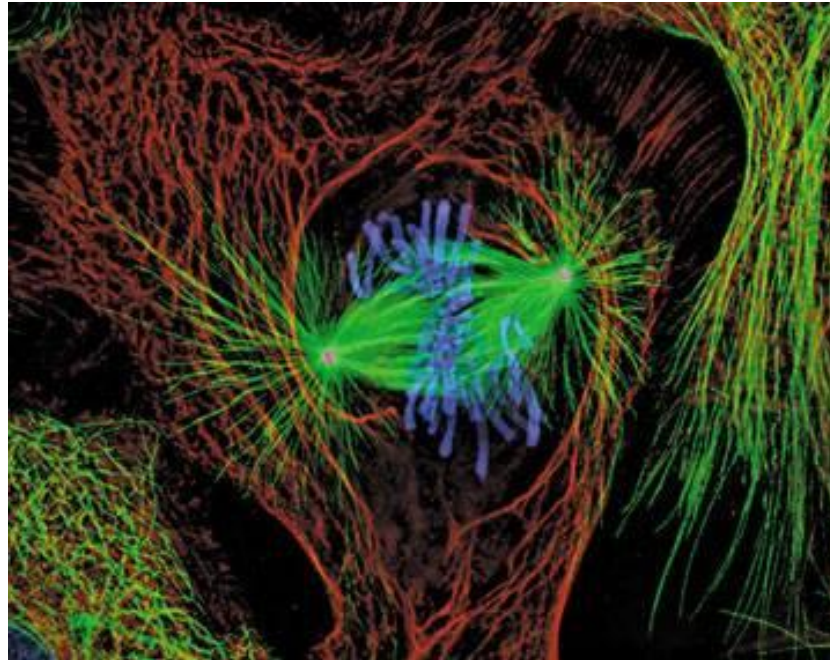


2018

# A membránok és a citoszkeleton kapcsolata.

## A sejtosztódás és a sejtciklus



**Előadó: Gönczi Mónika**

Debreceni Egyetem, ÁOK, Élettani Intézet

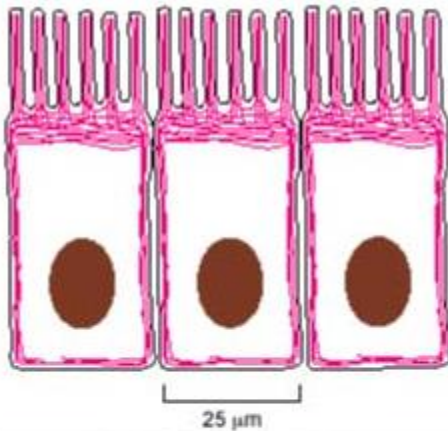
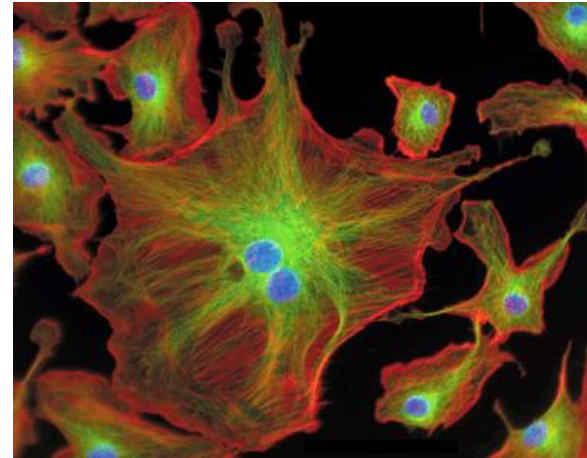
# A citoskeleton alkotói

Mikrofilamentumok

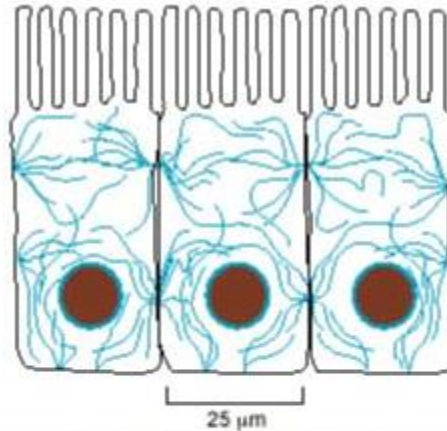
Intermedier filamentumok

Mikrotubulusok

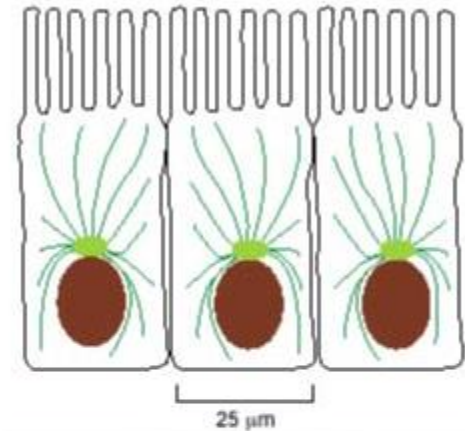
+ asszociált fehérjék



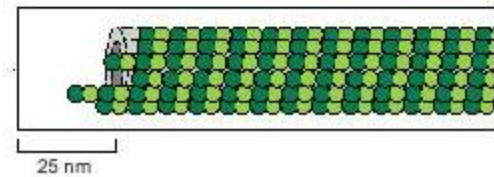
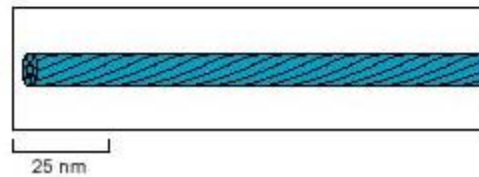
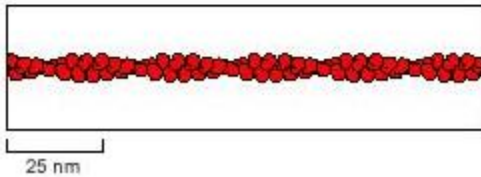
ACTIN FILAMENTS



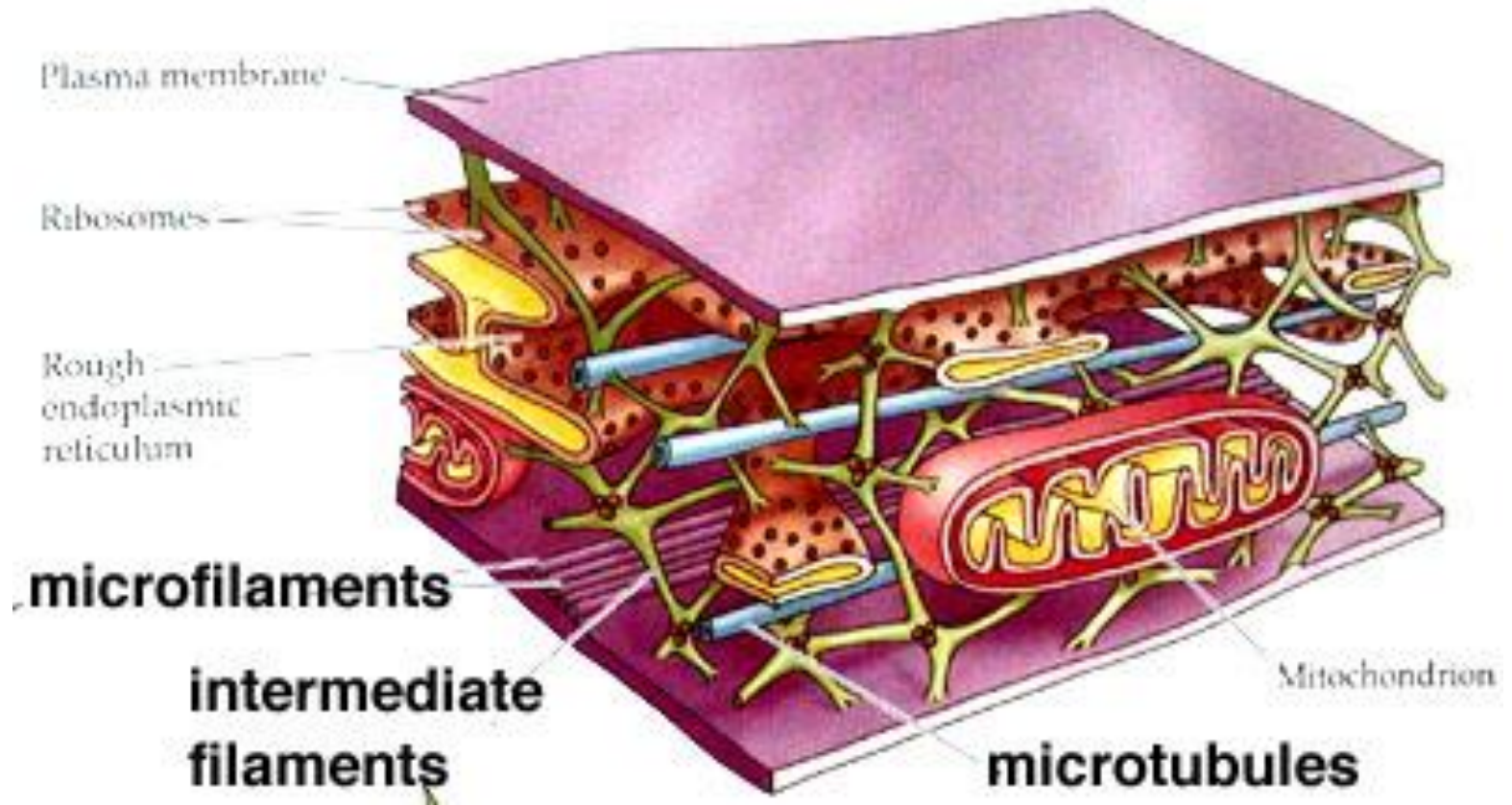
INTERMEDIATE FILAMENTS



MICROTUBULES



# A citoszkeleton alkotói



# A mikrofilamentumok

## Aktinfilamentumok

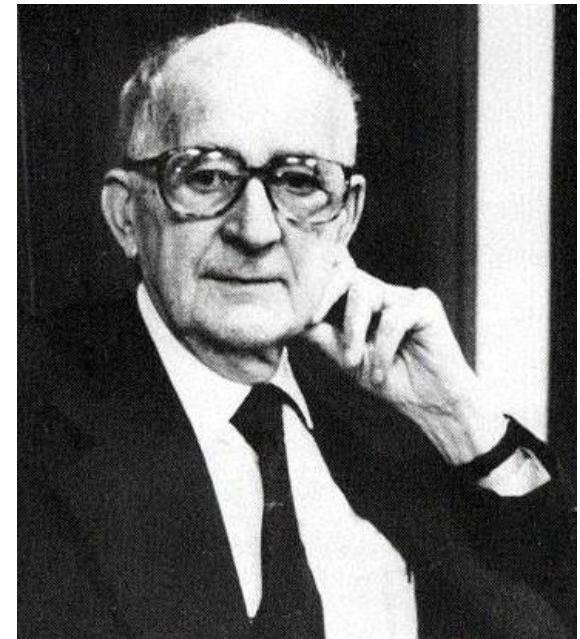
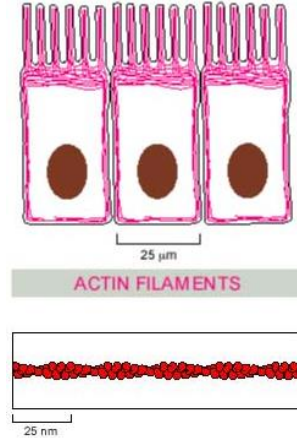
- 7-9 nm átmérő
- kettős hélix

Aktin – 43 kDa, 375 aminosav

## Osztályai:

- $\alpha$ -aktin – izmokban
- $\beta$ -aktin } nem kontraktilis sejtekben is
- $\gamma$ -aktin }

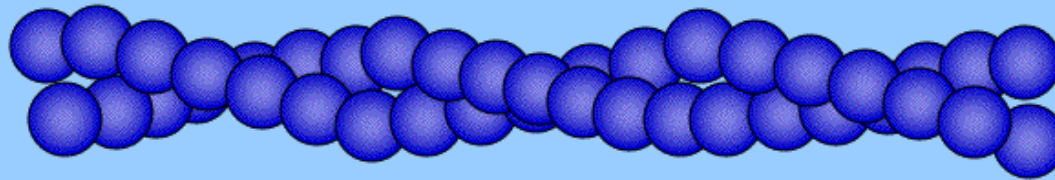
aktin filamentumok hossza = x30 mikrotubulusok  
hossza



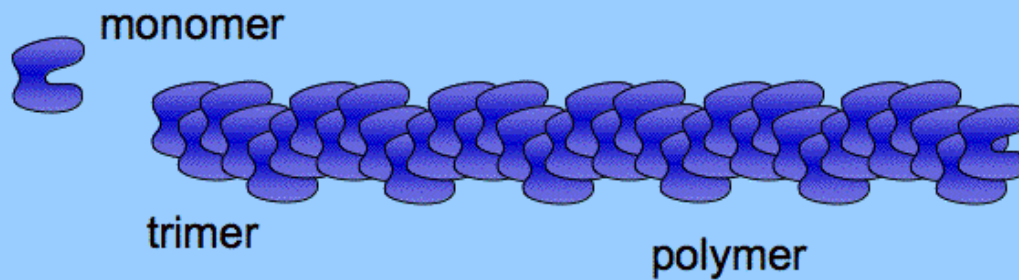
Straub F. Brúnó (1914-1996)

## Microfilaments are a twisted pair of G-actin polymers

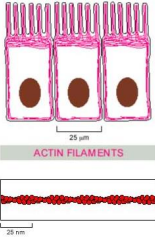
● monomer



## Higher resolution reveals polarity



# A mikrofilamentumok



## Aktinfilamentumok

- 7-9 nm átmérő
- kettős hélix

Aktin – 43 kDa, 375 aminosav

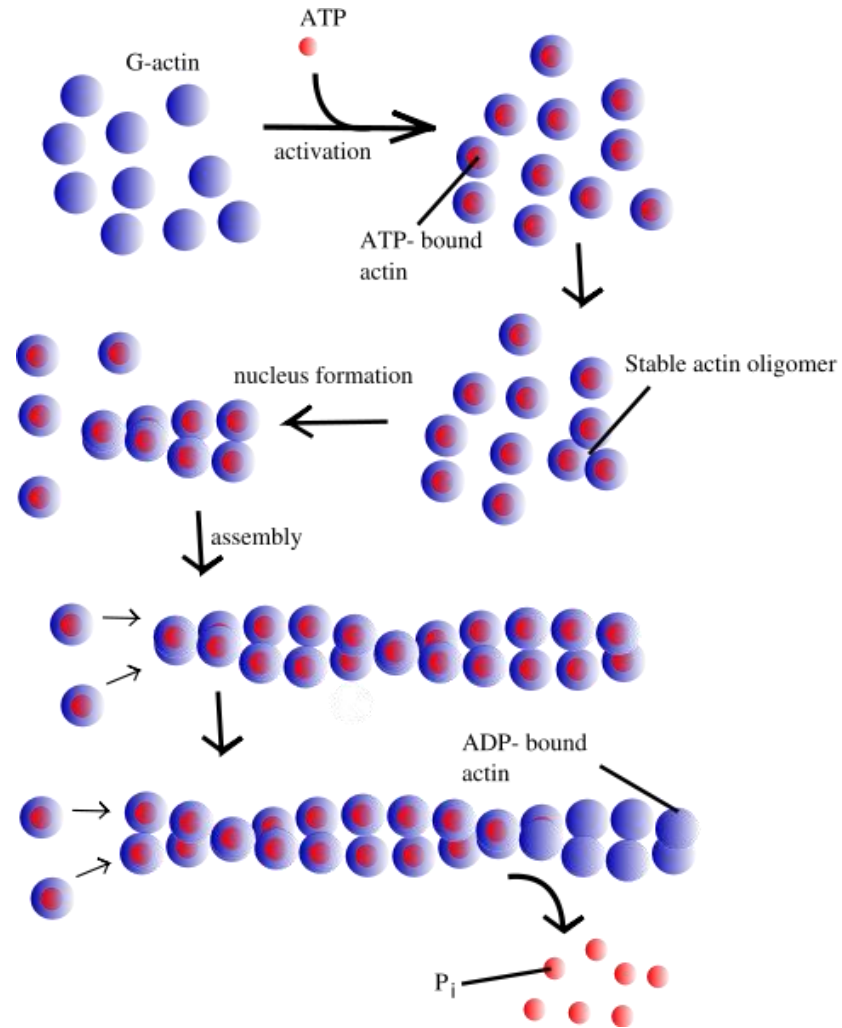
## Osztályai:

- $\alpha$ -aktin
- $\beta$ -aktin
- $\gamma$ -aktin

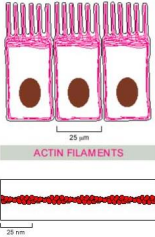
G-aktin (monomer) – F-aktin (polimer)

+vég – -vég

Taposómalom / Mozcólépcső



# A mikrofilamentumok



## Aktinfilamentumok

- 7-9 nm átmérő
- kettős hélix

Aktin – 43 kDa, 375 aminosav

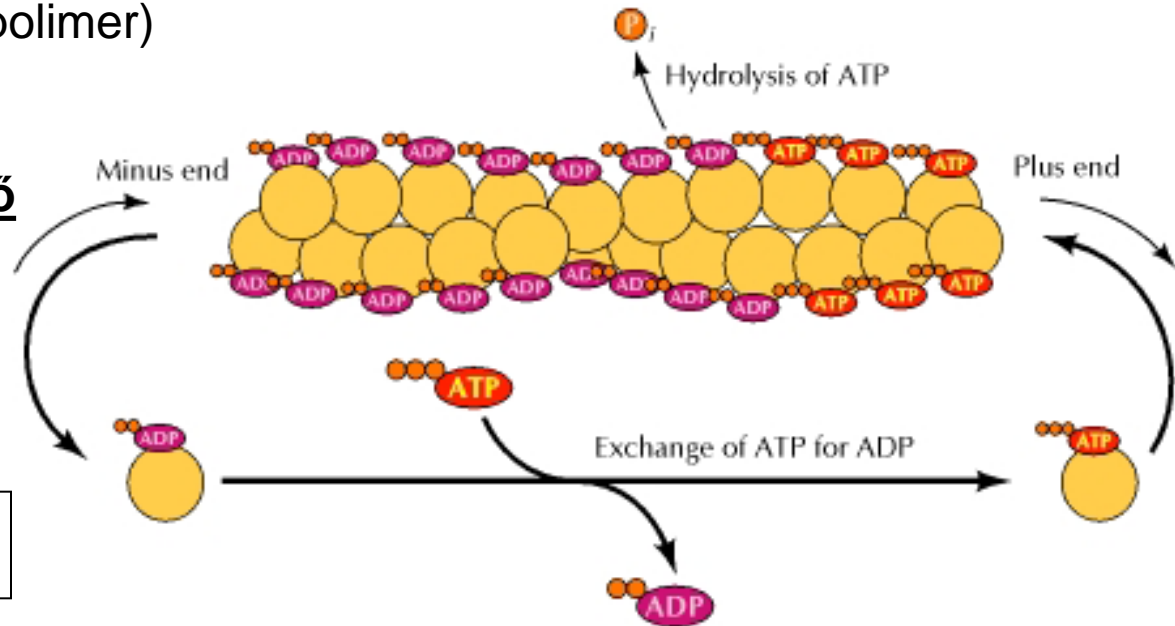
## Osztályai:

- α-aktin
- β-aktin
- γ-aktin

G-aktin (monomer) – F-aktin (polimer)

