

Kapitel 10

Membran Struktur

von Sybille Schwendener, ssybille@student.ethz.ch

Die Zusammenfassung bezieht sich auf den Alberts, 3. englische Auflage und enthält Ergänzungen aus den Power Point Folien von Prof. Helenius.

Der Schwerpunkt liegt im Kapitel 10 auf der Plasmamembran und deren Komponente Lipide und Proteine.

Lipid Bilayer

Membranlipide sind amphipathische Moleküle, d. h. sie besitzen ein polares und ein apolares Ende und bilden in wässriger Lösung spontan Bilayer und Micellen. Dabei aggregieren die apolaren Reste der Lipidmoleküle und liegen dicht im Innern, während die polaren Kopfgruppen die Kontaktfläche zum Wasser bilden. Dieses Verhalten wird durch den hydrophoben Effekt erklärt. Die H-Brückenbildung zwischen den Wassermolekülen wird so am wenigsten eingeschränkt und der Entropieverlust wird minimiert.

Membranlipide

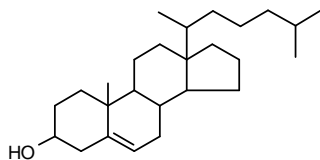
Es werden 2 Typen von Lipiden unterschieden:

- A) Lipide die Bilayer bilden: Phospholipide, einige Glycolipide
- B) Lipide die keine Bilayer bilden können, sich aber in bestehende Bilayer integrieren: Cholesterol, Ganglioside (Glycolipide), Lysophospholipide, Tri- und Diglyceride und Isoprenoide

Strukturen und Beispiele

Cholesterol:

Steroidmolekül mit kleiner polarer Kopfgruppe –OH. Cholesterol findet man nicht in Bakterienmembrane.

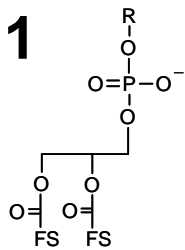


Glycolipide:

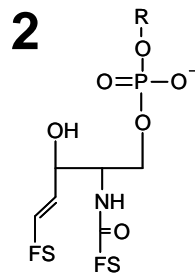
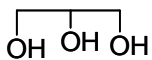
Lipidmoleküle mit kovalent gebundenen Oligosaccharide. Bei Pflanzen und Bakterien sind die Zuckereinheiten bevorzugt an Glycerolipide (Derivate von Glycerol), bei Tieren an Sphingosine gebunden. (Beispiel Gangliosid: Zuckerbäumchen enthalten ein oder mehrere „sialic acid“ und daher negative Ladung, **Fig 10-12**)

Phospholipide	Beispiel	-R	Bemerkung
1 Glycerophospholipid	-PC Phosphatidylcholin	$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$	Negative Nettoladung
	-PS Phosphatidylserin	$-\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{NH}_3^+)\text{COO}^-$	
	-PE Phosphatidylethanolamin	$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_3^+$	
	-PI Phosphatidylinositol	-6-Ring mit 5 OH-Substituenten	
2 Sphingolipid	-SPH Sphingomyelin	$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$	Oft längere Fettsäuren

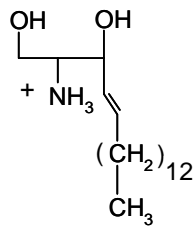
FS steht für Fettsäurerest, Anzahl C-Atome liegt zwischen 14-24, ein FS ist oft gesättigt der andere ungesättigt, cis Doppelbindungen kommen häufig vor und verursachen einen Knick in der Kohlenwasserstoffkette.



Glycerol



Sphingosin



Flüssigkeit (Fluidity) und Durchlässigkeit von Lipidbilayer

Die Flüssigkeit von Lipidbilayer kann an Liposomen (Phospholipidvesikel in Wasser) studiert werden und hängt wesentlich von den Lipidkomponenten ab.

Allgemein nimmt die Viskosität mit fallender Temperatur zu. Der Schmelzpunkt kann aber durch viele FS mit cis Doppelbindungen, kurze FS und Einlagern von Cholesterol erniedrigt werden. Die Interaktion zwischen den FS wird dabei erschwert. Bei ungesättigten FS liegen die Lipidmoleküle weiter auseinander, die Membran ist daher flüssiger. Das starre Steroidgerüst des Cholesterols schränkt die Beweglichkeit der Moleküle ein, macht die Membran fester und stabiler. Die lateral Diffusion von Lipiden ist ca. 2 mm pro sec. Flip-flop Bewegungen werden selten beobachtet.

Die Durchlässigkeit von Lipidbilayer kann an „black membran“ (planare Membran zwischen 2 Wasserräumen, **Fig 10-5**) studiert werden.

Die Bilayer ist für Moleküle durchlässig, die nicht zu gross und polar sind: Gut passieren können apolare Moleküle wie O₂, CO₂, N₂, Benzol, kleine polare Stoffe wie H₂O, Glycerol, Urea, nicht passieren können grössere polare Moleküle wie Glucose und alle Ionen.

Biologische Lipidbilayer sind asymmetrisch

Nur in der extrazellulären Monolayer kommen Glycolipide vor und es dominieren die Lipide PC, SPH. In der cytosolischen Lage sind die Lipide PE, PS und PI häufiger. Cholesterol findet sich in beiden Lagen etwa gleich häufig.

Diese Asymmetrie wird in der ER- und Plasmamembran mit Hilfe von „flippasen“ und „scramblasen“ erreicht.

Die biologische Lipidbilayer besteht aus vielen verschiedenen Lipiden. Diese Heterogenität garantiert eine angepasste Flüssigkeit, kann Membranproteine spezifisch integrieren, bildet Microdomänen (Bsp. Rafts, Lipidstellen mit hohem Anteil SPH und Cholesterol) und ermöglicht Signaltransduktion.

Membran Proteine

Membran Proteine definieren viele Eigenschaften von Membranen. Ihre Art und Menge kann stark variieren nach Membrantyp. In der Plasmamembran ist der Proteinanteil ca. 50 Massenprozent. Es werden verschiedene Typen von Membranproteine nach ihrer Art der Verankerung an/in der Membran unterschieden.

(**Fig 10-13**)

Membranproteine	Bindung an Membran	Ablösen von Membran
Periphere Proteine	nicht kovalent, über Wechselwirkungen zu Membranproteine	durch hohen Salzgehalt oder extremer pH-Wert
Integral Proteine	<p>Transmembranproteine:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Typ I: nur ein Peptidstrang durchquert Membran (single span), C-Terminus liegt im Cytosol -Typ II: single span, N-Terminus im Cytosol -politopic: Membran wird mehrmals durchquert (multiple span) <p>Lipidgebundene Proteine:</p> <p>Proteine sind kovalent an Lipide gebunden und in einer Monolayer verankert.</p> <p>-Verankerung in cytosolischen Monolayer (Fig-10-14)</p> <ul style="list-style-type: none"> -Protein über Amidbindung gebunden -Protein über Thioesterbindung von methyliertem Cystein gebunden <p>-Verankerung in extrazellulären Monolayer</p> <ul style="list-style-type: none"> -Protein an Glycosylphosphatidylinositol gebunden (PI mit Zuckereinheiten) 	<p>durch Detergentien (kleine amphipatische Moleküle, die in Wasser Micellen bilden)</p> <ul style="list-style-type: none"> -SDS: denaturiert Proteine und lädt sie negativ auf (wird zur Grössenbestimmung eingesetzt , SDS-PAGE) -Triton: mildes Detergens, Proteine bleiben in nativer Form und behalten ihre Funktion <p>Diese Proteine können auch über spezifische Lipasen von Membran abgeschnitten werden.</p>

Transmembransegmente von Proteinen

Die hydrophobe Membranschicht wird als α -helix oder β -barrel durchquert. Diese regelmässigen Sekundärstrukturen erlauben es den Peptidbindungen untereinander H-Brücken zu bilden.

Die Seitenketten der Transmembransegmente sind meistens apolar. An der cytosol Seite findet man oft positiv geladene Aminosäuren (positive inside rule), an der extrazellulären Seite kommen oft aromatische Aminosäuren vor (Trp, Tyr).

Um die Membran mit einer α -helix zu durchqueren, sind 20-30 As nötig. α -Helices sind in hydrophaty plots erkennbar (**Fig 10-16**). Mehrere kurze Peptidsequenzen (≤ 10 As) bilden β -barrel (zylindrische Kanäle, Bsp. Porine, **Fig 10-32**).

Experimentelle Untersuchungen der Plasmamembran

Die Plasmamembran des roten Blutkörperchen ist am besten untersucht. An Erythrocyten kommt man leicht heran und die reine Plasmamembran (Ghost) kann einfach durch Lyse der Zelle gewonnen werden, da es keine intrazellulären Membrane gibt (**Fig 10-23**). Im Kapitel 10 sind 3 häufige Proteine der Erythrocytenmembran erklärt:

1) Spectrin (**Fig 10-25, 10-26**)

Ein intrazelluläres, peripheres Membranprotein, das aus langen flexiblen Ketten besteht, die Dimere und Tetramere bilden. Die Tetramere sind über Aktinmoleküle zu einem Netz verbunden, das die ganze innere Membranschicht auskleidet und eine Komponente des Cytoskelett ist. Dieses Netz gibt dem Erythrozyt seine bikonkave Form und macht es strapazierfähig. Spectrin ist indirekt mit Transmembranproteinen verbunden: über Ankyrin mit Band 3 und über Aktin, Band 4.1 mit Band 3 und Glycophorin.

2) Glycophorin (**Fig 10-29**)

Transmembranprotein, das die Membran mit einer α -helix durchquert. Die Funktion ist nicht bekannt.

3) Band 3

Band 3 ist ein multiple span Transmembranprotein, das als Anionentransporter funktioniert. HCO_3^- und Cl^- können gegeneinander ausgetauscht werden. Band 3 erleichtert so den Rücktransport von CO_2 aus dem Gewebe zur Lunge. Das als HCO_3^- gelöste CO_2 kann die Erythrocytenmembran passieren.

Bakterien-Transmembranprotein: Bakteriorhodopsin (**Fig 10-31**)

Einige Bakterien können Energie aus dem Sonnenlicht gewinnen. Das multiple span Transmembranprotein Bakteriorhodopsin hat eine Licht absorbierende Gruppe (=Chromophor), die durch ein Photon angeregt wird. Das Molekül erfährt dadurch eine Konformationsänderung und ein H^+ wird von Innen nach Aussen transportiert. Der generierte H^+ -Gradient kann anschliessend benutzt werden um ATP zu produzieren. Auch bei Wirbeltieren sind Proteine mit Licht absorbierenden Eigenschaften bekannt (Rhodopsin in Retina ist an Signaltransduktion beteiligt).

Mit Hilfe von Marker können Transmembranproteine und deren Orientierung bestimmt werden. Als Marker dienen mit Fluoreszenzgruppe oder mit radioaktiven Isotopen gelabelte Moleküle, die kovalent an Proteine binden, wasserlöslich sind, die Membran aber nicht passieren können. Right-side und insideout Vesikel werden mit dem Marker behandelt und das Bindungsergebnis mit SDS-PAGE verfolgt. Die genaue Orientierung der Proteine muss mit sequenzspezifische Antikörper entschlüsselt werden.

Auch die Diffusion von Membranproteinen kann beobachtet werden:

- Hybridzellenversuch (**Fig 10-34**): Das Durchmischen von gelabelten Membranproteinen kann nach der Fusion von zwei verschiedenen Zellen verfolgt werden.
- patching and capping (**Fig 10-35**): Als Ligand dient ein mehrwertiger Antikörper, der seine Antigene (Membranproteine) aggregieren lässt.
- FRAP fluorescence recovery after photobleaching (**Fig 10-36**): In einer kleinen Membranfläche wird der fluoreszierende Farbstoff von gelabelten Proteinen mit dem Laser zerstört. Die Diffusion von nun ungelabelten Proteinen aus dieser Fläche und gelabelten Proteinen in die Fläche hinein wird beobachtet.

Die lokale Diffusion von Membranproteinen und Lipiden der äusseren Monolayer kann aber auch eingeschränkt sein (**Fig 10-39**):

- In Epithelgewebe definieren tight junction einen apikalen und basal-lateralen Membranbereich.
- Es wird Selbstaggregation von Molekülen zu Komplexen beobachtet.
- Die Beweglichkeit von Molekülen kann über Bindungen zu Komponenten der extrazellulären Matrix oder ans Cytoskelett eingeschränkt sein.
- Auch Zell-Zell Adhesion kann Molekülbewegungen einschränken.

Die biologische Membran ist asymmetrisch

Proteine zeigen ,neben den Lipiden, weitere Asymmetrien. Jedes Protein besitzt eine definierte Orientierung in der Membran. Disulfidbrücken werden nur zwischen Cysteinresten an der Zelloberfläche ausgebildet (das Cytosol wirkt reduzierend) und auch Proteine tragen kovalent gebundene Oligosaccharide nur an der Zelloberfläche. Die unzähligen gebundenen Zucker der Glycoproteine und Glycolipide bilden einen Zuckermantel (Glycocalyx, **Fig 10-41**). Dieser gibt der Zelle mechanische und chemische Stabilität, erlaubt spezifische Zell-Zell Erkennung und Adhesion über zuckerbindende Proteine (Lectine), hält die Zellen aber auch auf Distanz und verhindert ungünstige Wechselwirkungen.

11 Membrane Transport of Small Molecules and the Ionic Basis of Excitability

Principles of Membrane Transport

Protein-free Lipid Bilayers Are Highly Impermeable to Ions

Relative Permeabilität einer synthetischen Lipiddoppelschicht:

durchlässig für: O₂, CO₂, N₂, Benzol = hydrophobe Moleküle

Wasser, Urea, Glycerol = kleine ungeladene Moleküle

undurchlässig für: Glucose, Sucrose = grosse ungeladene polare Moleküle

H⁺, Na⁺ usw. = Ionen

There Are Two Main Classes of Membrane Transport Proteins-Carrier and Channels

Damit die Zellmembranen polare Moleküle wie Ionen, Zucker, Aminosäuren, Nucleotide und Produkte des Zellmetabolismus durchlassen können, sind Membrantransportproteine vonnöten. Es gibt deren zwei Klassen : Carrier Proteine (auch Permeasen), welche eine Konformationsänderung eingehen bei Transport eines „solute“, und Channel Proteins, welche wassergefüllte Poren sind. Dass diese zwei Klassen von Proteinen **spezifisch** die oben genannten Moleküle passieren lassen entdeckte man Mitte der 50er Jahre an Bakterien, die eine einzige Genmutation aufwiesen die bewirkte, dass spezifische Zucker von den Bakterien nicht mehr durch die Plasmamembran transportiert werden konnten. Dasselbe bei der Erbkrankheit **Cystinurie**: ein geschädigtes Transportsystem ist dafür verantwortlich, dass spezifische Aminosäuren nicht mehr vom Urin oder dem Darm ins Blut transportiert werden können => Cystine stones in den Nieren

Active Transport Is Mediated by Carrier Proteins Coupled to an Energy Source

Passiver Transport (“downhill” oder facilitated diffusion) wird durch Carrier Proteins und Channel Proteins ermöglicht, aktiver Transport (“uphill”) bei dem der **elektrochemische Gradient**, zusammengesetzt aus Konzentrationsgradient und dem Voltage Gradient (= elektrische Potentialdifferenz), überwunden wird, wird nur von Carrier Proteinen ermöglicht. Die Geschwindigkeit, mit der ein gelöstes Produkt transportiert wird ist proportional zu dem Unterschied in den Konzentrationen auf beiden Seiten der Membran. Wenn man diese Konzentrationsdifferenz (mol/cm³) mit dem Permeabilitätskoeffizienten (cm/sec) multipliziert erhält man den **Fluss** in Mol pro Sekunde und Quadratzentimeter **durch die Membran**.

Recombinant DNA Technology Has Revolutionized the Study of Membrane Transport Proteins

Wenn DNA die für Transportproteine codiert, **kloniert** wird und **sequenziert**, kann die Aminosäuresequenz der Polypeptidkette bestimmt werden und die Anzahl

Transmembranhelices durch einen hydropathy plot (Kap. 10).

Wenn man wissen will, welche Segmente auf der einen oder anderen Membranseite lokalisiert sind, macht man den Gebrauch von **Antikörpern**.

Wenn man an DNA Sequenzen eine ortsspezifische Mutation durchführt (site specific mutagenesis) und die entsprechende mutante mRNA in eine Kultur von Xenopus Oocyten injiziert, kann man nach der Proteinsynthese das Verhalten des Mutanten Transportproteins

beobachten. So kann man für die Funktion des Proteins wichtige Aminosäurereste und Segmente identifizieren.

Wenn man DNA, die für Proteine codiert, isoliert, hat man ein Vergleichsstück und kann verwandte DNA Sequenzen isolieren, welche für homologe Proteine codieren. Auf diese Weise fand man heraus, dass eine kleine Anzahl an Protein Familien für den Membrantransport verantwortlich ist. Innerhalb der Familien existieren verschiedene Varianten von Proteinen, die **Isoforme**. Diese unterscheiden sich in:

- Transportaktivität
- Zeit der Expression in der Entwicklung
- Verteilung im Gewebe
- Ort, an dem sie in der Zelle vorkommen

Ionophores Can Be Used as Tools to Increase the Permeability of Membranes to Specific Ions

Ionophore sind kleine hydrophobe Moleküle, die die Permeabilität von Lipidschichten gegenüber spezifischen anorganischen Ionen erhöhen (-> vielleicht von Mikroorganismen synthetisiert). Es gibt zwei Klassen von Ionophoren : **Channel Formers** und **Mobile Ion Carriers**. Sie sind nicht an eine Energiequelle gekoppelt.

Beispiele: Mobile Ion Carrier: - **Valinomycin** : K^+ Transport

- **Ionophore A23187** : Transport von divalenten Kationen (Ca^{2+} / Mg^{2+} hinein, H^+ aus der Zelle)

Ionophore : - **Gramicidin A**: monovalente Kationen- Transport ein Dimer, instabil (-> Fig. 11.6), Transport von 20 000 Kationen / ms und Kanal, das sind 1000 mal mehr als bei einem Mobile Ion Carrier

Carrier Proteins and Active Membrane Transport

Jedes Carrier Protein hat eine charakteristische **Bindungskonstante K_M** , die der Konzentration des transportierten Moleküls entspricht bei halber Transportgeschwindigkeit. Je nach Kinetik des Transports unterscheidet man bei den Carrier Proteinen Uniporter und gekoppelte Transporter (Synporter-Antiporter). Ein Beispiel für ein Antiporter ist das band 3 Molekül (-> Kap. 10) .der menschlichen roten Blutzellen. Es tauscht Cl^- gegen HCO_3^- aus. Carrier Proteine sind **multipass transmembran Proteine** und quasi in der Membran verankert. Transport geschieht bei Wechseln des conformational state / -> Fig. 11.9)

The Plasma Membrane Na^+-K^+ Pump Is an ATPase

Diese Pumpe hydrolisiert ATP um 3 Na^+ in den extrazellulären Raum pumpen zu können bzw. 2 K^+ ins Cytosol zu bringen (genauer Mechanismus -> Fig. 11.11) Dass ATP gebraucht wird fand man heraus durch Studien von „resealed red blood ghosts“, in denen der Inhibitor der Pumpe **ouabain** auch die ATPase inhibierte. Dieser Inhibitor ist nur ausserhalb der Zelle wirksam, wo er mit K^+ um die binding site an der Pumpe „kämpft“.

Die Na^+-K^+ Pumpe kann auch zur ATP Synthese verwendet werden, falls der elektrochemische Gradient grösser ist als die chemische Energie der ATP Hydrolyse. Der Antiporter besteht aus einem multipass transmembran katalytischen Subunit (ca. 1000 AS lang) und einem kleineren single pass Glycoprotein, dessen Funktion unklar ist, bis auf dass es notwendig ist, um das katalytische Subunit zur Plasma Membran zu transportieren.

The Na⁺-K⁺ ATPase Is Required to Maintain Osmotic Balance and Stabilize Cell Volume

Da 3 Na⁺ hinaus und 2 K⁺ in die Zelle hinein gepumpt werden ist die Na⁺-K⁺ ATPase **elektrogen**. Dieser Effekt trägt mehr als zehn Prozent zum Membranpotential bei. Die Pumpe kontrolliert die solute Konzentration im Inneren der Zelle und verhindert so osmotische Kräfte (die von den fixed anions, die als Gegenionen vorhanden sind, generiert werden). Das Problem der höheren Ionenkonzentration (anorganische) im Inneren der Zelle durch die Anwesenheit von geladenen Makromolekülen und Metaboliten , welche eben diese anziehen, nennt man den **Donnan Effekt**. Lösung => tierische Zellen pumpen Na⁺ aus der Zelle bzw. anorganische Ionen, Pflanzenzellen haben durchlässige Zellwände, Protozoen kontraktile Vakuolen.

Some Ca²⁺ Pumps Are Also Membrane-bound ATPases

Es gibt 2 Ca²⁺ Pumpen, welche Ca²⁺ aktiv aus der Zelle befördern. Eine ist eine ATPase und die andere ein Antiporter. Die bekannteste ist wohl die **Ca²⁺ membrangebundene ATPase** im sarkoplasmatischen Retikulum (-> Kap. 16) , welche für das Pumpen von Ca²⁺ vom Cytosol ins S.R. verantwortlich ist. Na⁺ K⁺ ATPasen und Ca²⁺ ATPasen sind homologe Proteine, bei welchen das katalytische Subunit in multiplen Isoformen vorkommt und etwa 10 membrandurchspannende Helices besitzt. Dieses Subunit wird phosphoryliert und dephosphoryliert während eines „pumping cycle“.

Membrane-bound Enzymes That Synthesize ATP Are Transport ATPases Working in Reverse

Die ATP Synthese aus ADP und Phosphat wird durch **H⁺ Gradienten** angetrieben, welche entstehen bei den Elektronentransportschritten der oxidativen Phosphorylierung oder Photosynthese. Die Enzyme, die ATP synthetisieren nennt man ATP Synthasen.

Active Transport Can Be Driven by Ion Gradients

Primärer aktiver Transport: Transport ATPasen, transportieren Ionen auf direktem Wege

Sekundärer aktiver Transport: Ion-driven Carriers , der Transport geschieht auf Grund der Verfügbarkeit von freier Energie, die durch die Bewegung von anorganischen Ionen, die sich downhill bewegen, frei wird.

Na⁺-driven Carrier Proteins in the Plasma Membrane Regulate Cytosolic pH

Der cytosolische PH wird durch die Na⁺ driven Antiporter bei etwa 7.2 gehalten. Zwei Mechanismen werden gebraucht: 1. H⁺ wird direkt aus der Zelle transportiert 2. HCO₃⁻ wird in die Zelle importiert um das überschüssige H⁺ zu neutralisieren. Die Energie für die Transporte liefert der Na⁺ Gradient.

Beispiele für Na⁺ dependent Transporter:

-**Na⁺-H⁺ exchanger**, braucht Mechanismus 1

-**Na⁺ driven Cl⁻HCO₃⁻ exchanger**, braucht beide Mechanismen

Hineinfließen von Na⁺ und HCO₃⁻

Rausfließen von Cl⁻ und H⁺

-Na⁺HCO₃⁻ Synporter, ist elektrogen, da er für jedes Na⁺ zwei HCO₃⁻ in die Zelle schiebt

Falls der pH in der Zelle zu alkalisch wird, kommt ein $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ exchanger zum Einsatz, wobei HCO_3^- aus der Zelle fließt entlang dem elektrochemischen Gradienten. Der tiefe pH in Lysosomen und Endosomen wird von H^+ ATPasen reguliert.

An Asymmetrical Distribution of Carrier Proteins in Epithelial Cells Underlies the Transcellular Transport of Solutes

(-> Fig. 11.13)

Some Bacterial Transport ATPases Are Homologous to Eukaryotic Transport ATPases Involved in Drug Resistance and Cystic Fibrosis: The ABC Transporter Superfamily

Die ersten Proteine der ABC Superfamily wurden in Bakterien gefunden. Es sind Transport ATPasen, die in der inneren Membran zu finden sind bei gram-negativen Bakterien (-> Fig. 11.14). Ihr **Name** kommt daher, dass sie eine hoch konservierte **ATP binding Kasette** haben. Die **Substrate**, die transportiert werden von den über **50 ABC Transportern** (Spezifität !) sind: AS, Zucker, anorganische Ionen, Polysacharide, Peptide und sogar Proteine.

In Eukaryoten wurden die Transporter entdeckt wegen ihrer Fähigkeit, hydrophobe drugs aus der Zelle zu pumpen. Bsp. : **MDR** , multi drug resistance protein, welches in menschlichen Krebszellen überexprimiert ist => Resistenz gegen therapeutische Mittel

Verschiedene **Aufgaben** der ABC Transporter:

In **Hefe** -> Export des mating Pheromons

In **vertebraten Zellen** -> Peptidtransport vom Cytosol ins ER

In **Epithelzellen** -> Cl^- Kanal in der Plasmamembran, Mutation on dem Gen => Cystische Fibrose
Braucht ATP Hydrolyse und cAMP – dependent Phosphorylation zur Öffnung

MDR Protein -> auch Funktion als Cl^- Kanal, durch Zellvolumen reguliert

Ein typischer ABC Transporter besteht aus **4 domains**. Aus 2 hoch hydrophoben (je 6 membrane spanning helices) und zwei ATP bindenden katalytischen Domänen, die im Cytosol lokalisiert sind (-> Fig. 11.16)

Ion Channels and Electrical Properties of Membranes

Im Gegensatz zu Bakterien, die gap junctions und Porine als kanalförmende Proteine in der äusseren Plasmamembran besitzen , haben Pflanzenzellen und tierische Zellen spezifische Kanäle für den Transport von anorganischen Ionen: Ion Channels. Diese können pro Sekunde je 1 Mio. Ionen passieren, wobei aber der Transport nicht an eine Energiequelle gekoppelt werden kann.

Ion Channels Are Ion Selective and Fluctuate Between Open and Closed States

Ionenkanäle sind im Gegensatz zu aqueous Poren ionenselektiv und nicht ständig geöffnet. Ein Gate (-> Fig. 11.17) wird als Antwort auf einen spezifischen Stimulus geöffnet. Je nach Art des Stimulus unterscheidet man :

- voltage- gated channels
- mechanically gated channels
- ligand- gated channels
- transmitter gated channels
- ion gated channels

- nucleotide gated channels

Die Aktivität wird meistens durch Phosphorylierung und Dephosphorylierung reguliert.

The Membrane Potential In Animal Cells Depends Mainly on K^+ Leak Channels and the K^+ Gradient Across the Plasma Membrane

Wenn man sich vorstellt, bei einem voltage gradient von null würden K^+ Ionen durch die leaky channels aus der Zelle (entlang dem Konzentrationsgradienten) fließen, würde dies in einer negativen Ladung im Cytosol resultieren. Auch die Cl^- Ionen würden durch die Membran diffundieren. Die Gleichgewichtsbedingung bei der der Nettofluss von den Ionen null beträgt nennt man das **resting membrane potential** der künstlichen Membran . Die Gleichgewichtsformel von Nernst beschreibt die Bedingungen für ein solches theoretisch. In der Realität ist das Membranpotential negativer als berechnet, da nicht von einer freien Durchlässigkeit der Membran für K^+ und Cl^- ausgegangen werden kann.

Nernst Equation: $V = (R \cdot T) / (z \cdot F) \cdot \ln (C_o / C_i)$

The Resting State Potential Decays Only Slowly When the $Na^+ - K^+$ Pump Is Stopped

Beim Stoppen der $Na^+ K^+$ -Pumpe würde das Membran Potential zuerst leicht fallen, da die Pumpe je elektrogen ist. Dann würde für Minuten nichts passieren. Bei späterer Diffusion Von Na^+ in die Zelle und K^+ aus der Zelle würde sich ein neues kleineres Membran Potential einstellen, oder die Zelle würde wegen Wassereinfluss platzen.

Die Potentialdifferenz in einer tierischen Zelle beträgt zwischen -20 mV und -200 mV. Das Prinzip der elektrischen Erregbarkeit von Zellen ist dieses, dass die Änderung der Permeabilität der Membran eine Änderung im Membranpotential mit sich zieht.

The Function of a Nerve Cell Depends on Its Elongated Structure

Die Dendriten eines Neurons können bis zu 100 000 Inputs in einer einzigen Nervenzelle empfangen. Die Signale die von Nervenzelle zu Nervenzelle weiter gegeben werden sind nichts anderes als Wechsel in der elektrischen Potentialdifferenz entlang der Plasmamembran des Neurons. Die wandernde Welle der elektrischen Erregung nennt man **Aktionspotential** oder Nervenimpuls (Fortpflanzungsgeschwindigkeit 100 m/s oder mehr).

Voltage-gated Cation Channels Are Responsible for the Generation of Action Potentials in Electrically Excitable Cells

In den Nervenzellen und skeletalen Muskelzellen bewirkt ein Stimulus, dass die Membran depolarisiert wird und voltage gated Na^+ channels geöffnet werden. Die Na^+ channels werden dann inaktiviert, was die aktivierte Plasmamembran wieder auf den negativen Potentialwert bringen soll. Zudem öffnen voltage gated K^+ channels, so dass das Hineinfließen von Na^+ kompensiert wird. Diese Kanäle nennt man auch **delayed K^+ channels**, weil sie eine langsamere Kinetik als die Na^+ Kanäle aufweisen (->Fig. 11.23)

Panel 11-13

1. man kann Aktionspotentiale in Axonen von Tintenfischen mit intrazellulären Elektroden (Glaskapillare) messen
2. zur Fortpflanzung eines Aktionspotentials benötigt man (in Versuchen) die genaue Konzentration an Na^+ und K^+ Ionen, wie sie auch in der Natur vorkommt, weil die Energiequelle aus den Konzentrationsgradienten der Substanz besteht

3. wenn die Zelle sich im „Ruhezustand“ befindet, ist die Membran leicht durchlässig für K^+ . Erhöht man aber die intrazelluläre Konzentration Na^+ , wird keine Änderung im Membranpotential festgestellt.
4. mittels voltage-clamping kann man untersuchen wie das Membranpotential Öffnung und Schliessen von Ionenkanälen kontrolliert

Myelination Increases the Speed and Efficiency of Action Potential Propagation in Nerve Cells

Die active Excitation ist auf die kleinen Regionen zwischen den Myelinschichten beschränkt, wo auch die Na^+ Kanäle konzentriert sind. Das Fortpflanzen des Potentials nennt man saltatory conduction.

Patch-Clamp Recording Indicates That Individual Na^+ Channels Open in an All-or-Nothing Fashion

Der Vorteil dieser Methode (-> Fig. 11.25) ist, dass man die Zusammensetzung der Lösung auf beiden Seiten zur Studie von Ionenkanälen variieren kann.

Wenn das elektrische Potential im Inneren einer ruhenden Nerven- oder Muskelzelle 50-100 mV negativer ist als das des externen Mediums, und es sich auf einer Plasmamembran, die ca. 5nm dick ist, ausbreitet, beträgt der voltage gradient etwa 100 000. Ein elektrisches Feld beeinflusst die Proteine in der Membran, welche mit geladenen AS bestückt sind, die quasi als Sensor dienen. Die voltage gated ion channels können eine gewisse Anzahl an alternativen Konformationen annehmen, deren Stabilität von der Feldstärke abhängen.

Voltage-gated Cation Channels Are Evolutionarily and Structural Related

Von den 6 transmembranen Helices die in jeder der 4 identischen Subunits des K^+ Kanals zu finden sind dient die Vierte (-> Fig. 11.27) mit positiv geladenen Resten an jeder dritten Position als **Spannungssensor**. Der Aminoterminal besteht aus 19 AS Resten, die an der Kanalinaktivierung beteiligt sind (-> Fig. 11.28) Ein 20 AS Segment durchspannt als antiparalleles Faltblatt die Membran.

Auch in Na^+ und Ca^{2+} Kanälen existieren vier homologe Protein Domänen um eine zentrale Pore.

Transmitter-gated Ion Channels Convert Chemical Signals into Electrical Ones at Chemical Synapses

Die transmitter gated Ionenkanäle sind relativ empfindlich gegenüber dem Membranpotential und können allein keine sich selbst fortpflanzende Excitation produzieren. Sie spielen eine Rolle bei der **Signalübertragung via Neurotransmitter an chemischen Synapsen**. Dieses Signaling ist viel anpassungsfähiger als das direkte elektrische Kuppeln via gap junctions an elektrischen Synapsen.

Im synaptischen Spalt befinden sich spezifische Enzyme, die die Neurotransmitter nach Binden an die Kanäle entfernen oder die Neurotransmitter werden wieder ins Nerventerminal aufgenommen mit Hilfe von Na^+ dependent neurotransmitter carrier proteins.

Chemical Synapses Can Be Excitatory or Inhibitory

Je nach Art von Neurotransmitter, der an transmitter gated ion channels bindet, werden andere Ionen durchgelassen. Excitatory neurotransmitter (Acetylcholin, Glutamat, Serotonin) bewirken das Einfließen von Na^+ , inhibitory neurotransmitter (Gamma Amino Butric Acid, GABA und Glycin) öffnen Cl^- Kanäle, was die Unterdrückung des Weiterfeuerns des Aktionspotentials durch die postsynaptische Membran zur Folge hat. Es gibt Toxine, die das Binden von inhibitorischen Neurotransmittern verhindert. Strychnin bindet Glycin Rezeptoren und blockiert dessen Aktion => muscle spasms, convulsions and death. Neuropeptide können auch an Rezeptoren binden, die die Ionenkanäle nur indirekt regulieren. Diese sind G-Protein linked Rezeptoren bzw. Enzyme linked Rezeptoren.

The Acetylcholine Receptors at the Neuromuscular Junction Are Transmitter-gated Cation Channels

Der Acetylcholin Rezeptor, der sich im synaptischen Spalt der **neuromuscular junction**, die spezielle Synapse zwischen einem Motorneuron und einer skeletalen Muskelzelle, wurde bisher am besten erforscht. Seine Gene waren die ersten eines Channel Proteins, die kloniert und sequenziert wurden. Die Rezeptoren kann man vor Allem in den elektrischen Organellen des electirc fish finden. Auch gibt es **Neurotoxine** (alpha bungarotoxin) im Gift gewisser Schlangen, die diesen mit hoher Affinität binden. So kann er via Affinitätschromatographie gewonnen werden und das fluoreszent oder radiolabeled Bungarotoxin lokalisiert werden. Der Acetylcholinrezeptor besteht aus **5 transmembranen Polypeptiden**, 2 von einer Are und 3 andere, durch 4 separate Gene kodiert (-> Fig. 11.32) In der geschlossenen Konformation wird die Pore durch die hydrophoben Seitenketten von 5 Leucin Resten undurchlässig gemacht. Sie stellen auch sicher, dass nur positive Ionen den Kanal passieren. Acetylcholin wird nach dem Binden durch das Enzym **Acetylcholinesterase** hydrolysiert.

Transmitter-gated Ion Channels Are Major Targets for Psychoactive Drugs

Für jede **Klasse** von transmitter gated ion channels existieren **alternative Formen**, codiert durch verschiedene Gene oder generiert durch alternatives RNA Splicing. Die **Subtypen** unterscheiden sich in Ligandenaffinität, verschiedene channel conductance, verschiedene Geschwindigkeit von Öffnen und Schliessen und verschiedener Sensitivität für Drogen und Toxine.

Den Acetylcholinrezeptor auf Skelettmuskeln kann man mit dem Pflanzengift **curare** blockieren bei einer Narkose.

Andere Drogen sind Barbiturate und Tranquilizer (Valium und Librium), die GABA Rezeptoren binden.

Neuromuscular Transmission Involves the Sequential Activation of Five Different Sets of Ion Channels

- 1.den voltage gated Ca^{2+} Kanal
- 2.den Acetylcholin gated Ionen Kanal
- 3.voltage gated Na^+ Kanal
- 4.voltage gated Ca^{2+} Kanal
- 5.gated Ca^{2+} release Kanal

The Grand Postsynaptic Potential in a Neuron Represents a Spatial and Temporal Summation of Many Small Postsynaptic Potentials

Viele tausend Nerven terminals machen Synapsen auf einem Motoneuron der Wirbelsäule, der ganze Zellkörper ist mit Dendriten bedeckt. An den excitatorischen Synapsen entstehen auf der postsynaptischen Membran kleine **excitatory postsynaptic potentials** (excitatory PSP), **inhibitory PSP** (kleine Hyperpolarisation) an inhibitorischen Synapsen, also wird jedes Signal in einem lokalen PSP reflektiert. Diese Signale werden zum grand postsynaptic potential (**grand PSP**) aufsummiert. Das nennt sich räumliche Summation. Es geschieht auch eine temporale Summation (-> Fig. 11.36) Die Grösse des grand PSP repräsentiert die Feuerrate des präsynaptischen Neurons. Die Frequenz der einkommenden Signale werden in die Grösse des Netto PSP übersetzt. Im Gegensatz zum grand PSP, das in der Grösse variieren kann, ist ein Aktionspotential immer von der gleichen Grösse.

Neuronal Computation Requires a Combination of At Least Three Kinds of K^+ Channels

Aktionspotentiale werden am Axon Hillock initiiert; je stärker die Stimulation, desto höher die Frequenz von Aktionspotentialen. Am Axon Hillock hat es neben den Na^+ channels auch:

- 3 Kanäle selektiv für K^+ -> delayed K^+ channels
 - > early K^+ channels
 - > Ca^{2+} activated K^+ channels
- ein Ca^{2+} selektiver Kanal

Die **delayed K^+ channels** werden **aktiv**, wenn die **Na^+ channels inaktiv** sind, und bringen so die Membran gegen das negative K^+ Equilibriumpotential. So können die Na^+ Kanäle sich eher vom inaktiven Zustand erholen. Die Repolarisation der Membran hat dann das Schliessen der K^+ Kanäle zur Folge.

Die **early K^+ Kanäle** sind dafür verantwortlich, dass bei einem Level der Stimulation, das kaum über dem Tresholdpotential liegt, die **Feuerrate** der Aktionspotentiale **reduziert** wird.

Wenn ein Neuron über längere Zeit stimuliert wird, wird es weniger empfindlich auf diesen Reiz. Nachdem durch die **voltage gated Ca^{2+} Kanäle** die entsprechenden Ionen in den intrazellulären Raum geflossen sind, werden die **Ca^{2+} activated K^+ Kanäle** stimuliert. Die erhöhte Durchlässigkeit der Membran für K^+ hat zur Folge, dass sie weniger schnell depolarisiert.

Im Nervensystem des Vertebraten existieren mindestens vier Typen von voltage gated K^{anc} channels und fünf Typen von voltage gated Ca^{2+} channels. Die „**Multiplicity of Genes**“ hat verschiedene Typen von Neuronen zur Folge mit verschiedenem elektrischen Verhalten, je nach Aufgabe, die vom Neuron erfüllt werden muss.

Long-term Potentiation in the Mammalian Hippocampus Depends on Ca^{2+} Entry Through NMDA-Receptor Channels

Manche Synapsen im Hippocampus ändern ihre Eigenschaften nach mehrmaliger Benutzung. Repetitives Feuern der präsynaptischen Zelle bewirkt die erhöhte Antwort in der postsynaptischen Zelle. Diese long term potentiation geschieht nur an aktivierten Synapsen, falls die präsynaptische Zelle ein oder mehrere Male depolarisiert ist.

Die Signalkette (-> Fig. 11.38) :

1. **Glutamat** wird von der aktivierten präsynaptischen Zelle in den synaptischen Spalt ausgeschüttet, bindet an einen **non-NMDA Glutamat Rezeptor Kanal**. Der lässt Na^+ durchfließen.
2. Wegen der Depolarisation der postsynaptischen Membran wird der **Mg^{2+} -Block** vom **NMDA Rezeptor Kanal** (durch N-methyl-D-aspartat = artifielles Glutamat aktiviert) entfernt. Der mit Glutamat bestückte Kanal lässt Ca^{2+} ins Cytosol fließen
3. Ein „**retrograde signal**“ wird retour gesendet und somit kann das Nerverterminal bei erneuter Stimulation eine grössere Menge an Glutamat ausschütten. Das retrograde signal ist noch von unbekannter Natur. Stickoxid und Kohlenmonoxid werden aber verdächtigt.

Kapitel 12 (dt. Ausgabe der 3. Auflage)

Intrazelluläre Kompartimente und die Sortierung von Proteinen

Proteine fungieren als Transporter, Katalysatoren und Oberflächenmarker.

12.1 Die Kompartimentierung höherer Zellen

12.1.1 Alle eukaryontischen Zellen besitzen die gleiche Grundausstattung an membranumschlossenen Organellen

–Kern

enthält Hauptteil des zellulären Genoms, Syntheseort für DNA und RNA

–Cytoplasma

besteht aus dem Cytosol und den darin verteilten Organellen Proteinbiosynthese und Intermediärstoffwechsel

–Endoplasmatisches Retikulum (ER)

Viele Ribosomen (rauhes ER); sie dienen der Synthese integraler Membranproteine und löslicher Proteine. Die Translokation der Proteine ins ER erfolgt bereits während ihrer Synthese.

Stellt Lipide her, dient als Speicher von Ca^{2+} -Ionen

–Golgi-Apparat

empfängt Lipide und Proteine aus ER und verteilt sie

–Mitochondrien/Chloroplasten

Stellen den grössten Teil des zellulären ATP her

–Lysosomen

enthalten Verdauungsenzyme

–Endosomen

Kompartimente, durch die endozytotisch aufgenommenes Material auf dem Weg zu Lysosomen hindurchgeschleust werden muss

–Peroxisomen

enthalten Enzyme die für viele oxidative Prozesse benötigt werden

Membranumschlossene Organellen sind an charakteristischen Stellen zu finden, was meist durch bestimmte Wechselwirkungen untereinander bedingt ist.

12.1.2 Das Verständnis der topologischen Beziehung zwischen den membranumschlossenen Organellen kann aus ihrem evolutionären Ursprung abgeleitet werden

Die Entwicklung innerer Membranen wird als Teil der Anpassung an den Grössenzuwachs während der Evolution der eukaryontischen Zellen verstanden; das Verhältnis der Oberfläche zu Volumen ist viel zu gering um den Ablauf aller lebensnotwendigen membranabhängigen Funktionen zu sichern. Ein anderer Grund ist die Spezialisierung der membranabhängigen Funktionen.

