na první pohled může zdát.

### 3 Monomerní G-proteiny a jejich receptory

První zmínky o monomerních G-proteinech pochází z 60. let 20. století, kdy byl pozorován sarkom v myši šlaše. Ve tkáni byly nalezeny protoonkogeny Ras, které byly indukovány retrovirem, a tak byla role Ras dávána do souvislosti s růstem (Harvey, 1964). Později se Ras proteinům v lidském těle začala přisuzovat role mitogenu (Kamata and Feramisco, 1984). Ras byl prvním objeveným proteinem tohoto druhu, a proto se super-rodina funkčně a sekvenčně podobných proteinů jmenuje po něm (Wennerberg et al., 2005). Sekvenční shoda se nalézá především v doméně vázající guanosin trifosfát (GTP), a to ve třech daných elementech: aminokyseliny GXXXXGK, vmezeření 40-80 (nebo 130-170) aminokyselin, sekvence DXXG a vmezeření 40-80 aminokyselin před NKXD (Dever et al., 1987). Do super-rodiny Ras náleží kolem 170 proteinů, které jsou evolučně řazeny do pěti rodin (Wennerberg et al., 2005). Jednotlivým rodinám se budu konkrétněji věnovat v dalších podkapitolách – Ras, Rho, Rab, Arf a Ran.

Monomerní G-proteiny jsou velmi malé enzymy, které slouží především k transdukcí signálu. Tyto enzymy patří mezi hydrolázy, což znamená, že protein štěpí svůj substrát. V tomto případě se jedná o GTPázy a substrátem je GTP. Jak již název napovídá, funkční jednotky komplexu se skládají pouze z jedné domény, ta je však funkčně homologická alfa podjednotce trimerních G-proteinů.

G-protein v buňkách slouží jako „molekulární spínač“, který se vždy nachází v jednom ze dvou následujících stavů. Při vazbě s GDP je v inaktivním stavu a nepřenáší žádný signál. V inaktivním stavu se také nachází, pokud je na něj navázán inhibitor guaninových nukleotidů (GDI) – poté je inertní vůči přichozím signálům. Monomerní G-protein se stává aktivním, když je aktivován svým faktorem pro výměnu guaninových nukleotidů (GEF), přičemž při aktivaci dochází k odštěpení guanosin difosfátu (GDP) a výměně za GTP. S navázaným GTP předává G-protein signál svému efektoru, který se nachází downstream v signalizační kaskádě. Po předání signálu je třeba signalizaci přerušit a vrátit G-protein do inaktivního stavu, aby mohl v případě potřeby předat další signál. K tomu je G-protein katalyzován proteinem aktivujícím GTPázu (GAP), čímž dochází k hydrolýze GTP na GDP a pyrofosfát (Pi) a také k odštěpení od svého efektoru. Takto došlo k resetování a G-protein se tedy znovu nachází v inaktivním stavu s navázaným GDP (Obr. 1) (Cherfils and Zeghouf, 2013).



Obr. 1 Cyklus aktivace a inaktivace monomerních G-proteinů

### 3.1 G-proteiny Ras a tyrozinkinázové receptory

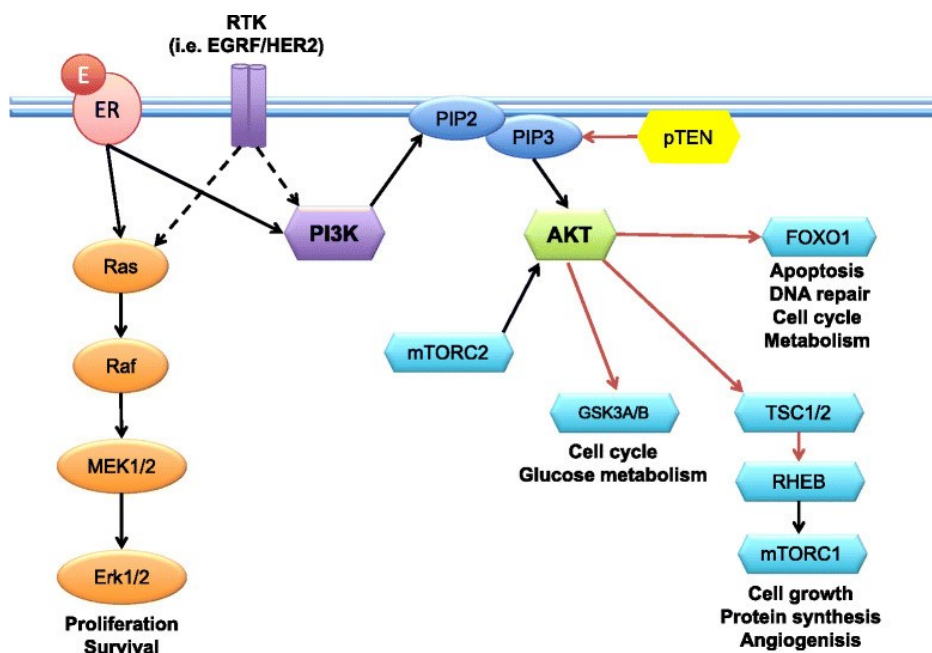
Jedním z prvních momentů, kdy se potvrdila souvislost Ras proteinů s nervovou diferenciací, byla injekce Ras onkogenu do živých nádorových buněk myši. Při injekci došlo k diferenciaci do nervových buněk (Bar-Sagi and Feramisco, 1985). Protein Ras p21 přidáný do cytoplazmy embryonálních nervových buněk zvýšil míru přežití buněk a růst axonů – dokonce i při absenci nervového růstového faktoru (Borasio et al., 1989).

Buněčným receptorem pro aktivaci Ras proteinů je obvykle tyrozinkinázový receptor (RTK) procházející skrze plazmatickou membránu. Samotný G-protein je lokalizován na vnitřní – cytosolické straně membrány. Při vazbě s GDP je propojen se svým receptorem a nepřenáší žádný signál. Pokud dojde k zachycení ligandu na RTK, nastává autofosforylace a dimerizace RTK. Poté dochází k navázání SH2 domény adaptorového proteinu na cytoplazmatickou doménu RTK. Na SH3 doménu adaptorového proteinu se následně váže GEF a dochází tak k aktivaci Ras. G-protein se poté odpoutá od receptoru a vazbou na efektor pokračuje v předávání signální kaskády, která následně spěje k syntéze druhých posílů. V návaznosti na to je Ras resetován svým GAP (Hennig et al., 2015). Tato rodina čítá kolem 40 strukturně podobných proteinů. Během zkoumání byly objeveny dvě hlavní kaskády, které předávají signály pro přežití a diferenciaci downstream od RTK.

### 3.1.1 Signály pro přežití, nervovou diferenciaci

První kaskáda od RTK začíná G-proteinem Ras. B-Raf, který je aktivován proteinem Ras, hraje roli v přežití senzoryckých neuronů a motoneuronů během embryonálního vývoje (Wiese et al., 2001). Ačkoliv B-Raf a C-Raf figurují v předávání signálu pro přežití, nejsou přímo životně důležité. Při jejich knockoutu došlo ke zhoršení vývoje a arborizace neuronů, ale nedošlo k apoptóze (Zhong et al., 2007). Role B-Raf v nervové soustavě tedy spočívá především v správné diferenciaci oligodendrocytů, myelinizaci neuronů a v zajištění správného umístění hipokampálních a mozečkových neuronů (Galabova-Kovacs et al., 2008; Pfeiffer et al., 2013). Raf ve své kaskádě aktivuje MEK1/2, které následně aktivuje ERK1/2. Při navození vyšší exprese ERK1/2 se podařilo zvýšit přežití retinálních gangliových buněk, které jinak odumírají při onemocnění zeleným zákalem (Zhou et al., 2005). Tato dráha tedy zajišťuje přežití vybraných neuronálních populací a diferenciaci gliových buněk.

Další signální dráha downstream od RTK počíná aktivací fosfatidylinositol-3-kinázy (PI3K). PI3K je kritická pro přežití sympatických neuronů, přičemž významnější vliv má především na neurony se vzdálenějšími axony (Kuruvilla et al., 2000). Kaskáda od PI3K ale není jediná dráha zajišťující přežití neuronu. Synergicky se při tom doplňuje s proteinkinázou C (PKC), která inhibuje proapoptická tělíska a zabraňuje tak smrti neuronu (Pierchala et al., 2004). U PNS je situace obdobná, kdy růstový faktor IGF-I spouští dráhu PI3K/AKT zabraňující apoptóze (Leininger et al., 2004). Stejná dráha zajišťuje větvení dendritů a přežití neuronů v neokortexu (Chan et al., 2011). PI3K/AKT dráha ústí ve tvorbu Bcl-xL a Bcl-2 proteinů, jež napřímo inhibují proapoptické proteiny nacházející se v mitochondriální membráně (Oriike et al., 2001). Je patrné, že signální dráha PI3K hraje důležitou roli v přežití všech neuronálních populací, zatímco role Raf dráhy je pro přežití spíše minoritní a využívají ji jen některé neuronální populace (Obr. 2). Ras proteiny jsou též významnými mitogeny.



Obr. 2 Tyrozinkinázový receptor, signální kaskády Ras a PI3K a jimi indukované změny v nervové buňce (Toss and Cristofanilli, 2015)

### 3.1.2 Ochrana axonu

Transgenní aktivace Val12-Ha-Ras indukovala u myši hypertrofii pyramidálních neuronů v kortexu a hipokampu, zároveň také spustila neuroprotektivní mechanismy a významně zredukovala neurodegeneraci (Heumann et al., 2000). V další studii bylo objeveno, že stejný protein Val12-Ha-Ras zvyšuje absolutní počet synaptických propojení hipokampálních neuronů (Gärtner et al., 2004). Neuroprotektivní účinek u syn-Ras myši (genotyp s trvale aktivovaným proteinem Val12-Ha-Ras) byl také zpozorován při zvýšení oxidativního stresu, čemuž bývají savci vystaveni okamžitě po porodu (Felderhoff-Mueser et al., 2004). Na syn-Ras myších byla také ověřována schopnost regenerace. Po úrazu hlavy u nich byla zaznamenána zvýšená odolnost nervů a rychlejší bujení poškozených axonů, což vyústilo v účinnější regeneraci CNS (Makwana et al., 2009). Ochranu axonů před oxidativním stresem rovněž navýšila inhibice histondeacetylázy HDAC6, kterou podrobněji rozebírám v další části (Rivieccio et al., 2009).

### 3.1.3 Růst a regenerace axonu

Ras může ovlivnit růst axonů dvěma způsoby závislými na aktivovaném efektoru. Při aktivaci Raf dochází k prodlužování axonu, zatímco při aktivaci Akt zvětšují axony svůj průměr a větví se (Markus et al., 2002). Knockoutování B-Raf a C-Raf v myších embryích snížilo růst axonu zadních kořenů míšních (DRG) a také zredukovalo jejich větvení. Zároveň



to zhoršilo schopnost proprioreceptorů posílat signály do míchy (Zhong et al., 2007). V jiné studii na myších bylo ukázáno, že při absenci neurotrofních signálů a aktivaci B-Raf lze stále dosáhnout správného růstu dlouhých axonů sensorických nervů. Při stejných podmínkách experimentu docházelo k rychlému růstu DRG, velmi značný růst byl zaznamenán při regeneraci optického nervu (O'Donovan et al., 2014).

Schopnost regenerace se snižuje se stárnutím organismu. Jedním z důvodů může být snížení množství aktivních ERK1/2, které jsou schopny exprimovat geny umožňující neuroregeneraci. Ke snižování množství aktivních ERK1/2 dochází zvýšenou aktivitou fosfatáz Dusp6, které za normálních okolností tímto způsobem udržují rovnováhu růstu (Finelli et al., 2013). Fosfatázy brzdí regeneraci i v druhé hlavní dráze – PI3K. Při delecii genů pro fosfatázu PTEN, která je negativním regulátorem molekuly mTOR, došlo k odblokování dané dráhy a ke značnému zvýšení regenerace poškozených retinálních gangliových buněk (Park et al., 2008). Ke stejnému výsledku došel i jiný výzkumný tým, který se zaměřil na kortikospinální neurony a dokázal takto zvýšit jejich schopnost regenerace po poranění páteře (Liu et al., 2010). Deaktivování PTEN v kombinaci se zvýšenou aktivací B-Raf působí synergicky, a tak došlo k markantnímu zvýšení regenerace axonu optického nervu (O'Donovan et al., 2014). Ačkoliv je patrný vliv Ras proteinů na neuroregeneraci, klinické využití těchto výše zmíněných metod nebude jednoduché.

Ras a dále aktivovaný B-Raf jsou známy jako protoonkogeny, které jsou při mutaci odpovědné za většinu případů mozkových tumorů následujících dvou typů. Prvním je pleomorfní xanthoastrocytom, který postihuje astrocyty, a tím druhým je gangliogliom, při kterém jsou zasaženy gliové buňky (Dahiya et al., 2014). Mutace Ras proteinů souvisejí dokonce s až 16% výskytem případů všech druhů rakovin. Z nich nejfrekventovanější mutací je K-Ras izoforma, která se vyskytuje ve většině z nich a nachází se ve více než 90 % nádorů pankreatu. Frekvencí výskytu následuje N-Ras, jež je dávana do souvislosti především s hematopoetickými mutacemi. Malý podíl je tvořen H-Ras izoformou (Prior et al., 2012). Při výše zmíněné kombinaci umlčení PTEN a zvýšené aktivaci B-Raf došlo ve 100 % případů k tvorbě melanomu v plicích a lymfatických uzlinách (Dankort et al., 2009). Abychom se vyhnuli mitogenním účinkům a s nimi spojenými zvýšenými riziky započetí rakoviny, je potřeba z kaskády aktivovat pouze expresi genů spojených s neuroregenerací. Transkripčním faktorem pro takový gen je SRF, který je hlavním efektem MEK/ERK dráhy spuštěné nervovým růstovým faktorem (NGF). SRF zajišťuje prodlužování a větvení axonů embryonálních sensorických neuronů (Wickramasinghe et al., 2008). Exprese SRF přímo zajišťuje změny v dynamice aktinového cytoskeletu a tedy i růstového kuželu zajišťujícího

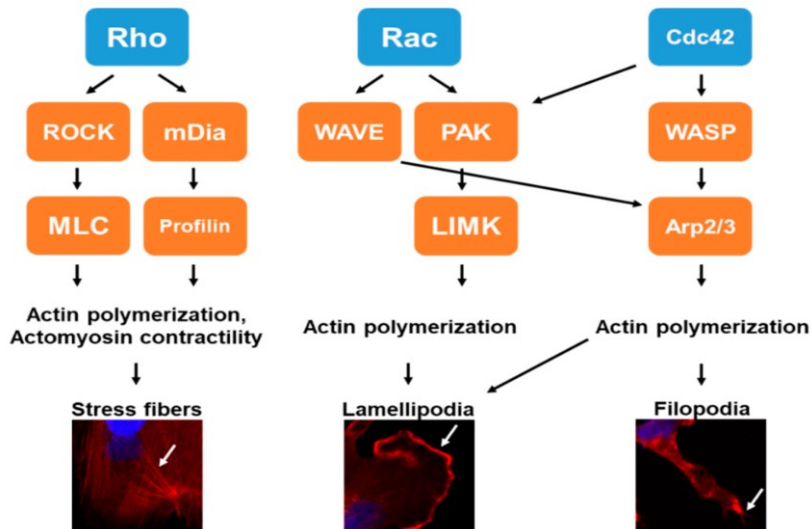
neuroregeneraci. SRF funguje v úzkém antagonistickém propojení s faktorem cofilin, kdy se svými hladinami negativně ovlivňují. SRF tak zvyšuje schopnost regenerace, růstu a větvení, zatímco cofilin to brzdí a zajišťuje udržení systému v rovnováze (Stern et al., 2013). Dalším možným přístupem pro cílenou expresi je epigenetika. Histondeacetyláza HDAC6, která je ve větší míře exprimována při poškození neuronu, snižuje transkripci Raf-MEK-ERK kaskády, čehož výsledkem je snížená regenerace neuronu. Inhibice HDAC6 tak podporovala růst a regeneraci axonů (Rivieccio et al., 2009). Ras nabízí velmi účinné možnosti v oblasti regenerace neuronů. S jeho vysokou účinností jsou rovněž spjaty negativní účinky v podobě možného započetí rakoviny, což je naprosto nežádoucí. Je tedy potřeba čistě cílit downstream až na expresi požadovaných genů.

### 3.2 G-proteiny Rho

První zástupce této rodiny byl objeven u mořského měkkýše *Aplysia*, přičemž byla nalezena vysoká podobnost Rho s Ras proteiny. Z toho důvodu také název Rho vyjadřuje Ras homology (Madaule and Axel, 1985). Nejvíce prozkoumanými zástupci z této zhruba dvacetičlenné rodiny jsou RhoA, Rac1 a Cdc42. Proteiny Rho rodiny jsou syntetizovány do cytosolu v neaktivním stavu, aktivní jsou až při zakotvení v cílové membráně. K tomu dochází na základě post-translační modifikace. Prvním způsobem je izoprenylace, kdy je na karboxy-konci motiv CAAX, a tím je peptid za pomoci prenyltransferázy připojen na farnesyl nebo geranylgeranyl nacházející se v membráně (Mitin et al., 2012; Roberts et al., 2008). Další způsobem je palmitoylace (Navarro-Lérida et al., 2012). Post-translační modifikace také zajišťují regulaci Rho proteinů. Fosforylace RhoA snížila jeho schopnost aktivovat kinázu asociovanou s Rho (ROCK) (Nusser et al., 2006). Naopak SUMOylace zvyšuje aktivitu Rac1 proteinu (Castillo-Lluva et al., 2010). Regulovat lze i pomocí mikro-RNA, které se komplementárně váže na příslušné mRNA a tím blokuje jeho translaci. Takto byla pomocí miR-124, jež reguluje cytoskeletární proteiny, snížena hladina Cdc42 a byl zrychlen růst axonů (Yu et al., 2008).

