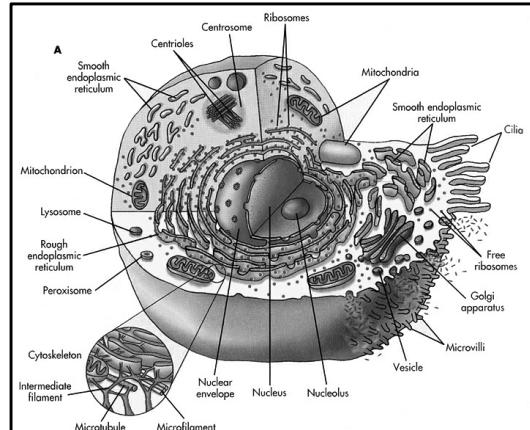
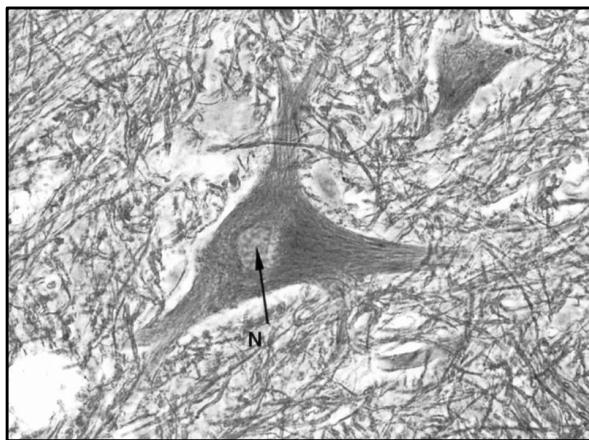
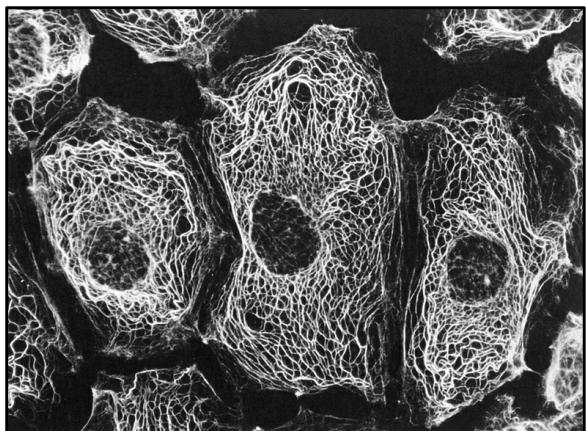
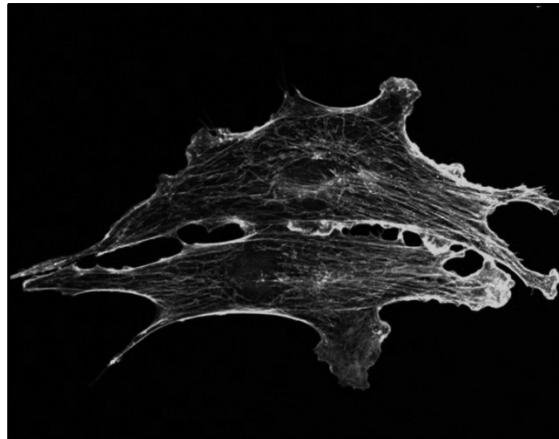


Het cytoskelet



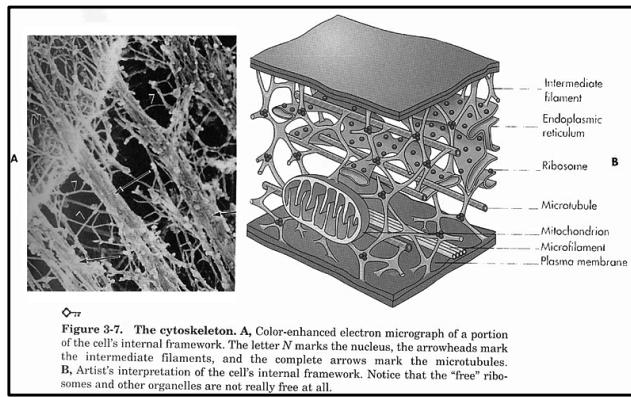
**Cytoskelet = inwendig netwerk van proteïnen dat aan cytoplasma een zekere stevigheid en flexibiliteit geeft**



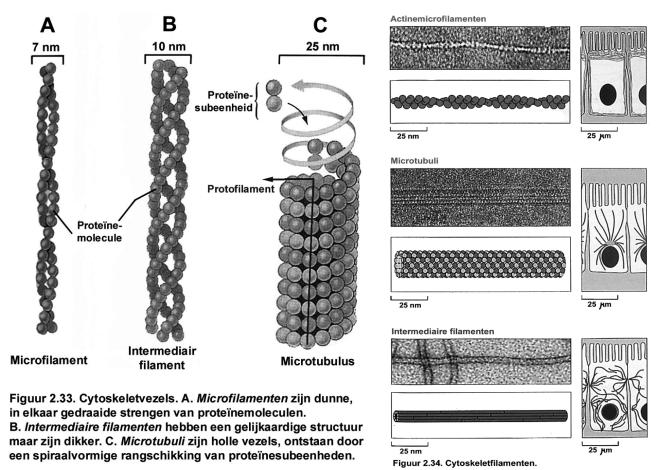


### Bouw van het cytoskelet

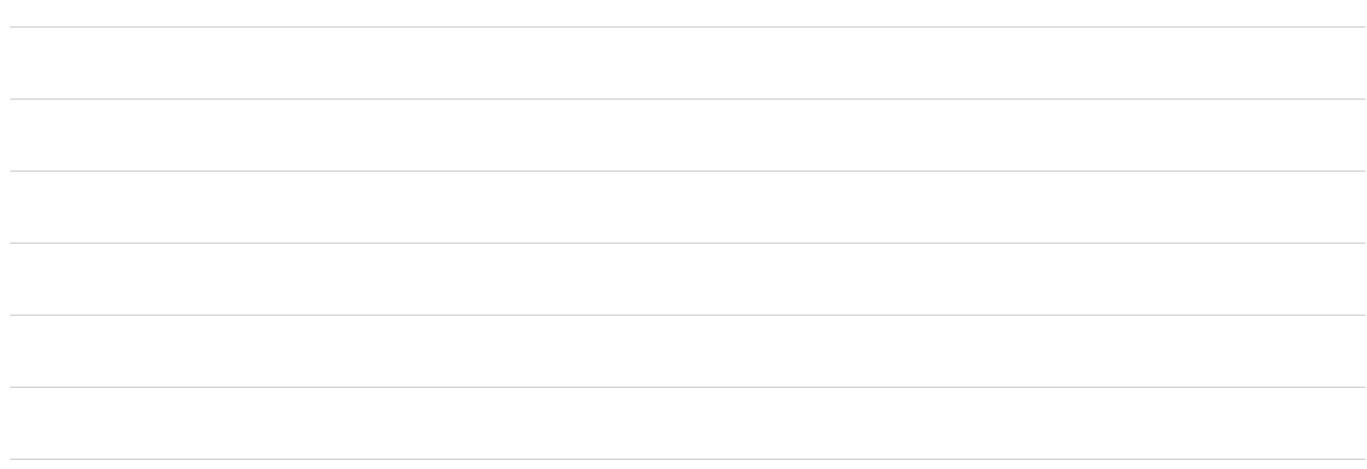
- microtubuli
- microfilamenten
- intermediaire filamenten



