

# A BIOLÓGIAI MOZGÁS MOLEKULÁRIS MECHANIZMUSAI

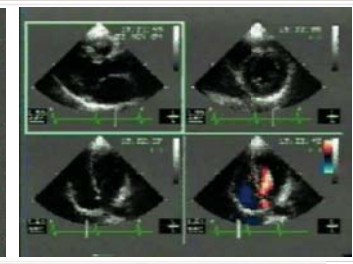
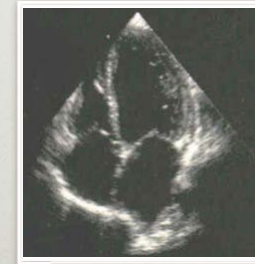
## BIOLÓGIAI MOZGÁSOK



Kollektív mozgás

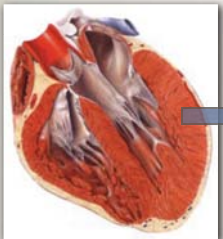


Szervezet mozgása ("Az évszázad ugrása")

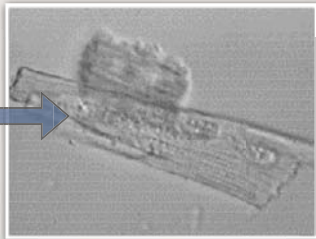


Szerv mozgás

## BIOLÓGIAI MOZGÁSOK



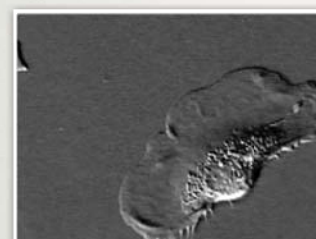
Ritmusosan összehúzódó szívizomsejt



Osztódó sejt



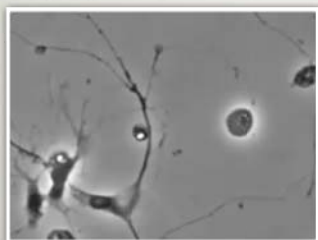
## BIOLÓGIAI MOZGÁSOK



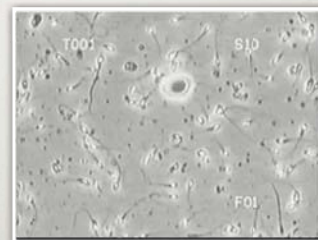
Tovakúzó keratinocita



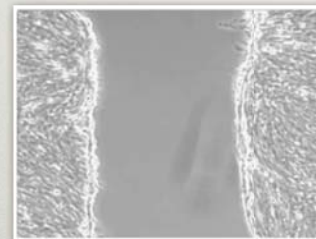
Kemotaxis



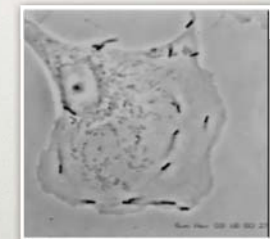
Axon (neurit) növekedés



Mozgó spermaticiták

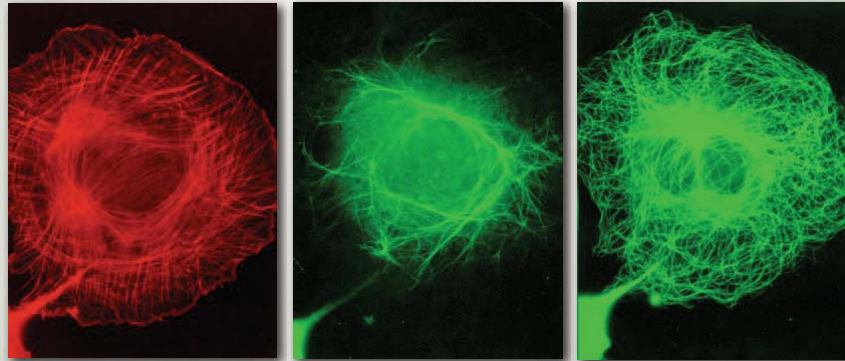


Sebgyógyulás modell - fibroblasztok  
kollektív mozgása



Listeria baktériumok  
intracelluláris mozgása

# A citoszkeletális rendszer



Aktin  
(rodamin-phalloidin)

Vimentin  
(anti-vimentin)

Mikrotubulusok  
(GFP-tubulin)

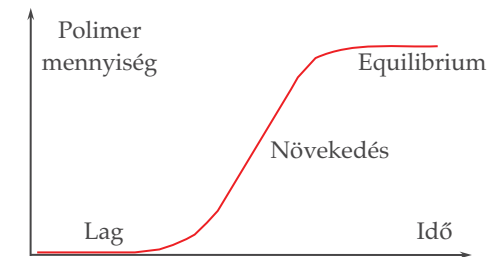
1. Polimerizáció ("okos téglá" egységekből)
2. Mechanika (lásd következő előadás)

# Polimerizáció

## Alegységek összeállásának folyamata

### A polimerizáció fázisai:

1. Lag fázis: nukleáció
2. Növekedés fázisa
3. Equilibrium (egyensúly) fázisa



# Polimerizációs egyensúlyok

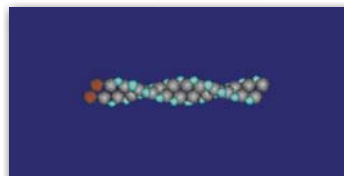
## 1. valódi equilibrium



## 2. dinamikus instabilitás: folyamatos, lassú növekedést követő katasztrofikus depolimerizáció

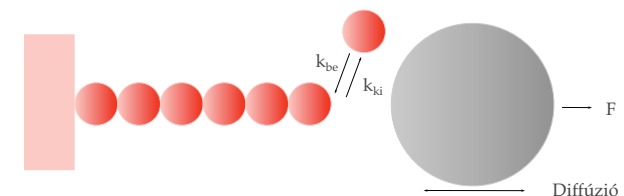
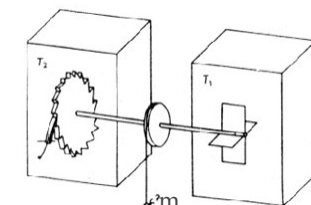


