

HOOFDSTUK 6: CELBEWEGING

Introductie

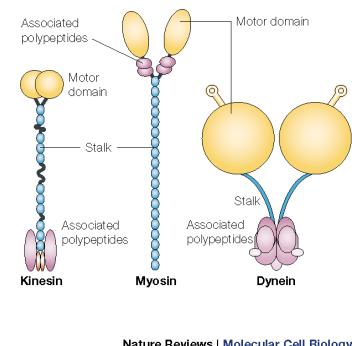
Beweging komt voor in **weefsels** (spieren), **celniveau** (ciliën, flagel) en **subcellulair** (vesikel)

- omzetting van chemische energie (ATP) naar mechanische energie
- **moleculaire motoren** gebruiken het cytoskelet als ondersteuning
- 2 motiliteitssystemen: interactie van moleculaire motoren met MT (1) of MF (2)
 - o MT: intracellulair vesiculair transport en MT sliding in cilia
 - o MF: spiercontractie

Intracellulair MT-gebaseerd transport

Microtubuli MT vormen een netwerk van kabelbanen, georganiseerd door het centrosoom

- **motor proteïnes**: directioneel transport van organellen en vesikels (kinesine of dyneïne)
- **kinesine**: vesikeltransport, depolymerisatie van MT, chromosoomsortering & cytokinese
- **dyneïne**: cytoplasmatisch (vesikeltransport) en axonemaal (sliding in flagel MT)



Motor-gedreven vesikel- en organeltransport

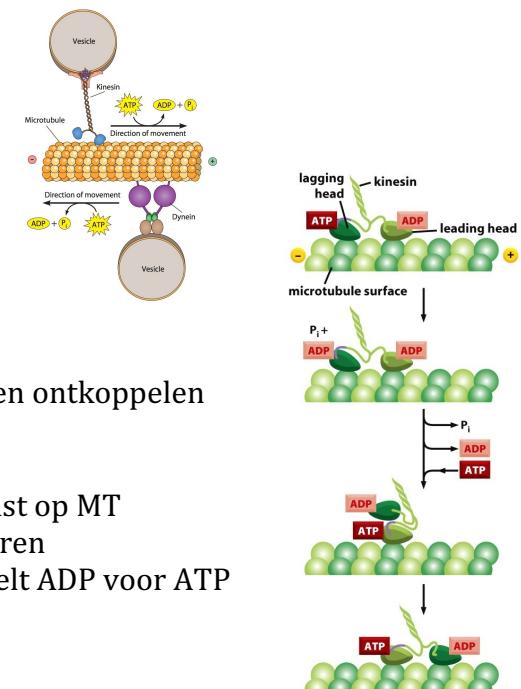
Motor proteïnes vervoeren alle vesikels tussen het ER, Golgi apparaat en de plasmamembraan

- samen met MT netwerk houden zij organellen op hun plaats (experiment nocodazole)
- voorbeeld: **neurotransmitter**-transport: productie in soma → zenuwuiteinde
 - o **snel axonaal transport**: vervoer via motor proteins langs over MT-filamenten
 - **anterograad** door **kinesine**: van cellichaam naar zenuwuiteinde
 - **retrograad** door **dyneïne**: van zenuwuiteinde naar cellichaam

Kinesine wandelt over MT

Kinesine:

- globulair hoofddomein (MT-binding en ATP-hydrolyse)
- coiled domein en lichte-keten domein: vasthechting van de organellen



Kinesine-1: 2 globulaire domeinen die alternerend binden en ontkoppelen aan MT = stappen

1. ADP-gebonden kopregio bindt eerst het β -tubuline
2. uitwisseling van ADP met ATP: linker-regio zet zich vast op MT
3. tweede ADP-gebonden kopgroep katapulteert naar voren
4. achterste kopgroep hydrolyseert ATP en voorste wisselt ADP voor ATP (herhaling cyclus)