## Cytoskelet:



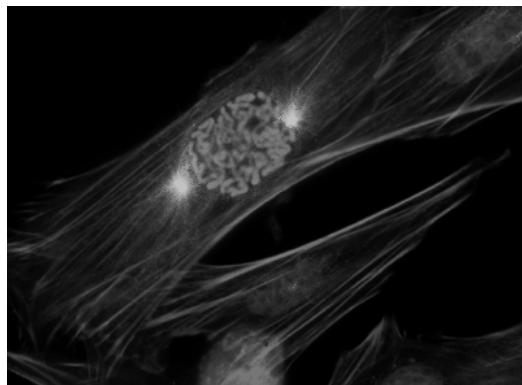
Figuur 2.33. Cytoskelevezels. A. **Microfilamenten** zijn dunne, in elkaar gedraaide strengen van proteïnemoleculen. B. **Intermediaire filamenten** hebben een gelijkaardige structuur maar zijn dikker. C. **Microtubuli** zijn holle vezels, ontstaan door een spiraalvormige rangschikking van proteïnesubeenheden.



### Algemene functie

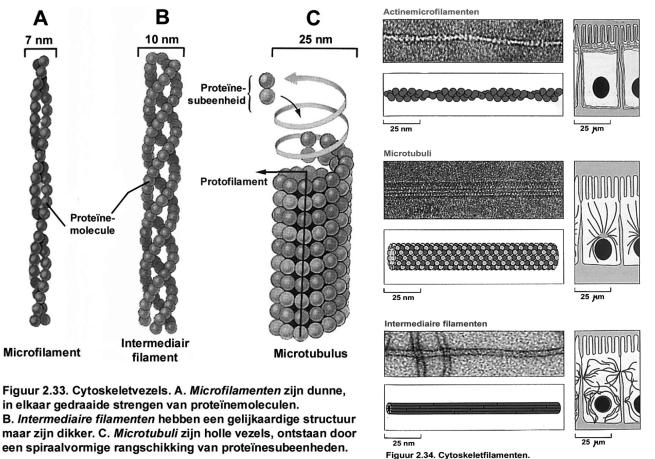
- Cel in bepaalde vorm houden
- Ondersteunen van vormveranderingen en verplaatsingen van de cel als geheel en van organelen binnen de cel

### Microtubuli



## Cytoskelet: microtubuli

## Cytologie-cytoskelet

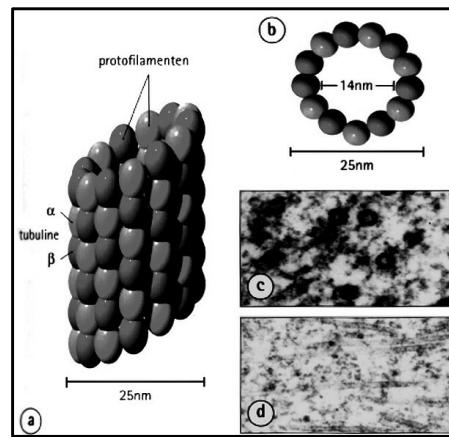


Figuur 2.33. Cytoskeletvezels. A. *Microfilamenten* zijn dunne, in elkaar gedraaide strengen van proteinemoleculen. B. *Intermediaire filamenten* hebben een gelijkaardige structuur maar zijn dikker. C. *Microtubuli* zijn holle vezels, ontstaan door een spiraalvormige rangschikking van proteinesubeenheden.

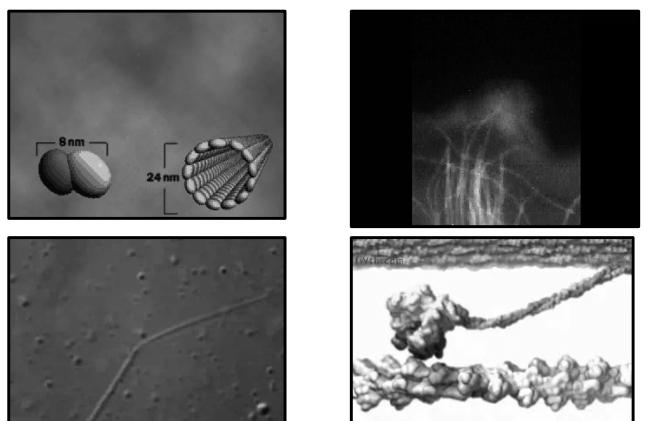
Figuur 2.34. Cytoskeletfilamenten.

### Algemeen

- Rechte buisvormige structuren die in de meeste eukaryote cellen voorkomen
- Doorsnede van ongeveer 24 nm
- Opgebouwd uit samengevoegde eenheden van heterodimeren van  $\alpha$ - en  $\beta$ -tubuline
- Wand bestaat uit 13 protofilamenten
- Sterk variabel van lengte
- Veel stijver dan microfilamenten of intermediaire filamenten door buisvormige constructie

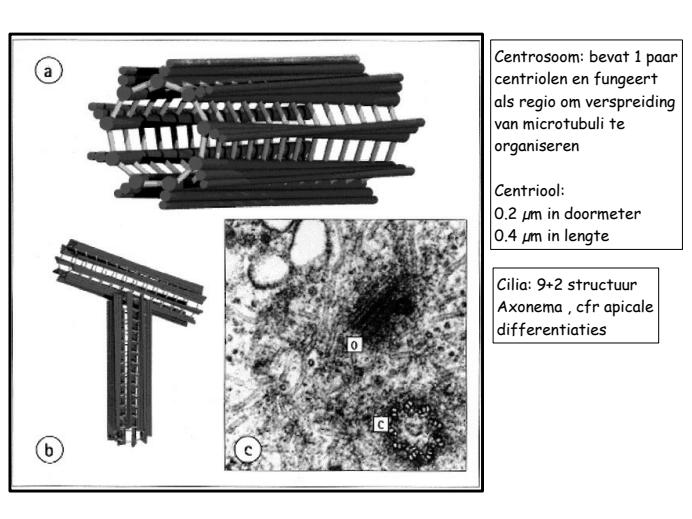
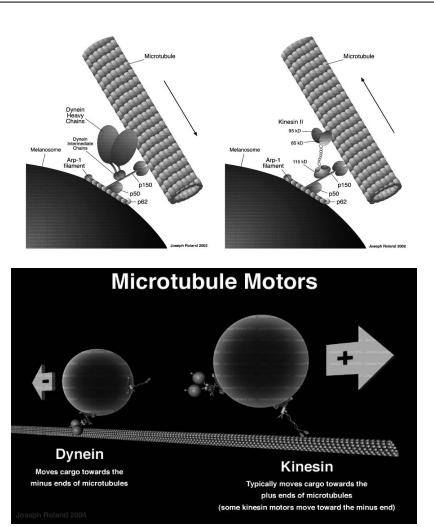


