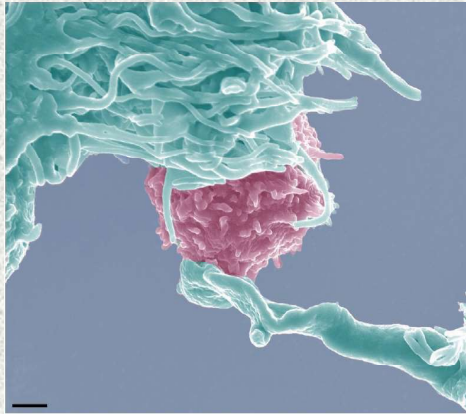


Membrán mikrodomének, nanocsövek és extracelluláris vezikulák: szerepük a sejtfunkciókban.

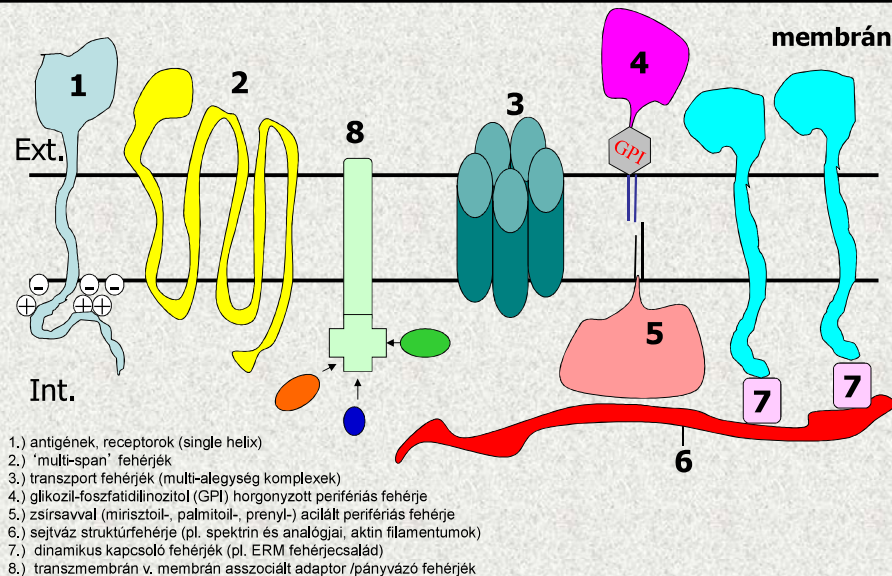
Példák az immunrendszer működéséből



2016-04-20, SE Biofizika - Matkó János, ELTE, Immunológia

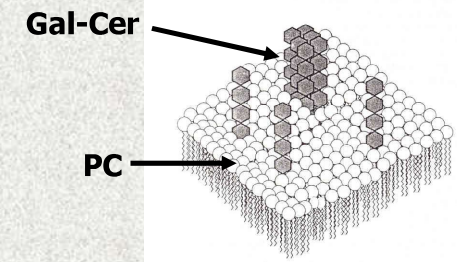
- **A sejtmembrán ultrastruktúrája**
- **A membrán mikrodomének (lipid tutajok, caveolák), avagy a „lipidek és fehérjék társasége”**
- **Egyéb membránstruktúrák (mikrovezikulák és membrán nanocsövek) és szerepük a sejt kommunikációban: példák az immunrendszer működéséből**

A membránfehérjék globális szerkezete és kapcsolódása a lipid kettősréteghez:

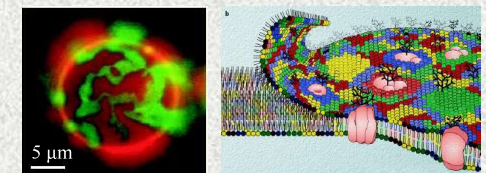


Homogén-e a membrán lipid kettősréteg?

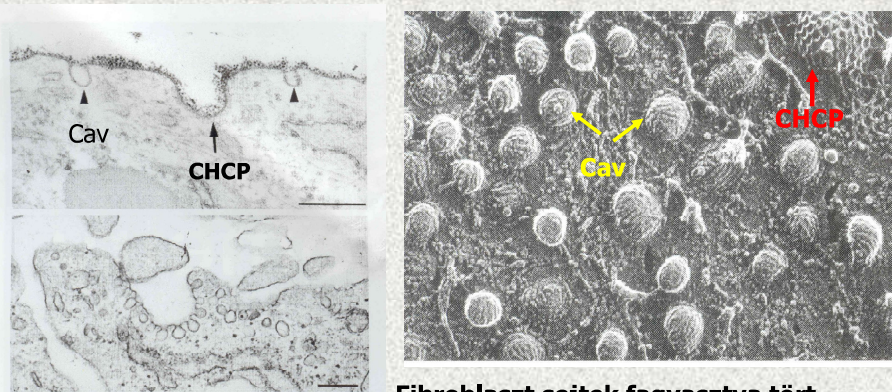
- Lipid mikroheterogenitás többkomponensű mono- és bilayerekben, liposzómákban (LUV): mikroklorimetria, FRAP, ESR
- Spontán **GSL**, **SM szegregáció** két/háromkomponensű PC lipid kettősrétegekben
- A **koleszterin** egy kritikus stabilizáló faktor