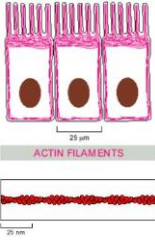
+vég – -vég

## Taposómalom / Mozgólépcső



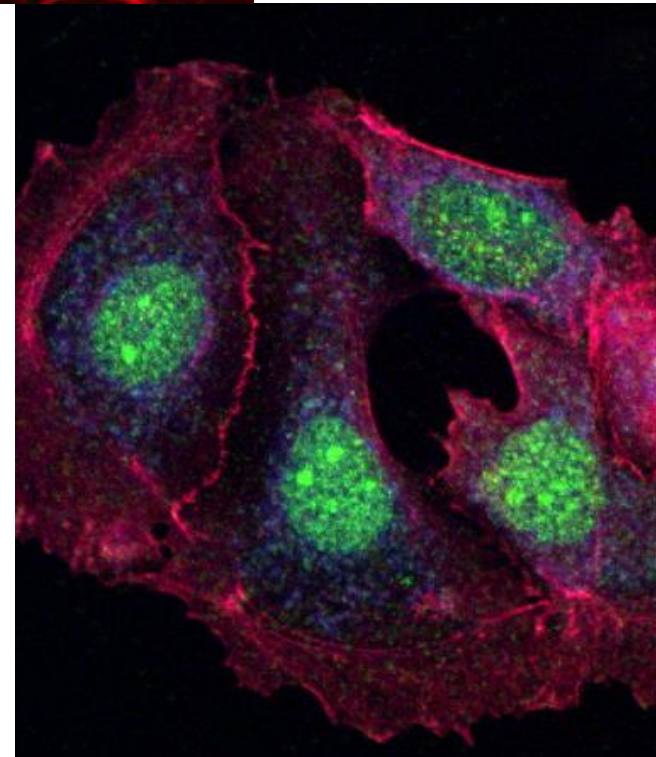
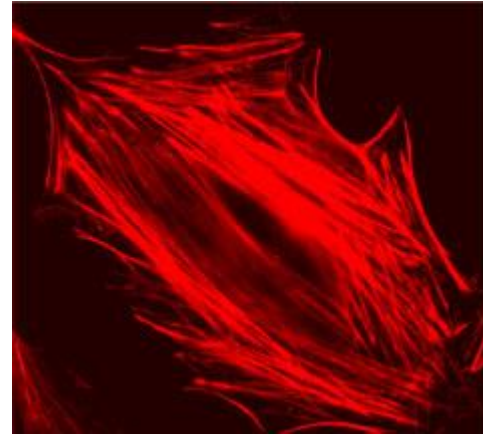
Geoffrey M. Cooper: The Cell: a Molecular Approach, 2nd ed.  
[www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=cooper&part=A1764&rendertype=figure&id=A1769](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=cooper&part=A1764&rendertype=figure&id=A1769)

# A mikrofilamentumok



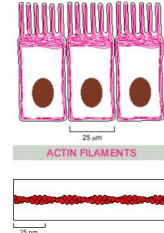
**Citokalazin** – gátolja a polimerizációt

**Falloidin** – stabilizálja a filamentumot  
(*Amanita phalloides*)





# A mikrofilamentumok struktúraformáló szerepe



## Aktinkötegek által kialakított struktúrák:

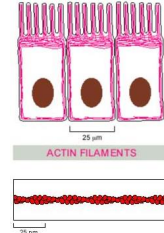
- Acrosoma – megtermékenyítés
- Stereocilia – szőrsejtek: hallás és egyensúlyérzékelés
- Mikrobolyhok – felszívódás
- Stresszfilamentumok – összehúzódás
- Filopodia – mozgás
- Sarcomer – harántcsíktolt izom összehúzódása

## Aktinhálózat által kialakított struktúrák:

- Lamellipodia – mozgás
- Membránkortex – sejtalak stabilizálása; membránfehérjék rögzítése

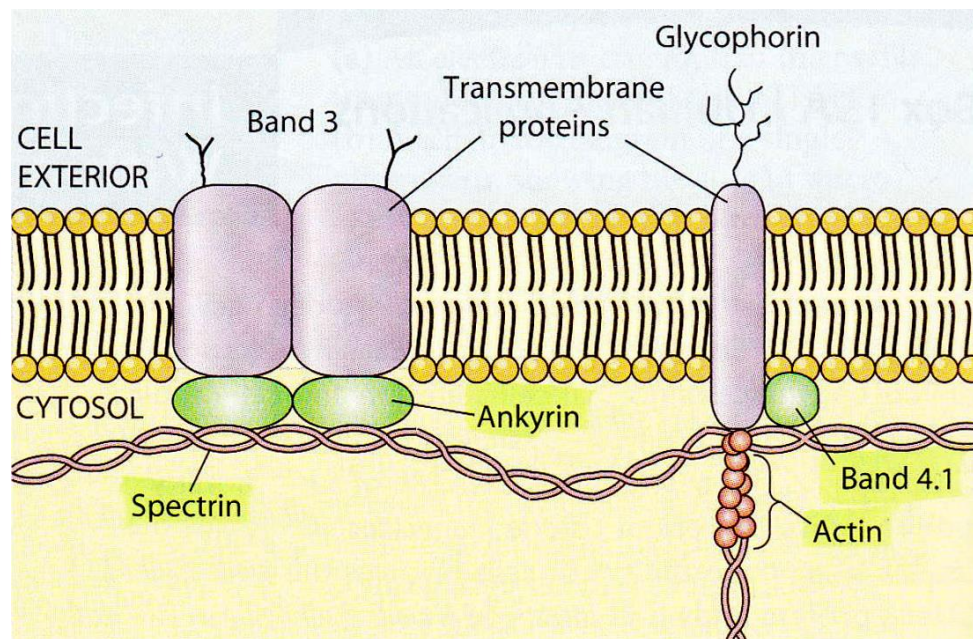
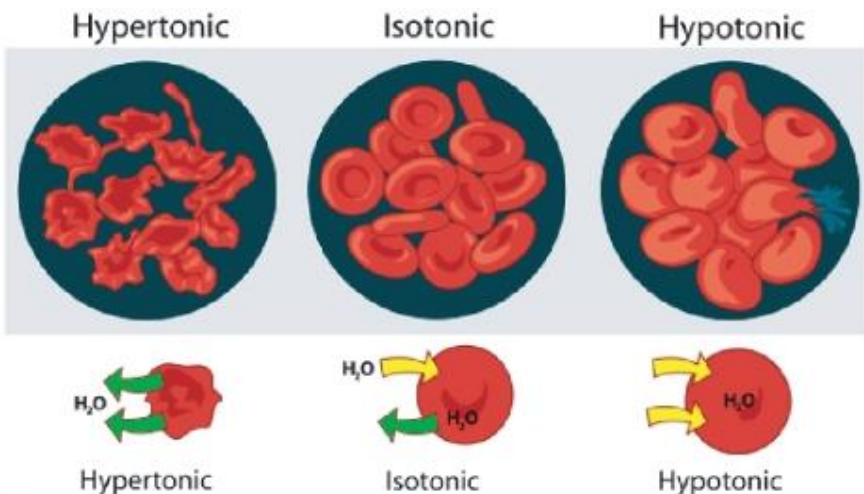
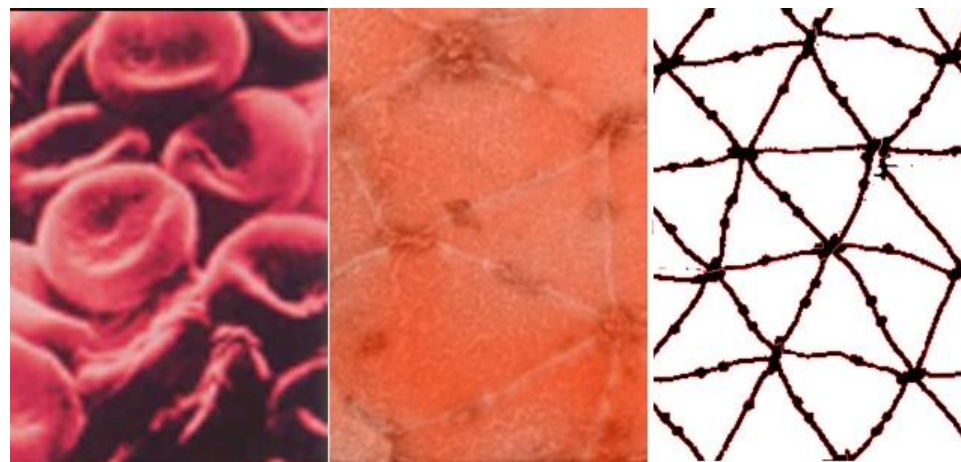
# A mikrofilamentumok struktúraformáló szerepe

## Sejtkortex – Membránszkeleton



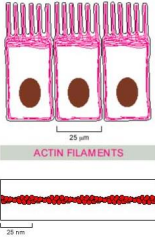
Funkciója **vörösvértestekben:**

- Bikonkáv forma fenntartása
- Nagyobb felszín
- Flexibilitás és mechanikai ellenálló képesség
- Ozmotikus rezisztencia



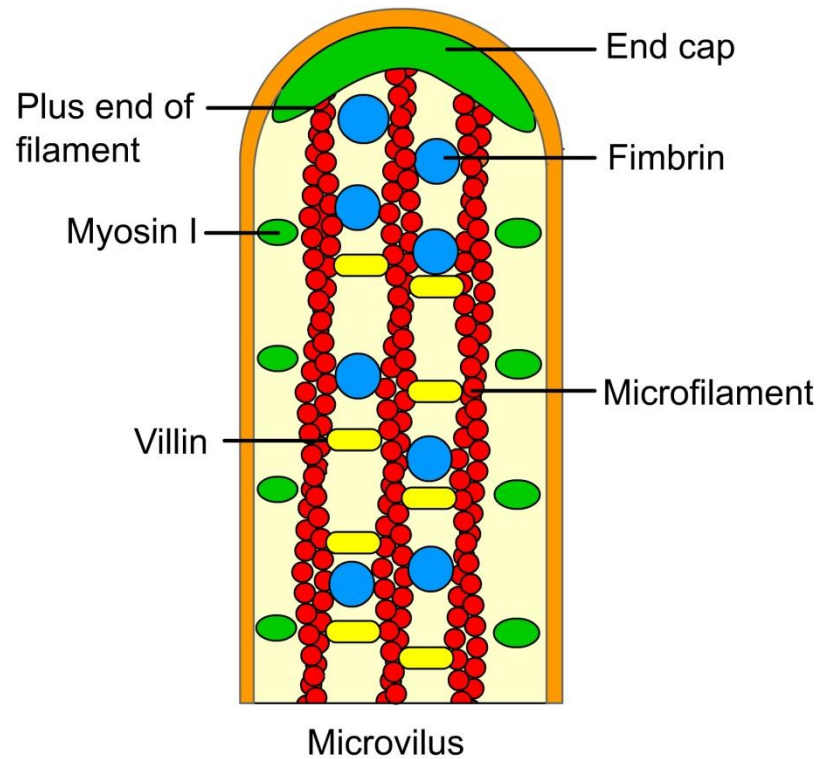
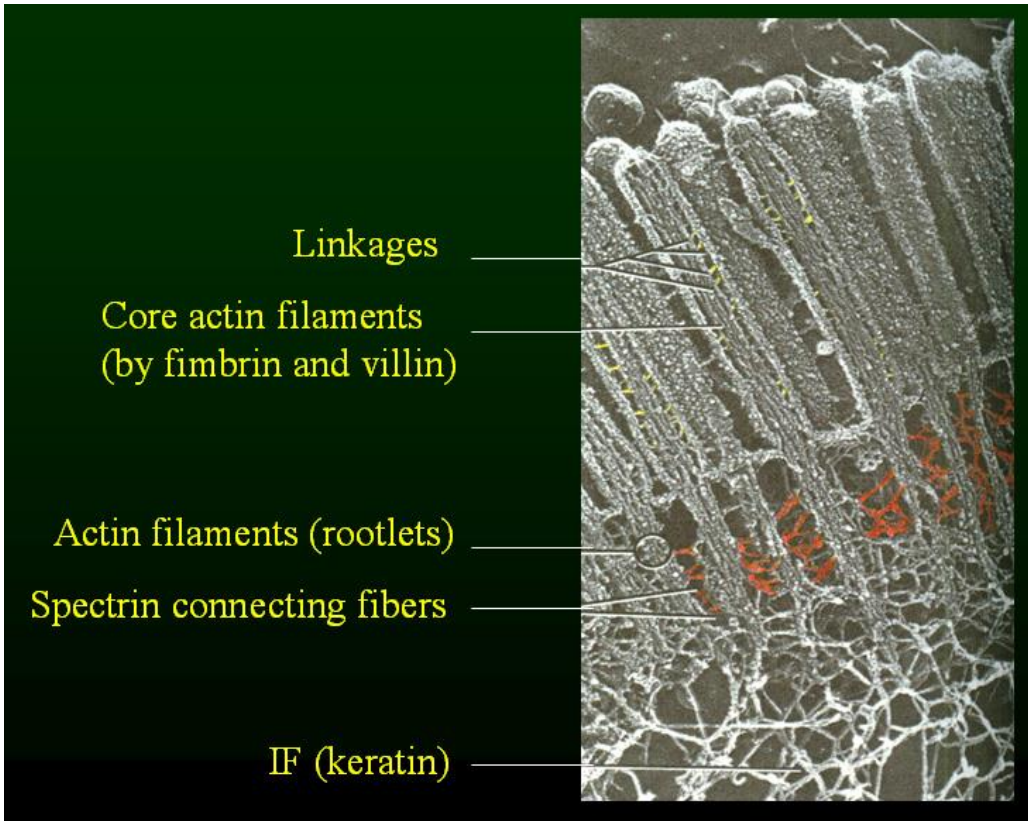
# A mikrofilamentumok struktúraformáló szerepe

## Mikrobolyhok – kefeszegély

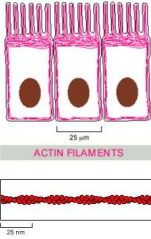


A felszívó felszín növelése

Pl.: bélhám, vesetubulusok hámja



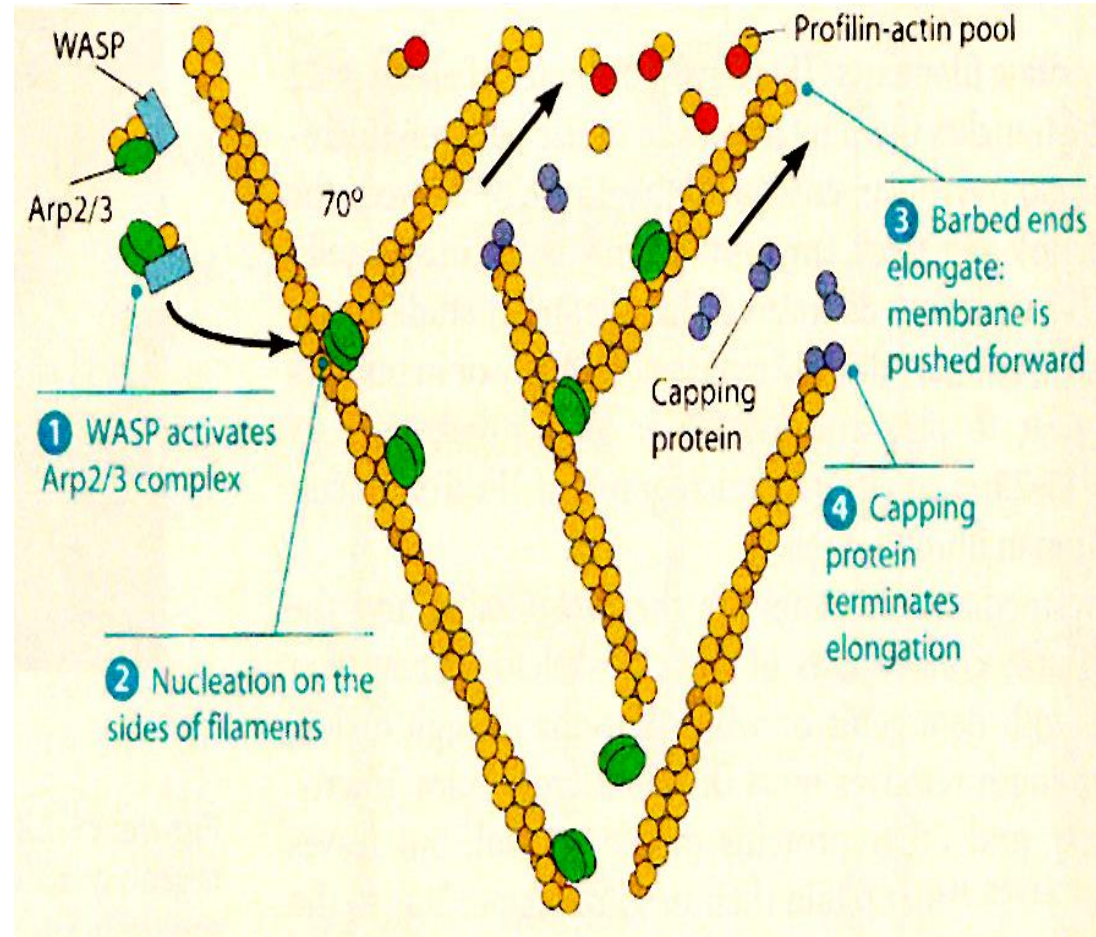
# A mikrofilamentumok szerepe a sejtmozgásokban



## A polimerizáció és depolimerizáció szabályozása

Új filamentumok képződése

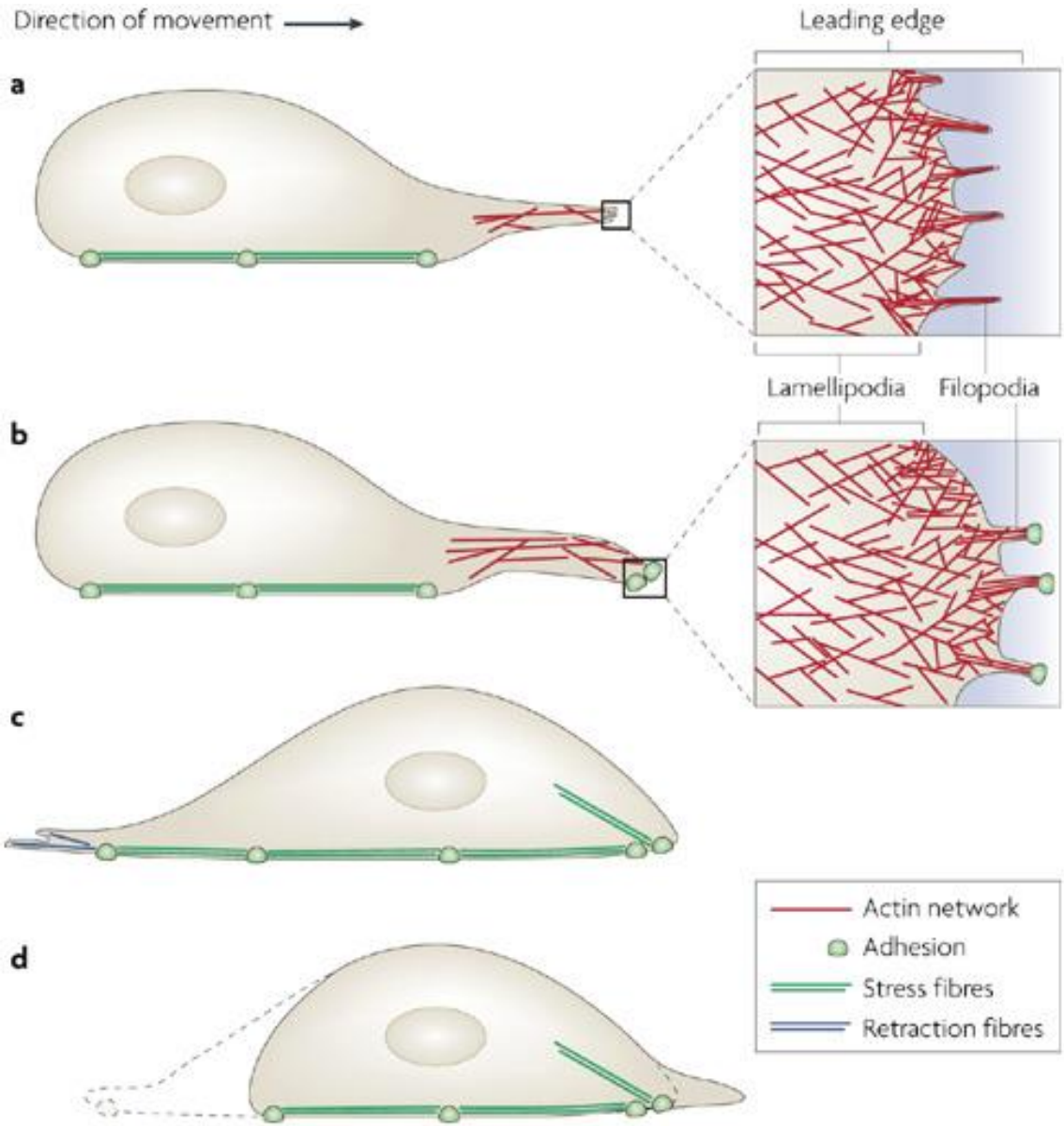
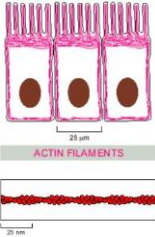
- Nukleáció:
  - Arp2/Arp3
  - Aktivátor: WASP, WAVE
- Monomerkötő fehérjék:
  - profilin:
    - gátolja a monomerek negatív véghez kötődését
    - serkenti a pozitív véghez kötődést
  - timozin:
    - monomereket köt
- Pozitív végek lezárása – gátolja a polimerizációt
  - pl.: CapZ, gelszolin