Transportvesikel sorgen für eine Verbindung aller luminalen Inhalte und zur Umgebung der Zelle.

Mitochondrien und Plastide haben sich vermutlich aus Bakterien entwickelt, da der Aufbau ihres Genoms und ihrer Proteine dem der heutigen Bakterien ähnelt.

12.1.3 Proteine können sich auf unterschiedliche Weise zwischen den Kompartimenten bewegen

Sortiersignale führen Proteine nach ihrer Synthese an ihren Bestimmungsort. Da die meisten Proteine keines tragen, bleiben sie im Cytosol. Man unterscheidet 3 verschiedene Mechanismen des Proteintransports:

–Schleusen-Transport (gated transport):

Proteinaustausch zwischen Kern und Cytosol (topologisch äquivalent); sind durch Kernporen-Komplexe verbunden -> selektive Pforten, nur kleinere Moleküle können durchdiffundieren.

-Transmembran-Transport:

mit Hilfe membrangebundener Protein-Translokatoren, spezifischer Transport in topologisch unterschiedlichen Räumen

-Vesikulärer Transport:

durch Transportvesikel (verschmelzen mit der Membran) unter topologisch äquivalenten Kompartimenten

Der Transportweg wird durch ein Transportsignal im jeweiligen Protein festgelegt, welches von den Rezeptorproteinen im Zielorganell erkannt wird.

12.1.4 Signal-Peptide und Signal-Bereiche weisen Proteinen den Weg zur richtigen zellulären Adresse

Es gibt in Proteinen mindestens zwei Arten von Sortiersignalen:

- 1) Signalpeptid: Kontinuierliche 15-60 AS lange Sequenz, wird nach dem Sortierprozess meist durch eine Signalpeptidase abgeschnitten
- 2) Signalebereich: Wird von im gefalteten Protein nebeneinander liegenden AS gebildet, bleiben im reifen Protein erhalten. Entstehen also nur durch Faltung.

Sie dienen dazu Proteine aus dem Cytosol in verschiedene Kompartimente zu führen und lösliche Proteine im ER zurückzuhalten.

Verschiedene Arten von Signalpeptiden: (-> Auswirkungen auf Proteine)

- aminoterminal gelegene Signalsequenz (5-10 hydrophoben AS) -> werden in ER gebracht
- lösliches Protein mit spezifischer Sequenz am carboxyterminalen Ende -> bleiben im ER-Lumen
- positiv geladene AS alternieren mit hydrophoben AS -> gehen in Mitochondrien
- spezifische Sequenz von 3 AS, carboxyterminal gelegen -> gehen in Peroxisomen
- Ansammlung positiv geladener AS, im Innern der Polypeptidkette -> gehen in den Zellkern

Physikalische Eigenschaften wie die Hydrophobizität einer Sequenz sind für den Signal-erkennungsprozess wichtiger als die Abfolge der AS.

12.1.5 Zellen können ihre membranumschlossenen Organelle nicht de novo herstellen: Zum Aufbau der Organelle benötigen sie die Information der Organelle selbst

Bei der Teilung erbt jede Tochterzelle einen vollständigen Satz spezialisierter Zellmembranen. Was lebensnotwendig ist, da eine Zelle selbst keine neuen Organelle herstellen kann.

Nicht nur in der DNA sind wichtige Informationen zum Aufbau der Organellen zu finden, sondern auch epigenetische Information wird benötigt. Es handelt sich dabei um mindestens ein bereits in eine Membran integriertes Protein. Die Information wird von der Elternzelle in Form des Organells selbst weitergegeben.

12.2 Der Transport von Molekülen in den und aus dem Kern

Die Kernhülle wird von Innen- und Aussenmembran gebildet, die ineinander und in das ER übergehen. Die innere enthält Proteine, welche als Bindestelle für die Kernlamina dienen, welche die Kernmembran stützt. Die äussere ist wie die ER-Membran mit Ribosomen bestückt. Die hier synthetisierten Proteine werden in den perikulären Raum (Zwischenraum der beiden Kernmembranen) transportiert, der in das Lumen des ER übergeht.

Der Austausch von Proteinen vom Cytosol in den Kern und tRNA und mRNA ins Cytosol ist selektiv.

12.2.1 Kernporen durchlöchern die Doppelmembran

Die Kernhülle ist mit Kernporen durchsetzt, deren Struktur man als Kernporenkomplex bezeichnet. Ein Kernporenkomplex besteht aus drei Teilen:

- säulenförmige Komponente: Hauptteil der Porenwand
- annuläre Komponente: sendet „Speichen“ in das Innere der Pore
- luminal Komponente: besteht aus einem grossen Glykoprotein und dient der Verankerung der Pore in der Kernmembran.

Die Porenkomplexe enthalten offene wässrige Kanäle, durch die kleine wasserlösliche Moleküle passiv diffundieren.

Die Kernhülle sorgt für die Trennung der spezifischen Zusammensetzung im nukleären Kompartiment und im Cytosol. Grosse Moleküle und Proteine, die nicht durch die Kanäle diffundieren können, werden anhand spezifischer Rezeptorproteine aktiv durch die Kernmembran transportiert.

12.2.2 Kerntransportsignale weisen Kernproteinen den Weg in den Kern

Durch die Kernporen läuft der Proteinverkehr. Kernlokalisierungssignale sichern die Selektivität des Imports von Proteinen in den Kern. Diese Signale bestehen im Allgemeinen aus einer kurzen typischen Sequenz (reich an Pro, Lys, Arg). Ihre Lokalisierung ist nicht relevant.

12.2.3 Makromoleküle werden durch Kernporen aktiv in den Kern hinein- und aus dem Kern heraustransportiert

Cytosolische Proteine binden an das Kernlokalisierungssignal und erleichtern die Bindung des Kernproteins an den Kernkomplex. Es lagert sich an die Fibrillen am Rand des Porenkomplexes an und wird später von der Mitte des Porenkomplexes aus aktiv (Hydrolyse von ATP) durch die Kernhülle transportiert. Auch der Export von mRNA-Molekülen und Ribosomen-Untereinheiten ist selektiv.

Der Kernimport findet über eine grosse, regulierbare, wässrige Pore statt. Die Proteine sind gefaltet, Ribosomen-Untereinheiten vollständig zusammengesetzt.

12.2.4 Die Kernhülle wird während der Mitose aufgelöst

Die Kernlamina besteht aus vernetzten Proteinuntereinheiten (Kernlamine). Die Kernlamina scheint für die Formgebung und Stabilisierung der Kernhülle verantwortlich zu sein. Sie ist über Verankerungen in den Kernporenkomplexen und der inneren Membran mit ihr verbunden und stellt auch die strukturelle Verbindung zwischen DNA und Kernhülle her, da das Chromatin mit ihr interagiert.

Zur Mitose verweise ich auf die Abbildung 12-18.

12.2.5 Der Transport zwischen Kern und Cytosol kann dadurch reguliert werden , dass der Zugang zur Transportmaschinerie verhindert wird

Durch Phosphorylierung wird die Kernlokalisierungssequenz inaktiviert oder einige genregulatorischer Proteine sind an inhibitorische cytosolische Proteine gebunden.

Der Export von RNA wird durch die CAP-Struktur an ihrem 5'-Ende reguliert. Das mRNA-Molekül wird erst aus dem Kern entlassen, wenn Transkription und Spleissing abgeschlossen sind.

12.3 Der Transport von Proteinen zu Mitochondrien und Chloroplasten

Diese beiden Organellen sind von einer Doppelmembran umgeben und synthetisieren beide ATP. Beide besitzen eine eigene DNA und einen Proteinsyntheseapparat. Die meisten werden aber trotzdem im Zellkern codiert.

Mitochondrien besitzen 2 Unterkompartimente: die innere Matrix und den (Inter-) Zwischenmembranraum, abgetrennt durch Innen- und Aussenmembran. Chloroplasten enthalten zusätzlich noch den Thylakoidraum, der von der Thylakoidmembran umschlossen wird. Jedes Subkompartiment enthält seinen spezifischen Satz an Proteinen. Die wenigen Proteine, die vom Genom dieser Organellen selber codiert werden, sind in der Innenmembran bzw. bei Chloroplasten in der Thylakoidmembran lokalisiert.

12.3.1 Die Translokation in die mitochondriale Matrix hängt von einem spezifischen Signalpeptid ab

Dieses besteht in vollständiger Form aus einer amphipathischen α -Helix. Positiv geladene Reste liegen auf der einen Seite, ungeladene hydrophobe AS auf der anderen. Es reichen allerdings schon 12 AS am aminoterminalen Ende, um den mitochondrialen Import zu signalisieren.

12.3.2 Die Translokation in die mitochondriale Matrix ist sowohl von einem elektrochemischen Gradienten in der Innenmembran als auch von ATP-Hydrolyse abhängig

Die Energie aus dem elektrochemischen Gradienten in der Innenmembran wird zum grössten Teil für die Synthese des zellulären ATP eingesetzt, jedoch auch zur Steuerung der Translokation von Proteinen mit einem Mitochondrien-spezifischen Signalpeptid.

12.3.3 Der Transport von Mitochondrienproteinen verläuft in zwei Schritten und findet an Kontaktstellen statt, die Innen- und Aussenmembran verbinden

In einem ersten Schritt heftet sich das mitochondriale Vorläuferprotein an ein Rezeptorprotein an der Aussenmembran der Mitochondrien an. Der zweite Schritt ist der Translokationsprozess selbst.

Das Vorläufermolekül erreicht die Matrix, indem es beide Mitochondrienmembranen in einem Schritt passiert. An diesem Prozess sind zwei Translokatoren beteiligt, die sich an der Aussen- und Innenmembran befinden. Meistens ist hier auch eine Kontaktstelle der Membranen zu finden. Das Molekül wird erst durch den elektrochemischen Gradienten in der Innenmembran und dann durch ATP-Hydrolyse angetrieben.

12.3.4 Proteine werden im ungefalteten Zustand in die Mitochondrien-Matrix importiert

Am vorher erwähnten Translokationsprozess sind Chaperon-Proteine beteiligt. Hsp70 bindet das durch die Membran tretende Vorläuferprotein in seiner ungefalteten Form. Durch ATP wird die Bindung wieder gelöst.

12.3.5 Die aufeinanderfolgende Bindung des importierten Proteins an mitochondriales Hsp70 und Hsp60 unterstützt den Translokationsprozess und die Proteinfaltung

Um die Vorläuferproteine zu importieren werden zwei Hsp70 benötigt. Sobald das Protein aus dem Translokator herausragt, bindet das mitochondriale Hsp70 daran, nachdem das cytosolische Hsp 70 durch ATP-Hydrolyse entfernt wurde. Nun wird es in das Innere hineingezogen. Hsp60 bindet als nächstes an das Protein und unterstützt dessen Faltung.

12.3.6 Der Protein-Transport in die Innenmembran und den Zwischenmembranraum benötigt zwei Signale

Die Proteine, die die mitochondrialen Funktionen ausführen befinden sich entweder in der Innenmembran oder im Zwischenmembranraum. Die meisten Proteine werden aus dem Cytosol in die Matrix geschleust. Wird das Signalpeptid durch die Signalpeptidase abgeschnitten, führt eine sehr hydrophobe AS-Sequenz als neues Signalpeptid das Protein in bzw. durch die Innenmembran zurückführen.

Alternative: Der Translokator der Innenmembran bindet an die hydrophobe Sequenz, was ein weiteres Durchschleusen durch die Innenmembran verhindert. Die beiden Translokatoren werden entkoppelt, wodurch das Protein in den Zwischenmembranraum gezogen wird.

12.3.7 Zwei Signalpeptide werden benötigt, um Proteine zur Thylakoidmembran der Chloroplasten zu dirigieren

Auch bei Chloroplasten handelt es sich beim Proteintransport um einen post-translationalen Prozess mit amphipathischen amino-terminalen Signalpeptiden. Die Chloroplasten besitzen allerdings keinen elektrochemischen Gradienten in ihrer Innenmembran, sondern in der Thylakoidmembran. Also wirkt wahrscheinlich nur die ATP-Hydrolyse als Energiequelle.

Der Transport von Chloroplastenproteinen in die Thylakoidmembran erfolgt in zwei Schritten: Die Proteine passieren die beiden Membranen und gelangen in den Matrix-Raum (Stroma). Von dort aus geht es weiter in die Thylakoidmembran oder durch sie hindurch. Auch hier liegt hinter dem Signalpeptid eine hydrophobe AS-Sequenz (Transport durch die Thylakoidmembran).

12.4. Peroxisomen

Peroxisomen sind selbstreplizierende Zellen ohne eigenes Genom. Sie besitzen nur eine Membran und enthalten vor allem oxidierende Enzyme; Katalase und Urat-Oxidase. Sie sind ein Hauptort des Sauerstoffverbrauchs.

12.4.1 Peroxisomen verwenden molekularen Sauerstoff und Wasserstoffperoxid, um Oxidationsreaktionen durchzuführen

Die Enzyme der Peroxisomen entziehen organischen Substraten mit Hilfe von Sauerstoff Wasserstoff. Es entsteht Wasserstoffperoxid. Peroxisomen sind wichtig für den Abbau von Fettsäuren und die Entgiftung von Blut und in Pflanzen für die Photorespiration.

12.4.2 Eine kurze Signalsequenz dirigiert den Import von Proteinen in Peroxisomen

Das Importsignal ist eine spezifische Sequenz aus drei AS am carboxyterminalen Ende.

12.5. Das Endoplasmatische Reticulum

Es spielt eine zentrale Rolle bei der Biosynthese von Lipiden und Proteinen. Das ER zieht sich in Form eines Netzwerkes durch das Cytosol.

12.5.1 Membrangebundene Ribosomen kennzeichnen das rauhe ER

Zwei Gruppen von Proteinen werden vom ER aufgenommen: Transmembran- und lösliche Proteine. Erstere sind vor allem am Aufbau von Membranen beteiligt, während die anderen aus der Zelle exportiert oder im Lumen der Organelle zu finden sind. Der Transfer von Proteinen beginnt bereits während der Synthese der Polypeptidkette; ist also co-translational. Membran-gebundene Ribosomen bedecken das ER. Diese und die freien Ribosomen synthetisieren verschiedene Proteine.

Es binden nur solche mRNA-Moleküle an die rauhe ER-Membran, die ein Protein mit einem ER-Signalpeptid codieren.

12.5.2 Glattes ER kommt in einigen spezialisierten Zellen reichlich vor

Das glatte ER besitzt keine Ribosomen. Es ist vor allem in Zellen lokalisiert, die sich auf den Lipidstoffwechsel spezialisiert haben. Es kann die benötigten Enzyme unterbringen. Eine weitere Funktion des ER besteht auch darin, Ca^{2+} aus dem Cytosol aufzunehmen (-> Muskeln).

Zwei andere wichtige Funktionen des ER sind: Synthese und Modifikation von Proteinen und die Lipidsynthese.

12.5.3 Glattes und rauhes ER kann man durch Zentrifugation voneinander trennen

Rauhe Mikrosomen stammen vom rauhen ER und sind zur Proteinsynthese und -glykolisierung und zur Lipidsynthese fähig. Glatte Mikrosomen stammen meist von Teilen des glatten ER oder von der Plasmamembran, Golgi, Endosomen...

Die rauhen Mikrosomen besitzen mehr als 20 zusätzliche Proteine.

12.5.4 Signalpeptide wurden zuerst bei Proteinen entdeckt, die ins ER transportiert werden

Ein Leitpeptid ist für den Transport des Proteins zur ER-Membran verantwortlich und wird noch während der Translokation abgespalten. Das reife Protein wird unmittelbar nach seiner Synthese in das ER-Lumen entlassen.

12.5.5 Ein Signalerkennungs-Partikel dirigiert ER-Signalpeptide zu einem spezifischen Rezeptor in der ER-Membran

Das Signalpeptid wird durch ein Signalerkennungs-Partikel und durch den SRP-Rezeptor (signal-recognition particle) zur ER-Membran geleitet. Ersterer führt zu einer Translationspause; das Ribosom hat Gelegenheit, an die ER-Membran zu binden, was verhindert, dass das Protein im Cytosol freigesetzt wird. Das SRP sorgt dafür, dass die wachsende Polypeptidkette durch die Membran transportiert wird.

12.5.6 Das Durchschleusen durch die ER-Membran muss nicht immer mit der Fortsetzung der Polypeptidketten-Verlängerung einhergehen

Die Überführung des Proteins durch die ER-Membran findet während der Translation statt. Es muss aber nicht immer so sein. Für den Transport wird ATP benötigt. In Bakterien ist zusätzlich ein elektrochemischer Gradient nötig.

12.5.7 Die Polypeptidkette geht durch eine wässrige Pore im Translokationsapparat

Sie stellt eine dynamische Struktur dar, die sich öffnet, wenn ein Ribosom mit einer wachsenden Polypeptidkette an die Membran anheftet. Sie schliesst, wenn es sich nach der Proteinsynthese wieder ablöst.

12.5.8 Das ER-Signalpeptid der meisten löslichen Proteine wird nach ihrem Transport durch die Membran abgespalten

Um dies zu bewerkstelligen, benötigt die Peptidase eine zusätzliche Erkennungssequenz, die nach dem Signalpeptid folgt. Das aminoterminal ER-Signalpeptid hat zwei Funktionen; es leitet das Protein zur ER-Membran und dient als Start-Transfer-Signal, das im Translokationsapparat verbleibt und sich später von der Translokationspore löst und zu AS abgebaut wird. Das Protein wird dadurch im Lumen des ER freigesetzt.

12.5.9 In Einspann-Transmembranproteinen verbleibt ein einzelnes, internes ER-Signalpeptid als membrandurchspannende α -Helix in der Lipid-Doppelschicht

Membranproteine mit einer Transmembransequenz können auf drei Arten in die ER-Membran inseriert werden.

Die aminoterminal Signalsequenz ist das Signal für die Translokation. Eine hydrophobe Sequenz im Innern der Polypeptidkette stoppt den Translokationsprozess. Dieses Stop-Transfer-Peptid bildet eine α -helikale Struktur und durchdringt die Membran. In den beiden anderen Fällen handelt es sich um Signalpeptide im Innern der Polypeptidkette.

12.5.10 Die Topologie von Mehrspann-Transmembranproteinen wird durch die Kombination von Start- und Stop-Transfer-Signalen bestimmt

12.5.11 Polypeptid-Ketten, die durch die Membran transportiert werden, falten und assoziieren im Lumen des ER

Proteine, die im ER bleiben, besitzen ein ER-Retentionssignal. Einige dieser ER-Proteine dienen als Katalysatoren, welche die Faltung und Assoziation der importierten Proteine unterstützen. Ein anderes ER-Protein ist BiP (ein Chaperon). Es verhindert die Ausschleusung der Polypeptidkette aus dem ER und auch deren Aggregation.

12.5.12 Die meisten der rauhen ER synthetisieren Proteine werden über die Anheftung des selben N-gekoppelten Oligosaccharids glykosyliert

Eine wichtige Aufgabe des ER ist die kovalente Bindung von Zuckern an Proteine. Die meisten Proteine im ER-Lumen sind Glykoproteine.

Die Proteinglykosylierung im rauhen ER: die Polypeptidkette wird an Ziel-Asparaginresten glykolisiert.

12.5.13 Einige Membranproteine wechseln nach dem Transport in das ER ihren carboxyterminalen Transmembranteil gegen einen kovalent verknüpften Glykosylphosphatidylinositol-(GPI)-Anker aus

12.5.14 Die meisten Lipid-Doppelschichten für die Membran werden im ER zusammengesetzt

Damit die Membran als Doppelschicht wachsen kann, werden Flippasen (membrangebundene Phospholipid-Translokatoren) benötigt. Und zwar weil neusynthetisierte Lipidmoleküle auf der cytologischen Seite der Doppelschicht gebildet werden.

12.5.15 Phospholipid-Austauschproteine transportieren Phospholipide vom ER zu den Mitochondrien und Peroxisomen

Phospholipid-Austauschproteine (wasserlösliche Trägerproteine) ermöglichen den Austausch einzelner Phospholipidmoleküle zwischen verschiedenen Membranen. Sie verteilen die Phospholipide zufällig auf alle vorhandenen Membranen.

Zusammengefasst von Stephanie Schalbetter

β-Version (English version) of the summary of chapter 13. The summary should contain all the important things that have to be known. By looking at the corresponding figures in the book it should be possible to understand the processes discussed. However, if the wish for a German translation arises I will try to translate the summary, if not I'm happy, too.

Greetings Martin Stucki

Alberts: „The Cell“, 3rd Edition

Summary of chapter 13: “Vesicular traffic etc.”

Cells take up macromolecules by *endocytosis* and deliver macromolecules to specific cell domains by *exocytosis*. These two sorts of transport are referred to as vesicular transport **p599**.

The traffic is highly organised: *biosynthetic-secretory pathway* (bsp) leads out of the ER while the *endocytic pathway* (ep) leads inward from the plasma membrane to endosomes and lysosomes **fig13-3**. Synthesized proteins enter the bsp by being delivered into the ER from the cytosol. From the ER the proteins are delivered to the Golgi network by *transport vesicles*, there they are modified: the Golgi adds oligosaccharides to the proteins and lipids that come from the ER. Certain of these oligosaccharides serve as tags to direct the proteins to certain cell compartments.

The Golgi is near the nucleus and close to the centrosome, it consists of flattened membrane bound *cisternae* **fig13-4**. The Golgi consists of an entry side (*Cis face*) and an exit side (*Trans face*), at which the vesicles containing proteins and lipids leave the Golgi according to their tags.

Vesicles destined for the Golgi bud from *transitional elements* of the ER. Before a protein can leave the ER it has to be correctly folded so all proteins that reach the Golgi are already in their folded state and only have to be modified in terms of glycosylation. ER resident proteins that are transported to the Golgi are brought back by special receptors **p603**.

Some proteins have sugars added while still in the ER, these oligosaccharides are then further modified in the Golgi. There are two classes of N-linked oligosaccharides: *complex ogs.* and *high-mannose ogs.* whereas the latter has no more sugars added in the Golgi **p605**.

While a protein is in the Golgi, it moves from the Cis side through the *medial compartment* to the trans side where glycosylation is completed. The proteins are continually modified as they move from one cisterna to the next and different sugars are added. Transport vesicles move the cargo nonselectively from cisterna to cisterna towards the trans side. Some sugars are added to OH groups -> *O-linked glycosylation* **fig13-14**. All oligosaccharides added in the lumen of the ER later face the lumen of their compartment or the outside of the cell **fig13-15**.

The presence of oligosaccharides makes the proteins relatively resistant to protease digestion; further the oligosaccharides on the cell-surface called *selectins* function in cell-cell adhesion processes.

Lysosomes are membranous bags of hydrolytic enzymes; they are used for intracellular digestion of macromolecules and are found in all eucaryotic cells. They contain enzymes including proteases, nucleases, glycosidases, lipases, phospholipases and sulfatases; they require an acid environment (pH~5) that is maintained by an $H^+ATPase$ in the membrane. Membrane proteins of lysosomes are unusually high glycosylated to protect them from the proteases in the lumen.

In plant cells large fluid-filled vesicles called *vacuoles* fulfil the job of the eucaryotic lysosomes. The vacuoles contain a variety of hydrolytic enzymes and act as a storage organelle. Furthermore they control cell size and turgor pressure **p612**.

The digestive enzymes in the lysosome originate from the ER and are transported via the Golgi into the lysosomes. Macromolecules destined for digestion are delivered into intracellular vesicles called *early endosomes*. Others are passed on into *late endosomes* (pH ~6). Mature lysosomes form from late endosomes.

Another way of digestion is *autophagy*; here an organelle is enclosed by membranes derived from the ER to form an *autophagosome*, which then fuses with a lysosome. A third pathway is similar to the second but the organelle is engulfed by phagocytes to form a phagosome which then is converted into a lysosome **fig13-22**.

How are proteins destined for lysosomes recognized in the ER? They contain a marker in form of *mannose-6-phosphate* (M6P) that is recognized by M6P receptor proteins. *Coat proteins* (for example clathrin) in the Golgi recruit M6P receptor proteins in order to pack vesicles destined for the late endosomes which later form lysosomes. **Fig13-23** shows the complete pathway as well as the *membrane-recycling pathway*. However, some molecules escape the packaging process and

escape to the cell surface, but they are recaptured by some receptor proteins that take the same detour. This is called the *scavenger pathway* **p616**.

The route from the cell to the lysosomes occurs via endocytosis, it is composed of two distinct forms: *pinocytosis* (cellular drinking) and *phagocytosis*. Phagocytosis involves large vesicles called phagosomes. In Phagocytosis large particles are ingested via endocytic vesicles. In mammals typical macrophages are white blood cells. The size of macrophages is determined by the size of the ingested particle, when the particle is ingested, the macrophage fuses with lysosomes and the material is degraded **p619**. Phagocytosis requires signals that activate receptors in order to respond to an antibody on the surface of the particle that has to be destructed.

By the process of endocytosis, a lot of plasma membrane is digested; the loss has to be added in form of exocytosis. This is called the *endocytic-exocytic cycle*. The endocytic cycle starts with *clatherin-coated pits*, at these places the membrane invaginates and eventually vesicles bud off **fig13-28**. The clatherin-coated pits use a process called *receptor-mediated endocytosis*, macromolecules bind to cell-surface receptors and accumulate in the coated pits. Cholesterol for example is taken up in this way. Liquids are internalised by fluid-phase endocytosis.

Cholesterol is transported as low-density lipoproteins (LDL). When a cell needs cholesterol, it makes transmembrane receptors proteins for LDL, they assemble in clatherin-coated pits and LDL is taken up. LDL is moved to lysosomes (via late endosomes) where cholesteryl esters are hydrolysed to produce free cholesterol **p621**.

Endocytosed materials normally end up in lysosomes, however, many molecules are diverted from this journey to destruction and are recycled instead from the early endosomes back to the plasma membrane via transport vesicles. The early endosomes acts as a sorting station in the endocytic pathway. The ligands that dissociate from their receptors in the early endosomes are doomed to destruction in lysosomes, other ligands however remain bound and therefore share the fate of their receptors. There are three different fates: 1) return to the same plasma membrane (*recycling*), 2) progress to lysosomes (*degradation*), 3) proceed to a different domain of the plasma membrane (*transcytosis*) **fig13-32**. The LDL receptor for example follows the first pathway. Transcytosis is very important in several cases: a newborn rat for example obtains antibodies from its mother's milk by transporting them across the epithelium of its gut. In epithelial cells endocytosis occurs from both, the

basolateral and the apical domains. The endocysed material first enters an early endosomal compartment unique to the domain where it originates **fig13-35**.

Exocytosis: Now we examine the Golgi and the secretory pathways that lead out of the cell, the fusion of vesicles with the plasma membrane is called exocytosis. The vesicles that move around continually exchanging stuff are part of the *constitutive secretory pathway*, substances stored in secretory vesicles for later release make up the *regulated secretory pathway* which is used by hormones and neurotransmitters for example **fig13-36**.

The Golgi produces three types of proteins: for lysosomes, for secretory vesicles and for immediate delivery to the cell surface. These proteins are sorted while travelling through the Golgi according to *markers*; the M6P marker for example diverts the proteins to lysosomes **fig13-37**.

The secretory vesicles release their content to the cell exterior by exocytosis in response to *extracellular signals*. Secretory vesicles condense their content after budding from the Golgi and after their clathrin coat is removed. Then the vesicles have to get to the site of secretion; here nerve cells provide the most extreme example (regarding the distance that has to be travelled). The vesicles use *motor proteins* attached to their surface to propel themselves along axonal microtubules. In the axons an influx of Ca^{2+} triggers exocytosis. Nerve cells contain two types of secretory vesicles, the ones just discussed and the *synaptic vesicles*, which store the neurotransmitter molecules. They release their content within a fraction of a millisecond when a potential arrives. They do not originate from the Golgi but by local recycling of the plasma membrane. The components are retrieved by endocytosis and delivered to endosomes where they are reassembled and bud off to form new synaptic vesicles **fig13-43**.

Polarized cells: a ring of tight junctions demarcates the apical and basolateral domains of polarized cells. The delivery to the two domains is specifically directed. Proteins from the ER destined for different domains travel together until they reach the Golgi network, there they are separated. As each domain contains a distinct membrane protein composition, vesicles can be transported with receptors that bind to these membrane proteins. There are two ways of sorting, one direct, the other one indirect, see **fig13-44**.

In the presence of this massive exchange of membrane, how does each compartment maintain its specialized character? Suppose two membrane-bounded

compartments with the only difference in the concentration of a single type of membrane-bound protein P. This difference characterises the two compartments and is maintained by using free energy to transfer P molecules actively in one direction, against the concentration gradient **fig13-46**.

Besides clatherin-coated vesicles, which mediate selective transport, there are *coatomer-coated* vesicles that mediate *nonselective vesicular transport* from the ER and Golgi cisternae. The clatherin-coated ones have a more regular structure, this structure is gained through a special assembly of the clatherin molecules. *Clatherin* has been highly conserved in evolution and forms of three small polypeptide chains that form a three-legged structure called a *triskelion* **p637**.

Once a vesicle pinches off from the membrane, the clatherin coat is very rapidly lost; a chaperone protein of the hsp70 family has been shown to act as an uncoating ATPase.

The author has not read pages 638 and 639. They explain some of the previous things using examples from the lab. They have to be read individually if regarded important.

The clatherin coat provides a mechanical force to pull the membrane into a bud; it also helps capture specific membrane receptors and their bound cargo. A second major coat protein is *adaptin*, adaptin molecules trap various membrane receptor proteins, which in turn capture specific cargo molecules inside the vesicle. The clatherin molecules bind on the outside to the adaptin molecules **fig13-52**. Thus clatherin-coated vesicles are not all the same, they contain different types of adaptin molecules that bind to different cargo molecules.

Coatomer-coated vesicles mediate nonselective transport **fig13-54**. The coat of these vesicles consists of a large protein complex called *coatomer*. These coats do not self-assemble in contrast to clatherin coats; they require ATP to drive their formation **fig13-55**.

The transport vesicles have to be highly selective as to the target membrane with which they fuse. It is thought that this process involves proteins called *SNAREs* **fig13-56**. v-SNAREs are part of the vesicles; they bind to specific t-SNAREs on the surface of different compartments. Members of monomeric *GTPases* called *Rab proteins* control the recognition step. The binding of the two SNAREs must be long enough to allow the Rab protein to hydrolyze its bound GTP to lock the vesicle onto the target membrane, making it ready for subsequent fusion **fig13-57**.

Docking requires only that the two membranes come close enough; fusion however requires a much closer approach (1,5nm). Specialized proteins (*SNAPs*) are used to achieve this; the *SNAPs* bind to the *SNARES* and catalyse the fusion of the two lipid bilayers **fig13-58** and **fig13-60**.

‘Wort des Autors’

Die Zusammenfassung bezieht sich auf die engl. und 3. Ausgabe vom Alberts. Die Unterkapitel wurden vollständig aus dem Buch übernommen, inklusiv Druckfehlern. Wie dir vielleicht schon aufgefallen ist, werden in 'The Cell' entsprechende Themen zuerst generell besprochen und anschliessend im Detail behandelt. Daher, lohnt es sich die Zusammenfassung vollständig durchzulesen, da bestehende Unklarheiten häufig später beseitigt werden. Die zusätzlichen angegebenen Abbildungen im Buch versuchen das Verständnis zu erleichtern, es sollte aber möglich sein die Zusammenfassung ohne diese Bilder zu verstehen. Die allerwichtigsten Abbildungen habe ich schematisch in die ZS übernommen. Da sich die Powerpoint Presentation praktisch nicht mit dem Buch (Kapitel 14) deckt empfehle ich diese unbedingt nachzulesen.

14. Energy Conversion: Mitochondria and Chloroplasts

Die folgende Einleitung versucht einen rudimentären Überblick zu geben, eine genauere und verständlichere Betrachtungsweise, wird in den späteren Unterkapiteln geboten:

Mitochondrien sind praktisch in allen eukaryotischen Zellen vorhanden. Sie werden auch als Kraftwerke der Zellen bezeichnet.

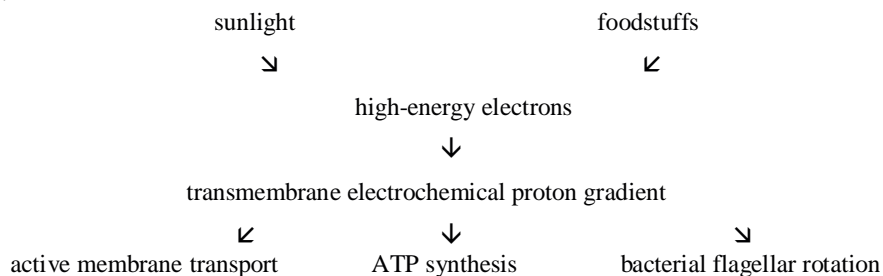
Die Energie, gewonnen durch die *Oxidation von Nährstoffen*¹ oder durch *Sonnenlicht*² wird verwendet, um membrangebundene H⁺-Pumpen anzutreiben. Diese bauen einen elektrochemischen Gradienten auf, der dazu dient *Protein Maschinen*³ zu betreiben. Als einer der wichtigsten e⁻-Carriers wirkt NAD⁺ ($\text{NAD}^+ + \text{H} + 2\text{e}^- \rightarrow \text{NADH}$).

¹ findet in den Mitochondrien statt, zur Erinnerung: Oxidation = Elektronenentzug

² findet in den Chloroplasten statt

³ als Beispiel sei das Enzym ATP-Synthase genannt

Skizze:



Aus der Skizze 14-2 *The mitochondrion and chloroplast as electrical energy conversion devices* p. 654 können folgende Unterschiede zwischen Mitochondrien und Chloroplasten herausgelesen werden:

Der e⁻-Fluss zwischen Mitochondrien und Chloroplasten ist 'entgegengesetzt' (logisch, da in Mitochondrien die Energie freigesetzt wird, welche in Chloroplasten früher einmal gespeichert wurde.)

Mitochondrien

- haben Zitronensäurezyklus
- Fett und Kohlenhydrate dienen als Energiespender
- CO₂ und H₂O werden produziert
- O₂ und Kohlenhydrate werden verbraucht

Chloroplasten

- haben Calvinzyklus (carbon fixation cycle)
- Sonnenenergie dient als Energiespender
- O₂ und Kohlenhydrate werden produziert
- H₂O und CO₂ werden verbraucht

1. The Mitochondrion

Die Glykolyse : Abbau von Zucker ohne O₂ (anaerob) findet im cytoplasmatischen Raum statt:

Glucose → Pyruvat + Energie



Im Mitochondrium wird Pyruvat ($\text{H}_3\text{C}-\overset{\text{O}}{\underset{\text{||}}{\text{C}}}-\text{COO}^-$) oxidiert: $\text{Pyruvat} + \text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2$. Mitochondrien sind mobil und plastisch verformbar, häufig befinden sie sich auch dort, wo ein hoher ATP Verbrauch ist.

2. The Mitochondrion Contains an Outer Membrane and an Inner Membrane That Create Two Internal Compartments.

Das Mitochondrium ist unterteilt in:

- Matrixraum (matrix space):

Enthält vor allem Enzyme, aber auch DNA, tRNA und weiteres Material für die Genexpression).

- Innenmembran (inner membrane):

Ist gefaltet um Oberfläche zu vergrößern

Enthält 3 Arten von Proteinen: (1) jene, welche Oxidation in der Atmungskette ausführen

(2) ATP-Synthase : erzeugt ATP im Matrixraum

(3) Porin (kanalformendes Protein)

-> permeabel für alle Moleküle kleiner als 5000 Daltons

- Intermembranenraum (intermembrane space):

Enthält mehrere Enzyme welche den ATP-Durchgang (vom Matrixraum nach aussen) nützen um andere Nucleotide zu phosphorylieren.

Vgl. Skizze im Unterkapitel (Zusammenfassung) **5. A Chemiosmotic Process Converts Oxidation Energy into ATP on the Inner Mitochondrial Membrane** oder im Buch Abbildung 14-6 *Fractionation of purified mitochondria into separate components* p.656 (oberstes Bild genügt)

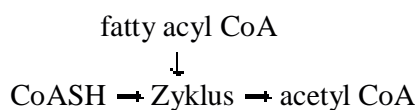
3. Mitochondrial Oxidation Begins When Large Amounts of Acetyl CoA Are Produced in the Matrix Space From Fatty Acids and Pyruvate

Für den Betrieb des oxidativen Stoffwechsels werden ausser Pyruvat⁴ auch Fettsäuren⁵ verwendet. Beides wird vom Cytoplasma selektiv in den mitochondriale Matrixraum transportiert, wo sie zum Acetyl Coenzym A (Acetyl CoA) abgebaut werden.

⁴ ist nur kurzfristig nach dem Essen vorhanden

⁵ energiereicher, kommt zum Zug nachdem Pyruvat verbraucht ist. Wird im Matrixraum in der Form von *fatty acyl CoA* transportiert

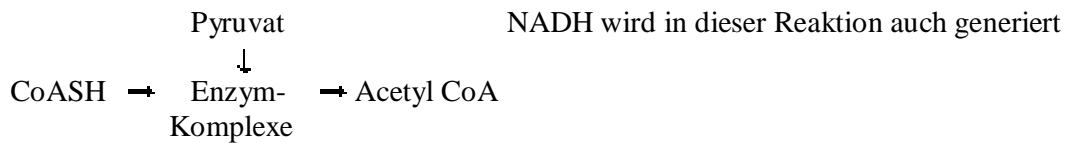
Skizze: Im Mitochondrium: β -Oxidation von Fettsäuren



Pro Durchgang im Zyklus wird hergestellt:
Ein FADH₂ (durch FAD + 2H⁺)
Ein NADH (durch NAD⁺ + 2H⁺)
Ein Acetyl CoA (ausgehend von CoASH)

Die Fettsäure wird solange abgebaut, bis sie sich vollständig in Acetyl CoA aufgelöst hat, dann folgt die nächste Fettsäure.

Der Abbaumechanismus für Pyruvat ist analog:

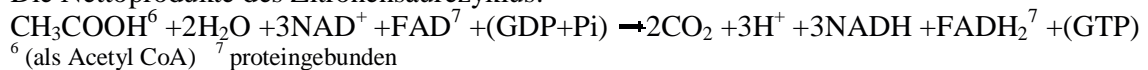


Wer sich für den genauer Mechanismen interessiert, sei auf Skizze 14-11 *The fatty acid oxidation cycle* p.659 und Skizze 14-13 *The reactions carried out by the pyruvate dehydrogenase complex* p.660 verwiesen,

4. The Citric Acid Cycle Oxidizes the Acetyl Group on Acetyl CoA to Generate NADH and FADH₂ for the Respiratory Chain

Der Zitronensäurezyklus ist unter der folgenden Skizze 14-14 *The citric acid cycle* p. 661 detailliert beschrieben.

Die Nettoprodukte des Zitronensäurezyklus:



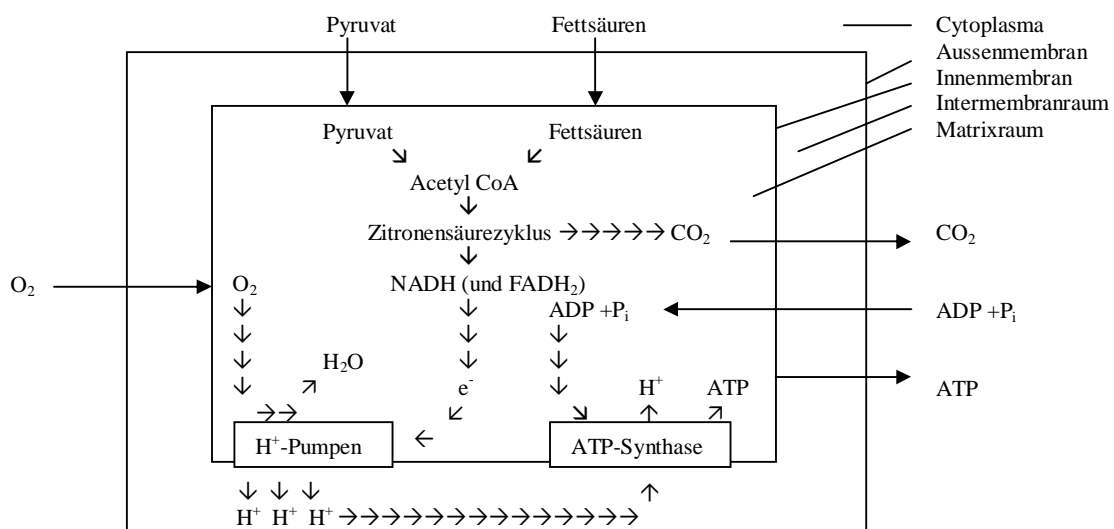
ATP wird aus GTP hergestellt: $\text{GTP} + \text{ADP} \rightarrow \text{GDP} + \text{ATP}$ (ist eine weitere ATP-Quelle)

5. A Chemiosmotic Process Converts Oxidation Energy into ATP on the Inner Mitochondrial Membrane

Die gespeicherte Energie des NADH⁸ und FADH₂ wird verwendet um H⁺-Pumpen zu betreiben. Diese bauen einen elektrochemischen Protonengradienten⁹ auf (H⁺ in Aussenmembran > H⁺ im Matrixraum), welcher wiederum gebraucht wird, um das Enzym ATP-Synthase zu betreiben.

⁸ $\text{NADH} + \text{H}^+ + \frac{1}{2} \text{O}_2 \rightarrow \text{NAD}^+ + \text{H}_2\text{O}$

⁹ eine genauere Erklärung über die Wirkungsweise des Protonengradienten folgt im Unterkapitel 7.



