

Cytoskelet

prof. Mgr. Vítězslav Bryja, Ph.D.

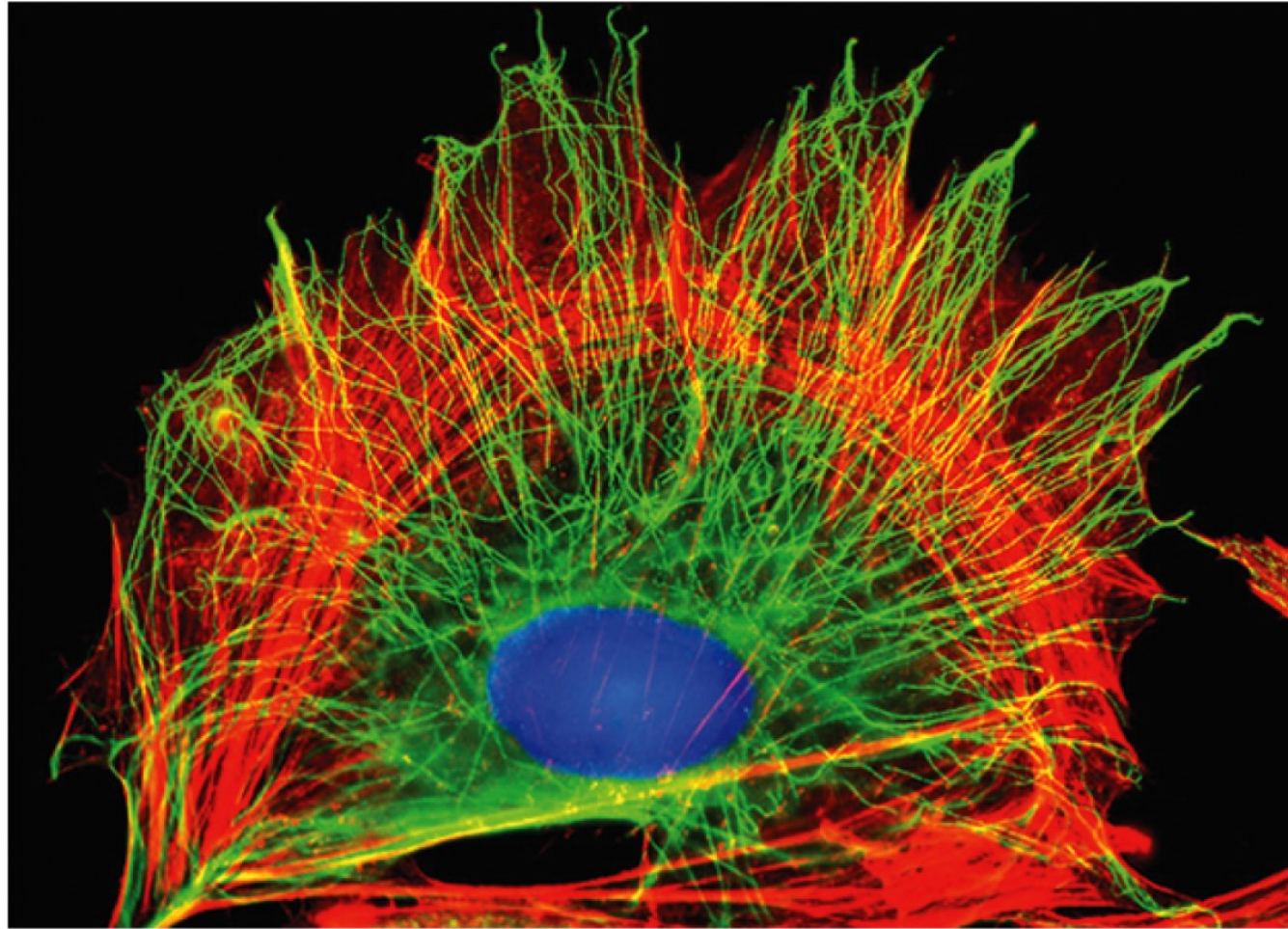
Přednášky (V. Bryja)

- ▶ 1/2) CYTOSKELET A JEHO FUNKCE – základní složky cytoskeletu (mikrofilamenta, intermediární filamenta, mikrotubuly) - jejich struktura a funkce; dynamická nestabilita, cytoskeletální toxiny, příklady proteinů asociovaných s mikrofilamenty a mikrotubuly a jejich funkce, molekulární motory – typy a funkce, centrozom a jeho cyklus, cilia – primární a pohyblivá. Pohyb buněk a přispění buněk k pohybu organismu: pohyblivá cilia, mitóza vč. funkce cytoskeletu v mitóze, pohyb buňky po substrátu – základní mechanismy a účastníci se proteiny, svalový stah z molekulárního pohledu – příčně pruhovaný a hladký sval.
- ▶ 3-4) ZÁKLADNÍ PRINCIPY SIGNÁLNÍ TRANSDUKCE - základní dělení jednotlivých typů buněčné signalizace, pozitivní a negativní zpětná vazba vč. příkladů, hlavní biochemické mechanismy (fosforylace a výměna GTP/GDP) a jejich regulace, přehled základních typů membránových receptorů; druhý posel – principy a hlavní příklady; vápníková signalizace, receptory spřažené s trimerickými G proteiny, receptorové tyrosin kinázy, malé GTPázy, funkce rhodopsinu v procesu vidění. VÝZNAMNÉ SIGNÁLNÍ DRAHY - signální dráhy významné pro regulaci embryonálního vývoje a imunologie – JAK/STAT, NFκB, TNFα, Wnt, TGF/BMP, Hedgehog, Notch (pouze nejzákladnější principy a klíčové proteiny).
- ▶ 4) BUNĚČNÁ BIOLOGIE V ČÍSLECH (pro člověka) – velikost lidské buňky, počty hlavních biomolekul v buňce, počty buněk v těle, velikost – voda, lipidové membrány, proteinů, ribozomu, cytoskeletu (včetně rozlišení elektronového a optického mikroskopu), délka a počet bazí DNA, počet genů, délka buněčného cyklu, délka „života“ buněk – krátce a dlouze žijící buňky, rychlost pohybu buňky a motorů po cytoskeletu, rychlost nervového vzruchu

Nejpočetnější proteiny v buňce?

- Proteiny jako molekulární stroje, DNA jako návod na jejich výrobu a malé metabolity jako palivo a základní součástky
- Reálná data – početnost proteinů v buňce

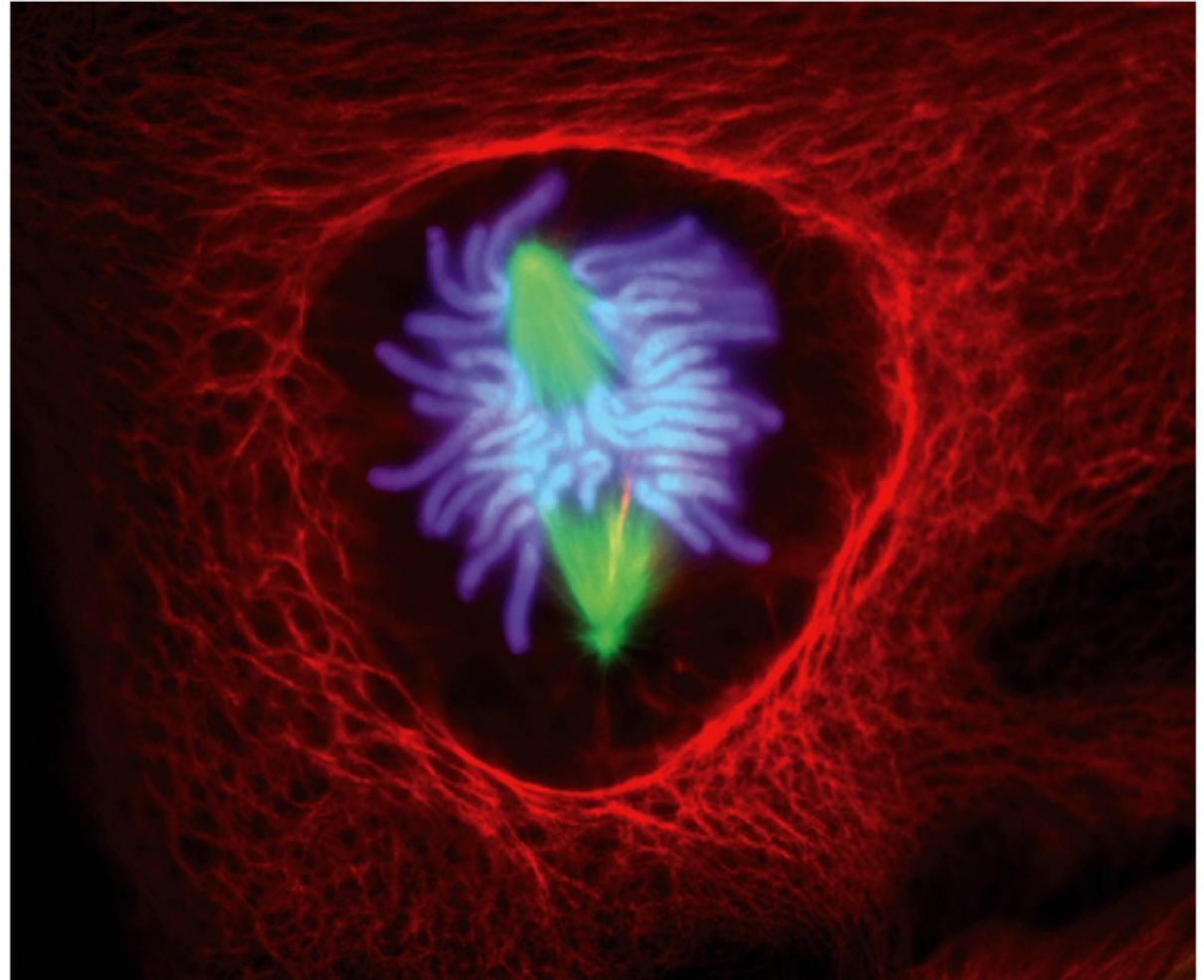
CYTOSKELETON



10 μm

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

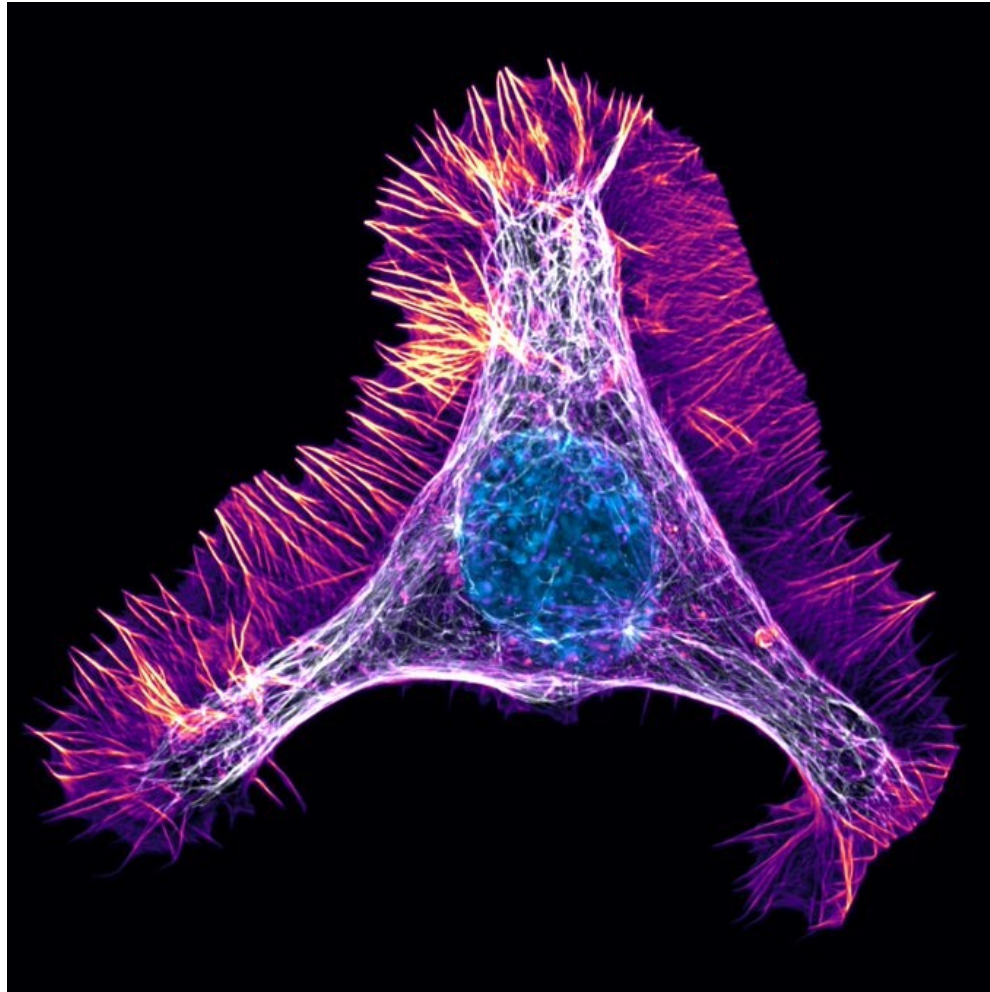
CYTOSKELETT



20 μm

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

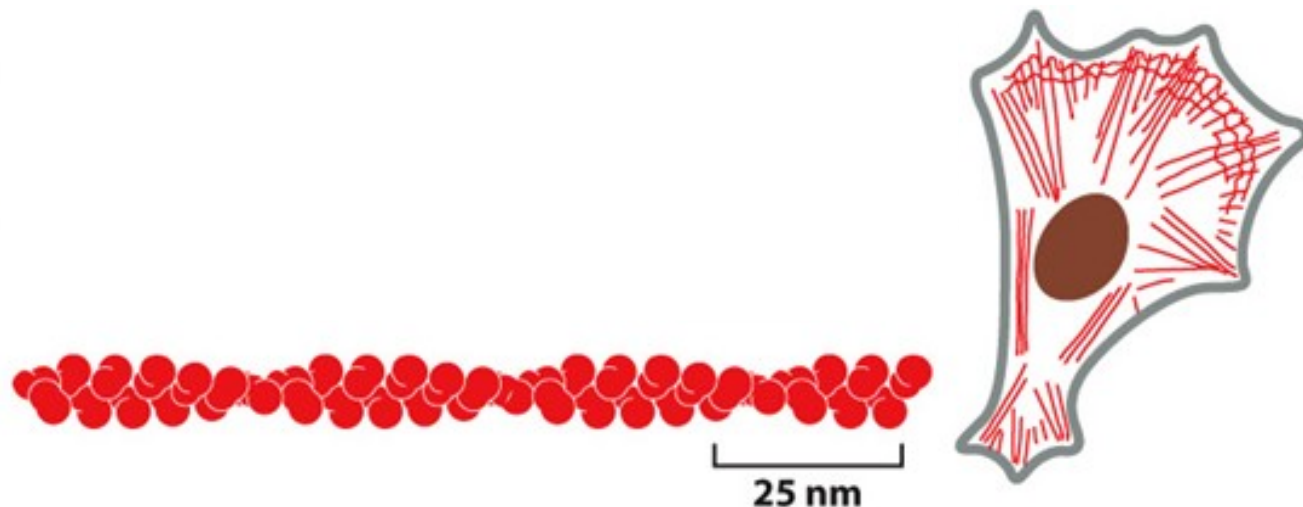
CYTOSKELETON



[Jessica Henty-Ridilla](#)
[@cytoskeletown](#)

Watching cells is one of the best parts of my job! actin filaments (purple to yellow), microtubules (white), and a nucleus (blue) in a neuronal cell.

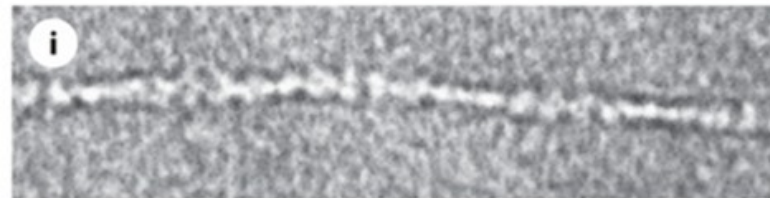
Aktinová filamenta = mikrofilamenta



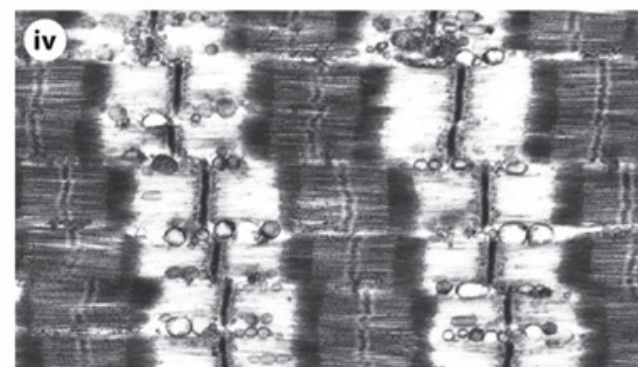
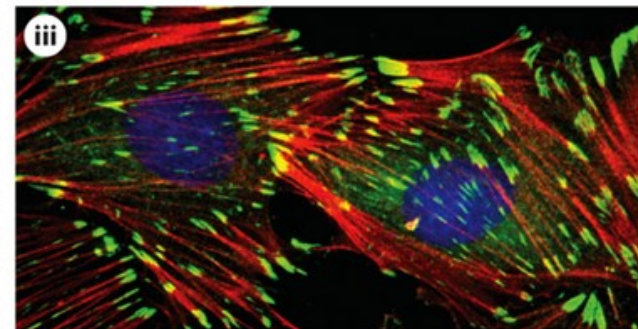
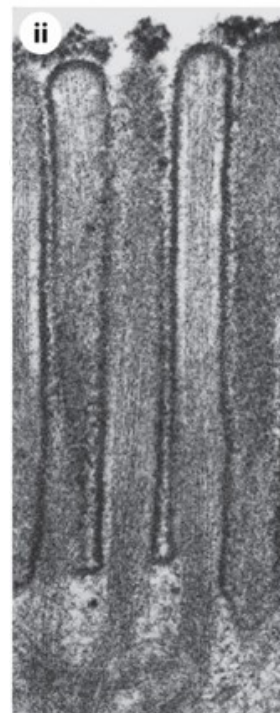
- zvaná také mikrofilamenta
- spirálovitá vlákna/polymery tvořené proteinem aktinem
- tvoří flexibilní struktury o průměru 8 nm, které mohou být organizovány do lineárních svazků, dvou- či trojrozměrných sítí
- jsou rozprostřena po celé buňce, ale koncentrována jsou především přímo pod cytoplasmatickou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

Aktinová filamenta = mikrofilamenta

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

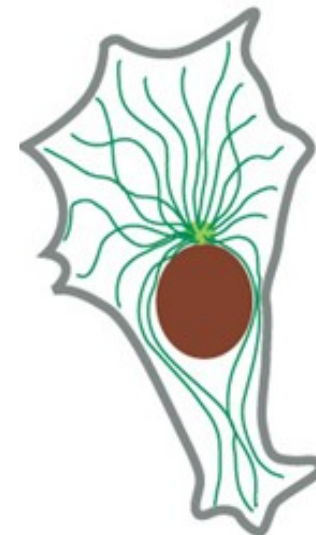
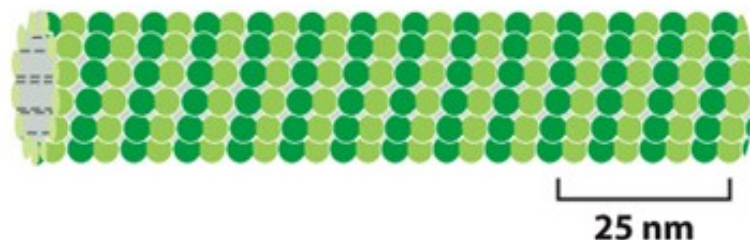


100 nm



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

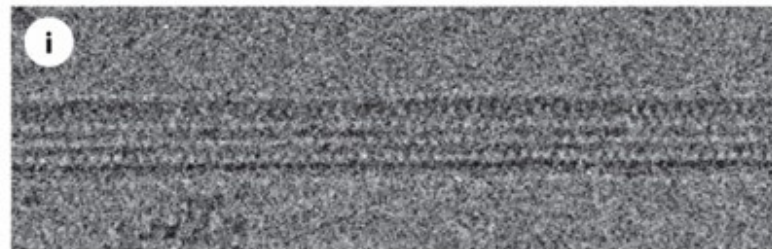
Mikrotubuly



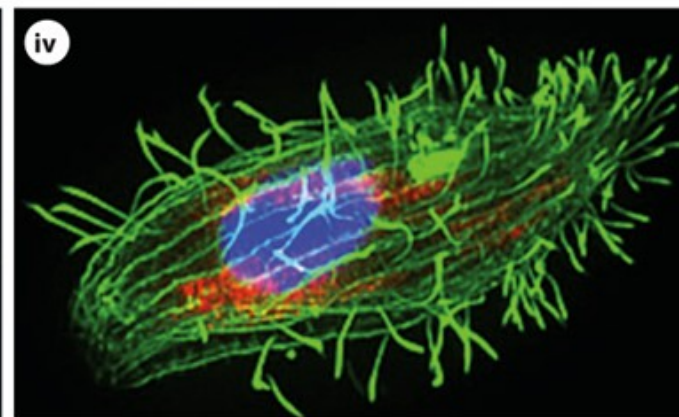
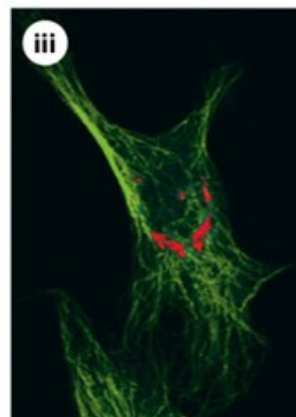
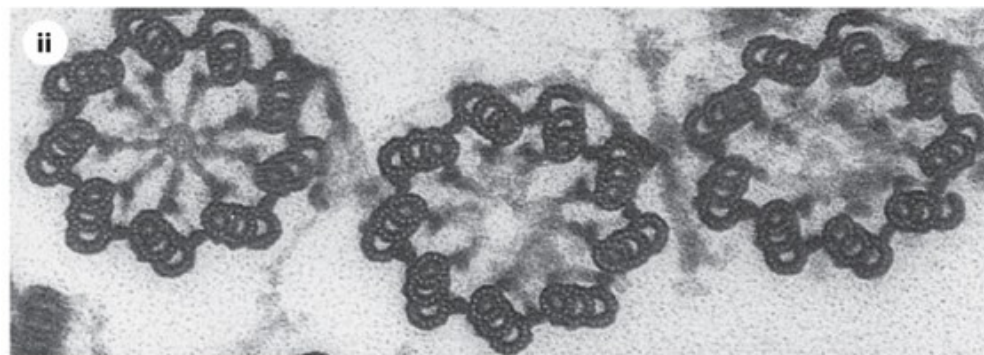
- dlouhé duté válce tvořené proteinem tubulinem (vnější průměr 25 nm)
- tužší oproti aktinovým filamentům
- dlouhá rovná vlákna, často jedním koncem uchycená v mikrotubuly-organizujícím centru (MTOC) zvaném centrozom

Mikrotubuly

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

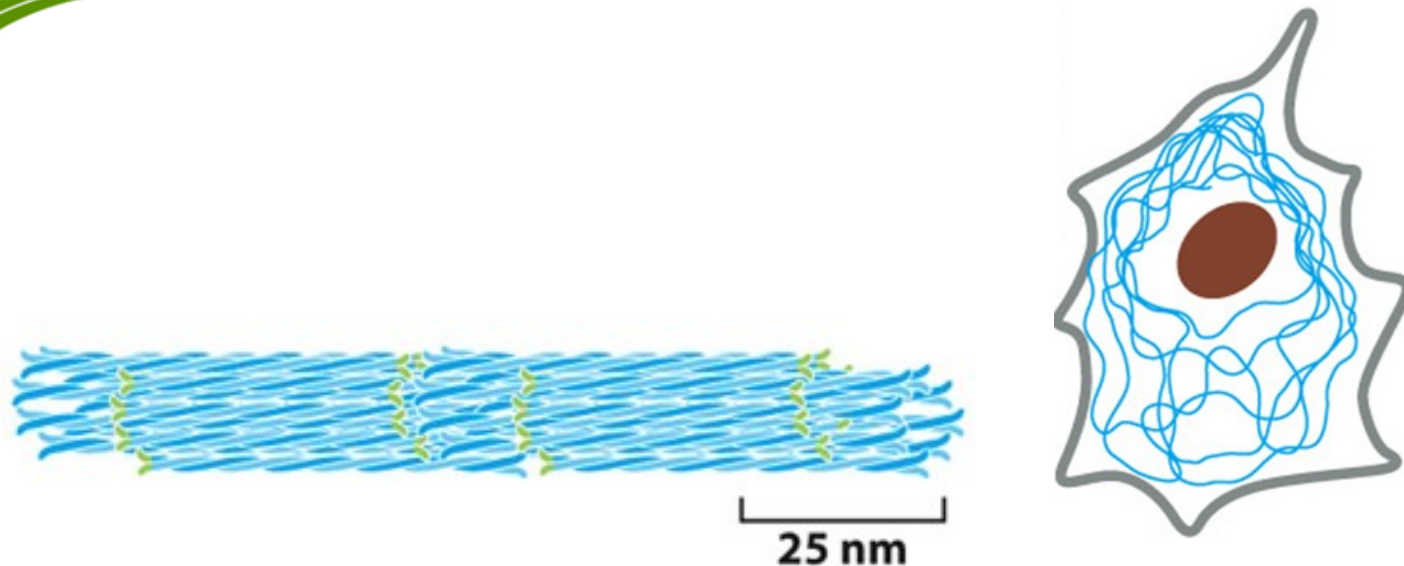


100 nm



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

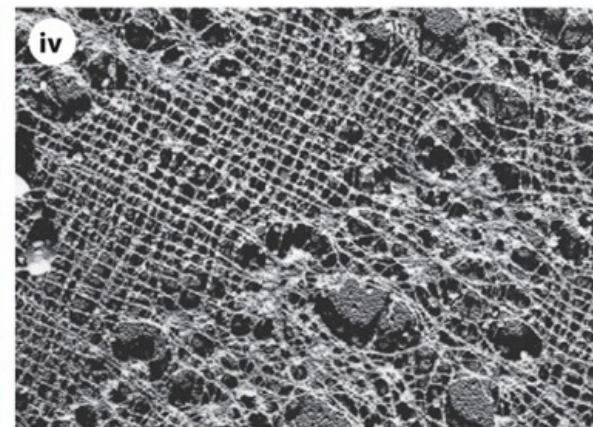
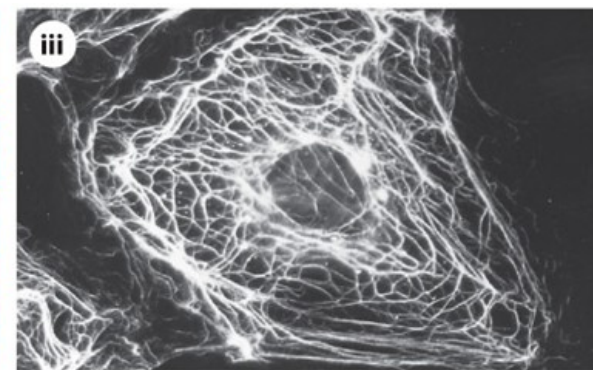
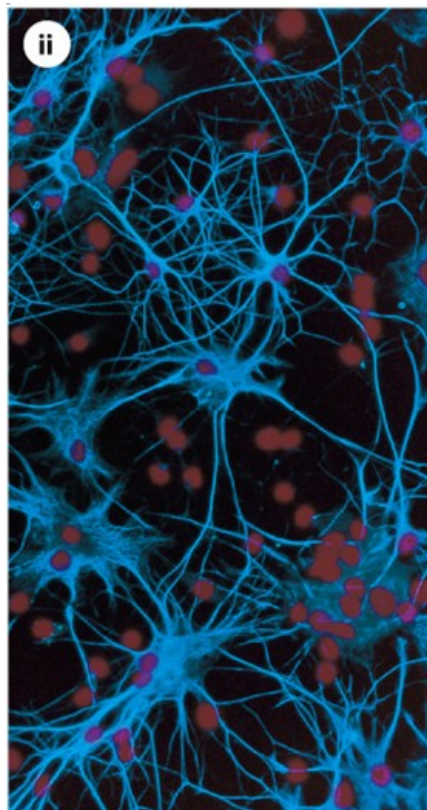
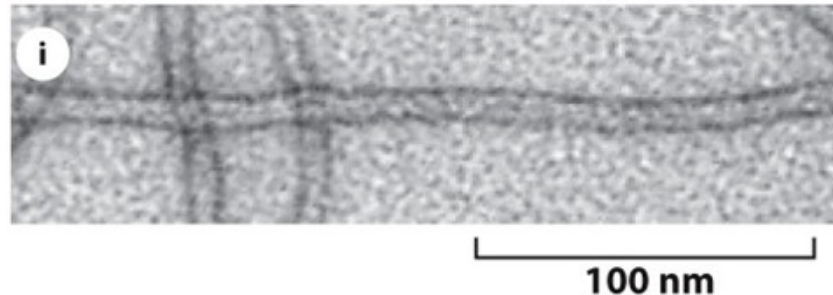
Intermediární filamenta



