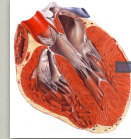
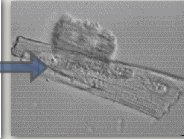


DINAMIKUS FEHÉRJERENDSZEREK A SEJT BEN

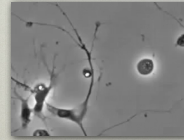
BIOLÓGIAI MOZGÁSOK



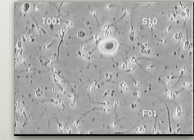
Ritmusan összehúzódó szívizomsejt



Osztódó sejt

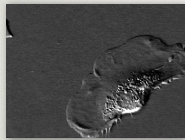


Axon (neurit) növekedés

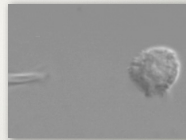


Mozgó spermatoцитák

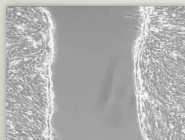
BIOLÓGIAI MOZGÁSOK



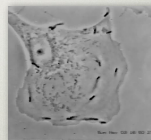
Iovakúzó keratinocita (hámsejt)



Kemotaxis (Neutrophil fehérvérsejt)



Sebgyógyulás modell - fibroblasztok kollektív mozgása



Listeria baktériumok mozgása egy megfertőzött sejtben belül

A citoszkeletális rendszer

Intracelluláris dinamikus fehérje vázrendszer

Három fő filamentum-osztály:

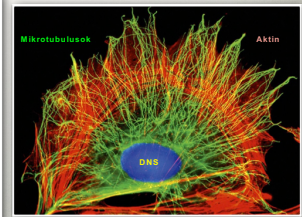
- A. Vékony (aktin)
- B. Intermediér
- C. Mikrotubulus

Filamentumok mechanikája fontos

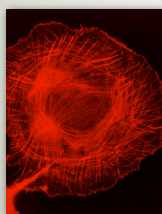
Polimerizáció: "okos téglák" alegységekből

Szerep:

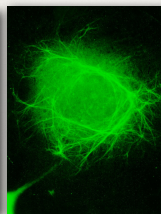
- A. Mozgás, alakváltozás
- B. Sejtosztódás
- C. Intracelluláris transzport



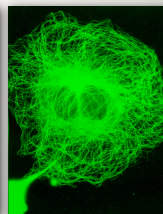
A citoszkeletális rendszer



Aktin (rodamin-phalloidin)



Vimentin (anti-vimentin)



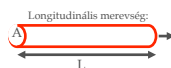
Mikrotubulusok (GFP-tubulin)

1. Mechanika
2. Polimerizáció

A citoszkeletális filamentumok rugalmassága

Hook-féle rugalmasság

- A rugó- (vagy merevség) állandó ($k = F/\Delta L$) nem anyagfüggő paraméter.
- A rugóállandó (k) függ a test alakjaitól, az erő irányától, és azt mutatja meg, hogy egységnyi megnyúlást mekkora erő idéz elő.



$$k = \frac{F}{\Delta L} = \frac{EA}{L}$$



$$k = \frac{4\pi E r^4}{3 L^3}$$

"Termikus" rugalmasság

A polimerlánc átlagos alakja leírható egyszerű paraméterek segítségével:

$$\langle R^2 \rangle = 2L_p L$$

A perzisztenciahossza a lánc hajlítómerevségével áll összefüggésben: minél rövidebb L_p , annál hajlékonyabb a lánc, és megfordítva.

$$L_p = \frac{EI}{k_B T}$$

E - hajlítómerevség
 I - Y-sugár négyzetes
 k_B - Boltzmann állandó
 T - abszolút hőmérséklet

Merev lánc $l > L$

Szemiflexibilis lánc $l \sim L$

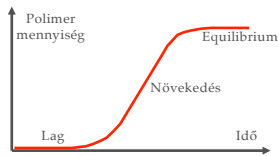
Flexibilis lánc $l < L$

Polimerizáció

Alegységek összeállásának folyamata

A polimerizáció fázisai:

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

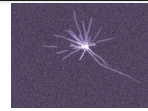


Polimerizációs egyensúlyok

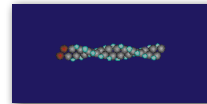
1. valódi equilibrium



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



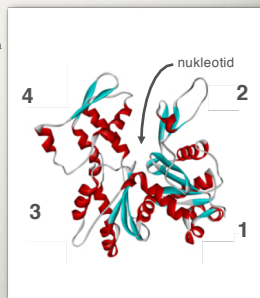
3. Treadmilling: taposómalom



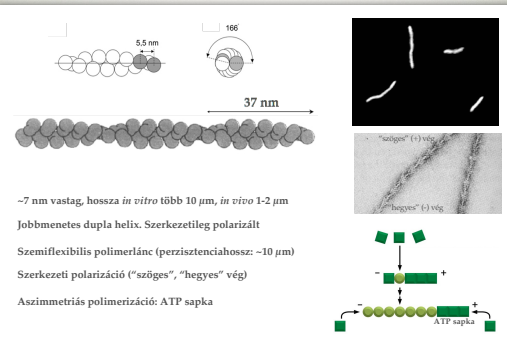
Az aktin monomer (G-aktin)

Az eukarióta sejtekben legnagyobb mennyiségben előforduló fehérje (az összfehérje 5%-a)
Koncentrációja a sejtben: 2-8 mg/ml (50-200 μ 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 adenozin nukleotid (ATP vagy ADP)
Szubdomének (4)
Genetikai variabilitás: emlősökben 6 különböző aktin, három családban (α izomeredetű, β , γ nem-izomeredetű)

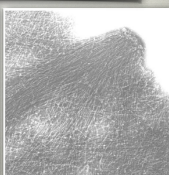
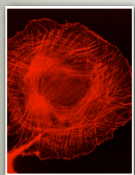
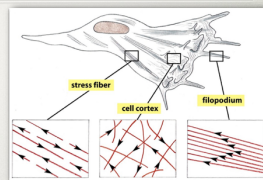


Az aktin filamentum (F-aktin)



Aktin a sejtben

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

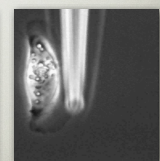
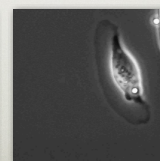
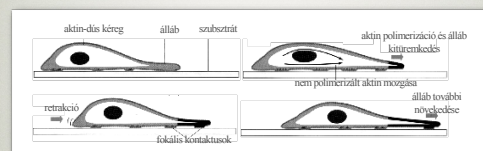


Stress rostok

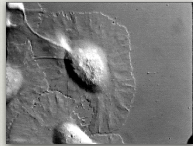
cortex

filopodium

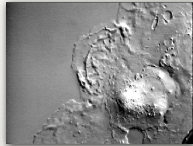
Aktin-függő sejtmozgás



Aktin-függő sejtmozgás megnyilvánulásai



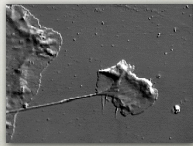
Retrográd áramlás



Filopodium képződési dinamika

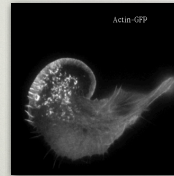


Citoplazm (kontraktilis sejttagmentum) autoxóm mozgása

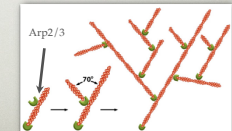
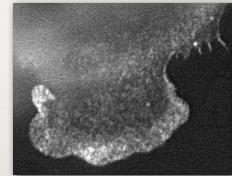


