

CYTOSKELET

Cytoskelet

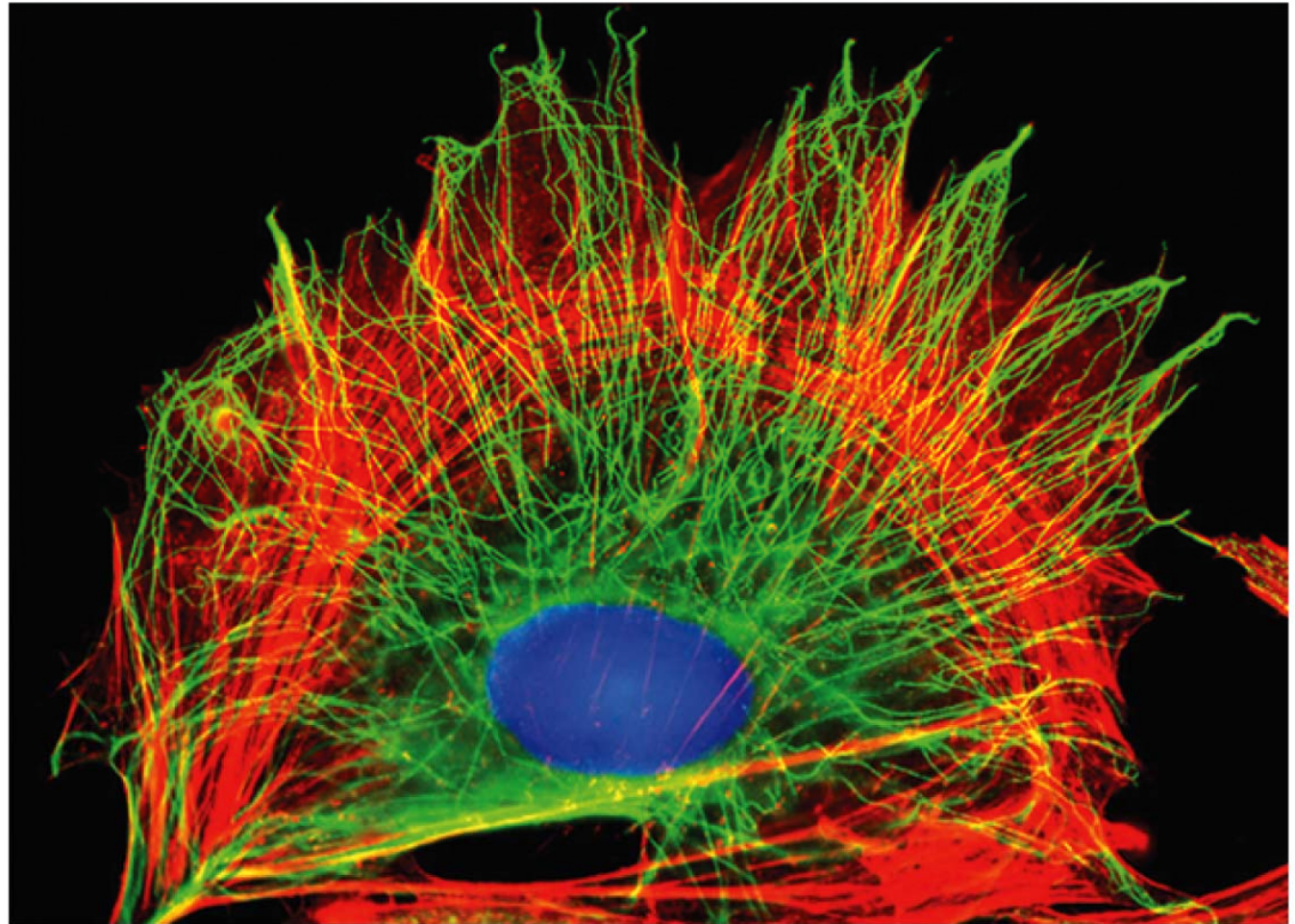
doc. Mgr. Vítězslav Bryja, Ph.D.

- 7A) CYTOSKELET A JEHO FUNKCE (specifické typy proteinů a dalších makromolekul významných pro cytoskelet - jejich struktura a funkce; vybrané fyziologické procesy závislé na správné cytoskeletární funkci))
- 7B) POHYB BUNĚK A PŘÍSPĚNÍ BUNĚK K POHYBU ORGANISMU (mechanismy komunikace mezi ECM a buňkami; pohyb buněk vs. motilita a invazivita)
- 8) ZÁKLADNÍ PRINCIPY SIGNÁLNÍ TRANSDUKCE (přehled základních typů membránových receptorů; mechanismy řídicí jejich tvorbu, lokalizaci a degradaci; signální dráhy významné pro regulaci embryonálního vývoje živočišného organismu; signální dráhy regulující buněčnou diferenciaci)
- 9) VÝZNAMNÉ SIGNÁLNÍ DRAHY (dokončení)+ BUNĚČNÁ BIOLOGIE V ČÍSLECH – hledání souvislostí

Nejpočetnější proteiny v buňce?

- Reálná data
- Proteiny jako molekulární stroje, DNA jako návod na jejich výrobu a malé metabolity jako palivo

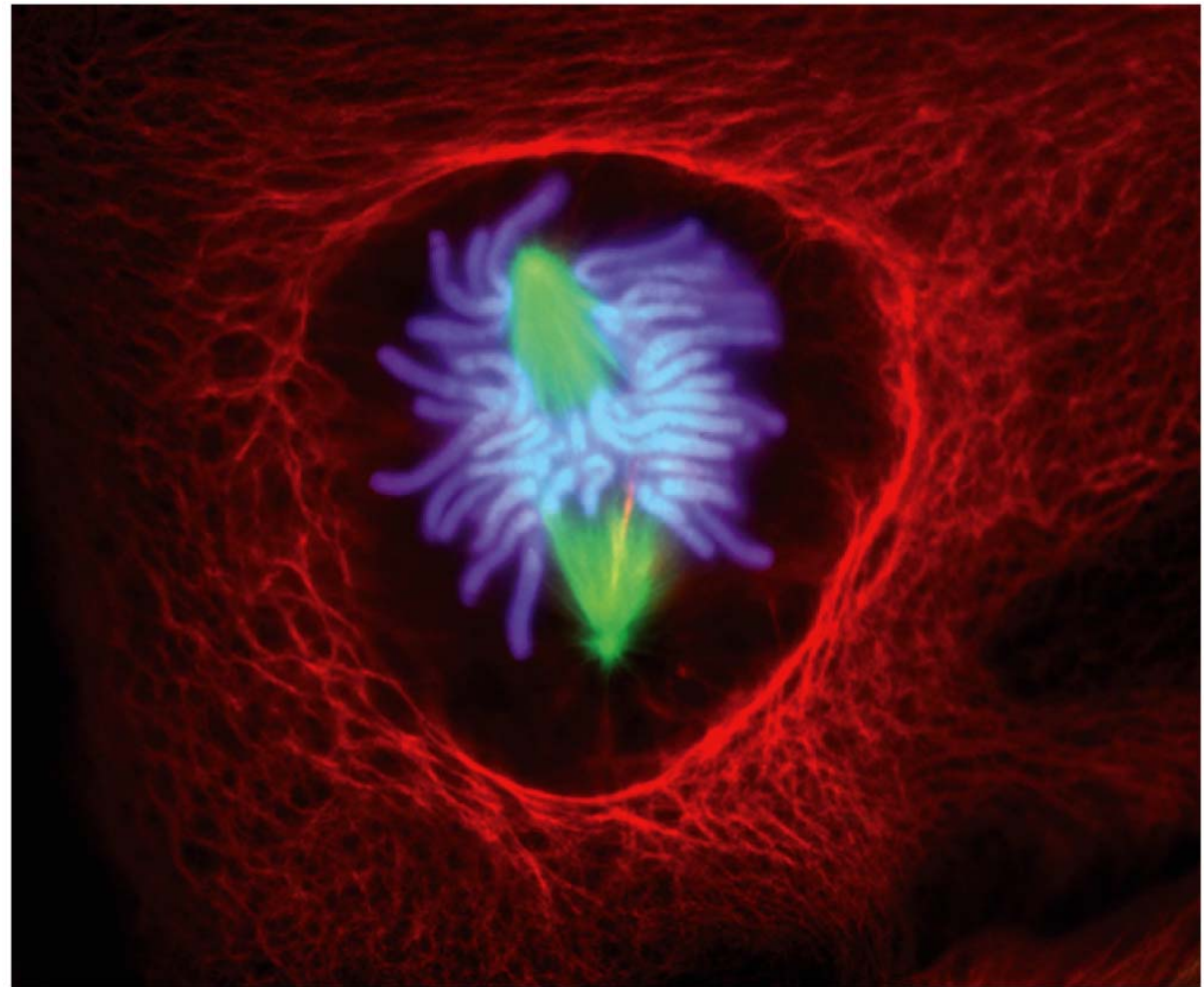
CYTOSKELETT



10 μm

Figure 16-1a Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

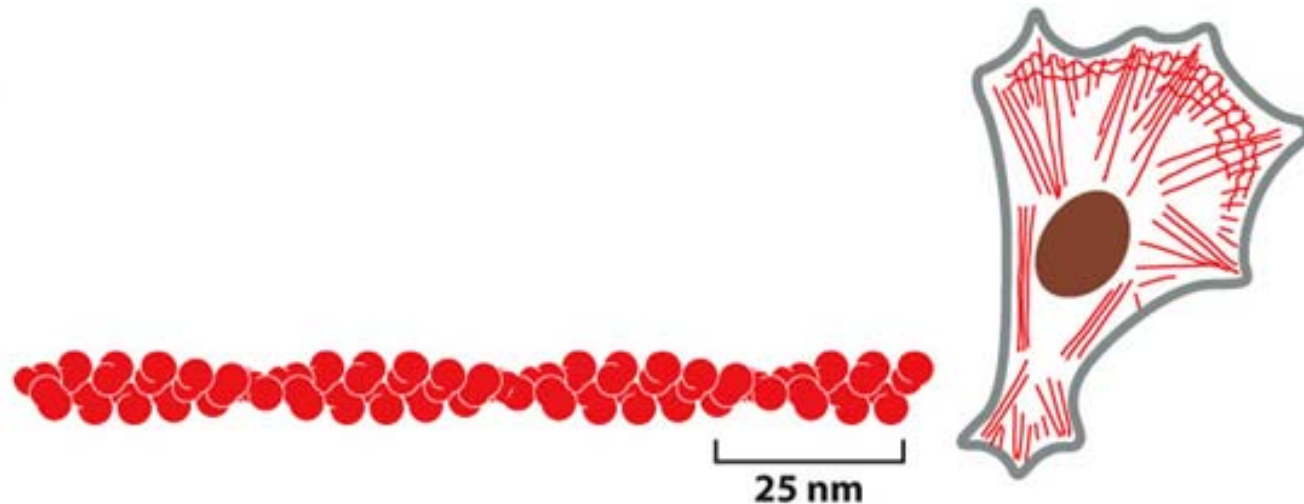
CYTOSKELEET



20 μm

Figure 16-1b Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

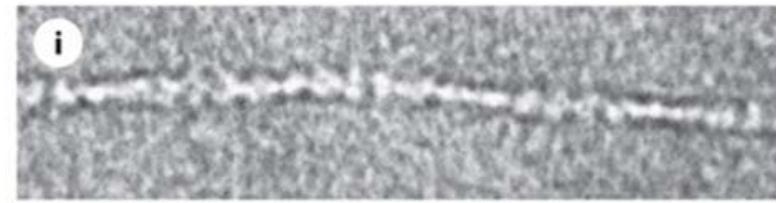
Aktinová filamenta = mikrofilamenta



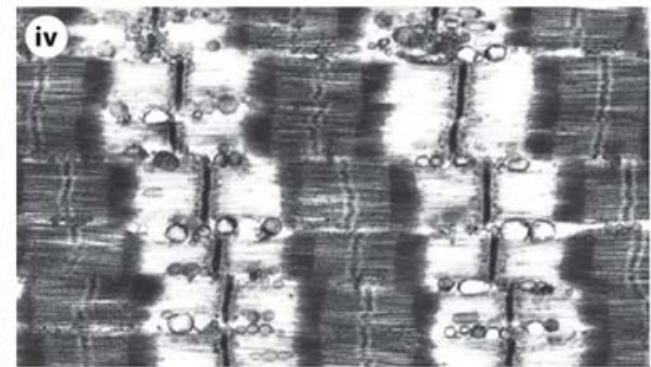
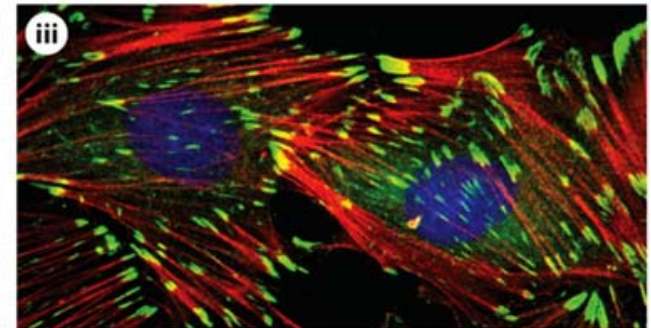
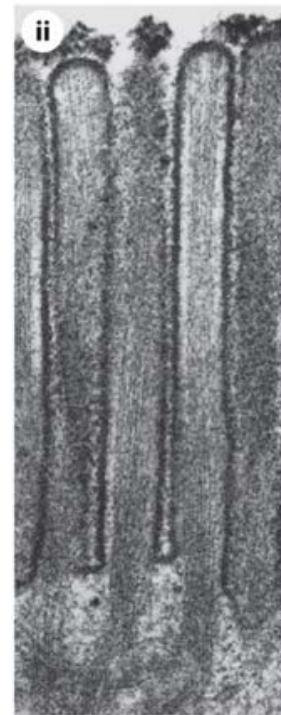
- zvaná také mikrofilamenta
- spirálovitá vlákna/polymery tvořené proteinem aktinem
- tvoří flexibilní struktury o průměru 8 nm, které mohou být organizovány do lineárních svazků, dvou- či trojrozměrných sítí
- jsou rozprostřena po celé buňce, ale koncentrována jsou především přímo pod cytoplasmatickou membránou

Aktinová filamenta = mikrofilamenta

- i) jednoduché aktinové filamentum
- ii) microvilli
- iii) stresová vlákna (červeně) končící ve fokálních adhezích (zeleně)
- iv) příčně pruhovaný sval

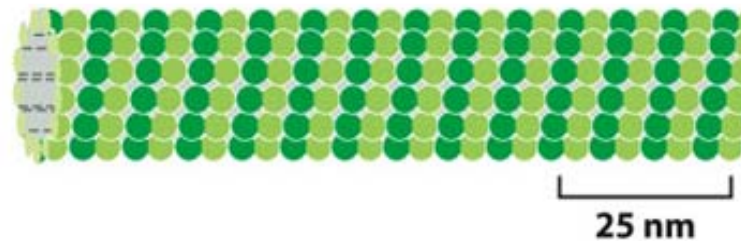


100 nm



Micrographs courtesy of R. Craig (i and iv); P.T. Matsudaira and D.R. Burgess (ii); K. Burridge (iii).

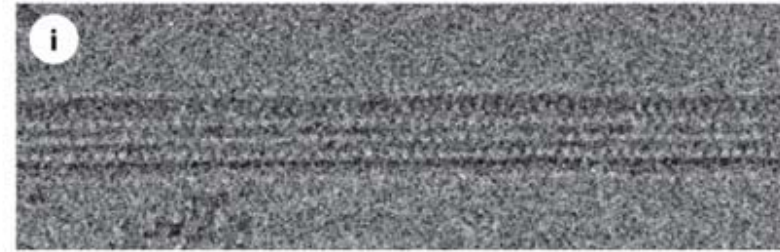
Mikrotubuly



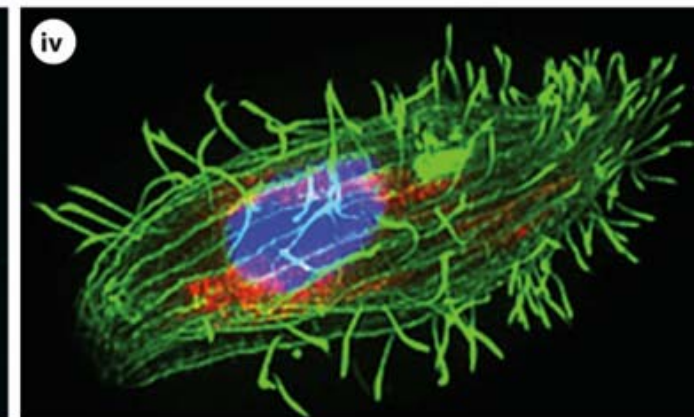
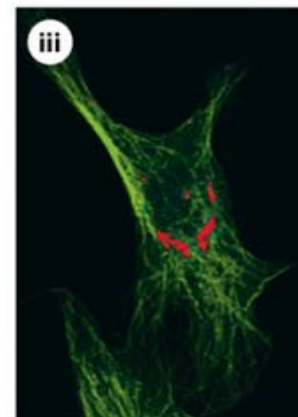
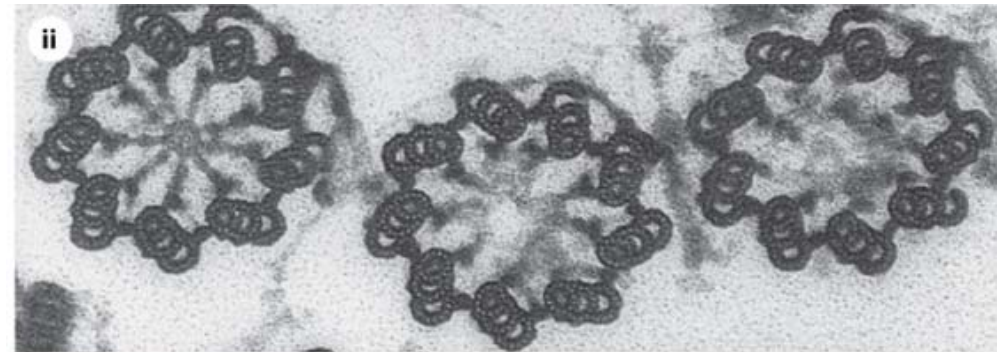
- dlouhé duté válce tvořené proteinem tubulinem (vnější průměr 25 nm)
- tužší oproti aktinovým filamentům
- dlouhá rovná vlákna, často jedním koncem uchycená v mikrotubuly-organizujícím centru (MTOC) zvaném centrozom

Mikrotubuly

- i) jednoduché vlákno mikrotubulu
- ii) průřez na bázi 3 cilií zobrazující triplety mikrotubulů
- iii) mikrotubuly (zeleně) a organely (červeně) v interfázi
- iv) prvok s ciliemi

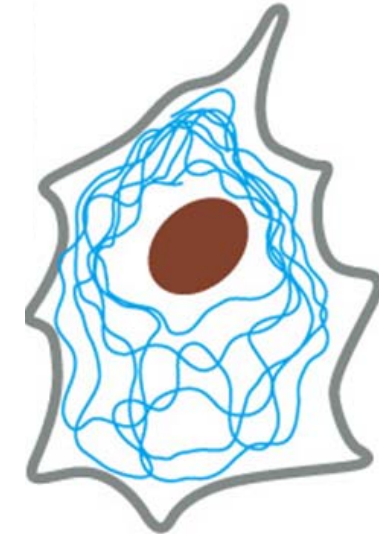
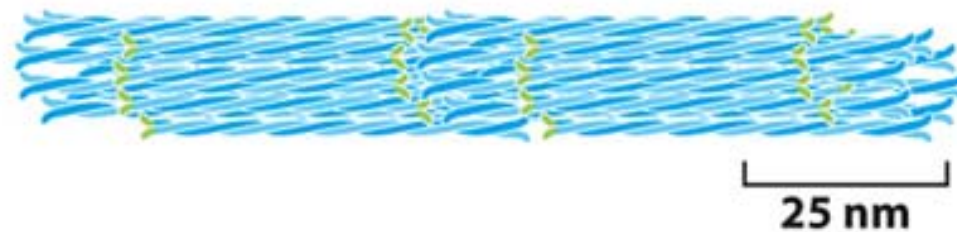


100 nm



Micrographs courtesy of R. Wade (i); D.T. Woodrow and R.W. Linck (ii); D. Shima (iii); D. Burnette (iv).

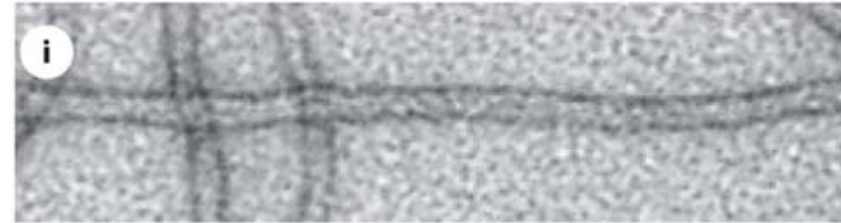
Intermediární filamenta



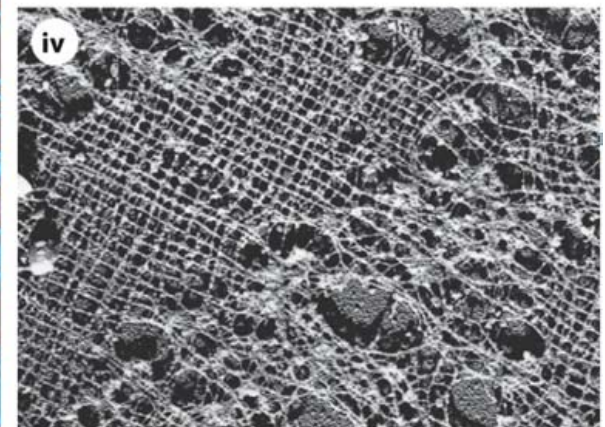
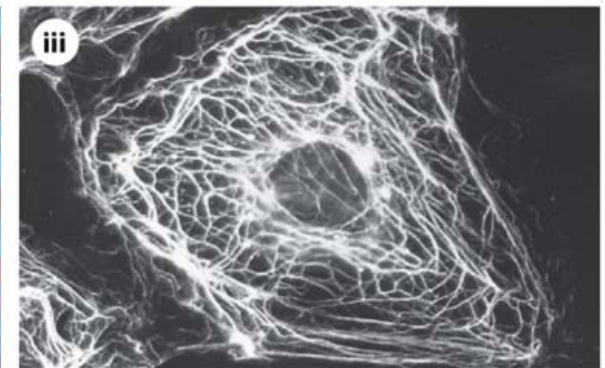
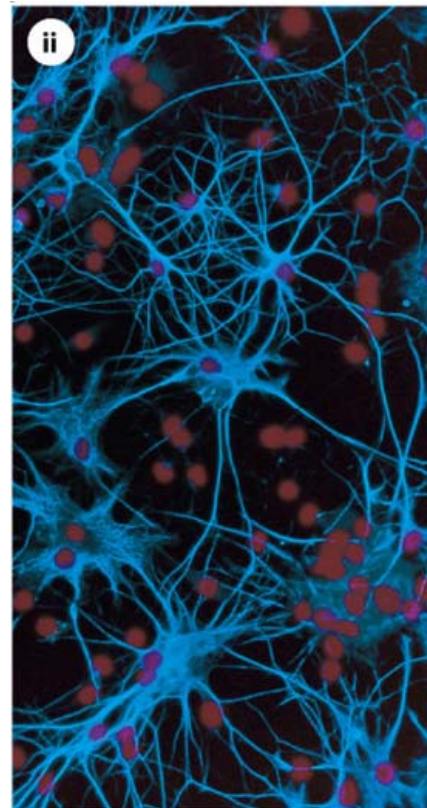
- vlákna strukturou připomínající lano s průměrem 10 nm
- tvořena heterogenní rodinou proteinů
- jeden typ intermediárních filament (IF) tvoří jadernou laminu pod jadernou membránou
- další typy IF jsou rozptřeny napříč cytoplasmou a zajišťují mechanickou odolnost buňky
- v epiteliálních tkáních IF zajišťují spojení buněk mezi sebou

Intermediární filamenta

- i) jednotlivá intermediární filamenta
- ii) IF (modře) v neuronech
- iii) epiteliální buňka
- iv) jaderná lamina



100 nm



Micrographs courtesy of R. Quinlan (i); N. L. Kedersha (ii); M. Osborn (iii); U. Aebi (iv).

Aktinová filamenta = mikrofilamenta

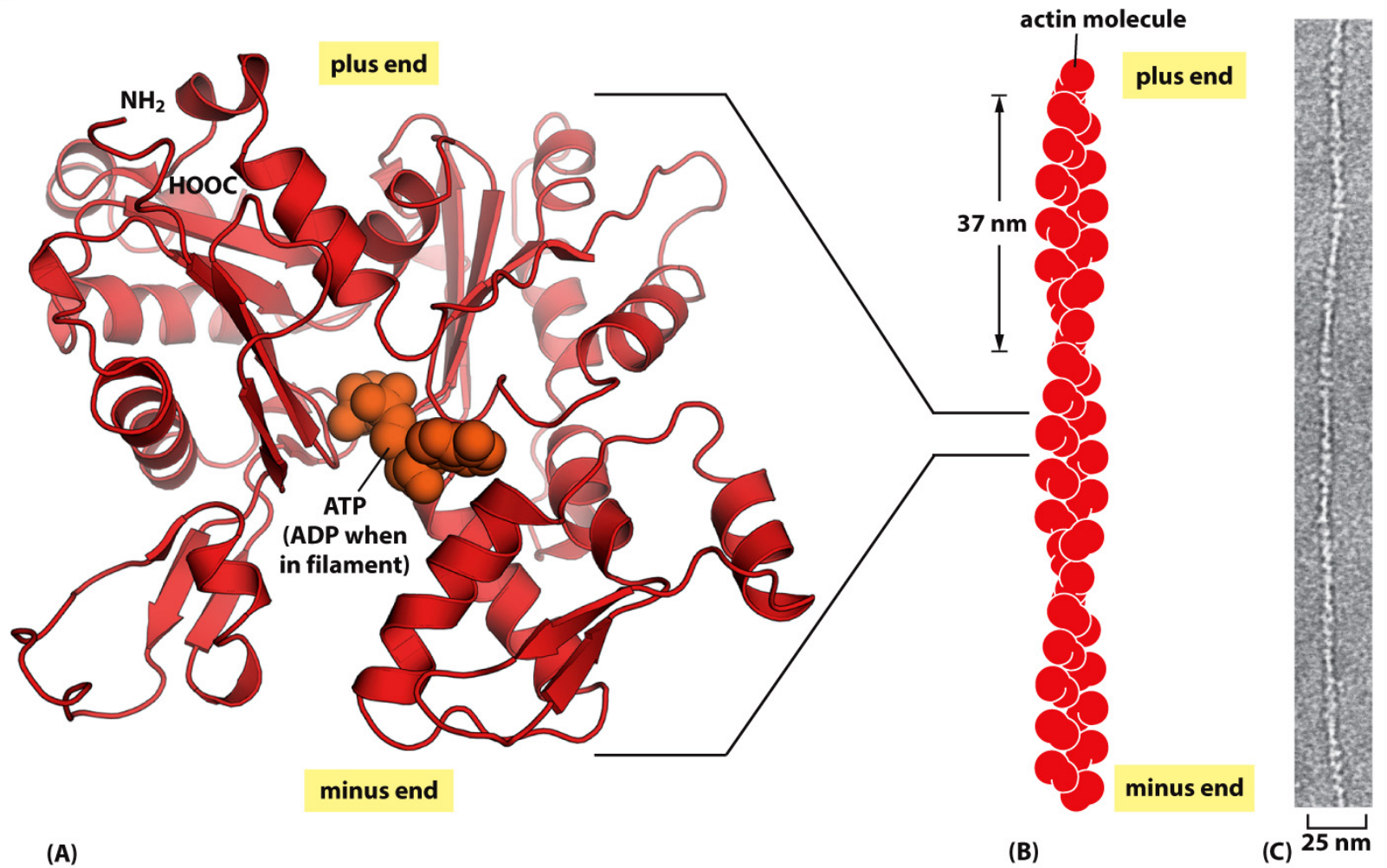


Figure 16-11 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Aktinová filamenta = mikrofilamenta

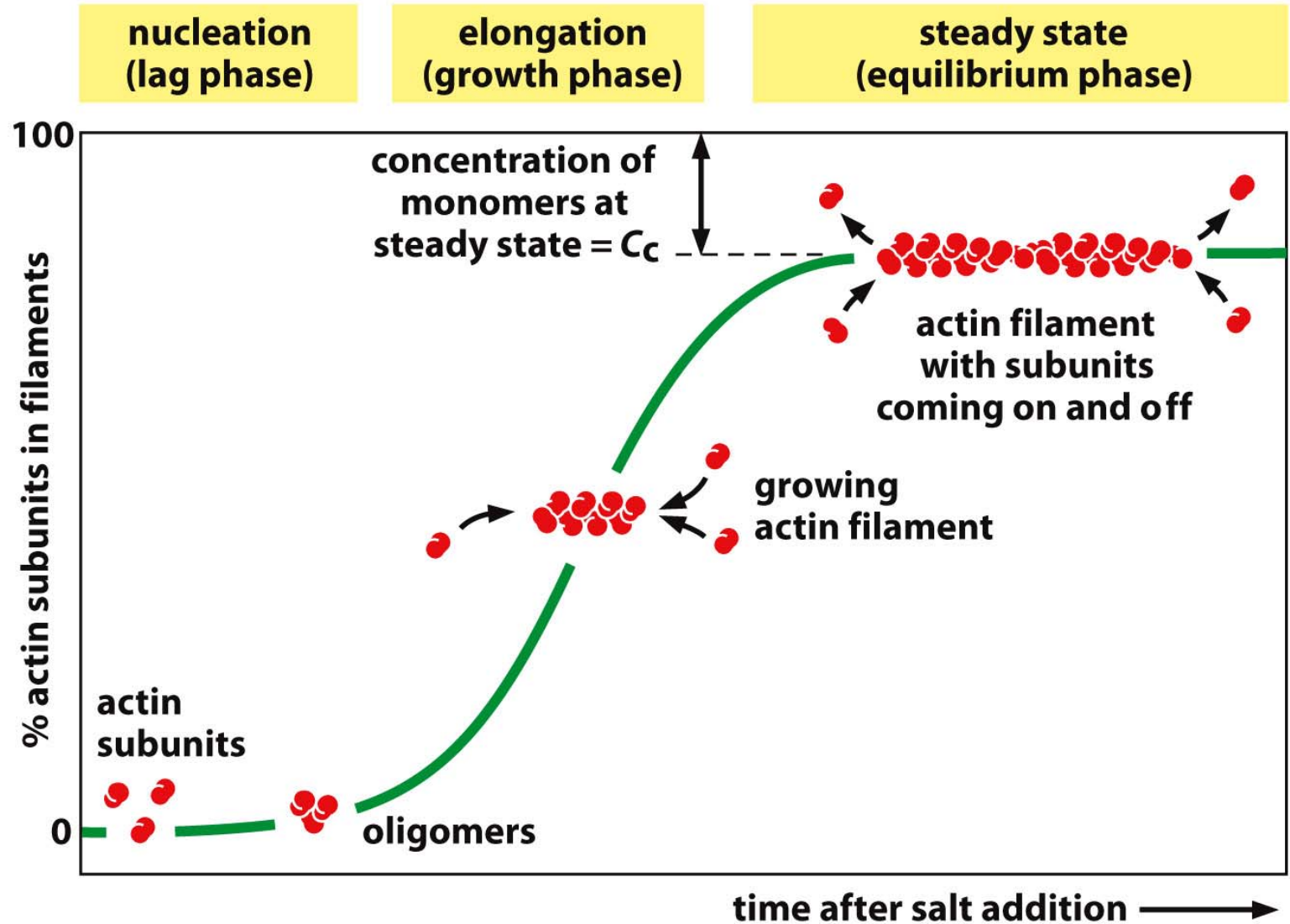
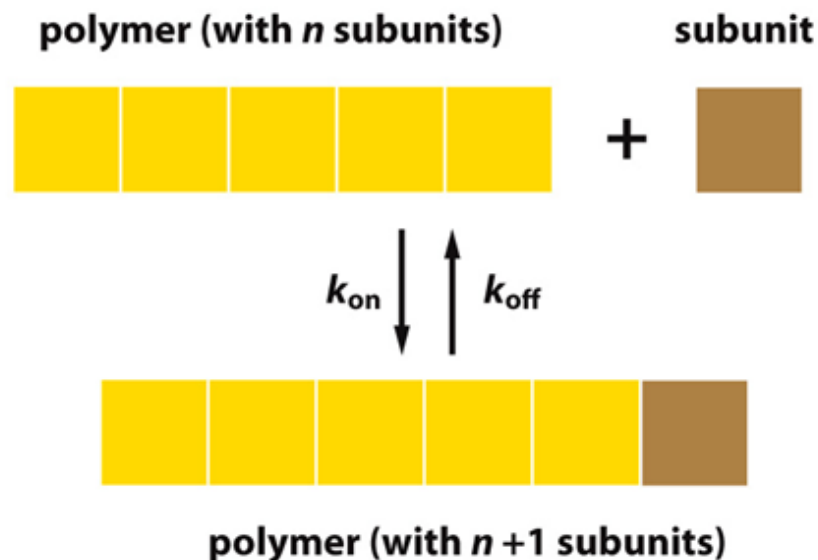


