

Pohyb buněk a buňkami zprostředkovaný pohyb

prof. Mgr. Vítězslav Bryja, Ph.D.

Obsah

- Pohyb materiálu vně buněk pomocí pohyblivých cilií
- Využití aktino-myosinových vztahů pro pohyb svalů a živočichů
- Pohyb samostatné buňky po povrchu
- Pohyby organel i buněk v procesu buněčného dělení (mitózy)

Pohyb materiálu vně buněk pomocí pohyblivých cílů



- ▶ Vylučování hlenu v dýchacích cestách
- ▶ Sestup vajíčka ve vejcovodech
- ▶ Proudění mozkomíšního moku v mozkových komorách



Průřez pohyblivou cilií

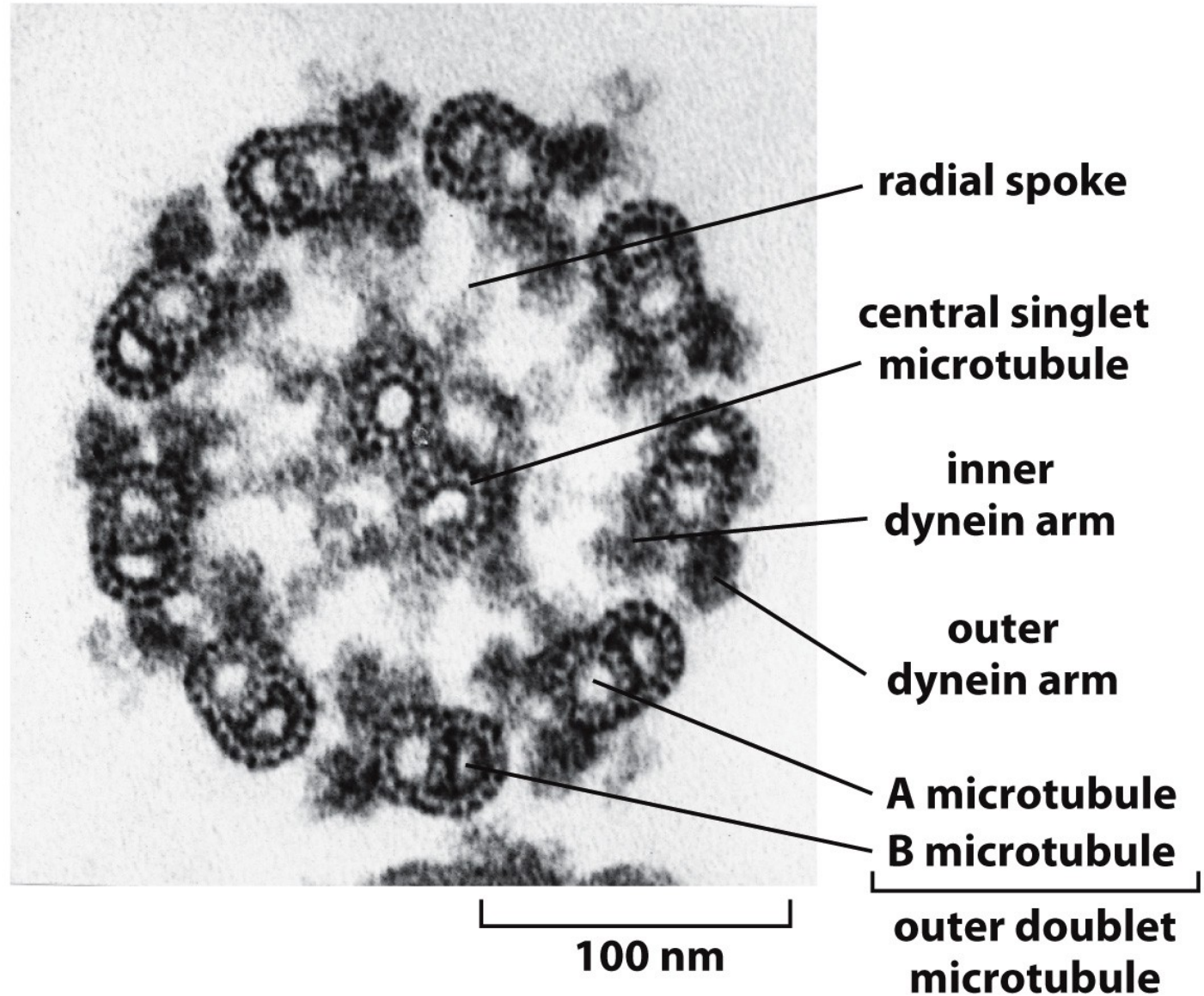
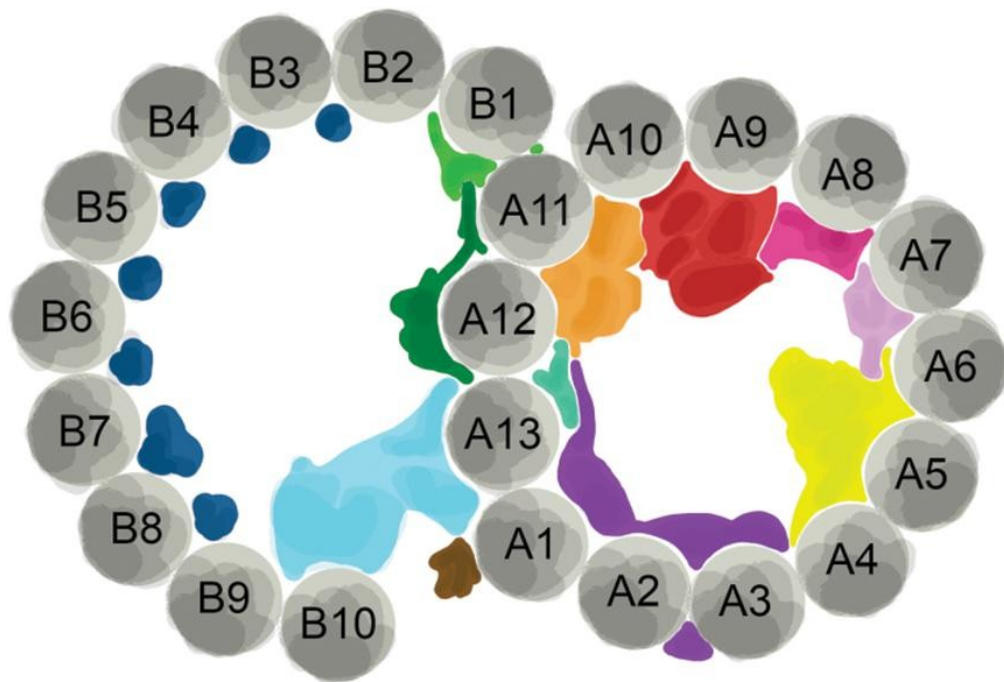


Figure 16-63a Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

POHYB



Pohyblivé řasinky

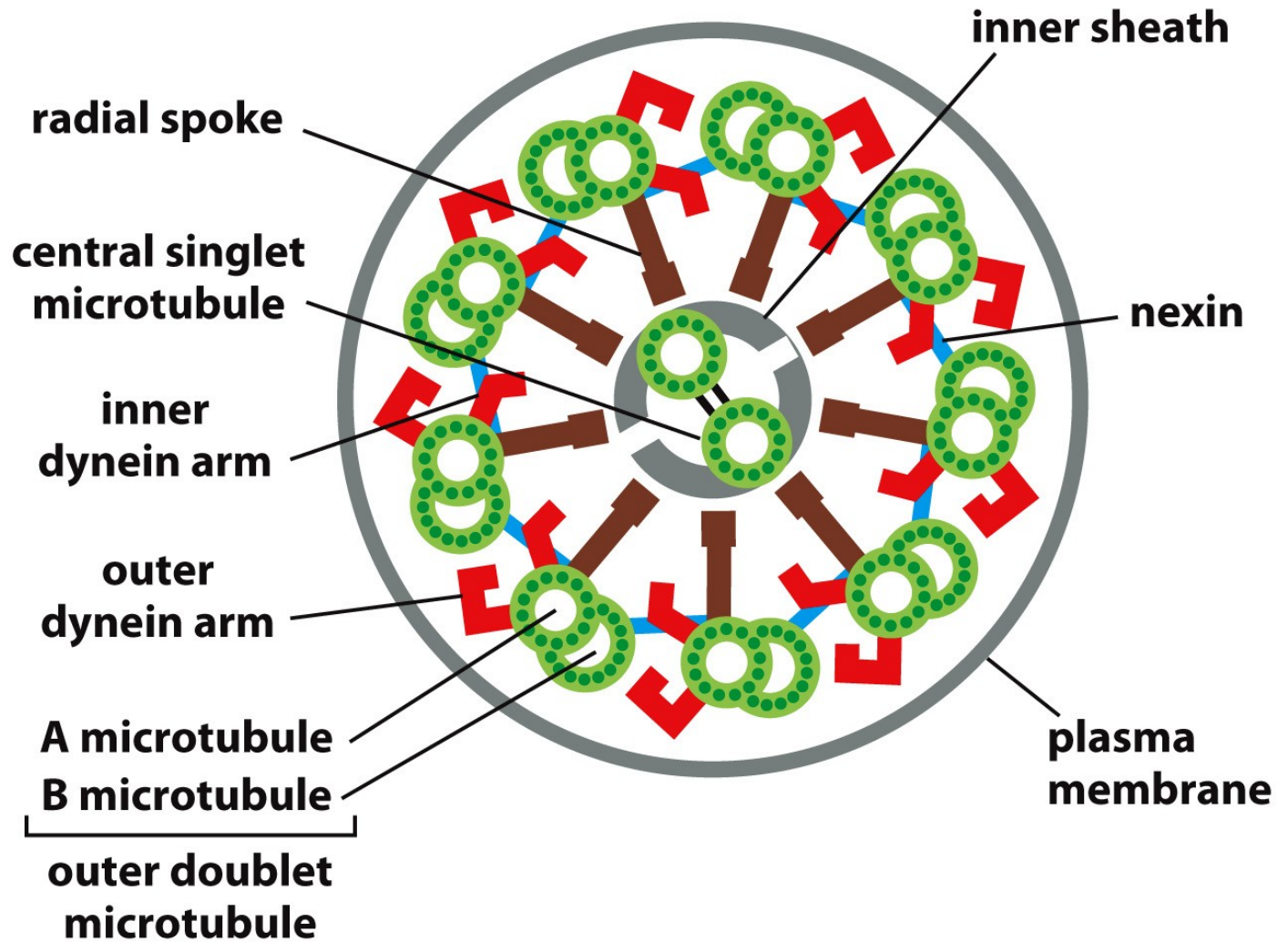


Figure 16-63b Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Dyneinové komplexy v pohyblivé cílii

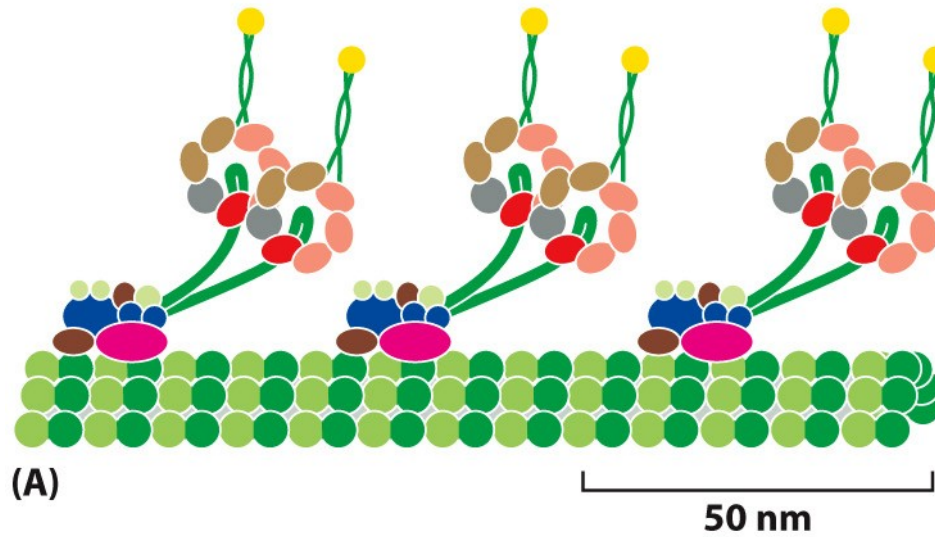
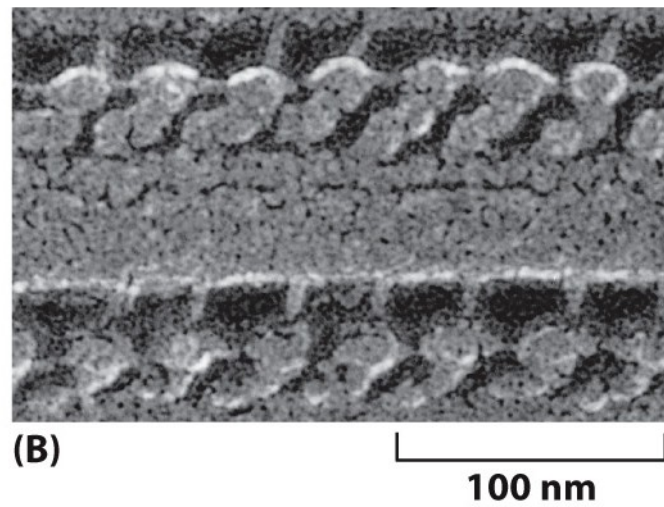
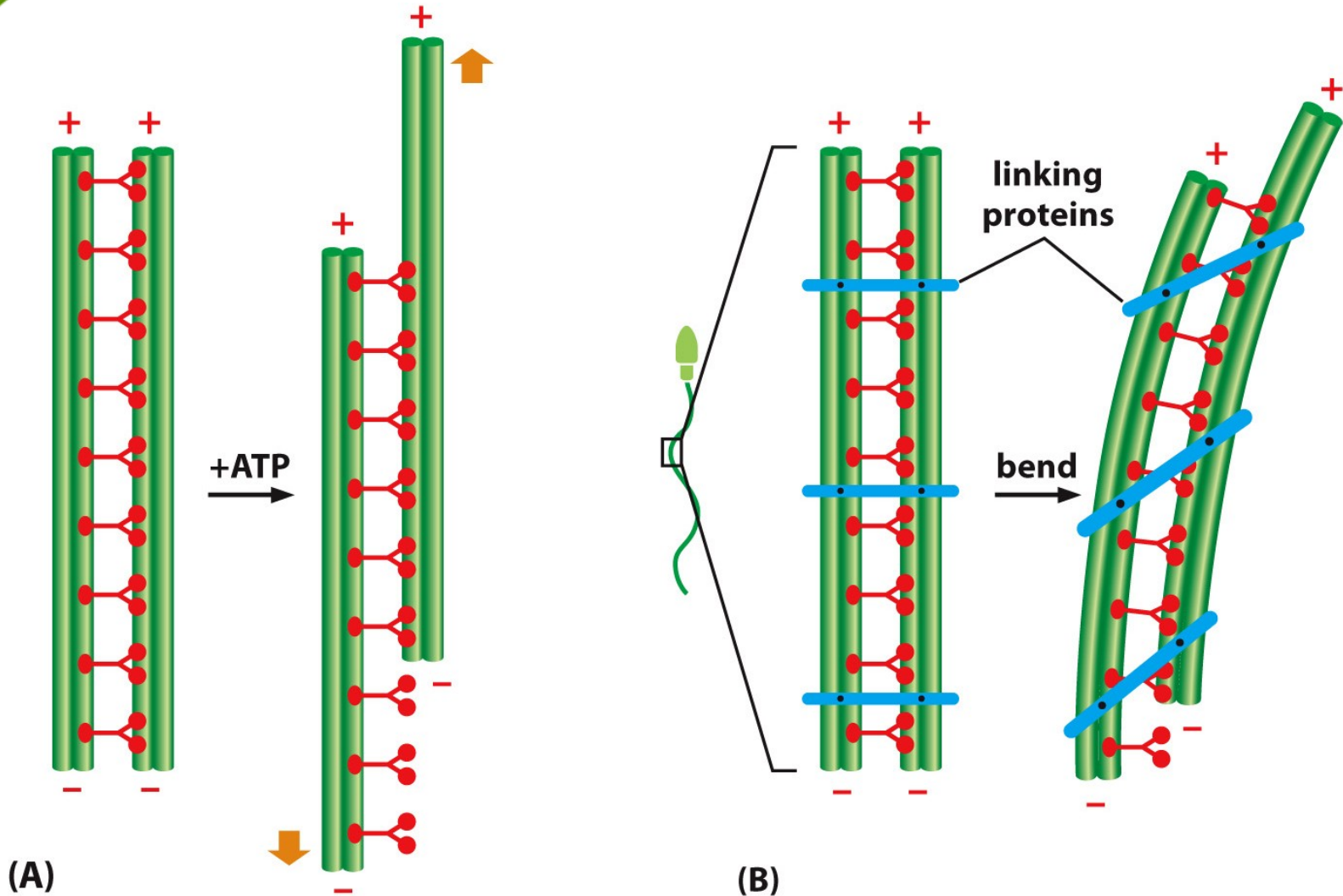


Figure 16-64 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

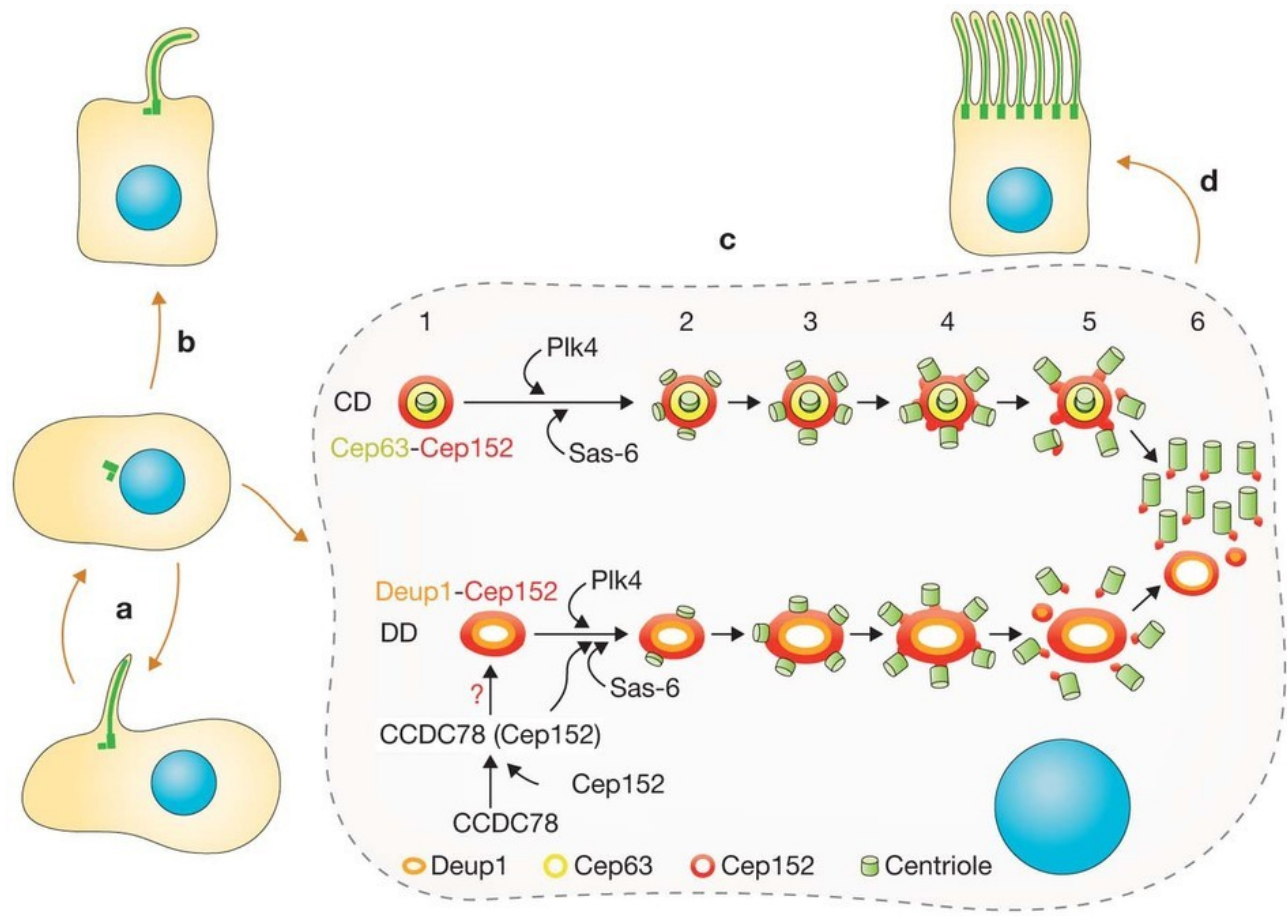


Pohyb řasinky je umožněn můstky mezi paralelními mikrotubuly – brání vzájemného posunu



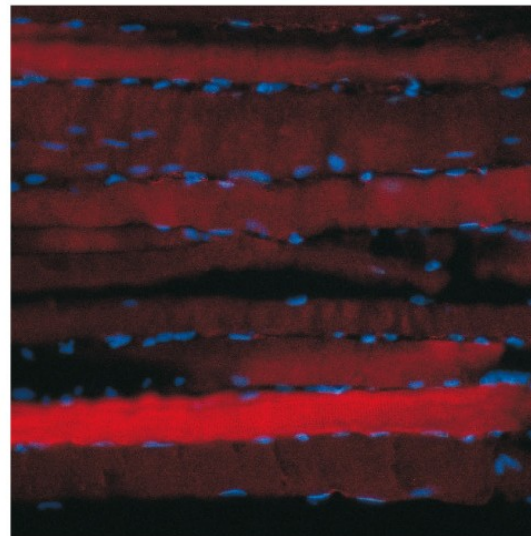
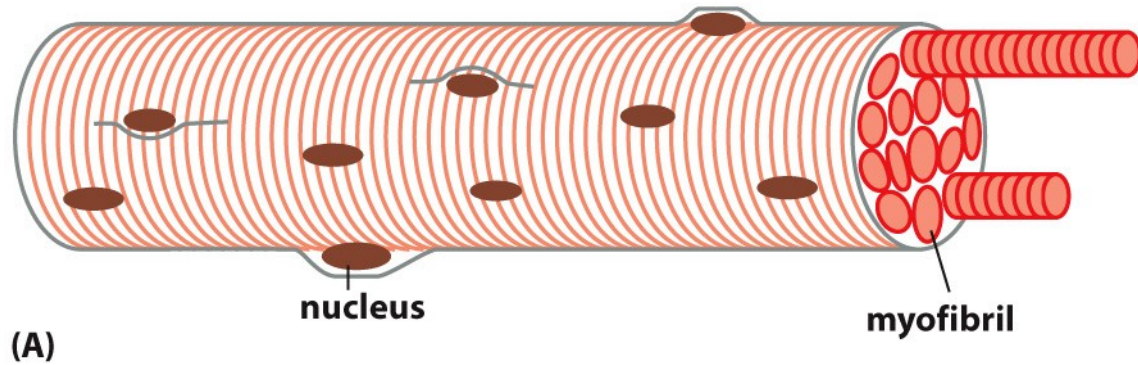
Jak se může tolik cilií uchytit k jednomu bazálnímu tělísku?

- Klíčová role kinázy Plk4 – normálně reguluje duplikaci centriol



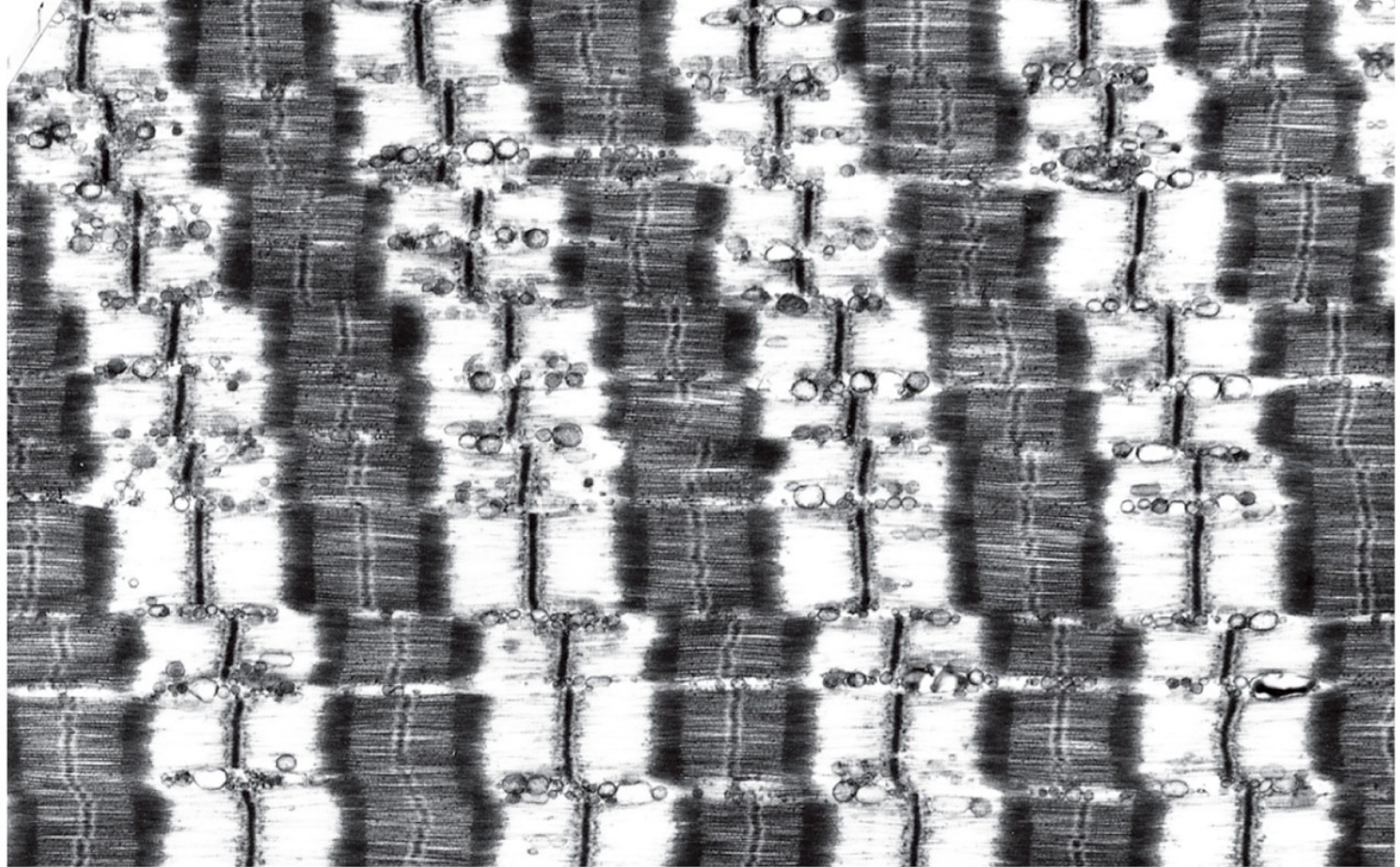
Příčně pruhovaný sval

- Soubuní vzniklé splynutím svalových prekurzorů



50 μm

Jak funguje svalový stah?



2 μm

Jak funguje svalový stah?

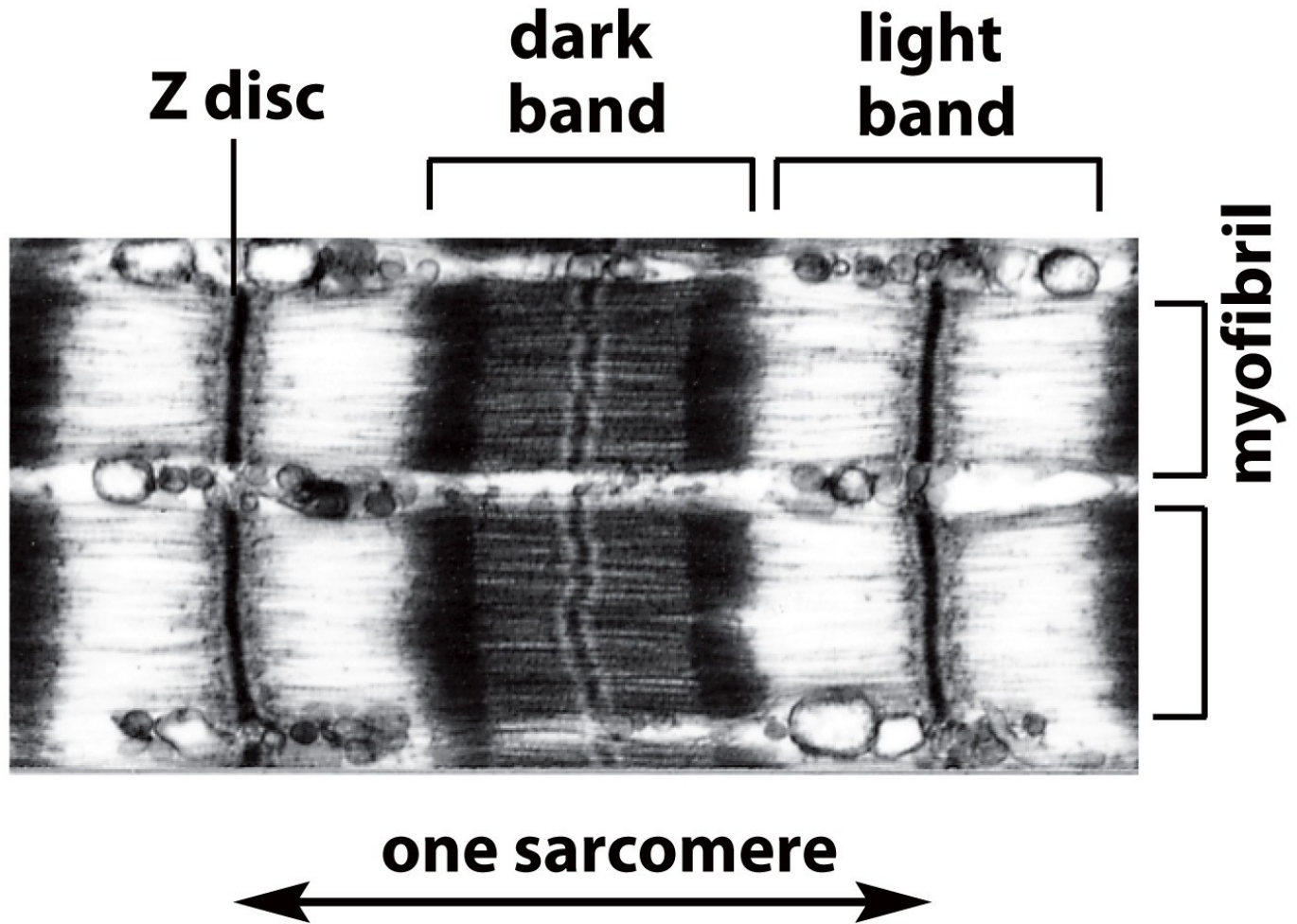


Figure 16-32b Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Jak funguje svalový stah?