Proteiny Rho rodiny jsou schopny integrovat signály z několika různých typů receptorů a poté na ně reagovat. Typy těchto receptorů jsou GPCR (Fromm et al., 1997), RTK (Schiller, 2006), ionotropní receptory (Murakoshi et al., 2011), cytokinové receptory (Puls et al., 1999), plexiny (Paldy et al., 2017) a integriny (Hotchin and Hall, 1995). Signální kaskády a výsledné exprimované produkty se liší podle podrodin. Zde budou uvedeny pouze ty, které se nacházejí v buňkách nervové tkáně. Pro podrodinu Rho jsou hlavními efektory ROCK a mDia, jejichž kaskáda v buňce zapříčiňuje aktinovou polymerizaci a kontrakci

aktinomyozinového aparátu s tvorbou stresových vláken. Cdc42 aktivuje WASP a kinázu PAK. Efektory podrodiny Rac jsou také PAK a navíc WAVE, který je příbuzný efektoru WASP. Exprese kaskád následujících downstream od Rac i Cdc42 má za účinek aktinovou polymerizaci, která vede k tvorbě lamelipodií a filopodií (Obr. 3) (Humphries et al., 2020).



Obr. 3 Proteiny rodiny Rho, jejich hlavní kaskády a jimi indukované účinky na neuron (Humphries et al., 2020)

### 3.2.1 Diferenciace neuronů a regulace navigace axonu

Diferenciace neuronů probíhá následovně. Po dělení neuronu dochází zpravidla k jeho migraci na místo dalšího působení (Edmondson and Hatten, 1987). V procesu migrace neuronu účinkují proteiny Rho (Zipkin et al., 1997). Rac1 zajišťuje optimální rychlost migrace, čímž získávají vybrané neurony kompetiční výhodu pro zaujetí správného místa (Chen et al., 2007). Poté, co je neuron usídlen, dochází k růstu a prodlužování axonu. V tom se uplatňují Rac a Cdc42 proteiny (Luo et al., 1994). Rho proteiny zajišťují polarizaci neuronu tak, aby byl pouze jeden růstový kužel, jenž se diferencuje v axon (Bradke and Dotti, 1999). Rac1 rekrutuje pomocí WAVE komplexu proteinový komplex Arp2/3 na plazmatickou membránu. Arp2/3 pak vykonává remodelaci aktinových vláken, což právě způsobuje prodlužování axonu (Tahirovic et al., 2010). Naopak RhoA inhibuje prodlužování axonu a zabraňuje přílišnému růstu (Jalink et al., 1994). Během růstu axonu zajišťuje jeho navigaci GEF náležící Rho rodině. GEF reguluje proces endocytózy a určuje, zda buňka pozře nebo ne růstové atraktanty, přičemž směrem pozření atraktantů se následně tvoří růstový kužel (Cowan et al., 2005). Po usídlení neuronu dochází také k četné tvorbě dendritů, což pozitivně ovlivňuje Rac1 (Luo et al., 1996). Rho A je důležitým regulátorem dendritické morfogeneze

CNS. Při nedostatku RhoA se dendrity příliš prodlužují a při nadbytku dochází k redukci komplexity dendritů (Lee et al., 2000).

Pro vývoj sensorických neuronů se Rho nezdá být zásadní. Vyvíjející se myši měly v porovnání s dospělci zvýšenou expresi RhoA v neuronech DRG, avšak po inhibici RhoA nebyl zaznamenán žádný defekt. Místo toho došlo ke zvýšení exprese RhoC, které kompenzuje absenci RhoA (Leslie et al., 2012). U Rac podrodiny je situace podobná. V míše bylo Rac3 v největší koncentraci v embryogenezi, ale knockout Rac3 neměl žádný vliv na brzký vývoj sensorického nervového systému (Corbetta et al., 2005). V mozečku mají ale proteiny Rac a Cdc42 zásadní vliv na přežití granulárních neuronů, způsobují inhibici proapoptické dráhy JNK (Linseman et al., 2001). Jak již bylo zmíněno výše, i v dalším případě je protein RhoA antagonistou k Rac a Cdc42. Proteiny RhoA nebo RhoB dokážou při traumatu mozku nebo jeho dlouhodobé regeneraci navodit programovanou buněčnou smrt (PCD) poškozených neuronů. RhoA aktivuje PCD přes p38alpha, zatímco RhoB přes kaspázu 3 (Barberan et al., 2011; Semenova et al., 2007). Lze usuzovat, že tyto dvě dráhy budou synergické.

Rho rodina je důležitá pro vývoj nervové soustavy, vliv proteinů této rodiny spočívá v navigaci a následné regulaci modelování aktinového cytoskeletu. Účastní se celého vývoje neuronů, a to pozitivní i negativní regulací.

### **3.2.2 Růst a regenerace axonu**

Expese proteinů Rho rodiny se liší mezi jednotlivými typy buněk nervového systému. V této srovnávací studii byla po poranění míchy zjištěna zvýšená expese Rho, Rac a Cdc42 u oligodendrocytů, astrocyty měly zvýšenou expresi Rac1 a RhoB a neurony produkovaly navíc i Tc10, kromě Rac1 a RhoB (Erschbamer et al., 2005). Ačkoliv je schopnost neuroplasticity PNS po zranění významně vyšší než u CNS, opětovná inervace nebývá perfektní. Při poškození sensorického axonu v jeho počátečním stádiu růstu začínají sousedící neporaněné axony spolu soupeřit o místo reinervace v pokožce. Axon, který tam dorostl nejrychleji, obsadil dané místo a poté začal odpuzovat dorůstající původní axon. Při inhibici RhoA kaskády byl dorůstající, původně poškozený neuron úspěšnější v reinervaci škáry. Pokud byl ale poškozený axon v pokročilejší fázi regenerace, sousedící axony obsazovaly jeho místo s výrazně menší frekvencí (O'Brien et al., 2009). V návaznosti na to, peptidy C3 – inhibitory RhoA nejen blokují RhoA, ale také aktivují ERK kaskádu, která je jinak svázaná s činností proteinů Ras rodiny, a jež zvyšuje schopnost proliferace (Auer et al., 2012). Peptidy C3 se při testech na myších ukázaly být účinné v regeneraci PNS. Výsledky naznačují, že C3 má

terapeutický potenciál (Huelsenbeck et al., 2012). V nedávné době byla představena genová terapie transferáz C3 pomocí virových vektorů vytvořených na základě adenovirů (Santiago-Lopez et al., 2018). Cílení na další molekuly downstream dráhy RhoA se zdá být účinné, především na efektor ROCK, který byl inhibován molekulou Y-27632 (Cheng et al., 2008). Další inhibitorem ROCK je HA-1077 (fasudil), jenž byl otestován na několika pacientech, u kterých zrychlil regeneraci periferie (Hiraga et al., 2006).

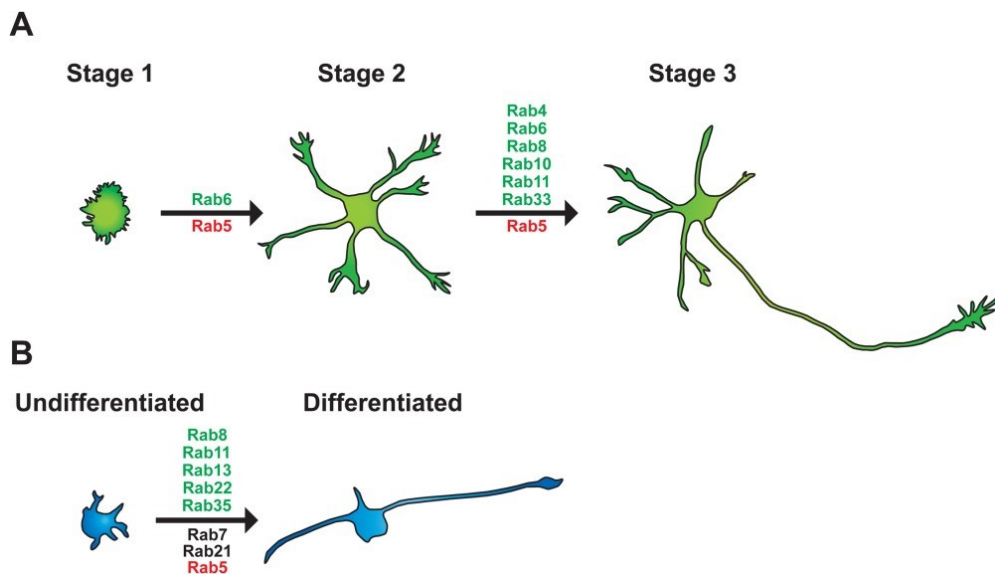
V tomto případě se nezdá, že by CNS bylo výrazněji omezeno schopností regenerace oproti PNS. Při injekci C3 peptidů do retinálních gangliových buněk (RGC) se značně zvýšila regenerace, to bylo ale účinné pouze během prvního týdne od zranění (Bertrand et al., 2007). Od C3 byl odvozen protein BA-210, který má podobné regenerační účinky, a navíc i protektivní účinky. Pro požadovanou efektivitu je ale potřeba ho podat během 24h od zranění (Lord-Fontaine et al., 2008). Později BA-210, pod obchodním názvem Cephirin, prošel bez zaznamenání vedlejších efektů klinickou zkouškou (Fehlings et al., 2011). U další studie byl u pacientů potvrzen účinek na zlepšení regenerace míšních neuronů, pokud se Cephirin podal během operace (McKerracher and Anderson, 2013). Také aplikace již zmiňovaných inhibitorů ROCK, kterými jsou Y-27632 a fasudil, zvýšila regeneraci RGC myšího optického nervu (Lingor et al., 2007). Další metodou je doručení DNROCK, tedy negativní alely genu ROCK, pomocí virového vektoru do neuronu CNS, kdy dojde k vypnutí ROCK dráhy. Účinek je stejný jako u inhibice farmaky – zvýšení regenerace (Wu et al., 2009). Jak další článek naznačuje, Rho-ROCK kaskáda může být regulátorem amyloidu  $\beta$ 42, který tvoří amyloidní plaky. Ty jsou hlavní příčinou neurodegenerativních účinků Alzheimerovy choroby. Inhibitor Y-27632 dokázal snížit hladinu amyloidu  $\beta$ 42 v myším modelu s indukovanou AD (Zhou et al., 2003). Pro snížení hladiny amyloidu  $\beta$ 42 jsou účinné ale i látky, které nehrají žádnou roli v Rho kaskádě, jako ibuprofen, indomethacin nebo sulindac sulphide (Weggen et al., 2001). Proteiny z rodiny Rho mají významný vliv na neuroregeneraci a mají terapeutický potenciál, který je již intenzivně zkoumán.

### **3.3 G-proteiny Rab**

Proteiny rodiny Rab se začaly významněji studovat až později než jiné monomerní G-proteiny. Prvním objeveným zástupcem této rodiny byl protein Sec4, a to v souvislosti se sekretorickou dráhou buňky (Salminen and Novick, 1987). Krátce na to bylo zjištěno, že exprese Rab3 je vázána na pouze na konkrétní tkáň – na mozkovou (Olofsson et al., 1988). Při porovnání genových sekvencí byla nalezena úzká podobnost mezi Rab1, Rab2, Rab3 a Sec4, o kterém se vědělo, že má regulační funkci v post-Golgi vezikulárním transportu. Funkce

proteinů této rodiny tedy spočívá v regulaci vezikulárního transportu v nervové soustavě (Ayala et al., 1989). Rab rodina zahrnuje kolem 60 malých GTPáz, jež zajišťují správné třídění materiálu určeného k endocytóze a exocytóze. Rab proteiny zajišťují odškrcení membrán, tvorbu váčku, pohyb váčku podél cytoskeletu, přiblížení a fúzi s cílovou membránou, to vše aktivací efektorových proteinů, kterými jsou třídící faktory, poutací faktory, kinázy, fosfatázy a molekulární motory (Stenmark, 2009). Proteiny Rab a jejich efekторы určují identitu jednotlivých organel a kompartmentů. Z toho důvodu se nacházejí na membránách všech organel, jež mají alespoň okrajovou roli v endomembránovém transportu.

Samotné Rab, ačkoliv jsou hlavním mechanismem, však vždy nestačí k určení identity (Ali et al., 2004). Dalším mechanismem je kooperace Rab se svým GEF (Gerondopoulos et al., 2012). GEF ke správnému vykonávání této funkce potřebuje zase GDI (Pylypenko et al., 2006). GDI reaguje pouze s prenylovanými Rab proteiny, které jsou touto postranlační modifikací přichyceny k membráně. S Rab proteiny volně disociovanými v cytoplazmě GDI není schopno reagovat. Volně disociované proteiny přiblíží k membráně eskortní protein RES, poté jsou Rab přikotveny k membráně geranylgeranyl transferázou (Andres et al., 1993). Podle rozsáhlého screeningu se v lidském těle nachází 30 různých Rab proteinů. Efekторы těchto proteinů bývají ve většině případů aktivovány několika Rab, nikoliv pouze jedním, což značí konvergenci kaskád regenerace (Fukuda et al., 2008).



Obr. 4 Rab proteiny kladně (zelené), záporně (červené) a oportunisticky (černé) ovlivňující polarizaci hipokampálních neuronů (A) a diferenciaci nervových buněk (B) (Villarreal-Campos et al., 2016)

Rostoucí axon potřebuje dodávat mnoho materiálu, aby mohl zvětšovat povrch své plazmatické membrány (PM) s odpovídající efektivitou, zároveň musí tento děj probíhat rychle vzhledem k nemalé velikosti axonu v porovnání s tělem neuronu. Jednotlivé Rab ovlivňují růst axonu různým způsobem (Obr. 4). Rab proteiny zde dále rozdělím podle transportní dráhy, se kterou jsou svázány.

### 3.3.1 Biosyntetická dráha a růst axonu

Rab proteiny související s exocytózou v biosyntetické dráze, a které jsou navázány na trans-Golgiho síť (TGN), jsou Rab6, Rab8, Rab10, Rab13 a Rab33. GTPázy účastníci se těchto drah zajišťují a podporují růst neuronu a jeho výběžků.

Protein Rab6 zajišťuje organizaci exocytotického transportu od TGN, označuje a váže materiál ke kinezinu, který přesouvá vezikl k plazmatické membráně (Grigoriev et al., 2007). Rab6 je regulátorem nervové diferenciaci. Během brzkého nervového vývoje se efektem Rab6 stává BICDR-1, jenž je silně exprimován a váže materiál na dyneinové motory, čímž brzdí růst axonů. Důvodem toho je, že materiál je v rané fázi vývoje potřeba pro růst těla neuronu. V dospělém neuronu je tvorba BICDR-1 nižší, a tak Rab6 podporuje anterográdní transport kinezinem Kif1C a růst axonu (Schlager et al., 2010). Transport za pomoci kinezinu Kif1C ale rovněž ovlivňuje množství adhezinu  $\alpha 5\beta 1$ , který se dostane k PM (Theisen et al., 2012) a to má pozitivní vliv na růst mozečkových granulárních neuronů (Wu et al., 2007). Další efektor proteinu Rab6, COH1, zajišťuje strukturální stabilitu Golgiho aparátu. Při roztržení a nestabilitě membrán Golgiho aparátu v důsledku snížené produkce Rab6 dochází ke snížení růstu neuronů (Seifert et al., 2015). U cílového místa na PM indukuje Rab6 aktivaci proteinu Rab8, ten poté organizuje zachycení veziklu a fúzi s cílovou membránou (Grigoriev et al., 2011).

Role Rab8 tedy shodně jako u Rab6 spočívá v přepravě vezikulů z TGN do PM a při inhibici Rab8 dochází ke sníženému růstu hipokampálních neuronů (Huber et al., 1995). Rab8 ale také reguluje recyklaci na PM, čímž podporuje růst výběžků neuronu (Hattula et al., 2006). Spousta drah se v membránovém transportu sbíhá. Jednou z nich je GEF proteinu Rab8, jež je zároveň GEF pro Rab11 (Horgan et al., 2013). Aktivita GEF náležícího proteinu Rab8 taktéž ovlivňuje dynamiku povrchových výběžků neuronu a polarizovaný membránový transport. Toto GEF může být aktivováno proteinkinázou C, kdy po aktivaci směřuje do výběžků neuronu (Hattula et al., 2002).