Figure 16-13a Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

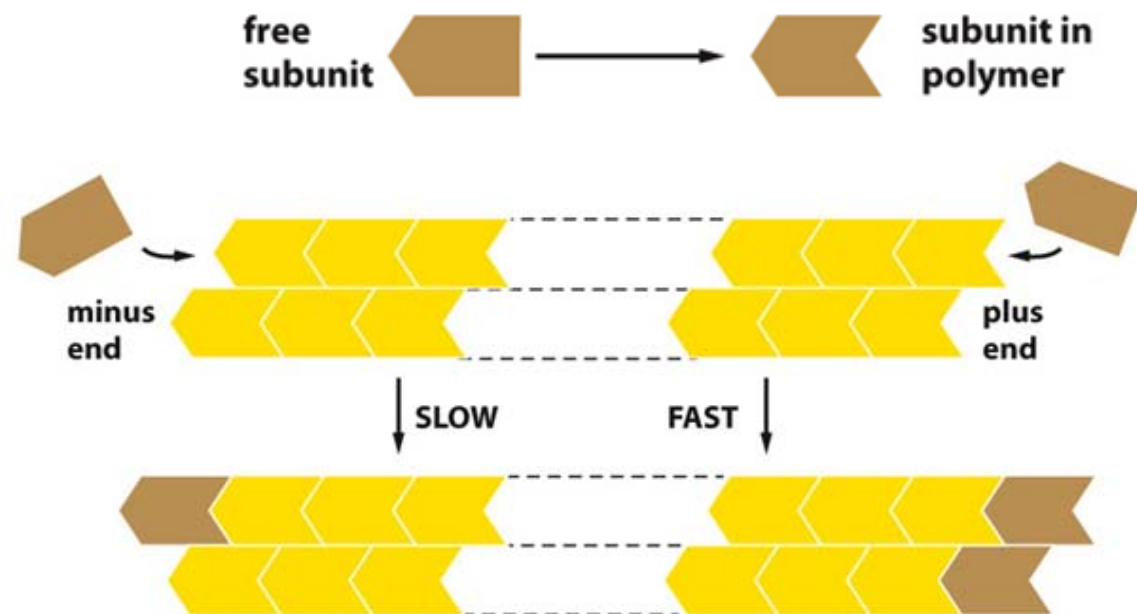
Polymerizace a depolymerizace

- ▶ lineární polymery proteinových molekul, kterými jsou mikrofilamenta nebo mikrotubuly tvořeny, vznikají připojováním podjednotek (monomerů) ke koncům polymeru
- ▶ míra připojování/polymerizace těchto podjednotek je dána konstantou k_{on} (jednotka $M^{-1}s^{-1}$), míra depolymerizace je dána konstantou k_{off} (jednotka s^{-1})



Polymerizace a depolymerizace

- ▶ dva konce mikrofilament anebo mikrotubulů polymerizují různou rychlostí
- ▶ rychle rostoucí konec se nazývá „**plus konec**“, pomaleji rostoucí konec označujeme jako „**minus konec**“
- ▶ rozdíl v rychlosti polymerizace je dán rozdílnou potřebou změny konformace podjednotky v momentu připojení k polymeru



Polymerize a depolymerize

PLUS AND MINUS ENDS

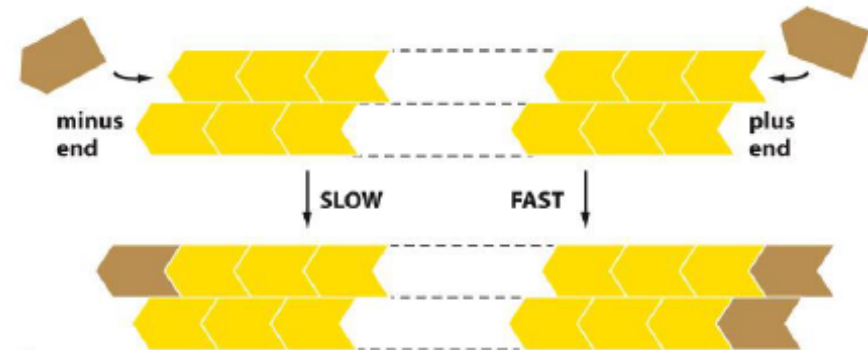
The two ends of an actin filament or microtubule polymerize at different rates. The fast-growing end is called the **plus end**, whereas the slow-growing end is called the **minus end**. The difference in the rates of growth at the two ends is made possible by changes in the conformation of each subunit as it enters the polymer.



This conformational change affects the rates at which subunits add to the two ends.

Even though k_{on} and k_{off} will have different values for the plus and minus ends of the polymer, their ratio k_{off}/k_{on} —and hence C_c —must be the same at both ends for a simple polymerization reaction (no ATP or GTP hydrolysis). This is because exactly the same subunit interactions are broken when a subunit is lost at either end, and the final state of the subunit after dissociation is identical. Therefore, the ΔG for subunit loss,

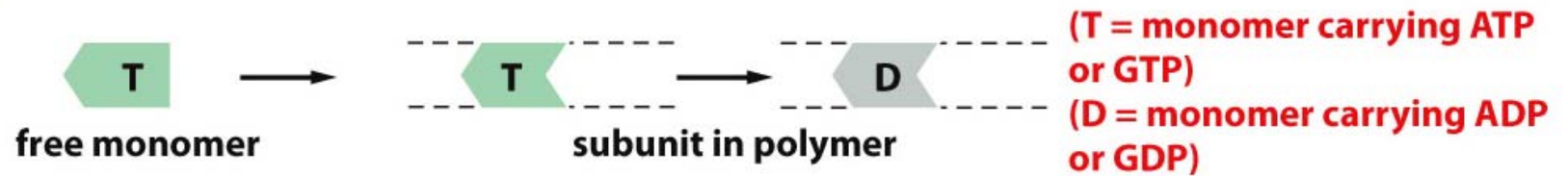
Panel 16-2 (part 5) Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)



which determines the equilibrium constant for its association with the end, is identical at both ends: if the plus end grows four times faster than the minus end, it must also shrink four times faster. Thus, for $C > C_c$, both ends grow; for $C < C_c$, both ends shrink.

The nucleoside triphosphate hydrolysis that accompanies actin and tubulin polymerization removes this constraint.

Hydrolýza nukleotidů



- každá molekula aktinu nese pevně navázanou molekulu ATP, která je hydrolyzována na molekulu ADP brzy po jejím připojení k polymeru
- stejně tak molekula tubulinu nese pevně navázanou molekulu GTP, která je po připojení k polymeru hydrolyzována na GDP
- hydrolýza navázaného nukleotidu snižuje vazebnou afinitu této podjednotky k polymeru a zvyšuje pravděpodobnost její disociace z polymeru
- proto je obvykle T forma připojena k polymeru a D forma z polymeru disociuje

Hydrolýza nukleotidů

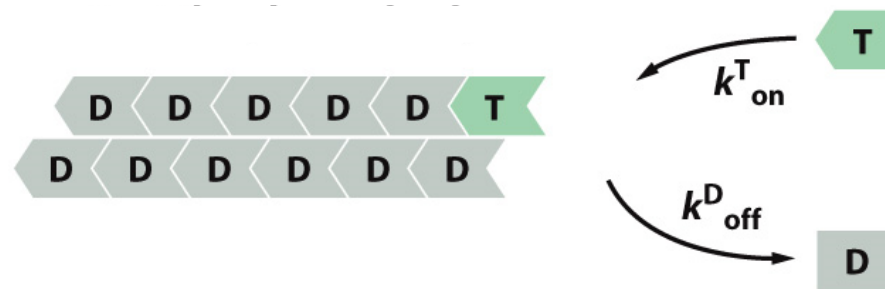
- situace na „plus konci“:



- polymer bude růst, pokud $C = C_c$ (k_{on}^D a k_{off}^T můžeme zanedbat, protože jejich hodnoty jsou obvykle velmi malé), takže polymer roste, když:

$$k_{on}^T C = k_{off}^D \quad \text{or} \quad C_c = \frac{k_{off}^D}{k_{on}^T}$$

Hydrolýza nukleotidů

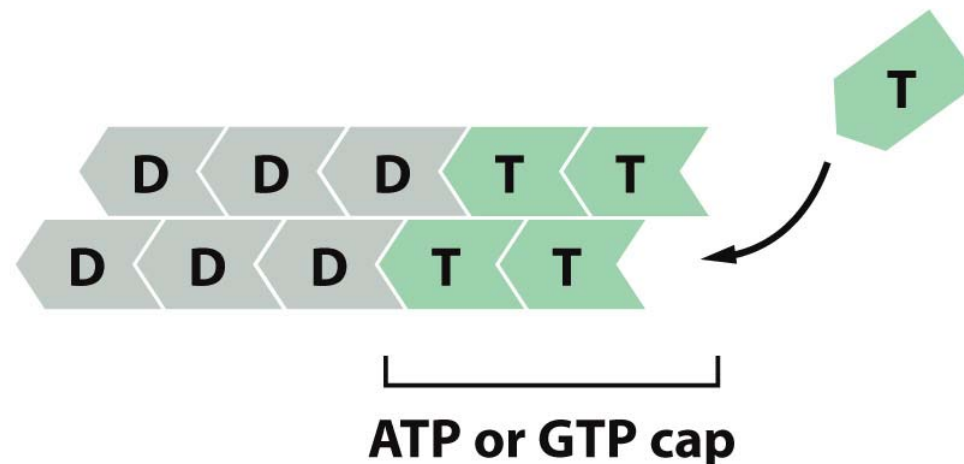


$$k^T_{on} C = k^D_{off} \quad \text{or} \quad C_c = \frac{k^D_{off}}{k^T_{on}}$$

- jedná se o stabilní stav, ale nikoli o skutečnou rovnováhu, protože ATP či GTP, které jsou hydrolyzovány, musí být doplněny reakcí, kdy podjednotka polymeru přechází z D formy do T formy

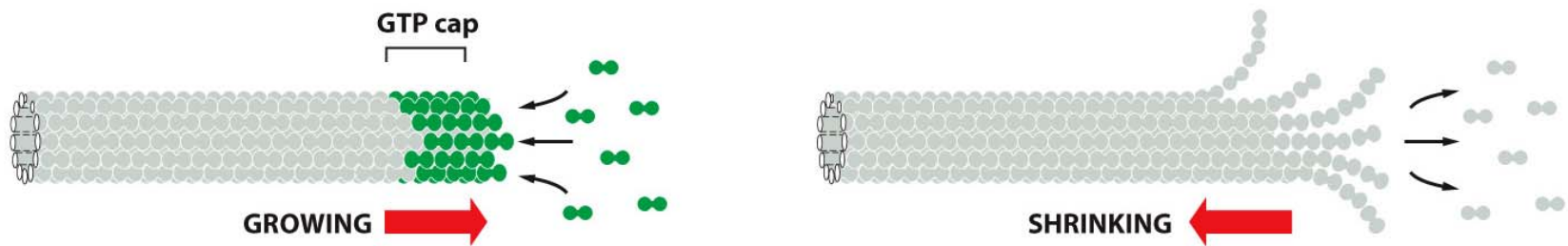
ATP a GTP čepičky

- rychlost připojování podjednotek k rostoucímu polymeru mikrofilamenta či mikrotubulu může být větší než rychlost, se kterou je nukleotid nové podjednotky hydrolyzován
- v tomto případě na konci polymeru rozeznáváme tzv. ATP či GTP čepičku, která obsahuje nukleosid trifosfáty (ATP na mikrofilamentu či GTP na mikrotubulu)



Dynamická nestabilita

- mikrotubuly depolymerizují 100x rychleji od konce s GDP než od konce s GTP
- GTP čepička podporuje polymerizaci, pokud je GTP čepička ztracena, dochází k depolymerizaci



Panel 16-2 (part 10) Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

- u jednotlivých mikrotubulů se tak střídá stav pomalé polymerizace a rychlé depolymerizace = **dynamická nestabilita**

Cytoskeletální toxiny

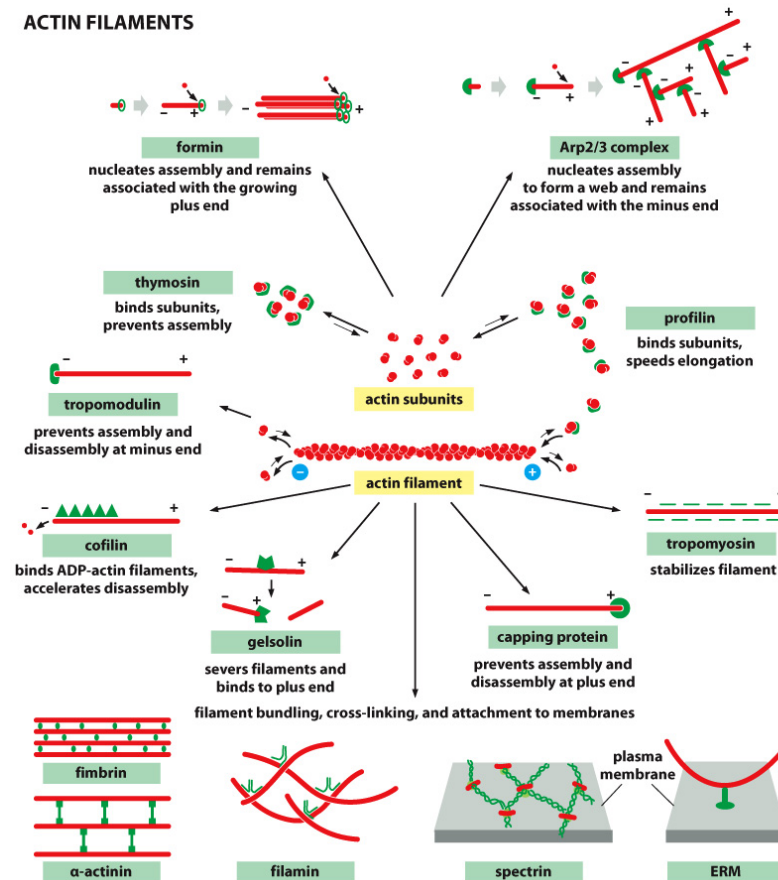
- ▶ brání polymerizaci či depolymerizaci

Látka	Účinek na cytoskelet	Mechanismus	Zdroj
ACTIN			
Latrunculin	depolymerizuje	váže aktinové podjednotky	mořské houby
Cytochalasin B	depolymerizuje	kryje plus konec filament	<i>Nižší houby</i>
Phalloidin	stabilizuje	váže se podél filament	muchomůrka
MIKROTUBULY			
Taxol® (Paclitaxel)	stabilizuje	váže se podél filament	keř tis
Nocodazol	depolymerizuje	váže podjednotky tubulinu	syntetický
Colchicin	depolymerizuje	kryje konce filament	šafrán

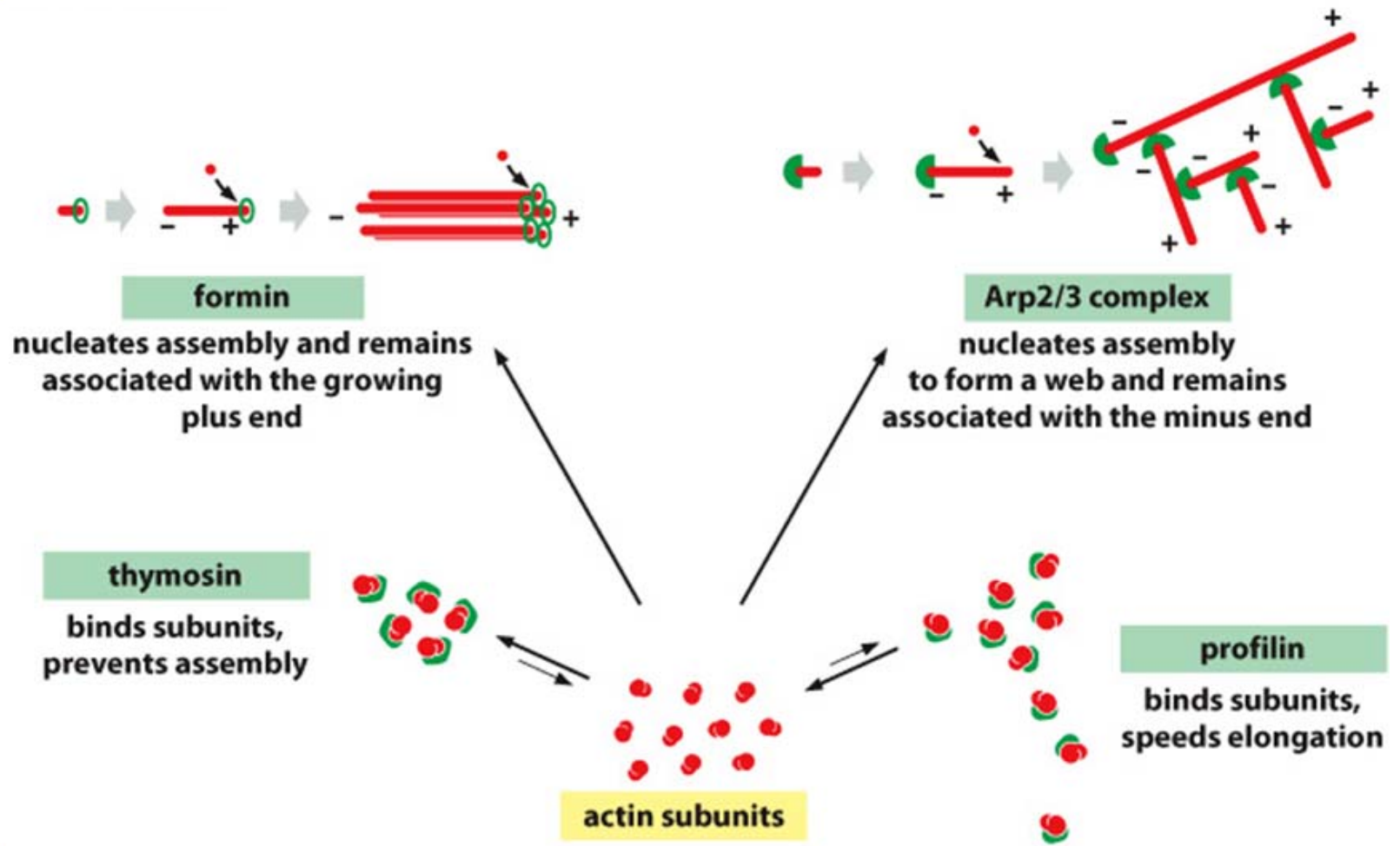
Proteiny asociované s aktinem

- většina buněk obsahuje více než 100 různých proteinů asociovaných s aktinem a je pravděpodobné, že řada dalších takových proteinů nebyla ještě identifikována

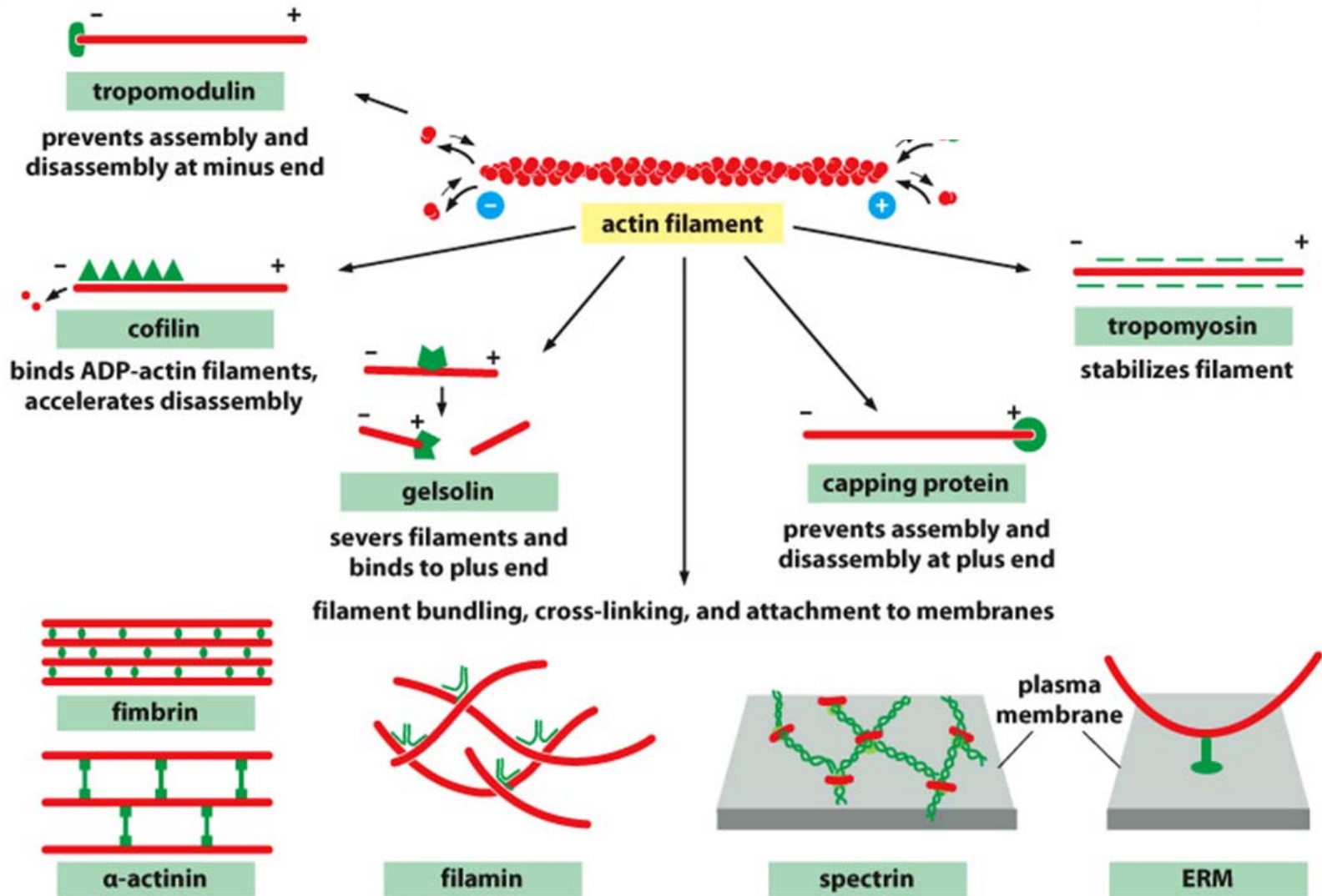
ACTIN FILAMENTS



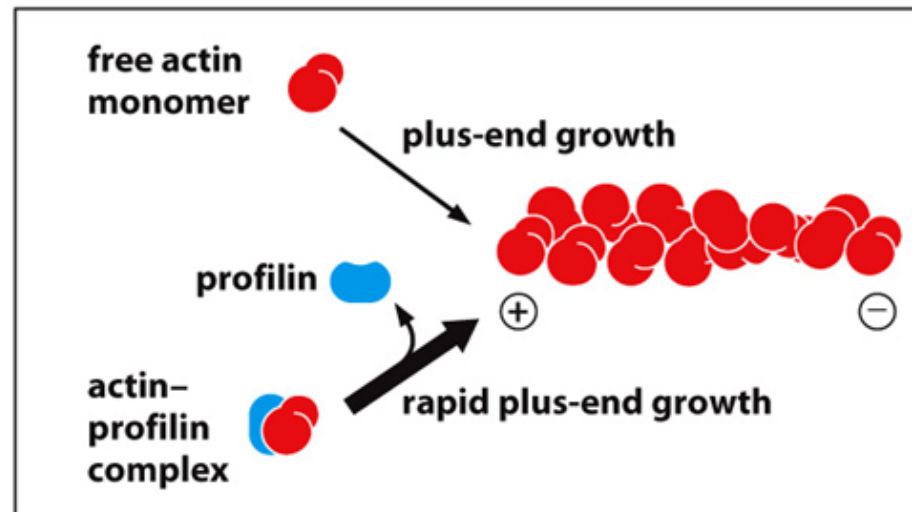
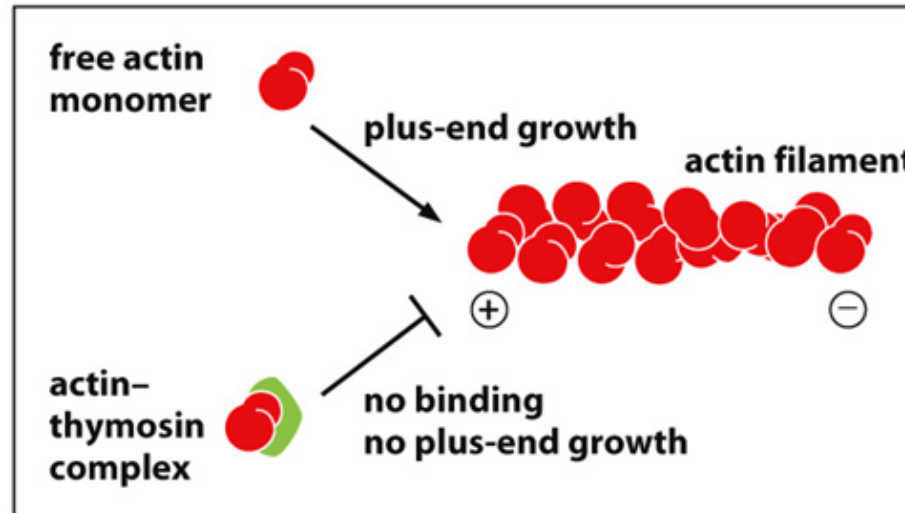
Proteiny asociované s aktinem



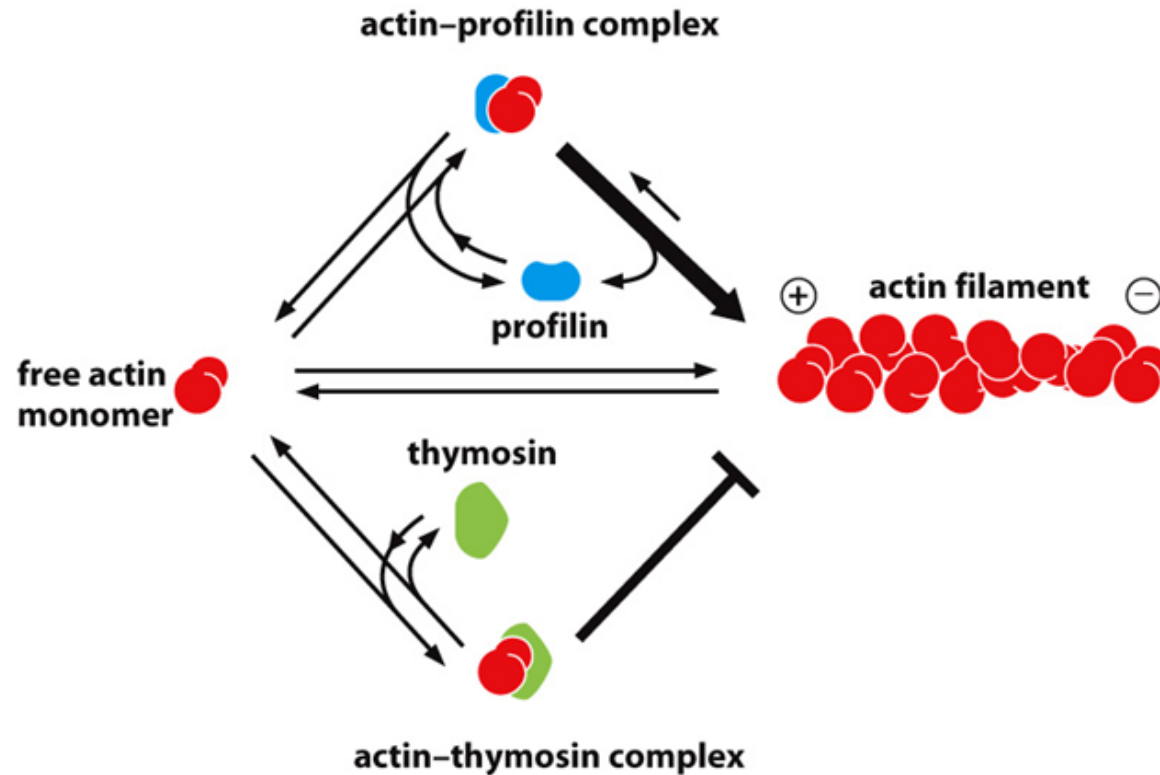
Proteiny asociované s aktinem



Proteiny asociované s aktinem



Proteiny asociované s aktinem

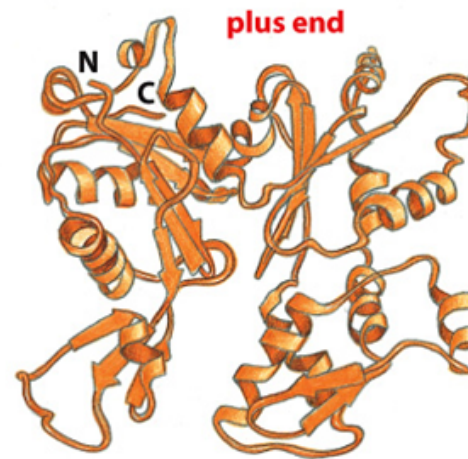



PROFILIN COMPETES WITH THYMOSIN FOR BINDING TO ACTIN MONOMERS AND PROMOTES ASSEMBLY

Proteiny asociované s aktinem




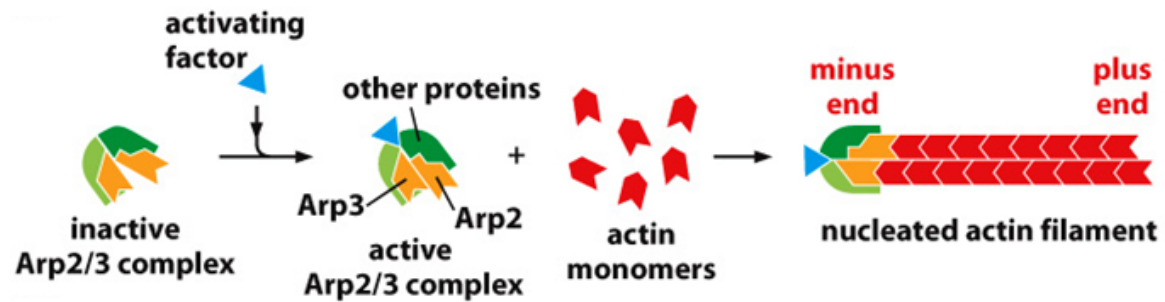
actin []