Als Vorbild für die Skizze diente folgende Abbildung im Buch: 14-16 *A summary of mitochondrial energy metabolism*

6. Electrons Are Transferred from NADH to Oxygen Through Three Large Respiratory Enzyme Complexes

Die Reaktion $\text{H}_2 + \frac{1}{2} \text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O}$ wird über viele Reaktionsschritte durchgeführt, um möglichst wenig Energie als Wärme zu verlieren. D.h. die Oxidation beginnt mit NADH, anschliessend werden die e^- mit mehreren e^- -Carriers transportiert, welche in drei grosse *respiratory enzyme complexes*¹⁰ unterteilt werden.

¹⁰ werden im Unterkapitel 16 genauer behandelt

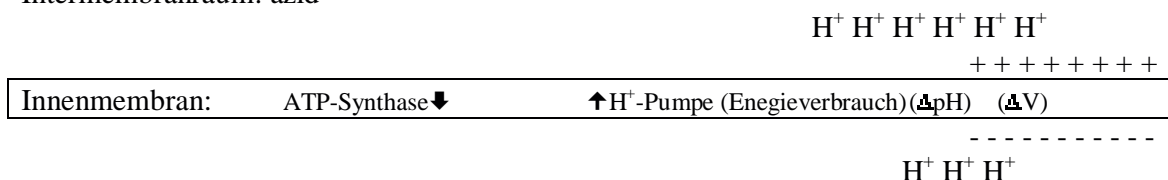
7. Energy released by the Passage of Electrons Along the Respiratory Chain Is Stored as an Electrochemical Proton Gradient Across the Inner Membrane

Wie schon im Unterkapitel 5 erwähnt, wird ein Protongradient (ΔpH) erzeugt, welcher zu einem Ladungsunterschied (ΔV) an der Innenmembran* führt.

* ist unter dem Namen Membranpotential bekannt:

Skizze:

Intermembranraum: azid



Matrixraum: alkalisch

Daher, durch die H⁺-Pumpe wird ein Konzentrationsunterschied (H⁺) und ein Ladungsunterschied aufgebaut, was insgesamt als elektrochemischer Protonengradient bezeichnet wird.

Die elektrochemische Motorische Kraft (proton motive force) auf der Innenmembran eines atmenden Mitochondriums beträgt ~200mV und wird durch ein Membranpotential von 140 mV erzeugt.

Die Energie wird verwendet, um ATP zu synthetisieren, oder um Moleküle (inkl. P_i, ADP, Ca²⁺ usw.) gegen den Gradienten zu transportieren, wie es in Kapitel 11 besprochen wurde. Je mehr Energie für den Stofftransport verbraucht wird, umso weniger steht für die ATP-Synthese zur Verfügung.

8. The Rapid Conversion of ADP to ATP in Mitochondria Maintains a High Ratio of ATP to ADP in Cells

ADP welches durch die Hydrolyse von ATP im Cytoplasma entstanden ist, wird ins Mitochondrium zurücktransportiert. Auf diese Weise wird ein ATP Molekül mehrere tausendmal im Tag hin und her transportiert. Für den Fall, dass der ATP Level fällt werden die un favorisierten Reaktionen nicht mehr durchgeführt. Jenes ist schon der Fall bevor der ATP Level null ist!

9. The Difference Between ΔG° and ΔG : A Large Negative Value of ΔG is Required for ATP Hydrolysis to Be Useful to the Cell

Für $A \rightarrow B$: $\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln([B] / [A])$ folgt, wenn die Reaktion im Gleichgewicht ist:

$$\Delta G^\circ = -RT \ln([B] / [A]) \quad \Delta G = 0 \text{ (Gleichgewichtsbedingung)}$$

$$\Rightarrow ([B] / [A]) = e^{-\Delta G^\circ / (RT)}$$

für $[B]=[ADP][P_i]$ und $[A]=[ATP]$ und beides mit der Konzentration von 1 M (mol/l) ist $\Delta G = \Delta G^\circ = -7.3 \text{ kcal/mol}$. Bei viel tieferen Konzentrationen von ATP relativ zu ADP, P_i wird $\Delta G = 0$, da $(\Delta G^\circ + RT \ln([B]/[A]))$ null wird. Zur Erinnerung, es ist ΔG welches bestimmt, ob eine Reaktion durchgeführt wird oder nicht.

10. Cellular Respiration Is Remarkably Efficient

1 Molekül von x liefert die Energie für die Bildung von y Moleküle von ATP.

x:	y	
NADH	2.5	
FADH ₂	1.5	
Acetyl CoA ¹¹	10	¹¹ jedes Molekül, welches in den Zitronensäurezyklus eintritt
Glucose	20	
Palmitinsäure ¹²	84	¹² ist eine 16 C-haltige Fettsäure

11. The Respiratory Chain and ATP Synthase

12. Functional Inside-out Particles Can Be Isolated from Mitochondria

Mit Ultraschall können Mitochondrien zerstört werden und man erhält funktionierende Submitochondriale Partikel, welche zuvor auf der Innenmembran waren. Durch die Zerstückelung der Innenmembran¹³, werden neue, kleinere Partikel geformt, welche nun aber im Vergleich zur Innenmembran eine umgestülpte Membran besitzen. Der Sinn der Methode: Diese Partikel können nun einfach, mit sonst für die Membran undurchlässigen Stoffen beliefert werden. Durch Zugabe von NADH, ADP und P_i , wird anschließend ATP produziert. Auf diese Weise lassen sich Proteine in funktionsfähiger Form anhäufen, welche für die oxidative Phosphorylierung benötigt werden.

Vgl Skizze 14-23 *Preparation of submitochondrial particles from purified mitochondria*

¹³ Auf der unzerstückelten Innenmembran sitzen lollipopähnliche Strukturen, welche mit dem Lollipopstengel in der Innenmembran verankert sind. Der 'Kopf' des Lollipop's sitzt aussen. Bei der Umstülpung liegt dann logischerweise der 'Kopf' innen.

13. ATP Synthase Can Be Purified and Added Back to Membranes

Werden an den Submitochondrialen Partikeln alle Köpfe (Spheres)¹⁴ der Lollipop's entfernt, sind diese nicht mehr fähig ATP zu synthetisieren, sondern nur noch zu hydrolysieren: $ATP \rightarrow ADP + P_i$. Werden die selben Köpfe (Spheres) zurück in eine 'nackte' Innenmembran transferiert, sind sie wieder voll funktionsfähig. Der Lollipop besteht aus Kopf (Spheres= F_1 ATPase) und Stengel, welcher den transmembran H^+ -Carrier beinhaltet. Zusammen bilden sie die Struktur der ATP synthase. Vergleiche Abbildung 14-25 *ATP synthase p.673*.

¹⁴(werden F_1 ATPase genannt)

13. ATP Synthase Can Function in Reverse to Hydrolyze ATP and Pump H^+

ATP-Synthase kann ATP synthetisieren, oder in der umgekehrten Richtung (durch Hydrolyse von ATP) H^+ aktiv pumpen. Drei H^+ erzeugen ein ATP Molekül. Die Na^+-K^+ Pumpe und die Ca^{2+} - Pumpe verbrauchen ATP, aber wenn sie einem abnormalen Ionengradienten ausgesetzt sind, kann es auch vorkommen, dass sie durch die umgekehrte Reaktion ATP produzieren!

14. The Respiratory Chain Pumps H^+ Across the Inner Mitochondrial Membrane

15. Spectroscopic Methods Have Been Used To Identify Many Electron Carriers in the Respiratory Chain

Es gibt drei verschiedenen Familien von e^- -Carriers:

- 1) Cytochrom c
- 2) Eisen-Schwefel Proteine (Iron-sulfur proteins)
- 3) Quinone

16. The Respiratory Chain Contains Three Large Enzyme Complexes Embedded in the Inner Membrane

Die 'respiratory enzyme complexes' wirken als e^- -transportbetriebene H^+ -Pumpe. Die drei grossen Enzym Komplexe sind:

- 1) Der **NADH dehydrogenase Komplex** akzeptiert e^- von $NADH^{15}$. Ubiquinon übernimmt die e^- und transportiert sie in der Innenmembran zum b-c₁ Komplex
- 2) Der **b-c₁ Komplex** übernimmt die e^- und reicht sie ans Cytochrom c weiter, welches die e^- in der Innenmembran zum Cytochrom Oxidase Komplex transportiert.
- 3) Der **Cytochrom Oxidase Komplex** akzeptiert die e^- und reicht sie an Sauerstoff weiter.



Vgl. Skizze 14-33 *The path of electrons through the three respiratory enzyme complexes p. 677*

Cytochrom, das Eisen-Schwefelzentrum und Kupfer können auf einmal nur ein e^- transportieren. Für ein Wasseratom zu produzieren braucht es vier e^- .

17. An Iron-Copper Center in Cytochrome Oxidase Catalyzes Efficient O₂ Reduction

Bei Atmung fällt O_2^- (Radikale) an, welche dank der Cytochrom Oxidase keine schädliche Wirkung entfalten können, da das Radikal am *Zweimetallzentrum (bimetallic center)*[°], gebunden wird. Das Enzym kann bis zu vier e^- speichern, welche schlussendlich auf einmal einem O-Atom abgegeben werden.

[°] besteht aus Eisen und Kupfer

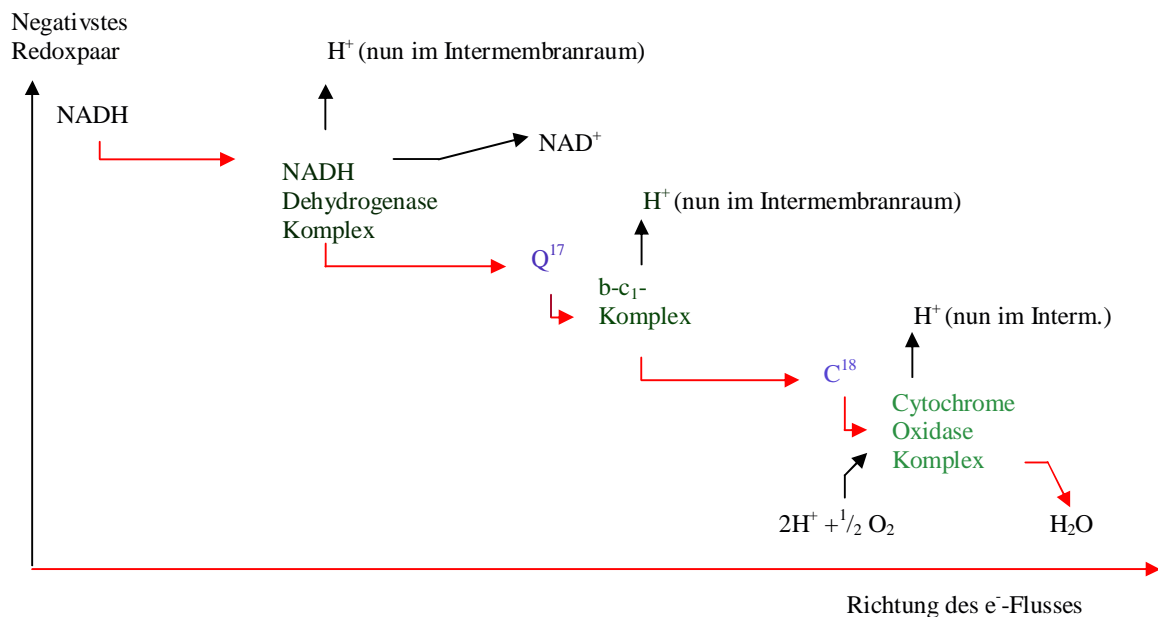
18. Electron Transfers Are Mediated by Random Collisions Between Diffusing Donors and Acceptors in the Mitochondrial Inner Membrane

Ubiquinon und Cytochrom c, welche in der Innen Membrane ungeordnet diffundieren, sorgen für den e^- -Transport zwischen den drei Enzymkomplexen.

19. A Large Drop in Redox Potential Across Each of the Three Respiratory Enzyme Complexes Provides the Energy for H⁺ Pumping

Das Paar $NADH / NAD^+$ wird auch konjugiertes Redoxpaar genannt. Die Redoxpaare mit dem negativsten Redoxpotential haben die schwächste Affinität bezüglich e^- und wirken als e^- -Donoren. Das Redoxpaar $H_2O / \frac{1}{2}O_2$ wirkt als starker e^- -Akzeptor.

Es folgt eine vereinfachte Skizze von Abbildung 14-35 *The redox potential (denoted E'_0 or E_h) increases as electrons flow down the respiratory chain to oxygen.*



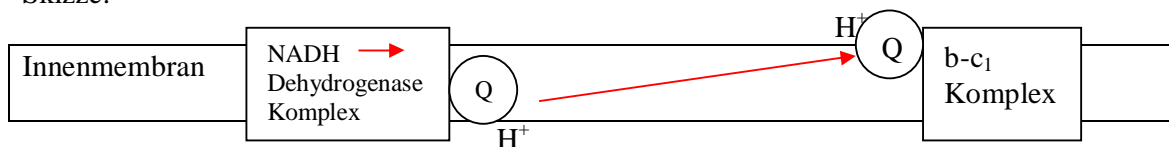
¹⁷ Ubiquinon

¹⁸ Cytochrom c

20. The Mechanism of H^+ Pumping is Best Understood in Bacteriorhodopsin

Ubiquinon transportiert das e^- indem es ein H^+ an der Innenseite der Membran (Matrixraum) aufnimmt und es auf der Aussenseite (Intermembranraum) abgibt.

Skizze:



Betrachte die Skizze im Zusammenhang mit der vorhergehenden!

Zur Ergänzung: Allosterische Veränderungen in Proteinen können ebenso H^+ pumpen. Das geschieht auf die selbe Art, wie wenn die ATP-Synthase rückwärts läuft und H^+ pumpt.

21. H^+ Ionophores¹⁹ Dissipate²⁰ the H^+ Gradient und Thereby Uncouple Electron Transport from ATP Synthesis

¹⁹ Ionophores: sind kleine hydrophobe Moleküle, welche die Permeabilität der Membran für anorganische Moleküle erhöhen (mehr in Kapitel 11, p. 511-512 engl. Ausgabe).

²⁰ dissipate = verschwenden

2,4-Dinitrophenol verhält sich als 'uncoupling agent²¹', welcher den e^- -Transport von der ATP synthase abkoppelt[#]. Somit wird ein anderer Weg ('Carrier') durch die Innenmembran benutzt, als eigentlich für die ATP-Synthase vorgesehen wäre. Dabei vermindert sich der H^+ Gradient ohne eine ATP Produktion zu verursachen.

²¹ sind lipidlösliche, schwache Säuren, welche als H^+ -Carriers (H^+ -Ionophore) wirken.

[#] der e^- -Transport wird indirekt durch den Verlust des H^+ -Gradienten abgekoppelt

“damit meine ich den H^+ -Ionophore

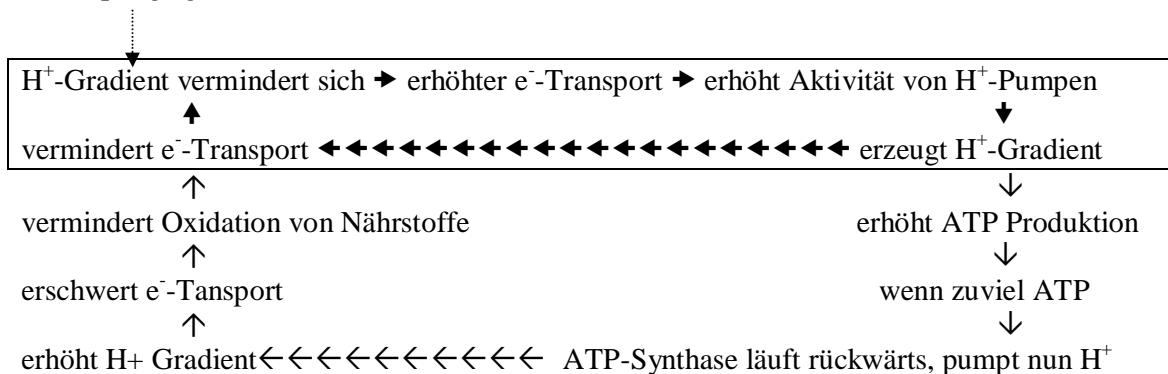
22. Respiratory Control Normally Restrains Electron Flow Through the Chain

Wenn nun der H^+ -Gradient durch einen 'uncoupling agent' kollabiert und somit auch der Ladungsunterschied an der Membran, erreicht der e^- -Transport sein Maximum²². Somit wird erreicht, dass die H^+ -Pumpen stark aktiviert und den H^+ -Gradienten wieder aufgebaut wird, bis sich e^- -Transport wieder erniedrigt.

²² wird über einen erhöhten Bedarf von Sauerstoff gedeckt, bedeutet erhöhte Verbrennungsrate der Nährstoffe

Skizze:

Uncoupling agent



Im Kasten befindet sich das Atmungskontrollsystem. Aber es gibt noch weitere Kontrollsysteme, ein weiteres ist oben abgebildet.

Es gibt einen Regelkreis, welcher für die Koordination der Glykolyse, des Fettsäurenabbaus, den Zitronensäurezyklus und den e^- -Transport verantwortlich ist. Alles wird aber vom Verhältnis ATP zu ADP gesteuert.

23. Natural Uncouplers Convert the Mitochondria in Brown Fat into Heat-generating Machines

Es gibt spezielle Fettzellen, in welchen kein ATP produziert wird. Die sogenannten Braunen Fettzellen benützen die aus der Oxidation entstehende Energie um Wärme zu erzeugen. Sie schützen bestimmte Organe vor der Kälte.

24. All Bacteria Use Chemiosmotic Mechanisms to Harness Energy

Bakterien könne unterschiedliche Energiequellen verwenden. Die Energieumwandlung der Aeroben ähneln stark demjenigen im Mitochondrium. Andere sind strikt anaerob und betreiben Fermentation (Gärung). Oder sie verwenden einen alternativen e^- -Akzeptor. Das kann eine Stickstoff- (Nitrat oder Nitrit), Schwefel- (Sulfat oder Sulfid), oder eine Kohlenstoffverbindung (Fumarat oder Karbonat) sein. Der grösste Teil der Bakterien enthält ebenfalls eine ATP-Synthase. Viele Bakterien benützen einen Na^+H^+ Antiporter, anstatt die $Na^+K^+-ATPase$ ²³

²³ ist das Enzym, welches gebraucht wird um die Na^+K^+ -Pumpe zu betreiben.

‘Wort des Autors’

Die Zusammenfassung bezieht sich auf die engl. und 3. Ausgabe vom Alberts. Die Unterkapitel wurden vollständig aus dem Buch übernommen, inklusiv Druckfehlern. Wie dir vielleicht schon aufgefallen ist, werden in 'The Cell' entsprechende Themen zuerst generell besprochen und anschliessend im Detail behandelt. Daher, lohnt es sich die Zusammenfassung vollständig durchzulesen, da bestehende Unklarheiten häufig später beseitigt werden. Die zusätzlichen angegebenen Abbildungen im Buch versuchen das Verständnis zu erleichtern, es sollte aber möglich sein die Zusammenfassung ohne diese Bilder zu verstehen. Die allerwichtigsten Abbildungen habe ich schematisch in die ZS übernommen. Da sich die Powerpoint Presentation praktisch nicht mit dem Buch (Kapitel 14) deckt empfehle ich diese unbedingt nachzulesen.

14. Energy Conversion: Mitochondria and Chloroplasts

Die folgende Einleitung versucht einen rudimentären Überblick zu geben, eine genauere und verständlichere Betrachtungsweise, wird in den späteren Unterkapiteln geboten:

Mitochondrien sind praktisch in allen eukaryotischen Zellen vorhanden. Sie werden auch als Kraftwerke der Zellen bezeichnet.

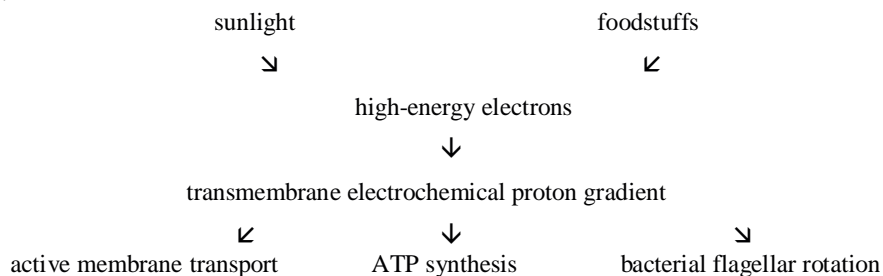
Die Energie, gewonnen durch die *Oxidation von Nährstoffen*¹ oder durch *Sonnenlicht*² wird verwendet, um membrangebundene H^+ -Pumpen anzutreiben. Diese bauen einen elektrochemischen Gradienten auf, der dazu dient *Protein Maschinen*³ zu betreiben. Als einer der wichtigsten e^- -Carriers wirkt NAD^+ ($NAD^+ + H + 2e^- \rightarrow NADH$).

¹ findet in den Mitochondrien statt, zur Erinnerung: Oxidation = Elektronenentzug

² findet in den Chloroplasten statt

³ als Beispiel sei das Enzym ATP-Synthase genannt

Skizze:



Aus der Skizze 14-2 *The mitochondrion and chloroplast as electrical energy conversion devices* p. 654 können folgende Unterschiede zwischen Mitochondrien und Chloroplasten herausgelesen werden:

Der e^- -Fluss zwischen Mitochondrien und Chloroplasten ist 'entgegengesetzt' (logisch, da in Mitochondrien die Energie freigesetzt wird, welche in Chloroplasten früher einmal gespeichert wurde.)

Mitochondrien

- haben Zitronensäurezyklus
- Fett und Kohlenhydrate dienen als Energiespender
- CO_2 und H_2O werden produziert
- O_2 und Kohlenhydrate werden verbraucht

Chloroplasten

- haben Calvinzyklus (carbon fixation cycle)
- Sonnenenergie dient als Energiespender
- O_2 und Kohlenhydrate werden produziert
- H_2O und CO_2 werden verbraucht

1. The Mitochondrion

Die Glykolyse : Abbau von Zucker ohne O₂ (anaerob) findet im cytoplasmatischen Raum statt:

Glucose → Pyruvat + Energie



Im Mitochondrium wird Pyruvat ($\text{H}_3\text{C}-\overset{\text{O}}{\underset{\text{||}}{\text{C}}}-\text{COO}^-$) oxidiert: $\text{Pyruvat} + \text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2$. Mitochondrien sind mobil und plastisch verformbar, häufig befinden sie sich auch dort, wo ein hoher ATP Verbrauch ist.

2. The Mitochondrion Contains an Outer Membrane and an Inner Membrane That Create Two Internal Compartments.

Das Mitochondrium ist unterteilt in:

- Matrixraum (matrix space):

Enthält vor allem Enzyme, aber auch DNA, tRNA und weiteres Material für die Genexpression).

- Innenmembran (inner membrane):

Ist gefaltet um Oberfläche zu vergrößern

Enthält 3 Arten von Proteinen: (1) jene, welche Oxidation in der Atmungskette ausführen

(2) ATP-Synthase : erzeugt ATP im Matrixraum

(3) Porin (kanalformendes Protein)

-> permeabel für alle Moleküle kleiner als 5000 Daltons

- Intermembranenraum (intermembrane space):

Enthält mehrere Enzyme welche den ATP-Durchgang (vom Matrixraum nach aussen) nützen um andere Nucleotide zu phosphorylieren.

Vgl. Skizze im Unterkapitel (Zusammenfassung) **5. A Chemiosmotic Process Converts Oxidation Energy into ATP on the Inner Mitochondrial Membrane** oder im Buch Abbildung 14-6 *Fractionation of purified mitochondria into separate components* p.656 (oberstes Bild genügt)

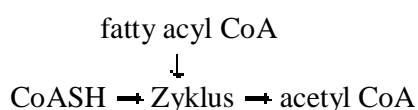
3. Mitochondrial Oxidation Begins When Large Amounts of Acetyl CoA Are Produced in the Matrix Space From Fatty Acids and Pyruvate

Für den Betrieb des oxidativen Stoffwechsels werden ausser Pyruvat⁴ auch Fettsäuren⁵ verwendet. Beides wird vom Cytoplasma selektiv in den mitochondriale Matrixraum transportiert, wo sie zum Acetyl Coenzym A (Acetyl CoA) abgebaut werden.

⁴ ist nur kurzfristig nach dem Essen vorhanden

⁵ energiereicher, kommt zum Zug nachdem Pyruvat verbraucht ist. Wird im Matrixraum in der Form von *fatty acyl CoA* transportiert

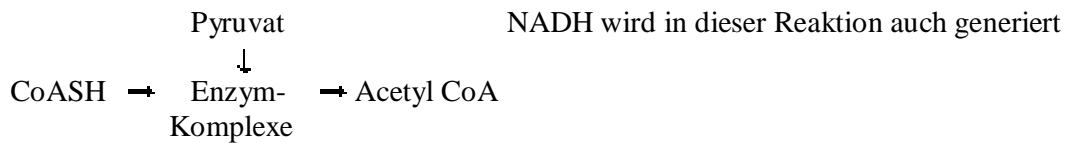
Skizze: Im Mitochondrium: β -Oxidation von Fettsäuren



Pro Durchgang im Zyklus wird hergestellt:
Ein FADH₂ (durch FAD + 2H⁺)
Ein NADH (durch NAD⁺ + 2H⁺)
Ein Acetyl CoA (ausgehend von CoASH)

Die Fettsäure wird solange abgebaut, bis sie sich vollständig in Acetyl CoA aufgelöst hat, dann folgt die nächste Fettsäure.

Der Abbaumechanismus für Pyruvat ist analog:

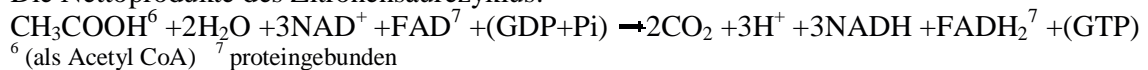


Wer sich für den genauer Mechanismen interessiert, sei auf Skizze 14-11 *The fatty acid oxidation cycle* p.659 und Skizze 14-13 *The reactions carried out by the pyruvate dehydrogenase complex* p.660 verwiesen,

4. The Citric Acid Cycle Oxidizes the Acetyl Group on Acetyl CoA to Generate NADH and FADH₂ for the Respiratory Chain

Der Zitronensäurezyklus ist unter der folgenden Skizze 14-14 *The citric acid cycle* p. 661 detailliert beschrieben.

Die Nettoprodukte des Zitronensäurezyklus:



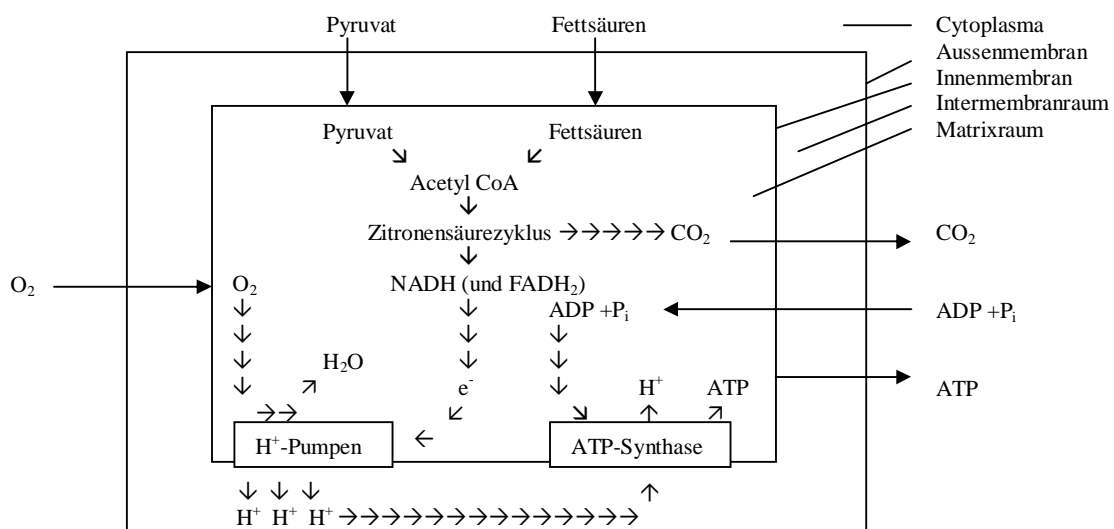
ATP wird aus GTP hergestellt: $\text{GTP} + \text{ADP} \rightarrow \text{GDP} + \text{ATP}$ (ist eine weitere ATP-Quelle)

5. A Chemiosmotic Process Converts Oxidation Energy into ATP on the Inner Mitochondrial Membrane

Die gespeicherte Energie des NADH⁸ und FADH₂ wird verwendet um H⁺-Pumpen zu betreiben. Diese bauen einen elektrochemischen Protonengradienten⁹ auf (H⁺ in Aussenmembran > H⁺ im Matrixraum), welcher wiederum gebraucht wird, um das Enzym ATP-Synthase zu betreiben.

⁸ $\text{NADH} + \text{H}^+ + \frac{1}{2} \text{O}_2 \rightarrow \text{NAD}^+ + \text{H}_2\text{O}$

⁹ eine genauere Erklärung über die Wirkungsweise des Protonengradienten folgt im Unterkapitel 7.



Als Vorbild für die Skizze diente folgende Abbildung im Buch: 14-16 *A summary of mitochondrial energy metabolism*

6. Electrons Are Transferred from NADH to Oxygen Through Three Large Respiratory Enzyme Complexes

Die Reaktion $\text{H}_2 + \frac{1}{2} \text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O}$ wird über viele Reaktionsschritte durchgeführt, um möglichst wenig Energie als Wärme zu verlieren. D.h. die Oxidation beginnt mit NADH, anschliessend werden die e^- mit mehreren e^- -Carriers transportiert, welche in drei grosse *respiratory enzyme complexes*¹⁰ unterteilt werden.

¹⁰ werden im Unterkapitel 16 genauer behandelt

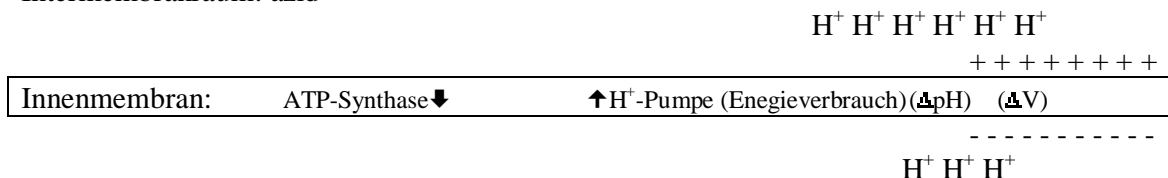
7. Energy released by the Passage of Electrons Along the Respiratory Chain Is Stored as an Electrochemical Proton Gradient Across the Inner Membrane

Wie schon im Unterkapitel 5 erwähnt, wird ein Protongradient (ΔpH) erzeugt, welcher zu einem Ladungsunterschied (ΔV) an der Innenmembran* führt.

* ist unter dem Namen Membranpotential bekannt:

Skizze:

Intermembranraum: azid



Matrixraum: alkalisch

Daher, durch die H⁺-Pumpe wird ein Konzentrationsunterschied (H⁺) und ein Ladungsunterschied aufgebaut, was insgesamt als elektrochemischer Protonengradient bezeichnet wird.

Die elektrochemische Motorische Kraft (proton motive force) auf der Innenmembran eines atmenden Mitochondriums beträgt ~200mV und wird durch ein Membranpotential von 140 mV erzeugt.

Die Energie wird verwendet, um ATP zu synthetisieren, oder um Moleküle (inkl. P_i, ADP, Ca²⁺ usw.) gegen den Gradienten zu transportieren, wie es in Kapitel 11 besprochen wurde. Je mehr Energie für den Stofftransport verbraucht wird, umso weniger steht für die ATP-Synthese zur Verfügung.

8. The Rapid Conversion of ADP to ATP in Mitochondria Maintains a High Ratio of ATP to ADP in Cells

ADP welches durch die Hydrolyse von ATP im Cytoplasma entstanden ist, wird ins Mitochondrium zurücktransportiert. Auf diese Weise wird ein ATP Molekül mehrere tausendmal im Tag hin und her transportiert. Für den Fall, dass der ATP Level fällt werden die un favorisierten Reaktionen nicht mehr durchgeführt. Jenes ist schon der Fall bevor der ATP Level null ist!

9. The Difference Between ΔG° and ΔG : A Large Negative Value of ΔG is Required for ATP Hydrolysis to Be Useful to the Cell

Für $A \rightarrow B$: $\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln([B]/[A])$ folgt, wenn die Reaktion im Gleichgewicht ist:

$$\Delta G^\circ = -RT \ln([B]/[A]) \quad \Delta G = 0 \text{ (Gleichgewichtsbedingung)}$$

$$\Rightarrow ([B]/[A]) = e^{-\Delta G^\circ/(RT)}$$

für $[B]=[ADP][P_i]$ und $[A]=[ATP]$ und beides mit der Konzentration von 1 M (mol/l) ist $\Delta G = \Delta G^\circ = -7.3 \text{ kcal/mol}$. Bei viel tieferen Konzentrationen von ATP relativ zu ADP, P_i wird $\Delta G = 0$, da $(\Delta G^\circ + RT \ln([B]/[A]))$ null wird. Zur Erinnerung, es ist ΔG welches bestimmt, ob eine Reaktion durchgeführt wird oder nicht.

10. Cellular Respiration Is Remarkably Efficient

1 Molekül von x liefert die Energie für die Bildung von y Moleküle von ATP.

x:	y	
NADH	2.5	
FADH ₂	1.5	
Acetyl CoA ¹¹	10	¹¹ jedes Molekül, welches in den Zitronensäurezyklus eintritt
Glucose	20	
Palmitinsäure ¹²	84	¹² ist eine 16 C-haltige Fettsäure

11. The Respiratory Chain and ATP Synthase

12. Functional Inside-out Particles Can Be Isolated from Mitochondria

Mit Ultraschall können Mitochondrien zerstört werden und man erhält funktionierende Submitochondriale Partikel, welche zuvor auf der Innenmembran waren. Durch die Zerstückelung der Innenmembran¹³, werden neue, kleinere Partikel geformt, welche nun aber im Vergleich zur Innenmembran eine umgestülpte Membran besitzen. Der Sinn der Methode: Diese Partikel können nun einfach, mit sonst für die Membran undurchlässigen Stoffen beliefert werden. Durch Zugabe von NADH, ADP und P_i , wird anschließend ATP produziert. Auf diese Weise lassen sich Proteine in funktionsfähiger Form anhäufen, welche für die oxidative Phosphorylierung benötigt werden.

Vgl Skizze 14-23 *Preparation of submitochondrial particles from purified mitochondria*

¹³ Auf der unzerstückelten Innenmembran sitzen lollipopähnliche Strukturen, welche mit dem Lollipopstengel in der Innenmembran verankert sind. Der 'Kopf' des Lollipop's sitzt aussen. Bei der Umstülpung liegt dann logischerweise der 'Kopf' innen.

13. ATP Synthase Can Be Purified and Added Back to Membranes

Werden an den Submitochondrialen Partikeln alle Köpfe (Spheres)¹⁴ der Lollipop's entfernt, sind diese nicht mehr fähig ATP zu synthetisieren, sondern nur noch zu hydrolysieren: $ATP \rightarrow ADP + P_i$. Werden die selben Köpfe (Spheres) zurück in eine 'nackte' Innenmembran transferiert, sind sie wieder voll funktionsfähig. Der Lollipop besteht aus Kopf (Spheres= F_1 ATPase) und Stengel, welcher den transmembran H^+ -Carrier beinhaltet. Zusammen bilden sie die Struktur der ATP synthase. Vergleiche Abbildung 14-25 *ATP synthase p.673*.

¹⁴(werden F_1 ATPase genannt)

13. ATP Synthase Can Function in Reverse to Hydrolyze ATP and Pump H^+

ATP-Synthase kann ATP synthetisieren, oder in der umgekehrten Richtung (durch Hydrolyse von ATP) H^+ aktiv pumpen. Drei H^+ erzeugen ein ATP Molekül. Die Na^+-K^+ Pumpe und die Ca^{2+} - Pumpe verbrauchen ATP, aber wenn sie einem abnormalen Ionengradienten ausgesetzt sind, kann es auch vorkommen, dass sie durch die umgekehrte Reaktion ATP produzieren!

14. The Respiratory Chain Pumps H^+ Across the Inner Mitochondrial Membrane

15. Spectroscopic Methods Have Been Used To Identify Many Electron Carriers in the Respiratory Chain

Es gibt drei verschiedenen Familien von e^- -Carriers:

- 1) Cytochrom c
- 2) Eisen-Schwefel Proteine (Iron-sulfur proteins)
- 3) Quinone

16. The Respiratory Chain Contains Three Large Enzyme Complexes Embedded in the Inner Membrane

Die 'respiratory enzyme complexes' wirken als e^- -transportbetriebene H^+ -Pumpe. Die drei grossen Enzym Komplexe sind:

- 1) Der **NADH dehydrogenase Komplex** akzeptiert e^- von $NADH^{15}$. Ubiquinon übernimmt die e^- und transportiert sie in der Innenmembran zum b-c₁ Komplex
- 2) Der **b-c₁ Komplex** übernimmt die e^- und reicht sie ans Cytochrom c weiter, welches die e^- in der Innenmembran zum Cytochrom Oxidase Komplex transportiert.
- 3) Der **Cytochrom Oxidase Komplex** akzeptiert die e^- und reicht sie an Sauerstoff weiter.



Vgl. Skizze 14-33 *The path of electrons through the three respiratory enzyme complexes p. 677*

Cytochrom, das Eisen-Schwefelzentrum und Kupfer können auf einmal nur ein e^- transportieren. Für ein Wasseratom zu produzieren braucht es vier e^- .

17. An Iron-Copper Center in Cytochrome Oxidase Catalyzes Efficient O₂ Reduction

Bei Atmung fällt O_2^- (Radikale) an, welche dank der Cytochrom Oxidase keine schädliche Wirkung entfalten können, da das Radikal am *Zweimetallzentrum (bimetallic center)*[°], gebunden wird. Das Enzym kann bis zu vier e^- speichern, welche schlussendlich auf einmal einem O-Atom abgegeben werden.

[°] besteht aus Eisen und Kupfer

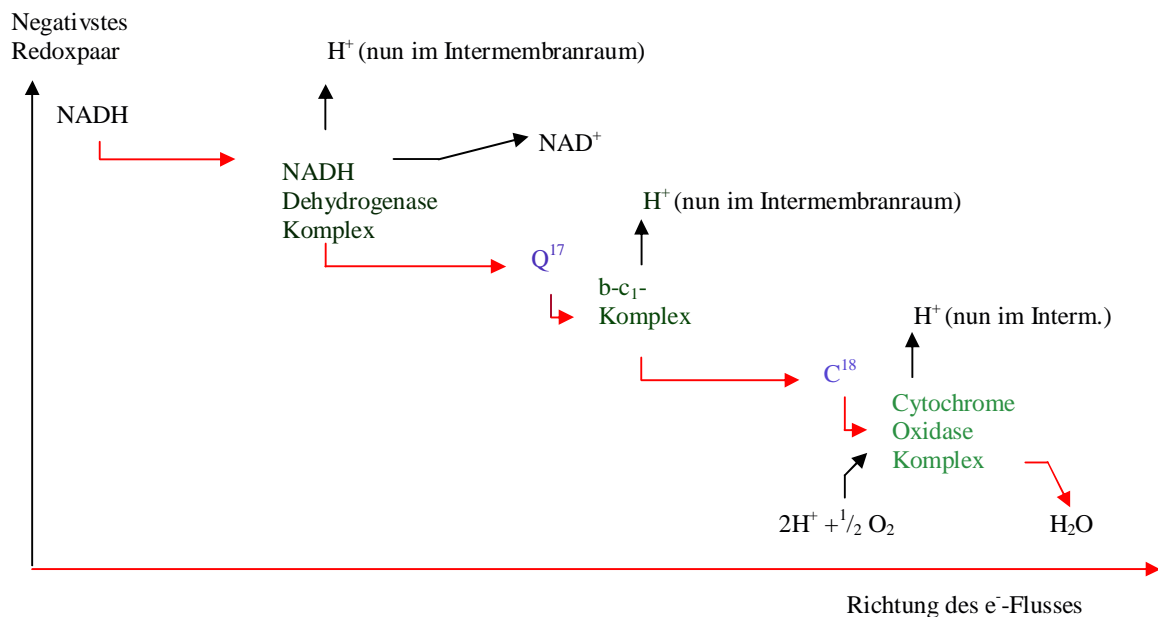
18. Electron Transfers Are Mediated by Random Collisions Between Diffusing Donors and Acceptors in the Mitochondrial Inner Membrane

Ubiquinon und Cytochrom c, welche in der Innen Membrane ungeordnet diffundieren, sorgen für den e^- -Transport zwischen den drei Enzymkomplexen.

19. A Large Drop in Redox Potential Across Each of the Three Respiratory Enzyme Complexes Provides the Energy for H⁺ Pumping

Das Paar $NADH / NAD^+$ wird auch konjugiertes Redoxpaar genannt. Die Redoxpaare mit dem negativsten Redoxpotential haben die schwächste Affinität bezüglich e^- und wirken als e^- -Donoren. Das Redoxpaar $H_2O / \frac{1}{2}O_2$ wirkt als starker e^- -Akzeptor.

Es folgt eine vereinfachte Skizze von Abbildung 14-35 *The redox potential (denoted E'_0 or E_h) increases as electrons flow down the respiratory chain to oxygen.*



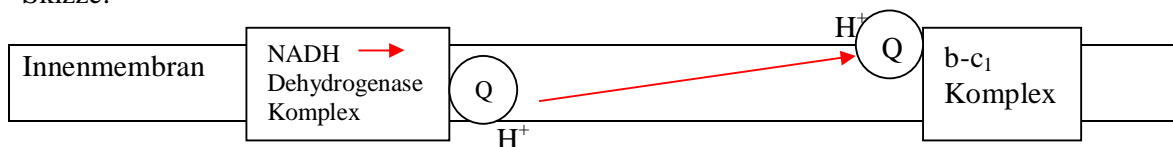
¹⁷ Ubiquinon

¹⁸ Cytochrom c

20. The Mechanism of H⁺ Pumping is Best Understood in Bacteriorhodopsin

Ubiquinon transportiert das e⁻ indem es ein H⁺ an der Innenseite der Membran (Matrixraum) aufnimmt und es auf der Aussenseite (Intermembranraum) abgibt.