Tubuline monomeer: MG=50kDa; dimeer: MG=100kDa

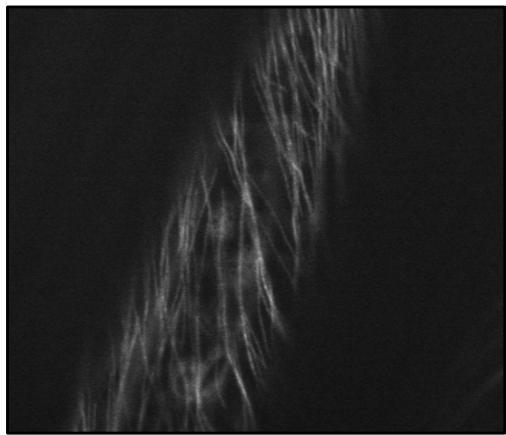


## Dyneïne & kinesine

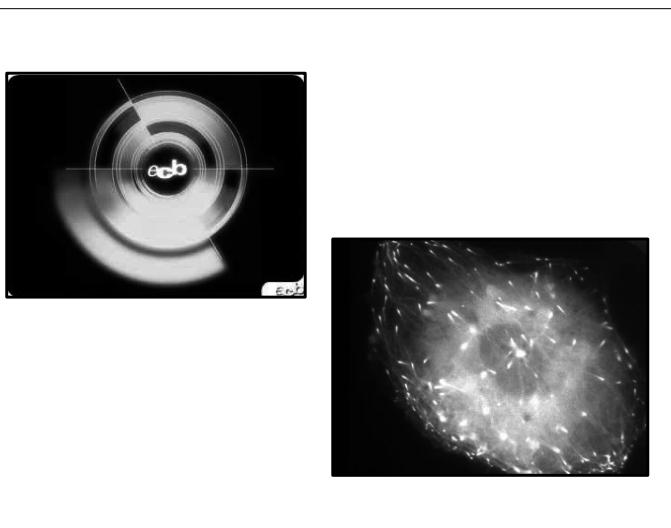
## Cytologie-cytoskelet

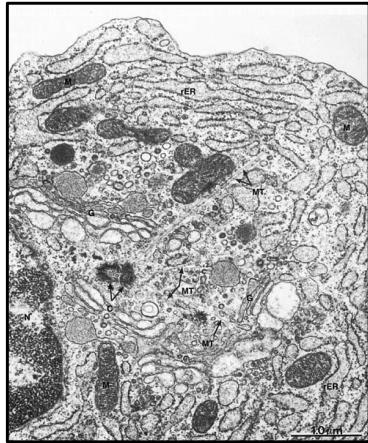


### GFP-tubuline in levende cellen



Cytologie-cytoskelet

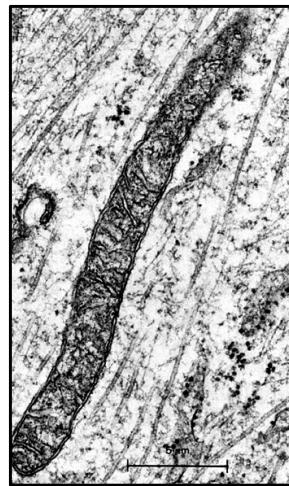


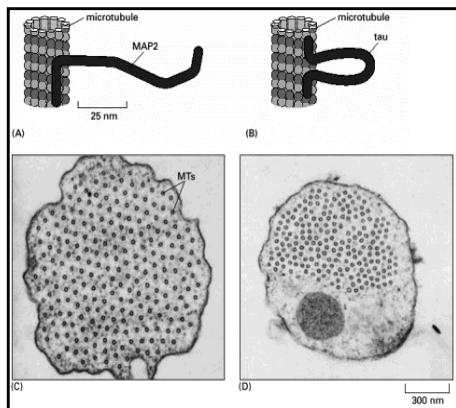


Interactie met microtubuli-geassocieerde eiwitten (MAPs, tau,...) die microtubuli met elkaar of met andere structuren verbinden

Tubuline-polymerisatie staat onder controle van MAPs en is tevens afhankelijk van de  $\text{Ca}^{++}$ -concentratie

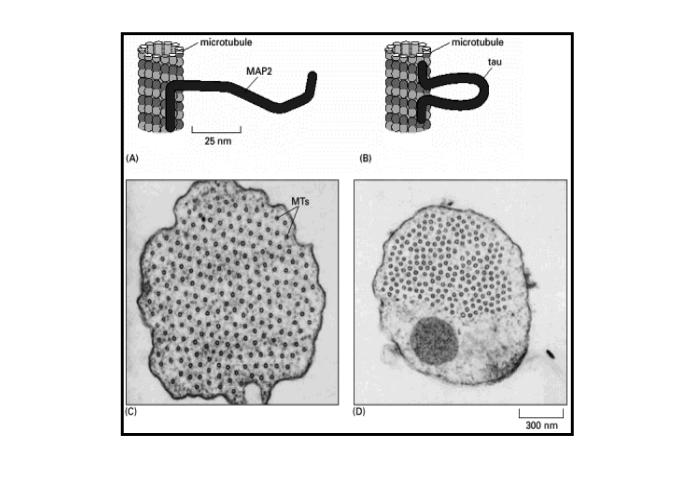
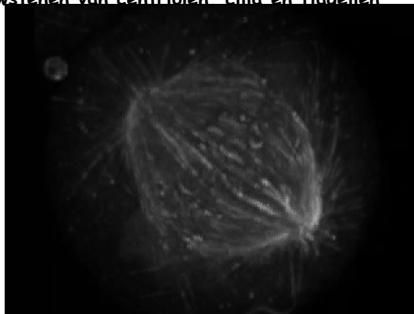
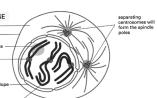
Stabiliteit van microtubuli is variabel:  
-MT in cilia zijn stabiel  
-MT in mitotische spoelfiguur hebben slechts een korte levensduur





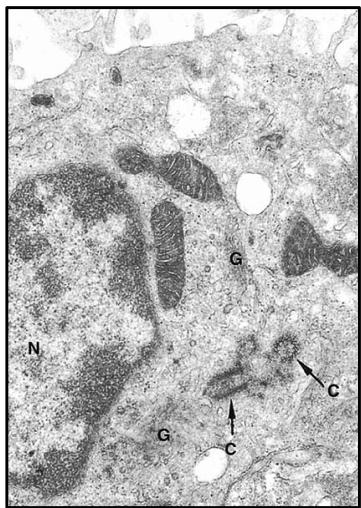
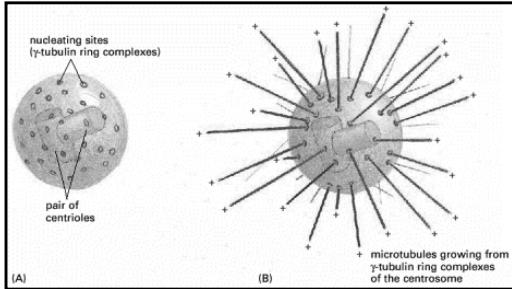
### Functie