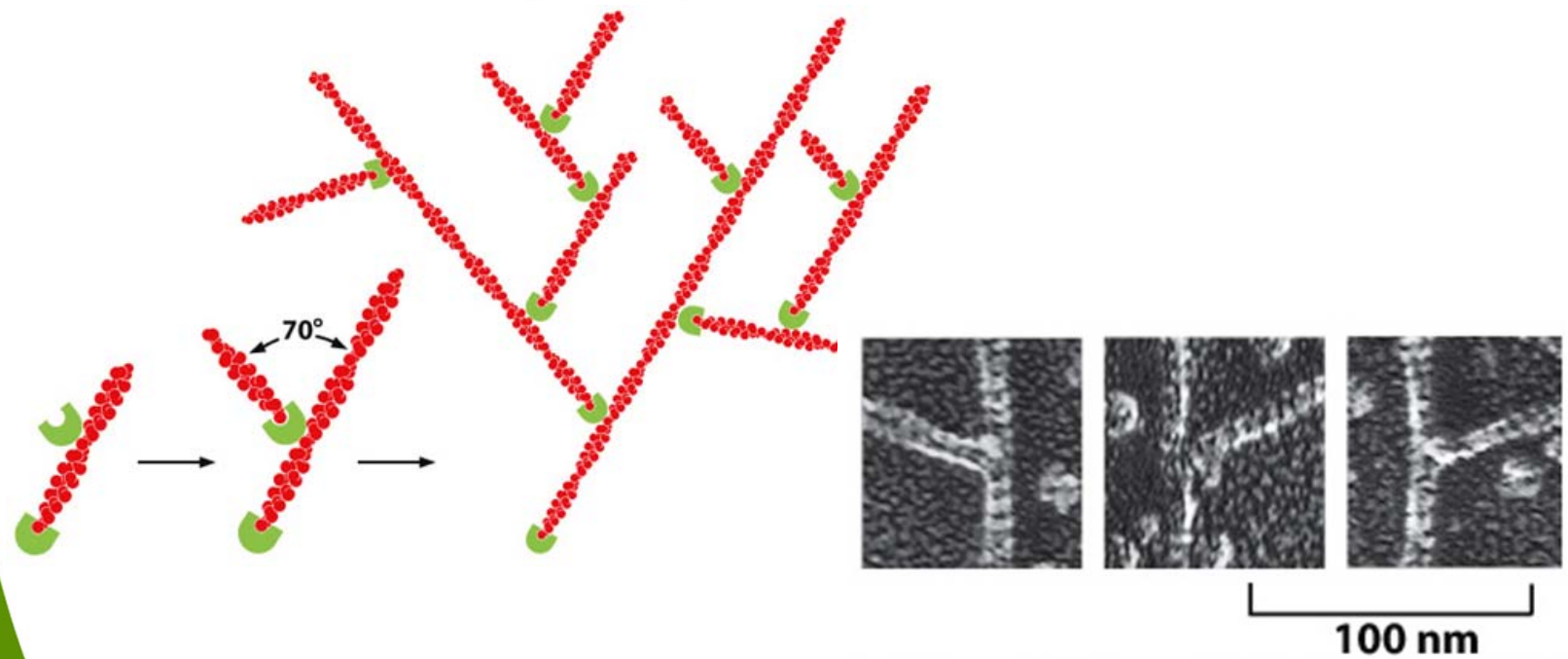
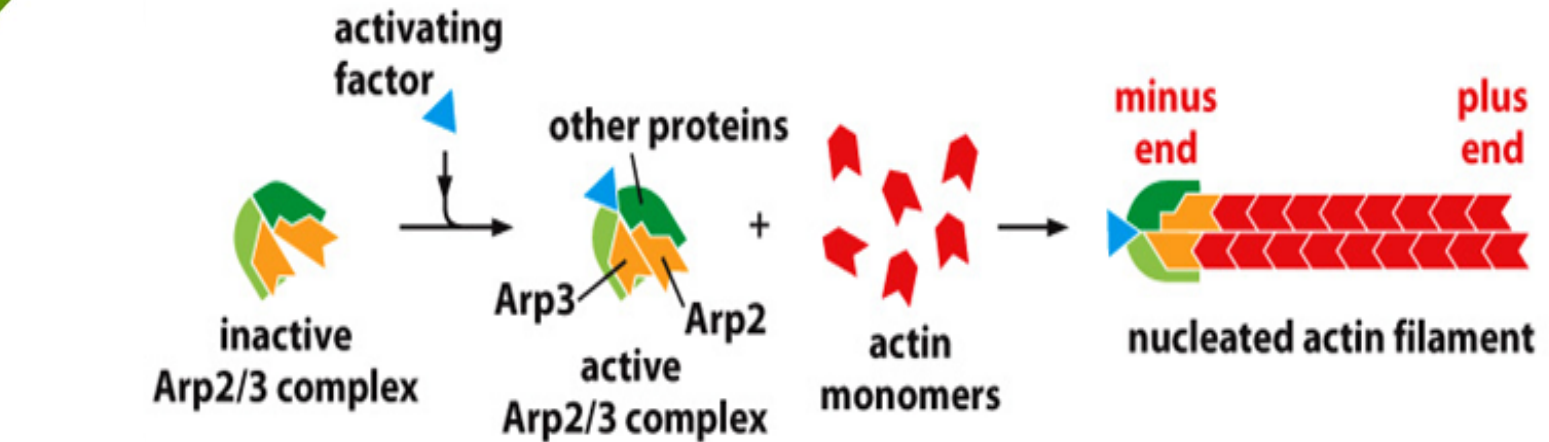
Arp2 []



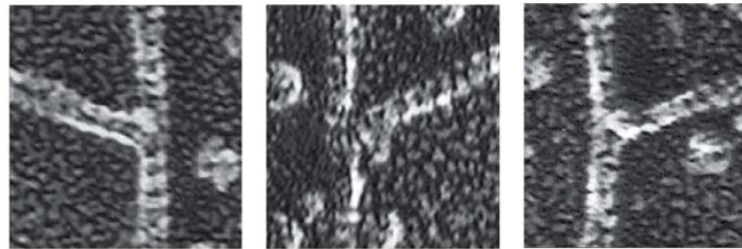
Arp3 []



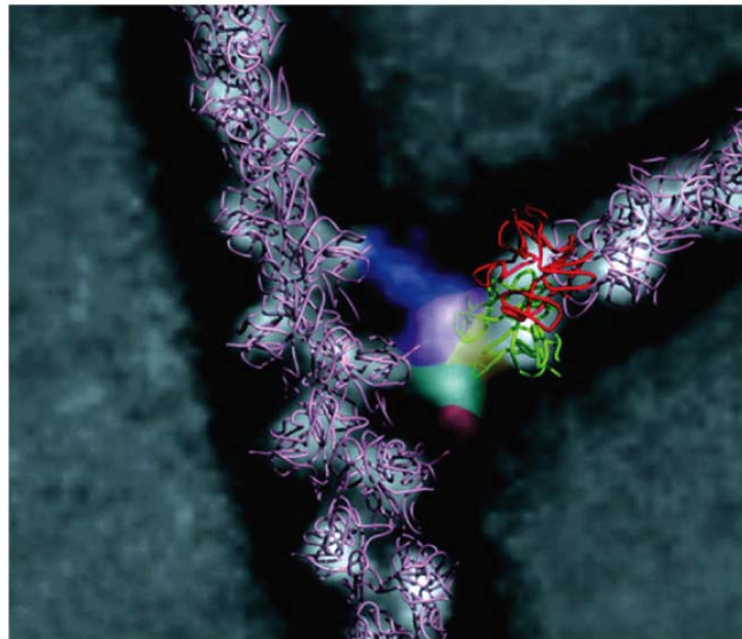
Proteiny asociované s aktinem



Proteiny asociované s aktinem



100 nm



10 nm

Figure 16-16d Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Proteiny asociované s aktinem

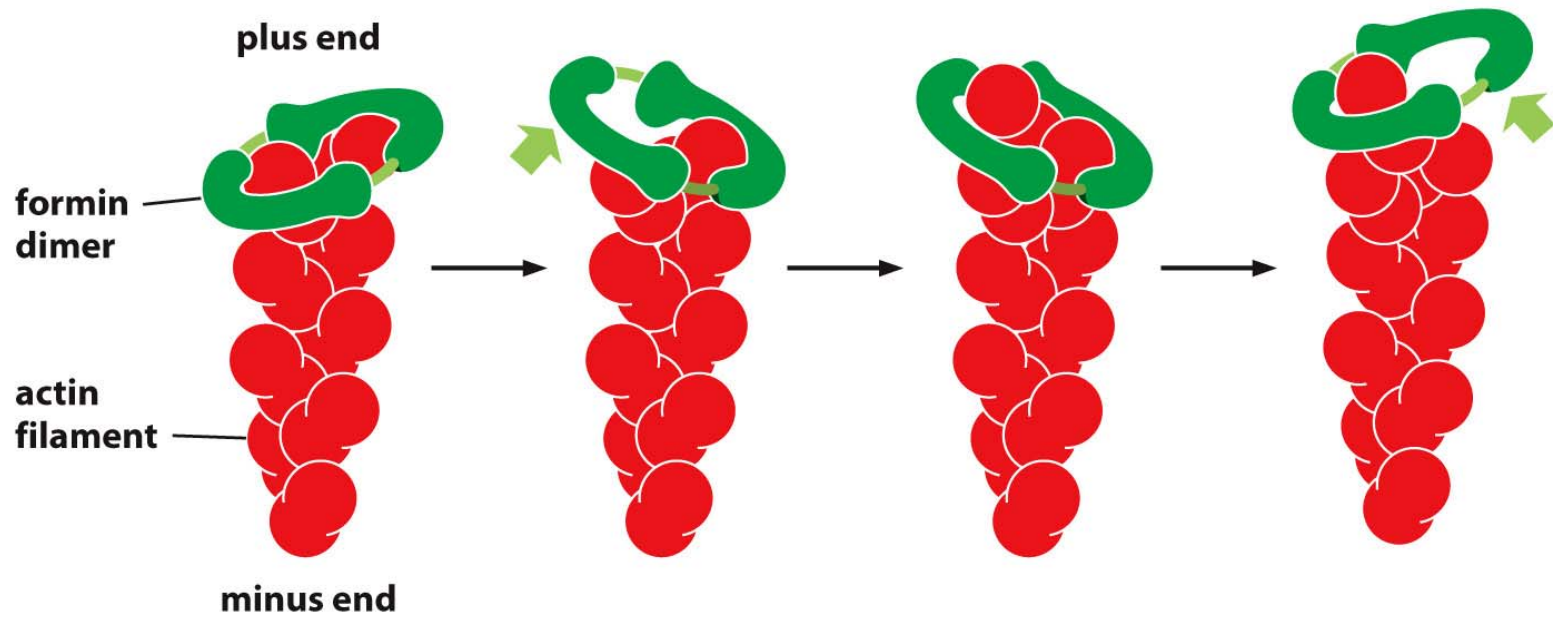


Figure 16-17 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Proteiny asociované s aktinem

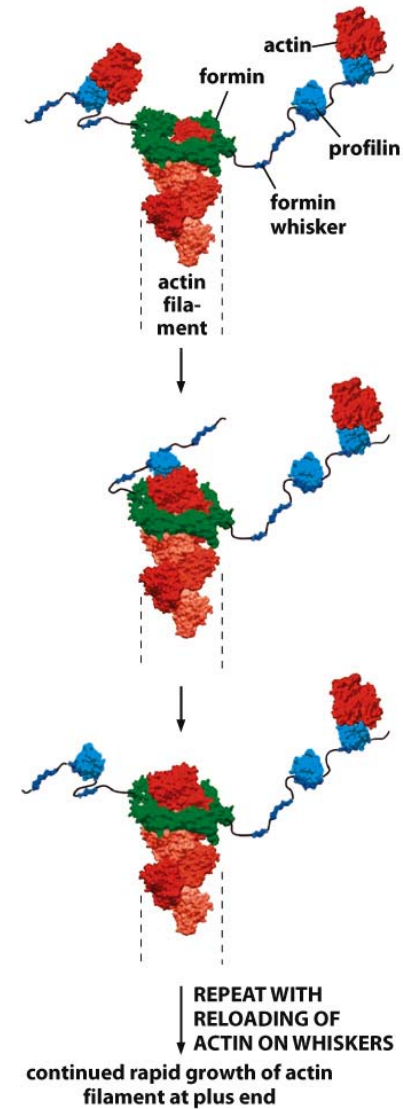
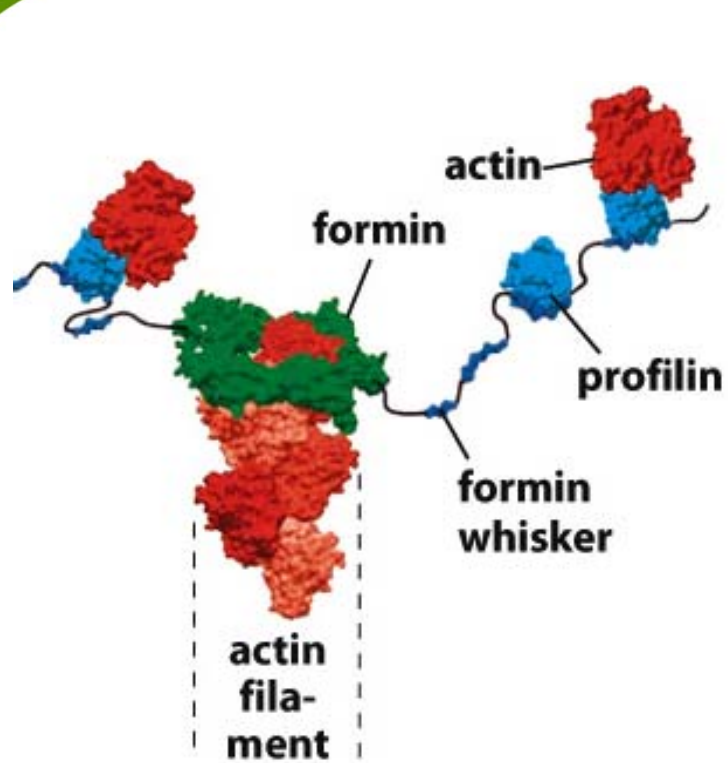
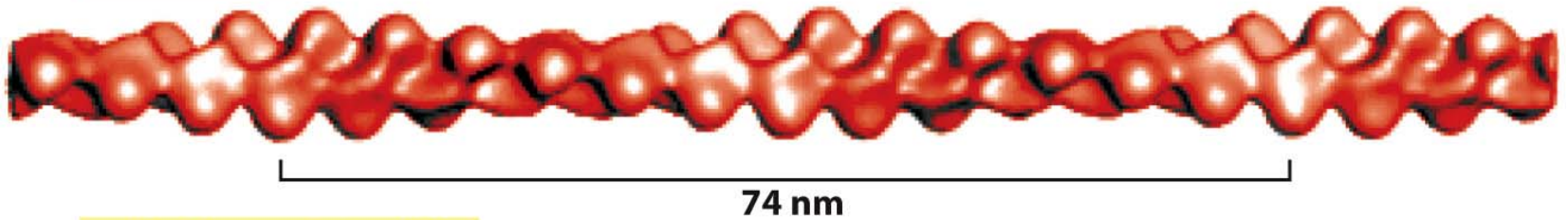


Figure 16-18 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Proteiny asociované s aktinem

(A) actin filament



(B) actin filament + cofilin

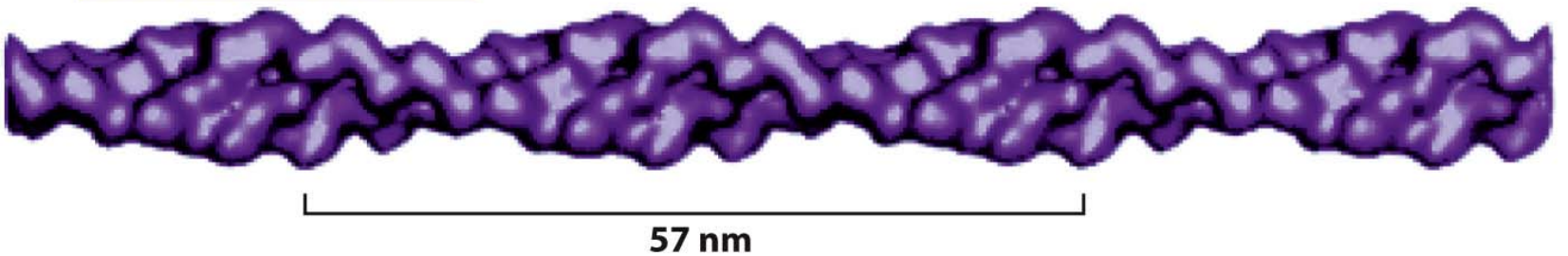


Figure 16-20 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Aktinová filamenta = mikrofilamenta

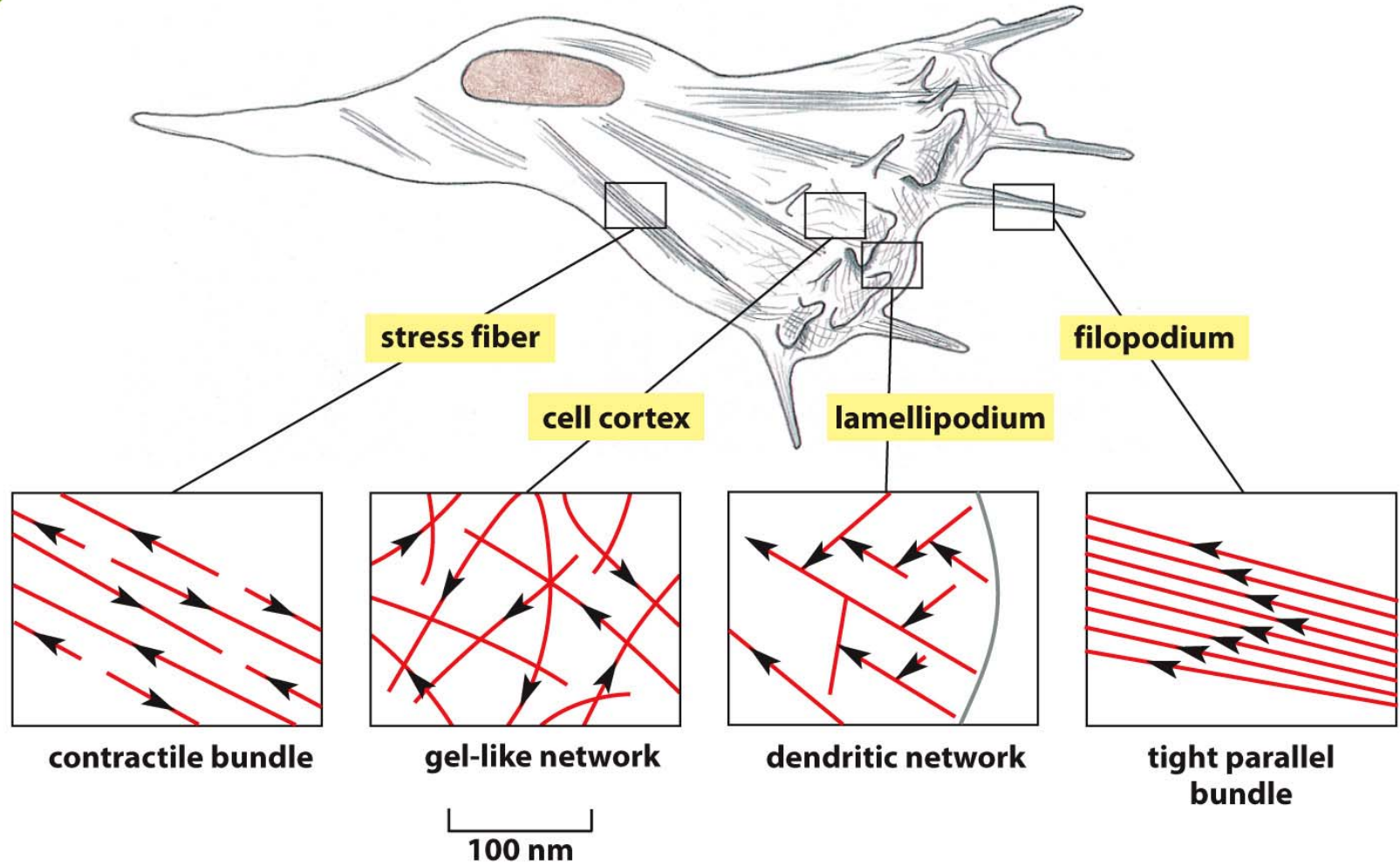
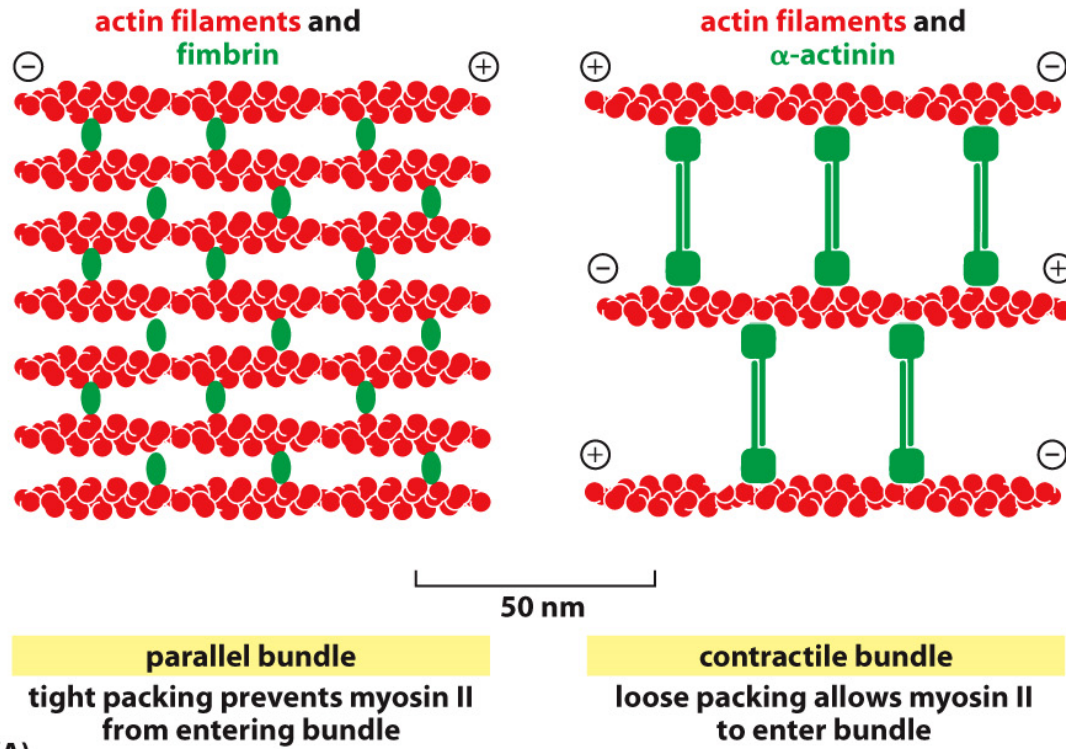


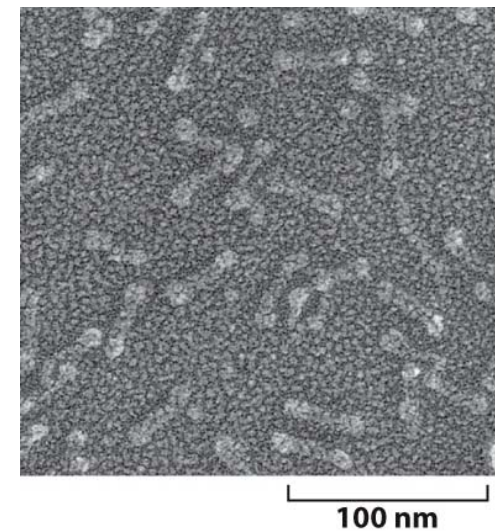
Figure 16-21 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Proteiny asociované s aktinem



(A)

Figure 16-23 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)



Proteiny asociované s aktinem

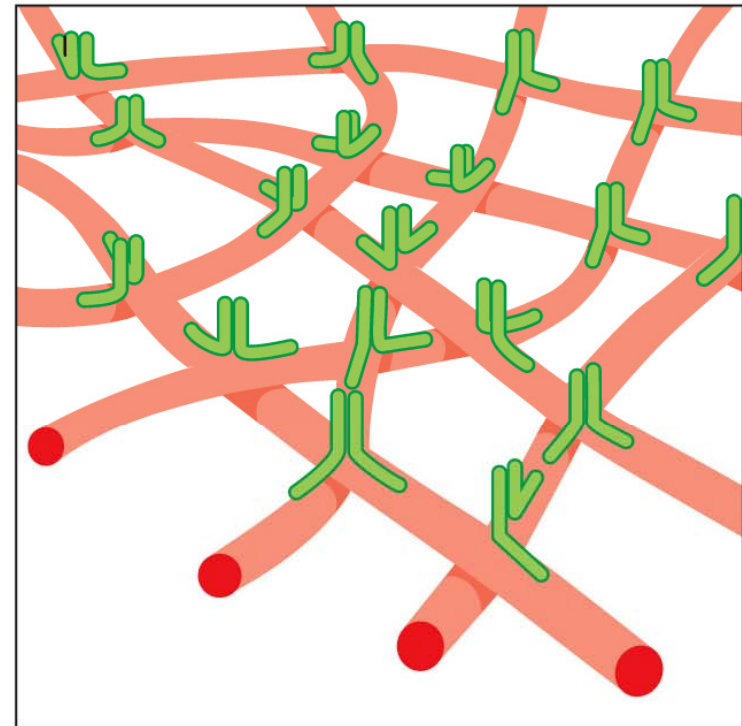
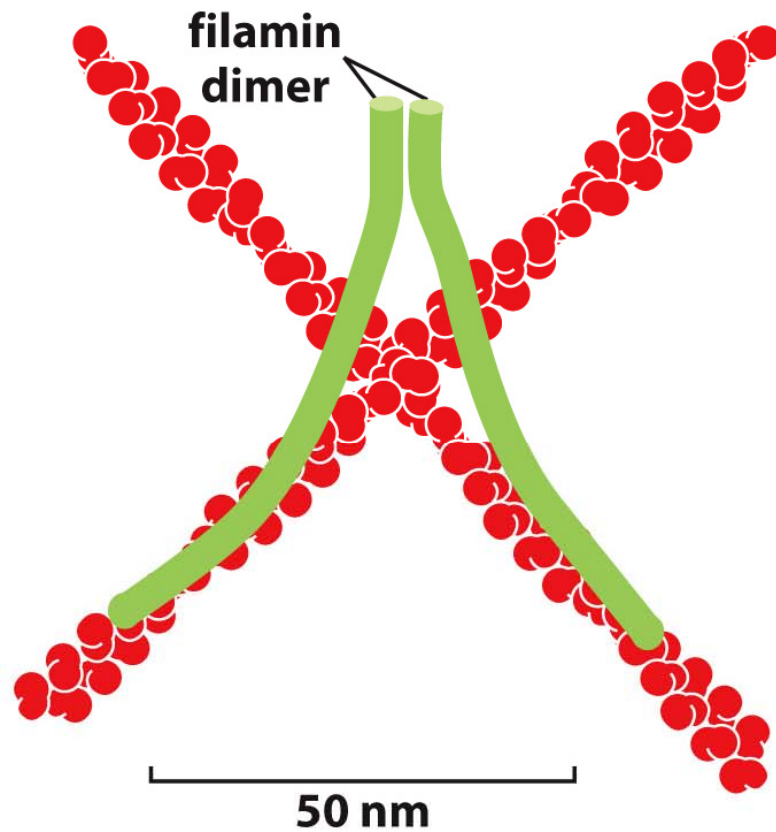


Figure 16-24a Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Myosiny – molekulární motory pohánějící auta na aktinové dálnici



(A)

100 nm

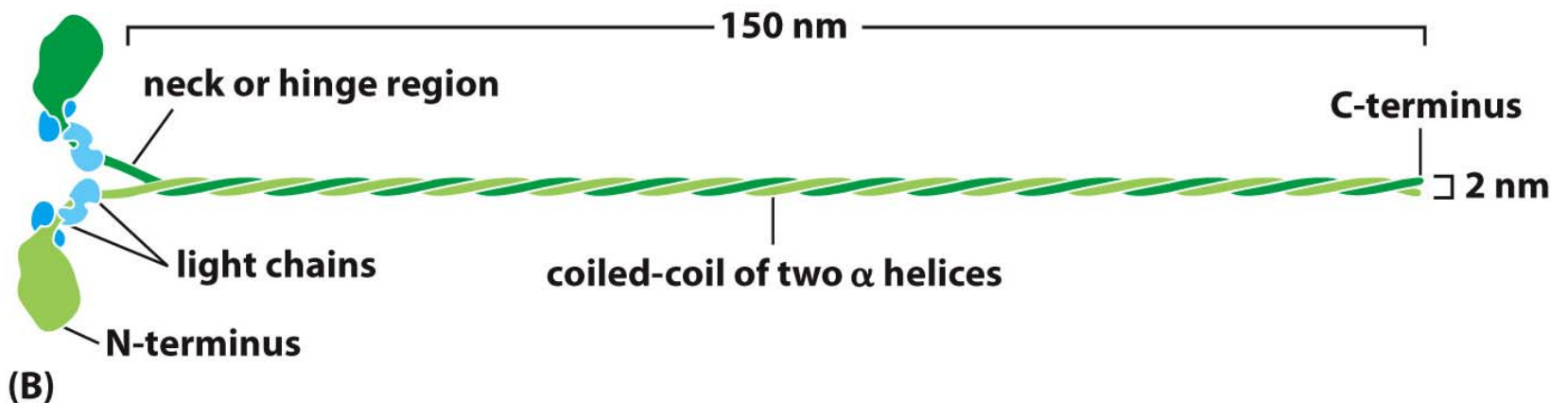


Figure 16-26 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Aktinová filamenta = mikrofilamenta

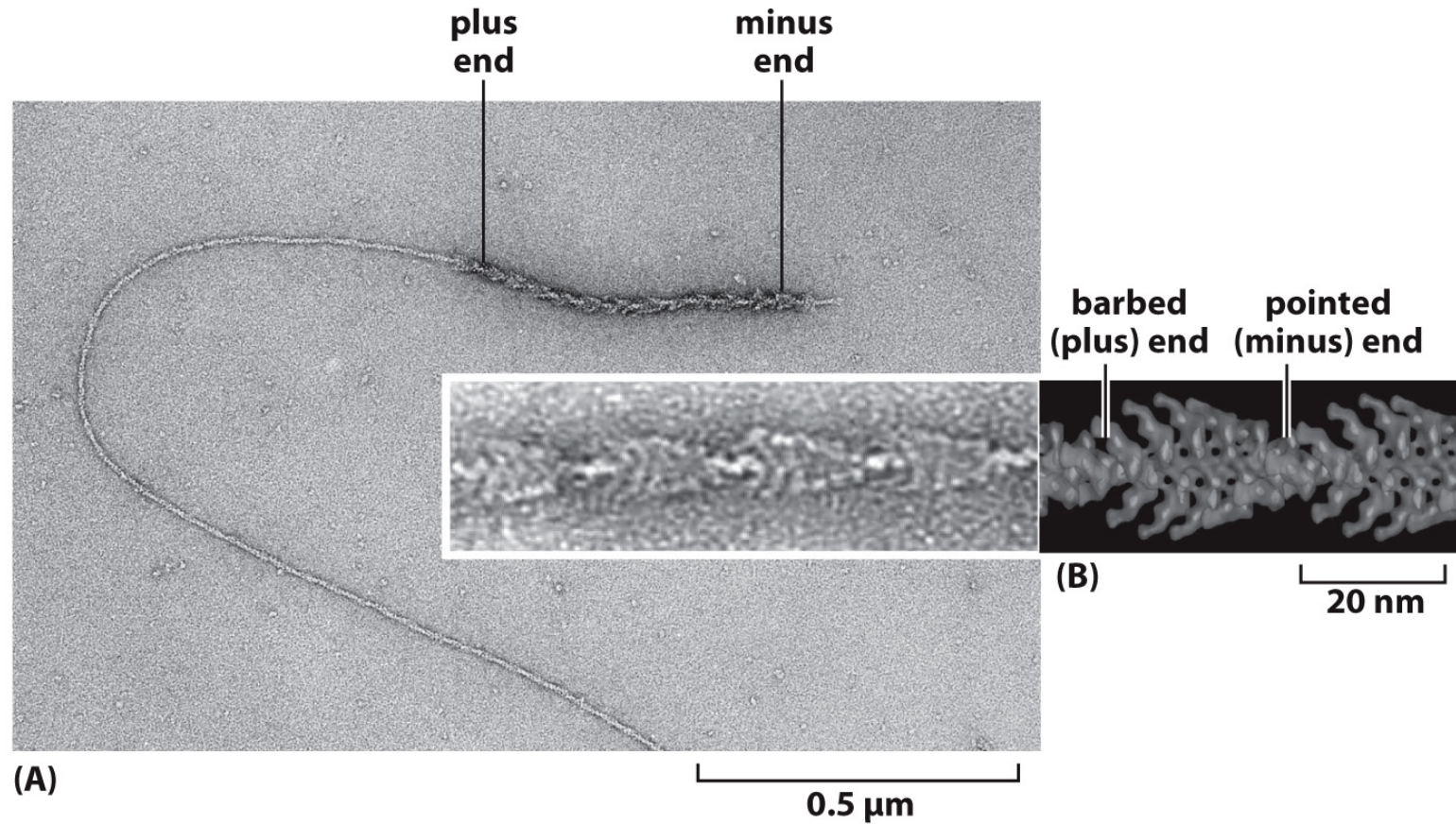


Figure 16-12 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Myosiny – molekulární motory pohánějící auta na aktinové dálnici