Skizze:



Betrachte die Skizze im Zusammenhang mit der vorhergehenden!

Zur Ergänzung: Allosterische Veränderungen in Proteinen können ebenso H⁺ pumpen. Das geschieht auf die selbe Art, wie wenn die ATP-Synthase rückwärts läuft und H⁺ pumpt.

21. H⁺ Ionophores¹⁹ Dissipate²⁰ the H⁺ Gradient und Thereby Uncouple Electron Transport from ATP Synthesis

¹⁹ Ionophores: sind kleine hydrophobe Moleküle, welche die Permeabilität der Membran für anorganische Moleküle erhöhen (mehr in Kapitel 11, p. 511-512 engl. Ausgabe).

²⁰ dissipate = verschwenden

2,4-Dinitrophenol verhält sich als 'uncoupling agent²¹', welcher den e⁻-Transport von der ATP synthase abkoppelt[#]. Somit wird ein anderer Weg ('Carrier') durch die Innenmembran benutzt, als eigentlich für die ATP-Synthase vorgesehen wäre. Dabei vermindert sich der H⁺ Gradient ohne eine ATP Produktion zu verursachen.

²¹ sind lipidlösliche, schwache Säuren, welche als H⁺-Carriers (H⁺-Ionophore) wirken.

[#] der e⁻-Transport wird indirekt durch den Verlust des H⁺-Gradienten abgekoppelt

“damit meine ich den H⁺-Ionophore

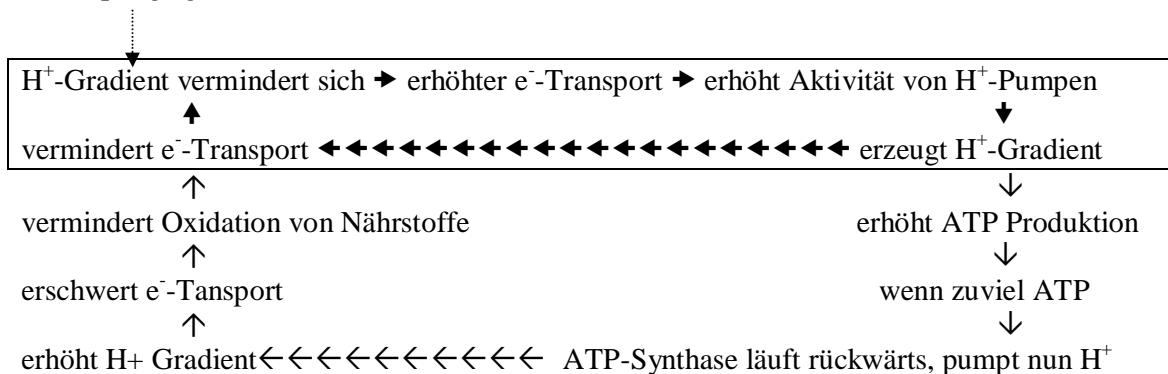
22. Respiratory Control Normally Restrains Electron Flow Through the Chain

Wenn nun der H^+ -Gradient durch einen 'uncoupling agent' kollabiert und somit auch der Ladungsunterschied an der Membran, erreicht der e^- -Transport sein Maximum²². Somit wird erreicht, dass die H^+ -Pumpen stark aktiviert und den H^+ -Gradienten wieder aufgebaut wird, bis sich e^- -Transport wieder erniedrigt.

²² wird über einen erhöhten Bedarf von Sauerstoff gedeckt, bedeutet erhöhte Verbrennungsrate der Nährstoffe

Skizze:

Uncoupling agent



Im Kasten befindet sich das Atmungskontrollsystem. Aber es gibt noch weitere Kontrollsysteme, ein weiteres ist oben abgebildet.

Es gibt einen Regelkreis, welcher für die Koordination der Glykolyse, des Fettsäurenabbaus, den Zitronensäurezyklus und den e^- -Transport verantwortlich ist. Alles wird aber vom Verhältnis ATP zu ADP gesteuert.

23. Natural Uncouplers Convert the Mitochondria in Brown Fat into Heat-generating Machines

Es gibt spezielle Fettzellen, in welchen kein ATP produziert wird. Die sogenannten Braunen Fettzellen benützen die aus der Oxidation entstehende Energie um Wärme zu erzeugen. Sie schützen bestimmte Organe vor der Kälte.

24. All Bacteria Use Chemiosmotic Mechanisms to Harness Energy

Bakterien könne unterschiedliche Energiequellen verwenden. Die Energieumwandlung der Aeroben ähneln stark demjenigen im Mitochondrium. Andere sind strikt anaerob und betreiben Fermentation (Gärung). Oder sie verwenden einen alternativen e^- -Akzeptor. Das kann eine Stickstoff- (Nitrat oder Nitrit), Schwefel- (Sulfat oder Sulfid), oder eine Kohlenstoffverbindung (Fumarat oder Karbonat) sein. Der grösste Teil der Bakterien enthält ebenfalls eine ATP-Synthase. Viele Bakterien benützen einen Na^+H^+ Antiporter, anstatt die Na^+K^+ -ATPase²³

²³ ist das Enzym, welches gebraucht wird um die Na^+K^+ -Pumpe zu betreiben.

CELL CONVERSATION

Zellen müssen fähig sein untereinander zu kommunizieren, damit sie ihr eigenes Verhalten so steuern, dass es dem ganzen Organismus zu Nutze kommt. Diese komplexen Kommunikationsmechanismen hängen von extrazellulären Signalmolekülen ab, aber auch von einem sorgfältig ausgearbeiteten System an Proteinen, welche jeder Zelle ermöglichen auf die eintreffenden Signale zu reagieren. Zu diesen Proteinen zählen unter anderem auch Rezeptorproteine und intrazelluläre Signalproteine (Kinasen, Phosphatasen, GTP-bindende Proteine u.v.a.).

Jeder **intrazelluläre Signalweg** (*signaling pathway*) endet mit einem **Zielprotein** (*target protein*), welches eine Änderung erfährt und somit das Verhalten der Zelle ändern kann. Je nach Signal können die Zielproteine Gen-Regulatorproteine (*gene regulatory proteins*), Ionenkanäle (*ion channels*), Komponenten des Stoffwechsels, Teile des Cytoskeletts oder auch anderes sein.

GENERAL PRINCIPLES OF CELL COMMUNICATION

Extracellular Signal Molecules Bind to Specific Receptors

In höheren Lebewesen existieren Hunderte von verschiedenen Signalmolekülen: Proteine, kleine Peptide, Aminosäuren, Nukleotide, Steroide, Retinoide, Fettsäurenderivate und sogar gelöste Gase wie NO und CO. Die Signalmoleküle werden in drei Gruppen eingeteilt:

Adaptorproteine, Strukturproteine und Enzyme (PLC- γ , SRC, PI3K).

Die meisten dieser Signalmoleküle werden von der **signalisierenden oder signalgebenden Zelle*** (*signaling cell*) durch Exocytose in den extrazellulären Raum sekretiert, oder diffundieren direkt durch die Plasmamembran. Andere wiederum bleiben eng mit der Oberfläche der Signalzelle verbunden.

Ungeachtet der Art des Signals antwortet die Zielzelle mit Hilfe eines spezifischen Proteins, eines Rezeptors, welcher das Signalmolekül bindet (hohe Affinität). Diese Rezeptoren sind meistens transmembrane Proteine auf der Oberfläche der Zielzelle. Wenn sie ein extrazelluläres Molekül (einen Liganden) binden, werden sie aktiviert und lösen eine Kaskade von intrazellulären Signalen aus, die das Verhalten der Zelle ändern.

Die Rezeptoren können auch innerhalb der Zielzelle (Kern oder Cytoplasma) sein und das Signalmolekül muss in die Zelle eindringen um sie zu aktivieren. Dazu müssen diese Signalmoleküle genügend klein und hydrophob sein, um durch die Plasmamembran diffundieren zu können. Da sie aber hydrophob sind, müssen sie im Blut und anderen extrazellulären (wässrigen) Flüssigkeiten mit speziellen Transportproteinen befördert werden, von welchen sie sich vor dem Eindringen in die Zielzelle wieder lösen.

* heisst bei mir Signalzelle

Extracellular Signal Molecules Can Act Over Either Short or Long Distances¹

Einige Signalmoleküle bleiben an die Oberfläche der Signalzelle gebunden und beeinflussen nur Zellen, welche sie direkt berühren. Solche Signalübermittlungen durch Zell-Zell-Kontakte (**contact-dependent signaling**; juxtakine Wirkungsweise) sind v.a in der Entwicklung und in der Immunabwehr von Bedeutung.

In den meisten anderen Fällen werden die Signalmoleküle aber in den extrazellulären Raum sekretiert. Diese sekretierten Moleküle können nun zu weit entfernten Zielzellen transportiert werden oder sie können auch als lokale Mediatoren wirken, indem sie nur auf Zellen in unmittelbarer Umgebung zur Signalzelle wirken. Diese Wirkungsweise nennt sich parakrin (**paracrine signaling**). Damit diese parakrinen Signalmoleküle die richtigen Zielzellen erreichen, dürfen sie nicht zu weit diffundieren. Deshalb werden sie oft sehr schnell von Nachbarzellen aufgenommen oder sonst von extrazellulären Enzymen zersetzt.

Für einen grossen, vielzelligen Organismus ist die Signalübermittlung über kurze Distanzen nicht ausreichend, um das Verhalten der einzelnen Zellen in den verschiedenen Körperpartien zu koordinieren. In diesen Organismen haben sich daher Zellen entwickelt, die über weite Distanzen Signale austauschen können, wie z.B. die Nervenzellen, die dank ihrer Axone weit entfernte Zielzellen erreichen können. Wenn eine Nervenzelle von einem Signal aus ihrer Umgebung oder von einer anderen Nervenzelle aktiviert wird, dann sendet sie einen elektrischen Impuls (Aktionspotential) aus, welcher zur Ausschüttung eines Neurotransmitters führt. Dieser erreicht über einen kleinen synaptischen Spalt die Zielzelle (**synaptic signaling**).

Eine weitere Möglichkeit, Signalmoleküle über weite Distanzen zu transportieren ergibt sich mit endokrinen Zellen (**endocrine signaling**). Diese Zellen sekretieren ihre Signalmoleküle (=Hormone) direkt in den Blutkreislauf, welcher die Signale nun zu Zielzellen führt, die über den ganzen Körper verteilt sind.

Die endokrine Signalübertragung ist relativ langsam, da sie von Diffusion durch Plasmamembranen und der Fließgeschwindigkeit des Blutes abhängig ist. Die synaptische Signalübertragung ist dagegen viel schneller (100 m/s) und auch präziser. Auch erreichen synaptische Signalmoleküle eine viel höhere lokale Konzentration als endokrine Signalmoleküle, da diese durch das Blut verdünnt werden. Diese Tatsache führt eine viel geringere Affinität der synaptischen Zielzellen nach sich. Der Neurotransmitter dissoziiert relativ rasch vom Rezeptor auf der Zielzelle weg und ermöglicht somit ein schnelles Abbrechen der ganzen Signalkaskade. Die Neurotransmittermoleküle, die sich noch im synaptischen Spalt befinden, werden von hydrolytischen Enzymen zerstört oder von spezifischen Transportproteinen zurück in die Signalzelle transportiert.

Die Geschwindigkeit der Antwort auf ein extrazelluläres Signal hängt nicht nur vom Mechanismus der Signalübertragung ab, sondern auch von der Art der Antwort, die von der Zielzelle erwartet wird. Wenn Änderungen in Proteinkonzentrationen verlangt werden, die bereits in der Zielzelle vorhanden sind, dann kann die Antwort in Sekunden oder sogar Millisekunden erfolgen. Wenn die Antwort aber Änderungen in der Genexpression und die Synthese von neuen Molekülen verlangt, dann kann sie mehrere Stunden auf sich warten lassen.

¹ page 15:3; Figure ECB 15-3/15-4 Forms of intracellular signaling

Autocrine Signaling Can Coordinate Decisions by Groups of Identical Cells

Meistens gehören Signalzelle und Zielzelle zu verschiedenen Zelltypen. Zellen können aber auch Signale zu Zellen desselben Typs oder sogar zu sich selber senden. Die Zelle sekretiert also Signalmoleküle, die an die eigenen Rezeptoren binden. Dieser autokrine Wirkungsmechanismus (*autocrine signaling*) ist am effizientesten, wenn mehrere Zellen des selben Typs ihn gleichzeitig ausführen. Er wird oft dazu verwendet um Gruppen identischer Zellen dazu zu bringen, dieselben "entwicklungstechnischen" Entscheidungen zu fällen. → *community effect*
Unglücklicherweise benützen Krebszellen oft diesen Mechanismus um normale Kontrollen zur Zellvermehrung zu umgehen.

Gap Junctions Allow Signaling Information to Be Shared by Neighboring Cells

Die Aktivitäten benachbarter Zellen können auch über Gap Junctions koordiniert werden. Diese verbinden das Cytoplasma zweier Zellen direkt über schmale mit Wasser gefüllte Kanäle. Diese Kanäle ermöglichen den Austausch von kleinen intrazellulären Signalmolekülen (Ca^{2+} , cAMP).

Each Cell Is Programmed to Respond to Specific Combinations of Extracellular Signal Molecules

Eine Zelle in einem vielzelligen Organismus ist Hunderten von verschiedenen Signalen und Signalkombinationen aus ihrer Umgebung ausgesetzt. Auf diesen ganzen Wirrwarr muss sie nun spezifisch, ihrem eigenen „Charakter“ entsprechend, reagieren. Auf eine Signalkombination antwortet sie mit Differenzieren auf eine andere Kombination mit Vermehren und auf eine dritte mit Sekretion...
Nur schon das simple Überleben hängt bei den meisten Zellen von einer bestimmten Kombination extrazellulärer Signale ab. Wenn diese Signale fehlen, aktiviert die Zelle ein „Selbstmordprogramm“ und tötet sich so selber. Diesen Prozess nennt man programmierten Zelltod oder **Apoptose** (*apoptosis*).

Different Cells Can Respond Differently to the Same Extracellular Signal Molecule

Ein einzelnes Signalmolekül hat oft ungleiche Effekte auf verschiedene Zielzellen. Manchmal sind unterschiedliche Rezeptoren die Ursache für diese verschiedenen Effekte, aber oft binden dieselben Signalmoleküle an dieselben Rezeptoren und lösen je nach Art und Weise des weiteren Übermittlungsweges eine unterschiedliche Reaktion der Zielzelle aus.

The Concentration of a Molecule Can Be Adjusted Quickly Only If the Lifetime of the Molecule Is Short²

Im Laufe der Entwicklung führen viele vorübergehende (=transiente) Signale zu lang- oder sogar für immer anhaltenden Veränderungen (*cell memory*). Bei den meisten „ausgewachsenen“ Geweben allerdings, hört die Antwort einer Zielzelle auf, sobald die Konzentration des auslösenden Signals zu stark abnimmt.
Die Geschwindigkeit mit welcher die Zielzelle auf das Fehlen eines Signalmoleküls reagiert hängt davon ab, wie schnell die intrazellulären Moleküle (auf dem ganzen Signalweg) zersetzt oder synthetisiert werden, bzw. von deren Turnover Raten (*turnover rate*).
Zwischen der Turnover Rate und der Halbwertszeit besteht ein direkter Zusammenhang. Je kürzer die Halbwertszeiten dieser Moleküle (desto kleiner die Turnover Rate), desto schneller pendelt sich die neue Konzentration (an synthetisierten Molekülen) im Gleichgewicht ein. Oft haben Proteine mit Schlüsselfunktionen niedrige Halbwertszeiten, denn die Zelle muss in kürzester Zeit in der Lage sein, die Syntheserate dieser Proteine zu ändern.

Nitric Oxide Gas Signals by Binding Directly to an Enzyme Inside the Target Cell³

Obwohl die meisten extrazellulären Signale hydrophile Moleküle sind, die an Oberflächenrezeptoren binden, gibt es doch einige hydrophobe Signalmoleküle, die klein genug sind, die Plasmamembran der Zielzelle zu durchqueren. Sind sie einmal in der Zelle regulieren sie direkt die Aktivität eines spezifischen **intrazellulären Proteins**.

Ein wichtiges Beispiel ist das Gas Stickstoffmonoxid (NO), welches in Pflanzen und Tieren als Signalmolekül wirkt. In Säugetieren reguliert NO (zusammen mit dem Neurotransmitter Acetylcholin) die Kontraktion der glatten Muskulatur. Acetylcholin wird von autonomen Nervenzellen in die Wände eines Blutgefäßes ausgeschüttet, wo es die angrenzenden Endothelzellen zur Produktion und Ausschüttung von NO anregt. NO bindet in den darunterliegenden glatten Muskelzellen ans aktive Zentrum (Eisen) des Enzyms Guanylatcyclase, welches nun seinerseits den intrazellulären Mediator cGMP (*cyclic GMP*) produziert. cGMP hält die Muskelzellen entspannt.
Katalysiert durch das Enzym NO-Synthase entsteht NO (Gas) aus der Aminosäure Arginine. Wegen seiner geringen Größe diffundiert NO rasch durch die Plasmamembran zu benachbarten Zellen. Da seine Halbwertszeit relativ gering ist, kann es nur lokal wirken. Es zerfällt zu Nitraten und Nitriten.

Ein weiteres Gas, welches in ähnlicher Weise wie NO wirken kann ist CO.

Nuclear Receptors Are Ligand-activated Gene Regulatory Proteins

Nicht nur Gase können direkt die Plasmamembran der Zielzellen durchqueren, auch eine Gruppe von kleinen, hydrophoben (→ reisen auf Carrierproteinen), nichtgasförmigen Hormonen und lokalen Mediatoren ist dazu imstande (Steroidhormone, Thyroidhormone, Retinoide und Vitamin D). Sie binden aber im Gegensatz zum NO nicht an ein Enzym in der Zielzelle, sondern an einen **intrazellulären Rezeptor**, der direkt die Genexpression beeinflusst.

Obwohl alle diese Moleküle sich stark sowohl in ihrem Aussehen als auch in ihrer Funktion unterscheiden, so wirken sie doch über einen ähnlichen Mechanismus: einige Rezeptoren (z.B. der für Cortisol) befinden sich im Cytosol und treten erst nachdem sie einen Liganden gebunden haben in den Kern ein. Andere wiederum (Rezeptoren für Thyroid- und Retinoidhormone) sind auch in Abwesenheit eines Liganden direkt an die DNA im Kern gebunden. In beiden Fällen sind die inaktiven Rezeptoren an „hemmende Proteinkomplexe“ (*inhibitory protein complexes*) gebunden, welche vom Rezeptor wegdissoziieren, sobald dieser einen Liganden gebunden hat.

² page 15:8; Figure 15-10/15-10 The Importance of rapid turnover

³ page 15:9; Figure ECB15-11/15-11 The role of nitric oxide (NO) in smooth muscle relaxation in a blood vessel wall

Der Rezeptor bindet nun an ein „coactivator“ Protein, welches die Gentranskription induziert⁴. Die Antwort auf die Aktivierung der Transkription erfolgt normalerweise in mehreren Schritten. Innerhalb von 30 Minuten werden zuerst einige spezifische Gene aktiviert, welche als „erste Antwort“ betrachtet werden (*primary response*). Die Proteinprodukte dieser Gene aktivieren in einem zweiten, verzögerten Schritt weitere Gene (*secondary response*), and so on. Auf diese Weise kann ein simpler hormoneller Auslöser eine komplizierte Änderung im Muster der Genexpression hervorrufen. Oft sind mehrere Rezeptoren an ein Gen gebunden. Damit dieses transkribiert wird, müssen alle Rezeptoren aktiviert werden.

Die meisten wasserlöslichen Signalmoleküle, die in den Blutkreislauf eintreten werden innerhalb weniger Minuten in ihre Bestandteile zersetzt. Neurotransmitter werden sogar innerhalb von Sekunden aus dem extrazellulären Raum entfernt. Daher können solche Moleküle nur für Signalübermittlungen über kurze Distanzen verwendet werden. Steroidhormone hingegen bleiben während Stunden im Blut und Thyroidhormone sogar während Tagen. Wasserunlösliche Signalmoleküle werden somit eher für Signalübertragungen über weitere Distanzen verwendet.

The Three Largest Classes of Cell-Surface Receptor Proteins Are Ion-Channel-linked, G-Protein-linked, and Enzyme-linked Receptors⁵

Wie bereits erwähnt, binden alle wasserlöslichen Signalmoleküle (einschliesslich Neurotransmittern und allen Signalproteinen) an spezifische Oberflächenrezeptoren an ihren Zielzellen. Diese Rezeptorproteine wirken als „signal transducers“ (lat: traducere = hinüberführen). Sie übersetzen das Andocken eines extrazellulären Signals in eine Reihe intrazellulärer Signale, die zu einer Verhaltensänderung der Zielzelle führen. Die Rezeptoren werden gemäss ihren „transduction“ Mechanismen in drei verschiedene Klassen unterteilt.

Ionenkanalkgekoppelte Rezeptoren (*Ion-channel-linked receptors, transmitter-gated ion channels or ionotropic receptors*) sind verantwortlich für die schnellen synaptischen Signalübertragungen zwischen elektrisch erregbaren Zellen. Neurotransmitter docken vorübergehend an das den Ionenkanal bindende Protein an und öffnen oder schliessen somit den Ionenkanal. Dies führt zu einer Änderung der Ionenpermeabilität der Membran und somit auch zu einer Änderung der Erregbarkeit der postsynaptischen Zelle.

G-proteingekoppelte Rezeptoren (*G-protein-linked receptors*) regulieren indirekt die Aktivität eines membrangebundenen Zielproteins, welches ein Enzym oder ein Ionenkanal sein kann. Die Interaktionen zwischen dem Rezeptor und dem Zielprotein werden durch ein trimeres G-Protein vermittelt (*trimeric GTP-binding protein*).

Enzymgekoppelte Rezeptoren (*Enzyme-linked receptors*) wirken entweder direkt als Enzyme oder koppeln an Enzyme, die von ihnen aktiviert werden. Die meisten enzymgekoppelten Rezeptoren sind Proteinkinasen oder mit Proteinkinasen assoziiert und phosphorylieren andere Enzyme in der Zielzelle.

Most activated Cell-Surface Receptors Relay Signals Via Small Molecules and a Network of Intracellular Signaling Proteins

Signale, die an der Oberfläche einer Zelle an G-protein- oder enzymgekoppelte Rezeptoren binden, werden anhand einer Kombination kleiner und grosser intrazellulärer Signalmoleküle ins Innere der Zelle weitergeleitet.

Die **kleinen intrazellulären Signalmoleküle** werden intrazelluläre Mediatoren oder „second messengers“ genannt. Sie werden in grosser Menge als Antwort auf die Aktivierung des Rezeptors synthetisiert, diffundieren rasch von ihrer Quelle weg und übermitteln das Signal an andere Teile des Körpers. Wasserlösliche Signalmoleküle (cAMP, Ca²⁺) diffundieren ins Cytosol, während wasserunlösliche Signalmoleküle (Diacylglycerol) innerhalb der Plasmamembran diffundieren.

Die **grossen intrazellulären Signalmoleküle** sind intrazelluläre Signalproteine. Viele von ihnen geben das Signal in der Signalkette weiter, indem sie ein weiteres Protein aktivieren, oder indem sie kleine intrazelluläre Mediatoren ausschütten. Diese Signalmoleküle werden in folgende acht Gruppen eingeordnet:⁶

- 1) „**Relay proteins**“ geben die Nachricht an die nächste signalgebende Komponente in der Kette weiter.
 - 2) „**Messenger proteins**“ tragen die Nachricht von einem Teil der Zelle in einen anderen (z.B. vom Cytosol in den Kern).
 - 3) „**Adaptor proteins**“ verbinden zwei Signalproteine miteinander, ohne aber selber ein Signal weiterzuleiten.
 - 4) „**Amplifier proteins**“ verstärken das erhaltene Signal, indem sie entweder eine grosse Menge kleiner intrazellulärer Mediatoren ausschütten oder eine grosse Anzahl intrazellulärer Signalproteine aktivieren. Solche Verstärkerproteine sind meist Ionenkanäle oder Enzyme. Wenn mehrere verstärkende Schritte in einer Signalkette vorkommen spricht man von einer Signalkaskade (*signaling cascade*).
 - 5) „**Transducer proteins**“ überführen das Signal in eine andere Form.
 - 6) „**Bifurcation proteins**“ breiten das Signal auf mehrere Signalwege aus.
 - 7) „**Integrator proteins**“ erhalten Signale von mehreren Signalwegen und leiten diese Information auf einem einzigen Signalweg weiter.
 - 8) „**Latent gene regulatory proteins**“ regen im Kern die Gentranskription an.
- Weitere Signalproteine: „**Modulator proteins**“ (regulieren die Stärke des Signals), „**Anchoring proteins**“ (halten Proteine an einem spezifischen Ort in der Zelle fest), „**Scaffold proteins**“ (halten verschiedene Proteine in einem Komplex zusammen, oft an einem bestimmten Ort)

Some Intracellular Signaling Proteins Act as Molecular Switches⁷

Viele intrazelluläre Signalproteine verhalten sich wie **molekulare Schalter**. Wenn sie ein Signal erhalten wechseln sie von einer inaktiven zu einer aktiven Form und verweilen so, bis ein anderer Prozess „den Schalter wieder abstellt“. Die molekularen Schalter lassen sich in zwei Hauptgruppen unterteilen, die auf unterschiedliche Art und Weise arbeiten. In beiden Gruppen bestimmen aber vorhandene oder eben nicht vorhandene Phosphatgruppen, ob das Molekül aktiv oder inaktiv ist.

Die grösste Klasse beinhaltet Proteine, die durch Phosphorylierungen aktiviert oder deaktiviert werden. Für diese Proteine wird der Schalter durch eine Proteinkinase (addiert Phosphatgruppen) in eine Richtung und durch eine Proteinphosphatase (nimmt Phosphatgruppen weg) in

⁴ page 15:11; Figure 15-12/15-13 The nuclear receptor superfamily

⁵ page 15:13; Figure ECB 15-12/15-15 Three classes of cell-surface receptors

⁶ page 15:14; Figure 15-101/15-16 Different kinds of intracellular signaling proteins along a signalling pathway from a cell-surface receptor to the nucleus

⁷ page 15:15; Figure 15-15/15-17 Two types of intracellular signaling proteins that act as molecular switches

die andere Richtung ge“drückt“. Viele dieser Signalproteine sind selber Proteinkinasen (Serin/Threonin Kinasen oder Tyrosin Kinasen) und sind oft in „phosphorylation cascades“ organisiert. Sobald eine Proteinkinase durch Phosphorylierung aktiviert worden ist aktiviert sie die nächste Kinase in der Kette usw.

Die andere Hauptgruppe beinhaltet GTP-bindende Proteine (large trimeric GTP-binding proteins, small monomeric GTPases). Diese wechseln zwischen einem aktiven Zustand, wenn GTP gebunden ist und einem inaktiven Zustand, wenn GDP gebunden ist. Sobald die Proteine aktiviert sind, hydrolysieren sie ihr GTP zu GDP und stellen sich somit selber ab.

Intracellular Signaling Complexes Enhance the Speed, Efficiency, and Specificity of the Response

Es ist noch nicht ganz klar, wie eine Zelle es schafft, so vielfältige, aber dennoch spezifische Antworten zu so vielen unterschiedlichen extrazellulären Signalen zu geben.

Eine Strategie, welche die Zelle benützt um eine so hohe Spezifität zu erreichen, stützt sich auf „scaffold proteins“, welche die einzelnen Signalmoleküle zu Signalkomplexen zusammenfassen. Die Signale können mit grösserer Geschwindigkeit, Präzision und Effizienz weitergeleitet werden. Ungewollte Überkreuzungen im Signalweg können so vermieden werden. Um ein Signal zu verstärken oder in mehrere Pfade aufzuteilen, braucht es aber trotzdem noch einige frei diffundierbare Moleküle.

Interactions Between Intracellular Signaling Proteins Are Mediated by Modular Binding Domains⁸

Jedes Signalprotein bindet nur über eine Bindungsdomäne (*binding domains*) an ein anderes Signalprotein. Zuerst wird ein Signalprotein phosphoryliert und kann dann über eine Bindungsdomäne an ein weiteres Signalprotein andocken, welches nun seinerseits aktiviert wird und weitere Signalmoleküle phosphorylieren kann.

Einige Bindungsdomänen: *Src homology 2 (SH2) domain* und *phosphotyrosine-binding (PTB) domain* (binden an phosphorylierte Tyrosine); *Src homology 3 (SH3) domain* (bindet an prolinreiche Aminosäuresequenz); *Pleckstrin homology (PH) domain* (bindet an phosphorylierte Inositolphospholipide).

Cells Can Respond Abruptly to a Gradually Increasing Concentration of an Extracellular Signal

Einige Antworten auf extrazelluläre Signale erfolgen linear. Das heisst, dass nur gerade ein Molekül an jeden Rezeptor gebunden sein muss, um diesen zu aktivieren und die Antwort auszulösen.

Andere Antworten erfolgen hingegen viel abrupter. Die Konzentration an extrazellulären Signalen muss zuerst bis zu einem gewissen Schwellenwert ansteigen, bevor eine Reaktion ausgelöst werden kann. Ist diese jedoch einmal erreicht, dann erreicht die Antwort sehr schnell ihr Maximum (exponentieller Anstieg = Antwort wird verschärft). Sobald mehrere Liganden an einen Rezeptor gebunden sein müssen, um diesen zu aktivieren, tritt dieser Effekt auf.

Antworten können auch verschärft werden, wenn ein Signalmolekül ein zwar Enzym aktiviert, aber gleichzeitig das Enzym, das die Rückreaktion katalysiert, unterdrückt.

Wenn in Nervenzellen ein gewisser Schwellenwert überschritten wird, dann erfolgt die Antwort augenblicklich und ganz scharf (→**Alles-oder-Nichts-Effekt**). Solche Antworten hängen in der Regel von einem positiven Feedback ab: Ein Enzym wird durch einen bindenden Liganden aktiviert. Daraufhin katalysiert er die Umsetzung eines Enzyms in ein anderes Enzym, welches sich an das ursprüngliche Enzym (mit Ligand) bindet und dessen katalysierende Wirkung noch verstärkt. Auch diese Art von Antworten führt zu exponentiellen Wachstumskurven.⁹

A Cell Can Remember The Effect of Some Signals

In einigen Fällen kann der durch ein extrazelluläres Signalmolekül ausgelöste Effekt sehr lange anhalten, auch wenn der Ligand bereits abgebaut worden ist und der Rezeptor nicht mehr aktiv ist. Im oben beschriebenen Beispiel mit dem positiven Feedback bleibt z.B. das ganze System aktiviert, auch wenn der Ligand nicht mehr vorhanden ist. Das System scheint sich also an den Effekt des Signalmoleküls zu erinnern.

Cells Can Adjust Their Sensitivity to a Signal¹⁰

Je länger ein gewisser Stimulus auf eine Zelle einwirkt, desto schwächer wird ihre Reaktion bei gleichbleibender Intensität des Stimulus. Die Zelle passt sich an (*undergoes a reversible process of adaptation or desensitization*). Die Zelle kann damit selbst gegen einen hohen Reizhintergrund empfindlich auf Veränderungen der Signalintensität reagieren. (vgl. Adaptation der Photorezeptorzellen)

Diese Anpassung kann auf unterschiedliche Weise erfolgen. Liganden an Oberflächenrezeptoren können in Endosome oder in Lysosome aufgenommen werden, in letzteren werden sie zersetzt (dieser Prozess nennt sich „receptor down-regulation“). Eine weitere Signalübertragung kann durch Deaktivieren des Rezeptors oder durch Deaktivieren eines Proteins, das das Signal weitergeben sollte unterbunden werden. Als letzte Möglichkeit kann auch ein „inhibitory protein“ den weiteren Verlauf eines Signalweges verunmöglichen.

Nachdem nun die allgemeinen Prinzipien von Informationsübertragung zwischen Zellen besprochen worden sind, wenden wir uns nun den G-proteingekoppelten Rezeptoren zu. Diese bilden bei weitem die grösste Klasse von Oberflächenrezeptoren und sind nicht nur in der Zellkommunikation von Bedeutung, sondern spielen auch eine entscheidende Rolle in den Prozessen des Sehens, Riechens und Fühlens.

⁸ page 15:18; Figure 15-103/15-20 A hypothetical signaling pathway using modular binding domains

⁹ page 15:20; Figure 15-46/15-24 An accelerating positive feedback mechanism

¹⁰ page 15:21; Figure 15-110/15-25 Five ways in which target cells can become desensitized to a signal molecule

SIGNALING THROUGH G-PROTEIN-LINKED CELL-SURFACE RECEPTORS

G-proteingekoppelte Rezeptoren vermitteln Antworten zu einer grossen Vielfalt von Signalmolekülen, die sich sowohl in ihrer Struktur als auch in ihrem Aufbau unterscheiden. Dazu gehören Proteine, kleine Peptide, Aminosäurederivate, Fettsäuren sowie auch Hormone, Neurotransmitter und lokale Mediatoren.

Trotz der chemischen und funktionalen Verschiedenheit der Signalmoleküle haben alle G-proteingekoppelten Rezeptoren eine ähnliche Struktur. Sie bestehen aus einer einzigen Polypeptidkette, die sich siebenmal innerhalb der Plasmamembran von aussen nach innen und wieder zurück schlängelt¹¹. Daher werden sie manchmal auch als „serpentine receptors“ bzw. als „Siebenschlang-Transmembranrezeptorproteine“ bezeichnet. Zusätzlich zu dieser charakteristischen Orientierung in der Plasmamembran benutzen alle diese Rezeptoren denselben Mechanismus, um der Zielzelle über ein G-Protein die Bindung eines Liganden weiterzuleiten.

→ die meisten Drogen wirken über G-proteingekoppelte Rezeptoren!

Trimeric G Proteins Disassemble to Relay Signals from G-Protein-linked Receptors¹²

Wenn ein extrazelluläres Signalmolekül an einen Rezeptor bindet ändert dieser seine Konformation. Diese ermöglicht es dem Rezeptor nun, ein **trimeres GTP-bindendes Protein** (G-Protein) zu aktivieren. Da der Rezeptor so lange aktiv bleibt, wie ein Ligand an ihn gebunden ist, kann er mehrere G-Proteine aktivieren.

G-Proteine sind an die Plasmamembran gebunden und dienen als Verbindungsstück zwischen den Rezeptoren und Enzymen oder Ionenkanälen, welche das Signal weiterleiten. Sie bestehen aus **drei Protein Untereinheiten** - α , β und γ . Im unstimulierten Zustand bindet die α -Untereinheit ein GDP und das G-Protein ist inaktiv. Wenn das Protein nun von einem aktivierten Rezeptor stimuliert wird, löst die α -Untereinheit die Bindung zum GDP und ermöglicht es einem GTP an diese Stelle zu binden. Dieser Austausch führt zu einer Konformationsänderung der α -Untereinheit und zu einer anschliessenden Dissoziation des Trimers in eine α -Untereinheit und in einen β , γ -Komplex. Die Konformationsänderung ermöglicht es der α -Untereinheit mit dem Zielprotein wechselzuwirken. Der β , γ -Komplex ändert seine Konformation nicht, aber die Seite wo die α -Untereinheit gebunden war ist nun frei um mit anderen Zielproteinen in Wechselwirkung zu treten.

Die α -Untereinheit ist eine GTPase und sobald sie das gebundene GTP zu GDP hydrolysiert hat, verbindet sie sich mit einem β , γ -Komplex wieder zu einem inaktiven G-Protein. Die Aktivität der GTPase wird durch das Binden eines zweiten Proteins (Zielprotein oder RGS-Protein (*regulator of G protein signaling*)) an die α -Untereinheit erhöht. Diese RGS-Proteine wirken als GTPase aktivierende Proteine - **GAPs** (*GTPase activating proteins*).

Some G Proteins Signal By Regulating the Production of Cyclic AMP

Cyclisches AMP (**cAMP**) wurde bereits in den 50er Jahren entdeckt. Es ist ein kleiner intrazellulärer Mediator, der in allen prokaryontischen und tierischen Zellen vorhanden ist. Seine normale Konzentration innerhalb einer Zelle liegt bei 10^{-7} M. Ein extrazelluläres Signal kann diese Konzentration aber innerhalb weniger Sekunden verzehnfachen. Eine so schnelle Reaktion setzt eine hohe Syntheserate und eine ebenso hohe Abbaurrate voraus.*

cAMP wird durch ein plasmagebundenes Enzym, **Adenylatcyclase** (*adenyl cyclase*), aus ATP aufgebaut und wird ebenso schnell und kontinuierlich von einer cyclischen AMP Phosphodiesterase zu Adenosin 5'-monophosphat abgebaut.

Alle Rezeptoren, die via cAMP wirken sind an ein „stimulatory G protein (G_s)“ gekoppelt, welches die Adenylatcyclase aktiviert und somit die cAMP-Konzentration erhöht. Ein anderes G Protein, das „inhibitory G protein (G_i)“, hemmt die Adenylatcyclase, indem es Ionenkanäle reguliert.

G_s und G_i sind beide Ziele von einigen im medizinischen Bereich sehr interessanten Bakterientoxinen (Toxin = organischer Giftstoff): Cholera Toxin, welches vom Bakterium, das Cholera auslöst, produziert wird, ist ein Enzym, das den Transfer von ADP Ribose von intrazellulärem NAD^+ auf die α -Untereinheit von G_s katalysiert. Die α -Untereinheit ist nun nicht mehr in der Lage, ihr gebundenes GTP zu hydrolysieren, bleibt somit in einem aktiven Zustand und katalysiert fortwährend Adenylatcyclase. Die lang andauernde hohe Konzentration an cAMP führt zu einem vermehrten Ausschütten von Cl^- und Wasser in den Darm, was schliesslich den gefürchteten Durchfall hervorruft.

* für Interessierte: Seite 15:26; Synthese und Abbau von cAMP

Cyclic-AMP-dependent Protein Kinase (PKA) Mediates Most of the Effects of Cyclic AMP

Obwohl cAMP in einzelnen hoch spezialisierten Zelltypen direkt Ionenkanäle in der Plasmamembran aktivieren kann, wirkt es doch in den meisten anderen Zellen über das Aktivieren einer **cAMP-abhängigen Proteinkinase (Proteinkinase A, cyclic-AMP-dependent protein kinase (PKA))**. Dieses Enzym katalysiert die Übertragung der letzten Phosphatgruppe von ATP auf spezifische Serine oder Threonine gewisser Zielproteine und reguliert somit deren Aktivität.

Im inaktiven Zustand besteht PKA aus einem Komplex zweier katalytischen und zweier regulatorischen Untereinheiten. Das Binden von cAMP an die regulatorischen Untereinheiten ändert deren Konformation und führt zur Dissoziation des Komplexes. Die katalytischen Untereinheiten sind nun in der Lage, spezifische Substratproteinmoleküle zu phosphorylieren.

Einige Antworten, die durch cAMP vermittelt werden sind eher schnell andere wiederum langsam.

In Skelettmuskelzellen phosphoryliert aktiviertes PKA Enzyme des Glykogenmetabolismus. Glykogen wird zu Glukose abgebaut, gleichzeitig wird die Neubildung von Glykogen gehemmt, was den Glukosegehalt der Muskelzellen innerhalb weniger Sekunden stark erhöht.

Antworten die mehrere Stunden dauern beinhalten Änderungen in der Transkription von Genen. In Zellen, welche das Hormon Somatostatin sekretieren aktiviert cAMP das Gen, welches dieses Hormon codiert. Die regulatorische Region des Somatostatin-Genes enthält eine Stück DNA, welches „cyclic AMP response element (CRE)“ genannt wird und auch in anderen Genregionen, die ebenfalls durch cAMP reguliert werden gefunden wird. Ein spezifisches Genregulatorprotein („CRE-binding (CREB) protein“) erkennt diese Sequenz. Wenn CREB durch PKA an einem einzelnen Serin phosphoryliert wird bindet es an einen „transkriptional coactivator“, welcher „CREB-binding protein“ (CBP) genannt wird und stimuliert die Transkription dieser Gene.¹³

→ page 15:27; Table 15-1 Some Hormone-induced Cell responses Mediated by cyclic AMP

¹¹ page 15:23; Figure ECB15-14/15-26 A G-protein-linked receptor

¹² page 15:24; Figure ECB15-15/15-28 The disassembly of an activated G-protein into two signaling components.

¹³ page 15:28; Figure ECB15-22/15-33 How gene transcription is activated by a rise in cyclic AMP concentration

Protein Phosphatases Make the Effects of PKA and Other Protein Kinases Transitory

Zellen müssen in der Lage sein, die Proteine die durch PKA phosphoryliert worden sind, wieder zu dephosphorylieren. Normalerweise wird die Dephosphorylierung von phosphorylierten Serinen und Threoninen durch vier Typen von Serin/Threonin Phosphoprotein-Phosphatasen (Proteinphosphatasen I, IIA, IIB und IIC) katalysiert. Bis auf die Proteinphosphatase IIC bestehen diese Phosphatasen aus einer ähnlichen katalytischen Untereinheit, welche mit einer oder mehreren regulatorischen Untereinheiten einen Komplex bilden.

Proteinphosphatase I ist für die Dephosphorylierung vieler durch PKA phosphorylierter Proteine verantwortlich. Es inaktiviert zum Beispiel CREB, indem es die aktivierende Phosphatgruppe entfernt und beendet somit die Transkription, die durch einen Anstieg an cAMP ausgelöst worden war.

Proteinphosphatase IIA ist verantwortlich um die Phosphorylierungen durch Serin/Threonin Kinasen wieder rückgängig zu machen.

Proteinphosphatase IIB wird durch Ca^{2+} aktiviert und ist vor allem im Gehirn reichlich vorhanden.

G-Proteine koppeln nicht nur aktivierte Rezeptoren mit Adenylatcyclasen, sondern auch mit einem anderen bedeutenden Enzym: der Phospholipase C. Diese führt zu einem Anstieg an Ca^{2+} im Cytosol, welches das Signal weitervermitteln kann. Ca^{2+} wird sogar noch häufiger benutzt als cAMP.

