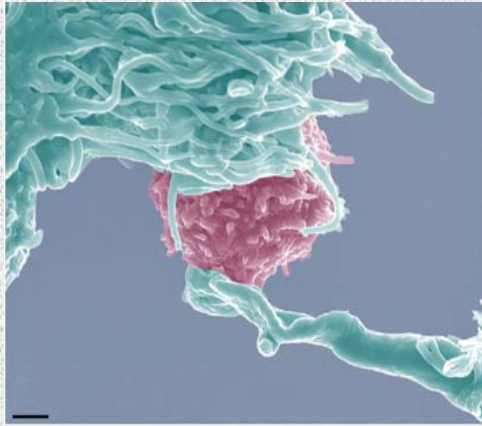


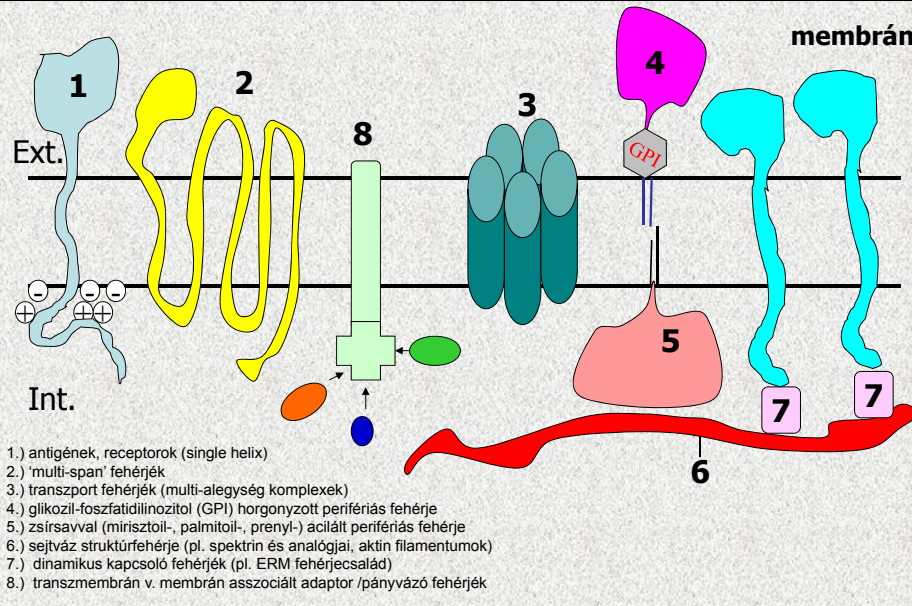
## Membrán mikrodomének, mikrovezikulák, membrán nanocsövek és szerepük a sejtfunkciókban



2013-04-18, SE Biofizika, Matkó János-ELTE, Immunológia

- A sejtmembrán ultrastruktúrája
- A membrán mikrodomének (lipid tutajok, caveolák), avagy a lipidek és fehérjék „társasélete”
- Egyéb membránstruktúrák (membrán mikrovezikulák és membrán nanocsövek) szerepe a sejt kommunikációban: példák az immunrendszer életéből

## A membránfehérjék globális szerkezete és kapcsolódása a lipid kettősréteghez:

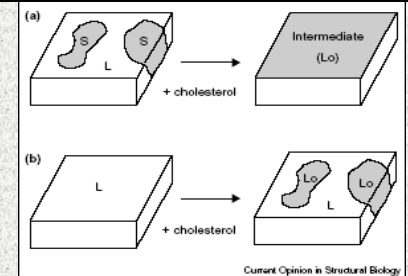


## Homogén-e a membrán lipid kettősréteg?

- Lipid mikroheterogenitás többkomponensű mono- és bilayerekben, liposzómákban (LUV): mikrokolorimetria, FRAP, ESR
- Spontán **GSL**, **SM** szegregáció két/háromkomponensű PC lipid kettősrétegben
- A **koleszterin** egy kritikus stabilizáló faktor

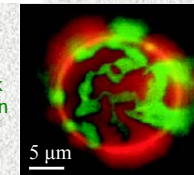
Gal-cer

PC

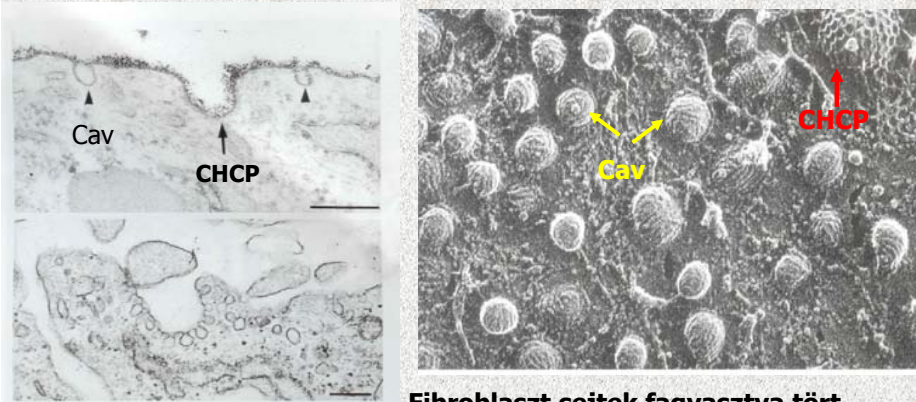


E. London, 2002.

Fluid (zöld) és gél fázisú (piros) lipid domének kétkomponensű liposzóma modellmembránban (SNOM, Kinnunen, 2002)

