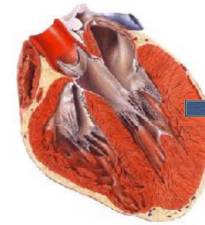


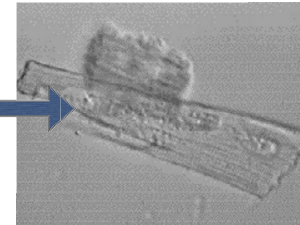
# DINAMIKUS FEHÉRJERENDSZEREK A SEJT BEN

KELLERMAYER MIKLÓS

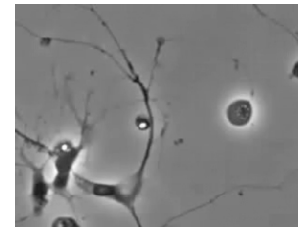
## BIOLÓGIAI MOZGÁSOK



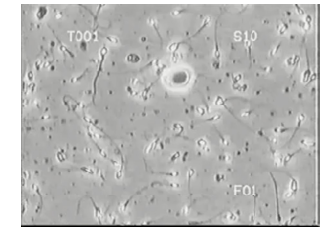
Ritmusosan összehúzódó szívizomsejt



Osztódó sejt

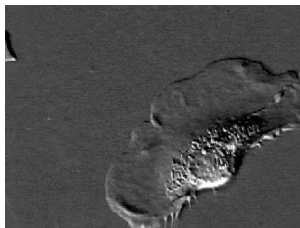


Axon (neurit) növekedés

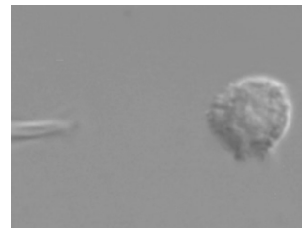


Mozgó spermaticiták

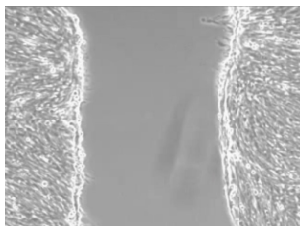
## BIOLÓGIAI MOZGÁSOK



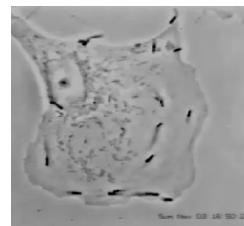
Tovakúszó keratinocita



Kemotaxis

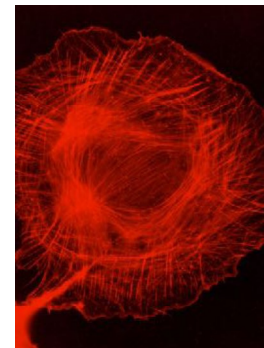


Sebgyógyulás modell - fibroblasztok  
kollektív mozgása

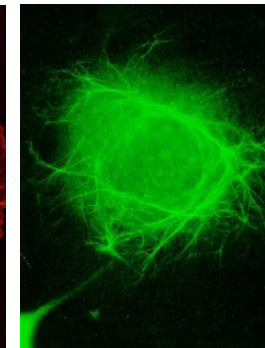


Listeria baktériumok  
intracelluláris mozgása

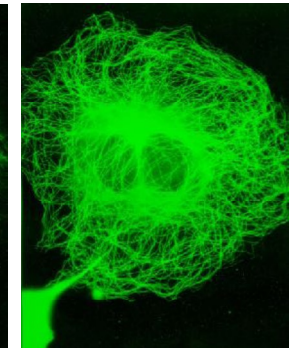
## A citoszkeletális rendszer



Aktin  
(rodamin-phalloidin)



Vimentin  
(anti-vimentin)



Mikrotubulusok  
(GFP-tubulin)

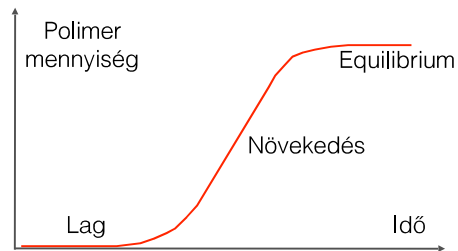
Dinamikus intracelluláris fehérjepolimer rendszer (eukarióta, prokarióta)  
Polimerizáció "okos téglá" egységekből  
A polimérek mechanikája és polimerizációs-depolimerizációs dinamikája fontos  
Biológiai szerep: szinte minden folyamatban