Cellulaire MT-gebaseerde motiliteit

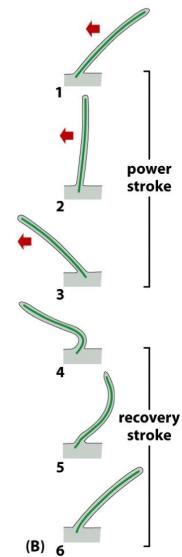
Cilia en flagella

Microtubuli staan niet enkel in voor intracellulair transport maar ook voor celbeweging zelf

- dit doen ze via cilia en flagella: gelijkaardige opbouw, verschil in lengte, aantal en beweging

Cilia of trilharen

- het membraanoppervlak van gecilieerde cellen bevat makkelijk honderden cilia
- unicellulair (*Paramecium*): beweging en voedselverzameling
- multicellulair: via **zweepslagbeweging** omliggende vloeistof (met stof, slijm, ...)
- voortbewegen (power stroke en recovery stroke)

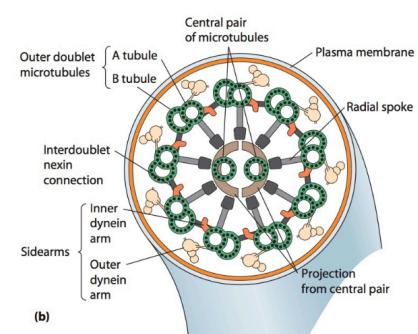


Flagella

- dezelfde diameter als cilia, maar zijn veel langer en in mindere getallen aanwezig
- parallelle voortbeweging van cel met flagel: vloeiend en buigend tot spiraalvormig

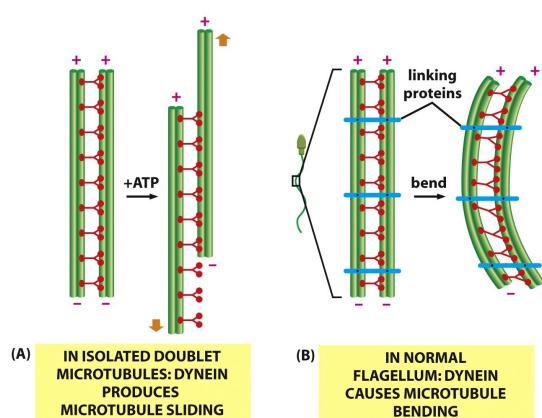
Axonema en basaal lichaam

- **Axonema**: is omgeven door plasmamembraan en intracellulair verbonden met basaal lichaam
 - o **9x2+2-patroon**: 9 buitenste doubletten MT rond een centraal MT-doublet
 - o **doublet**: 13-MT-A-tubule en onvolledige B-tubule
 - **radiale spaken**: vanuit A-tubule naar centrale paar MT
 - **dyneïne-zijarmen**: reiken in wijzerzin van A naar B-tubule van volgend doublet
 - **nexine interdoublet**
- **Basaal lichaam**: lijkt op centriool met 9 tubulaire tripletten



MT sliding

- beweging: relatieve verschuiving van MT van aanpalende doubletten t.o.v. elkaar (ATP-afh.)
 - o dyneïne zal cyclisch vasthechten en loskomen van B tubule
 - o ATP-hydrolyse verschuift dyneïne arm van een doublet relatief t.o.v. ander doublet
- door verbinding met nexine links, radiale spaken: **schuivende beweging → buiging axonema**



Actine-gebaseerde celbeweging

Myosine

Myosine staat in voor spiercontractie, celbeweging, fagocytose, vesikeltransport, e.a.