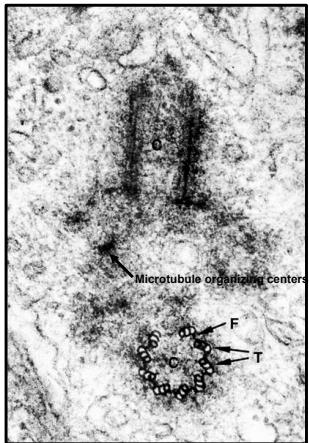
- Microtubuli vervullen belangrijke rol bij verplaatsingen van organellen binnen de cel, zoals mitochondriën, transportvesikels en chromosomen (tijdens mitose)
- Vormen bouwstenen van centriolen, cilia en flagellen



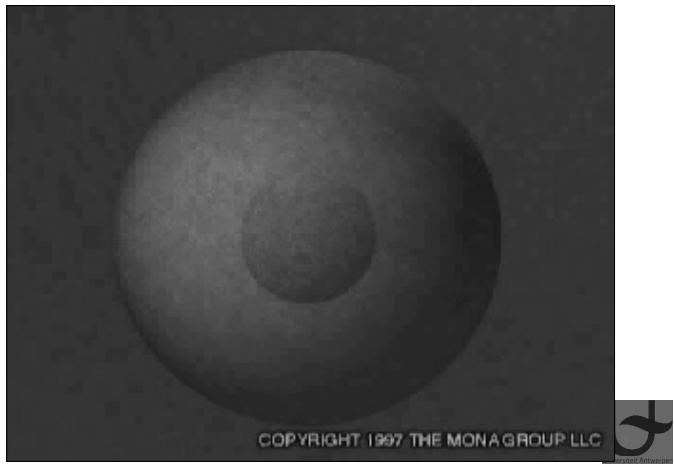
### Groei van microtubuli

- Groei begint op speciale plaatsen : **microtubulus-organiserende centra (MTOC)**, bv centrosomen



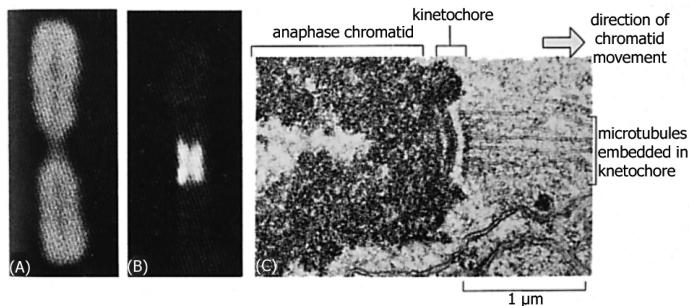


### Celdeling: centriolen & spoelfiguren



## Microtubuli: kinetochoren & celdeling

## Cytologie-cytoskelet



### Stoffen die microtubulair transport en/of vorming van microtubuli beïnvloeden

Colchicine, colcemid, podofyllotoxine: binden aan tubuline-eenheden en verhinderen aldus de samenvoeging van deze hetero-dimeren (cfr ook kankertherapie)

Vinblastine, vincristine: voegt de dimeren aan elkaar ovaal kristallijne formaties en verhindert aldus de normale polymerisatie (cfr chemotherapie - inhiberend effect op sneldeelende cellen)

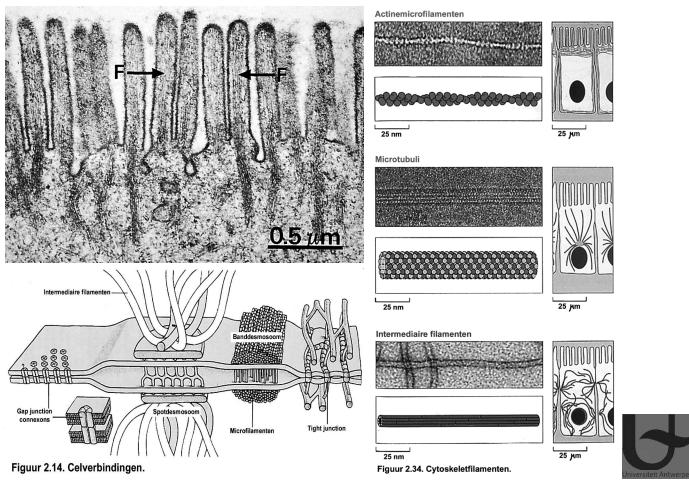
Taxol: stabiliseert eerder de microtubuli dan wel de assemblage te verhinderen (cfr ook chemotherapie)

## Microfilamenten

Actine-filamenten ( $\varnothing$  5-7nm) (komt zowel voor in contractiele als niet-contractiele cellen)

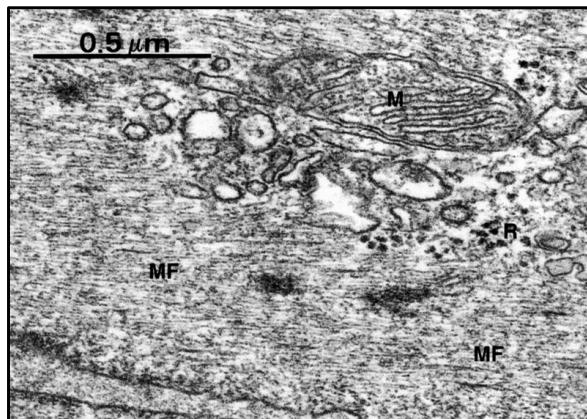
Myosine-filamenten ( $\varnothing$  14-18 nm) (komt eveneens in niet-contractiele en contractiele cellen voor; in n-contractiele cellen is het myosine in oplosbare vorm aanwezig (tt spier) maar fungert het eveneens als actine-bindend eiwit)

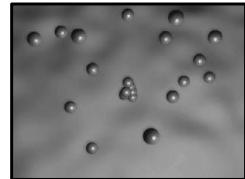
## Actine-microfilamenten



Functie

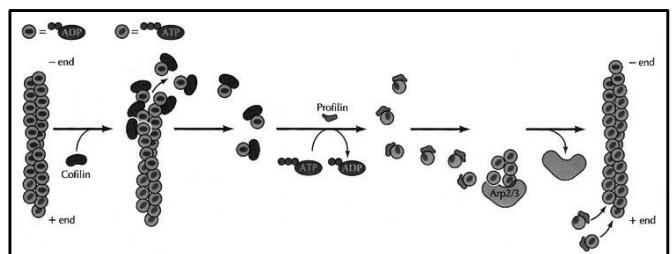
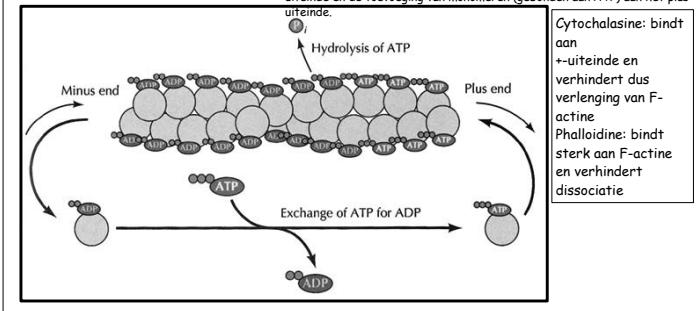
- Tot stand brengen van contractie in spiercellen, door interactie met myosine
- In niet-spiercellen vormen microfilamenten een corticale laag: netwerk onder plasmamembraan
- Microfilamenten zijn betrokken bij dynamische processen zoals endo- en exocytose, contractie van microvilli en bij voortbeweging van cellen
- Veroorzaken cytoplasmastroming