- 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 rozprostřeny 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



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

Aktinová filamenta = mikrofilamenta

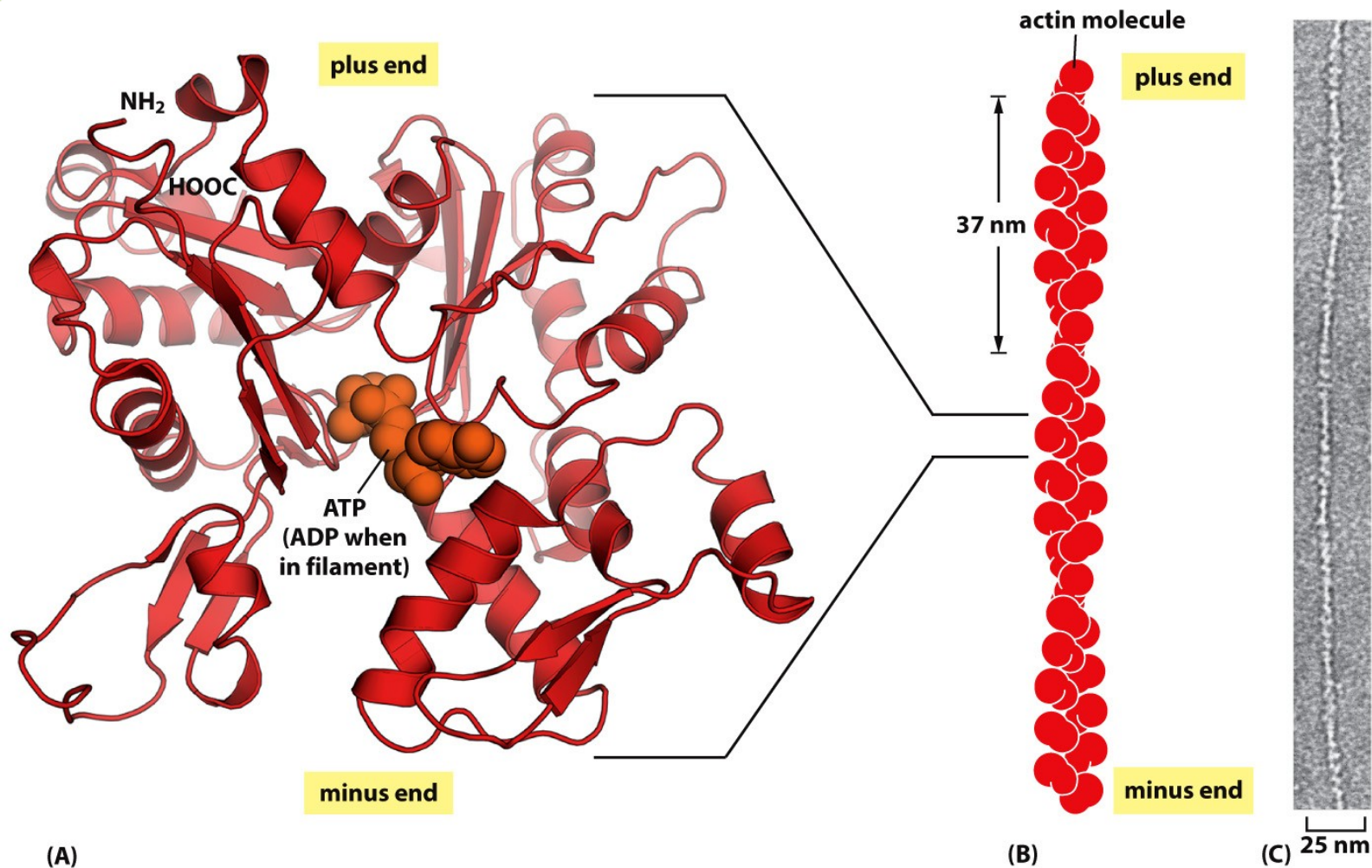


Figure 16-11 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Aktinová filamenta = mikrofilamenta

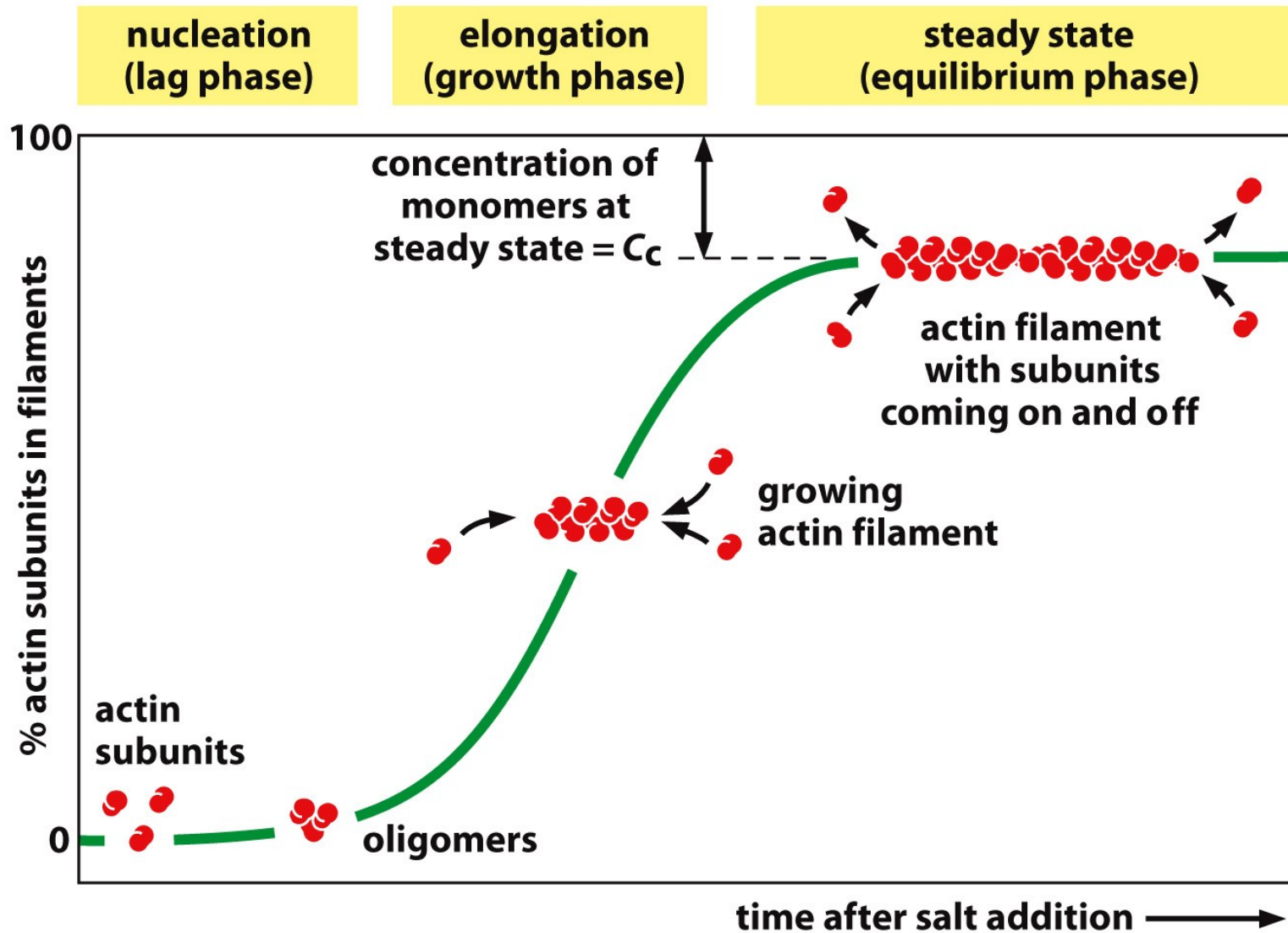
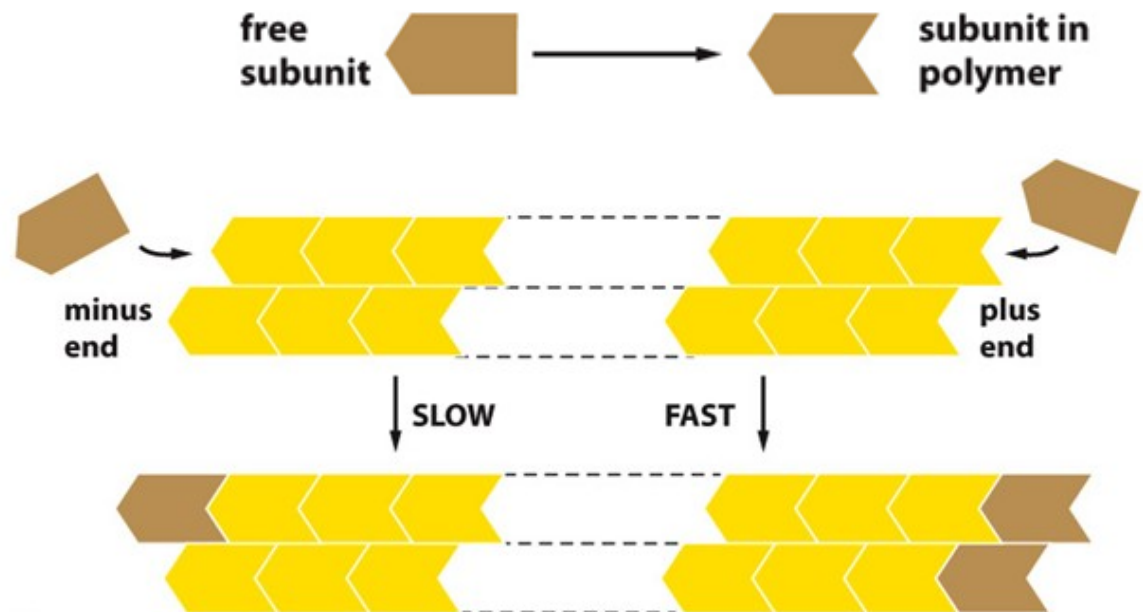


Figure 16-13a Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Polymerizace a depolymerizace

- 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

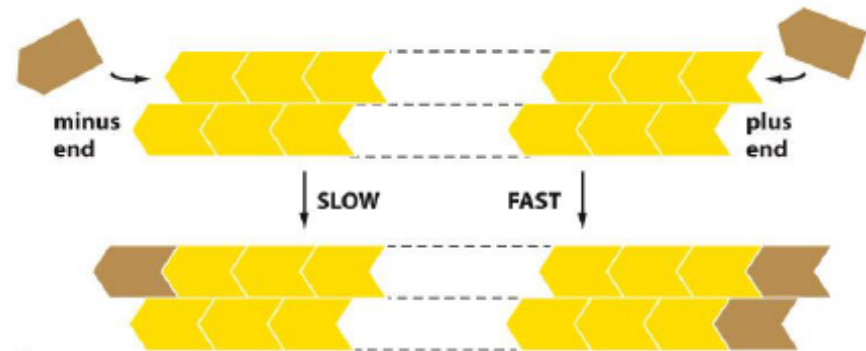
PLUS AND MINUS ENDS

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.

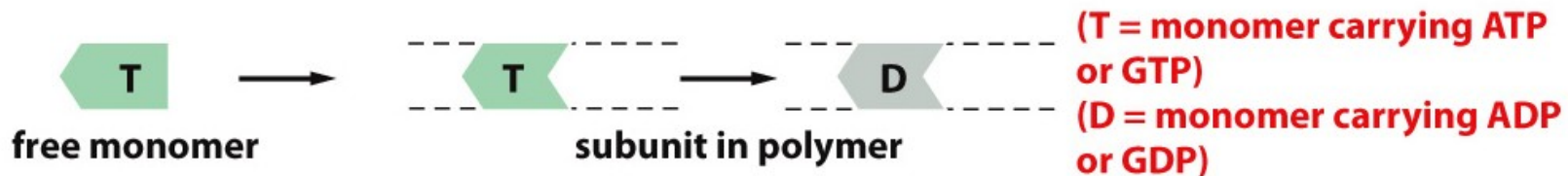
Even though k_{on} and k_{off} will have different values for the plus and minus ends of the polymer, their ratio k_{off}/k_{on} —and hence C_c —must be the same at both ends for a simple polymerization reaction (no ATP or GTP hydrolysis). This is because exactly the same subunit interactions are broken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



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.

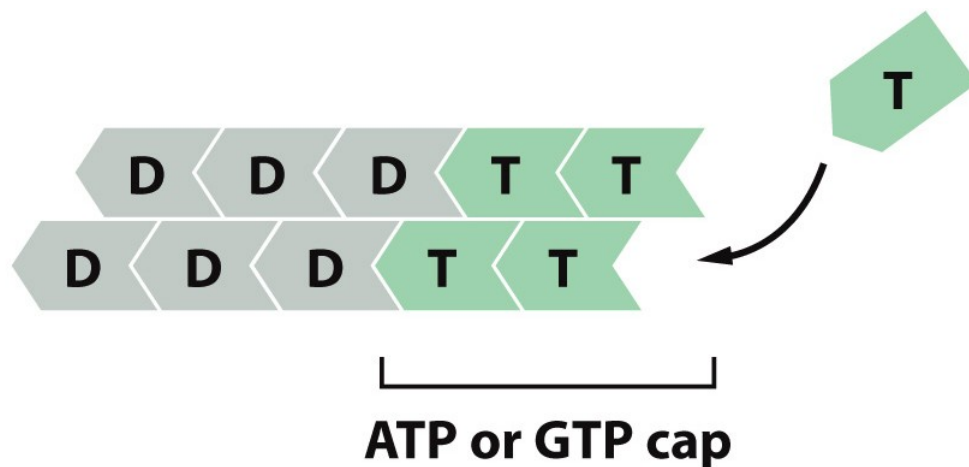
Hydrolýza nukleotidů



- 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

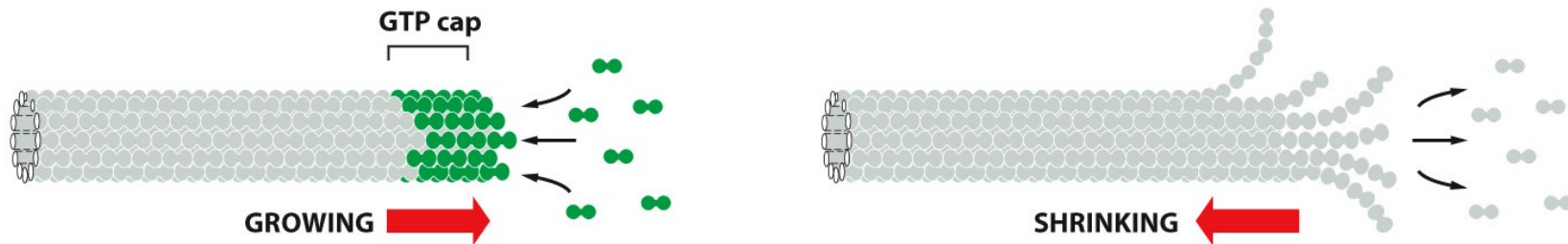
ATP a GTP čepičky

- 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**

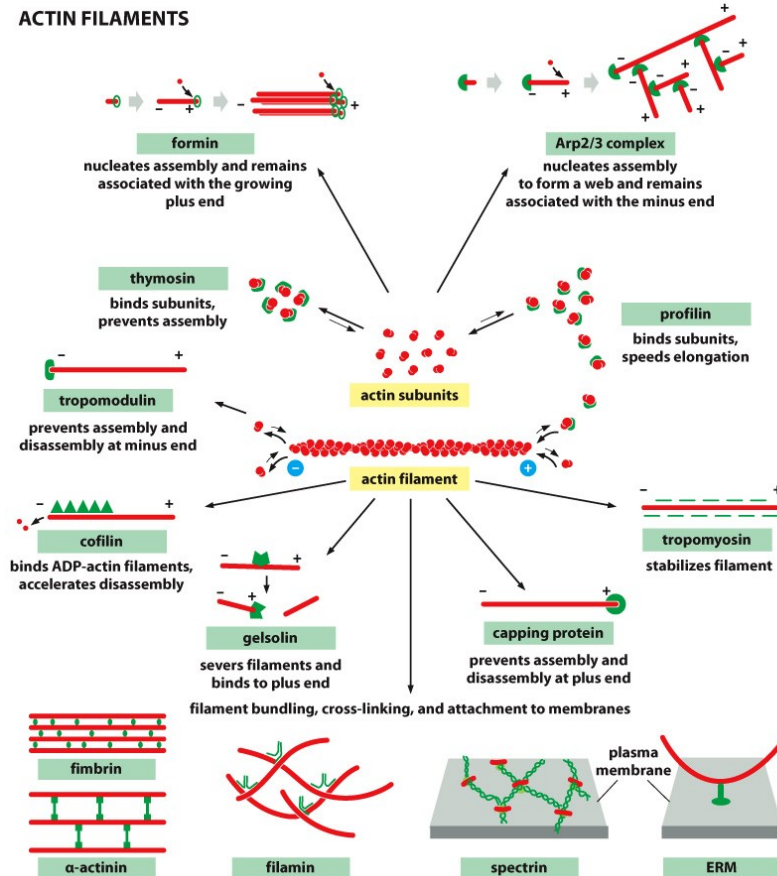
Cytoskeletální toxiny

- ▶ brání polymerizaci či depolymerizaci

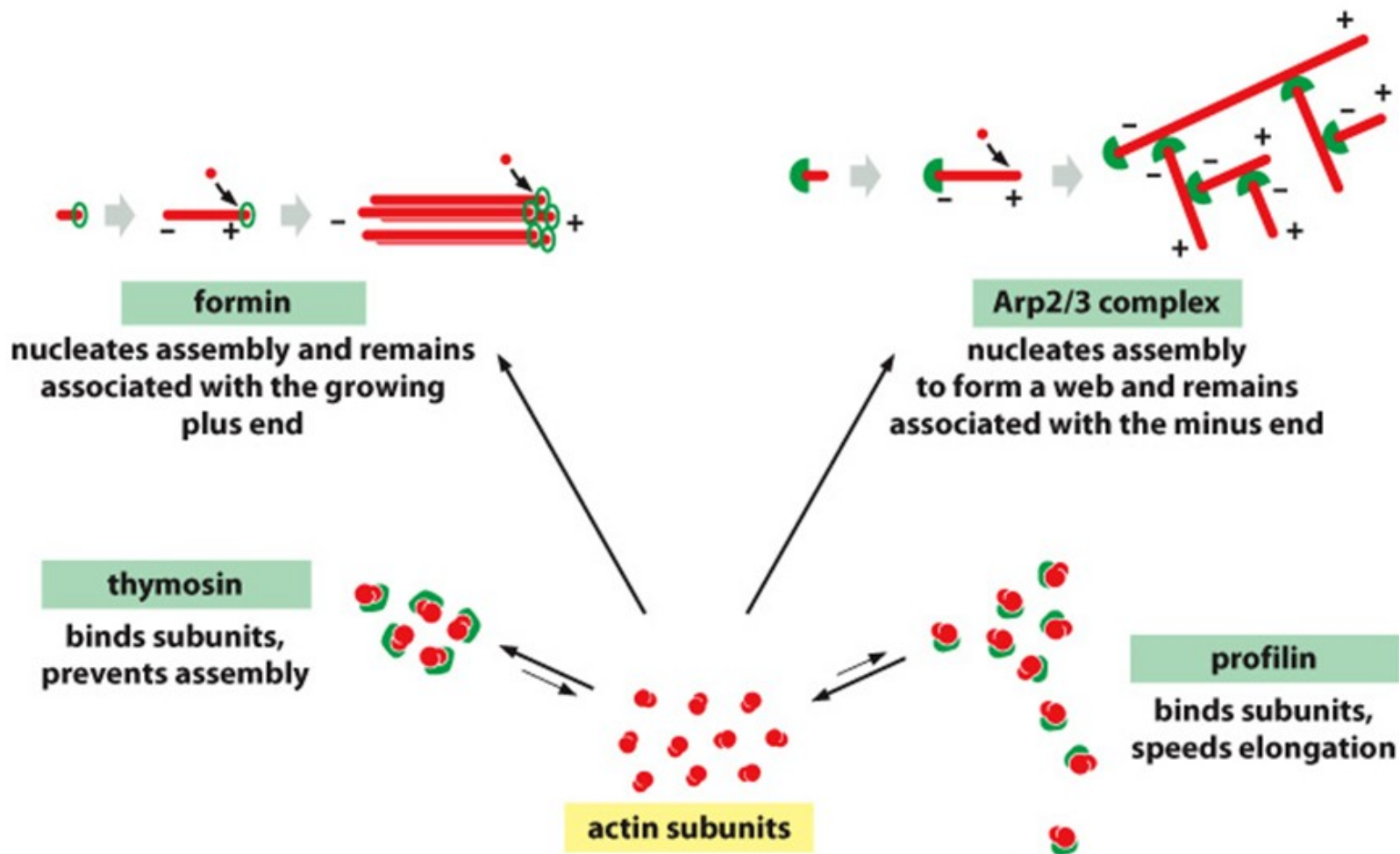
Látka	Účinek na cytoskelet	Mechanismus	Zdroj
ACTIN			
Latrunculin	depolymerizuje	váže aktinové podjednotky	mořské houby
Cytochalasin B	depolymerizuje	kryje plus konec filament	<i>Nižší houby</i>
Phalloidin	stabilizuje	váže se podél filament	muchomůrka
MIKROTUBULY			
Taxol® (Paclitaxel)	stabilizuje	váže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

Proteiny asociované s aktinem

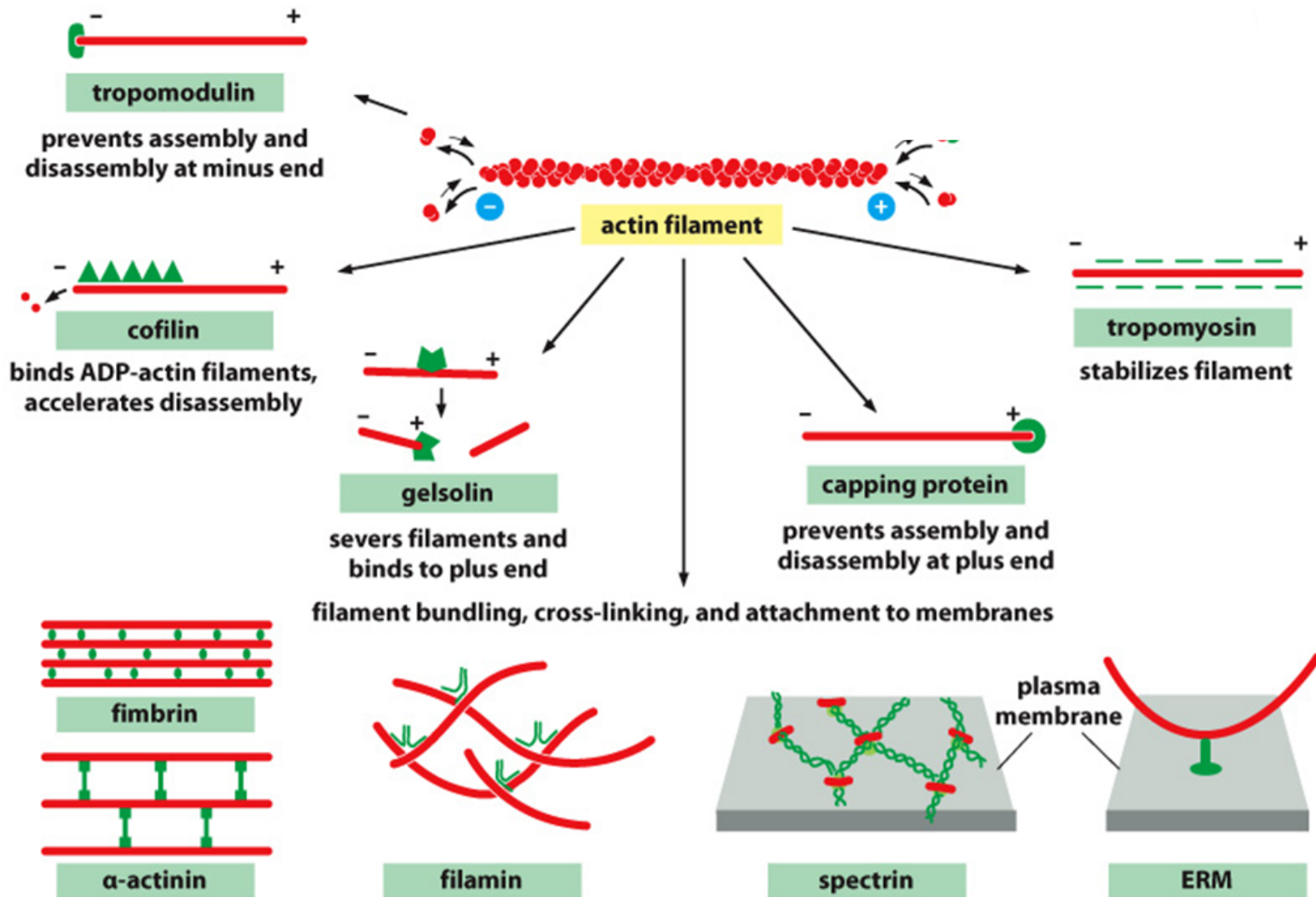
- většina buněk obsahuje více než 100 různých proteinů asociovaných s aktinem a je pravděpodobné, že řada dalších takových proteinů nebyla ještě identifikována



