**9. A CITOSZKELETON**

**Írta: Lengyel Barnabás biomérnök hallgató,**

**Dr. Sveiczer Ákos egyetemi docens előadásai alapján**

**A citoszkeleton általános jellemzése és típusai**

A citoszkeleton, más néven sejtváz, az eukarióta sejtek citoplazmáját behálózó fehérjehálózat, amely membránnal nem rendelkező sejtalkotónak tekinthető. Az elnevezés nem kifejezetten találó, mert a sejtváz nem csak egy váz, hanem dinamikus működésre képes részei is vannak, így tk. a sejt „izomzata” is. Sokrétű feladatai közé tartozik, hogy alakot biztosít a sejtnek, mely alakot szükség szerint változtatni is képes. Továbbá belső organizációt alakít ki és tart fenn, vagyis a hozzá kapcsolódó motorfehérjék által a sejtalkotók sejten belüli pozícionálását és mozgatását teszi lehetővé. A sejt aktív hely- és helyzetváltoztató mozgásában, valamint a sejt osztódásában is szerepe van. Mechanikai szilárdságot és védelmet biztosít sejtszinten (ez különösen fontos sejtfal nélküli, pl. állati sejtek esetén), valamint állati szövetek szintjén is.

A citoszkeleton több ezer széltében és hosszában összekapcsolódó fehérjefonalból áll, mely a fehérjék ún. polimerizációjával jön létre (valójában ez fehérjék közti nem-kovalens kapcsolódást jelent). Például a gömbszerű G-aktin fehérjéből polimerizációval jön létre a fonalas F-aktin, a folyamat fordítottja pedig a depolimerizáció. Dinamikusnak akkor nevezünk egy sejtvázféleséget, ha viszonylag könnyen depolimerizálódik; egyébként pedig stabilnak. A polimerizáció elsődleges terméke egy egydimenziós (1D) szerkezetű, protofilamentumokból álló, fonalas szerkezetű sejtváz, de egyes sejtvázféleségek képesek 2D, sőt 3D típusú polimerizációra is. Az 1D szerkezetű fonalak egyes sejtvázfélék esetében polarizáltak, másoknál viszont nem-polarizáltak. Előbbi esetben a fonal két vége szerkezetileg nem ekvivalens egymással (megkülönböztethető egy ún. (+)- és egy (-)-vég, utóbbi esetben viszont a két vég egymástól megkülönböztethetlen.

A sejtfonalak a fent tárgyalt szempontok (dinamikusság, polarizáltság, dimenziószám) szerint osztályozhatók, de a felosztás leginkább a fonal vastagsága alapján történik. Ezek alapján háromféle sejtvázelem különböztethető meg.

A mikrofilamentumoknak is nevezett **aktin fonalak** 7 nm-es vastagságúak, és mindössze 2 protofilamentum alkotja őket. Dinamikusak, illetve polarizáltak, tehát az egyik végük megkülönböztethető a másiktól, és magasabb dimenziószámú, 2- vagy 3-dimenziós polimerizációra is képesek. Feladatuk többek között a sejtosztódás (citokinézis) és az aktív mozgás egyes típusainak kivitelezése, valamint fagocitózis során az állábképzés.

Az **intermedier** **filamentumok** (avagy közbülső filamentumok) 10 nm vastagok, nem dinamikusak, hanem nagyfokú stabilitás jellemzi őket. Nem polarizáltak, és csak egydimenziós szerkezet jellemzi őket. A sejtmagot körbehálózzák és onnan kinyúlnak a kortexig. Feladatuk a sejt- és szöveti szintű szilárdság biztosítása állati sejtekben.

A legvastagabb, 25 nm-es filamentumok a **mikrotubulusok**. Dinamikusak, polarizáltak, és csak egy dimenzióban képesek polimerizálódni. Egy hengerpalást mentén elhelyezkedő 13 protofilamentum és a közöttük lévő, citoszol által kitöltött üreg alkot egy mikrotubulust. A centroszómából erednek és akár a kortexig is kiérhetnek. A sejt belső organizációjáért felelnek, mitózis során belőlük alakulnak ki a még dinamikusabb magorsó fonalak, melyek a testvérkromatidák szétválasztását végzik.

**Az intermedier filamentumok szerkezete, szerepe és fajtái**

A stabil, polarizálatlan, egy- vagy kétdimenziós és tömör intermedier filamentumok szilárdító funkciókat töltenek be állati sejtek esetében vagy a citoplazmában, vagy pedig a nukleoplazmában.