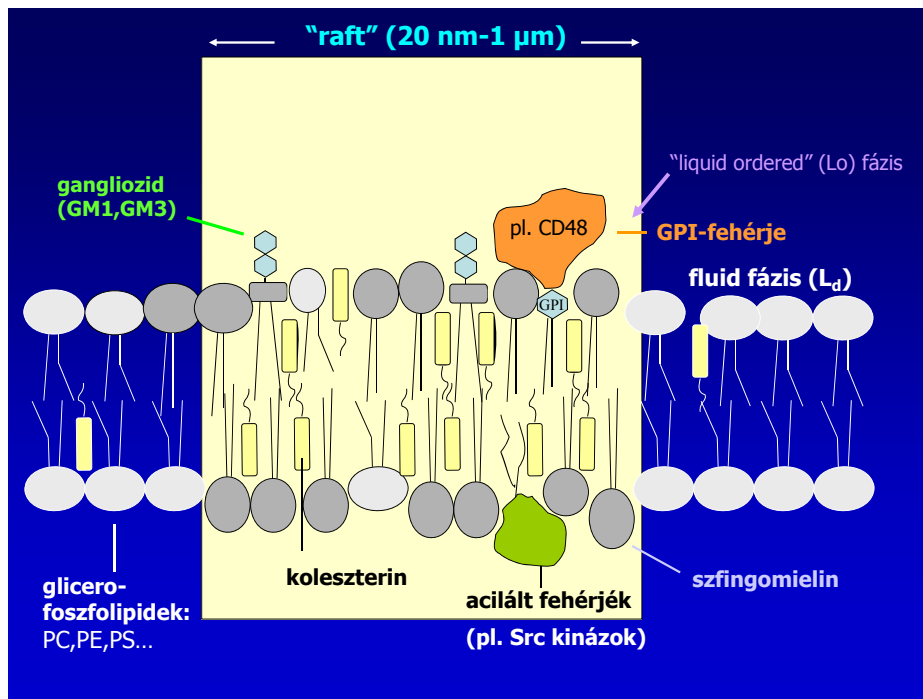
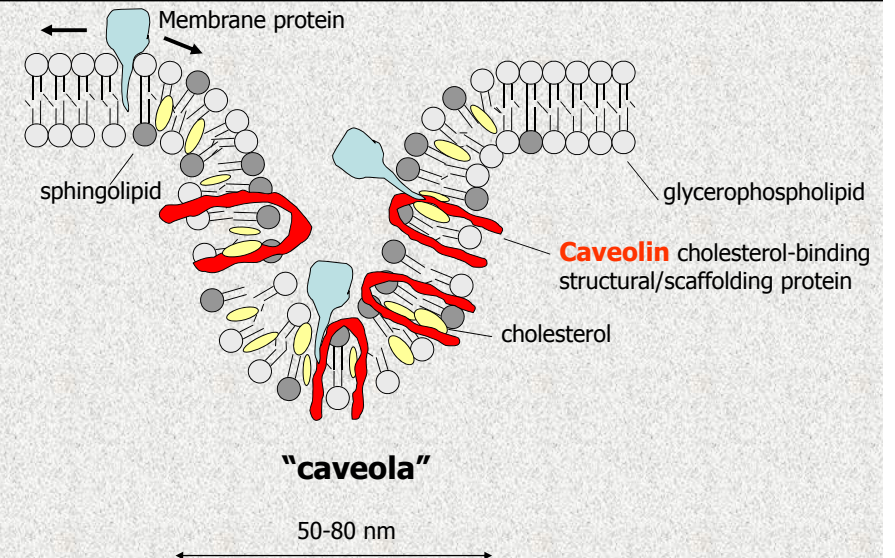


## A „Caveola mikrodomének” elektronmikroszkópiás képe

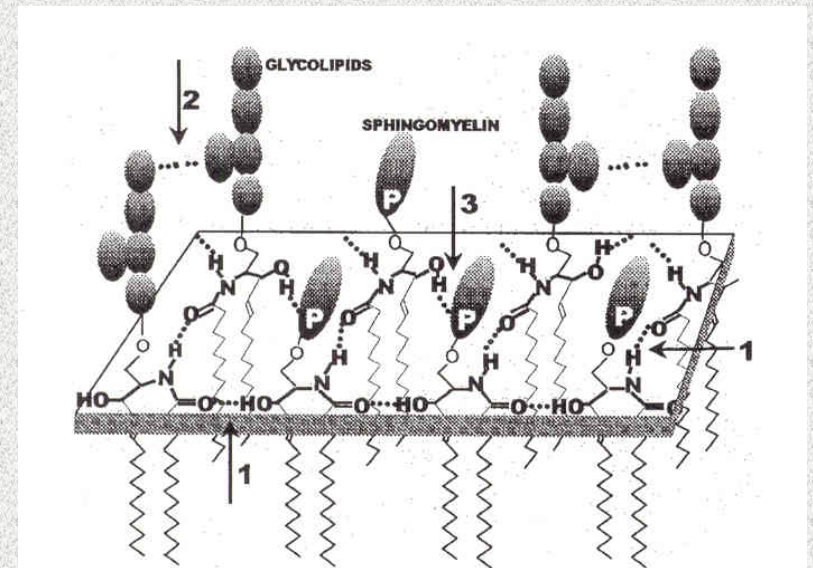


Fibroblaszt sejtek fagyasztva tört  
belső membránfelszínének elektron-  
mikroszkópos képe