## 3. Treadmilling: taposómalom



# Erőkifejtés citoszkeletális filamentum polimerizációjával

## Brown-féle kilincskerék mechanizmus

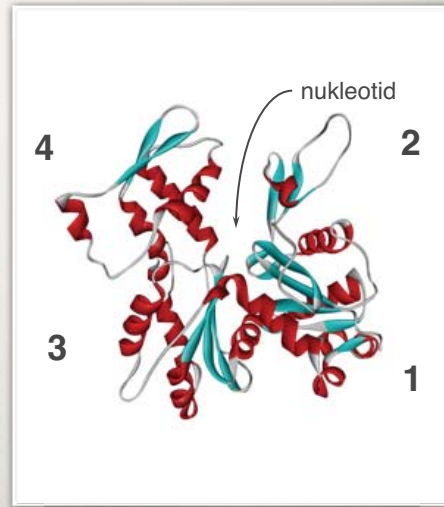




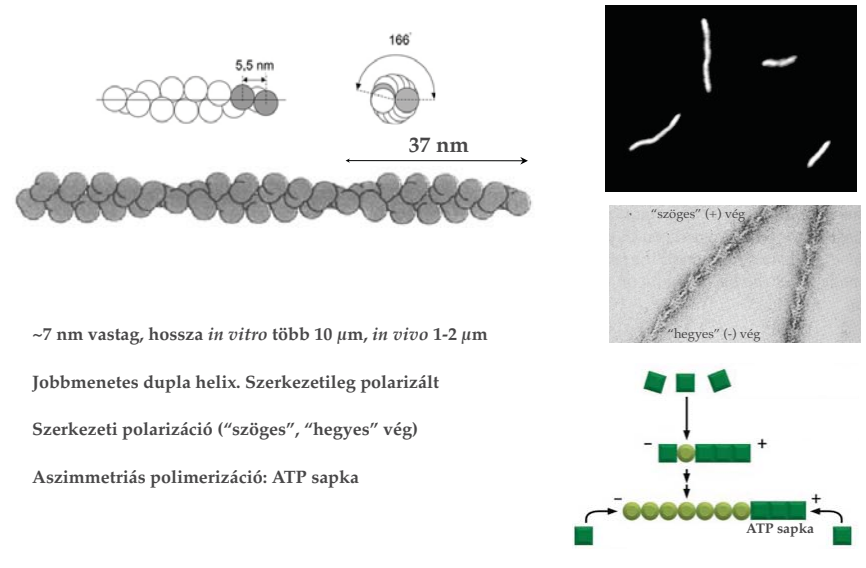
# Az aktin monomer (G-aktin)

Az eukarióta sejtekben legnagyobb mennyiségben előforduló fehérje (az összfehérje 5%-a)  
 Koncentrációja a sejtben: 2-8 mg/ml (50-200  $\mu$ M)  
 [G-aktin oldat esetére ez 25 nm átlagot molekulák közötti távolságot jelent]

**Alegység:** globuláris (G-) aktin  
 MW: 43 kDa, 375 aminosav,  
 1 molekula kötött adenosin nukleotid (ATP vagy ADP)  
 Szubdomének (4)  
 Genetikai variabilitás: emlősökben 6 különböző aktin, három családban ( $\alpha$  izomeredetű,  $\beta$ ,  $\gamma$  nem-izomeredetű)

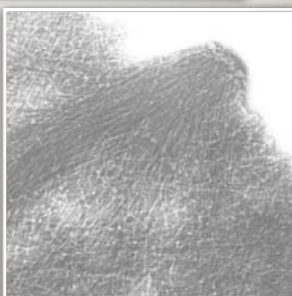
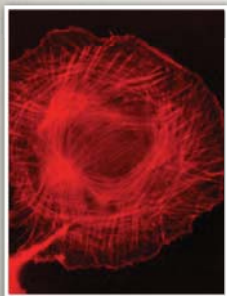
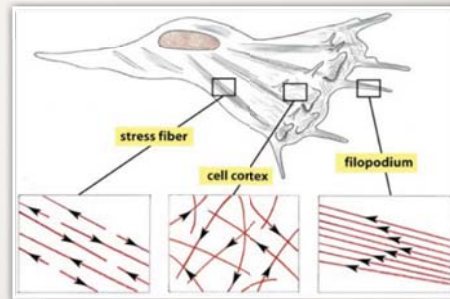


# Az aktin filamentum (F-aktin)



# Aktin a sejtben

cortex (a sejt pereme)  
 "stress" rostok,  
 sejtnyúlványok (lamellipodia, filopodia,  
 microspikes, focal contacts, invagináció)  
 mikrovillus