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

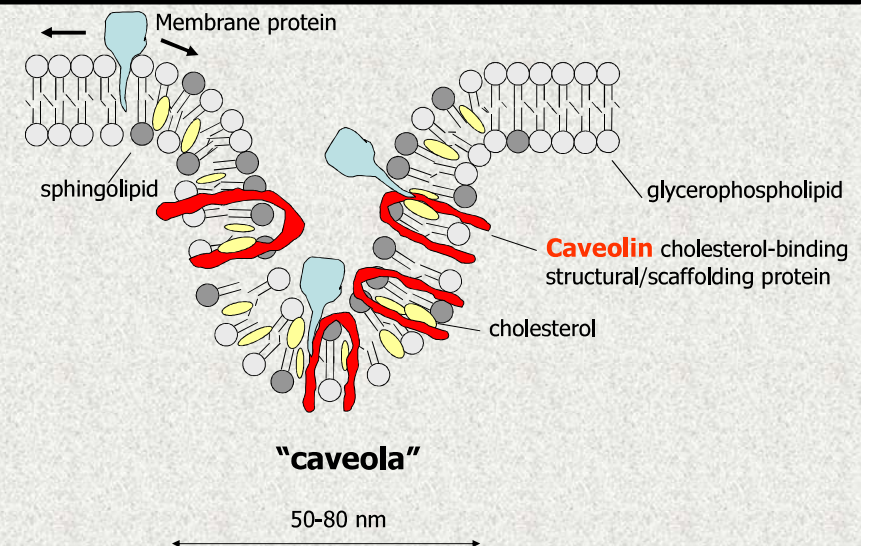


A „Caveola mikrodomének” elektronmikroszkópiás képe

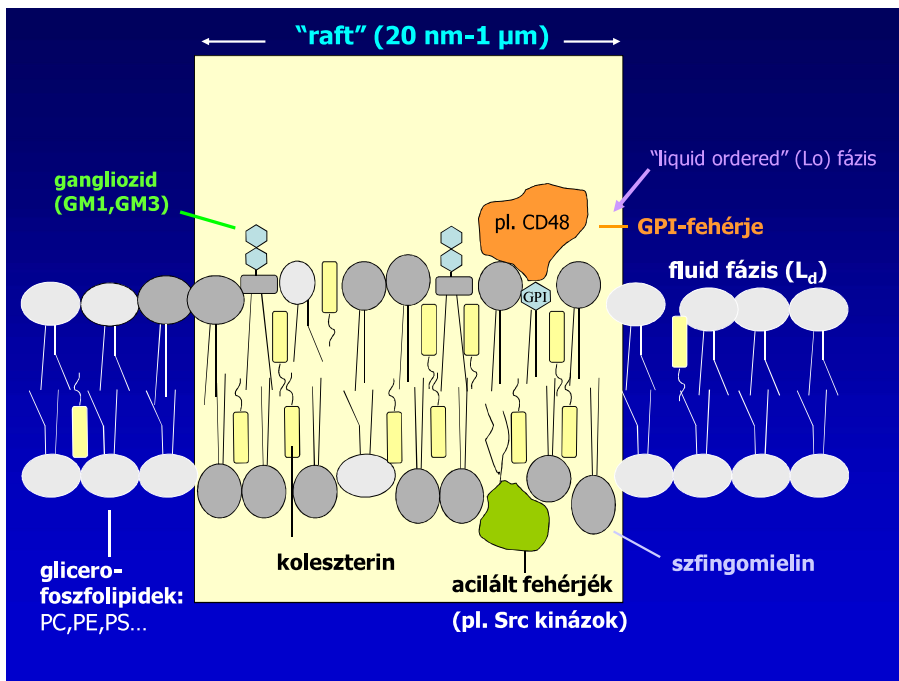
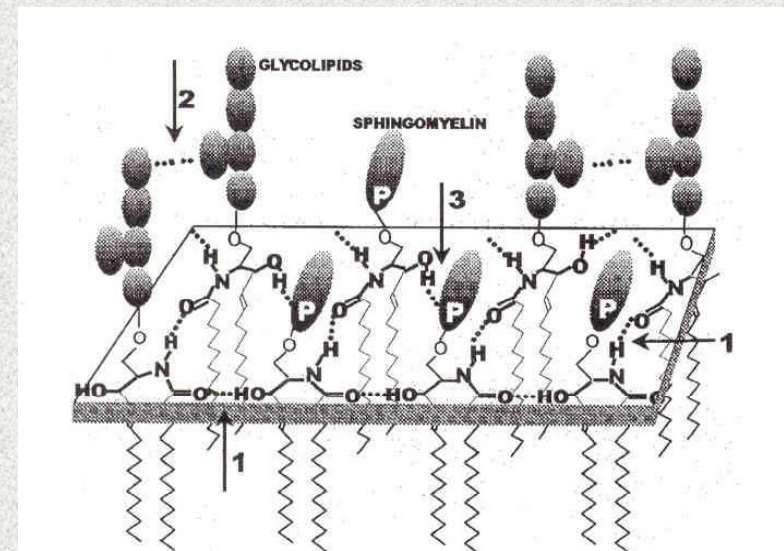


Fibroblaszt sejtek fagyasztva tört
belső membránfelszínének elektron-
mikroszkópos képe