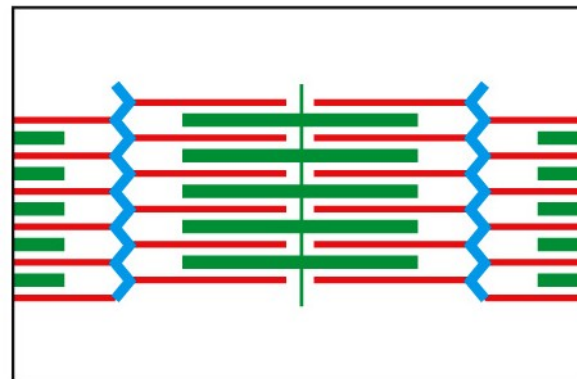
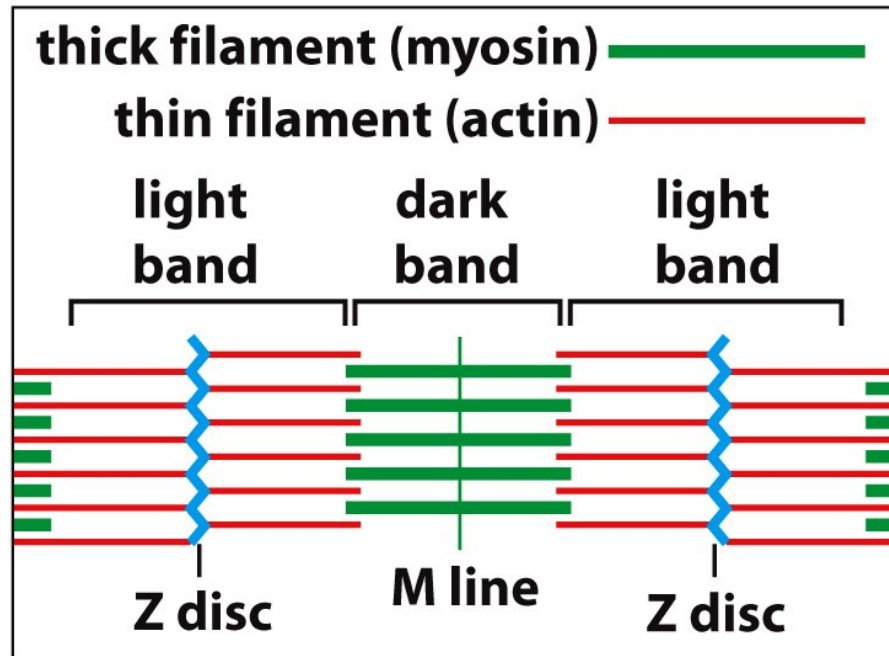
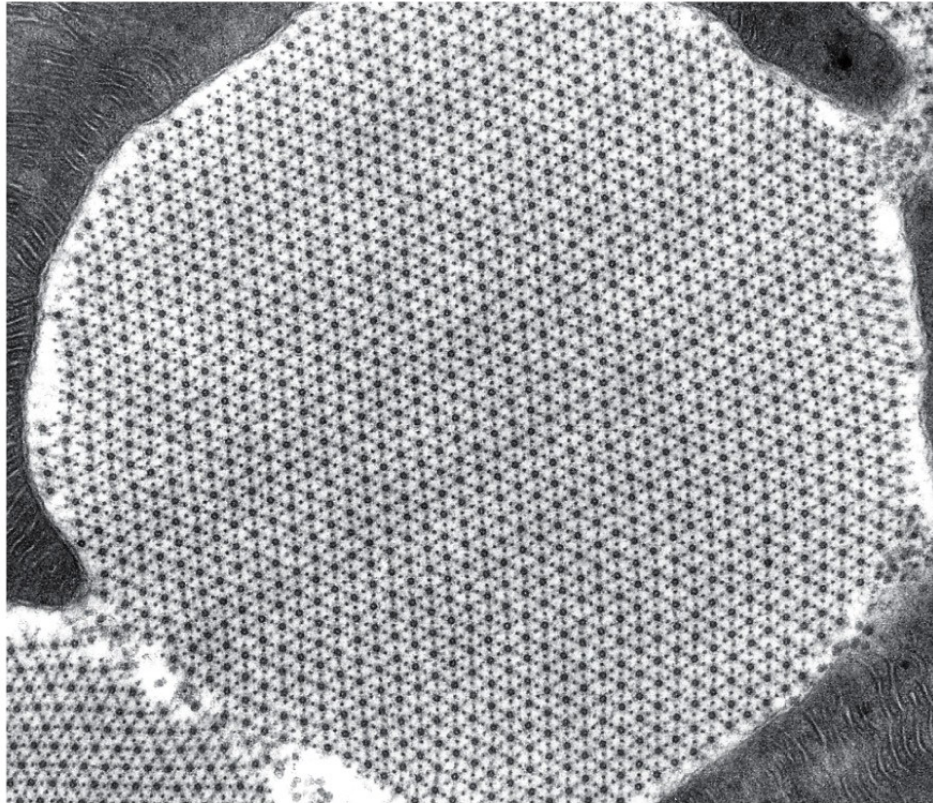


Figure 16-32cd Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Příčný řez svalovým vláknem (octomilka)



1 μm

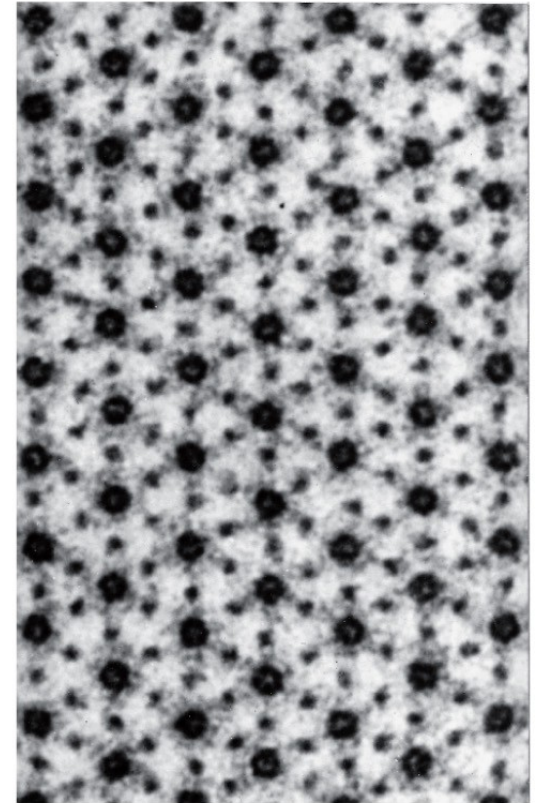


Figure 16-33 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Jak funguje svalový stah?

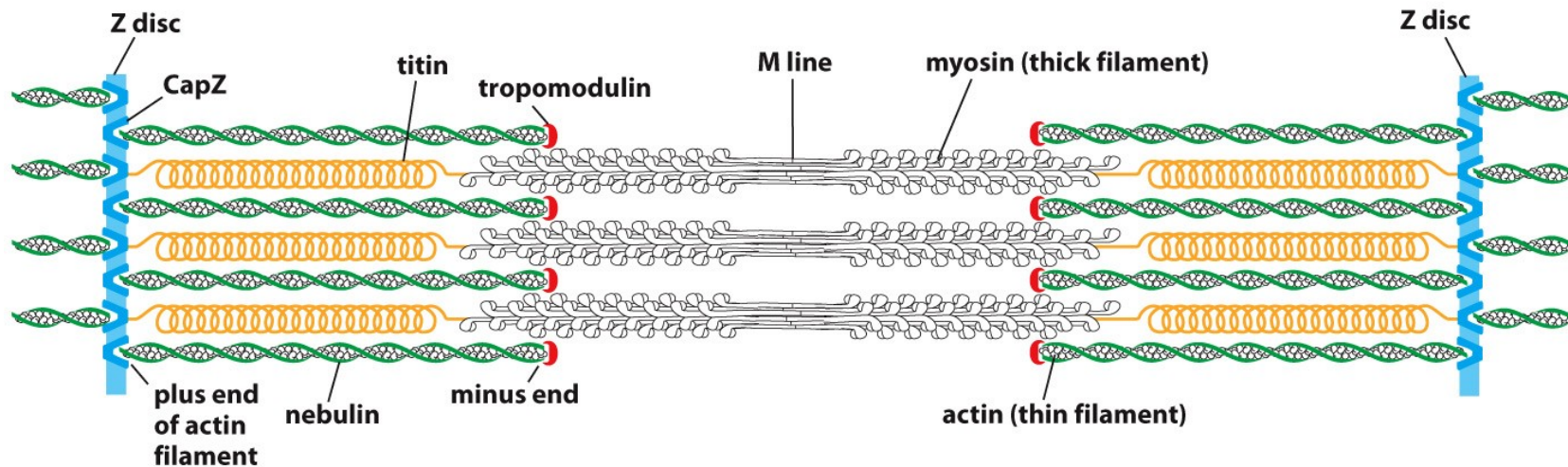
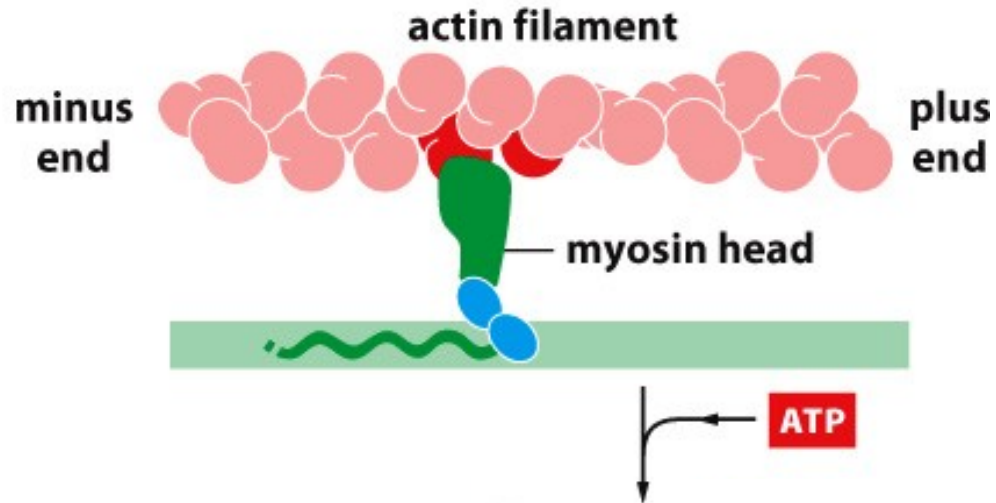


Figure 16-34 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

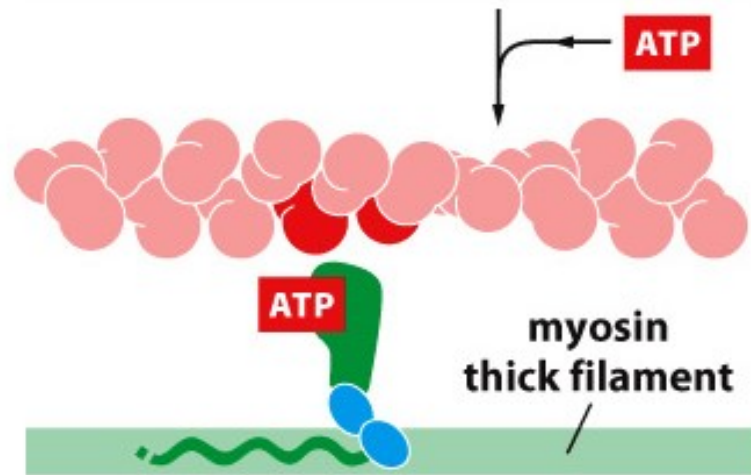
- ◆ Nebulin – molekulární pravítko, ochrana konců – tropomodulin (minus) a Z disk (CapZ a aktinin)
- ◆ Zajímavost: **Titin** (jméno souvisí s bájnými Titány), též **konektin**, je obrovský elastický protein nacházející se v sarkomeře v příčně pružované svalovině. Je to zřejmě nejdelší lidský protein: je vytvářen jako jediný polypeptid, který má u člověka délku 34 350 aminokyselin a má molekulární hmotnost asi 3 700 kDa. Výroba titinu na ribozomu zabere neuvěřitelné 2–3 hodiny (u běžných bílkovin to je otázka několika minut). Na délku má asi 1,2 mikrometru, tedy řádově stejně jako například buňka bakterií. Je to třetí nejpočetnější protein ve svalech – dospělý člověk má asi 0,5 kg titinu.

Jak funguje svalový stah?



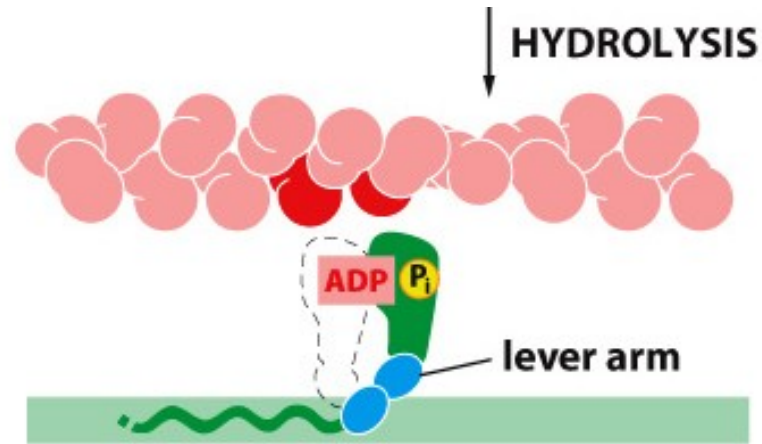
- na začátku cyklu je myosinová hlavička bez navázaného nukleotidu pevně semknuta s aktinovým filamentem (angl. rigor configuration → rigor mortis)
- v aktivně pracujícím svalu je tento stav velmi krátkodobý a je rychle ukončen navázáním molekuly ATP

Jak funguje svalový stah?



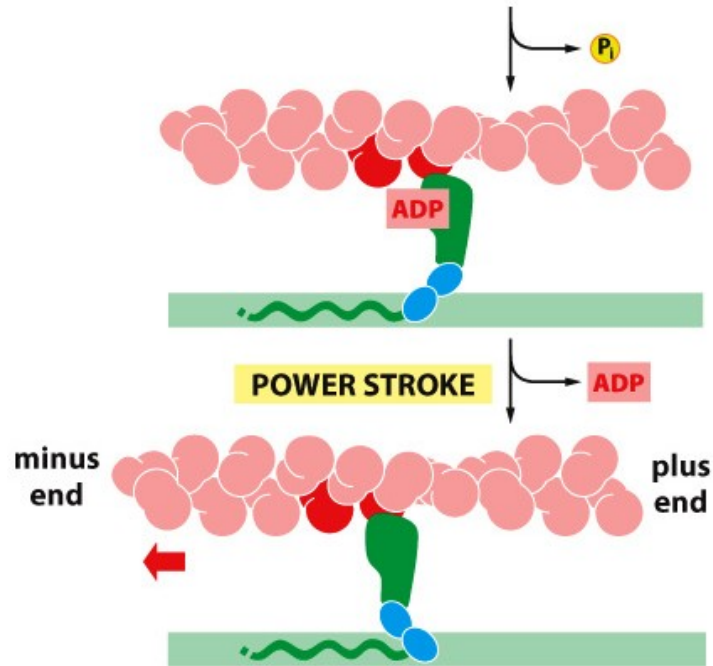
- molekula ATP se váže do velkého záhybu na zadní straně hlavičky myosinu (na nejvzdálenější místo od aktin. filamenta) a způsobuje nepatrnou změnu konformace místa, kde se k myosinu váže aktin, čímž sníží afinitu hlavičky myosinu k aktinu a umožní pohyb podél filamenta

Jak funguje svalový stah?



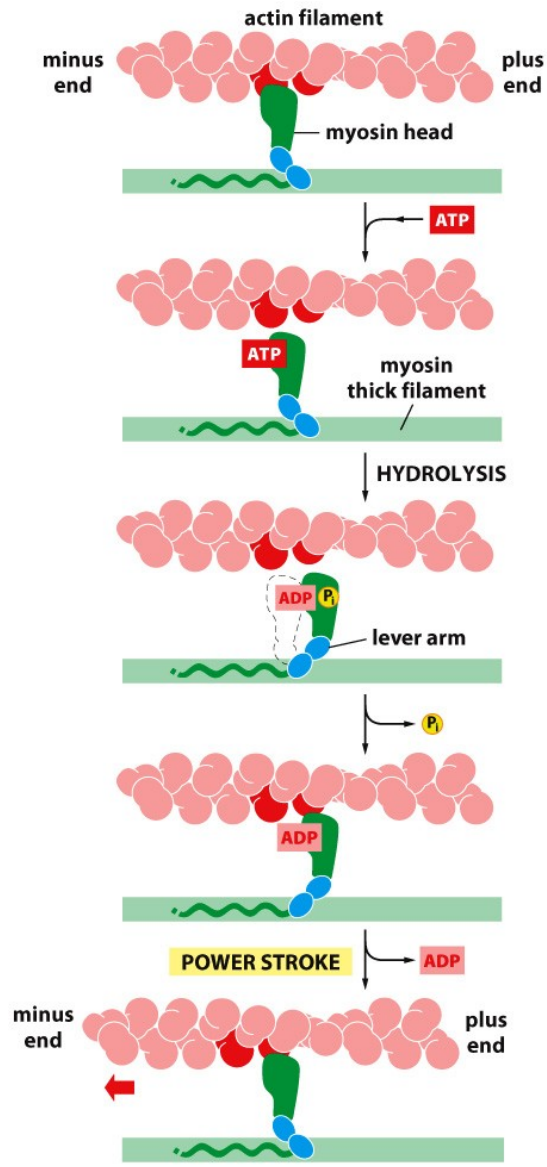
- záhyb na myosinu se jako mušle uzavírá okolo molekuly ATP, spouští se pohyb levého ramena myosinu, které posouvá hlavičku myosinu podél aktinového filamenta o vzdálenost přibližně 5 nm
- nastává hydrolýza ATP, ale ADP a anorg. fosfát stále zůstávají připojeny k myosinu

Jak funguje svalový stah?

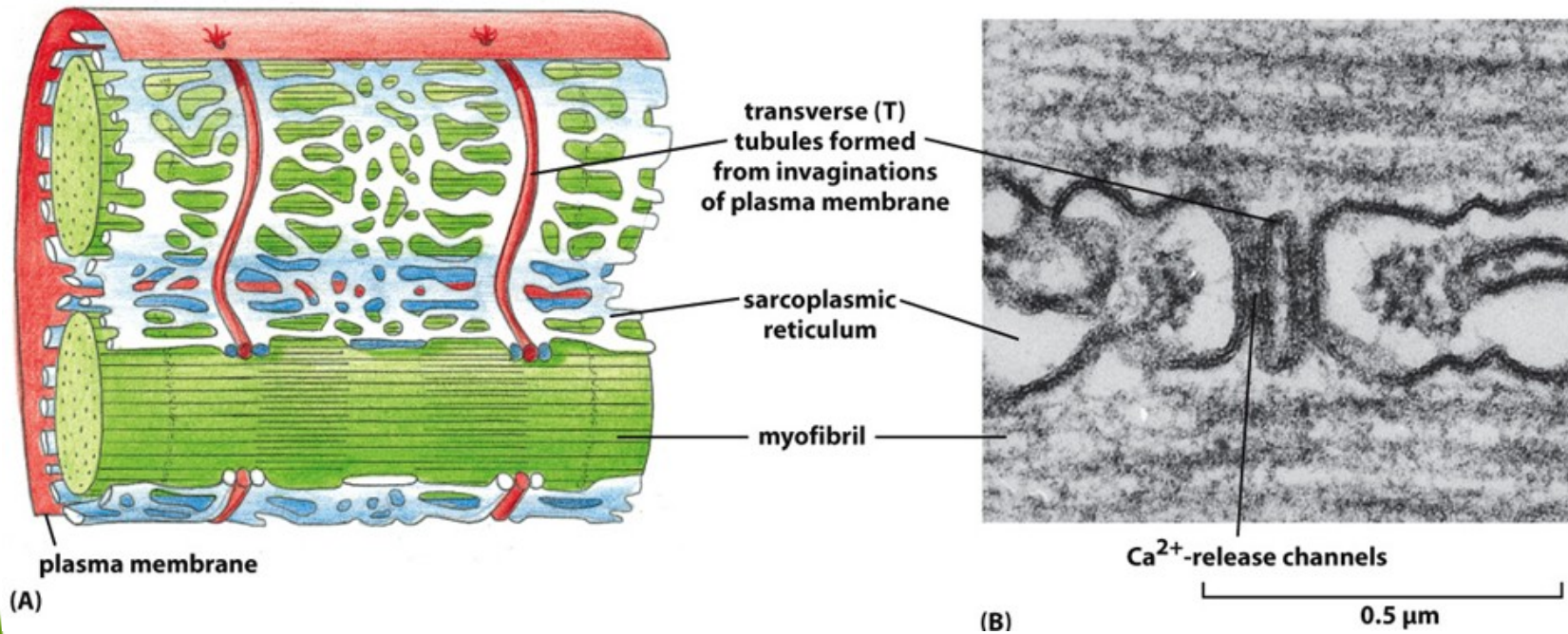


- slabá vazba myosinu k novému místu na aktinovém filamentu způsobí uvolnění anorg. fosfátu, čímž se zesílí vazba myosinu k aktinovému filamentu
- uvolnění anorg. fosfátu vede ke změně tvaru myosinu - nabývá původní konformace, ztrácí ADP a svalový stah se vrací na začátek cyklu (ale nacházíme se o kus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

Jak funguje svalový stah?

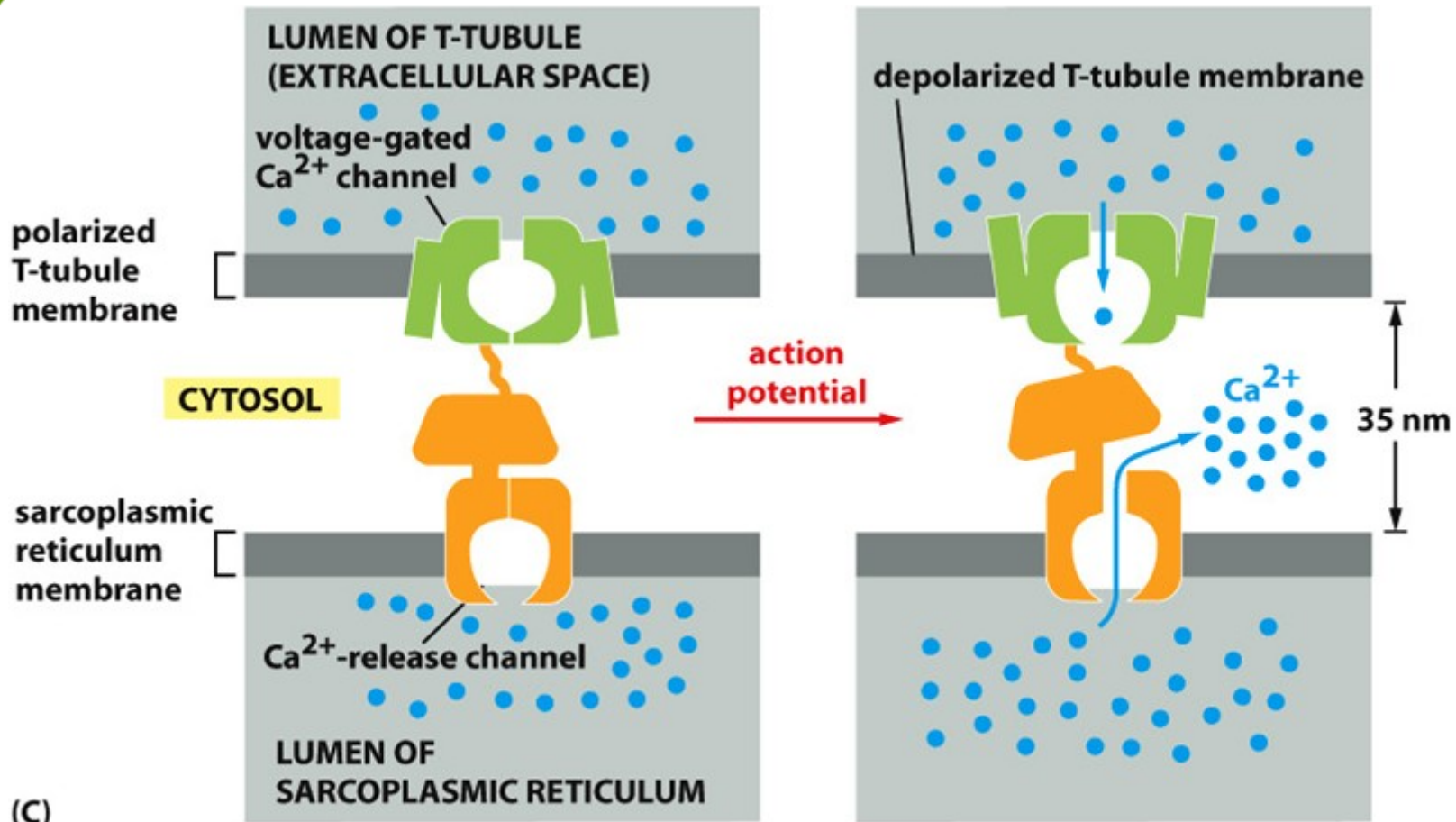


Jak se koordinovaně a rychle posunou tisíce molekul myosinu po aktinu?



- ▶ V buňce je udržovaná nízká koncentrace Ca²⁺ iontů, které jsou aktivně pumpovány vně buňky a do endoplazmatického retikula (u svalů nazývané sarkoplazmatické retikulum)

Jak funguje svalový stah?

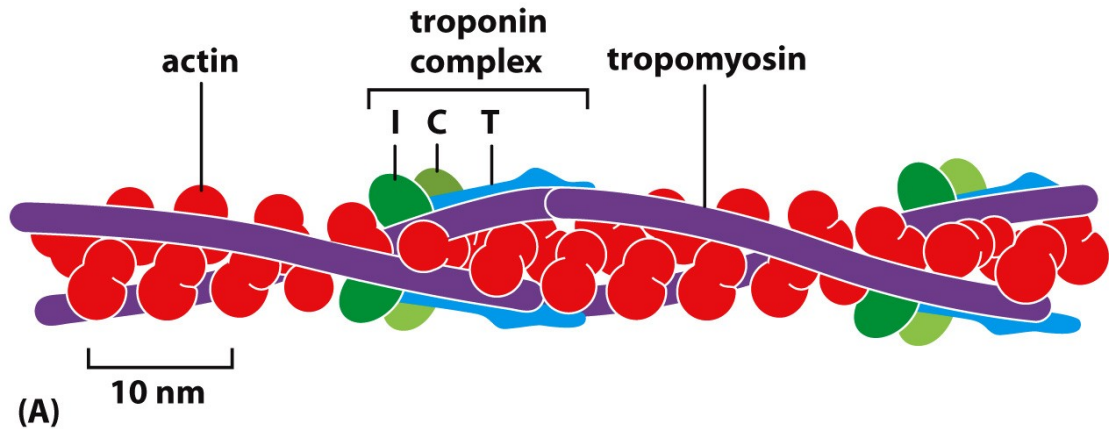


(C)

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

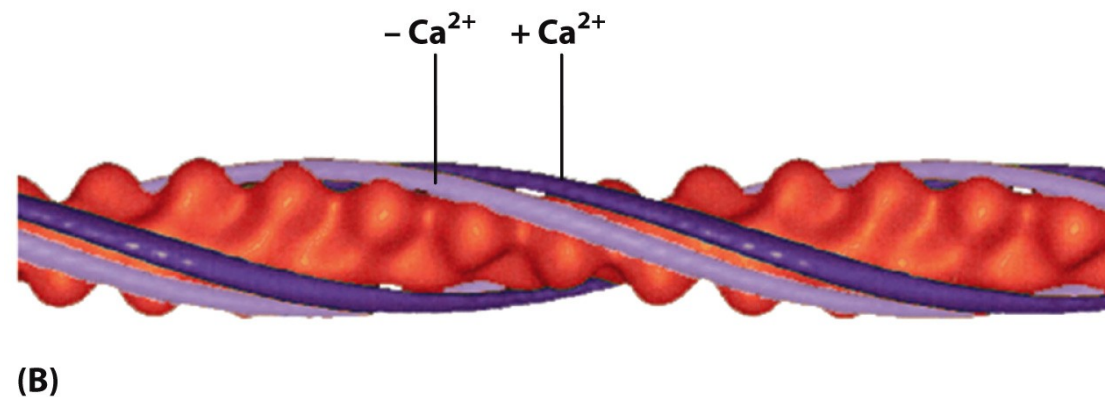
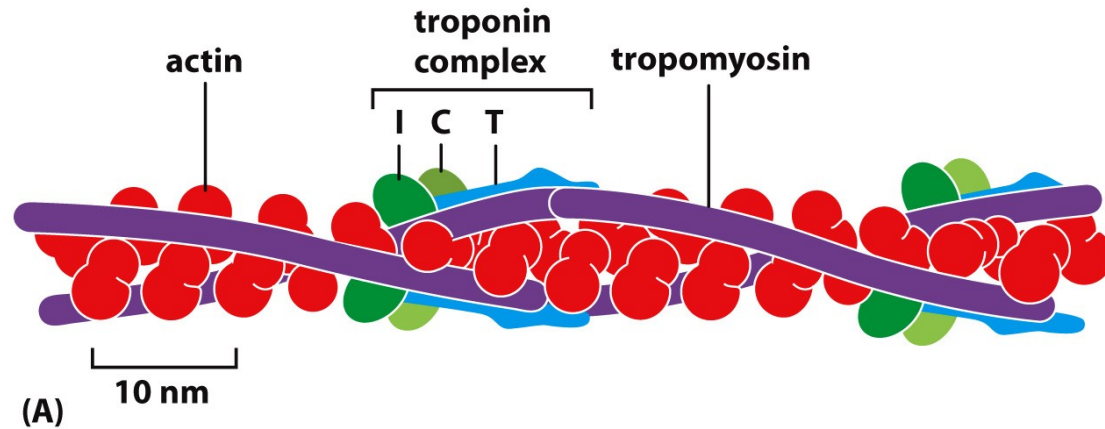
Role troponinu a tropomyosinu

- ▶ Troponin – váže Ca^{2+}
- ▶ Tropomyosin – blokuje na aktinu vazebná místa pro myosin



Role troponinu a tropomyosinu

- ▶ Troponin – váže Ca^{2+}
- ▶ Tropomyosin – blokuje na aktinu vazebná místa pro myosin
- ▶ Vazba Ca^{2+} iontů – změna konformace, které posune tropomyosin a umožní pohyb myosinu po aktinu