Some G Proteins Activate the Inositol Phospholipid Signaling Pathway by Activating Phospholipase C- β ¹⁴

Viele G Proteingekoppelte Rezeptoren üben ihre Effekte über G-Proteine aus, die das an die Plasmamembran gebundene Enzym

Phospholipase C- β aktivieren.

Die Phospholipase wirkt auf ein Inositolphospholipid (Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphat, [**PI(4,5)P₂**]), welches in kleinen Mengen in der Doppellipidschicht der Plasmamembran vorkommt. Rezeptoren, welche über diesen **Inositolphospholipid-Signalweg** (*Inositol Phospholipid signaling pathway*) agieren, aktivieren normalerweise ein G-Protein mit dem Namen G_q, welches seinerseits die Phospholipase C- β aktiviert. Die aktivierte Phospholipase trennt [**PI(4,5)P₂**] in zwei Produkte: **Inositol 1,4,5-triphosphate (=IP₃)** und **Diacylglycerol**.

Der „signaling pathway“ trennt sich hier also in zwei Teile.

Inositol 1,4,5-triphosphate (=IP₃) ist ein kleines, wasserlösliches Molekül, welches sich rasch von der Plasmamembran entfernt und ins Cytosol diffundiert. Es bindet ans Endoplasmatische Retikulum und öffnet Ca^{2+} -Kanäle in der ER-Membran. Die Ca^{2+} -Konzentration im Cytosol wird rasch erhöht.

Es wirken verschiedene Mechanismen, um die durch Ca^{2+} ausgelöste Antwort wieder zu stoppen:

1. IP₃ wird durch spezifische Phosphatasen rasch zu IP₂ dephosphoryliert und somit inaktiviert.
2. IP₃ wird zu IP₄ phosphoryliert. Dieses kann ebenfalls als intrazellulärer Mediator wirken.
3. Ca^{2+} , welches ins Cytosol eintritt, wird aus der Zelle gepumpt.

?→? Als Produkt dieses Ca^{2+} -Anstieges hat S. Werner „CAMK“ notiert. Dies ist mir aber weder im Buch über den Weg gelaufen, noch ist mir aus meinen Notizen klar, was dies bedeuten könnte.

Diacylglycerol bleibt dagegen in der Plasmamembran eingebettet, wo es zwei verschiedene Aufgaben übernimmt.

Einerseits kann Diacylglycerol in „arachidonic acid“ gespalten werden. Dieses Molekül kann selber wieder als Messenger-Molekül wirken, oder es kann zur Synthese kleiner Proteinmessenger (eicosanoids) verwendet werden. Zu diesen Proteinen gehören unter anderem die Prostaglandine. Die meisten entzündungshemmenden Stoffe, wie Aspirin, Ibuprofen oder Kortison wirken, indem sie die Synthese dieser Prostaglandine hemmen.

Die zweite und wichtigere Funktion von Diacylglycerol besteht darin eine bedeutende Serin/Threonin Proteinkinase, die **Proteinkinase C (PKC)**, zu aktivieren. (PKC, weil sie Ca^{2+} abhängig ist.) Der durch IP₃ induzierte Anstieg an Ca^{2+} , führt dazu, dass sich PKC aus dem Cytosol an die Plasmamembran begibt und dort von Ca^{2+} , Diacylglycerol und dem negativ geladenen Phospholipid Phosphatidylserin aktiviert wird. Aktiviertes PKC phosphoryliert nun Zielproteine auf dieselbe Weise wie PKA.

→ page 15:29; Table 15-2 Some Cell Responses in Which G-Protein-linked Receptors Activate the Inositol-Phospholipid Signaling Pathway

Ca^{2+} Functions as a Ubiquitous* Intracellular Messenger

**Ubiquitous: If you describe something or someone as ubiquitous, you mean that they are so widespread that they seem to be everywhere at the same time*

Viele extrazelluläre Signale lösen einen Anstieg der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration aus (nicht nur diejenige die mit G-Proteinen gekoppelt sind). Die Ca^{2+} -Konzentration im Cytosol beträgt normalerweise 10^{-7}M , während die Konzentration ausserhalb der Zelle und im ER-Lumen bei 10^{-3}M liegt. Es besteht ein Gradient, der, sobald Ca^{2+} -Kanäle geöffnet werden, dazu führt, dass Ca^{2+} ins Cytosol strömt und die lokale Ca^{2+} -Konzentration um das 10- bis 12fache erhöht wird.

Es gibt drei verschiedene Ca^{2+} -Kanäle:

1. „Voltage-dependent Ca^{2+} channels“ öffnen sich infolge einer Depolarisation der Membran. (→ Nervenzellen)
2. „IP₃-gated Ca^{2+} -release channels“ erlauben es dem Ca^{2+} das ER-Lumen zu verlassen, wenn der Inositolphospholipid-Signalweg aktiviert ist.
3. „Ryanodine receptors“ reagieren auf eine Änderung des Membranpotentials und schütten Ca^{2+} aus dem „sarcoplasmic reticulum“ (?) aus und stimulieren so die Kontraktion von Muskelzellen.

Mit verschiedenen Mechanismen wird die Konzentration von Ca^{2+} tief gehalten. Alle eukariontischen Zellen besitzen Ca^{2+} -Pumpen, welche die Energie der ATP-Hydrolyse nutzen um Ca^{2+} aus der Zelle zu pumpen. Muskel- und Nervenzellen, welche Ca^{2+} sehr oft benötigen, um Signale weiterzugeben, besitzen zusätzliche Transportproteine in der Plasmamembran, die das Ausfließen von Ca^{2+} mit dem Einfließen von Na^{+} koppeln (= $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^{+}$ -Antiport). In der ER-Membran befindet sich eine weitere Ca^{2+} -Pumpe, die gegen einen steilen Gradienten Ca^{2+} ins ER-Lumen pumpt, sogar wenn die Konzentration an Ca^{2+} im Cytosol gering ist. Auch in der Mitochondrienmembran befinden sich Ca^{2+} -Pumpen, die mithelfen, die Ca^{2+} -Konzentration nach einem Signal wieder zu normalisieren.

¹⁴ page 15:30; Figure ECB15-23/15-36 The two branches of the inositol phospholipid pathway

The Frequency of Ca^{2+} Oscillations Influences a Cell's Response

Das anfängliche Ca^{2+} -Signal ist oft klein und auf wenige Stellen in der Zelle begrenzt. Diese Signale werden „ Ca^{2+} blips, quarks, puffs oder sparks“ (was immer man sich darunter auch vorstellen möge...) genannt. Wenn das extrazelluläre Signal stark genug ist, dann breitet sich das Ca^{2+} in Wellen im Cytosol aus (Ca^{2+} -spike). (vgl. Aktionspotential in einem Axon). Diese Ca^{2+} -Oszillationen halten so lange an, wie die Rezeptoren an der Zelloberfläche aktiv sind. Die Frequenz der Ca^{2+} -Oszillationen spiegelt die Stärke des extrazellulären Signals wider. Die Antwort kann, muss aber nicht oszillatorisch sein.

Ca^{2+} /Calmodulin-dependent Protein Kinases (CaM-Kinases) Mediate Many of the Actions of Ca^{2+} in Animal Cells

Ca^{2+} übt seine Wirkung auf die meisten Proteine indirekt und durch verschiedene Wandlerproteine (*multipurpose intracellular Ca^{2+} receptor*), die man kollektiv als Ca^{2+} -bindende bzw. -abhängige Proteine bezeichnet, aus. Das häufigste dieser Ca^{2+} -regulierbaren Proteine ist **Calmodulin**. Es kommt im Cytosol aller bisher untersuchten Eukaryontenzellen vor, einschliesslich Pflanzen, Pilzen und Protozoen. Calmodulin besteht aus einer einzigen Polypeptidkette mit vier hochaffinen Ca^{2+} Bindungsstellen und unterzieht sich einer Konformationsänderung, wenn es Ca^{2+} bindet. Es kann dadurch an viele verschiedene Zielproteine in der Zelle binden und deren Aktivität verändern.¹⁵

Eine besonders bedeutende Klasse von Zielproteinen sind die **CaM-Kinasen**. Diese Kinasen werden aktiviert, wenn das mit Ca^{2+} -komplexierte Calmodulin an sie bindet; in ihrem aktivierten Zustand beeinflussen sie andere Zellabläufe durch Phosphorylierung ausgewählter Proteine (Serin/Threonin).

Im Säugetiergehirn, beispielsweise findet man besonders häufig an den Synapsen eine spezielle CaM-Kinase (CaM-Kinase II) und vermutet, dass sie, in Reaktion auf Pulse von intrazellulärem Ca^{2+} , die während der synaptischen Signalübertragung auftreten, im Gedächtnis „Spuren hinterlässt“. Mutierte Mäuse, denen diese CaM-Kinase fehlt, zeigen eine hohe Vergesslichkeit. Eine Besonderheit dieser CaM-Kinase II ist die Fähigkeit, sich selbst zu phosphorylieren, und so aktiv zu bleiben, auch wenn das Ca^{2+} -Signal bereits wieder zerfallen ist.¹⁶

Some G Proteins Directly Regulate Ion Channels

G-Proteine wirken nicht nur, indem sie membrangebundene Proteine aktivieren, die die Konzentration von cAMP oder Ca^{2+} im Cytosol ändern. Sie können auch direkt Ionenkanäle in der Plasmamembran der Zielzelle aktivieren oder deaktivieren und somit die Ionenpermeabilität und die Erregbarkeit der Membran verändern.

Andere G-Proteine regulieren die Aktivität von Ionenkanälen weniger direkt, sondern eher indem sie die Phosphorylierung des Ionenkanals anregen (durch PKA, PKC oder CaM-Kinasen) oder indem sie die Produktion/Abbau von cyclischen Nukleotiden anregen, welche dann direkt die Ionenkanäle aktivieren/deaktivieren.

Smell and Vision Depend on G-Protein-linked Receptors That Regulate Cyclic-Nucleotide-gated Ion Channels

Menschen können mehr als 10'000 verschiedene **Gerüche** unterscheiden, welche von spezialisierten olfaktorischen Rezeptorneuronen (*olfactory receptor neurons*) erkannt werden. Diese Zellen erkennen Gerüche mit Hilfe von spezifischen G-proteingekoppelten Rezeptoren. Wenn diese ein Geruchsmolekül binden, aktivieren sie ein „olfactory-specific“ G Protein (G_{olf}), welches seinerseits Adenylatcyclase aktiviert. Dies führt zu einem Ansteigen der cAMP-Konzentration, was Na^+ -Kanäle öffnet. Na^+ dringt in die Zelle ein, depolarisiert das olfaktorische Rezeptorneuron und lässt einen Nervenimpuls entstehen, welcher Richtung Hirn „reist“.

Jedes Säugetier besitzt etwa 1000 verschiedene olfaktorische Rezeptoren. Jeder dieser Rezeptoren reagiert auf ein anderes „Gerücheset“. Pro Neuron gibt es nur einen Rezeptor.

Ein weiteres Set von mehr als 100 verschiedenen Rezeptoren wirken in einer ähnlichen Weise um Antworten auf **Pheromone** zu vermitteln.

Eine der schnellsten Reaktionen, die durch G-proteingekoppelte Rezeptoren vermittelt werden, ist die **Reaktion des Auges** auf helles Licht: Die am schnellsten reagierenden Photorezeptorzellen der Netzhaut (Retina) brauchen für ihre elektrische Antwort auf einen plötzlichen Lichtblitz nur 20 Millisekunden.

Diese Geschwindigkeit wird erreicht, obwohl es nötig ist, das Signal über mehrere Schritte einer intrazellulären Kaskade zu übermitteln.

Photorezeptoren (*rod photoreceptor*) sind ein ausgezeichnetes Beispiel für die Vorteile von Signalkaskaden, besonders wegen der nahezu spektakulären Signalverstärkung und ihrer Anpassungsfähigkeit als Detektoren von Signalen mit stark schwankender Intensität. Die quantitativen Details wurden bei den stäbchenförmigen Photorezeptorzellen des Auges am gründlichsten untersucht.

Hier trifft das Licht auf **Rhodopsin**, einen G-proteingekoppelten Rezeptor. Lichtaktiviertes Rhodopsin aktiviert ein G-Protein, Transducin (G_t) genannt. Die aktivierte α -Untereinheit von Transducin aktiviert dann eine intrazelluläre Signalkaskade (cGMP Phosphodiesterase hydrolysiert cGMP, dessen erniedrigte Konzentration führt zum Schliessen von Ionenkanälen), die Ionenkanäle (Na^+) in der Plasmamembran verschliesst. Damit verändert sich die Spannung über die Zellmembran, so dass ein Nervenimpuls ans Gehirn gesandt wird.¹⁷

Durch verschiedene Mechanismen werden die Photorezeptoren sehr schnell wieder in ihren ursprünglichen Zustand versetzt.

→ Voraussetzung um z.B. einen Blitz wahrzunehmen.

Bei der Übermittlung auf diesem Weg findet eine mehrfache Signalverstärkung statt. Bei schwachen Lichtverhältnissen ist die Verstärkung enorm, denn nur wenige Dutzend auf der gesamten Netzhaut absorbierte Photonen, können ein wahrnehmbares Signal an das Gehirn liefern. Im hellen Sonnenschein, wenn die Rate der in die Photorezeptorzellen einströmenden Photonen einige Milliarden pro Sekunde beträgt, passt sich die Signalkaskade an (adaptiert) und drosselt die Verstärkung um mehr als das 10'000fache, so dass die Photorezeptorzelle nicht gesättigt ist, sondern auch noch im hellen Licht auf ein Ansteigen oder Abfallen reagieren kann. Die **Adaptation** hängt von einer negativen Rückkopplung ab: Eine intensive Reaktion in der Photorezeptorzelle erzeugt ein intrazelluläres Signal (eine Veränderung der Ca^{2+} -Konzentration), das die für die Signalverstärkung verantwortlichen Enzyme hemmt.

¹⁵ page 15:34; Figure 15-34/15-40 The structure of Ca^{2+} /Calmodulin based on x-ray diffraction and NMR studies.

¹⁶ page 15:35; Figure 15-35/15-41 The activation of CaM-kinase II

¹⁷ page 15:38; Figure 15-40/15-46 The response of a rod photoreceptor cell to light

Extracellular Signals Are Greatly Amplified by the Use of Small Intracellular Mediators and Enzymatic Cascades

Die Signalwege, die über G-proteingekoppelte Rezeptoren ablaufen bieten vielfältige Gelegenheiten, um Antworten innerhalb des Signalweges zu verstärken.

Ein einzelnes aktiviertes Rhodopsin zum Beispiel katalysiert 100e von Transducin-Molekülen mit einer Rate von etwa 1000 Transducin/Minute. Jedes aktivierte Transducin aktiviert ein Molekül cGMP Phosphodiesterase, welches jedes etwa 4000 Moleküle cGMP pro Sekunde hydrolisiert. Diese katalytische Kaskade dauert etwa 1 Sekunde und ergibt etwa 10^5 cGMP-Moleküle für einen einzigen Lichtquant. Diese Konzentration an cGMP-Molekülen schliesst als Resultat des Signalweges Hunderte von Na^+ -Kanälen.

Eine solch verstärkende Kaskade stimulierender Signale verlangt nach jedem Schritt der Kaskade Mechanismen, die es erlauben den Ursprungs- oder Ruhezustand des Systems wiederherzustellen.

G-Protein-linked Receptor Desensitization Depends on Receptor Phosphorylation

Zielzellen nützen verschiedene Mechanismen, um sich an intensive Signaleinwirkungen anzupassen. Wir diskutieren hier nur die Mechanismen, die eine Änderung des G-proteingekoppelten Rezeptors mit sich führen.

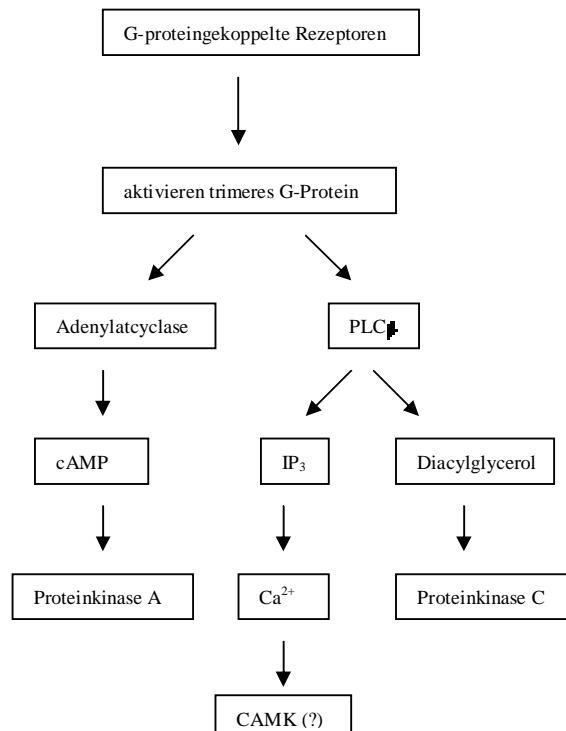
Rezeptoren können sich auf drei verschiedene Arten anpassen:

1. Sie können so verändert werden, dass sie nicht mehr mit G-Proteinen interagieren können (receptor inactivation).
2. Sie können für eine kurze Zeit ins Innere der Zelle „geholt“ werden (internalized), so dass sie ihr G-Protein nicht mehr erreichen können (receptor sequestration)
3. Sie werden in der Zelle durch Lysosomen zerstört (receptor down-regulation).

In jedem Fall hängt der Anpassungsprozess von Phosphorylierungen des Rezeptors durch PKA, PKC oder eines Mitglieds der „G-protein-linked receptor kinases“-Familie (GRKs) ab. Sobald ein Rezeptor auf diese Weise phosphoryliert worden ist, bindet er mit hoher Affinität an ein Mitglied der „arrestin family of proteins“.¹⁸ Nun kann er einerseits nicht mehr mit einem G-Protein in Kontakt treten oder aber er kann an ein „clathrin-coated pits“ (?) binden, was zur Endocytose des Rezeptors führt.

→ page 15:39; Table 15-3 Three Major Families of Trimeric G Proteins

Das Wichtigste in Kürze:



¹⁸ Figure 15-58/15-48 The role of G-protein-linked receptor kinases (GRKs) and arrestins in receptor desensitization.

CELL COMMUNICATION

SIGNALING THROUGH ENZYME-LINKED CELL-SURFACE RECEPTORS

Activated Receptor Tyrosine Kinases Phosphorylate Themselves

Enzymgekoppelte Rezeptoren sind eine zweite wichtige Art von Zelloberflächenrezeptoren. Sie wurden ursprünglich durch ihre Rolle bei Antworten auf extrazelluläre Signalproteine erkannt, die das Wachstum, die Proliferation, die Differenzierung oder das Überleben von Zellen in tierischen Geweben fördern. Diese Signalproteine werden oft gemeinsam als „Wachstumsfaktoren“ (*growth factors*) benannt, welche normalerweise als lokale Vermittler bei niedrigen Konzentrationen agieren. Typischerweise sind die Antworten auf diese Wachstumsfaktoren langsam (im Stunden-Bereich) und brauchen in der Regel viele intrazelluläre Signalisationsschritte, die unter Umständen zu einer veränderten Genexpression führen. Abnormalitäten bei der Signalweiterleitung von enzymgekoppelten Rezeptoren spielen eine wichtige Rolle bei Erkrankungen der Zellproliferation, -differenzierung und dem Zellüberleben, was wichtige Faktoren sind, die zu Krebs führen können.

Enzymgekoppelte Rezeptoren sind Transmembranproteine, die ihre Ligandenbindungsdomäne auf der äusseren Oberfläche der Plasmamembran haben. Die cytosolische Domäne besitzt entweder eine intrinsische Enzymaktivität oder verbindet sich direkt mit einem Enzym. Jede Untereinheit eines enzymgekoppelten Rezeptors besteht aus nur einem einzigen Transmembransegment.

Bis jetzt sind sechs Klassen von enzymgekoppelten Rezeptoren identifiziert worden:

1. **Rezeptor Tyrosin Kinasen** phosphorylieren spezifische Tyrosine von einer geringen Auswahl intrazellulärer Signalproteine.
2. **Tyrosin-Kinase-verbundene Rezeptoren** verbinden sich mit intrazellulären Proteinen, die eine Tyrosin-Kinase-Aktivität aufweisen.
3. **Rezeptorähnliche Tyrosin Phosphatasen** entfernen Phosphatgruppen von Tyrosinseitenketten spezifischer intrazellulärer Signalproteine.
4. **Rezeptor Serin-/Threoninkinasen** phosphorylieren spezifische Serin- oder Threoninseitenketten an verbundenen Genregulatorproteinen.
5. **Rezeptor Guanylylcyclasen** katalysieren direkt die Produktion von cyclischem GMP im Zytosol.
6. **Histidin-Kinase-verbundene Rezeptoren** aktivieren eine Zweikomponenten Signalkette, in welcher die Kinase sich selber phosphoryliert und anschliessend die Phosphatgruppe an ein zweites Signalprotein weitergibt.

Activated Receptor Tyrosine Kinases Phosphorylate Themselves

Die extrazellulären Signalproteine, welche über Rezeptor Tyrosinkinasen funktionieren bestehen aus einer grossen Vielfalt von abgesonderten Wachstumsfaktoren und Hormonen. (p. 15:43; **Table 15-4: Some Signaling Proteins That Act Via Receptor Tyrosine Kinases**) Viele an die Zelloberfläche gebundene Signalproteine arbeiten ebenfalls mit diesen Rezeptoren. Die grösste Klasse solcher membrangebundener Liganden stellen die **Ephrine** dar. Die dazugehörenden Rezeptoren, Eph Rezeptoren genannt, sind ebenfalls die zahlreichsten Rezeptor Tyrosinkinasen. Das Besondere dabei ist, dass Ephrine und Eph Rezeptoren zugleich als Ligand und als Rezeptor wirken können, was zu einer bidirektionalen Signalisation (*bidirectional signaling*) führt.

Die Rezeptor Tyrosinkinasen können in mehr als 16 strukturelle Unterfamilien eingeteilt werden. (p. 15:42; **Figure 15-49: Seven subfamilies of receptor tyrosine kinases**) Durch die Bindung eines Signalproteins an die Ligandenbindungsdomäne wird die intrazelluläre Tyrosinkinasedomäne aktiviert, welche Phosphatgruppen von ATP auf Tyrosinseitenketten der Rezeptorproteine selbst und auf jene der intrazellulären Signalproteine transferiert. Bei den enzymgekoppelten Rezeptoren kommen zwei oder mehrere Rezeptorketten in der Membran zusammen und bilden einen Dimer oder ein höheres Oligomer. In manchen Fällen induziert die Ligandbindung die Oligomerisierung, in anderen Fällen löst ein ankommender Ligand eine bestehende Oligomerisierung auf. Bei den Rezeptor Tyrosinkinasen ermöglicht die Neuordnung benachbarten Kinasedomänen der Rezeptorketten, einander gegenseitig zu phosphorylieren (*cross-phosphorylate*), was man Autophosphorylierung nennt. Dieser Mechanismus trägt auf zweierlei Weise zum Aktivierungsprozess bei:

1. Phosphorylierung der Tyrosine innerhalb der Kinasedomäne erhöht ihre Aktivität.
2. Phosphorylierung ausserhalb der Kinasedomäne generiert *high-affinity docking sites* für die Bindung einer Anzahl intrazellulärer Signalproteine in der Zielzelle.

Das intrazellulär gebundene Signalprotein wird entweder bereits durch die Bindung an die aktivierte Kinase aktiviert oder aber es wird durch die eigene Phosphorylierung aktiviert. Einige Rezeptoren (z.B. Insulin Rezeptor) benutzen spezialisierte Bindungsproteine (*docking proteins*), die mehr Signalproteine binden, anstatt der Bindungsstellen auf dem Rezeptor selbst.

Phosphorylated Tyrosines Serve as Docking Sites For Proteins With SH2 Domains

Einige an die Phosphotyrosine gebundene Proteine sind Enzyme, wie zum Beispiel **die Phospholipase C-γ (PLC-γ)**. Über diesen Signalisationsweg können Rezeptor Tyrosinkinasen den cytosolischen Ca^{2+} -Spiegel erhöhen. Obwohl sich die Signalproteine, die an die Phosphotyrosine und Bindungsproteine binden, in Form und Funktion massiv voneinander unterscheiden, haben sie hoch konservierte Phosphotyrosinbindungsdomänen, welche ihnen das Binden an phosphorylierte Tyrosine ermöglichen. Meistens handelt es sich dabei um **SH2 Domänen** (Src homology region) oder weniger häufig um PTB-Domänen. Zahlreiche Signalproteine verfügen über noch zusätzliche Proteinmodule (z.B. SH3), welche es ihnen erlauben, mit spezifischen anderen Proteinen zu interagieren. Nicht alle Signalproteine, die über eine SH2-Domäne gebunden sind, helfen ein Signal weiterzuleiten; Einige schwächen das Signal zum Beispiel über negatives Feedback ab. Die sogenannten Adaptorproteine (*adaptor proteins*) bestehen hauptsächlich aus SH2 und SH3 Domänen, womit sie aktivierte Rezeptoren mit dem wichtigen Signalprotein **Ras** verbinden können.

Ras Is Activated by a Guanine Nucleotide Exchange Factor

Die Ras Proteine gehören zu der grossen Ras Oberfamilie der monomeren GTPasen (*ras superfamily of monomeric GTPases*). Sie enthalten eine kovalent gebundene Lipidgruppe, welche als Anker dient, mit dessen Hilfe sich die Ras an einer Membran festhalten können. Alle Ras Proteine scheinen ähnlich zu arbeiten, weshalb wir sie ab jetzt im Namen „Ras“ zusammenfassen. Ras hilft Signale von der Zelloberfläche an andere Stellen in der Zelle weiterzuleiten. Wenn Rezeptor Tyrosinkinasen dem Zellkern ein Signal zur Zellproliferation oder Differenzierung senden, um die Genexpression zu verändern, wird dazu Ras benötigt. Mutiert Ras zu einem hyperaktiven Ras, so kann dies leicht zu Krebs führen. Jedenfalls haben 30% der menschlichen Tumore ein hyperaktives Ras.

Ras funktioniert wie ein Schalter. Ist GTP gebunden, so befindet sich Ras im aktiven Zustand, ist GDP gebunden, so ist Ras inaktiv. Zwei Klassen von Signalproteinen regulieren die Ras-Aktivität: **GTPase aktivierende Proteine** (*GTPase-activating proteins GAPs*)

erhöhen die Hydrolyse von gebundenem GTP des Ras, wobei Ras inaktiviert wird. Hyperaktive Mutationen von Ras sind dagegen resistent, weshalb sie im GTP-gebundenen Zustand bleiben und somit zu Krebs führen können. **Guanine nucleotide exchange factors (GEFs)** treiben den Austausch von gebundenem GDP gegen cytosolisches GTP voran, wobei Ras aktiviert wird. Adapterproteine verbinden Rezeptor Tyrosinkinasen mit Ras.

Ras Activates a Downstream Serine/Threonine Phosphorylation Cascade That Includes a MAP-Kinase

Die oben erwähnten Signalereignisse sind nur von kurzer Lebensdauer und müssen daher in länger andauernde Signale umgewandelt werden. Dies geschieht, nachdem die Signalkaskade Ras durchlaufen hat. Ras aktiviert eine Serin-/Threoninphosphorylierungskaskade, welche aus einem Kernmodul besteht, das unter anderem **mitogen-activated protein kinase (MAP-kinase)** enthält. Ras aktiviert eine MAP-Kinase-Kinase-Kinase (bei Säugern **Raf** genannt), welche wiederum eine MAP-Kinase-Kinase (bei Säugern **MEK** genannt) aktiviert. Diese Kinase sorgt schlussendlich für die Phosphorylierung an Threonin- und Tyrosinseitenketten der MAP-Kinase, welche nur bei dieser Doppelphosphorylierung aktiviert wird. Das Signal wird von hier aus zum Beispiel in den Zellkern weitergeleitet, wo unter Umständen Genregulatorproteine phosphoryliert werden.

Dreikomponenten MAP-Kinasen-Signalmodule arbeiten in allen Tierzellen, auch in Hefen, wobei mehrere verschiedene Antworten in ein und derselben Zellen vermittelt werden können. Damit es beim gleichzeitigen Gebrauch von verschiedenen MAP-Kinasen-Signalmodulen nicht zu Signalüberkreuzungen kommt, werden sogenannte **Scaffoldproteine** verwendet (p. 15:49; **Figure 15-57: The organisation of MAP-kinase pathways by scaffold proteins in budding yeast**), die mehrere Kinasen in einem spezifischen Modul zu einem einzigen Komplex verbinden. Dies hat allerdings den Nachteil, dass ein Signal nicht mehr problemlos amplifiziert und an beliebige Orte in der Zelle verteilt werden kann.

PI 3-Kinase Produces Inositol Phospholipid Docking Sites in the Plasma Membrane

Wenn Ras aktiviert wird, phosphoryliert es meistens nebst dem MAP-Kinasen-Signalweg auch noch **phosphatidylinositol 3-Kinasen (PI3-Kinasen)**, welche der Zelle signalisieren, dass sie überleben und wachsen soll. Der Ras-MAP-Kinasen-Stoffwechselweg führt nur zu Zellteilung, nicht aber zu Zellwachstum, was nach einigen Zellteilungen zu immer kleineren Tochterzellen führen würde. Damit dies nicht geschieht, sorgen PI3-Kinasen für das nötige Zellwachstum. Diese Kinasen phosphorylieren prinzipiell Inositol Phospholipide und keine Proteine.

Phosphatidylinositol (PI) ist unter den Membranlipiden einmalig, da es reversibel phosphoryliert werden kann. Eine aktivierte PI 3-Kinase katalysiert die Phosphorylierung an der dritten Stelle des Inositolrings eines Inositolphospholipids. (p. 15:50; **Figure 15-58: The generation of inositol phospholipid docking sites by PI 3-kinase**) Dabei entstehen $PI(3,4)P_2$ und $PI(3,4,5)P_2$, welche als Andockstellen für intrazelluläre Signale dienen, die über ihre **Pleckstrin homology (PH) domain** binden und sich zu Signalkomplexen zusammenlagern. $PI(3,4)P_2$ und $PI(3,4,5)P_2$ bleiben solange in der Plasmamembran, bis sie von einer spezifischen Inositol Phospholipid Phosphatase dephosphoryliert werden. Mutationen, die eine derartige Phosphatase deaktivieren, wirken stark kanzerogen, da sie zu unkontrolliertem Zellwachstum und –überleben führen.

The PI 3-Kinase/Protein Kinase B Signaling Pathway Can Stimulate Cells to Survive and Grow

Ein Weg (p. 15:52; **Figure 15-60: One way in which signaling through PI 3-kinase promotes cell survival**), über den PI 3-Kinasen der Zelle signalisieren, dass sie überleben soll, ist der über die Aktivierung von **Protein Kinase B (PKB)**. Diese Kinase enthält eine PH-domäne, mit welcher sie an ein von einer aktiven PI 3-Kinase phosphoryliertes $PI(3,4,5)P_3$ in der Plasmamembran binden kann. Kurz nachdem es gebunden hat, ändert das PKB seine Konformation, so dass es nun von einer phosphatidyl-dependent protein kinase (**PKD1**) aktiviert werden kann. Sobald es aktiviert ist, kehrt PKB ins Cytoplasma zurück und phosphoryliert dort mehrere Zielproteine. Eines von diesen heisst **BAD** und ist normalerweise für den programmierten Zelltod zuständig. Wird es allerdings von einem PKB phosphoryliert, verliert es seine Aktivität, wodurch indirekt das Zellüberleben gefördert wird. PKB fördert also das Zellüberleben, indem es verschiedene Zelltodaktivierer unterdrückt.

Wie die PI 3-Kinase genau die Zelle zum Wachsen animiert ist kompliziert und noch kaum verstanden. Ein Weg, wie Wachstumsfaktoren die Zelle zum Wachsen bringen, funktioniert, indem die Proteinsyntheserate erhöht wird. Dies geschieht über eine erhöhte Effizienz der Ribosomen, welche von phosphorylierten S6-Untereinheiten beeinflusst wird. (p. 15:53; **Figure 15-61: Five parallel intracellular signaling pathways activated by G-protein-linked receptors, receptor tyrosine kinases or both**)

Tyrosin-Kinase-associated Receptors Depend on Cytoplasmic Tyrosine Kinases for Their Activity

Viele Zelloberflächenrezeptoren hängen bei ihrer Aktivierung von Tyrosinphosphorylierung ab, obwohl sie selber keine Tyrosinkinasedomäne besitzen. Diese Rezeptoren arbeiten mit cytoplasmatischen Tyrosinkinasen, welche zahlreiche Zielproteine und meistens auch den Rezeptor selbst phosphorylieren. Wie bei den Rezeptor Tyrosinkinasen müssen auch die letztgenannten Rezeptoren oligomerisieren, um funktionsfähig zu sein.

Cytokine Receptors Activate the Jak-STAT Signaling Pathway, Providing a Fast Track to the Nucleus

Der Jak-STAT Signaltransduktionsweg führt von Zelloberflächenrezeptoren zum Nucleus, wo die Gentranskription verändert wird. Er stellt einer der direktesten Wege dar und wurde beim beobachten der Interferone, die von Zellen ausgeschiedene Cytokine als Antwort auf eine virale Infektion sind, entdeckt. Die Interferone binden an Rezeptoren von nichtinfizierten Nachbarzellen und lösen aus, dass die Zelle Proteine produziert, die ihre Resistenz gegen eine virale Infektion steigern. Aktivierte Interferonrezeptoren aktivieren eine neue Klasse von cytoplasmatischen Tyrosinkinasen: **Die Januskinasen (Janus kinases Jaks)**. Die Jaks phosphorylieren einige Genregulatorproteine, die sich **STATs (signal transducers and activators of transcription)** nennen. Diese wandern in den Kern und stimulieren die Transkription von spezifischen Genen. (p. 15:54; **Table 15-5: Some Signaling Proteins That Act Through Cytokine Receptors and the Jak-STAT Signaling Pathway**) Alle STATs weisen auch eine SH2-domäne auf, mit welcher sie an Phosphotyrosine einiger aktivierter Rezeptor-Tyrosinkinasenrezeptoren binden können. Somit können STATs auch unabhängig von Jaks aktiviert werden.

Alle Cytokinrezeptoren sind mit einem oder mehreren der vier bekannten Jaks (Jak1, Jak2, Jak3, Tyk2) assoziiert. Sobald sich mehrere Jaks durch die Oligomerisierung der Rezeptorketten sehr nahe kommen, phosphorylieren sie Tyrosine der Cytokinrezeptoren, wobei Phosphotyrosinbindungsstellen für STATs oder andere Signalproteine entstehen. Es gibt sieben bekannte STATs, jedes mit einer SH2-domäne, die zwei Funktionen hat:

1. Sie bindet an einen aktivierten Cytokinrezeptoren (oder Rezeptortyrosinkinase), wobei STAT von Jaks an Tyrosinen phosphoryliert wird, was zu einer Bindungslösung am Rezeptor führt.

- Die nun freie SH2-domäne bindet an ein Phosphotyrosin eines anderen STATs. Dieser STAT-dimer wandert in den Zellkern, wo er an ein spezifisches DNA-Antwort-Element bindet und die Gentranskription, gezielter Gene bewirkt. Dabei können durchaus auch Inhibitorproteine entstehen, welche Teil eines Negativfeedbacks sind.

(p. 15:55; **Figure 15-63:** *The Jak-STAT signaling pathway activated by α -interferon*)

Das Negativfeedback, wobei zum Beispiel bloss der Rezeptor oder die STATs vom einem Inhibitor gebunden werden, genügt nicht, um eine ganze Zellantwort zu unterdrücken. Die aktivierten Jaks und STATs müssen dazu zusätzlich dephosphoryliert werden. Dazu werden Proteintyrosinphosphatasen benötigt.

Some Protein Tyrosine Phosphatases May Act as Cell-Surface Receptors

Im Gegensatz zu den nur ganz wenigen Serin-/Threoninphosphatasen gibt es mehr als fünfzig **protein tyrosine phosphatases (PTPs)** im Menschen. Es gibt sie sowohl in cytoplasmatischer als auch in transmembraner Form. Sie sorgen unter anderem dafür, dass Tyrosinphosphorylierungen von kurzer Lebensdauer sind und dass der Gehalt an phosphoryliertem Tyrosin in der Zelle gering bleibt. **SHP-1 und SHP-2** sind Beispiele für cytoplasmatische Tyrosinphosphatasen, die eine SH2-domäne besitzen und dazu sorgen, dass gewisse Zellantworten beendet werden.

Es gibt eine grosse Anzahl Transmembranproteintyrosinphosphatasen, deren Funktionen bis heute unbekannt sind. Von einigen vermutet man, dass sie als Rezeptoren funktionieren, weshalb man sie **receptorlike tyrosine phosphatases** nennt. Transmembrantypenphosphatasen können auch als Signalliganden, die an Rezeptoren von benachbarten Zellen binden, dienen.

Signal Proteins of the TGF- β Superfamily Act Through Receptor Serine/Threonine Kinases and Smads

Bei der **transforming growth factor- β (TGF- β) superfamily** handelt es sich um ausgeschiedene dimere Proteine, die entweder als Hormone oder als lokale Mediatoren wirken. Während der Entwicklung regulieren sie pattern formation. Bei Erwachsenen sind sie bei der Gewebereparatur und der Immunregulation beteiligt. Zu dieser Oberfamilie gehören die TGF- β s, die Aktivine und die **bone morphogenetic proteins (BMPs)**. All diese Proteine arbeiten mit Enzymgekoppelten Rezeptoren, die eine Serin-/Threoninkinasedomäne besitzen. Es gibt zwei Klassen von diesen **Rezeptor Serin-/Threoninkinasen**: TypI und TypII, welche sich strukturell sehr ähneln. Jedes Mitglied der TGF- β Oberfamilie bindet eine typische Kombination von TypI und TypII-Rezeptoren. Der aktivierte Rezeptorkomplex leitet das Signal über eine direkte Route sehr schnell zum Zellkern weiter. Der TypI-Rezeptor bindet und phosphoryliert direkt ein Genregulatorprotein der **Smad-Familie**. Aktivierte TGF- β -rezeptoren und Aktivinrezeptoren phosphorylieren Smad2 oder Smad3, währenddem aktivierte BMP-rezeptoren Smad1, Smad5 oder Smad8 phosphorylieren. Sobald eines dieser Smads phosphoryliert ist, dissoziiert es vom Rezeptor und bindet an Smad4, welches mit einem der oben erwähnten rezeptoraktivierten Smads einen Komplex bilden kann. Dieser Smad-Komplex wandert anschliessend in den Zellkern, wo er mit anderen Genregulatorproteinen an spezifische DNA-Stellen bindet, um gewisse Zielgene zu aktivieren. Einige TGF- β Familienmitglieder dienen während der Entwicklung als graduelle Morphogene, die je nach Konzentration andere Antworten bewirken.

Wie beim Jak-STAT Weg, wird auch der Smad-Reaktionsweg manchmal über Feedbackinhibition reguliert. Die TGF- β Familienmitglieder und einige ihrer Inhibitoren werden normalerweise in ihrer inaktiven Form in Sekreten abgegeben und müssen nur noch durch proteolytische Spaltung aktiviert werden.

Receptor Guanylyl Cyclases Generate Cyclic GMP Directly

Rezeptor Guanylylcyclasen sind Transmembranproteine mit einer extrazellulären Bindungsstelle für ein Signalmolekül und einer intrazellulären katalytischen Guanylylcyclase-domäne. Die Bindung eines Signalmoleküls bewirkt, dass die Cyclase cyclisches GMP produziert, welches wiederum **cyclic GMP-dependent protein kinase (PKG)** aktiviert. **Natriuretic peptides (NPs)** stellen eine wichtige Familie der Signalmoleküle dar, die Rezeptor Guanylylcyclasen benutzen. NPs regulieren unter anderem den Salz- und Wasserhaushalt und dehnen die Blutgefässe aus. **Atrial natriuretic peptide (ANP)** und **brain natriuretic peptide (BNP)** gehören zu den NPs.

Bacterial Chemotaxis Depends on a Two-Component Signaling Pathway Activated by Histidine-Kinase-associated Receptors

Zu den best verstandenen Reaktionen von Einzellern auf extrazelluläre Signale gehören die chemotactischen Reaktionen, bei denen die Zellbewegung auf eine chemische Quelle bzw. von ihr weg gerichtet wird. Die bakterielle Chemotaxis hängt sowohl von einem **two-component signaling pathway** als auch von **histidine-kinase-associated receptors** ab. Derselbe Mechanismus wird auch von Hefen und Pflanzen benutzt, allerdings von Tieren offensichtlich nicht. Bakterien schwimmen mit Hilfe von sogenannten Geisseln (**flagella**), die sie mittels H^+ -Gradients in eine oder andere Richtung rotieren lassen können. **Chemotactic attractants oder repellents (binden an spezifische Rezeptorproteine, womit die Rotation der Geisseln beeinflusst und geändert werden kann. Dabei handelt es sich um Histidinkinase-assoziierten Chemotaxisrezeptoren, die typischerweise dimere Transmembranproteine sind. Die cytoplasmatischen Enden des Rezeptors sind mit einem Adaptorprotein CheW und einer Histidinkinase CheA verbunden, die den Rezeptor an den Geisselmotor koppeln. Obschon der primäre Effekt auf die Körperbeherrschung in weniger als einer Sekunde stattfindet, benötigt eine weitere Anpassung Minuten.**

SIGNALING PATHWAYS THAT DEPEND ON REGULATED PROTEOLYSIS

Intrazelluläre Signalisation ist nie so wichtig wie während der tierischen Entwicklung. Jede Zelle des Embryos muss gemäss ihrer Geschichte, ihrer Position und der Art ihrer Nachbarn gesteuert werden. Die Nachbarzellen tauschen untereinander immer wieder Signale aus, um ihr eigenes Verhalten mit dem der Nachbarzellen zu koordinieren.