- is een **motor protein** op actine cytoskelet: ATP-afhankelijk transport → naar + uiteinde
- N-terminale keten met globulaire kopgroep en variabele staart regio
 - o kopgroep: bindt actine en voert ATP hydrolyse uit
 - o staartgroep: herkent cargo of andere myosines
- **myosine type II**: kan assembleren in lange filamenten zoals in spiercellen

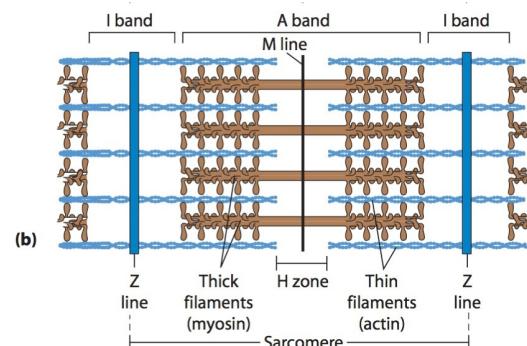
Myosine II verschuift het MF

- **rigor status**: zonder geassocieerd nucleotide bevindt myosine zich gebonden op actine
→ binding van ATP zorgt dat kopregio loskomt
- **power stroke**: ongebonden toestand: ATP hydrolyse: kopregio strekt zich naar voor
→ kopregio zal binden: vrijstelling ADP en PO₄
→ filament krijgt kracht om zich relatief t.o.v. myosine te verplaatsen
- **analogie met kinesine**: deze beweging zijn sterk analoog, toch enkele verschillen:
 - o interactie van myosine II met actine gebeurt veel korter
 - o myosine II verplaatst over een veel kortere afstand (12-15nm) ↔ kinesine (100en nm)
→ myosine werken in grote getallen 10⁹ samen

Spiercontractie

Opbouw van de skeletspier

- parallelle spiervezels via pezen verbonden aan botten
- **spiervezel**: 1 lange veelkernige cel die ontstaat door fusie van myoblasten
 - o **myofibrillen**: contractiele functie van de cel:
repetitieve elementen (**sarcomeren**)
 - laterale alignering: alternende donkere A-band en lichte I-banden
 - H-zone in A-band met centrale M-lijn (centrum sarcomeer)
 - begrenzing van sarcomeer via Z-lijnen in het midden van de I-band
 - o **sarcomeer**: opgebouwd uit dikke myosine en dunne actine filamenten



Organisatie van het sarcomeer

- dwars op Z-lijn ligt actine, daartussen bundels myosine II verankerd aan de M-lijn met staart
- myosine II migreert naar het + uiteinde van actine dat naar Z-lijn is georiënteerd

α-actinine: bundelt de actinefilamenten

myomesine: verankert myosine aan M-lijn

nebuline: zorgt voor stabiliteit

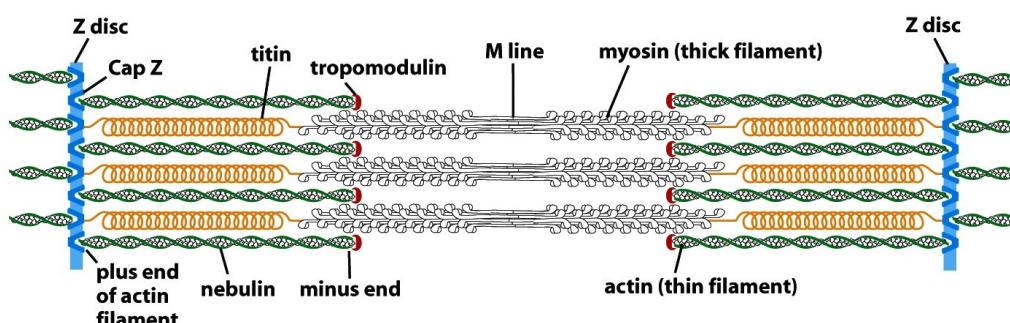
titine: dit IF proteïne verbindt myosine met Z-lijn