### Tredmolenproces

De --uiteinden van actinefilamenten groeien minder snel dan de +-uiteinden. Dit verschil in groeiritme komt tot uiting in een verschil van de kritische concentratie bij toevoeging van monomeren aan beide uiteinden van het filament. ATP-gebonde actine bindt aan +-uiteinde, waarna het gehydrolyseerd wordt tot ADP-actine. Aangezien ADP-actine zich gemakkelijker losmaakt van de filamenten dan ATP-actine, is de kritische concentratie van actinemonomeren hoger bij toevoeging aan het --uiteinde dan aan +-uiteinde. Het tredmolenproces vindt plaats bij concentraties van monomeren die tussen de kritische concentraties voor de plus- en de minus-uiteinden liggen. Onder deze omstandigheden is er een evenwicht tussen de netto dissociatie van de monomeren (gebonden aan ADP) van het minus-uiteinde en de toevoeging van monomeren (gebonden aan ATP) aan het plus-uiteinde.

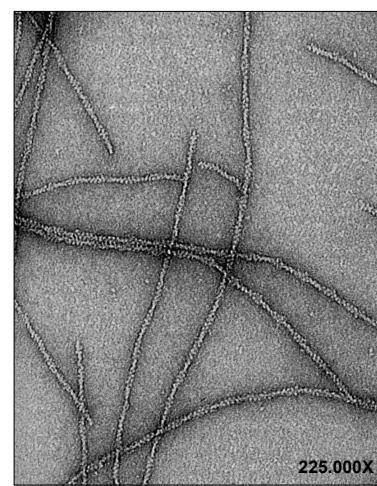


### Effect van actine-bindende eiwitten op de omzettsnelheid van filamenten

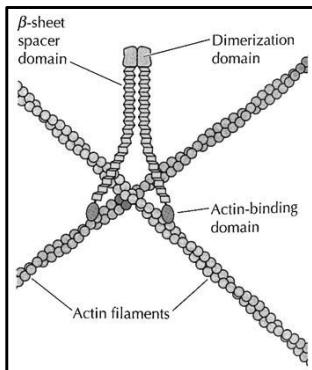
Cofilin bindt aan actinefilamenten en verhoogt zo het dissociatietempo van de actinemonomeren (gebonden aan ADP) van het min-uiteinde. Aangezien cofilin gebonden blijft aan de ADP-actinemonomeren, kunnen deze laatste niet meer ingeschakeld worden voor de wiedersamenstelling van filamenten. Profiline kan echter de uitwisseling van gebonden ADP voor ATP stimuleren, waardoor er ATP-actinemonomeren gevormd worden die opnieuw gepolymeriseerd kunnen worden in filamenten met inbegrip van nieuwe filamenten die geconcentreerd worden door Arp2/3-eiwitten.



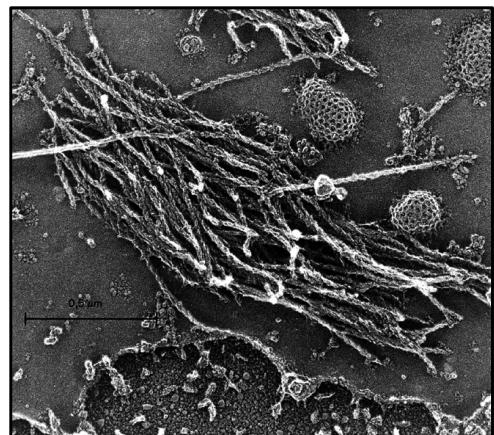
Cytologie-cytoskelet



• Actine vormt met andere proteïnen (bv filamine) een versterkende laag onder de membraan (cfr celcortex)



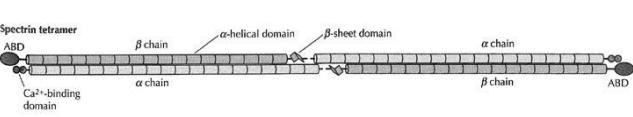
Filamine is een dimeer bestaande uit twee grote (280-kd) subeenheden die een buigzame V-vormige molecule vormen. Deze molecule beschikt over dwarse verbindingen met de actinefilamenten in een orthogonaal netwerk. Het dimerisatiedomain aan het carboxy-uiteinde is gescheiden van de actinebindend domein aan het amino-uiteinde door telkens terugkerende,  $\beta$ -laag spacerdomainen



In compacte actinebundels (bv in microvilli) is het actine geassocieerd met kleine verbindings eiwitten zoals fimbriene en fascine. De meer los georganiseerde actinebundels zijn als contractiele bundels te beschouwen met als voornaamste crosslinking proteïne het  $\alpha$ -actinine

- Specifieke ondersteuning voor de celmembraan wordt bewerkstelligd door interactie van actine via membraanverankeringssproteïnen zoals spectrine en ankyrine (cfr erythrocyten)

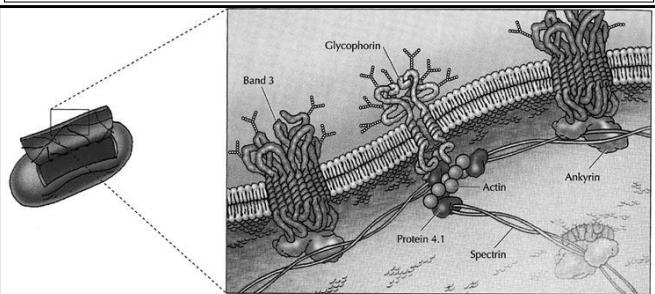
- De specifieke actine-myosine interactie in de spiercel zorgt voor de



Spectrine is een tetrameer bestaande uit twee  $\alpha$ - en twee  $\beta$ -ketens. Elke  $\beta$ -keten is voorzien van een enkel actinebindend domein (ABD) aan zijn amino-uiteinde. Zowel de  $\alpha$ - als de  $\beta$ -ketens bevatten telkens terugkerende  $\alpha$ -helix spacerdomeinen die de twee actinebindende domeinen van de tetrameer opsplitsen. De  $\alpha$ -keten beschikt over twee  $\text{Ca}^{2+}$ -bindende domeinen aan haar carboxyuiteinden

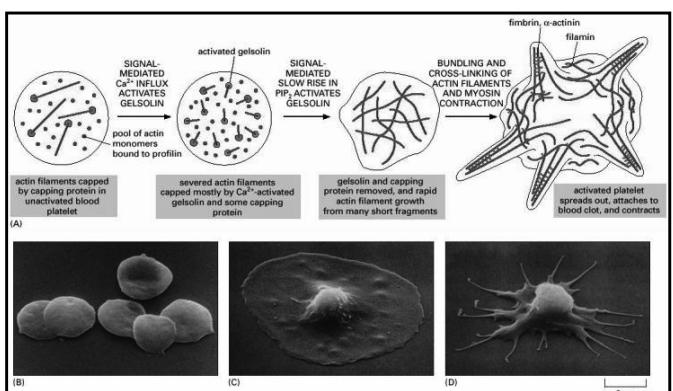
- Actine speelt een belangrijke rol in de vorm van erythrocyten
- Actine speelt eveneens een rol in de activatie van bloedplaatjes
- Actine vormt samen met myosine het contractiele apparaat van de cel (a.vorming van sarcomeren)