Emberi hámszövetben a legismertebb képviselőjük a keratin filamentum. A fibrilláris keratin molekula polimerizációja több lépésben történik. Először két molekula paralel módon egymás köré sodródik keratin dimert képezve. Ez a struktúra még polarizált, mert a fehérjék megegyező terminálisú végei kerültek egymás mellé. A polimerizáció következő lépésében két dimer rendeződik egymás mellé, kissé elcsúsztatva, és ezúttal antiparalel lefutással (ezáltal megszünik a polarizáltság). Harmadik lépésben több száz keratin tetramer kapcsolódik egymás után hosszában, egyetlen protofilamentumot alkotva. A keratin fonalat 8 protofilamentum egymás mellé rendeződése adja, ami így körülbelül 10 nm vastagságú lesz.

Az intermedier filamentumokat szerkezet és funkció szerint két nagy csoportra, a citoplazmás és a nukleáris (lamina) intermedier filamentumokra lehet osztani. A citoplazmás filamentumok a fent tárgyalt hámszöveti keratin, a kötőszöveti vimentin, az ahhoz nagyon hasonló izomszöveti dezmin, valamint a neurofilamentumok az idegsejtekben. A sejtek membránjánál ún. dezmoszómákat képeznek, a szomszédos sejtek dezmoszómái pedig egymással szilárdító kapcsolatot létesítenek. A sejtmagburok egyben tartását az interfázis során a nukleáris lamina biztosítja.

**A nukleáris lamina jellemzése**

A nukleáris lamina lamin-A, -B és -C fehérjékből áll, melyek kaputranszport által, NLS-szignálszekvenciájuk révén jutnak be a nukleoplazmába. A polimerizáció foka 2D, ezért felületek beborítására képes a lamina. A lamin-B fehérje egy kovalensen hozzá kapcsolt zsírsav-oldallánccal rögzíti a hálózatos struktúrát a karioplazma felőli belső membránjához a sejtmagburoknak.

A nukleáris lamina feladata, hogy interfázis során egyben tartsa a sejtmagot. A mitózis kezdetén kináz enzimek foszforilálják egyes komponenseit, ami a lamina és vele együtt az egész sejtmagburok szétesését eredményezi. A nukleoplazma így ilyenkor keveredni tud a citoszollal. Osztódást követően defoszforilálódnak a lamina komponensei, ezért a sejtmag ekkor újra össze tud állni. A lamina tehát az interfázis során stabil, de osztódáskor dinamikus tulajdonságú.

**A mikrotubulusok funkciói, szerkezete, képződése, polaritása és dinamikus instabilitása**

A dinamikus, polarizált, egydimenziós és üreges mikrotubulusok a sejt belső organizációjáért, valamint a sejtek polarizáltságáért felelnek. A ostorok és csillók mozgatásával szerepük van a sejt aktív hely- és helyzetváltoztató mozgásában. A mikrotubulusok mitózisos formája az interfázisos formánál is dinamikusabb magorsófonalak rendszere, melyek a testvérkromatidák szétválasztását végzik. A mikrotubulusok a sejtmaghoz közeli centroszómából („sejtközpont”), a csillók és ostorok pedig a sejtmembránhoz közeli alapi testekből erednek; ezek a struktúrák ún. mikrotubulus organizáló központok (MTOC).

A mikrotubulusok kicsi, körülbelül 4 nm átmérőjű globuláris α- és ß-tubulin fehérjék dimerjeiből, tubulin-heterodimerekből állnak, melyek polarizált protofilamentumokba rendeződnek. A mikrotubulusok egyik végén a heterodimerek α-tubulinjai vannak, ez az ún. mínusz-vég, míg a ß-tubulinok a plusz-véget zárják le. Az elnevezések eredete onnan származtatható, hogy a plusz-vég gyorsabb növekedésre képes in vitro, mint a mínusz-vég. Ezáltal a szerkezeti polarizáltság mellett kinetikai polarizáltság is jellemzi ezt a sejtvázelemet. A mikrotubulusban egy hengerpalást mentén 13 protofilamentum helyezkedik el, amelyek egymáshoz képest szigorúan paralel elrendeződésűek. A közöttük lévő üreget a citoszol gélszerű anyaga tölti ki.