CapZ: stabiliseert + uiteinde, verankert actine

troponine en tropomyosine: activatie van

tropomodulin: stabiliseert het - uiteinde

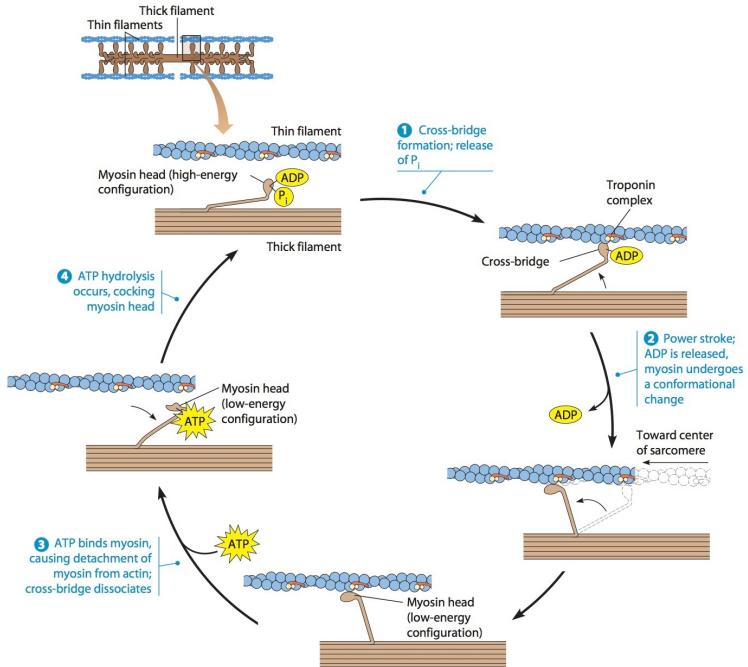
verplaatsing tijdens spiercontractie



Sliding filament model

- geen werkelijke verkorting: dunne actine schuift tussen het dikke myosine
- individuele sarcomeren en bijgevolg de spiercel zullen verkorten
- **mediatie** van verschuiving door myosine moleculen die trekkracht zullen uitoefenen(via ATP)

1. ADP + P_i gebonden myosine molecule zal zwak binden op actine filament
2. afgifte van fosfaat versterkt binding & induceert een wijziging en vrijstelling van ADP
 - a. **wijziging**: power stroke van kopgroep waardoor dikke aan dunne filament trekt
3. ATP binding zorgt voor loskoppeling van kopgroep → hervatten van cyclus
 - a. zonder ATP: **rigor mortis**: myosine kopgroepen blijven gehecht aan actine



Regulatie van de skeletspiercontractie

- **calcium** (second messenger)
- **tromyosine en troponine**: regelen beschikbaarheid van myosine-bindende plaatsen op actine
 - o troponine: TnT (bindt tropomyosine), TnC (bindt Ca²⁺-ionen), TnI (bindt actine)
- **basale condities**: lage Ca²⁺-concentratie, tropomyosine blokkeert bindingsites
- **activatie**: Ca²⁺ komt vrij uit SR en troponine zal blokkade opheffen
 - o als TnC Ca²⁺ bindt: conformatie wijziging → tropomyosine wordt weggeduwd → myosine bindingssite wordt beschikbaar voor myosinekopgroepen

Skeletspiercel activatie

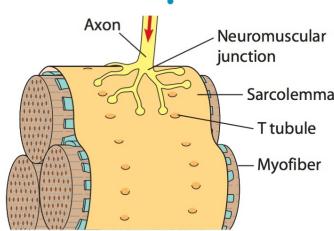
- **motoneuronen**: communiceren een activatiesignaal als actiepotentiaal naar synaps
- **neuromusculaire junctie**: vertaling elektrisch → chemisch signaal: vrijstelling **acetylcholine**