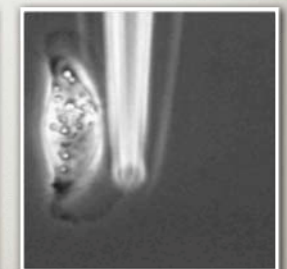
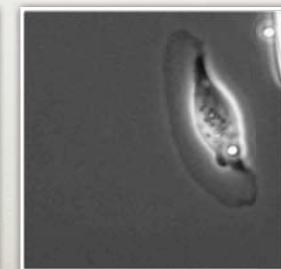
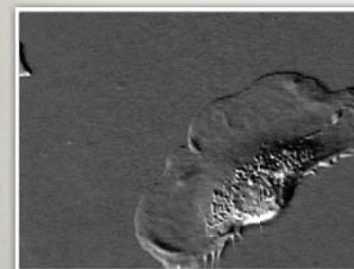
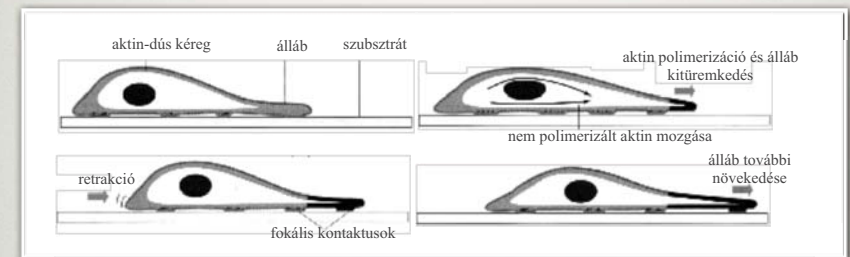


Stress rostok

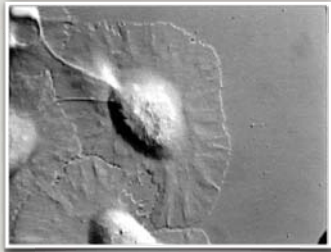
cortex

filopodium

# Aktin-függő sejtmozgás



## Aktin-függő sejtmozgás megnyilvánulásai



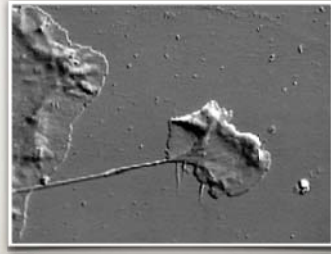
Retrográd áramlás



Filopodium képződési dinamika

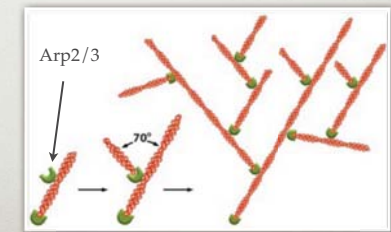
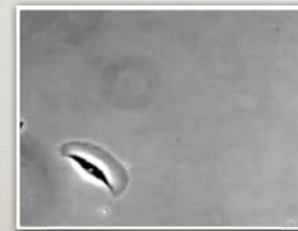
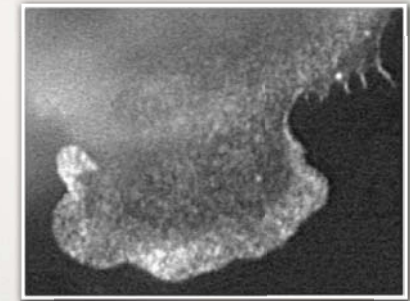
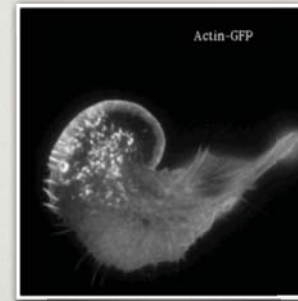


Citoplaszt (anukleáris sejtfagmentum) autonóm mozgása

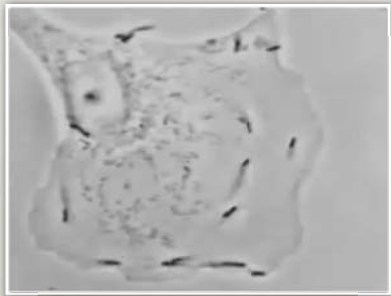


Membrán fodrozódás

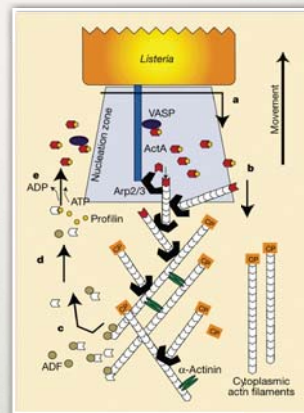
## Aktin dinamika a lamellipodiumban



## Intracelluláris patogének is kihasználják az aktin rendszert

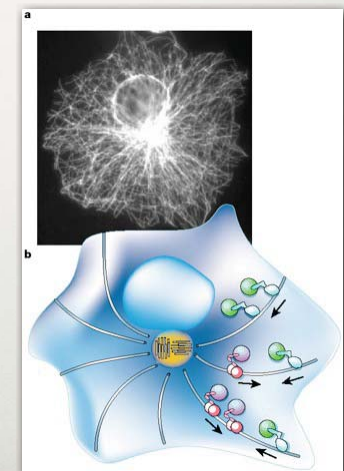
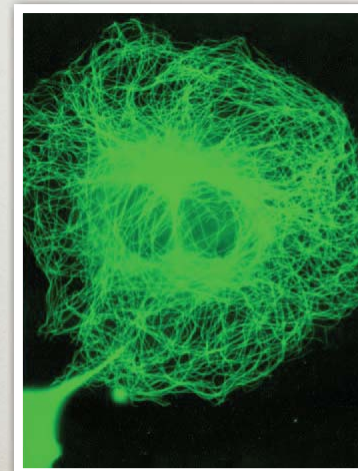


*Listeria monocytogenes* intracelluláris motilitása



## Mikrotubuláris rendszer

Eukarióta sejtek tubulinból és kapcsolódó fehérjékből álló rendszere.