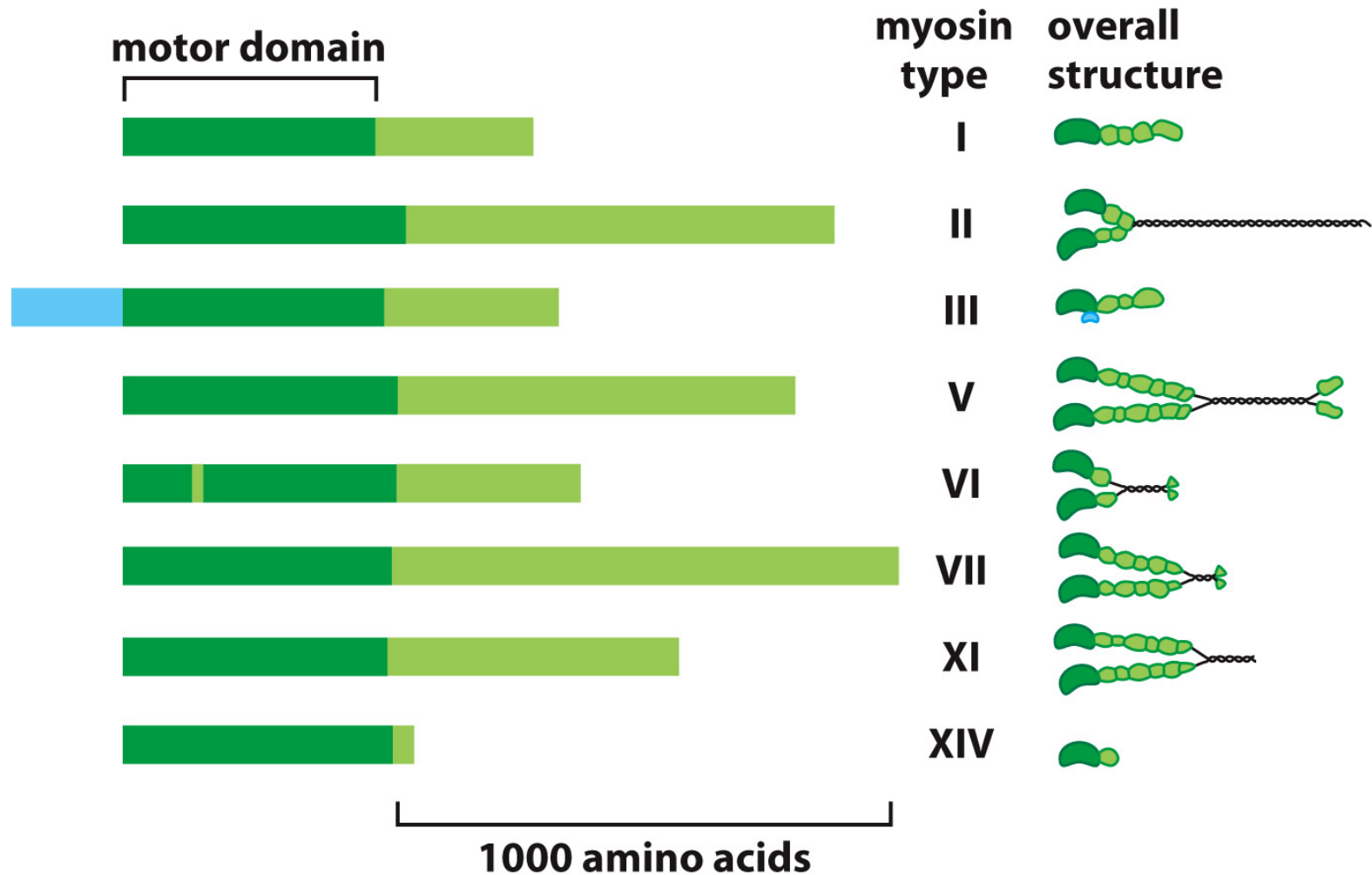


Figure 16-40 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

CYTOSKELET

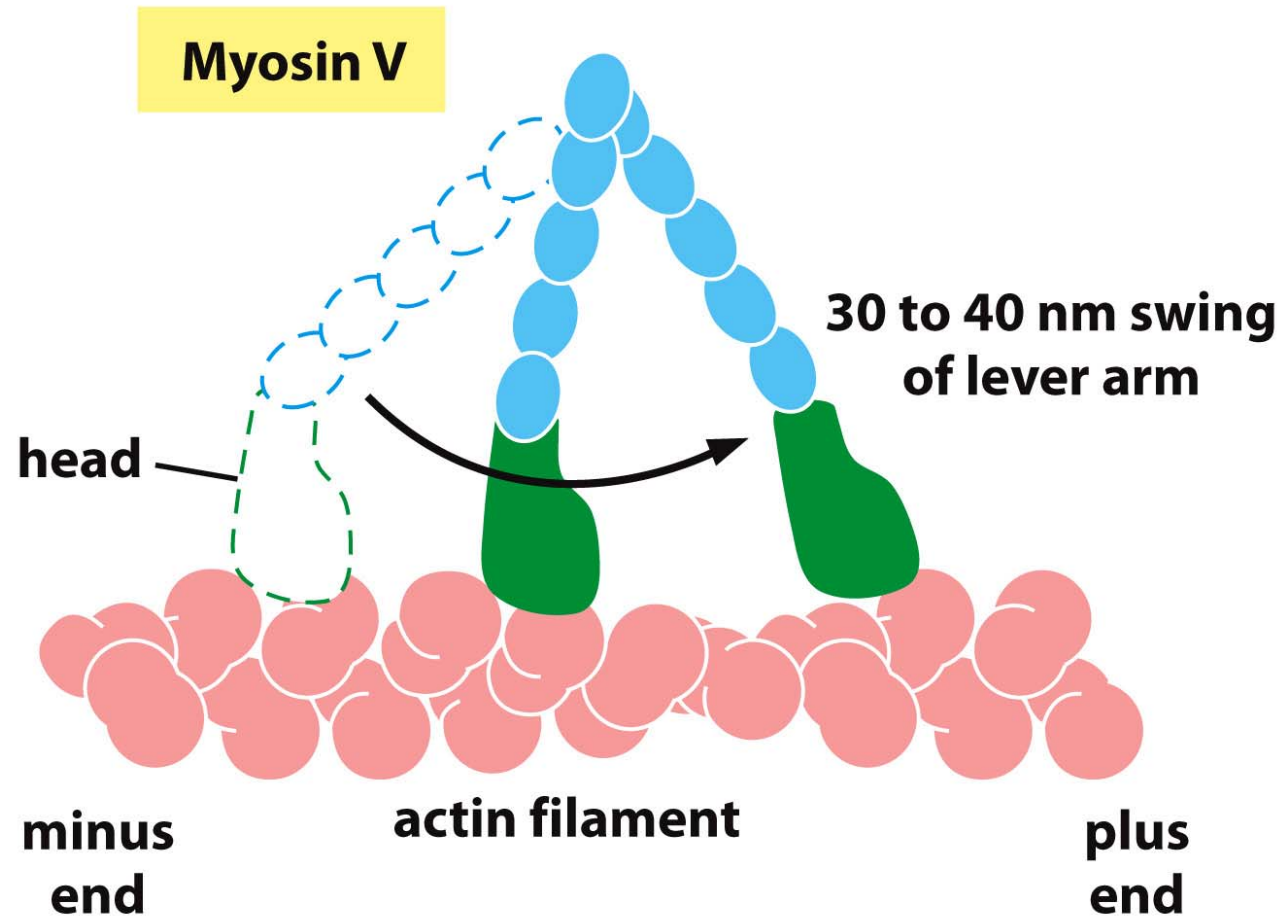


Figure 16-41a Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Mikrotubuly

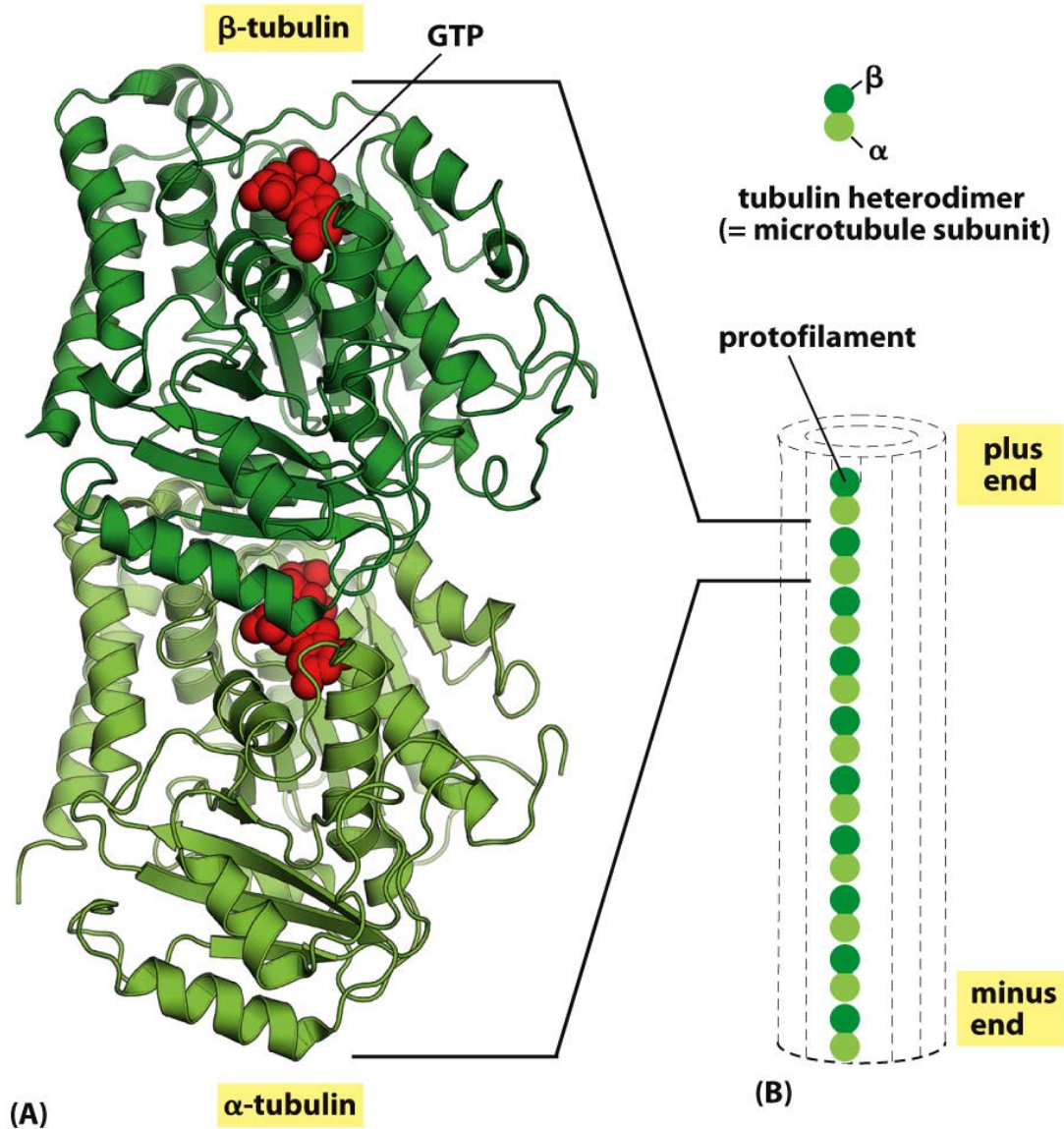


Figure 16-42ab Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Mikrotubuly

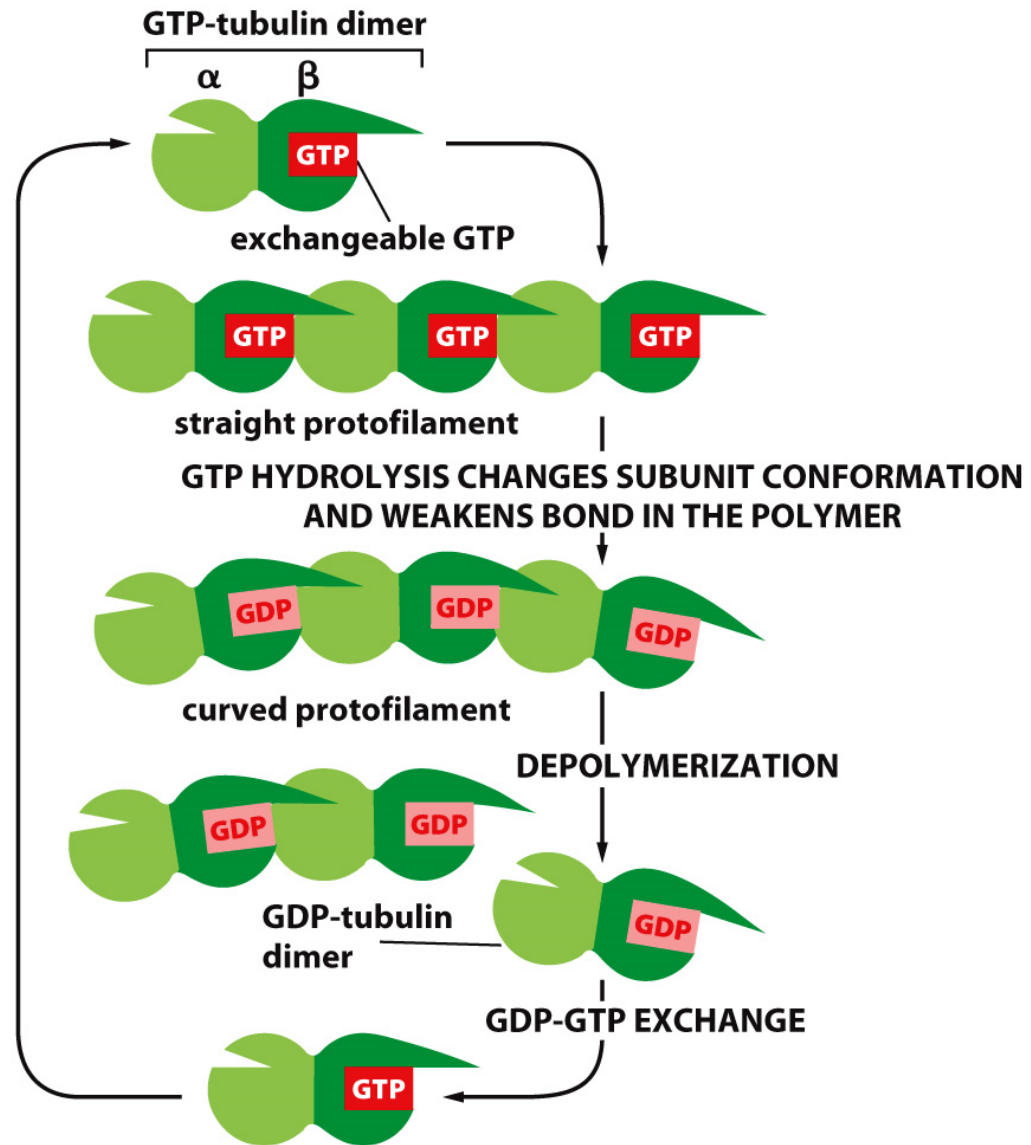


Figure 16-44b Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Dynamická nestabilita mikrotubulů

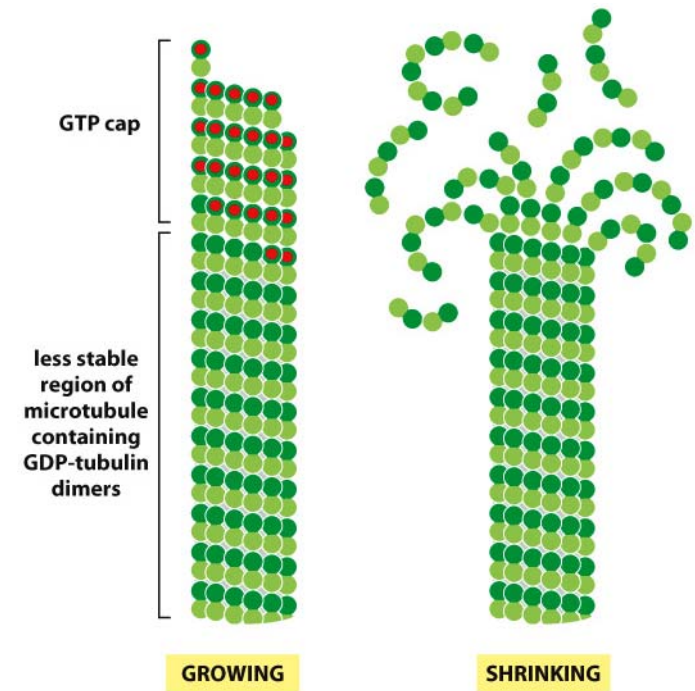
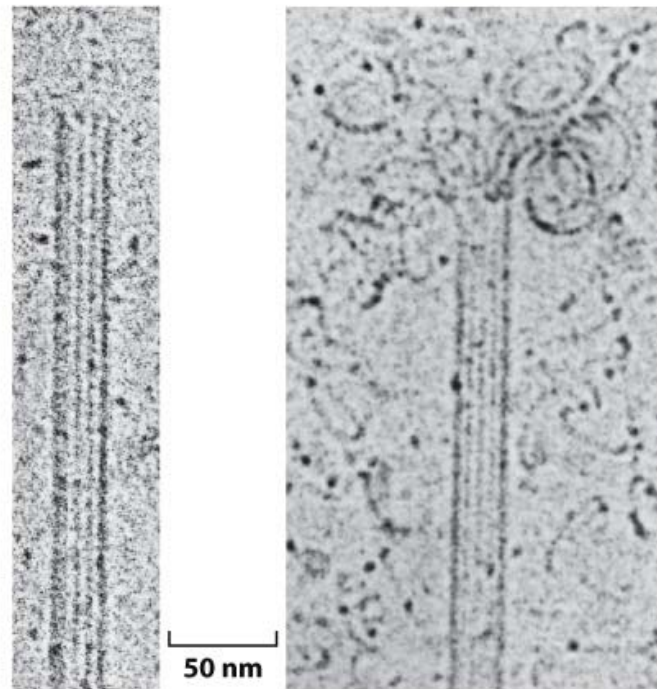


Figure 16-44c Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Centrosom

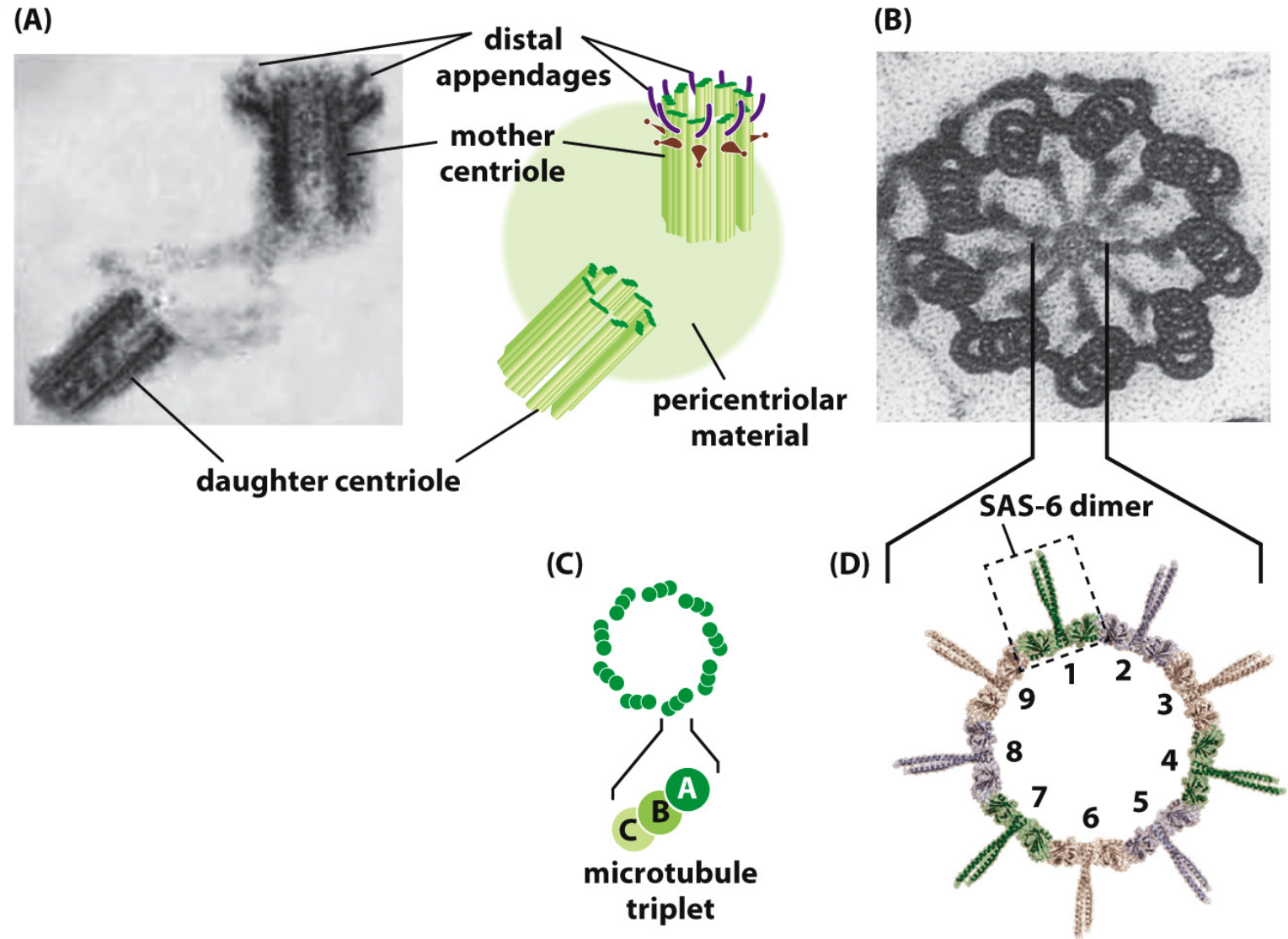


Figure 16-48 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Mikrotubuly – MTOC (microtubule-organizing center)

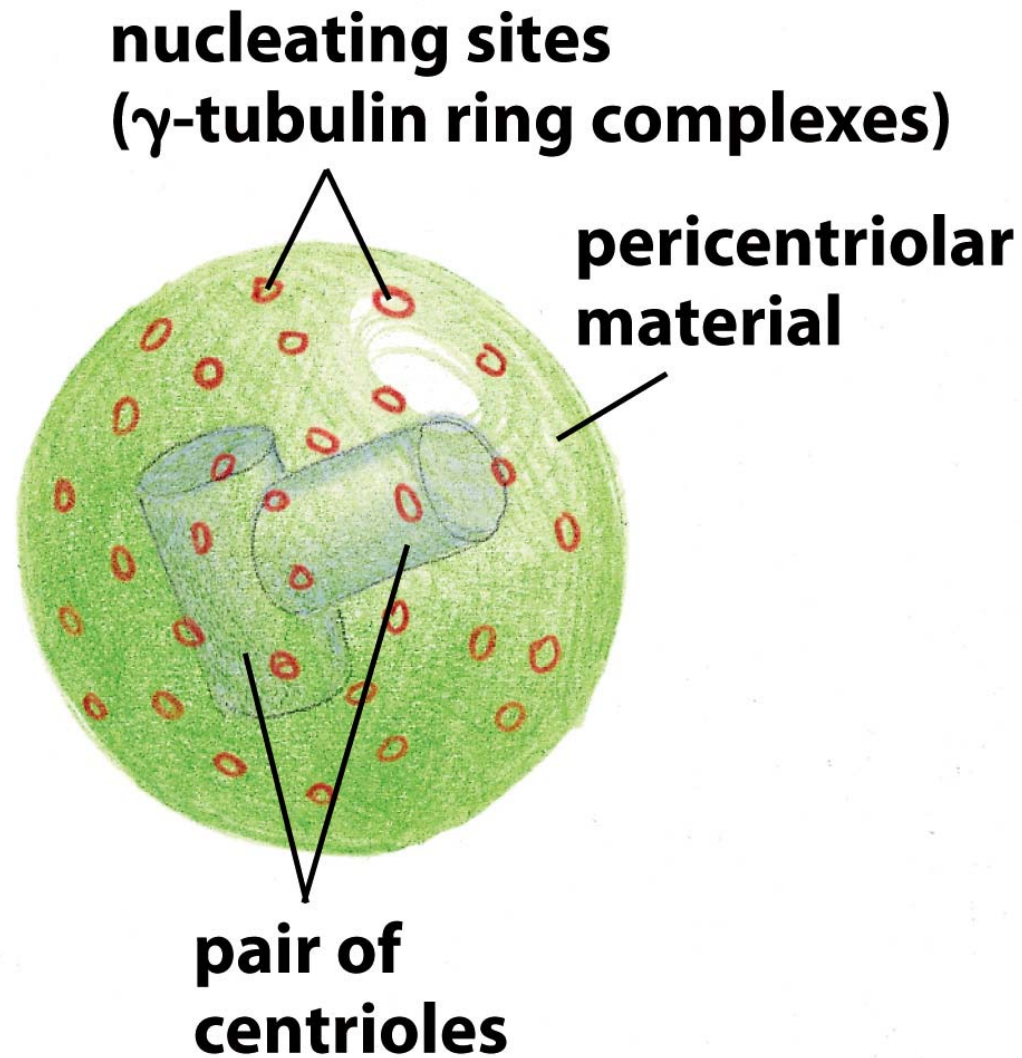


Figure 16-47a Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Mikrotubuly – MTOC (microtubule-organizing center)

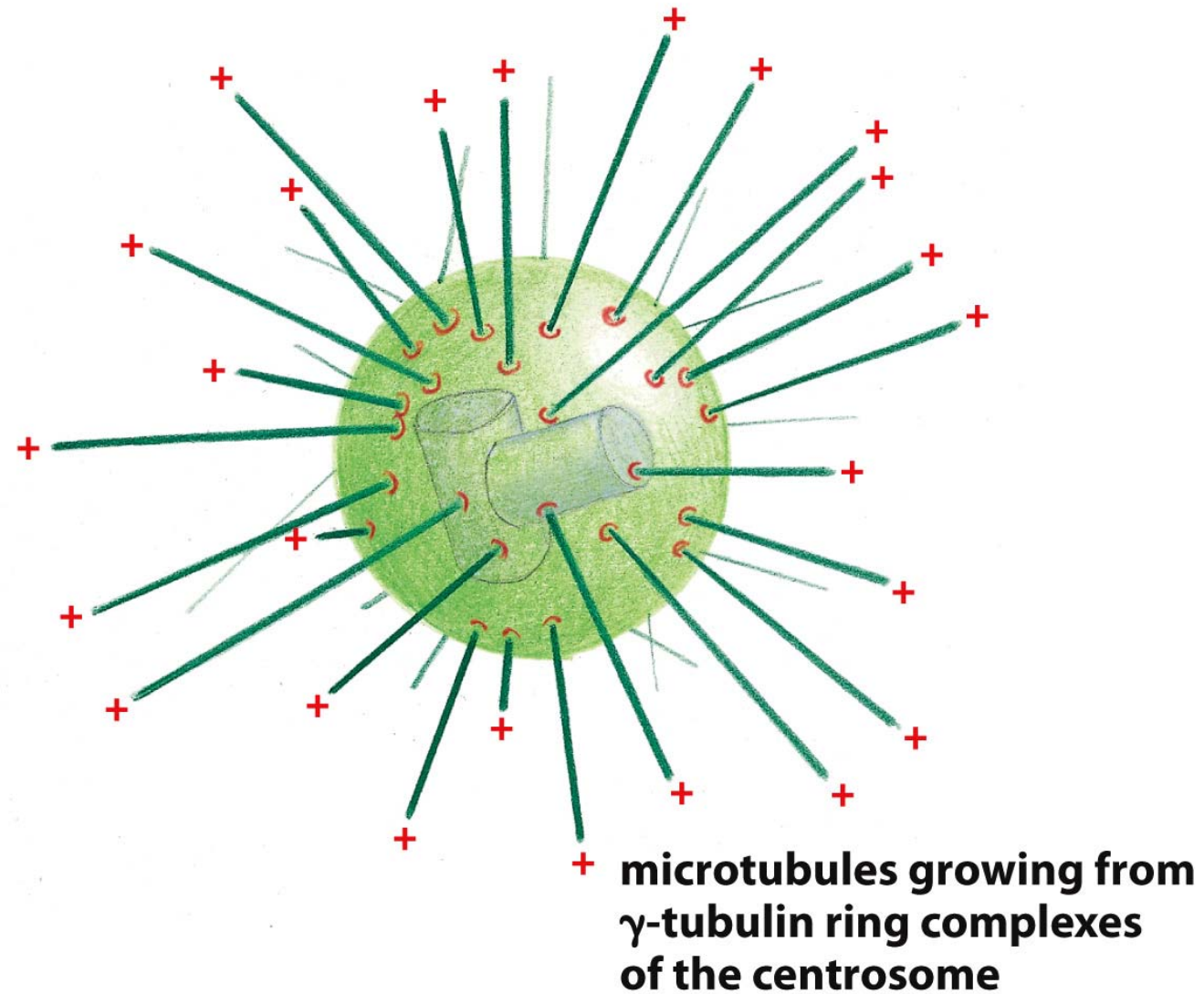


Figure 16-47b Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Mikrotubuly – MTOC (microtubule-organizing center)