A mikrotubulusokat dinamikus instabilitás jellemzi, tehát hosszuk folyamatosan változik. (Vagy növekszik polimerizáció által, vagy pedig csökken a depolimerizáció miatt.) Ezen dinamikus viselkedésre instabilitás jellemző, azaz a növekvő és csökkenő állapot gyorsan, látszólag rendszertelenül váltakozik. *Katasztrófa átmenet*nek nevezzük, amikor hirtelen elkezd összeesni az addig növekvő szál, és ennek ellenkezőjeként *mentés átmenet* történik, amikor összeeső állapotból hirtelen növekedni kezd. A mikrotubulusok legrövidebb hossza nulla: ilyenkor teljesen leválnak a centroszómák γ-tubulin gyűrűiről, mely eredetileg a mínusz-véget rögzíti. A növekedési maximum a kortexig tarthat, ahol zárófehérjék megköthetik, ezáltal stabilizálhatják a mikrotubulust, ellenkező esetben pedig katasztrófa átmenet következhet be.

A dinamikus instabilitás magyarázata a ß-tubulin kétféle fajtájában (GTP- ill. GDP-kötött) keresendő. A növekvő sejtvázelemben GTP-kötött ß-tubulinok kapcsolódnak be a filamentumba. A GTP-kötött ß-tubulinnak azonban késleltetett működésű GTP-áz aktivitása van, ezért a GTP-t elhidrolizálva az előbb-utóbb GDP-kötött ß-tubulinná alakul a fonal belsejében. Amennyiben a GTP hidrolízise lassabb, mint a tubulin-heterodimerek beépülése, egy ún. GTP-sapka alakul ki a mikrotubulus plusz-végén és a sejtvázelem növekszik. Katasztrófa átmenet a GTP-sapka elvesztésével történik, amikor a hidrolízis sebessége beéri és megelőzi a beépülés sebességét. Ilyenkor a tubulindimerek sorban leválnak a mikrotubulus plusz-végéről, méghozzá mind a 13 protofilamentumról hasonló mértékben. A heterodimerek beépülésének sebessége az α- és ß-tubulin lokális (mikrotubulus végi) koncentrációjának a függvénye.

**Mikrotubulus mérgek**

Egyes növényi alkaloidák mikrotubulus mérgekként hatnak, azaz a mikrotubulusok növekedését vagy összeesését negatívan befolyásolják. Ilyen méreg például a kolhicin, melyet a kariotipizálás során a mitózis korai állapotának rögzítésére, az ún. C-mitózis állapot elérésére használnak. A kolhicin molekulák a sejtek citoplazmájában hozzákötődnek a szabad tubulin-heterodimerekhez, ezzel gátolva a polimerizációjukat. A kolhicin hatására a szabad heterodimerek koncentrációja a sejtben lecsökken, így a magorsófonalak nem lesznek elég dinamikusak az osztódás során. A kolhicinhez hasonló működésű alkaloida még a vinblasztin, míg a taxol nevű mikrotubulus méreg a növekvő sejtvázelemek plusz-végeihez kapcsolódva stabilizálja azokat, ezáltal blokkolja a dinamikus instabilitás megvalósulásához szükséges katasztrófa átmenetet.

A mikrotubulus mérgeket az orvostudomány rosszindulatú daganatok kezelésére használja, hiszen gátolják a sejtosztódást (citosztatikumok), miközben az interfázisú és G0-fázisú sejtekre nem túlzottan toxikusak.

**Mikrotubulus asszociált proteinek**

A mikrotubulus asszociált proteinek (MAP) a mikrotubulusokhoz stabilan kapcsolódó egyéb fehérjék. A MAP-oknak jellemzően két kötőhelyük van: egyikkel a mikrotubulushoz, másikkal pedig valamilyen más fehérjéhez kapcsolódnak. Feladatuk lehet például a sejtvázelem stabilizálása, mint a zárófehérjéknek, melyek a kortexben rögzítik a plusz-véget, megakadályozva a katasztrófa átmenet bekövetkeztét. Továbbá ilyen MAP-ok az ún. kinetokór fehérjekomplex egyes elemei, melyek a DNS centromer régiójához kapcsolódnak, és mitóziskor a magorsó fonalak ezeken a pontokon kötődnek a szétválasztandó testvérkromatidákhoz. Vannak olyan MAP-ok, melyek a polimerizáció sebességére, és ezáltal a dinamikus tulajdonságokra hatnak, valamint olyanok, melyek az átmenetek bekövetkezésének valószínűségét befolyásolják. Utóbbiaknak a mitózis során nagy jelentőségük van, ekkor ugyanis kifejezetten dinamikusnak kell lenniük a magorsófonalaknak.