# A mikrotubulusok építőköve: tubulin

**Alegység:** tubulin

Idegszövetben az összfehérje 10-20%-a

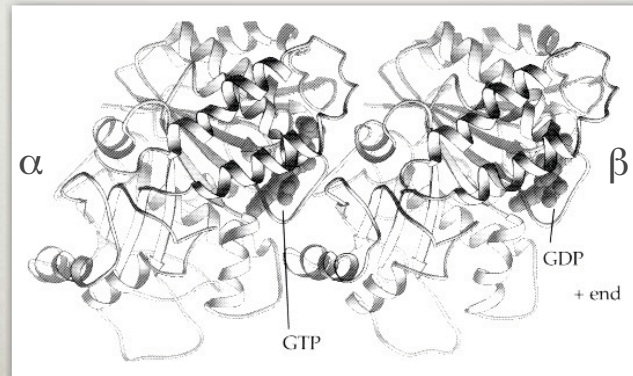
MW: ~50 kD:  $\alpha$ - és  $\beta$ -tubulin  $\rightarrow$  heterodimér

1 molekula kötött guanozin nukleotid (GTP vagy GDP);

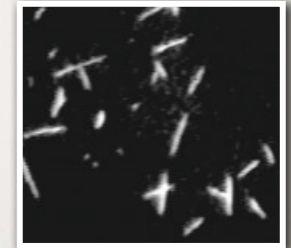
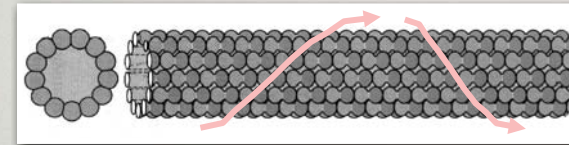
kicserélhető ( $\beta$ ), illetve nem kicserélhető ( $\alpha$ )

Szerkezeti polaritás

Genetikai variabilitás: legalább 6 különböző  $\alpha$  illetve  $\beta$  tubulin



# A mikrotubulus



~25 nm vastag, üreges

13 protofilamentum

jobbmenetes rövidmenetű helix

balmenetes hosszúmenetű helix

Szerkezeti polarizáció:

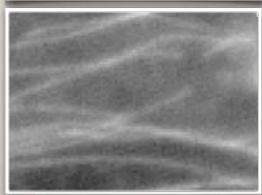
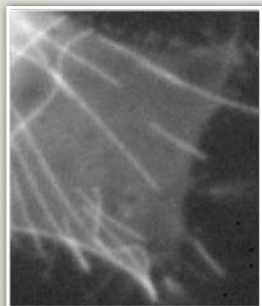
+vég: polimerizáció gyors,  $\beta$ -alegység által terminált

-vég: polimerizáció lassú,  $\alpha$ -alegység által terminált

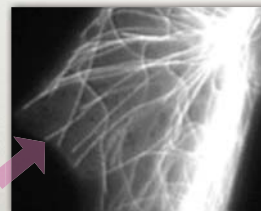
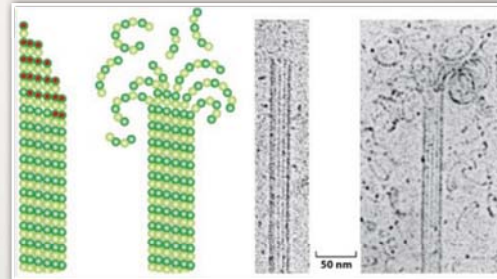
GTP-sapka

## Polimerizációs egyensúlyok mikrotubulusokban

Treadmilling



Dinamikus instabilitás



## Mikrotubuláris rendszer az eukarióta sejtben

**Hol található az eukarióta sejtben?**

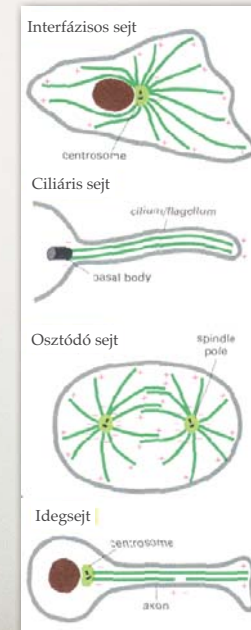
interfázisos sejt cytoplasmája, axon, cilium, flagellum, osztódó sejt húzóorsója.

**Polaritás a sejtben belül**

centrosomában -vég, a periférián +vég.

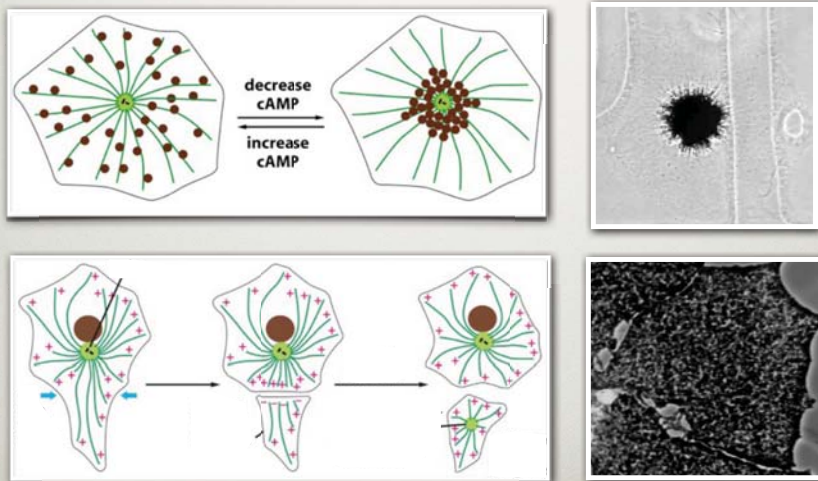
Centrosoma: 2 centriolum, centrosoma matrix, benne  $\gamma$ -tubulin

Sejt polaritás "fixálása" MT asszociált fehérjék (capping protein) segítségével.