1. binding van **acetylcholine** aan receptoren in plasmalemma
2. ligandgevoelige Na⁺-kanalen zullen openen: **depolarisatie** van het membraan
3. uitbreiding van depolarisatie over **T-tubules** (kleine invaginaties in contact met SR)
4. t.h.v. T-tubules zullen **voltage-gevoelige Ca²⁺-kanalen** openen
 - a. instromende Ca²⁺-ionen zullen binden: **vrijstelling** Ca²⁺ uit het SR
 - b. SR zit als netkous rond myofibrillen → snelle contractie van spiercel
5. **ontspanning** van spiercel: afvoer van Ca²⁺ door een ATP-ase (SERCA): pompt Ca²⁺ terug in SR

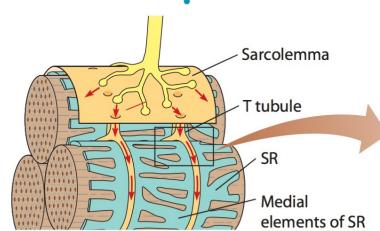
Hartspiercellen: gelijkaardig mechanisme maar verbonden via **intercalaire schijven**

- gap junctions: uitwisseling van ionen en laten elektrische signalen toe
- **selectieve permeabiliteit**: cellen kunnen synchroon reageren op contractiestimulus

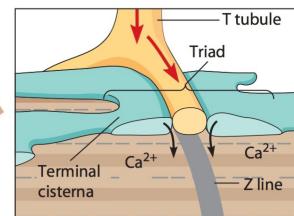
- 1** An action potential moves down the axon of the neuron until it reaches the neuromuscular junction, where synapses exist between the neuron and the muscle cell.



- 2** Depolarization of the terminals of the axon causes the release of neurotransmitters, which bind acetylcholine receptors on the surface of the muscle cell, initiating depolarization of the muscle cell.

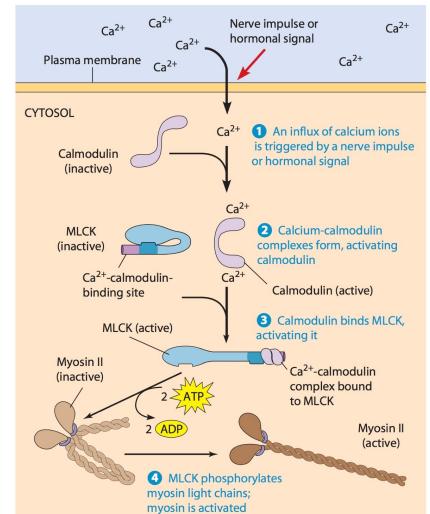


- 3** The depolarization spreads into the interior via the T tubules, stimulating calcium release via ryanodine receptors in the terminal cisternae of the SR.



Gladde spiercellen

- onbewuste contracties van inwendige organen die traag verlopen (5s tot max. spanning)
- geen striata noch sarcomeren, maar wel **plaques** met een wirwar aan dikke/dunne filamenten
- **activatie** door calciumflux: downstream processen zijn anders
 - o myosine is opgerold (geen assemblage) en actine-bindend domein is inactief
 - o extracellulair Ca^{2+} bindt op calmoduline en activeert **myosin light-chain kinase MLCK**
 - o door MLCK fosforylatie van lichte keten van myosine → ontwinding waardoor ze kan polymeriseren + activatie van de bindingsite
- **deactivatie**: als calciumconcentratie weer daalt: MCLK wordt inactief
 - o **myosin light-chain phosphatase**: verwijdert fosfaat van myosine: rolt terug op

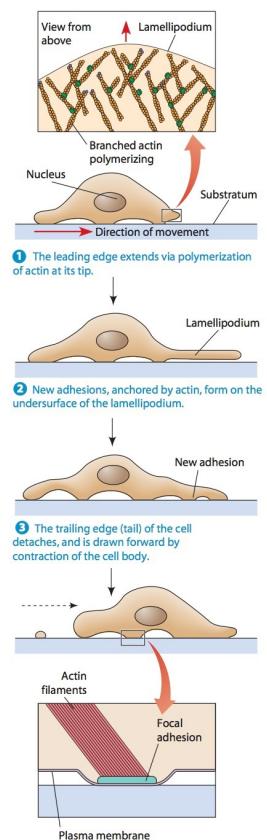


Celmigratie via lamellipodia

Verschillende niet-spiercellen (bv. fibroblasten, neuronen of embryonale cellen) zijn in staat om te **kruipen over een substraat**