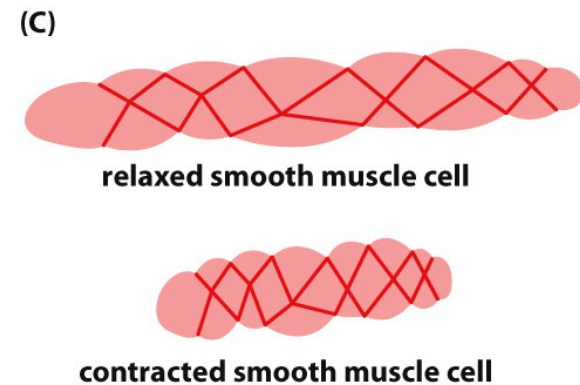
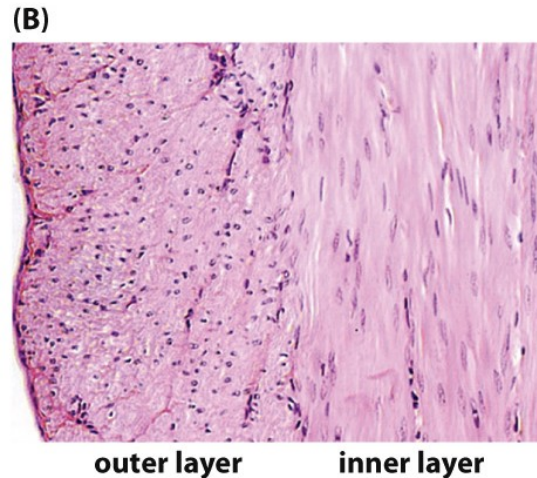
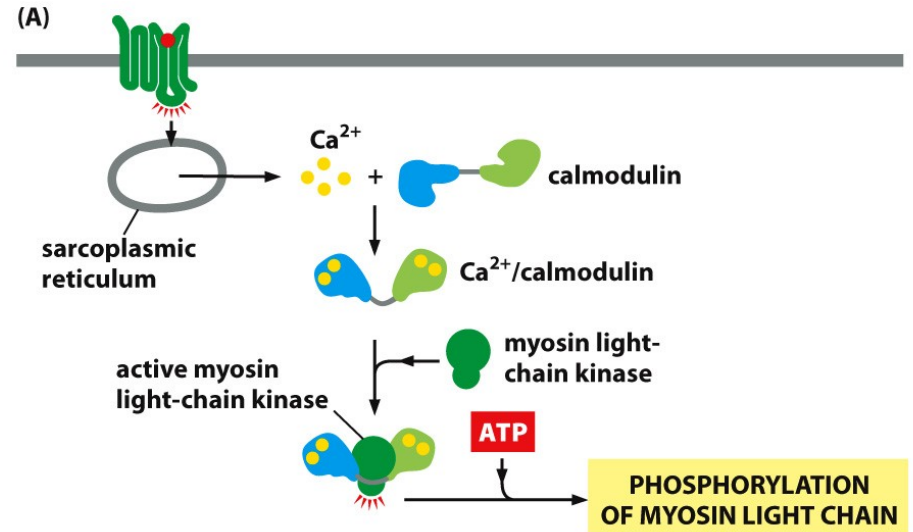
Shrnutí



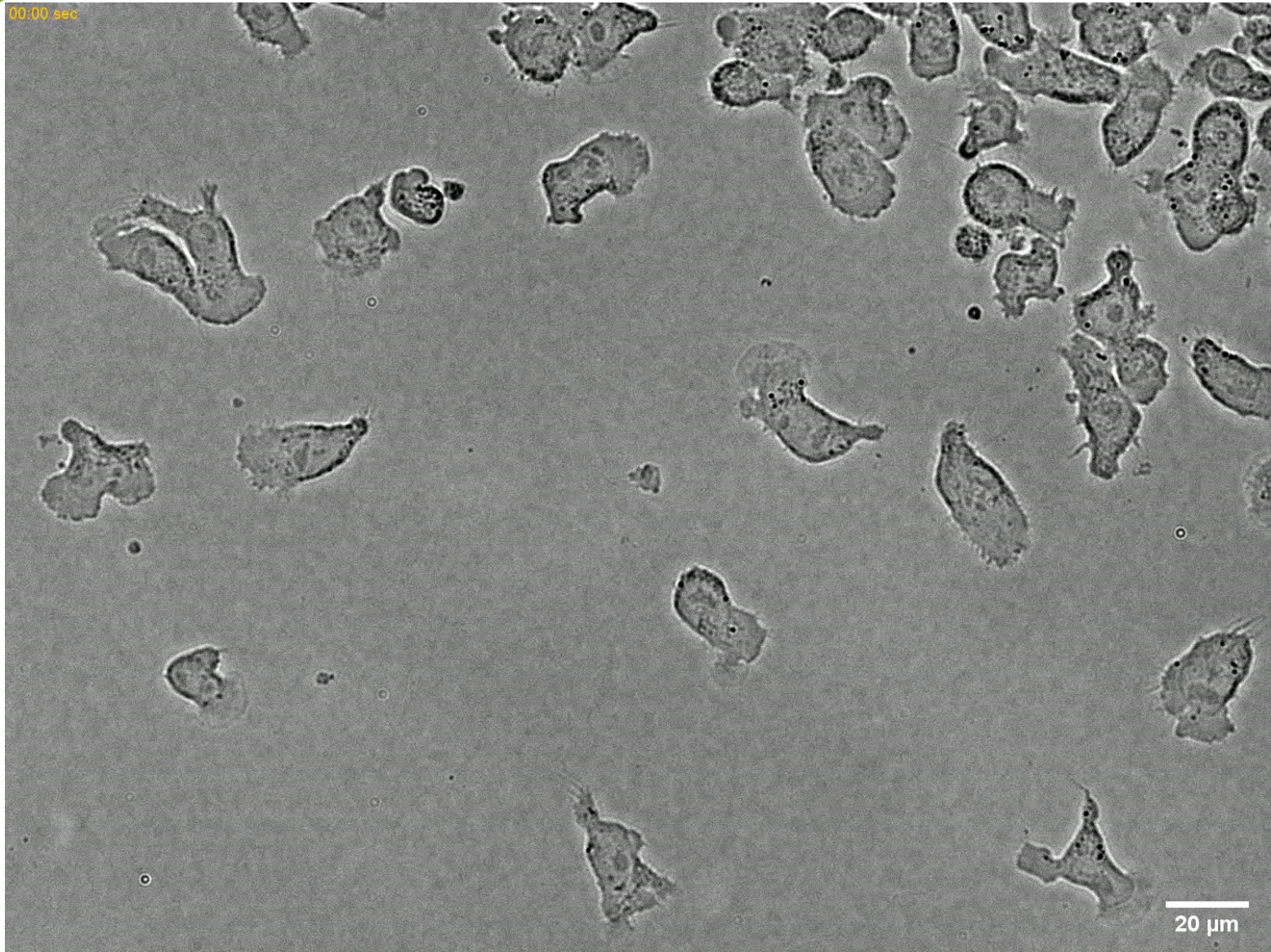
www.AlilaMedicalMedia.com

Hladký sval – v principu podobný, v detailu jiný

- ▶ Místo troponinu calmodulin
- ▶ Aktivace vyžaduje fosforylaci a aktivaci MLCK (myosin light chain kinase)
- ▶ Myosin v hladké svalovině interaguje s aktinem pouze po fosforylaci



Buněčný pohyb – B-lymfocyt

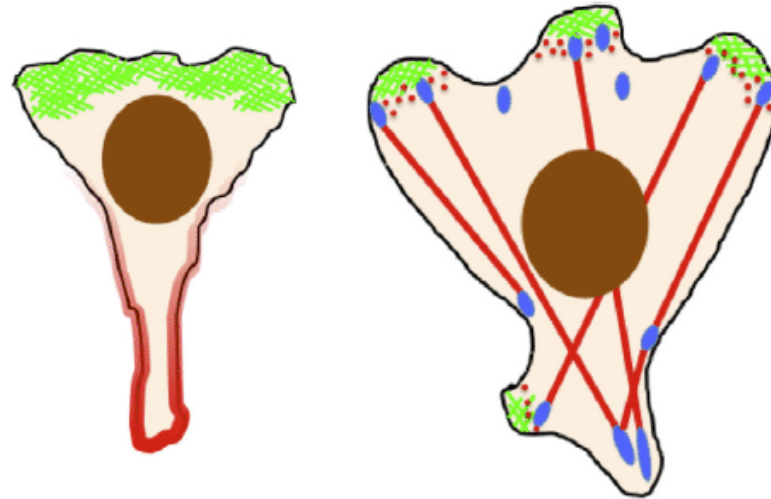


Dva extrémní módy migrace: Améboidní vs. mesenchymální

Dendritic F-actin

Myosin II structures

Focal adhesions



| | Amoeboid | Mesenchymal |
|-------------------------------------|--|--|
| Migration speed | Fast, ~ 10 $\mu\text{m}/\text{min}$ | Slow, < 1 $\mu\text{m}/\text{min}$ |
| Polarity | Well-defined front and rear | Multiple, competing lamellipodia |
| Adhesion | Relatively weak, mostly intercellular | Strong, mostly ECM with well-defined adhesion complexes |
| Migration mechanics <i>in vivo</i> | Squeezing through pores in matrix/stroma | Traction via adhesion to ECM, matrix degradation as necessary |
| Organization of action cytoskeleton | Thick dendritic actin network at the cell front; elsewhere, cortical actomyosin mediates contractility beneath the plasma membrane | Dendritic F-actin in lamellipodia; acto-myosin minifilaments mediate contractility behind the leading edge(s) and form thick stress fibers attached to focal adhesions |
| Chemoattractant receptors | GPCRs | RTKs |

Pohyb buňky po substrátu

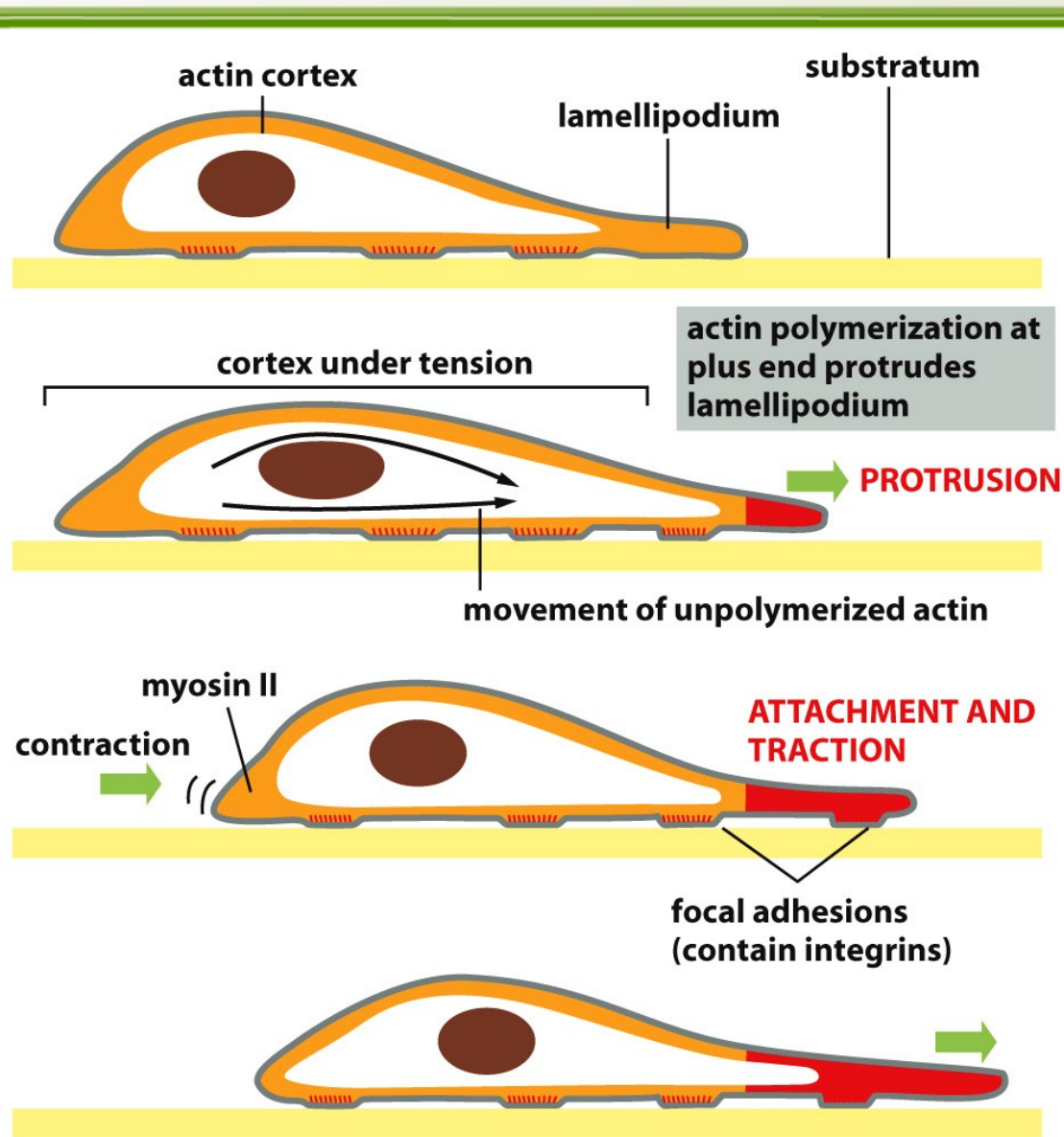
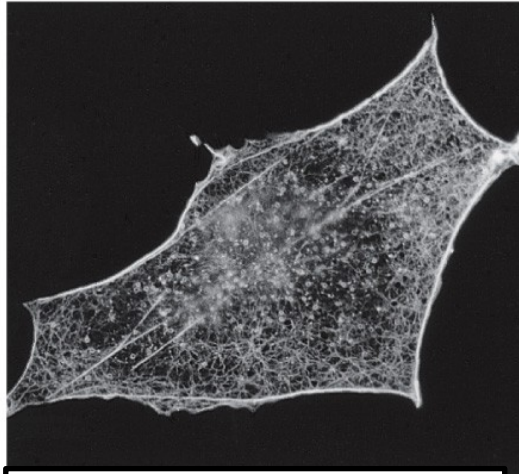


Figure 16-75 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

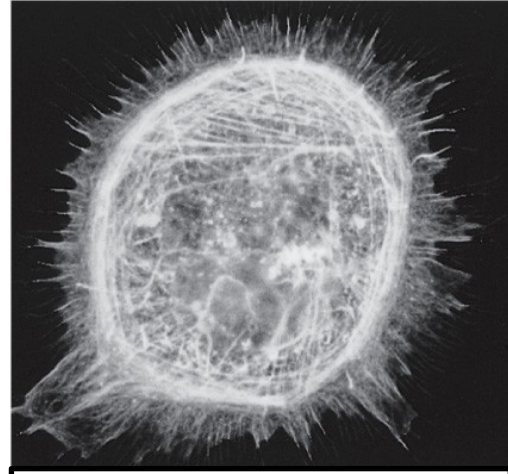
Pohyb buňky po substrátu

actin staining



Klidová buňka

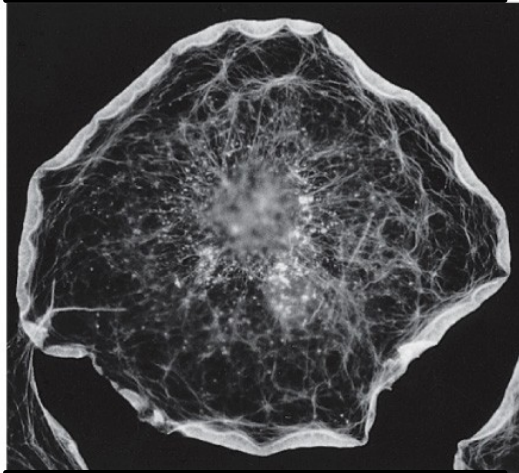
actin staining



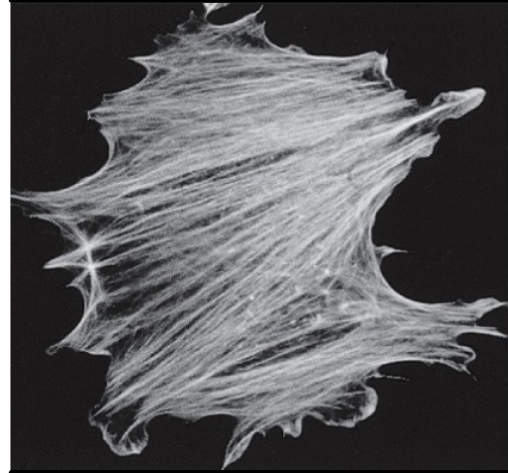
Filopodia

fimbrin

Arp2/3
filamin



Lamelipodia



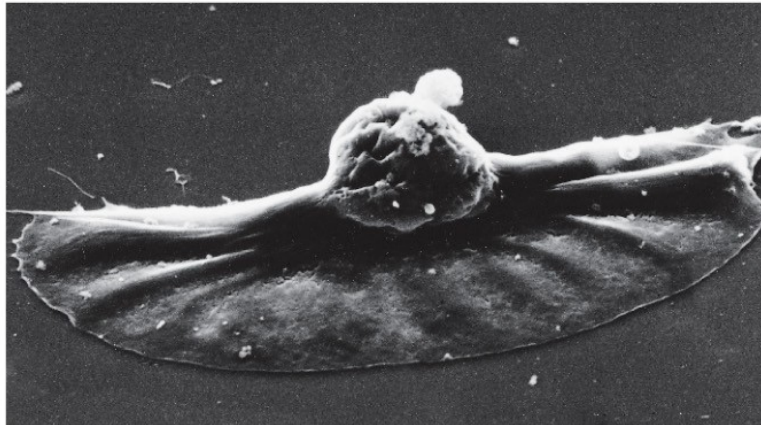
Stresová vlákna

non-muscle
Myosin II
 α -actinin

Pohyb buňky po substrátu – model keratocytů (v kůži ryb a obojživelníků)

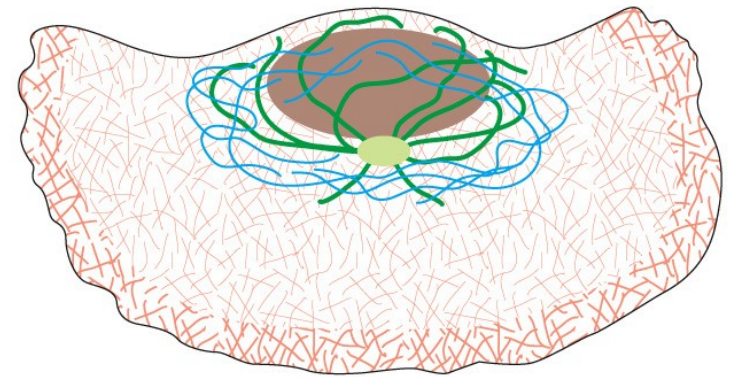


(A)



(B)

10 μm



(C)

Figure 16-77 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Aktinová síť v lamelipodiu – klíčová role Arp2/3

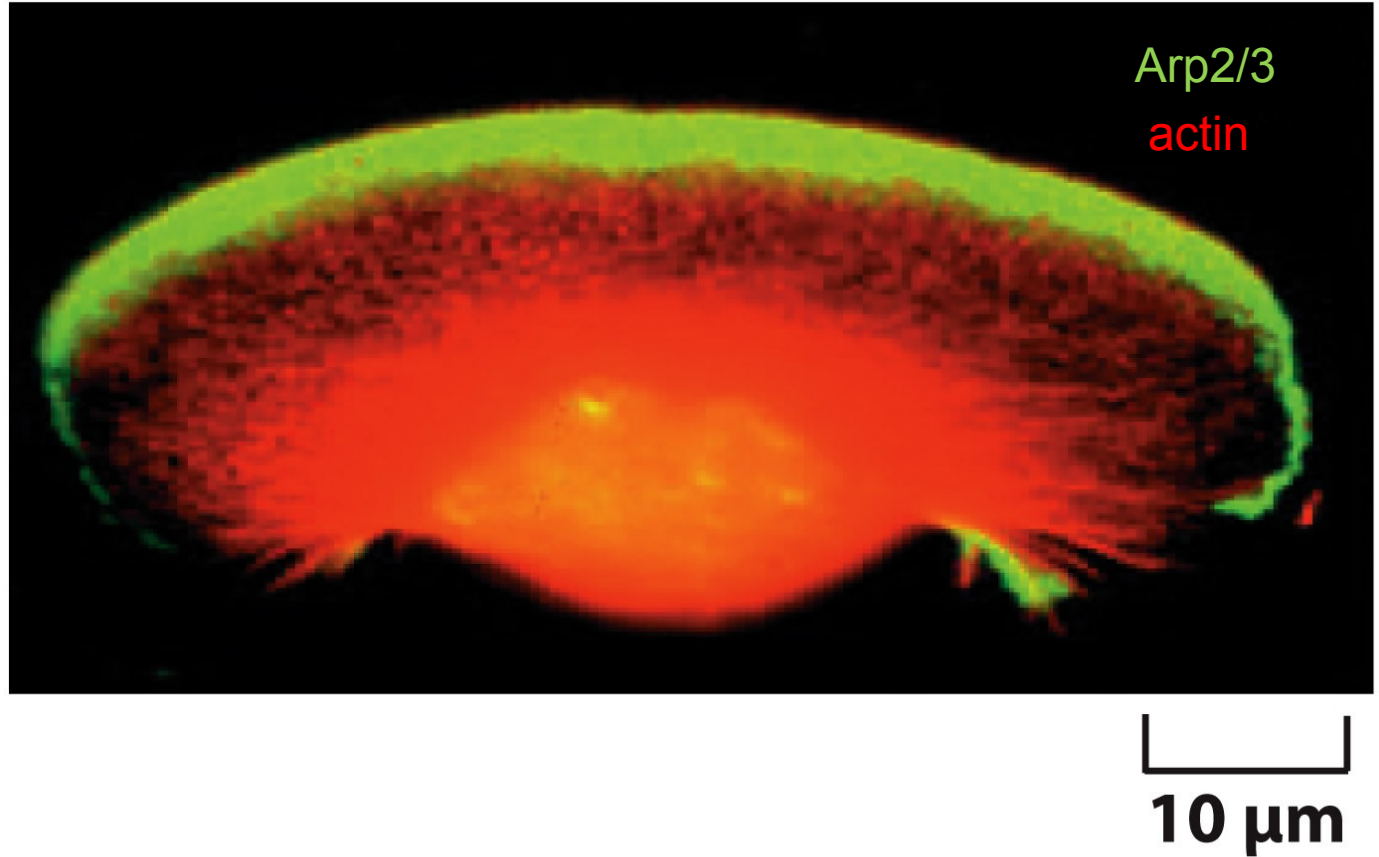


Figure 16-78a Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Aktinová síť v lamelipodiu – klíčová role Arp2/3

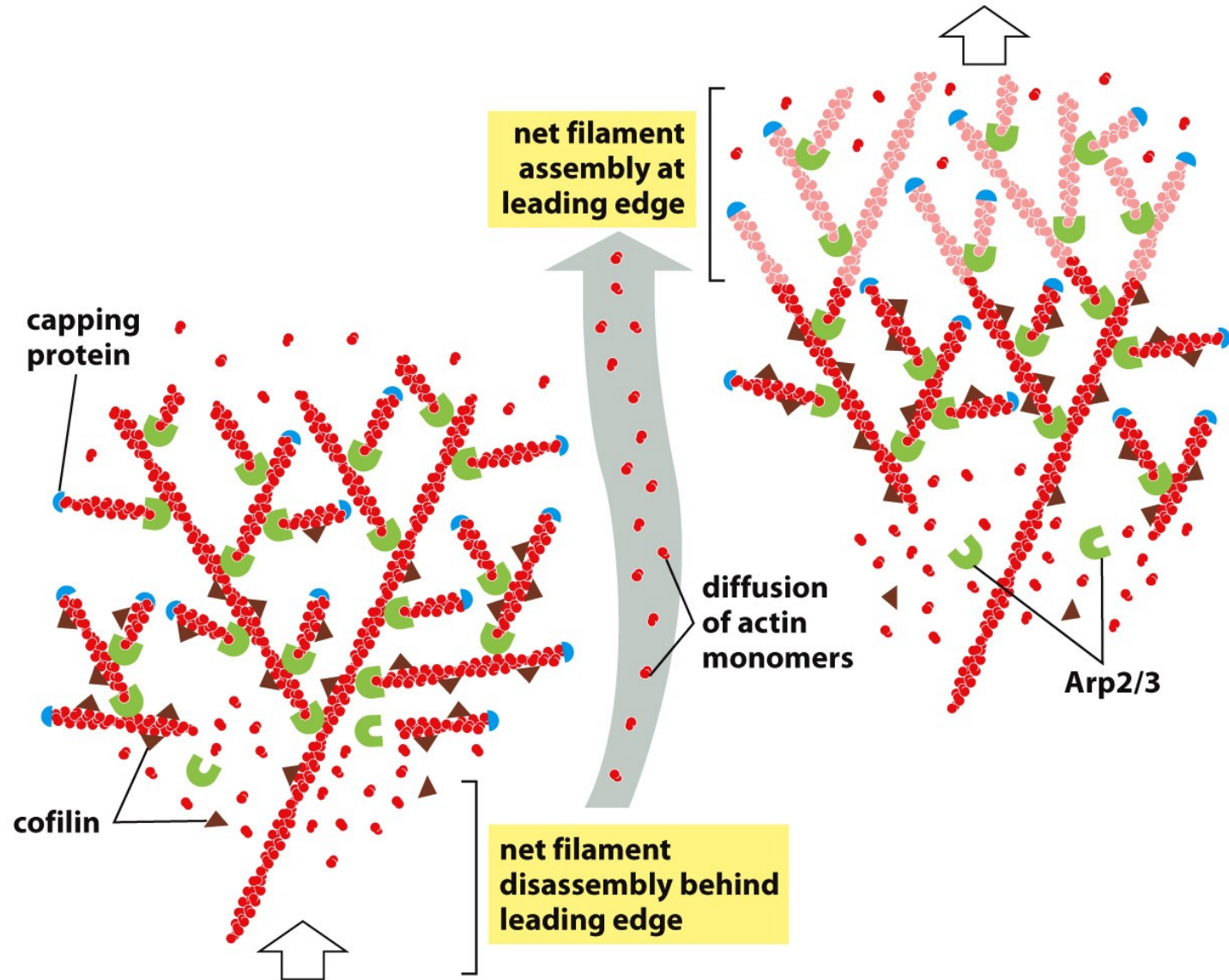


Figure 16-80 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Aktinová síť v lamelipodiu – klíčová role Arp2/3

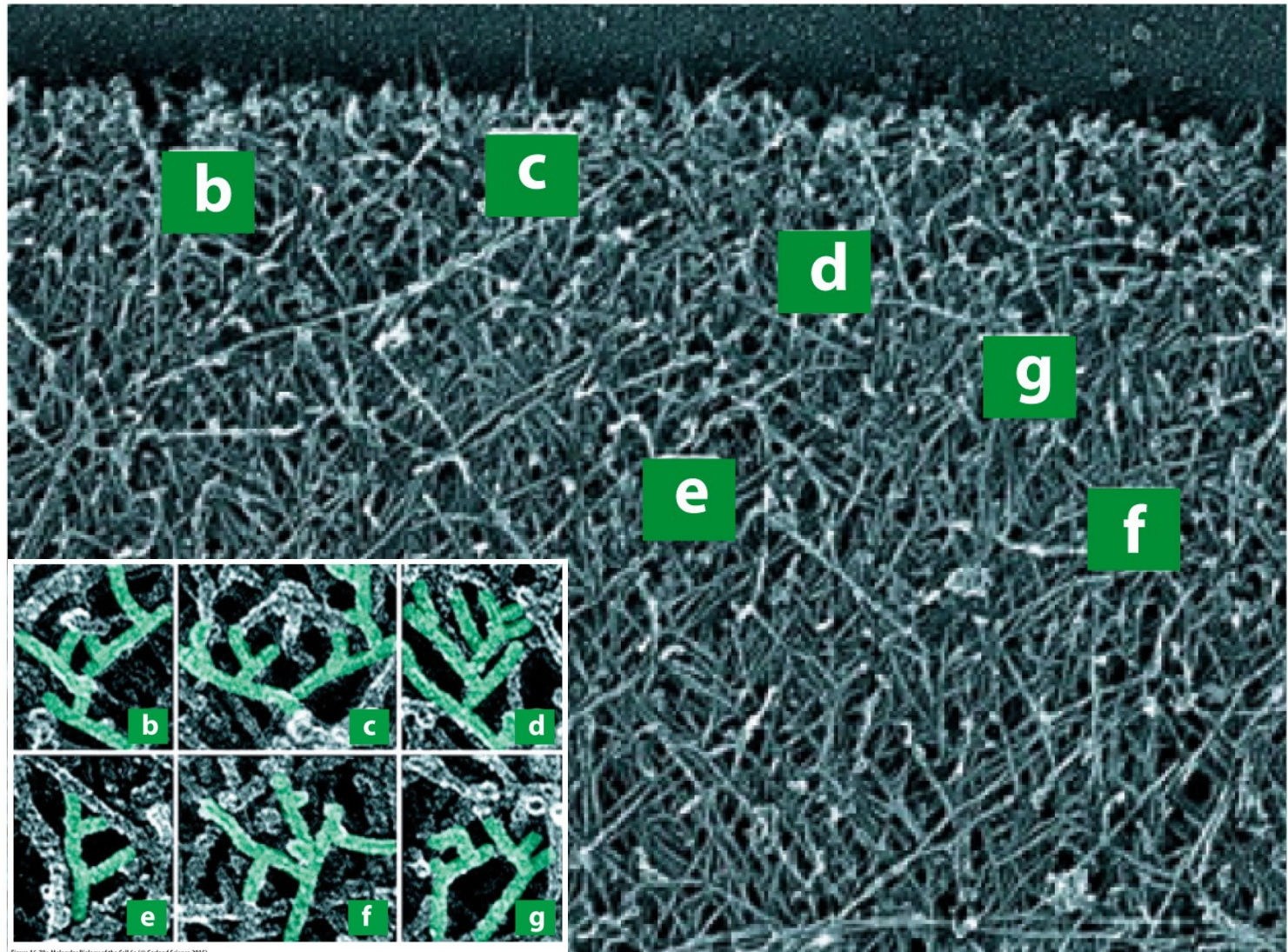


Figure 16-78c Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Figure 16-78b Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Destabilizace aktinu kofilinem – mimo leading edge