Membrán fodrozódás

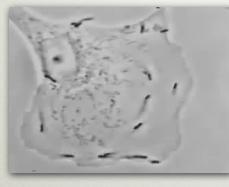
Aktin dinamika a lamellipodiumban



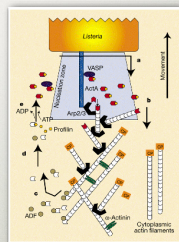
Actin-GFP



Intracelluláris patogének is kihasználják az aktin rendszert

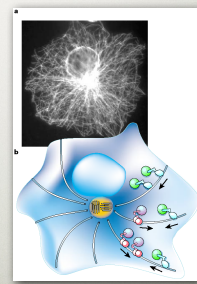
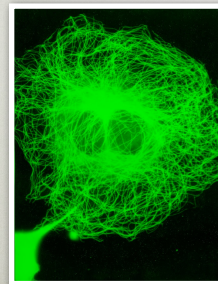


Listeria monocytogenes intracelluláris motilitása



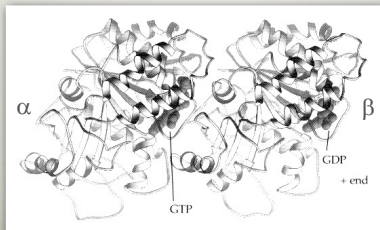
Mikrotubuláris rendszer

Eukarióta sejtek tubulinból és kapcsolódó fehérjékből álló rendszere.

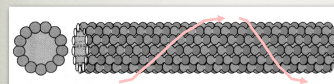


A mikrotubulusok építőköve: tubulin

Alegység: tubulin
Idegszövetben az összfehérje 10-20%-a
MW: ~50 kD: α - és β -tubulin \rightarrow heterodimér
1 molekula kötött guanozin nukleotid (GTP vagy GDP);
kicserélhető (β), illetve nem kicserélhető (α)
Szerkezeti polaritás
Genetikai variabilitás: legalább 6 különböző α illetve β tubulin



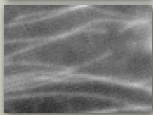
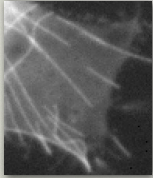
A mikrotubulus



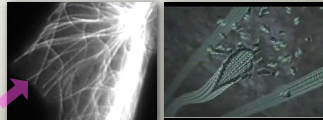
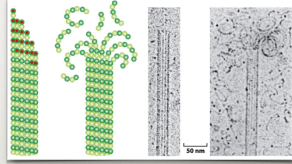
~25 nm vastag, üreges
13 protofilamentum
jobbmenetes rövidmenetű helix
balmenetes hosszúmenetű helix
Merev polimerlánc (perzisztenciahossz: néhány mm!)
Szerkezeti polarizáció:
+vég: polimerizáció gyors, β -alegység által terminált
-vég: polimerizáció lassú, α -alegység által terminált
GTP-sapka

Polimerizációs egyensúlyok mikrotubulusokban

Treadmilling



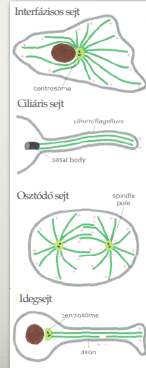
Dinamikus instabilitás



Mikrotubuláris rendszer az eukarióta sejtben

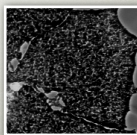
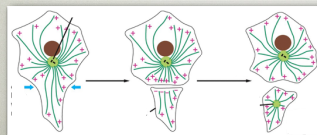
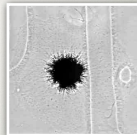
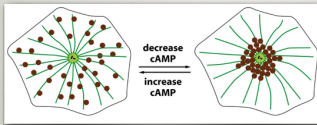
Hol található az eukarióta sejtben?
interfázisos sejt cytoplasmája, axon, cilium, flagellum, osztódó sejt húzóorsója.

Polaritás a sejtben belül
centrosomában -vég, a periférián +vég.
Centrosoma: 2 centriolum, centrosoma matrix, benne γ -tubulin
Sejt polaritás "fixálása" MT asszociált fehérjék (capping protein) segítségével.