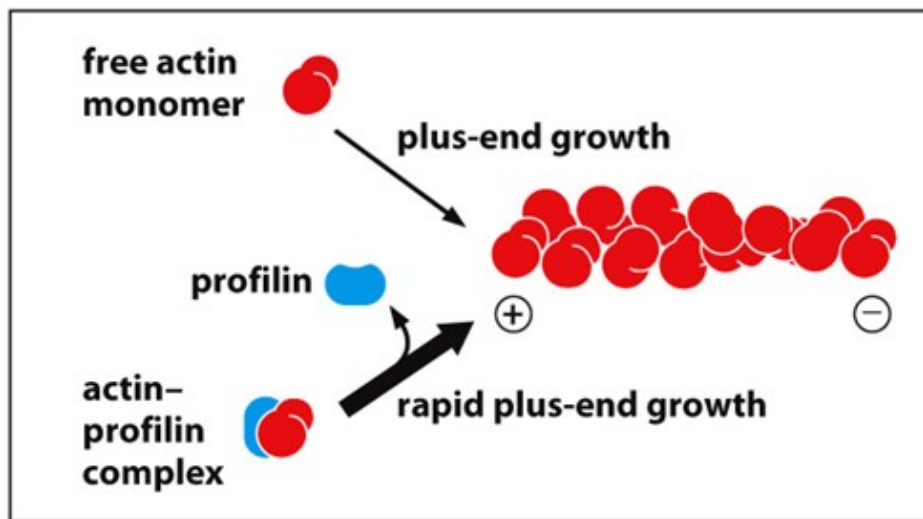
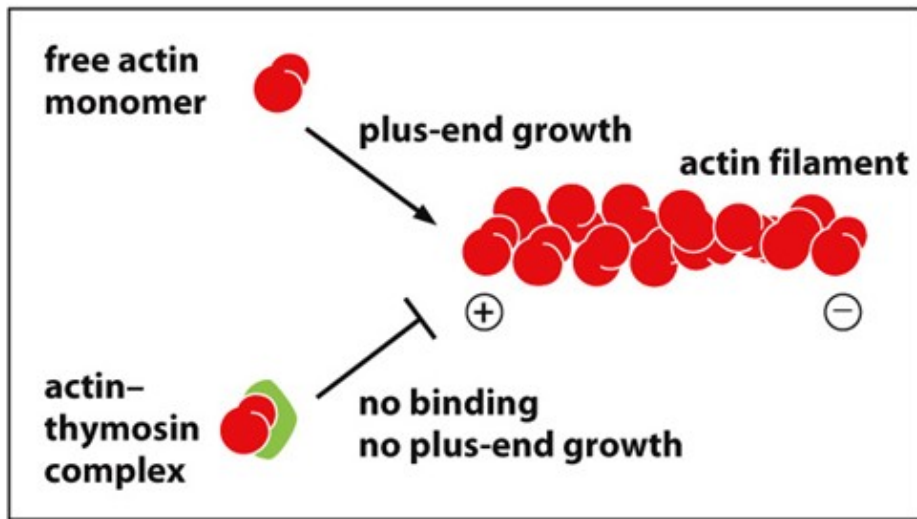
Proteiny asociované s aktinem



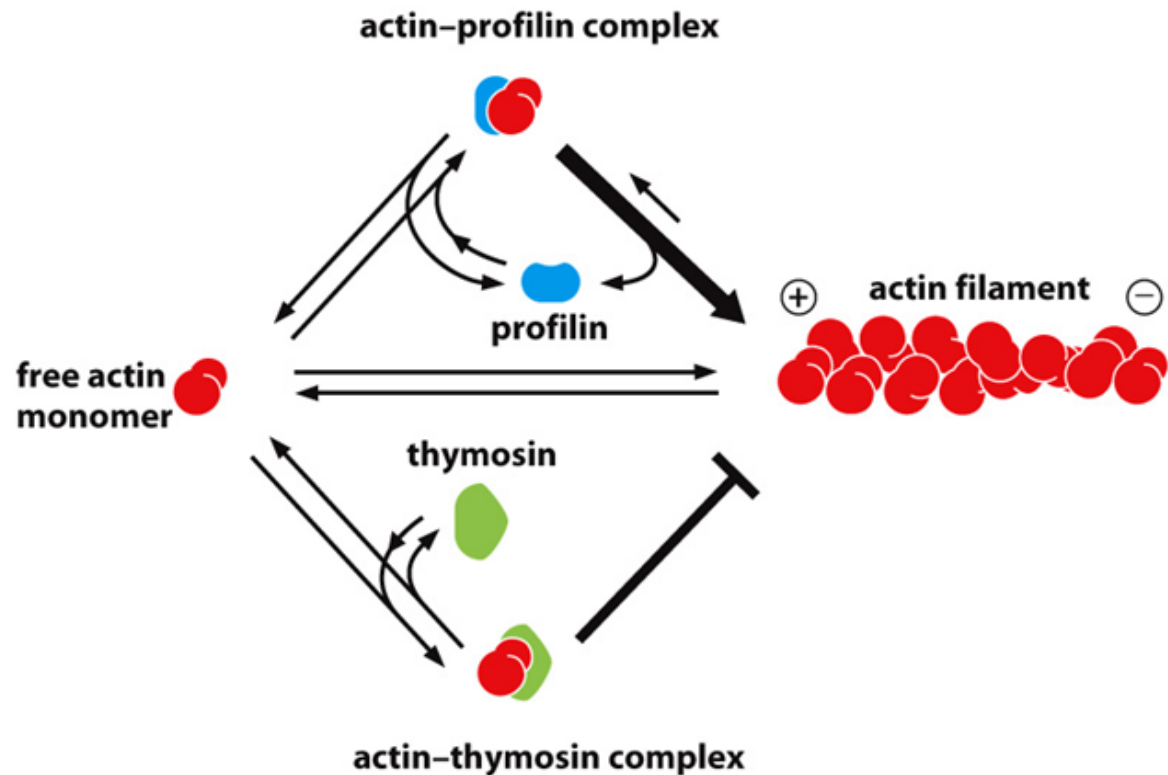
Proteiny asociované s aktinem



Proteiny asociované s aktinem

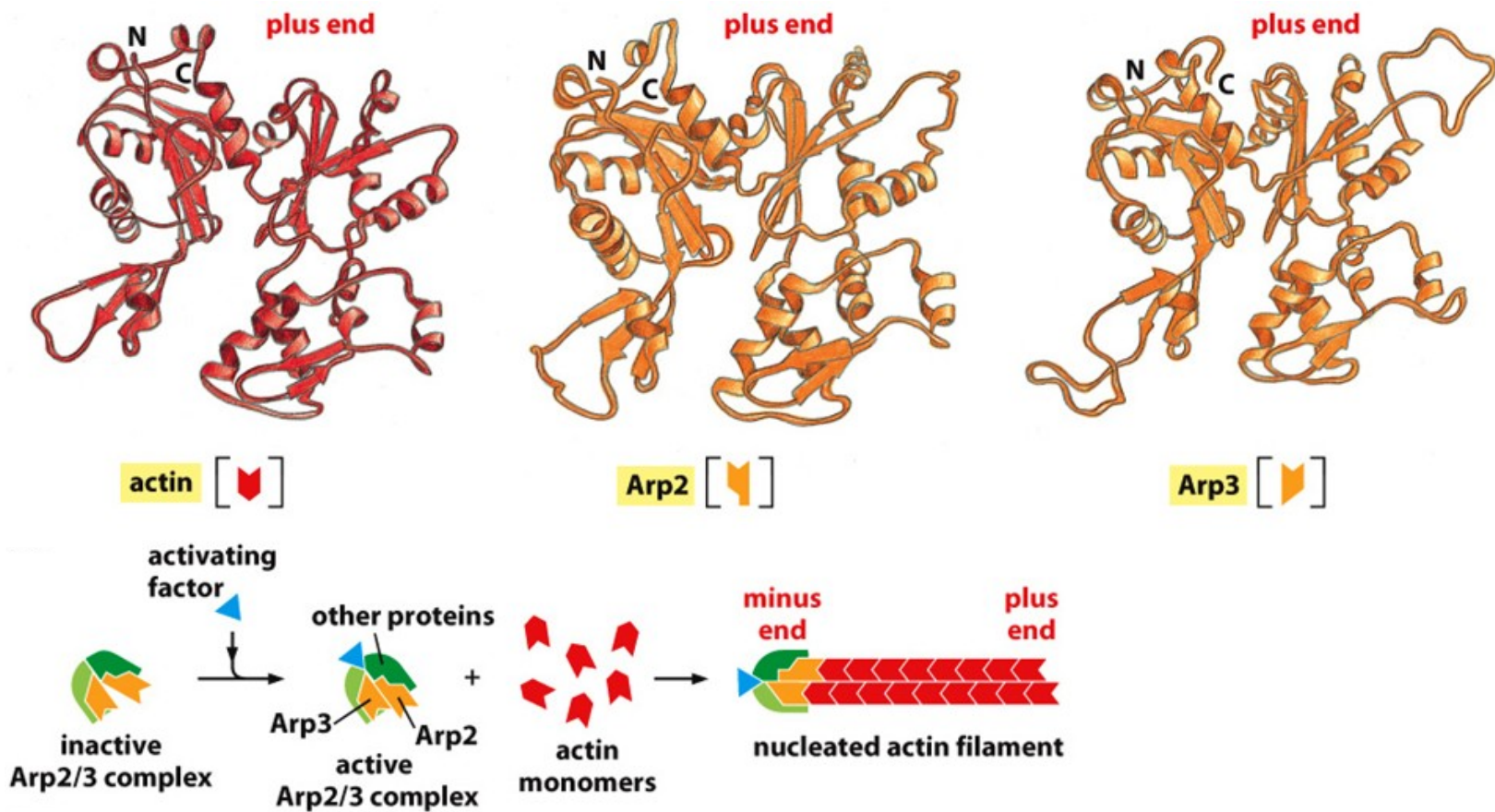


Proteiny asociované s aktinem

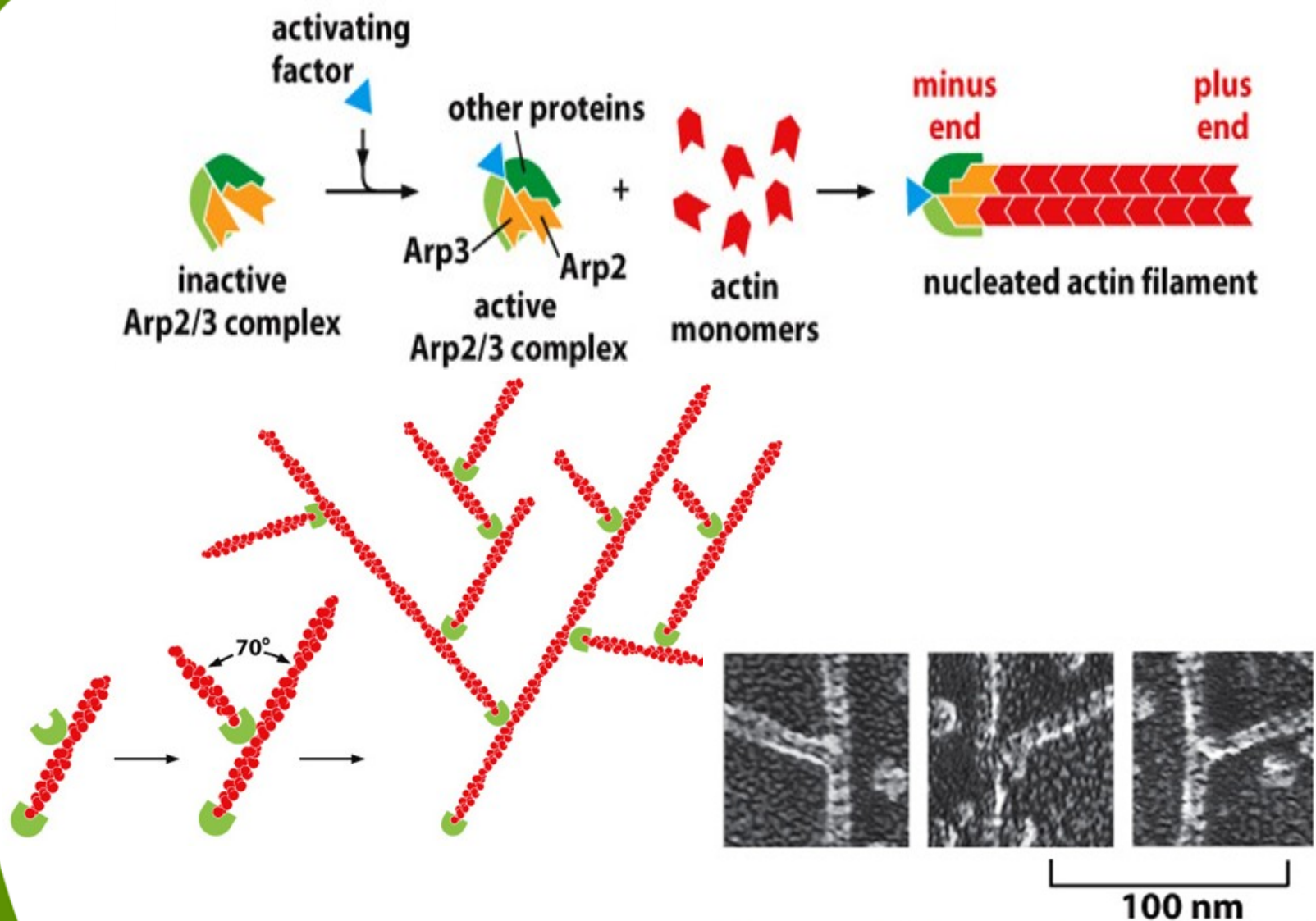


PROFILIN COMPETES WITH THYMOSIN FOR BINDING TO ACTIN MONOMERS AND PROMOTES ASSEMBLY

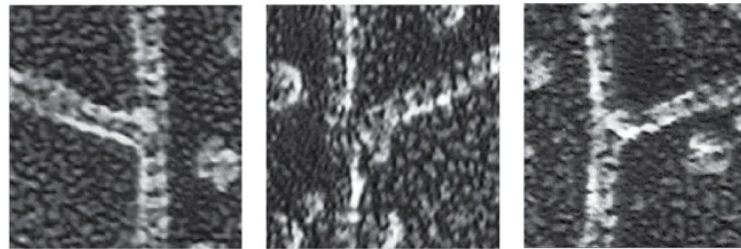
Proteiny asociované s aktinem



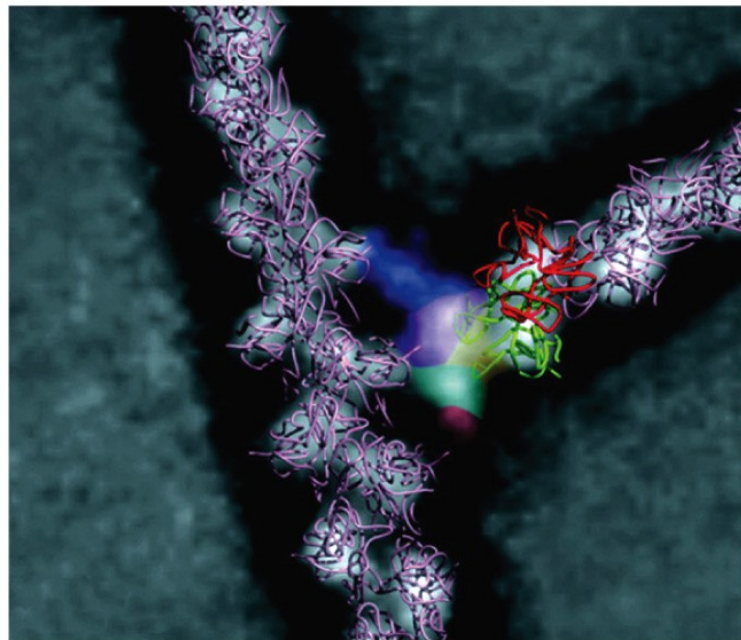
Proteiny asociované s aktinem



Proteiny asociované s aktinem



100 nm



10 nm

Proteiny asociované s aktinem

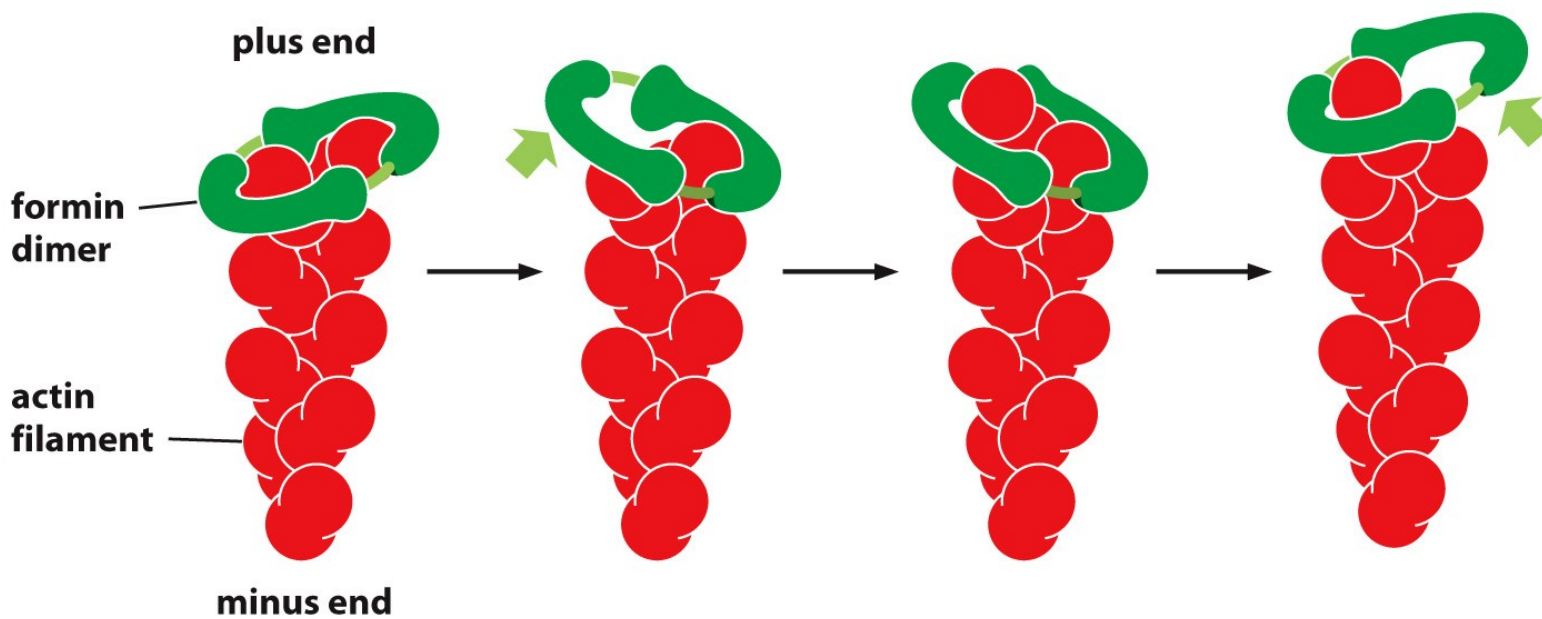


Figure 16-17 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Proteiny asociované s aktinem

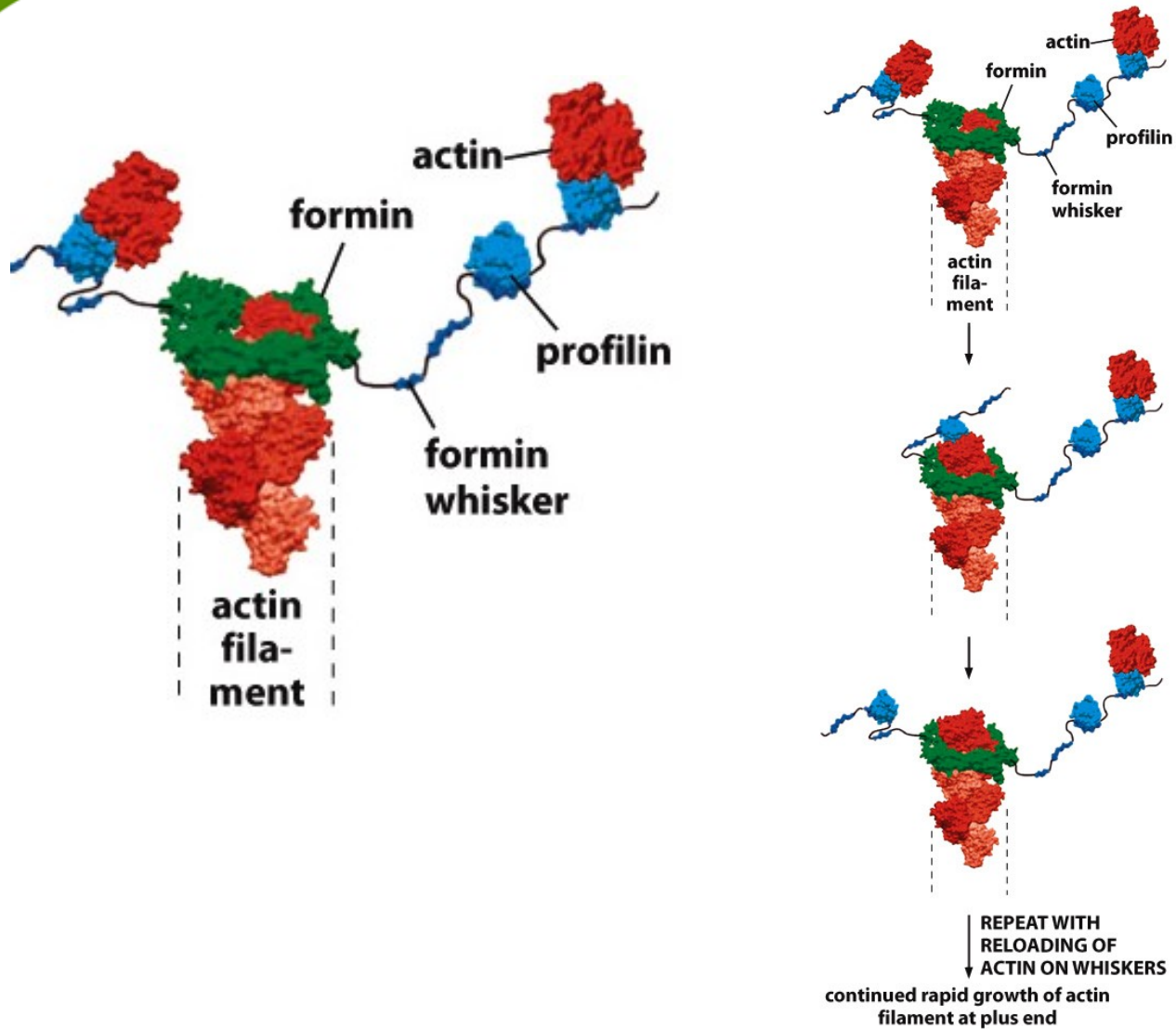
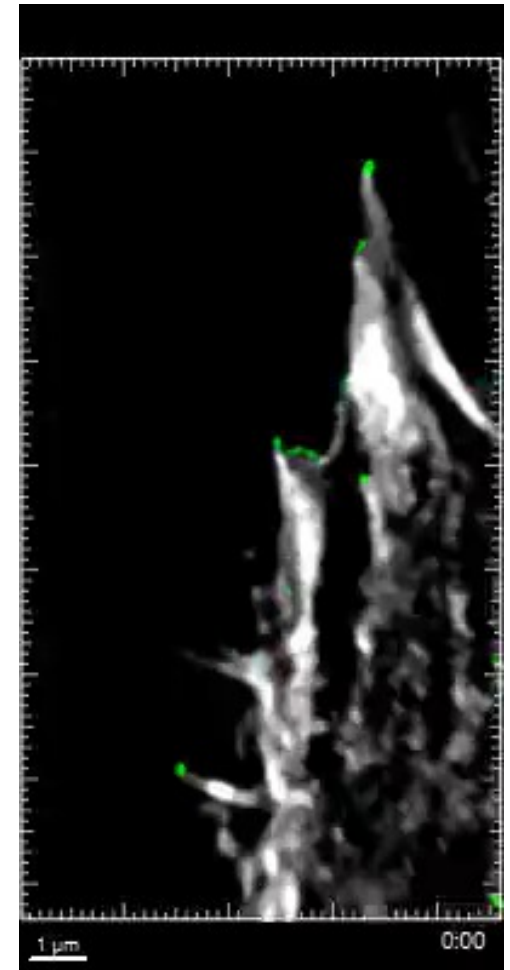
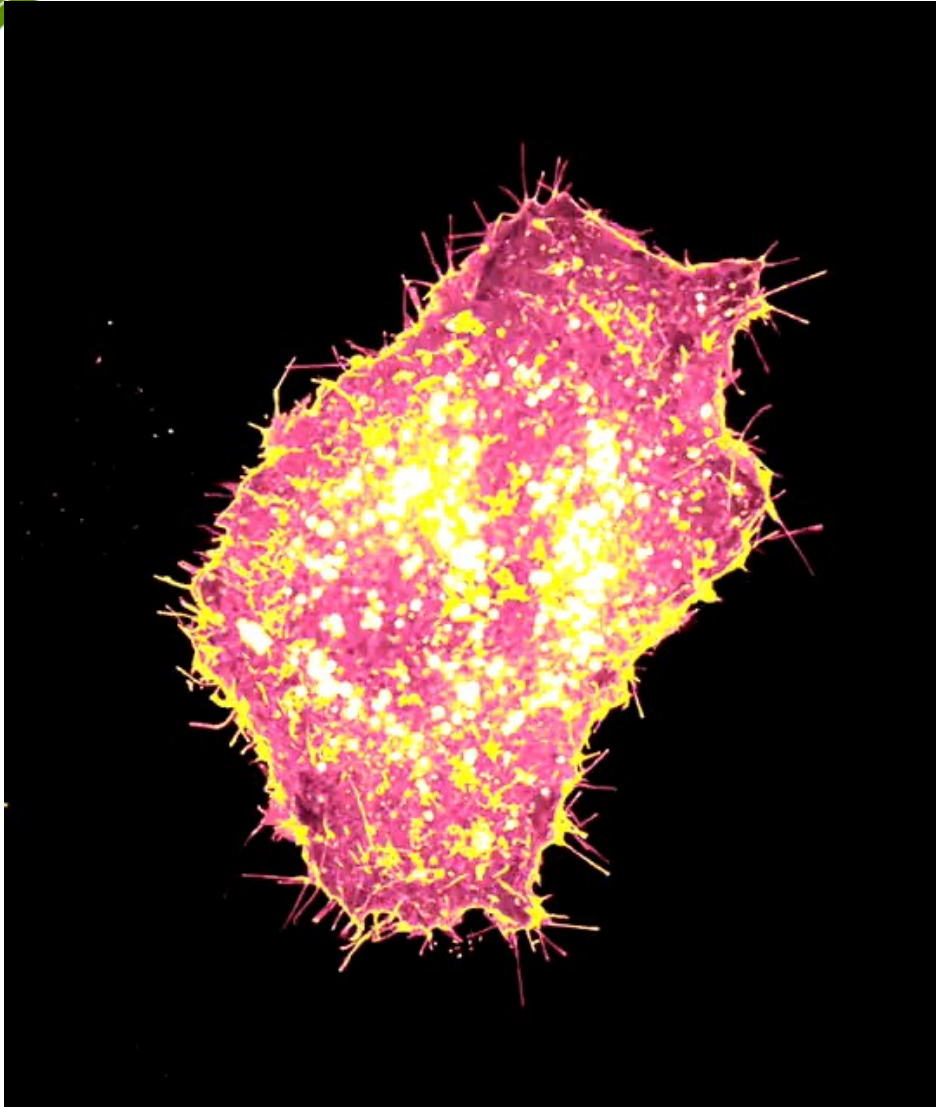


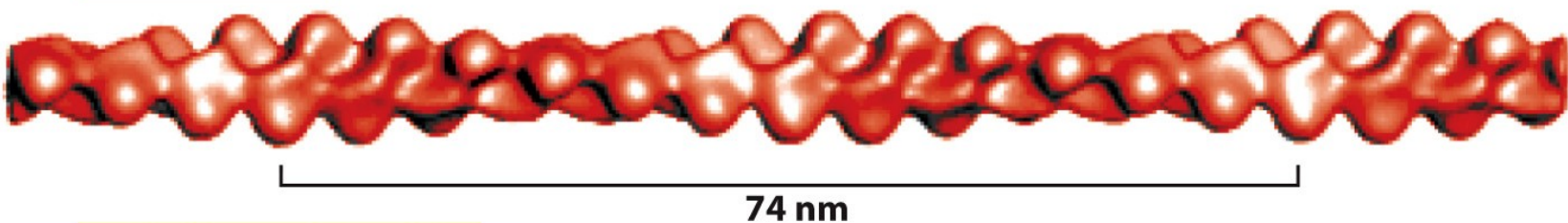
Figure 16-18 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Filopodia a formin