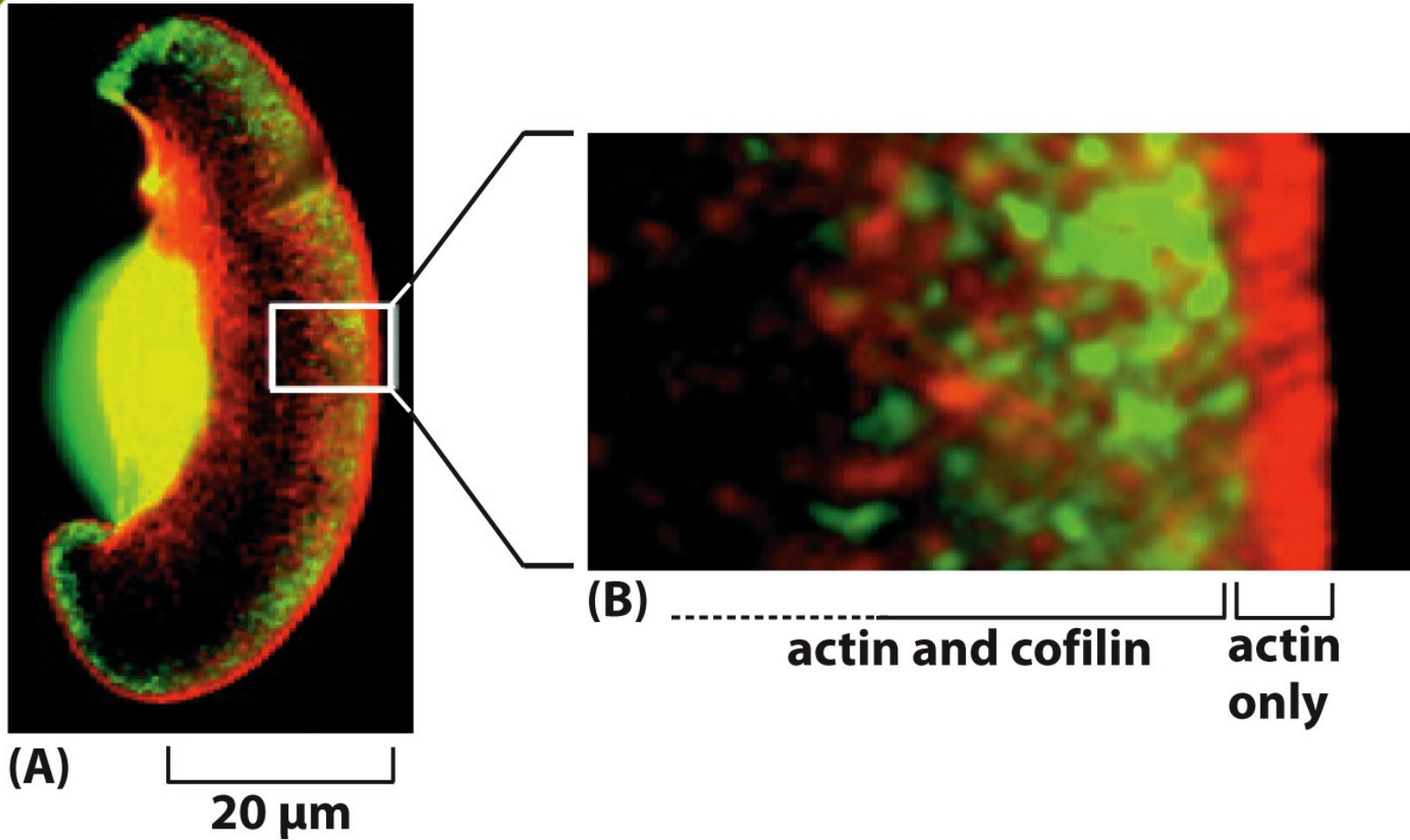


Figure 16-79 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Pohyb buňky po substrátu – klíčová role integrinů

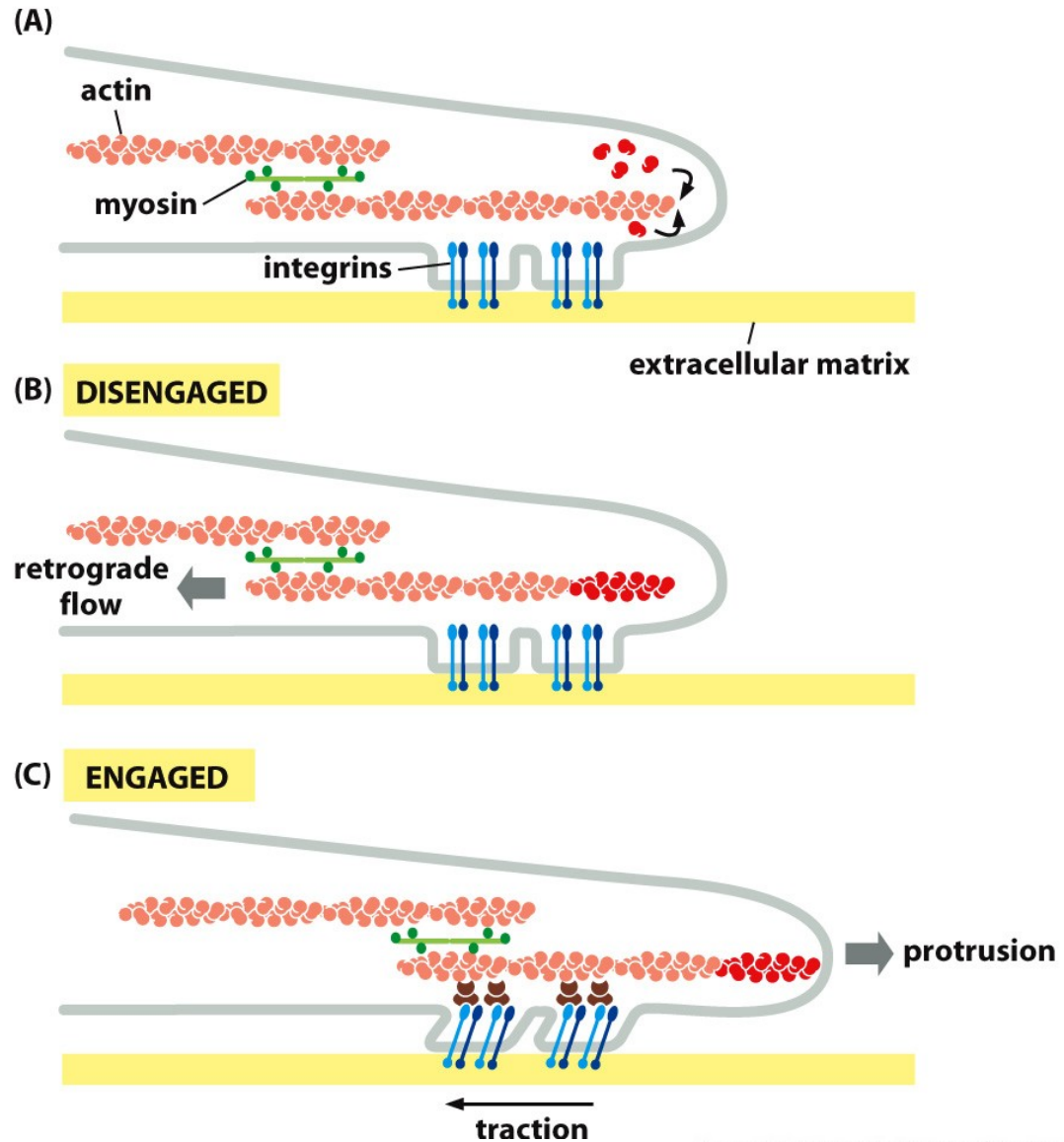
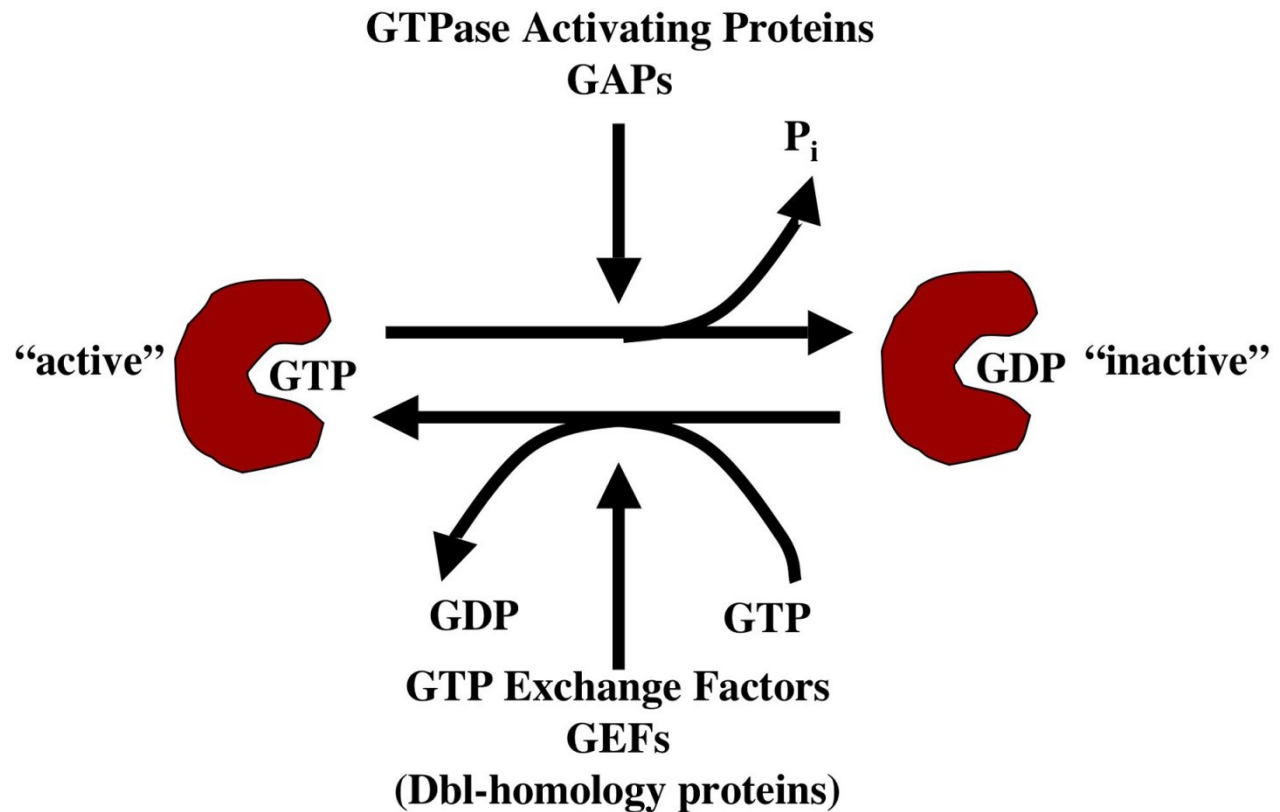


Figure 16-82 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

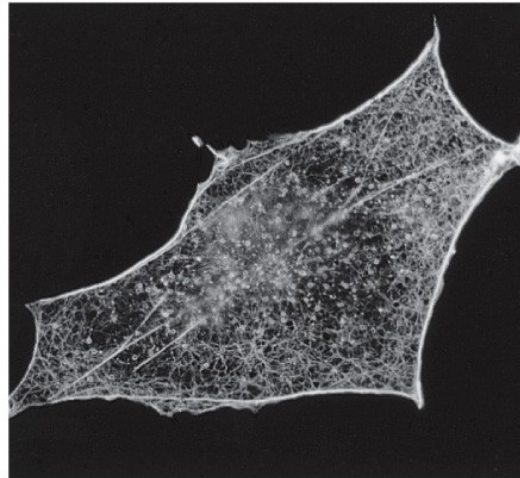
Malé GTPázy z Rho rodiny jsou klíčové regulátory cytoskeletu

(přeskočíme trošku dopředu o jednu přednášku)



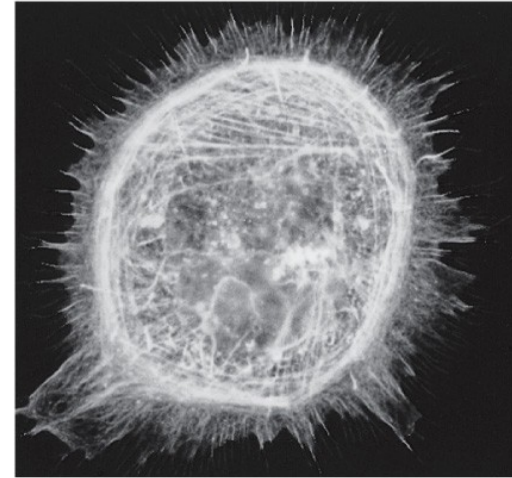
Malé GTPázy z Rho rodiny jsou klíčové regulátory cytoskeletu

actin staining

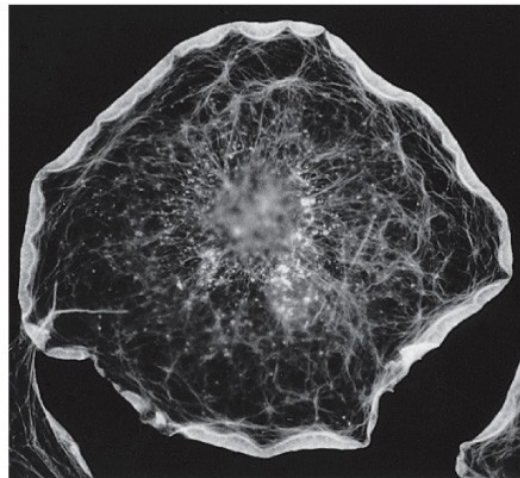


(A) QUIESCENT CELLS

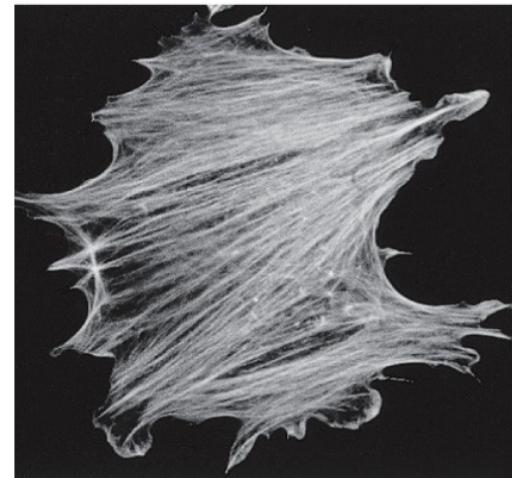
actin staining



(B) Cdc42 ACTIVATION



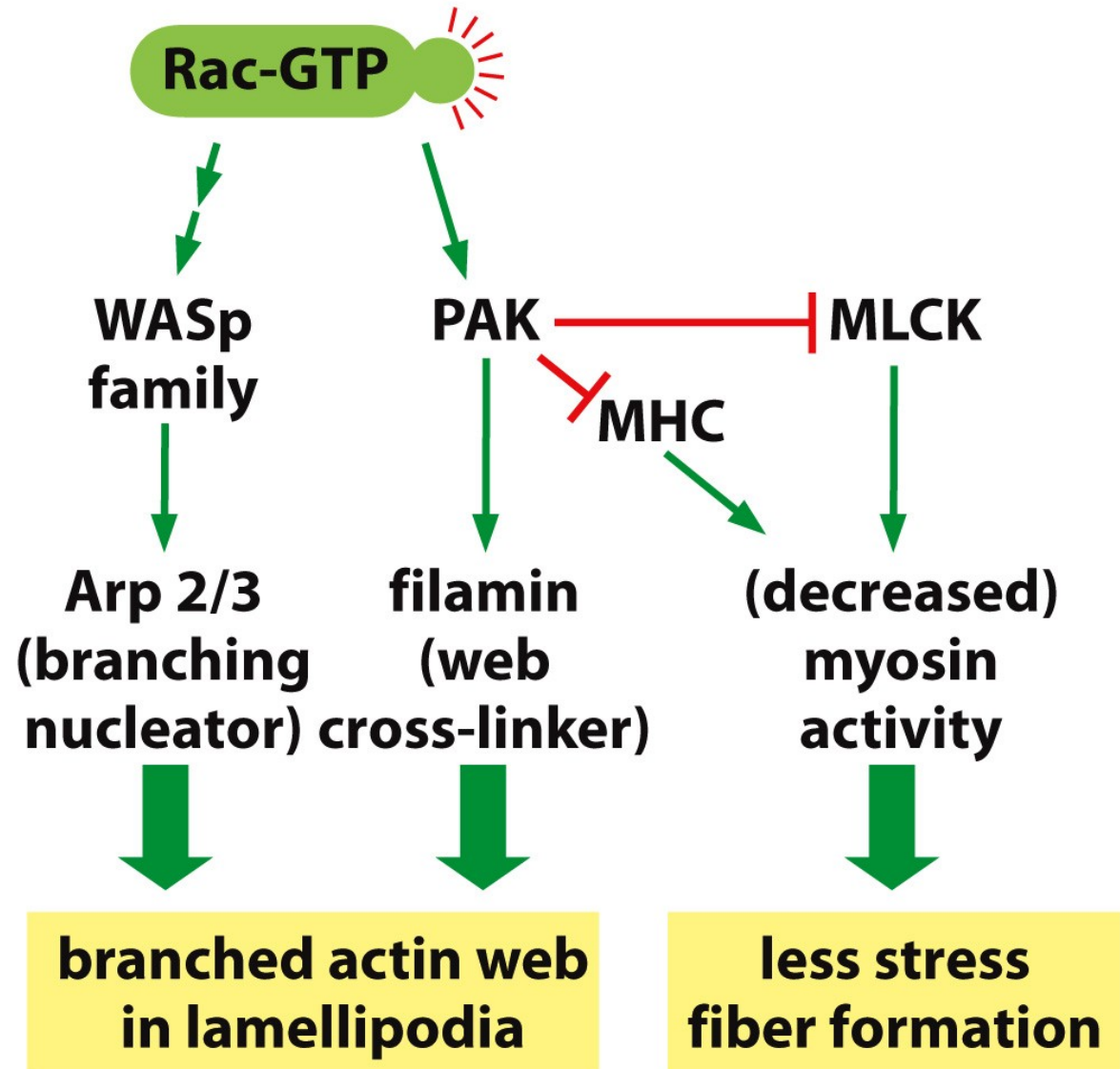
(C) Rac ACTIVATION



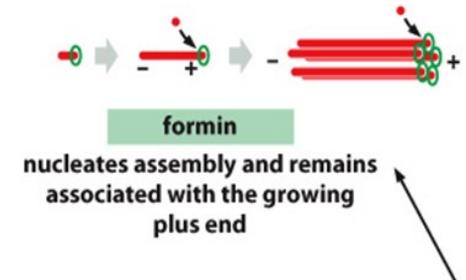
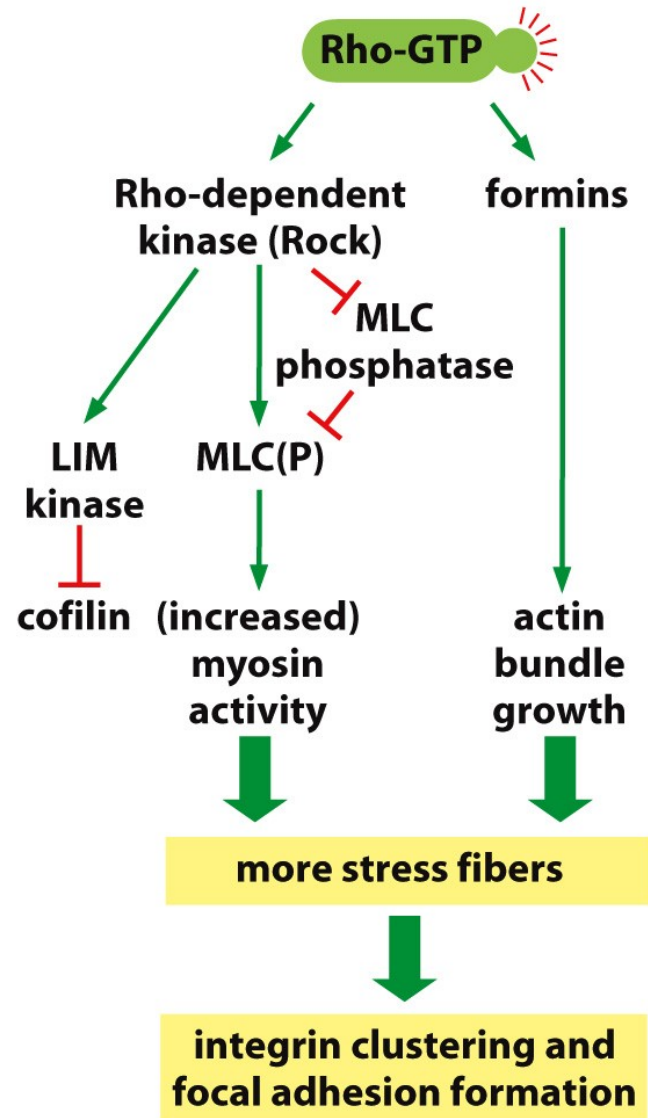
(D) Rho ACTIVATION

20 μ m

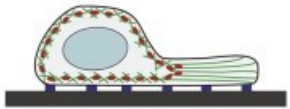
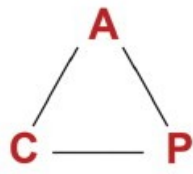
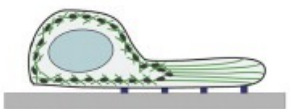
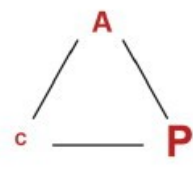

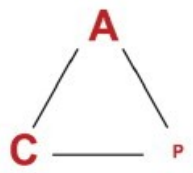
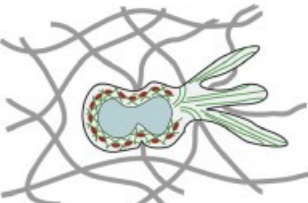
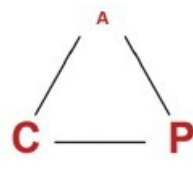
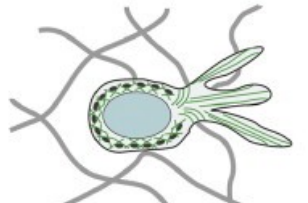
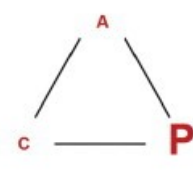
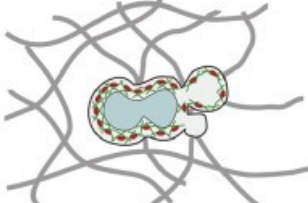
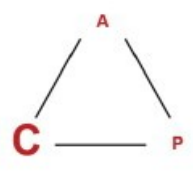
Malé GTPázy z Rho rodiny jsou klíčové regulátory cytoskeletu



Pohyb buňky po substrátu



POHYB

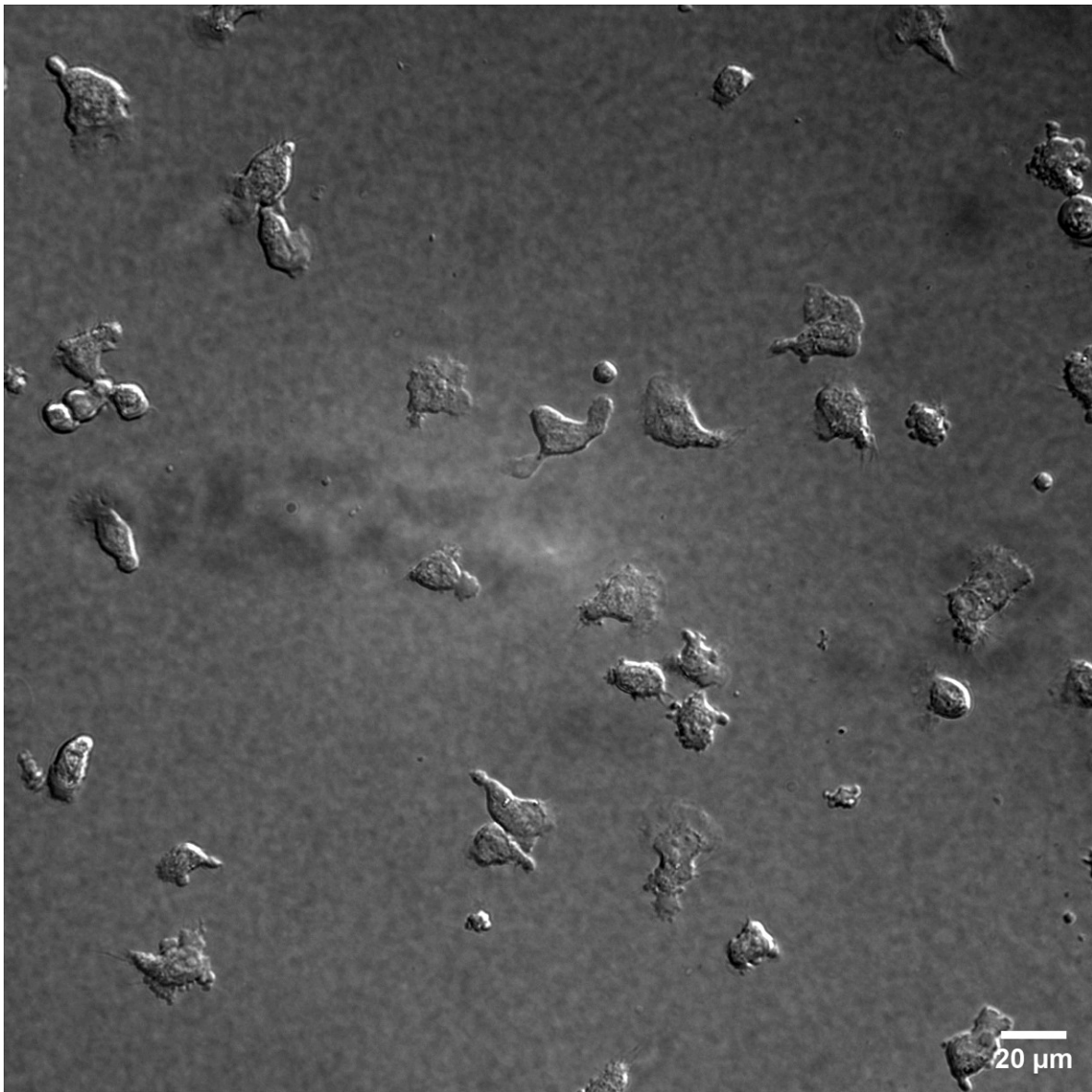
| | Amoeboid morphology | Force balance | Leukocytes | Other amoeboid cells |
|-----|--|--|---|--|
| I |  |  | neutrophils [16,34], T lymphoblasts [43,44] | <i>Dictyostelium</i> [32,33,41,42], <i>Amoeba proteus</i> |
| II | 2D protrusive  |  | dendritic cells (M.S. unpublished), MyoII-inhibited neutrophils [16] and T cells [17] | nematode sperm [21,46], MyoII-inhibited <i>Dictyostelium</i> [18,20] |
| III | 2D contractile  |  | | <i>Dictyostelium</i> [20,23] |
| IV | 3D  |  | dendritic cells [19], neutrophils [19], B lymphoblasts [19], T lymphoblasts [39] | <i>Fundulus</i> deep cells [26] |
| V | 3D protrusive  |  | MyoII-inhibited dendritic cells [19] and neutrophils [19] | |
| VI | 3D contractile  |  | LatB-treated dendritic cells (Suppl. Video2, Fig. 1B) | zebrafish PGCs [25], <i>Fundulus</i> deep cells [24,26], amoeboid tumor cells (see references in Box 1) |

Adhesion

Protrusion

Contraction

ПОHYB



Jak buňka určí směr?