Protein Rab10 zajišťuje anterográdní přepravu vezikulů na PM a růst axonu. Jedním z jeho aktivátorů je protein Lgl1, který katalyzuje uvolnění GDI (Wang et al., 2011). Rab10 se

účastní přepravy po aktinovém ale i mikrotubulárním cytoskeletu. Přeprava po aktinovém začíná navázáním Rab10 na myosin Vb, tento komplex se následně odtrhává od TGN a dochází k tvorbě Rab10 vezikulů (Liu et al., 2013). Po mikrotubulárním cytoskeletu se přepravuje vezikl s Rab10 navázaným na protein JIP1. JIP1 je připojen na lehký řetězec kinezinu KLC, který se pohybuje po mikrotubulech. Tento komplex je důležitý pro polarizaci neuronů neokortexu (Deng et al., 2014). V blízkosti PM se vezikul s Rab10 váže na protein MARCKS, jenž umožňuje fúzi membrán. To ale pouze pokud je MARCKS fosforylován atypickou proteinkinázou C (Xu et al., 2014). PKC také zajišťuje fosforylaci a uvolnění výše zmíněného Lgl1 (Betschinger et al., 2003), a tak s přihlédnutím na fakt, že jednotlivé izotypy PKC jsou téměř zaměnitelné (Herget et al., 1995), lze konstatovat, že působnost PKC je synergická a důležitá v přepravě Rab10 vezikulů.

Rab13 se podílí na růstu a regeneraci neuronů. Efektorem Rab13 je JRAB/MICAL-L2. Společně tvoří komplex a vážou na sebe actinin-4, který přepravují z těla neuronu do periferie. Actinin-4 se následně ve výběžcích podílí na reorganizaci aktinového cytoskeletu, která ústí v růst axonu (Sakane et al., 2010). Protein JRAB/MICAL-L2 je zároveň i efektoem GTPázy Rab8. Tyto dvě dráhy konvergují a směřují tak v neuroregeneraci (Yamamura et al., 2008). Upstream regulátorem Rab13 je tumor-supresorový protein p53, jenž se účastní jak apoptózy neuronu, tak i jejich růstu a regenerace. Tyto protichůdné stavy jsou dány odlišnými post-translačními modifikacemi, kdy při acetylaci lysinu 320 dochází ke zvýšenému růstu neuronů v CNS i PNS (Di Giovanni et al., 2006).

Protein Rab33 se podílí na růstu axonů modulací anterográdního transportu. Jeho zvýšená exprese byla zaznamenána během růstu myších hipokampálních neuronů, kde Rab33 zajišťoval především fúzi veziklu s cílovou membránou růstového kužele (Nakazawa et al., 2012). Rab33a i Rab33b jsou exprimovány v mozku především během vývoje hipokampu a kortexu, přičemž jejich role v růstu axonů je do značné míry vzájemně zastupitelná (Huang et al., 2019).

### **3.3.2 Endocytóza a růst axonu**

Rab proteiny, jejichž kaskády souvisí s endocytózou a tedy retrográdním transportem směřujícím do časných endozomů (EE) nebo pozdních endozomů (LE), jsou Rab5, Rab7, Rab21 a Rab22. GTPázy účinkující v těchto drahách svým endocytotickým působením inhibují růst axonů.

Abnormální zvětšení EE je jednou z prvních vnitrobuněčných změn pyramidálních neuronů při onemocnění sporadickou Alzheimerovou chorobou nebo Downovým syndromem.



Časné endozomy souvisí s tvorbou amyloidu  $\beta$  (Cataldo et al., 2000). Zvětšení endozomů nastává kvůli zvýšené expresi Rab4, Rab5, Rab7 a Rab27. To ukazuje propojení mezi neurodegenerativními onemocněními a poškozenou endocytotickou dráhou (Ginsberg et al., 2011).

GTPáza Rab5 reguluje fúzi plazmatické membrány a veziklu směřujícího do EE (Gorvel et al., 1991). Rolí Rab5 je také udržování systému retrográdního transportu doplňováním membrán EE a LE a také lyzozomů (Zeigerer et al., 2012). Aktivace Rab5 působí svým retrográdním transportem snížený růst axonů. Rab5 je také inhibován růstovým faktorem NGF, který svými účinky kladně působí na růst neuronů (Liu et al., 2007). Protein Rab5 kooperuje a interaguje s kinázou LRRK2, přičemž společně regulují snížení růstu hipokampálních nervových výběžků. Mutace LRRK2, při které dochází ke zkrácení dendritů, je jednou z příčin Parkinsonovy choroby (Heo et al., 2010). Růstově inhibiční funkce Rab5 je velmi důležitá během nervového vývoje. Rab5 přes svůj efektor Rabaptin-5 reguluje Semaphorin 3A. Ten stimuluje kolaps růstových kuželů neuronů corpa callosa, které přemostňuje hemisféry, a nastává odpuzení axonů. Tímto mechanismem dochází k zajištění správného synaptického napojení (Wu et al., 2014). Dalšími efektoři jsou EEA1, které slouží jako poutací faktor k časnému endozomu během retrográdního transportu (Lawe et al., 2002), nebo protein SARA, který zajišťuje zvětšování EE a recyklaci receptorů z PM (Hu et al., 2002). Aby ale mohlo dojít k provedení těchto úkonů, musí být v komplexu s Rab5 a efektořem také GEF Rabex-5 (Lippé et al., 2001).

Rab7 postupně nahrazuje Rab5 při retrográdním transportu. Při transportu z EE do LE se vezikly, s nákladem určeným k degradaci, zvětšují, koncentrují a postupně ubývají. Během toho Rab5 konverguje na Rab7, což je zajištěno komplexem VPS/HOPS (Rink et al., 2005). Funkce Rab7 zůstává stejná jako u předcházející GTPázy – omezuje růst nervových výběžků. U některých pacientů s neurodegenerativními onemocněními byla nalezena mutace Rab7, což potvrzuje souvislost mezi poruchou retrográdního transportu a těmito nemocemi (Saxena et al., 2005). Jednou takovou neuropatií je onemocnění Charcot-Marie-Tooth, kde mutací dochází k přílišné expresi Rab7 vedoucí ke zkrácení axonů (Cogli et al., 2010).

GTPáza Rab21 se účastní dynamiky časných endozomů – jeho efektořem je EEA1 (Simpson et al., 2004). GEF proteinu Rab21 je Rabex-5, jenž je současně GEF proteinu Rab5. Funkce těchto dvou GTPáz je do značné míry zastupitelná. Rab21 ale disponuje autoinhibiční funkcí, která může být negována efektořem Rabaptin-5 (Delprato and Lambright, 2007), takto se může zvýšit šíře retrográdního transportu. Pokud GEF Varp aktivuje Rab21, dochází k růstu dendritů. K tomu dochází proto, že Varp aktivuje a zapojuje do komplexu protein TI-

VAMP, který se i v jiných kaskádách účastní exocytózy. Defektní mutace Rab21 zvyšuje exocytózu (Burgo et al., 2009). To značí, že bez TI-VAMP působí Rab21 v endocytóze. Rab21 působí v endocytóze i v exocytóze.

Rab22 organizuje transport materiálu a receptorů z EE do recyklujících endozomů (Magadán et al., 2006). Efektorem Rab22 je EEA1 (Mishra et al., 2010), který je společným efektoem i pro Rab5 a Rab21, což ukazuje určitou souběžnost těchto drah. Rozdílem mezi touto podobností zůstává, že Rabex-5 je GEF proteinu Rab5, ale pro Rab22 je efektoem. Takto tvoří synergistickou kaskádu Rab22-Rabex-5-Rab5 (Zhu et al., 2009).

### 3.3.3 Recyklující endozomy a růst axonu

Rab GTPázy, jejichž cyklus značně souvisí s recyklujícími endozomy (RE), jsou Rab4, Rab11, Rab14 a Rab35. Některé z nich podporují růst axonu, jiné růst svými účinky potlačují. Zda růst podporují nebo ne, se liší i v závislosti na dalších faktorech.

Rab4 umožňuje exocytotický transport již zrecyklovaného materiálu zpět na plazmatickou membránu růstového kuželu neuronů. To probíhá tak, že vezikly s proteinem Rab4 se odštěpují z endozomů, na které je do té doby vázán Rab5. To pozitivně ovlivňuje růst axonů (Falk et al., 2014). Rab4 přednostně zajišťuje anterográdní transport při vazbě na kinezin-2, minoritní roli má ale i v retrográdním transportu, kdy je navázán na dynein (Dey et al., 2017). Při Huntingtonově chorobě dochází k poškození HTT genu, jehož produkt za normálních okolností asociuje s Rab4. Výsledkem toho je nedostatečný transport na PM a z toho plynoucí snížený růst striatálních neuronů. Nadbytkem Rab4 však lze tyto defekty znegovat (White et al., 2020).

Rab11 reguluje anterográdní transport směřující z RE na PM. Rab11 je jednou z příčin omezené regenerace CNS v dospělosti. Při dozrávání neuronu se mění cílení Rab11 veziklu, s materiálem potřebným pro růst, z axonu na tělo neuronu. Avšak zvýšením exprese Rab11 dochází k přesycení těla neuronu Rab11 vezikly, jež směřují dále – do axonů. Takto byla znatelně zvýšena regenerace po axotomii, což značí terapeutický potenciál pro pacienty se zraněním CNS (Koseki et al., 2017). Jeho upstream regulátorem je kináza LMTK1, která ovšem aktivuje Rab11 pouze tehdy, pokud je sama fosforylována kinázou Cdk5. Jedná se tedy o kaskádu Cdk5-LMTK1-Rab11. Rab11 takto zajišťuje růst axonů kortikálních neuronů (Takano et al., 2012). Následně Rab11 vytvoří komplex se svým adaptorovým proteinem protrudin, s kinezinem KIF5 a efektorovými proteiny VAP, SURF4 a RTN3. Tento komplex směřuje na PM, kde efektorové proteiny zajišťují prodlužování axonu (Matsuzaki et al., 2011). Mimo jiné Rab11 společně se svým dalším efektoem RCP zajišťují pomocí veziklů

přepřpravu integrinů. Těmi jsou především alpha9 a beta1 ale i další integriny. Integriny na povrchu růstového kuželu pak způsobují růst a regeneraci axonu (Eva et al., 2010). RCP interaguje nejen s Rab11, ale se stejnou afinitou s Rab25 a s poloviční afinitou s Rab14 (Lall et al., 2015).

Rab14 zasahuje jak do biosyntetické exocytické dráhy, tak do recyklační endocytické dráhy. To z důvodu zprostředkování přemostění mezi TGN a EE (Junutula et al., 2004). Rab14 je hlavním proteinem, který je v lysozomech recyklován proteázami Cathepsin B a L. Při deficienci těchto proteáz dochází k prudkému zvýšení množství Rab14 a prostřednictvím toho směřuje na PM méně molekul, než by mělo. Následkem toho dochází k neurodegeneraci a indukci tumorů (Stahl et al., 2007).

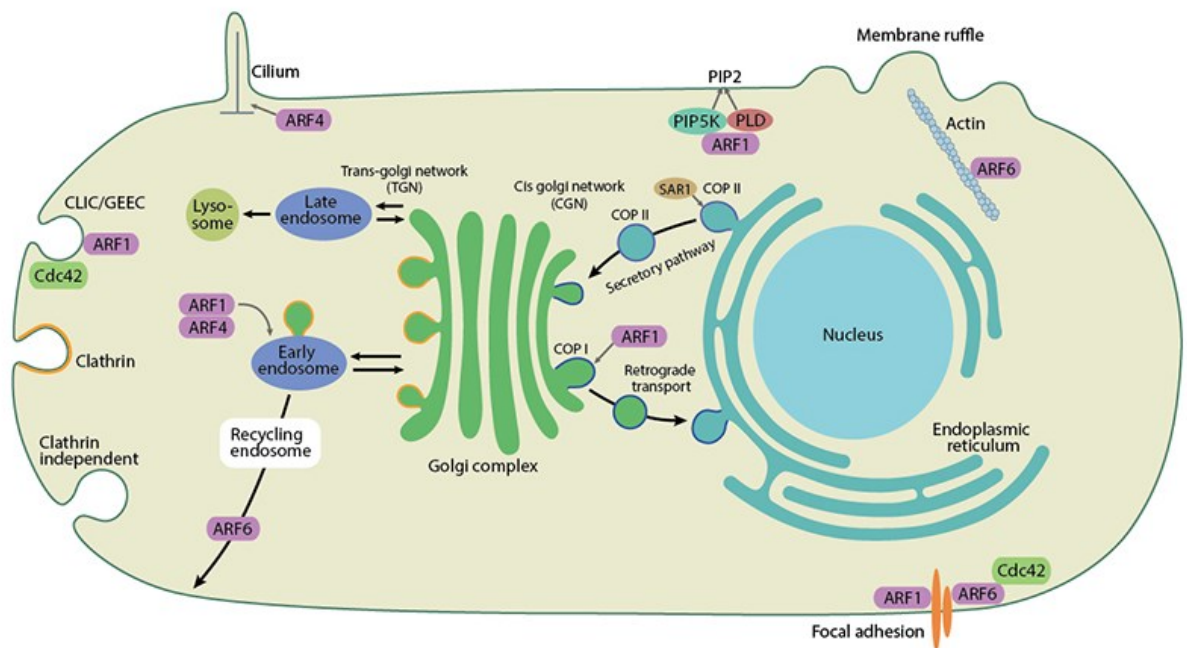
Protein Rab35 reguluje transport recyklační endocytózu. Náklad směřuje od PM k RE (Kouranti et al., 2006). Rab35 ale také způsobuje růst neuronů, přičemž mechanismem toho je regulace Rho GTPáz tak, aby podporovaly tvorbu aktinového cytoskeletu (Chevallier et al., 2009). Efektorem pro Rab35 je fascin, který dále zapřičičičňuje růst neuronů vazbou aktinu do svazků (Zhang et al., 2009). Tyto dva odlišné stavy – endocytóza a růst neuronu – jsou dány vazbou Rab35 s určitými GEF. Pokud je navázán connectin 3, tak Rab35 tvoří komplex s proteinem fascin, což podporuje růst neuronu. Pokud je na Rab35 navázán connectin 1 nebo 2, tak dochází k recyklační endocytóze materiálu a růst axonu je inhibován (Marat et al., 2012). Protein Rab35 také negativně reguluje tvorbu myelinu potlačením mTORC1. Tato kináza, pokud je aktivní, značně stimuluje tvorbu myelinu a růst neuronu (Sawade et al., 2020). Rab35 během růstu neuronu interaguje se svým dalším efektem centaurin- $\beta$ 2. Ten propojuje Rab35 s GTPázou Arf-6, jež se nachází také na RE, a současně Arf-6 jako její GAP vypíná (Kobayashi and Fukuda, 2012). Centaurin- $\beta$ 2 s dalším efektem proteinu Rab35 – MICAL-L1 – poté rekrutují EHD1, které inhibuje Arf-6 a tím ještě umocňuje růst axonů (Kobayashi and Fukuda, 2013). Aktivace MICAL-L1 způsobí aktivaci dalších Rab proteinů, které indukují růst neuronu. Rab35 tedy slouží jako integrační GTPáza, která dalšími mechanismy spouští růst axonu (Kobayashi et al., 2014).

### 3.4 G-proteiny Arf

Rodina Arf má fyziologicky částečně podobnou funkci jako rodina Rab – zajišťuje regulaci buněčných transportních procesů, dynamiku aktinového cytoskeletu, a navíc také i buněčnou adhezi a metabolismus lipidů (Obr. 5). Tato rodina zahrnuje přes 30 zástupců, z nichž se pouze polovina nachází v lidském těle. Dělí se do tří podrodin – Arf, Sar a Arf like (Sztul et al., 2019). První Arf byl objeven při ADP-ribozylaci  $G\alpha$  podjednotky trimerního G-

proteinu v komplexu s cholera toxinem. Z toho bylo odvozeno jméno této rodiny – ADP-ribosylační faktor (Arf) (Kahn and Gilman, 1984). Mezi eukaryoty se jedná o funkčně velmi konzervované proteiny (Kahn et al., 1991).

Proteiny Arf se nachází na membránách vezikulů a kompartmentů. Aby na nich mohly být přichyceny, jsou posttranslačně modifikované myristolyací, kdy jsou na N-koncovém glycinu přichyceny ke kyselině myristové. Tento proces katalyzuje N-myristoltransferáza (Lodge et al., 1997). Takto ukotveny mohou být ale pouze ve stavu s navázaným GTP (Antonny et al., 1997). Tuto schopnost – reagovat na změnu nukleotidu změnou lokalizace k membráně nebo mimo membránu – umožňuje Arf proteinům přítomnost tzv. propojovací smyčky. Smyčka přenáší konformační změnu z vazebného místa nukleotidu na N-konec. Sekvence pro tuto smyčku má podobnost s  $G\alpha$  podjednotkou trimerních G-proteinů a zároveň Arf rodinu naprosto odlišuje od zbylých rodin monomerních GTPáz (Carlos Amor et al., 1994). Arf se od zbylých rodin malých GTPáz odlišují také absencí GDI (Regazzi et al., 1992).