Proteiny asociované s aktinem

(A) actin filament



(B) actin filament + cofilin

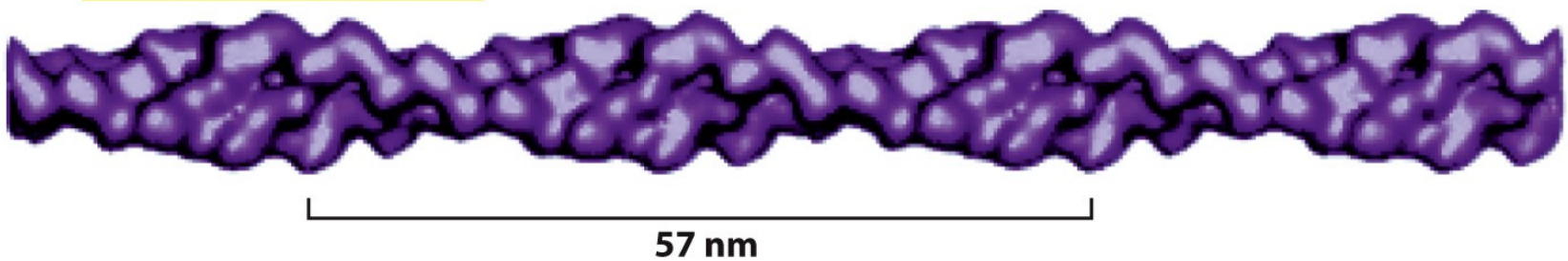


Figure 16-20 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Aktinová filamenta = mikrofilamenta

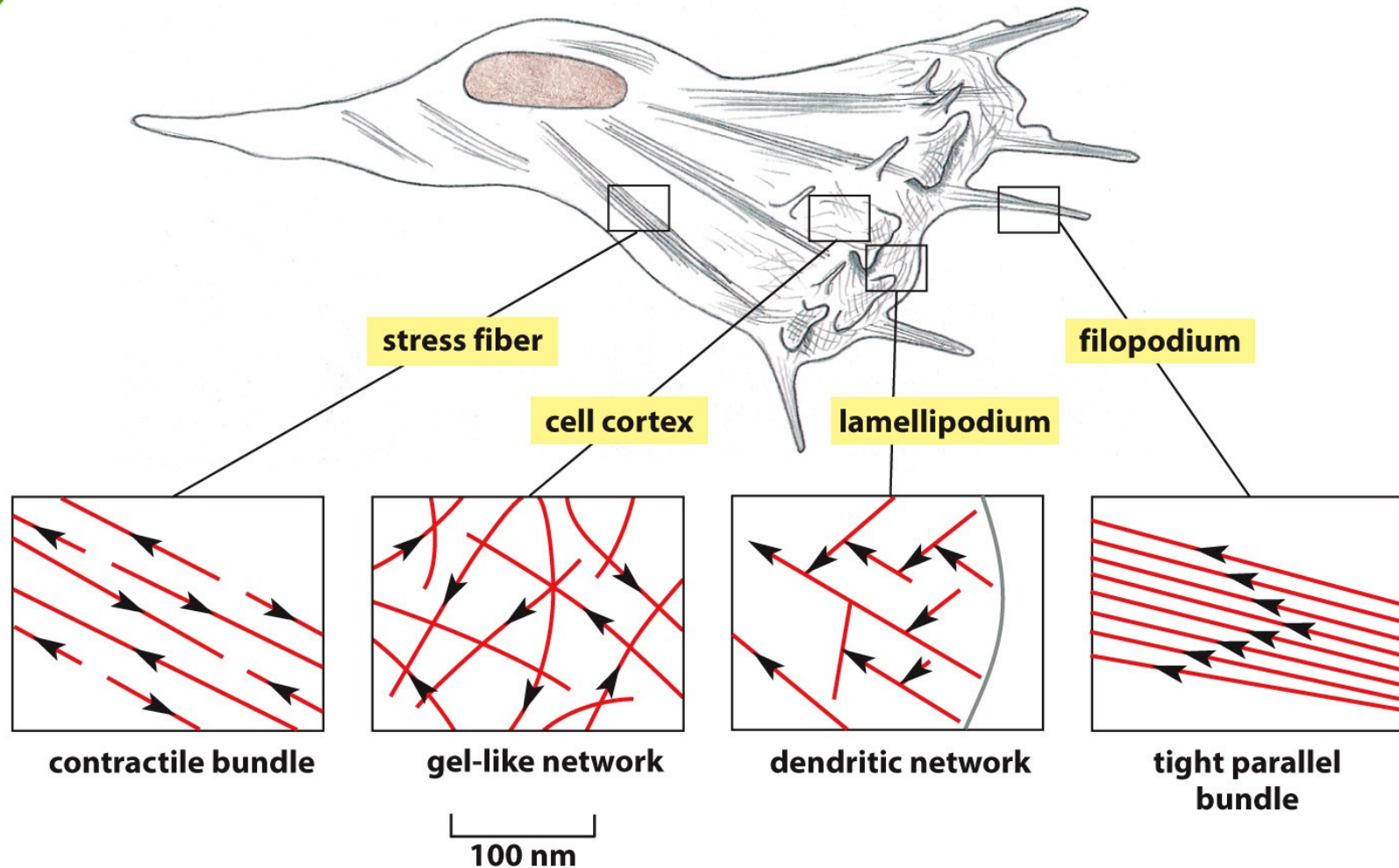
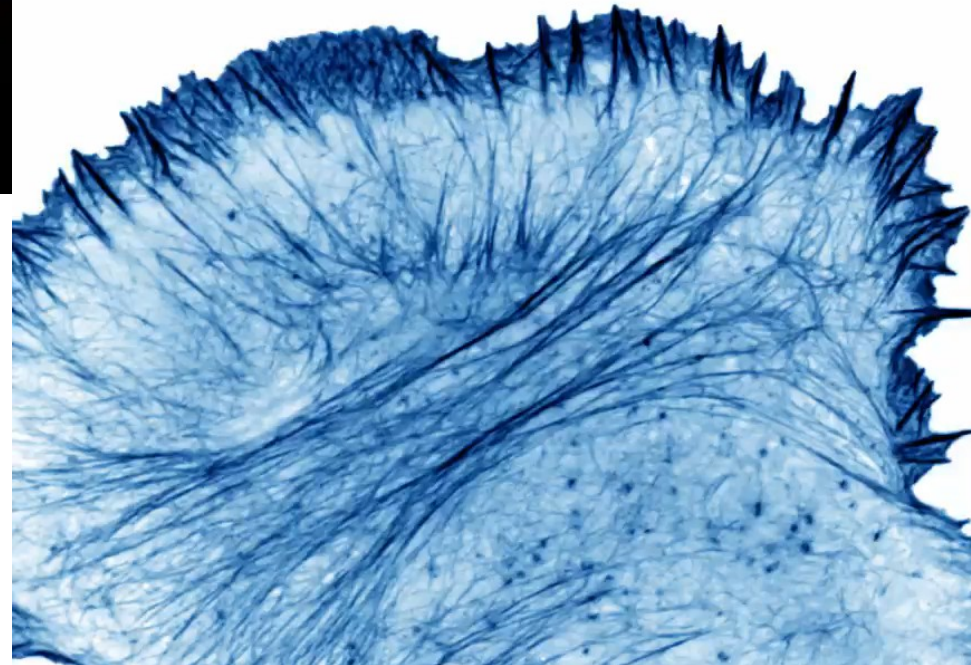
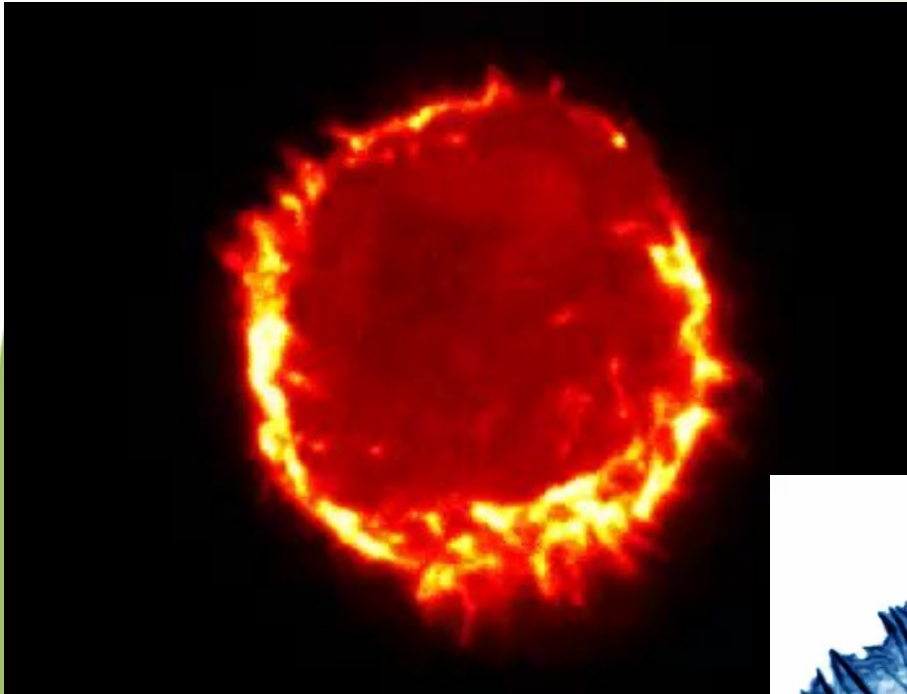


Figure 16-21 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Aktinová filamenta = mikrofilamenta



Proteiny asociované s aktinem

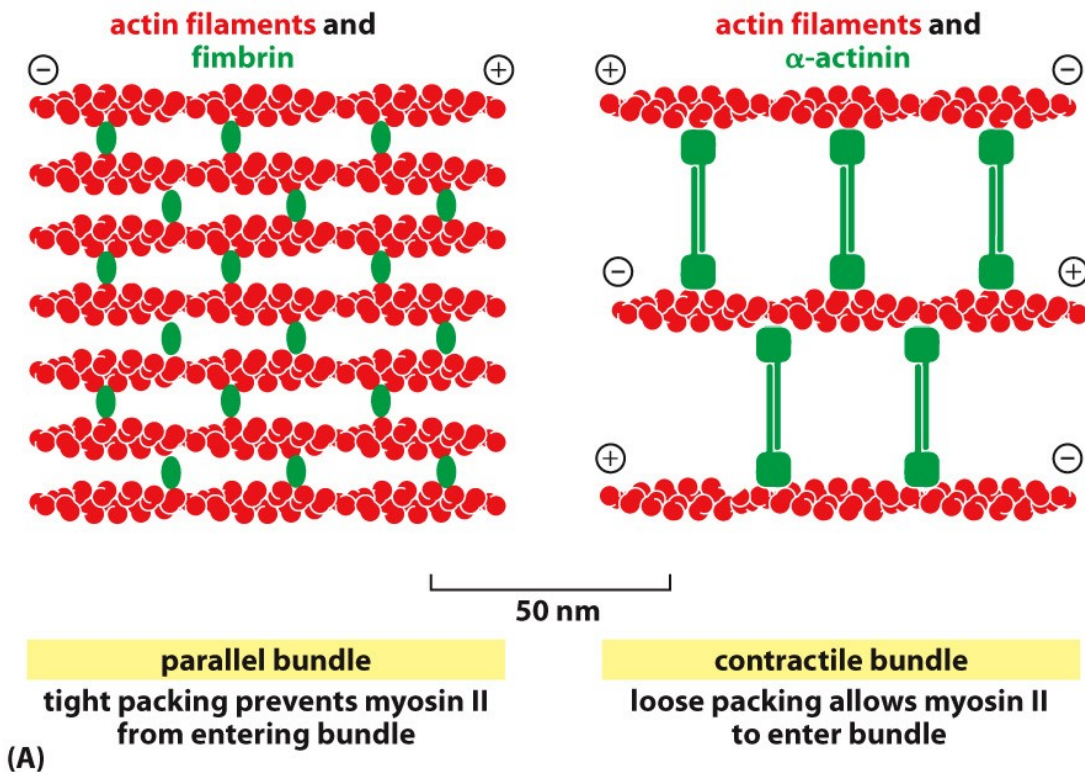
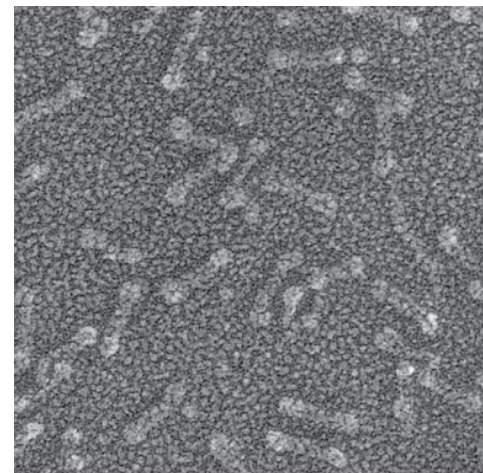


Figure 16-23 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

ve filopodiích

ve svalech



Proteiny asociované s aktinem

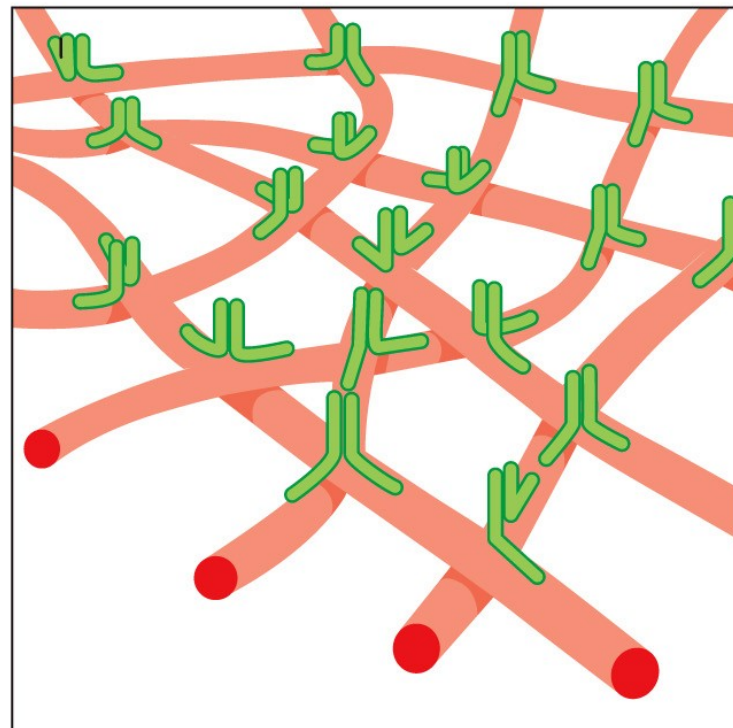
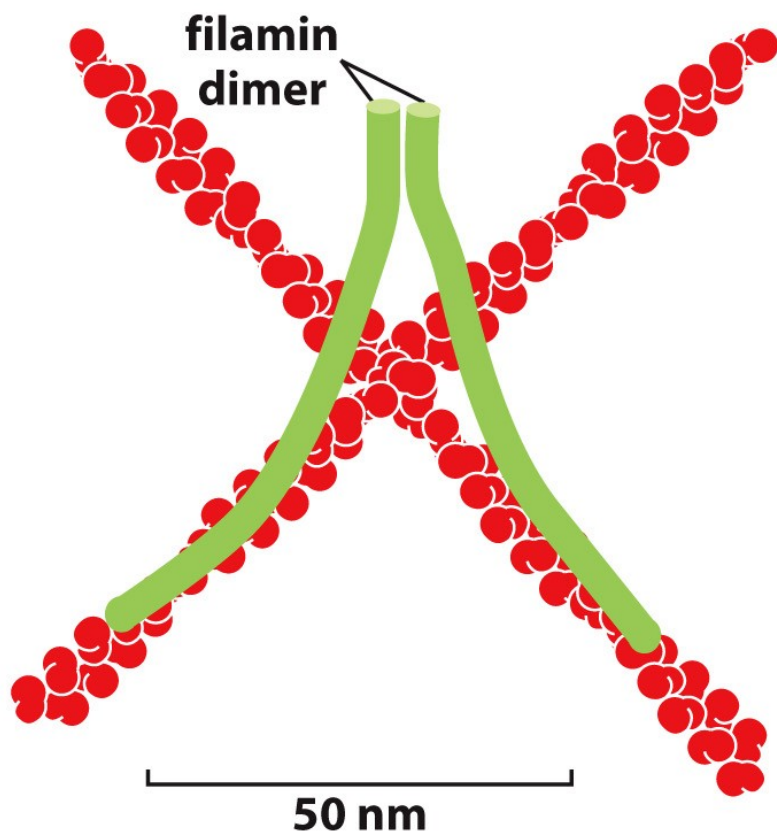
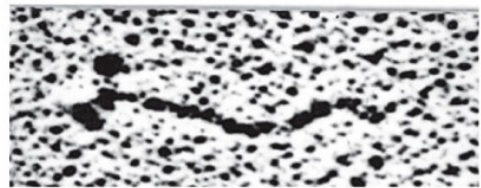


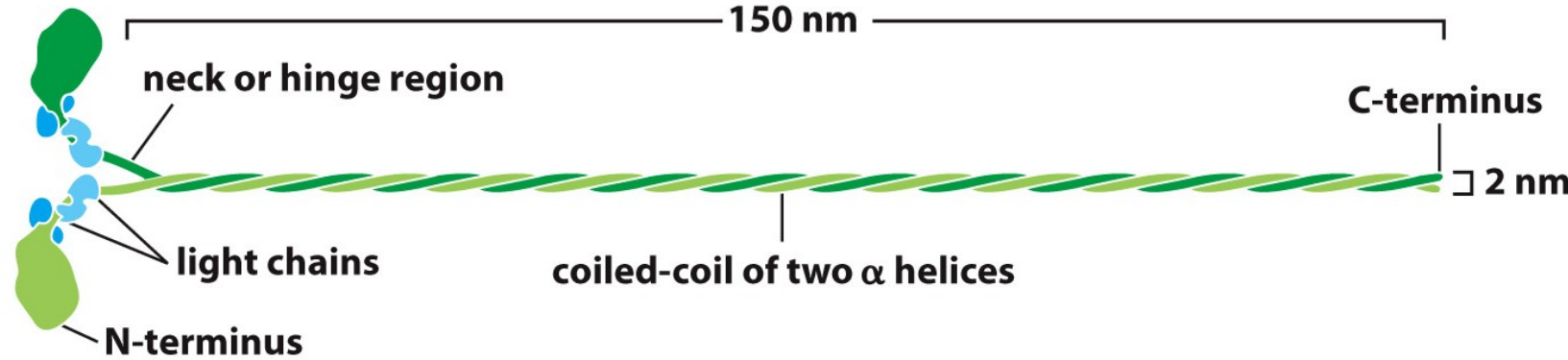
Figure 16-24a Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Myosiny – molekulární motory pohánějící auta na aktinové dálnici



(A)

100 nm



(B)

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

Myosiny – molekulární motory pohánějící auta na aktinové dálnici

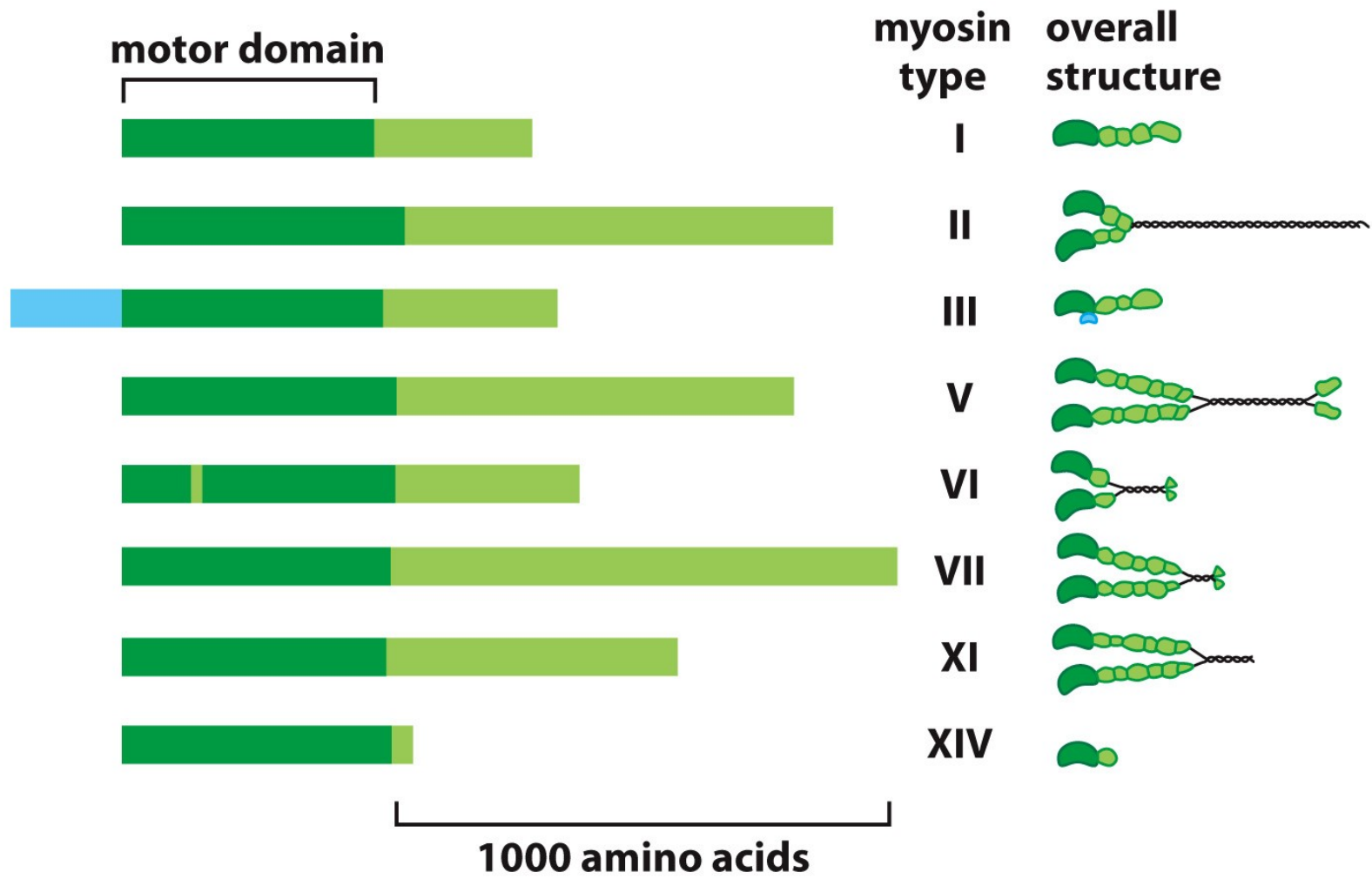


Figure 16-40 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

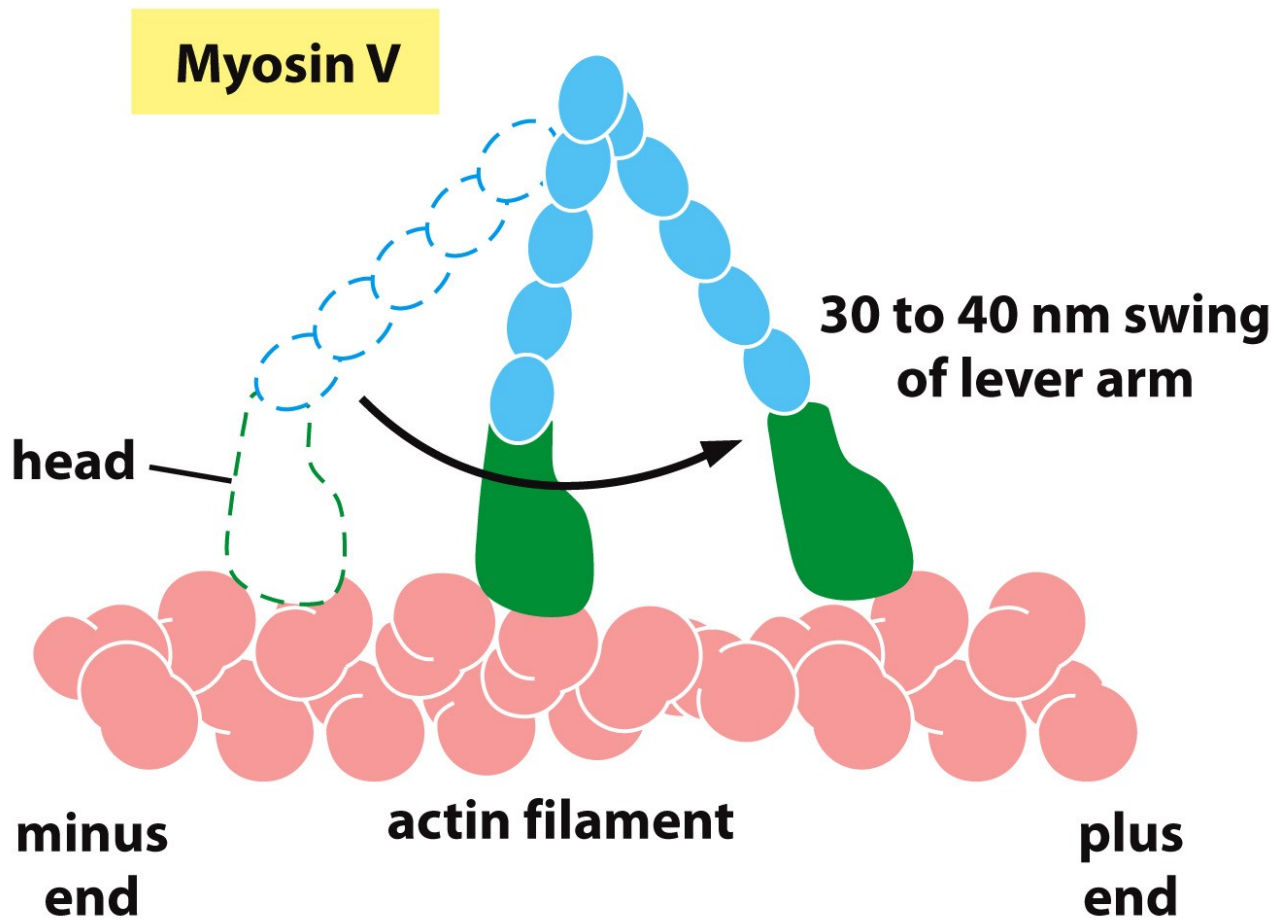
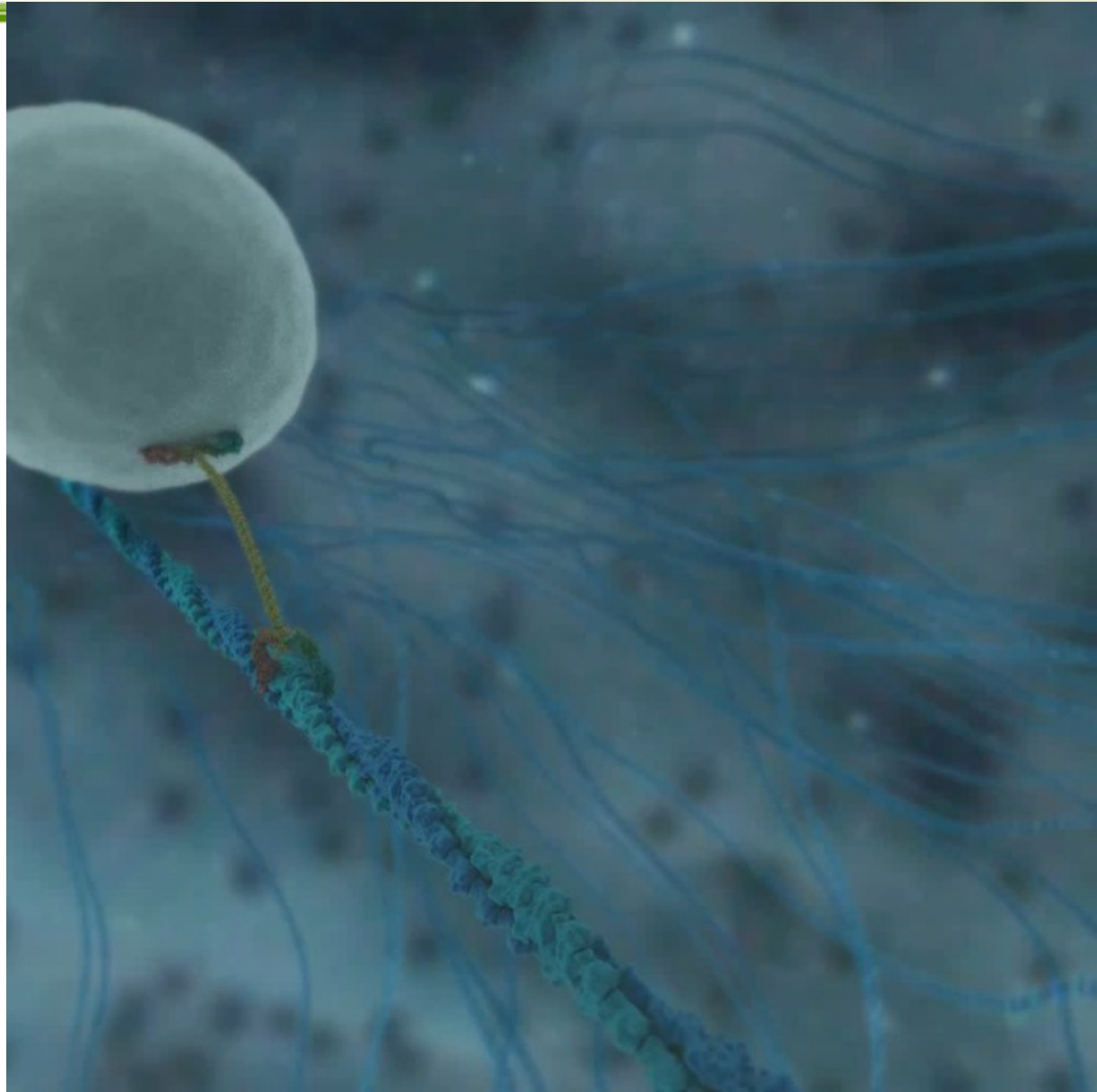


