

Sejtváz, aktin mikrofilamentumok, motor fehérjék

Sejtváz

Az eukarióta sejtek citoplazmájában található, fehérjefonalakból álló hálózat.

(~citoszkeleton)

Feladatai: -strukturális vázat alkotva, meghatározza a sejtek alakját;

-egyes sejtek mozgását biztosítja;(pl. immun)

-biztosítja a sejtorganellumok transzportját;

-biztosítja a sejtosztódással kapcsolatos mozgásokat és alakváltozásokat;

A sejtvázat 3 fő alrendszer alkotja:

Mikrofilamentumok: 7-9 nm átmérőjű aktinfilamentumokból áll;

Intermediér filamentumok: 10 nm átmérőjűek;

Mikrotubulusok: 24 nm átmérőjű tubulincsővekből áll;

Mindegyik közös jellemzője, hogy fehérjeegységekből épülnek fel, melyeket nem kovalens kötések tartanak össze.

Motor fehérjék: Az enzimek egy speciális csoportja, melyek ATP-t (v. GTP-t) használnak fel, hogy elcsússzanak a mikrofilamentumokon vagy a mikrotubulusokon.

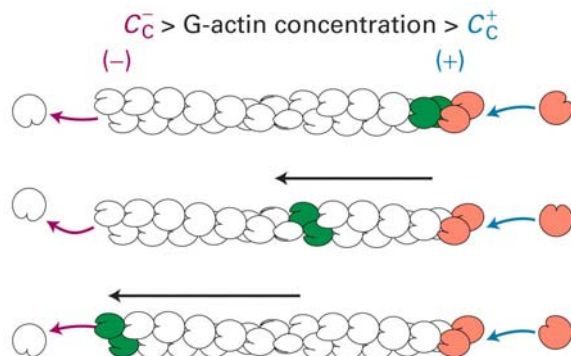
Pl. miozin,kinezin,dynein

Mikrofilamentumok: Aktin

Az eukarióta sejtekben legnagyobb mennyiségben előforduló fehérje (kb. 0.5 mM citoplazma koncentráció).Emberben 6 különböző aktin izoformát kódoló gén található.Az egyik 'legkonzerváltabb' fehérje. Az α -aktin izomszövetekben található, a β -és γ -aktin más szövetekben ubikviter fehérjék.

A sejtekben globuláris aktin monomerek (G-aktin) szintetizálódnak és ezek ATP-t vagy ADP-t kötnek (Mg^{2+} -komplexben). A G-aktin monomerek F-aktin filamentumokká polimerizálódnak ATP hidrolízise közben. Először néhány monomer képez komplexet (nukleáció) majd ehhez a maghoz kapcsolódik a többi egység (elongáció). A monomerek két sorban helyezkednek el, egymásba csavarodva kettős hélix-szerű szerkezetet alkotnak. Ez a polimerizáció reverzibilis, a G-aktin koncentrációjától függően egyensúlyra vezet. Ez az ún. kritikus koncentráció (C_c) ahol az aktin monomerek egyensúlyban vannak az aktin filamentokkal. Ez más a + és a -végen ($C_{c-}=0.8 \mu M$, $C_{c+}=0.1 \mu M$) Így az F-aktin polarizált, egyik vége gyorsabban növekszik (+vég), mint a másik (-vég).

Taposómalom ('Treadmilling') mechanizmus (1.ábra): Közepes aktin koncentrációnál az aktin egységek gyakorlatilag 'átfolynak' a filamentumon, kizárólag a +véghez kötődve és ledisszociálva a -végről. A G-aktin monomerek ATP-t kötve kapcsolódnak a filamentum +végéhez, majd az ATP hidrolizál és ez kedvez a -végen történő ADP-aktin komplex leválásának.



1. ábra A mikrofilamentum-képződés taposómalom mechanizmusa.

Az aktin polimerizáció szabályozható folyamat.

Pl. *Thymosin β 4*: G-aktint köt, ami így már nem tud polimerizálódni. (egyik legnagyobb mennyiségben előforduló aktin szekvesztráló fehérje, vérlemezkékben pl. 0.55 mM)

Profilin: elősegíti az ATP-t kötött aktin monomerek kötődését a +véghez (az aktin monomer ATP-kötő helyével szemben kötődik);

Gelszolin: kész mikrofilamentumokat hasít el és a +véghez kapcsolódva gátolja a polimerizációjukat.

Gátlószerek: Citochalasin D a filamentumok polimerizációját, Phalloidin a depolimerizációját gátolja.