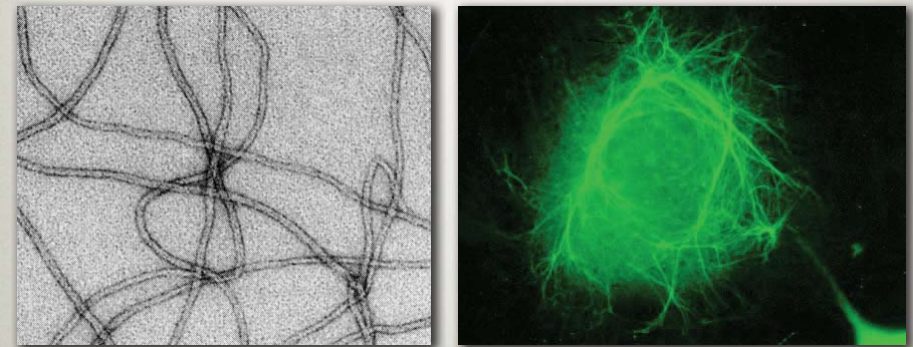
# Mikrotubuláris rendszer funkciói

1. Autópályák motorfehérjék számára
2. Érzékeli, monitorozza és megtalálja a sejt geometriai középpontját
3. Motilitási funkciók (sejtosztódás)



# Intermedier filamentális rendszer

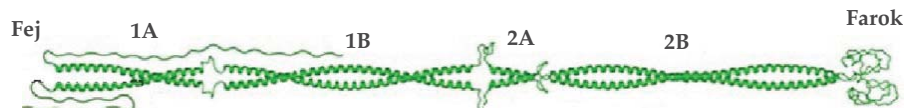
8-10 nm átmérőjű szövetspecifikus, filamentális fehérjerendszer, mely a legtöbb (de nem minden) állati sejtben megtalálható. Alapvető szerep: mechanikai ellenállás biztosítása



Vimentin, Vic Small

# Intermedier filamentum építőkövek

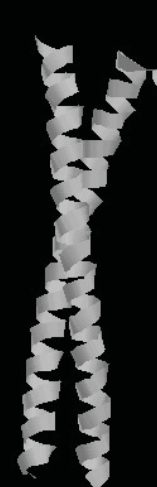
Intermedier filamentum dimer:



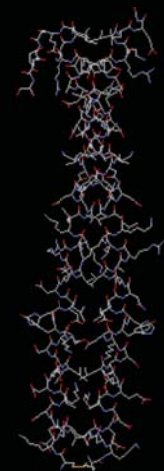
Tulajdonságok:

- Kémiai ellenálló (detergensek, magas ionerősség)
- Denaturáló szerekkel (pl. urea) extrahálható
- Fibrózus monomer (nem globuláris, mint az aktin vagy tubulin)
  - amino-terminális fej
  - centrális rúd ( $\alpha$ -hélix, heptád ismétlődés)
  - carboxy-terminális farok
  - a szövetspecifikus monomerek egymástól a végeik szerkezetében különböznek

Az intermedier filamentum alegysége: „coiled-coil” dimer  
Heptád ismétlődés szerkezet, hidrofób aminosavak



Vimentin dimer szalagdiagramja



Vimentin dimer drótháló diagramja



# Intermedier filamentumok csoportosítása

## Szövetspecifititás alapján (Klasszikus csoportosítás)

Szövet típus	Intermedier filamentum
Epithelium	Keratinok
Izom	Dezmin
Mesenchyma	Vimentin
Glia	Gialis fibrillaris savanyú fehérje (GFAP)
Ideg	Neurofilamentum (NF-L, NF-M, NF-H)

# Intermedier filamentumok polimerizációja

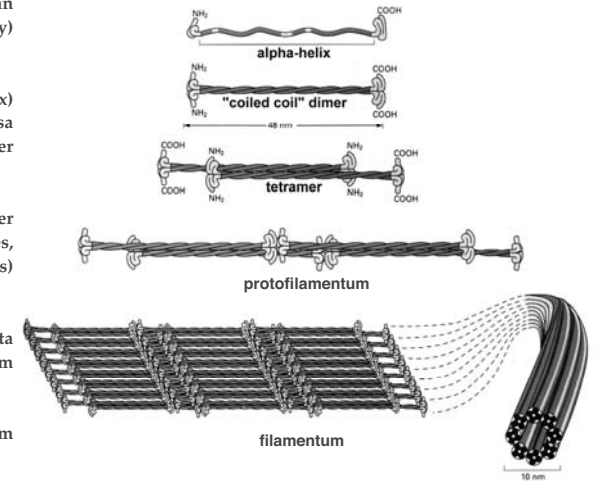
A sejtben teljesen polimerizált állapotban  
(nem dinamikus egyensúly)

Centrális rudak ( $\alpha$ -hélix)  
hidrofób-hidrofób kölcsönhatása  
-> coiled-coil dimer

2 dimer -> tetramer  
(antiparallel elrendeződés,  
szerkezeti apolaritás)

