**CELBIOLOGIE HOOFDSTUK 13: Celbeweging**

0. Introductie

* Celbeweging wordt gestuurd door gespecialiseerde aanhangsels vb: cilia en flagella
  + Chemische energie (ATP) wordt omgezet in mechanische energie
  + Dit gebeurt door moleculaire motoren
* Soorten beweging
  + Intracellulair transport
  + Cellulair MT-gebaseerde mobiliteit
  + Actine-gebaseerde celbeweging

1. Cellulaire motoren

* Directioneel transport:
  + Myosine (MF, - -> +)
    - Gaan richting + uiteinde
  + Kinesine (MT, - -> +)
  + Dyneïne (MT, + -> -)
* Energie-afhankelijk (ATP)
  + Motor proteïnes verbruiken ATP bij directioneel transport

2. Intracellulair MT-gebaseerd transport

* MT vormen een rigide netwerk kabelbanen waarlangs membraan-omsloten organellen en vesikels getransporteerd kunnen worden
  + Netwerk georganiseerd door centrosoom
* Motor proteïnes = Kinesines (richting + uiteinde) en dyneïnes (richting – uiteinde)

2.1 Motor-gedreven vesikel- en organeltransport

* Motor proteïnes
  + spelen een essentiële rol in endomembraansysteem
    - Ze vervoeren vesikels tussen ER, golgi en plasmamembraan bewegen
  + Zorgen voor organelpositionering
    - Experiment:
      * Cellen behandelen met Nocodazole = MT depolymeriserende drug
        + Hierbij dissocieert het Golgi volledig
        + Golgi drug uitwassen -> snel terug gevormd
        + Bewijs dat organellen op hun plaats worden gehouden door MT netwerk en de proteïnes
* Snel axonaal transport = motor-gedreven organel transport
  + Studie adhv geëxtraheerd axoplasma -> na additie ATP -> beweging v. organellen langs filamenteuze structuren te zien
    - Bewijs van dit transport
  + Moto proteïnes die hierbij betrokken waren:
    - Kinesine: anterograad
      * Naar +
      * Van cellichaam naar zenuweinde
    - Dyneïne: retrograad
      * naar –
      * van zenuweinde naar cellichaam

2.2 Kinesine 1

* Structuur
  + 3 domeinen:
    - Globulair hoofddomein -> bindt de MT en hydrolyseert ATP
    - Opgewonden helicaal domein
    - Lichte keten domein betrokken bij vasthechting vd organellen
* Wandelt over MT in 8 nm stappen
  + Telkens 1 vd 2 globulaire domeinen beweegt voort + bindt met β-tubuline subunit
  + Hierna ontkoppeling vd achterste kopgroep
  + Achterste kopgroep beweegt hierna naar voren en maakt binding
  + Iedere kop 50% van tijd gebonden aan β-tubuline subunit
* Mechanisme:
  + ADP-gebonden kopgroep bindt het tubuline
  + Uitwisseling van ADP met ATP -> linker regio zet zich vast op de MT
  + Hierbij slingert de achterste kopgroep (ADP gebonden) naar voren
  + Achterblijvende kopgroep hydrolyseert ATP
  + Voorste kopgroep wisselt ADP voor ATP -> cyclus herhaalt zich
  + Belangrijke punten:
    - Powerstroke wordt gegenereerd door de uitwisseling van ADP -> ATP
    - Molecule blijft niet altijd gebonden (50%)

3. Cellulaire MT-gebaseerde motiliteit

3.1 Cilia en flagella zijn typische uitsteeksels van eukaryote cellen

* MT staan in voor intracellulair transport, maar ook voor de beweging vd cel zelf
  + Via vb: flagella en cilia
* Flagella:
  + Vb: spermacellen
  + Lang (10-200µm)
  + Golfende beweging
* Cilia:
  + Vb: bij paramecium (unicellulair organisme)
    - Beweging en voedselverzameling
  + Kort (2-10µm)
  + Zweepslagbeweging