A mikrofilamentumok szerveződése meghatározza a sejt alakját és fontos szerepet játszik a sejtmozgásokban is. Lamellipodium, filopodium, pszeudopodium, mikrovillus mind aktin-alapú képződmények.

Az F-aktin a citoplazmában kötegeket és hálózatot is létrehozhat, attól függően hogy milyen keresztköti fehérjékkel kapcsolódnak össze az aktinrostok.

Az aktinkötegekben párhuzamosan futó aktinfilamentumokat köt össze pl. a fimbrin, α -aktinin. Ilyen található pl. a mikrovillusokban.

Az aktinhálózatokban egymást keresztező mikrofilamentumok szövénységét, flexibilis keresztköti fehérjék (pl. filamin, spektrin) stabilizálják. Ilyen pl. a sejthártya alatti ún. kortikális hálózat, mely a sejthártyához is kapcsolódik.

Miozin: aktin motorfehérjéje

Miozin: aktin-aktivált ATP-áz. 13 izoformát azonosítottak emlős sejtekben (egy géncsalád termékei).

Közös tulajdonságok: 1 vagy két **nehézlánc**, néhány **könnyű lánc**;

Nehéz lánc: fej, nyak, fark rész (domain)

Fej (globuláris): Aktin és ATP-kötő hely;

Nyakhöz (α -helikális) aszociálódnak a könnyű láncok, melyek regulálják a fej működését.

Fark (α -helikális) határozza meg az adott izoforma aktivitását az egyes sejtekben.

I. és II. izoforma fordul elő a legnagyobb mennyiségben a szervezetben. II. izoforma domináns az izomszövetben, két azonos nehéz láncból és négy könnyű láncból épül fel. I. és V. izoformák membránokhoz asszociálódnak.

A miozin fehérjék ATP hidrolízise közben elmozdulnak az aktin filamentum +vége irányába.

A miozin fej aktinfilamentumhoz kötődik, ATP kötés hatására ez a kapcsolat meglazul (1.lépés), majd a miozin ATP-áza hidrolizálja az ATP-t és az ezáltal okozott konformációváltozás a miozinfejet az aktinrost +vége felé mozdítja, majd új aktin-miozin kapcsolat jön létre (2.lépés). Az aktinfilamentum és a miozin elcsúszik egymáson (3.lépés), majd az ADP leválásával helyreáll az 'eredeti' állapot (4. lépés).

A fenti '*csúszó filamentum*' modellt az izomkontrakció mechanizmusára állították fel, de érvényes más mikrofilamentum mozgásokra is. A sejtorganellumok transzportja során pl. az I. izoforma farki régiójával a vezikula membránjához, feji régiójával pedig az aktinfilamentumhoz kötődik. A filamentum +vége irányában mozogva húzza maga után a vezikulumot (ATP-t felhasználva).

Az izomkontrakció $[Ca^{2+}]_i$ -től függő, szigorúan szabályozott folyamat, vázizomban 2 járulékos fehérje regulálja az összehúzódást:

-tropomiozin (TM)

-troponin (TN), 3 alegységből áll: T, I, C:Ca²⁺-kötő alegység

Ca²⁺ hiányában ('off' mód) a TN-TM komplex megakadályozza a miozin elcsúszását az aktinfilamentumon, Ca²⁺ kötésre a TN-C a TM elmozdulását indukálja úgy, hogy szabaddá

válnak a miozinkötő helyek az aktinfilamentumon ('on' mód). Simaizomban a Ca^{2+} -ot kötött Ca^{2+} -kalmodulin komplex aktivál egy kinázt (MLCK), ami a könnyű láncok foszforilálásával indítja el az izomkontrakciót.

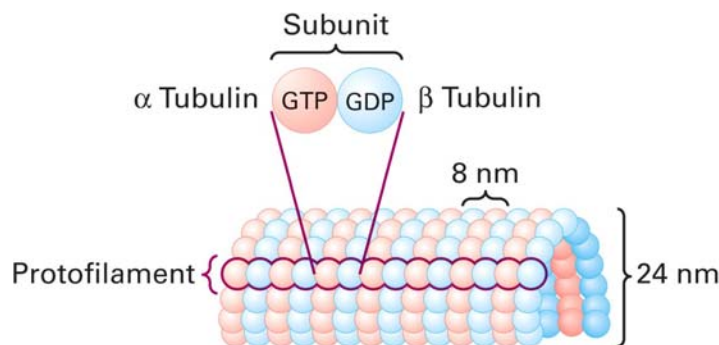
Aktin és miozin szerepe nem-izom sejtekben:

Sejtadhézió: pl. epithel sejtek apikális belső felszínén körbehúzódo aktin-miozin gyűrű, mely a sejtadhéziós molekulákhoz kapcsolódik és így része a sejtek közötti adherens kapcsolatoknak.