A szállító funkciók betöltésére képes MAP-ok az ún. motorfehérjék.

**A motorfehérjék típusai, működése és funkciói**

Motorfehérjék polarizált sejtvázelemek, tehát aktin fonalak és mikrotubulusok mentén tölthetnek be szállító feladatot (az aktin-motorokkal, az ún. miozin fehérjékkel itt nem foglalkozunk). A szállító funkciójú MAP-ok kétféleképpen nézhetnek ki. Vannak olyanok, melyek egyetlenegy fehérjéből állnak, melynek két globuláris és egy fibrilláris része van. A másik típusba polipeptid dimerek tartoznak, melyek összességében szintén két feji és egy farki részből állnak. Mindkét típus esetén a feji részek kapcsolódnak a mikrotubulusokhoz, a farki rész pedig a szállítandó anyaghoz. A feji részek egyféleképpen, egy adott irányban tudnak csak hozzákapcsolódni a mikrotubulusokhoz, ezáltal a mozgásuknak irányultsága van. A mikrotubulus plusz-vége felé az ún. *kinezin*ek, a mínusz-vég felé pedig az ún. *dinein*ek mozognak (emiatt a kinezineket (+)-motoroknak, a dineineket pedig (-)-motoroknak is nevezik). Folyamatos konformációváltozások révén, lépegető mozgással tudnak haladni, melyhez ATP hidrolízise szolgáltatja a szükséges energiát. A motorfehérjék véletlenszerűen szállítanak a 13 protofilamentum valamelyikén, amelyikhez éppen hozzákapcsolódtak. Az is előfordulhat, hogy két motorfehérje ellentétes irányban ugyanazon protofilamentum mentén egymás felé mozog. Ilyenkor frontális ütközések történhetnek, melyek esetén általában az egyik motorfehérje leesik a protofilamentumról, a másik pedig szabadon mehet tovább.

A motorfehérjék végzik a sejt belső organizációját is. Kisebb sejtalkotókat, úgy mint transzport és egyéb vezikulumokat, valamint pl. mitokondriumokat mozgathatnak a sejten belül. Szerepük van továbbá a Golgi-készülék ciszternáinak rögzítésében is a dinein motoroknak: visszahúzzák azokat a sejtmag irányába, és adott távolságban tartják a ciszternákat egymástól. Az ER hálózata pedig azért nyúlhat ki egészen a sejtkortexig, mert kinezin motorok húzzák ki addig a membránhálózatot. A fenti esetekben a motorfehérjék valamilyen integráns membránfehérjéhez kapcsolódnak a sejtorganellumok felszínén, így lesznek képesek azok mozgatására.

**A mikrotubulusok szerepe a sejtek polarizáltságában**

A mikrotubulusoknak fontos szerepük van a sejtek polarizáltságának kialakításában. A kortex zárófehérjéin megkötődött plusz-végek lokális gócokat képeznek a sejtmembrán belső felszínén. A közel párhuzamos fonalak irányába a motorfehérjék többféle anyagot szállíthatnak vezikuláris transzporttal, mint pl. növekedéshez szükséges építőköveket és enzimeket. Így lokális növekedési zónák alakulnak ki, és a sejt elkezd abba az irányba növekedni. A szállított anyagok minőségi és mennyiségi különbségeinek hatására aszimmetria alakul ki a sejtben, ezáltal a sejt polarizálódik.

Az idegsejtek axonjai például ilyen folyamatok eredményeképpen tudnak akár több centiméter hosszúságúra is egyirányúan megnőni a sejt egyik oldalán, vagy a bélhámsejtek apikális és bazolaterális felszínei is így alakulnak ki.

**Ostorok, csillók és centroszómák szerkezete és működése**

Az ostorok és a csillók egyes eukarióta sejtek membránhatárolt nyúlványai, melyekkel aktív hely- vagy helyzetváltoztató mozgásra képesek, illetve a körülöttük levő közegre is hatással lehetnek, pl. áramlásba hozhatják. Működésüket és szerkezetüket tekintve az ostorok és csillók közel azonosak, különbség csak a hosszukban és a számukban van. Az ostorok lényegesen hosszabbak, általában a sejt tipikus méretével összevethetők (vagy annál is hosszabbak), viszont jellemzően csak kevés, általában könnyen megszámolható ostor kapcsolódik a sejthez. Ezzel szemben a csillók körülbelül egy nagyságrenddel rövidebbek a sejt tipikus méreténél, és akár több száz (vagy ezer) csilló is tartozhat egyetlen sejthez.