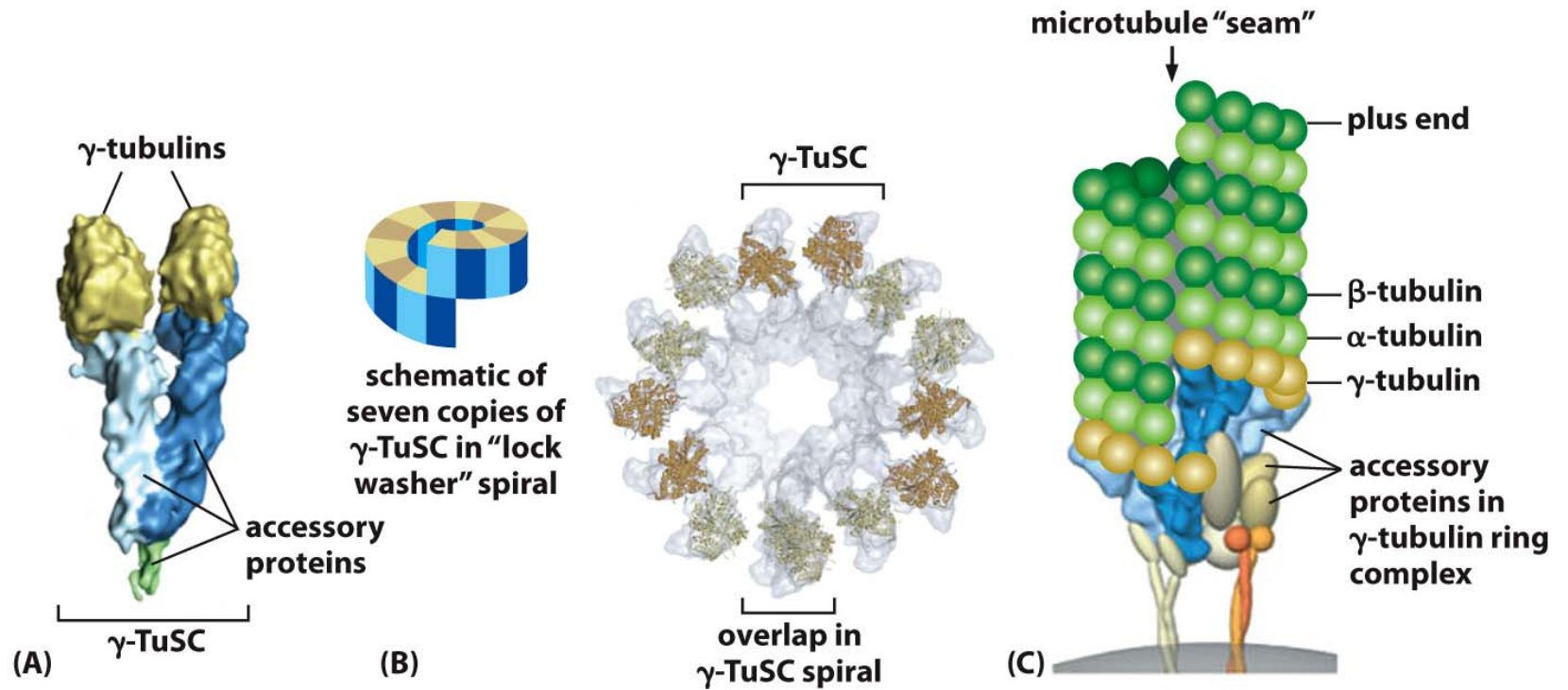


Figure 16-46 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Mikrotubuly

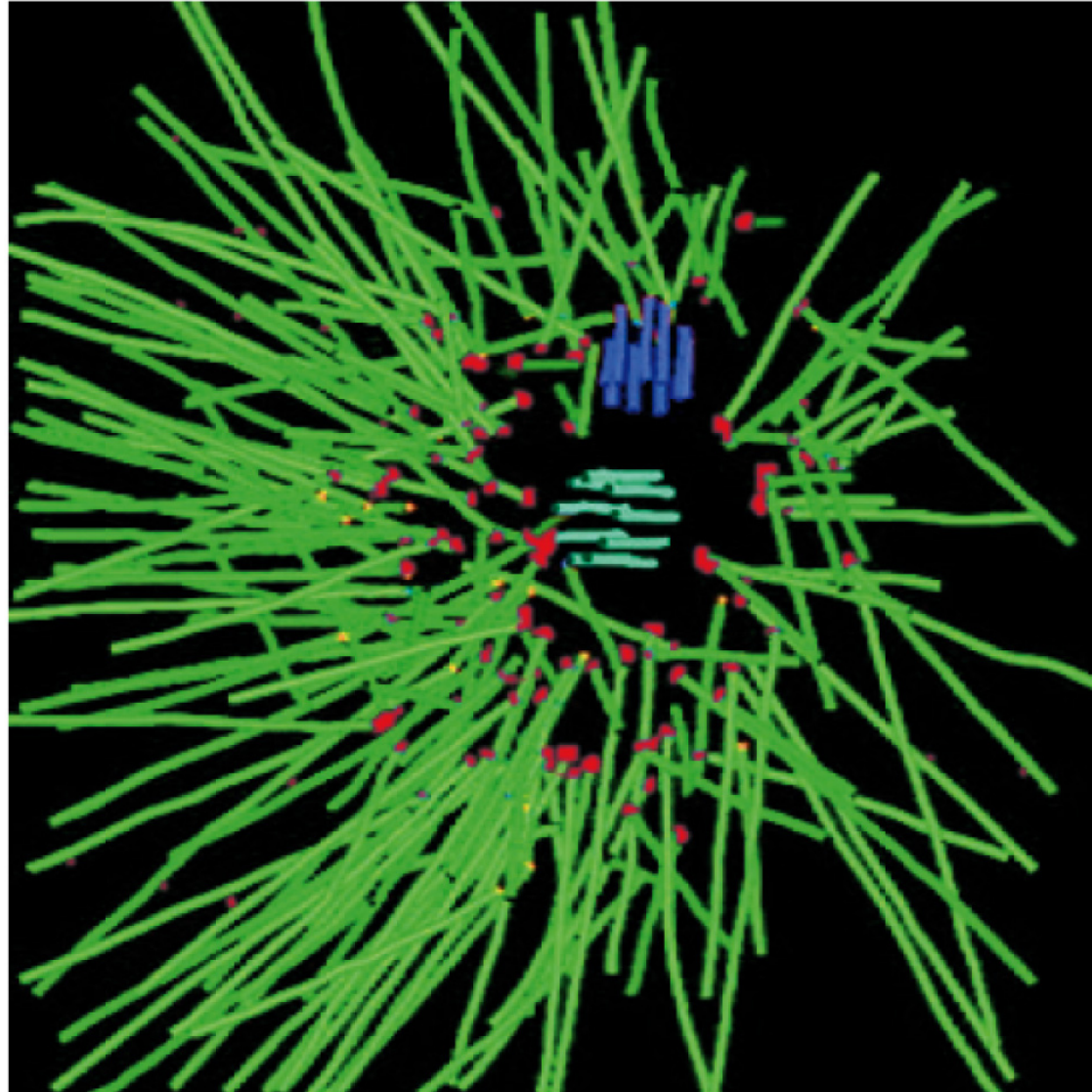
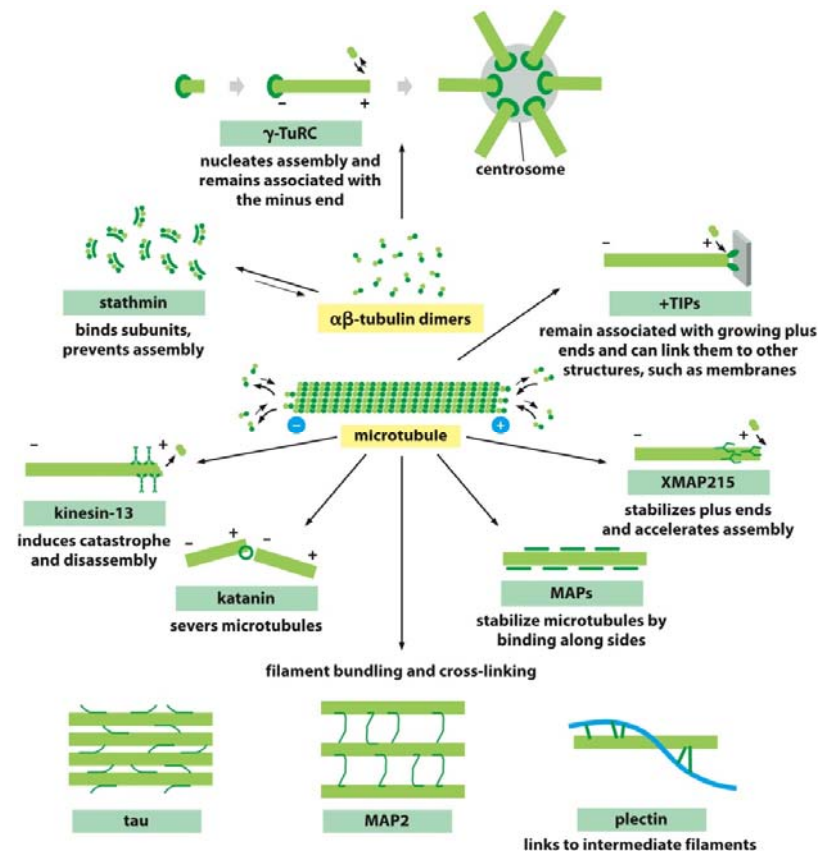


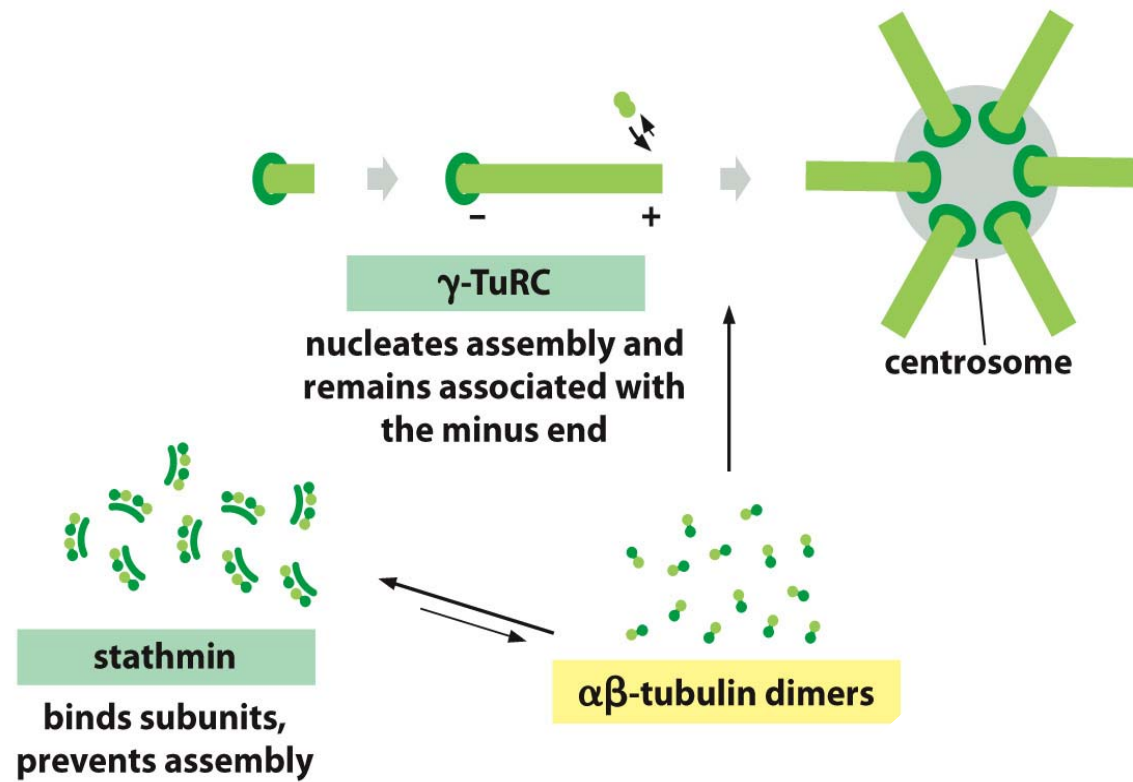
Figure 16-47c Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Proteiny asociované s mikrotubuly

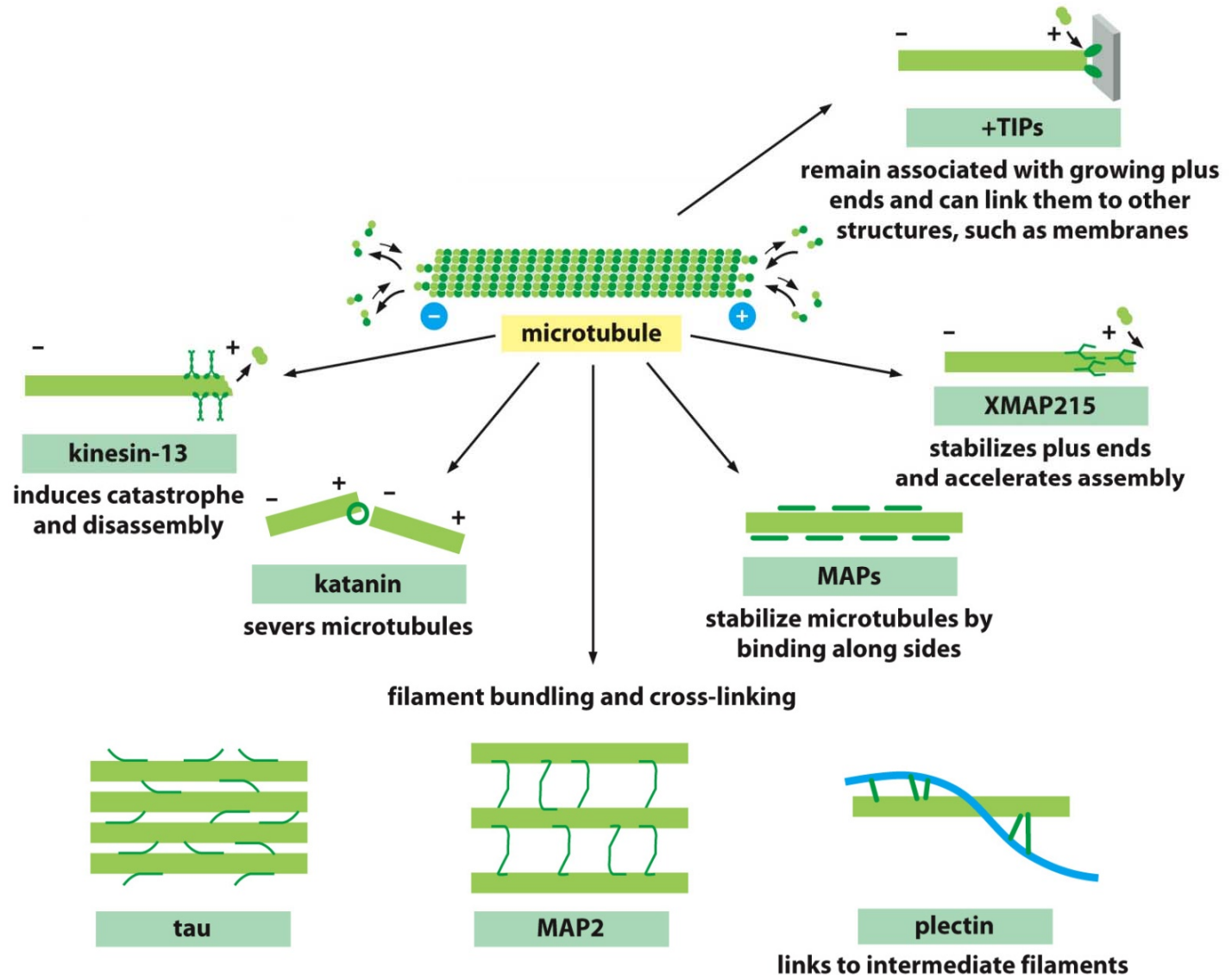
- většina buněk obsahuje více než 100 různých proteinů asociovaných s mikrotubuly a je pravděpodobné, že řada dalších takových proteinů nebyla ještě identifikována



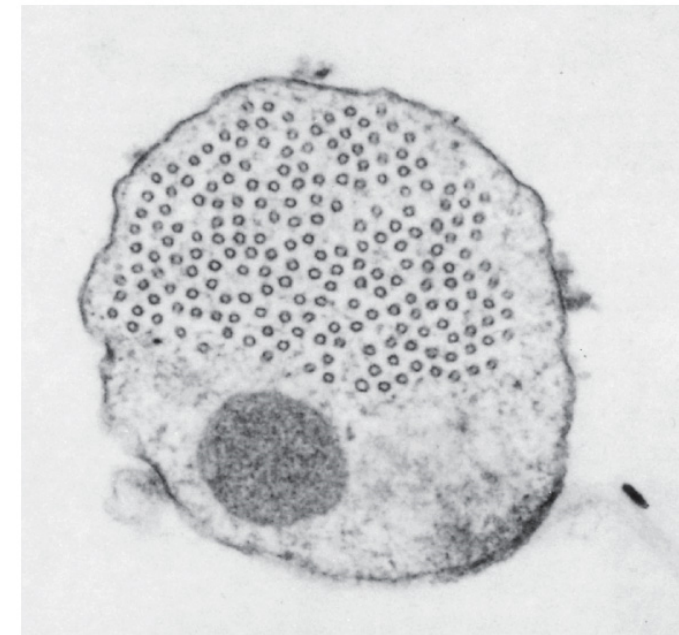
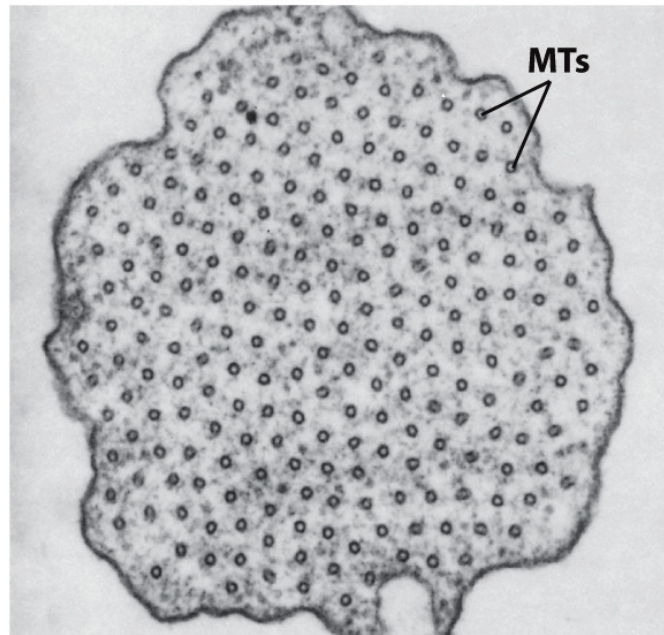
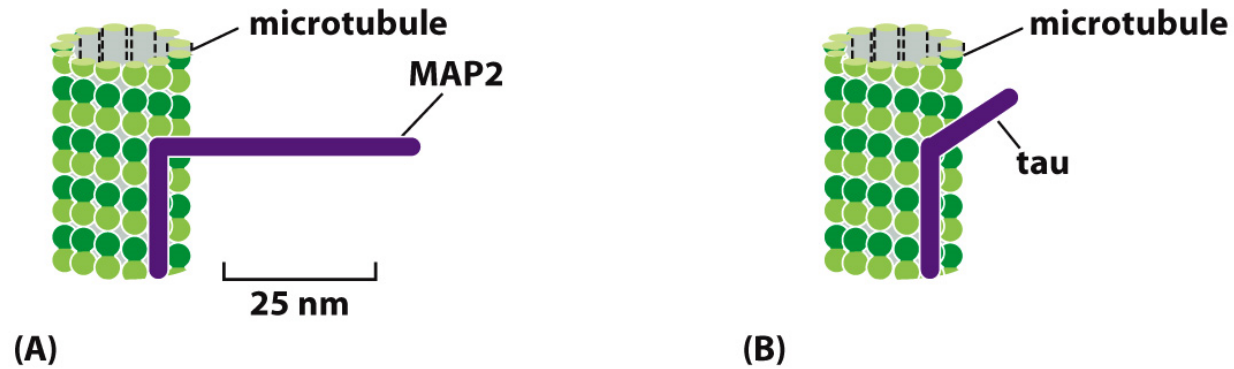
Proteiny asociované s mikrotubuly



Proteiny asociované s mikrotubuly



Proteiny asociované s mikrotubuly



Proteiny asociované s mikrotubuly

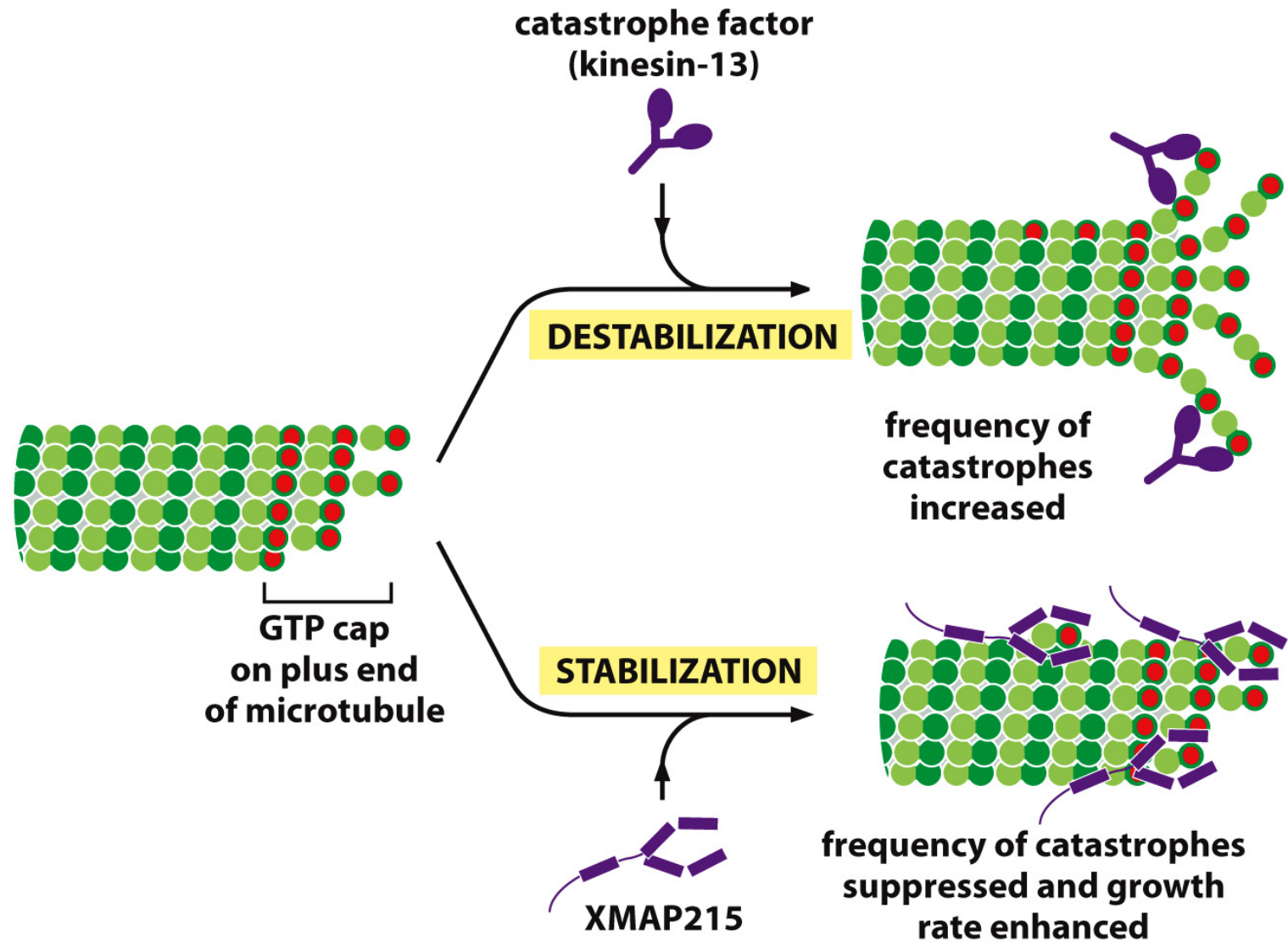


Figure 16-52 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Proteiny asociované s mikrotubuly

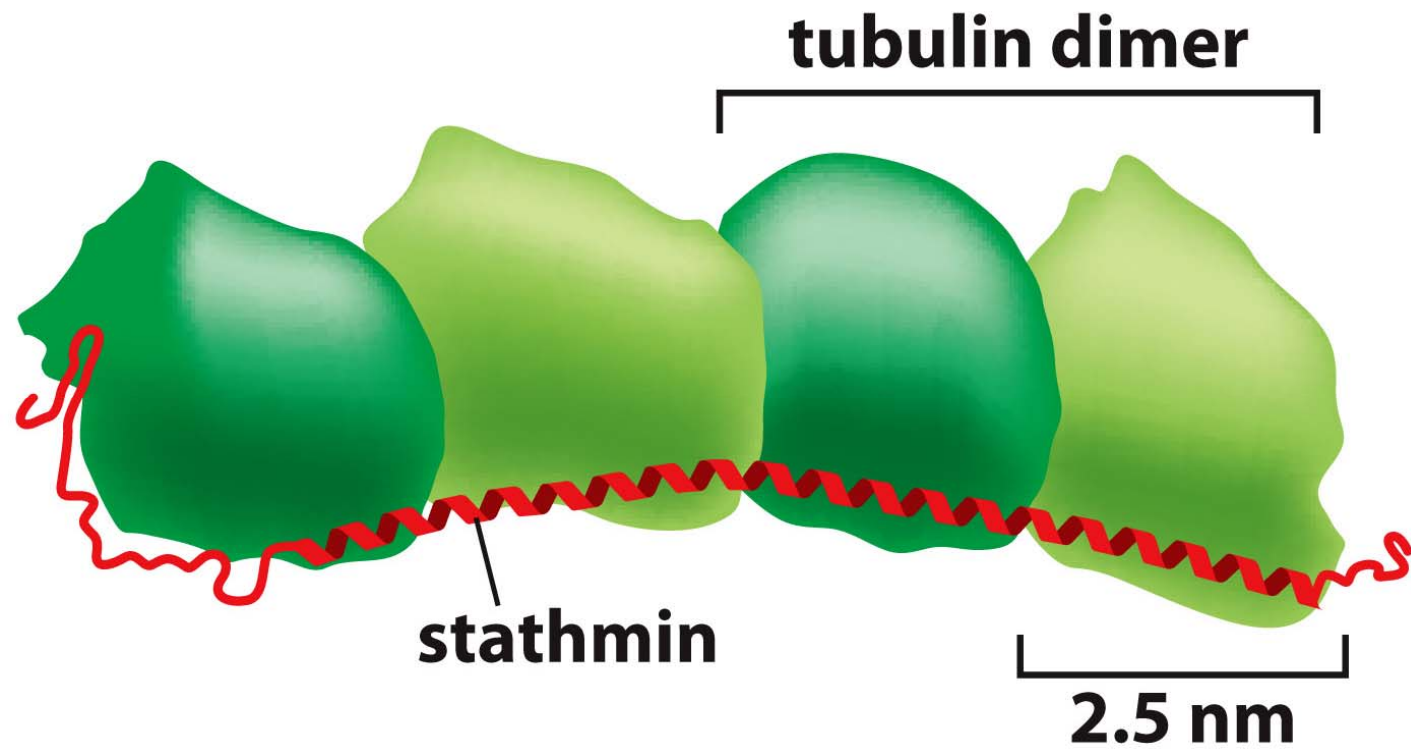


Figure 16-54 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Molekulární motory vozící vozidla po mikrotubulové silnici: kinesiny a dyneiny

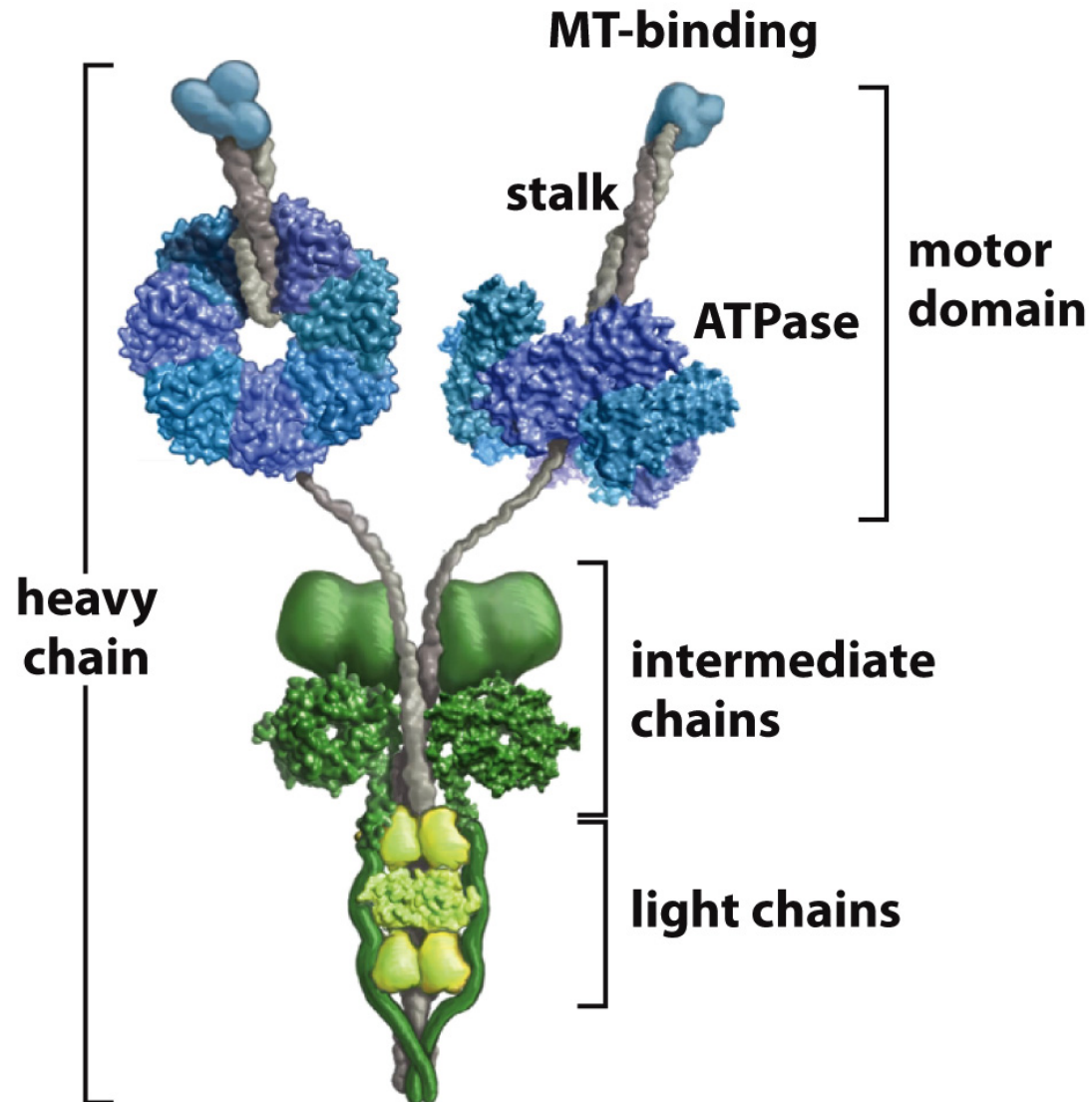


Figure 16-58b Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Proteiny asociované s mikrotubuly

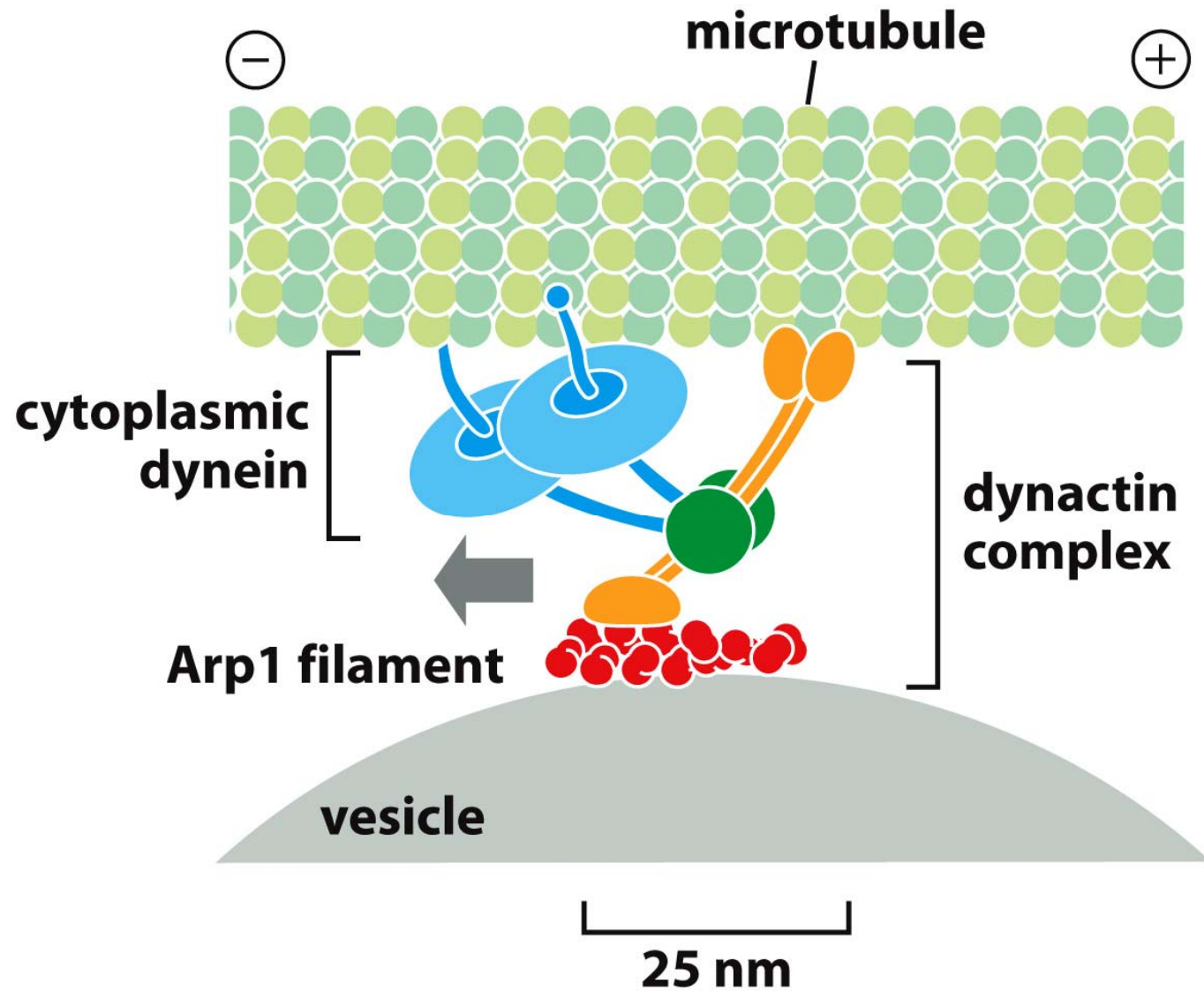


Figure 16-60 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Struktura dyneinu