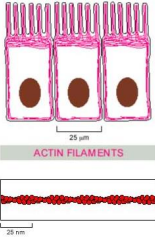
Arp – actin-related protein

WASP – Wiscott-Aldrich syndrome protein

# A mikrofilamentumok szerepe a sejtmozgásokban

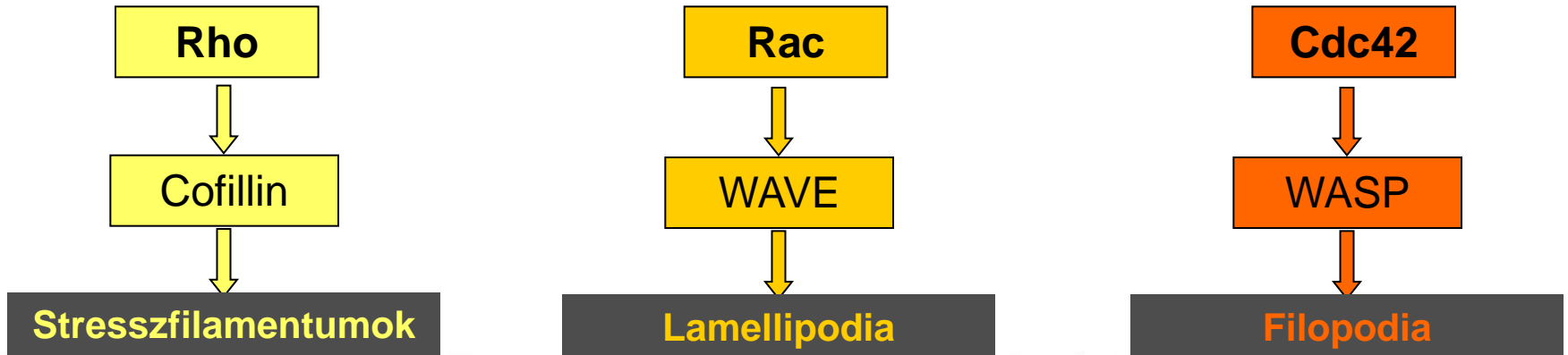


# A mikrofilamentumok működését befolyásoló jelátviteli folyamatok

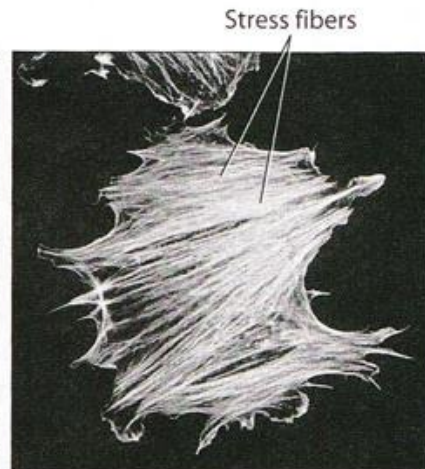


## Monomer GTPázok – a Rho család szerepe

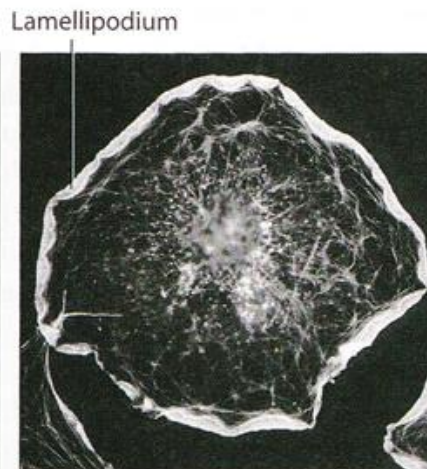
WASP –  
*Wiscott-Aldrich syndrome protein*



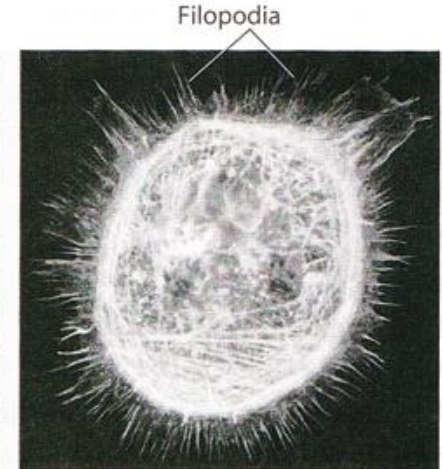
(a) Serum starved



(b) Activated Rho



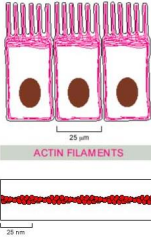
(c) Activated Rac



(d) Activated Cdc42

10 μm

# Az aktinhoz kapcsolódó fehérjék



**Monomert szekvesztráló fehérjék** – gátolják a polimerizációt

pl. *timozin*, *profilin*

**Kötegelő fehérjék** – kötegeket hoznak létre

pl. *fimbrin*, *faszcin*,  $\alpha$ -*aktinin*

**Keresztkötő fehérjék** – térhálós szerkezet, gélállapot

pl. *filamin*

**Fragmentáló fehérjék** – gélállapot fenntartása

pl. *gelszolin*

**Végstabilizáló fehérjék** – gátolják a filamentum növekedését

pl. *CapZ*

**Stabilizáló fehérjék** – gátolják a keresztkötések kialakulását

*tropomiozin*

**Kihorgonyzó fehérjék**

- **Sejtmembránhoz**

pl. *spektrin* (vvt), *filamin* (thrombociták), *disztrofin* (izom)

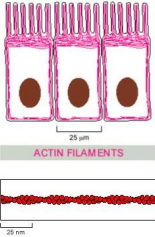
- **Extracelluláris mátrixhoz** – kapcsoló struktúrák kialakítása

pl. *vinkulin*, *talin* (ec mátrix *integrinjé*hez kapcsolja az aktint)

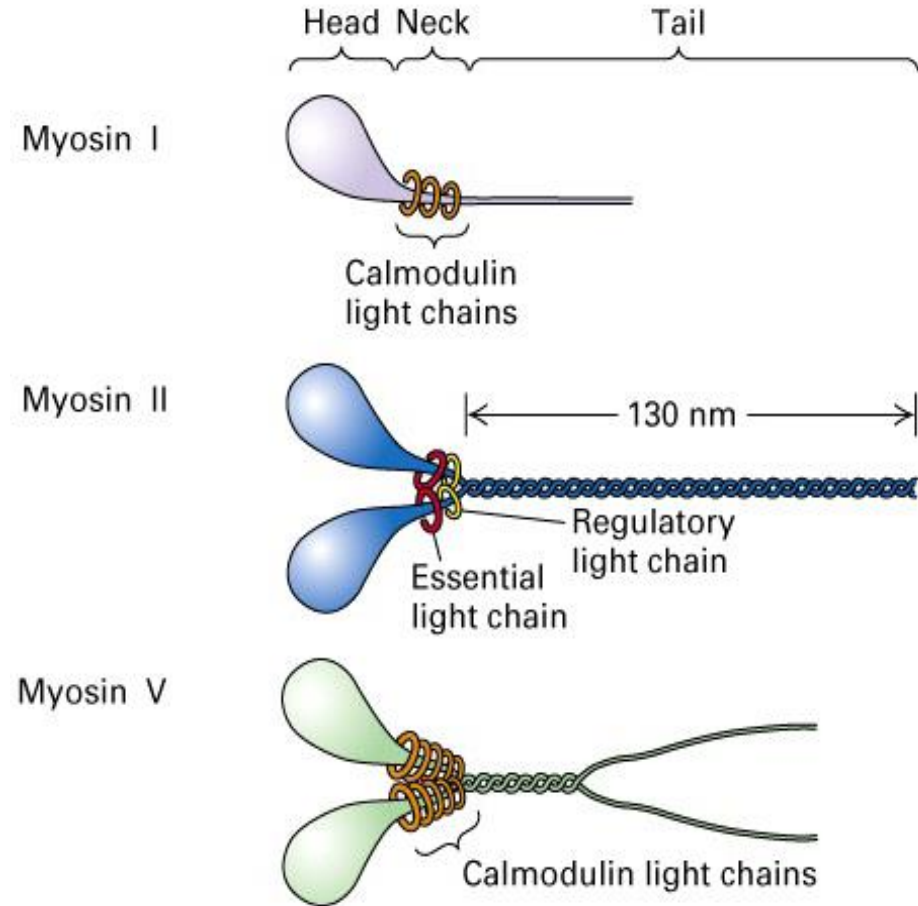
**Motorfehérjék** – mozgások és transzportok

*miozinok*

# A mikrofilyamentumokhoz kapcsolódó motorfehérjék: a miozinok

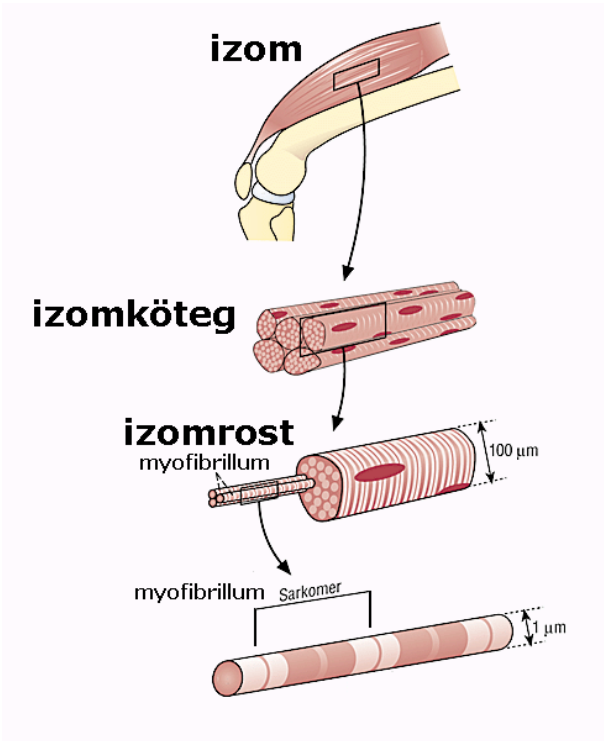
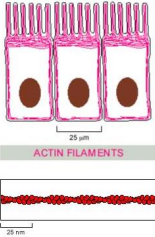


- 18 osztályba sorolhatók
- Fej – nyak – fark régió
- ATP-t és aktint képesek kötni
- ATPáz aktivitással rendelkeznek
- ADP-t kötő formában kötődik az aktinhoz
- ATP hatására ledisszociál az aktinról
- Konformációváltozás a fej-nyak régióban
- Általában pozitív-vég motorok



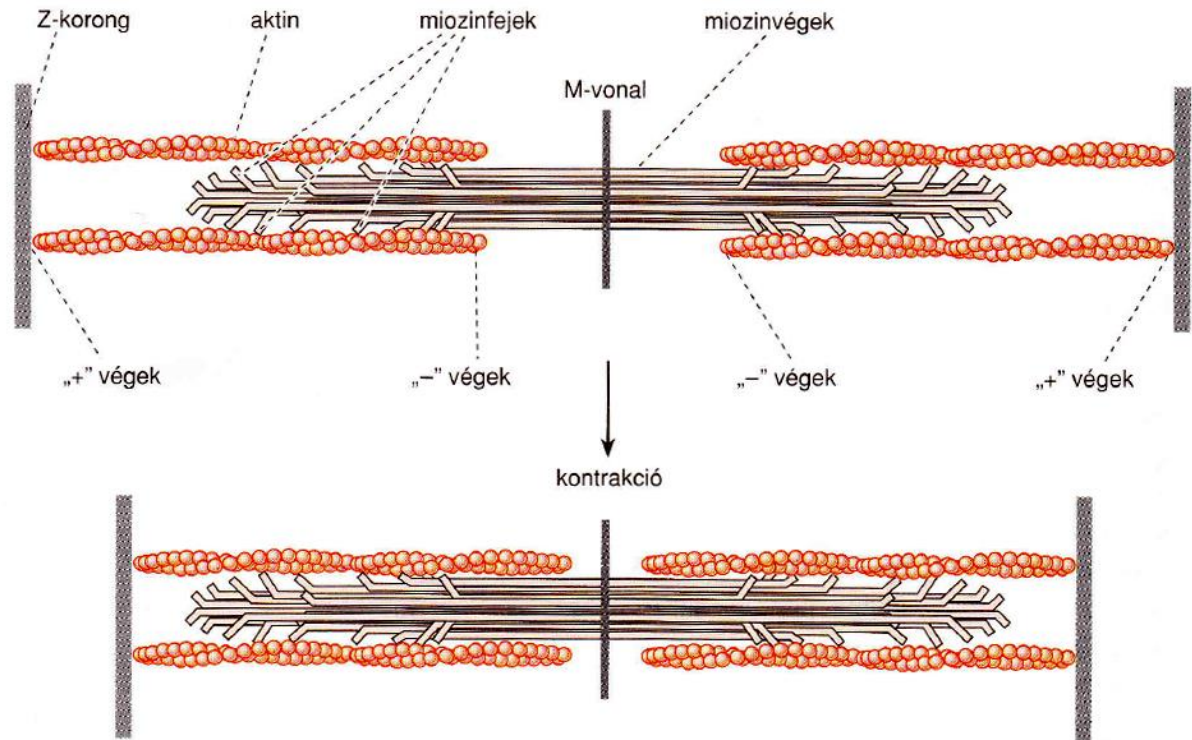


# A konvencionális miozin szerepe az összehúzódásban

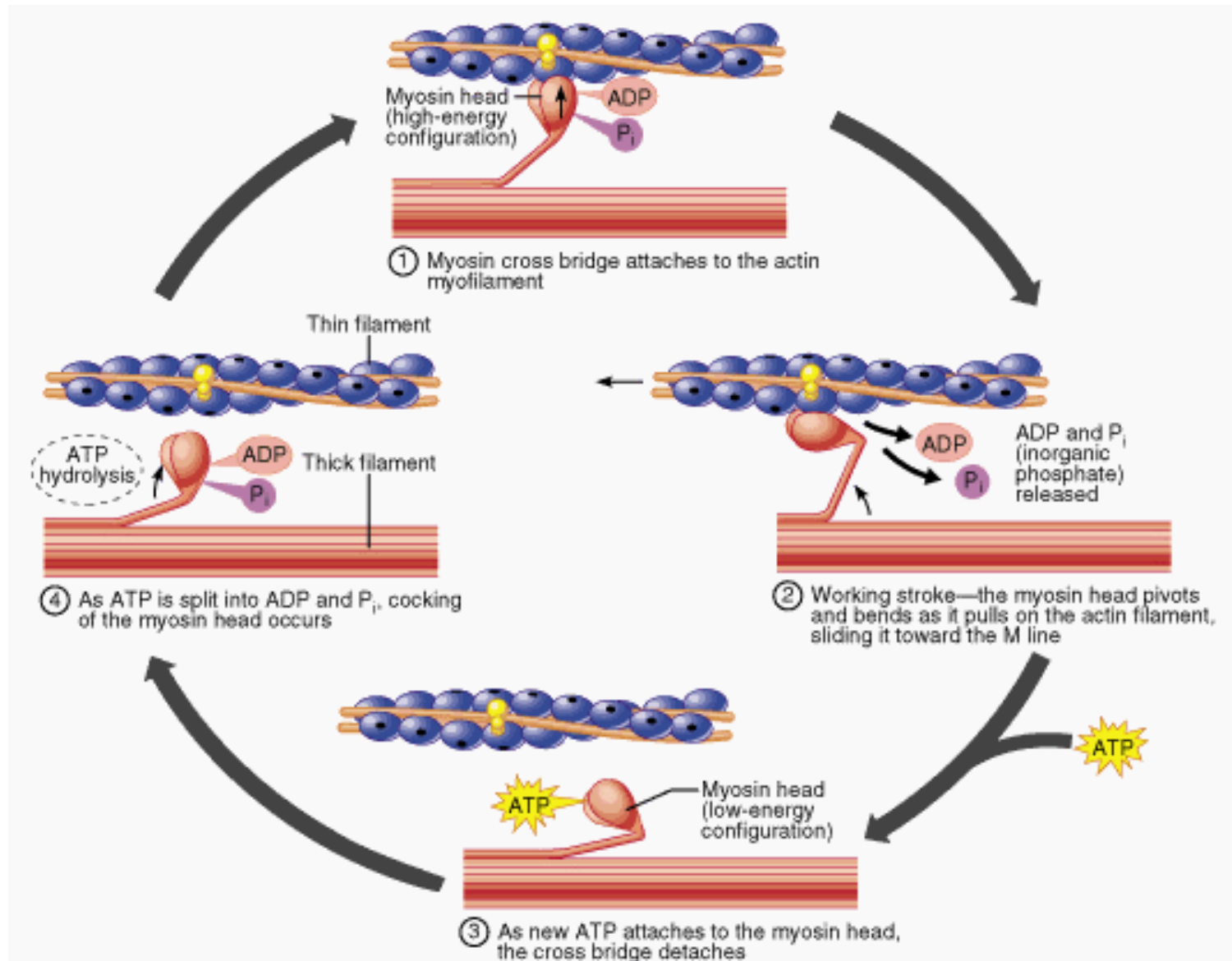


## Miozin II (konvencionális miozin)

- izomösszehúzódás
- citokinezis (kontraktilis gyűrű)
- stresszrostok összehúzódása



# „Sliding filament” (csúszó filamentum)



# Nem-konvencionális miozinok

## Miozin I

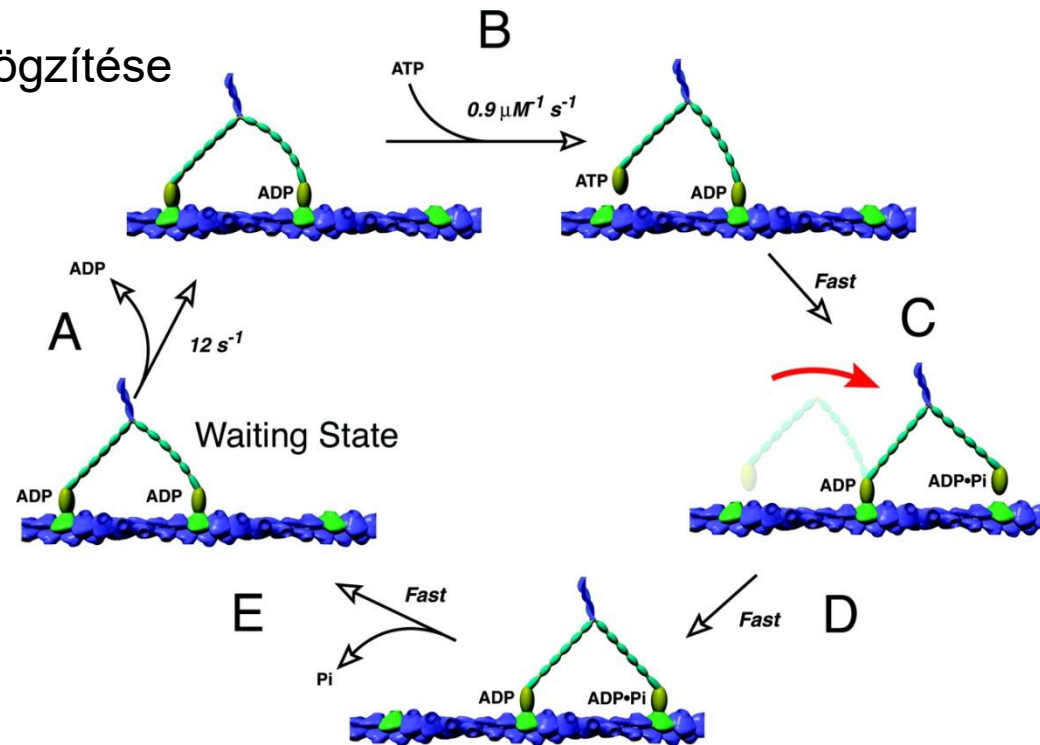
- monomer
- kromatin állomány szervezése
- vezikula transzport
- aktinfilamentumok kötegekbe rendezése és membránhoz rögzítése