# Polimerizáció

## Alegységek összeállásának folyamata

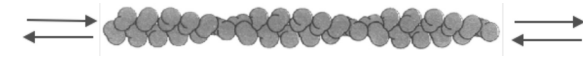
A polimerizáció fázisai:

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

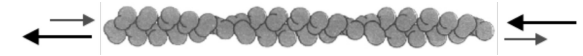
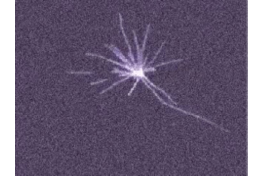


# Polimerizációs egyensúlyok

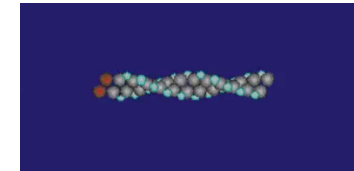
1. valódi equilibrium



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



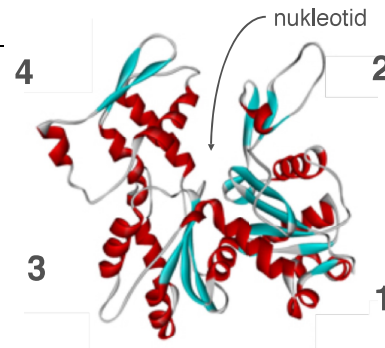
3. Treadmilling: taposómalom



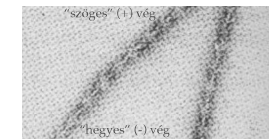
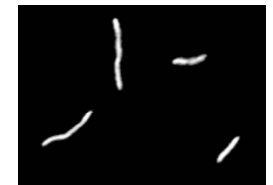
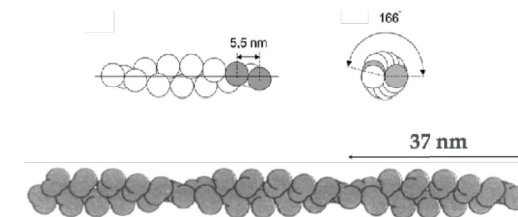
## Az aktin monomer (G-aktin)

Az eukarióta sejtekben legnagyobb mennyiségben előforduló fehérje (az összfehérje 5%-a)  
Koncentrációja a sejtben: 2-8 mg/ml (50-200  $\mu$ 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)



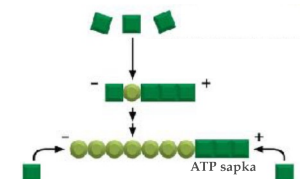
~7 nm vastag, hossza in vitro több 10  $\mu$ m, in vivo 1-2  $\mu$ m

Jobbmenetes dupla helix. Szerkezetileg polarizált

Szemiflexibilis polimerlánc (perzisztenciahossz: ~10  $\mu$ m)

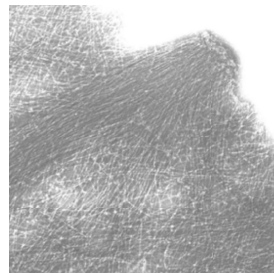
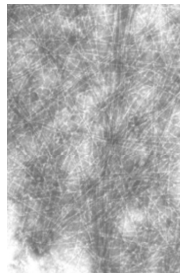
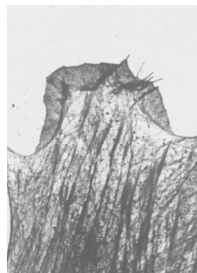
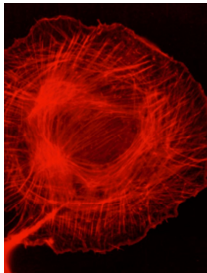
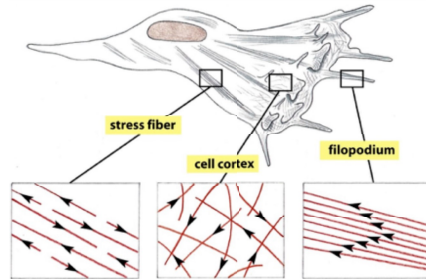
Szerkezeti polarizáció ("szögcs", "hegyes" vég)