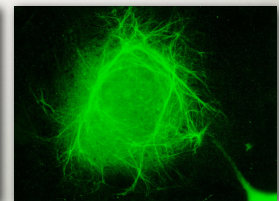
Mikrotubuláris rendszer funkciói

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



Intermediér filamentális rendszer

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



Vimentin, Vic Small

Intermediér filamentum építőkövek

Intermediér filamentum dimer:



Tulajdonságok:

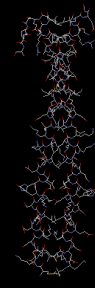
- Kémiai ellenálló (detergensek, magas ionerősség)
- Denaturáló szerekkel (pl. urea) extrahálható
- Fibrózus monomer (nem globuláris, mint az aktin vagy tubulin)
 - amino-terminális fej
 - centrális rúd (α -hélix, heptád ismétlődés)
 - carboxy-terminális farok
 - a szövet-specifikus monomerek egymástól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

Az intermediér filamentum alegysége: „coiled-coil” dime

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	Gliális fibrillaris savanyú fehérje (GFAP)
Ideg	Neurofilamentum (NF-L, NF-M, NF-H)

Intermedier filamentumok polimerizációja

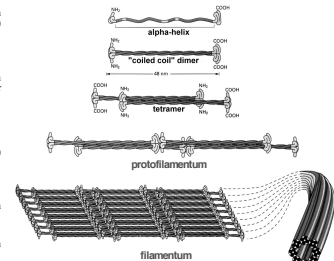
A sejtben teljesen polimerizált állapotban
(nem dinamikus egység)

Centrális rudak (α -hélix)
hidrofób-hidrofób kölcsönhatása
-> coiled-coil dimer

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

Tetramerek longitudinális sorozata
-> protofilamentum

8 protofilamentum -> filamentum

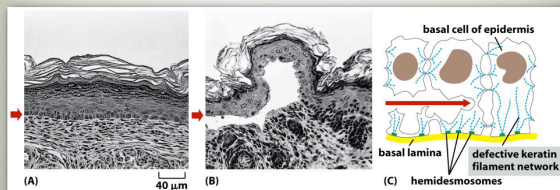


Intermedier filamentumok szöveti funkciói

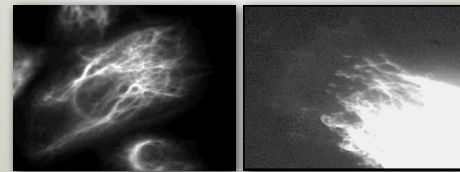
Szöveti mechanikai stabilitás biztosítása

Epiteliális (hám-) sejtekben:

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



Dinamikus vimentin átrendeződés az élő sejtben



GFP-konjugált vimentin 3T3 sejtben

Egyedi filamentum turnover

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
a. Dineinek: Ciláris (flagelláris) és citoplazmális dineinek. A mikrotubulus mentén a mínusz vég irányába mozognak.
b. Kinezinek: Kinezin szupercsalád: konvencionális és nem-konvencionális. A mikrotubulus mentén a plusz vég irányába mozognak.
c. 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 fonál mentén haladnak és fejtenek ki erőt
4. Rotációs motorok
F1F0-ATP szintetáz
Bakteriális flagelláris motor
5. Mechanoenzim komplexek
Riboszóma

Három-gyűrűs próba

Mikrotubulus elmozdulás

Idő

100 nm

100 s

Thick filament

Actin filament


Lépéshossz: 5,5 nm
(szomszédos aktin alegységek közötti távolság)

Schematic diagram and AFM image of a SiC filament. The schematic shows a filament with a SiC core and a graphite sheath. The AFM image shows a cross-section of the filament with a scale bar of 100 nm.