## Miozin V

- szinaptikus vezikulák szállítása
- ER membrán mozgatása
- pigmentszemcsék transzportja

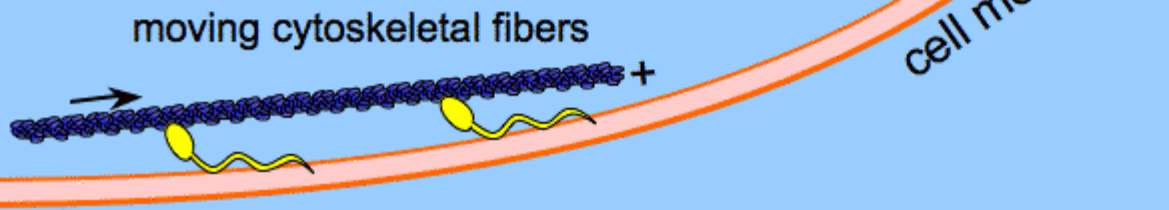
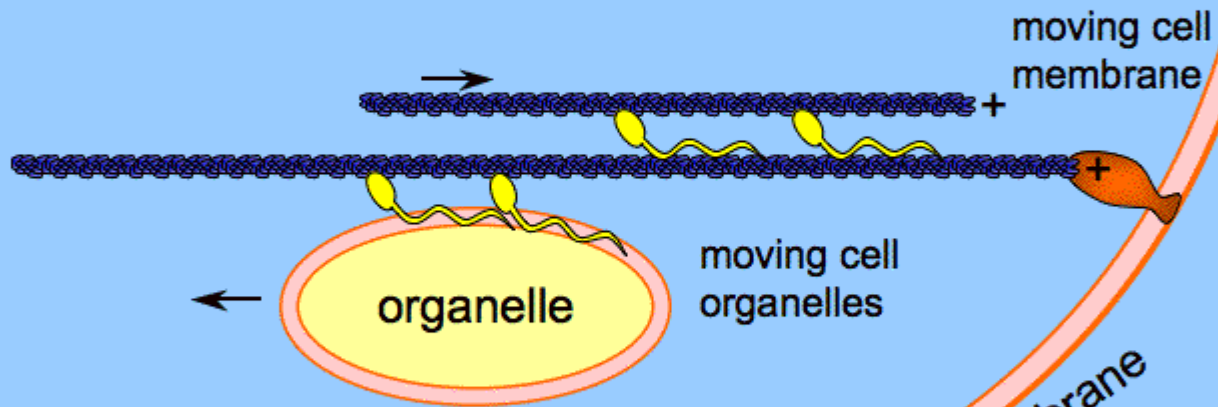
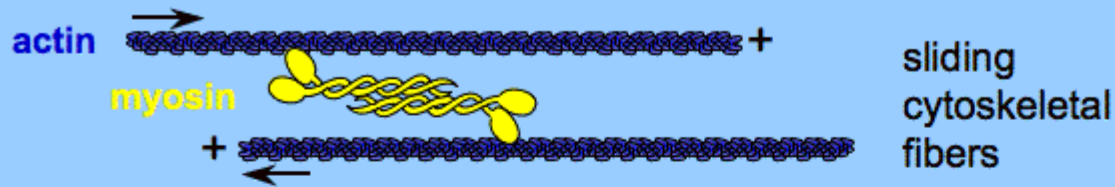
## Miozin IV

- negatív-vég motor
- endocitotikus vezikulák mozgatása
- Golgi-készülék rendezettségének fenntartása
- állábképződés



# Microfilament-based movements

cytosol



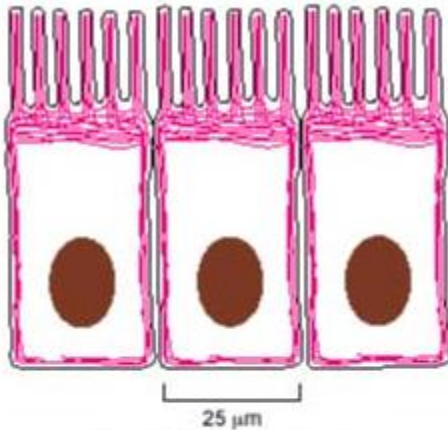
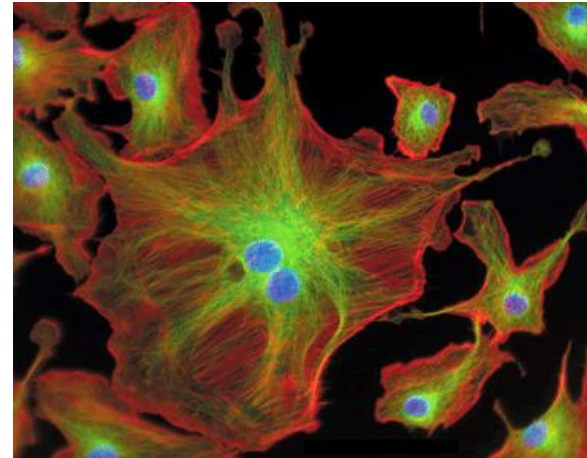
# A citoskeleton alkotói

Mikrofilamentumok

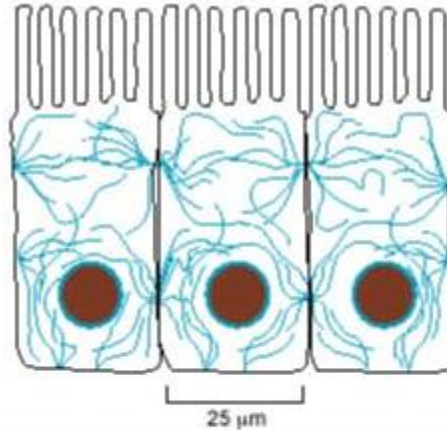
Intermedier filamentumok

Mikrotubulusok

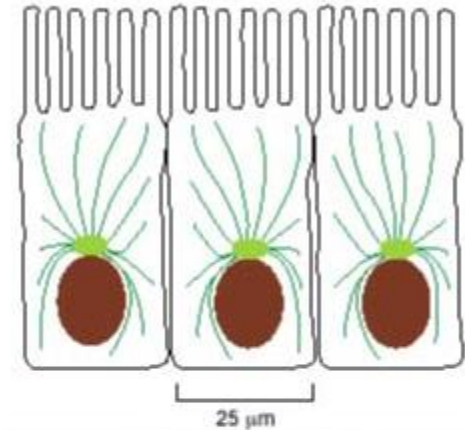
+ asszociált fehérjék



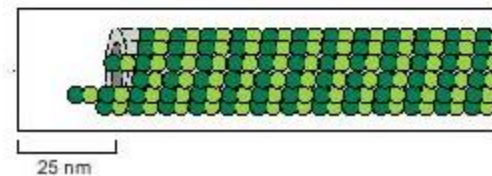
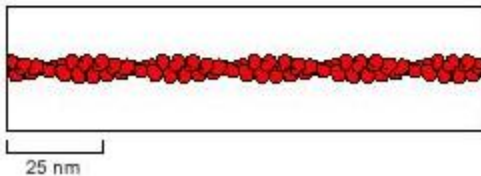
ACTIN FILAMENTS



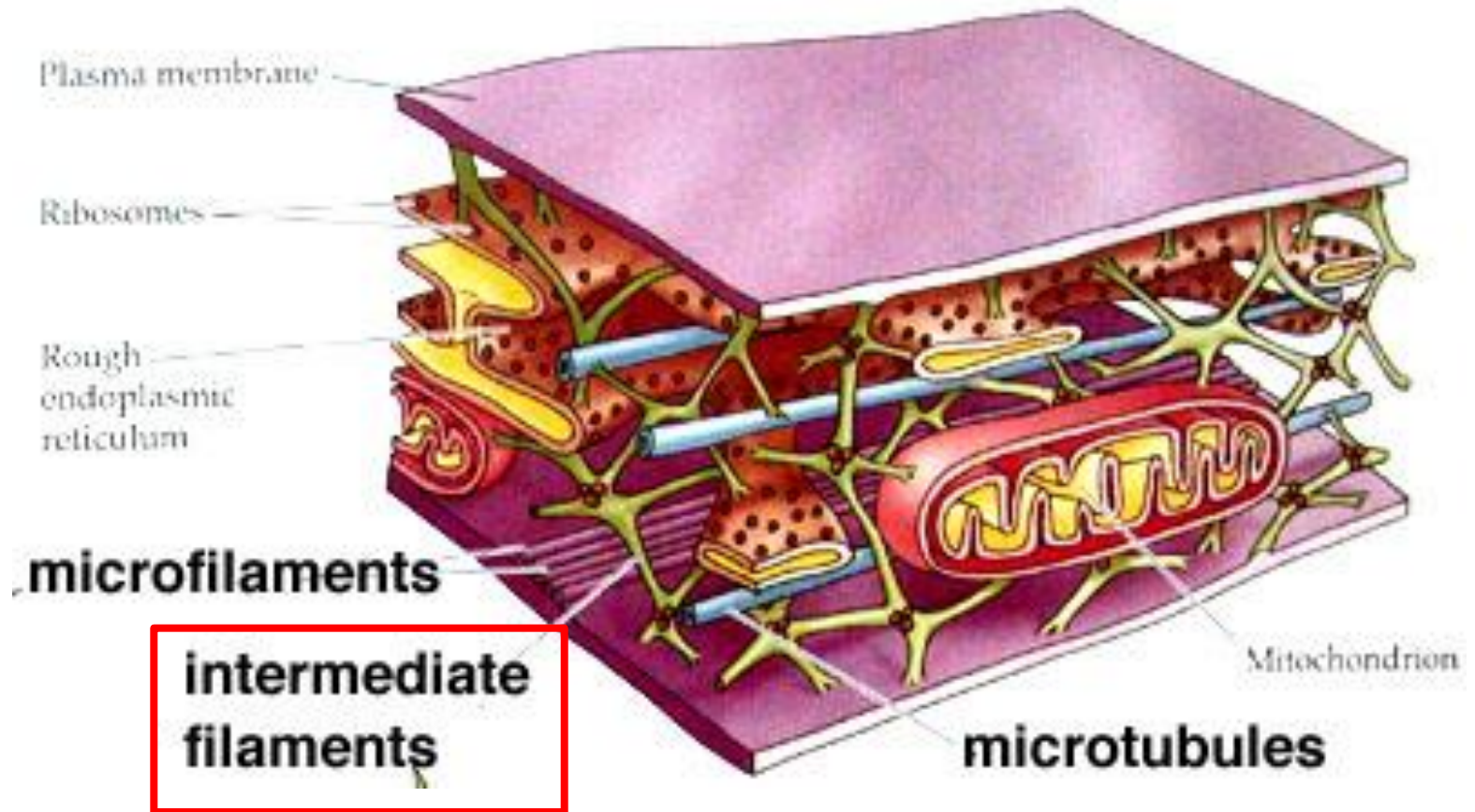
INTERMEDIATE FILAMENTS



MICROTUBULES



# A citoszkeleton alkotói



# Az intermedier filamentumok

Intermedier filamentumok – 8-10 nm átmérő

Monomerjei:

- fibrilláris fehérjék
- 3 domén
  - feji (N-terminális)
  - farki (C-terminális)
  - centrális (helikális)
    - > konzervatív
    - > kapcsolódás

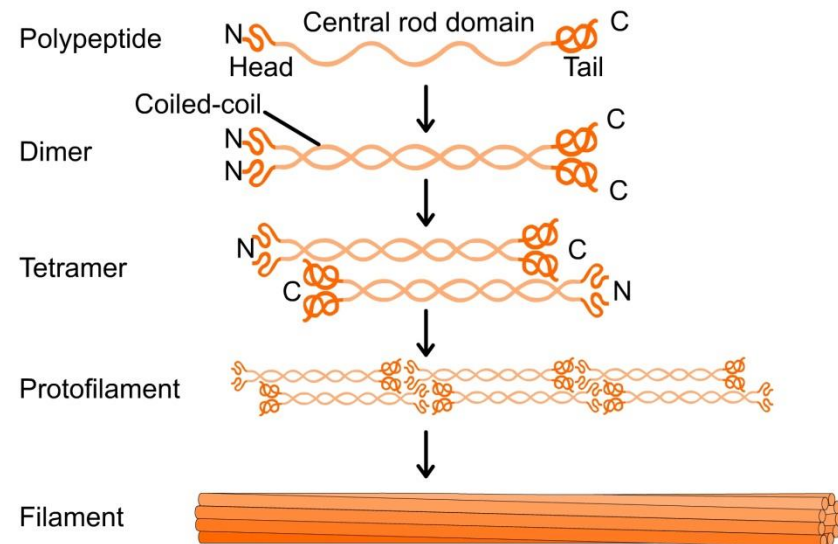
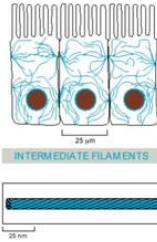
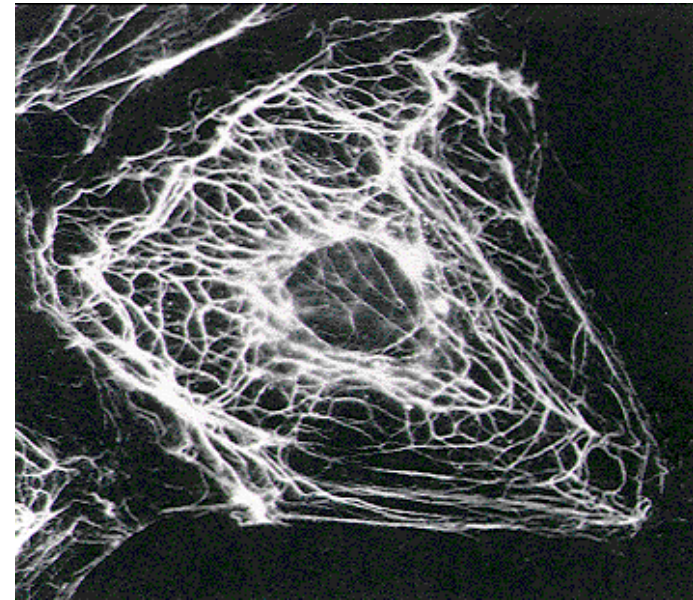
Nincs polaritása!!!

Szerveződése:

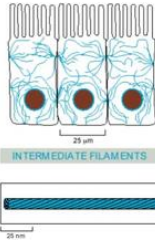
monomer → párhuzamos dimer →  
antiparallel tetramer → protofilamentum  
→ profibrillum → intermedier filamentum

Háromdimenziós hálózat – asszociált  
proteinek mikrotubulusokhoz,  
mikrofilamentumokhoz és kapcsoló  
struktúrákhoz is rögzíthetik

Stabil, kevésbé dinamikus!!!



# Az intermedier filamentumok



## Alosztályok:

I. típus: **Savas (cito)keratinok**

II. típus: **Bázikus/neutrális (cito)keratinok**

- bázikus és savas heterodimerek
- epidermális keratinok
- haj (szőr) keratinok

A keratinok mindig heterodimert alkotnak. Fontos differenciációs markerek. (tumor!)

III. típus:

- **dezmin** – izomsejtekben
- **vimetin** – a legelterjedtebb, pl. fibroblasztokban, endothel sejtekben, leukocitákban
- **GFAP** – gliasejtekben
- **periferin** – perifériás neuronokban

IV. típus:

- **neurofilamentumok** – könnyű, közepes és nehéz izoformák

V. típus:

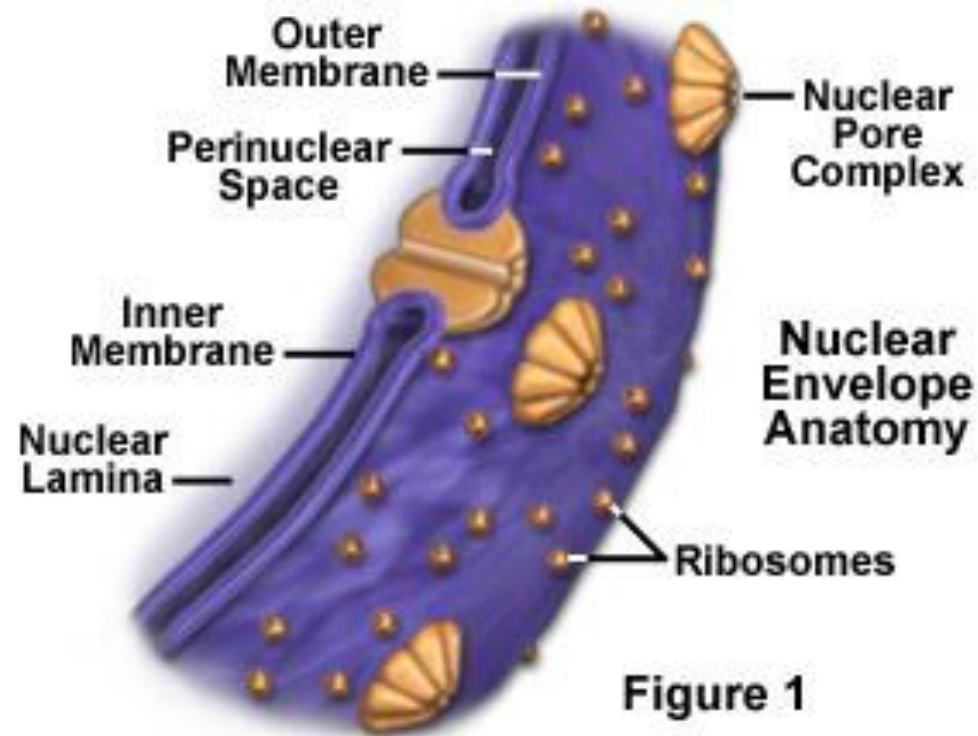
- **laminok** – a magmembrán alatt alkotnak hálózatot (lamina fibrosa)

VI. típus:

- **nestin** – kötegek az axonban



- *laminok* – a magmembrán alatt alkotnak hálózatot (lamina fibrosa)



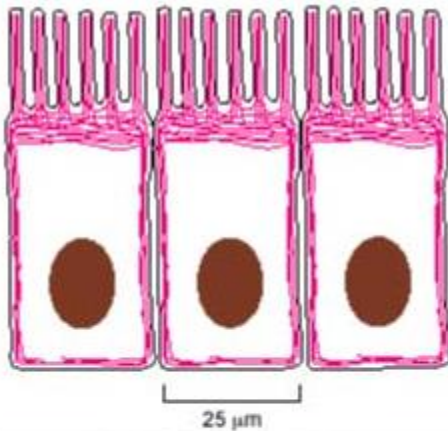
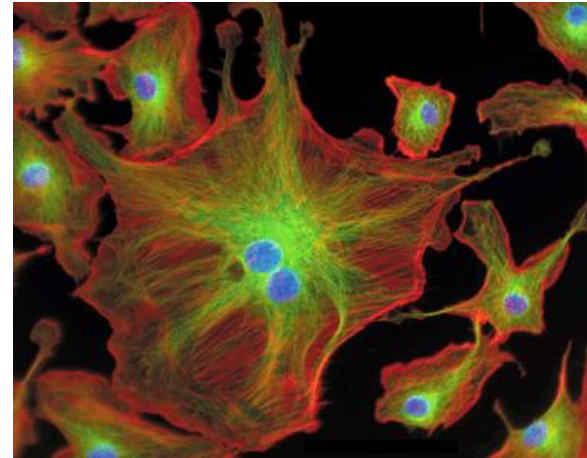
# A citoskeleton alkotói