## A „caveola” membrán mikrodomének szerkezete

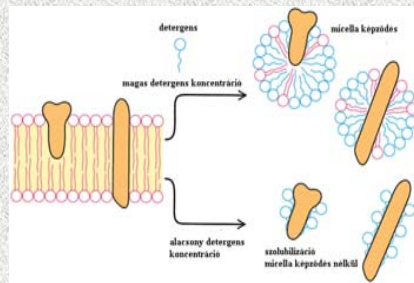


## A 'GSL domének' stabilitása membránokban: kiterjedt H-híd hálózat





## A membrán mikrodomének „detergens-rezisztensek”

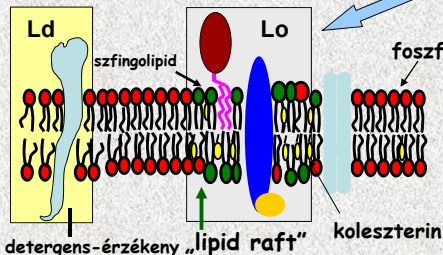


-"erős"/ ionos detergenssek:  
pl. oktil-glikozid, SDS

kioldás /szolubilizáció/

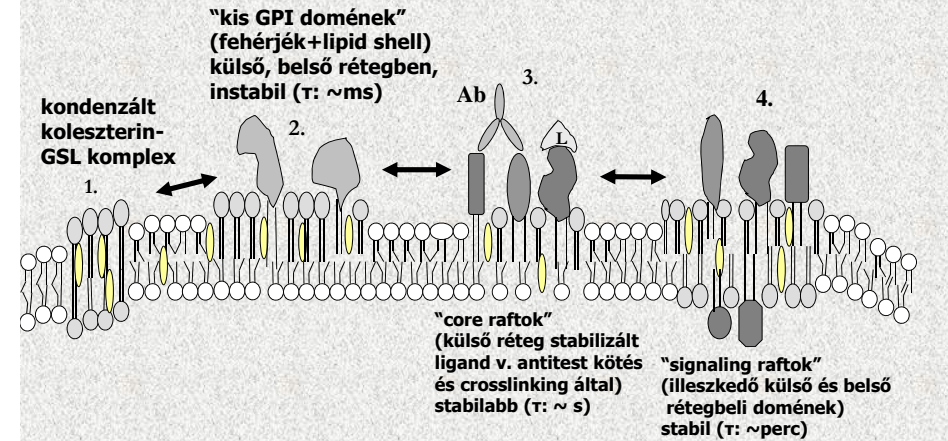
-"gyenge"/nem ionos  
detergenssek:  
pl. Triton X-100, CHAPS, NP-40,  
Brij 97, Lubrol

Részleges vagy teljes rezisztencia



A lipid „tutajok” (raftok)  
kémiai definíciója

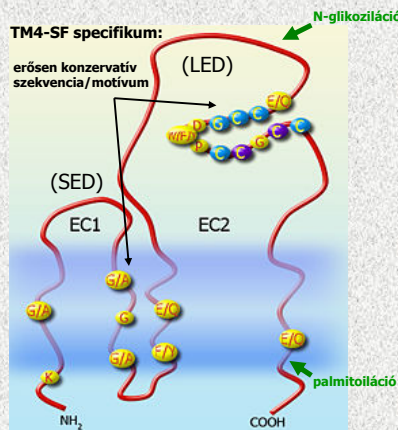
## A sejtmembrán lipid raft dinamikájának modellje



„tutajozó fehérjék”:  
? - GPI-horgonyzott (EC oldal)  
- acilált (dupla palmitoilált, mirisztoilált, prenilált stb.) (IC oldal)  
- transzmembrán fehérjék (ED, TRMD, CPD)

## A „tetraspan web”: TM4-SF fehérjék hálózata a membránban

- 34 tetraspan fehérje ismert emlősökben, ebből 33 humán is
- Képesek „konformációs pányvázóként” (scaffolding) többféle fehérje szelektív horgonyzására a membrán egy területén. A kapcsolódó fehérjékkel nagyobb, több száz fehérjéből álló 'hálózatot' is tudnak képezni a membránban



„TEM domének”

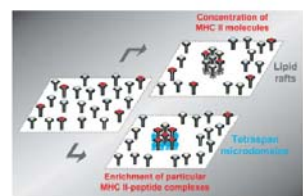


Fig. 11. Tetraspan microdomains and lipid rafts differ in their lipid-protein content. Schematic representation of which class II peptide-MHC complexes are enriched in tetraspan or lipid raft microdomains.