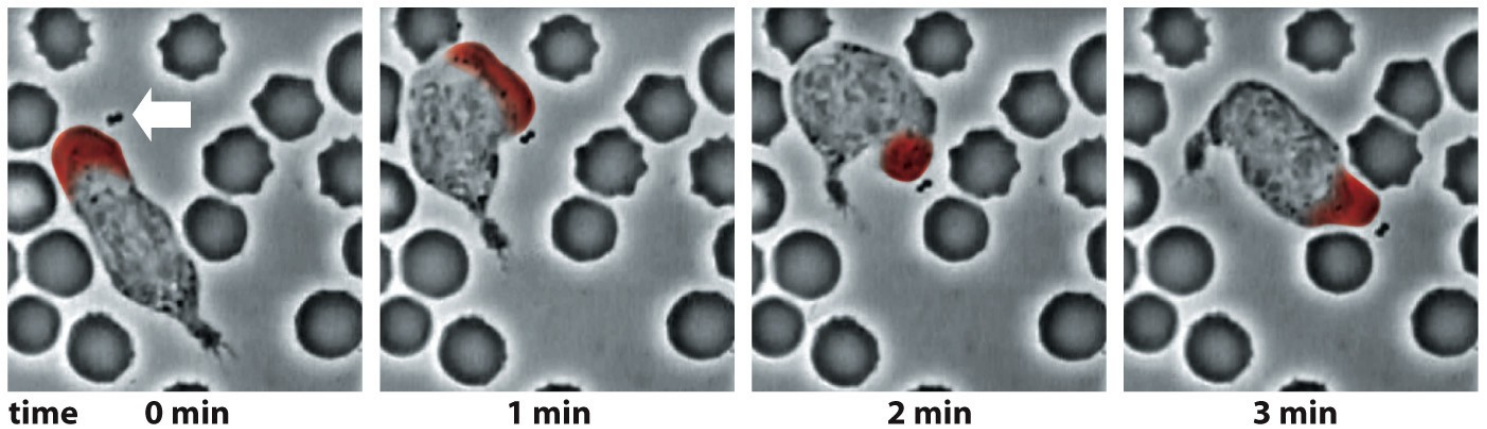
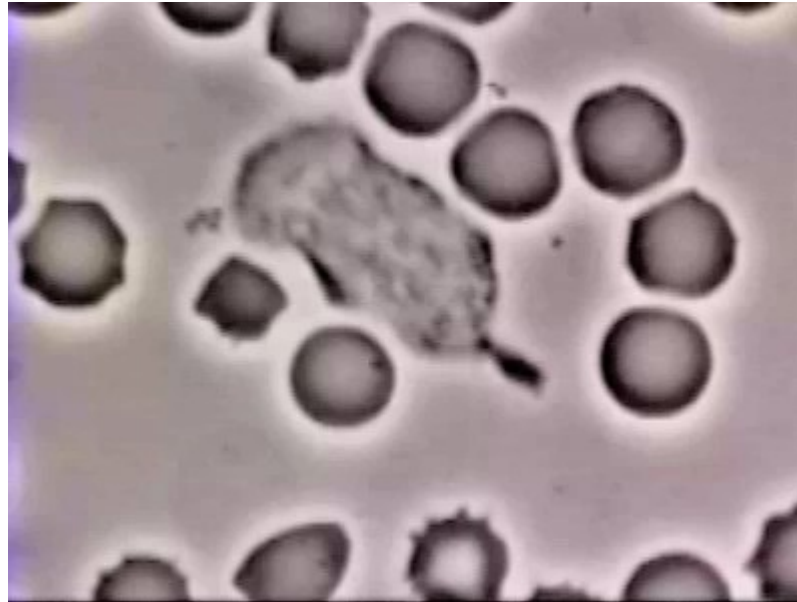


Figure 16-3 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Pohyb buňky po substrátu

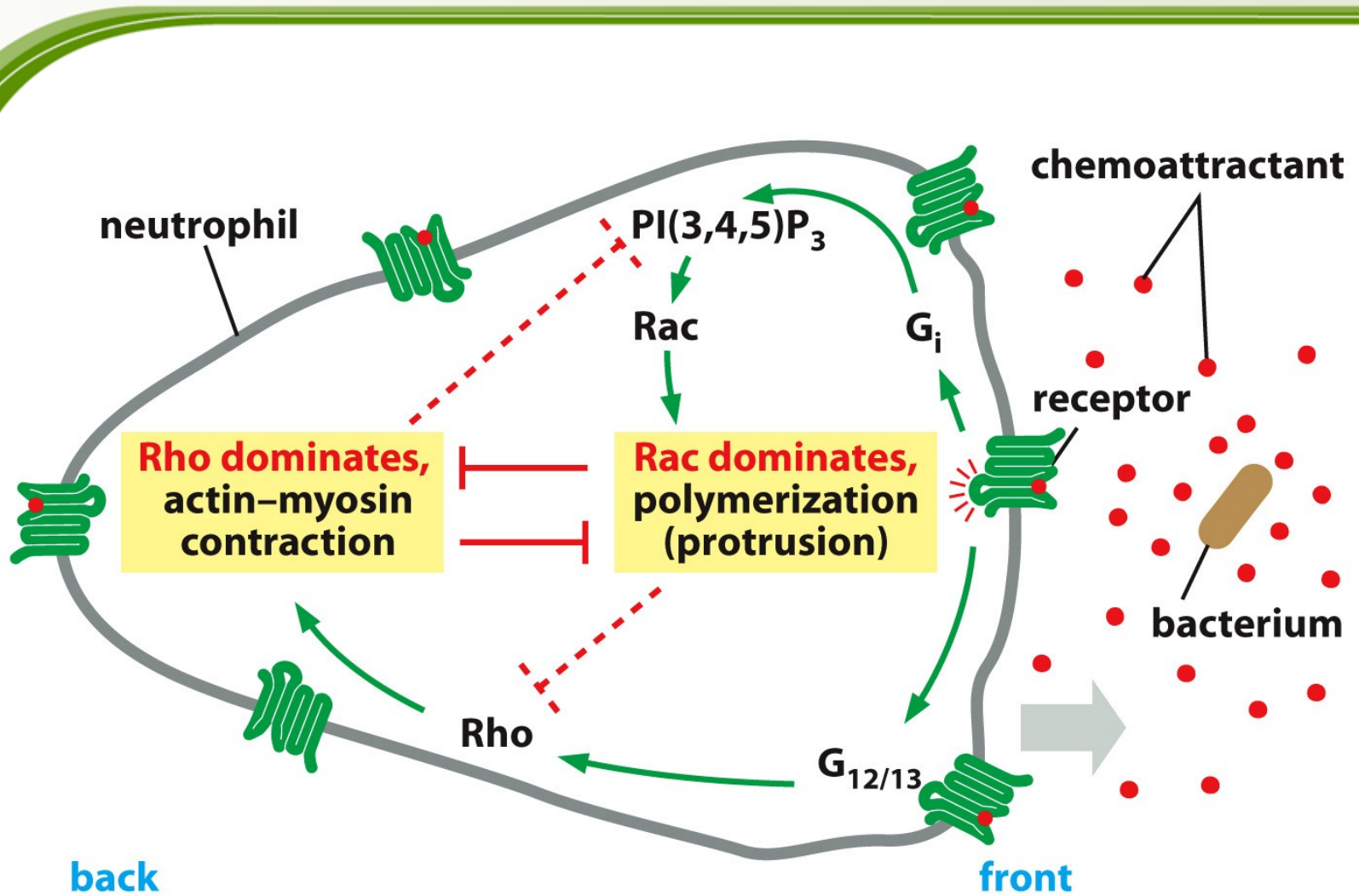


Figure 16-86b Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Mechanika buněčného dělení

Buněčný cyklus - připomenutí

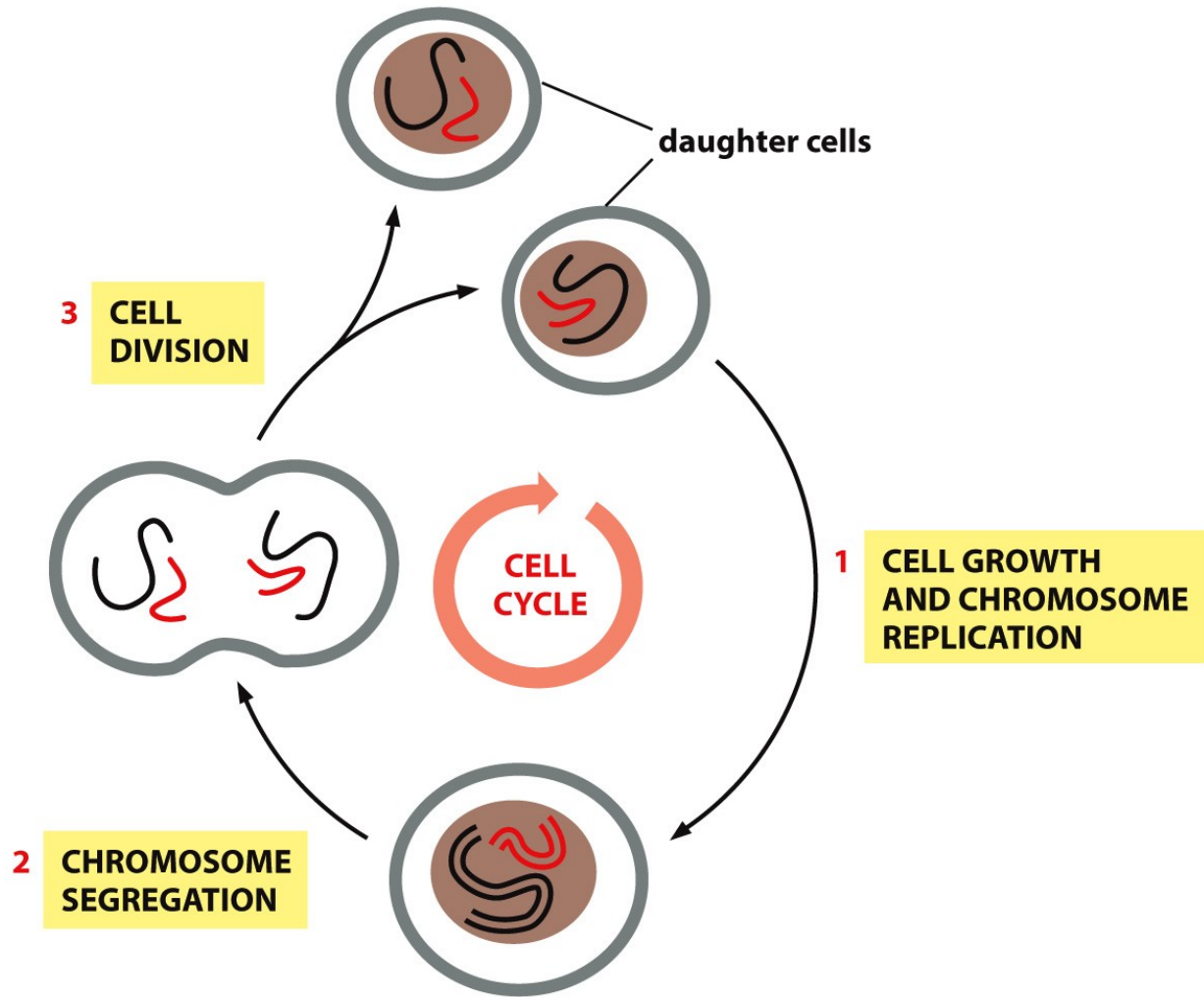
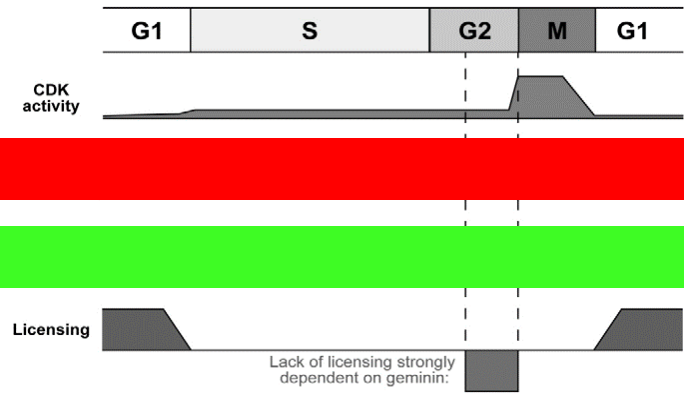
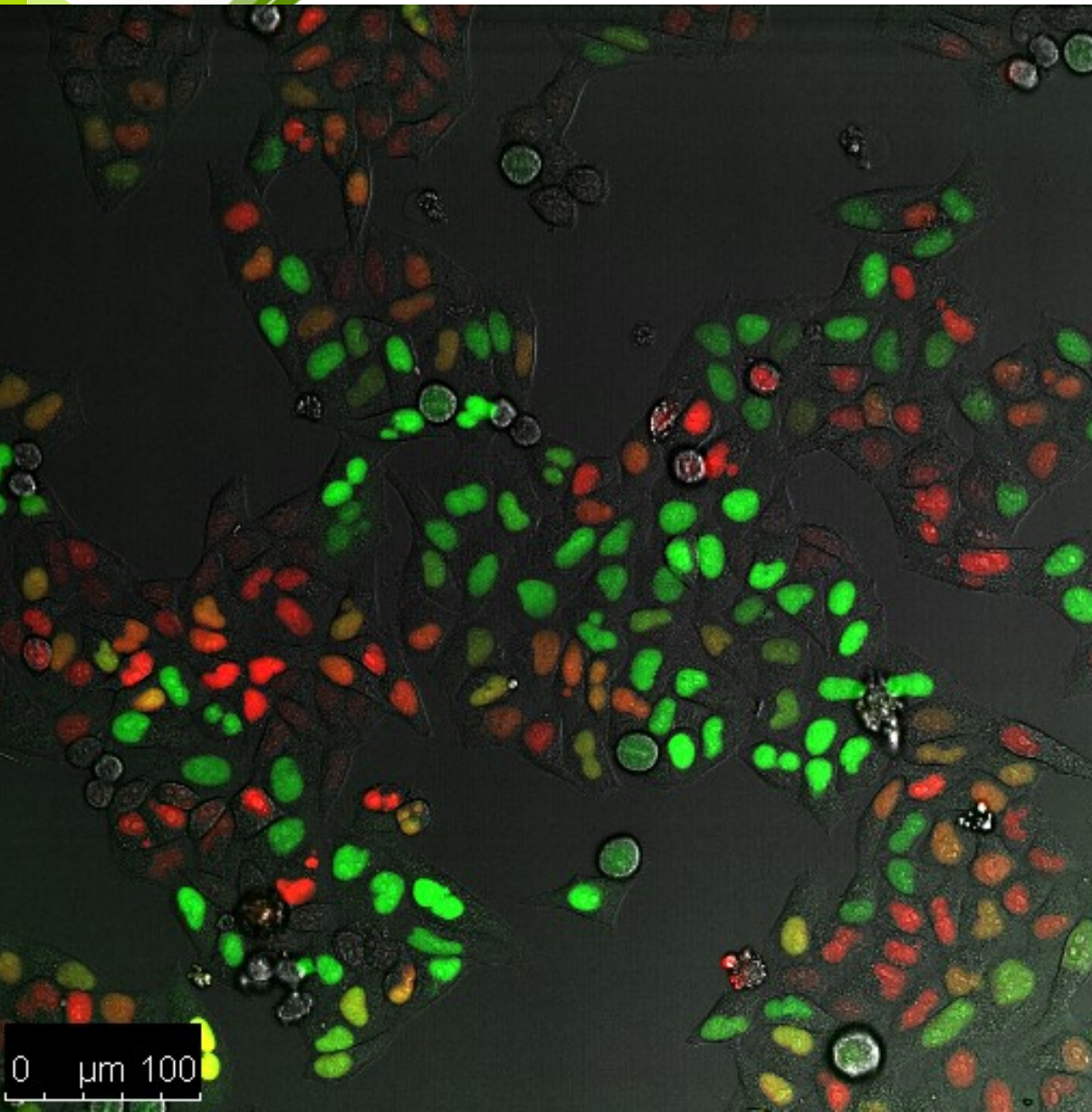


Figure 17-1 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

HeLa buňky – systém Fucci



Mechanika buněčného dělení

Aktin – červeně
 Tubulin – zeleně
 DNA - hnědě

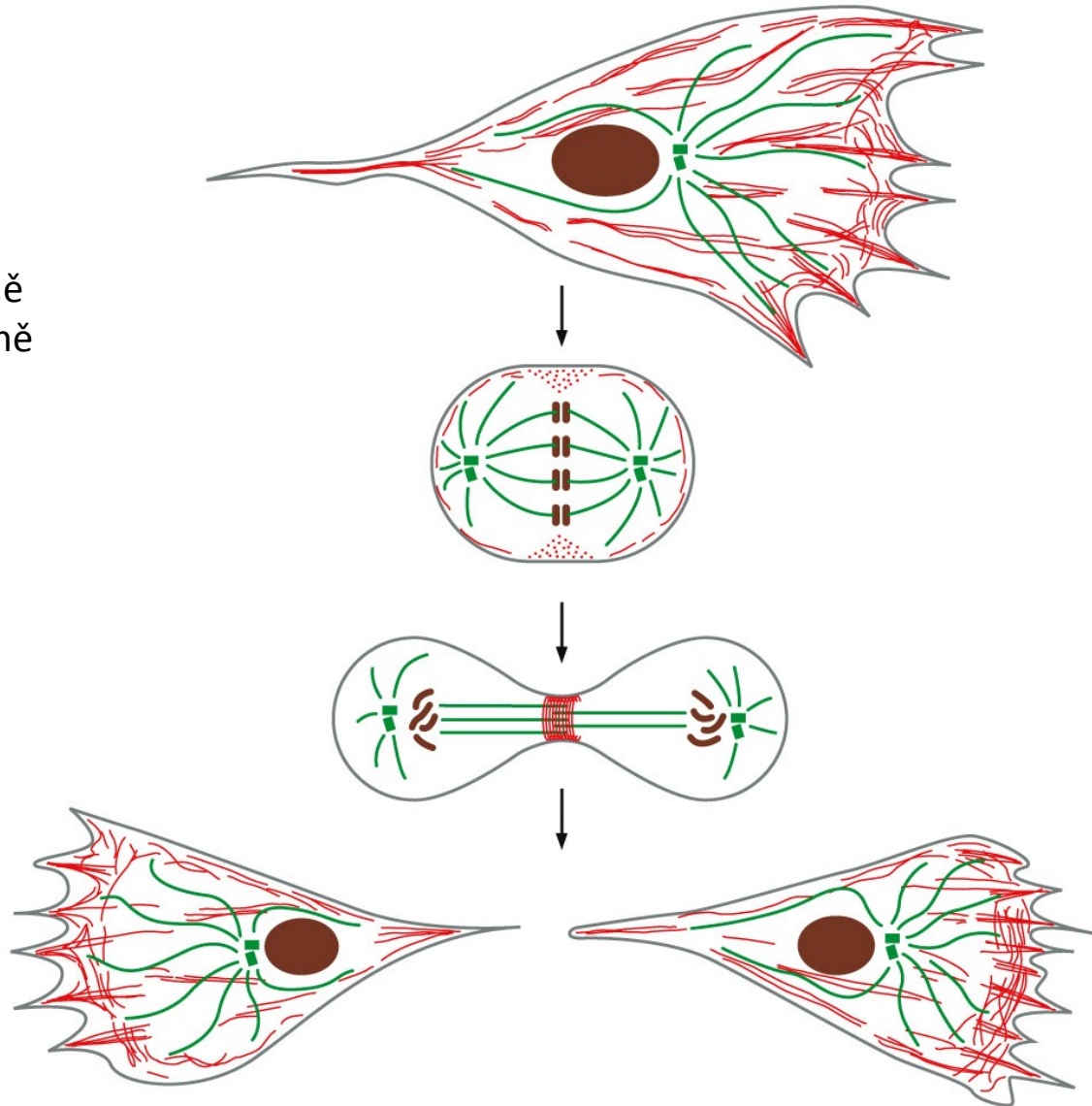
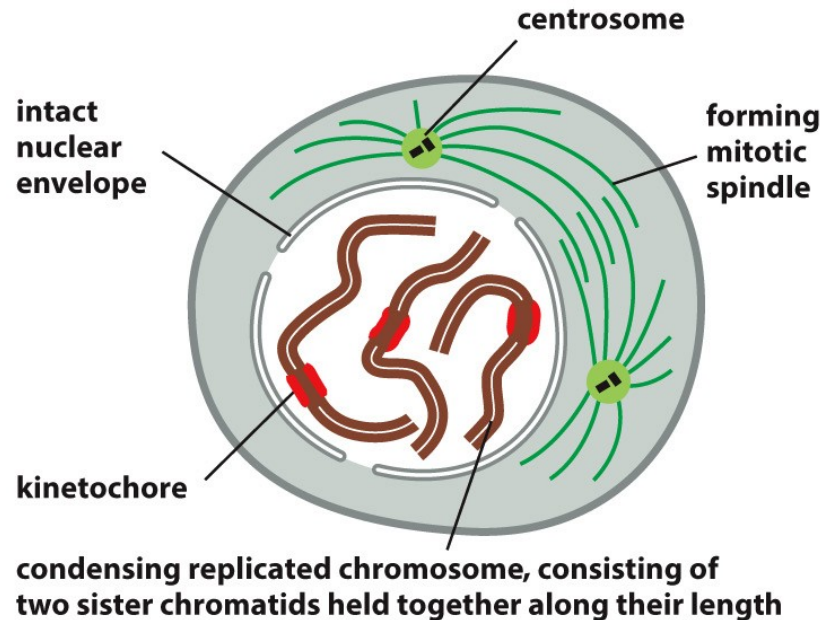


Figure 16-2 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Mitoza - shrnutí

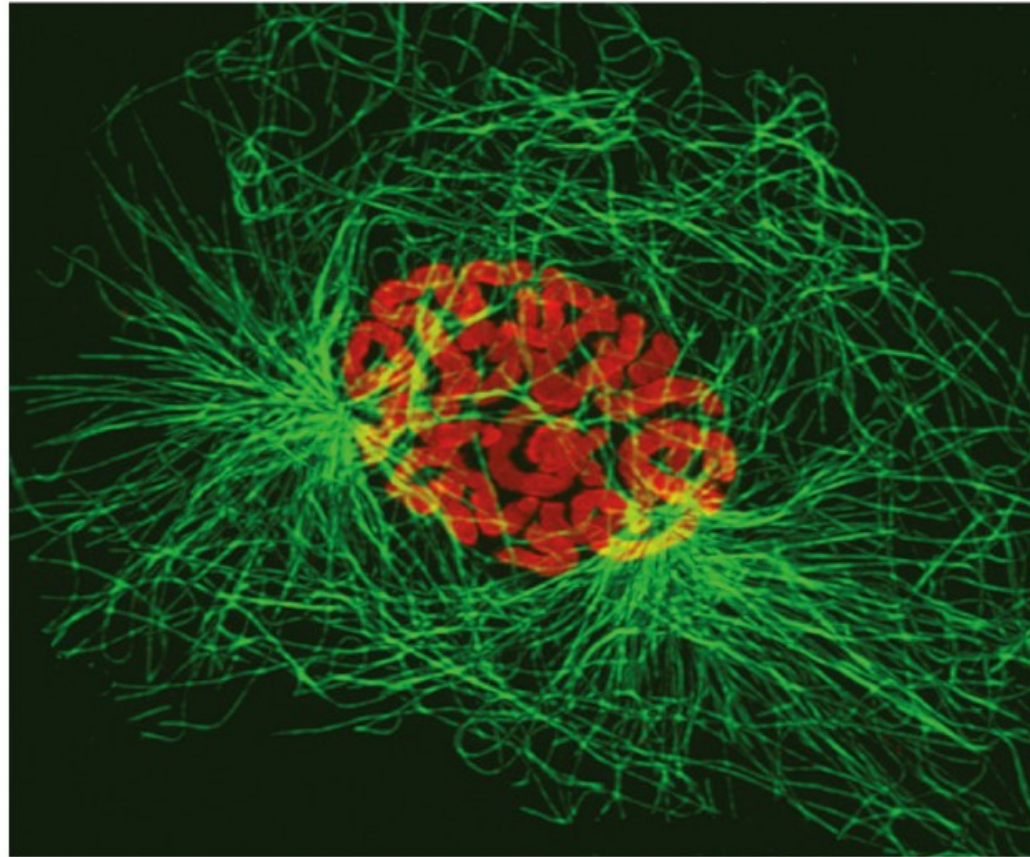
1 PROFÁZE



- ▶ replikované chromozomy kondenzují (každý se skládá ze dvou blízce spojených sesterských chromatid); mimo jádro se mezi dvěma centrosomy, které se zreplikovaly a rozdělily, sestavuje mitotické vřeténko
- ▶ v diploidních buňkách je po dvou kopiích od každého chromozomu

Mechanika buněčného dělení

1 PROFÁZE



- ▶ chromozomy červeně, mikrotubuly zeleně

Sesterské chromatidy jsou po replikaci spojeny koheziny

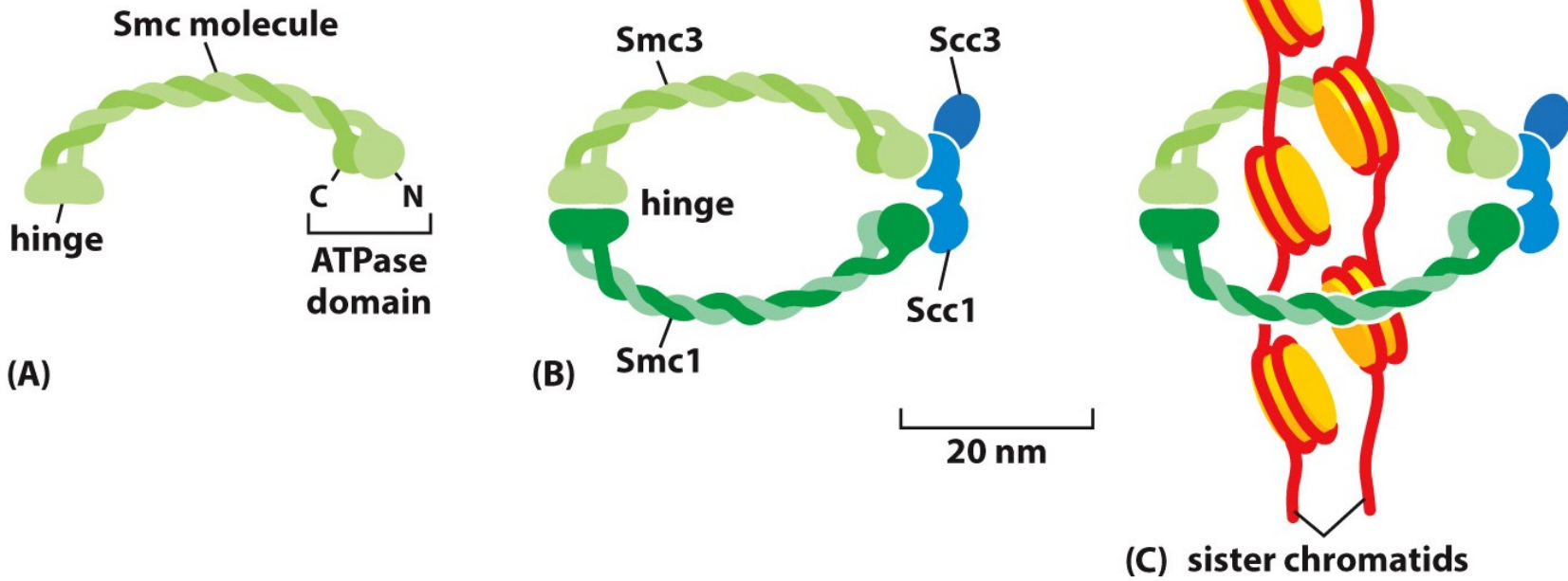


Figure 17-19 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Smc – Structural Maintenance of Chromosomes

V profázi dochází ke kondenzaci chromozómů kondenziny

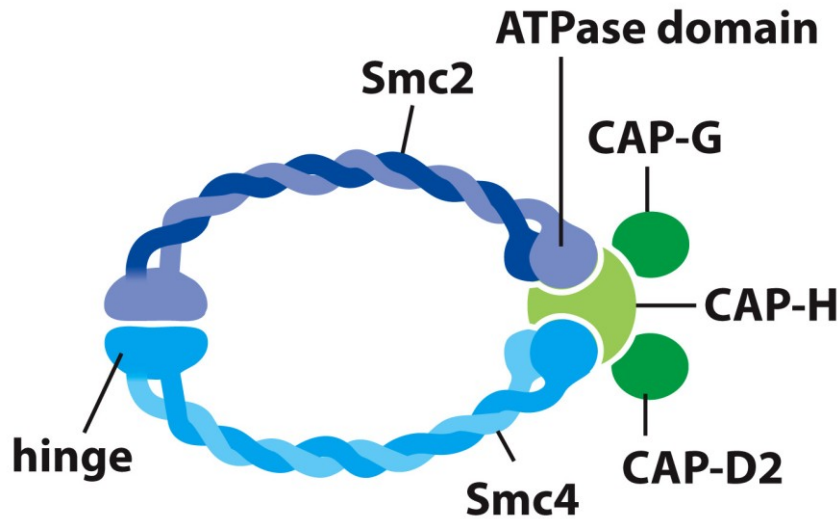
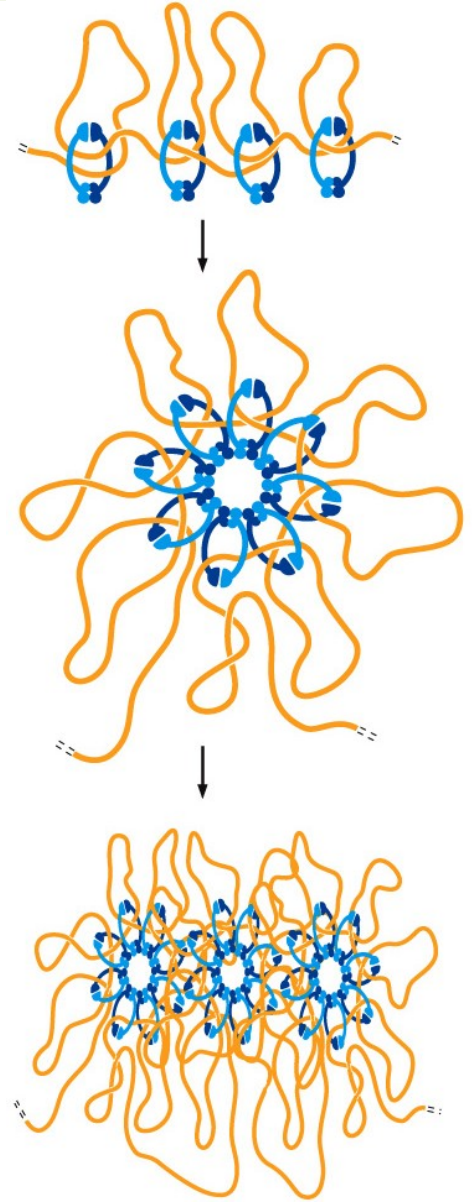


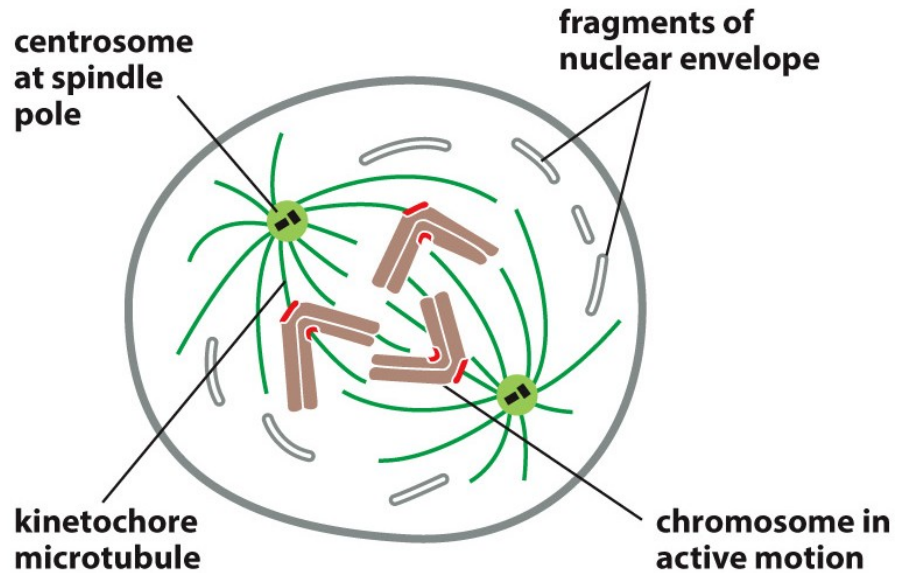
Figure 17-22a Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

- Podobné kohezinům
- Spojují DNA do struktur vyššího řádu v průběhu profáze



Mechanika buněčného dělení

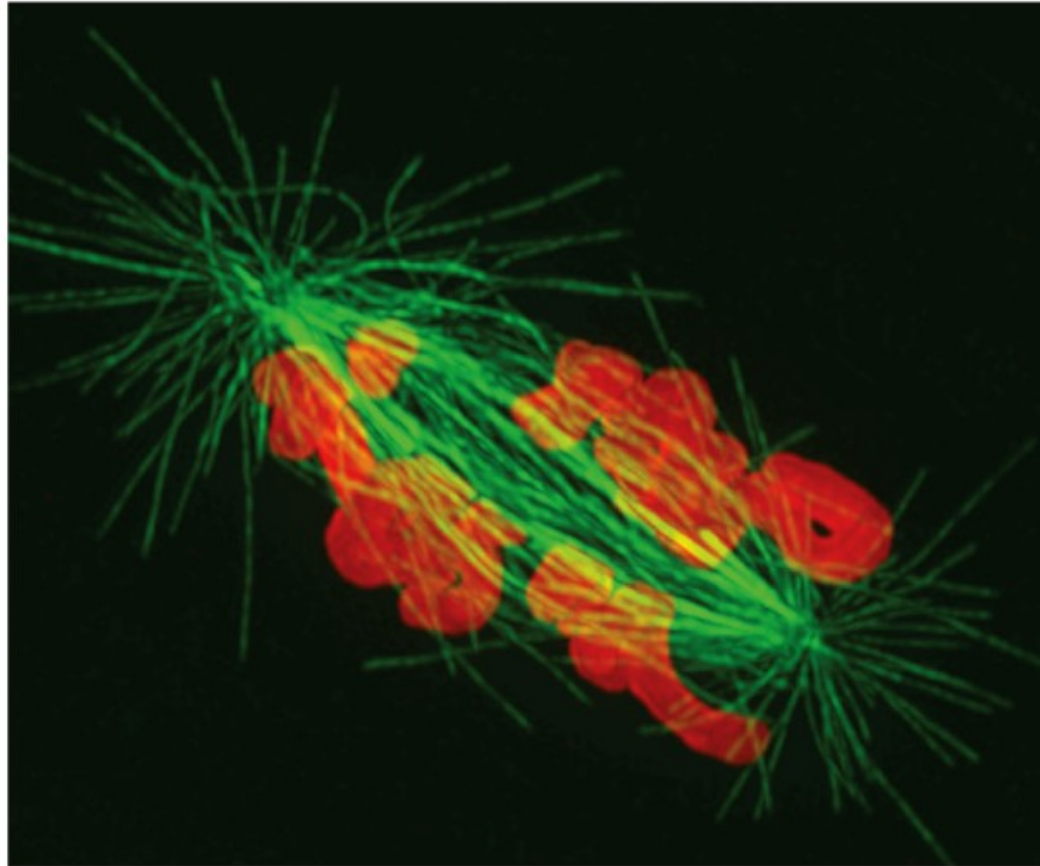
2 PROMETAFÁZE



- profáze náhle přechází do prometafáze rozpadem jaderné membrány
- chromozomy se tak nyní mohou svými kinetochory napojit na mikrotubuly dělicího vřeténka a začít se aktivně pohybovat