Aszimmetriás polimerizáció: ATP sapka



# Aktin a sejtben

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

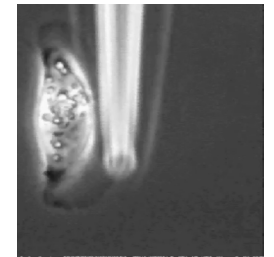
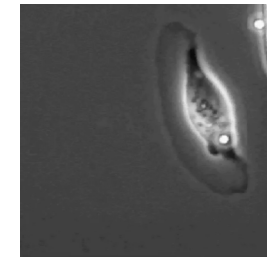
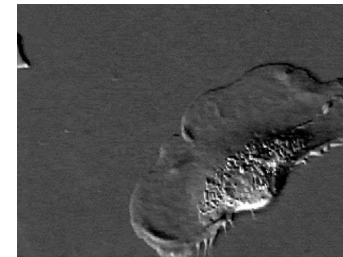
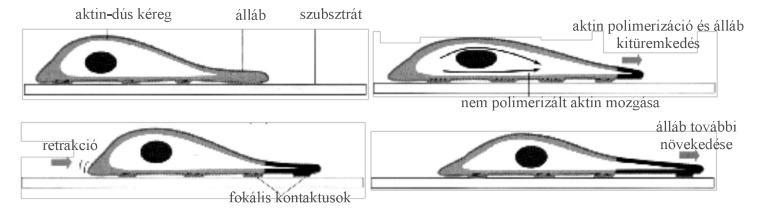


Stress rostok

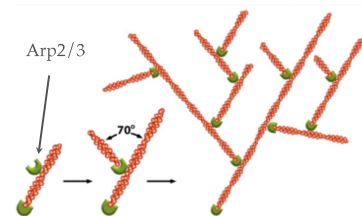
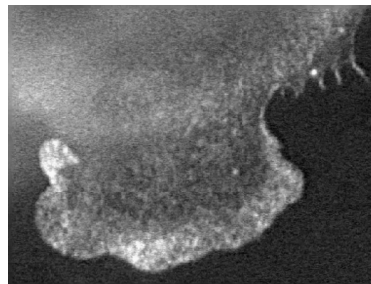
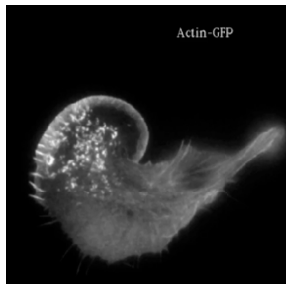
cortex

filopodium

# Aktin-függő sejtmozgás

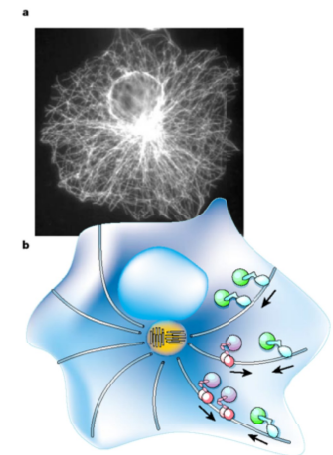
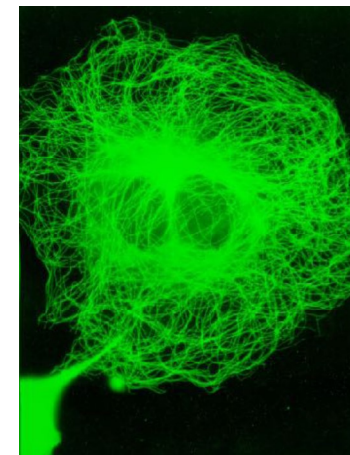


# Aktin dinamika a lamellipodiumban



# Mikrotubuláris rendszer

Eukarióta sejtek tubulinból  
és kapcsolódó fehérjékből álló rendszere.