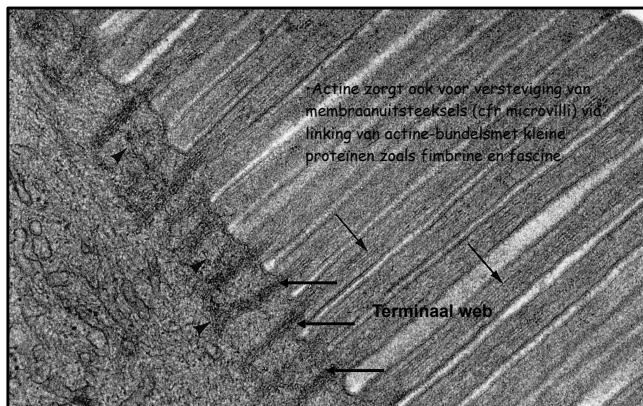
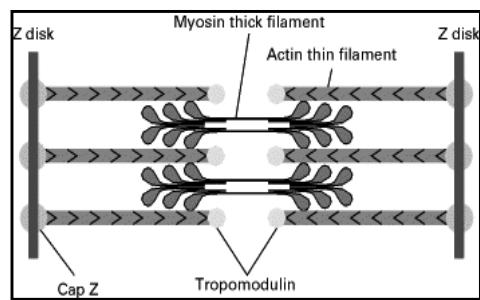
## Verband tussen het cytoskelet van de celwand en de plasmamembraan in erythrocyten

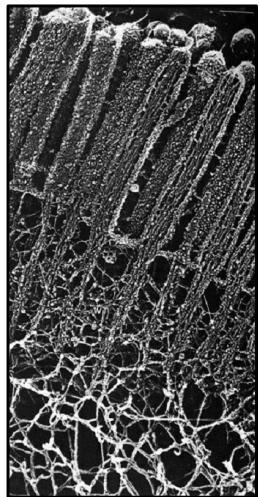


Onder de plasmamembraan bevindt zich een netwerk van spectrinetetrameren die aan elkaar gelinkt zijn door verbindingen van korte actinefilamenten en het eiwit 4.1. Dit spectrine/actinenetwerk is verbonden met de membraan door ankyrine, dat zich bindt aan zowel spectrine als de overvloedig aanwezige transmembraneuze eiwitband-3. De verbindingen tussen eiwit 4.1 en glycoforine zorgt voor een bijkomende link.

## Vorm/plasticiteit van bloedplaatjes





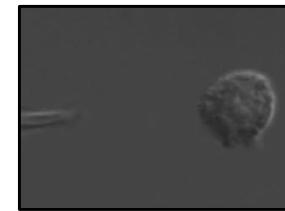
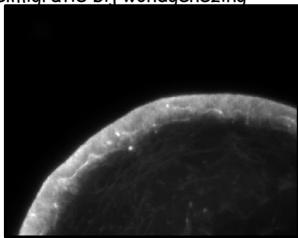


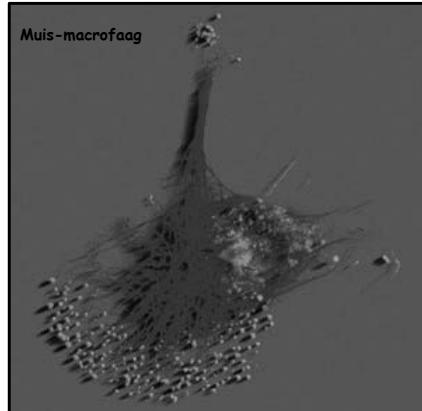
**Celbeweging**

Amoeboide celbeweging (cfr éénzelligen, leucocyten, macrofagen;  $0.5\mu\text{m/sec}$ )

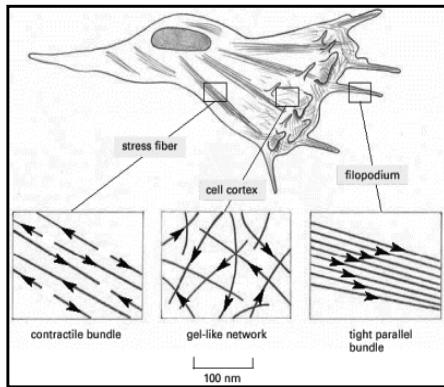
Anderen vormen van celbeweging

- Mitose (cytokinese; verlenging spoelfiguur)
- uitzwermen van celgroepen tijdens embryogenese
- celmigratie bij wondgenezing

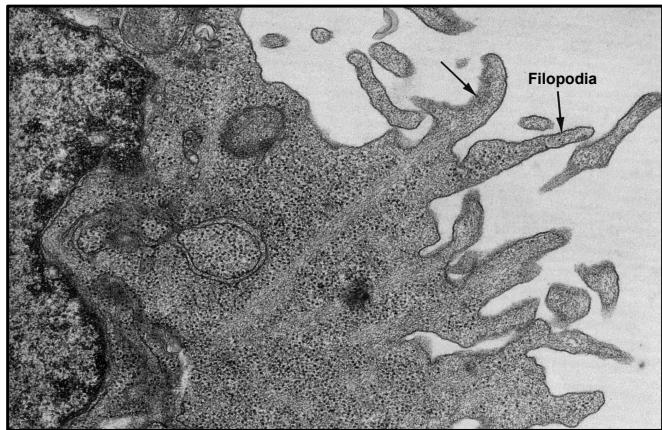




Muis-macrofaag  
Cy5: anti-tubuline, kleurt microtubuli  
TexasRed: anti-phalloidine, kleurt actine-filamenten  
FITC: anti-L-fimbrine (crosslinkt actine)



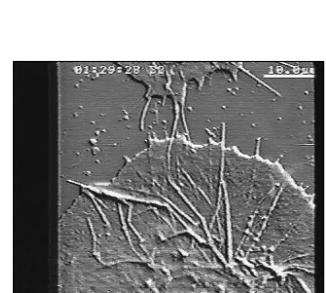
**Actine-filamenten: celmigratie (rol bij migratie + adhesie)**



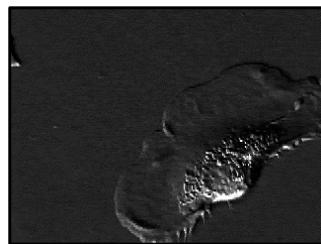
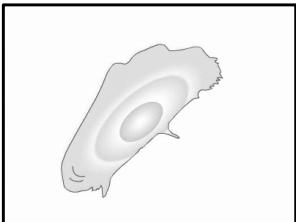
Cel adhesion plaques: rijk aan actine-bindende proteïnen zoals vinculine en  $\alpha$ -actinine