Figure 16-41a Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Myosin V na mikrofilamentu



Mikrotubuly

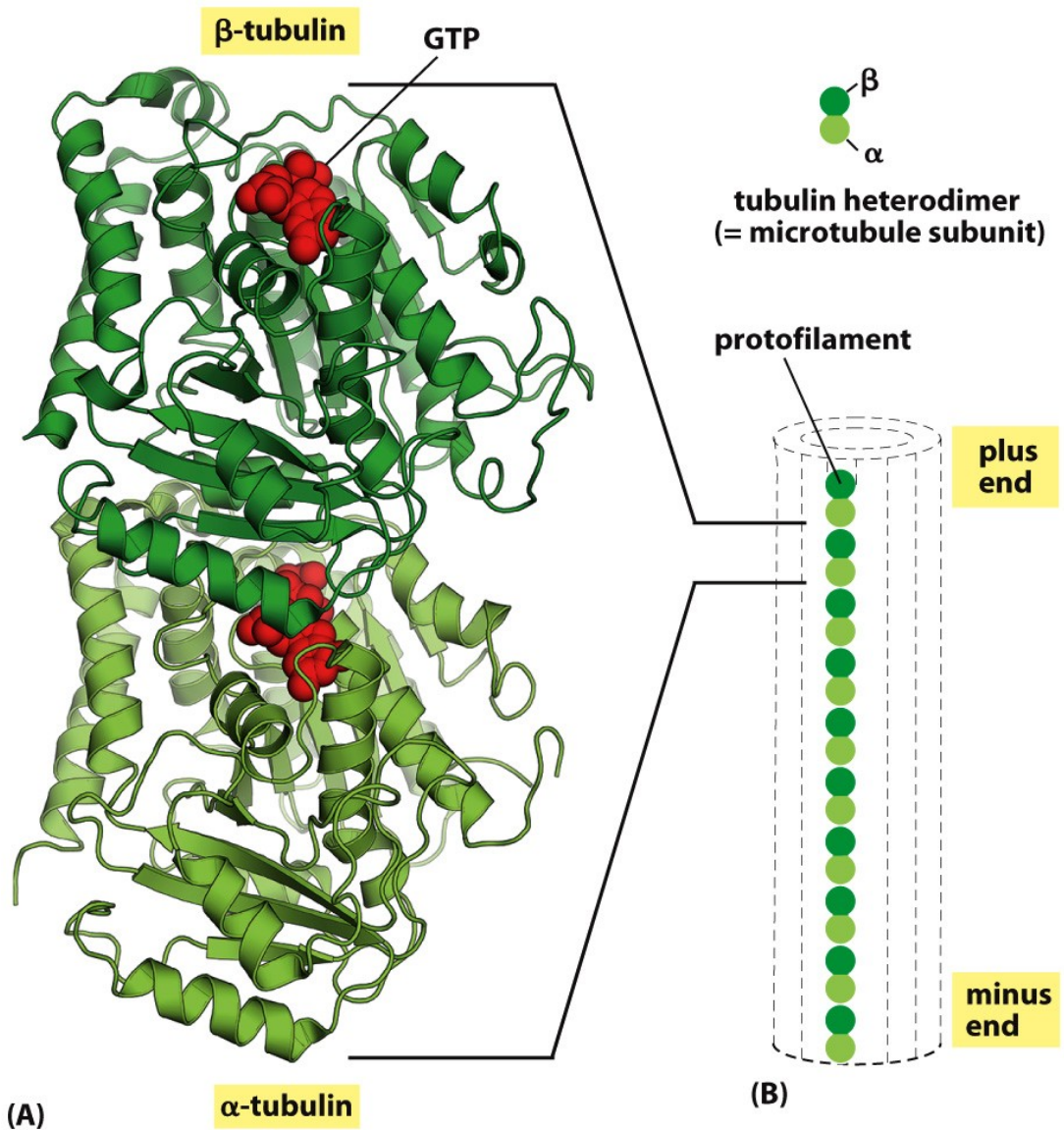


Figure 16-42ab Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Mikrotubuly

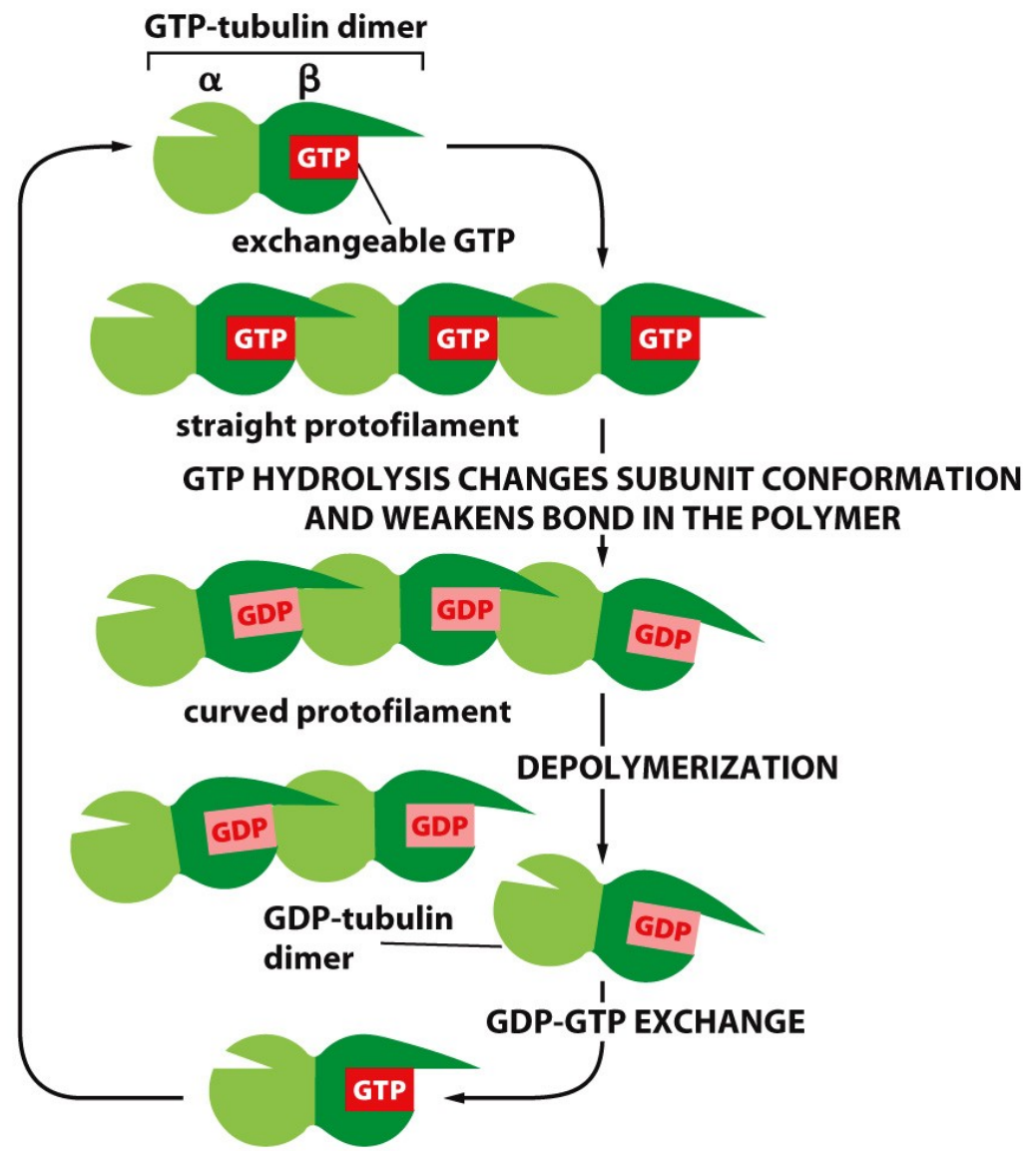


Figure 16-44b Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Dynamická nestabilita mikrotubulů

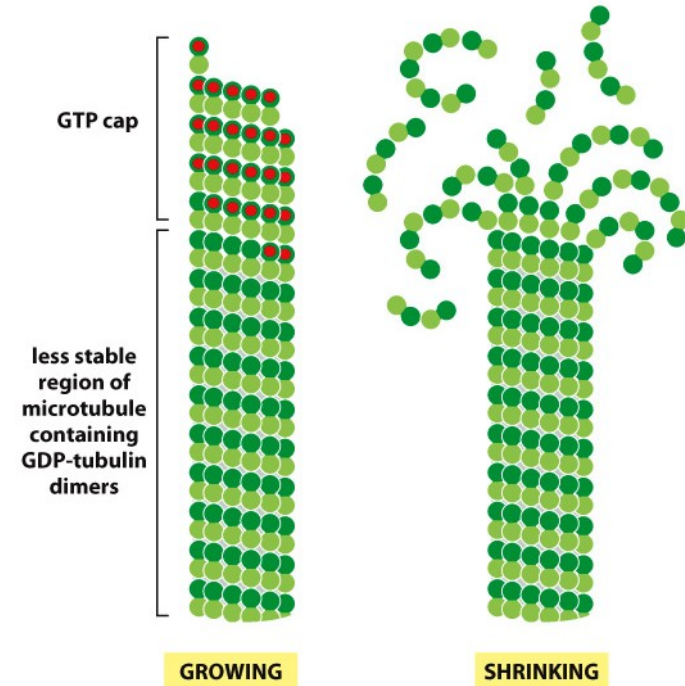
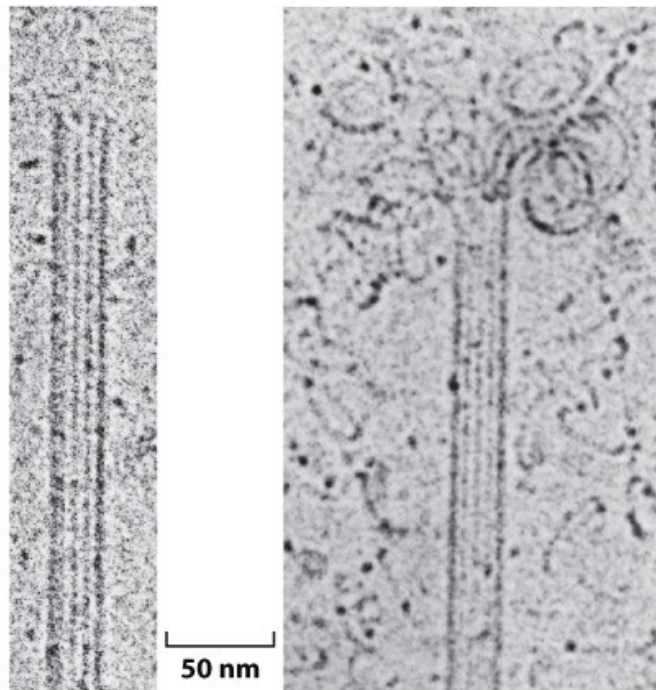


Figure 16-44c Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Centrosom

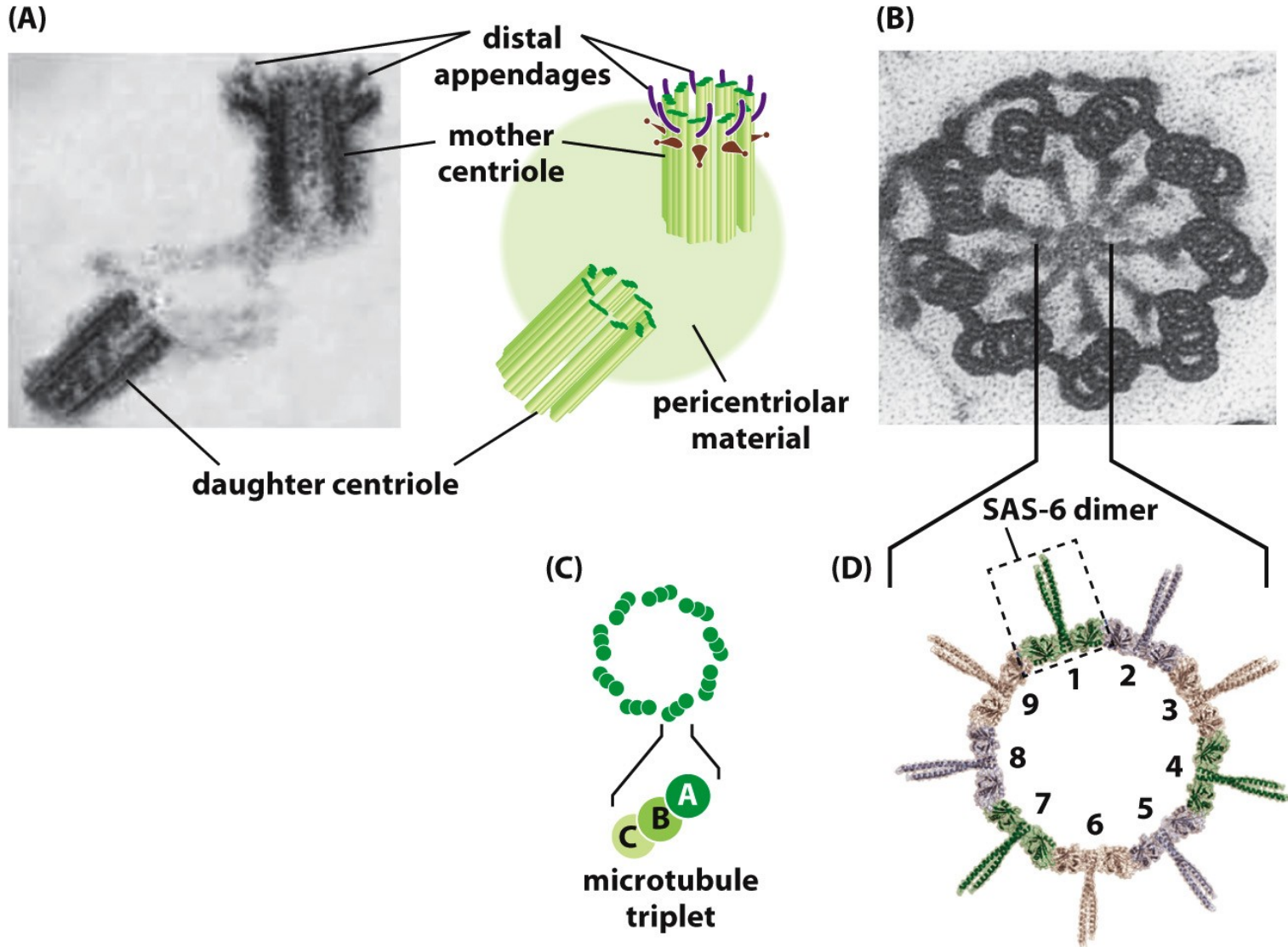


Figure 16-48 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Mikrotubuly – MTOC (microtubule-organizing center)

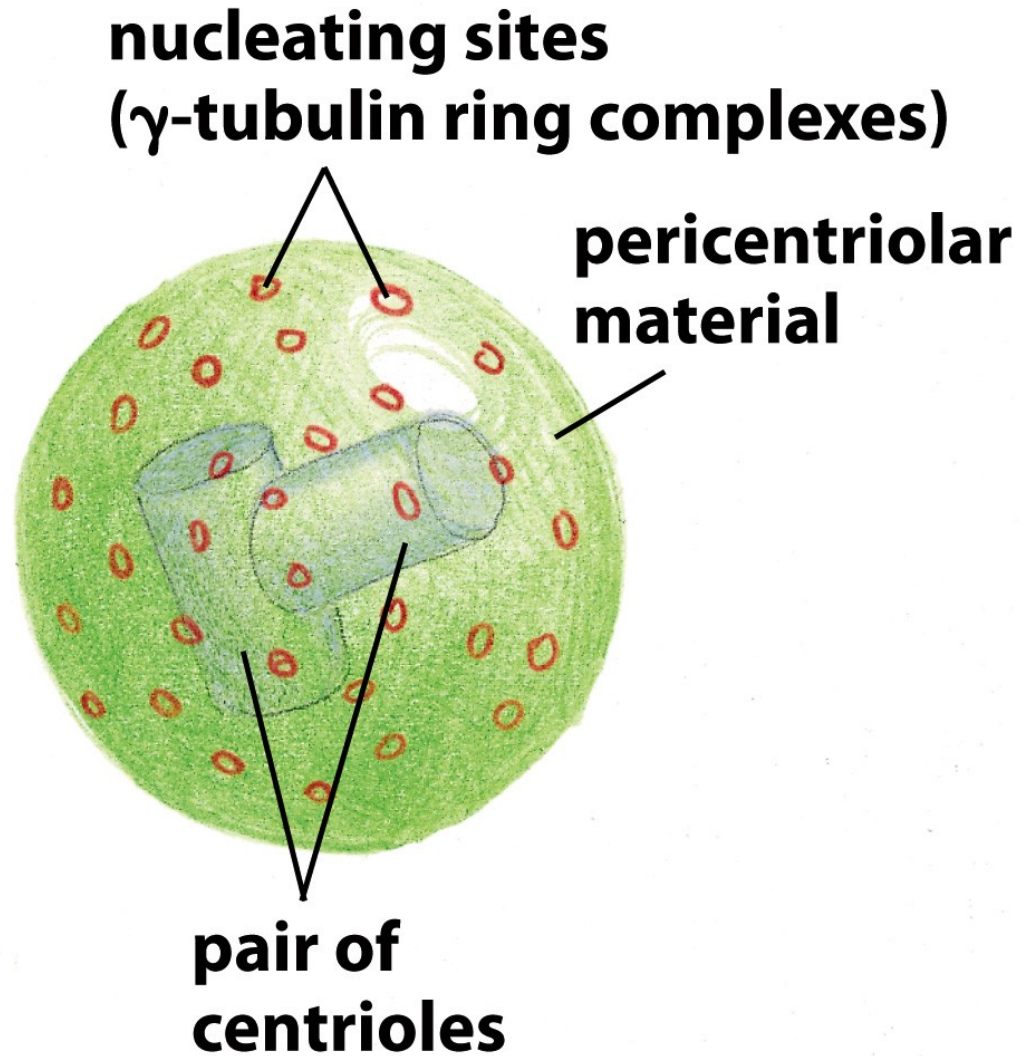


Figure 16-47a Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Mikrotubuly – MTOC (microtubule-organizing center)

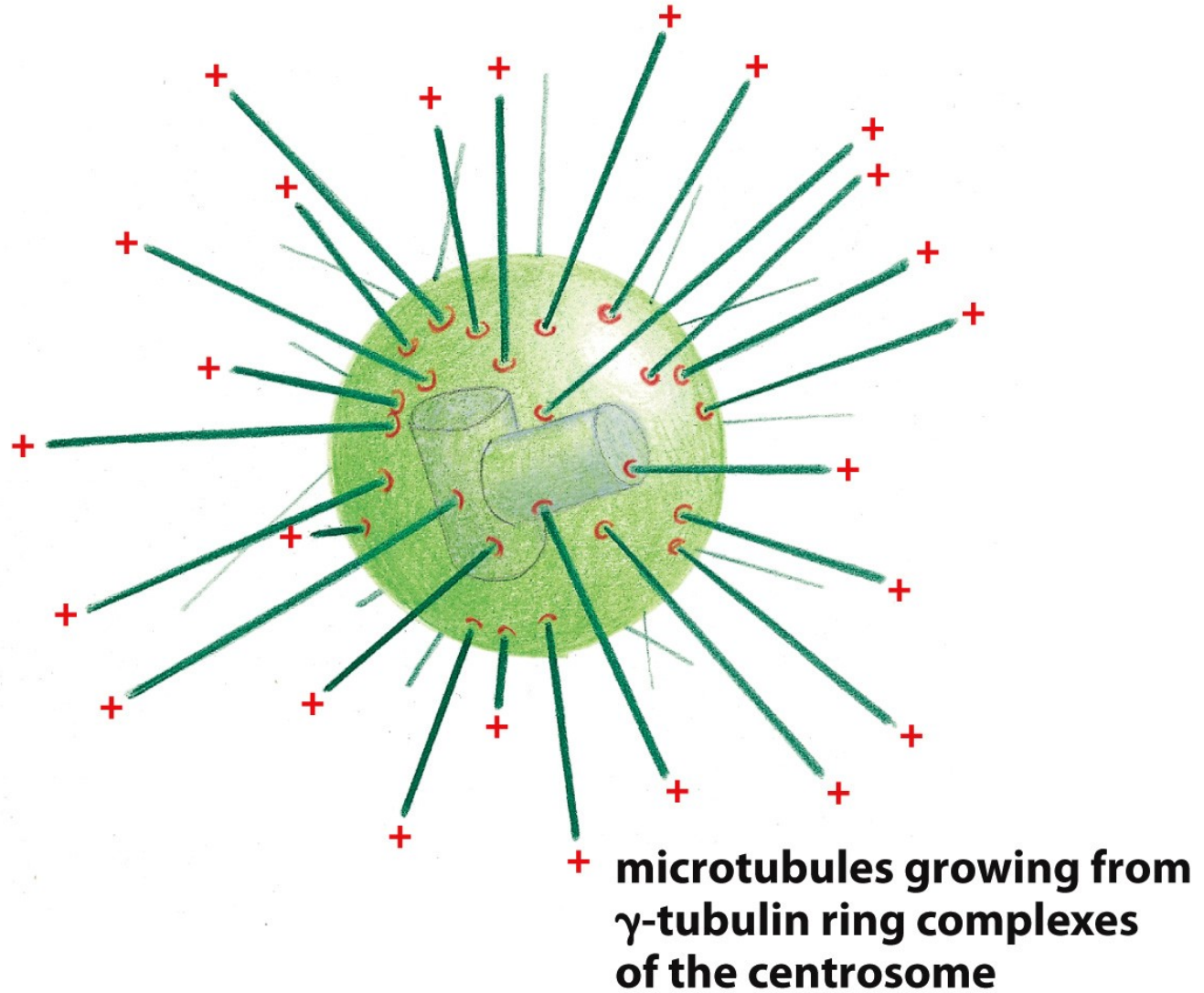


Figure 16-47b Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Mikrotubuly – MTOC (microtubule-organizing center)