Tetramerek longitudinális sorozata  
-> protofilamentum

8 protofilamentum -> filamentum

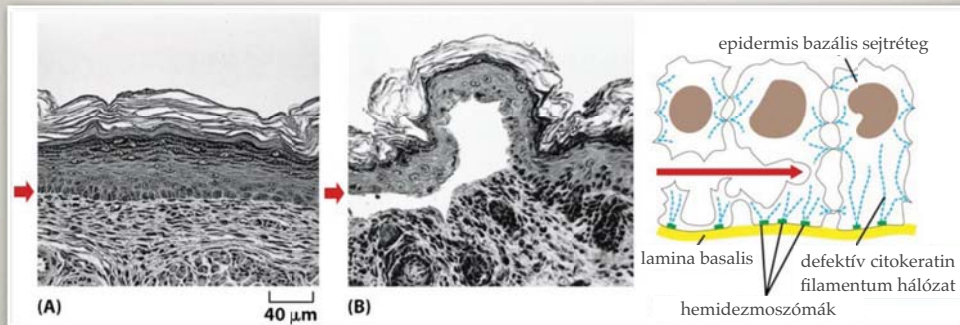


# Intemedier filamentumok szöveti funkciói

## Szöveti mechanikai stabilitás biztosítása

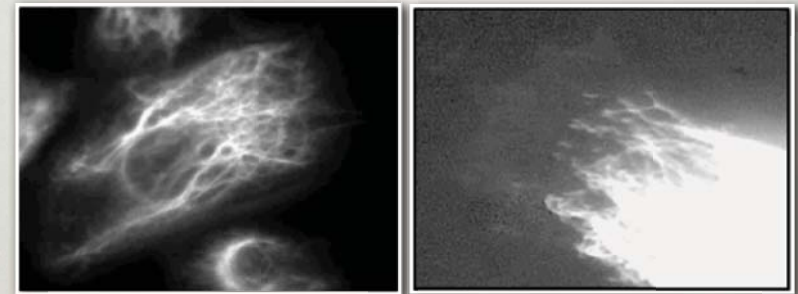
Epiteliális (hám-) sejtekben:

- Pathologia: *epidermolysis bullosa simplex*.
- Mutáció a keratin génben.
- Enyhe mechanikai hatásra (pl. dörzsölés) fellépő hólyagos hámszétérés.



# Az intermedier filamentumok dinamikusabbak mint korábban sejtettük

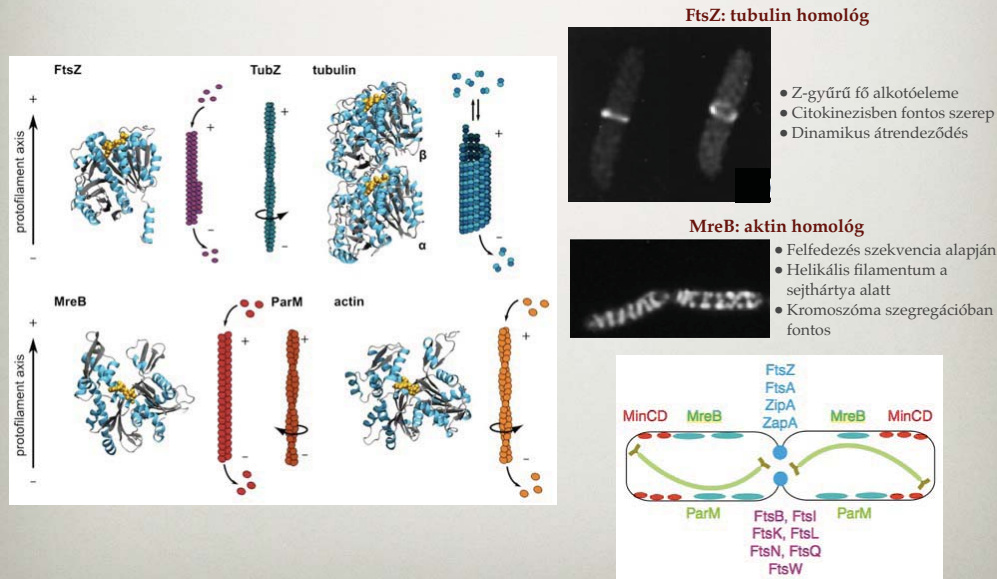
Dinamikus vimentin átrendeződés az élő sejtben



GFP-konjugált  
vimentin 3T3 sejtben

Egyedi filamentum  
turnover

# PROKARIÓTA CITOSZKELETON



# MOTORFEHÉRJÉK

1. Specifikus filamentumhoz kapcsolódnak.
2. Elmozdulást és erőt generálnak.
3. Kémiai energiát használnak fel.

## A motorfehérjék típusai

### 1. Aktin alapú

**Miozinok:** Konvencionális (miozin II) és nem-konvencionális Miozin szupercsalád (I-XXIV osztályok). Plusz vég irányába mozognak.

### 2. Mikrotubulus alapú

- Dineinek:** Ciliáris (flagelláris) és citoplazmáris dineinek. A mikrotubulus mentén a mínusz vég irányába mozognak.
- Kinezinok:** Kinezin szupercsalád: konvencionális és nem-konvencionális. A mikrotubulus mentén a plusz vég irányába mozognak.
- Dinaminok:** MT-függő GTPáz aktivitás. Biológiai szerep: vakuoláris fehérjeválogatás (pinchase enzimek)?

### 3. DNS alapú mechanoenzimek

DNS és RNS polimerázok, vírus kapszid csomagoló motor, kondenzinek. A DNS fonal mentén haladnak és fejtenek ki erőt.