**Cytologie-cytoskelet**

**Actine-filamenten: celmigratie (rol bij migratie + adhesie)**



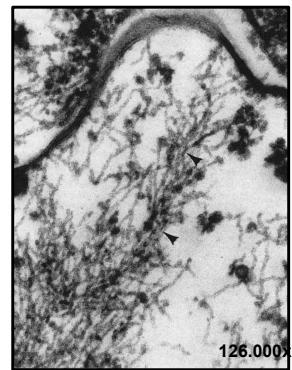
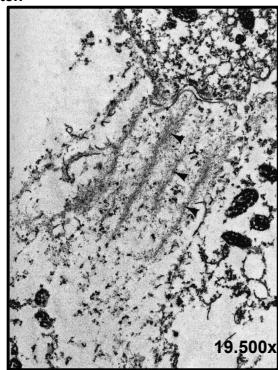
Actine-myosine interactie in niet-contractiele cellen

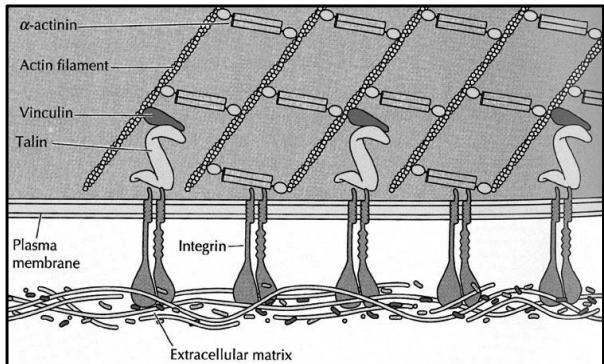


1. Extensie van lamellipodia
2. Hechting aan substraat
3. Translokatie
4. Loskomen van substraat

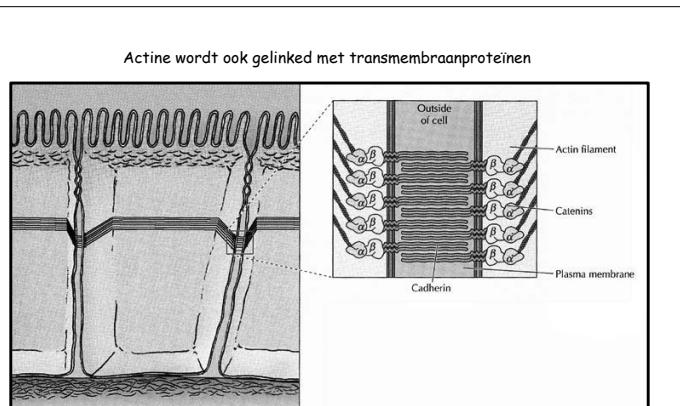
**Stressvezels (Stress-fibres)=bundels van actinefilamenten met crosslinks tussen de actine-filamenten via  $\alpha$ -actinine moleculen**

In actieve cellen zoals amoeba weinig klassieke stressvezels; bij adhesie wel vorming van aggregaten



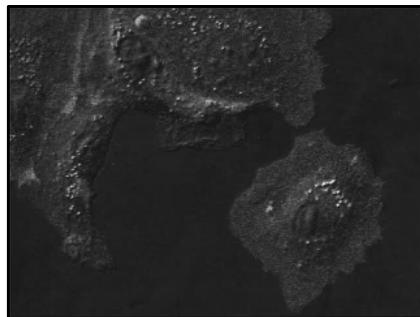


Spotgewijze aanhechtingsplaatsen zijn plaatsen waar integrinen gebonden zijn aan de eiwitten van de extracellulaire matrix. Stressvezels (bundels actinefilamenten die via  $\alpha$ -actinine aan elkaar gecrosslinkt zijn) binden vervolgens aan het cytoplasmadomein van de integrinen d.m.v. complexe verbindingen waarbij een aantal eiwitten betrokken zijn. Op deze tekening zijn twee mogelijke verbindingen weergegeven: 1) Taline bindt zowel aan integrine als aan vinculine, dat op zijn beurt bindt aan actine, en 2) integrine bindt aan  $\alpha$ -actinine. Ter hoogte van deze aanhechtingsplaatsen bevinden zich nog een aantal andere eiwitten (niet afgebeeld) die mogelijk meehelpen om de stressvezels aan de plasmamembraan te verankeren.



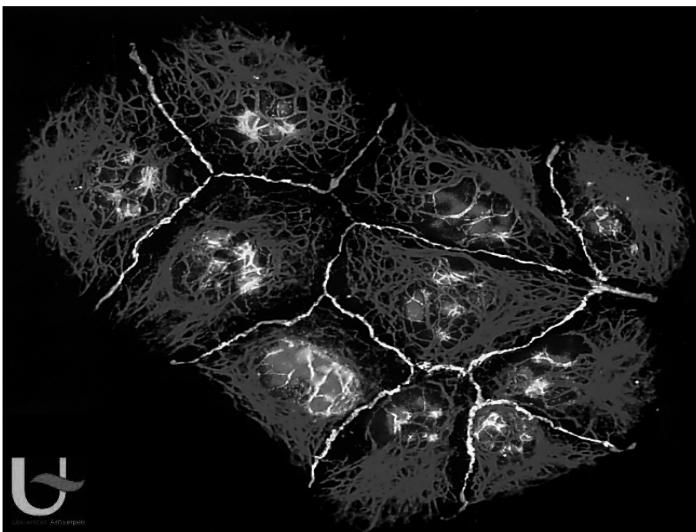
Aanhechting van actinefilamenten aan adhaerensverbindingen  
De contacten tussen cellen onderling ter hoogte van de adhaerensverbindingen worden tot stand gebracht door cadherinen, die dienst doen als aanhechtingsplaatsen voor actinebundels. In de epiteelcelllagen vormen deze verbindingen een continue gordel van actinefilamenten rond elke cel. Cadherinen zijn transmembranuze eiwitten die  $\beta$ -catenine binden aan hun cytoplasmadomeinen.  $\beta$ -catenine reageert met  $\alpha$ -catenine, dat fungeert als een link naar de actinefilamenten.

Actine wordt ook gelinked met transmembraanproteïnen



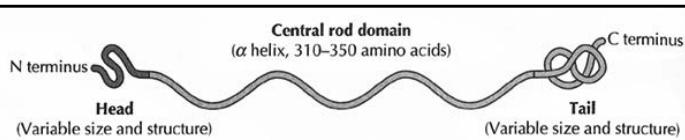
Aanhechting van actinefilamenten aan adhaerensverbindingen

De contacten tussen cellen onderling ter hoogte van de adhaerensverbindingen worden tot stand gebracht door cadherinen, die dienst doen als aanhechtingsplaatsen voor actinebundels. In de epithelialcellagen vormen deze verbindingen een continue gordel van actinefilamenten rond elke cel. Cadherinen zijn transmembraneuze eiwitten die  $\beta$ -catenine binden aan hun cytoplasmadomeinen.  $\beta$ -catenine reageert met  $\alpha$ -catenine, dat fungeert als een link naar de actinefilamenten.