Mikrofilamentumok

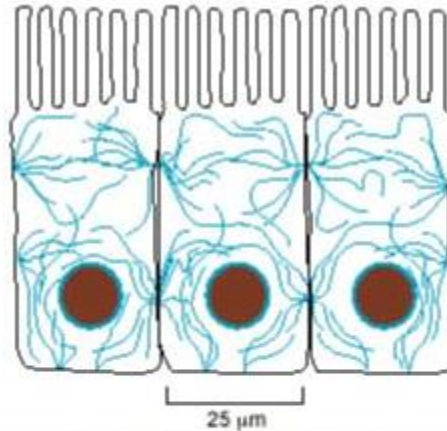
Intermedier filamentumok

**Mikrotubulusok**

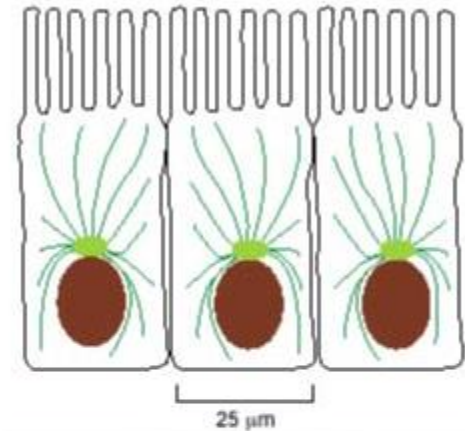
+ asszociált fehérjék



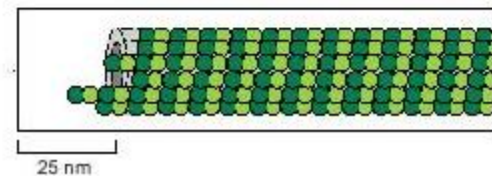
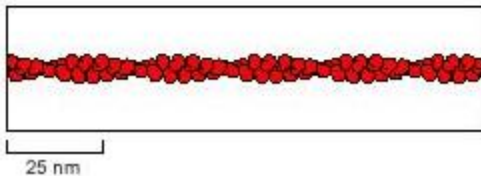
ACTIN FILAMENTS



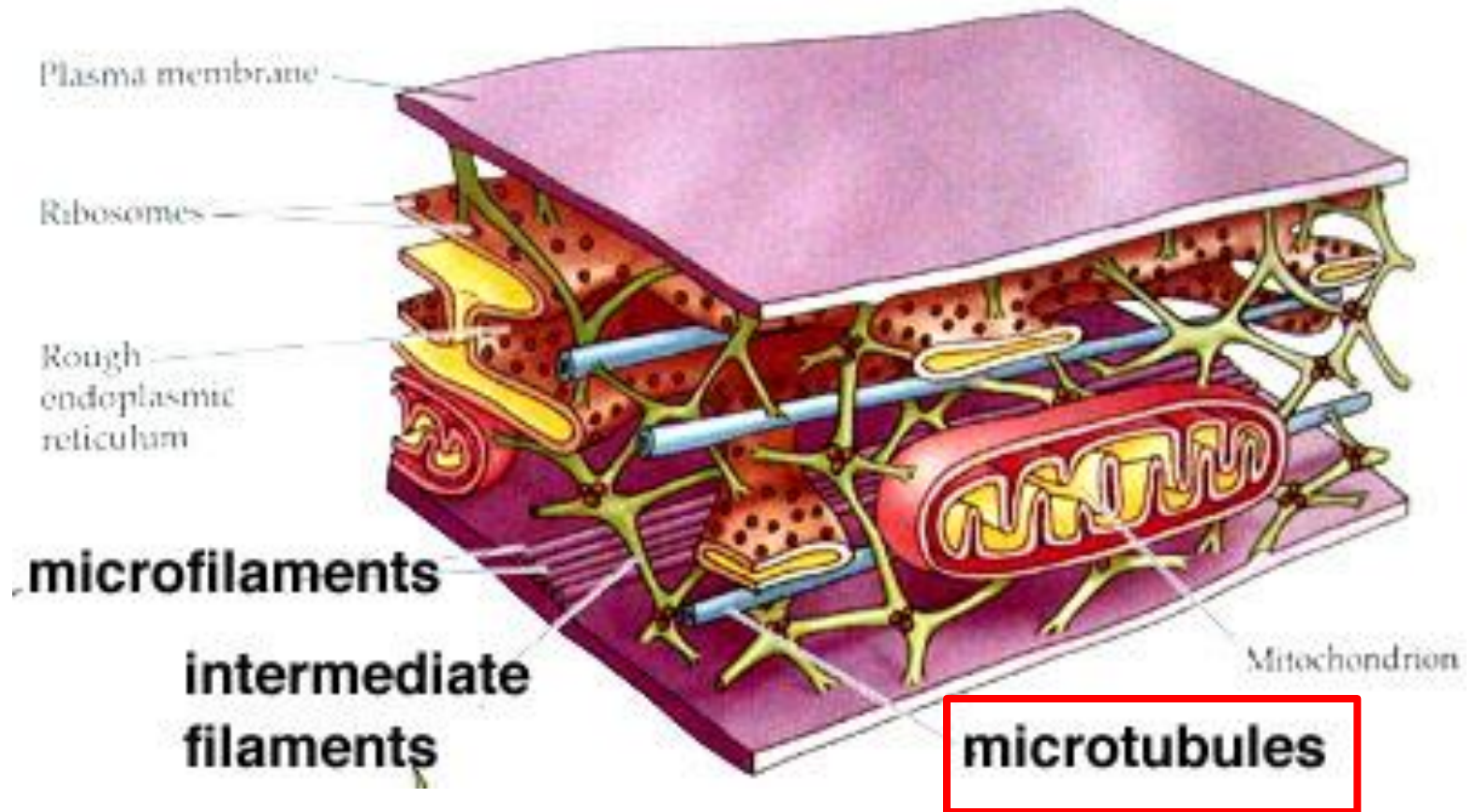
INTERMEDIATE FILAMENTS



MICROTUBULES

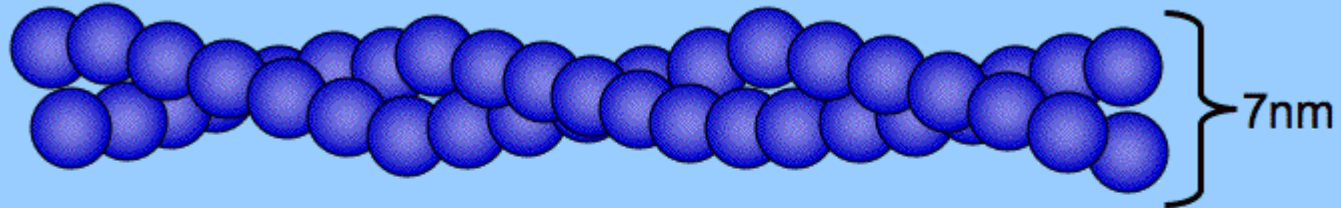


# A citoskeleton alkotói

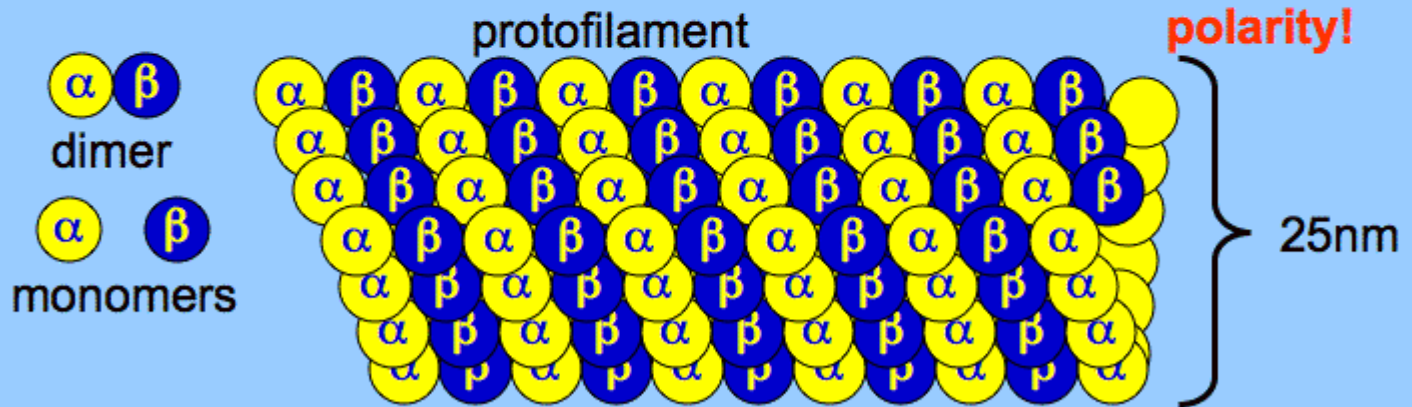


# A mikrotubulusok

**Microfilaments are thin**



**Microtubules are thicker polymers of tubulin dimers**



# A mikrotubulusok

$\alpha$  és  $\beta$  tubulin = tubulin dimer

13 protofilamentum

+ és -vég

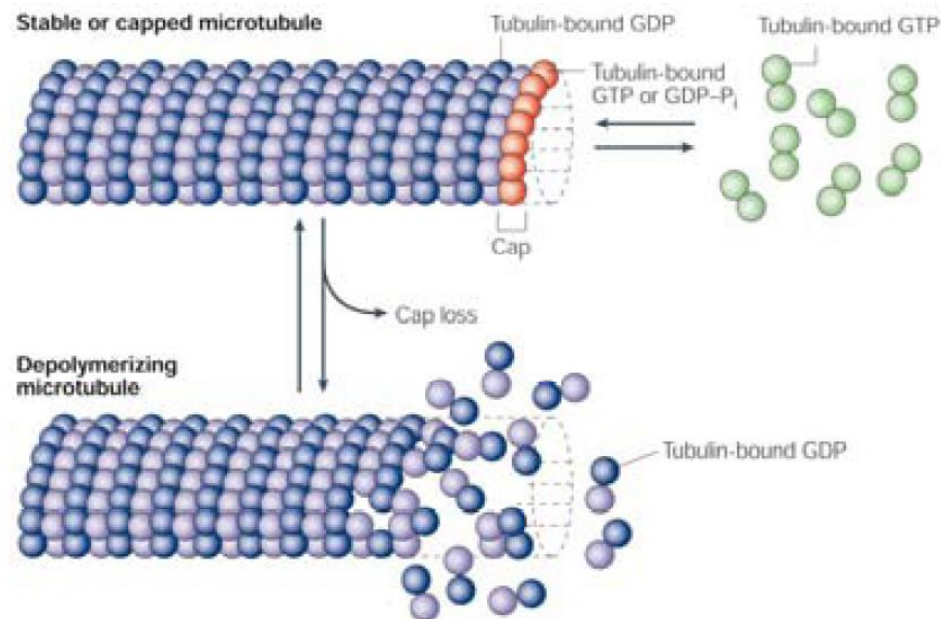
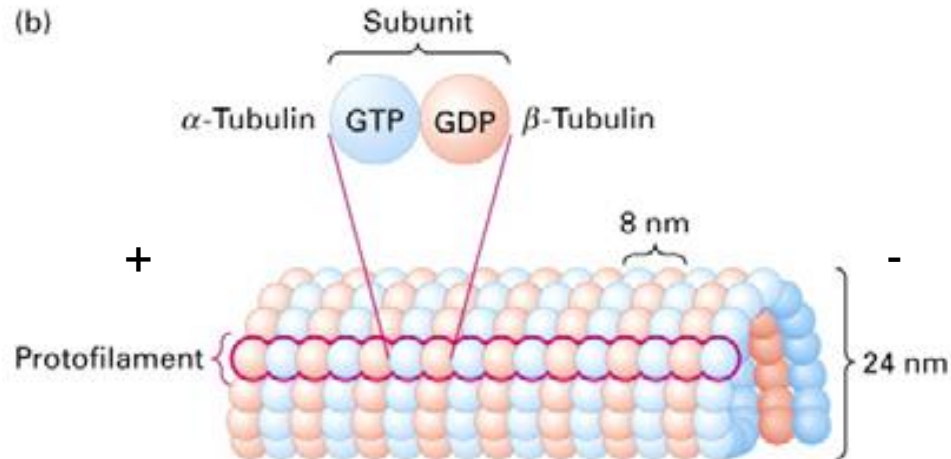
## Polimerizáció:

- mindkettő GTP-t köt, majd a  $\beta$  tubulinról hidrolizál

## dinamikus instabilitás

- a polimerizáció és a hidrolízis sebessége befolyásolja

- hűtés – reverzibilis depolimerizáció



# A mikrotubulusok

**kolhicin** – tubulinhoz kötődve gátolja a polimerizációt

**taxol** – mikrotubulushoz kötődve gátolja a depolimerizációt → citosztatikum



# A mikrotubulusokhoz kapcsolódó proteinek

**Monomert szekvesztráló fehérjék** – gátolják a polimerizációt  
pl. *stathmin*

**Kötegelő fehérjék és keresztkötő fehérjék** – kötegeket hoznak létre  
pl. *tau* – szoros kötegek axonokban  
*MAP2* – laza kötegek dendritekben  
*plectin* – intermedier filamentumokhoz kapcsolja

**+ véget destabilizáló/stabilizáló fehérjék** – befolyásolják a polimerizációt

**Stabilizáló fehérjék**

**Nukleációs fehérjék** – stabilizálják a negatív véget  
pl. *γ-tubulin gyűrűk*

**Motorfehérjék** – mozgások és transzportok  
*kinezinek, dineinek*

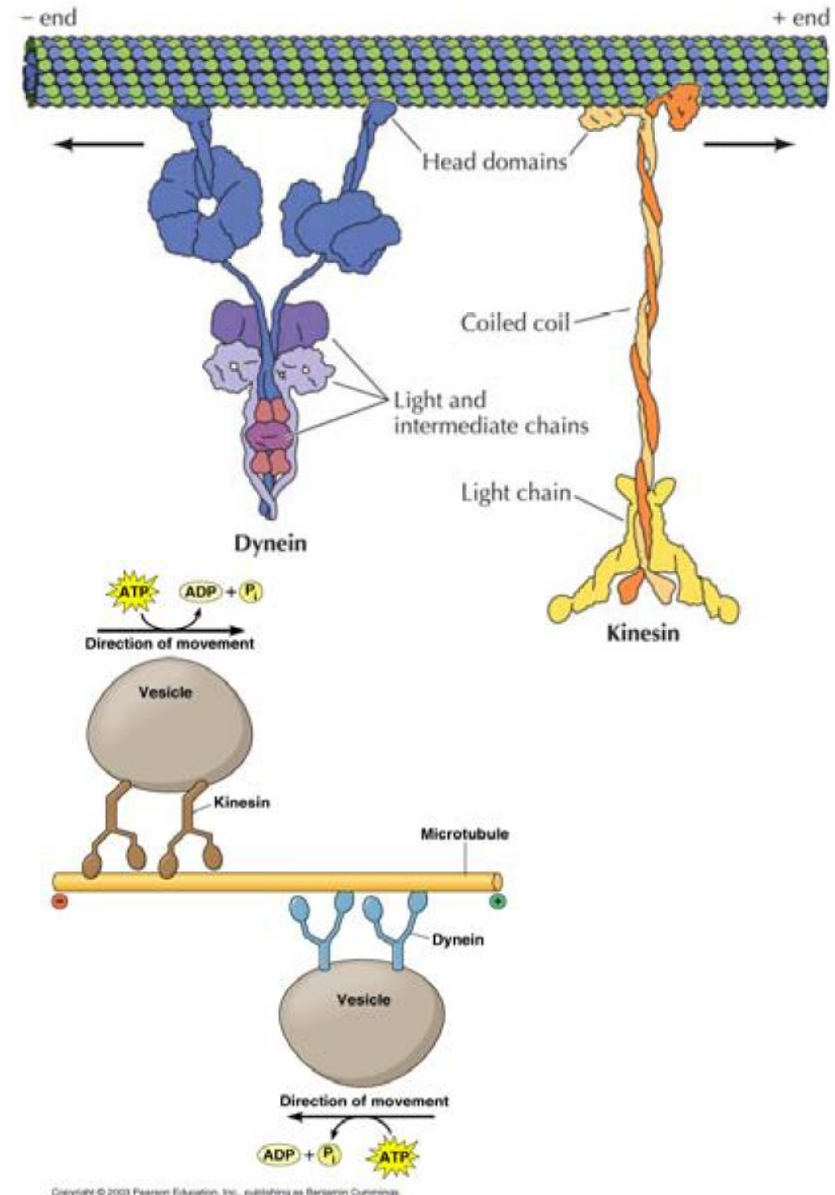
# A mikrotubulusok motorfehérjéi és szerepük az intracelluláris transzportokban

## Kinezin

- általában +vég motorok
- motordomén (katalitikus és nyak domén)
- nyél és fark domén
- sejtkomponensek (mitokondriumok, vezikulák, lizoszómák, pigmentszemcsék) szállítása
- sejtosztódás mozgásai

## Dinein

- általában -vég motorok
- nagy motordomén, 7 gyűrűbe rendezett alegységgel
- törzs domén – a szállítandó anyagot köti
- nyél domén – a mikrotubulushoz kötődik
- csillók, ostorok
- vezikuláris transzport





# A mikrotubulusok szerepe a sejtmozgásokban - csillók és ostorok -

Membránnal borított **axonéma**

9x2 + 2 mikrotubulus

- +vég kifelé, -vég befelé

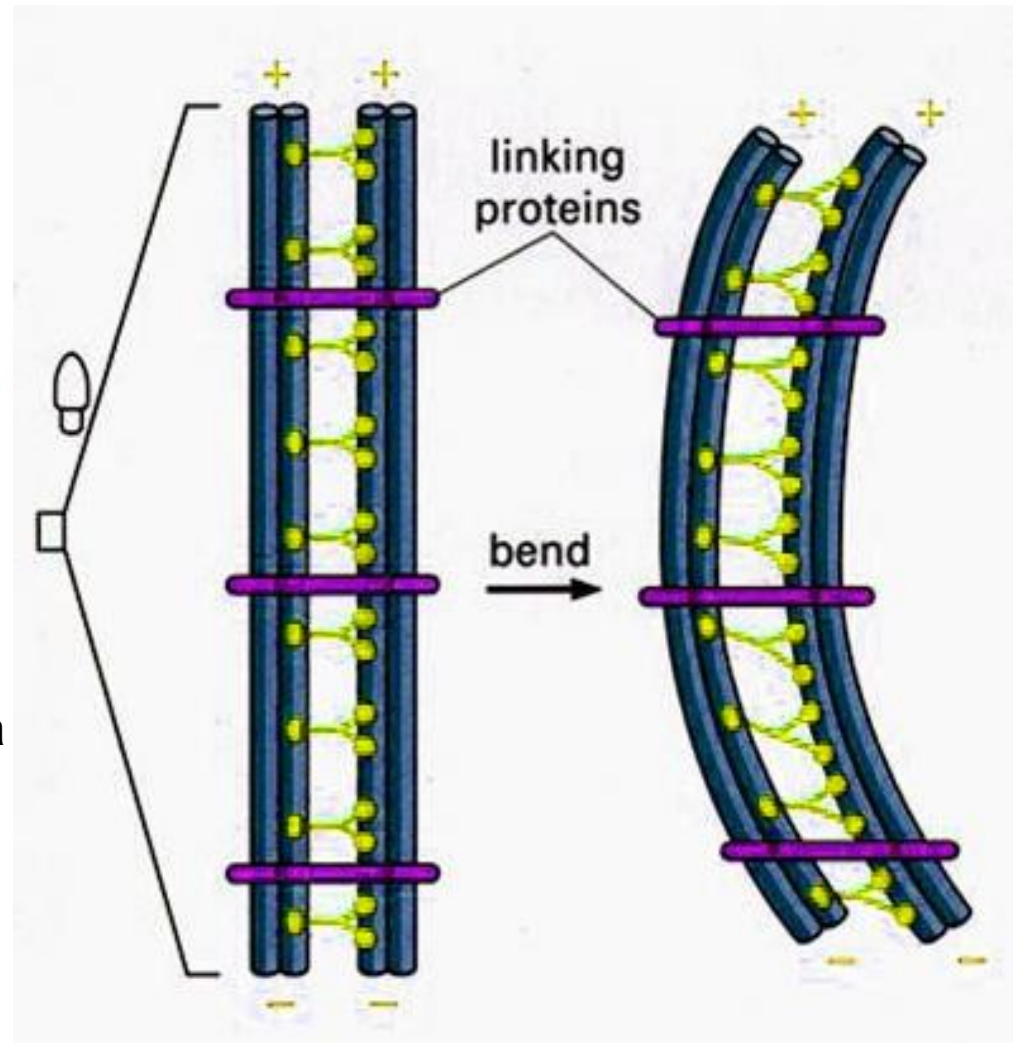
Nexin

Radiális küllők

**Dinein** karok

**Bazális test** (kinetoszóma)

- 9x3 mikrotubulus
- axonéma összeszerelését irányítja
- kihorgonyozza a csillót
- centriólummal homológ