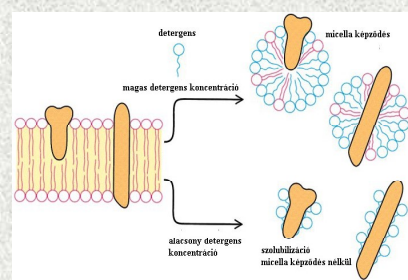
A „caveola” membrán mikrodomének szerkezete



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



A membrán mikrodomének „detergens-rezisztensek”

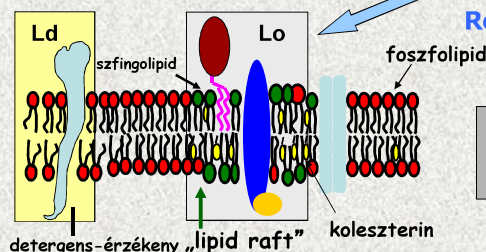


–„erős”/ ionos detergenssek: pl. oktil-glikozid, SDS

kioldás /szolubilizáció/

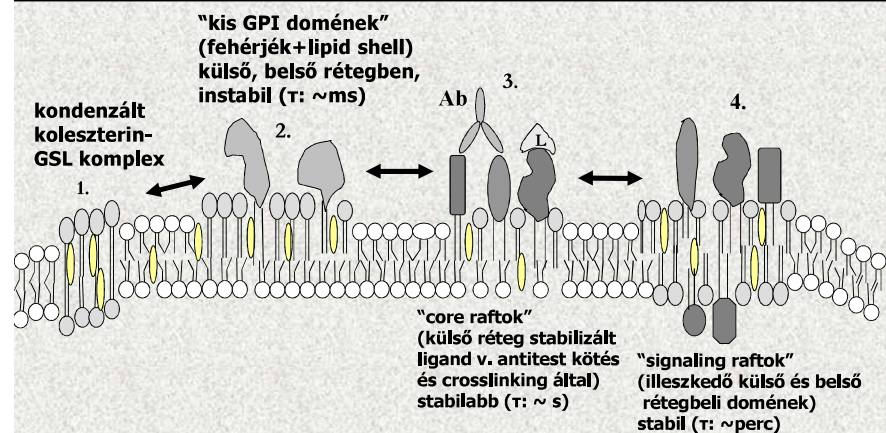
–„gyenge”/ nem ionos detergenssek: pl. Triton X-100, CHAPS, NP-40, Brij 97, Lubrol

Részleges vagy teljes rezisztencia



A lipid „tutajok” (raftok) kémiai definíciója

A sejtmembrán lipid raft dinamikájának modellje



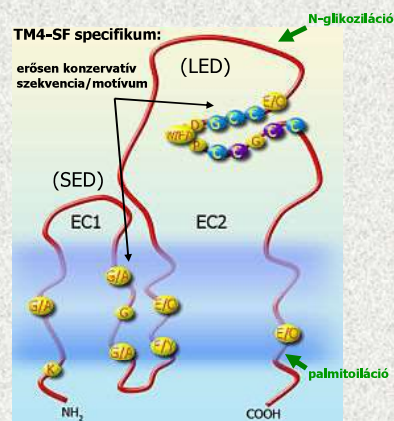
„tutajozó fehérjék”:

?

- 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”

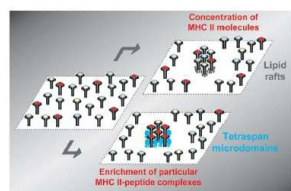


Fig. 11. Tetraspan microdomains and lipid rafts differ in their lipid-peptide content. Schematic representation of which class II-peptide subsets aggregate into tetraspan or lipid raft microdomains.