Obr. 5 Arf proteiny a jejich funkce – membránový transport, dynamika aktinového cytoskeletu a buněčná adheze (MBInfo National University of Singapore, použito 31.3. 2021)

### 3.4.1 Sar

Protein Sar1 má roli v anterográdním transportu mezi ER a GA při tvorbě COPII veziklu (Nakano and Muramatsu, 1989). Prvně je Sar1 aktivován svým GEF Sec12 (Barlowe and Schekman, 1993). Po aktivaci naváže Sar1 na membránu lipozomu či ER fosforylovaný

dimer Sec23/24 do blízkosti nákladu požadovaného k transportu. Dimer Sec23/24 následně do komplexu naváže fosforylovaný dimer Sec13/31. Takto vzniká obalový peptid komplexu COPII a dochází k polymeraci (Matsuoka et al., 1998). Protein Sec23 je ale zároveň GAP pro Sar1, a tak s kompletováním komplexu a vypučením veziklu dochází k rozpadu celého COPII komplexu. Sar1 je uvolněno a zůstává na membráně ER (Yoshihisa et al., 1993). Svou rolí v počátku biosyntetického transportu má Sar1 zásadní vliv na podporu růstu axonu. To je výrazné především během vývoje daného neuronu (Aridor and Fish, 2009). Více než na růst axonu má však Sar1 přímý vliv na růst dendritů (Ye et al., 2007). Významný vliv tohoto proteinu je i u astrocytů, které slouží jako „chůvy“ neuronů. Tyto buňky dokáží sekrecí neurotrofického faktoru MANF zabránit smrti neuronů při patofyziologických stavech, přičemž MANF je transportován COPII váčky (Oh-Hashi et al., 2012). To může být významné při léčbě neurodegenerativních onemocnění.

### 3.4.2 Arf

Arf1 má několik rolí v buněčném transportu, přičemž všechny vychází z Golgi. Nejvýznamnější je zajištění retrográdního transportu z GA do ER pomocí COPI váček. Transport začíná aktivací Arf1 pomocí jeho GEF GBF-1, přičemž se Arf1 ukotví na membráně GA (Deng et al., 2009). Aktivované Arf1 na sebe začíná navazovat  $\beta$ -COP podjednotky heptamerního koatomeru (Zhao et al., 1997). Takto se na  $\beta$ -COP otevírá další vazebné místo a postupně se tímto způsobem na sebe vážou další podjednotky koatomeru (Sun et al., 2007). Každá podjednotka heptameru váže odlišný náklad podle specifických aminokyselinových motivů (Eugster et al., 2004). Zároveň podjednotky koatomeru, náklad a SNARE proteiny poutají k budoucímu veziklu GAP, jež náleží proteinu Arf1 (Schindler et al., 2009). Hromadící se Arf1 nakonec způsobuje odtržení COPI váčku (Beck et al., 2011). Aktivita GAP proteinu Arf1 se zvyšuje s přibývajícím zakřivením. Při odtržení COPI váčku tedy nastává nejvyšší možné zakřivení a probíhá maximální aktivita GAP (Bigay et al., 2005). GAP posléze způsobuje hydrolýzu Arf1, které se tak odpoutává od COPI komplexu. Následkem toho se celý komplex rozpadá a vezikl s materiálem putuje do ER (Reinhard et al., 2003).

Vazebné místo Arf1 proteinu je kromě COPI schopno vázat i komplex adaptorového proteinu (AP), jenž se propojuje s klatrinem (Yu et al., 2012). Arf1 se tedy účastní i anterográdního transportu, který probíhá mezi TGN a endzomy. Arf1 rekrutuje AP-1, které se účastní sestavování klatrinového veziklu (Ren et al., 2013). Exprese Arf1 ovlivňuje vývoj celé mozkové kůry, při mutaci v jeho GEF dochází ke zmenšení mozku (Sheen et al., 2004). Svou

rolí na počátku transportního systému Arf1 podporuje růst axonů (Jareb and Banker, 1997). Především ale svým napojením na Golgi reguluje Arf1 růstovou asymetrii dendritů, přičemž podporuje v růstu vždy ten nejdelší (Horton et al., 2005).

Protein Arf3, pokud je vše v pořádku, nemá žádnou roli v buněčném transportu. Slouží jako náhrada Arf1 a uplatňuje se až při jeho absenci (Popoff et al., 2011). Arf4 kontroluje vývoj dendritických trnů a způsobuje jejich růst, zvyšuje také jejich hustotu na dendritu. Aktivita Arf4 je modulována jeho GAP ASAP1. Indukovanou zvýšenou produkcí Arf4 dorostly dendritické trny denta gyrá, které byly ztraceny následkem Alzheimerovy choroby (Jain et al., 2012). Snížená tvorba Arf4 byla také nalezena u Hirsprungovy choroby, kdy ve střevech nefungují parasympatická ganglia a nedochází tak ke správné peristaltice (Zhang et al., 2020). Arf4 společně s Arf5 regulují umístění některých proteinů. Tyto proteiny jsou odpovědné za hustotu rozmístění napětově závislých sodných kanálů v Purkyňových buňkách mozečku (Hosoi et al., 2019).

Arf6 působí v exocytóze mezi endozomy a plazmatickou membránou (Ashery et al., 1999). Arf6 má několik hlavních efektorů. Prvním je Rac1, což je současně i efektor RhoA GTPázy. Dalšími jsou fosfolipáza D (Santy and Casanova, 2001) a kináza PI4P5K (Honda et al., 1999). Propojení s kaskádami Rho rodiny je patrné právě zde – Arf6 zajišťuje přeměnu filopodií, které jsou indukovány Rac1 proteinem, na dendritické trny. Zároveň také zajišťuje stabilizaci a přežití (Choi et al., 2006). Další efekторы fosfolipázy D a PI4P5K zvyšují tvorbu PIP2, které váže klatrin adaptorový komplex AP-2 (Krauss et al., 2003; Paleotti et al., 2005). Arf6 má tedy klíčovou roli v klatrinem zprostředkované endocytóze. Efektor PI4P5K ale především zajišťuje prodlužování a rovněž větvení axonů (Hernández-Deviez et al., 2004). Zapojení Arf6 v neuroplasticitě a neuroregeneraci je také patrné z jeho vysokých hodnot během prvních dní po traumatu CNS (Kuharić et al., 2019). Arf6 v neuroplasticitě působí jako propojovací prvek mezi aktivitou NMDA receptorů a indukcí AMPA receptorů při dlouhodobé potenciaci. Zvýšením aktivace NMDA receptorů dochází přes Arf6 ke zvýšení rychlosti syntézy a zabudování AMPA receptorů do membrány neuronu (Oku and Haganir, 2013). Protein Arf6 by se mohl podílet na remyelinaci. Arf6 totiž v neuronech během jejich vývoje zajišťuje sekreci proteinu FGF-2, který působí jako atraktor oligodendrocytů (Akiyama et al., 2014). Arf6 je tedy důležitým regulačním faktorem pro růst všech nervových výběžků, je také hlavním regulátorem klatrinem zprostředkované endocytózy.

### 3.4.3 ARL (Arf like)

Arl proteiny ještě zdaleka nejsou tak prozkoumané jako Arf. Arl1 kontroluje v Golgi kvalitu proteinů připravených k exocytóze a to především ve fotoreceptorových buňkách (Lee et al., 2011). Mimo to Arl1, aktivovaný svým GEF Garz, poskytuje odlišnou exocytotickou cestu k růstu presynaptického nervového zakončení. Arl1 tvoří na GA komplex s proteinem Arfaptin, jenž po dopravě na PM zajišťuje růst axonu (Chang et al., 2015). Arl2, který je velice konzervovaný mezi eukaryoty, se váže s tubulin-vázajícím kofaktorem TBCD (Shern et al., 2003). Funkce TBCD spočívá v zachování stability dendritického větvení a růstu axonů pomocí změn v dynamice mikrotubulů. TBCD je současně efektoem pro Dscam, jehož mutace je zdrojem mentálních retardace při Downově syndromu (Okumura et al., 2015). Kvůli TBCD je Arl2 také odpovědný za vývoj cilií – nervových výběžků – fotoreceptorové buňky (Wright et al., 2018). Protein Arl3 je také asociován s mikrotubuly, navíc hraje roli při přežití a vývoji fotoreceptorových buněk a mechanosenzorických neuronů (Schrick et al., 2006).

Protein Arl4 se účastní vývoje CNS, přičemž zajišťuje kompartmentaci mozku. Interaguje přitom s importinem- $\alpha$  (Lin et al., 2000). Arl4 podporuje růst nervových výběžků a to především aktivací Arf6 (Yamauchi et al., 2009). GTPáza Arl4 je také jedním z efektorů mozkového neurotrofního faktoru (BDNF) a je aktivována při dlouhodobé potenciaci paměti (Alme et al., 2007). Arl6 se vyskytuje ve výběžcích sensorických a hlavových neuronů v souvislosti s mikrotubulárním transportem. Při mutaci dochází k Bardet-Biedlovu syndromu, jehož projevem je i, mimo jiné, kognitivní porucha (Fan et al., 2004).

Arl8 zajišťuje anterográdní transport vezikul z lysozomu do axonového terminálu rostoucího neuronu, čímž podporuje růst (Vukoja et al., 2018). Při tom Arl8 aktivuje kinezin UNC-104, který byl do té doby autoinhibován. Tímto mechanismem je zachována správná hustota a velikost synapsí (Niwa et al., 2016). Kromě toho Arl8 zajišťuje fúzi fagozomu a lysozomu (Garg et al., 2011). Díky tomu Arl8 dokáže v komplexu s proteinem hVps41, jenž usměrňuje transport do lysozomu, odstraňovat amyloid- $\beta$ . Dochází tak k redukcí neurodegenerativních plaků a zmírnění příznaků Alzheimerovy choroby (Griffin et al., 2018). Stejný tým již ukázal, že hVps41 je účinné i v boji s Parkinsonovou chorobou. Protein hVps41 dokáže odstraňovat špatně sbalený a hromadící se  $\alpha$ -synuclein, který jinak působí neurotoxicky. Takto zachovává buněčnou homeostázu a léčí PD (Harrington et al., 2012).

Proteiny Arl se účastní mikrotubulární dynamiky. Arl se kvůli svému působení v ciliích buněk vyskytují především v sensorických neuronech. Ačkoliv se často vyskytují

v buňkách jiných tkání, i tak mohou mít přesah při léčbě nebo potlačení následků některých genetických onemocnění spojených s nervovou soustavou.

### 3.5 G-proteiny Ran

GTPázy Ran jsou jedny z nejméně konzervovaných proteinů mezi eukaryoty (Ach and Gruissem, 1994). Na rozdíl od ostatních malých GTPáz se Ran nachází především v buněčném jádře a neváží se na membrány (Bischoff and Ponstingl, 1991). Ran slouží jako cyklický regulátor obousměrného transportu mezi cytoplazmou a karyoplazmou.

Transport požadovaného proteinu do jádra probíhá následovně – v cytoplazmě dojde k propojení  $\alpha$  a  $\beta$  podjednotek importinu a vzápětí tento heterodimer vytvoří komplex s proteinem obsahujícím jaderný lokalizační signál (NLS). Komplex se poté váže na jaderný pór (Görlich et al., 1995; Richardson et al., 1988). Vazbou RanGTP se komplex v jádře rozpadá, protein s NLS je na svém místě určen a RanGTP zůstává ve vazbě s importinem  $\beta$  (Rexach and Blobel, 1995). Importin  $\beta$  s RanGTP se vrací do cytoplazmy a RanBP1 se naváže místo importinu, čímž ho uvolní. Následně RanGAP stimuluje hydrolýzu GTP, přičemž dochází k rozpadu komplexu a Ran je v inaktivní formě s navázaným GDP (Bischoff and Ponstingl, 1991). Na RanGDP se váže jaderný transportní faktor (NTF2) a přesouvají se do jádra (Ribbeck et al., 1998). Tam dochází za pomoci RCC1, což je RanGEF, k výměně nukleotidů a Ran je znovu v aktivní formě s navázaným GTP (Bischoff and Ponstingl, 1991).

Transport nákladu z jádra v podobě proteinů a RNA probíhá takto – exportin CRM1 vytvoří komplex s RanGTP a proteinem obsahujícím jaderný exportní signál (NES) (Askjaer et al., 1998). Komplex se přichytí na jaderný pór a je přesunut do cytosolu. Poté RanBP1 v součinnosti s RanGAP hydrolýzou Ran rozváží komplex (Askjaer et al., 1999). NTF2 naváže RanGDP a přesouvají se do jádra, kde RCC1 provede výměnu nukleotidů a reaktivuje Ran (Bischoff and Ponstingl, 1991; Ribbeck et al., 1998).

#### 3.5.1 Účast Ran v neuroregeneraci a neurodegeneraci

Kromě jádra se RanGTP nachází i v axonální cytoplazmě v komplexu s dyneinem, importinem  $\alpha$  a CAS, přičemž CAS slouží jako transportér importinu  $\alpha$  z jádra. Ve zbytku těla neuronu je v ovšem podobě RanGDP. Při poškození axonu se zvýší lokální translace RanBP1 a to spolu s RanGAP rozvolní komplex Ran. Uvolněný importin  $\alpha$  se váže na importin  $\beta$ , heterodimer importinu se váže na dynein a s nákladem v podobě signální molekuly putují do jádra. Takto se účastní Ran retrográdní signalizace během poškození axonu neuronů PNS (Yudin et al., 2008).



Poškození jaderného transportu se též ukázalo být příčinou amyotrofické laterální sklerózy a frontotemporální demence. Při nahromadění repetice v genu C9orf72 dochází k blokaci RanGAP, čehož důsledkem je snížen import proteinů do jádra a dochází k neurodegeneraci. Overexpresí RanGAP, a tím zvýšeným jaderným importem a sníženým exportem, lze docílit potlačení neurodegenerace (Zhang et al., 2015). Dalším způsobem, jak může dojít ke vzniku ALS a FD, je mutace v TDP-43 (Benajiba et al., 2009; Sreedharan et al., 2008). Demenci vycházející ze stejné příčiny předchází ztenčování sítnice. Mutace způsobí, že TDP-43, které slouží ve splicingu pre-mRNA, se začne vyskytovat v cytosolu. Tak dochází k menší expresi Ran (Ward et al., 2014). Vyšší expresí Ran lze tedy zvýšit neuroregeneraci.

## 4 Závěr

Super-rodina GTPáz Ras má zásadní vliv na růst a regeneraci neuronů. Jednotlivé rodiny se přitom synergicky doplňují. Proteiny Ras rodiny jsou navázány na RTK. Jsou významnými mitogeny a podporují růst neuronu expresí proteinů, které zajišťují přestavbu cytoskeletu. Při zvýšené aktivitě Ras a necílené expresi všech produktů dochází k velmi vysoké pravděpodobnosti vzniku rakoviny. Při expresi cílené pouze na určité geny mají Ras proteiny terapeutický potenciál. Rho proteiny jsou aktivní při svém zakotvení do membrány a jsou aktivovány přes mnoho druhů receptorů. Zajišťují přestavby aktinového cytoskeletu a rovněž regulují navádění axonů během jejich růstu. Účinkují v neuroregeneraci a mají terapeutický potenciál. Účinná a bez vedlejších účinků se ukázala být především inhibice RhoA, jenž slouží jako negativní regulátor regenerace neuronů. Proteiny rodiny Rab se účastní všech hlavních transportních drah. Zajišťují tvorbu a transport váčků a také určují identitu membrán. Některé svou rolí na konci exocytotického transportního řetězce podporují růst axonu. Zvýšením syntézy Rab proteinů účastnících se exocytózy lze zvýšit neuroregeneraci. Proteiny z rodiny Arf jsou významnými regulátory tvorby vezikulů – Sar1 reguluje tvorbu COPII v anterográdním transportu, Arf1 reguluje tvorbu COPI v retrográdním transportu a Arf6 s Arf1 regulují klatrinem zprostředkovanou endocytózu. Arf1 regulují dynamiku mikrotubulů. Tato rodina podporuje růst axonů, ale především dendritů, díky svému postavení na začátku exocytotického transportního řetězce. Jejich léčebný potenciál by mohl nalézt uplatnění především u neurodegenerativních onemocnění. Ty často souvisí s poruchou buněčného transportu. V léčbě neurodegenerativních onemocnění by taktéž mohly nalézt uplatnění i Ran proteiny kvůli svému postavení na úplném počátku syntézy proteinů.