# A citocentrum (sejtközpont)

Citocentrum = sejtközpont = mikrotubulus organizáló centrum (MTOC) = centroszóma

2 centriólum

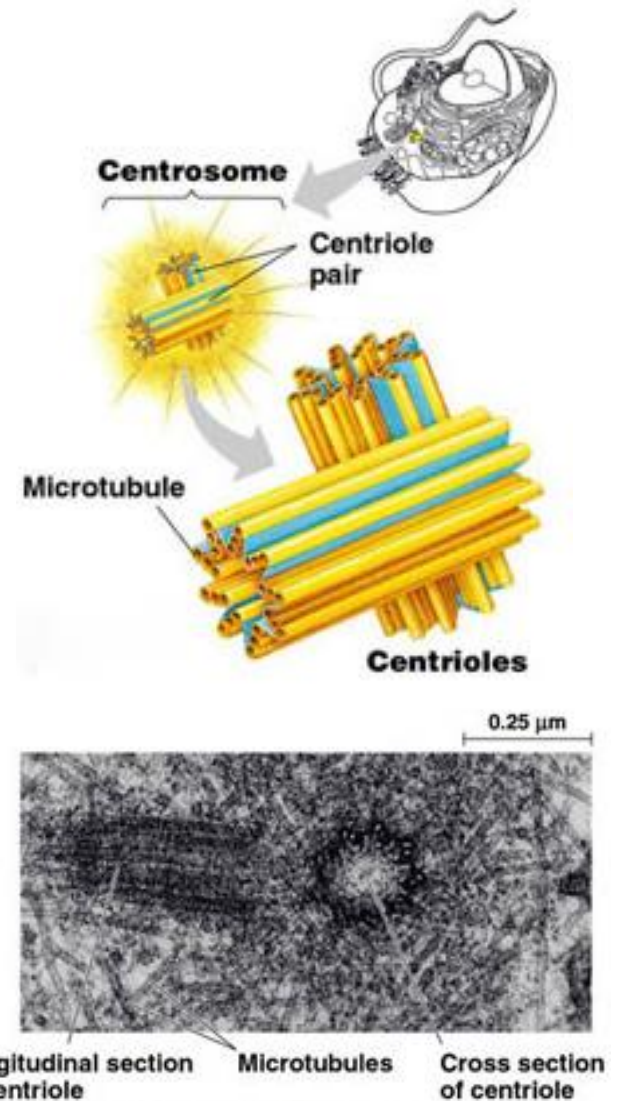
- 9x3 mikrotubulus,  $\alpha$  és  $\beta$  heterodimerekből
- egymásra általában merőlegesek

Pericentrioláris anyag

- számos jellegzetes fehérje
- $\gamma$ -tubulin gyűrű
  - > 13 monomer
  - > nukleációs hely
  - > meghatározza a mikrotubulusok szerkezetét
  - > stabilizálja a (-) véget

Citocentrum szerepe:

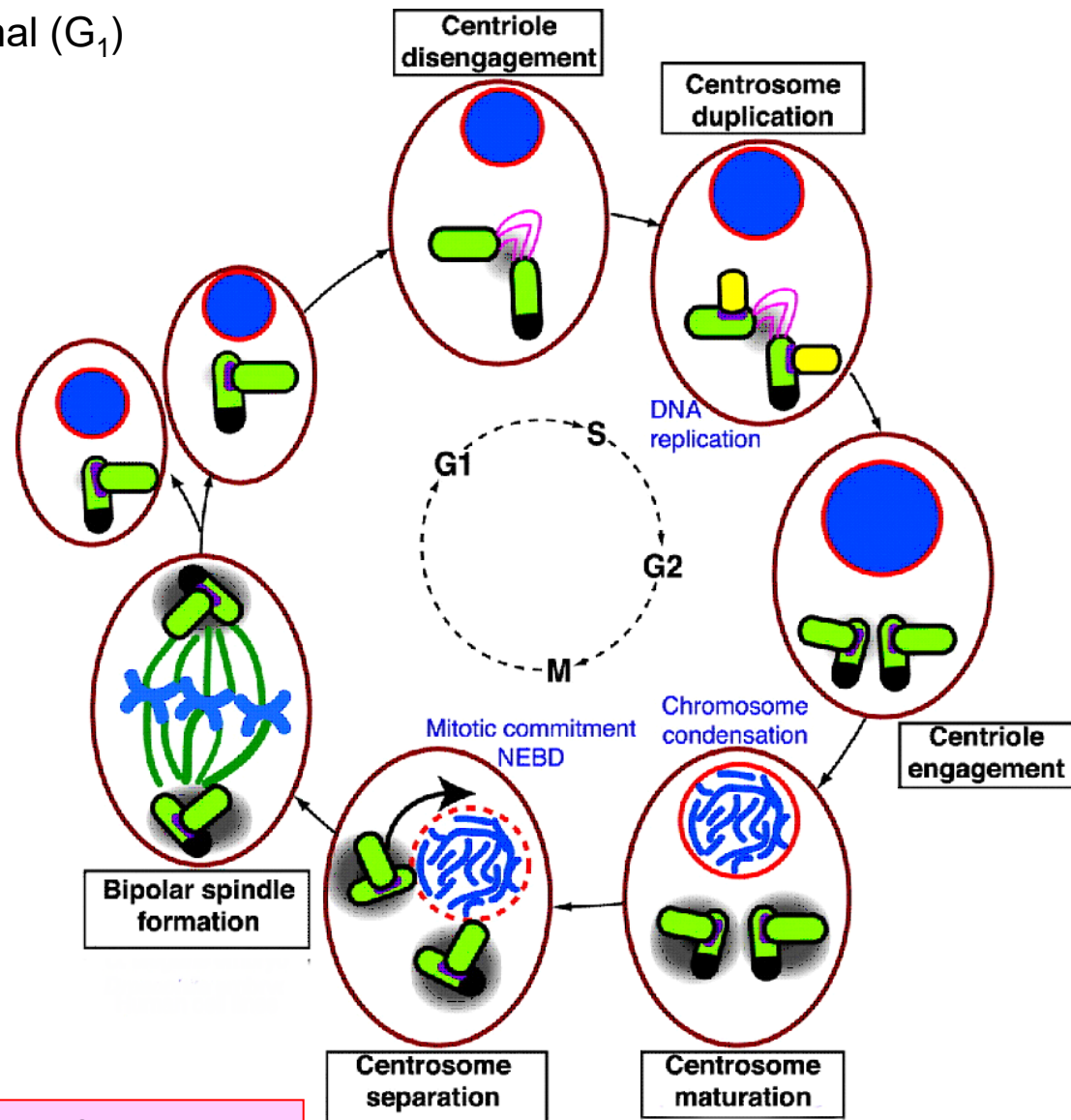
- Nukleációs hely
- MTOC – szervezi a mikrotubulus vázat
- Replikációra képes → szervezi a sejtosztódást



# A citocentrumok replikációja – a centroszómaciklus

Egy sejt központ, egy pár centriólummal ( $G_1$ )

- A két centriólum eltávolodik
- Mindegyik mellett új centriólum (procentriólum) alakul ki (S)
- Két érett citocentrum ( $G_2$  vége)
- A két citocentrum szétválik, és a sejt ellentétes oldalára vándorol (profázis)
- Kialakítják a mitotikus orsót – citaszter
- A kromoszómák szétválnak, megtörténik a citokinézis, a húzófonalak lebomlanak
- Az utódsejtekben egy-egy citocentrum újraszervezi a mikrotubulus rendszert



A kromoszóma ciklussal szinkron, de attól független.

# A sejtciklus

## Interfázis

**G<sub>1</sub>**

- növekedési fázis
- 1x diploid, laza kromatinállomány
- intenzív fehérjeszintézi – felkészülés az S fázisra
- hosszan tartó nyugalmi fázis, differenciálódás  
→ **G<sub>0</sub>**

**S**

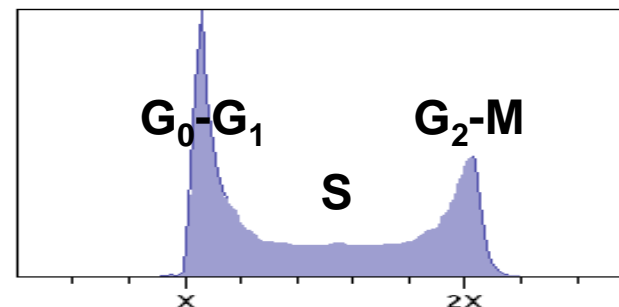
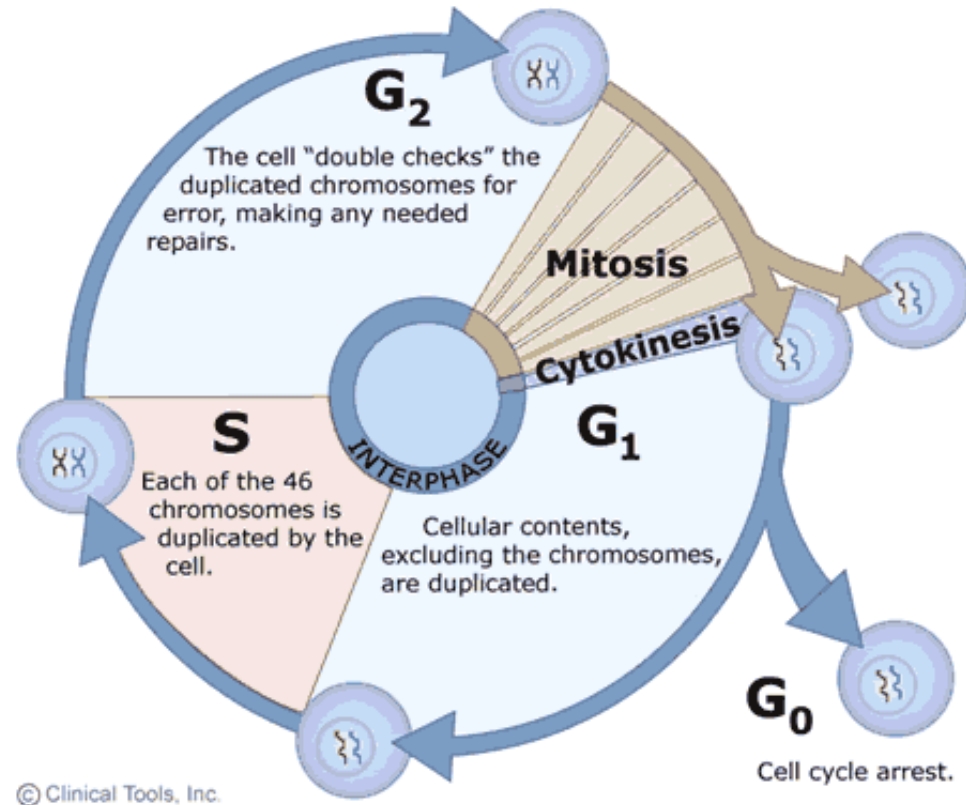
- DNS megkettőződés
- hiszton szintézis
- alacsony proteinszintézis

**G<sub>2</sub>**

- intenzív bioszintézis (mikrotubulusok) – felkészülés az M fázisra

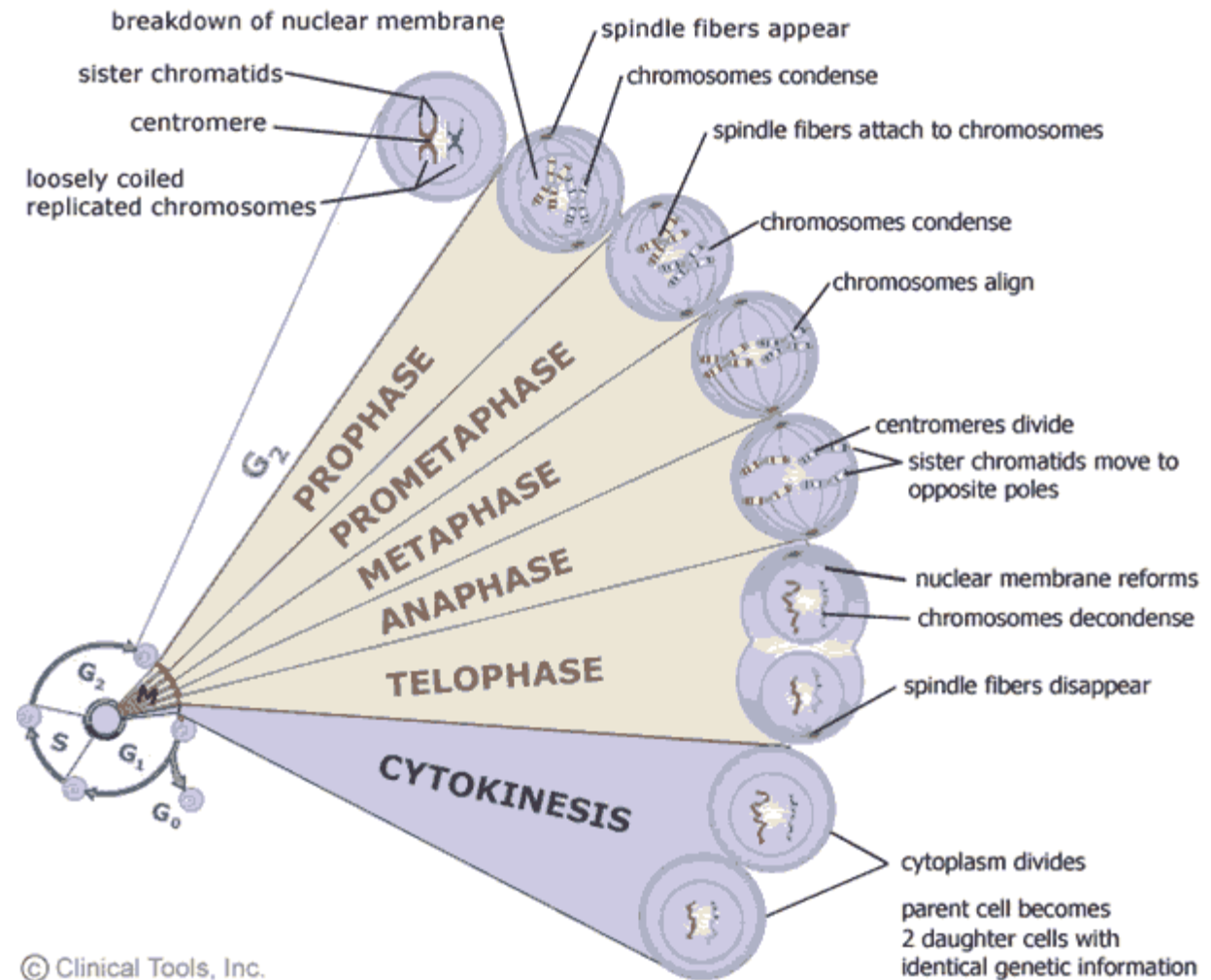
**M**

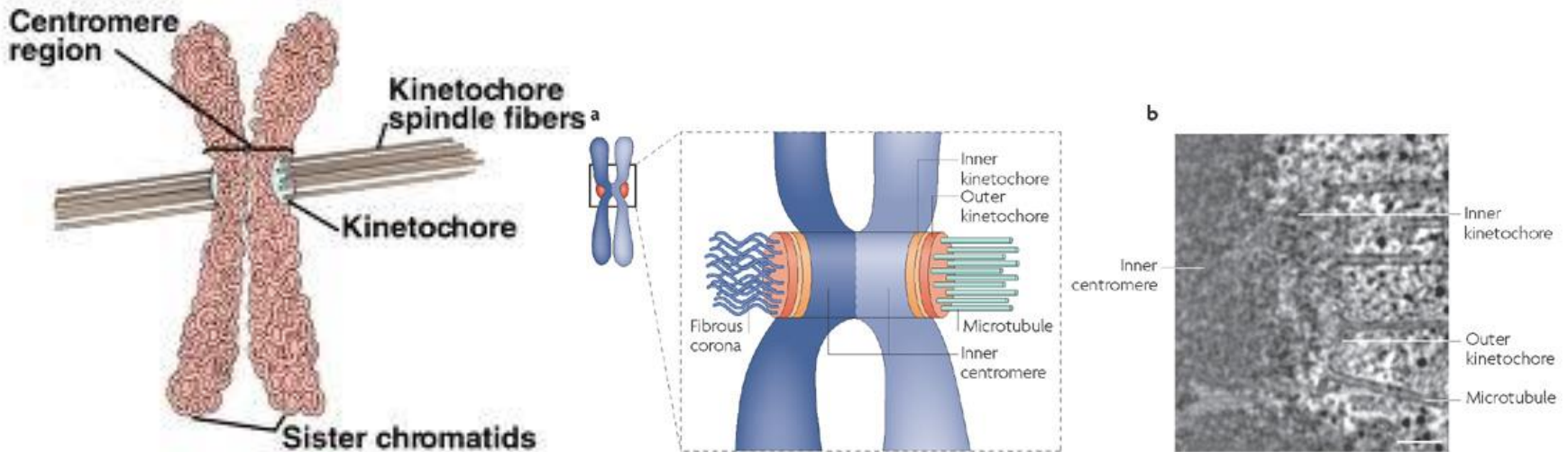
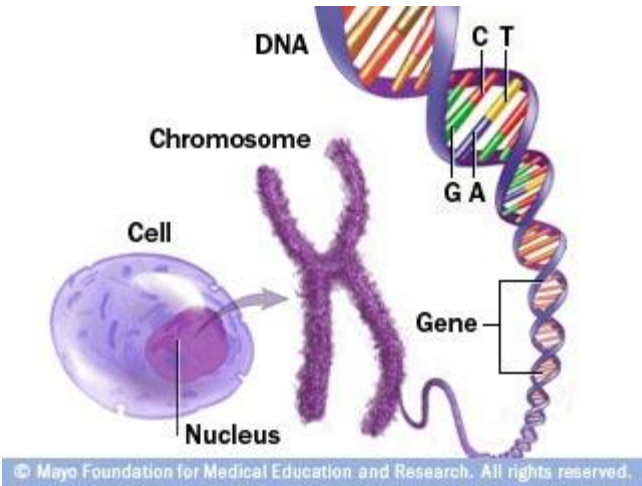
- Sejtosztódás