# A mikrotubulusok építőköve: tubulin

Alegység: tubulin

Idegszövetben az összeférje 10-20%-a

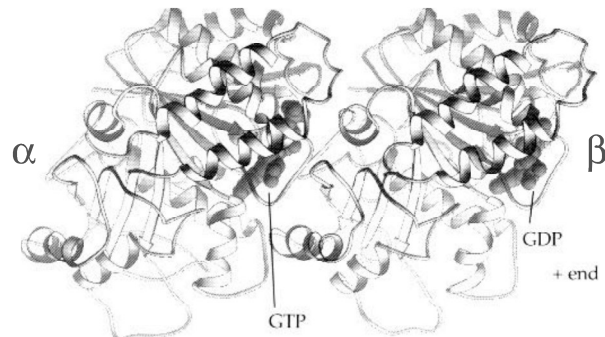
MW: ~50 kD:  $\alpha$ - és  $\beta$ -tubulin  $\rightarrow$  heterodimér

1 molekula kötött guanozin nukleotid (GTP vagy GDP);

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

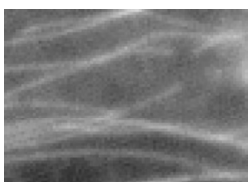
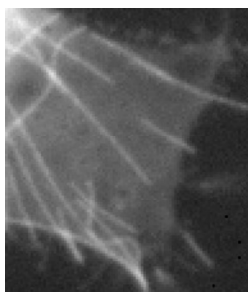
Szerkezeti polaritás

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

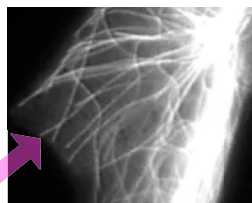
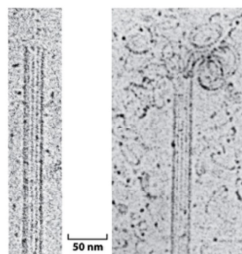
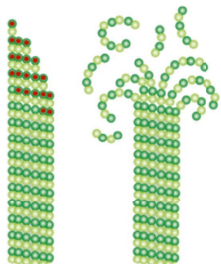


## Polimerizációs egyensúlyok mikrotubulusokban

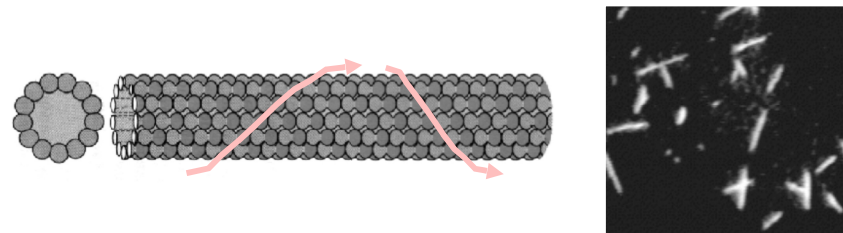
Treadmilling



Dinamikus instabilitás



# A mikrotubulus



~25 nm vastag, üreges

13 protofilamentum

jobbmenetes rövidmenetű helix

balmenetes hosszúmenetű helix

Merev polimerlánc (perzisztenciahossz: néhány mm!)

Szerkezeti polarizáció:

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

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

GTP-sapka

## Mikrotubuláris rendszer az eukarióta sejtben

Hol található az eukarióta sejtben?

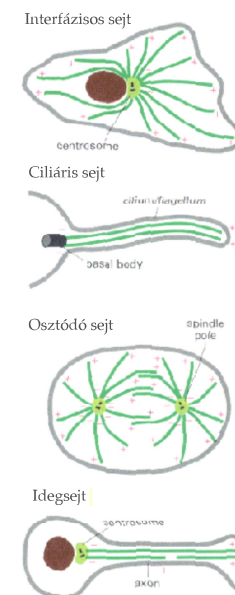
interfázisos sejt cytoplasmája, axon, cilium, flagellum, osztódó sejt húzóorsója.

Polaritás a sejtben belül

centrosomában -vég, a periférián +vég.