## 5 Použitá literatura

Použitá reviews jsou značena hvězdičkou \*

- Ach, R.A., Gruissem, W., 1994. A small nuclear GTP-binding protein from tomato suppresses a *Schizosaccharomyces pombe* cell-cycle mutant. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 91, 5863–5867.
- Akiyama, M., Hasegawa, H., Hongu, T., Frohman, M.A., Harada, A., Sakagami, H., Kanaho, Y., 2014. Trans-regulation of oligodendrocyte myelination by neurons through small GTPase Arf6-regulated secretion of fibroblast growth factor-2. *Nat. Commun.* 5, 4744.
- Ali, B.R., Wasmeier, C., Lamoreux, L., Strom, M., Seabra, M.C., 2004. Multiple regions contribute to membrane targeting of Rab GTPases. *J. Cell Sci.* 117, 6401–6412.
- Alme, M.N., Wibrand, K., Dagestad, G., Bramham, C.R., 2007. Chronic fluoxetine treatment induces brain region-specific upregulation of genes associated with BDNF-induced long-term potentiation. *Neural Plast.* 2007, 26496.
- Andres, D.A., Seabra, M.C., Brown, M.S., Armstrong, S.A., Smeland, T.E., Cremers, F.P., Goldstein, J.L., 1993. cDNA cloning of component A of Rab geranylgeranyl transferase and demonstration of its role as a Rab escort protein. *Cell* 73, 1091–1099.
- Antony, B., Beraud-Dufour, S., Chardin, P., Chabre, M., 1997. N-terminal hydrophobic residues of the G-protein ADP-ribosylation factor-1 insert into membrane phospholipids upon GDP to GTP exchange. *Biochemistry* 36, 4675–4684.
- Aridor, M., Fish, K.N., 2009. Selective targeting of ER exit sites supports axon development. *Traffic Cph. Den.* 10, 1669–1684.
- Ashery, U., Koch, H., Scheuss, V., Brose, N., Rettig, J., 1999. A presynaptic role for the ADP ribosylation factor (ARF)-specific GDP/GTP exchange factor msec7-1. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 96, 1094–1099.
- Askjaer, P., Bachi, A., Wilm, M., Bischoff, F.R., Weeks, D.L., Ogniewski, V., Ohno, M., Niehrs, C., Kjems, J., Mattaj, I.W., Fornerod, M., 1999. RanGTP-Regulated Interactions of CRM1 with Nucleoporins and a Shuttling DEAD-Box Helicase. *Mol. Cell. Biol.* 19, 6276–6285.
- Askjaer, P., Jensen, T.H., Nilsson, J., Englmeier, L., Kjems, J., 1998. The specificity of the CRM1-Rev nuclear export signal interaction is mediated by RanGTP. *J. Biol. Chem.* 273, 33414–33422.
- Auer, M., Schweigreiter, R., Hausott, B., Thongrong, S., Hölting, M., Just, I., Bandtlow, C., Klimaschewski, L., 2012. Rho-independent stimulation of axon outgrowth and activation of the ERK and Akt signaling pathways by C3 transferase in sensory neurons. *Front. Cell. Neurosci.* 6, 43.
- Ayala, J., Olofsson, B., Touchot, N., Zahraoui, A., Tavitian, A., Prochiantz, A., 1989. Developmental and regional expression of three new members of the ras-gene family in the mouse brain. *J. Neurosci. Res.* 22, 384–389.
- Bailey, S.B., Eichler, M.E., Villadiego, A., Rich, K.M., 1993. The influence of fibronectin and laminin during Schwann cell migration and peripheral nerve regeneration through silicon chambers. *J. Neurocytol.* 22, 176–184.
- Barberan, S., McNair, K., Iqbal, K., Smith, N.C., Prendergast, G.C., Stone, T.W., Cobb, S.R., Morris, B.J., 2011. Altered apoptotic responses in neurons lacking RhoB GTPase. *Eur. J. Neurosci.* 34, 1737–1746.
- Barlowe, C., Schekman, R., 1993. SEC12 encodes a guanine-nucleotide-exchange factor essential for transport vesicle budding from the ER. *Nature* 365, 347–349.
- Bar-Sagi, D., Feramisco, J.R., 1985. Microinjection of the ras oncogene protein into PC12 cells induces morphological differentiation. *Cell* 42, 841–848.
- Beck, R., Prinz, S., Diestelkötter-Bachert, P., Röhling, S., Adolf, F., Hoehner, K., Welsch, S., Ronchi, P., Brügger, B., Briggs, J.A.G., Wieland, F., 2011. Coatamer and dimeric ADP ribosylation factor 1 promote distinct steps in membrane scission. *J. Cell Biol.* 194, 765–777.
- Benajiba, L., Le Ber, I., Camuzat, A., Lacoste, M., Thomas-Anterion, C., Couratier, P., Legallic, S., Salachas, F., Hannequin, D., Decousus, M., Lacomblez, L., Guedj, E., Golfier, V., Camu, W., Dubois, B., Campion, D., Meininger, V., Brice, A., French Clinical and Genetic Research Network on Frontotemporal Lobar Degeneration/Frontotemporal Lobar Degeneration with Motoneuron Disease, 2009. TARDBP mutations in motoneuron disease with frontotemporal lobar degeneration. *Ann. Neurol.* 65, 470–473.

- Bertrand, J., Polo, A., Mckerracher, L., 2007. Enhanced survival and regeneration of axotomized retinal neurons by repeated delivery of cell-permeable C3-like Rho antagonists. *Neurobiol. Dis.*
- Betschinger, J., Mechtler, K., Knoblich, J.A., 2003. The Par complex directs asymmetric cell division by phosphorylating the cytoskeletal protein Lgl. *Nature* 422, 326–330.
- Bigay, J., Casella, J.-F., Drin, G., Mesmin, B., Antonny, B., 2005. ArfGAP1 responds to membrane curvature through the folding of a lipid packing sensor motif. *EMBO J.* 24, 2244–2253.
- Bischoff, F.R., Ponstingl, H., 1991. Mitotic regulator protein RCC1 is complexed with a nuclear ras-related polypeptide. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 88, 10830–10834.
- Borasio, G.D., John, J., Wittinghofer, A., Barde, Y.A., Sendtner, M., Heumann, R., 1989. ras p21 protein promotes survival and fiber outgrowth of cultured embryonic neurons. *Neuron* 2, 1087–1096.
- Bradke, F., Dotti, C.G., 1999. The Role of Local Actin Instability in Axon Formation. *Science* 283, 1931–1934.
- Burgo, A., Sotirakis, E., Simmler, M.-C., Verraes, A., Chamot, C., Simpson, J.C., Lanzetti, L., Proux-Gillardeaux, V., Galli, T., 2009. Role of Varp, a Rab21 exchange factor and TI-VAMP/VAMP7 partner, in neurite growth. *EMBO Rep.* 10, 1117–1124.
- Carlos Amor, J., Harrison, D.H., Kahn, R.A., Ringe, D., 1994. Structure of the human ADP-ribosylation factor 1 complexed with GDP. *Nature* 372, 704–708.
- Cassidy, J.D., Carroll, L.J., Peloso, P.M., Borg, J., von Holst, H., Holm, L., Kraus, J., Coronado, V.G., WHO Collaborating Centre Task Force on Mild Traumatic Brain Injury, 2004. Incidence, risk factors and prevention of mild traumatic brain injury: results of the WHO Collaborating Centre Task Force on Mild Traumatic Brain Injury. *J. Rehabil. Med.* 28–60.
- Castillo-Lluva, S., Tatham, M.H., Jones, R.C., Jaffray, E.G., Edmondson, R.D., Hay, R.T., Malliri, A., 2010. SUMOylation of the GTPase Rac1 is required for optimal cell migration. *Nat. Cell Biol.* 12, 1078–1085.
- Cataldo, A.M., Peterhoff, C.M., Troncoso, J.C., Gomez-Isla, T., Hyman, B.T., Nixon, R.A., 2000. Endocytic pathway abnormalities precede amyloid beta deposition in sporadic Alzheimer's disease and Down syndrome: differential effects of APOE genotype and presenilin mutations. *Am. J. Pathol.* 157, 277–286.
- Chan, C.B., Liu, X., Pradoldej, S., Hao, C., An, J., Yepes, M., Luo, H.R., Ye, K., 2011. Phosphoinositide 3-kinase enhancer regulates neuronal dendritogenesis and survival in neocortex. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 31, 8083–8092.
- Chang, L., Kreko-Pierce, T., Eaton, B.A., 2015. The guanine exchange factor Gartenzweg and the small GTPase Arl1 function in the same pathway with Arfaptin during synapse growth. *Biol. Open* 4, 947–953.
- Chen, L., Liao, G., Waclaw, R.R., Burns, K.A., Linnquist, D., Campbell, K., Zheng, Y., Kuan, C.-Y., 2007. Rac1 controls the formation of midline commissures and the competency of tangential migration in ventral telencephalic neurons. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 27, 3884–3893.
- Cheng, C., Webber, C.A., Wang, J., Xu, Y., Martinez, J.A., Liu, W.Q., McDonald, D., Guo, G.F., Nguyen, M.D., Zochodne, D.W., 2008. Activated RHOA and peripheral axon regeneration. *Exp. Neurol.* 212, 358–369.
- \* Cherfils, J., Zeghouf, M., 2013. Regulation of Small GTPases by GEFs, GAPs, and GDIs. *Physiol. Rev.* 93, 269–309.
- Chevallier, J., Koop, C., Srivastava, A., Petrie, R.J., Lamarche-Vane, N., Presley, J.F., 2009. Rab35 regulates neurite outgrowth and cell shape. *FEBS Lett.* 583, 1096–1101.
- Cho, Y., Sloutsky, R., Naegle, K.M., Cavalli, V., 2013. Injury-induced HDAC5 nuclear export is essential for axon regeneration. *Cell* 155, 894–908.
- Choi, S., Ko, J., Lee, J.-R., Lee, H.W., Kim, K., Chung, H.S., Kim, H., Kim, E., 2006. ARF6 and EFA6A Regulate the Development and Maintenance of Dendritic Spines. *J. Neurosci.* 26, 4811–4819.
- Cogli, L., Progida, C., Lecci, R., Bramato, R., Krüttgen, A., Bucci, C., 2010. CMT2B-associated Rab7 mutants inhibit neurite outgrowth. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 120, 491–501.
- Corbetta, S., Gualdoni, S., Albertinazzi, C., Paris, S., Croci, L., Consalez, G.G., de Curtis, I., 2005. Generation and characterization of Rac3 knockout mice. *Mol. Cell. Biol.* 25, 5763–5776.

- Cowan, C.W., Shao, Y.R., Sahin, M., Shamah, S.M., Lin, M.Z., Greer, P.L., Gao, S., Griffith, E.C., Brugge, J.S., Greenberg, M.E., 2005. Vav family GEFs link activated Ephs to endocytosis and axon guidance. *Neuron* 46, 205–217.
- Dahiya, S., Emmett, R.J., Haydon, D.H., Leonard, J.R., Phillips, J.J., Perry, A., Gutmann, D.H., 2014. BRAF-V600E mutation in pediatric and adult glioblastoma. *Neuro-Oncol.* 16, 318–319.
- Dankort, D., Curley, D.P., Carlidge, R.A., Nelson, B., Karnezis, A.N., Damsky, W.E., You, M.J., DePinho, R.A., McMahon, M., Bosenberg, M., 2009. Braf(V600E) cooperates with Pten loss to induce metastatic melanoma. *Nat. Genet.* 41, 544–552.
- \* de Lau, L.M., Breteler, M.M., 2006. Epidemiology of Parkinson's disease. *Lancet Neurol.* 5, 525–535.
- Delprato, A., Lambright, D.G., 2007. Structural basis for Rab GTPase activation by VPS9 domain exchange factors. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 14, 406–412.
- Deng, C.-Y., Lei, W.-L., Xu, X.-H., Ju, X.-C., Liu, Y., Luo, Z.-G., 2014. JIP1 mediates anterograde transport of Rab10 cargos during neuronal polarization. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 34, 1710–1723.
- Deng, Y., Golinelli-Cohen, M.-P., Smirnova, E., Jackson, C.L., 2009. A COPI coat subunit interacts directly with an early-Golgi localized Arf exchange factor. *EMBO Rep.* 10, 58–64.
- Dever, T.E., Glynias, M.J., Merrick, W.C., 1987. GTP-binding domain: three consensus sequence elements with distinct spacing. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 84, 1814–1818.
- Dey, S., Banker, G., Ray, K., 2017. Anterograde Transport of Rab4-Associated Vesicles Regulates Synapse Organization in *Drosophila*. *Cell Rep.* 18, 2452–2463.
- Di Giovanni, S., Knights, C.D., Rao, M., Yakovlev, A., Beers, J., Catania, J., Avantaggiati, M.L., Faden, A.I., 2006. The tumor suppressor protein p53 is required for neurite outgrowth and axon regeneration. *EMBO J.* 25, 4084–4096.
- Edmondson, J.C., Hatten, M.E., 1987. Glial-guided granule neuron migration in vitro: a high-resolution time-lapse video microscopic study. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 7, 1928–1934.
- Erschbamer, M.K., Hofstetter, C.P., Olson, L., 2005. RhoA, RhoB, RhoC, Rac1, Cdc42, and Tc10 mRNA levels in spinal cord, sensory ganglia, and corticospinal tract neurons and long-lasting specific changes following spinal cord injury. *J. Comp. Neurol.* 484, 224–233.
- Eugster, A., Frigerio, G., Dale, M., Duden, R., 2004. The  $\alpha$ - and  $\beta$ '-COP WD40 Domains Mediate Cargo-selective Interactions with Distinct Di-lysine Motifs. *Mol. Biol. Cell* 15, 1011–1023.
- Eva, R., Dassie, E., Caswell, P.T., Dick, G., ffrench-Constant, C., Norman, J.C., Fawcett, J.W., 2010. Rab11 and its effector Rab coupling protein contribute to the trafficking of beta 1 integrins during axon growth in adult dorsal root ganglion neurons and PC12 cells. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 30, 11654–11669.
- Fahn, S., Oakes, D., Shoulson, I., Kieburtz, K., Rudolph, A., Lang, A., Olanow, C.W., Tanner, C., Marek, K., Parkinson Study Group, 2004. Levodopa and the progression of Parkinson's disease. *N. Engl. J. Med.* 351, 2498–2508.
- Falk, J., Konopacki, F.A., Zivraj, K.H., Holt, C.E., 2014. Rab5 and Rab4 regulate axon elongation in the *Xenopus* visual system. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 34, 373–391.
- Fan, Y., Esmail, M.A., Ansley, S.J., Blacque, O.E., Borojevich, K., Ross, A.J., Moore, S.J., Badano, J.L., May-Simera, H., Compton, D.S., Green, J.S., Lewis, R.A., van Haelst, M.M., Parfrey, P.S., Baillie, D.L., Beales, P.L., Katsanis, N., Davidson, W.S., Leroux, M.R., 2004. Mutations in a member of the Ras superfamily of small GTP-binding proteins causes Bardet-Biedl syndrome. *Nat. Genet.* 36, 989–993.
- Fehlings, M.G., Theodore, N., Harrop, J., Maurais, G., Kuntz, C., Shaffrey, C.I., Kwon, B.K., Chapman, J., Yee, A., Tighe, A., McKerracher, L., 2011. A phase I/IIa clinical trial of a recombinant Rho protein antagonist in acute spinal cord injury. *J. Neurotrauma* 28, 787–796.
- Felderhoff-Mueser, U., Bittigau, P., Sifringer, M., Jarosz, B., Korobowicz, E., Mahler, L., Piening, T., Moysich, A., Grune, T., Thor, F., Heumann, R., Bührer, C., Ikonomidou, C., 2004. Oxygen causes cell death in the developing brain. *Neurobiol. Dis.* 17, 273–282.
- Finelli, M.J., Murphy, K.J., Chen, L., Zou, H., 2013. Differential phosphorylation of Smad1 integrates BMP and neurotrophin pathways through Erk/Dusp in axon development. *Cell Rep.* 3, 1592–1606.

- Fromm, C., Coso, O.A., Montaner, S., Xu, N., Gutkind, J.S., 1997. The small GTP-binding protein Rho links G protein-coupled receptors and Galpha12 to the serum response element and to cellular transformation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 94, 10098–10103.
- Frostick, S.P., Yin, Q., Kemp, G.J., 1998. Schwann cells, neurotrophic factors, and peripheral nerve regeneration. *Microsurgery* 18, 397–405.
- Fukuda, M., Kanno, E., Ishibashi, K., Itoh, T., 2008. Large Scale Screening for Novel Rab Effectors Reveals Unexpected Broad Rab Binding Specificity. *Mol. Cell. Proteomics* 7, 1031–1042.
- Galabova-Kovacs, G., Catalanotti, F., Matzen, D., Reyes, G.X., Zezula, J., Herbst, R., Silva, A., Walter, I., Baccarini, M., 2008. Essential role of B-Raf in oligodendrocyte maturation and myelination during postnatal central nervous system development. *J. Cell Biol.* 180, 947–955.
- Galgano, M., Toshkezi, G., Qiu, X., Russell, T., Chin, L., Zhao, L.-R., 2017. Traumatic Brain Injury. *Cell Transplant.* 26, 1118–1130.
- Garg, S., Sharma, M., Ung, C., Tuli, A., Barral, D.C., Hava, D.L., Veerapen, N., Besra, G.S., Hacohen, N., Brenner, M.B., 2011. Lysosomal trafficking, antigen presentation, and microbial killing are controlled by the Arf-like GTPase Arl8b. *Immunity* 35, 182–193.
- Gärtner, U., Alpár, A., Reimann, F., Seeger, G., Heumann, R., Arendt, T., 2004. Constitutive Ras activity induces hippocampal hypertrophy and remodeling of pyramidal neurons in synRas mice. *J. Neurosci. Res.* 77, 630–641.
- Gerondopoulos, A., Langemeyer, L., Liang, J.-R., Linford, A., Barr, F.A., 2012. BLOC-3 Mutated in Hermansky-Pudlak Syndrome Is a Rab32/38 Guanine Nucleotide Exchange Factor. *Curr. Biol.* 22, 2135–2139.
- Ginsberg, S.D., Mufson, E.J., Alldred, M.J., Counts, S.E., Wu, J., Nixon, R.A., Che, S., 2011. Upregulation of select rab GTPases in cholinergic basal forebrain neurons in mild cognitive impairment and Alzheimer’s disease. *J. Chem. Neuroanat.* 42, 102–110.
- Görlich et al., 1995. Two different subunits of importin cooperate to recognize nuclear localization signals and bind them to the nuclear envelope.
- Gorvel, J.P., Chavrier, P., Zerial, M., Gruenberg, J., 1991. rab5 controls early endosome fusion in vitro. *Cell* 64, 915–925.
- Griffin, E.F., Yan, X., Caldwell, K.A., Caldwell, G.A., 2018. Distinct functional roles of Vps41-mediated neuroprotection in Alzheimer’s and Parkinson’s disease models of neurodegeneration. *Hum. Mol. Genet.* 27, 4176–4193.
- Grigoriev, I., Splinter, D., Keijzer, N., Wulf, P.S., Demmers, J., Ohtsuka, T., Modesti, M., Maly, I.V., Grosveld, F., Hoogenraad, C.C., Akhmanova, A., 2007. Rab6 regulates transport and targeting of exocytotic carriers. *Dev. Cell* 13, 305–314.
- Grigoriev, I., Yu, K.L., Martinez-Sanchez, E., Serra-Marques, A., Smal, I., Meijering, E., Demmers, J., Peränen, J., Pasterkamp, R.J., van der Sluijs, P., Hoogenraad, C.C., Akhmanova, A., 2011. Rab6, Rab8, and MICAL3 cooperate in controlling docking and fusion of exocytotic carriers. *Curr. Biol. CB* 21, 967–974.
- Grossman, S.D., Rosenberg, L.J., Wrathall, J.R., 2001. Temporal-spatial pattern of acute neuronal and glial loss after spinal cord contusion. *Exp. Neurol.* 168, 273–282.
- Harrington, A.J., Yacoubian, T.A., Slone, S.R., Caldwell, K.A., Caldwell, G.A., 2012. Functional analysis of VPS41-mediated neuroprotection in *Caenorhabditis elegans* and mammalian models of Parkinson’s disease. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 32, 2142–2153.
- Harvey, J.J., 1964. An Unidentified Virus which causes the Rapid Production of Tumours in Mice. *Nature* 204, 1104–1105.
- Hattula, K., Furuholm, J., Arffman, A., Peränen, J., 2002. A Rab8-specific GDP/GTP exchange factor is involved in actin remodeling and polarized membrane transport. *Mol. Biol. Cell* 13, 3268–3280.
- Hattula, K., Furuholm, J., Tikkanen, J., Tanhuanpää, K., Laakkonen, P., Peränen, J., 2006. Characterization of the Rab8-specific membrane traffic route linked to protrusion formation. *J. Cell Sci.* 119, 4866–4877.
- Hennig, A., Markwart, R., Esparza-Franco, M.A., Ladds, G., Rubio, I., 2015. Ras activation revisited: role of GEF and GAP systems. *Biol. Chem.* 396, 831–848.