Sejtosztódás: aktin-miozin II alkotta kontraktilis gyűrű alakul ki; pl. Miozin II génkiütött sejtekben a DNS replikálódik, de nem tud osztódni a sejt, ún. sokmagvas sejtek jönnek létre.

Mikrotubulusok (MT)

MT: polimer, globuláris tubulinegységekből épül fel. Tubulinegység: heterodimer, mindkét alegység GTP-t köt, az α irreverzibilisen és nem hidrolizálja el, a β reverzibilisen és elhidrolizálja. (2.ábra)



2. ábra Mikrotubulus felépülése

MT: dinamikus, poláris struktúra, + és – vége van. A + végen történik a polimerizáció és a depolimerizáció is. Ha a tubulinkoncentráció magasabb a Cc-nél: a polimerizáció kétszer olyan gyors a +végen, mint a –végen. Ha közeli a Cc-hez a MT nőhet és rövidülhet is: ha pl. a GTP GDP-vé hidrolizál a +végen, a tubulinmolekulák hajlamossá válnak a disszociációra, a MT rövidül. Ezért azt mondjuk, hogy a MT-t dinamikus instabilitás jellemzi a +végen. (A MT stabilitása erősen hőmérsékletfüggő.)

Alapvetően kétféle MT populáció létezik egy sejtben:

Nem stabil, rövid életű MT: pl. mitotikus osztódási orsó;

Stabil, hosszú életű MT: pl. spermiumok flagelluma, csillók, neuronok axonja, MTOC;

MTOC: MT Organizátor Centrum: MT képződés helye: Állati sejtekben ez ált. a centroszóma, amely centriólumokból (két egymásra merőleges henger), és az azt körülvevő amorf pericentriorális anyagból (PC) áll. Az utóbbiban lokalizálódik a γ -tubulin, mely $\alpha\beta$ -dimereket megkötvé nukleációs régióként szolgál a polimerizáció során.

MT +vég: disztálisan; MT –vég: PC-be ágyazódva;

Mitotikus osztódásgátlók: Colchicin, taxol, vinblasztin: specifikusan kötődnek a MT-khoz ($\alpha\beta$ -tubulin egységekhez). Meggátolják a MT polimerizációt, így gátolják a sejtek osztódását. (rákellenes szerek)

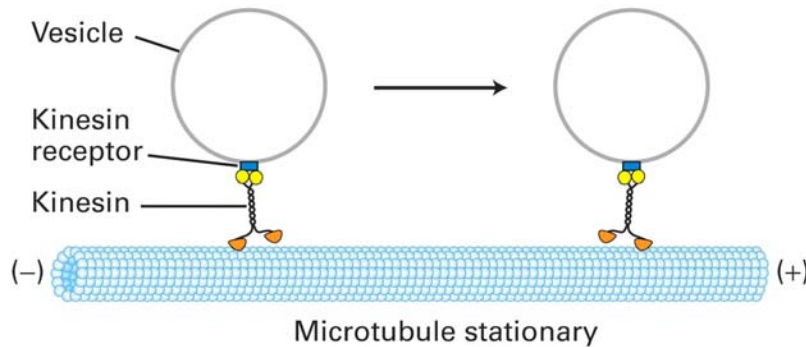
A MT polimerizációját, stabilitását MT asszociált fehérjék regulálják (MAP).

MT motorfehérjék: Kinezin, dynein

A MT-sok abban is hasonlítanak a mikrofilamentumokhoz, hogy hozzájuk ATP hidrolízis által hajtott fehérjék kapcsolódhatnak és rajtuk elmozdulva organellum-transzportot végezhetnek. A neuronokban pl. a vezikulák axonális transzportja a MT-kon történik.

Kinezin: +vég felé irányító MT motorprotein (neuron: anterográd transzport), 2 nehéz lánc és könnyű lánc komplexe.