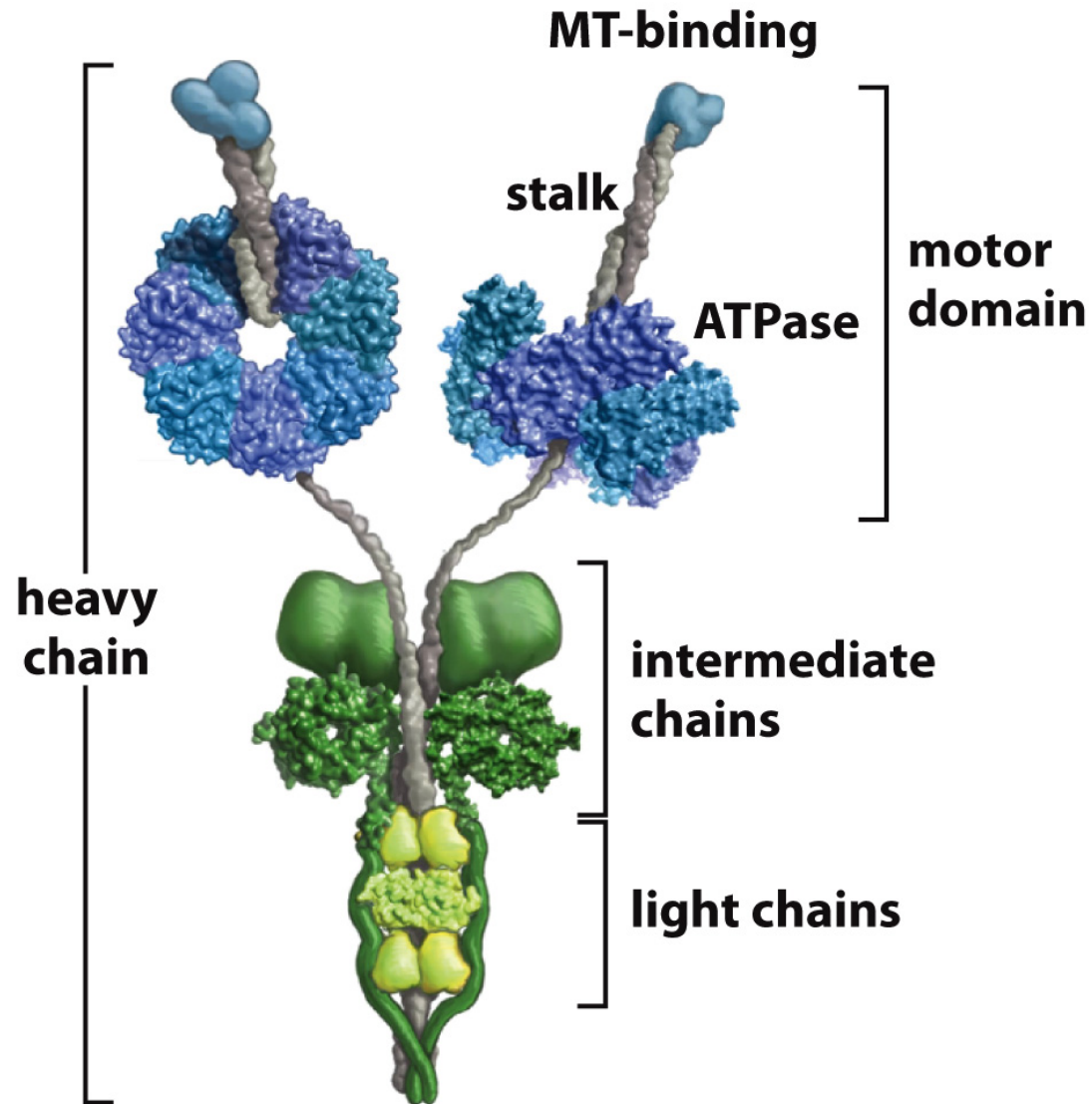


Figure 16-58b Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Funkce dyneinu v melanosomu

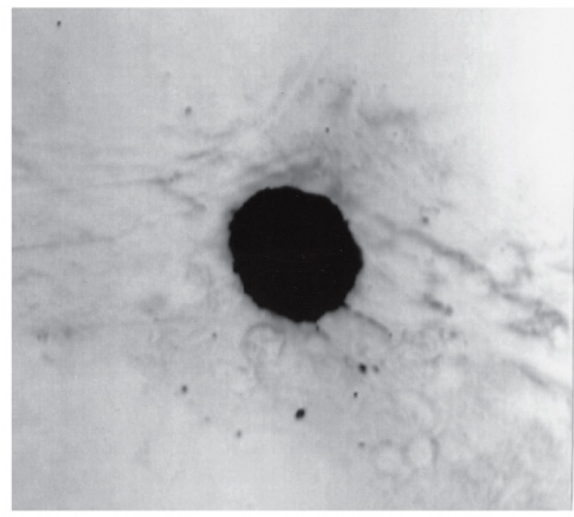
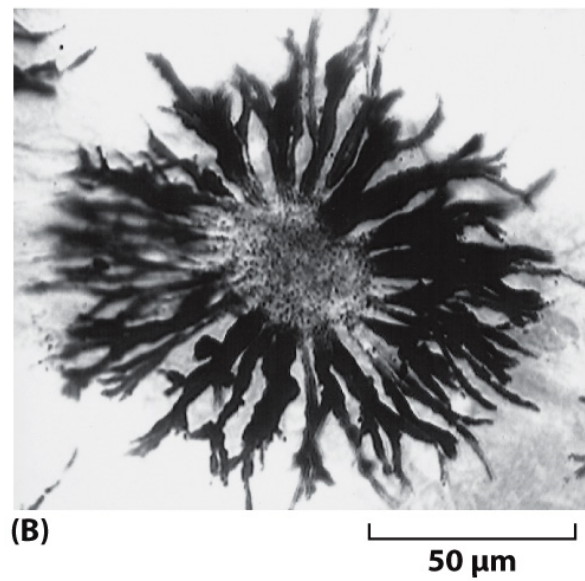
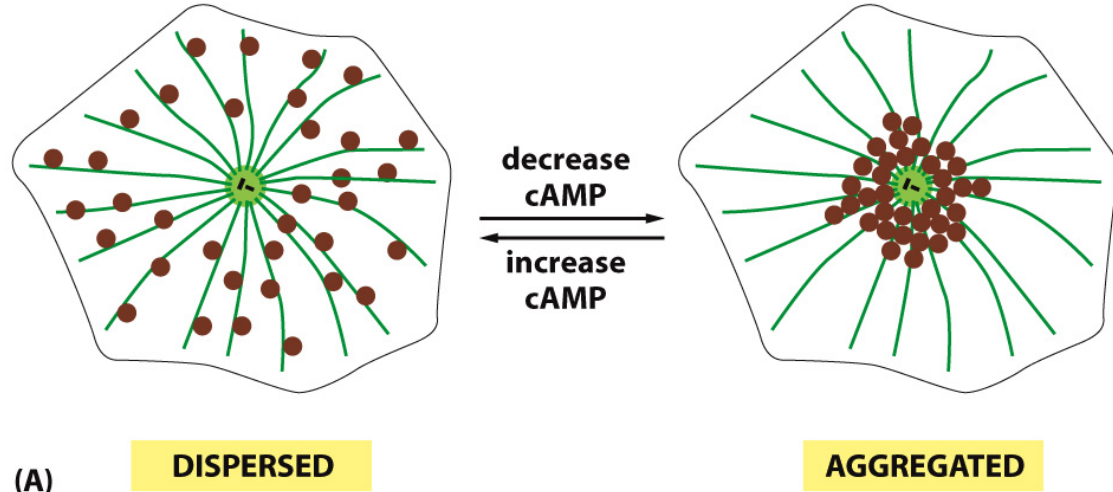
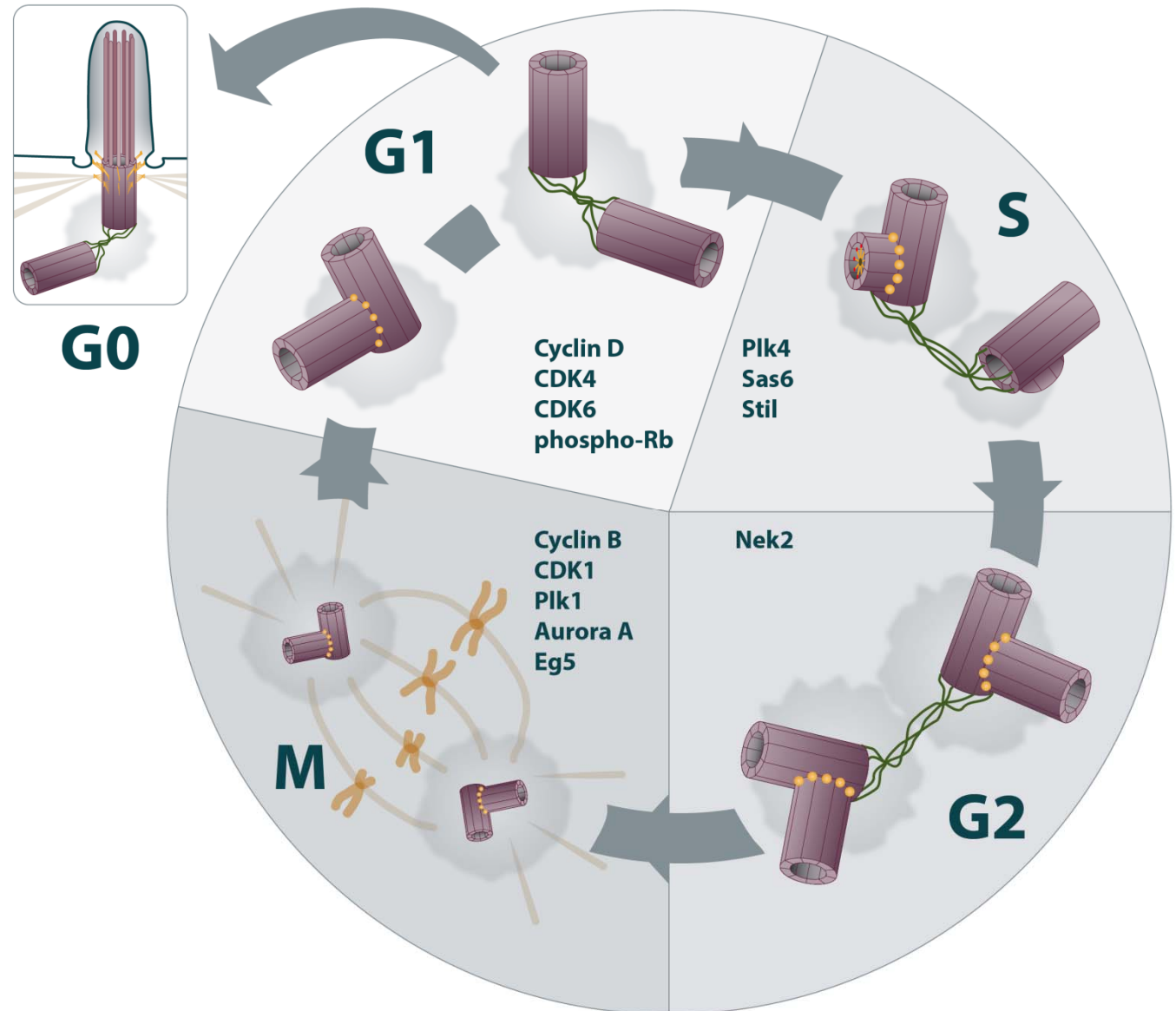


Figure 16-61 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Centrosom a jeho dynamika



Cilium (řasinka) – pohyblivá nebo primární cilium

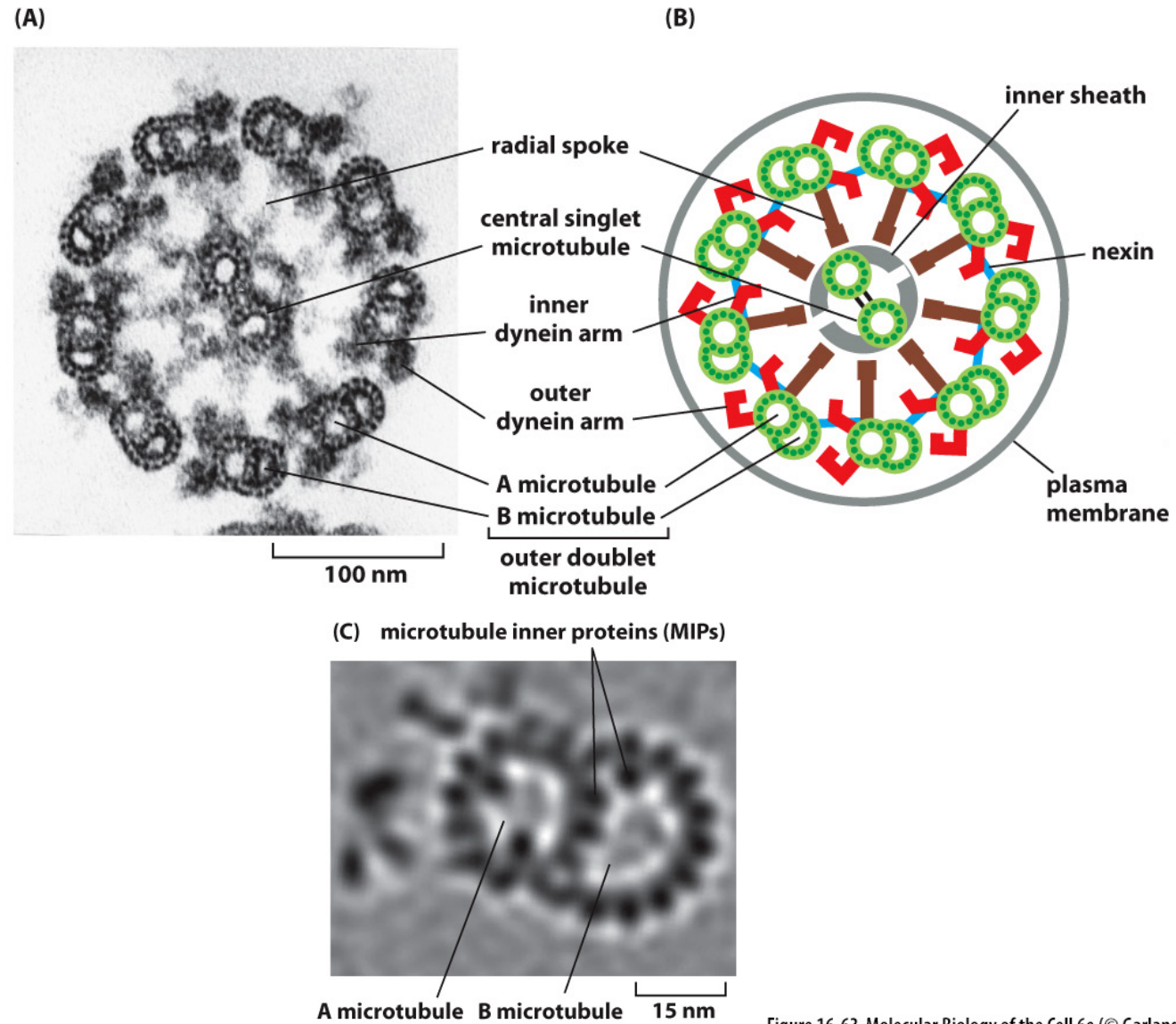


Figure 16-63 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Pohyblivé řasinky

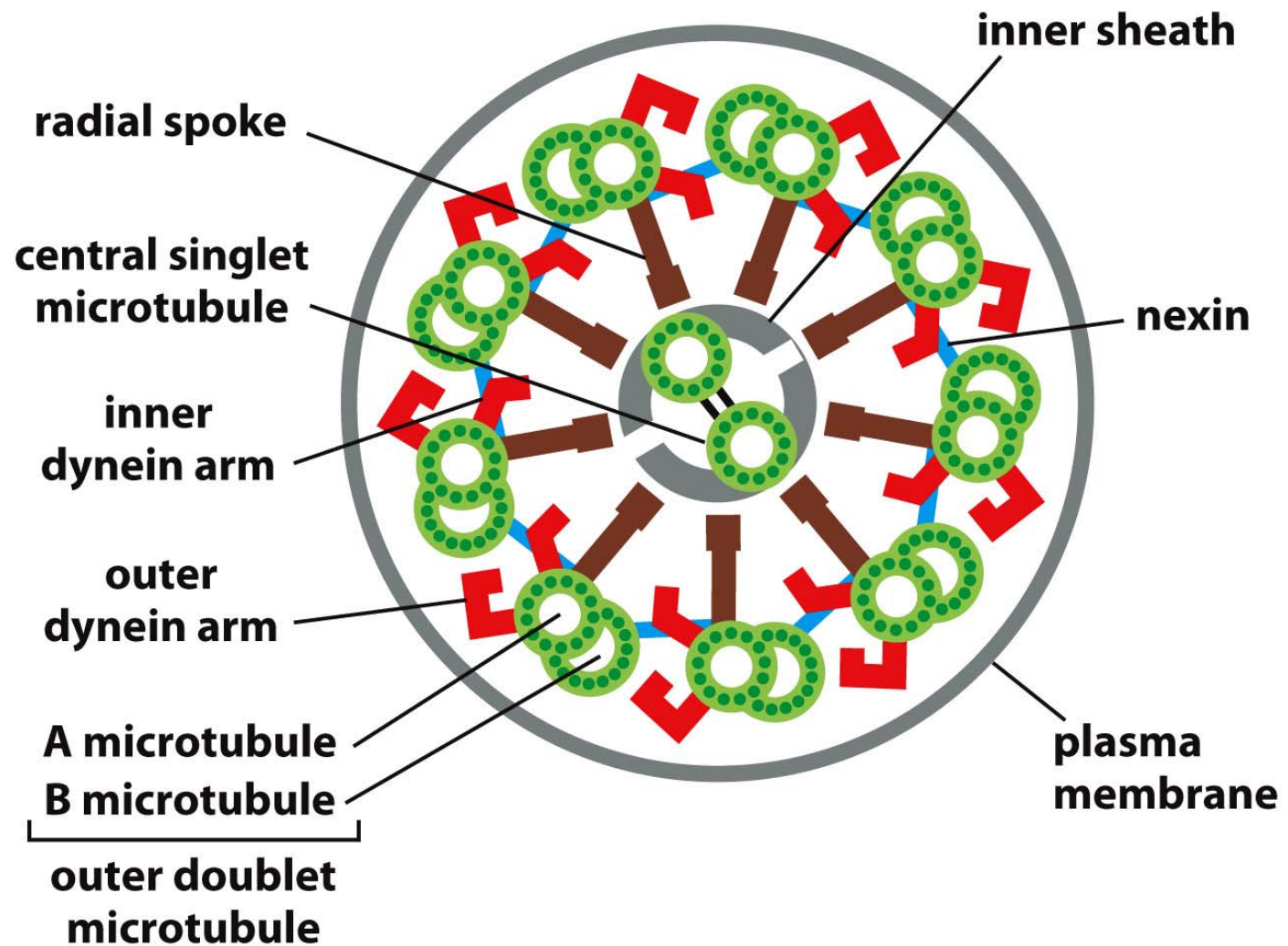


Figure 16-63b Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Proteiny asociované s mikrotubuly

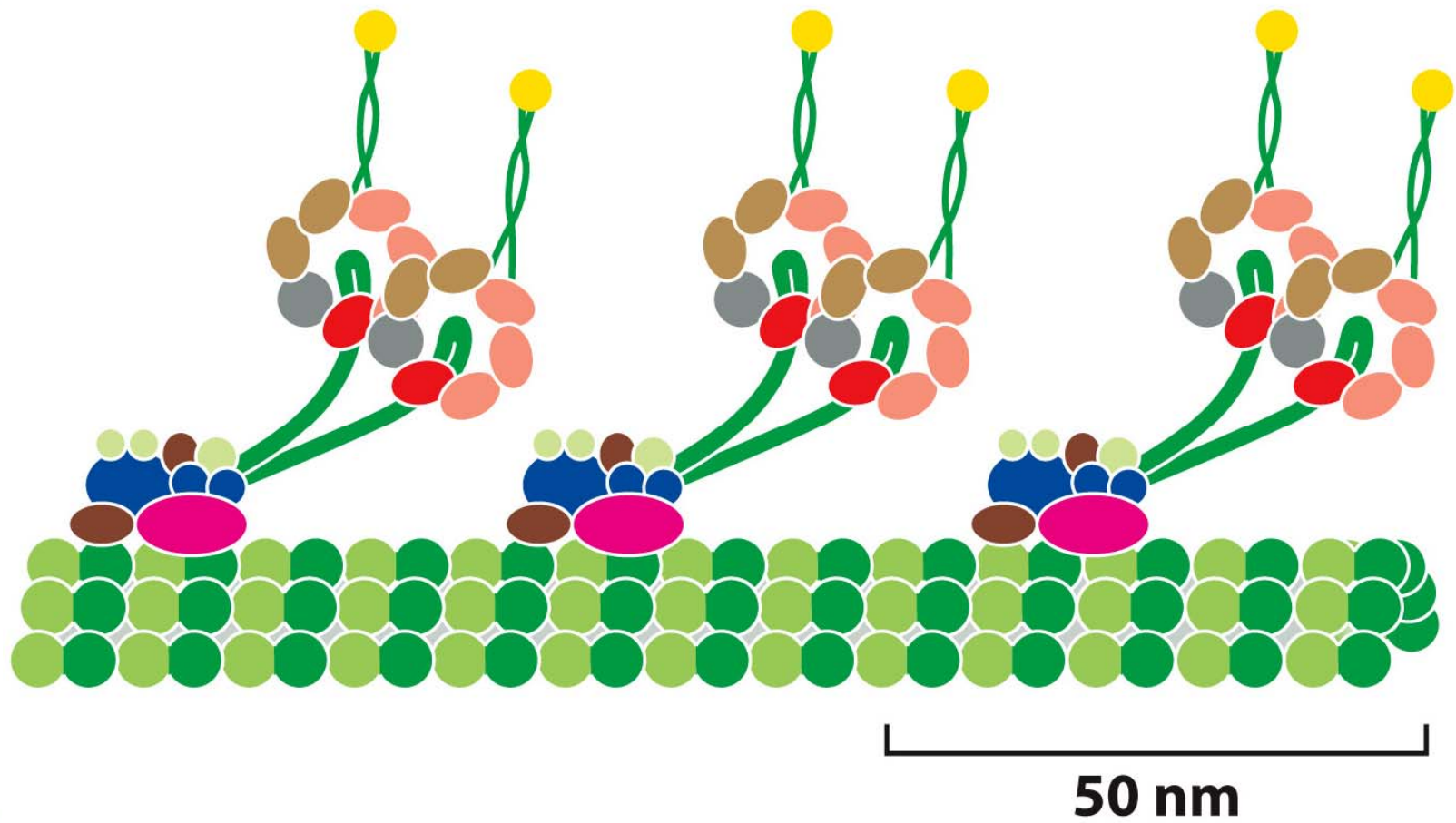


Figure 16-64a Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Proteiny asociované s mikrotubuly

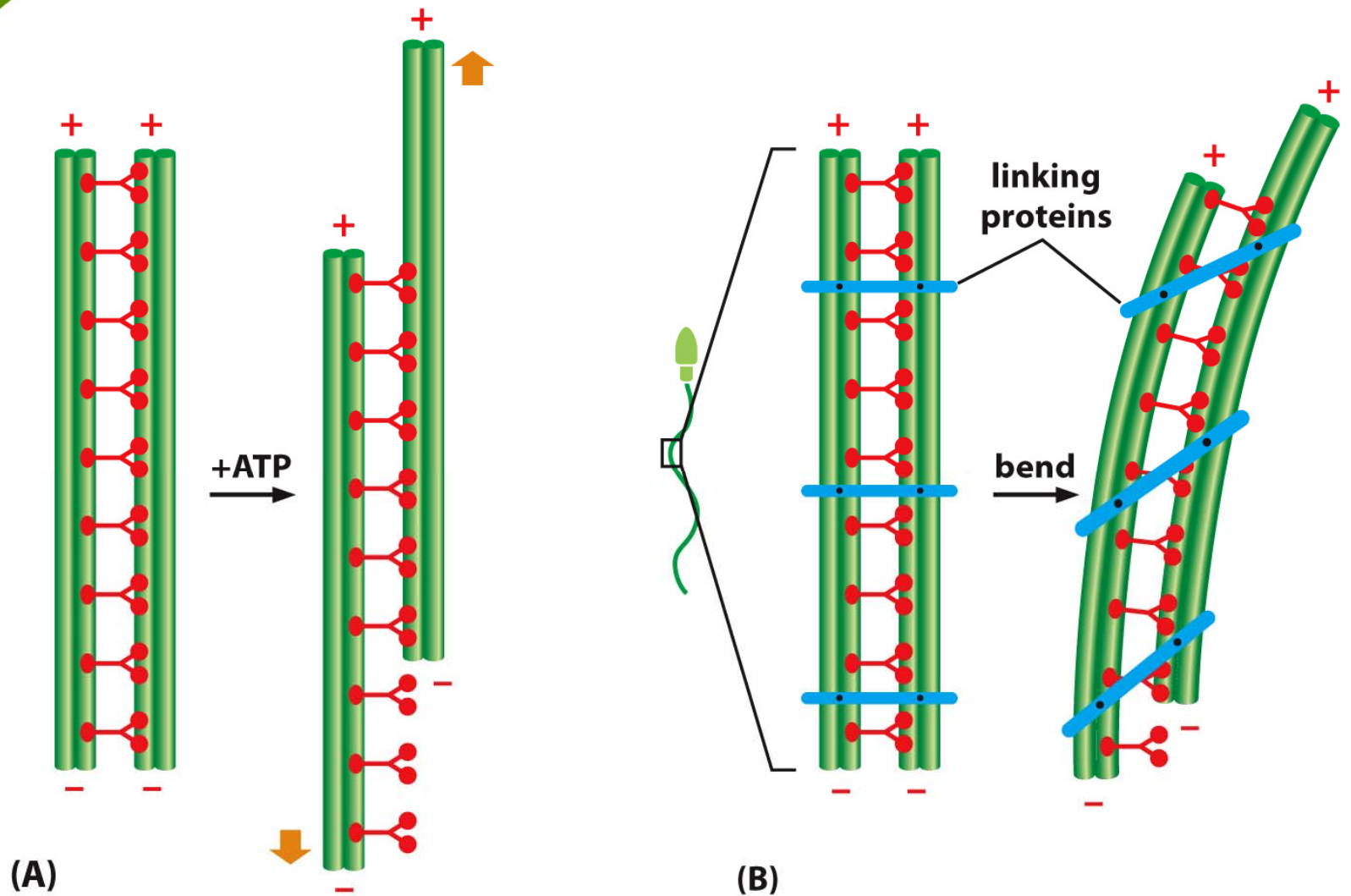


Figure 16-65 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Primární cilium – vznik bazálního tělíska a jeho ukotvení

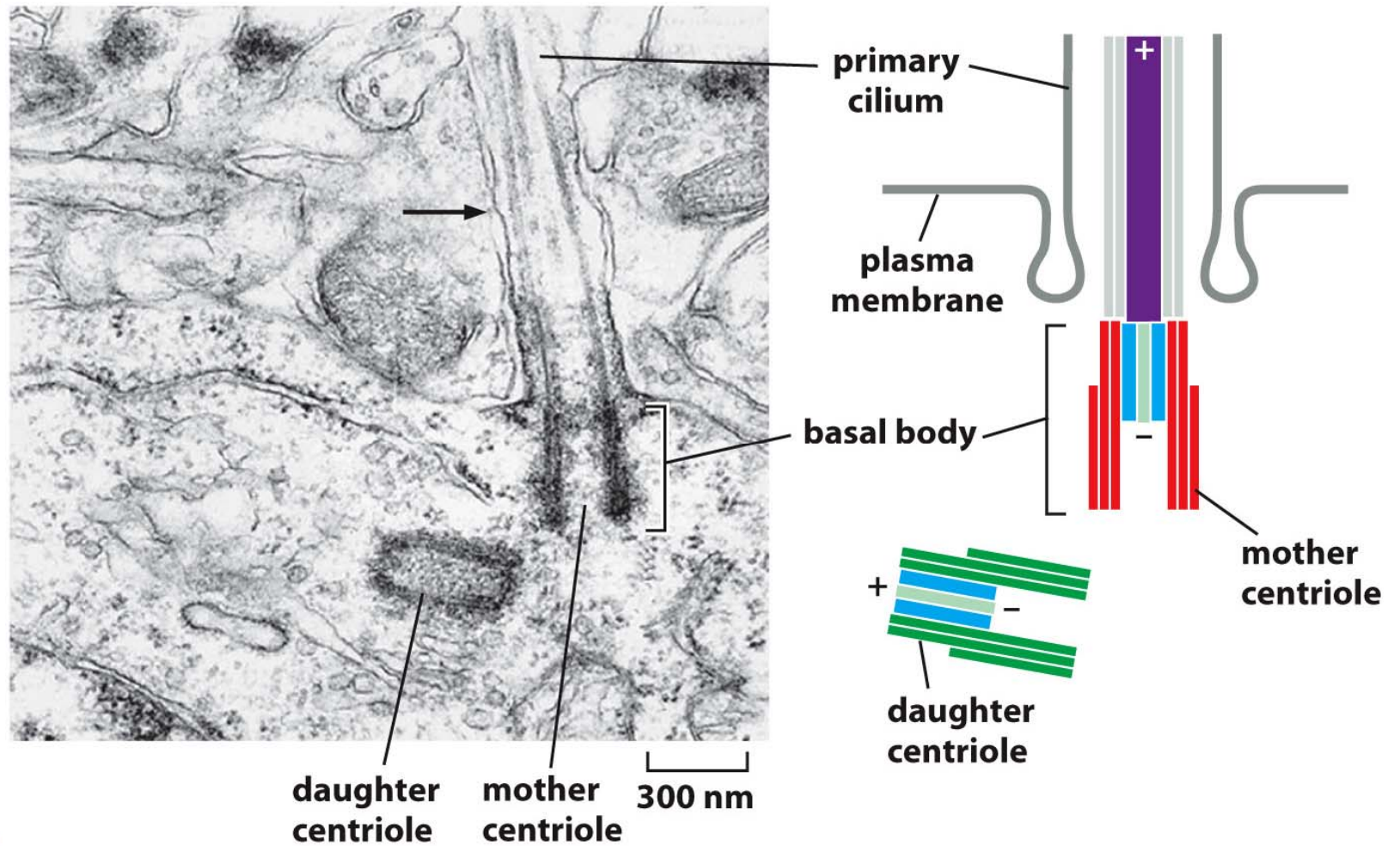
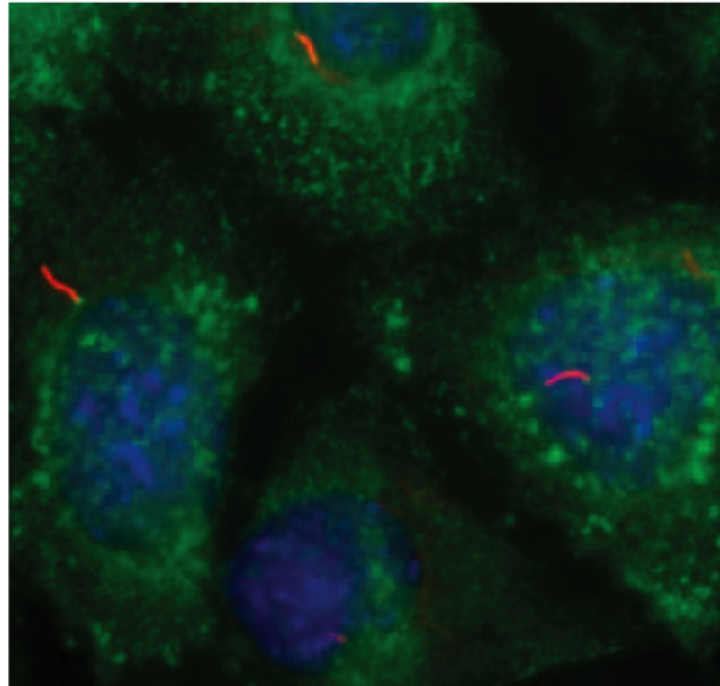