Wir werden nun vier derartige Signalisationswege betrachten: Den Weg, der vom Rezeptorprotein **Notch** bestimmt wird, den Weg, der durch ausgeschiedene **Wnt**-Proteine aktiviert wird und jenen Weg, der von der Aktivierung des latenten Genregulatorproteins **NF- κ B** abhängt.

The Receptor Protein Notch Is Activated by Cleavage

Kommunikation via Rezeptorprotein **Notch** ist einer der häufigsten Signalwege während der tierischen Entwicklung. Nebst dem, dass Notch bei der Entwicklung der meisten Gewebe beteiligt ist, hat es auch eine wichtige Rolle bei der Herstellung der Nervenzellen. Nervenzellen entstehen in der Regel als einzelne Zellen eingebettet in einer Epithelschicht aus Vorläuferzellen. Während diesem Prozess

signalisiert jede zukünftige Nervenzelle seinen unmittelbaren Nachbarn, sich nicht in derselben Art und Weise zu entwickeln, ein Vorgang, der **laterale Inhibition** genannt wird. Die laterale Inhibition hängt von einem kontaktabhängigen Signalisationsmechanismus ab, der durch das Signalmolekül **Delta** gesteuert wird, welches sich auf der Oberfläche der zukünftigen Nervenzelle präsentiert. Indem sich Delta an ein Notch einer Nachbarzellen bindet, wird dieser signalisiert, dass sie nicht neural werden soll. Das Notch gesteuerte Signal kann nebst dieser Funktion noch eine völlig gegensätzliche haben: In einigen Geweben bewirkt es, dass sich benachbarte Zellen in derselben Weise verhalten.

Sowohl Notch als auch Delta sind Transmembranproteine und beide müssen proteolytisch verarbeitet werden, damit sie funktionieren. Sobald Notch durch die Bindung eines Deltas aktiviert worden ist, schneidet eine intrazelluläre Protease den cytoplasmatischen Schwanz von Notch ab, welcher sich dann in den Zellkern begibt, um dort die Transkription von einem Set von Notch-antwortgenen in Gang zu geben. Der Notchschwanz bindet an das Genregulatorprotein **CSL**. Die Produkte der von Notch aktivierten Gene sind selbst wieder Genregulatorproteine, jedoch mit einer inhibitorischen Wirkung.

Notch erfährt insgesamt drei proteolytische Spaltungen (p. 15:64; **Figure 15-71: The processing and activation of Notch by proteolytic cleavage**), wobei nur die letzten zwei von der Deltabindung verursacht werden. Auffallenderweise wird Notchsignalisation durch Glykosylierung gesteuert.

Ein anderes Transmembranprotein, das bei der Alzheimererkrankung beteiligt ist, heisst **β -amyloid precursor protein (APP)** und erfährt ebenfalls eine proteolytische Spaltung, wobei ein Peptidfragment in den extrazellulären Raum entlassen wird. Bei Alzheimerpatienten lagern sich diese Peptidfragmente zu Filamenten zusammen, die ganze amyloid plaques bilden können, was dann zu Schädigungen an den Nervenzellen führt.

Wnt Proteins Bind to Frizzled Receptors and Inhibit the Degradation of β -Catenin

Wnt Proteine sind ausgeschiedene Signalmoleküle, die als lokale Mediatoren auftreten, um verschiedene Schritte in der Entwicklung zu kontrollieren. Die Zelloberflächenrezeptoren der Wnts gehören zur **frizzled family** der siebenfachen Transmembranproteine. Von dieser Familie werden verschiedene Signalmechanismen benutzt, wovon wir nun jenen der regulierten Proteolyse genauer betrachten wollen.

Das cytoplasmatische Signalprotein **Dishevelled** ist an der Bindung des Wnt-Proteins an einen Frizzled Rezeptoren beteiligt. Ein zweites Zelloberflächenmembranprotein **LDL-receptor-related protein** ist dabei ebenfalls beteiligt. Bei diesem Reaktionsweg kommt es darauf zu einer Erhöhung der Konzentration des multifunktionellen Proteins **β -catenin**, das für die Zell-Zelladhäsion wichtig ist und auch als Genregulatorprotein wirken kann.

In Abwesenheit von Wnt-Signalen befindet sich das meiste **β -catenin** in den Zell-Zell **adherens junctions**, wo es die Cadherine, welche Transmembranadhäsionsproteine sind, mit dem Actin-Cytoskett verbindet. Alle dabei nicht benötigten **β -catenine** werden im Cytoplasma sofort abgebaut.

Die Bindung von einem Wnt-Protein an seinen Rezeptoren führt zu einer Inhibition des **β -catenin**-Abbaus, womit diese Proteine sowohl im Kern als auch im Cytoplasma akkumulieren. Die Zielgene der Wnt-Signalisation sind normalerweise von einem Inhibitor-komplex von Genregulatorproteinen stillgelegt. Die erhöhte Konzentration von **β -cateninen** ermöglicht es einzelnen **β -cateninen** in den Zellkern zu wandern, wo sie als Koaktivatoren wirken, was die Transkription der Wnt-Zielgene zur Folge hat. Unter den dabei aktivierten Genen befindet sich zum Beispiel **c-myc**, das ein Stimulator des Zellwachstums und der -proliferation ist.

Hedgehog Proteins Act Through a Receptor Complex of Patched and Smoothened, Which Oppose Each Other

Hedgehog Proteine sind ausgeschiedene Signalmoleküle, die bei vielen Entwicklungsprozessen als lokale Mediatoren auftreten. Abnormalitäten im Hedgehog können ebenfalls zu Krebs führen. Eine Mutation in einem einzigen Gen, das für derartige Hedgehog Proteine kodiert, führen bei Drosophila dazu, dass die Larve einem Igel gleicht. Mindestens drei Gene kodieren für derartige Proteine: **sonic**, **desert**, und **indian hedgehog**. Die aktive Form aller Hedgehog Proteine ist kovalent an Cholesterol gebunden. Bei einem Schritt, wo sich das Protein selbst spaltet, wird Cholesterol angeheftet. Ein einziger Zelloberflächenrezeptor ist für sämtliche Hedgehog-Antworten verantwortlich. Er besteht aus zwei Transmembranproteinen: Die Komponente des Rezeptorkomplexes, welche das Hedgehogprotein bindet, heisst **patched**. **Smoothened** ist die zweite Komponente, die das Signal weiterleitet. Das meiste, was wir über diesen Signalweg wissen, stammt von Studien über Fliegen.

In gewisser Weise funktioniert dieser Signalmechanismus ähnlich wie der Wnt-Signalweg. Das proteolytische Verarbeiten des Genregulatorproteins **Cubitus interruptus (CI)** trägt im Zellkern dazu bei, dass gewisse Hedgehog-Antwortgene stillgelegt werden. Ein ankommendes Hedgehog-Signal verhindert den proteolytischen Prozess am CI, womit die Hedgehog-Antwortgene aktiviert werden. (p. 15:67; **Figure 15-73: A model for Hedgehog signaling in Drosophila**)

Multiple Stressful and Proinflammatory Stimuli Act Through an NF- κ B-Dependent Signaling Pathway

Die **NF- κ B-Proteine** sind latente Genregulatorproteine, die das Kernstück bei den meisten Infektionsantworten darstellen. Diese Antworten treten bei einer Infektion oder Verletzung auf. Unangemessene Infektionsreaktionen können dem Gewebe genau so schaden, wie die Infektion selbst. Bei rheumatischer Arthritis führt die unnötige Infektionsreaktion zu heftigen Schmerzen. **NF- κ B-Proteine** spielen jedoch auch bei der interzellulären Signalisation während der Entwicklung eine wichtige Rolle.

Bei der Auslösung von Infektionsantworten sind die beiden vertebreten Cytokine **tumor necrosis factor α (TNF- α)** und **interleukin-1 (IL-1)** besonders wichtig. Sie werden von Zellen des Immunsystems, z.B. von Makrophagen, in Folge einer Verletzung oder Infektion produziert und binden anschliessend an Zelloberflächenrezeptoren, wobei NF- κ B-Proteine aktiviert werden, die sich in den meisten Zellen in ihrer inaktiven Form aufhalten. Diese Proteine bewirken die Transkription von etwa 60 Genen, die alle bei einer Infektionsantwort beteiligt sind.

SIGNALING IN PLANTS

Pflanzenzellen kommunizieren miteinander, damit sie ihre Reaktion auf eine Veränderung bezüglich Licht- und Temperaturverhältnisse koordinieren können. Dies bestimmt auch den pflanzlichen Lebenszyklus, der je nachdem gerade eine Wachstums- eine Blüten- oder eine Fruchtphase durchläuft.

Multicellularity and Cell Communication Evolved Independently in Plants and Animals

Der letzte gemeinsame Vorfahre von Pflanzen und Tieren lebte ungefähr vor einer Billion Jahren. Es handelte sich dabei um einen einzelligen Eukaryoten, der zwar Mitochondrien, jedoch keine Chloroplasten besass. Nachdem sich die Pflanzenlinie von der Tierlinie

getrennt hatte, eigneten sich die Pflanzen Chloroplasten an. Es scheint, dass Pflanzen und Tiere unabhängig voneinander zu Mehrzellern evolvierten und dass sie daher auch je ihr eigenes Zellkommunikationssystem entwickelt haben. Trotzdem weisen die beiden Systeme gewisse Ähnlichkeiten auf: NO und Ca^{2+} werden in beiden Kommunikationssystemen häufig gebraucht.

Da das gesamte Genom von *Arabidopsis thaliana* komplett sequenziert worden ist, wissen wir heute, dass es zumindest in dieser Pflanze keine Homologen von Wnt, Hedgehog, Notch, Jak/STAT, TGF- β , Ras oder von der Zellkernrezeptorfamilie gibt. Cyclisches AMP wird bei Pflanzen nicht sicher in die intrazelluläre Signalisation einbezogen, obwohl cyclisches GMP durchaus verwendet wird. Enzymgebundene Zelloberflächenrezeptoren werden auch in Pflanzen verwendet.

Receptor Serine/Threonine Kinases Function as Cell-Surface Receptors in Plants

Währenddem die meisten Zelloberflächenrezeptoren in Tieren G-Protein-gekoppelt sind, handelt es sich in pflanzlichen Zellen meist um enzymgekoppelte Rezeptoren. Pflanzen weisen eine grosse Vielfalt bei den transmembran **receptor serine/threonine kinases** auf. Diese Transmembranrezeptoren besitzen eine typische Serin-/Threoninkinasedomäne auf der cytosolischen Seite und eine extrazelluläre Ligandbindungsdomäne. Der bis jetzt häufigste Typ dieser Kinasen wird **leucine-rich repeat (LRR) proteins** genannt.

Es gibt ungefähr 80 LRR Rezeptorkinasen bei *Arabidopsis*. Eine davon heisst **CLAVATA 1 (CLV1)** mit dem zugehörigen Signalmolekül **CLV3**, das von Nachbarzellen abgesondert wird. Die Bindung von CLV3 an CLV1 bewirkt eine Unterdrückung des Meristemwachstums. Mutationen, die das Rezeptorprotein verändern, führen zur Bildung von Blüten mit zusätzlichen Blütenorganen und zu einem vergrößerten Spross und Meristem.

Eine andere LRR Rezeptorkinase nennt sich **BR1** und funktioniert in *Arabidopsis* als Zelloberflächensteroidhormonrezeptor. Die LRR Rezeptorkinasen sind nur eine von vielen Klassen der Transmembranrezeptor Serin-/Threoninkinasen in Pflanzen. Das *Arabidopsis*-Genom kodiert über 300 Rezeptor Serin-/Threoninkinasen. Viele von ihnen sind in Verteidigungsreaktionen gegen Pathogene involviert.

Ethylene Activates a Two-Component Signaling Pathway

Verschiedene Wachstumsregulatoren (auch Pflanzenhormone genannt) helfen der Pflanze, ihr Wachstum zu koordinieren. Dazu gehören *ethylene*, *auxin*, *cytokinins*, *gibberellins*, und *abscisic acid*. Diese Wachstumsregulatoren können entweder sehr lokal wirken oder aber sie diffundieren durch die Zellwände und können so auch weiterentfernte Zellen erreichen.

Ethylen ist ein wichtiges Beispiel. Es handelt sich dabei um ein gasförmiges Molekül, das das Pflanzenwachstum auf verschiedene Arten beeinflussen kann. Eine weitere Funktion von Ethylen ist, als Stresssignal als Antwort auf eine Wunde, Infektion u.s.w. zu agieren. Pflanzen haben eine Anzahl von Ethylenrezeptoren, die strukturell einander sehr ähnlich sind. Man nimmt an, dass sie als **Histidinkinasen** fungieren, welche auf der extrazellulären Seite über ein **Kupferatom** verfügen, das Ethylen binden kann und über eine intrazelluläre Histidinkinasedomäne. In einem zweikomponenten Signalweg phosphoryliert die aktivierte Kinase sich selbst an Histidin und man nimmt an, dass sie anschliessend die Phosphatgruppe auf ein *aspartic acid* in einer anderen Domäne des Rezeptors verschiebt. Ähnlich wie bei der bakteriellen Chemotaxis inaktiviert die Ethylenbindung den Ethylenrezeptoren. In seinem aktiven ungebundenem Zustand aktiviert der Rezeptor die erste Komponente eines MAP-kinase-Signalmoduls. Die aktivierte MAP-kinasekaskade führt zu einer Inaktivierung von gewissen Genregulatorproteinen im Zellkern, die durch die Bindung von Ethylen an den Rezeptor wieder zur Transkription freigegeben werden.

Zweikomponenten Signalsysteme funktionieren in Bakterien, in Pilzen und in Pflanzen, nicht jedoch in Tieren. Der Grund dazu ist bis heute unbekannt.

Phytochromes Detect Red Light, and Cryptochromes Detect Blue Light

Pflanzen können sich im Gegensatz zu den Tieren nicht einfach fortbewegen, wenn die vorhandenen Verhältnisse schlecht werden. Sie müssen sich entweder an die neuen Bedingungen anpassen, oder aber sie sterben. Aus diesem Grund verfügen die Pflanzen vor allem über eine grosse Auswahl von lichtempfindlichen Proteinen, die es ihnen ermöglichen, die Quantität, Qualität, Richtung und Dauer des Lichtes zu überwachen.

Bei Pflanzen nennt man die Photorezeptoren Photoproteine, um allfällige Verwechslungen zu vermeiden. Alle Photoproteine messen Licht, indem sie kovalent befestigte Lichtabsorbierende Chromophore benutzen, die je nach Licht ihre Konformation ändern können. Die bekanntesten Pflanzenphotoproteine sind die **Phytochrome**, die in allen Pflanzen und in einigen Algen vorkommen. Es handelt sich dabei um dimere, cytoplasmatische Serin-/Threoninkinasen, die auf rotes und infrarotes Licht unterschiedlich und reversibel antworten. Währenddem rotes Licht die Kinaseaktivität des Phytochroms aktiviert, wird sie von Infrarot inaktiviert. Vom aktivierten Phytochrom geht anschliessend ein Signal aus, das zum Beispiel zu einer Interaktion mit Genregulatorproteinen führen kann.

Blaues Licht nehmen die Pflanzen mit Hilfe von den zwei Photoproteinen *Phototropin* und *Cryptochromes* wahr. **Phototropin** ist mit der Plasmamembran verbunden und ist teilweise für den Phototropismus (Tendenz der Pflanze, dem Licht entgegen zu wachsen) verantwortlich. **Cryptochrome** sind Flavoproteine, die auf blaues Licht empfindlich sind. Diese Proteine findet man im Gegensatz zu den Phytochromen auch in den Tierzellen, wo sie für die „innere Uhr“ von grosser Bedeutung sind.

ZUSAMMENFASSUNG ZELLBIOLOGIE

Teil: CYTOSKELETT, Kap. 16

(1. Teil, 16.1-16.4.4)

Allgemein:

Das Cytoskelett ist ein hochdynamisches, sich durch das gesamte Cytoplasma erstreckendes Geflecht aus Proteinfilamenten, das der Eukaryontenzelle die Fähigkeit verleiht, verschiedene Formen anzunehmen, koordinierte, gerichtete Bewegungen auszuführen und sein Cytoplasma räumlich zu organisieren.

16.1 Aufbau des Cytoskeletts¹

Die Aktivität des Cytoskeletts hängt von drei Haupttypen von helikalen Protein-Polymeren (Proteinfilamente) ab, die sich jeweils aus vielen gleichen Protein-Monomeren durch Polymerisation bilden. Es sind dies:

- **Actin-Filamente = Mikrofilamente:** Zweisträngige, helikale Polymere aus Actin, die als flexibles Gebilde mit 5-9 nm Durchmesser vorkommen und zu Bündeln, Netzen und Gelen organisiert sind. Sie finden sich überall in der Zelle verteilt, vornehmlich jedoch in der Zellrinde unmittelbar unterhalb der Plasmamembran.
- **Mikrotubuli:** Lange, gerade Hohlzylinder aus Tubulin mit einem äusseren Durchmesser von 25 nm, der sie wesentlich starrer als Actin-Filamente macht. Mit einem Ende sind sie meist an einem einzigen Mikrotubuli-organisierenden Zentrum (MTOC) befestigt, dem Centrosom.
- **Intermediärfilamente:** Seilähnliche Fasern mit einem Durchmesser von ca. 10 nm, bestehend aus einer uneinheitlichen Familie von Proteinen. Intermediärfilamente eines Typs bilden die Kernlamina, ein Geflecht, das unmittelbar unterhalb der Kernmembran liegt. Andere Typen erstrecken sich durch das Cytoplasma; sie verleihen der Zelle mechanische Festigkeit und nehmen in Epithelzellen die Zugkräfte auf, weil sie sich im Cytoplasma von einer Zellverbindung zur anderen ziehen.

Die Dynamik und Flexibilität des Cytoskeletts kommt durch die Möglichkeit zur Polymerisation und Depolymerisation zustande, wobei dies in gestaffelten Strukturen vor allem an den Enden stattfindet. Die Zusammenlagerung mehrerer Schichten verleiht Festigkeit².

Zu obigen Haupttypen kommt zusätzlich noch eine grosse Anzahl von **Zubehör-Proteinen**. Diese verbinden die Filamente untereinander und mit anderen Strukturen, sorgen für den kontrollierten Zusammenbau der

¹ vgl. Abb. 16-2

² vgl. Abb. Titel: „Multiple filaments...“ und „Staggered subunits...“ in Ari-Foliendatei „working with vesicular traffic“.

Proteinfilamente und bilden die Motoren, die Organellen an den Filamenten entlangtransportieren oder für Bewegung der Filamente selbst sorgen.

16.1.1 Das Cytoplasma einer Eukaryontenzelle erhält seine Raumaufteilung durch Actin-Filamente, Mikrotubuli und Intermediärfilamente

Filamente verbinden Proteinkomplexe und Organellen in den verschiedenen Bereichen der Zelle und dienen als „Schienen“ für den Transport zwischen diesen. Ausserdem dienen sie als mechanische Stütze.

16.1.2 Vom Centrosom gehen dynamische Mikrotubuli aus³

Mikrotubuli sind gerichtete Strukturen. Mit ihrem langsam wachsenden minus-Ende, das ohne Stabilisierung eher zum Verlust von Untereinheiten neigt, sind sie - in den meisten Zellen - im Centrosom verankert, was ihnen Stabilität verleiht. Mit ihrem durch Anlagerung neuer Tubulin-Moleküle zu raschem Wachstum aber durch Verlust von Monomeren auch zum Schrumpfen befähigten plus-Ende erstrecken sie sich sternförmig ins Cytoplasma.

16.1.3 Das Mikrotubuli-Geflecht kann die Mitte der Zelle finden⁴

16.1.4 Motorproteine nutzen das Mikrotubuli-Geflecht als Gerüst zur Verschiebung membranumhüllter Organellen⁵

Es gibt zwei Familien von an MT bindenden Motorproteinen: Die *Kinesine* wandern im allgemeinen zum plus-Ende, die *Dyneine* hingegen in Richtung minus-Ende. Grosse Bedeutung haben diese MT-abhängigen Motorproteine für die Lage der membranumhüllten Organellen.

Myosine bewegen sich an Actin-Filamenten entlang und sind u.A. in Muskeln zu finden.

Alle diese ATP-abhängigen Motorproteine kommen in verschiedenen Typen vor und transportieren entsprechend unterschiedliche „Fracht“.

16.1.5 Die Actin-haltige Zellrinde kann die Polarität der Zelle erzeugen und aufrecht erhalten⁶

Die vornehmlich als Netze oder Bündel arbeitenden Actin-Filamente bilden u.A. zusammen mit diversen Actin-bindenden Proteinen die Zellrinde. Dieses höchst dynamische Geflecht direkt unterhalb der Plasmamembran, steuert mit versch. Myosinen die Bewegung der Zelloberfläche. Lage und Orientierung der Actin-Filamente der Zellrinde werden von Steuerzentren in der Plasmamembran reguliert. Einerseits können räumlich begrenzte, auf die

³ vgl. Abb. 16-4

⁴ vgl. Abb. 16-6 Der Text stellt lediglich die Tatsache fest, gibt jedoch keine Erklärung.

⁵ vgl. Abb. 16-7 (und ev. 16-8 (A))

⁶ vgl. Abb. 16-9

Zelloberfläche wirkende Signale eine Neustrukturierung der Aktin-Filamente unterhalb des betreffenden Abschnitts der Plasmamembran bewirken, andererseits beeinflusst die Organisation der Zellrinde auch das Verhalten der darüberliegenden Plasmamembran, indem sie diese z.B. nach aussen drückt (=> z.B. Mikrospikes, Lamellipodien) oder nach innen zieht (z.B. bei Zweiteilung). In extremen Fällen kann die Actin-Zellrinde die Bewegung der gesamten Oberfläche einer Tierzelle zusammenfassen und die Polarität der Zelle unabhängig von den MT aufrechterhalten. Normalerweise gilt jedoch:

16.1.6 Actin-Filamente und Mikrotubuli verleihen der Zelle durch ihr Zusammenwirken eine Polarität⁷

In einer lebenden Zelle sind die Cytoskelett-Filamente der drei Haupttypen untereinander verbunden, und ihre Funktionen werden koordiniert. In vielen Fällen kommt es auch durch das koordinierte Zusammenwirken von MT und Actin-Filamenten zu einer Polarisierung der gesamten Zelle die folgendermassen abläuft : Zunächst nimmt die Plasmamembran auf einer Seite der Zelle eine Besonderheit wahr, die ein durch die Membran laufendes Signal auslöst. Daraufhin organisiert sich die Actin-haltige Zellrinde unter dem betreffenden Membranabschnitt neu, und das wiederum führt zu einer Wanderung des Centrosoms in diesen Bereich der Zelle, vermutlich weil auf seine MT ein Zug ausgeübt wird. Das Centrosom richtet dann das innere Membransystem in der richtigen Polarität aus.

16.1.7 Die Funktionen des Cytoskeletts lassen sich nur schwer untersuchen

16.2 Intermediärfilamente⁸

16.2.1 Intermediärfilamente sind Polymere aus Faserproteinen⁹

Im Unterschied zu den globulären Proteinen Actin und Tubulin, sind die vielen verschiedenen Proteinmonomere der IF lange Fasermoleküle der Masse 40-200 kDa¹⁰ mit einem aminoterminalen Kopf, einem carboxyterminalen Schwanz und einer langgestreckten, stäbchenförmigen, alpha-helikalen Domäne in der Mitte. Die helikale Struktur kommt durch Heptaden(Siebener)-Wiederholungen eines best. Aminosäure-Sequenzmotivs zustande, das die Bildung von Doppelwendel-Dimeren aus zwei parallel verlaufenden alpha-Helices fördert.

Bei der Bildung der IF lagern sich zwei solche Dimere antiparallel zu einem Tetramer zusammen, das folglich aufgrund der Symmetrie (wahrscheinlich) unpolar ist, was auch die aus ihnen gebildeten IF zu unpolaren Strukturen

⁷ vgl. Abb. 16-11 (A)

⁸ im Folgenden „IF“

⁹ vgl. Abb. 16-14, Abb. 3-48, (ev. 6-13)

¹⁰ In den Ari-Folien („working with vesicular traffic“) 40-130 kDa.

machen würde. (Dies ein zweiter Unterschied zu Mikrotubuli und Actinfilamenten, deren Funktion von ihrer Polarität abhängt).

Offenbar lagern sich die Tetramere dann als letzten Schritt längsseits zu grossen, überlappenden Anordnungen zusammen und bilden die schraubenförmige Struktur der IF.

Die in allen Proteinen der IF ähnliche stäbchenförmige Domäne ermöglicht diese seitliche Wechselwirkung während die Kopf- und Schwanzenden, die meist nach aussen ragen, für Wechselwirkungen mit anderen Zellbestandteilen sorgen.

Durch Regulationsmechanismen wie Phosphorylierung kann die Zelle den Zusammenbau der IF aus dem 1-5% Lösungspool von Tetrameren steuern.

Während Mikrotubuli und Actin-Filamente in allen Eukaryontenzellen vorkommen, sind cytoplasmatische IF nur bei vielzelligen Tieren und auch bei diesen nicht in allen Zelltypen zu finden. Die Verbindung zwischen IF und Plasmamembran kommt durch assoziierte Proteine zustande.¹¹

16.2.2 Epitelzellen enthalten eine sehr vielfältige Familie von Keratin-Filamenten¹²

Die IF im Cytoplasma der Wirbeltierzelle kann man in drei Gruppen einteilen:

- 1) Keratin-Filamente.
- 2) Vimentin und Vimentin-ähnliche Filamente.
- 3) Neurofilamente

Die Vertreter der vielfältigen Familie der *Keratine* finden sich vor allem in den Epitelzellen oder als sog. harte, durch Disulfidbrücken zusammengehaltene Keratine in Haaren und Nägeln. Die Keratinfilamente bestehen aus Heterodimeren, die jeweils ein Keratin des Typs I (sauer) und des Typs II (neutral/basisch) beinhalten.

In Epitelzellen sind die Keratin-Filamente an spezialisierte Zellverbindungen gekoppelt, und zwar sowohl an die Desmosomen, die benachbarte Zellen verbinden, als auch an die Hemidesmosomen, die für die Verankerung der Zelle in der Basalmembran sorgen. Durch die Verknüpfung der Keratin-Filamente benachbarter Epitelzellen untereinander und mit ihren assoziierten Proteinen bildet sich ein zusammenhängendes Netz. Wenn die Zellen absterben, bleiben die Keratine als Hauptbestandteil der äusseren Schutzschicht des Tieres erhalten.

16.2.3 Viele Nicht-Epitelzellen enthalten in ihrem Cytoplasma eigene charakteristische Intermediärfilamente

¹¹ Dieser Satz geht aus einer Notiz in der Ari-Foliendatei „working with vesicular traffic“ hervor die lautet: „Cross linked to PM by IFAPs“. Interpretation: PM = Plasmamembran, IFAP = intermediate filaments associated protein.

¹² Folge eines mutierten Keratins: Abb. 16-19

Vimentin findet sich in vielen Zellen, die vom Mesoderm abstammen so z.B. in den Fibroblasten, Endothelzellen und weissen Blutzellen. *Desmin* ist vor allem in Muskelzellen anzutreffen und ist dort oft - ähnlich dem Keratin in Epitelien - an spezialisierten Zellverbindungen festgeheftet. Das *fibrilläre Gliaprotein* bildet Gliafilamente in den Astrozyten des Zentralnervensystems und in manchen Schwann-Zellen der peripheren Nerven. All diese Proteine, also *Vimentin* und *Vimentin-ähnliche Proteine* können Homo- oder untereinander Heterodimere bilden.

Der in Nervenzellen am häufigsten vorkommende Typ von IF sind die *Neurofilamente*, die sich über die Länge des Axons erstrecken. Sie depolymerisieren nicht!

16.2.4 Die Kernlamina besteht aus einer besonderen Gruppe der Intermediärfilament-Proteine, den Laminen¹³

In Säugerzellen besteht die Kernlamina, das 10-20 nm dicke Geflecht aus IF auf der Innenseite der inneren Kernmembran, aus Laminen. Diese eigene Familie von IF-Proteinen zeichnet sich aus durch: 1) eine etwas längere stäbchenförmige Domäne, 2) ein Transportsignal, das sie nach ihrer Synthese aus dem Cytoplasma in den Zellkern lenkt, 3) die Tendenz sich (wahrscheinlich mit Hilfe anderer Proteine) zu einem flächigen, blattartigen Geflecht zusammenzulagern. Ausserdem ist 4) das von ihnen gebildete Gewebe ungewöhnlich dynamisch: Es zerfällt zu Beginn der Mitose - nach der Phosphorylierung durch cdc2-Kinase - sehr rasch und bildet sich am Ende der Mitose - nach der Dephosphorylierung der betreffenden Serinreste - wieder neu.

16.2.5 Die Intermediärfilamente verleihen den Tierzellen mechanische Stabilität¹⁴

Durch das überlappende Nebeneinanderlagern der faserigen Untereinheiten der IF können sie wesentlich grösseren Dehnkräften standhalten als MT oder Actin-Filamente.

16.3 Mikrotubuli¹⁵

16.3.1 Mikrotubuli sind hohle Röhren aus Tubulin¹⁶

MT bestehen aus Tubulin-Molekülen; jedes davon ist ein lösliches, 50 kDa schweres Heterodimer aus zwei verwandten globulären Polypeptiden namens α -Tubulin und β -Tubulin, die jeweils in mehreren leicht

¹³ vgl. Abb. 16-18 (A)

¹⁴ vgl. Abb. 16-20

¹⁵ im Folgenden „MT“

¹⁶ vgl. Abb. 16-21

unterschiedlichen Formen vorkommen und dementsprechend geringfügig unterschiedliche Aufgaben haben.

Der MT ist aus 13 gestreckten Protofilamenten gleicher Polarität aufgebaut, die jeweils aus abwechselnd angeordneten Molekülen α - und β -Tubulin bestehen und in paralleler Anordnung einen Zylinder bilden. Die Polarität der Protofilamente macht auch den MT zu einer polaren Struktur mit einem plus- und einem minus-Ende.

16.3.2 Mikrotubuli sind sehr labile Strukturen, die empfindlich auf bestimmte Mitose-hemmende Wirkstoffe reagieren

Experimente haben gezeigt, dass sich normalerweise durch ständigen Austausch von Untereinheiten zwischen MT und dem Vorrat an freiem Tubulin ein Gleichgewicht einstellt.

16.3.3 Mikrotubuli werden schnell länger, aber ihre Neubildung verläuft langsam¹⁷

Bei der Beobachtung der in vitro Polymerisation von freien Tubulin-Untereinheiten in Gegenwart von Mg^{2+} und GTP erkennt man folgenden Verlauf: Weil die Elongation eines MT viel einfacher ist als die Bildung ganz neuer MT verläuft die Anfangsphase der Polymerisation langsam. Aufgrund des anfänglichen Überangebots an Tubulin-Untereinheiten nimmt dann die Reaktionsgeschwindigkeit rasch zu bis sie allmählich wieder abflacht, da sie proportional der Konzentration an freiem Tubulin ist und sich allmählich ein Gleichgewicht von Anlagerung und Abdissotiation einstellt. Die Gleichgewichtskonzentration an freiem Tubulin nennt man *kritische Konzentration*.

Die kinetische Barriere für eine Neubildung von MT ist auch der Grund warum diese in der Regel von einer best. Stelle aus wachsen (meist vom Centrosom).

16.3.4 Die Enden eines Mikrotubulus sind verschiedenartig und wachsen mit unterschiedlicher Geschwindigkeit¹⁸

Das plus-Ende wächst 3 mal schneller als das minus-Ende und erstreckt sich von den MT-organisierenden (MTOC) Zentren - u.A. dem Centrosom, den Polen der Mitosespindel und dem Basalkörper der Cilien - weg. Es kommt oft in die Nähe der Plasmamembran zu liegen. Das minus Ende ist in der Regel in das MTOC eingebettet.

16.3.5 In Tierzellen sind Centrosomen die wichtigsten Ausgangspunkte für Mikrotubuli

In der Interphase liegt das Centrosom meist auf einer Seite des Zellkerns, dicht über der Aussenfläche der Kernhülle. Darin eingebettet erkennt man

¹⁷ vgl. Abb. 16-23

¹⁸ vgl. Abb. 16-26

zwei zylinderförmige Strukturen, die Centriolen. Diese bestehen aus Stücken von stark modifizierten MT und assoziierten Proteinen. Teilt sich das Centrosom in der Interphase, erhält jeder der zwei Tochter-Centrosomen ein Paar der ebenfalls verdoppelten Centriolen. Die Tochter-Centrosomen wandern zu entgegengesetzten Seiten des Zellkerns und bilden die Pole der Mitosespindel.

Um jedes Centriolenpaar befindet sich in der Interphase und in der Metaphase ein Cytoplasmabereich, die *Centrosomen-Matrix*, wo die Polymerisation der MT ihren Anfang nimmt. Dort findet sich eine Reihe Centrosomen-spezifischer Proteine, darunter das γ -Tubulin, das zusammen mit assoziierten Proteinen einen sog. γ -Tubulin Ringkomplex (γ -tubulin ring complex) bildet, der das minus-Ende bedeckt und sozusagen als „Kondensationskern“ für die Bildung eines MT fungiert¹⁹.

Obwohl nicht alle MTOCs Centriolen enthalten (vgl. höhere Pflanzen etc), findet man in ihnen doch immer eine Matrix, die zum Ausgangspunkt für die Polymerisation der MT wird, und gewöhnlich findet man dort auch γ -Tubulin und andere Centrosomen-spezifische Proteine.

16.3.6 Mikrotubuli depolymerisieren und polymerisieren in Tierzellen ständig

Das Verhalten bei dem einzelne MT eine Zeitlang mit konstanter Geschwindigkeit in Richtung Zellperipherie wachsen, um dann plötzlich schnell zum Centrosom hin einzuschrumpfen, wobei sie sich entweder nur teilweise verkürzen um dann wieder anzuwachsen oder vollständig verschwinden um durch neue MT ersetzt zu werden, nennt man *dynamische Instabilität*.

16.3.7 GTP-Hydrolyse ist eine Erklärung für die dynamische Instabilität einzelner Mikrotubuli²⁰

Die für die dynamische Instabilität notwendige Energie zum Verschieben des chem. Gleichgewichts zwischen Polymerisation und Depolymerisation stammt aus der Hydrolyse von GTP. Das GTP bindet an die β -Tubulin-Untereinheit des Tubulin-Heterodimers, und wenn sich das Tubulin dann an das Ende eines Mikrotubulus anlagert, wird dieses GTP zu GDP hydrolysiert. (Die α -Tubulin-Untereinheit trägt ebenfalls ein GTP, das aber nicht gegen freies GTP ausgetauscht oder hydrolysiert wird. Man kann es also als festen Bestandteil der Proteinstruktur von Tubulin betrachten.)

Die normale Funktion der GTP-Hydrolyse besteht offenbar darin, dass sie die Bindung zwischen den Tubulin-Untereinheiten schwächt und so den MT die Depolymerisation ermöglicht.

Die dynamische Instabilität ist vermutlich eine Folge der verzögerten GTP-Hydrolyse nach dem Zusammenbau der MT. Wenn ein MT schnell wächst,

¹⁹ vgl. 2. Abb. Titel: „Dynamic Instability of Mts“ in Ari-Foliendatei „intro. cytoskeleton, intermediate filaments“

²⁰ vgl. Abb. 16-33 und Tafel 16-1

lagern sich die Tubulin-Moleküle so schnell an das Polymer an, dass die Hydrolyse des GTP, das sie tragen, damit nicht Schritt halten kann. Die Folge ist eine „Kappe“ aus GTP am Ende des MT, und da Tubulin-Moleküle, die GTP tragen, sich mit höherer Affinität verbinden als solche mit GDP, sorgt die GTP-Kappe für die weitere Verlängerung eines wachsenden MT. Wenn ein MT seine GTP-Kappe verliert, z.B. weil die augenblickliche Polymerisationsgeschwindigkeit absinkt, geschieht das Umgekehrte: Er schrumpft und hat dann das Bestreben, sich immer weiter zu verkürzen.

Zellen können die dynamische Instabilität ihrer MT variieren, d.h. den Auf- und Abbauprozess beschleunigen (Bsp. M-Phase des Zellzyklus) oder durch Proteine, die an die MT binden und sie stabiler gegen den Abbau machen, unterdrücken. Die Möglichkeit, MT in einer best. Konfiguration zu stabilisieren, ist ein wichtiger Mechanismus, mit dem die Zelle ihr Cytoplasma organisieren kann.

16.3.8 Die dynamische Stabilität der Mikrotubuli ist ein Organisationsprinzip in der Morphogenese der Zellen²¹

Die in Tierzellen meist zu beobachtende Polarität kommt dadurch zustande, dass ein vom Centrosom in eine zufällige Richtung wachsender MT am plus-Ende durch eine Struktur „abgedeckt“ und damit stabilisiert werden kann. Damit verlängert sich quasi seine Lebenszeit, während unstabilisierte MT weiterhin auf- und abgebaut werden (dyn.Instabilität). Dies führt dazu, dass sich in manche Bereiche der Zelle mehr MT erstrecken als in andere.

16.3.9 Mikrotubuli machen eine lansame „Reifung“ durch, erkennbar an der Modifikation des Tubulins nach der Translation

Die Tubulin-Untereinheiten können nach der Polymerisation kovalent z.B. durch Acetylierung oder Detyrosinierung modifiziert werden. Je nach Menge dieser Modifikationen lässt sich abschätzen, wie lange ein MT schon existiert und daraus folgend wie stabil er ist. Man nimmt an, dass diese kovalenten Modifikation Bindungsstellen für spez. MT-bindende Proteine schaffen, welche die MT noch stärker stabilisieren.

16.3.10 Mikrotubuli-assotiierte Proteine (MAPs) binden an die Mikrotubuli und wandeln ihre Eigenschaften ab

Die Bindung anderer Proteine (MAPs) dient einerseits dazu, das plus-Ende der MT zu stabilisieren bzw. destabilisieren (Bsp. catastrophin)²², und vermittelt andererseits ihre Wechselwirkung mit weiteren Zellbestandteilen wie z.B. den übrigen Teilen des Cytoskeletts. Ausserdem wirken bestimmte MAPs als ATP-abhängige MT-„Motoren“.

²¹ vgl. Abb. 16-34

²² vgl. Abb. Titel: „Other MAPs stabilize or...“ in Ari-Foliendatei „intro. cytoskeleton, intermediate filaments“

Es existieren auch Proteine (Bsp. stathmin), die die MT destabilisieren, indem sie freies Tubulin stabilisieren und damit das Gleichgewicht verschieben²³.

16.3.11 MAPs tragen zur Schaffung eines Cytoplasmas mit differenzierten Funktionen bei

Die beiden MAPs *MAP-2* (wie *MAP-1* ebenfalls ein HMW-Protein = High Molecular Weight) und *tau* organisieren die MT in den Axonen und Dendriten der Neurone. Dabei kommen manche Formen des tau-Proteins nur in den Axonen vor, während *MAP-2* in den Dendriten und dem Zellkörper zu finden ist. Als Folge sind die MT in den Axonen sehr lang und ihr plus-Ende weist vom Zellkörper weg, wohingegen die MT in den Dendriten kurz sind und gemischte Polarität aufweisen. Axone und Dendriten unterscheiden sich auch in vielen anderen Eigenschaften z.B. bezüglich Ionenkanälen in der Plasmamembran und dem Vorhandensein von mRNAs und Ribosomen. Da sich die einzelnen Zellbestandteile in unterschiedlicher Richtung an den MT entlangbewegen, kann man annehmen, dass der erste Unterschied in der Polarität der MT durch unterschiedliche Verteilung der MAPs entsteht und dass sich daraus später weitere Unterschiede zwischen Axonen und Dendriten entwickeln.

16.3.12 Kinesin und Dynein sorgen für die Bewegung der Organellen an den Mikrotubuli entlang²⁴

Cytoplasmatische Dyneine sind am Transport der Organellen sowie an der Mitose beteiligt und ähneln stark dem Cilien-Dynein.

Die Kinesine sind vielgestaltiger als die Dyneine; verschiedene Proteine aus dieser Familie wirken bei Organelltransport, Mitose, Meiose und dem Transport sekretorischer Vesikel in den Axonen mit. Es handelt sich bei ihnen um ATPasen, die als Teil des Enzymzyklus eine Serie von konformationellen Änderungen durchläuft.²⁵

Sowohl die cytoplasmatischen Dyneine als auch die Kinesine bestehen aus zwei schweren und mehreren leichten Ketten. Jede schwere Kette enthält einen globulären Kopf, der ATP bindet, und einen Schwanz aus einer Reihe stäbchenförmiger Domänen. Die Kopf-Domänen sind ATPase-Motoren und binden an die MT, während die Schwanz-Domänen sich i.A. an bestimmte Zellbestandteile heften und damit die Art der Fracht bestimmen.

Oft fungiert in Dynein-basierten Motorproteinen ein Protein-Komplex namens Dynactin als Verbindung zwischen Dynein und der Plasmamembran bzw. den Fracht-Vesikeln. Dabei spielt u.U. ein Protein mit der Bezeichnung Arp-1 eine

²³ vgl. Abb. Titel: „Some proteins can destabilize...“ in Ari-Foliendatei „intro. cytoskeleton, intermediate filaments“

²⁴ vgl. Abb. 16-37

²⁵ vgl. Abb. Titel: „Kinesin is an ATPase that...“ in Ari-Foliendatei „intro. cytoskeleton, intermediate filaments“

wichtige Rolle, indem es als Teil des Dynactin-Komplexes via ein Netzwerk von Spectrin und Ankyrin die Verbindung zu den Organellen herstellt.²⁶

16.3.13 Geschwindigkeit und Richtung der Bewegung entlang der Mikrotubuli werden von der Kopf-Domäne der Motorproteine festgelegt²⁷

Die meisten bekannten Motorproteine bewegen sich nur in einer Richtung an den MT entlang. So wandern die meisten Kinesine zum plus-Ende und cytoplasmatisches Dynein zum minus-Ende. Es wurde jedoch auch ein Kinesin entdeckt, das sich nicht nur zum minus-Ende hin bewegt, sondern dies auch mit einer anderen Geschwindigkeit als die meisten mit ihm verwandten Kinesine tut.