## Intermediaire filamenten

Algemene kenmerken



Diameter filamenten: 8-10 nm  
Intermediaire filamenten blijven uit microtubuli en microfilamenten intact ook tijdens celdeeling en depolymeriseren dus niet

## Cytoskelet: intermediaire filamenten

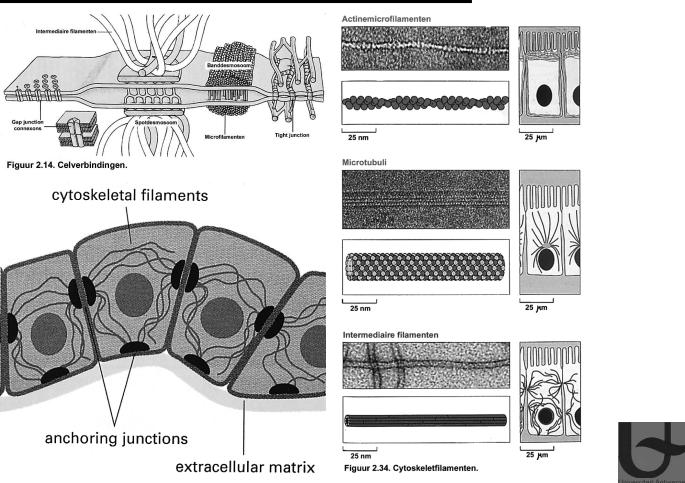
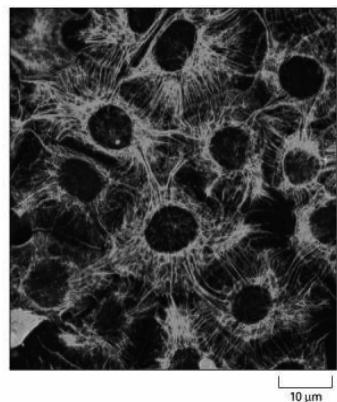


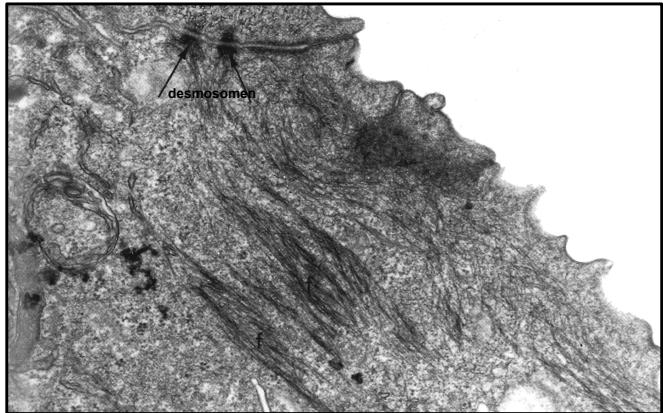
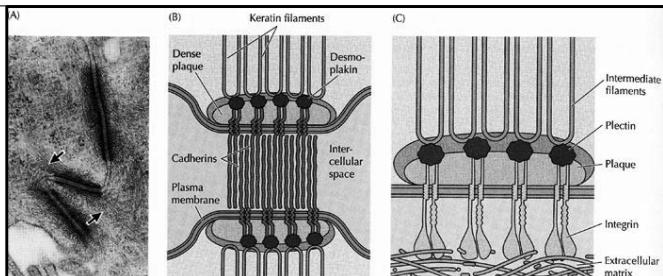
TABLE Intermediate Filament Proteins

Type	Protein	Size (kd)	Site of expression
I Acidic keratins (~15 proteins)		40-60	Epithelial cells
II Neutral or basic keratins (~15 proteins)		50-70	Epithelial cells
III	Vimentin	54	Fibroblasts, white blood cells, and other cell types
	Desmin	53	Muscle cells
	Glia fibrillary acidic protein	51	Glia cells
	Peripherin	57	Peripheral neurons
IV	Neurofilament protein		
	NF-L	67	Neurons
	NF-M	150	Neurons
	NF-H	200	Neurons
	$\alpha$ -Internexin	66	Neurons
V	Nuclear lamins	60-75	Nuclear lamina of all cell types
VI	Nestin	200	Stem cells of central nervous system



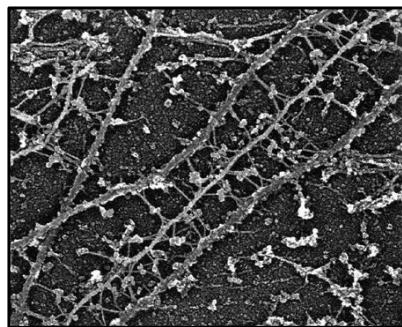
Keratinfilamente in epitheliale cellen

Intermediaire filamenten: tonofilamenten in epithel van urineblaas

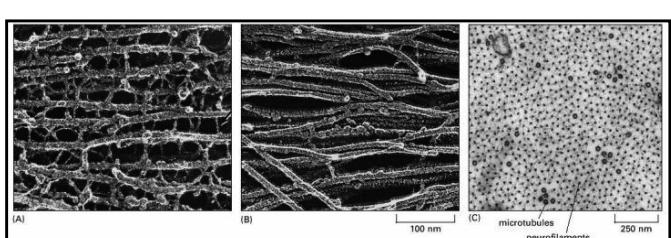
**Aanhechting van intermediaire filamenten aan desmosomen en hemidesmosomen**

(A) Elektronenmicroscopisch beeld van keratinefilamenten (pijltjes) die aan beide kanten van een desmosoom vastgehecht zijn aan de dichte 'plaques' van intracellulaire eiwitten. (B) Schematische afbeelding van een desmosoom. De intermediaire filamenten zijn aan de aanhechtingsplaatsen tussen de cellen verankerd d.m.v. desmoplakine. (C) Schematische afbeelding van een hemidesmosoom. De intermediaire filamenten zijn aan een integrine verankerd door plectine.

**Elektronenmicroscopische opname van de plectinebruggen tussen intermediaire filamenten en microtubuli**

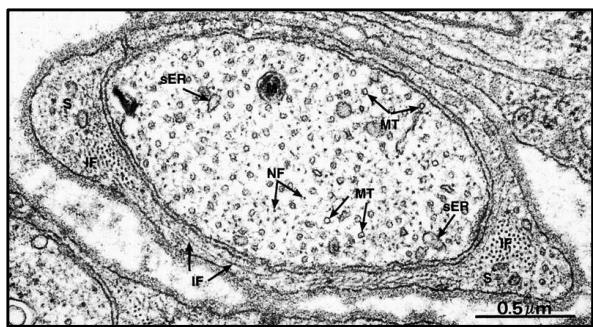
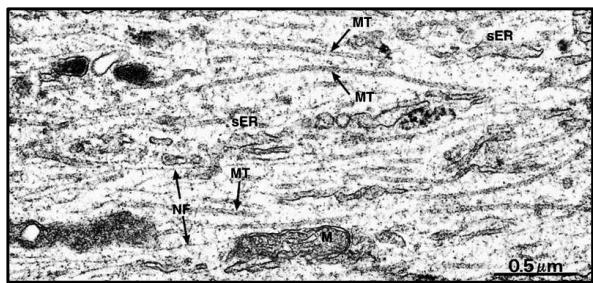


Microtubuli intermediaire filamenten plectinebruggen antilichamen tegen plectine



neurofilamenten

gliafilamenten



Uitloper fibreuze astrocyt: gliafilamenten