# A mitotikus sejtosztódás fázisai

1. Profázis
2. Prometafázis
3. Metafázis
4. Anafázis
5. Telofázis
6. Citokinézis

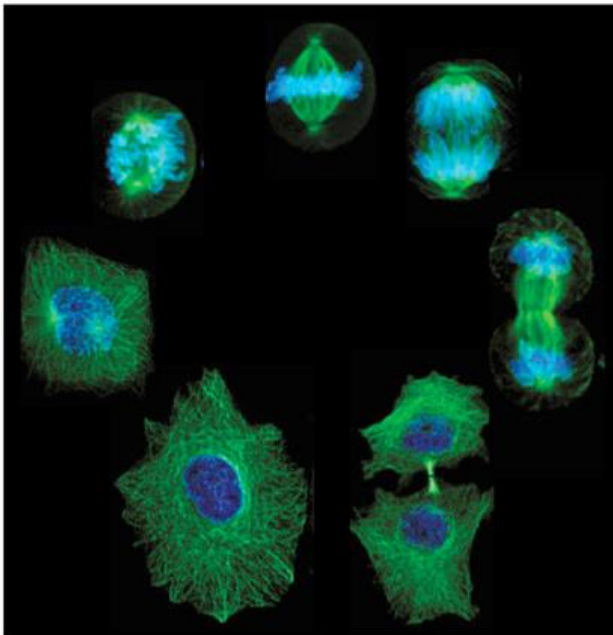
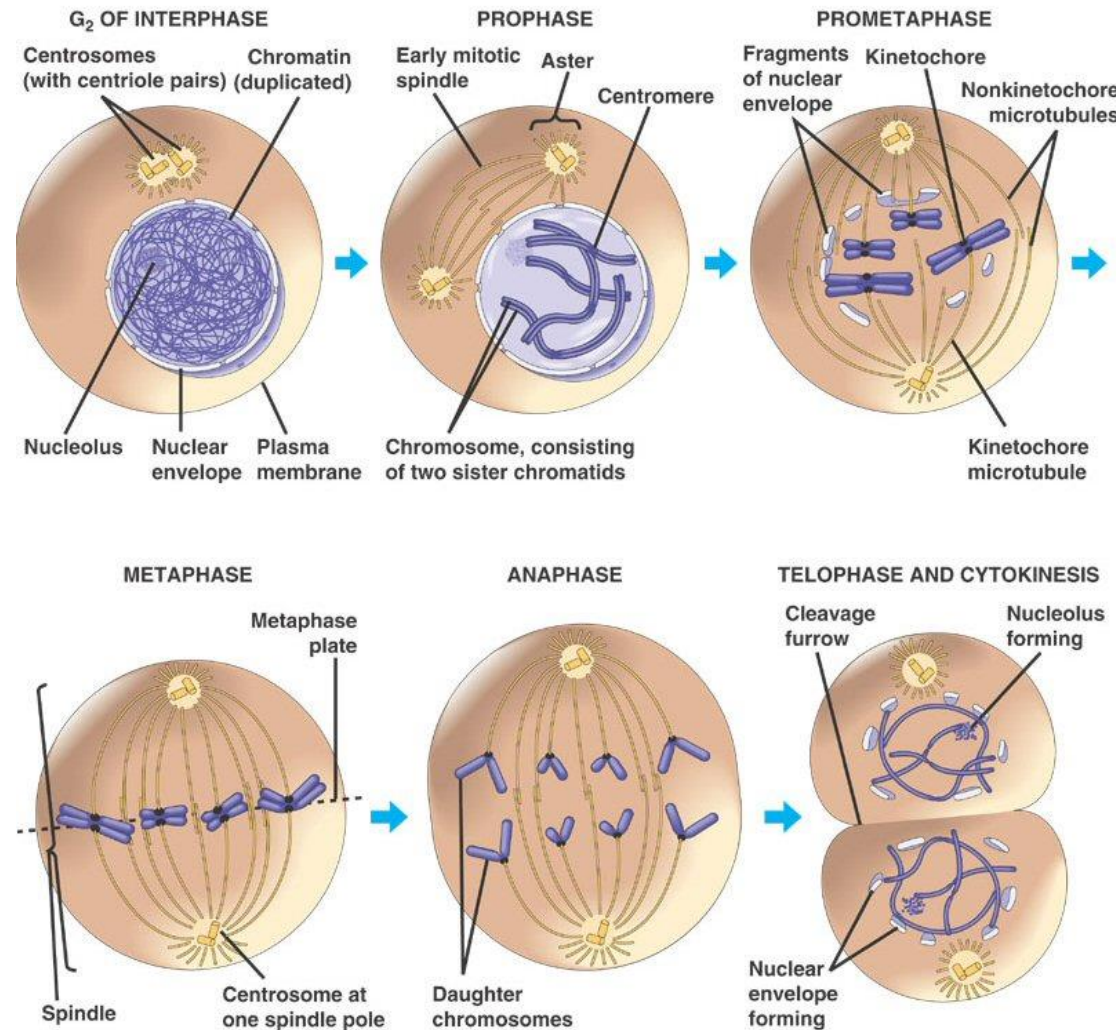




Kinezin: „összeragasztja” a testvér kromatidákat

# A mitotikus sejtosztódás fázisai

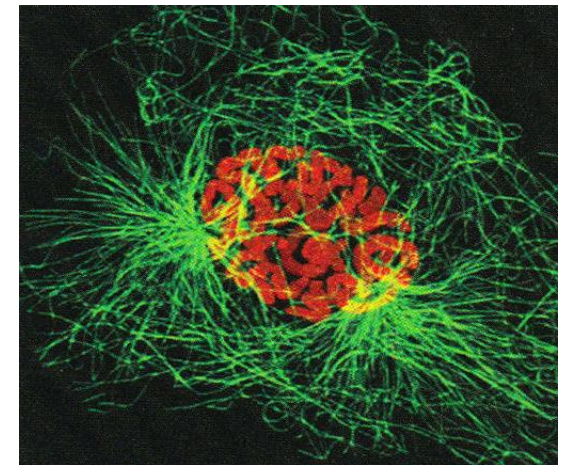
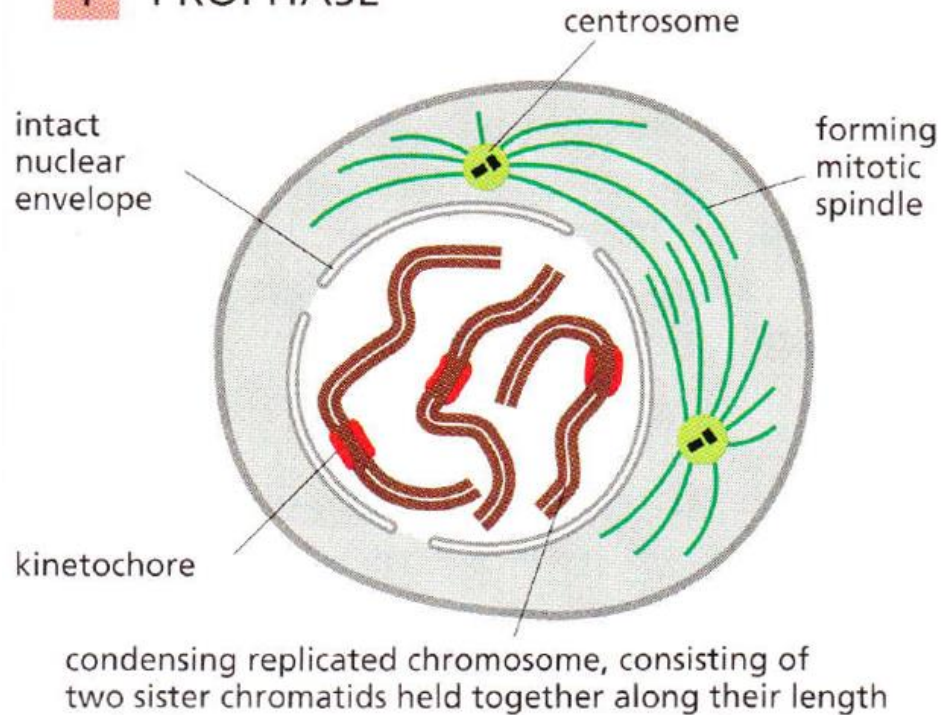
1. Profázis
2. Prometafázis
3. Metafázis
4. Anafázis
5. Telofázis
6. Citokinézis



# Profázis

- Kromatinkondenzáció → kromoszómák
- Centromerek kialakulása– a testvérkromatidák kapcsolódási pontjai
- Kinetokor komplexek kialakulása
- A Golgi-apparátus és az ER fragmentálódik  
→ vezikuláik az osztódási orsó mikrotubuluasihoz kapcsolódnak
- A citocentrumok a sejt ellentétes oldalaira vándorolnak
- Az intermedier filamentumok leépülnek

## 1 PROPHASE

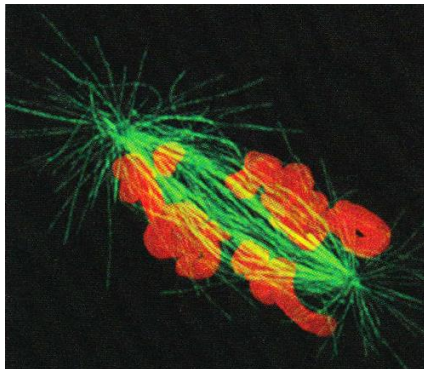


A mitokondriumok a mitózistól függetlenül szaporodnak, rajtuk jelentős változás nem látható

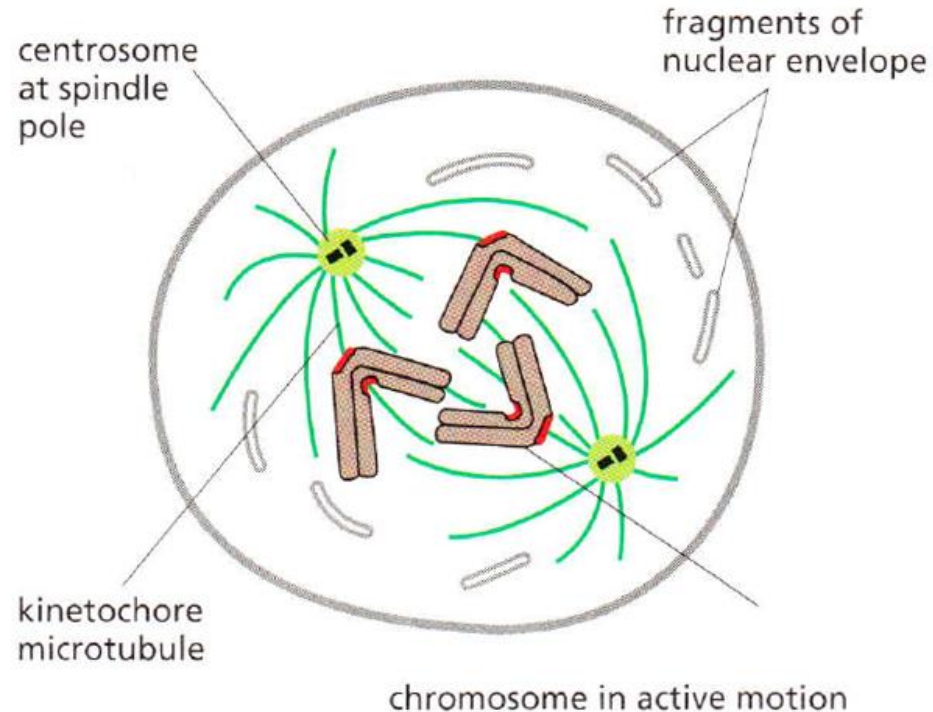


# Prometafázis

- A maghártya vezikulákra fragmentálódik
- A lamina nuclearis és a póruskomplex fehérjéi disszociálnak – laminok foszforilálódnak
- A testvérkromatidák kinetokorjaihoz kinetokor mikrotubulusok kapcsolódnak
- A kromoszómamozgásoknak köszönhetően megkezdődik a metafázikus lemez kialakulása



## 2 PROMETAPHASE



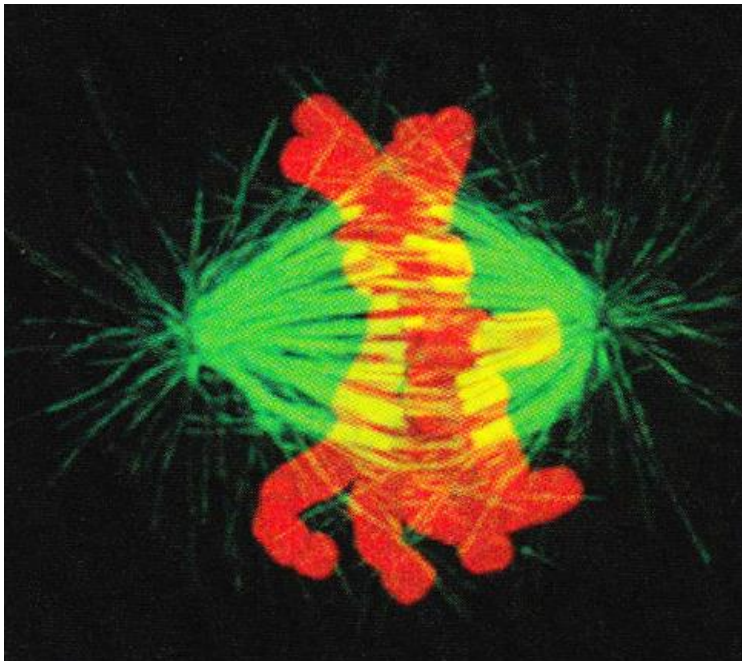
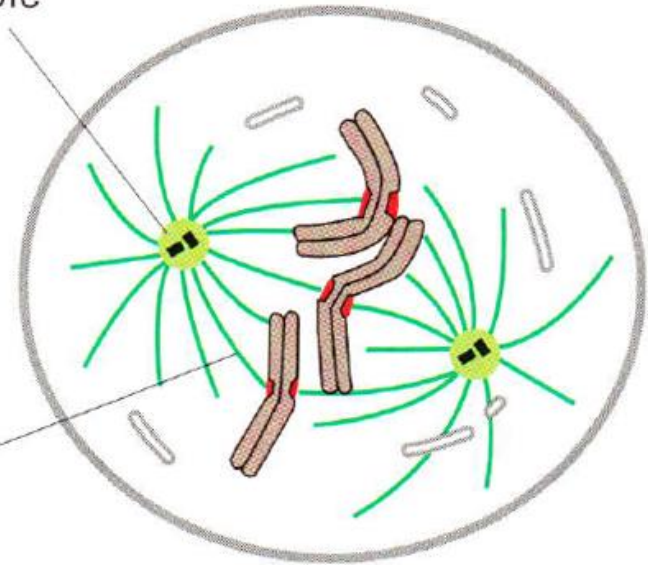
# Metafázis

- A kromoszómák az egyenlítői síkba vándorolnak
- → Metafázikus lemez
- A kromatidok szétválása még gátolt - kohezinkomplexek

## 3 METAPHASE

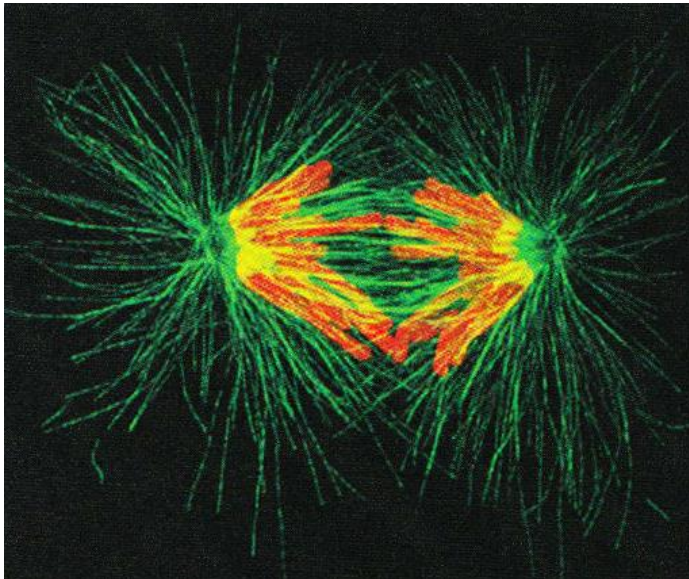
centrosome at spindle pole

kinetochore microtubule

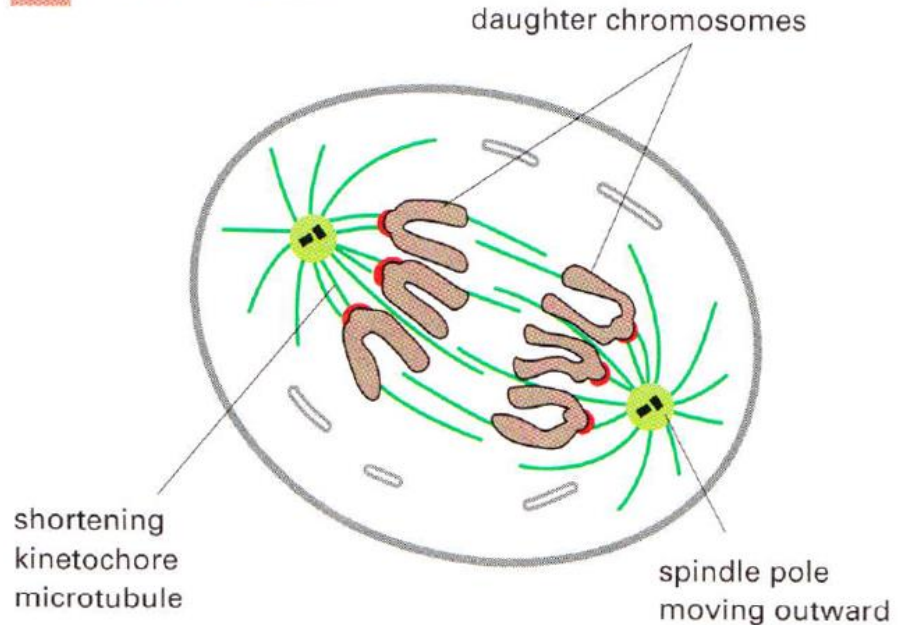


# Anafázis

- A kohezinkomplexek degradálódnak
- A kromoszómák testvérkromatidjai szétválnak
- → kinetokor mikrotubulusok az ellentétes pólus felé húzzák őket
- A pólusok ellentétes irányba mozognak (mikrotubulusok!!)



## 4 ANAPHASE

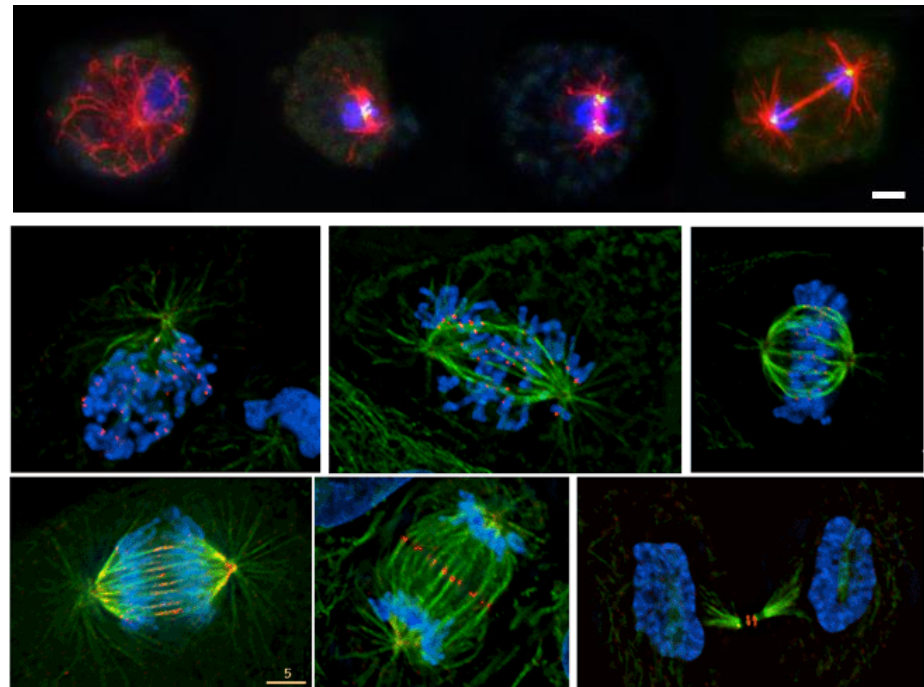
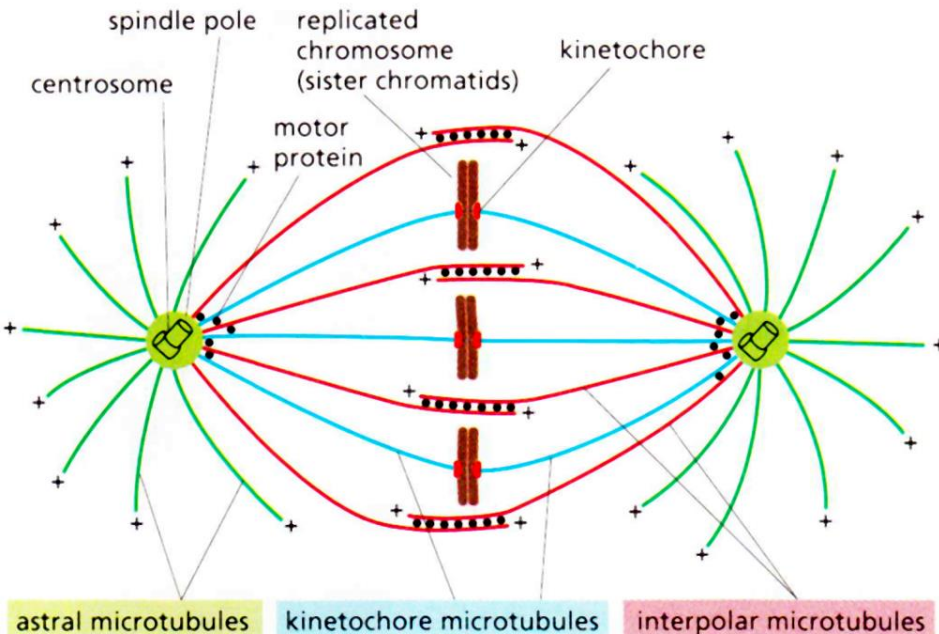
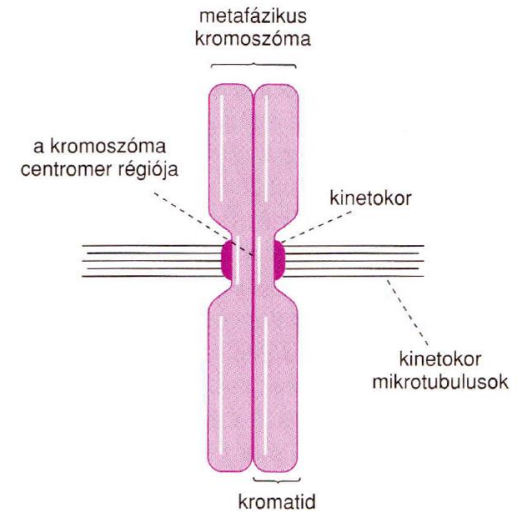