- Heo, H.Y., Kim, K.-S., Seol, W., 2010. Coordinate Regulation of Neurite Outgrowth by LRRK2 and Its Interactor, Rab5. *Exp. Neurobiol.* 19, 97–105.
- Herget, T., Oehrlein, S.A., Pappin, D.J., Rozengurt, E., Parker, P.J., 1995. The myristoylated alanine-rich C-kinase substrate (MARCKS) is sequentially phosphorylated by conventional, novel and atypical isoforms of protein kinase C. *Eur. J. Biochem.* 233, 448–457.
- Hernández-Deviez, D.J., Roth, M.G., Casanova, J.E., Wilson, J.M., 2004. ARNO and ARF6 regulate axonal elongation and branching through downstream activation of phosphatidylinositol 4-phosphate 5-kinase alpha. *Mol. Biol. Cell* 15, 111–120.
- Heumann, R., Goemans, C., Bartsch, D., Lingenhöhl, K., Waldmeier, P.C., Hengerer, B., Allegrini, P.R., Schellander, K., Wagner, E.F., Arendt, T., Kamdem, R.H., Obst-Pernberg, K., Narz, F., Wahle, P., Berns, H., 2000. Transgenic activation of Ras in neurons promotes hypertrophy and protects from lesion-induced degeneration. *J. Cell Biol.* 151, 1537–1548.
- Hiraga, A., Kuwabara, S., Doya, H., Kanai, K., Fujitani, M., Taniguchi, J., Arai, K., Mori, M., Hattori, T., Yamashita, T., 2006. Rho-kinase inhibition enhances axonal regeneration after peripheral nerve injury. *J. Peripher. Nerv. Syst.* 11, 217–224.
- Honda, A., Nogami, M., Yokozeki, T., Yamazaki, M., Nakamura, H., Watanabe, H., Kawamoto, K., Nakayama, K., Morris, A.J., Frohman, M.A., Kanaho, Y., 1999. Phosphatidylinositol 4-phosphate 5-kinase alpha is a downstream effector of the small G protein ARF6 in membrane ruffle formation. *Cell* 99, 521–532.
- Horgan, C.P., Hanscom, S.R., McCaffrey, M.W., 2013. GRAB is a binding partner for the Rab11a and Rab11b GTPases. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 441, 214–219.
- Horton, A.C., Rácz, B., Monson, E.E., Lin, A.L., Weinberg, R.J., Ehlers, M.D., 2005. Polarized Secretory Trafficking Directs Cargo for Asymmetric Dendrite Growth and Morphogenesis. *Neuron* 48, 757–771.
- Hosoi, N., Shibasaki, K., Hosono, M., Konno, A., Shinoda, Y., Kiyonari, H., Inoue, K., Muramatsu, S.-I., Ishizaki, Y., Hirai, H., Furuichi, T., Sadakata, T., 2019. Deletion of Class II ADP-Ribosylation Factors in Mice Causes Tremor by the Nav1.6 Loss in Cerebellar Purkinje Cell Axon Initial Segments. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 39, 6339–6353.
- Hotchin, N.A., Hall, A., 1995. The assembly of integrin adhesion complexes requires both extracellular matrix and intracellular rho/rac GTPases. *J. Cell Biol.* 131, 1857–1865.
- Hu, Y., Chuang, J.-Z., Xu, K., McGraw, T.G., Sung, C.-H., 2002. SARA, a FYVE domain protein, affects Rab5-mediated endocytosis. *J. Cell Sci.* 115, 4755–4763.
- Huang, L., Urasaki, A., Inagaki, N., 2019. Rab33a and Rab33ba mediate the outgrowth of forebrain commissural axons in the zebrafish brain. *Sci. Rep.* 9, 1799.
- Huber, L.A., Dupree, P., Dotti, C.G., 1995. A deficiency of the small GTPase rab8 inhibits membrane traffic in developing neurons. *Mol. Cell. Biol.* 15, 918–924.
- Huelsenbeck, S.C., Rohrbeck, A., Handreck, A., Hellmich, G., Kiaei, E., Roettinger, I., Grothe, C., Just, I., Haastert-Talini, K., 2012. C3 peptide promotes axonal regeneration and functional motor recovery after peripheral nerve injury. *Neurother. J. Am. Soc. Exp. Neurother.* 9, 185–198.
- \* Humphries, B., Wang, Z., Yang, C., 2020. Rho GTPases: Big Players in Breast Cancer Initiation, Metastasis and Therapeutic Responses. *Cells* 9, 2167.
- Jain, S., Yoon, S.Y., Zhu, L., Brodbeck, J., Dai, J., Walker, D., Huang, Y., 2012. Arf4 determines dentate gyrus-mediated pattern separation by regulating dendritic spine development. *PLoS One* 7, e46340.
- Jalink, K., van Corven, E.J., Hengeveld, T., Morii, N., Narumiya, S., Moolenaar, W.H., 1994. Inhibition of lysophosphatidate- and thrombin-induced neurite retraction and neuronal cell rounding by ADP ribosylation of the small GTP-binding protein Rho. *J. Cell Biol.* 126, 801–810.
- Jankovic, J., Kapadia, A.S., 2001. Functional Decline in Parkinson Disease. *Arch. Neurol.* 58, 1611.
- Jareb, M., Banker, G., 1997. Inhibition of Axonal Growth by Brefeldin A in Hippocampal Neurons in Culture. *J. Neurosci.* 17, 8955–8963.
- Junutula, J.R., De Mazière, A.M., Peden, A.A., Ervin, K.E., Advani, R.J., van Dijk, S.M., Klumperman, J., Scheller, R.H., 2004. Rab14 Is Involved in Membrane Trafficking between the Golgi Complex and Endosomes. *Mol. Biol. Cell* 15, 2218–2229.

- Kahn, R.A., Gilman, A.G., 1984. Purification of a protein cofactor required for ADP-ribosylation of the stimulatory regulatory component of adenylate cyclase by cholera toxin. *J. Biol. Chem.* 259, 6228–6234.
- Kahn, R.A., Kern, F.G., Clark, J., Gelmann, E.P., Rulka, C., 1991. Human ADP-ribosylation factors. A functionally conserved family of GTP-binding proteins. *J. Biol. Chem.* 266, 2606–2614.
- Kamata, T., Feramisco, J.R., 1984. Epidermal growth factor stimulates guanine nucleotide binding activity and phosphorylation of ras oncogene proteins. *Nature* 310, 147–150.
- Kamber, D., Erez, H., Spira, M.E., 2009. Local calcium-dependent mechanisms determine whether a cut axonal end assembles a retarded endbulb or competent growth cone. *Exp. Neurol., Brain Stimulation in Psychiatry* 219, 112–125.
- Kawas, C.H., Corrada, M.M., Brookmeyer, R., Morrison, A., Resnick, S.M., Zonderman, A.B., Arenberg, D., 2003. Visual memory predicts Alzheimer's disease more than a decade before diagnosis. *Neurology* 60, 1089–1093.
- Kobayashi, H., Etoh, K., Ohbayashi, N., Fukuda, M., 2014. Rab35 promotes the recruitment of Rab8, Rab13 and Rab36 to recycling endosomes through MICAL-L1 during neurite outgrowth. *Biol. Open* 3, 803–814.
- Kobayashi, H., Fukuda, M., 2013. Rab35 establishes the EHD1-association site by coordinating two distinct effectors during neurite outgrowth. *J. Cell Sci.* 126, 2424–2435.
- Kobayashi, H., Fukuda, M., 2012. Rab35 regulates Arf6 activity through centaurin- $\beta$ 2 (ACAP2) during neurite outgrowth. *J. Cell Sci.* 125, 2235–2243.
- Koseki, H., Donegá, M., Lam, B.Y., Petrova, V., van Erp, S., Yeo, G.S., Kwok, J.C., Ffrench-Constant, C., Eva, R., Fawcett, J.W., 2017. Selective rab11 transport and the intrinsic regenerative ability of CNS axons. *eLife* 6.
- Kouranti, I., Sachse, M., Arouche, N., Goud, B., Echard, A., 2006. Rab35 regulates an endocytic recycling pathway essential for the terminal steps of cytokinesis. *Curr. Biol. CB* 16, 1719–1725.
- Krauss, M., Kinuta, M., Wenk, M.R., De Camilli, P., Takei, K., Haucke, V., 2003. ARF6 stimulates clathrin/AP-2 recruitment to synaptic membranes by activating phosphatidylinositol phosphate kinase type I $\gamma$ . *J. Cell Biol.* 162, 113–124.
- Kuharić, J., Grabušić, K., Tokmadžić, V.S., Štifter, S., Tulić, K., Shevchuk, O., Lućin, P., Šustić, A., 2019. Severe Traumatic Brain Injury Induces Early Changes in the Physical Properties and Protein Composition of Intracranial Extracellular Vesicles. *J. Neurotrauma* 36, 190–200.
- Kumar, R., Lim, J., Mekary, R.A., Rattani, A., Dewan, M.C., Sharif, S.Y., Osorio-Fonseca, E., Park, K.B., 2018. Traumatic Spinal Injury: Global Epidemiology and Worldwide Volume. *World Neurosurg.* 113, e345–e363.
- Kuruvilla, R., Ye, H., Ginty, D.D., 2000. Spatially and functionally distinct roles of the PI3-K effector pathway during NGF signaling in sympathetic neurons. *Neuron* 27, 499–512.
- Kwon, B.K., Liu, J., Messerer, C., Kobayashi, N.R., McGraw, J., Oschipok, L., Tetzlaff, W., 2002. Survival and regeneration of rubrospinal neurons 1 year after spinal cord injury. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 99, 3246–3251.
- Lall, P., Lindsay, A.J., Hanscom, S., Kecman, T., Taglauer, E.S., McVeigh, U.M., Franklin, E., McCaffrey, M.W., Khan, A.R., 2015. Structure-Function Analyses of the Interactions between Rab11 and Rab14 Small GTPases with Their Shared Effector Rab Coupling Protein (RCP). *J. Biol. Chem.* 290, 18817–18832.
- Lawe, D.C., Chawla, A., Merithew, E., Dumas, J., Carrington, W., Fogarty, K., Lifshitz, L., Tuft, R., Lambright, D., Corvera, S., 2002. Sequential roles for phosphatidylinositol 3-phosphate and Rab5 in tethering and fusion of early endosomes via their interaction with EEA1. *J. Biol. Chem.* 277, 8611–8617.
- Lee, Jongwoo, Lee, Joohee, Ju, B.G., 2011. Drosophila arf72A acts as an essential regulator of endoplasmic reticulum quality control and suppresses autosomal-dominant retinopathy. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 43, 1392–1401.
- Lee, T., Winter, C., Marticke, S.S., Lee, A., Luo, L., 2000. Essential roles of Drosophila RhoA in the regulation of neuroblast proliferation and dendritic but not axonal morphogenesis. *Neuron* 25, 307–316.

- Leininger, G.M., Backus, C., Uhler, M.D., Lentz, S.I., Feldman, E.L., 2004. Phosphatidylinositol 3-kinase and Akt effectors mediate insulin-like growth factor-I neuroprotection in dorsal root ganglia neurons. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 18, 1544–1546.
- Leslie, J.R., Imai, F., Zhou, X., Lang, R.A., Zheng, Y., Yoshida, Y., 2012. RhoA is dispensable for axon guidance of sensory neurons in the mouse dorsal root ganglia. *Front. Mol. Neurosci.* 5, 67.
- Lin, C.Y., Huang, P.H., Liao, W.L., Cheng, H.J., Huang, C.F., Kuo, J.C., Patton, W.A., Massenburg, D., Moss, J., Lee, F.J., 2000. ARL4, an ARF-like protein that is developmentally regulated and localized to nuclei and nucleoli. *J. Biol. Chem.* 275, 37815–37823.
- Lingor, P., Teusch, N., Schwarz, K., Mueller, R., Mack, H., Bähr, M., Mueller, B.K., 2007. Inhibition of Rho kinase (ROCK) increases neurite outgrowth on chondroitin sulphate proteoglycan in vitro and axonal regeneration in the adult optic nerve in vivo. *J. Neurochem.* 103, 181–189.
- Linseman, D.A., Laessig, T., Meintzer, M.K., McClure, M., Barth, H., Aktories, K., Heidenreich, K.A., 2001. An essential role for Rac/Cdc42 GTPases in cerebellar granule neuron survival. *J. Biol. Chem.* 276, 39123–39131.
- Lippé, R., Miaczynska, M., Rybin, V., Runge, A., Zerial, M., 2001. Functional synergy between Rab5 effector Rabaptin-5 and exchange factor Rabex-5 when physically associated in a complex. *Mol. Biol. Cell* 12, 2219–2228.
- Liu, J., Lamb, D., Chou, M.M., Liu, Y.-J., Li, G., 2007. Nerve growth factor-mediated neurite outgrowth via regulation of Rab5. *Mol. Biol. Cell* 18, 1375–1384.
- Liu, K., Lu, Y., Lee, J.K., Samara, R., Willenberg, R., Sears-Kraxberger, I., Tedeschi, A., Park, K.K., Jin, D., Cai, B., Xu, B., Connolly, L., Steward, O., Zheng, B., He, Z., 2010. PTEN deletion enhances the regenerative ability of adult corticospinal neurons. *Nat. Neurosci.* 13, 1075–1081.
- Liu, Y., Xu, X.-H., Chen, Q., Wang, T., Deng, C.-Y., Song, B.-L., Du, J.-L., Luo, Z.-G., 2013. Myosin Vb controls biogenesis of post-Golgi Rab10 carriers during axon development. *Nat. Commun.* 4, 2005.
- Lodge, J.K., Jackson-Machelski, E., Devadas, B., Zupiec, M.E., Getman, D.P., Kishore, N., Freeman, S.K., McWherter, C.A., Sikorski, J.A., Gordon, J.I., 1997. N-myristoylation of Arf proteins in *Candida albicans*: an in vivo assay for evaluating antifungal inhibitors of myristoyl-CoA: protein N-myristoyltransferase. *Microbiol. Read. Engl.* 143 ( Pt 2), 357–366.
- Lord-Fontaine, S., Yang, F., Diep, Q., Dergham, P., Munzer, S., Tremblay, P., McKerracher, L., 2008. Local Inhibition of Rho Signaling by Cell-Permeable Recombinant Protein BA-210 Prevents Secondary Damage and Promotes Functional Recovery following Acute Spinal Cord Injury. *J. Neurotrauma* 25, 1309–1322.
- Lundborg, G., 2000. A 25-year perspective of peripheral nerve surgery: Evolving neuroscientific concepts and clinical significance. *J. Hand Surg.* 25, 391–414.
- Luo, L., Hensch, T.K., Ackerman, L., Barbel, S., Jan, L.Y., Jan, Y.N., 1996. Differential effects of the Rac GTPase on Purkinje cell axons and dendritic trunks and spines. *Nature* 379, 837–840.
- Luo, L., Liao, Y.J., Jan, L.Y., Jan, Y.N., 1994. Distinct morphogenetic functions of similar small GTPases: *Drosophila* Drac1 is involved in axonal outgrowth and myoblast fusion. *Genes Dev.* 8, 1787–1802.
- Madaule, P., Axel, R., 1985. A novel ras-related gene family. *Cell* 41, 31–40.
- Magadán, J.G., Barbieri, M.A., Mesa, R., Stahl, P.D., Mayorga, L.S., 2006. Rab22a regulates the sorting of transferrin to recycling endosomes. *Mol. Cell. Biol.* 26, 2595–2614.
- Makwana, M., Serchov, T., Hristova, M., Bohatschek, M., Gschwendtner, A., Kalla, R., Liu, Z., Heumann, R., Raivich, G., 2009. Regulation and function of neuronal GTP-Ras in facial motor nerve regeneration. *J. Neurochem.* 108, 1453–1463.
- Marat, A.L., Ioannou, M.S., McPherson, P.S., 2012. Connecdenn 3/DENND1C binds actin linking Rab35 activation to the actin cytoskeleton. *Mol. Biol. Cell* 23, 163–175.
- Markus, A., Zhong, J., Snider, W.D., 2002. Raf and akt mediate distinct aspects of sensory axon growth. *Neuron* 35, 65–76.
- Matsuoka, K., Orci, L., Amherdt, M., Bednarek, S.Y., Hamamoto, S., Schekman, R., Yeung, T., 1998. COPII-Coated Vesicle Formation Reconstituted with Purified Coat Proteins and Chemically Defined Liposomes. *Cell* 93, 263–275.