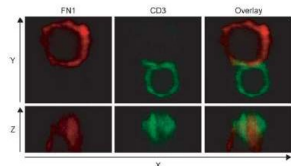
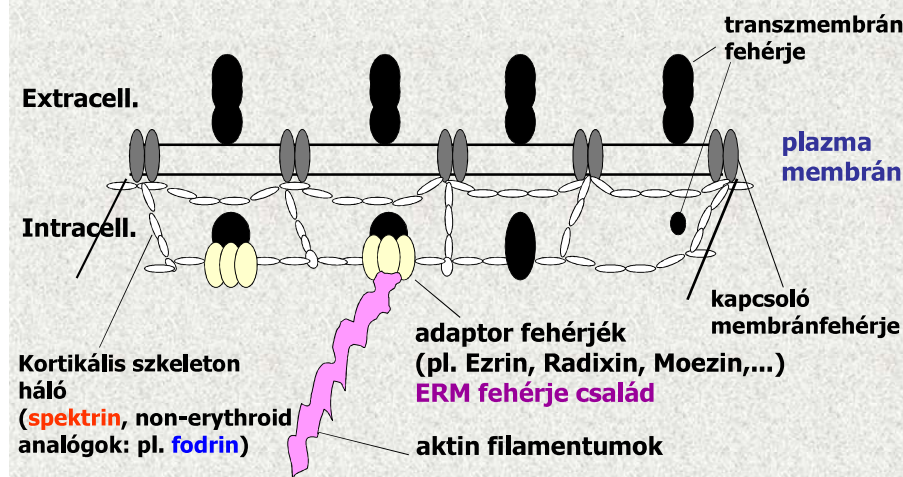
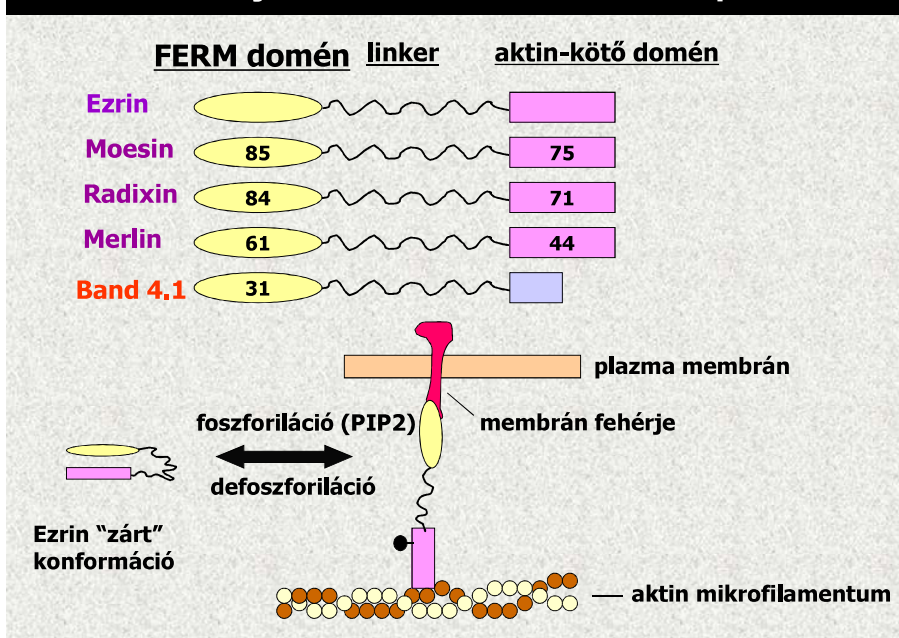


Fig. 12. CD79 microdomains are involved in synapse formation between DCs and T-helper cells. Monoclonal-derived DCs were pre-treated with the influenza vaccine Inflexal, then, and activated by LPS treatment. They were mixed with anti-CD79 LPS (1:1 ratio) and incubated for 30 min at 37°C. After fixation in 4% paraformaldehyde, cells were stained for CD79 domains with the anti-CD79 (red) and for CD3 with the anti-CD3 (green), as shown in the upper panel (DC). The lower panel of images shows the molecules according to the DC-T-cell synapse (DC plane).

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



Az ERM fehérjecsalád és a citoskeletális kapcsolatok

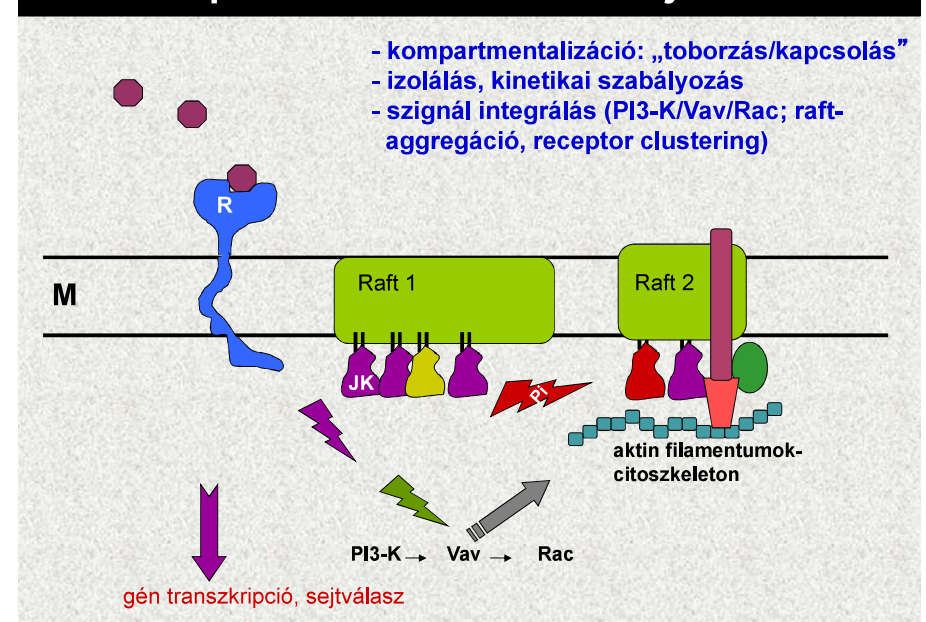


A plazmamembrán jelentős laterális és vertikális heterogenitást, „mikrodomén szerkezetet” mutat eukaryóta sejtekben

A membrán mikrodomének funkcionális jelentősége:

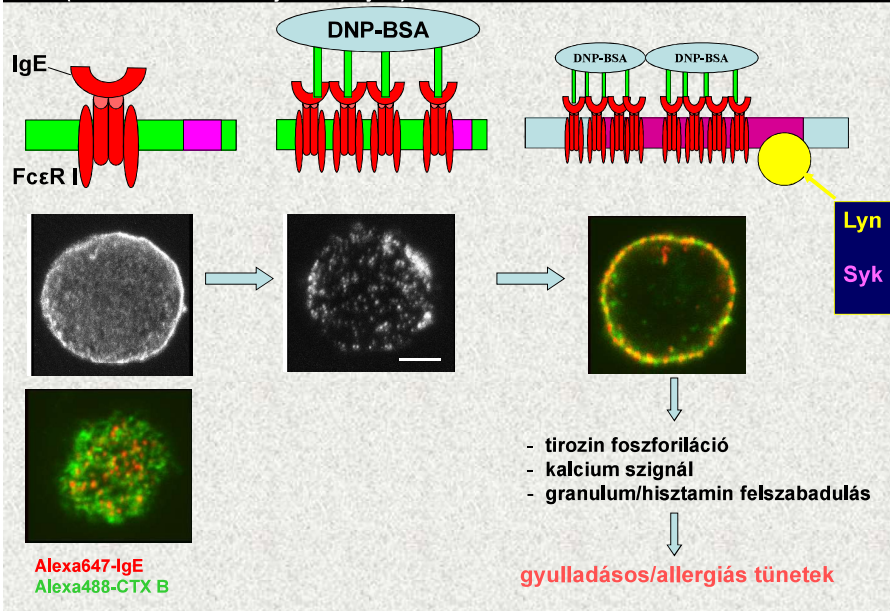
- Jelátvitel, sejt-kommunikáció „térbeli és időbeli” kontrollja (immunrendszer, idegrendszer)
- Különböző mikróbak (vírusok, prionok, baktériumok, protozoák) transzportja sejtekbe/sejtek között

Lipid raftok és a limfocita jelátvitel

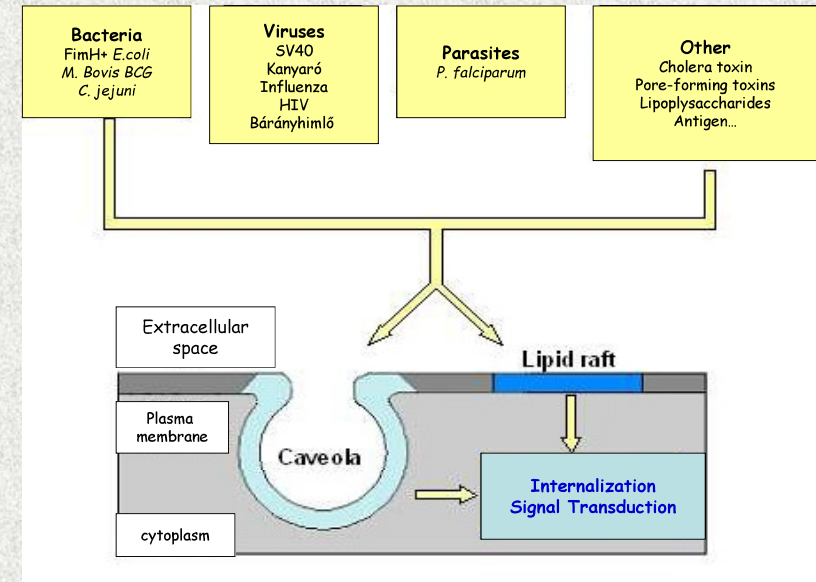


A raftok szerepe az allergén-válasz kialakulásában

(RBL-2H3 mucosa hízósejtek/leukocyták)



A membrán mikrodomének különféle mikróbak célpontjai

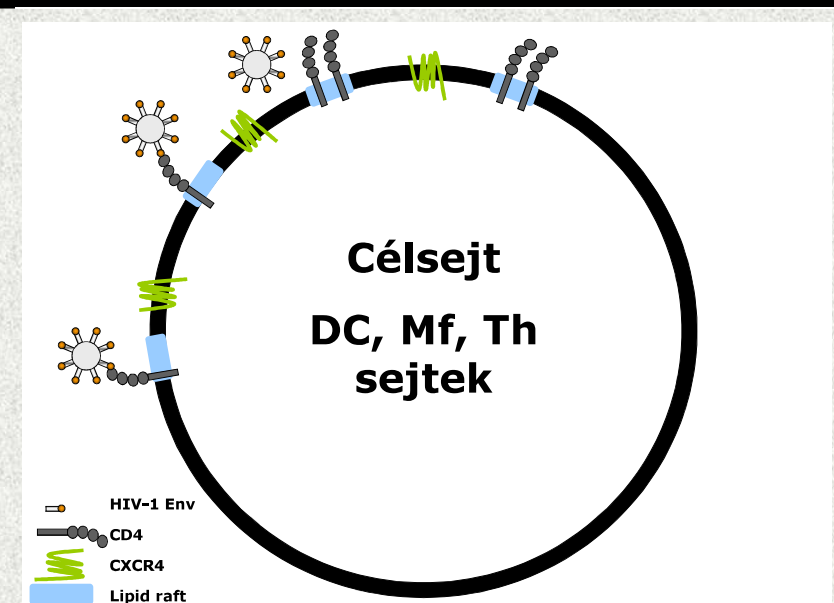


A HIV és egyéb vírusok (pl. kanyaró, influenza és himlővírusok) célsejtbe jutása: „raft-függő” folyamat