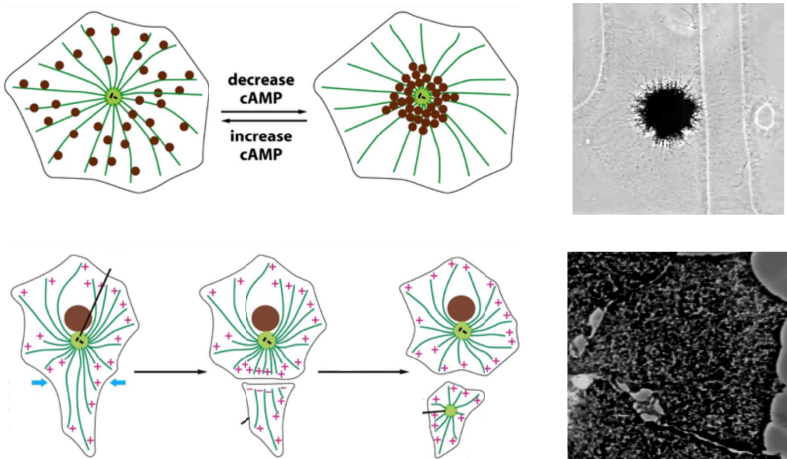
Centrosoma: 2 centriolum, centrosoma matrix, benne  $\gamma$ -tubulin

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



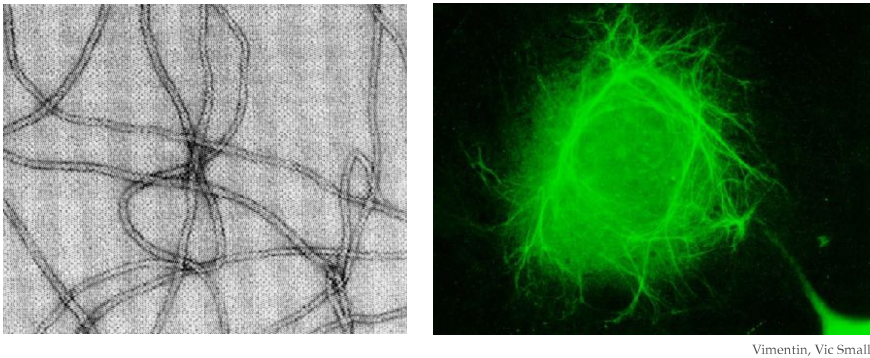
# Mikrotubuláris rendszer funkciói

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



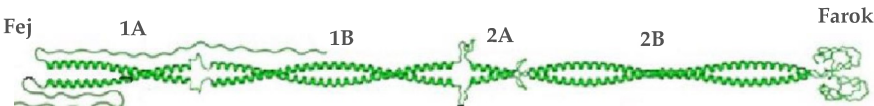
# Intermedier filamentális rendszer

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



# Intermedier filamentum építőkövek

Intermedier filamentum dimer:



- Tulajdonságok:
- Kémiaillag 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 szövetspecifikus monomerek egymástól a végeik szerkezetében különböznek

# Intermedier filamentumok csoportosítása

Szövetspecifititás alapján  
(Klasszikus csoportosítás)

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

# Intermedier filamentumok polimerizációja

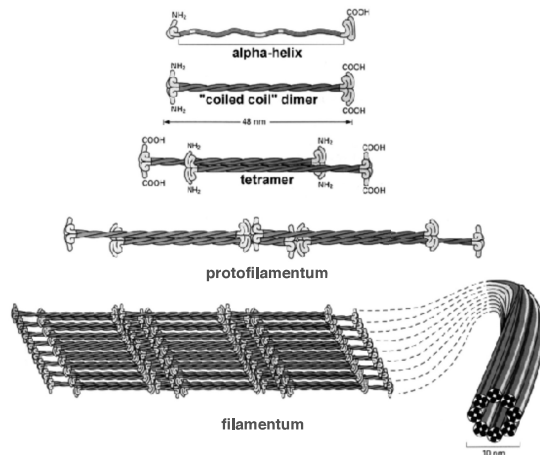
A sejtben teljesen polimerizált állapotban  
(nem dinamikus egyensúly)