Solche Motorproteine sind im Wesentlichen verantwortlich für die räumliche Verteilung und die gerichtete Bewegung der Vesikel und Organellen im Cytoplasma. Ohne diese MT-Transportwege würde z.B. der Golgi-Apparat einfach desintegrieren und seine Vesikel würden sich gleichmässig im Cytoplasma verteilen.

16.4 Cilien und Centriolen

16.4.1 Cilien bewegen sich durch Krümmung des Axonems, eines komplexen Bündels aus Mikrotubuli²⁸

Zum Unterschied von Cilien und Flagellen ist zu sagen, dass Cilien peitschenartige Bewegungen ausführen, und nach einem gestreckten, aktiven Schlag nach vorne folgt eine Erholungsphase in der die Cilie mittels einer Aufrollbewegung, die den viskosen Widerstand weitestmöglich verringert, in ihre Ausgangslage zurückkehrt.

Flagellen sind i.A. wesentlich länger und führen eine sinusförmige Bewegung aus.

Die molekularen Grundlagen der Bewegung sind jedoch bei beiden dieselben (Achtung: Flagellen von Bakterien sind ganz andere Strukturen).

Die Bewegung einer Cilie oder Flagelle entsteht durch die Krümmung des inneren Kerns, des Axonems. Dieses besteht neben einiger assoziierter Proteine aus neun speziell gebauter Doppel-MT, die ringförmig um ein Paar einzelner MT angeordnet sind. Die Doppel-MT sind aus einem vollständigen und einem unvollständigen, nur 11 Protofilamente umfassenden MT zusammengesetzt, wobei diese beiden so miteinander verbunden sind, dass sie einen Teil der MT-Wand gemeinsam haben. Für fast alle Cilien und Eukaryonten-Flagellen ist diese sog. „neun-plus-zwei-Anordnung“ charakteristisch. Die MT erstrecken sich über die gesamte Länge des Axonems, die gewöhnlich etwa 10 µm beträgt, aber in best. Zellen auch bis zu 200 µm erreichen kann.

²⁶ vgl. Abb. Titel: „The Dynein/Dynactin Complex“ und „Arp-1...“ in Ari-Foliendatei „intro. cytoskeleton, intermediate filaments“

²⁷ vgl. Abb. 16-38

²⁸ vgl. Abb. 16-40 und 16-41

16.4.2 Die Bewegung der Cilien und Flagellen wird von Dynein angetrieben²⁹

Die MT eines Axonems sind mit zahlreichen Proteinen assoziiert, die in regelmässigen Abständen entlang der MT angeordnet sind. Das wichtigste Zubehör-Protein ist das ATP-hydrolysierende Cilien-Dynein, dessen Köpfe mit den benachbarten MT in Wechselwirkung treten und dafür sorgen, dass die MT aneinander entlanggleiten. Abgesehen davon, dass es grösser ist, funktioniert das Cilien-Dynein wie seine cytoplasmatischen Vertreter, nur dass es als „Fracht“ eben einen MT zum minus-Ende „transportiert“. (Der Dynein-Schwanz bindet dabei nur an den A- nicht an den B-Tubulus.) Andere Zubehörproteine halten den MT-Dublett-Ring als Querverbindungen zusammen und verwandeln die Gleitbewegung in die Krümmung, die den Cilienschlag entstehen lässt.

16.4.3 Flagellen und Cilien wachsen von Basalkörpern aus, die eng mit den Centriolen verwandt sind³⁰

Der Basalkörper bildet den unteren Teil des Axonems; er besteht aus neun MT-Tripletts, von denen jedes einen vollständigen MT (den A-MT) und zwei mit ihm verbundene unvollständige MT (die Tubuli B und C) enthält. Andere Proteine bilden Querverbindungen, welche die zylindrische Anordnung der MT zusammenhalten. Die Struktur des Centriols ist im wesentlichen die gleiche.

Bei der Bildung einer Cilie wächst jedes MT-Dublett des Axonems aus zwei der drei MT in einem Triplet des Basalkörpers heraus, deshalb auch die neunfache Symmetrie des Axonems.

16.4.4 Centriolen entstehen gewöhnlich durch die Verdopplung bereits vorhandener Centriolen

Die beiden rechtwinklig zueinander angeordneten Centriolen im Centrosom beginnen sich etwa zur gleichen Zeit zu verdoppeln in der die DNA-Replikation einsetzt. Dabei trennt sich das Paar und es bildet sich rechtwinklig zu jeder der beiden ursprünglichen Centriolen ein Tochter-Centriol.

Ein unreifes Centriol enthält *einzelne* MT in neunfach-symmetrischer Anordnung; diese dienen dann wahrscheinlich als Matrize für den Aufbau des Tripletts. Tochter- und Mutter-Centriol sind nicht nur anders orientiert, sondern unterscheiden sich auch morphologisch und funktionell.

++++
++++

²⁹ vgl. Abb. 16-43 und 16-44

³⁰ vgl. Abb. 16-45

Die Zusammenfassung basiert auf der 3.Auflage (dt.) des Buches „Molekularbiologie der Zelle“ von Alberts und umfasst die erste Hälfte des 16. Kapitels (16.1-16.4.4).

Ich habe die Titel und Untertitel des Buches übernommen. Dies deshalb weil sie meiner Meinung nach jeweils eine gute Kurzzusammenfassung der Wichtigsten Punkte darstellen und dem Text Struktur verleihen. Ausserdem erlaubt es die Orientierung im Zusammenhang mit dem Buch. Dies heisst jedoch nicht, dass ich nicht einige Informationen etwas anders zugeordnet habe. Ausserdem befinden sich ab und zu auch Zusatzinformationen aus den Powerpoint-Folien im Text, die man so im Buch nicht oder nicht an diesem Ort findet.

Dieser Text sollte so ausführlich sein, dass man nach einmaliger Betrachtung praktisch aller Abbildungen diese nicht mehr zum Verständnis der Zusammenfassung benötigt, wobei ich das nicht wirklich beurteilen kann, da ich sie ja weiss-Gott lange genug angestarrt habe ;) Viele beschreibende Passagen könnten somit weggelassen werden, würde man die ZF nur gemeinsam mit den Abbildungen anschauen. Ihr könnt das ja individuell anpassen, ich persönlich bevorzuge jedoch diese Form.

Die Fussnoten in den Untertiteln beziehen sich auf Abbildungen, die den gesamten entsprechenden Textteil betreffen. Fussnoten im Text selbst verweisen auf Abbildungen, die meist nur den entsprechenden Satz betreffen, und es handelt sich bei ihnen oft um Abbildungen aus den Powerpointpräsentationen, die zuweilen im Buch nicht vorhandene Zusatzinformationen vermitteln.

Da ja praktisch alle die engl. Ausgabe verwenden, macht es für mich hier nicht viel Sinn, Seitenzahlen anzugeben, da diese tatsächlich nicht mit denen in der engl. Ausgabe übereinstimmen und ev. Verwirrung stiften könnten. Sollte dies dennoch gewünscht werden, werde ich das selbstverständlich nachholen.

Bitte schickt mir ein e-mail, wenn Ihr Verbesserungsvorschläge oder Fragen habt.

Amon Marxer, amon@gmx.ch

p.s. Ich möchte Euch daran erinnern, dass Berny's Zielvorgabe bez. Vollendung der ZF „mitte Ferien“ lautet (also noch 1.5 Wochen), damit wir noch Zeit haben, Anpassungen vorzunehmen und ev. den Stoff mit Hilfe der ZF durchzuarbeiten. Danke.

++++
++++

Zusammenfassung Zellbiologie (Alberts, 3. Auflage, deutsche Ausgabe)

Teil: Cytoskelett, Kap. 16 (2. Teil, 16.5-16.7.8)

Actin- Filamente

Alle Eukaryonten- Arten enthalten Actin. In vielen Zellen ist dieser Bestandteil des Cytoskeletts das häufigste Protein, das über 5 % der gesamten Proteinmenge ausmacht. Jedes Actin- Molekül trägt ein eng gebundenes ATP- Molekül.

Actin- Filamente können in der Zelle sowohl stabile als auch labile Strukturen ausbilden. Stabile Actin- Filamente bilden den Kern der Mikrovilli und sind ein entscheidender Bestandteil des kontraktile Apparats in den Muskelzellen. Viele Zellbewegungen beruhen jedoch auf labilen Strukturen aus Actin- Filamenten.

Actin- Filamente sind dünn und biegsam

Actin- Filamente sind Fäden von etwa 8 nm Dicke. Sie bestehen aus einer eng gewundenen Helix aus gleich orientierten Actin- Molekülen. Actin- Moleküle sind globuläre Gebilde: sie besitzen ein relativ inaktives, langsam wachsendes minus- Ende und ein schneller wachsendes plus- Ende (Abb. 16.49, S. 970). In Säugergewebe findet man mindestens sechs Actin- Typen. Die alpha- Actine kommen in den verschiedenen Muskelgeweben vor, beta- und gamma- Actine sind die wichtigsten Bausteine in Nicht- Muskelzellen.

Actin- Filamente sind dünner, biegsamer und meist auch kürzer als Mikrotubuli. Einzelne Actin- Filamente beobachtet man in der Zelle kaum; meist bilden sie quervernetzte Ansammlungen und Bündel, die viel kräftiger sind als ein einzelnes Filament.

Actin und Tubulin polymerisieren durch ähnliche Mechanismen

Die Polymerisation gereinigten Actins in vitro erfordert ATP sowie ein- und zweiwertige Ionen, gewöhnlich K^+ und Mg^{2+} . Setzt man monomeres Actin in Gegenwart von ATP nun diese Ionen zu, beobachtet man anfangs eine Verzögerungs- Phase, in der neue Filamente angelegt werden, und dann eine Phase der schnellen Polymerisation, in der die kurzen Fragmente länger werden. Die Verzögerung der Polymerisation entsteht beim gereinigten Actin durch die gleiche kinetische Schranke, die bereits bei der Polymerisation des Tubulins beschrieben wurde. Beim Actin ist die Geschwindigkeit der Neubildung von Filamenten proportional zur dritten Potenz der Actin- Konzentration. Die Ausgangsstruktur von gereinigtem Actin ist ein Trimer aus Actin- Molekülen. Die Geschwindigkeit des Längenwachstums der Filamente ist dagegen wie bei den Mikrotubuli proportional zur Konzentration an freien Untereinheiten, was darauf hinweist, dass bei der Verlängerung des Filaments ein Actin- Molekül nach dem anderen angefügt wird. Die Polymerisationsgeschwindigkeit ist an den beiden Enden des Actin- Filaments unterschiedlich: das plus- Ende polymerisiert bis zu zehnmal schneller als das minus- Ende. Die Kritische Konzentration für die Polymerisation von Actin, d.h. die Konzentration an freien Monomeren, bei der der Anteil des Actins im Polymer nicht weiter zunimmt, liegt bei etwa 0.2 Mikromol. Diese Konzentration ist erheblich niedriger als die des unpolymerisierten Actins in der Zelle. Die Zellen haben

besondere Mechanismen entwickelt, um zu verhindern, dass der grösste Teil der Actin- Monomere sich zu Filamenten zusammenlagert (Siehe weiter unten). Kurz nach der Polymerisation wird das endständige Phosphat in dem an das Actin-Molekül gebundenen ATP hydrolysiert, und das dabei entstehende ADP wird im Polymer festgehalten (Abb. 16.50, 16.51, Folien Helenius).

Für das dynamische Verhalten der Actin- Filamente ist die Hydrolyse von ATP erforderlich

Die ATP- Hydrolyse bei der Polymerisation ist nicht zur Bildung des Filaments erforderlich, sondern dient dazu, die Bindungen in dem Polymer abzuschwächen und so die Depolymerisation zu fördern. Der ATP/ADP- Austausch verläuft bei freiem Actin relativ langsam (Halbwertszeit mehrere Minuten). Wenn Actin Moleküle durch Abbau eines Filaments freigesetzt werden, können sie also erst mit relativ langer Verzögerung wieder zum Neuaufbau eines Filaments dienen. Im Prinzip erlaubt diese Eigenschaft des Actins der Zelle, im Cytosol eine relativ hohe Konzentration an unpolymerisierten Actin- Molekülen in Form von ADP- Actin aufrecht zu erhalten; ausserdem kann das Actin- ADP- Monomer in einer Zelle durch die Bindung an ein anderes Protein stabilisiert werden, und damit eröffnet sich eine Möglichkeit, die Polymerisation des Actins zu regulieren.

Actin- Filamente können sich am sogenannten „Tretmühlen- Mechanismus“ beteiligen, bei dem am plus- Ende des Filaments ständig Actin- Moleküle angefügt werden, während sie sich am minus- Ende ablösen, ohne dass sich die Gesamtlänge des Filaments ändert. Der „Tretmühlen- Mechanismus“ erfordert Energiezufuhr. Diese Energie stammt aus der ATP- Hydrolyse, die mit der Polymerisation einhergeht

Die Funktion der Actin- Filamente wird durch Polymer- stabilisierende und Polymer- destabilisierende Wirkstoffe gehemmt (Folien Helenius)

Das Actin- Molekül bindet an kleine Proteine, die zur Steuerung der Polymerisation beitragen

Wie schon vorher kurz erwähnt, gibt es kleine Proteine, die an die Actin- Moleküle binden und ihre Anlagerung an das Ende der Actin- Filamente hemmen. Das häufigste dieser Proteine, die Actin- Monomere binden, ist in vielen Zellen das Thymosin. Möglicherweise blockiert es den Vorgang sterisch, weil es eine Stelle besetzt, an der die Monomere aneinander binden, oder es verhindert den ADP/ATP- Austausch und hält das ADP am Actin fest, so dass das Molekül nicht mehr gut polymerisieren kann.

Ein weiteres Protein, das Actin- Monomere bindet, ist das Profilin. Es ist in vielen Zellen vorwiegend mit der Plasmamembran assoziiert. Profilin beschleunigt den Austausch von ADP gegen ATP, wenn es an die Actin- Monomere gebunden ist. Neben Thymosin und Profilin gibt es in den Zellen in grosser Menge auch andere Proteine, die an Actin- Monomere binden können, und manche von ihnen, z.B. der Actin- depolyarisierende Faktor (ADF) hemmen die Zusammenlagerung des Actins zu Filamenten. Offensichtlich gibt es in den Zellen eine ganze Reihe von Mechanismen, mit denen die Zelle einen Vorrat an Actin- Monomeren in Reserve hält, damit Actin- Filamente sich dann und nur dann zusammenlagern, wenn sie gebraucht werden.

(sehr wichtig: Folien Helenius; Actin binding proteins control assembly, disassembly and architecture of filaments, G actin binding proteins regulate assembly of filaments, Abb. 16.53)

Viele Zellen strecken von ihrem Leitsaum dynamische Actin- haltige Mikrospikes und Lamellipodien aus

Dynamische Fortsätze aus Actin- Filamenten auf der Oberfläche sind ein allgemeines Kennzeichen von Tierzellen, insbesondere wenn es sich um Zellen handelt, die sich bewegen oder ihre Form verändern.

Der Leitsaum eines kriechenden Fibroblasten streckt in regelmässigen Abständen dünne, flächige Fortsätze aus, die Lamellipodien, die ein dichtes Geflecht aus Actin- Filamenten enthalten. Viele Zellen bilden auch Mikrospikes, dünne, steife Auswüchse mit einem Durchmesser von etwa 0.1 Mikrometer und einer Länge von 5 bis 10 Mikrometer. In ihrem Inneren liegen lockere Bündel aus etwa 20 Actin- Filamenten, die mit dem plus- Ende nach aussen orientiert sind. Die vordere Spitze eines entstehenden Nervenzell- Axons sendet sogar noch längere Mikrospikes aus, die Filopodien, die bis zu 50 Mikrometer lang werden können (Abb. 16.54).

Der Leitsaum beweglicher Zellen setzt die Polymerisation des Actins in Gang

Wenn man das Verhalten der Actin Filamente am Leitsaum untersucht, erkennt man, wie das Actin durch die Zellen ununterbrochen mit etwa 1 Mikrometer je Minute nach hinten wandert. Demnach, polymerisiert das Actin ständig an der Vorderseite des Leitsaums, während es weiter im Zellinneren fortlaufend depolymerisiert. Dieses höchst dynamische Verhalten der Actin- Filamente am Leitsaum ist vermutlich entscheidend für Vorgänge wie die gerichtete Fortbewegung von Zellen und Chemotaxis. Man hat den Eindruck, als schiebe der Leitsaum sich vorwärts, indem er dauernd Actin- Filamente nach hinten drückt.

Der Leitsaum setzt nicht nur das Wachstum neuer Filamente in Gang, sondern er ist offenbar auch die Stelle, an der später Monomere angefügt werden, so dass die Filamente sich verlängern (Abb. 16.58).

Manche krankheitserzeugende Bakterien bewegen sich mit Hilfe des Actins in und zwischen den Zellen

Bakterien, die ins Cytosol gelangen, können sich auch in benachbarten Zellen ausbreiten. Zu diesem Zweck aktivieren sie das auf Actin basierende Bewegungssystem der Zelle. Jedes einzelne Bakterium setzt auf einem Abschnitt seiner Oberfläche die Neubildung von Aktin- Filamenten in Gang und bewegt sich so mit 10 Mikrometern pro Minute oder mehr durch das Cytosol, wobei es hinter sich einen Schwanz aus Actin- Filamenten zurücklässt. Wenn es an die Plasmamembran der Wirtszelle stösst, bewegt es sich weiter nach aussen, so dass ein langer, dünner Mikrospike mit einem Bakterium an der Spitze entsteht. Oft nimmt eine Nachbarzelle diese Ausstülpung auf, so dass das Bakterium in ihr Cytosol eindringen kann, ohne mit der extrazellulären Umgebung in Berührung zu kommen. Damit vermeidet es der Erreger, von Antikörpern des Wirts erkannt zu werden (Folien Helenius: Arp2/3 is involved in the formation of actin tails that move bacteria around in the cell).

Die Polymerisation des Actins in der Zellrinde wird von Zelloberflächen- Rezeptoren gesteuert

Die Antwort der Actin- haltigen Zellrinde auf äussere Signale, die Rauminformation übermitteln, kann eng lokalisiert sein. Eine von äusseren Signalen hervorgerufene Polarisierung der actinhaltigen Zellrinde findet man z.B. bei Tierzellen, die zur Chemotaxis in der Lage sind, der Bewegung in Richtung des Konzentrationsgefälles einer chemischen Verbindung, die von der Zelle wahrgenommen wird. Ein gut untersuchtes Beispiel ist die chemotaktische Wanderung der neutrophilen Granulozyten, einer Gruppe weisser Blutzellen, die sich zum Ausgangspunkt einer Bakterieninfektion bewegen. Neutrophile Granulozyten besitzen auf ihrer Oberfläche Rezeptorproteine, mit denen sie die sehr niedrigen Konzentrationen N- formylierter Peptide erkennen, die aus Bakterienproteinen stammen (nur bei Prokaryonten beginnt die Proteinsynthese mit N- Formylmethionin). Schon ein Konzentrationsunterschied dieser Peptide von nur 1 % zwischen den beiden Seiten der Zelle reicht aus, um die neutrophilen Granulozyten zu ihrem Ziel zu dirigieren.

Heterotrimere der G- Proteine und kleine GTPasen leiten Signale von der Zelloberfläche in die Actin- haltige Rinde weiter

Die Polymerisation kann von aussen durch Signalmoleküle gesteuert werden, die an Zelloberflächen- Rezeptoren binden. Diese Rezeptoren wirken über heterotrimere G- Proteine und die kleinen GTPasen Rac, Rho und cdc42. Rac und Rho steuern aber nicht nur die Polymerisation von Actin- Filamenten, sondern auch die Organisation dieser Filamente zu ganz bestimmten Strukturen. (Folien Helenius: Rho, rac and cdc42, small ras- like GTPases, organize actin in cells)

Die Mechanismen der Zellpolarisierung kann man an Hefezellen untersuchen (Abb. 16.64)

Actin- bindende Proteine

Actin ist an bemerkenswert vielfältigen Strukturen beteiligt, von den steifen und ziemlich langlebigen Ausstülpungen der Zelloberfläche bis zu den dynamischen, räumlichen Geflecht am Leitsaum einer wandernden Zelle.

In jeder lebenden Zelle ist die Grundstruktur der Actin- Filamente stets die gleiche. Jedoch nicht die Länge dieser Filamente, ihre Stabilität, sowie die Zahl und Verteilung ihrer Verbindungen. Diese Eigenschaften hängen ihrerseits von einer breiten Palette Actin- bindender Proteine ab, die sich an Actin- Filamente heften und ihre Eigenschaften und Funktionen beeinflussen. Ein grosser Teil dieser Strukturen liegt an der Zellperipherie in einer Schicht unmittelbar unterhalb der Plasmamembran, die man als Zellrinde oder Zellcortex bezeichnet. Die Zellrinde verleiht Tierzellen mechanische Festigkeit und ermöglicht verschiedene Bewegungen der Zelloberfläche wie Phagozytose, Cytokinese (Zellteilung) und Fortbewegung.

Ein einfaches, an die Membran geheftetes Cytoskelett dient als mechanische Stütze der Plasmamembran von Erythrozyten

Die Plasmamembran ist die einzige Membran der Erythrozyten. Sie wird von einem flächigen Netz aus Spectrin- Tetrameren gestützt, die an den Enden durch sehr kurze Actin- Filamente verbunden sind. Das Spectrin ist über Brücken aus Ankyrin mit dem cytoplasmatischen Schwanz eines in grosser Menge vorhandenen Transmembran- Transportproteins namens Bande 3 verbunden (siehe Kapitel Membranstruktur, Abb.10.26). Die Einzelheiten der Proteinanordnung in der Rinde der Erythrozyten sind also ein vereinfachtes Modell für das Cytoskelettgeflecht auf Actin- Basis, das die Plasmamembran in allen anderen Tierzellen stützt.

Die Actin- Filamente in der Rinde der Erythrozyten sind sehr kurz und dienen nur als Verbindungselemente zwischen den Spectrin- Tetramere. In einer typischen Zellrinde dagegen sind sie wesentlich länger, so dass sie ins Cytoplasma ragen und dort die Grundlage für ein dreidimensionales Geflecht aus Actin- Filamenten bilden.

Quervernetzende Proteine mit unterschiedlichen Eigenschaften organisieren bestimmte Actin- Anordnungen

Die Actin- Filamente in der Rinde der Tierzellen sind nach drei allgemeinen Ordnungsprinzipien organisiert:

1. Parallelbündel: Kommen in den Mikrospeikes und Filopodien vor. Die Filamente sind hier mit der gleichen Polarität orientiert und liegen oft dicht nebeneinander (mit Abständen von 10-20 nm)
2. Kontraktile Bündel: Man findet sie in Stressfasern und in dem kontraktilen Ring, der die Zellen in der Mitose trennt: hier sind die Filamente mit entgegengesetzter Polarität angeordnet. Ihre Abstände sind grösser (30-60 nm), und sie enthalten das Motorprotein Myosin II.
3. Gelartiges Geflecht: Hier sind die Filamente verhältnismässig locker und offen angeordnet, mit vielen rechtwinkligen Verbindungen.

Quervernetzende Proteine bauen aus gleichartigen Actin- Filamenten verschiedenartige Anordnungen auf.

Man kann die Quervernetzungs- Proteine der Actin- Filamente in zwei Gruppen einteilen: Bündelungsproteine und Gel- bildende Proteine.

Die Bündelungsproteine koppeln die Actin- Filamente in Parallelanordnung und sind von Bedeutung für die Entstehung enger paralleler Bündel (z.B. Fimbrin und alpha-Actinin). Die Gel- bindenden Proteine dagegen verknüpfen die Actin- Filamente über Kreuz, so dass ein lockeres Gel entsteht (z.B. Filamin), (Abb. 16.66, 16.67).

Actin- bindende Proteine mit unterschiedlichen Eigenschaften sind aus ähnlichen Modulen aufgebaut

Fimbrin, alpha- Actinin, Filamin und Spectrin enthalten jeweils zwei Domänen, die Actin- Filamente binden können; das ist nicht verwunderlich, müssen sie doch jeweils die Querverbindung zwischen zwei Actin- Filamenten herstellen. Erstaunlich ist jedoch, dass die Actin- bindenden Domänen in allen genannten Proteinen eine ähnliche Struktur haben. Länge und Biegsamkeit der Zwischensequenzen, welche die beiden Actin- bindenden Stellen trennen, sind in den vier Proteinen unterschiedlich, und diese Unterschiede sorgen für die unterschiedlichen Eigenschaften der vier Querbrücken.

Gelsolin zerstückelt Actin- Filamente als Reaktion auf die Aktivierung durch Ca^{2+}

Gel- Bildung ist sowohl von Actin- Filamenten als auch von quervernetzenden Proteinen wie Filamin abhängig. Aber die Gele zeigen ein komplizierteres Verhalten als ein einfaches Gemisch aus Actin- Filamenten und Filamin. Steigt die Ca^{2+} -Konzentration z.B. über 10^{-7} M, so verflüssigt sich das halbfeste Gel, dieser Vorgang wird als Sol- Bildung bezeichnet.

Das am besten charakterisierte Protein, welches ein Gel aus gereinigten Actin- Filamenten und Filamin in Gegenwart von Ca^{2+} in einen flüssigeren Zustand überführt, ist Gelsolin. Gelsolin wird durch Ca^{2+} aktiviert und trennt dann ein Actin- Filament durch. Es bildet an dem dadurch freiwerdenden plus- Ende eine Kappe und bricht das quervernetzende Geflecht aus Actin- Filamenten auf. Ähnliche Abtrennungs- Proteine findet man in der Rinde vieler verschiedener Wirbeltierzellen. Vermutlich haben die Abtrennungs- Proteine unter anderen die Aufgaben, zu einer lokalen Lockerung oder Verflüssigung der Zellrinde beizutragen, damit Membranen verschmelzen können (Folien Helenius, Gelsolin breaks actin filaments and caps them).

In Eukaryontenzellen findet man mehrere Typen von Myosin

Alle bisher bekannten Motorproteine der Actin- Filamente gehören zur Familie der Myosine. Das Myosin in den Muskeln z.B. gehört zur Unterfamilie Myosin II, deren Mitglieder alle zwei Köpfchen und einen langen, stabförmigen Schwanz haben (Aufbau von Myosin II: siehe Buch Seite 989/990). In Nicht- Muskelzellen findet man zusätzlich zum Myosin- II, verschiedene kleinere Myosine, von denen das Myosin -I am besten charakterisiert ist.

Das gemeinsame Merkmal aller Myosine ist eine konstante Motor- Domäne (Motor- Kopf). Die anderen Domänen unterscheiden sich bei den einzelnen Myosinen und bestimmen die besondere Funktion des jeweiligen Proteins in der Zelle. Der Schwanz des Myosins kann eine Membran- bindende Domäne besitzen und/oder eine Stelle, die sich unabhängig von der Kopf- Domäne mit einem zweiten Actin- Filament verbindet. Je nach Eigenschaften des Schwanzes kann ein Myosin- Molekül ein Vesikel an einem Actin- Filament entlangtransportieren, ein Actin- Filament an die Plasmamembran heften oder dafür sorgen, dass zwei Actin- Filamente sich dicht nebeneinanderlagern und dann aneinander vorbeigleiten.

Alle bekannten Myosine hydrolysieren ATP und bewegen sich mit der dabei gewonnenen Energie vom minus- Ende zum plus- Ende an den Actin- Filamenten entlang (Folien Helenius, Myosin II, Myosin- family of protein, possible roles of myosin I and II in a typical cell, Myosin and kinesin motors have similarities, comparison kinesin and myosin cycle, the myosin- II thick filament).

In Nicht- Muskelzellen gibt es vorübergehend muskelähnliche Anordnungen

In höheren Eukaryontenzellen bilden sich häufig vorübergehend organisierte kontraktile Bündel aus Actin- und Myosin- II- Filamenten, die eine besondere Aufgabe erfüllen und sich dann wieder auflösen. Ein Beispiel dazu sind die Stressfasern, ein auffälliger Bestandteil des Cytoskeletts von Gewebekultur- Fibroblasten. Sie sind mit einem Ende in die Plasmamembran eingelagert, und zwar an besonderen Stellen, den Fokalkontakten, an denen die Zellaussenseite eng an

die extrazelluläre Matrix geheftet ist. Das andere Ende ragt in einen zweiten Fokalkontakt oder in ein Geflecht aus Intermediärfilamenten, das den Zellkern umgibt. Stressfasern bilden sich als Reaktion auf Zugkräfte, denen die Zellen ausgesetzt ist, und sie zerfallen in der Mitose, wenn die Zelle sich abrundet und den Kontakt zur Unterlage verliert. Weitere Beispiele für vorübergehend muskelähnliche Anordnungen sind der kontraktile Ring (ein gürtelartiges Bündel aus Actin- und Myosin- II- Filamenten, das bei Tierzellen die Zellteilung möglich macht), und der Adhäsionsgürtel (Abb. 16.72.16.73).

Fokalkontakte ermöglichen es den Actin- Filamenten, an der Unterlage zu ziehen

Die Verbindung zwischen den Actin- Filamenten im Inneren der Zelle und der extrazellulären Matrix auf ihrer Aussenseite wird durch Transmembran-Verbindungsproteine in der Plasmamembran hergestellt. Die wichtigsten Transmembran- Verbindungsproteine der Fokalkontakte gehören zur Familie der Integrine. Ihre äussere Domäne bindet an einen Bestandteil der extrazellulären Matrix, und der ins Cytoplasma ragende Teil ist an die Actin- Filamente in den Stressfasern gekoppelt. Es handelt sich um eine indirekte Verbindung, die von mehreren Anheftungsproteine hergestellt wird. Die cytoplasmatische Domäne des Integrins bindet an das Protein Talin, das sich seinerseits an Vinculin heftet, ein Protein, das man auch in anderen Actin- haltigen Zellverbindungen findet, z.B. in den Adhärenzverbindungen. Vinculin lagert sich mit alpha- Actinin zusammen und wird auf diese Weise an ein Actin- Filament gekoppelt.

Allgemeiner kann man diesen Vorgang folgendermassen zusammenfassen: Transmembranrezeptoren für Proteine der extrazellulären Matrix verbinden die Plasmamembran mit der Unterlage, und Actin- Filamente im Cytoplasma treten über Actin- bindende Proteine mit den cytoplasmatischen Domänen dieser Rezeptoren in Wechselwirkung.

Neben ihrer Verankerungsfunktion haben die Fokalkontakte auch die Aufgabe, Signale von der extrazellulären Matrix an das Cytoskelett weiterzuleiten. Mit Hilfe von Protein- Kinasen, als Reaktion auf die umgebende extrazelluläre Matrix wird Bewegung, Differenzierung etc. reguliert (Abb. 16.75, Folien Helenius, ERM proteins mediate signal induced interactions with the PM).

Mikrovilli machen deutlich, wie Bündel quervernetzter Actin- Filamente örtliche Ausstülpungen der Plasmamembran stabilisieren können

Den Kern des Mikrovillus bildet ein Bündel aus parallelen Actin- Filamenten, die von den Actin- Bündelungsproteinen Villin und Fimbrin zusammengehalten werden. Seitenarme aus Myosin- I und dem Ca^{2+} - bindenden Protein Calmodulin verbinden die Seiten des Actin- Filamentbündels mit der darüberliegenden Plasmamembran. Sämtliche plus- Enden der Actin- Filamente liegen an der Spitze des Mikrovillus. (siehe Abbildung im Buch S. 995)

Das Verhalten der Zellrinde hängt von einem Gleichgewicht zwischen kooperativen und kompetitiven

Wechselwirkungen zwischen vielen Actin- bindenden Proteinen ab

Wie die beschriebenen Beispiele zeigen, kann dasselbe Actin- Filament an verschiedenen Stellen der Zellrinde mit unterschiedlichen Actin- bindenden Proteinen in Wechselwirkung treten, und die Actin- bindenden Proteine können sich auf verschiedene Bereiche in der Zelle aufteilen. Was verhindert, dass die einzelnen Gruppen Actin- bindender Proteine sich im Cytoplasma vermischen? Höchstwahrscheinlich sind dafür sowohl kooperative als auch kompetitive Wechselwirkungen zwischen Proteinen von Bedeutung:

Tropomyosin und Filamin zum Beispiel binden eng an die Actin- Filamente, aber diese Bindung ist kompetitiv. Da Tropomyosin kooperativ an die Actin- Filamente bindet, sind grosse Abschnitte des Actin- Filamentgeflechts entweder mit Tropomyosin oder mit Filamin besetzt. Andere Actin- bindende Proteine wie alpha-Actinin oder Myosin- II werden durch kompetitive Wechselwirkungen von bestimmten Stellen ferngehalten. Deshalb bindet z.B. alpha- Actinin in vitro überall an gereinigten Actin- Filamente, aber in den Zellen finden solche Bindungen wegen der Konkurrenz durch andere Proteine nur in relativ geringem Umfang statt, und zwar im wesentlichen in der Nähe der plus- Enden. Andererseits kann sich die Bindung durch kooperative Wechselwirkungen auch verstärken. Tropomyosin scheint beispielsweise die Bindung von Myosin- II an die Actin- Filamente zu fördern (Abb. 16.78).

Die Wanderung von Tierzellen kann man in drei getrennte Actin- abhängige Einzelvorgänge zerlegen

Unter weitgefassten Kriterien kann man bei der Kriechbewegung von Tierzellen drei Einzelvorgänge unterscheiden: die Ausstülpung, bei der Lamellipodien und Mikrospikes (oder Filopodien) aus der Vorderseite der Zelle herausgestreckt werden, die Anheftung, d.h. die Verbindung zwischen Actin- haltiger Zellrinde und Unterlage, und den Zug, mit dem sich der Zellkörper vorwärtsbewegt.

Die Ausstülpung ist eine Funktion des Leitsaums. Actin- reiche Lamellipodien und Mikrospikes (oder Filopodien) strecken sich nach vorn über das Substrat. Die Anheftung der Actin- Filamente in der Zellrinde an die Unterlage wurde bereits im Zusammenhang mit den Fokalkontakten beschrieben. Beim Zug wird in vielen Fällen die Energie für die Fortbewegung vermutlich in der Nähe der Zellvorderseite erzeugt, und der Zellkern sowie die Hauptmenge des Cytoplasmas werden passiv hinterhergezogen. Der vordere Teil der Zelle zieht sich wahrscheinlich aktiv wie eine Muskelfaser zusammen und schleppt den hinteren Teil nach. Nach einer anderen Theorie schiebt sich die Actin- haltige Zellrinde durch die Polymerisation der Actin- Filamente vorwärts, so dass in der Zellrinde eine Spannung entsteht, und die Kontraktionskraft, die sich daraus ergibt, zieht dann die hinteren Teile der Zelle nach (sehr wichtig: Abb. 16.79, 16.80)

Der Fortbewegungsmechanismus der Zellen kann man genetisch analysieren

Wenn man den Mechanismus eines komplizierten Vorgangs in den Zellen analysieren will, gibt es besonders nützliche Methoden: man untersucht die Auswirkungen von Mutationen, die zum Fehlen, zur Ueberexpression oder zur Modifikation bestimmter Proteine führen.

Muskeln

Die Muskelzellen sind im Vergleich zu anderen, typischeren Tierzellen hochspezialisiert. Insbesondere die Actin- und Myosin- haltigen kontraktile Elemente der Muskelzellen, auch Myofibrillen genannt, sind nicht so labil wie die Actin- und Myosin- Strukturen nichtmuskulärer Zellen.

Myofibrillen bestehen aus Anordnungen sich wiederholender dicker und dünner Filamente

Die langen, dünnen Muskelfasern der Skelettmuskulatur sind riesige Einzelzellen, die sich in der Entwicklung durch Verschmelzung vieler getrennter Zellen bilden. Die Kerne der beteiligten Zellen bleiben in der grossen Zelle erhalten und liegen dort unmittelbar unter der Plasmamembran. Der Hauptteil des Cytoplasmas jedoch besteht aus Myofibrillen, den kontraktile Elementen der Muskelzellen. Sie sind zylinderförmige Gebilde, die oft ebenso lang werden wie der gesamte Muskel.

Jede Myofibrille besteht aus einer Kette winziger kontraktile Einheiten oder Sarkomere, die den Myofibrillen der Wirbeltiere ein quergestreiftes Aussehen verleihen. Das Sarkomer wird von der sogenannten Z- Linie vom nächsten Sarkomer getrennt. Jedes Sarkomer stellt eine kleine, genau geordnete Ansammlung paralleler, teilweise ineinandergreifender Filamente dar. Die dünnen Filamente aus Actin und assoziierten Proteinen sind an den beiden Enden des Sarkomers an den Z- Scheiben befestigt. Sie laufen bis zur Mitte des Sarkomers und überlappen sich dort mit den dicken Filamenten, Polymeren aus Muskel- spezifischen Isoformen von Myosin- II (Abb. 16.82, 16.83, 16.84).

Die Kontraktion entsteht, indem Myosin- und Actin-Filamente aneinander vorbeigleiten

Die Verkürzung der Sarkomere entsteht, weil die Myosin- Filamente an den Actin-Filamenten vorbeigleiten, ohne dass sich die Länge der Filamente selbst verändert (Gleitfasermode, Abb. 16.85, 16.86, 16.87, 16.88).

Ein Myosin- Köpfchen wandert zum plus- Ende eines Actin-Filaments

1. Zu Beginn des Bewegungszyklus ist ein Myosin- Köpfchen ohne gebundenes Nucleotid eng an ein Actin- Filament geheftet (Rigor- Konformation),
2. Ein ATP- Molekül bindet an die grosse Spalte auf der Rückseite des Köpfchens und verursacht sofort eine geringfügige Konformationsänderung der Domänen, welche die Actin- Bindungsstelle bilden. Das vermindert die Affinität des Köpfchens für Actin, so dass es sich an dem Filament entlangbewegen kann.
3. Die Spalte schliesst sich wie eine Muschelschale um das ATP- Molekül und löst dabei eine grosse Konformationsänderung aus, durch die sich das Köpfchen am Actin- Filament entlang um etwa 5 nm weiterbewegt. Das ATP wird hydrolysiert, aber ADP und P_i bleiben fest an das Protein gebunden.
4. Die schwache Bindung des Myosin- Köpfchens an eine neue Stelle des Actin-Filaments führt zur Freisetzung des bei der ATP- Hydrolyse entstandenen anorganischen Phosphats. Dieser Vorgang löst den Kraftschlag aus, die kraftzeugende Konformationsänderung, durch die das Köpfchen seine ursprüngliche Konformation wieder annimmt. Während des Kraftschlags

verliert das Köpfchen das gebundene ADP, und damit beginnt ein neuer Zyklus

5. Am Ende des Zyklus ist das Myosin- Köpfchen wieder in der Rigor-Konformation eng an das Actin- Filament gebunden. Wichtig ist dabei, dass das Köpfchen sich jetzt an einer neuen Stelle des Actin- Filaments befindet.

Jedes einzelne Myosin- Köpfchen wandert also in einer Richtung am Actin- Filament entlang, und zwar immer in Richtung des plus- Endes (Abb. 16.91, Folien Helenius, the conformational change induced by ATP binding and hydrolysis).

Die Muskelkontraktion wird durch einen plötzlichen Anstieg der Ca^{2+} - Konzentration im Cytosol ausgelöst

Die gerade beschriebene krafterzeugende Wechselwirkung findet nur dann statt, wenn ein Signal von dem zugehörigen motorischen Nerv zum Skelettmuskel gelangt. Der Nervenimpuls löst an der Plasmamembran der Muskelzelle ein Aktionspotential aus, und diese elektrische Erregung breitet sich rasch in eine Reihe von Membranfalten aus. Diese Transversal- oder T- Tubuli erstrecken sich von der Plasmamembran nach innen um jede Myofibrille. Von dort wird das Signal über einen kleinen Spalt auf das sarkoplasmatische Retikulum (SR) übertragen. In dem Verbindungsbereich erstrecken sich grosse Ca^{2+} - Freigabekanäle wie Pfeiler von der Membran des SR bis zur Membran des T- Tubulus auf der anderen Seite, mit der sie in Kontakt treten. Wenn spannungsempfindliche Proteine in der Membran des T- Tubulus durch das ankommende Aktionspotential aktiviert werden, sorgen sie für das Öffnen einiger Ca^{2+} - Freigabekanäle. Jetzt gelangen Ca^{2+} - Ionen aus dem SR in den Spalt der Verbindung. Dort sorgen sie dafür, dass sich weitere Ca^{2+} - Kanäle öffnen, so dass sich die Reaktion verstärkt. Die Ca^{2+} - Ionen, die ins Cytosol strömen, setzen dann die Kontraktion der einzelnen Myofibrillen in Gang. Der Anstieg der Ca^{2+} - Konzentration im Cytosol ist nur vorübergehend, denn das Ca^{2+} wird schnell wieder ins SR zurückgepumpt, und zwar durch eine ATPase, die in seiner Membran in grosser Menge vorhanden ist (Abb. 16.92).

Troponin und Tropomyosin vermitteln die Ca^{2+} - Regulation der Skelettmuskel- Kontraktion

Tropomyosin ist ein stäbchenförmiges Molekül. Troponin ist ein Komplex aus drei Polypeptiden mit den Bezeichnungen Troponin T, I und C (für Tropomyosin- bindend, inhibierend und Calcium- bindend, siehe Buch Seite 1007).

In einem ruhenden Muskel, so vermutet man, schiebt die Bindung von Troponin I an Actin die Tropomyosin- Moleküle an den Actin- Filamenten in eine Position, die in einem aktiv kontrahierenden Muskel von den Myosin- Köpfchen besetzt ist. Auf diese Weise wird die Wechselwirkung zwischen Actin und Myosin gehemmt. Bei steigender Ca^{2+} - Konzentration sorgt das Troponin C dafür, dass das Troponin I sich vom Actin löst. Dabei verändern die Tropomyosin- Moleküle ihre Position geringfügig, und zwar so, dass die Myosin- Köpfchen an das Actin- Filament binden können (Abb. 16.93).