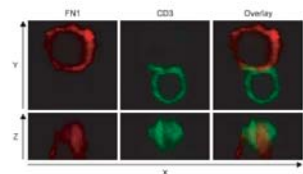
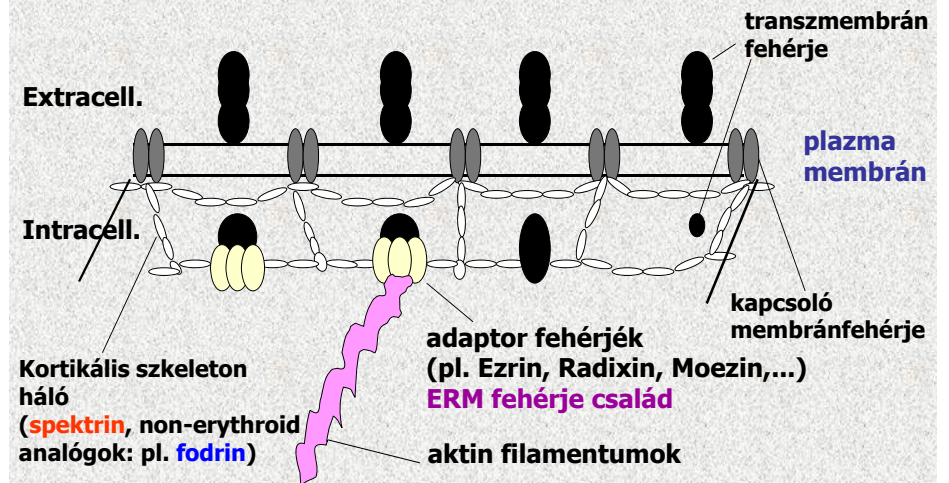
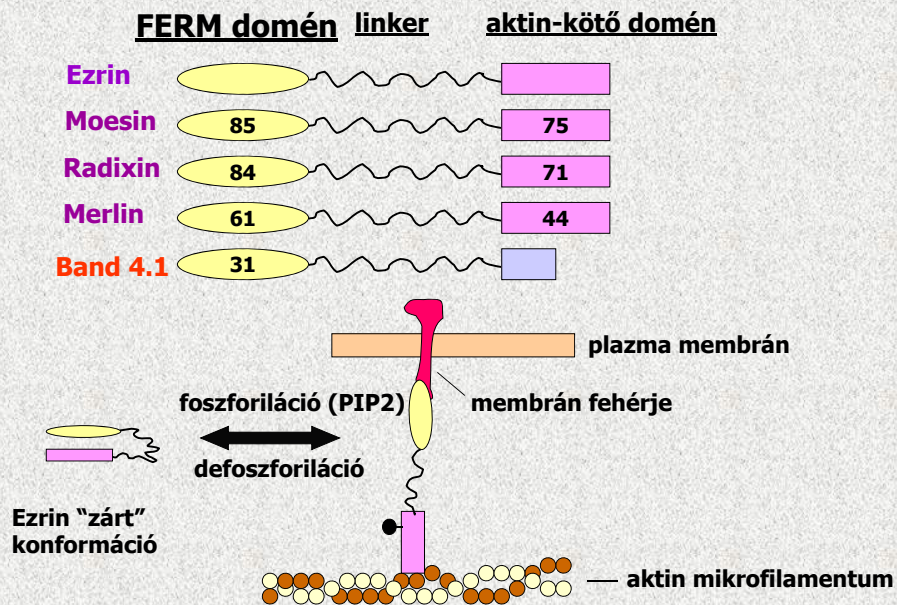


Fig. 12. CD3/CD4 microdomains are involved in T cell activation. CD3 and CD4 were co-localized in T cells. CD3 was stained with anti-CD3 antibody (red) and CD4 was stained with anti-CD4 antibody (green). The overlay image shows the co-localization of the two proteins in the CD3/CD4 microdomains.

## A kortikális szkeleton és a membránfehérjék kapcsolatrendszer a sejtmembránban: a „kerítés” modell



## Az ERM fehérjecsald és a citoskeletális kapcsolatok



A plazmamembrán jelentős laterális és vertikális heterogenitást, „mikrodomén szerkezetet” mutat eukaryóta sejtekben

## A biológiai membránok finomszerkezete

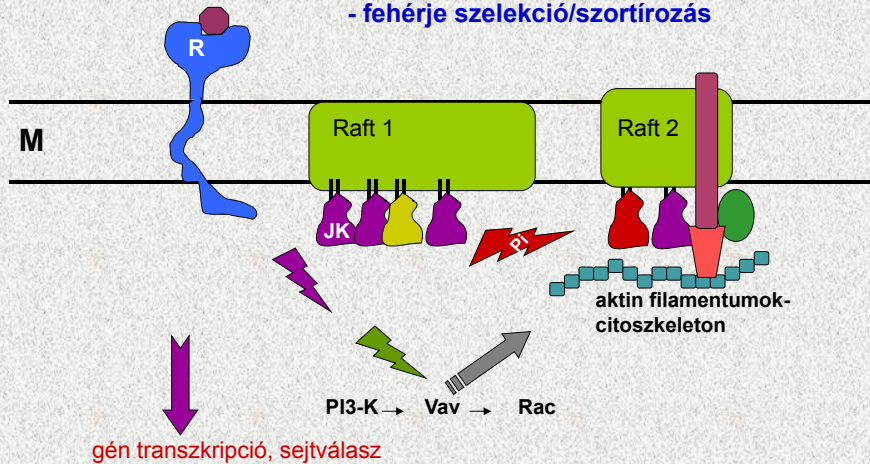
- mikroheterogenitás: membrán mikrodomének (20 nm-akár  $\sim \mu\text{m}$  átmérő), dinamikus, tranzien্স molekulacsoportosulások (specifikus lipid és fehérjeösszetétel)
- lipid-lipid és fehérje-lipid kölcsönhatások, fehérje konformáció és TRMD (transzmembrán hélix)-hossz *dominál* a lipid raft doméneken belül
- fehérje-fehérje kölcsönhatásokon alapuló mikrodomének is vannak, mint pl. „Tetraspan-web” (TEM)