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

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

Tetramerek longitudinális sorozata  
-> protofilamentum

8 protofilamentum -> filamentum



## MOTORFEHÉRJÉK

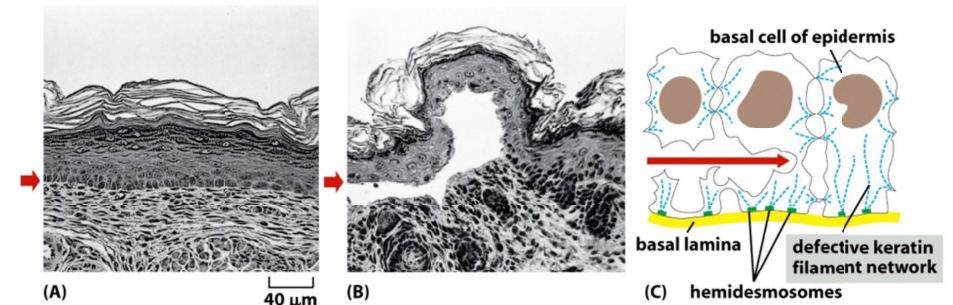
1. Specifikus filamentumhoz kapcsolódnak.
2. Elmozdulást és erőt generálnak.
3. Kémiai energiát használnak fel.

# 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 hámszállás.



## 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:** Ciliáris (flagelláris) és citoplazmáris dineinek.

A mikrotubulus mentén a minusz vég irányába mozognak.

**b. Kinezinok:** Kinezin szupercsalád: konvencionális és nem-konvencionális.

A mikrotubulus mentén a plusz vég irányába mozognak.

**c. Dinaminok:** MT-függő GTPáz aktivitás

Biológiai szerep: vakuoláris fehérjévalogatás (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

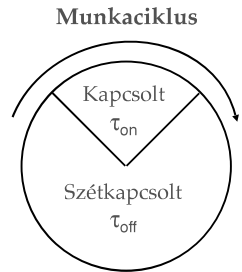
Bakteriális flagelláris motor

### 5. Mechanoenzim komplexek

Riboszóma



# Motorfehérjék munkaciklusa



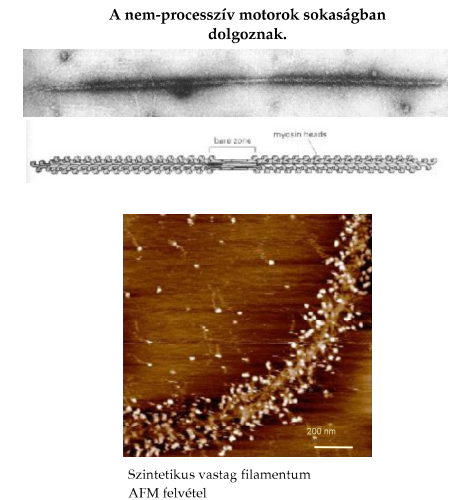
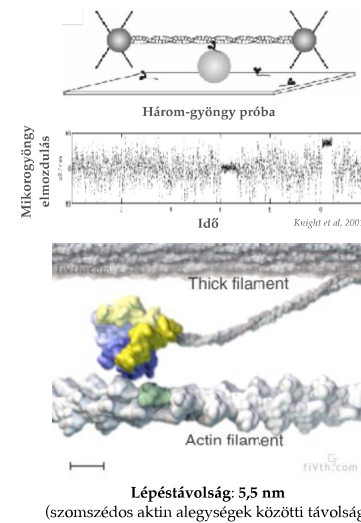
“Duty ratio”:  $r = \frac{\delta V}{v}$

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

- Processzív motor:**  $r > 1$   
 Pl. kinezin, DNS-, RNS-polimeráz.  
 Munkaciklus nagy részében kapcsolt állapotban.  
 Egymaga 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.