- Matsuzaki, F., Shirane, M., Matsumoto, M., Nakayama, K.I., 2011. Protrudin serves as an adaptor molecule that connects KIF5 and its cargoes in vesicular transport during process formation. *Mol. Biol. Cell* 22, 4602–4620.
- McKeon, R.J., Schreiber, R.C., Rudge, J.S., Silver, J., 1991. Reduction of neurite outgrowth in a model of glial scarring following CNS injury is correlated with the expression of inhibitory molecules on reactive astrocytes. *J. Neurosci.* 11, 3398–3411.
- McKerracher, L., Anderson, K.D., 2013. Analysis of Recruitment and Outcomes in the Phase I/IIa Cethrin Clinical Trial for Acute Spinal Cord Injury. *J. Neurotrauma* 30, 1795–1804.
- Mishra, A., Eathiraj, S., Corvera, S., Lambright, D.G., 2010. Structural basis for Rab GTPase recognition and endosome tethering by the C2H2 zinc finger of Early Endosomal Autoantigen 1 (EEA1). *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107, 10866–10871.
- Mitin, N., Roberts, P.J., Chenette, E.J., Der, C.J., 2012. Posttranslational lipid modification of Rho family small GTPases. *Methods Mol. Biol. Clifton NJ* 827, 87–95.
- Moore, A.M., 2014. Nerve Transfers to Restore upper Extremity Function: A Paradigm Shift. *Front. Neurol.* 5.
- \* Muangpaisan, W., Mathews, A., Hori, H., Seidel, D., 2011. A systematic review of the worldwide prevalence and incidence of Parkinson’s disease. *J. Med. Assoc. Thai. Chotmaihet Thangphaet* 94, 749–755.
- Murakoshi, H., Wang, H., Yasuda, R., 2011. Local, persistent activation of Rho GTPases during plasticity of single dendritic spines. *Nature* 472, 100–104.
- \* Nagappan, P.G., Chen, H., Wang, D.-Y., 2020. Neuroregeneration and plasticity: a review of the physiological mechanisms for achieving functional recovery postinjury. *Mil. Med. Res.* 7, 30.
- Nakano, A., Muramatsu, M., 1989. A novel GTP-binding protein, Sar1p, is involved in transport from the endoplasmic reticulum to the Golgi apparatus. *J. Cell Biol.* 109, 2677–2691.
- Nakazawa, H., Sada, T., Toriyama, M., Tago, K., Sugiura, T., Fukuda, M., Inagaki, N., 2012. Rab33a mediates anterograde vesicular transport for membrane exocytosis and axon outgrowth. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 32, 12712–12725.
- Namikawa, K., Okamoto, T., Suzuki, A., Konishi, H., Kiyama, H., 2006. Pancreatitis-Associated Protein-III Is a Novel Macrophage Chemoattractant Implicated in Nerve Regeneration. *J. Neurosci.* 26, 7460–7467.
- National Spinal Cord Injury Statistical Center, Birmingham, Alabama, 2012. Spinal Cord Injury Facts and Figures at a Glance. *J. Spinal Cord Med.* 35, 197–198.
- Navarro-Lérida, I., Sánchez-Perales, S., Calvo, M., Rentero, C., Zheng, Y., Enrich, C., Del Pozo, M.A., 2012. A palmitoylation switch mechanism regulates Rac1 function and membrane organization. *EMBO J.* 31, 534–551.
- Niwa, S., Lipton, D.M., Morikawa, M., Zhao, C., Hirokawa, N., Lu, H., Shen, K., 2016. Autoinhibition of a Neuronal Kinesin UNC-104/KIF1A Regulates the Size and Density of Synapses. *Cell Rep.* 16, 2129–2141.
- Nusser, N., Gosmanova, E., Makarova, N., Fujiwara, Y., Yang, L., Guo, F., Luo, Y., Zheng, Y., Tigyti, G., 2006. Serine phosphorylation differentially affects RhoA binding to effectors: implications to NGF-induced neurite outgrowth. *Cell. Signal.* 18, 704–714.
- O’Brien, G.S., Martin, S.M., Söllner, C., Wright, G.J., Becker, C.G., Portera-Cailliau, C., Sagasti, A., 2009. Developmentally regulated impediments to skin reinnervation by injured peripheral sensory axon terminals. *Curr. Biol. CB* 19, 2086–2090.
- O’Donovan, K.J., Ma, K., Guo, H., Wang, C., Sun, F., Han, S.B., Kim, H., Wong, J.K., Charron, J., Zou, H., Son, Y.-J., He, Z., Zhong, J., 2014. B-RAF kinase drives developmental axon growth and promotes axon regeneration in the injured mature CNS. *J. Exp. Med.* 211, 801–814.
- Oh-Hashi, K., Tanaka, K., Koga, H., Hirata, Y., Kiuchi, K., 2012. Intracellular trafficking and secretion of mouse mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor. *Mol. Cell. Biochem.* 363, 35–41.
- Oku, Y., Haganir, R.L., 2013. AGAP3 and Arf6 regulate trafficking of AMPA receptors and synaptic plasticity. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 33, 12586–12598.

- Okumura, M., Sakuma, C., Miura, M., Chihara, T., 2015. Linking Cell Surface Receptors to Microtubules: Tubulin Folding Cofactor D Mediates Dscam Functions during Neuronal Morphogenesis. *J. Neurosci.* 35, 1979–1990.
- Olofsson, B., Chardin, P., Touchot, N., Zahraoui, A., Tavitian, A., 1988. Expression of the ras-related *ralA*, *rho12* and *rab* genes in adult mouse tissues. *Oncogene* 3, 231–234.
- Oriike, N., Middleton, G., Borthwick, E., Buchman, V., Cowen, T., Davies, A.M., 2001. Role of PI 3-kinase, Akt and Bcl-2-related proteins in sustaining the survival of neurotrophic factor-independent adult sympathetic neurons. *J. Cell Biol.* 154, 995–1005.
- Paldy, E., Simonetti, M., Worzfeld, T., Bali, K.K., Vicuña, L., Offermanns, S., Kuner, R., 2017. Semaphorin 4C Plexin-B2 signaling in peripheral sensory neurons is pronociceptive in a model of inflammatory pain. *Nat. Commun.* 8, 176.
- Paleotti, O., Macia, E., Luton, F., Klein, S., Partisani, M., Chardin, P., Kirchhausen, T., Franco, M., 2005. The Small G-protein Arf6GTP Recruits the AP-2 Adaptor Complex to Membranes \*. *J. Biol. Chem.* 280, 21661–21666.
- Park, K.K., Liu, K., Hu, Y., Smith, P.D., Wang, C., Cai, B., Xu, B., Connolly, L., Kramvis, I., Sahin, M., He, Z., 2008. Promoting axon regeneration in the adult CNS by modulation of the PTEN/mTOR pathway. *Science* 322, 963–966.
- Peeters, W., van den Brande, R., Polinder, S., Brazinova, A., Steyerberg, E.W., Lingsma, H.F., Maas, A.I.R., 2015. Epidemiology of traumatic brain injury in Europe. *Acta Neurochir. (Wien)* 157, 1683–1696.
- Perry, V.H., Brown, M.C., Gordon, S., 1987. The macrophage response to central and peripheral nerve injury. A possible role for macrophages in regeneration. *J. Exp. Med.* 165, 1218–1223.
- Pfeiffer, V., Götz, R., Xiang, C., Camarero, G., Braun, A., Zhang, Y., Blum, R., Heinsen, H., Nieswandt, B., Rapp, U.R., 2013. Ablation of BRAf impairs neuronal differentiation in the postnatal hippocampus and cerebellum. *PloS One* 8, e58259.
- Pierchala, B.A., Ahrens, R.C., Paden, A.J., Johnson, E.M., 2004. Nerve growth factor promotes the survival of sympathetic neurons through the cooperative function of the protein kinase C and phosphatidylinositol 3-kinase pathways. *J. Biol. Chem.* 279, 27986–27993.
- Popoff, V., Langer, J.D., Reckmann, I., Hellwig, A., Kahn, R.A., Brügger, B., Wieland, F.T., 2011. Several ADP-ribosylation Factor (Arf) Isoforms Support COPI Vesicle Formation. *J. Biol. Chem.* 286, 35634–35642.
- Porsteinsson, A.P., Grossberg, G.T., Mintzer, J., Olin, J.T., Memantine MEM-MD-12 Study Group, 2008. Memantine treatment in patients with mild to moderate Alzheimer’s disease already receiving a cholinesterase inhibitor: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Curr. Alzheimer Res.* 5, 83–89.
- Prior, I.A., Lewis, P.D., Mattos, C., 2012. A comprehensive survey of Ras mutations in cancer. *Cancer Res.* 72, 2457–2467.
- Puls, A., Eliopoulos, A., Nobes, C., Bridges, T., Young, L., Hall, A., 1999. Activation of the small GTPase Cdc42 by the inflammatory cytokines TNF $\alpha$  and IL-1, and by the Epstein-Barr virus transforming protein LMP1. *J. Cell Sci.* 112 ( Pt 17), 2983–92.
- Pylypenko, O., Rak, A., Durek, T., Kushnir, S., Dursina, B.E., Thomae, N.H., Constantinescu, A.T., Brunsfeld, L., Watzke, A., Waldmann, H., Goody, R.S., Alexandrov, K., 2006. Structure of doubly prenylated Ypt1:GDI complex and the mechanism of GDI-mediated Rab recycling. *EMBO J.* 25, 13–23.
- Regazzi, R., Kikuchi, A., Takai, Y., Wollheim, C.B., 1992. The small GTP-binding proteins in the cytosol of insulin-secreting cells are complexed to GDP dissociation inhibitor proteins. *J. Biol. Chem.* 267, 17512–17519.
- Reinhard, C., Schweikert, M., Wieland, F.T., Nickel, W., 2003. Functional reconstitution of COPI coat assembly and disassembly using chemically defined components. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 100, 8253–8257.
- Reitz, C., Brayne, C., Mayeux, R., 2011. Epidemiology of Alzheimer disease. *Nat. Rev. Neurol.* 7, 137–152.
- Ren, X., Farías, G.G., Canagarajah, B.J., Bonifacino, J.S., Hurley, J.H., 2013. Structural basis for recruitment and activation of the AP-1 clathrin adaptor complex by Arf1. *Cell* 152, 755–767.

- Rexach, M., Blobel, G., 1995. Protein import into nuclei: association and dissociation reactions involving transport substrate, transport factors, and nucleoporins. *Cell* 83, 683–692.
- Ribbeck, K., Lipowsky, G., Kent, H.M., Stewart, M., Görlich, D., 1998. NTF2 mediates nuclear import of Ran. *EMBO J.* 17, 6587–6598.
- Richardson, P.M., Issa, V.M., Aguayo, A.J., 1984. Regeneration of long spinal axons in the rat. *J. Neurocytol.* 13, 165–182.
- Richardson, P.M., McGuinness, U.M., Aguayo, A.J., 1980. Axons from CNS neurons regenerate into PNS grafts. *Nature* 284, 264–265.
- Richardson, W.D., Mills, A.D., Dilworth, S.M., Laskey, R.A., Dingwall, C., 1988. Nuclear protein migration involves two steps: Rapid binding at the nuclear envelope followed by slower translocation through nuclear pores. *Cell* 52, 655–664.
- Rink, J., Ghigo, E., Kalaidzidis, Y., Zerial, M., 2005. Rab conversion as a mechanism of progression from early to late endosomes. *Cell* 122, 735–749.
- Rivieccio, M.A., Brochier, C., Willis, D.E., Walker, B.A., D’Annibale, M.A., McLaughlin, K., Siddiq, A., Kozikowski, A.P., Jaffrey, S.R., Twiss, J.L., Ratan, R.R., Langley, B., 2009. HDAC6 is a target for protection and regeneration following injury in the nervous system. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106, 19599–19604.
- Roberts, P.J., Mitin, N., Keller, P.J., Chenette, E.J., Madigan, J.P., Currin, R.O., Cox, A.D., Wilson, O., Kirschmeier, P., Der, C.J., 2008. Rho Family GTPase modification and dependence on CAAX motif-signaled posttranslational modification. *J. Biol. Chem.* 283, 25150–25163.
- Sakane, A., Honda, K., Sasaki, T., 2010. Rab13 regulates neurite outgrowth in PC12 cells through its effector protein, JRAB/MICAL-L2. *Mol. Cell. Biol.* 30, 1077–1087.
- Salminen, A., Novick, P.J., 1987. A ras-like protein is required for a post-Golgi event in yeast secretion. *Cell* 49, 527–538.
- Santiago-Lopez, A.J., Gutekunst, C.-A., Gross, R.E., 2018. C3 Transferase Gene Therapy for Continuous RhoA Inhibition. *Methods Mol. Biol. Clifton NJ* 1821, 267–281.
- Santy, L.C., Casanova, J.E., 2001. Activation of ARF6 by ARNO stimulates epithelial cell migration through downstream activation of both Rac1 and phospholipase D. *J. Cell Biol.* 154, 599–610.
- Sawade, L., Grandi, F., Mignanelli, M., Patiño-López, G., Klinkert, K., Langa-Vives, F., Di Guardo, R., Echard, A., Bolino, A., Haucke, V., 2020. Rab35-regulated lipid turnover by myotubularins represses mTORC1 activity and controls myelin growth. *Nat. Commun.* 11, 2835.
- Saxena, S., Bucci, C., Weis, J., Kruttgen, A., 2005. The small GTPase Rab7 controls the endosomal trafficking and neurogenic signaling of the nerve growth factor receptor TrkA. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 25, 10930–10940.
- \* Schiller, M.R., 2006. Coupling receptor tyrosine kinases to Rho GTPases—GEFs what’s the link. *Cell. Signal.* 18, 1834–1843.
- Schindler, C., Rodriguez, F., Poon, P.P., Singer, R.A., Johnston, G.C., Spang, A., 2009. The GAP Domain and the SNARE, Coatomer and Cargo Interaction Region of the ArfGAP2/3 Glo3 are Sufficient for Glo3 Function. *Traffic* 10, 1362–1375.
- Schlager, M.A., Kapitein, L.C., Grigoriev, I., Burzynski, G.M., Wulf, P.S., Keijzer, N., de Graaff, E., Fukuda, M., Shepherd, I.T., Akhmanova, A., Hoogenraad, C.C., 2010. Pericentrosomal targeting of Rab6 secretory vesicles by Bicaudal-D-related protein 1 (BICDR-1) regulates neuritogenesis. *EMBO J.* 29, 1637–1651.
- Scholz, T., Krichevsky, A., Sumarto, A., Jaffurs, D., Wirth, G.A., Paydar, K., Evans, G.R.D., 2009. Peripheral Nerve Injuries: An International Survey of Current Treatments and Future Perspectives. *J. Reconstr. Microsurg.* 25, 339–344.
- Schrick, J.J., Vogel, P., Abuin, A., Hampton, B., Rice, D.S., 2006. ADP-Ribosylation Factor-Like 3 Is Involved in Kidney and Photoreceptor Development. *Am. J. Pathol.* 168, 1288–1298.
- Seifert, W., Kühnisch, J., Maritzen, T., Lommatzsch, S., Hennies, H.C., Bachmann, S., Horn, D., Haucke, V., 2015. Cohen syndrome-associated protein COH1 physically and functionally interacts with the small GTPase RAB6 at the Golgi complex and directs neurite outgrowth. *J. Biol. Chem.* 290, 3349–3358.