## A membrán mikrodomének funkcionális jelentősége:

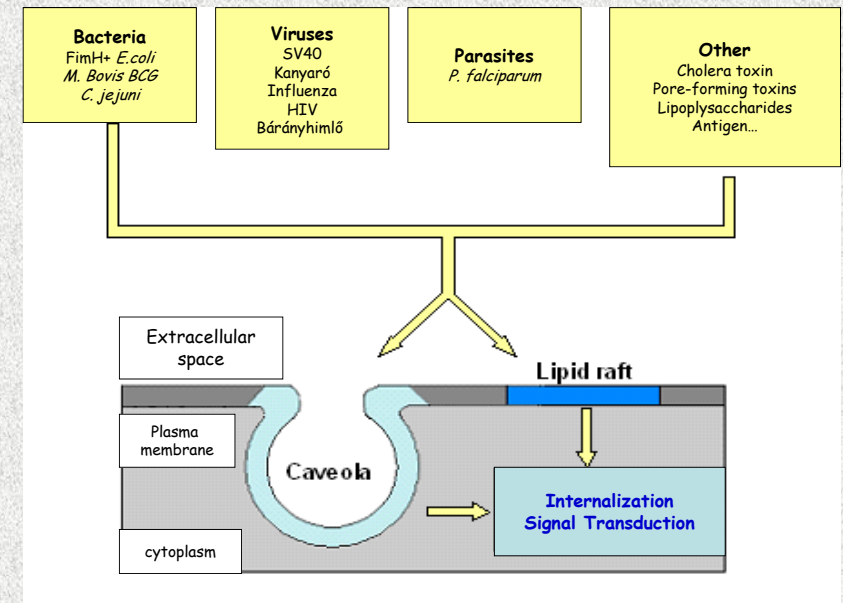
- Jelátvitel, sejt-kommunikáció „térbeli és időbeli” kontrollja (immunrendszer, idegrendszer)
- Különböféle mikróbák (vírusok, prionok, baktériumok, protozoák) transzportja sejtekbe/sejtek között

## Lipid raftok és a limfocita jelátvitel

- kompartmentalizáció: „toborzás/kapcsolás”
- izolálás, kinetikai szabályozás
- szignál integrálás (PI3-K/Vav/Rac; raft-aggregáció, receptor clustering)
- fehérje szelekció/szortírozás

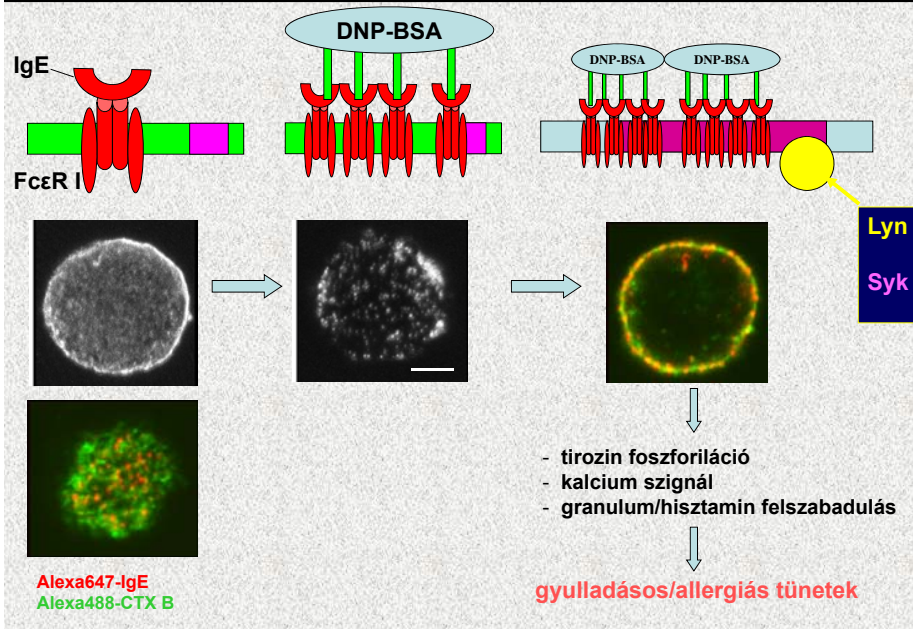


## A membrán mikrodomének különféle mikróbak célpontjai



## A raftok szerepe az allergén-válasz kialakulásában

(RBL-2H3 mucosa hízósejtek/leukocyták)



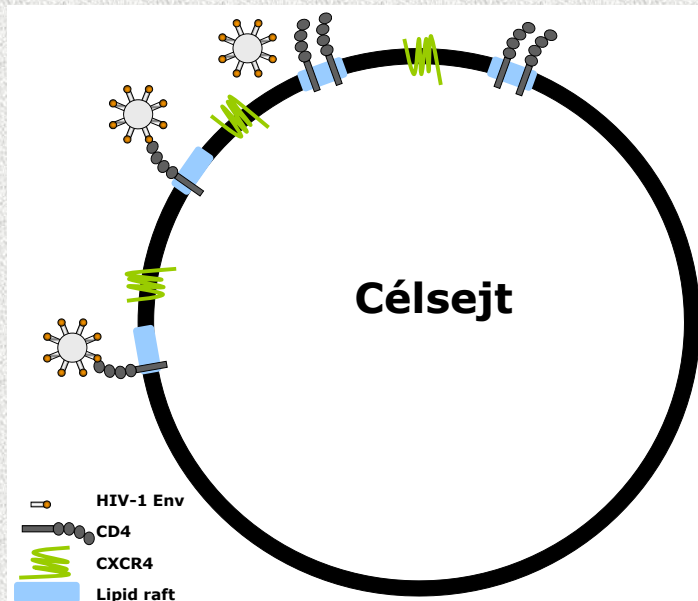
## A HIV és egyéb vírusok (pl. kanyaró, influenza és himlővírusok) célsejtbe jutása: „raft-függő” folyamat

➤ A vírus sejtfelszínhez történő kapcsolódása, rögzülése, a membránfúzió és internalizáció:

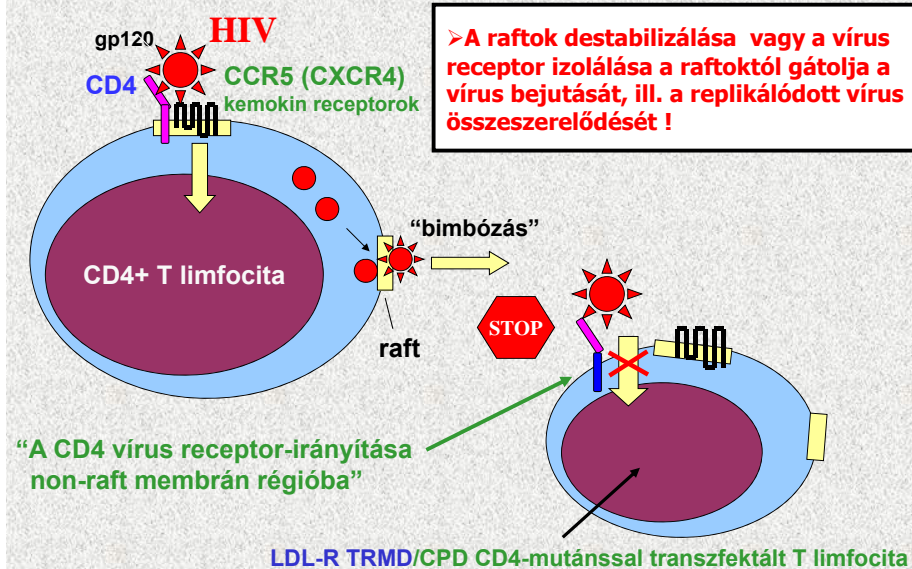
- függ a vírusreceptor(ok) raft-lokalizációjától
- koleszterinfüggő
- függ a kortikális citoszkeleton és a raftok integritásától



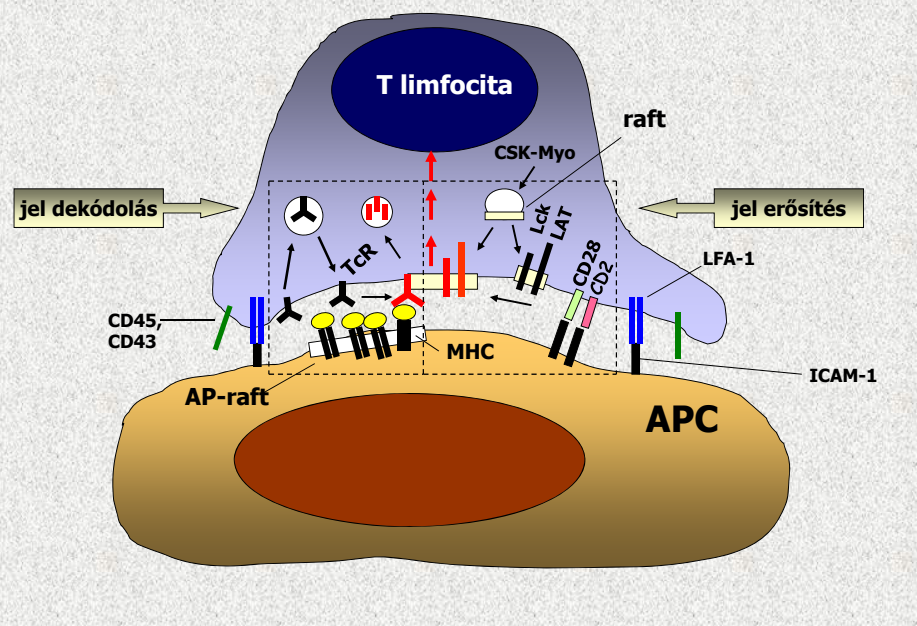
## A HIV-1 fertőzés molekuláris modellje



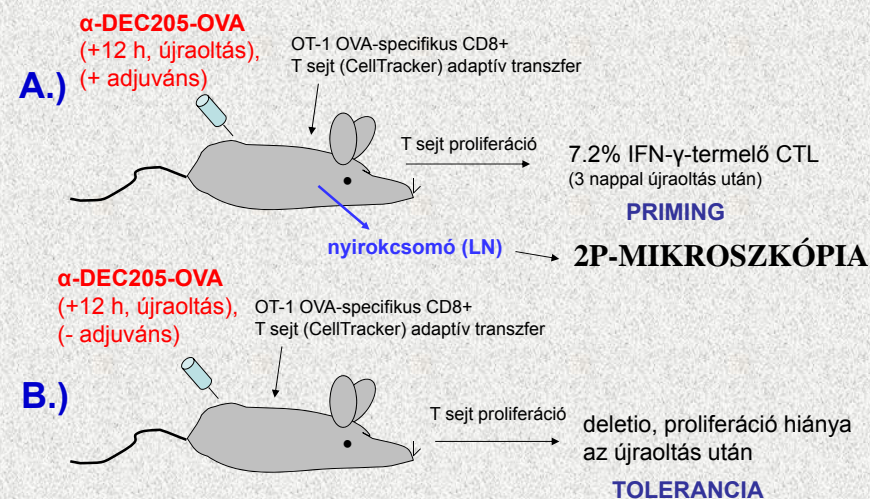
## T sejtek, monociták, DC fertőzése HIV vírussal