Kinezin

Miozin V

Lépéstávolság: ~36 nm nm
(aktin filament hélix felmenet)



The Muscle Group, Leeds 2000

A processzív motorok egvedül dolgoznak

laser diode

photodiode

oscillating cantilever

20% biotinylated actin filament

probe tip

micrometric scale

+ end

- end

M5-HMM

streptavidin

biotin-containing bead

glass stage

mica

- Stomping:
 - Rapid detachment-reattachment
 - ~5 nm translocation

▲ Trailing (T) head stomping event

▲ Leading (L) head stomping event

Hand-over-hand stepping

▲ Leading (L) head stomping event

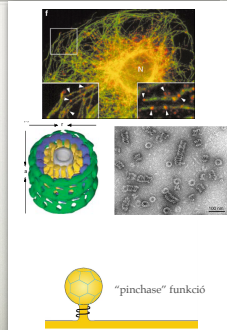
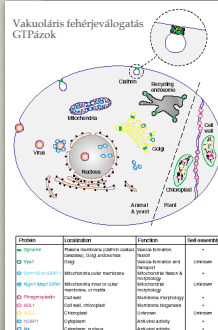
“Straight” - “sharp bend” transition

straight

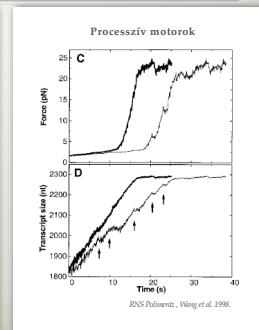
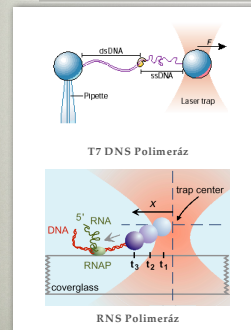
Coiled-coil tail unwinding

- a. Initial state, both heads in the ADP state.
- a'. Stomping, in equilibrium with the bound state.
- b. ADP release, ATP binding, trailing-head detachment, L-head swing (completion of power-stroke), T-head "rotational diffusion" (\rightarrow L-head), L-head in the ADP-Pi pre-stroke state.
- c. L-head attachment, Pi release, 36 nm advance.
- d. Sharp bend state, only in the nucleotide-free condition.

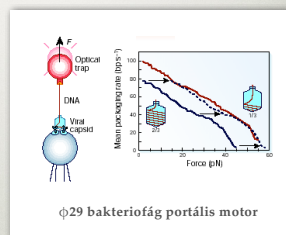
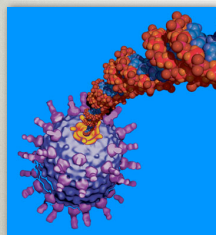
Dinaminok



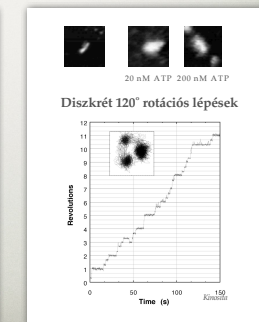
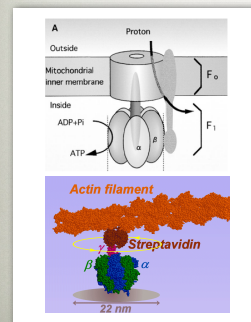
DNS Motorok



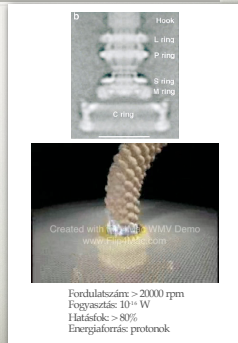
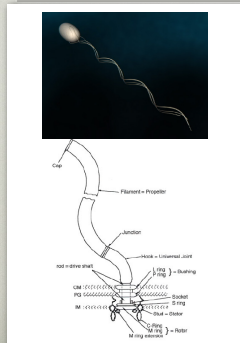
Vírus portális motor Különleges DNS motor



ROTÁCIÓS MOTOROK I: F1F0-ATP SZINTETÁZ



ROTÁCIÓS MOTOROK II: Bakteriális flagellum motor



Mechanoenzim komplex Riboszóma