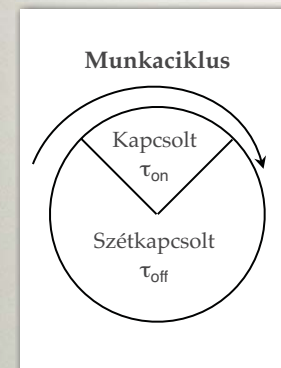
### 4. Rotációs motorok

F1F0-ATP szintetáz. Bakteriális flagelláris motor.

### 5. Mechanoenzim komplexek

Riboszóma

## Motorfehérjék munkaciklusa



"Duty ratio":  $r = \frac{\delta V}{v}$

$\delta$  = munka- vagy lépéstávolság  
 $V$  = ATPáz sebesség  
 $v$  = motilitási sebesség

### Processzív motor: $r > 1$

Pl. kinezin, DNS-, RNS-polimeráz. Munkaciklus nagy részében kapcsolt állapotban. Egmaga képes a terhet továbbítani.

### Nonprocesszív motor: $r < 1$

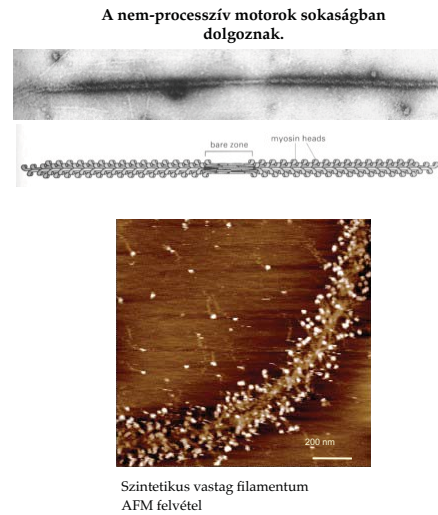
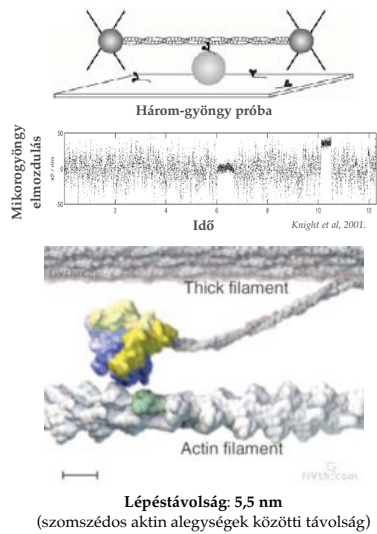
Pl. miozin. Munkaciklus nagy részében szétkapcsolt állapotban. Sokaság működik együtt.

Egyetlen motorfehérje által kifejtett erő: néhány pN.



# NEM-PROCESSZÍV MOTORFEHÉRJÉK

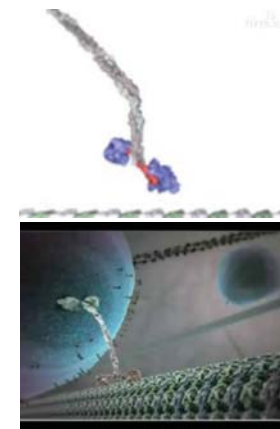
## Miozin



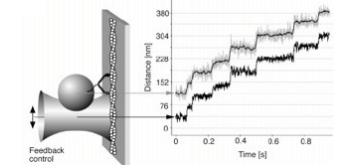
# PROCESSZÍV MOTORFEHÉRJÉK

## Kinezin

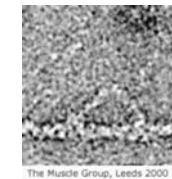
Lépéstávolság: 8 nm (minden második tubulin alegység közötti távolság)



## Miozin V



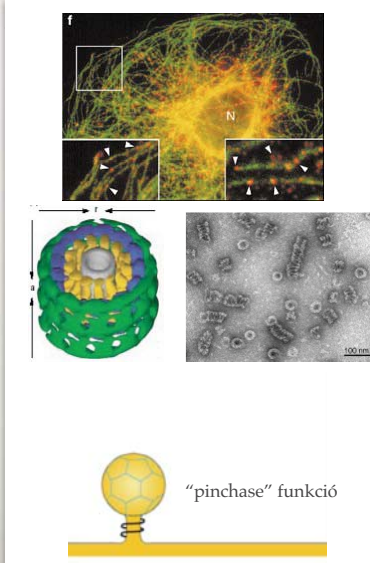
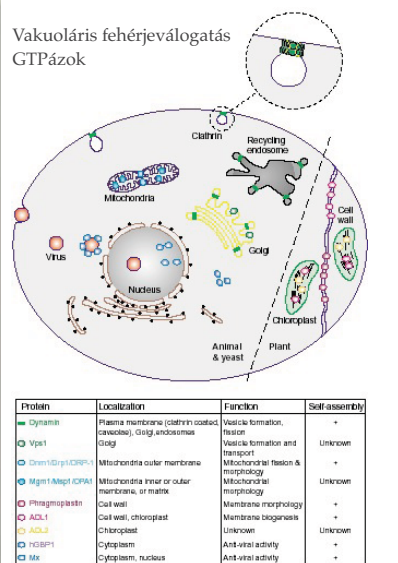
Lépéstávolság: ~36 nm nm  
(aktin filament hélix félmenet emelkedés)



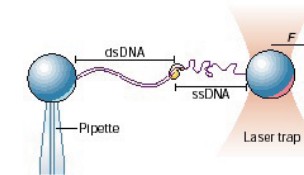
A processzív motorok egyedül dolgoznak.