3.2 Cilia en flagella bestaan uit een axonema en basaal lichaam

* Cilia en flagellen bestaan uit axonema
  + Axonema
    - is omgeven door plasmamembraan en intracellulair verbonden met een basaal lichaam
    - 9 buitenste MT doubletten + 2 centrale MT (**9+2 patroon**)
    - Elk doublet bestaat uit een volledig 13-MT A en onvolledige B tubule
  + Basaal lichaam lijkt op centriool
    - 9 tubulaire triplet MT
  + Radiale armen vanuit A tubule naar centrale MT paar
  + Dyneïne zijtakken van A tubule vh ene doublet naar B tubule van volgend doublet
* Appenda beweging is gebaseerd op MT sliding
  + Lengte van structuur verandert niet, maar MT van aanpalende buitenste doubletten verschuiven tov elkaar op een ATP afhankelijke manier
  + Verschuiving gemedieerd door dyneïne
    - Dyneïne komt los en hecht zich vast op cyclische wijze van B tubule
      * Dyneïne arm verschuift van 1 doublet tov het naburige doublet
  + Radiale (spaken) en laterale (nexine) verankering veroorzaakt buiging
    - Want hangen vast & dyneïne beweegt

4. Actine-gebaseerde celbeweging

4.1 Myosine

* Actine cytoskelet wordt ook gebruikt voor de beweging van moleculen en andere cellulaire componenten
  + Motor proteïnes staan in voor ATP afhankelijke transport (zoals bij de MT)
  + in geval van actine gaat het over myosine
* Myosine
  + Beweegt over actine in de + richting (behalve type IV)
  + Heeft een N-terminale grote zware keten
    - met een globulaire kopgroep
    - en een variabele staartregio
  + speelt een rol in spiercontractie, celbeweging, fagocytose, vesikeltransport, ….

4.2 Myosine II medieert de skelet spiercontractie (dwarsgestreepte spiercontractie)

* Bouw Myosine II:
  + 2 zware ketens
    - met globulaire kopgroep
    - een scharnierregio
    - en een staafvormige staart
    - en 4 lichte zijketens
  + Kunnen assembleren in lange filamenten -> spiercontractie
* Bouw skeletspier
  + Skeletspieren -> bewuste bewegingen
  + Skeletspier > bundels van spiervezels > myofibril > sarcomeer
* Bouw sarcomeer
  + = contractiele eenheid
  + Lichte banden (I bands)
    - Dunne actine filamenten
    - Dunne zitten in hexagonaal patroon rond dikke filamenten
    - + Uiteindes zijn vast aan Z lijn
    - Laten e- door
  + Donkere banden (A bands)
    - Dikke myosine II filamenten
    - Clusters verbonden ter hoogte vd M lijn
    - Houden veel materiaal vast
  + H zone = lichtere zone tussen de donkere en lichtere banden
  + Z lijnen = begrensd sacromeer
    - Hierop zitten de actinefilamenten
  + M lijnen = centrum vh sacromeer
    - Hieraan zitten de gebundelde myosine II moleculen aan vast
* Accessorische proteïnen voorzien stabiliteit en uniformiteit (molecular rulers)
* Spiercontractie is gebaseerd op microtubule sliding
  + Myosine verschuift MF
    - Iedere kop 5% van tijd gebonden -> 95% ontbonden <-> kinesine
    - A banden blijven gefixeerd, I banden ‘verkorten’
      * Want dunne filamenten schuiven tussen dikke bij contractie, dus geen echte verkorting
    - Sarcomeren verkorten -> spiercel verkort
  + Mechanisme:
    - Rigor status
      * spier vast in rigide toestand
    - ATP binding ontkoppelt myosine
    - Hydrolyse verplaatst kopgroep (Hoge Energie)
    - Zwakke binding met vrijstelling Pi
    - Power stroke met vrijstelling ADP
      * conformationele wijziging + sterkere verbinding)
    - Kopgroep terug in lage energie toestand
  + Zonder ATP zal myosine gehecht blijven aan actinefilament
    - spier vast in rigide toestand = rigor mortis
* Myosine-bindende sites gereguleerd door troponine en tropomyosine
* Activatie vd spiercel
  + Motor neuronen activeren de spiercellen door activatie signaal
  + Ter hoogte vd neuromusculaire junctie (= contactplaats met spiercel)
    - wordt dit signaal vertaald door vrijstelling van neurotransmitter
    - Na+ kanalen openen zich -> Neurotransmitter-gemedieerde depolarisatie van membraan
  + Depolarisatie
    - voltage-gated Ca2+ kanalen activeren in T tubules
      * Instromende Ca2+ ionen zullen binden bij de Ca2+ kanalen vh SR
    - Ligand gated Ca2+ kanalen in SR
    - Deze binding zorgt voor vrijstelling van ca uit het SR -> spiercontractie
  + Restoratie via SR ATP-ase (SERCA) -> calcium ionen actief terugpompen in SR