Figure 16-66a Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

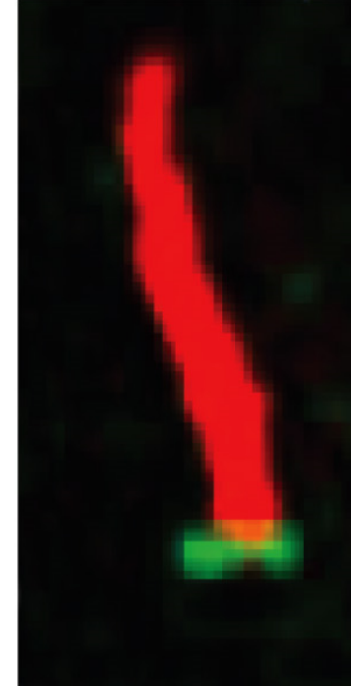
Primární cilim – obsahuje modifikovaný tubulin

(B)



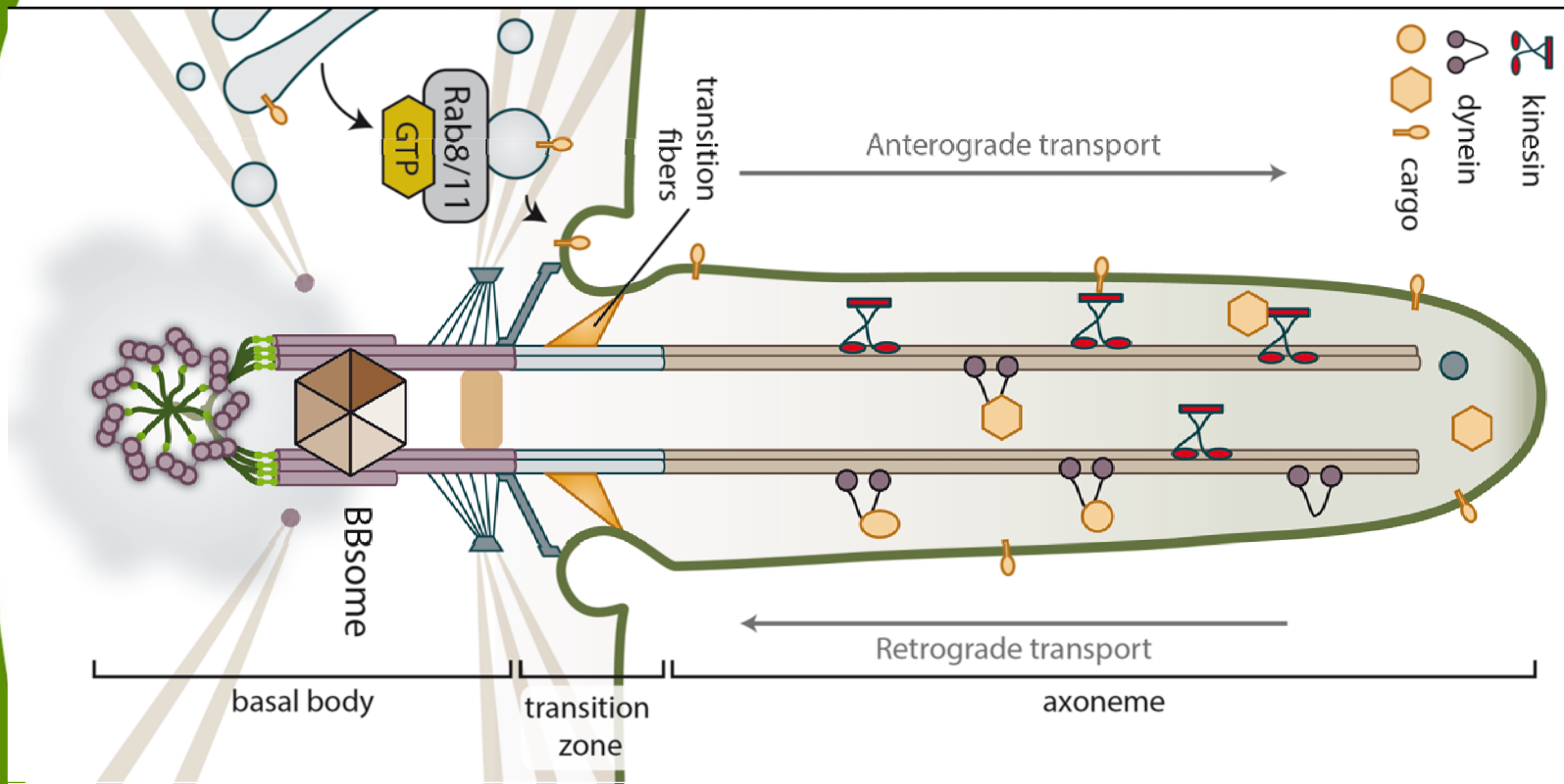
10 μm

(C)



2 μm

Primární cilim – obsahuje modifikovaný tubulin



Intermediální filamenta

- Laminy (jaderná membrána)
- Vimentin – mesenchymální buňky
- Desmin – sval
- GFAP – gliální buňky
- Keratiny – epitheliální buňky
- Neurofilamentové proteiny (NF-L atd.) - neurony

CYTOSKELET

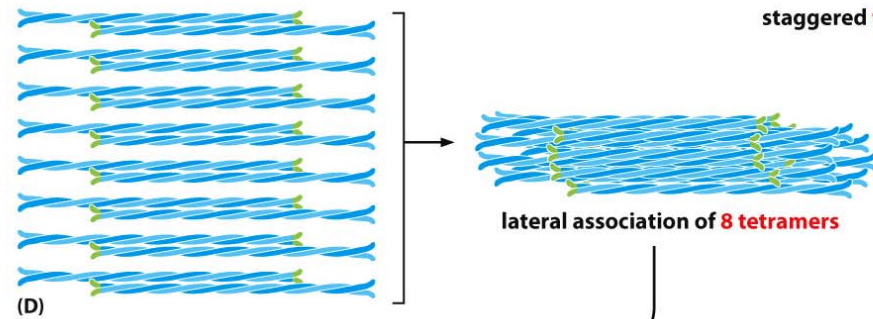
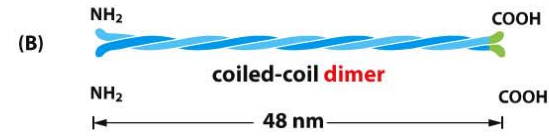
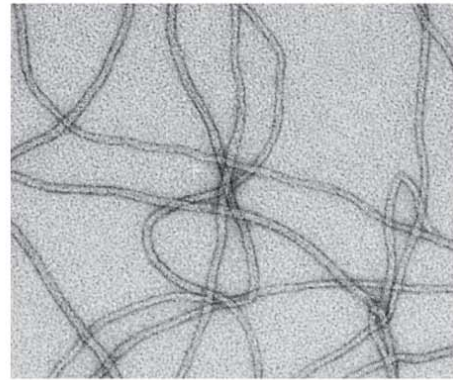
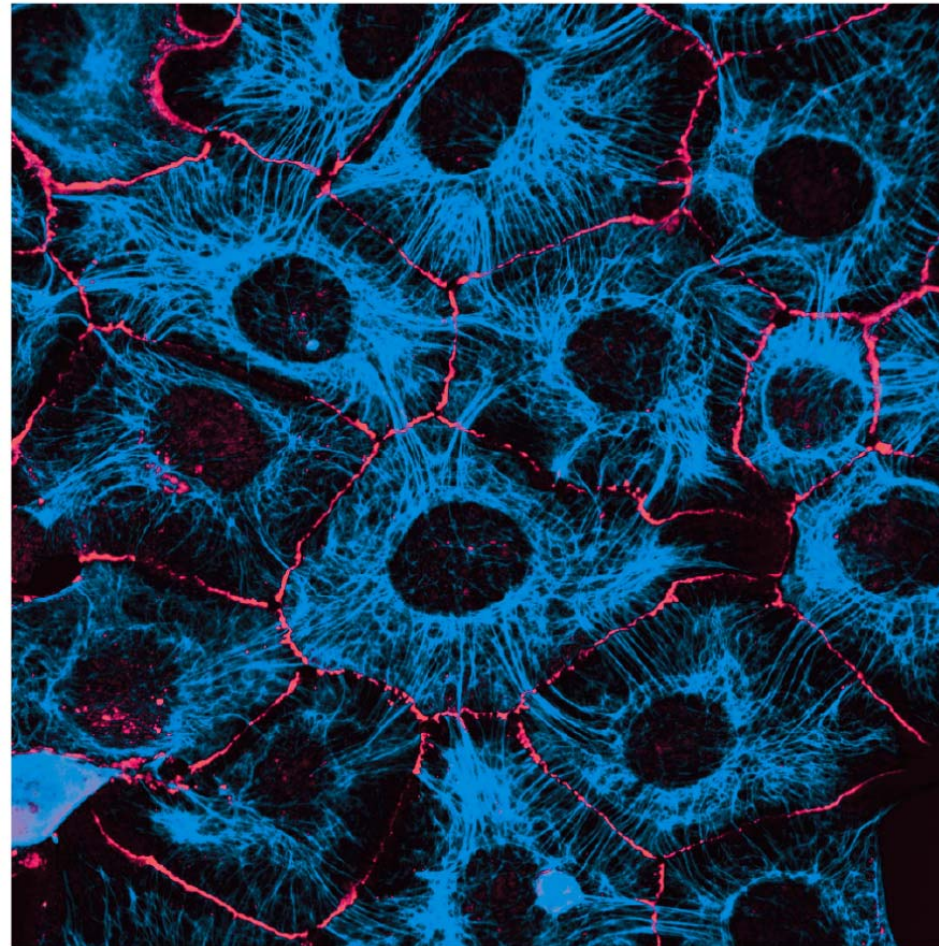


Figure 16-67 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Keratin v epiteliálních buňkách



10 μm

Figure 16-68 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

CYTOSKELET

„Spojovací“ proteiny

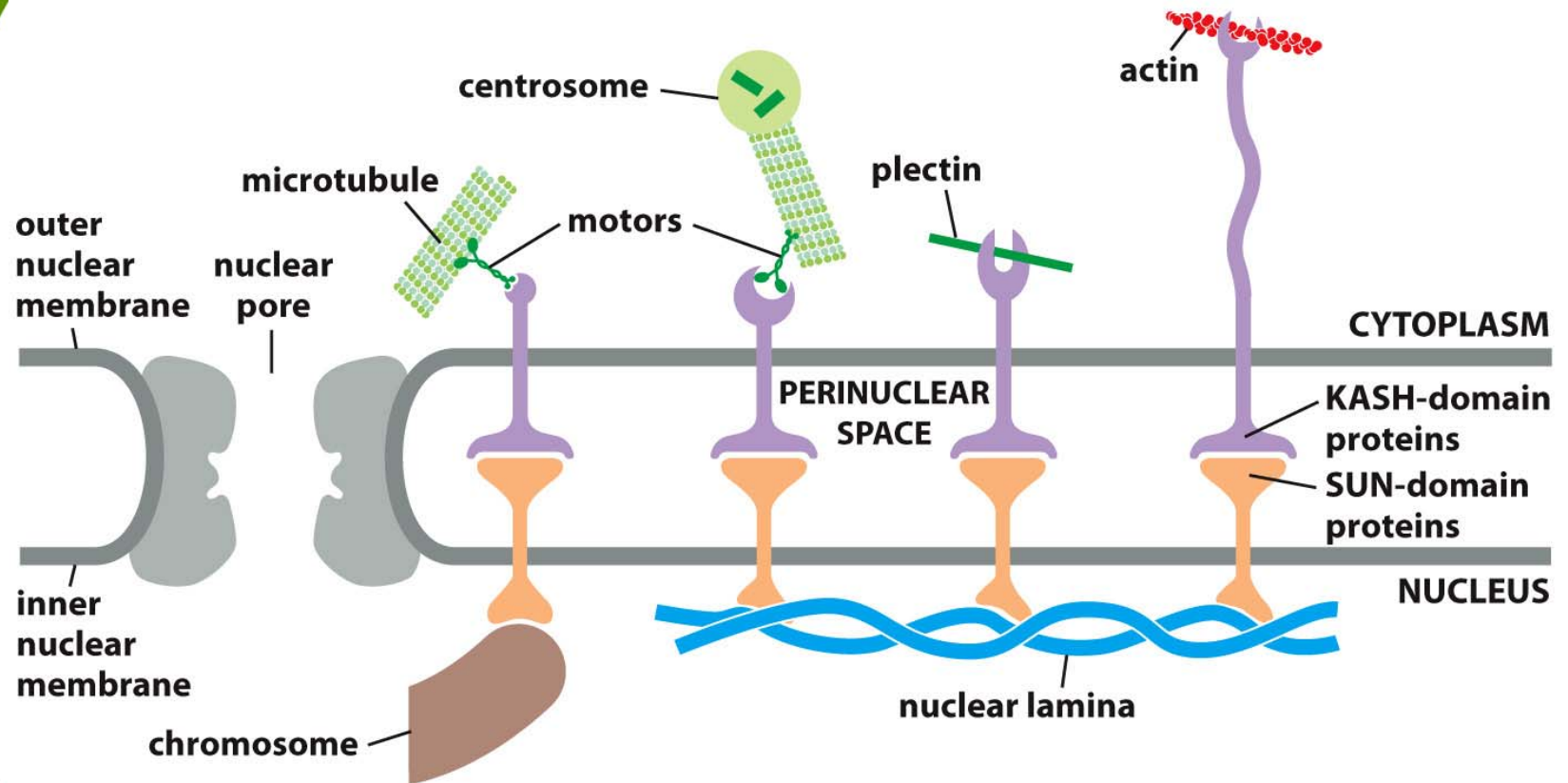


Figure 16-72 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

CYTOSKELET

Konec prvního dílu

CYTOSKELET

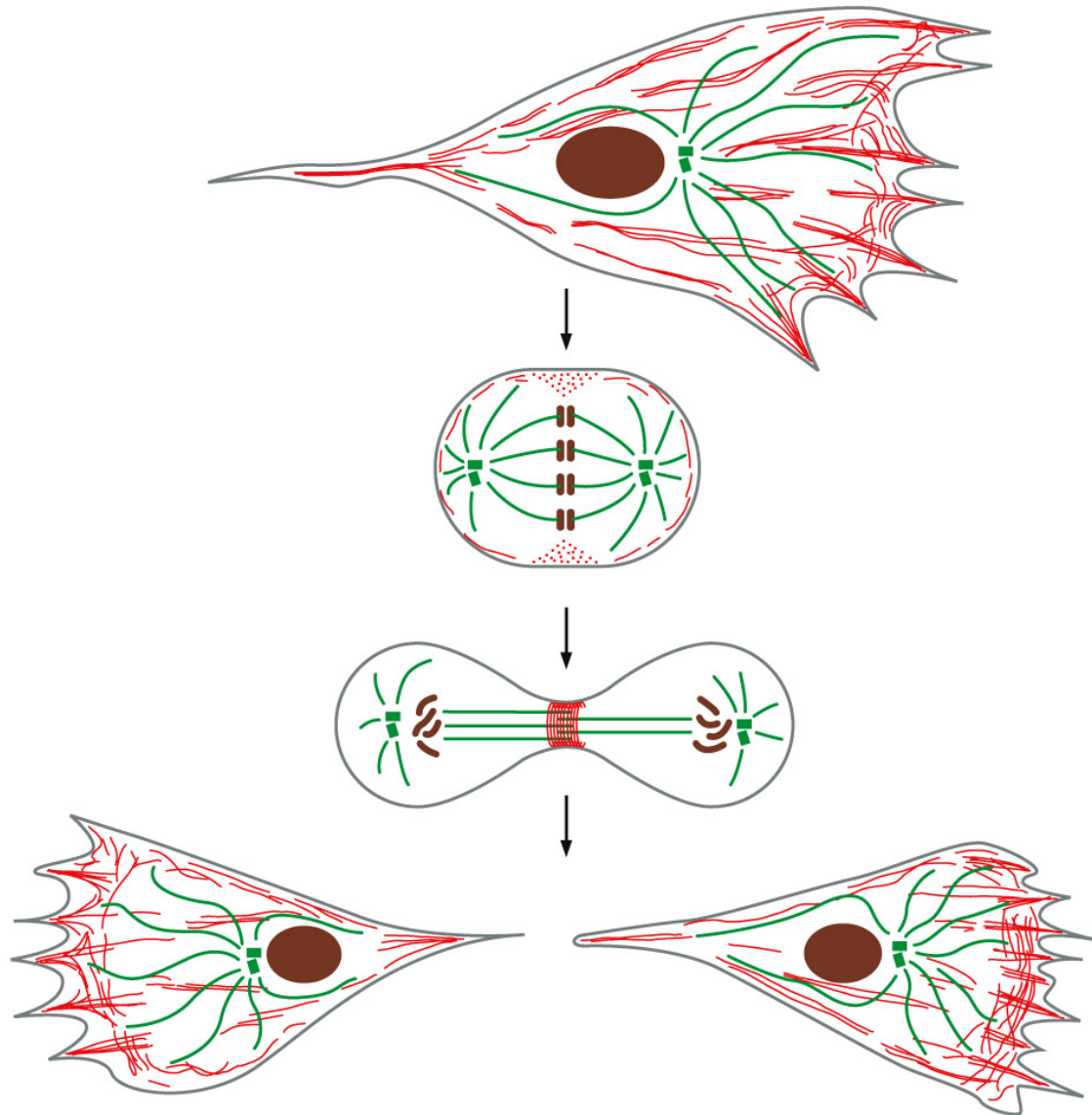


Figure 16-2 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

CYTOSKELEET

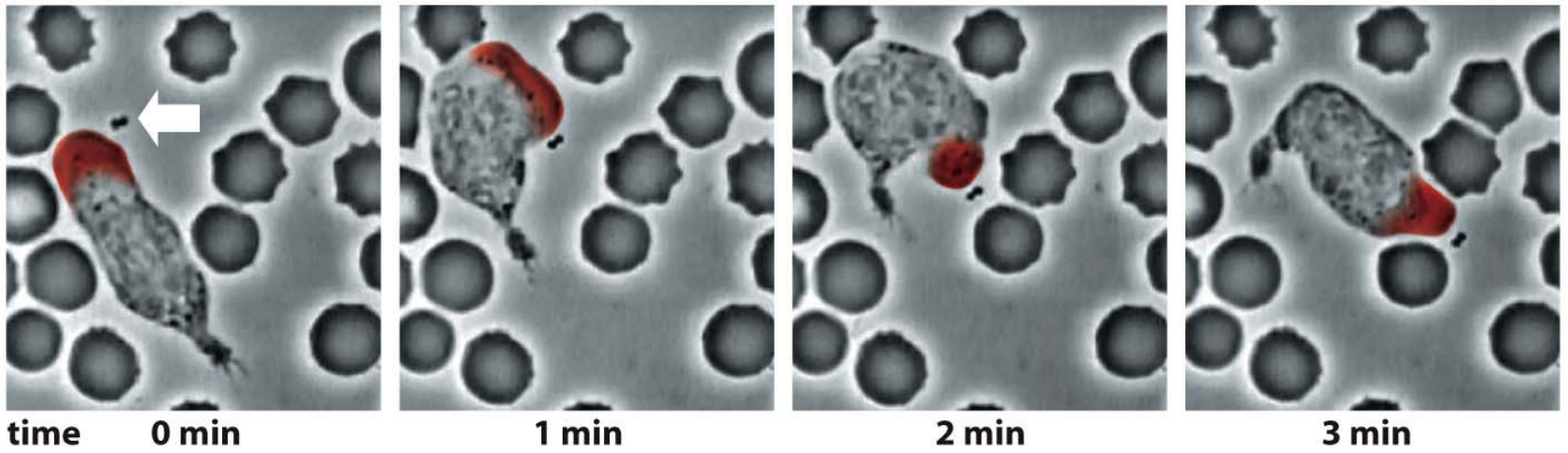
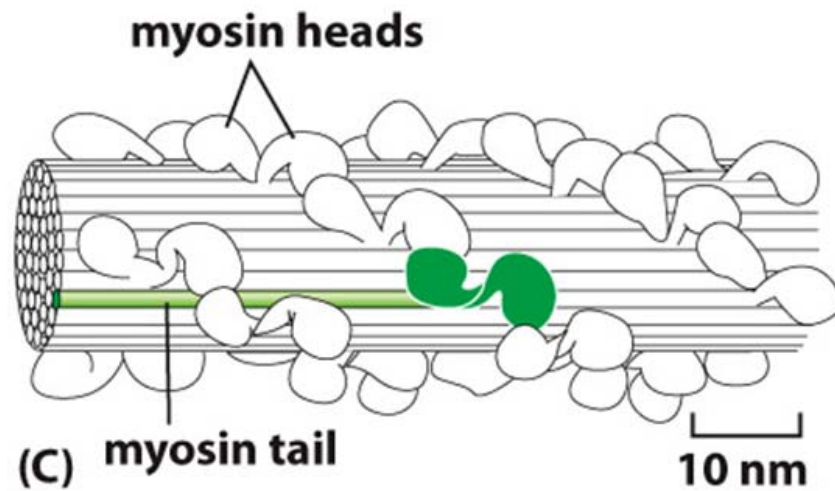
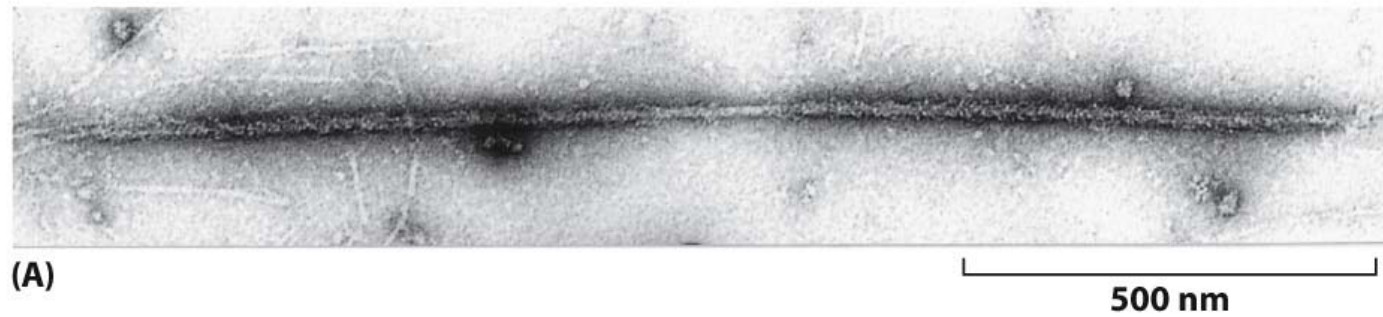
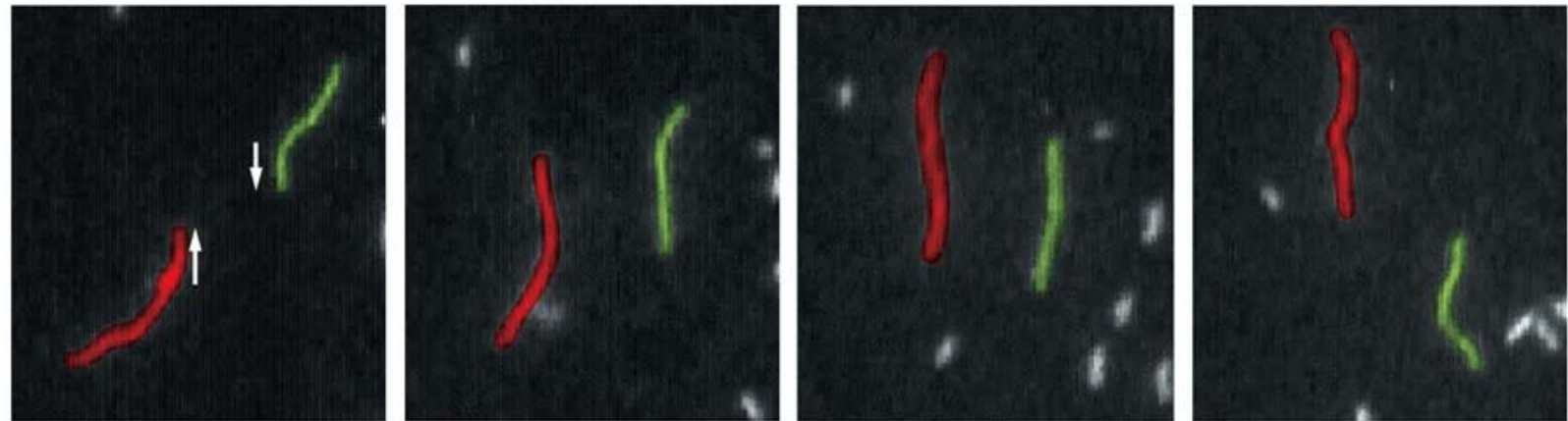


Figure 16-3 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Jak funguje svalový stah?

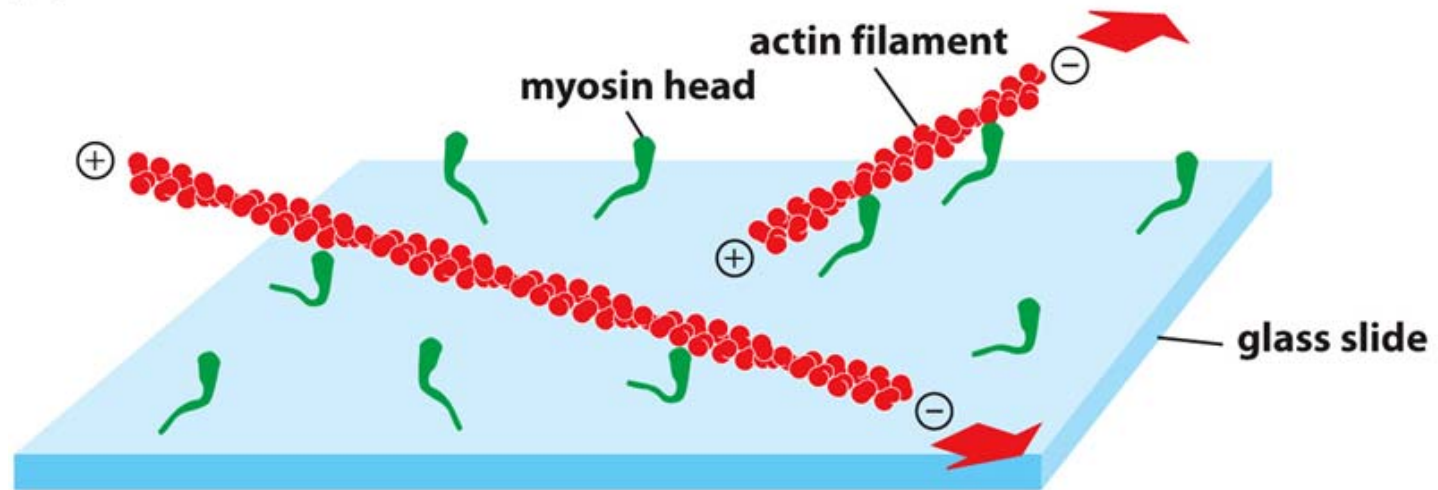


Jak funguje svalový stah?



(A)

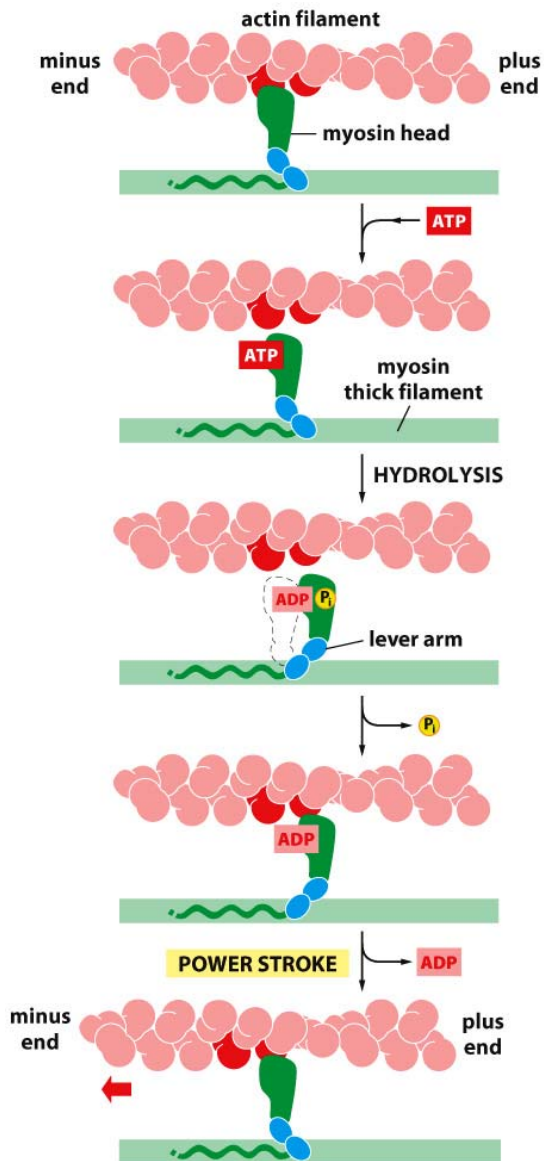
5 μm



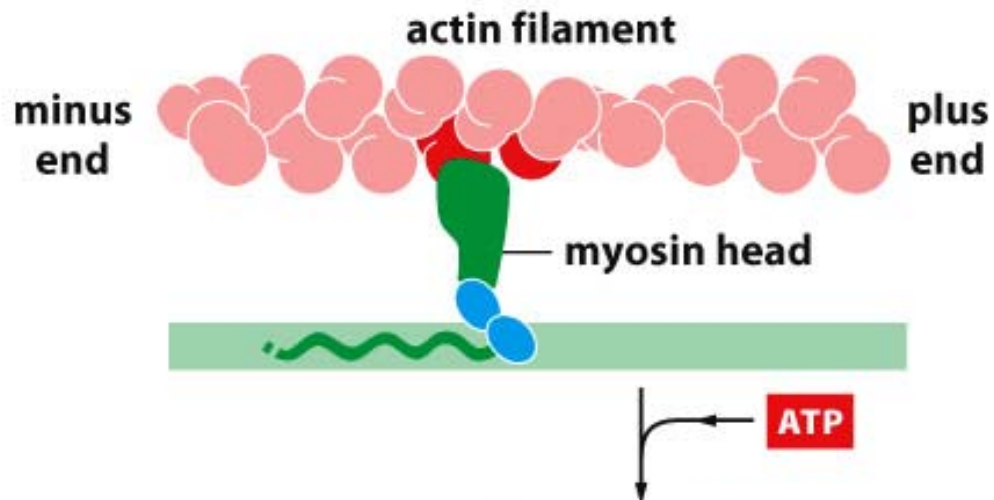
(B)

Figure 16-28 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Jak funguje svalový stah?

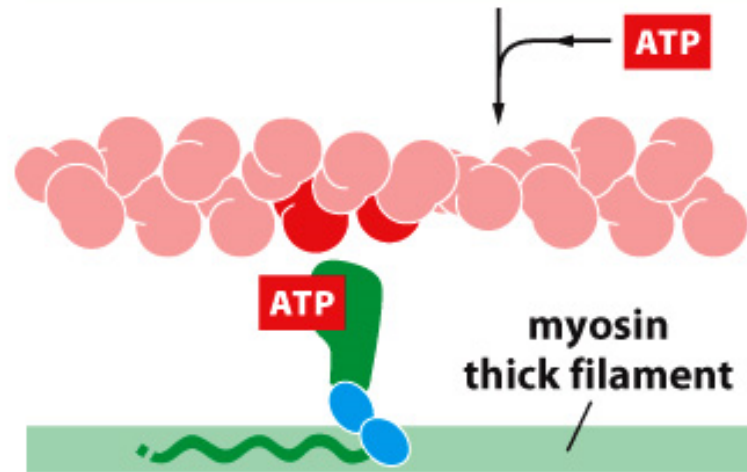


Jak funguje svalový stah?