# Dinaminok

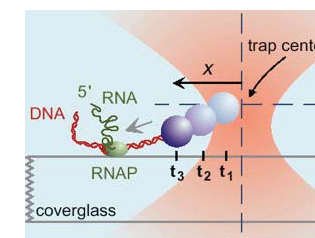
Vakuoláris fehérjeválogatás  
GTPázok



# DNS Motorok

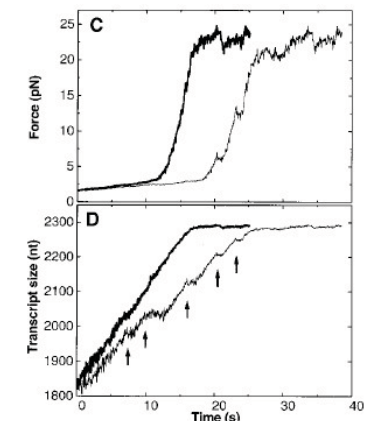


T7 DNS Polimeráz



RNS Polimeráz

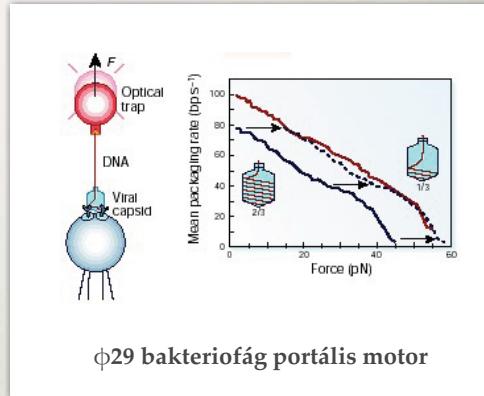
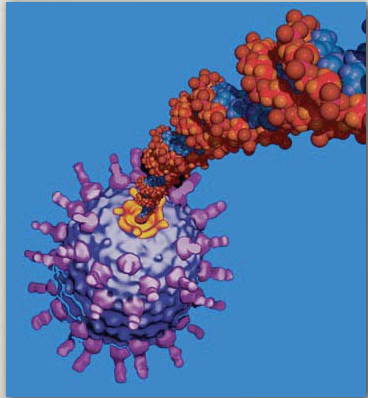
Processzív motorok



RNS Polimeráz, Wang et al. 1998.

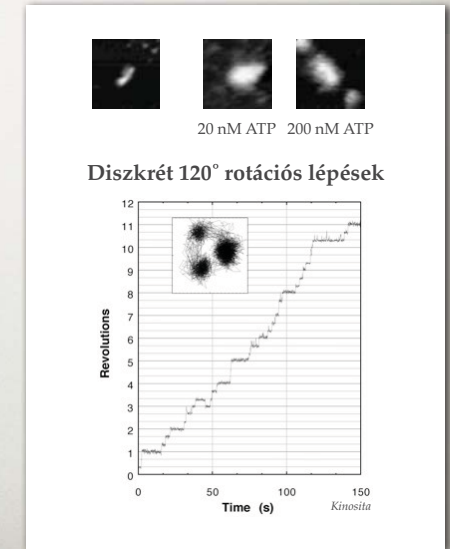
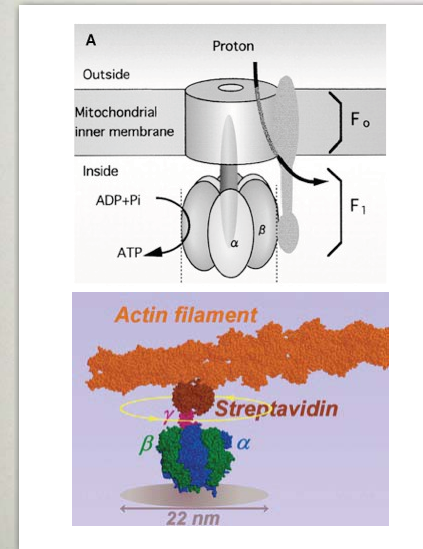
# Vírus portális motor

## Különleges DNS motor



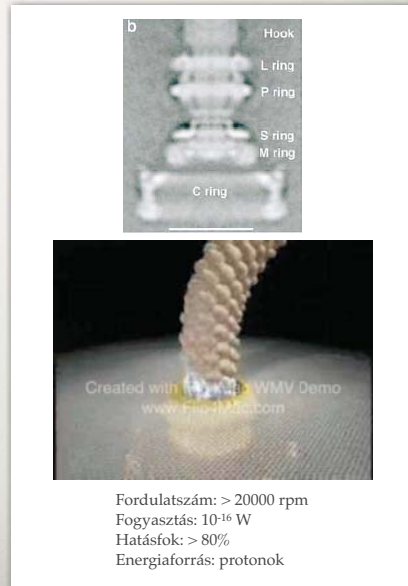
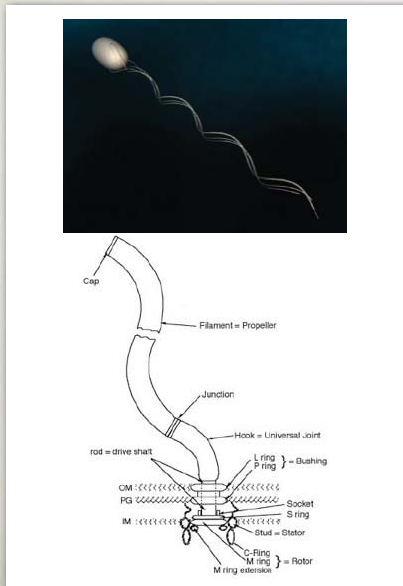
# ROTÁCIÓS MOTOROK I:

## F1F0-ATP SZINTETÁZ



# ROTÁCIÓS MOTOROK II:

## Bakteriális flagellum motor



# Mechanoenzim komplex

## Riboszóma