4.3 Gladde spiercontractie

* Onbewuste contracties
* Gladde spieren bouw
  + Bestaan uit dense lichaampjes verbonden via netwerk van dunne en dikke filamenten
  + Extracelullair calcium vrij -> bindt het op calmoduline en activeert MLCK
    - MLCk fosforyleert de lichte keten van myosine
  + Fosforylatie ontwind myosine molecule waardoor ze kan polymeriseren en activeert bindingssite zodat ze kan interageren met actine
    - Actine-binding
    - Polymerisatie

5. Celmigratie via lamellipodia

* Niet spiercellen kunnen kruipen over substraat
* Lamellipodia
  + Extensie:
    - Leading edge = uitstulping aan voorste rand
    - Dynamiek van protrusie beheerst door de retrogade stroom van F-actine
      * Evenwicht bepaald extensie of retractie uitstulping
    - Absorptie (Arp2/3) drijft vertakking in lamellipodium
* Vasthechting:
  + Hechtingssites gevormd aan de groeiende voorzijde en substraatverbindingen aan achterzijde
  + Focale adhesiepunten
    - Integrines zijn hechtingsproteïnes die buiten de cel contact maken met de extracellulaire matrix en aan de binnenzijde vd cel via linker proteïnes verbonden zijn met actine
    - = focale adhesiepunten
* Translocatie
  + Extensie en vasthechting stuwen de voorwaartse beweging in de cel
  + Contractie aan de achterzijde -> perst het cellichaam verder naar voor en ontkoppelt het achterste uiteinde
  + Contractie & Onthechting

6. Celmigratie via amoeboïde verplaatsing

* Amoeboïde beweging: amoeben kruipen voort door:
  + Vorming van pseudopodia
  + Aanwezigheid vd buitenste laag gel-achtig
  + Binnenste laag eerder vloeibaar cytosol -> sol-laag
* Stroming vanuit binnenste sol-laag
* Gelsolin katalyseert omzetting gel-sol

1. Actine gebaseerd intracellulair transport

* Cytoplasmatische stroming in cellen die niet amoeboïde bewegen
  + Planten: circulaire stroom rond centrale vacuole -> cellulaire componenten circuleren (cyclosis)
* Myosine V interageert met kinesinen aan oppervlak vesikel en + uiteinde MT -> overdracht vesikels MT en MF

7. Kernpunten

* Celbeweging is afhankelijk van het cytoskelet en motorproteïnen
* Intracellulair transport van vesikels en positionering van organellen berust op directionele beweging van kinesine (anterograad) of dyneïne (retrograad)
* Celmotiliteit wordt gemedieerd door microtubuli sliding in de axonema van cilia of flagella
* Cellen kruipen over een substraat via actine-gebaseerde lamellipodia of amoeboïd 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 joints