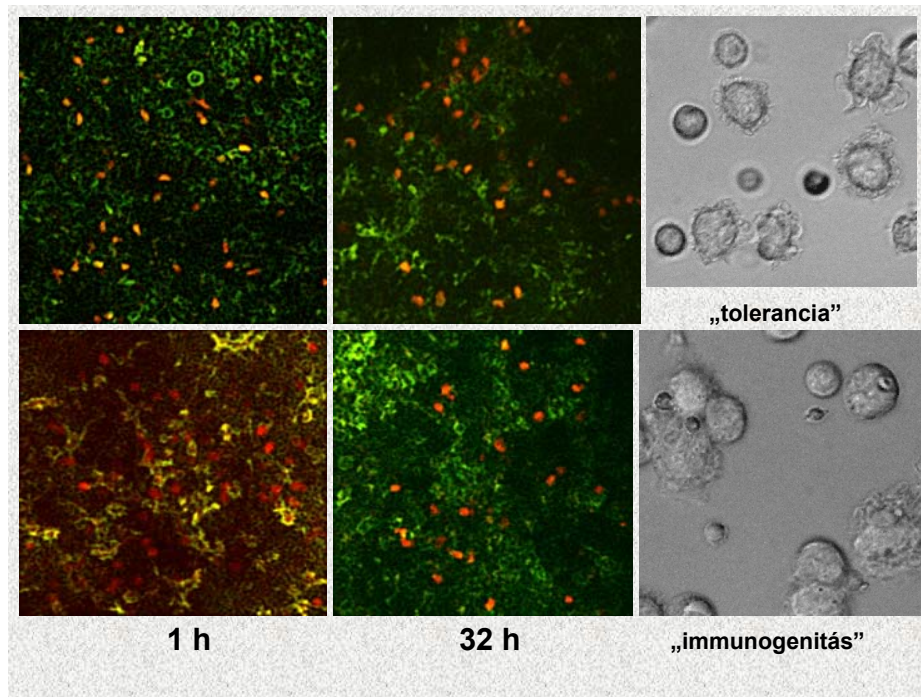


## A T-sejt - APC immunuszinapszis: funkcionális modell



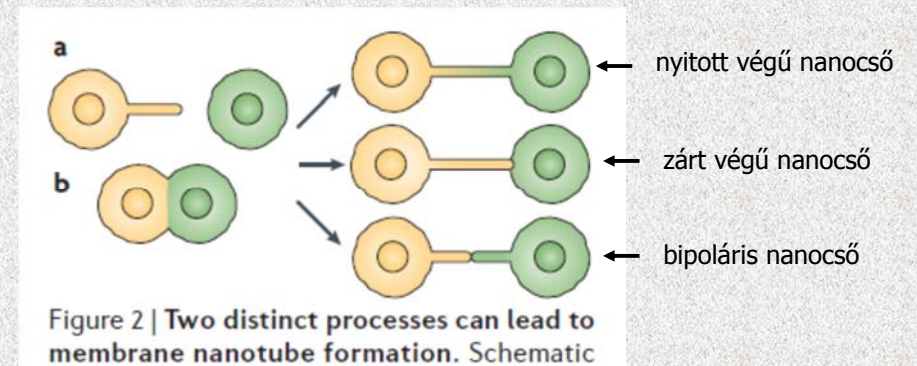
## Tolerancia ill. immunválasz (priming) indukciója egérben antigén-targeting révén – a nyirokcsomó 2PM „in vivo” dinamikus képalkotása





## A membrán nanocsövek kialakulása, típusai

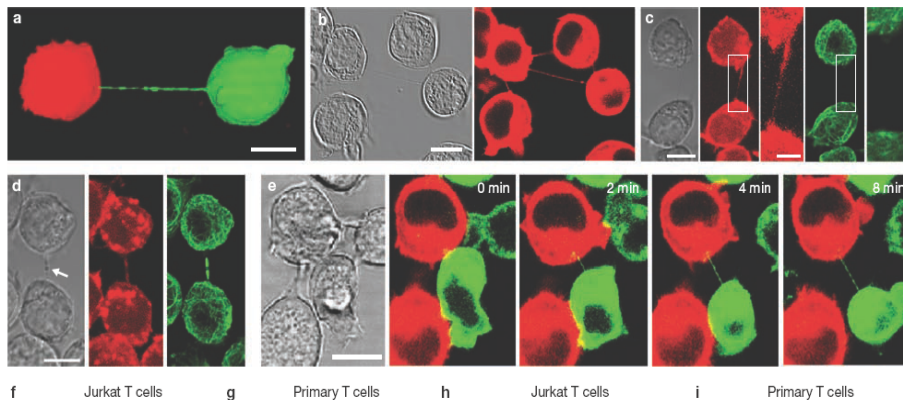
- a.) F-aktin/tubulin tartalmú „protrúzió” képződése és növekedése révén  
 b.) Két előzőleg kontaktusban levő sejt eltávolodásakor (pl. osztódás után)



D.M Davis, S. Sowinski: *Nature Rev Mol Cell Biol* 9:431, 2008.