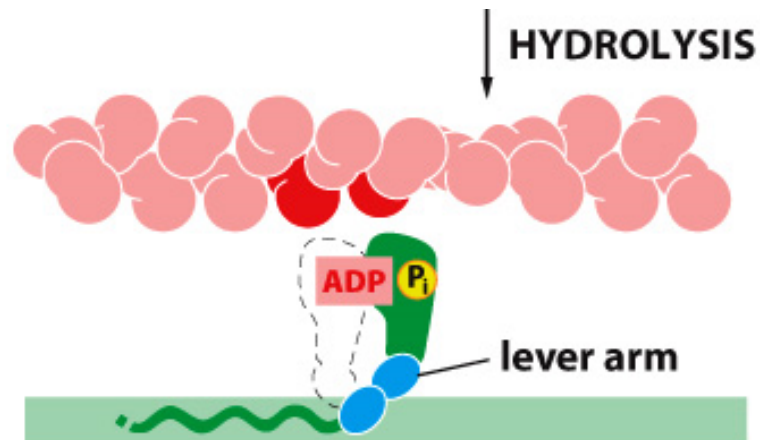
- na začátku cyklu je myosinová hlavička bez navázaného nukleotidu pevně semknuta s aktinovým filamentem (angl. rigor configuration → rigor mortis)
- v aktivně pracujícím svalu je tento stav velmi krátkodobý a je rychle ukončen navázáním molekuly ATP

Jak funguje svalový stah?



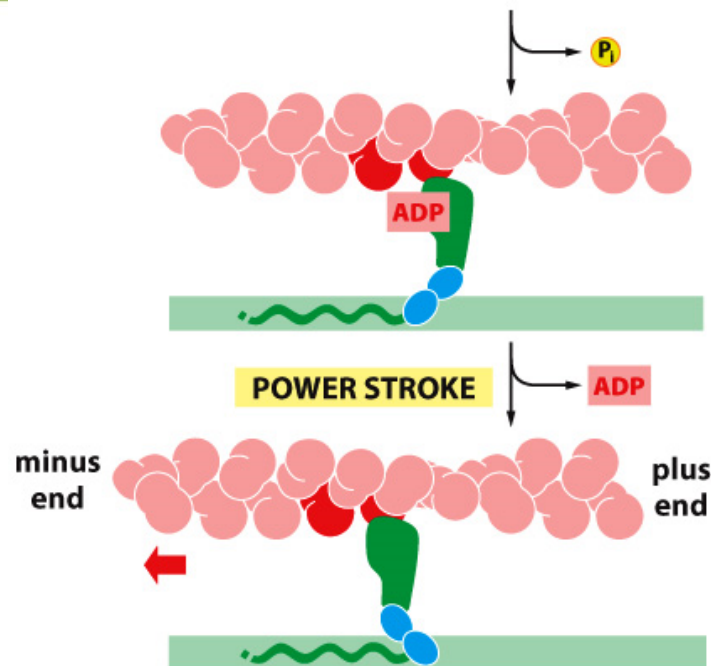
- molekula ATP se váže do velkého záhybu na zadní straně hlavičky myosinu (na nejvzdálenější místo od aktin. filamenta) a způsobuje nepatrnou změnu konformace místa, kde se k myosinu váže aktin, čímž sníží afinitu hlavičky myosinu k aktinu a umožní pohyb podél filamenta

Jak funguje svalový stah?



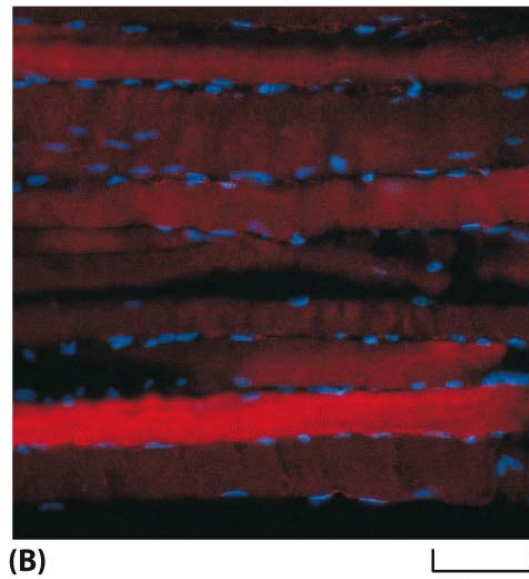
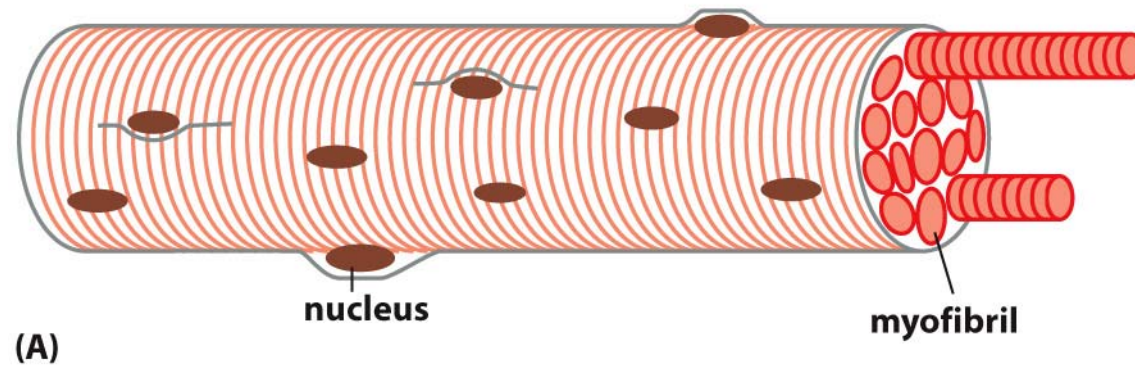
- záhyb na myosinu se jako mušle uzavírá okolo molekuly ATP, spouští se pohyb levého ramena myosinu, které posouvá hlavičku myosinu podél aktinového filamenta o vzdálenost přibližně 5 nm
- nastává hydrolýza ATP, ale ADP a anorg. fosfát stále zůstávají připojeny k myosinu

Jak funguje svalový stah?



- slabá vazba myosinu k novému místu na aktinovém filamentu způsobí uvolnění anorg. fosfátu, čímž se zesílí vazba myosinu k aktinovému filamentu
- uvolnění anorg. fosfátu vede ke změně tvaru myosinu - nabývá původní konformace, ztrácí ADP a svalový stah se vrací na začátek cyklu (ale nacházíme se o kus dál na aktinovém filamentu)

Jak funguje svalový stah?



50 μm Figure 16-31 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Jak funguje svalový stah?

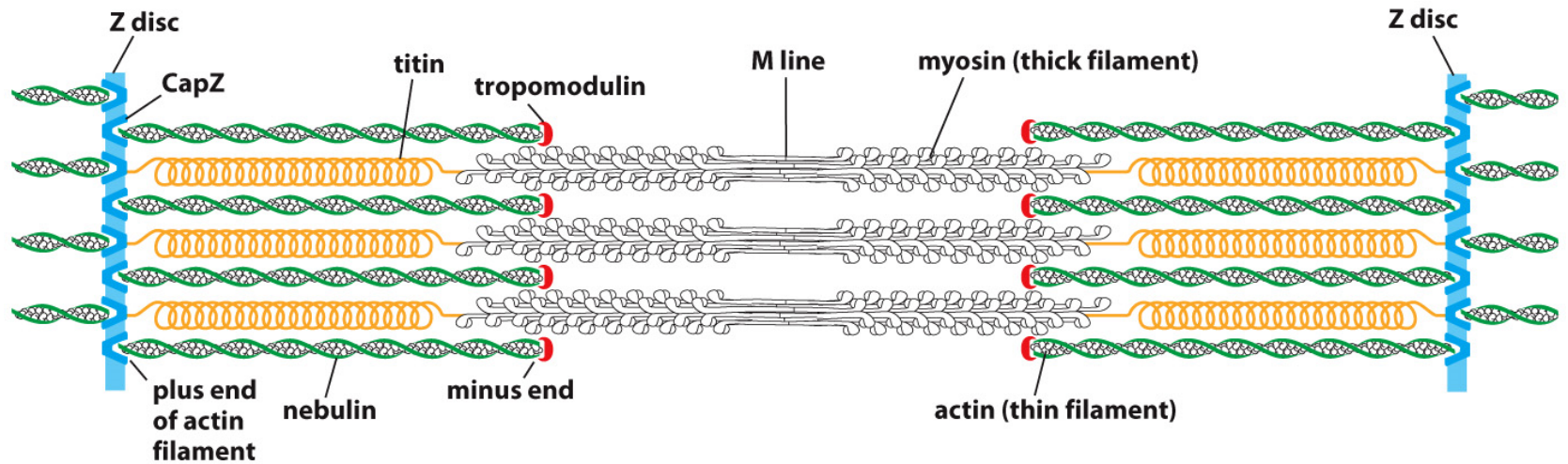
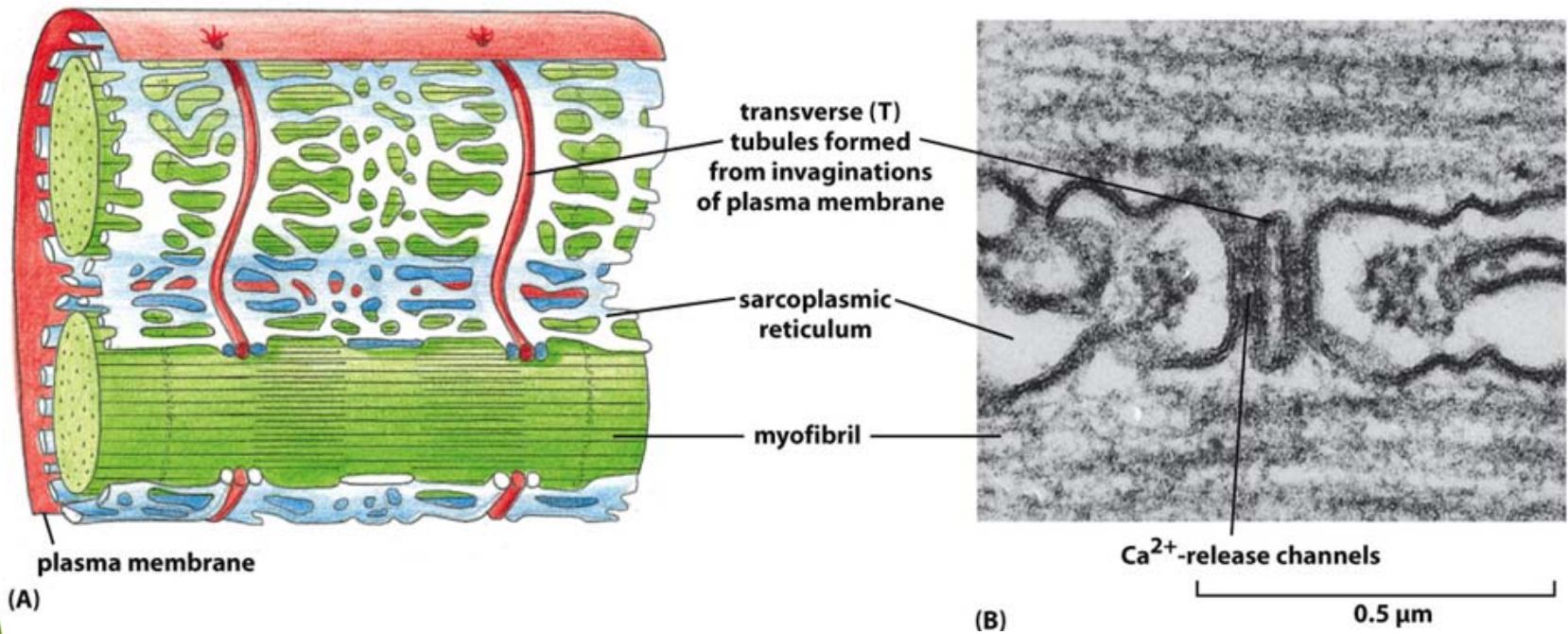
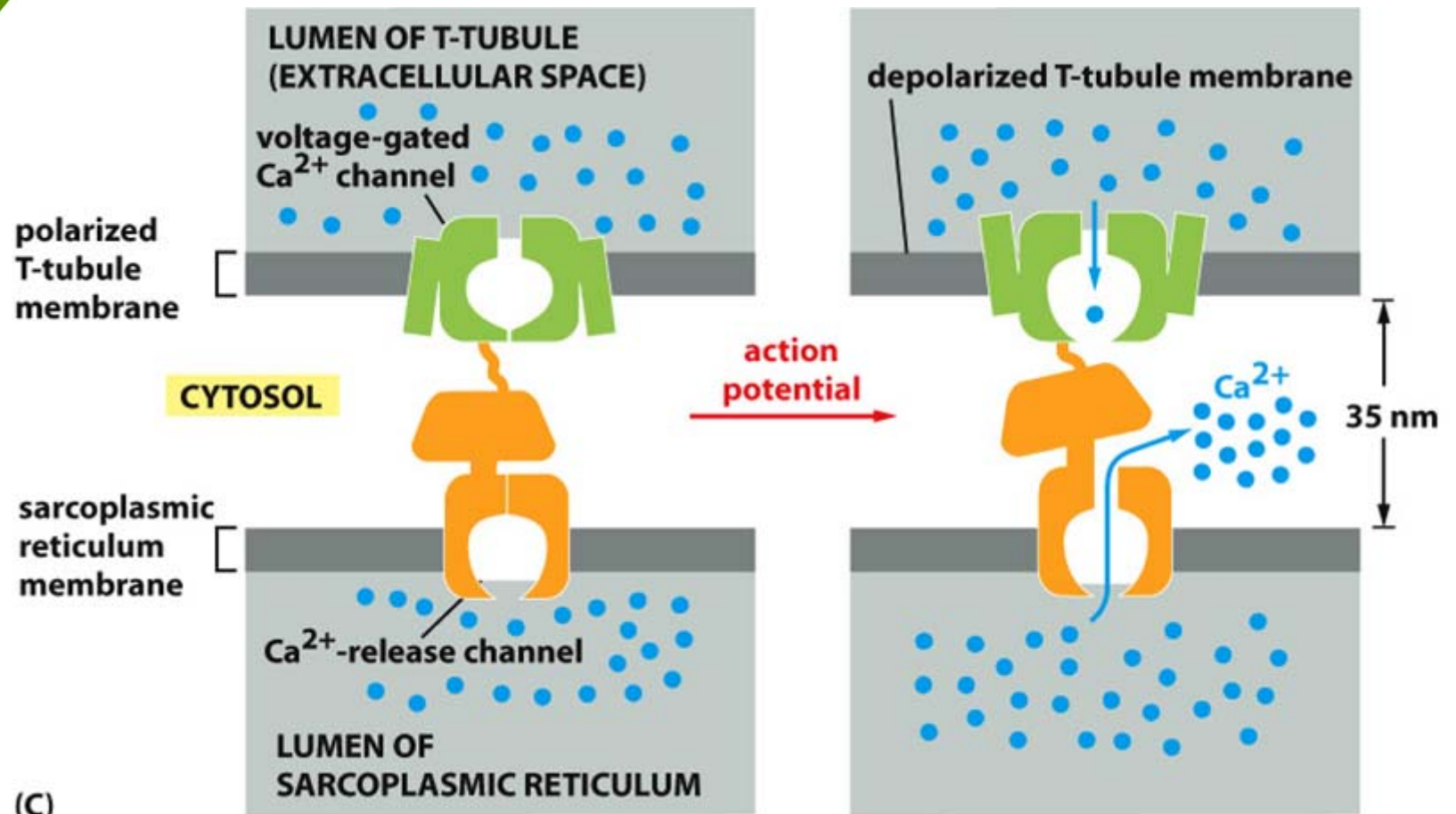


Figure 16-34 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Jak funguje svalový stah?



Jak funguje svalový stah?



(C)

Figure 16-35 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Jak funguje svalový stah?

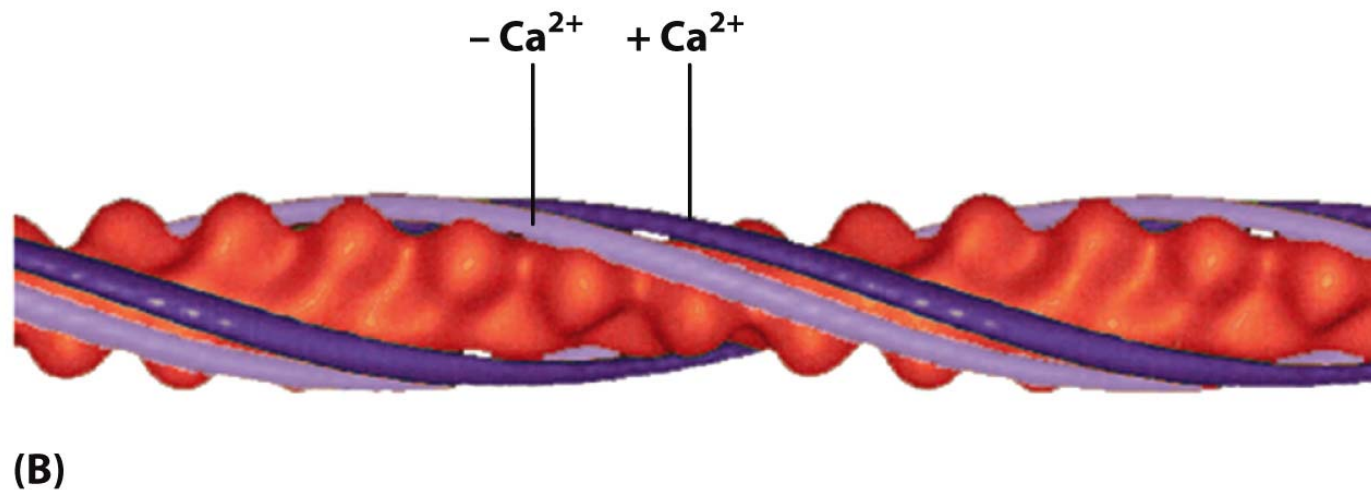
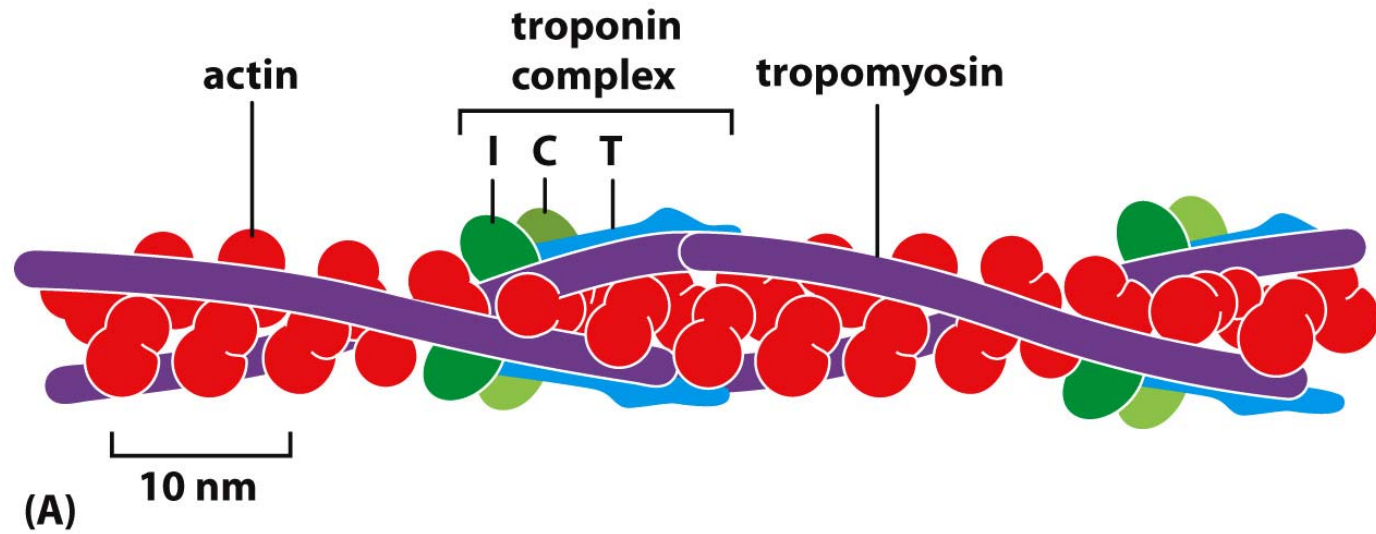


Figure 16-36 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Jak funguje svalový stah?

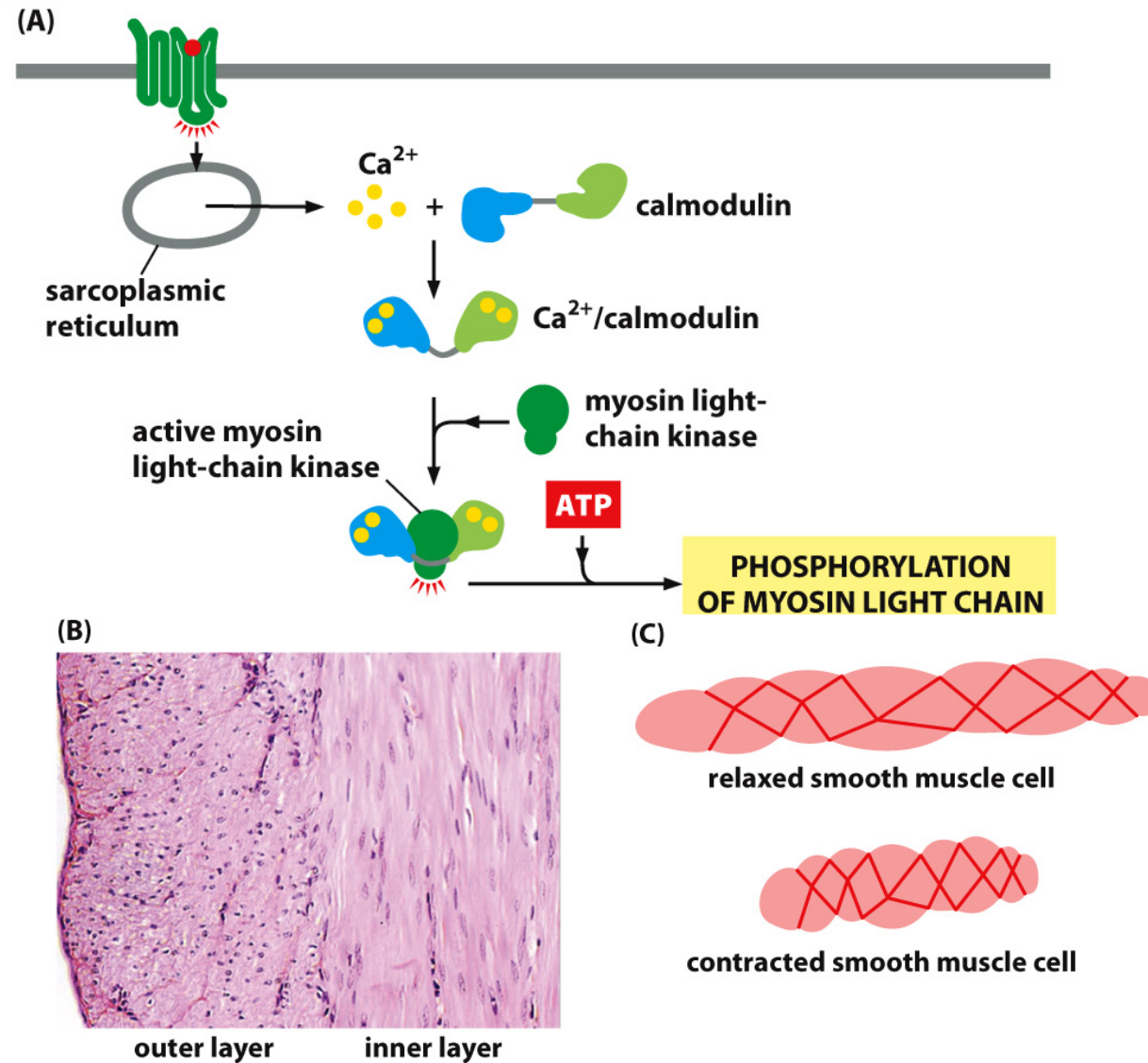


Figure 16-37 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Jak funguje svalový stah?

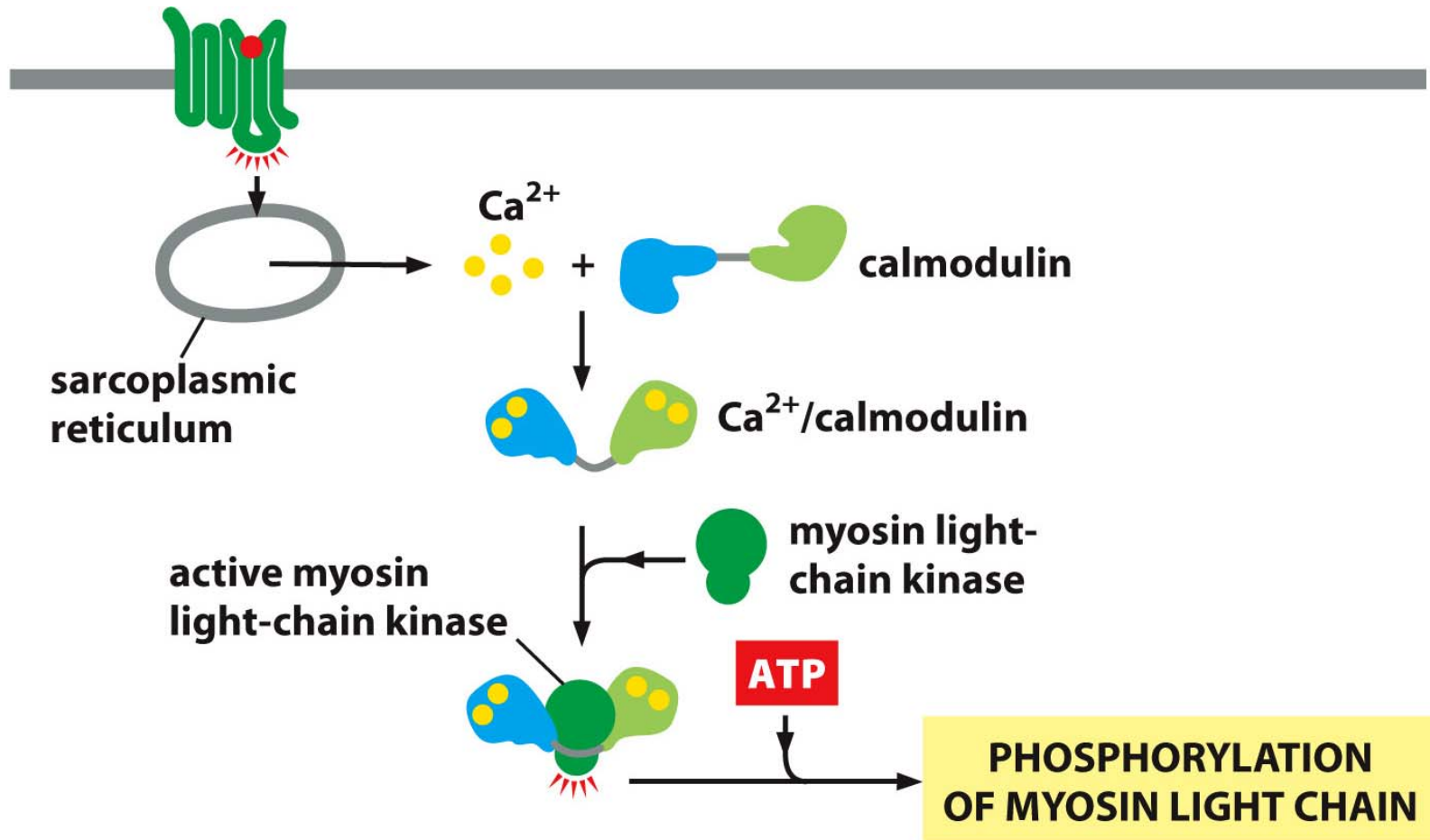
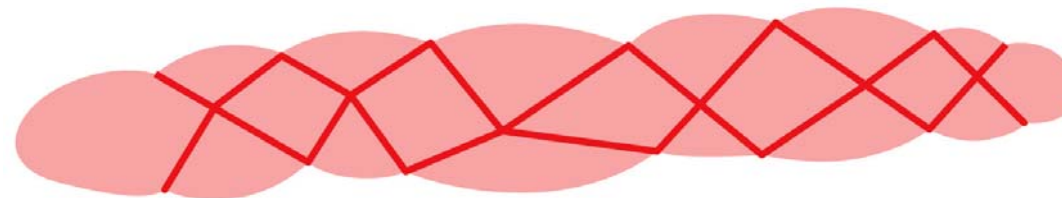
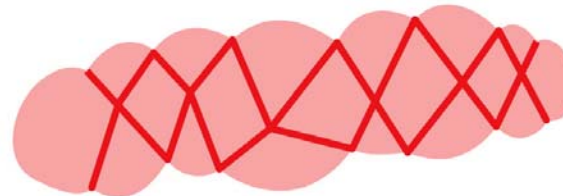


Figure 16-37a Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Jak funguje svalový stah?



relaxed smooth muscle cell



contracted smooth muscle cell

Figure 16-37c Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Jak funguje svalový stah?

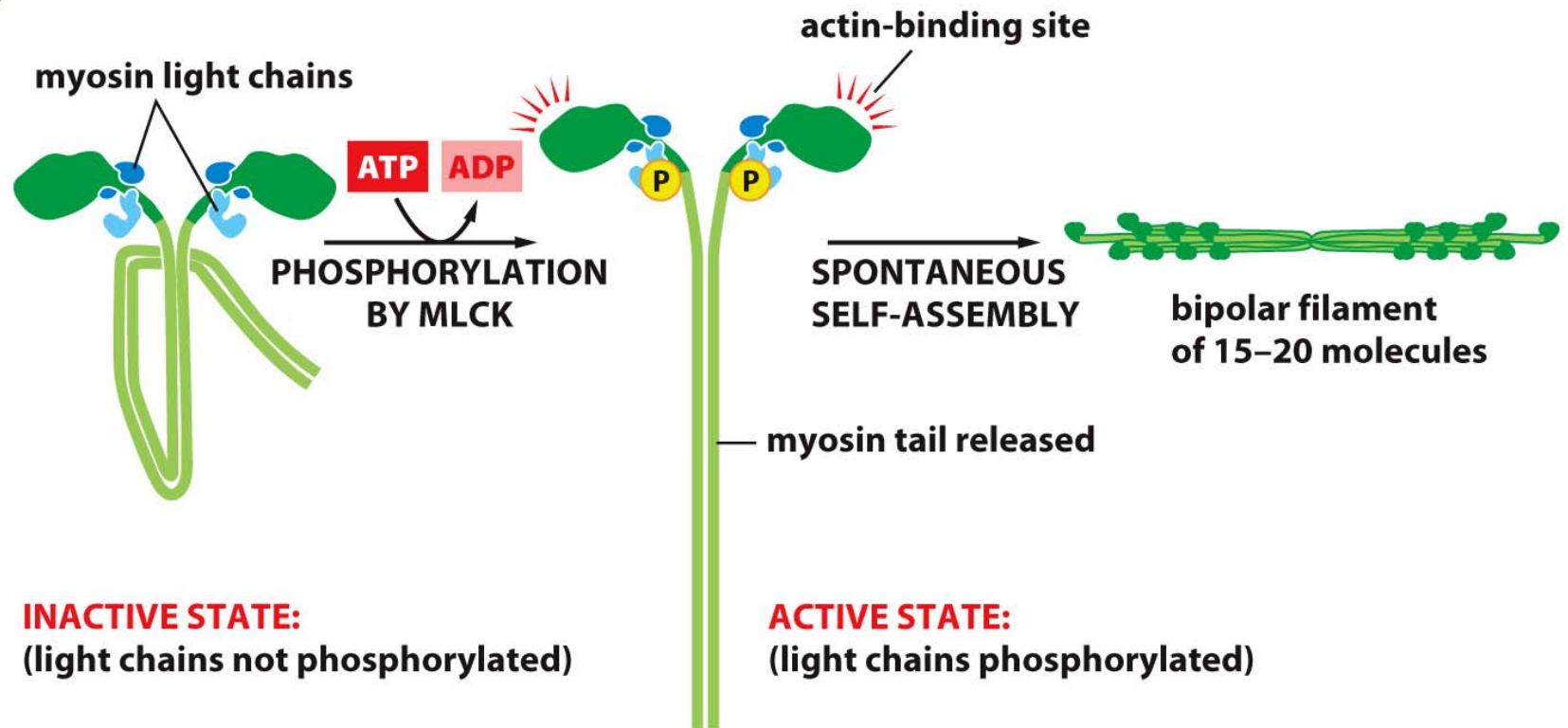


Figure 16-39a Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)