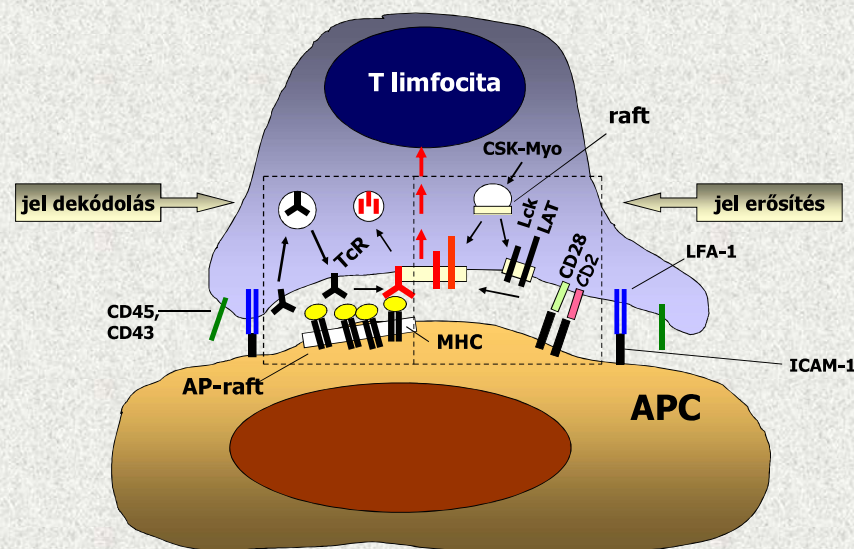
➤ A vírus sejtfelszínhez történő kapcsolódása, rögzülése, a membránfúzió és internalizáció:

- függ a vírusreceptor(ok) raft-lokalizációjától
- függ a membrán koleszterin szintjétől
- függ a kortikális citoszkeleton és a raftok integritásától

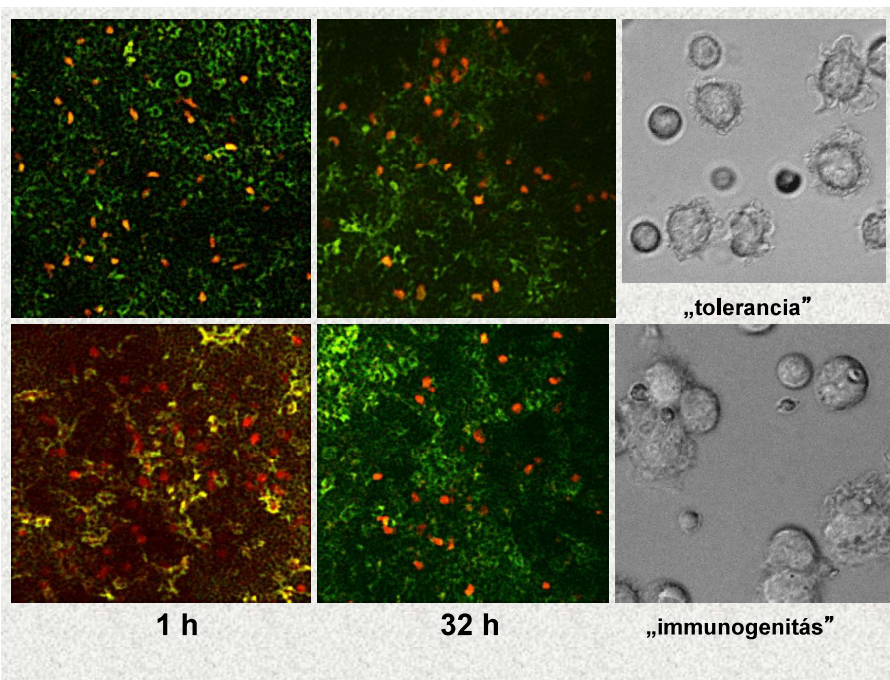
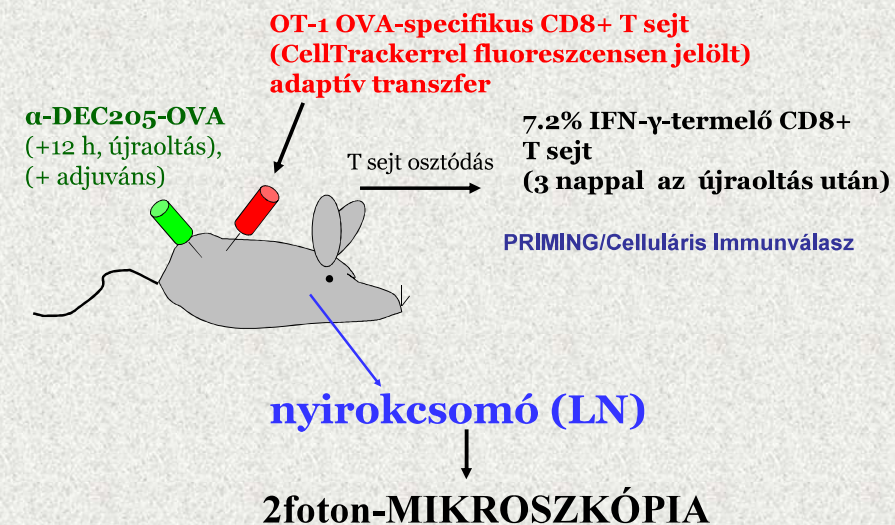
A HIV-1 fertőzés molekuláris modellje



A T-sejt - APC immunszinapszis: funkcionális modell



Tolerancia ill. immunválasz egérben (antigén-célzás) – a nyirokcsomó 2PM „in vivo” dinamikus képalkotása