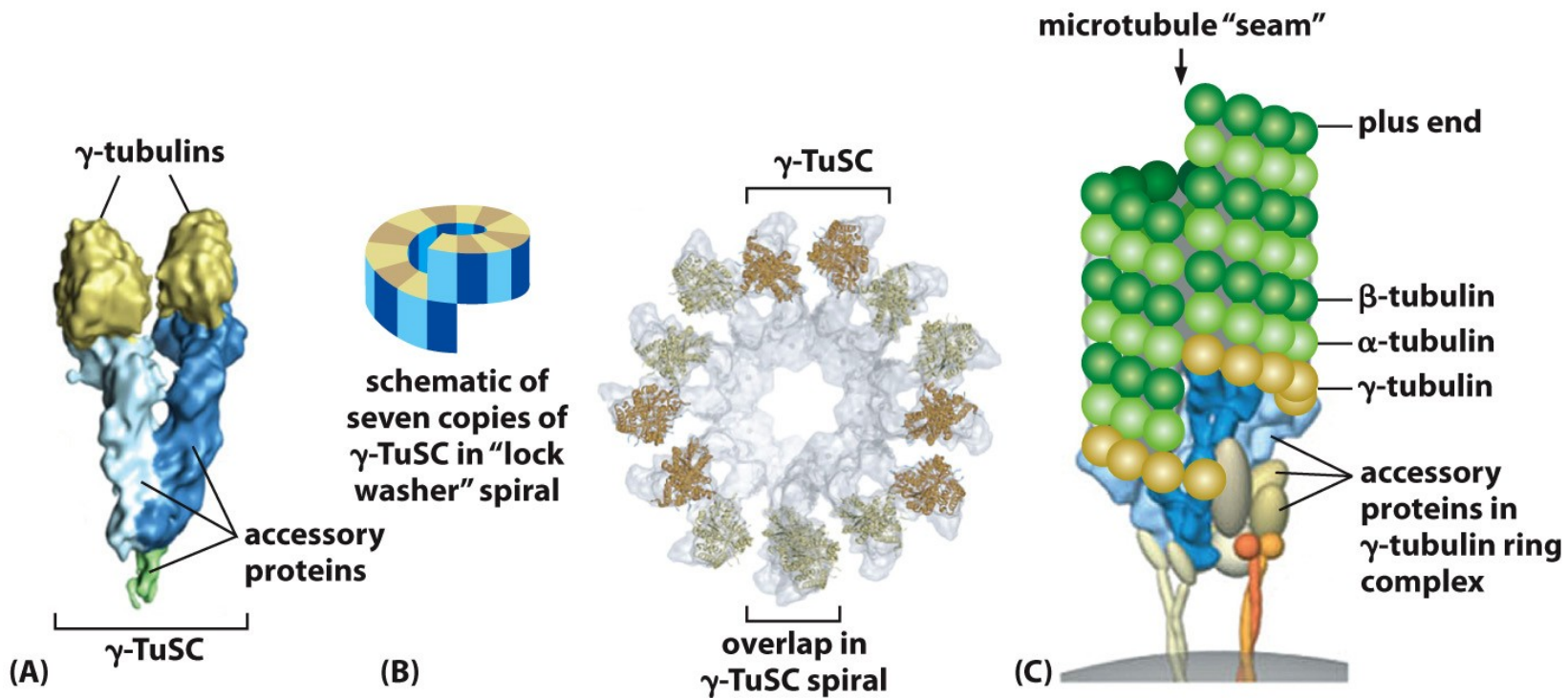


Figure 16-46 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

γ -TuSC – gamma tubulin small complex

Mikrotubuly

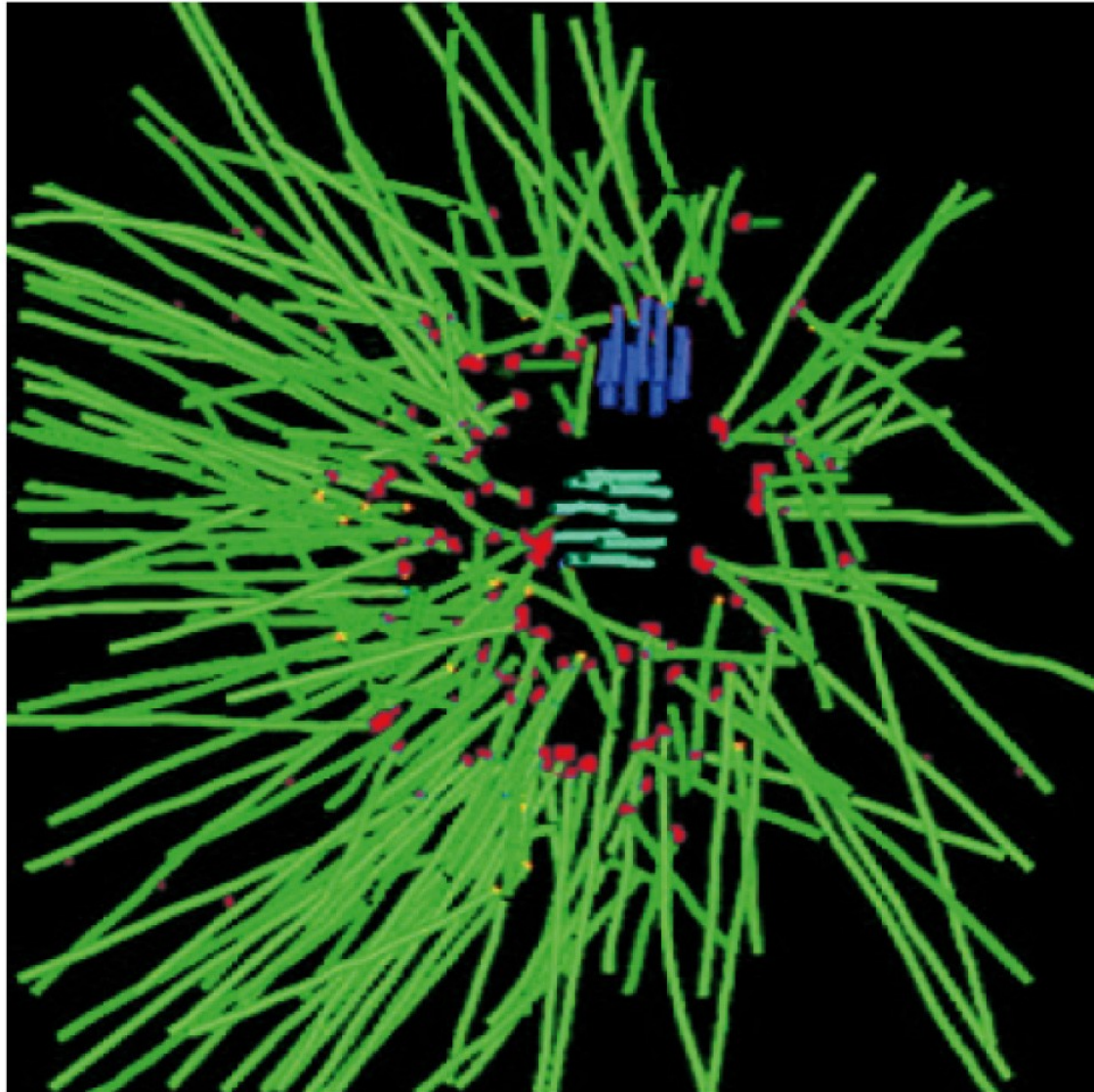
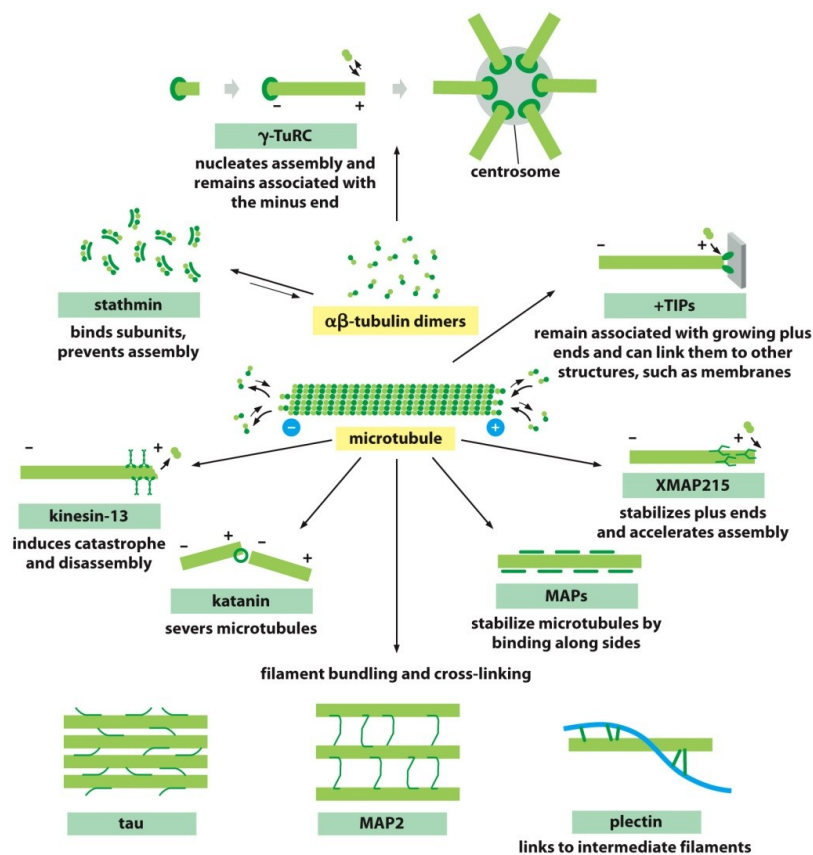


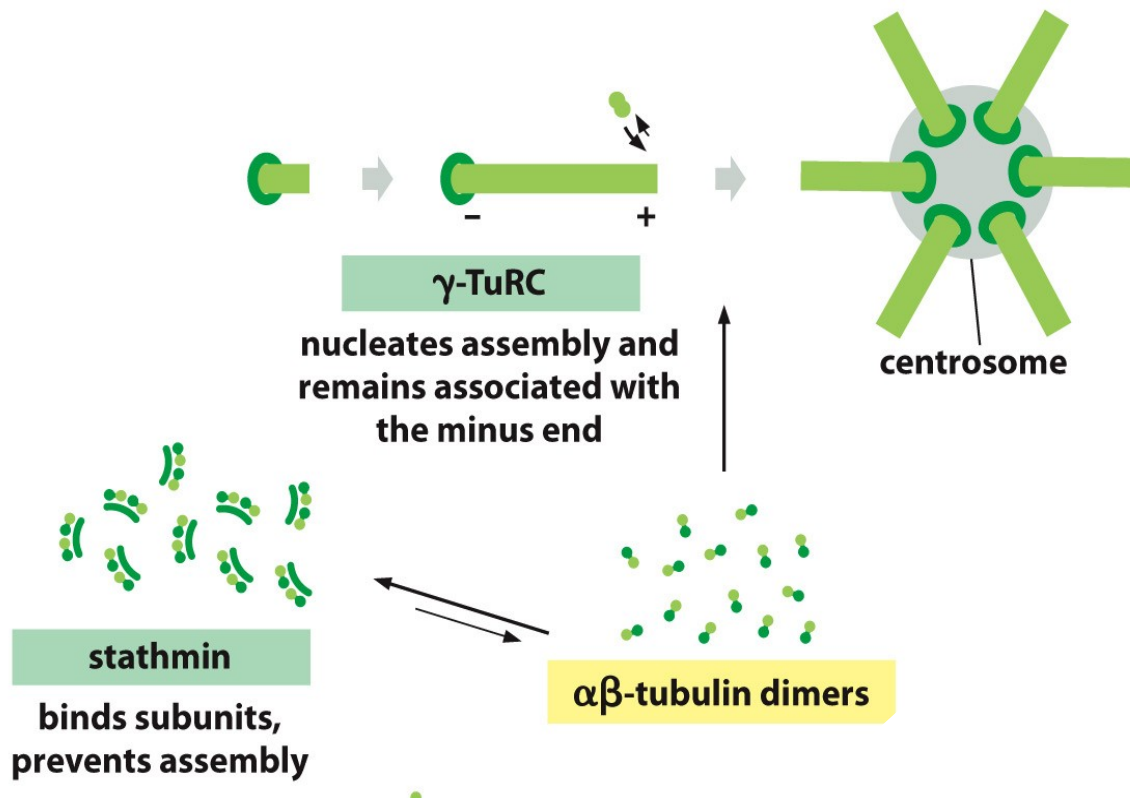
Figure 16-47c Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Proteiny asociované s mikrotubuly

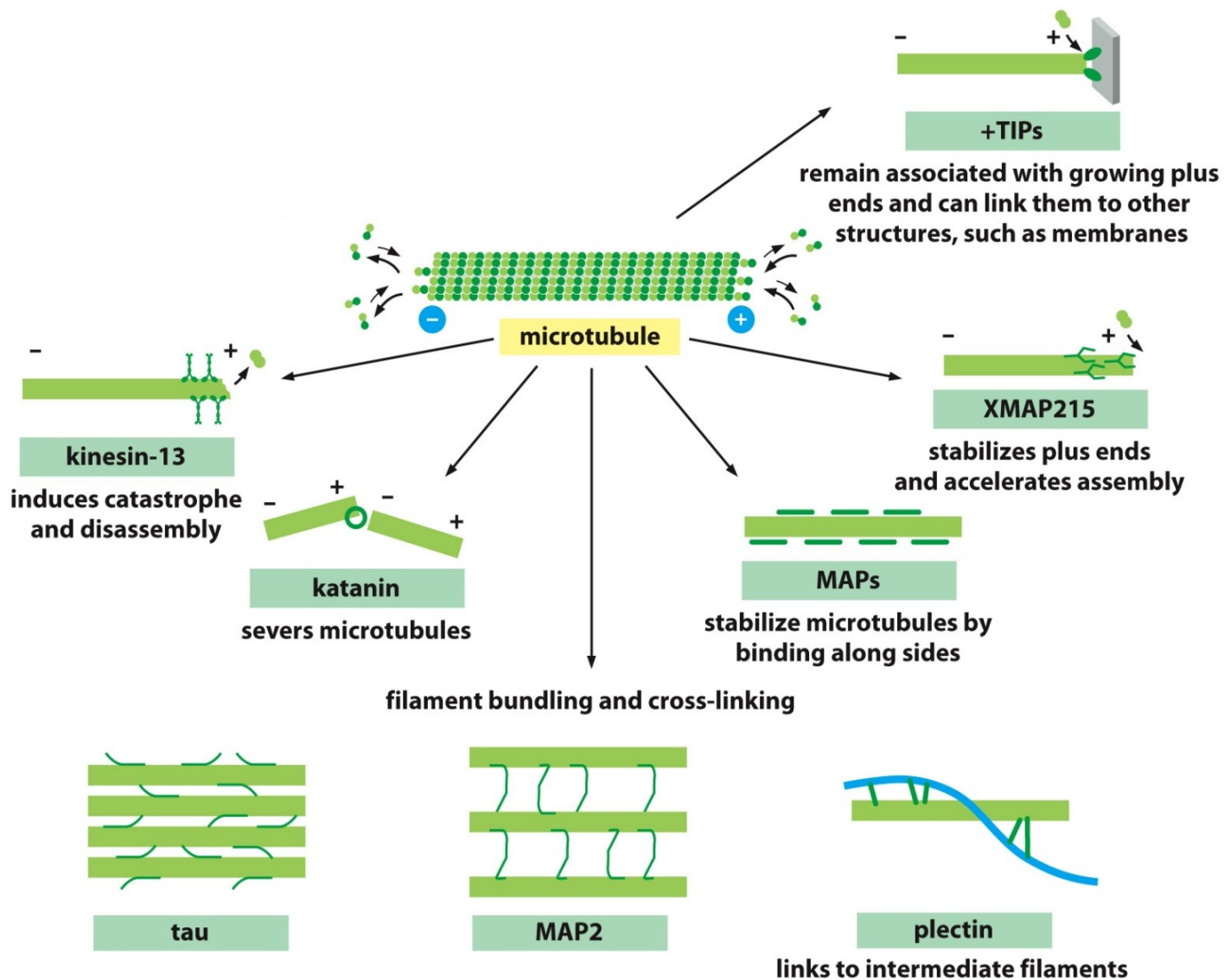
- většina buněk obsahuje více než 100 různých proteinů asociovaných s mikrotubuly a je pravděpodobné, že řada dalších takových proteinů nebyla ještě identifikována



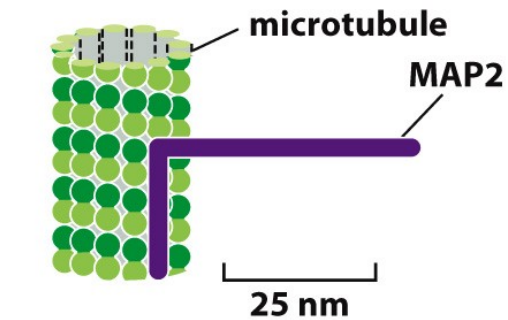
Proteiny asociované s mikrotubuly



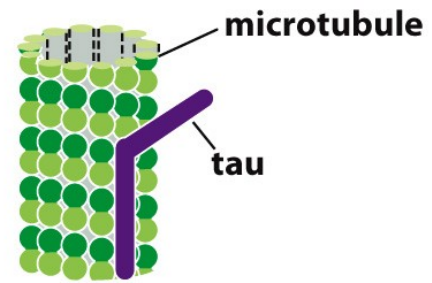
Proteiny asociované s mikrotubuly



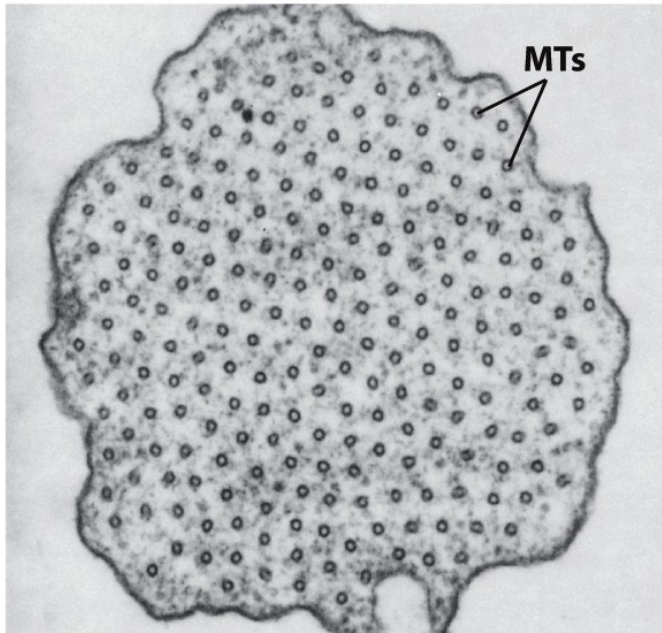
Proteiny asociované s mikrotubuly



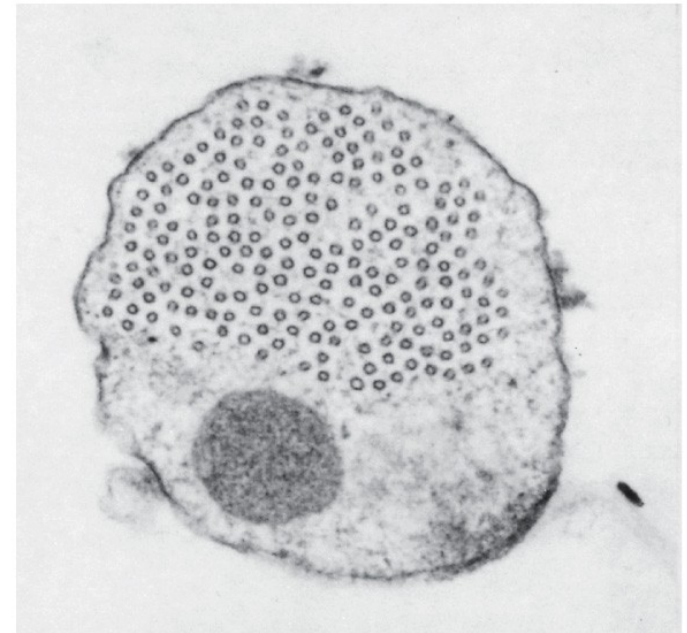
(A)



(B)



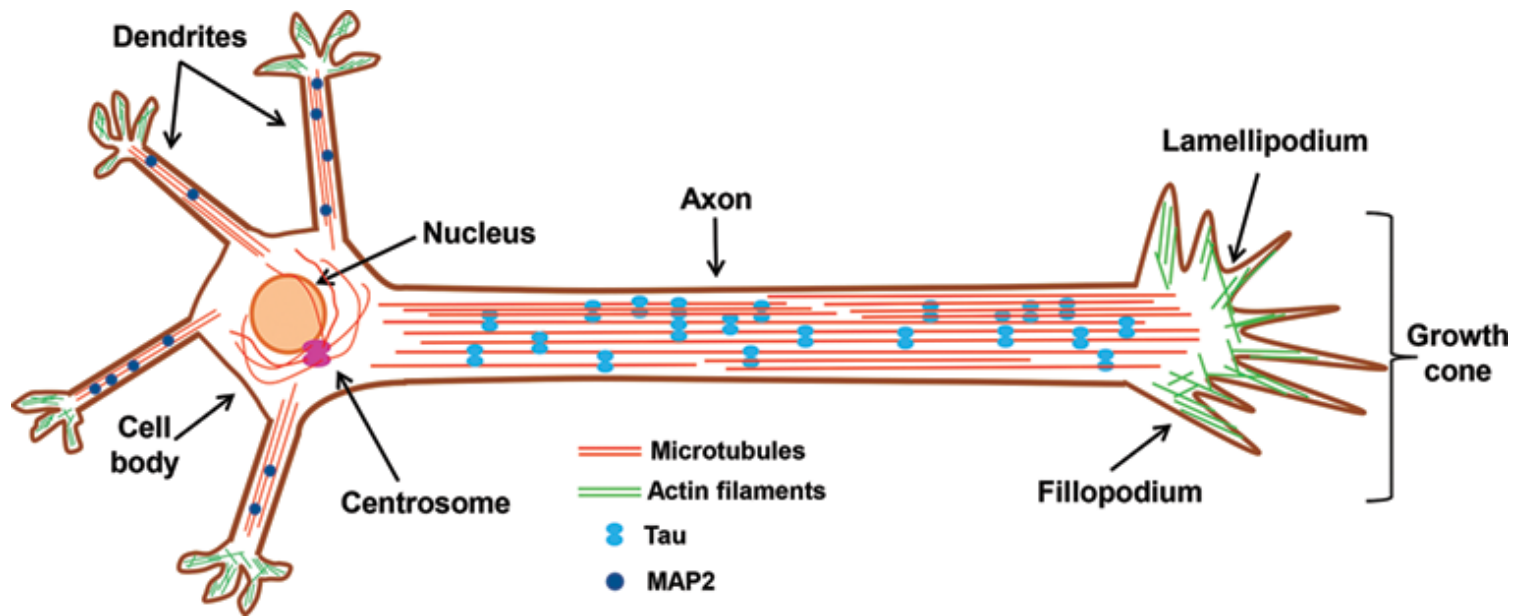
(C)



(D)

300 nm

CYTOSKELET



Proteiny asociované s mikrotubuly

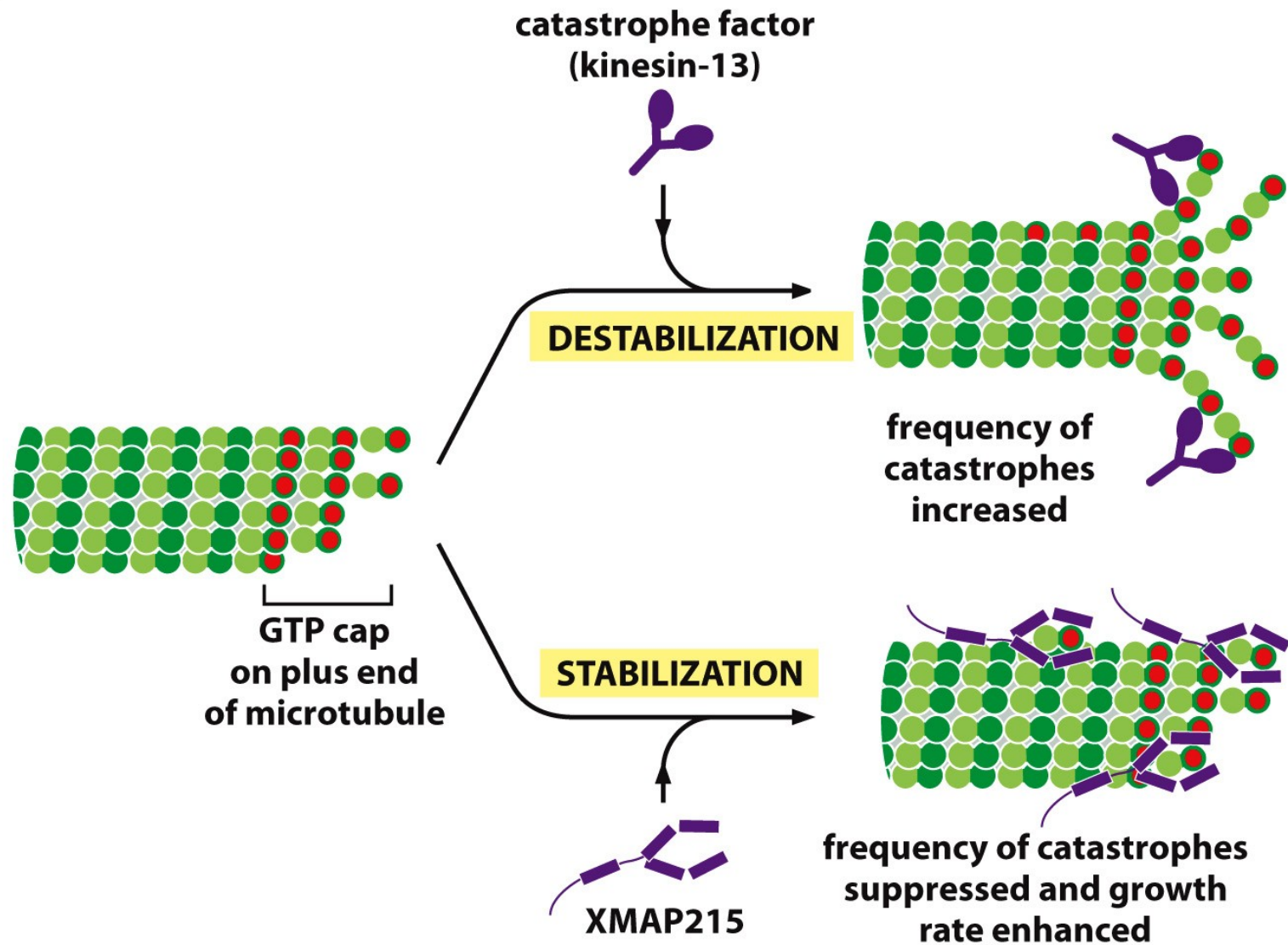


Figure 16-52 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Proteiny asociované s mikrotubuly

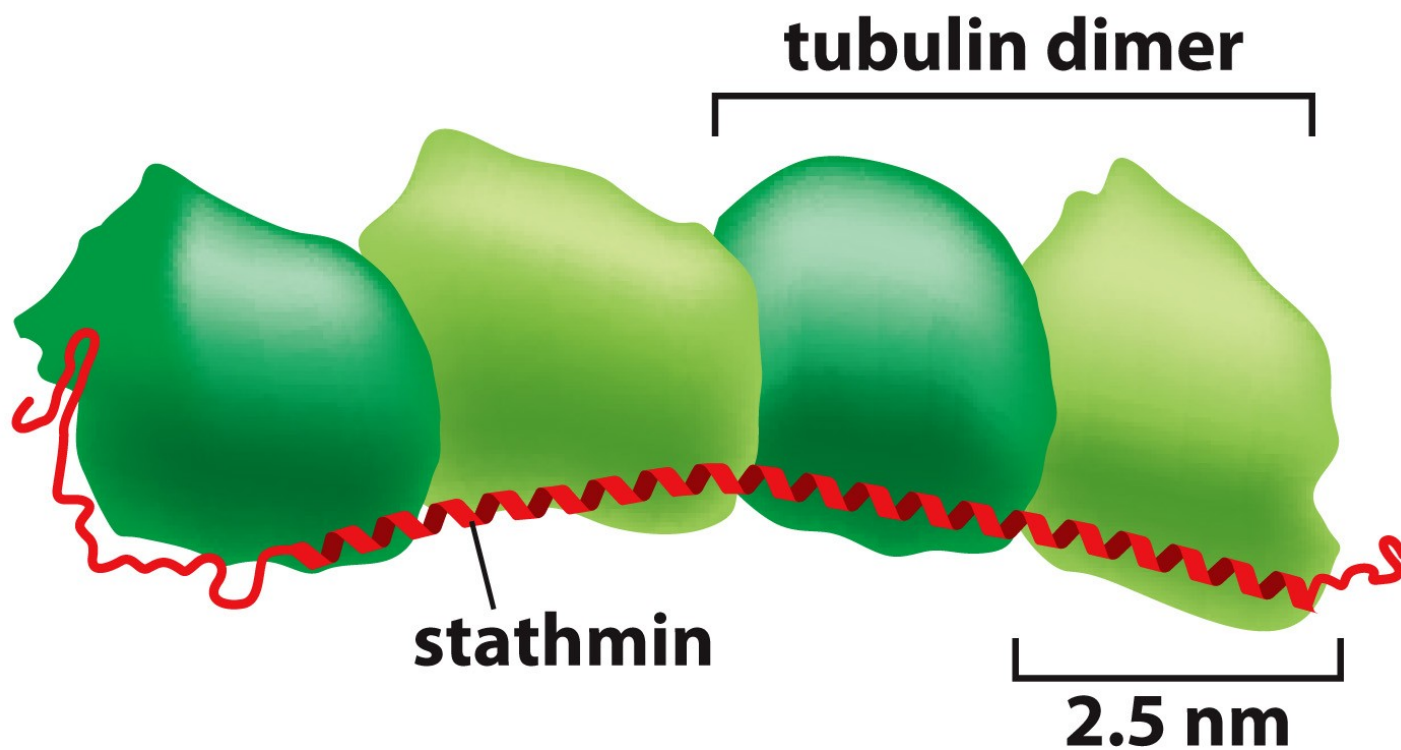


Figure 16-54 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Molekulární motory vozící vozidla po mikrotubulové silnici: kinesiny a dyneiny