Mechanika buněčného dělení

2 PROMETAFÁZE



- ▶ chromozomy červeně, mikrotubuly zeleně

Tři hlavní typy mikrotubulů v mitóze

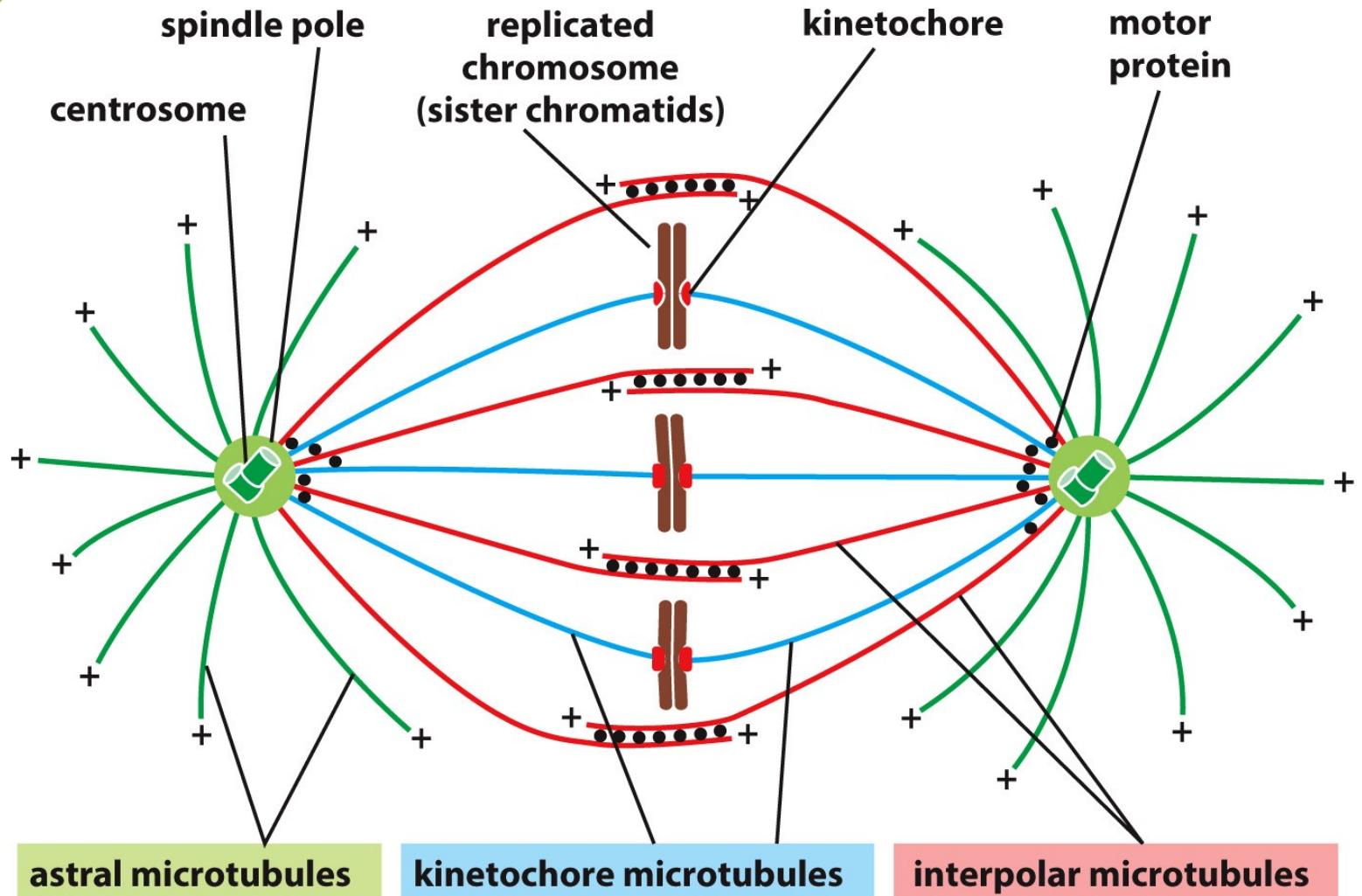


Figure 17-23 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Shrnutí tvorby mitotického vřeténka: profáze-metafáze

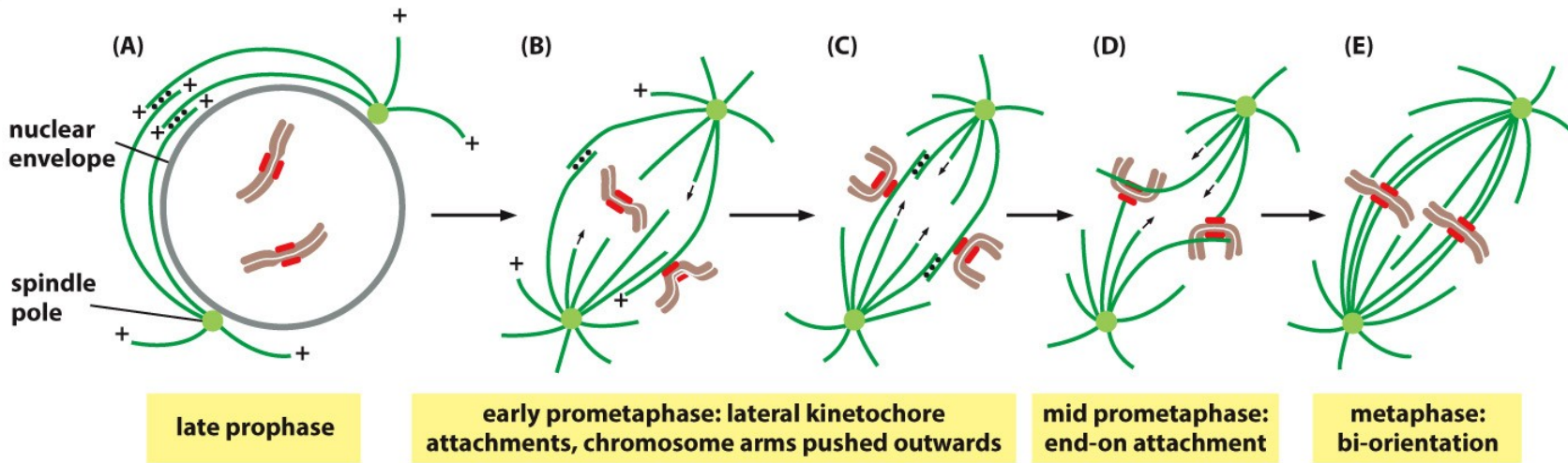


Figure 17-32 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Hlavní cytoskeletární motory zahrnuté v mitoze a jejich funkce

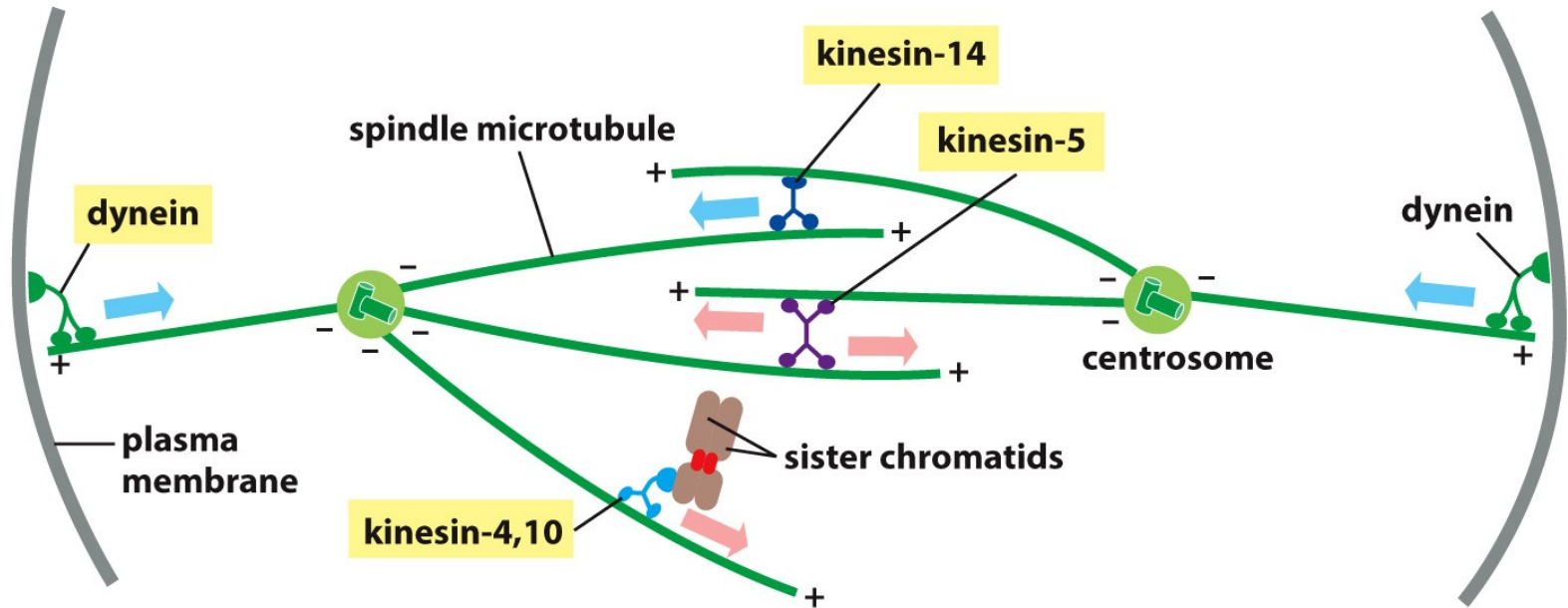


Figure 17-25 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

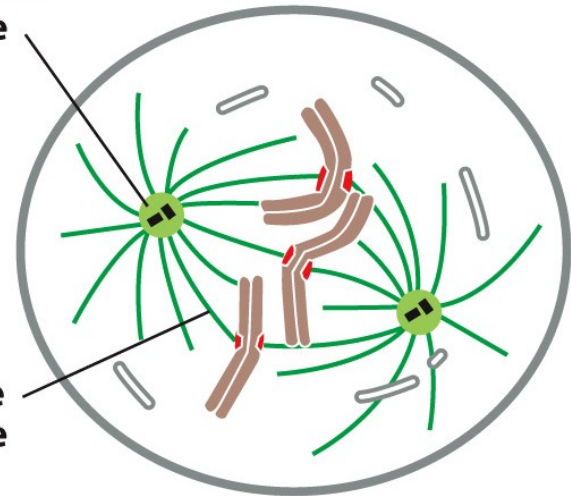
- Kinesin 5 – organizace interpolárních mikrotubulů
- Kinesin 4/10 - transport zachycených chromozomů k +konci mikrotubulů
- Kinesin 14 – atypický (putuje k –konci) kinezin navigující mikrotubuly
- Dynein – připojený k plazmatické membráně „táhne“ astrální mikrotubuly a určují pozici centrosomu

Mechanika buněčného dělení

3 METAFÁZE

centrosome at spindle pole

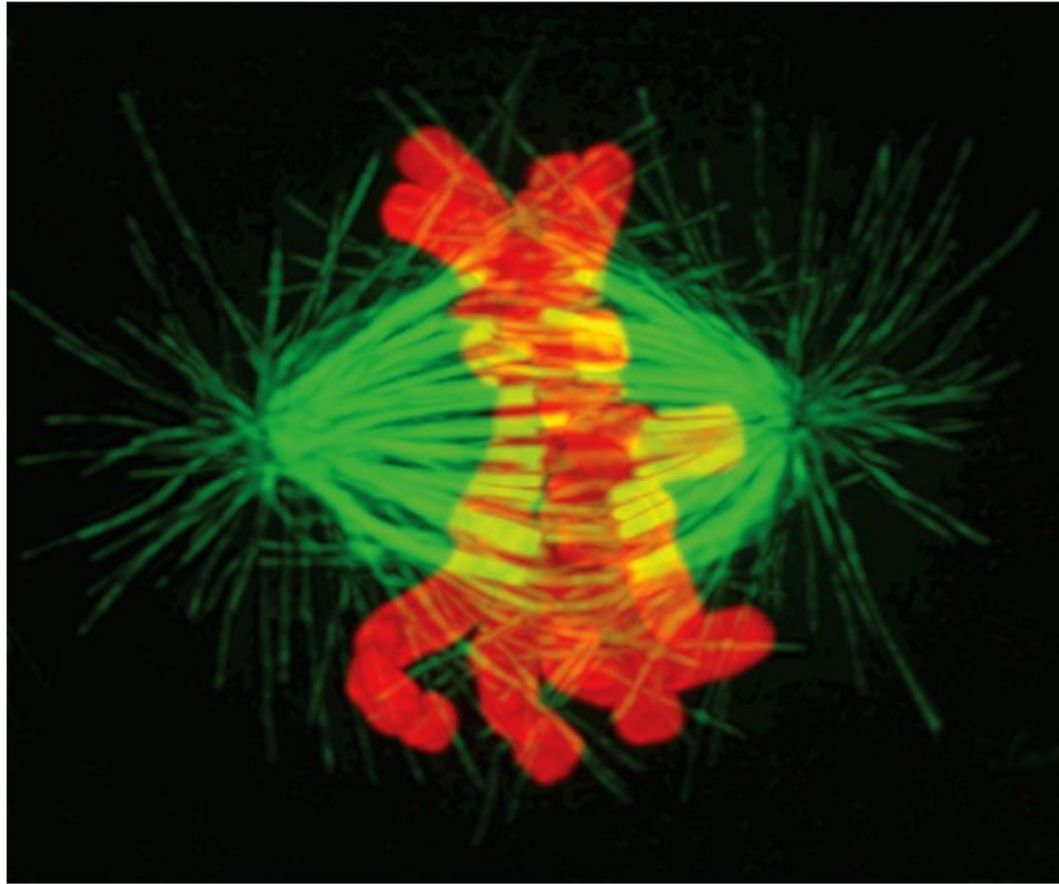
kinetochore microtubule



- ▶ v metafázi jsou chromozomy seřazeny v rovníkové oblasti mezi póly dělicího vřeténka
- ▶ kinetochorové mikrotubuly jsou připojeny na sesterské chromatidy a přitahují je k opačným pólům dělicího vřeténka

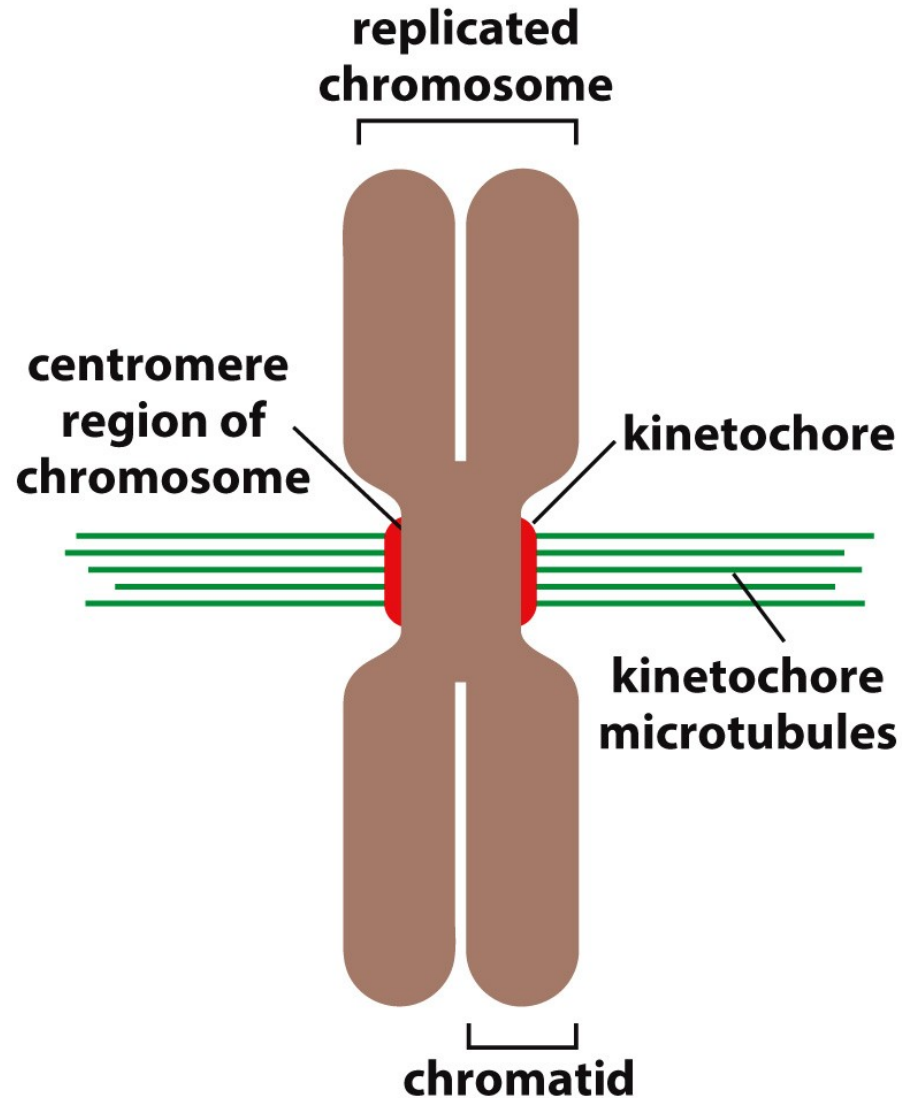
Mechanika buněčného dělení

3 METAFÁZE



- ▶ chromozomy červeně, mikrotubuly zeleně

Připojení mikrotubulů ke kinetochoře metafázních chromozomů



Chromozomy nejsou pouzí pasažéři: Aktivace malé GTPázy Ran v metafázi

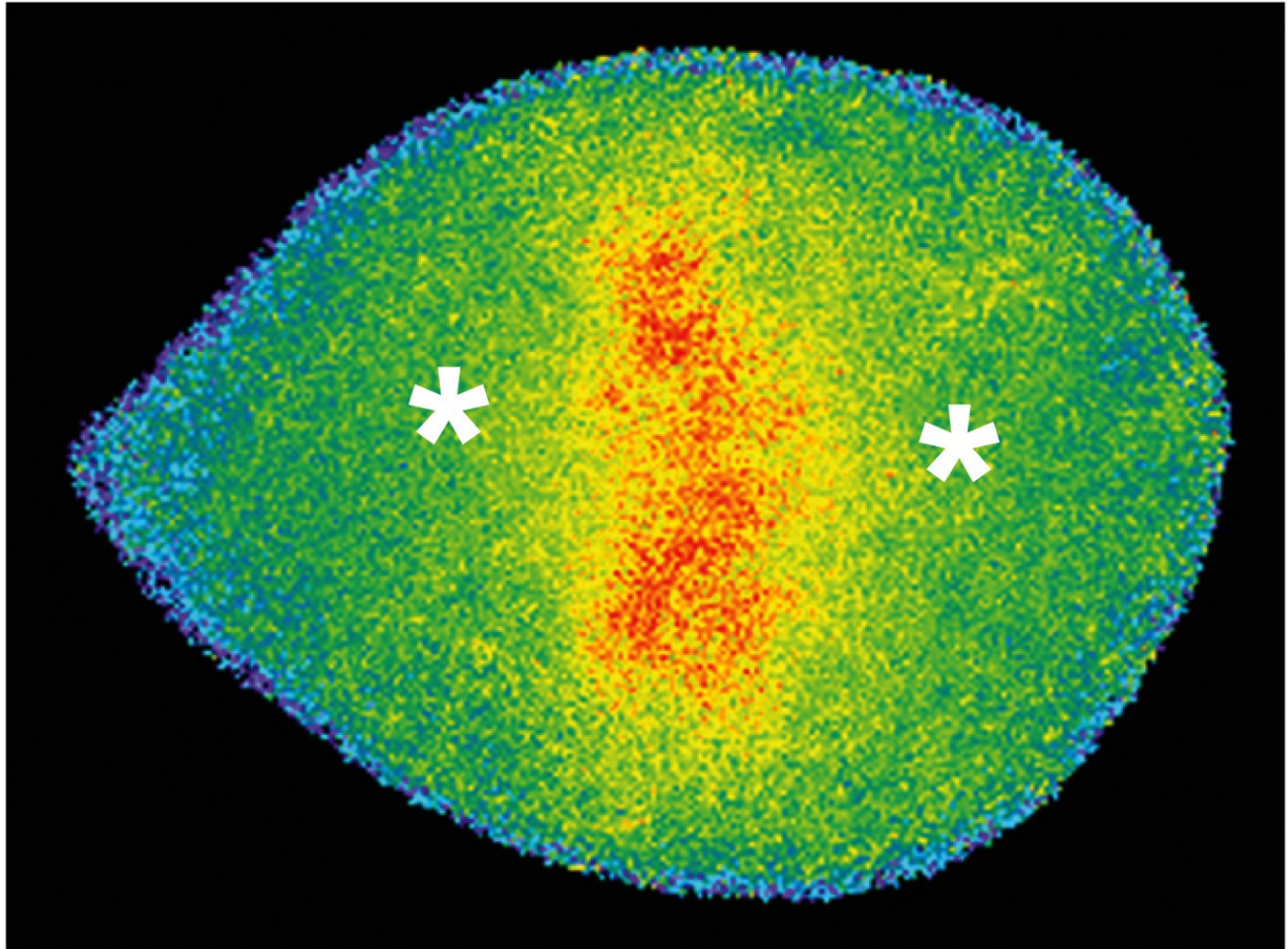
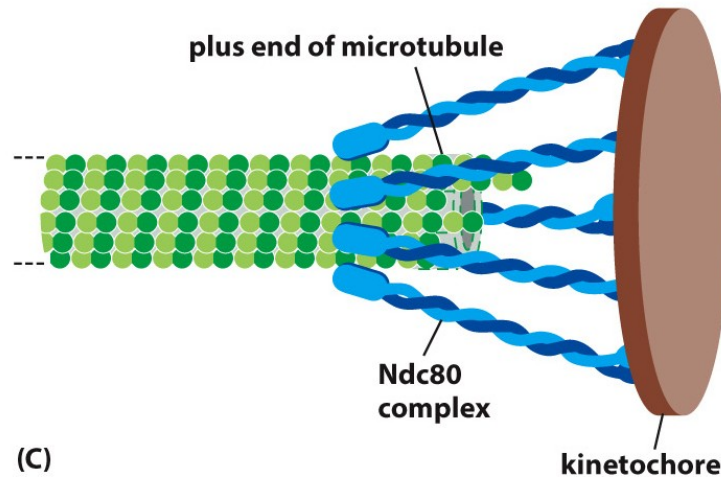
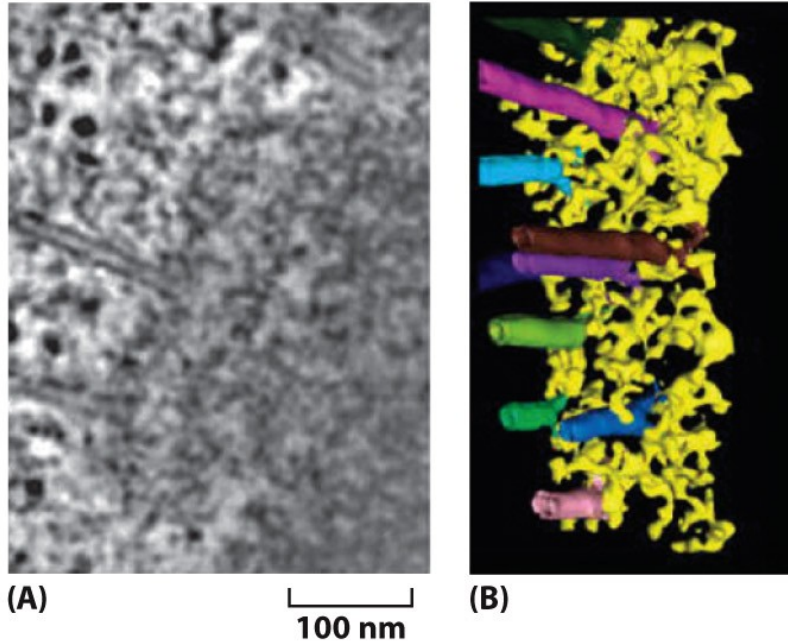


Figure 17-27 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Savčí chromozom – desítky mikrotubulů, spojených komplexem Ndc80



Princip správného připojení mikrotubulů

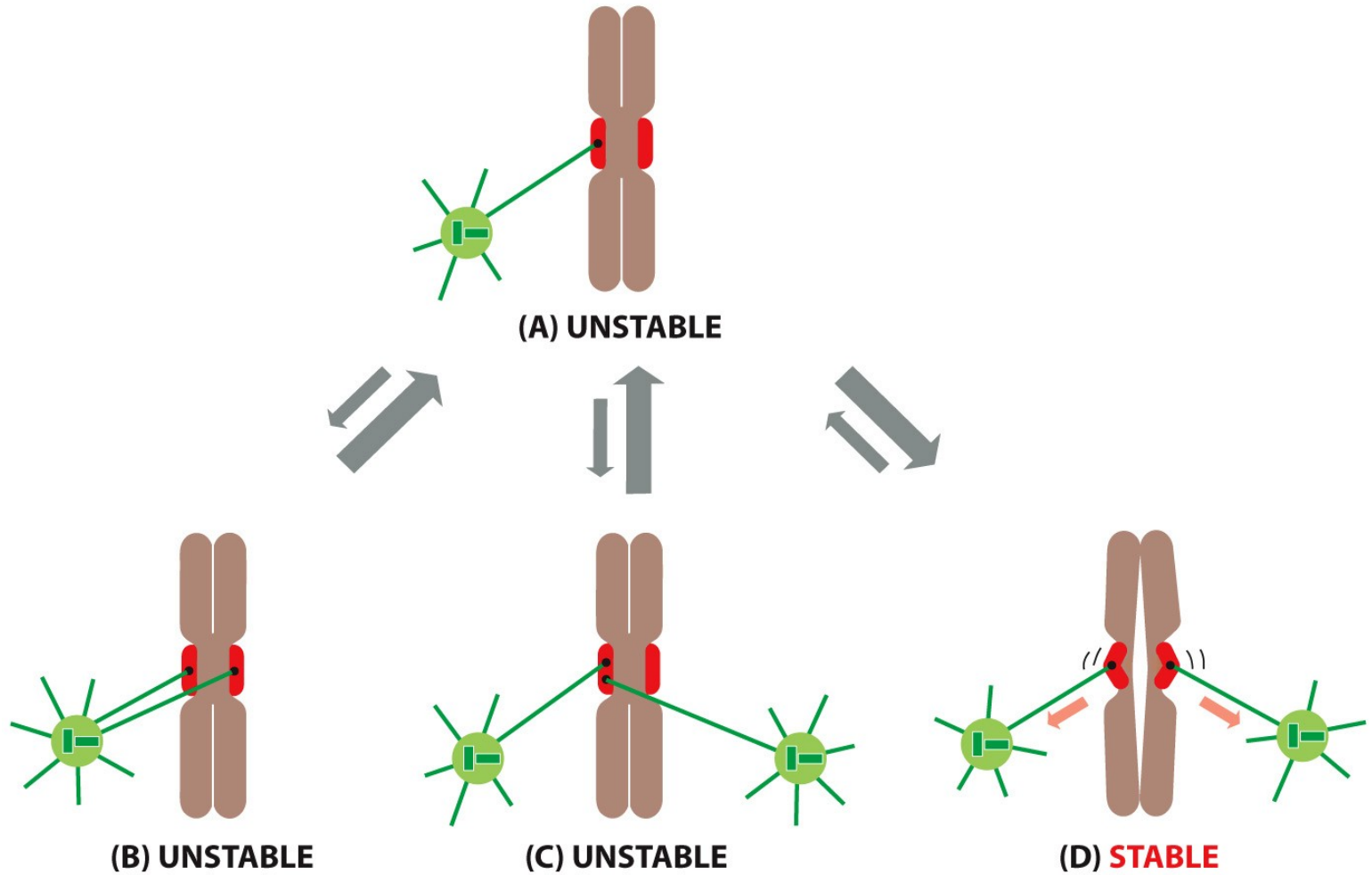


Figure 17-33 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Detekce „pnutí“ v kinetochoře – role kinázy Aurora B