A membrán nanocsövek kialakulása, típusai

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

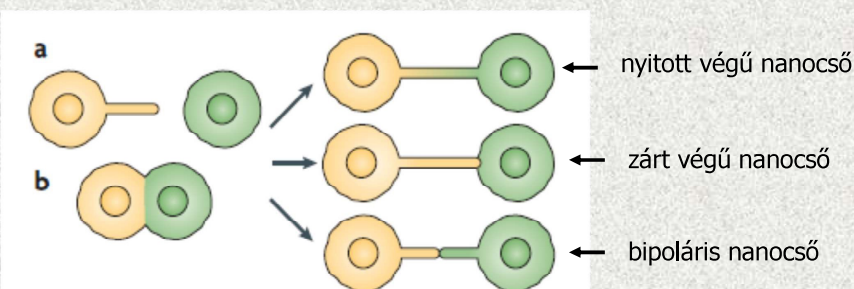
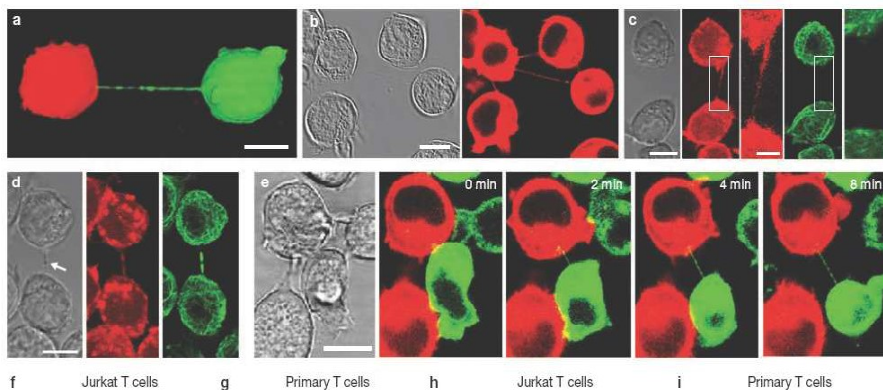


Figure 2 | Two distinct processes can lead to membrane nanotube formation. Schematic

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

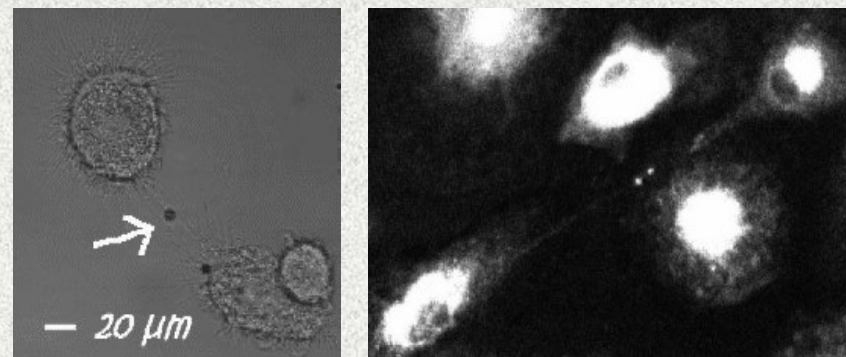
A T-sejtek közötti „nanocsövek hálózata”

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 membránnnyúlványok
- A T-sejt nanocsövek nem „nyitott végű csatornák”, anyagtranszport nincs

„Baktérium szörfőzés” a makrofágok között

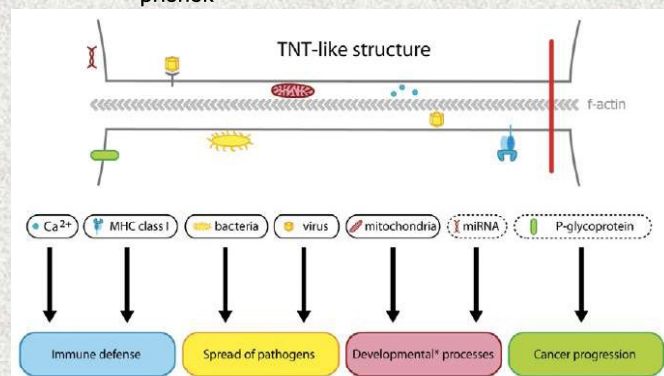


Mycobacterium bovis bacillus Calmette-Guérin (BCG)⁴ expressing GFP.

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

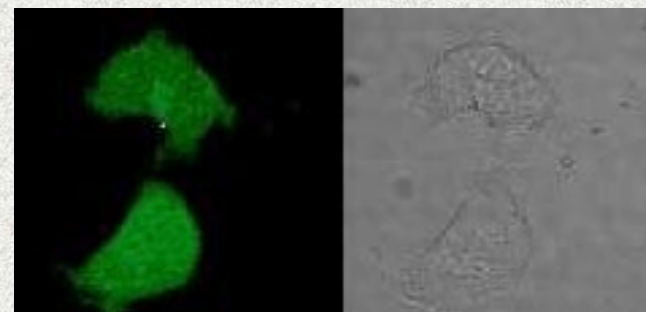
Intercelluláris transzport a „tunneling nanocsöveken” át:

- 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”