- Semenova, M.M., Mäki-Hokkonen, A.M.J., Cao, J., Komarovski, V., Forsberg, K.M., Koistinaho, M., Coffey, E.T., Courtney, M.J., 2007. Rho mediates calcium-dependent activation of p38alpha and subsequent excitotoxic cell death. *Nat. Neurosci.* 10, 436–443.
- Serpe, C.J., Tetzlaff, J.E., Coers, S., Sanders, V.M., Jones, K.J., 2002. Functional recovery after facial nerve crush is delayed in severe combined immunodeficient mice. *Brain. Behav. Immun.* 16, 808–812.
- Sheen, V.L., Ganesh, V.S., Topcu, M., Sebire, G., Bodell, A., Hill, R.S., Grant, P.E., Shugart, Y.Y., Imitola, J., Khoury, S.J., Guerrini, R., Walsh, C.A., 2004. Mutations in ARFGEF2 implicate vesicle trafficking in neural progenitor proliferation and migration in the human cerebral cortex. *Nat. Genet.* 36, 69–76.
- Shern, J.F., Sharer, J.D., Pallas, D.C., Bartolini, F., Cowan, N.J., Reed, M.S., Pohl, J., Kahn, R.A., 2003. Cytosolic Arl2 is complexed with cofactor D and protein phosphatase 2A. *J. Biol. Chem.* 278, 40829–40836.
- Simpson, J.C., Griffiths, G., Wessling-Resnick, M., Fransen, J.A.M., Bennett, H., Jones, A.T., 2004. A role for the small GTPase Rab21 in the early endocytic pathway. *J. Cell Sci.* 117, 6297–6311.
- Sreedharan, J., Blair, I.P., Tripathi, V.B., Hu, X., Vance, C., Rogelj, B., Ackerley, S., Durnall, J.C., Williams, K.L., Buratti, E., Baralle, F., de Belleruche, J., Mitchell, J.D., Leigh, P.N., Al-Chalabi, A., Miller, C.C., Nicholson, G., Shaw, C.E., 2008. TDP-43 mutations in familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Science* 319, 1668–1672.
- Stahl, S., Reinders, Y., Asan, E., Mothes, W., Conzelmann, E., Sickmann, A., Felbor, U., 2007. Proteomic analysis of cathepsin B- and L-deficient mouse brain lysosomes. *Biochim. Biophys. Acta* 1774, 1237–1246.
- Stenmark, H., 2009. Rab GTPases as coordinators of vesicle traffic. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 10, 513–525.
- Stern, S., Haverkamp, S., Sinske, D., Tedeschi, A., Naumann, U., Di Giovanni, S., Kochanek, S., Nordheim, A., Knöll, B., 2013. The transcription factor serum response factor stimulates axon regeneration through cytoplasmic localization and cofilin interaction. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 33, 18836–18848.
- \* Steward, M.M., Sridhar, A., Meyer, J.S., 2012. Neural Regeneration, in: Heber-Katz, E., Stocum, D.L. (Eds.), *New Perspectives in Regeneration, Current Topics in Microbiology and Immunology*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 163–191.
- Sun, Z., Anderl, F., Fröhlich, K., Zhao, L., Hanke, S., Brügger, B., Wieland, F., Béthune, J., 2007. Multiple and Stepwise Interactions Between Coatamer and ADP-Ribosylation Factor-1 (Arf1)-GTP. *Traffic* 8, 582–593.
- \* Sztul, E., Chen, P.-W., Casanova, J.E., Cherfils, J., Dacks, J.B., Lambright, D.G., Lee, F.-J.S., Randazzo, P.A., Santy, L.C., Schürmann, A., Wilhelmi, I., Yohe, M.E., Kahn, R.A., 2019. ARF GTPases and their GEFs and GAPs: concepts and challenges. *Mol. Biol. Cell* 30, 1249–1271.
- Tahirovic, S., Hellal, F., Neukirchen, D., Hindges, R., Garvalov, B.K., Flynn, K.C., Stradal, T.E., Chrostek-Grashoff, A., Brakebusch, C., Bradke, F., 2010. Rac1 regulates neuronal polarization through the WAVE complex. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 30, 6930–6943.
- Takano, T., Tomomura, M., Yoshioka, N., Tsutsumi, K., Terasawa, Y., Saito, T., Kawano, H., Kamiguchi, H., Fukuda, M., Hisanaga, S., 2012. LMTK1/AATYK1 is a novel regulator of axonal outgrowth that acts via Rab11 in a Cdk5-dependent manner. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 32, 6587–6599.
- \* Tanner, C.M., Goldman, S.M., 1996. EPIDEMIOLOGY OF PARKINSON'S DISEASE. *Neurol. Clin.* 14, 317–335.
- Taylor, A.M., Berchtold, N.C., Perreau, V.M., Tu, C.H., Li Jeon, N., Cotman, C.W., 2009. Axonal mRNA in uninjured and regenerating cortical mammalian axons. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 29, 4697–4707.
- Taylor, C.A., Braza, D., Rice, J.B., Dillingham, T., 2008. The Incidence of Peripheral Nerve Injury in Extremity Trauma. *Am. J. Phys. Med. Rehabil.* 87, 381–385.
- Thal, D.R., Rüb, U., Orantes, M., Braak, H., 2002. Phases of Aβ-deposition in the human brain and its relevance for the development of AD. *Neurology* 58, 1791–1800.
- Theisen, U., Straube, E., Straube, A., 2012. Directional persistence of migrating cells requires Kif1C-mediated stabilization of trailing adhesions. *Dev. Cell* 23, 1153–1166.

- Thornton, M.R., Mantovani, C., Birchall, M.A., Terenghi, G., 2005. Quantification of N-CAM and N-cadherin expression in axotomized and crushed rat sciatic nerve. *J. Anat.* 206, 69–78.
- Tir, M., Devos, D., Blond, S., Touzet, G., Reyns, N., Duhamel, A., Cottencin, O., Dujardin, K., Cassim, F., Destée, A., Defebvre, L., Krystkowiak, P., 2007. Exhaustive, one-year follow-up of subthalamic nucleus deep brain stimulation in a large, single-center cohort of parkinsonian patients. *Neurosurgery* 61, 297–304; discussion 304-305.
- Toss A., Cristofanilli M.i, 2015. Molecular characterization and targeted therapeutic approaches in breast cancer, *Breast Cancer Res.* 17, 60 Villarroel-Campos, D., Bronfman, F.C., Gonzalez-Billault, C., 2016. Rab GTPase signaling in neurite outgrowth and axon specification. *Cytoskeleton* 73, 498–507.
- \* Villarroel-Campos, D., Bronfman, F.C., Gonzalez-Billault, C., 2016. Rab GTPase signaling in neurite outgrowth and axon specification. *Cytoskeleton* 73, 498–507.
- Vukoja, A., Rey, U., Petzoldt, A.G., Ott, C., Vollweiler, D., Quentin, C., Puchkov, D., Reynolds, E., Lehmann, M., Hohensee, S., Rosa, S., Lipowsky, R., Sigrist, S.J., Haucke, V., 2018. Presynaptic Biogenesis Requires Axonal Transport of Lysosome-Related Vesicles. *Neuron* 99, 1216-1232.e7.
- Wang, J.T., Kunzevitzky, N.J., Dugas, J.C., Cameron, M., Barres, B.A., Goldberg, J.L., 2007. Disease gene candidates revealed by expression profiling of retinal ganglion cell development. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 27, 8593–8603.
- Wang, T., Liu, Y., Xu, X.-H., Deng, C.-Y., Wu, K.-Y., Zhu, J., Fu, X.-Q., He, M., Luo, Z.-G., 2011. Lgl1 activation of rab10 promotes axonal membrane trafficking underlying neuronal polarization. *Dev. Cell* 21, 431–444.
- Ward, M.E., Taubes, A., Chen, R., Miller, B.L., Sephton, C.F., Gelfand, J.M., Minami, S., Boscardin, J., Martens, L.H., Seeley, W.W., Yu, G., Herz, J., Filiano, A.J., Arrant, A.E., Roberson, E.D., Kraft, T.W., Farese, R.V., Green, A., Gan, L., 2014. Early retinal neurodegeneration and impaired Ran-mediated nuclear import of TDP-43 in progranulin-deficient FTL. *J. Exp. Med.* 211, 1937–1945.
- Weggen, S., Eriksen, J.L., Das, P., Sagi, S.A., Wang, R., Pietrzik, C.U., Findlay, K.A., Smith, T.E., Murphy, M.P., Bulter, T., Kang, D.E., Marquez-Sterling, N., Golde, T.E., Koo, E.H., 2001. A subset of NSAIDs lower amyloidogenic A $\beta$ 42 independently of cyclooxygenase activity. *Nature* 414, 212–216.
- Wennerberg, K., Rossman, K.L., Der, C.J., 2005. The Ras superfamily at a glance. *J. Cell Sci.* 118, 843–846.
- White, J.A., Krzystek, T.J., Hoffmar-Glennon, H., Thant, C., Zimmerman, K., Iacobucci, G., Vail, J., Thurston, L., Rahman, S., Gunawardena, S., 2020. Excess Rab4 rescues synaptic and behavioral dysfunction caused by defective HTT-Rab4 axonal transport in Huntington’s disease. *Acta Neuropathol. Commun.* 8, 97.
- Wickramasinghe, S.R., Alvania, R.S., Ramanan, N., Wood, J.N., Mandai, K., Ginty, D.D., 2008. Serum response factor mediates NGF-dependent target innervation by embryonic DRG sensory neurons. *Neuron* 58, 532–545.
- Wiese, S., Pei, G., Karch, C., Troppmair, J., Holtmann, B., Rapp, U.R., Sendtner, M., 2001. Specific function of B-Raf in mediating survival of embryonic motoneurons and sensory neurons. *Nat. Neurosci.* 4, 137–142.
- Wright, Z.C., Loskutov, Y., Murphy, D., Stoilov, P., Pugacheva, E., Goldberg, A.F.X., Ramamurthy, V., 2018. ADP-Ribosylation Factor-Like 2 (ARL2) regulates cilia stability and development of outer segments in rod photoreceptor neurons. *Sci. Rep.* 8.
- Wu, D., Yang, P., Zhang, X., Luo, J., Haque, M.E., Yeh, J., Richardson, P.M., Zhang, Y., Bo, X., 2009. Targeting a Dominant Negative Rho Kinase to Neurons Promotes Axonal Outgrowth and Partial Functional Recovery After Rat Rubrospinal Tract Lesion. *Mol. Ther.* 17, 2020–2030.
- Wu, G., Lu, Z.-H., Obukhov, A.G., Nowycky, M.C., Ledeen, R.W., 2007. Induction of calcium influx through TRPC5 channels by cross-linking of GM1 ganglioside associated with  $\alpha$ 5 $\beta$ 1 integrin initiates neurite outgrowth. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 27, 7447–7458.
- Wu, K.-Y., He, M., Hou, Q.-Q., Sheng, A.-L., Yuan, L., Liu, F., Liu, W.-W., Li, G., Jiang, X.-Y., Luo, Z.-G., 2014. Semaphorin 3A activates the guanosine triphosphatase Rab5 to promote growth cone collapse and organize callosal axon projections. *Sci. Signal.* 7, ra81.

- Xu, X.-H., Deng, C.-Y., Liu, Y., He, M., Peng, J., Wang, T., Yuan, L., Zheng, Z.-S., Blackshear, P.J., Luo, Z.-G., 2014. MARCKS regulates membrane targeting of Rab10 vesicles to promote axon development. *Cell Res.* 24, 576–594.
- Yamamura, R., Nishimura, N., Nakatsuji, H., Arase, S., Sasaki, T., 2008. The interaction of JRAB/MICAL-L2 with Rab8 and Rab13 coordinates the assembly of tight junctions and adherens junctions. *Mol. Biol. Cell* 19, 971–983.
- Yamauchi, J., Miyamoto, Y., Torii, T., Mizutani, R., Nakamura, K., Sanbe, A., Koide, H., Kusakawa, S., Tanoue, A., 2009. Valproic acid-inducible Arl4D and cytohesin-2/ARNO, acting through the downstream Arf6, regulate neurite outgrowth in N1E-115 cells. *Exp. Cell Res.* 315, 2043–2052.
- Ye, B., Zhang, Y., Song, W., Younger, S.H., Jan, L.Y., Jan, Y.N., 2007. Growing dendrites and axons differ in their reliance on the secretory pathway. *Cell* 130, 717–729.
- Yoshihisa, T., Barlowe, C., Schekman, R., 1993. Requirement for a GTPase-activating protein in vesicle budding from the endoplasmic reticulum. *Science* 259, 1466–1468.
- Yu, J.-Y., Chung, K.-H., Deo, M., Thompson, R.C., Turner, D.L., 2008. MicroRNA miR-124 regulates neurite outgrowth during neuronal differentiation. *Exp. Cell Res.* 314, 2618–2633.
- Yu, X., Breitman, M., Goldberg, J., 2012. A structure-based mechanism for Arf1-dependent recruitment of coatamer to membranes. *Cell* 148, 530–542.
- Yudin, D., Hanz, S., Yoo, S., Iavnilovitch, E., Willis, D., Gradus, T., Vuppalanchi, D., Segal-Ruder, Y., Ben-Yaakov, K., Hieda, M., Yoneda, Y., Twiss, J.L., Fainzilber, M., 2008. Localized regulation of axonal RanGTPase controls retrograde injury signaling in peripheral nerve. *Neuron* 59, 241–252.
- Zaloshnja, E., Miller, T., Langlois, J.A., Selassie, A.W., 2008. Prevalence of Long-Term Disability From Traumatic Brain Injury in the Civilian Population of the United States, 2005. *J. Head Trauma Rehabil.* 23, 394–400.
- Zeigerer, A., Gilleron, J., Bogorad, R.L., Marsico, G., Nonaka, H., Seifert, S., Epstein-Barash, H., Kuchimanchi, S., Peng, C.G., Ruda, V.M., Del Conte-Zerial, P., Hengstler, J.G., Kalaidzidis, Y., Koteliansky, V., Zerial, M., 2012. Rab5 is necessary for the biogenesis of the endolysosomal system in vivo. *Nature* 485, 465–470.
- Zhang, J., Fonovic, M., Suyama, K., Bogoyo, M., Scott, M.P., 2009. Rab35 controls actin bundling by recruiting fascin as an effector protein. *Science* 325, 1250–1254.
- Zhang, K., Donnelly, C.J., Haeusler, A.R., Grima, J.C., Machamer, J.B., Steinwald, P., Daley, E.L., Miller, S.J., Cunningham, K.M., Videnky, S., Gupta, S., Thomas, M.A., Hong, I., Chiu, S.-L., Haganir, R.L., Ostrow, L.W., Matunis, M.J., Wang, J., Sattler, R., Lloyd, T.E., Rothstein, J.D., 2015. The C9orf72 repeat expansion disrupts nucleocytoplasmic transport. *Nature* 525, 56–61.
- Zhang, Q., Wu, L., Bai, B., Li, D., Xiao, P., Li, Q., Zhang, Z., Wang, H., Li, L., Jiang, Q., 2020. Quantitative proteomics reveal neuron projection development genes ARF4, KIF5B and RAB8A associated with Hirschsprung disease. *Mol. Cell. Proteomics MCP.*
- Zhao, L., Helms, J.B., Brügger, B., Harter, C., Martoglio, B., Graf, R., Brunner, J., Wieland, F.T., 1997. Direct and GTP-dependent interaction of ADP ribosylation factor 1 with coatamer subunit  $\beta$ . *Proc. Natl. Acad. Sci.* 94, 4418–4423.
- Zhong, J., Li, X., McNamee, C., Chen, A.P., Baccarini, M., Snider, W.D., 2007. Raf kinase signaling functions in sensory neuron differentiation and axon growth in vivo. *Nat. Neurosci.* 10, 598–607.
- Zhou, Y., Pernet, V., Hauswirth, W.W., Di Polo, A., 2005. Activation of the extracellular signal-regulated kinase 1/2 pathway by AAV gene transfer protects retinal ganglion cells in glaucoma. *Mol. Ther. J. Am. Soc. Gene Ther.* 12, 402–412.
- Zhou, Y., Su, Y., Li, B., Liu, F., Ryder, J.W., Wu, X., Gonzalez-DeWhitt, P.A., Gelfanova, V., Hale, J.E., May, P.C., Paul, S.M., Ni, B., 2003. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs can lower amyloidogenic Abeta42 by inhibiting Rho. *Science* 302, 1215–1217.
- Zhu, H., Liang, Z., Li, G., 2009. Rabex-5 is a Rab22 effector and mediates a Rab22-Rab5 signaling cascade in endocytosis. *Mol. Biol. Cell* 20, 4720–4729.
- Zipkin, I.D., Kindt, R.M., Kenyon, C.J., 1997. Role of a new Rho family member in cell migration and axon guidance in *C. elegans*. *Cell* 90, 883–894.

Ziv, N.E., Spira, M.E., 1997. Localized and transient elevations of intracellular Ca<sup>2+</sup> induce the dedifferentiation of axonal segments into growth cones. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 17, 3568–3579.

### **Internetové zdroje**

Jean Georges, 2019. Alzheimer Europe - Alzheimer Europe - Our work - Annual Reports - Annual Report 2019 <https://www.alzheimer-europe.org/Alzheimer-Europe/Our-work/Annual-Reports/Annual-Report-2019> (použito 23.1. 2021)

MBInfo National University of Singapore, 2018. Cellular roles of Arf GTPases. <https://www.mechanobio.info/what-is-mechanosignaling/what-are-small-gtpases/what-are-arf-gtpases/> (použito 31.3. 2021)