# A mikrotubulusok szerepe a sejtosztásban

A kinetokor mikrotubulusok a kromoszómák kinetokorjaihoz kötődnek

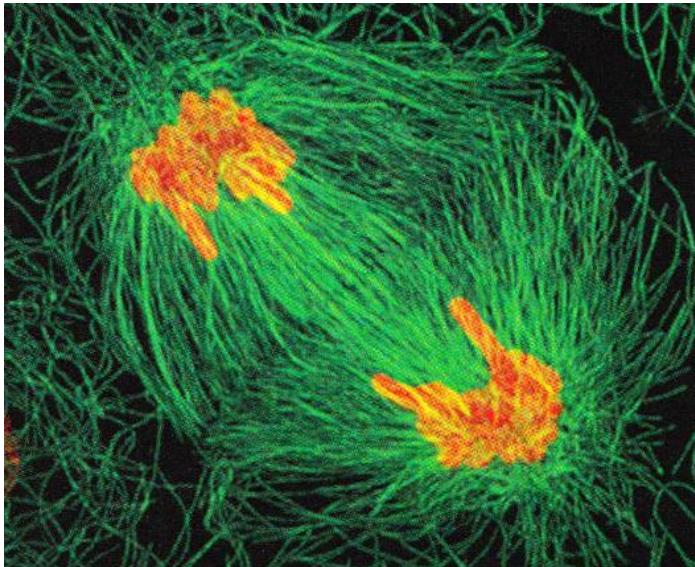
A pólusok ellentétes irányba mozognak

- poláris mikrotubulusok tolóhatása
- asztrális mikrotubulusok húzóhatása

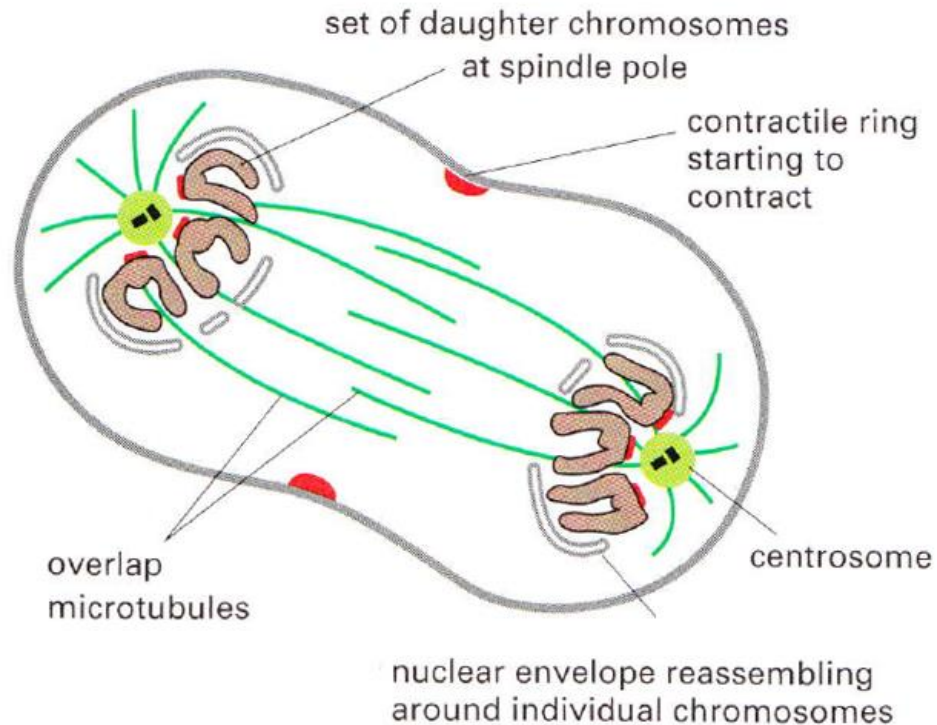


# Telofázis

- Kromatidok elérik a pólusokat
- Kinetokor mikrotubulusok eltűnnek
- Laminok defoszforilálódnak  
– a maghártya újra szerveződik
- A kromoszómák fellazulnak  
→ kromatinállomány  
- H1 hiszton defoszforiláció
- Újraalakul a magvacska

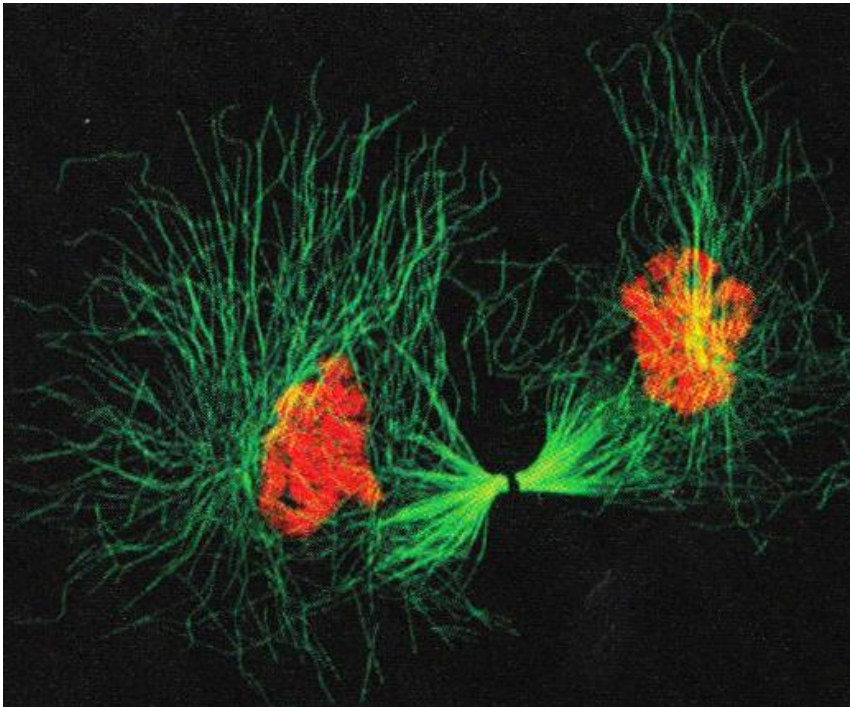


## 5 TELOPHASE

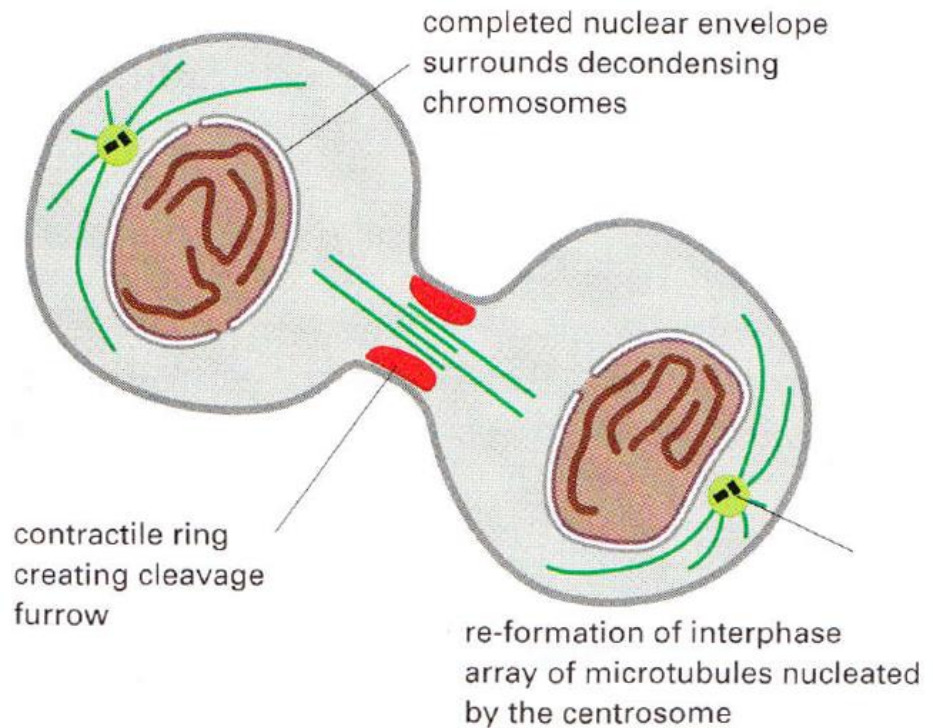


# Citokinézis

- Kontraktilis aktomiozin gyűrű alakul ki
  - miozin könnyű lánc defoszforilálódik
  - mikrofilamentumok
  - Rho család GTPázai
  - aktin filamentumok nukleációja



## 6 CYTOKINESIS



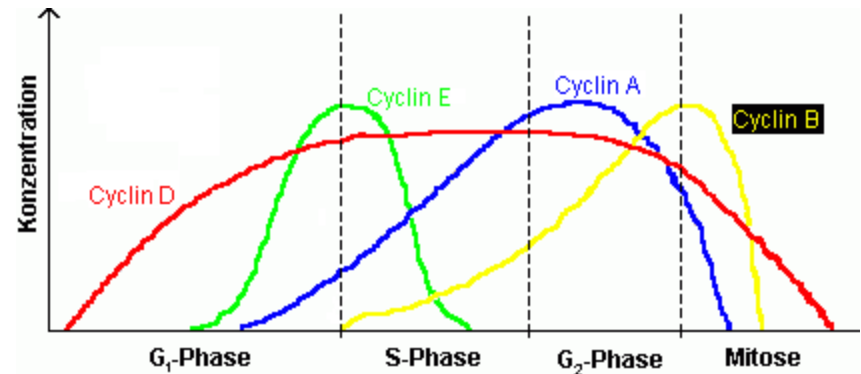
# A sejtciklus szabályozása

## Ciklinek:

- a sejtciklussal szinkron termelődő fehérjék
- oszcilláló szintézis és degradáció

## Ciklindependens kinázok (CDK)

- állandóan jelen vannak
- aktivitásuk ciklinfüggő



Fázis	Cyclin	CDK
G1	D, E	CDK4, CDK2, CDK6
S	A, E	CDK2
G2	A	CDK2, CDK1
M	B	CDK1

# A sejtciklus szabályozása – ellenőrző pontok

## Restrikciós pont

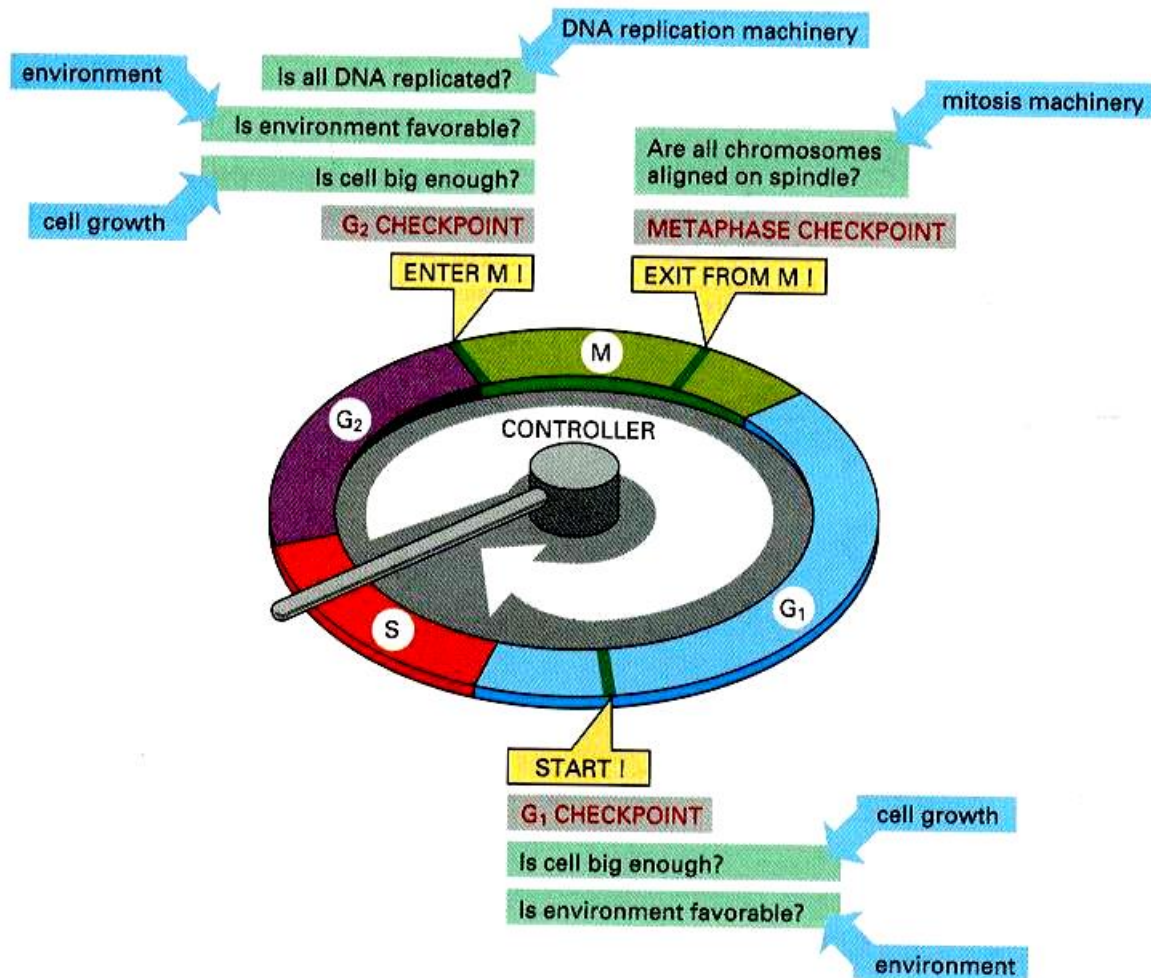
- sejtciklusba való belépés melletti elköteleződés
- $G_1$ -S ellenőrzőpont
- $G_0$ -ból proliferációs szignálok hatására

## $G_2$ ellenőrzőpont

- DNS megkettőződés ellenőrzése

## Metafázis ellenőrzőpont

- A kromoszómák egyenlítői síkba rendezése





# A sejtciklust befolyásoló szignálok

## Stressz szignálok → p53

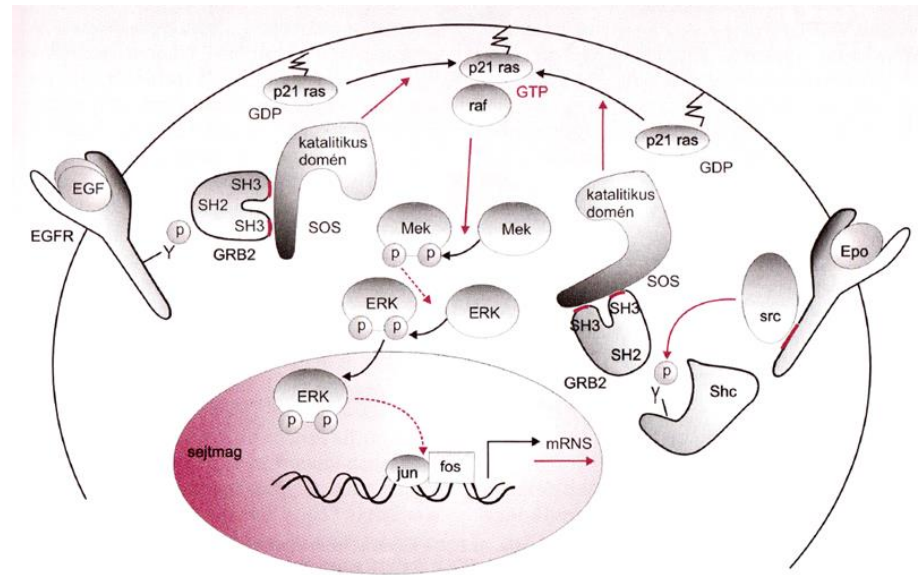
- tumorszupresszor fehérje
- transzkripciós faktor
- leállíthatja a sejtciklust
- proapoptotikus

## Mitogén szignálok

- Receptortirozin kinázok és tirozinkináz kapcsolt receptorok
- G fehérjéhez kapcsolt receptorok
- Monomer GTP-kötő fehérjék
- MAP-kináz kaszkád stb.

→ c-jun, c- fos, c-myc, stb.

⇒ **Ciklin-D**↑



# A restrikciós pont

## Ciklin-D → CDK4/6

- retinoblasztoma fehérjét foszforilálja

## Retinoblasztoma fehérje

- tumorszupresszor fehérje
- E2F transzkripciós faktorokat gátolja
- ciklin-D hatására CDK4/6 foszforilálja
- foszforiláció hatására disszociál

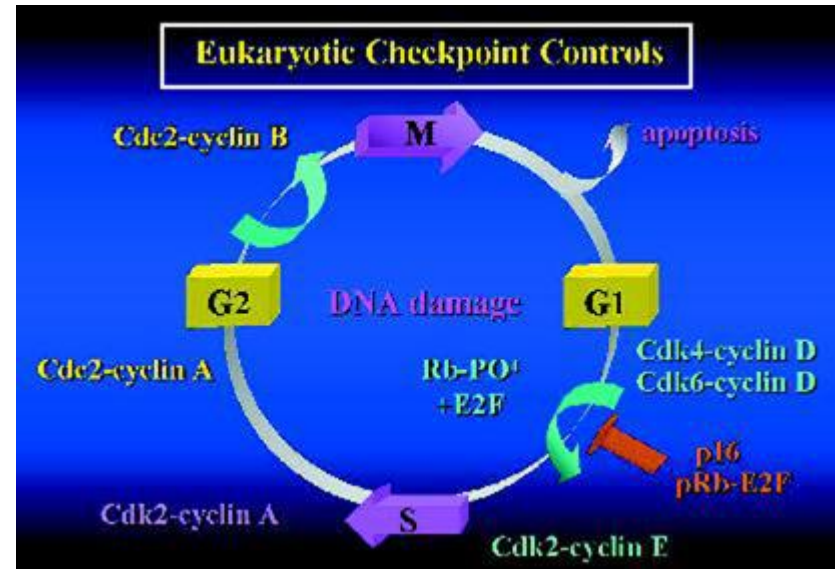
## E2F

- transzkripciós faktor
- G<sub>1</sub>/S fázisba történő átmentet indukálja
- ciklin-E és ciklin-A transzkripcióját indukálja

## Ciklin-E → CDK2

- retinoblasztoma fehérjét tovább foszforilálja

⇒ Ciklin-E↑ ⇒ **Belépés a sejtciklusba**



# Ha elvész a kontroll: protoonkogének és onkogének

**Protoonkogének:** a fiziológias növekedést stimuláló fehérjéket kódoló gének, melyek hibás túlműködésük esetén onkogénekké válhatnak

**Onkogén hatást** fejthet ki:

- Növekedési faktorok túltermelődése
- Növekedési szignált közvetítő receptorok hibás túlműködése
- Növekedési szignált továbbító fehérjék kóros aktivitása
- A növekedési jeleket a sejtmagban fogadó fehérjék, transzkripciós faktorok, regulátorok elváltozásai
- A sejtciklus ellenőrző pontjainak deregulációja a ciklin-CDK komplexek elváltozásai miatt

Tumoros elváltozásokat okozhatnak a **tumorszupresszor gének** funkcióvesztéssel/csökkenéssel járó mutációi is.

***KÖSZÖNÖM A FIGYELMET!***