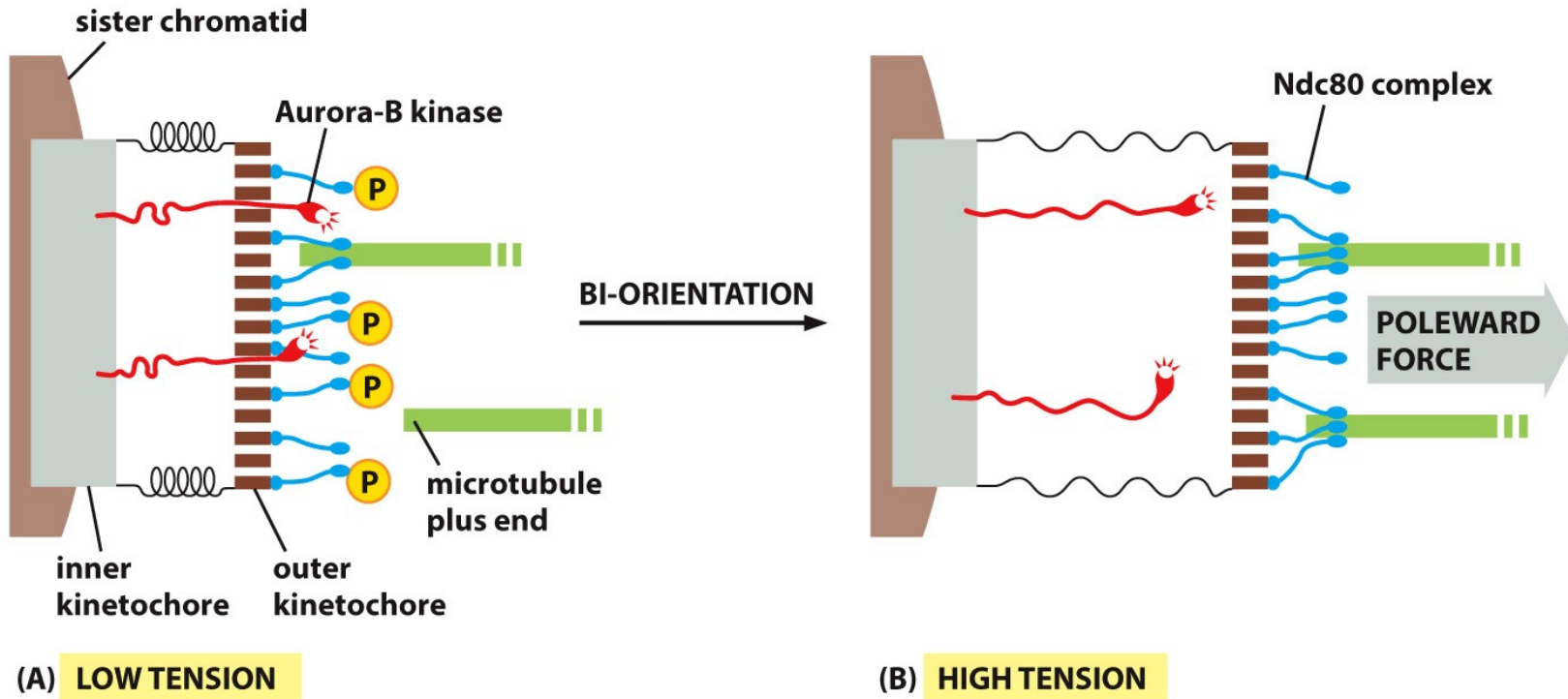
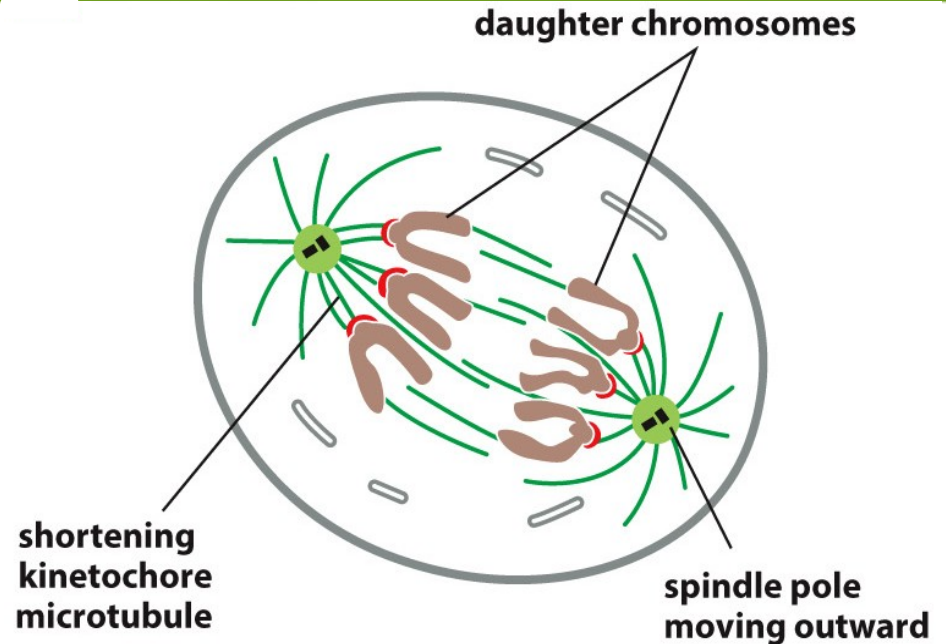


Figure 17-34 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Mechanika buněčného dělení

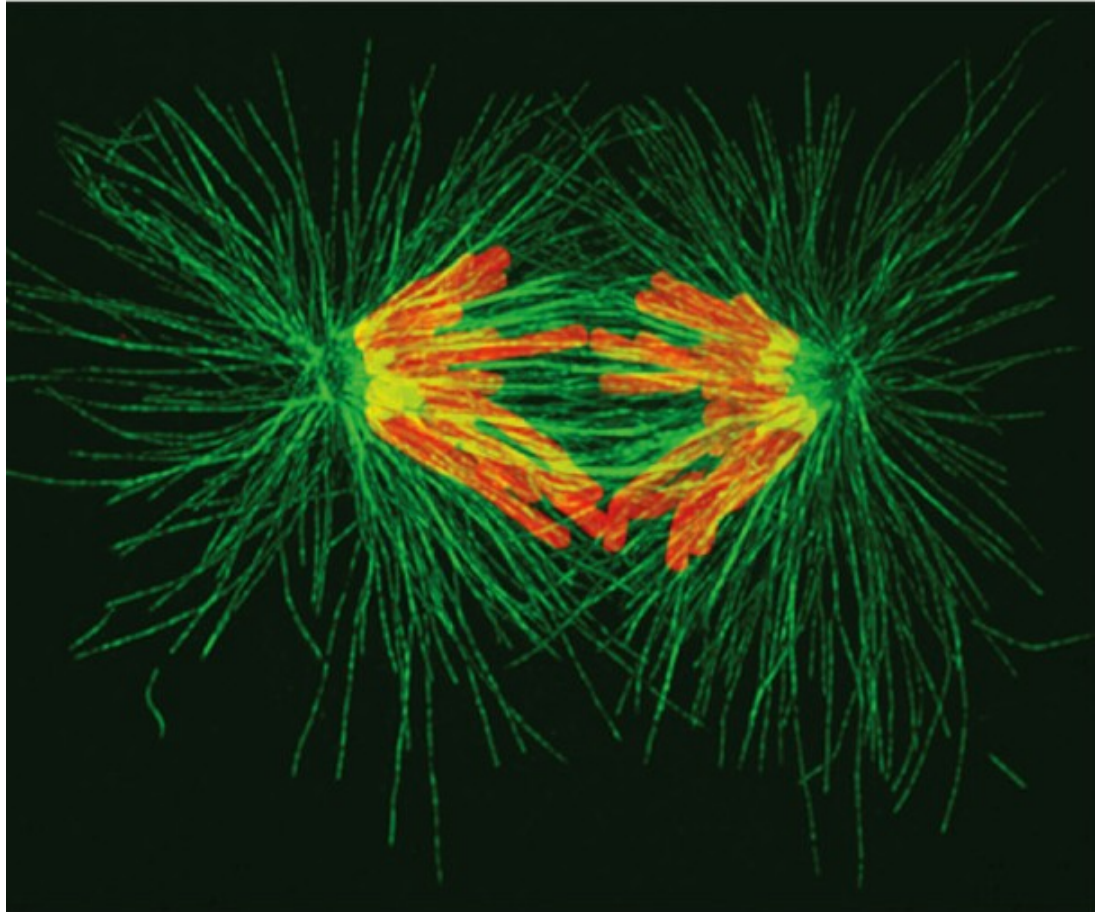
4 ANAFÁZE



- v anafázi se sesterské chromatidy synchronizovaně oddělují a formují tak dva dceřinné chromozomy
- kinetochorové mikrotubuly se zkracují a póly dělicího vřeténka se ještě vzdalují - každý dceřinný chromozom je tak pomalu tažen směrem k pólům dělicího vřeténka (tzv. segregace chromozomů)

Mechanika buněčného dělení

4 ANAFÁZE



- ▶ chromozomy červeně, mikrotubuly zeleně

Mechanika buněčného dělení

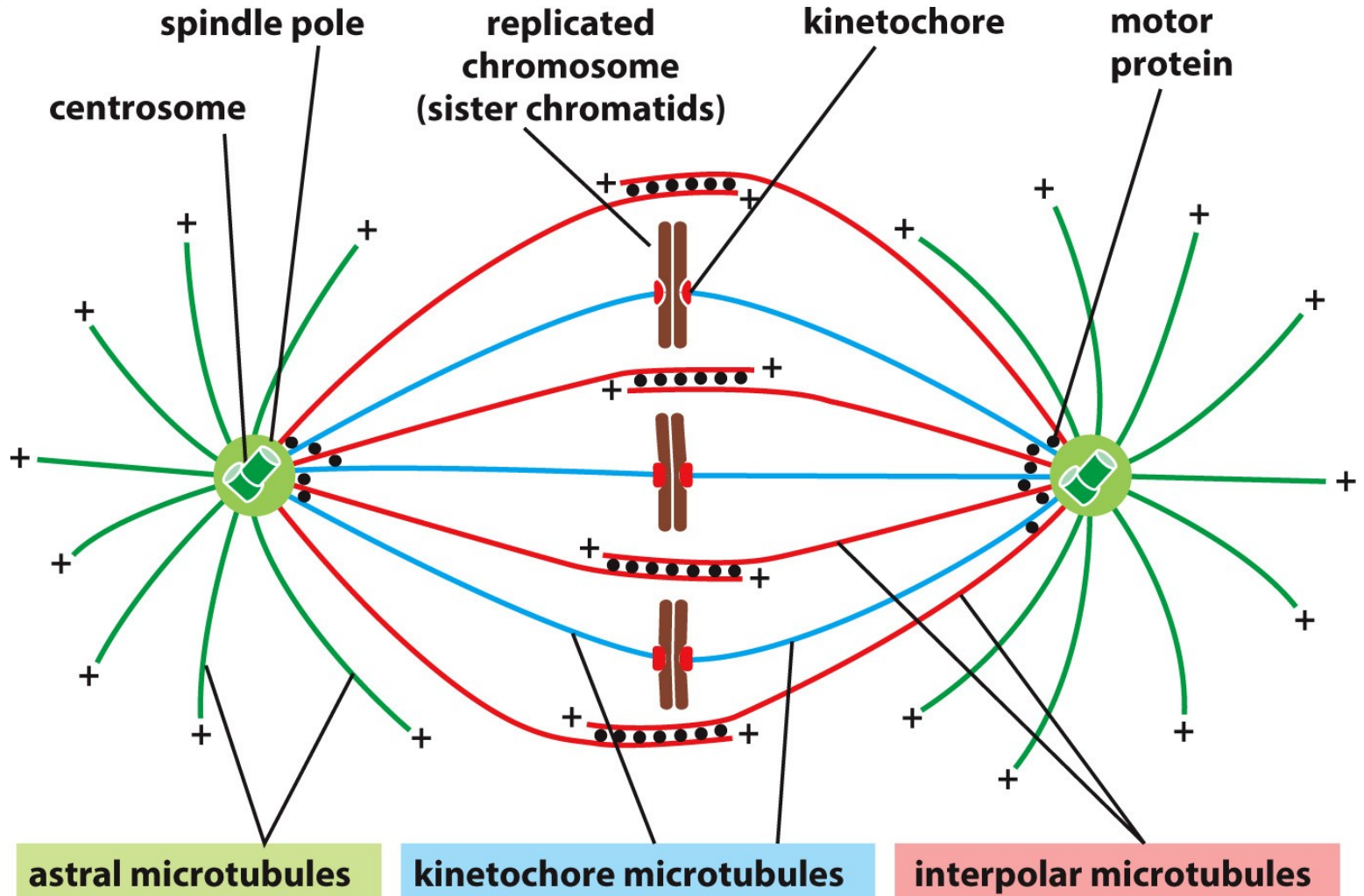


Figure 17-23 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Anafázi spouští aktivace APC/C (anaphase-promoting complex)

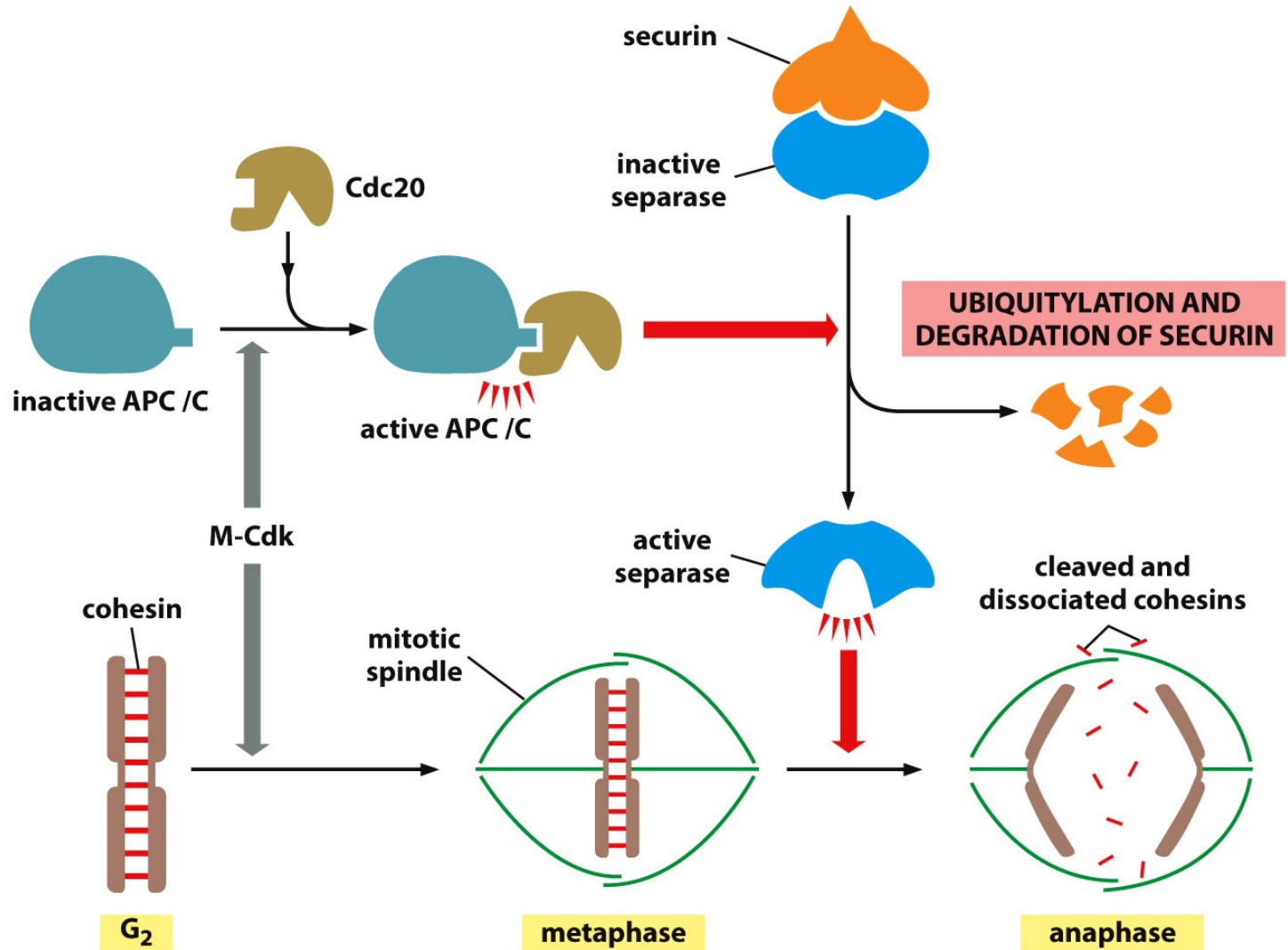


Figure 17-38 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Mechanika buněčného dělení

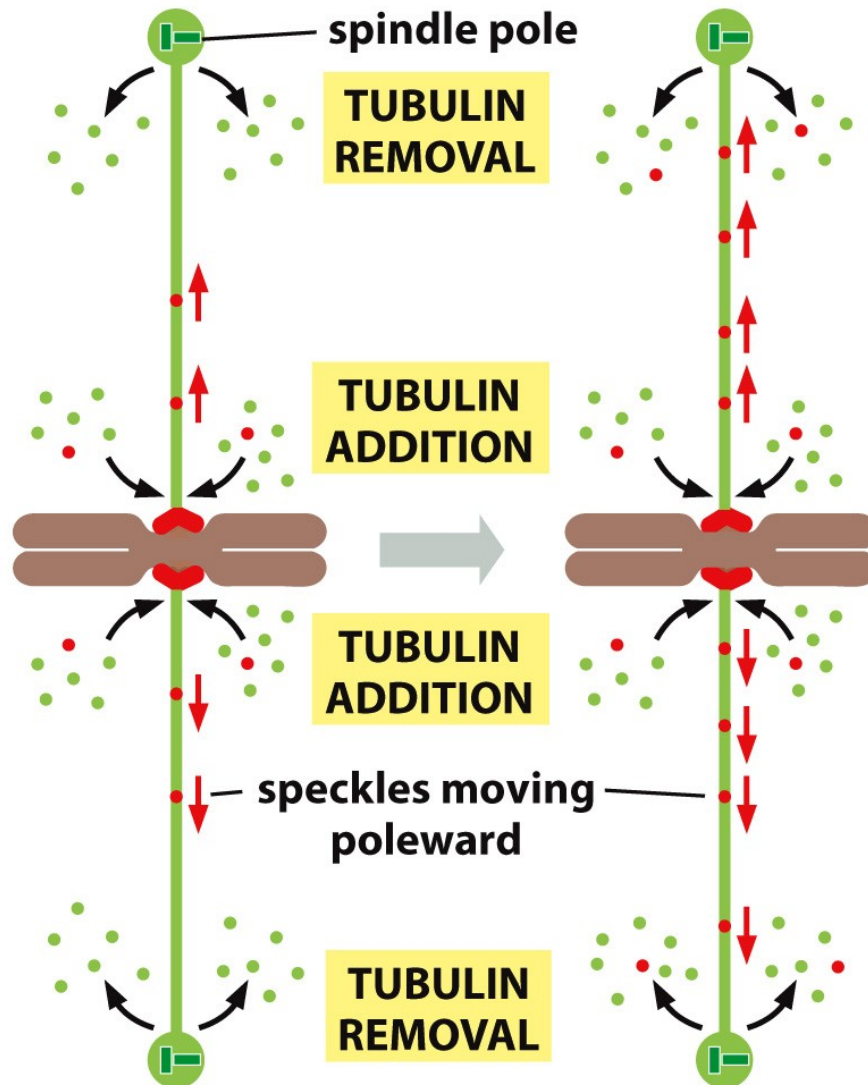


Figure 17-35d Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Mechanika buněčného dělení

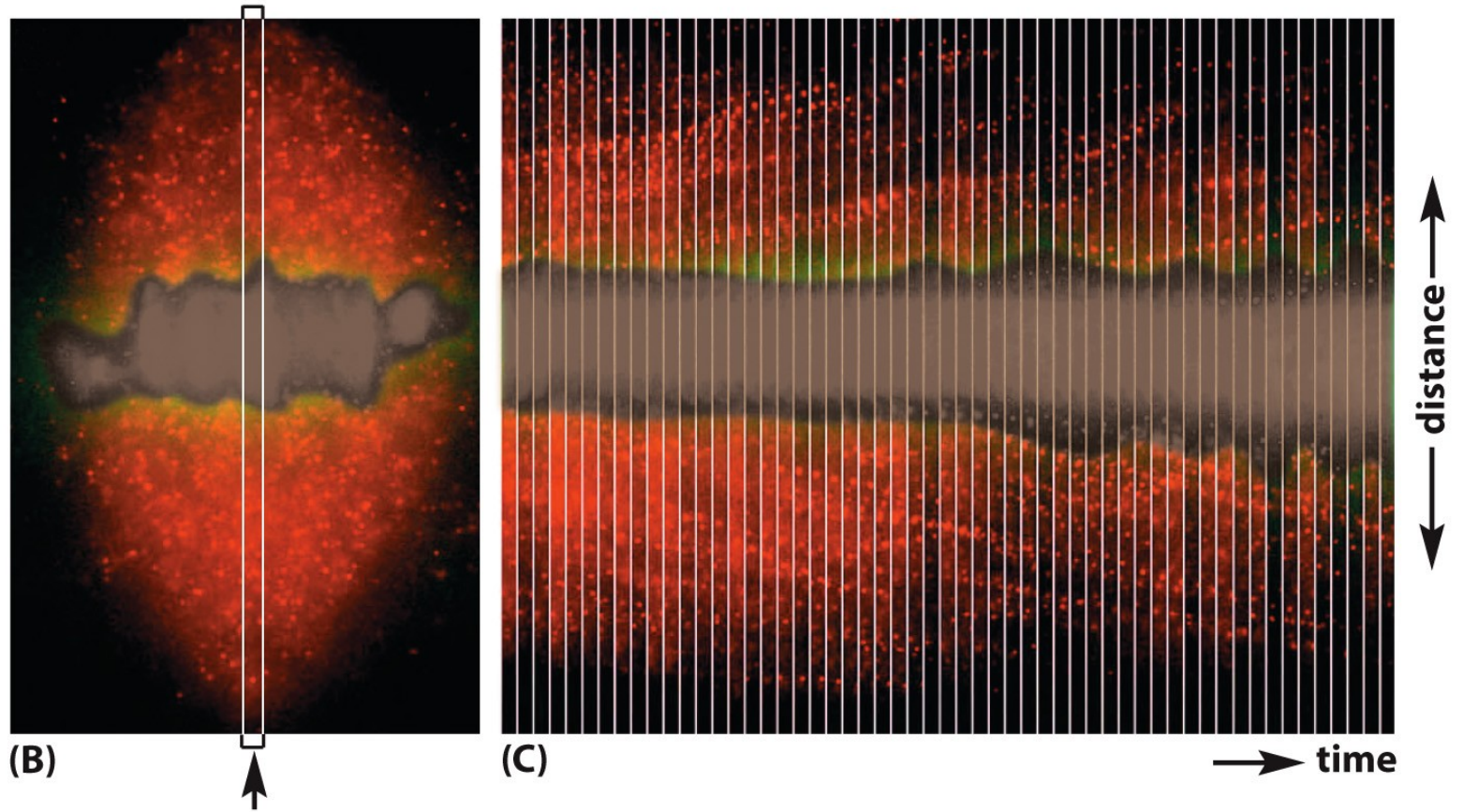


Figure 17-35bc Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Mechanika buněčného dělení: kinetochorové proteiny jsou esenciální pro regulaci fyziologické dynamiky mikrotubulů

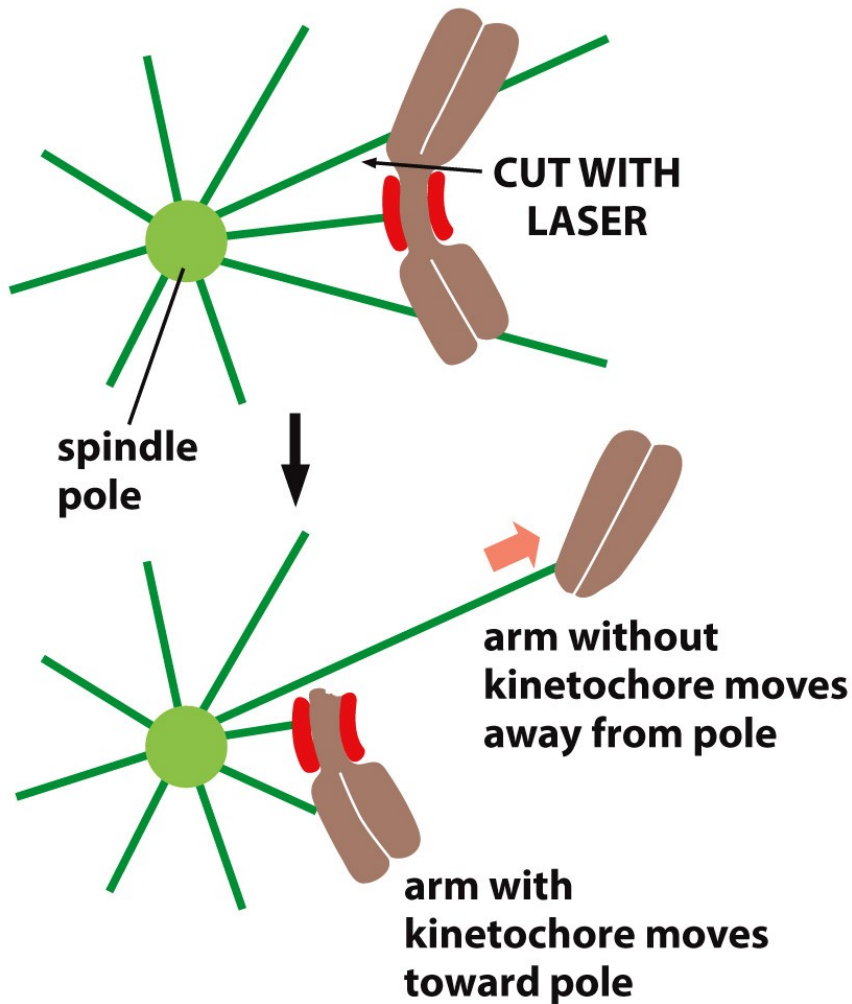


Figure 17-36a Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Mechanika buněčného dělení

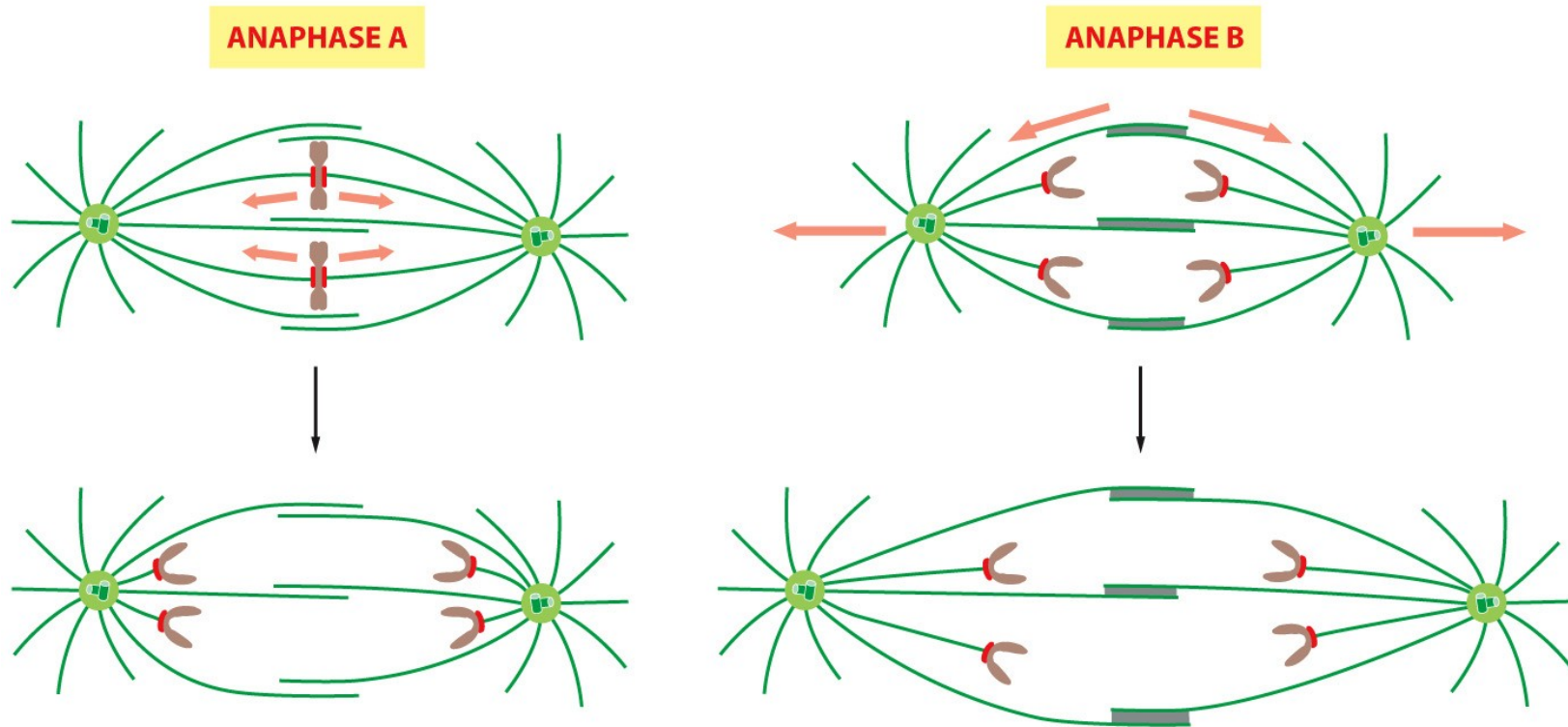


Figure 17-40 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Mechanika buněčného dělení



(A)

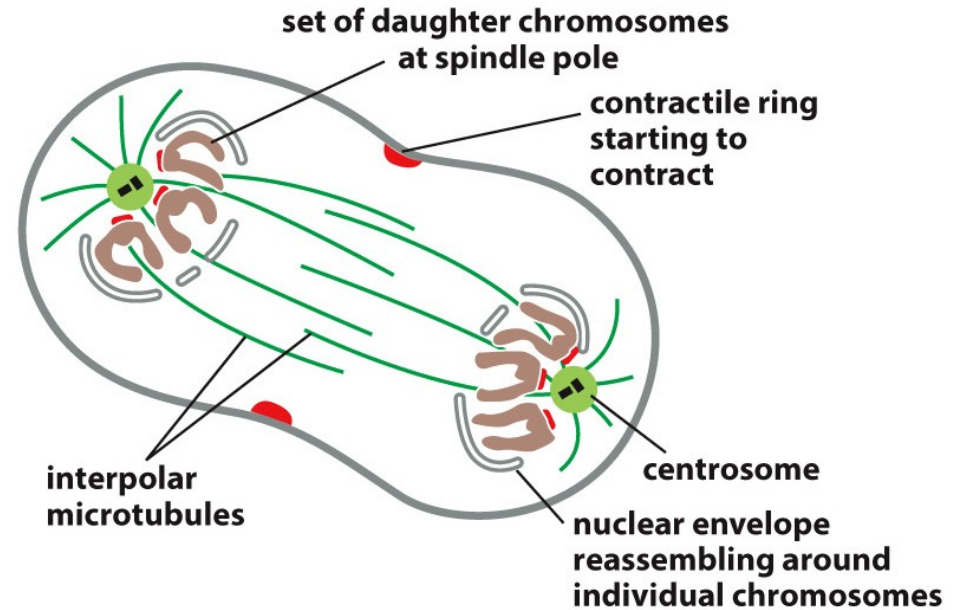
20 μm



(B)