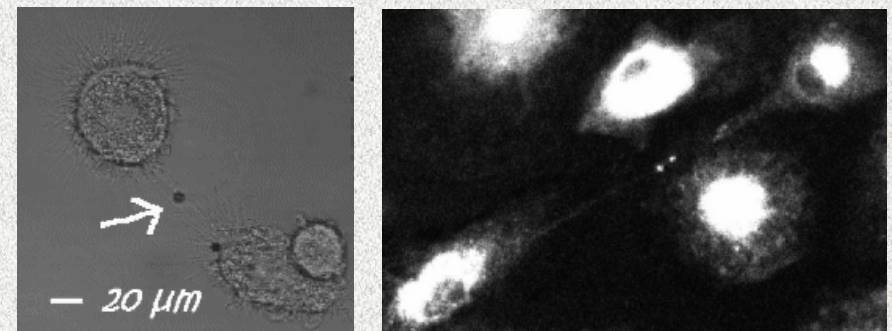
## A T-sejtek közötti „nanocsövecskék hálózata”

Sowinski et al, 2008, *Nature Cell Biol*



- A nanocsövek kontaktusba lépő (in vitro: 12-15 óra) fertőzött és nem fertőzött T sejtek kapcsolatának megszűnése után alakulnak ki
- A T sejt nanocsövek, szemben mieloid nanocsövekkel, nem mikrotubulus hanem F-aktin-tartalmú membránnyúlványok
- A T-sejt nanocsövek nem „nyitott végű csatornák”, anyagtranszport nincs

## „Baktérium szörfőzés” a makrofágok között

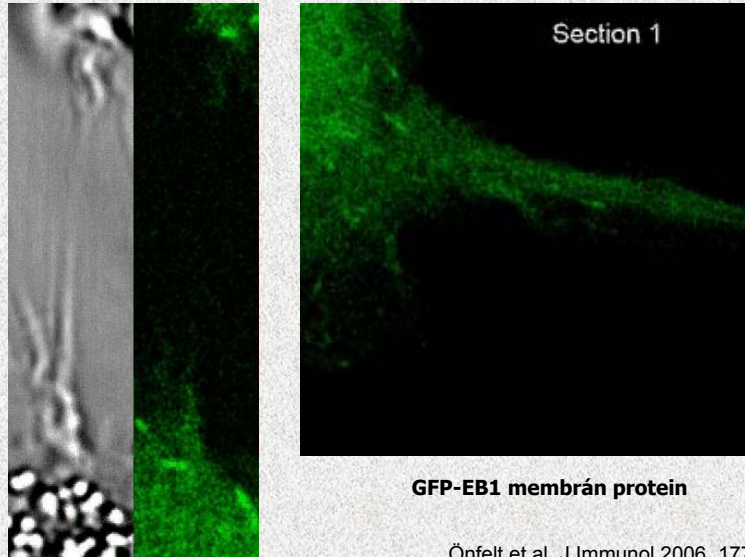


*Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guérin (BCG)<sup>4</sup> expressing GFP.

Önfelt et al, *J Immunol* 2006. 177: 8476-83



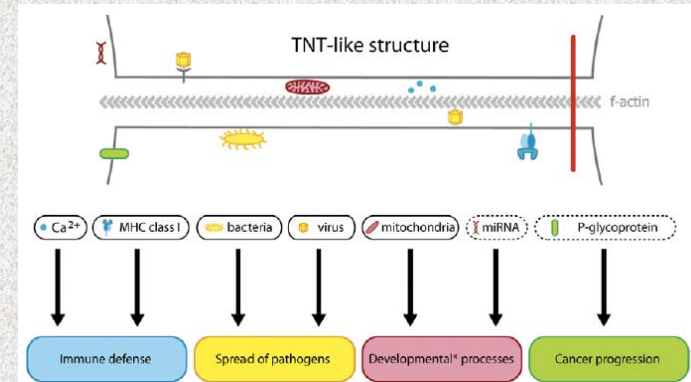
## Tunelling nanocsövek (TNT): anyagtranszport, vezikulattranszport, hálózatok...



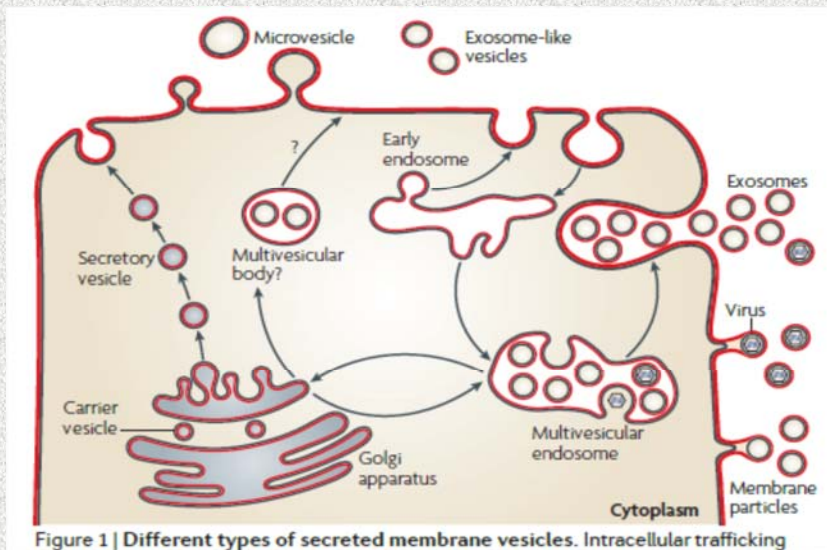
Önfelt et al, J Immunol 2006. 177: 8476-83

## Intercelluláris transzport a „tunneling nanocsöveken” át:

- lipid vezikulák
- membrán részek
- endoszóma, lizoszóma
- mitokondrium, miRNA
- aktív kaspáz-3, endogén membrán kötött FasL
- receptorok (CD59, CD81, MHC-I)
- prionok



## Szekretált membrán mikrovezikulák: a sejtek „távkommunikációs eszközei”



## A membrán mikrovezikulák exoszómák szabályozó funkciói: példák az immunszabályozásra