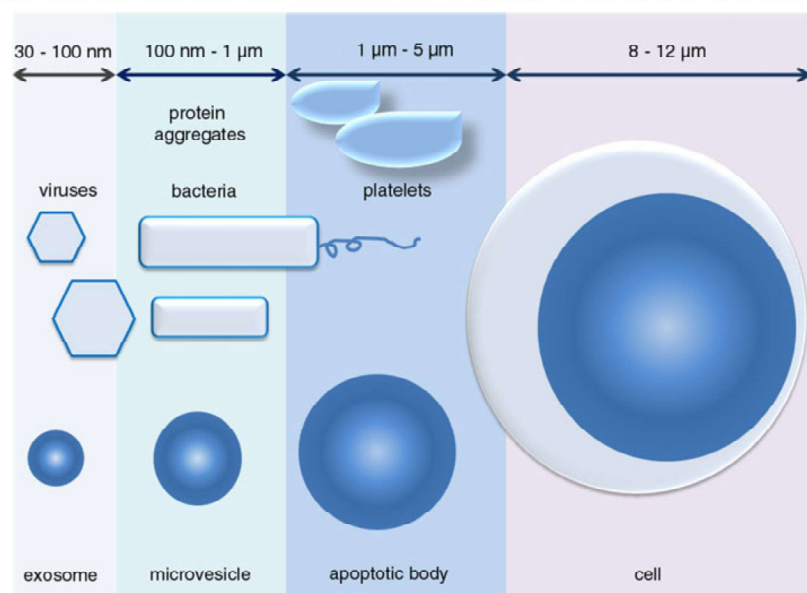
PI: A kalcium stressz mikrovezikula felszabadulást vált ki B limfocitákban



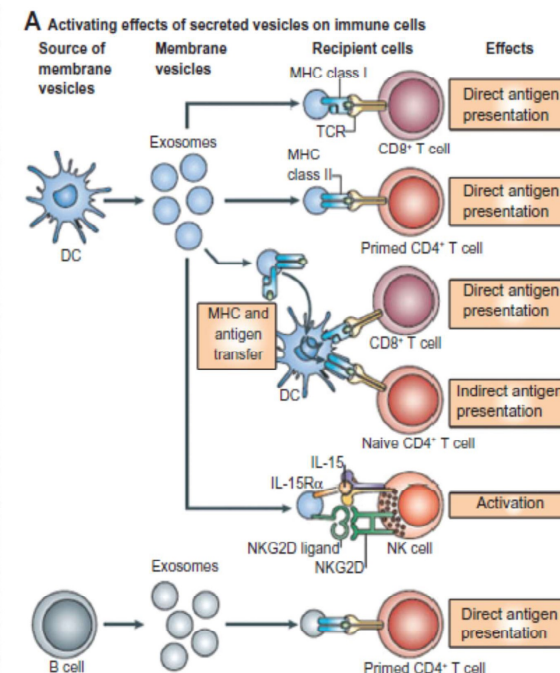
Színkód: $\text{Ca}^{2+}_{\text{ic}}$ szint –zöld: alacsony; vörös: magas;
indikátor: Fluo-4

Kezelés: 4 $\mu\text{g/ml}$ IONOMYCIN

Az extracelluláris membrán mikrovezikulák főbb típusai



Az exoszómák/
extracelluláris vezikulák
pozitív/aktiváló
immunregulációs
hatásai



Az exoszóma mikroRNS profil mint diagnosztikus biomarker (?)

Table 1 | miRNAs present in exosomes isolated from the sera of patients with specific cancers or following immunization are being used as diagnostic biomarkers.

miRNA identified in exosomes	Cells origin	Reference
miR-150	CD4 ⁺ T cells	(70)
miR-21, miR-141, miR-200a, miR-200b, miR-200c, miR-203, miR-205, and miR-214	Ovarian cancer	(71)
miR-205, miR-19a, miR-19b, miR-30b, and miR-20a	Lung squamous cell carcinoma	(72)
let-7a, miR-1229, miR-1246, miR-150, miR-21, miR-223, and miR-23a	Colon cancer	(73)
hsa-miR-31, miR-185, and miR-34b	Melanoma	(44)

Exoszómák a tumor-immunterápiában...

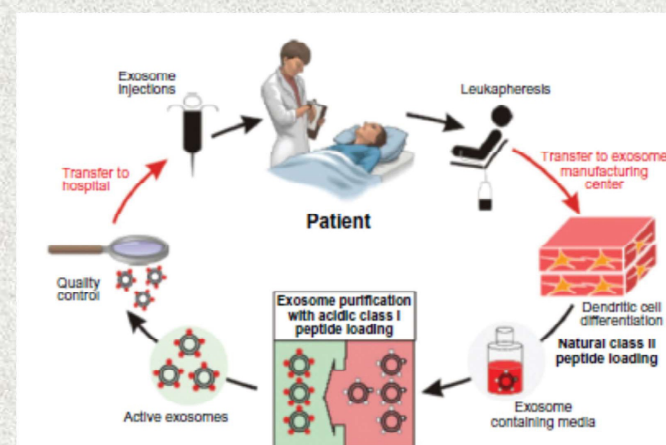


Figure 6 Clinical grade exosomes in immunotherapy. The process of how DEX can be derived, purified, and utilized in cancer treatment. Creative Commons. Reproduced with permission from Escudier B, Dorval T, Chaput N, et al. Vaccination of metastatic melanoma patients with autologous dendritic cell (DC) derived-exosomes: results of the first phase I clinical trial. *J Transl Med.* 2005;3(1):10.