1. Extensie van protrusies

- cel vormt gespecialiseerde uitstulpingen aan de **leading edge**
- bladvormige lamellipodia of stekelvormige pseudopodia
 - o tijdens migratie vaak **interconversie** van deze 2 protrusies
- dynamiek wordt beheersd door **retrograde stroom** van F-actine: 2 simultane processen
 - o **actine-polymerisatie** aan de tip van een groeiend lamellipodium/filopodium
 - gedreven door Arp2/3: **arborisatie** of vertakking
 - o **achterwaartse translocatie** van actine in de richting van de basis van de protrusie
 - opnieuw ontmanteld → monomeren beschikbaar voor verdere polymerisatie
- ↔ verschil met **treadmilling**: het volledige proteïne beweegt



2. Cellulaire vasthechting

in de retrograde stroom: **substraatverbindingen** aan de achterzijde moeten verbroken worden

- deze verbindingen zijn structuren die bestaan uit transmembraanproteïnen en additionele proteïnen
- **integrines** zijn hechtingproteïnes: buiten de cel contact met ECM en aan binnenzijde via linker proteins verbonden met actine

3. Translocatie en onthechting

- protrusie en vasthechting stuwen de voorwaartse beweging

- **contractie achterzijde:** mediatie door interacties actine-myosine II, regulatie d. Rho ATP-ase
 - perst cellichaam verder en ontkoppelt achterste uiteinde van hechtingssites

Chemotaxis

directionele migratie of chemotaxis: oplosbare moleculen kunnen migratierichting bepalen

- **chemoattractant of chemorepellant**
- goed bestudeerd in witte bloedcellen: dramatische herorganisaties van actine cytoskelet
 - binding van chemoattractant/repellant op receptoren zet lokale rekrutering van cytoskelet in gang om protrusievorming te induceren

Amoeboïde beweging

Amoeboïde beweging is een karakteristieke kruipende verplaatsing van amoeben en witte BC

- vorming van pseudopodia en aanwezigheid van gelatinerijk (**gel**) en vloeibaar (**sol**) cytosol
- aan de tip: vloeibaar materiaal verandert in gel ↔ aan achteruiteinde gebeurt omgekeerde
- **gelsolin:** omzetting van gel naar sol wordt door dit proteïne en nog andere gekatalyseerd

Actine-gebaseerd intracellulair transport

Cytoplasmatische stroming komt voor in cellen die geen amoeboïde beweging kennen

- plantencellen: circulaire stroom rond centrale vacuole = **cyclosis**
- dierlijke cellen: myosines zijn ook betrokken bij vesiculair transport
 - interactie met kinesines t.h.v. vesikeloppervlak & + uiteinden van MT

Take-home messages

- **Celbeweging** is afhankelijk van het **cytoskelet** en **motorproteïnen**.
- Intracellulair transport van **vesikels** en positionering van organelen berust op **directionele beweging** van kinesine (**anterograad**) of dyneïne (**retrograad**) motoren over microtubuli.
- **Celmotiliteit** wordt gemedieerd door **microtubuli sliding** in de axonema van cilia of flagellen.
- Cellen kruipen over een substraat via actine-gebaseerde **lamellipodia** of amoeboïde bewegingen
- **Skeletspiercontractie** berust op de **gecoördineerde beweging** van **myosine** motoren over **actine** filamenten in de functionele eenheden van de spier, de **sarcomeren**, na **stimulatie** ter hoogte van de **neuromusculaire junctie**.