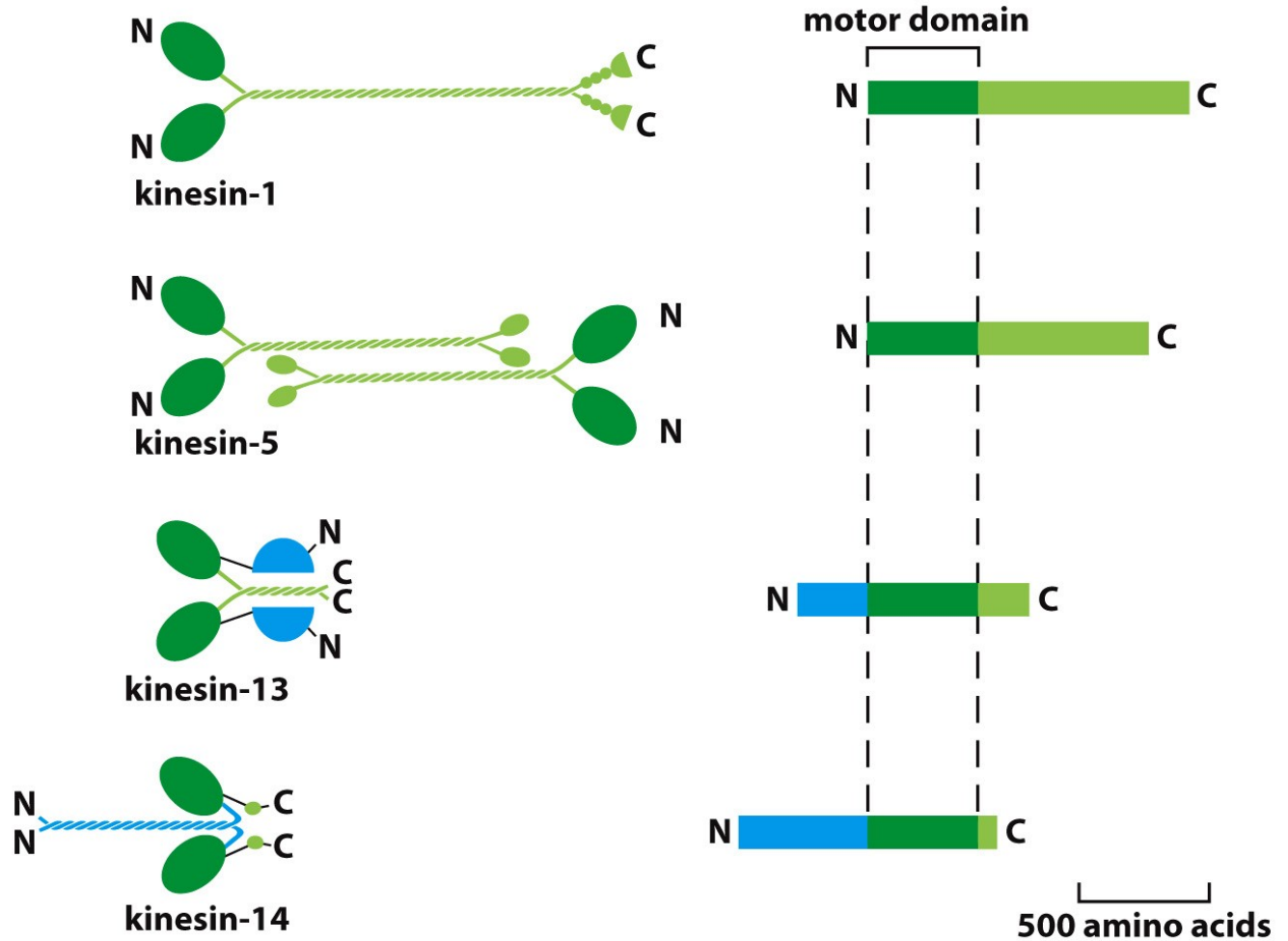
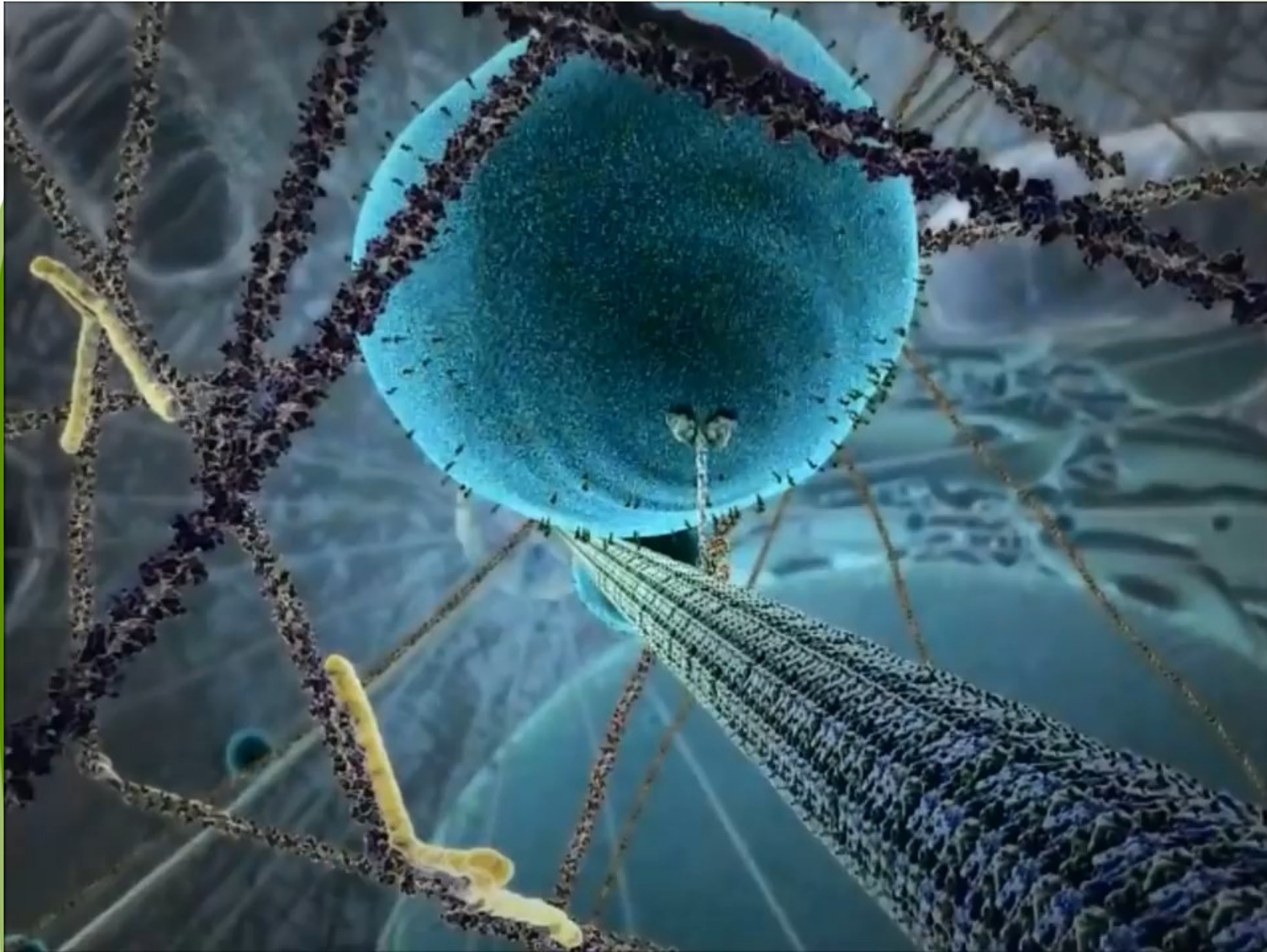


Figure 16-56 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Kinesin 1 na mikrotubulu



Struktura dyneinu

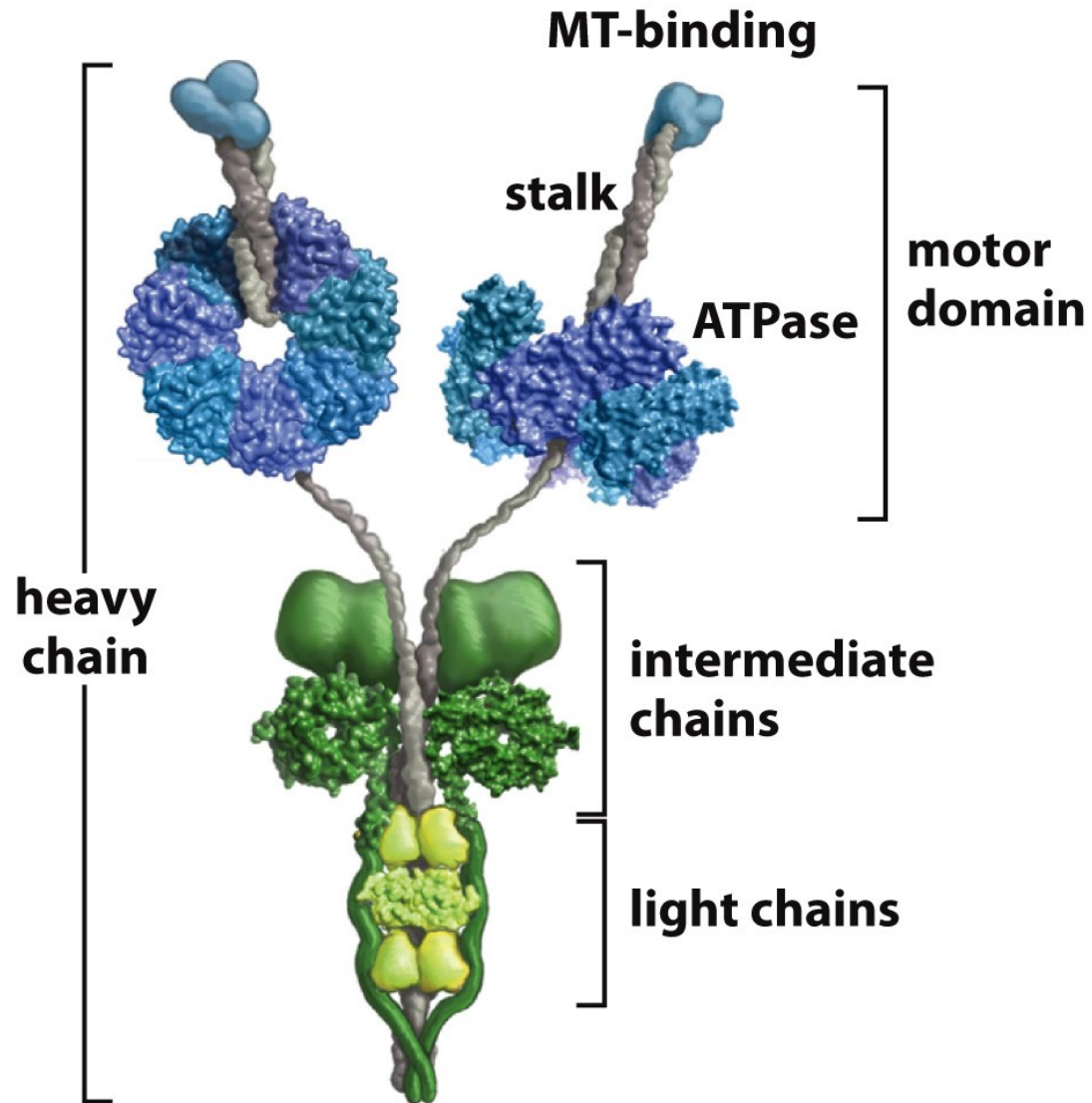
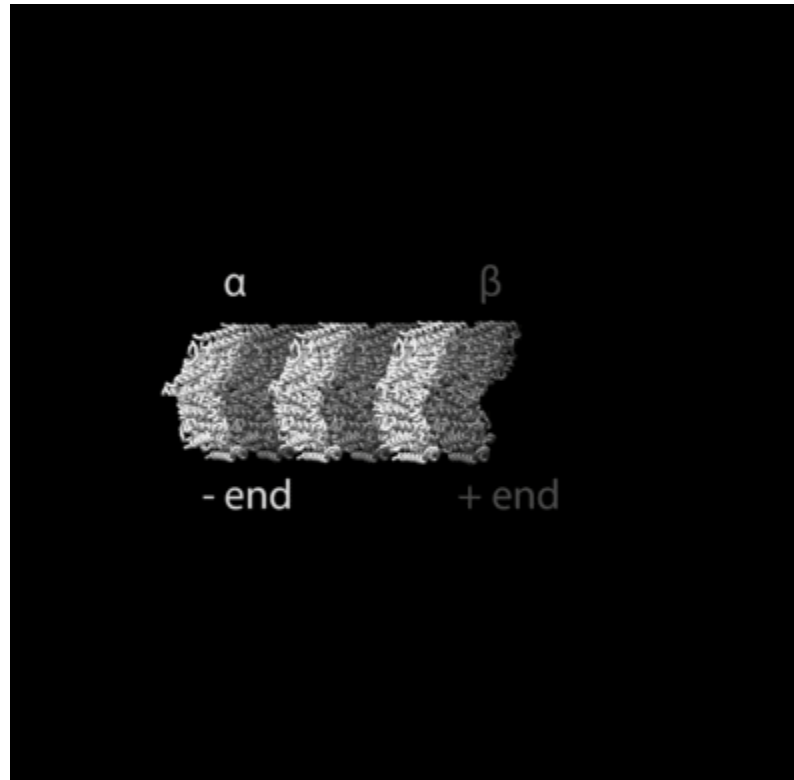


Figure 16-58b Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Dyneinový komplex



Proteiny asociované s mikrotubuly

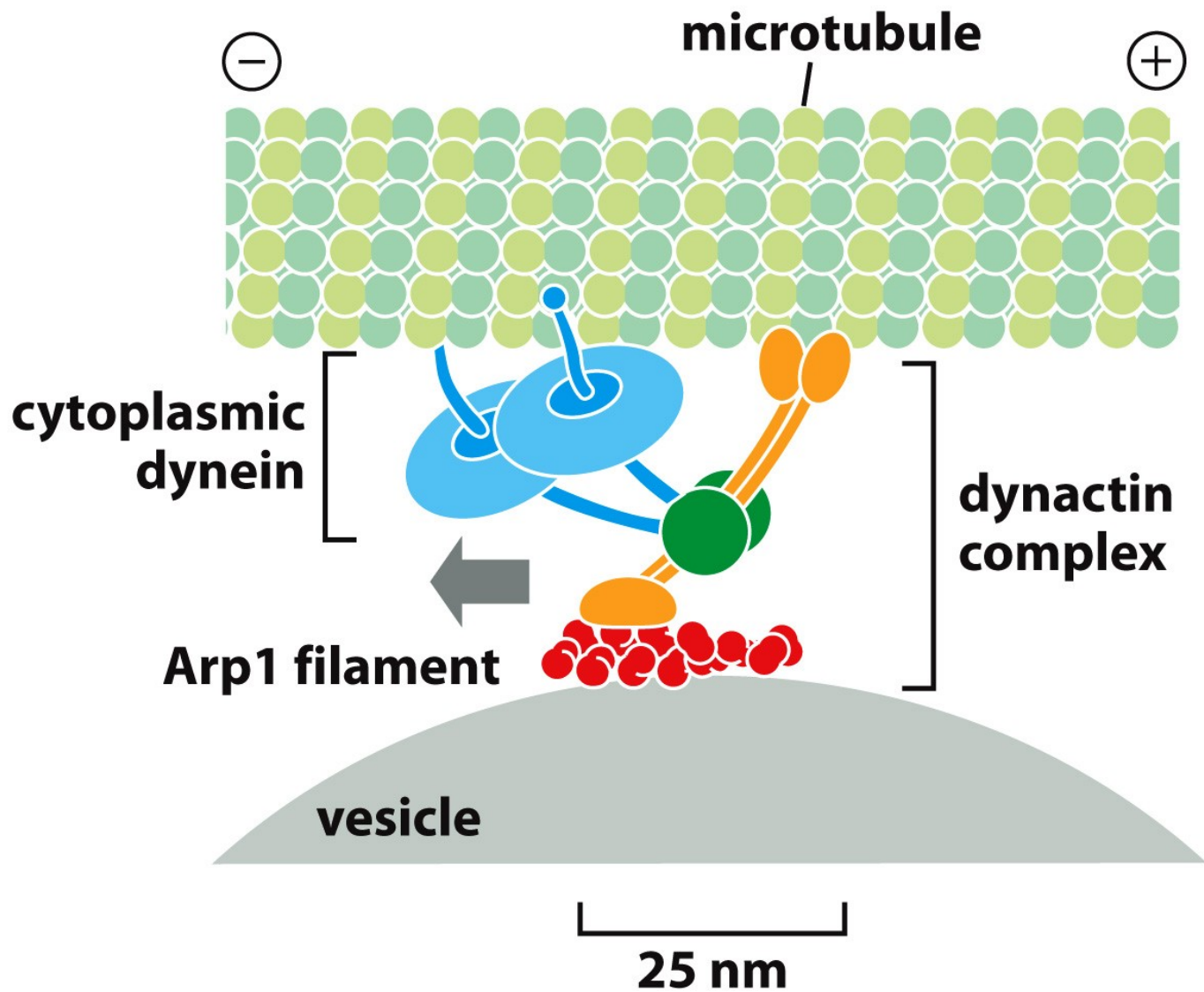
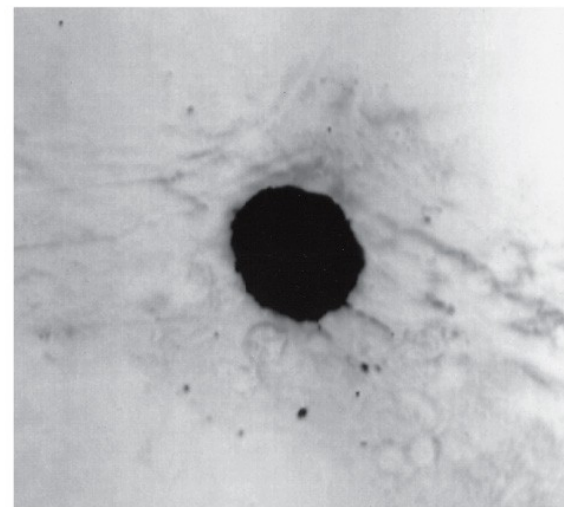
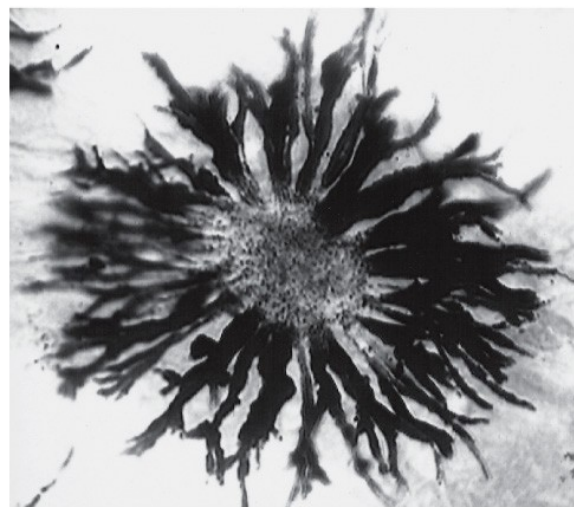
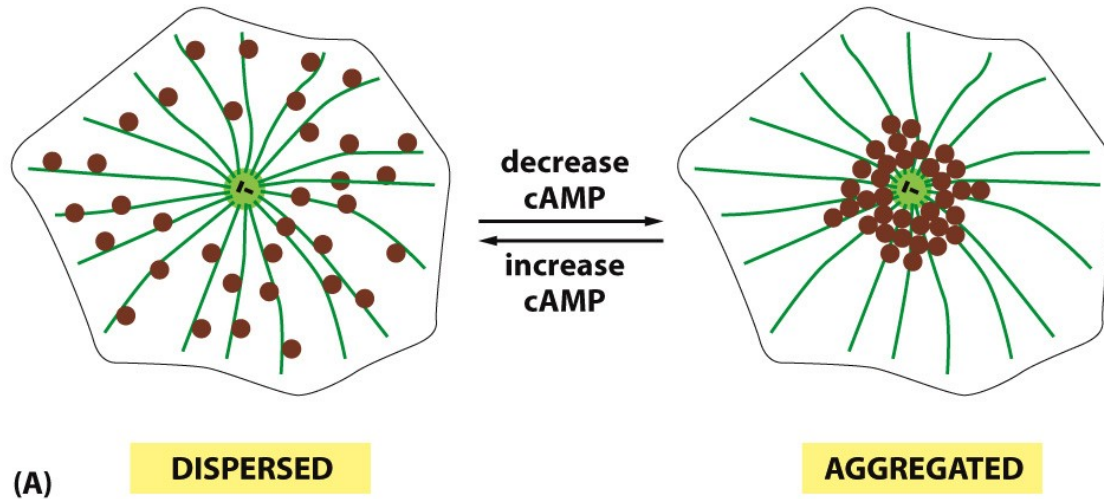


Figure 16-60 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Dynein na mikrotubulu

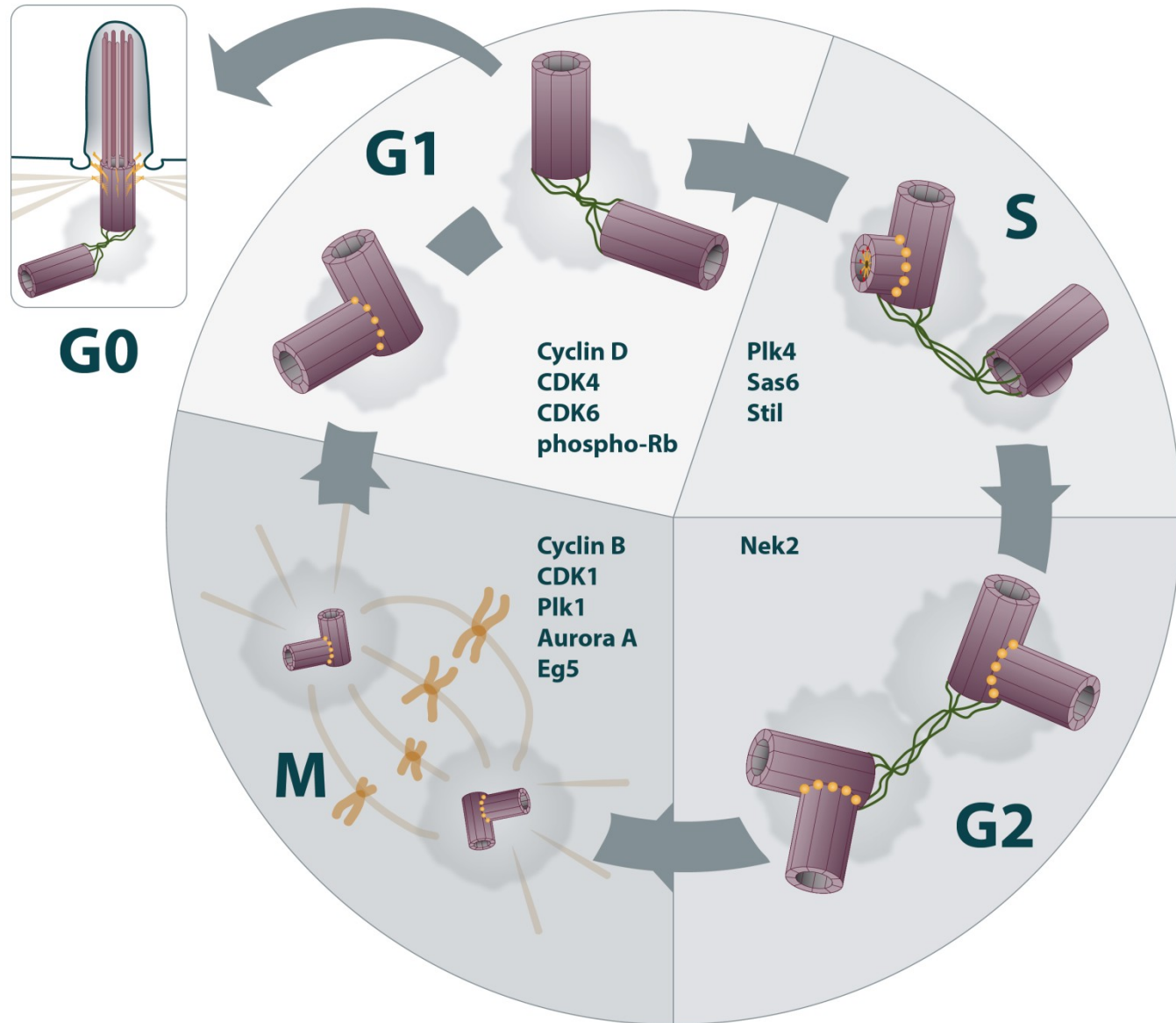


Funkce dyneinu v melanosomu

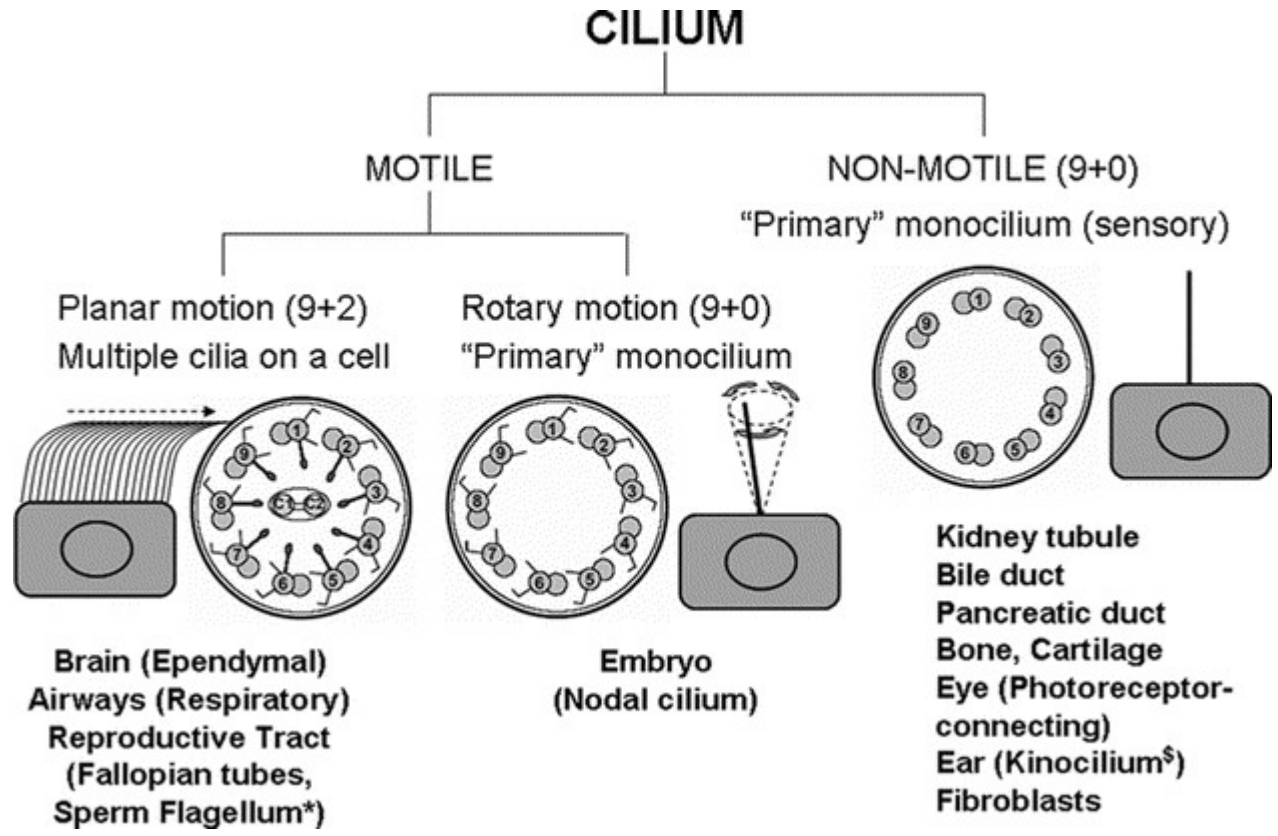


(B) 50 μm

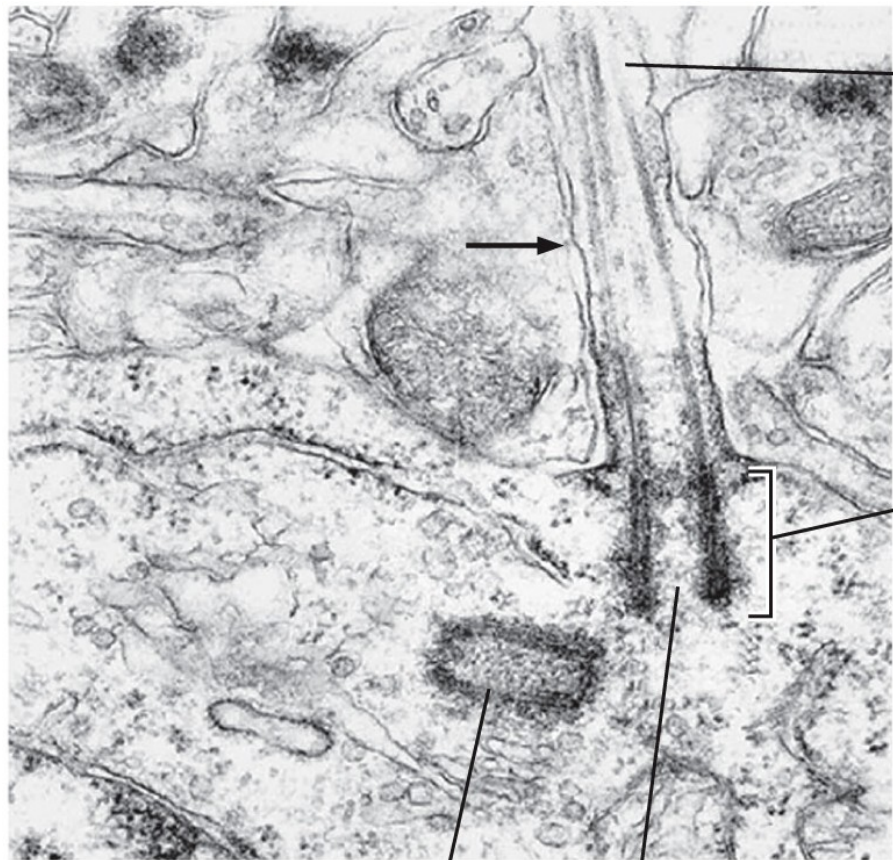
Centrosom a jeho dynamika



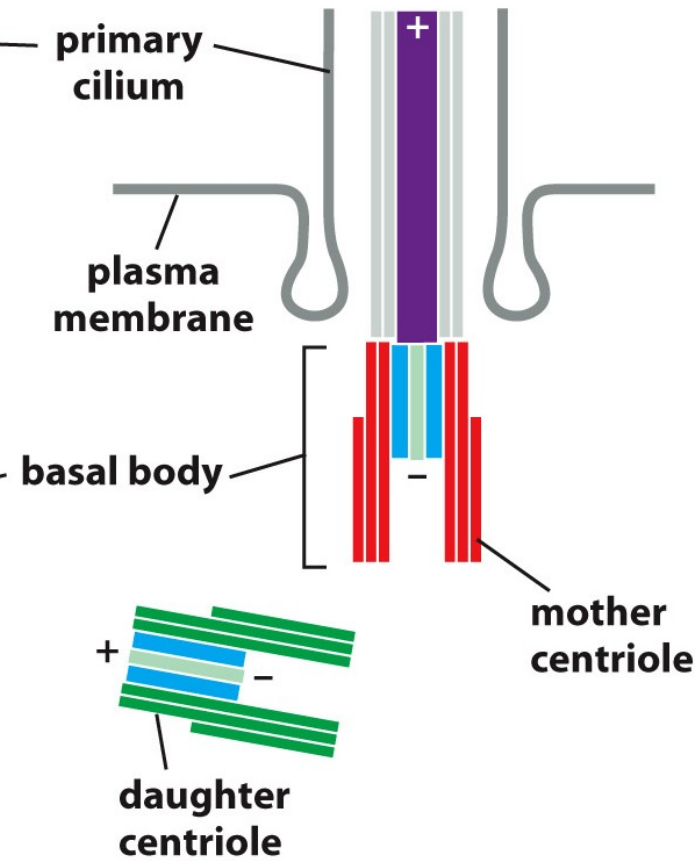
Cilium (řasinka) – pohyblivá nebo primární cilium