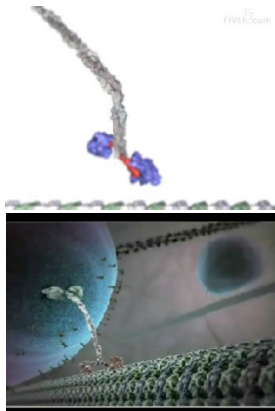
# NEM-PROCESSZÍV MOTORFEHÉRJÉK Miozin



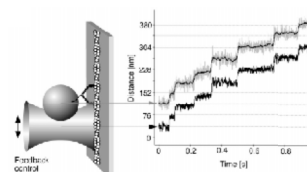
# PROCESSZÍV MOTORFEHÉRJÉK

## Kinezin

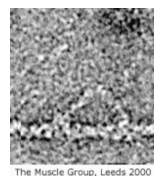
Lépéstávolság: 8 nm (minden második tubulin alegység közötti távolság)



## Miozin V



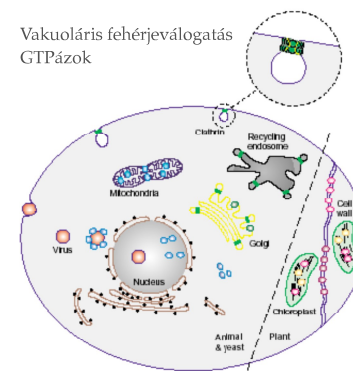
Lépéstávolság: ~36 nm nm  
 (aktin filament hélix félmenet emelkedés)



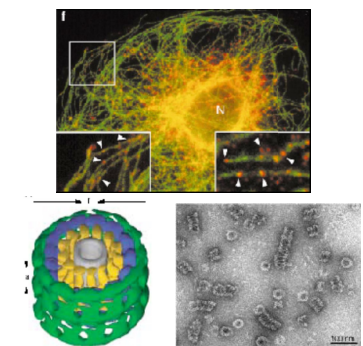
A processzív motorok egyedül dolgoznak.

# Dinaminok

Vakuoláris fehérjeválogatás  
 GTPázok



Protein	Localization	Function	Self-assembly
Dynamin	Plasma membrane (clathrin coated vesicles), Golgi, endosomes, Golgi	Vesicle formation, fission	+
Vps1		Vesicle formation and transport	Unknown
Drm1/Drp1/CPH1	Mitochondria outer membrane	Mitochondrial fission & morphology	+
Meg1/Atg1/CPH1	Mitochondria inner or outer membrane, or matrix	Mitochondrial morphology	Unknown
Phragmoplastin	Cell wall	Membrane morphogenesis	+
ACL1	Cell wall, chloroplast	Membrane morphogenesis	+
ACL2	Chloroplast	Membrane morphogenesis	Unknown
Vps35	Cytoplasm	Anti-viral activity	+
Mx	Cytoplasm, nucleus	Anti-viral activity	+

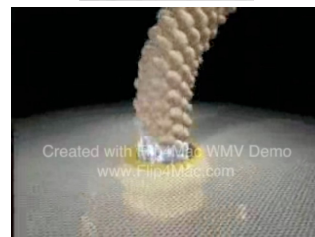


**A** Schematic representation of the experimental setup for T7 DNS polymerase. A blue bead is attached to a glass surface via a pipette. A pink polymer chain (dsDNA/ssDNA) is attached to the bead and extends towards a red bead held by a laser trap. A force  $F$  is applied to the red bead.

**B** Schematic representation of the experimental setup for RNS polymerase. A blue bead is attached to a glass surface via a pipette. A green polymer chain (RNA) is attached to the bead and extends towards a red bead held by a laser trap. A force  $F$  is applied to the red bead. The RNA is shown with a 5' end and a 3' end. The polymerase (RNAP) is shown moving along the RNA.

**C** Plot of Force (pN) vs. Time (s) for T7 DNS polymerase. The force increases from 0 to approximately 25 pN over time. The plot shows two traces, one in black and one in grey, both showing a similar trend.

**D** Plot of Transcript size (nt) vs. Time (s) for RNS polymerase. The transcript size increases from approximately 1800 nt to 2300 nt over time. The plot shows two traces, one in black and one in grey, both showing a similar trend. Arrows indicate specific time points on the x-axis.



Fordulatszám: > 20000 rpm  
Fogyasztás: 10<sup>-16</sup> W  
Hatásfok: > 80%  
Energiaforrás: protonok