A két sejtalkotó azonos keresztmetszetű, vastagságuk kb. 200-250 nm. Működésük közben a csillók hosszanti irányban ütnek egyet, majd begörbülve visszahajlanak az ellenkező irányba. Fontos, hogy a sok egymáshoz közeli csillónál mindez szinkron módon történjen, mert csak így tud hatékony mozgást lehetővé tenni a sejt számára, illetve például az orrnyálkahártya csillós hengerhámjában a csillók összehangolt mozgása tudja biztosítani a turbulens légáramlást, ami azért fontos, hogy szennyező anyagok (és/vagy mikrobák) ne tudjanak könnyen leülepedni. Ezzel szemben az ostorok hullámmozgásszerűen viselkednek, és itt a szinkronitás már csak a mozgásszervecskék kis száma miatt is kevésbé figyelhető meg.

Az ostorokat és a csillókat egyaránt az ún. 9+2 axonéma szerkezet jellemzi. A kitüremkedett sejtmembránon belül egy hengerpalást mentén 9 mikrotubulus duplet (pár) rendeződik el, a struktúra közepén pedig 2 szimpla (centrális) mikrotubulus található (utóbbiak szerkezete azonos a citoplazmás mikrotubulusokéval). A mikrotubulus dupletek egy teljes, 13 protofilamentumból álló A-mikrotubulust és egy inkomplett, 11 protofilamentumból álló B-mikrotubulust tartalmaznak. A B-mikrotubulus félkörív alakban kapcsolódik az A-hoz. A mikrotubulus párok között különböző fehérjék biztosítanak kapcsolatot az ostorban vagy csillóban. Ezek közül a legfontosabbak a nexinek, melyek stabil hidakat képeznek a dupletek között, és a dinein motorok, melyek szintén két egymás mellett lévő dupletet „kapcsolnak” össze. Az egyik dupleten mozogni tud a dinein motor, míg a másikat „szállítja” az előző mentén. Ez a szerkezet azt biztosítja, hogy elcsúszhatnak egymáshoz képest a mikrotubulus dupletek, ami izolált rendszerben kísérletesen meg is figyelhető. Viszont az ostorban/csillóban a nexin hidak korlátozzák az elcsúszást, ennek eredményeképpen elhajlik a sejtalkotó, ami megteremti a mozgás mechanikai alapjait.

A citoplazmás mikrotubulusok a sejtmaghoz közeli centroszómákból, illetve azok γ-tubulin gyűrűiről erednek, ezért mikrotubulus organizáló központnak (MTOC) is nevezzük a centroszómát. A közel gömbszerű centroszóma egy membrán által nem borított sejtalkotó, melynek közepén két, egymásra merőleges henger, az ún. centriólumok találhatók. A centriólumok körül levő teret pedig az ún. centroszóma mátrix tölti ki, ami a citoszolnál viszkózusabb, gélszerű anyag. Minthogy a centroszómának nincs membránja, gömbszerű felszínének helyzetét a γ-tubulin gyűrűk pozíciója határozza meg. A centriólum szerkezete pedig nagyban hasonlít az ostorok és a csillók szerkezetéhez (de pl. nem borítja membrán). Konkrétabban ez egy ún. 9+0 axonéma szerkezet, mely mikrotubulus tripletekből áll, és középen nem helyezkedik el centrális mikrotubulus. A tripletek A-, B- és C-mikrotubulusokból állnak; az első egy teljes (13 protofilamentumos), az utóbbi kettő pedig 11 protofilamentumból álló inkomplett mikrotubulus. A B-mikrotubulus az A-hoz, a C-mikrotubulus pedig a B-hez kapcsolódik félkörívesen.

Az ostorok és a csillók a centriólumokhoz nagy mértékben hasonlító alapi testekből erednek, melyek szintén 9+0 axonéma szerkezettel bírnak. Egyes ostoros sejtekben az alapi test és a centriólum egymással funkcionálisan is ekvivalens lehet. Interfázisban ezek a struktúrák alapi testként működnek, azaz ostorok nőnek ki belőlük, amikkel mozogni képes a sejt. Mitóziskor viszont az ostorok visszahúzódnak, az eddigi alapi testek pedig centriólumokká alakulnak át, ezáltal lehetővé téve a magorsók organizálását.