Mechanika buněčného dělení

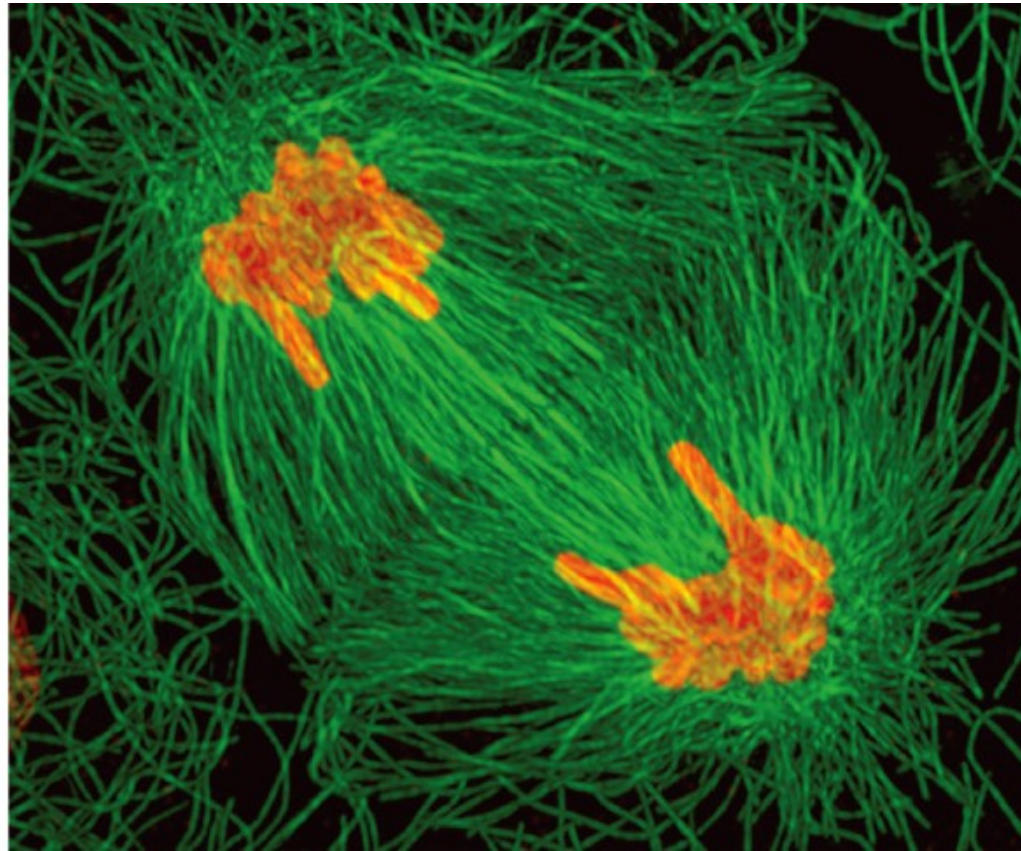
5 TELOFÁZE



- ▶ dvě sady dceřinných chromozomů se dostávají k pólům dělicího vřeténka, dekonduzují a kolem každé sady se vytváří nová jaderná membrána
- ▶ v buňce se tak nacházejí dvě jádra, což značí, že se buňka nachází v závěrečné fázi mitózy
- ▶ začíná se vytvářet kontraktilní prsteneček

Mechanika buněčného dělení

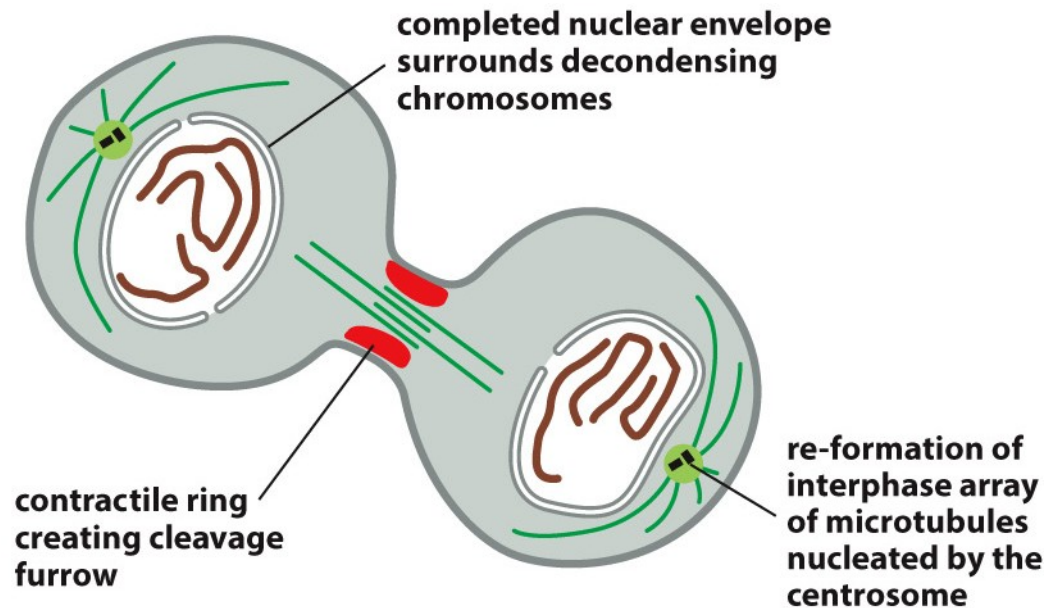
5 TELOFÁZE



- chromozomy červeně, mikrotubuly zeleně

Mechanika buněčného dělení

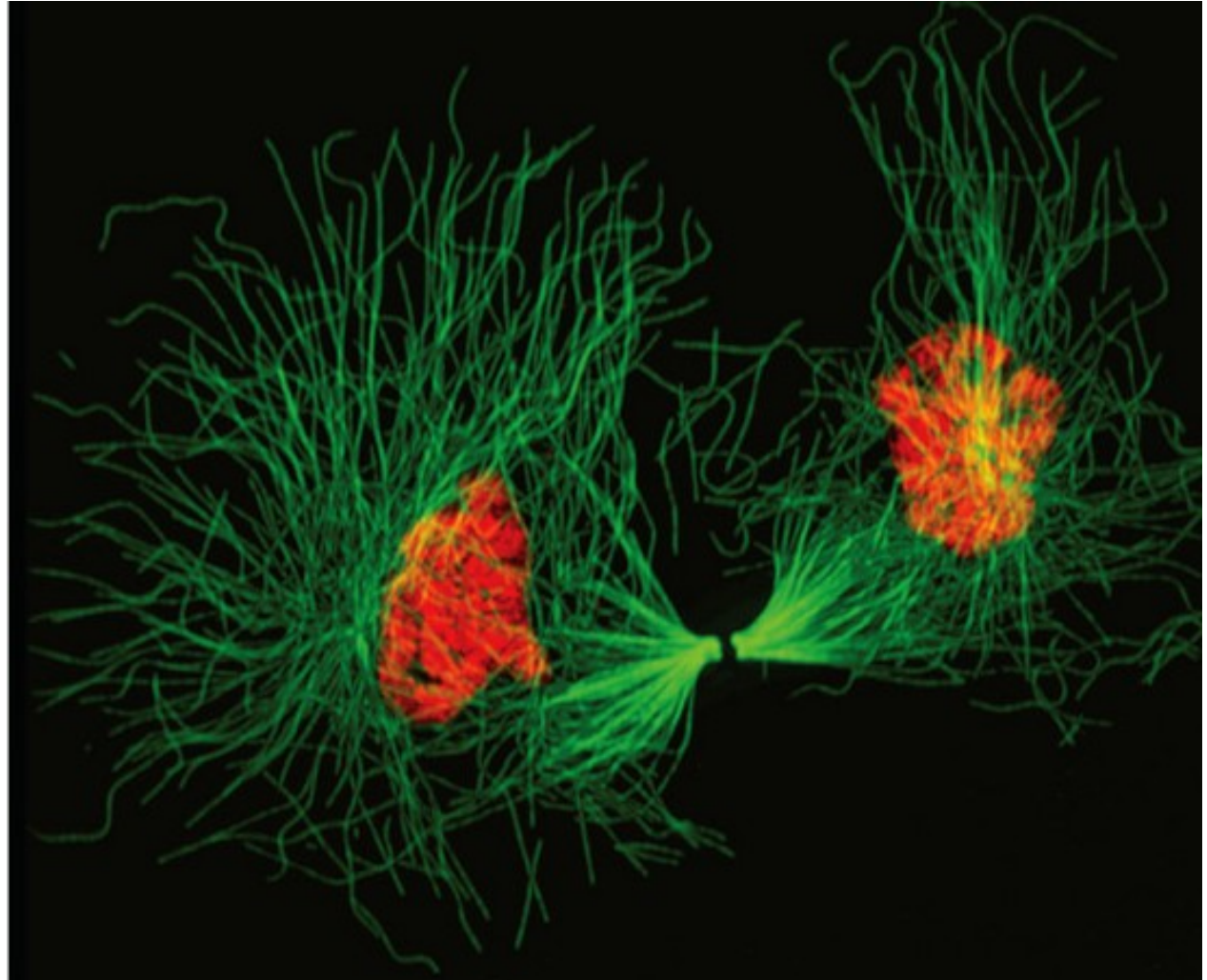
6 CYTOKINEZE



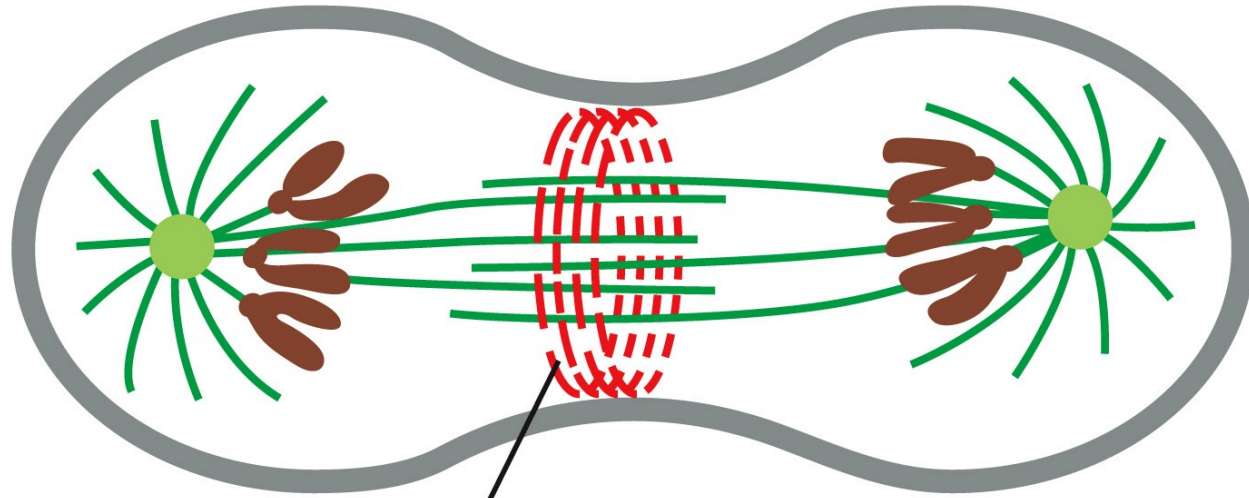
- ▶ kontraktilní prstenec aktinových a myosinových vláken stahuje buňku, rozděljuje cytoplasmu a vytváří dvě dceřinné buňky s vlastním jádrem

Mechanika buněčného dělení

6 CYTOKINEZE

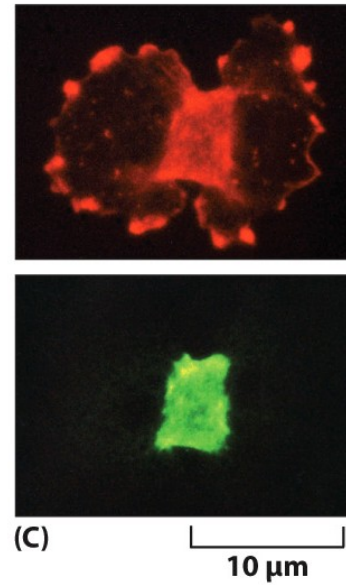
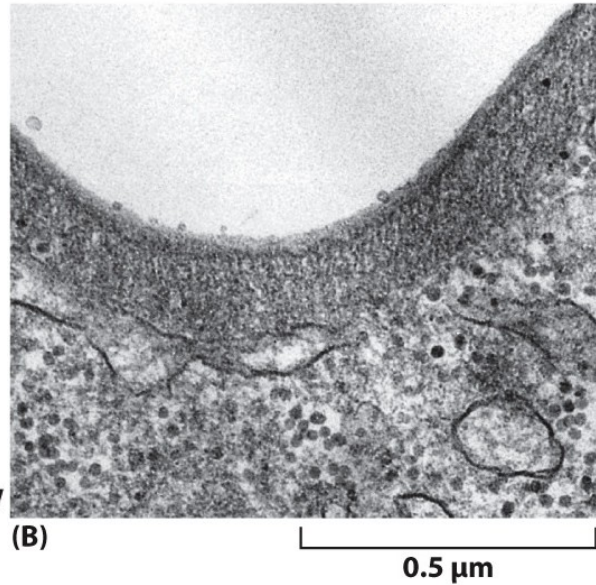
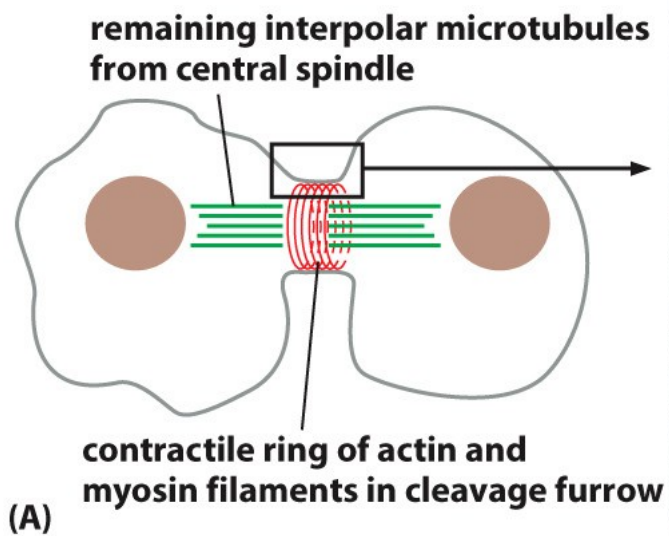


Mechanika buněčného dělení



actin and myosin filaments of
the **contractile ring**

Mechanika buněčného dělení



Mechanika buněčného dělení

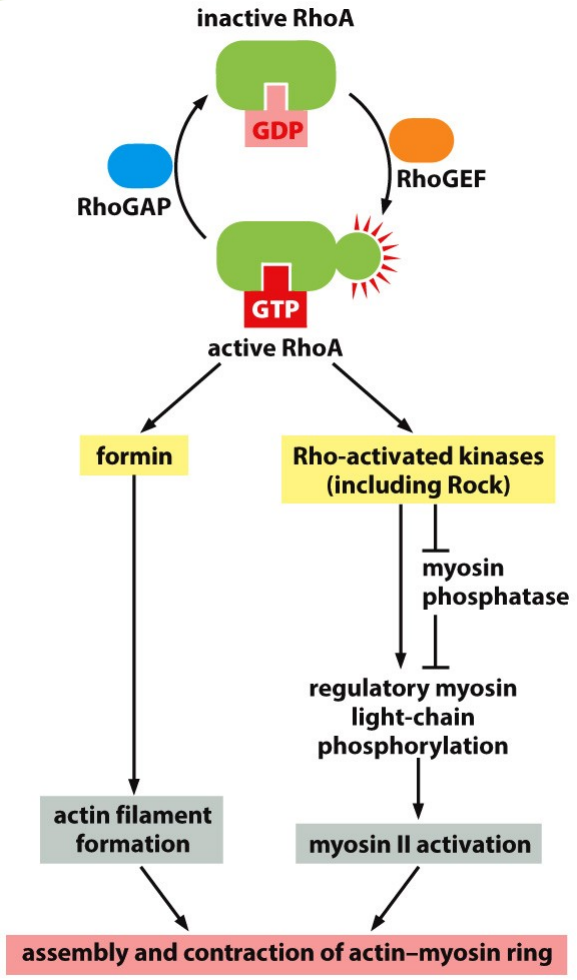


Figure 17-44 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)



<https://doi.org/10.1038/s41467-021-24474-1> OPEN

Anillin propels myosin-independent constriction of actin rings

Ondřej Kučera^{1,5}, Valerie Siahann¹, Daniel Janda¹, Sietske H. Dijkstra¹, Eliška Pilátová¹, Eva Zatecka¹, Stefan Diez^{2,3,4}, Marcus Braun^{1,2,3} & Zdenek Lansky^{1,2,3}

Mechanika buněčného dělení

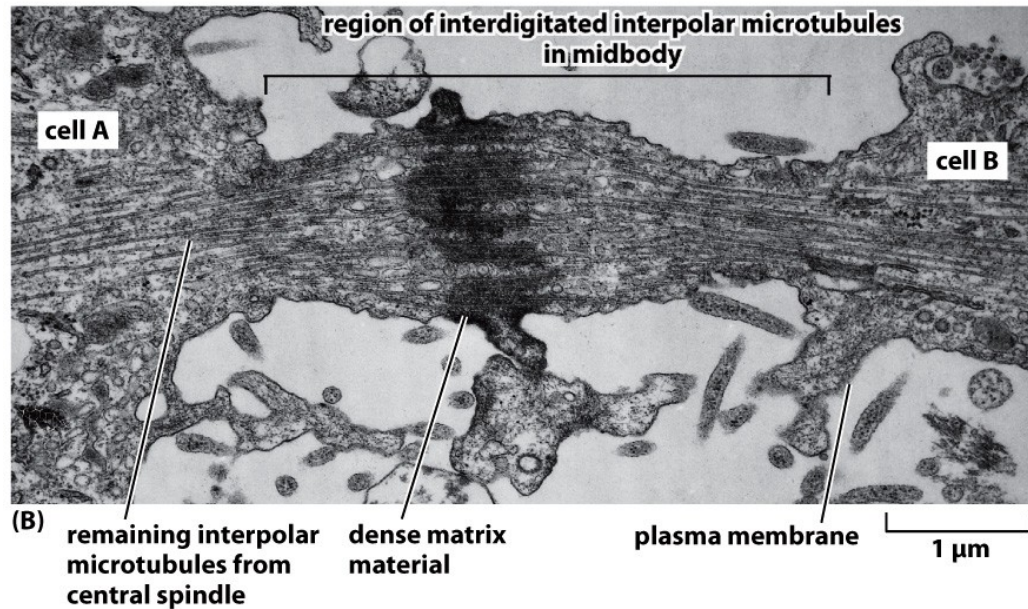
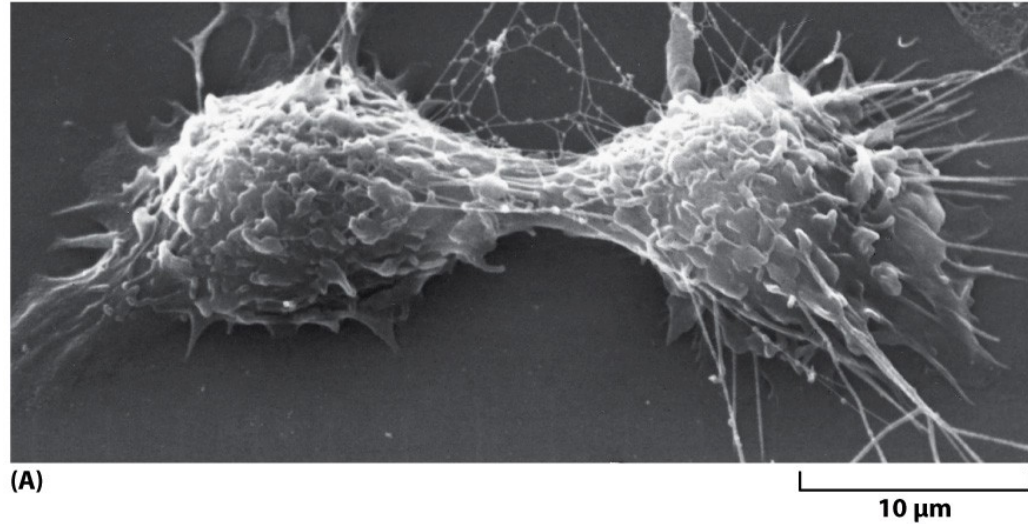


Figure 17-43 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Extra slides

Měření sil vznikajících při pohybu buněk

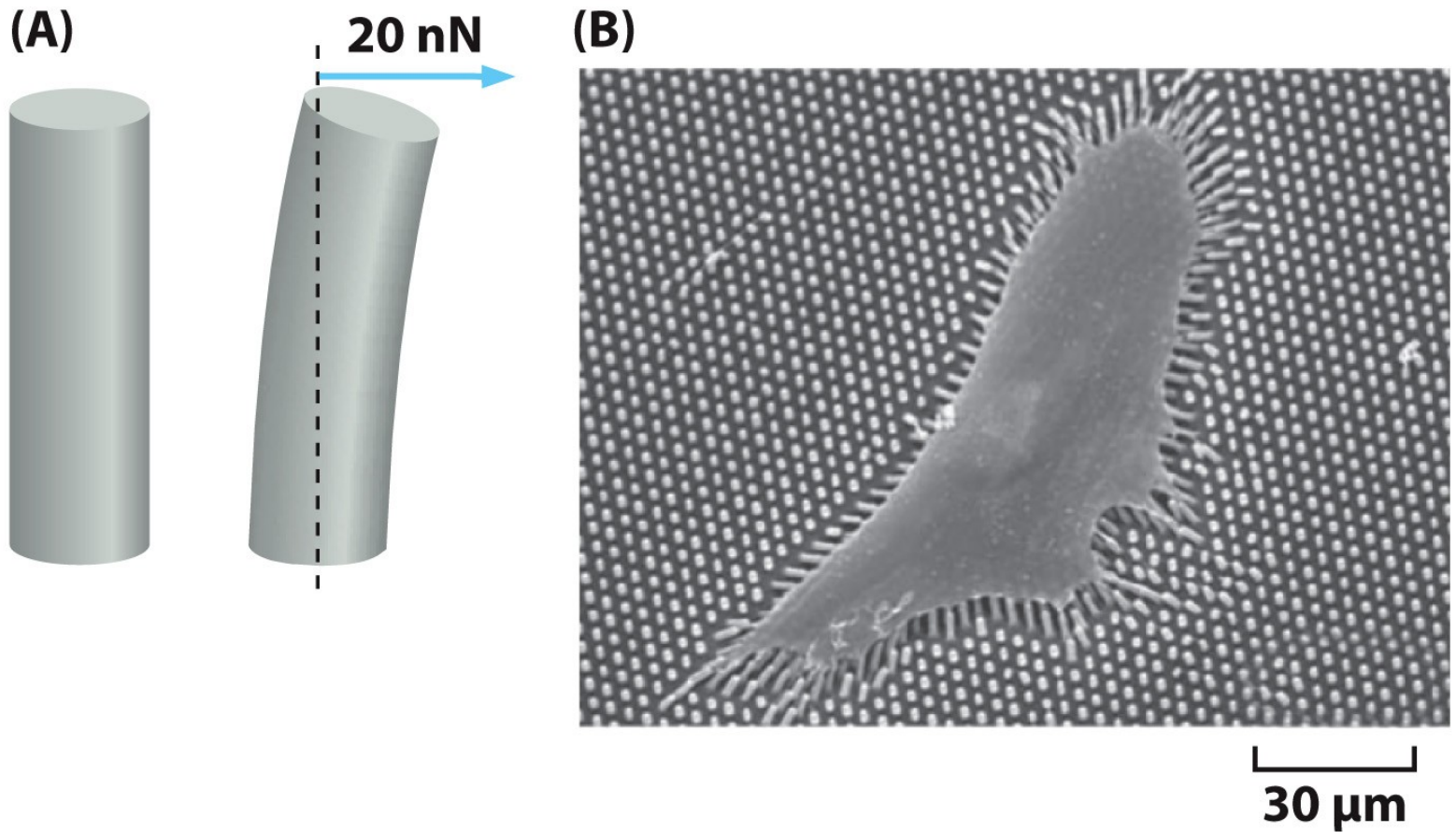


Figure 16-83 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Buněčný cyklus - připomenutí

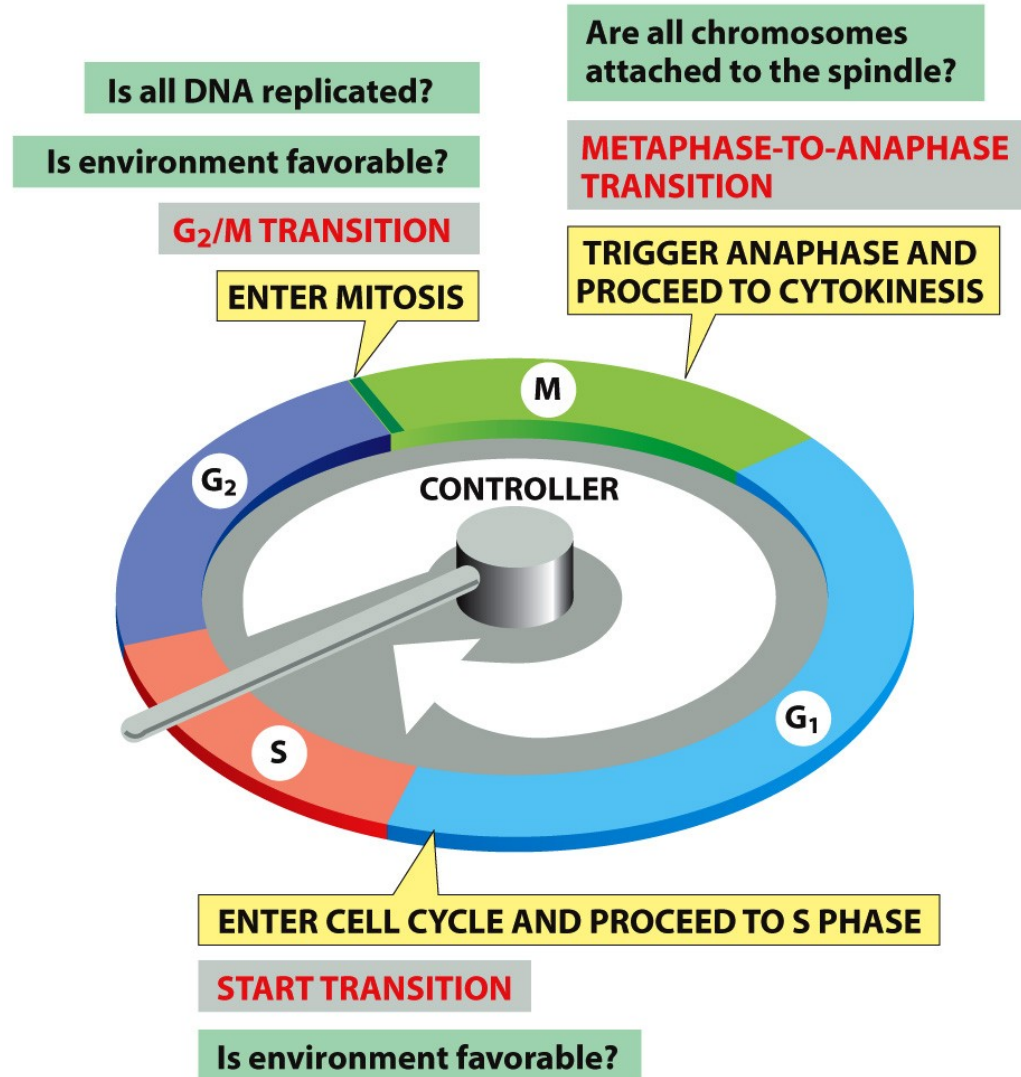


Figure 17-9. Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Buněčný cyklus - kontrola

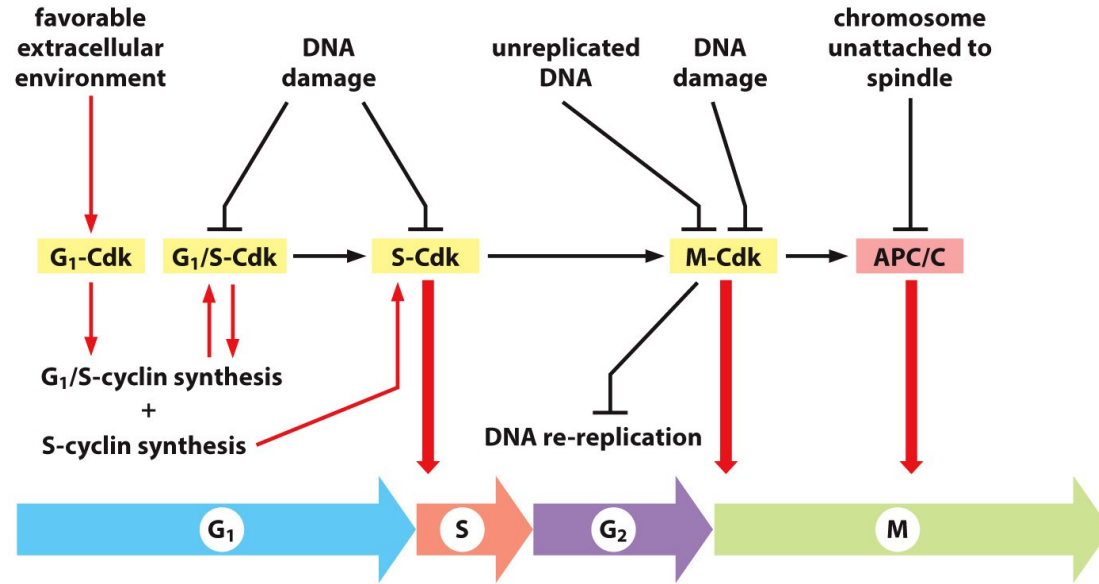


Figure 17-16 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

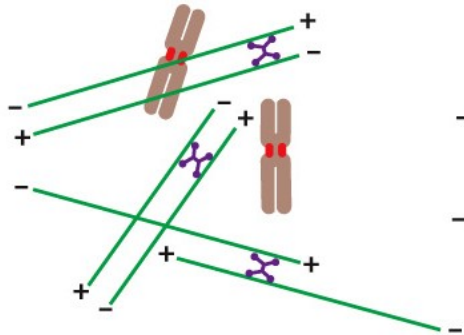
| Vertebrates | | |
|-----------------------|-----------|--------------|
| Cyclin-Cdk complex | Cyclin | Cdk partner |
| G ₁ -Cdk | Cyclin D* | Cdk4, Cdk6 |
| G ₁ /S-Cdk | Cyclin E | Cdk2 |
| S-Cdk | Cyclin A | Cdk2, Cdk1** |
| M-Cdk | Cyclin B | Cdk1 |

* There are three D cyclins in mammals (cyclins D1, D2, D3)
 ** The original name of Cdk1 was Cdc2 in both vertebrates and budding yeast.

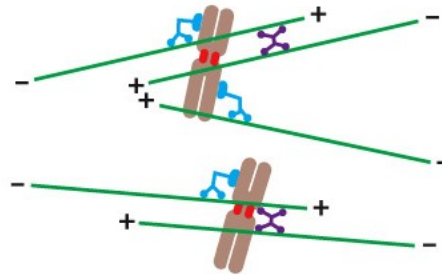
Table 17-1 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Procesy kontrolované molekulárními motory v prometafázi

antiparallel cross-linking by kinesin-5



outward push by kinesin-4,10



focusing of poles by dynein and kinesin-14