Feji rész ('motor') köti az ATP-t és MT-t, a farki részhez kapcsolódnak a vezikulák. (3. ábra)



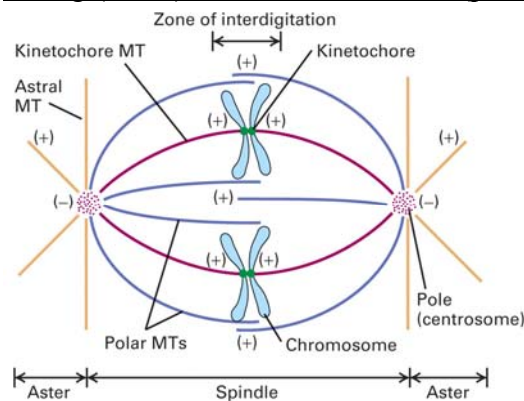
3. ábra Kinezin motor működése

Dynein: -vég felé irányító MT motorprotein (neuron: retrográd transzport). Dynein önmagában nem képes transzportfunkcióra, csak MT kötő fehérjékkel komplexben. A dynein könnyű lánc a több fehérjéből álló ún. dynaktin komplexhez kötődik, ez utóbbi kapcsolódik a membrán alatti spektrinkötegekhez. A dynaktin komplex egyik alegysége köti a vezikulát és a MT-T.

A kinezin és dynein fehérjecsalád tagjai szelektíven képesek különböző vezikulákat, organelumokat megkötni és transzportálni (a felismerés mechanizmusa pontosan még nem tisztázott).

MT-sok szerepe a sejtosztódásban

A mitózis során a mitotikus apparátus ún. mitotikus orsóba (spindle) és csillagba (aster) szerveződik. Minden mitotikus orsóban 3 különböző MT szerveződik a centroszómába: -csillag (astral), -kinetochore, -sarki (polar). (4. ábra)



4. ábra Mitotikus apparátus

A centroszóma duplikáció minden esetben megelőzi a mitózist. A mitózis korai szakaszában (profázis) a -vég felé irányító motorproteinek rendezik el a MT-kat. Az ezt követő metafázisban és a későbbi anafázis során +vég felé irányító motorok vesznek részt a centroszómák szétválásában, melyek a KRP: kinesin-related protein családba tartoznak, pl. BimC. Párhuzamosan citoszolikus dyneinek húzzák a csillagokat a pólusok felé. A MT +vége rögzül a kromoszóma centromerjén (kinetochore). Gyakorlatilag a kinetochore generálja a húzóerőt a kromoszóma szétválásához. A -vég felé irányító motorok húzzák a kromoszómát az osztódási pólusok (centroszóma) felé, míg a CENP-E nevű fehérje horgonyozza le az egyre rövidülő MT-t a kinetochore-hoz. A sarki MT-ok pedig a két kromatida karra fejtenek ki húzóerőt polimerizációjukkal.

Intermedier filamentumok (IF)

Legfontosabb funkciójuk: a plazmamembrán mechanikai támaszát nyújtják pl. sejt-kapcsolatokban v. az extracelluláris (EC) mátrix felé.

Nem vesznek részt a sejt-, ill. sejtorganelleum mozgásokban, és így motorfehérjéik sem ismertek.

Nagyon stabilak, gyakran még izolálás után is megmarad intakt szerkezetük, nem depolimerizálódnak (szemben a MT-sokkal és mikrofilamentekkel).

Egységeik helikális struktúrák két végükön globuláris feji és farki résszel, ezek kötészerűen kapcsolódnak össze. Két párhuzamos fehérje dimert, az antipárhuzamos dimerek tetramert alkotnak. Két tetramer alkot egy protofilamentet, amelyek protofibrillummá kapcsolódnak össze. Összekapcsolódásukhoz sem ATP, GTP nem szükséges.

5 fő családba oszthatjuk őket:

I., II.: Savas és Bázikus keratinok: főként epithel sejtekben található (szokás citokeratinként is említeni őket).

III. Vimentin: mesenchyma-ban, Desmin: izomszövetben, GFAP: gliasejtekben található.

IV. Neurofilamentumok (NF-L, NF-M, NF-H típusok): idegsejtekben található.

V. Laminok (A,B,C): sejt-magban formálnak hálózatot a magmembrán támasztékként.

Intermedier filamentumok (IF) betegségei:

Epidermolysis bullosa simplex (EBS) degeneratív bőrbetegség, melyet a citokeratin gén mutációja okoz.

Amyotrophias lateralsclerosis (ALS): NF mutációk, a gerincvelő motoneuronjaiban NF aggregátumok képződnek, majd ezek a sejtek szelektíven elpusztulnak.

IRODALOM

- Lodish H et al.: Molecular Cell Biology (4th and 5th edition, 2000 and 2004)
- Szeberényi J: Molekuláris Sejtbiológia (2. kiadás, 2004)