Primární cilium – vznik bazálního tělíska a jeho ukotvení

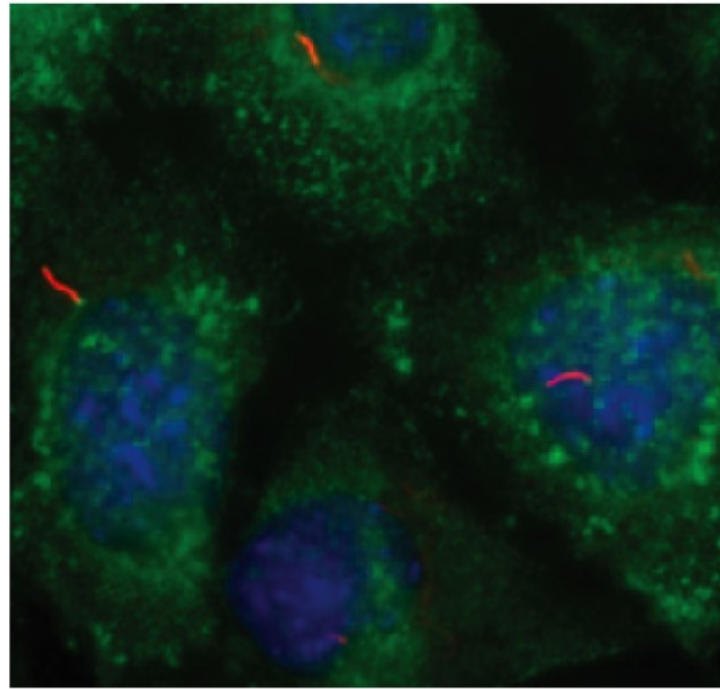


daughter centriole mother centriole 300 nm



Primární cilim – obsahuje modifikovaný tubulin

(B)



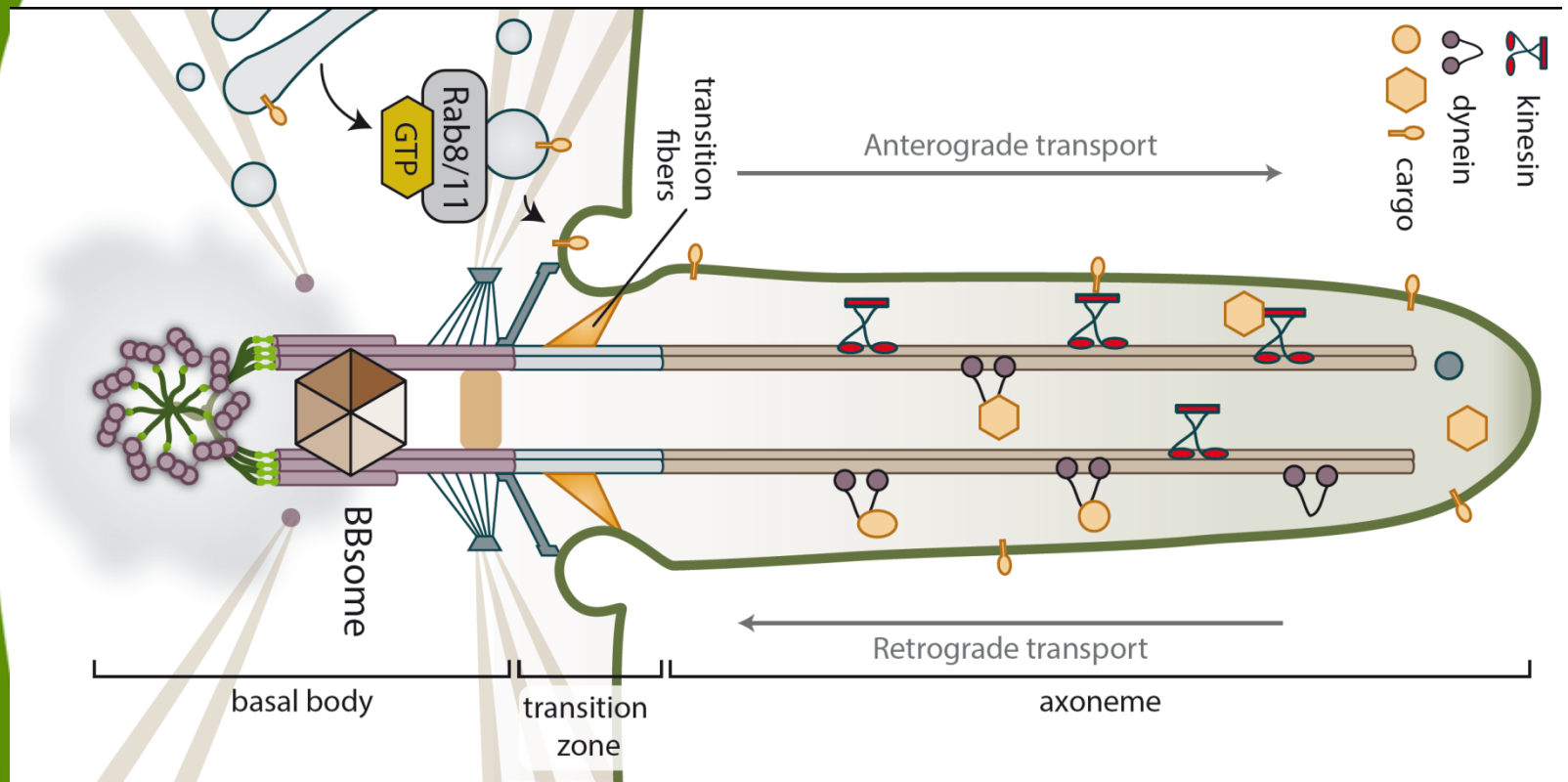
10 μm

(C)

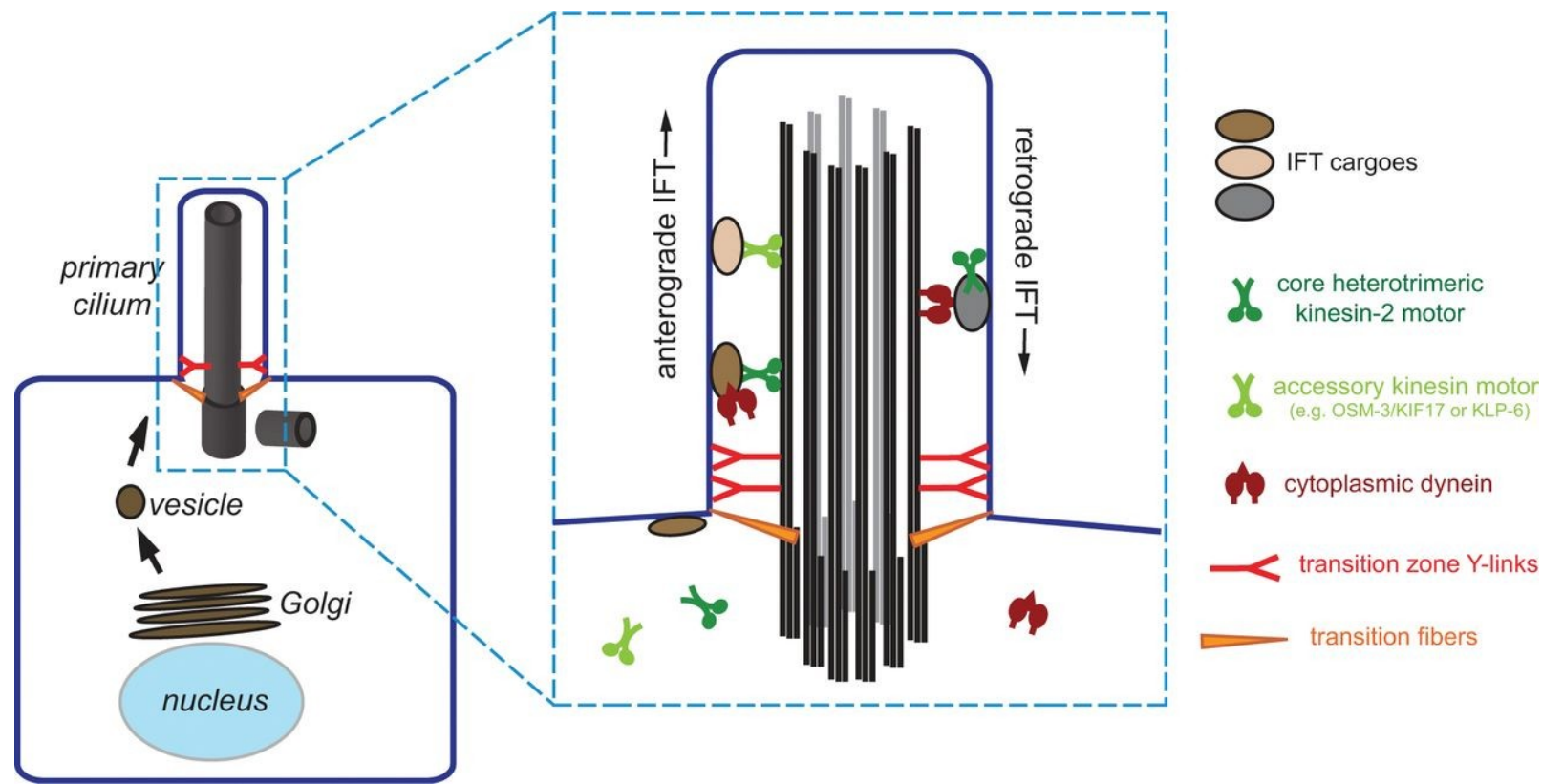


2 μm

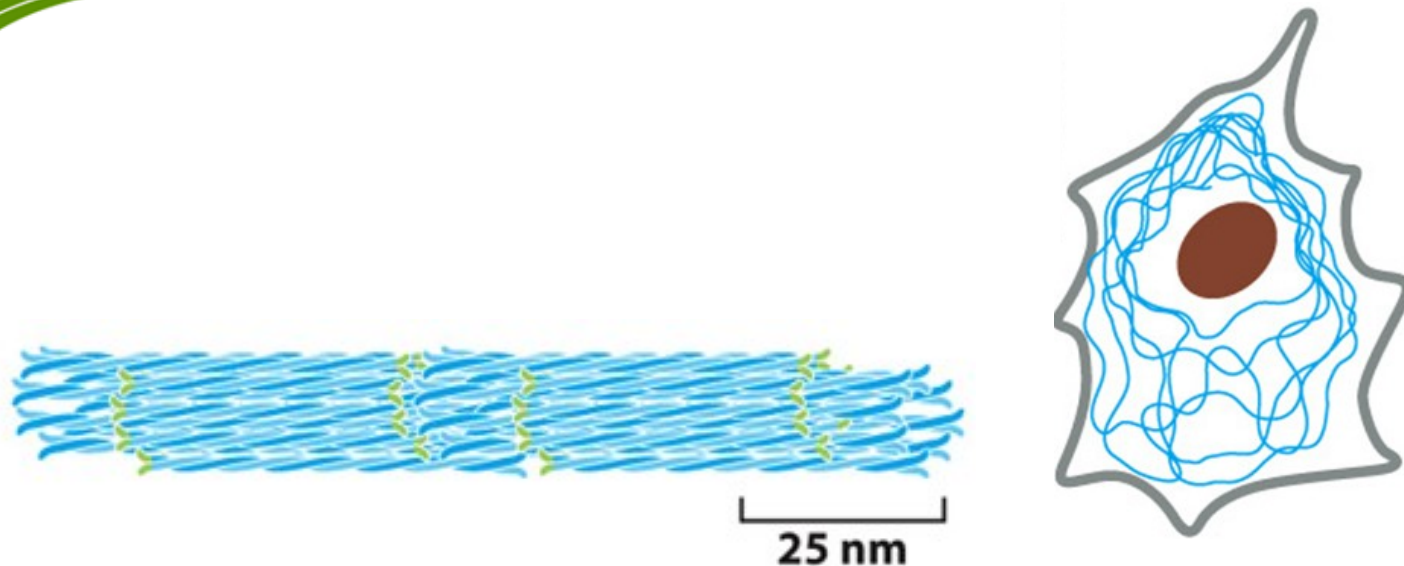
Primární cilium – obsahuje modifikovaný tubulin



Recyklace kinesinu a dyneinu v primární cilií

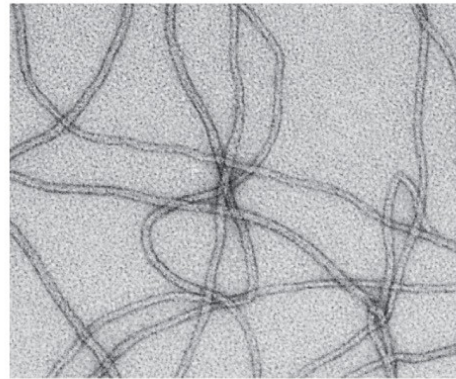


Intermediární filamenta



- 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 rozprostřeny napříč cytoplasmou a zajišťují mechanickou odolnost buňky
- v epiteliálních tkáních IF zajišťují spojení buněk mezi sebou

Intermediální filamenta



0.1 μ m

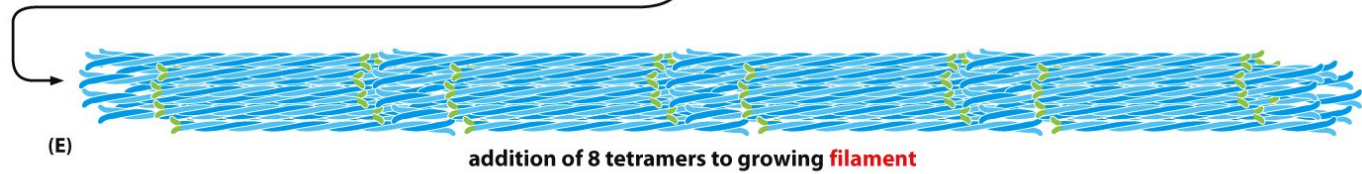
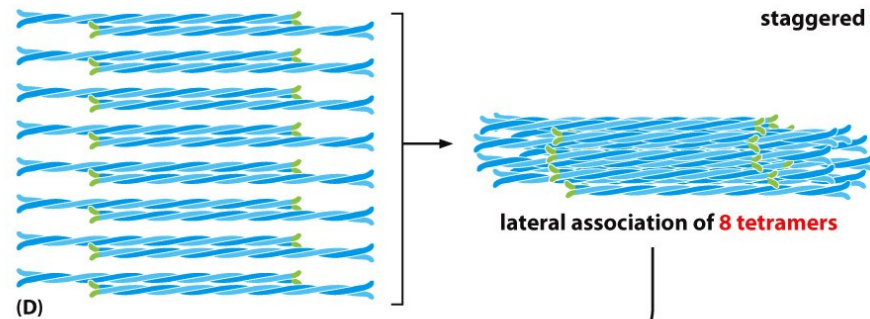
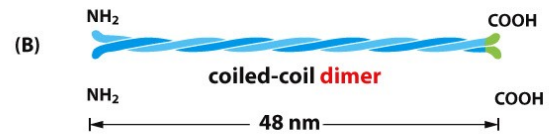


Figure 16-67 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

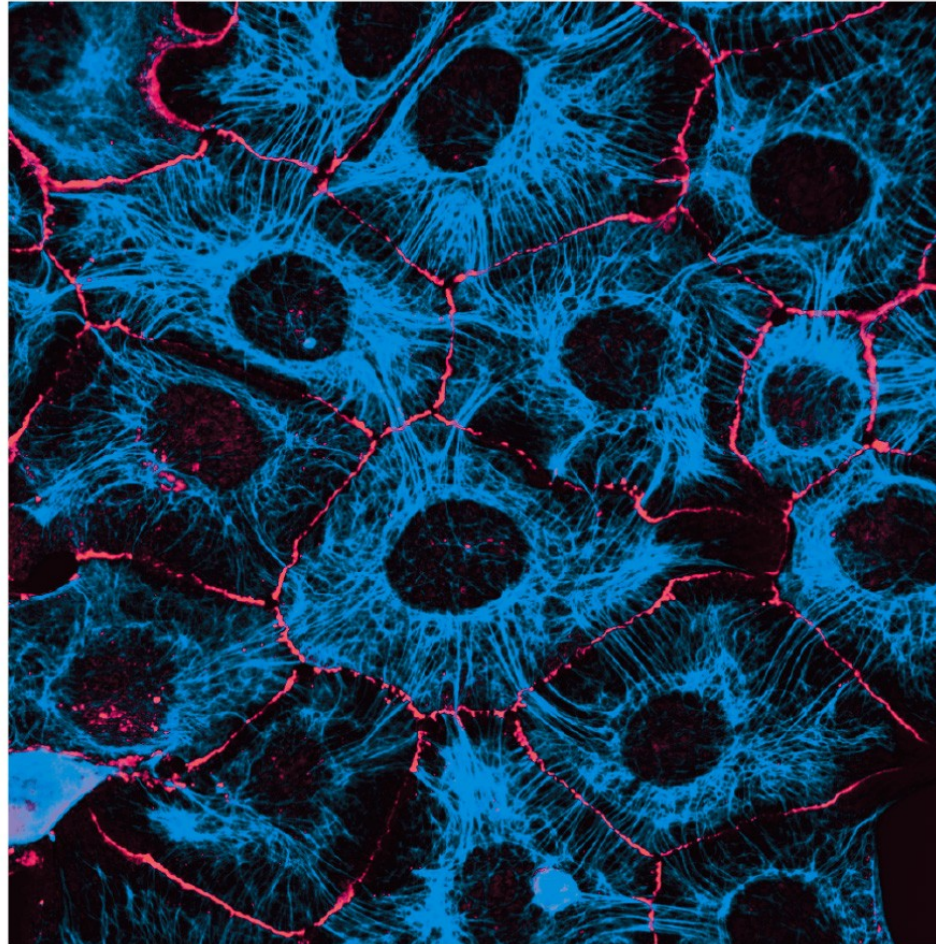
Intermediální filamenta

- Laminy (jaderná membrána)

Velmi specifické pro individuální buněčné typy

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

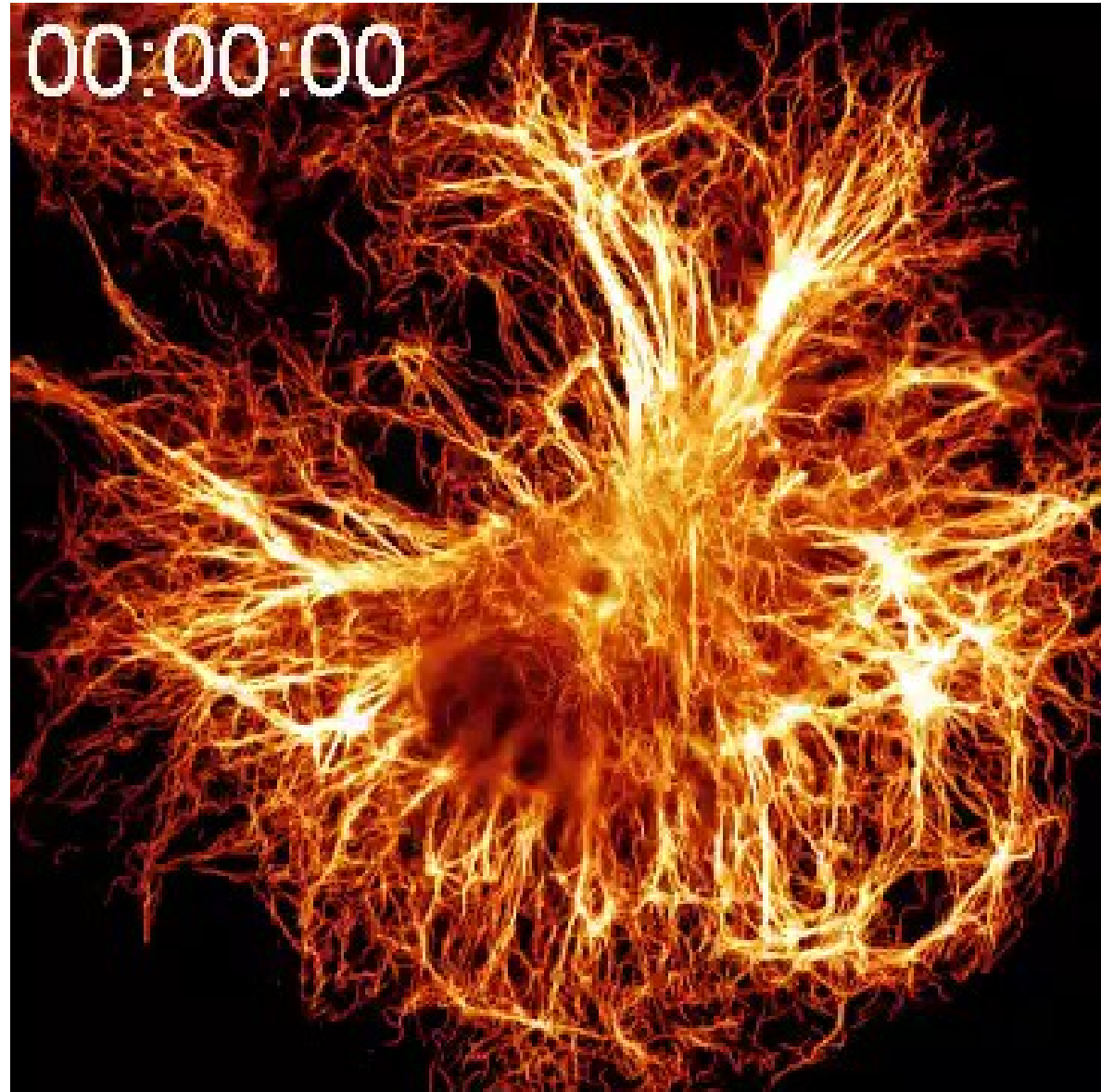
Keratin v epiteliálních buňkách



10 μm

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

Vimentin



Cytoskeletální realita běžné buňky

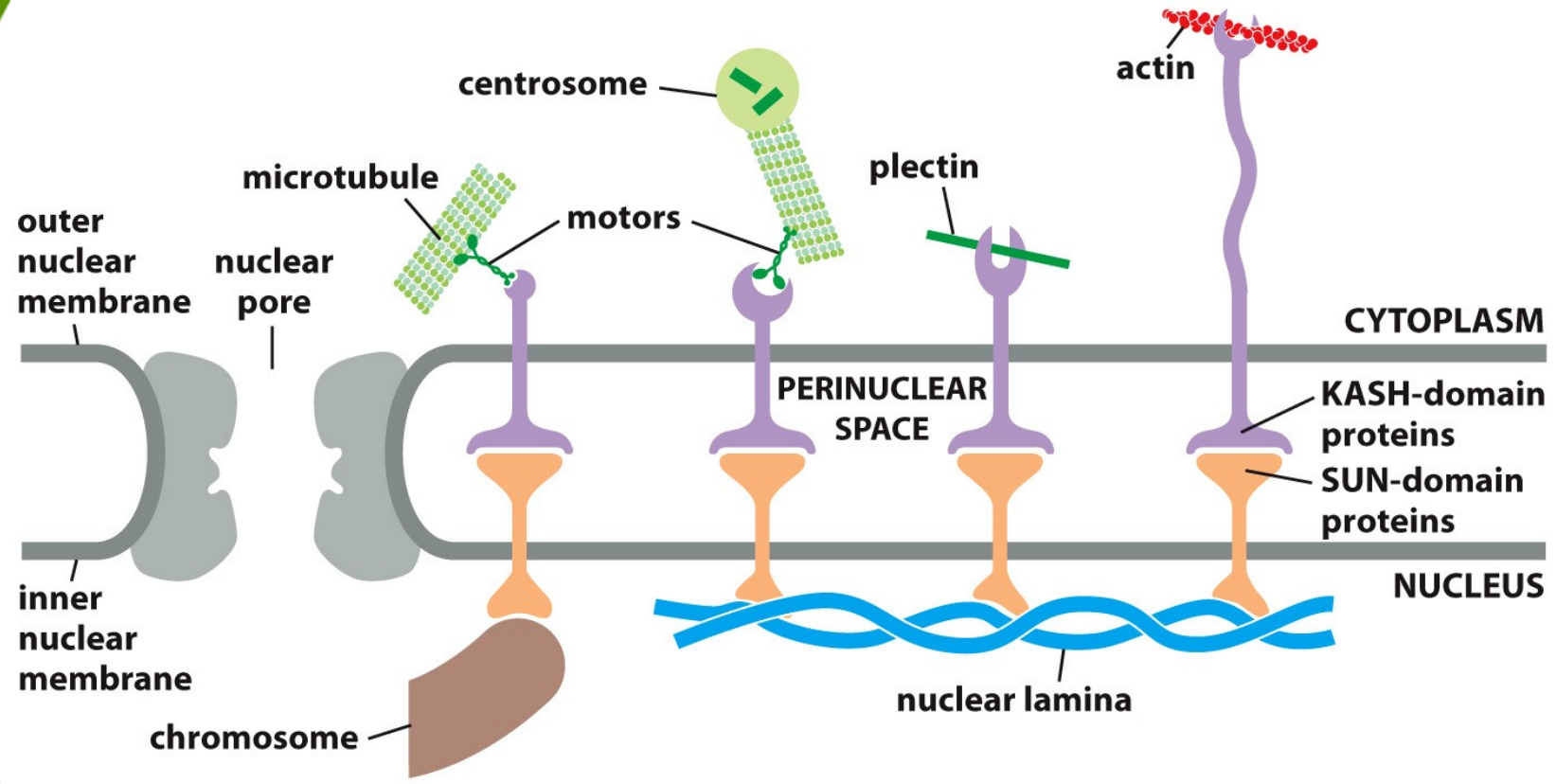


Figure 16-72 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)