Andere Zubehör- Proteine halten die Architektur der Myofibrille aufrecht und verleihen ihr Elastizität

Skelettmuskeln enthalten zwei besonders grosse Proteine namens Titin und Nebulin, die mit den Actin- und Myosin- Filamenten ein Fasergeflecht bilden. Die seilartigen Titin- Moleküle erstrecken sich von den dicken Filamenten zur Z- Scheibe und wirken

vermutlich wie Federn, welche die dicken Myosin- Filamente in der Mitte des Sarkomers festhalten. Nebulin dagegen ist eng mit den dünnen Actin- Filamenten assoziiert. Es erstreckt sich von einem Ende des Actin- Filaments zum anderen. Nebulin dürfte also als molekulares Massband dienen, das den Zusammenbau des Actins und die Länge der Actin- Filamente in der Muskelentwicklung steuert.

Die nebeneinanderliegenden Myofibrillen sind durch ein System aus Desmin-Intermediärfilamenten gekoppelt, und die ganze Anordnung ist über verschiedene Proteine an der Plasmamembran der Muskelzelle verankert. Eines dieser Proteine ist das Dystrophin (vgl. Muskelschwund), (Abb. 16.95).

Den gleichen kontraktilen Apparat findet man in abgewandelter Form auch im Herzen und in glatter Muskulatur

Bisher wurde nur einer der drei Muskeltypen beschrieben, die bei Wirbeltieren vorkommen, nämlich die Skelettmuskulatur. Die beiden anderen sind der Herzmuskel und die glatte Muskulatur (Darm und andere innere Organe). Alle drei Arten ziehen sich durch einen Gleitfaser- Mechanismus aus Actin- und Myosin- II- Filamenten zusammen.

Der Herzmuskel ist wie die Skelettmuskulatur quergestreift. Auch die Kontraktion wird durch einen ähnlichen Mechanismus ausgelöst. Herzmuskelzellen sind aber keine Syncytien, sondern Einzelzellen mit jeweils einem einzigen Zellkern. Sie sind an den Enden durch die sogenannten Intercalationsscheiben verbunden (siehe Abb. 16.96)

Die „primitivste“ Muskulatur besitzt keine Querstreifen und wird deshalb auch glatte Muskulatur genannt. Sie bildet den kontraktilen Teil von Magen, Darm, Uterus- und Arterienwänden. Die glatte Muskulatur besteht aus Schichten stark verlängerter, spindelförmiger Zellen, die jeweils einen einzigen Zellkern besitzen. Die Zellen enthalten Actin- und Myosin- II- Filamente, die aber kein so geordnetes Muster bilden. Die Filamente bauen vielmehr einen lockerer angeordneten kontraktilen Apparat auf. Die glatte Muskulatur hat den Vorteil, dass sie sich viel stärker zusammenziehen kann, und somit eine stärkere Verkürzung ermöglicht (Abb. 16.97).

Die Aktivierung des Myosins ist in vielen Zellen von der Phosphorylierung der leichten Myosin- Ketten abhängig

Die Kontraktion der glatten Muskelzellen wird durch einen Anstieg der Ca^{2+} -Konzentration im Cytosol ausgelöst. Sie verläuft aber vorwiegend über die Phosphorylierung der leichten Ketten im Myosin- II, die ihrerseits die Wechselwirkung von Myosin mit Actin beeinflussen.

Die beiden leichten Ketten in jedem Köpfchen des Myosin- II- Moleküls sind unterschiedlich. In glatten Muskelzellen und Nicht- Muskelzellen ist eine von ihnen während der Kontraktion phosphoryliert. Wenn diese leichte Kette phosphoryliert wird, kann das Myosin mit einem Actin –Filament in Wechselwirkung treten und so für die Kontraktion sorgen. Wird sie dagegen dephosphoryliert, dissoziiert das Myosin-Köpfchen leicht vom Actin, und dann wird es inaktiv. In glatter Muskulatur und Nicht-Muskelzellen wird die Phosphorylierung von der Myosin- Leichtketten- Kinase katalysiert, einem Enzym, dessen Tätigkeit die Bindung eines Komplexes aus Ca^{2+} und Calmodulin erfordert. Deshalb wird die Kontraktion wie in der Herz- und Skelettmuskulatur durch die Ca^{2+} - Konzentration im Cytosol reguliert (Abb. 16.98)

The cell-division cycle

Die Zellteilung wird von einem **Zellzyklus-Kontrollsystem** koordiniert. Die Dauer des Zellzyklus variiert von einem Zelltyp zum anderen.

The general strategy of the cell cycle

Während der **Mitose** zerfällt die Kernhülle und der Kerninhalt kondensiert zu sichtbaren Chromosomen. Die Mikrotubuli formen die Spindel. Während der Metaphase reihen sich die bereits duplizierten Chromosomen in der Spindel auf. Zu Beginn der Anaphase wandern die getrennten Chromosomen zu den Polen, wo sie decondensieren und einen neuen Kern bilden. Danach wird die Zelle während der **Cytokinese (M-Phase)** geteilt. Während der Interphase bereitet sich die Zelle auf die nächste Teilung vor (DNA-Replikation...). ⇒Figure 17-2

Die DNA-Replikation findet normalerweise nur während eines Teils der **Interphase** statt, der **S-Phase**. Der Zeitraum zwischen dem Ende der Mitose und dem Beginn der DNA Synthese ist die **G₁-Phase**. Der Zeitraum zwischen dem Ende der Synthese und dem Beginn der Mitose heisst **G₂-Phase**. In der G₁-Phase überwacht die Zelle ihre Umgebung und ihre eigene Grösse und gibt das Signal um die DNA-Replikation zu starten. Die G₂-Phase ist eine Sicherheits-pause, die es der Zelle erlaubt zu überprüfen, ob die Replikation komplett ist bevor die Mitose beginnt. In der G₁-Phase kann die Zelle auch in einen Ruhezustand übergehen (wenn die DNA noch nicht repliziert ist), die G₀-Phase.

⇒Figure 17-3 & 17-4

Um zu erkennen, ob eine Zelle sich in der S-Phase befindet, kann man markierte Thymidinmoleküle einer Zellpopulation zugeben. Thymidin wird nur zur DNA-Synthese gebraucht. Anhand der Anzahl markierter Zellen kann man die ungefähre Dauer der S-Phase abschätzen.

Einige Schlüsselproteine werden nur zu gewissen Zeiten der Zyklus produziert, dann aber in grossen Mengen. So zum Beispiel Histone, die für die Formation von neuem Chromatin gebraucht werden (S-Phase). Gleiches gilt für gewisse Enzyme. Diese Prozesse werden von einer Serie von schnellen Übergängen im Zellzyklus-Kontrollsystem verursacht.

Der Zellzyklus wird an kritischen Punkten durch Feedback vom Prozess selbst reguliert.

Das **Zellzyklus-Kontrollsystem** ist eine zyklisch operierende biochemische Vorrichtung, die aus einem Set von interagierenden Proteinen besteht, die die essentiellen „downstream-Prozesse“ die die Zellinhalte duplizieren und teilen, koordinieren und initiieren. Im Standard-Zellzyklus wird das Kontrollsystem von Bremsen reguliert, die den Zyklus an spezifischen „Checkpoints“ anhalten können. Dort können Feedback-Signale, die Informationen über „downstream-Prozesse“ enthalten den Fortschritt des Kontrollsystems selbst verzögern, um zu verhindern, dass der nächste „downstream-Prozess“ ausgelöst wird, bevor der vorherige fertig ist. Die Bremsen erlauben aber auch, dass das Kontrollsystem von Signalen aus der Umgebung reguliert wird. Checkpoints gibt es einen in G₁ (gerade vor dem Eintritt in die S-Phase) und den anderen in G₀ (vor dem Eintritt in die Mitose). In höheren Eukaryoten arbeiten Signale, die den Zyklus anhalten normalerweise am G₁-Kontrollpunkt.

⇒Figure 17-9

Das Kontrollsystem basiert auf zwei Protein-Schlüsselfamilien. **Cdk** (Cyclin-dependent protein kinases) induzieren downstream-Prozesse durch Phosphorylierung bestimmter Serine und Threonine. **Cycline** sind Aktivierungsproteine, die an Cdk binden und ihre Phosphorylierungs-fähigkeit kontrollieren. Es gibt zwei Klassen von Cyclinen: **mitotische Cycline**, die während G₂ an Cdk binden (bilden den „M-Phase-promoting-factor“ (MPF)) und für den Eintritt in die Mitose nötig sind und **G₁-Cycline**, die während G₁ an Cdk binden und für den Eintritt in die S-Phase nötig sind. MPF ist inaktiv, bis er durch andere Enzyme aktiviert wird. Durch einen positiven feedback-Mechanismus aktivieren sich MPF explosionsartig. Durch den Abbau von mitotischem Cyclin wird MPF ebenso schnell deaktiviert, was der Zelle ermöglicht die Mitose zu verlassen.

⇒Figure 17-11

Der frühe embryonale Zellzyklus und die Rolle von MPF (M-phase-promoting factor) s. 870

Der Standardzyklus der Zellteilung erfordert Zeit, um sowohl die gesamte DNS, als auch alle Komponenten des Zytoplasmas zu verdoppeln. Dies erfordert ein Kontrollsystem, welches die einzelnen Schritte steuert.

In den frühen Embryonalstadien der meisten Tiere finden Zellzyklen statt, welche nicht dem Standardzyklus entsprechen. Stattdessen teilen sich die Zellen mit hoher Geschwindigkeit ohne zu wachsen und die meisten Kontrollen werden ausgelassen. Die Zellzyklen bestehen nur aus S-Phase (DNS-Synthese) und M-Phase (Mitose).

Das Wachstum des *Xenopus* Oocyten wird gesteuert durch die Teilung des Eis. s.871

Das Ei von *Xenopus* ist eine riesige sphärische Zelle, welche eine über 100'000fache Menge an Zytoplasma als eine durchschnittliche Zelle besitzt. Sobald die Eizelle befruchtet wird, beginnt eine Serie rascher Zellteilungen, ohne Wachstum. Dabei werden praktisch nur DNS und eine kleine Menge an Proteinen synthetisiert. Die ersten 12 Spaltungen laufen in etwa synchron ab, jeweils 15 min M Phase und 15 min Interphase, welche hauptsächlich durch DNS Synthese bestimmt ist. Es gibt keine erkennbaren G Phasen.

MPF: Ein zytoplasmatischer Regulator, welcher den Eintritt in die Mitose steuert. s.872

Durch zwei frühe Experimente wurde ein zytoplasmatisches System, welches in teilenden Zellen die Mitosephase einleitet, entdeckt:

1. Unreife *Xenopus*-Oocyten, welche in der G2-Phase ruhen, treten in die M-Phase über, falls ihnen Cytoplasma einer M-Phasen-Zelle injiziert werden.
2. Säugetierzellen in M-Phase werden mit einer zweiten Zelle verschmolzen. Dabei spielt es keine Rolle ob die zweite Zelle in G1, S oder G2 Phase war. Es wird stets eine Kondensation der Chromosomen beobachtet – die Zelle beginnt mit dem Mitoseprogramm.

In beiden Fällen wurde der Vorgang von MPF gesteuert.

Oszillierung von MPF-Aktivität kontrolliert den Zellteilungszyklus. s.873

MPF ist eine Proteinkinase, welche Proteine an Ser und Thr phosphoryliert und aus zwei Untereinheiten besteht:

1. Eine Cyclin-abhängige-Kinase (CdK) welche Cdc2 genannt wird und
2. einem mitotischen Cyclin.

Mit dem Oocytestest konnte gezeigt werden, dass in allen Zellen während der Interphase die MPF-Aktivität gering und während der M-Phase hoch war. Seesterneier, denen man den Zellkern entfernt hatte, zeigten immer noch Zellteilung. MPF wird also von einem oszillierendem System gesteuert, welches unabhängig von DNS ist. (Dies stimmt beim Standardzellzyklus nicht ganz, weil dort Kontrollmechanismen die DNS-Aufspaltung überprüfen und den Teilungsprozess gegebenenfalls unterbrechen können.)

Anreicherung und Abbau von Cyclin steuern die Aktivierung und Deaktivierung von MPF. s.874

Zwar funktioniert der Zellteilungszyklus ohne DNS aber nicht ohne mRNS und Proteinsynthese. Denn die Cycline werden während des Zellzyklus periodisch synthetisiert und wieder abgebaut. [Zeichnung 17-19, Seite 875] Die Aktivierung von MPF hängt also von der Cyclinkonzentration ab aber auch noch von anderen Molekülen, welche Kontrollfunktionen besitzen.

Das Absinken der Cyclinkonzentration löst den Austritt aus der Mitose aus. s.876

Während des Metaphase-Anaphase-Übergangs wird das Cyclin rasch durch Proteolyse zerstört, und die Zelle kann die Mitosephase abschliessen. Genetisch verändertes Cyclin, welchem die Angriffstelle für die Proteolyse fehlt, wird nicht abgebaut und die Zelle bleibt in der Mitosephase stecken. Cyclin ist ein essentieller Bestandteil von MPF und kommt in allen Eukariotenzellen vor. Das mitotische Cyclin wird *Cyclin B* genannt. Im Standardzellzyklus spielen auch noch andere Cycline eine wichtige Rolle. z.B. das *G₁ Cyclin*, welches die Zelle aus der G1-Phase in die S-Phase führt.

MPF kann autokatalytisch die eigene Aktivierung anregen. s. 876

Eine weitere Eigenschaft von aktiviertem MPF ist sein plötzliches Auftreten und wieder Verschwinden – ein alles-oder-nichts Verhalten. Erklärt wird dies dadurch, dass aktiviertes MPF in einer Art Kettenreaktion weiteres MPF aktiviert.

Aktives MPF induziert die Ereigniskette der Mitose. s.876

MPF steuert all die verschiedenen Ereignisse, welche während der Mitose nötig sind, durch seine Proteinkinase Aktivität. Einige Prozesse werden durch direkte Phosphorylierung der Schlüsselproteine eingeleitet, andere durch indirekte Aktivierung, z.B. über eine Signalkette. Zellamina und Histon H1 werden z.B. direkt von MPF phosphoryliert.

Damit die Zelle wieder aus der M-Phase austreten kann, muss nebst der Zerstörung von MPF auch die Phosphorylierung rückgängig gemacht werden. Diese Rolle übernimmt (zumindest in Fliegen und Hefen) das Protein Phosphatase 1.

Während der Interphase erlaubt das Zellzyklus-Kontrollsystem die Zeit für eine einzige DNS-Replikation. s.877

Das Kontrollsystem muss so ausgelegt sein, dass den einzelnen Schritten die nötige Zeit zur Verfügung stehen. Speziell die DNS-Replikation ist Zeitempfindlich. Würde die Zelle vor Vollendung der DNS-Replikation in die M-Phase übergehen, würde sie sterben. Im Standardzellzyklus gibt es Kontrollen, welche einen verfrühten Eintritt in die M-Phase verhindern. Bei den frühen Zellteilungen des Frosches fehlt ein solches Kontrollsystem, und die Prozesse sind Zeitgesteuert. Dies ist möglich, da im Froschei ein konstantes Nahrungsangebot vorhanden ist.

Wird im Froschembryo die DNS-Synthese unterbrochen, teilen sich die Zellen trotzdem weiter. Das Verhältnis zwischen Cytoplasma und DNS ist anfangs noch so gering, dass das Kontrollsystem gar nicht funktionieren kann. Erst nach 12 Zellteilungen und damit einer Erhöhung des Verhältnisses um den Faktor 4000 beginnen die Kontrollmechanismen zu wirken.

Ein „Re-replication Block“ verhindert, dass ein DNS-Segment während des Zellzyklus mehr als einmal repliziert wird. s.878

Sobald ein Chromatinsegment repliziert wurde, wird es so verändert, dass es vor weiterer Replikation geschützt wird. Wie dieser Prozess genau funktioniert ist noch unklar, aber geklärt ist, dass nicht das Zellzyklus-Kontrollsystem sondern die DNS selbst diese limitierende Funktion besitzt.

Das Durchschreiten der Mitose entfernt den „Re-replication Block“. s.878

Der genaue Zeitpunkt und Mechanismus zur Entfernung dieser Replikationssperre sind noch unbekannt – fest steht aber, dass zumindest in den frühen Zellen des Frosches die Auflösung der Zellkern-Hülle zur Entfernung nötig ist.

Auch bei diesem Effekt gibt es ausnahmen: In Fliegeneier finden viele DNS-Replikationen statt, so dass grosse polytene Chromosomen entstehen, ohne dass Zellteilung stattfindet. Hier wird die Sperre also ohne die Zerstörung der Zellkern-Membran.

Hefe und die molekulare Genetik des Zellzyklus-Kontrollsystems. s. 880

Hefe ist ein einzelliger Pilz, welcher sich hervorragend für genetische Studien eignet. Hefe teilt sich beinahe so rasch wie Bakterien und besitzen eine Genomlänge, welche 100 mal kleiner ist als die von Wirbeltieren.

Anhand von Budding Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) und Fission Yeast (*Schizosaccharomyces pombe*) soll die Zellteilungsgenetik gezeigt werden. Beide Hefen bilden sowohl haploide als auch diploide Zellen aus und unterliegen Umwelteinflüssen und Zell-Zell-Sensitivität. Lebenszyklen der Hefen → Bild 17-22, s. 880

Zellwachstum erfordert eine verlängerte Interphase mit Zellzyklen-Checkpoints. s.881

Der Zellzyklus von Hefen ist komplizierter als derjenige früher Froschembryonen, weil die Hefe zuerst wachsen muss, bevor sie eine Zellteilung durchführen kann. Dazu besitzt die Hefe die G₁- und

die G₂-Phasen. Sowohl in G₁ als auch in G₂ wirken Kontrollstellen, welche den Zellzyklus anhalten, bis sie genügend gewachsen ist. Je nach Hefe ist einer der beiden Kontrollstellen dominanter. In Budding Yeast ist dies die G₁-Stelle (auch Start genannt) und die Zellen die G₁ durchqueren, sind auch genug gross um den G₂-Checkpoint zu durchqueren. Der G₁-Checkpoint ist auch bei Wirbeltieren der entscheidende – Auch die Umgebung muss für das Durchschreiten stimmen. Fission Yeast dagegen besitzt im G₂-Checkpoint (auch mitotic entry genannt) den dominanten Checkpoint.

Fission Yeast und Budding Yeast verändern während des Zellzyklus ihre Form. s.881

Hefen bilden ein gutes Verständnis vom Zellzyklus - unterscheiden sich aber von Pflanzen- und Tierzellzyklen. Z.B. bleibt die Hülle des Zellkerns während der Teilung intakt. Die Spindel bildet sich innerhalb des Zellkerns und der Kern teilt sich erst nach erfolgter Trennung der Chromosomen. Auch die beiden Hefen unterscheiden sich. Fission Yeast gleicht eher Würsten, und wächst indem sie die Enden Verlängert. Am Ende der Mitose teilt sie sich durch Trennung in der Mitte. Budding Yeast formt hingegen eine Knospe (durch Start Initiiert), welche wächst und sich nach der Mitose von der Mutterzelle trennt. → Bild 17-24, s. 882

cdc-Mutationen stoppen den Zyklus an spezifischen Stellen, während wee Mutationen einen Grössen-Checkpoint überspringen. s.882

cdc-Mutationen können nur dann untersucht werden, falls der Effekt konditioniert ist, d.h. falls der Effekt nur unter gewissen Umständen auftritt. Meistens sind diese Mutationen temperaturabhängig, so dass die Mutation erst bei höheren Temperaturen wirksam wird. →Bild 17-25, s. 883

Die Untereinheiten Der Hefe-MPF sind homolog zu denen von MPF bei Tieren. s.883

Sowohl bei Fission Yeast wie auch bei Xenopus ist der mitotic entry-Checkpoint die wichtigste Grössenkontrolle.

Das Fission Yeast-Homolog zur Cdk Untereinheit von MPF wird durch das **cdc2** Gen codiert.

Genetische Untersuchungen haben noch drei weitere Gene gefunden, welche die Aktivierung von MPF steuern: **wee1**, **cdc25** und **cdc13**. →Bild 17-26, s. 883

Untersuchungen haben gezeigt, dass das Cdc13-Protein homolog zum mitotischen Cyclin (cyclin B) von Tieren ist.

MPF-Aktivität wird durch Phosphorylierung/Dephosphorylierung reguliert. s.884

Wie bereits erwähnt verbindet sich während der Interphase Cyclin mit Cdc2 und bildet so die inaktive Form von MPF. Inaktives MPF wiederum ist das Substrat für zwei weitere Proteinkinasen: Wee1 und MO15.

Zuerst wird MPF von Wee1 phosphoryliert, um eine vorzeitige Aktivierung des MPF zu verhindern.

Danach phosphoryliert MO15 das MPF an einer zweiten Stelle, worauf das MPF sozusagen scharf gemacht wird. Erst durch die Entfernung des ersten Phosphors wird das MPF schliesslich aktiv. In

Fission Yeast wird die Entfernung durch das Phosphataseprotein Cdc25 katalysiert. →Bild 17-27, s.884

Das Verhältnis von Wee1-Aktivität und Cdc25-Aktivität ist Anfangs so ausgelegt, dass nur wenig aktiviertes MPF entsteht. Aber es wird vermutet, dass dieses wenige, aktive MPF weitere MPF-Aktivierung anregt, entweder durch Stimulation von Cdc25, Unterdrückung von Wee1 oder beidem.

Somit wird ein positiver Feedback ausgelöst, welcher ein rapider Anstieg des aktivierten MPF ermöglicht, und die Zelle unweigerlich in die M-Phase treibt.

Der MPF-Aktivierungsmechanismus kontrolliert die Grösse von Fission Yeast. s.885

Der oben beschriebene Mechanismus scheint in allen Eukariotenzellen der gleiche zu sein, obwohl es Unterschiede gibt: Während in einigen Zellen die Aktivierung von MPF mit dem Anstieg der Cyclinkonzentration stattfindet, geschieht in anderen Zellen die Aktivierung trotz hoher Cyclinkonzentration erst bei der Erhöhung der Cdc25-Aktivität.

Der genaue Mechanismus in Fission Yeast ist zwar ebenfalls noch unbekannt, doch scheint das Verhältnis zwischen Wee1-Inaktivierung und Cdc25-Aktivierung im Zusammenhang mit der Zellgrösse zu stehen.

Ebenfalls zu beobachten ist die Tendenz, dass die Zellgrösse in etwa proportional mit der Ploidität des Erbgutes zusammenhängt. So sind diploide Zellen etwa 2 mal so grösser als monoploide aber um ein Drittel kleiner als triploide Zellen usw.

Für die meisten Zellen ist der wichtigste Zellzyklus-Kontrollpunkt in G₁ bei *start*. s.885

Für Budding Yeast und für die meisten Zellzyklen von Eukaryotenzellen ist nicht der G₂- sondern der G₁- Checkpoint (genannt *Start*) die wichtigste Pause im Zellzyklus. D.h. sobald die Zelle *Start* passiert, durchschreitet sie nach der S-Phase auch G₂ und die Zelle vollendet den Zellzyklus, auch wenn sich die Umweltbedingungen ändern.

Auch das Durchschreiten von *Start* wird wie beim G₂ durch Cyclin abhängige Proteinkinase ermöglicht.

Cdc2 assoziiert mit G₁-Cyclin, um die Zelle durch *Start* zu führen. s.885

Während der G₁-Phase spielen verschiedene Faktoren für das Verhalten der Zelle eine wichtige Rolle und die Zellen haben verschiedene Möglichkeiten zu agieren.

Budding Yeast:

- Zelle zu klein → warten um zu wachsen
- Zelle hungert → warten bis Umweltbedingungen besser werden
- Zelle bereit zur Paarung → ein Peptid-Paarungsfaktor wird ausgeschieden
- Zelle bereit zur Teilung → sie durchschreitet *Start* → Bild 17-28, s.886

Die beteiligten cdc-Gene wurden wiederum mit Hilfe von Mutanten entdeckt.

CDC28-Gen in Budding Yeast ist homolog zum cdc2-Gen in Fission Yeast. Deshalb wird im Alberts kein Unterschied zwischen den Spezies gemacht und das Gen allgemein auch weiterhin cdc2 genannt. In G₁ assoziiert das Cdc2-Protein mit G₁-Cyclin um dadurch die *Startkinase* zu bilden.

Startkinase und MPF phosphorylieren unterschiedliche Zielproteine (oder die gleichen aber an unterschiedlichen Stellen.) Die Cdc2-Spezifität ist also vom assoziierten Cyclin abhängig. → Bild 17-29, s. 886

Es wurden weiterhin drei Genprodukte entdeckt, die entfernt dem Cyclin B ähneln. Sie wurden deshalb *G1 Cycline* genannt. Erstaunlicherweise hat die Deletion von einem oder zwei dieser Proteine kaum eine Auswirkung auf den Zellzyklus, erst durch Entfernung aller drei kann die Zelle *Start* nicht mehr passieren und bleibt in G₁.

Auch Startkinase unterliegt einem positiven Feedback: Falls Cdc2 mit einem Cyclin assoziiert, wird vermutet, dass die Transkription der anderen beiden Cycline angeregt wird.

Die G₁-Cycline vermitteln unter vielen Kontrollen, welche bei *Start* wirken. s.887

Es scheint, dass in Budding Yeast das Zellzyklus-Kontrollsystem bei *Start* hauptsächlich durch Bremsen und Beschleunigung der G₁-Cyclinproduktion gesteuert wird.

Wahrscheinlich wirken auch bei *Start* ähnliche Grössenkontroll-Mechanismen wie bei G₂. Besser Verstanden wird der Mechanismus bei Nahrungsknappheit: Nahrungsknappheit senkt die Produktion der Cycline gegenüber deren Abbau und die Konzentration nimmt ab. Auch Paarungs-Pheromone senken die Konzentration von G₁-Cyclin aber in diesem Fall sorgen sie dafür, dass die Cycline inaktiv bleiben.

Startkinase steuert die Produktion von Komponenten zur DNS-Replikation. s.887

Die Startkinase muss direkt oder indirekt die Chromosomenreplikation steuern und dabei viele Proteine/Enzyme aktivieren. Einige dieser Proteine werden zyklisch transkribiert und es ist wahrscheinlich, dass Startkinase die Transkription aktiviert. Die meisten Proteine aber bleiben während des ganzen Zellzyklus erhalten: Es ist noch nicht geklärt, ob Startkinase den Replikationsapparat Phosphoryliert und somit nur aktiviert, oder ob sie die Produktion von fehlenden Proteinen des Replikationsapparates produziert.

Bei frühen Embryozyklen ist die Sache viel einfacher, weil dort der Replikationsapparat inklusiv Startkinase während des ganzen Zyklus vollständig vorhanden ist und nur durch den „Re-replication Block“ gesteuert (unterdrückt) wird.

Feedback Kontrollen garantieren, dass ein Zellzyklenprozess fertig ist, bevor der nächste gestartet wird. s.888

Um zu verhindern, dass das Zellzyklus-Kontrollsystem weitergeht, bevor der letzte Prozess abgeschlossen wurde, gibt es Kontrollstellen, welche das Kontrollsystem an gewissen Stellen anhalten können, bis der Prozess abgeschlossen ist.

Die Feedbackkontrolle, welche die Mitose verhindert, solange die DNS-Replikation noch nicht abgeschlossen ist, wird momentan am besten verstanden. In Wirbeltierzellen kann die DNS-Replikation durch Inhibitoren wie Aphidicolin oder Hydroxyurea verhindert werden. Somit stoppt der Zellzyklus in der S-Phase, und die Zelle teilt sich erst, wenn der Inhibitor entfernt und die DNS-Replikation abgeschlossen ist. Bekommt eine solche Zelle jedoch Koffein, tritt sie in die M-Phase über und teilt sich mit unvollständiger DNS. Ohne Inhibitor schadet Koffein nicht, weil die Zelle immer noch dem Zeitschema folgt und somit genug Zeit für die DNS-Replikation bleibt. → Bild 17-31, s. 888 Die Feedbackkontrolle ist also eine Art Sicherheitsmechanismus, welche unter normalen Bedingungen nicht eingreifen muss, da genügend Zeit zur Replikation vorhanden ist.

Schadhafte DNS erzeugt ein Signal um die Mitose zu unterbrechen.

s.889

Noch zahlreiche andere Feedbackkontrollen kontrollieren den Zellzyklus.

Chromosomen, welche nicht an der Spindel angeschlossen sind, produzieren ein Signal, welches die Deaktivierung von MPF verhindert (Kapitel 18).

Beim mitotic-entry-Checkpoint wirkt ein weiterer Mechanismus, welcher Zellen mit defekter DNS hindern, in die M-Phase überzugehen, bis die DNS repariert ist. *rad9*-Mutanten der Budding Yeast z.B. besitzen zwar die Fähigkeit zur DNS-Reparatur, aber sie stoppen nicht in G₂ um die beschädigte DNS reparieren zu können. → (einige Gene in Hefe zur Kontrolle des Zellzyklus) Tabelle 17-1, s.890

In Wirbeltierzellen kommt ein weiterer Sicherheitsmechanismus zum Zuge, um die Zellen mit schadhafter DNS am Eintritt in die M-Phase zu hindern. Ein Protein namens p53 reichert sich bei Zellen mit Genschäden an und stoppt das Zellzyklen-Kontrollsystem in G₁. Defekte in diesem Protein sind häufig Ursachen von Krebs.

Feedback-Kontrollen beruhen meist auf Inhibitory Signals.

s.889

Z.B. bei DNS-Replikation, Spindelkontakt der Chromosomen.

→ Bild 17-32, s.890

Falls auch nur ein einziges Chromosom nicht an der Spindel hängt und ein negatives Signal aussendet, kann dies gut erkannt werden. Ob nun aber 63 oder 64 Chromosomen positive Signale senden, wäre äusserst schwierig zu unterscheiden.

Cell-division controls in multicellular animals

Wachstumsfaktoren binden an Rezeptoren in der Plasmamembran und stimulieren die Zellproliferation. Diese positiven Signale wirken indem sie die intrazellulären negativen Signale, die sonst die Wachstum verhindern und den Fortschritt des Zellzyklus-Kontrollsystems verhindern, überschreiben.

Cyclin-abhängige Kinasen wie Cdc2 und Cdk2 werden durch Cycline aktiviert. Säuger haben verschiedene Cycline (A,B,C,D,E und F). Das Einleiten der Mitose beruht auf einem Komplex aus Cdc2 und Cyclin B. Cdk2 und Cyclin E induzieren wahrscheinlich den Übergang hinter den G₁-Checkpoint. Cyclin A und Cdk2 sind wohl nötig um die DNA-Replikation zu starten. Die Konzentrationen der meisten Cycline steigen und fallen während des Zellzyklus. Die Konzentrationen der Kinasen bleiben aber meist konstant. ⇒ Figure 17-33

Die essentiellen Komponenten welche vom Blutserum an die Zellen geliefert werden, sind die **Wachstumsfaktoren**. PDGF (platelet-derived growth factor) stimuliert die Zellteilung während der Wundheilung. Man kennt etwa 50 Wachstumsfaktoren, die alle einen spezifischen Rezeptor haben. Auch Steroidhormone können als Wachstumsfaktoren wirken (intrazelluläre Rezeptorproteine). PDGF wirkt bei mehreren Zielzellen wie Fibroblasten, glatte Muskelzellen und neurologische Zellen, während EGF (epidermal growth factor) nicht nur bei Epidermiszellen, sondern auch noch bei anderen Zellen (es müssen nicht Epithelzellen sein) wirkt. Das andere Extrem sind spezifische Faktoren wie Erythropoietin, das die Proliferation nur bei Vorgängern von roten Blutkörpern induziert. Bei gesunden Tieren hängt die Zellproliferation von einer Kombination von Wachstumsfaktoren ab. Obwohl einige Wachstumsfaktoren im Kreislauf sind, kommen die meisten von Zellen in der

Nachbarschaft der betroffenen Zelle und wirken als lokale Mittler. Andere Faktoren wie die TGF- β Familie (transforming growth factor) stimulieren einige Zellen zu proliferieren, andere hindern sie daran. Die meisten Wachstumsfaktoren kontrollieren die Proliferation, das Überleben, die Differenzierung, die Migration, oder die Funktion der Zellen. \Rightarrow Table 17-2

Eine wichtige Funktion der Wachstumsfaktoren ist die Regulierung der Proteinsynthese und so der Rate mit der eine Zelle wächst. Die meisten Faktoren, die die Proliferation fördern, fördern auch das Wachstum (die Umkehrung stimmt nicht immer).

In G_0 ist die Rate der Proteinsynthese drastisch reduziert (Zellschlaf). Die G_0 -Phase bestimmt die Variabilität der Dauer eines Zellzyklus. \Rightarrow Figure 17-37

Blutserum ist nötig um den G_1 -Checkpoint zu passieren, aber nicht um in die Mitose einzutreten, aber es ist nötig innerhalb von 8h wenn einmal die Wachstumsfaktoren oder die Proteinsynthese wieder einsetzt.

Wahrscheinlich ist es das Cdk Protein selbst, das nötig ist um den G_1 -Checkpoint zu passieren. Wenn Serum Zellen im G_0 beigegeben wird braucht es einige Stunden bevor sie sich wieder teilen.

Wenn man getrennte Zellen in Anwesenheit von Serum auf einem Medium auslegt, werden sie am Medium haften, sich ausbreiten und teilen bis eine durchgehende Einzelschicht besteht, bei der jede Zelle am Medium und an allen Seiten an Nachbarn haftet (density-dependent inhibition of cell division). Wenn man diese Schicht verletzt, werden die angrenzenden Zellen sich ausbreiten und teilen. Die Dichte der Zellpopulation bei der die Zellproliferation aufhört steigt mit steigender Konzentration der Wachstumsfaktoren im Medium. \Rightarrow Figure 17-39

Auch die Form der Zelle wenn sie sich ausbreitet und über ein Substrat kriecht um freie Stellen zu besetzen beeinflusst ihre Teilungsfähigkeit stark. Wenn die Zelle keine Oberflächenhaftung findet teilt sie sich auch fast nie (anchorage dependence). Die Oberflächenhaftung wirkt am G_1 -Checkpoint. Tatsächlich verlieren Zellen ihre Haftung nachher und haften erst wieder in der M-Phase. Dieser Zyklus erlaubt es den Zellen wohl ihre Kontakte zu anderen Zellen und der extrazellulären Matrix neu zu arrangieren und so ihre Tochterzellen ins Gewebe einzubinden, bevor diese einen neuen Zellteilungszyklus beginnen. \Rightarrow Figure 17-40 & 17-41

Mutationen in **Proliferationsgenen**, die das Produkt hyperaktiv machen oder überexprimieren, resultieren in exzessiver Zellproliferation. Das mutierte Gen wird dann als Oncogen (krebsverursachendes Gen) klassifiziert, das normale Gen heisst Proto-Oncogen.

Antiproliferationsgene sind Tumor-Suppressorgene.

\Rightarrow Figure 17-43

Ein Protein-Wachstumsfaktor muss zuerst an einen Transmembranrezeptor an der Oberfläche der Zielzelle binden. Danach erfolgt eine Produktion intrazellulärer Signalmoleküle durch den intrazellulären Teil des Rezeptors. Die Gene, die von Wachstumsfaktoren induziert werden, gehören zu zwei Klassen: **early-response genes** werden innerhalb von 15 Minuten induziert und ihre Induktion braucht keine Proteinsynthese; **delayed-response genes** werden nicht vor Ablauf einer Stunde induziert und ihre Induktion benötigt Proteinsynthese. Wahrscheinlich werden die verspäteten Antwortgene vom Produkt der frühen Antwortgene induziert. Myc, fos und jun sind Beispiele für frühe Antwortgene. Ohne myc teilen sich Zellen nie. Wenn myc aber speziell ohne Wachstumsfaktoren zugegeben wird, können diese Zellen nicht in G_0 eintreten. Und wenn sie sich in G_0 befinden, verlassen sie G_0 und teilen sich auch ohne Wachstumsfaktoren.

Unter den Produkten der verspäteten Antwortgenen befinden sich essentielle Komponenten des Zellzyklus-Kontrollsystems wie Cdk-Proteine und einige Cycline.

Das **Rb** Gen (retinoblastoma) ist ein Antiproliferationsgen, das sich reichlich im Zellkern von Säugern befindet. Seine Bindungskapazität hängt von der Phosphorylierung ab. Dephosphoryliert bindet es an eine Anzahl von Regulatorproteinen, die die Zellproliferation fördern und hält diese inaktiv. Wenn es phosphoryliert wird, lässt es die Proteine los, so dass diese arbeiten können. Es ist im Zellzyklus immer präsent, aber die Phosphorylierung ändert. Besonders in G_0 enthält die Zelle wenig Phosphor. Wachstumsfaktoren mildern die Inhibition durch Rb. Die Phosphorylierung von Rb steigt spät in G_1 , bleibt hoch in S und G_2 und fällt zurück in den dephosphorylierten Zustand während der Mitose. Das aktive Rb (dephosphoryliert) funktioniert in G_1 als Teil des Bremsmechanismus um den Durchgang bei Start zu verhindern. Vielleicht befähigt es die Zelle auch in G_0 einzutreten.

\Rightarrow Figure 17-46

Das Beispiel der Langzeiteffekte auf die Zelldivision kann am Phänomen der **Zellseneszenz** beobachtet werden. Einige nehmen an, dass die Zellseneszenz aus einer Akkumulation von

zerstörenden Mutationen entsteht und somit die unpräzise Arbeit der Zellreproduktion aufzeigt. Andere glauben, dass dies ein Effekt des Mechanismus ist, der uns vor Krebs schützt. Es gibt Argumente gegen beide. Man weiss, dass die Rate der Zellseneszenz zumindest für einige Zelltypen stark von der Konzentration der Wachstumsfaktoren abhängt. Obwohl die Seneszenz zu einem vorhersehbaren Zeitpunkt für eine gegebene Zellpopulation stattfindet, ist sie nicht strikt programmiert auf der Stufe der individuellen Zelle. Individuelle Zellen scheinen durch zufällige Übergänge mit der Teilung aufzuhören. Diese Transitionen werden mit jeder folgenden Zellgeneration wahrscheinlicher, bis keine proliferierenden Zellen mehr in der Population übrig sind. Die Zellseneszenz ist eng verknüpft mit der fortschreitenden Reduktion der Telomere.

Der Zellzyklus-Kontrollmechanismus sorgt nicht nur für eine korrekte Teilung, sondern er achtet auch darauf, dass die Anzahl der Zellen nicht zunimmt und die Differenzierung der Zellen erhalten bleibt. Die Grösse von Organen wird nicht durch Zellzählung oder Zellzyklen kontrolliert, sondern von einem Mechanismus, der Distanzen messen kann. ⇒Figure 17-49

18. DIE MECHANIK DER ZELLTEILUNG

Auf molekularer Ebene wird in die M-Phase durch eine Kaskade von Protein-Phosphorylierungsereignissen eingeleitet. Diese Kaskade wird durch die Aktivierung der Mitose auslösenden Proteinkinase MPF bewirkt und durch die Dephosphorylierungen beendet, indem das MPF mittels Proteolyse seiner Cyclin-Untereinheiten inaktiviert wird.

18.1.1 Drei Ereignisse sind in der M-Phase einzigartig: die Kondensation der Chromosomen, die Mitosespindel und der kontraktile Ring

Die Chromosomenkondensation ist die Einleitung für zwei verschiedene mechanische Prozesse:

- 1) die Mitose- die Trennung der Chromosomen und die Bildung von zwei Zellkernen
- 2) die Cytokinese- die Zwei-Teilung der Zelle als Ganzes, Cytoplasmateilung

Diese beiden Vorgänge werden von zwei verschiedenen Cytoskelett-Strukturen, welche in der M-Phase vorübergehend auftauchen ausgeführt → bipolare Mitosespindel, kontraktile Ring.

Mitosespindel:

- die bipolare Mitosespindel wird aus Mikrotubuli und mit ihnen assoziierten Proteinen zusammengesetzt
- sie ordnet die Chromosomen in der Metaphase zuerst in einer Ebene an und trennt anschließend die Chromosomen in der Anaphase

Kontraktile Ring:

- wird in der tierischen Zelle gebraucht
- besteht aus Actin-Filamenten und Myosin-2
- bildet sich etwas später als die Mitosespindel aus und zwar direkt unter der Plasmamembran in einer senkrechten Ebene zur Achse der Mitosespindel
- wird der Ring kontrahiert, wird die Zelle zweigeteilt

Normalerweise folgt direkt anschließend an die Mitose die Cytokinese, es gibt aber auch Ausnahmen.

Der oben beschriebene M-Phase Ablauf gilt nur für Eukaryontenzellen. Die Bakterienzellen besitzen weder Actin-Filamente noch Mikrotubuli → besitzen nur ein einziges Chromosom, welches unkondensiert an die Tochterzelle weitergegeben wird.

18.1.2 Die Zellteilung hängt von der Verdopplung des Centrosoms ab

Centrosom:

- das wichtigste Mikrotubuli-Organisationszentrum in den meisten tierischen Zellen
- Organell, das Centriolen und umgebendes Cytoplasma (Centriolaplasma) enthält
- Ansammlung amorpher Materialien, das Centriolenpaar umgibt
- Bildungszentrum der cytoplasmischen Mikrotubuli

Centrosomenzyklus

Das Centrosom verdoppelt sich in einer eukaryontischen Zelle in der Interphase und bildet die beiden Pole der Mitosespindel. Bei den meisten tierischen Zellen ist noch ein Centriolenpaar mit dem Centrosom assoziiert, dass das Mikrotubuli-Wachstum gewährleistet. Pflanzenzellen besitzen kein Centriolenpaar bilden aber trotzdem eine Mitosespindel aus. Das verdoppelte Centrosomenmaterial mit den Centriolen bleibt zuerst als Komplex zusammen. Erst bei Beginn der Mitose teilt sich der Komplex in zwei Hälften und jedes Chromosom bildet einen kreisförmige Ansammlung von Mikrotubuli, den Polstrahlungen („Aster“). In der späteren Prophase wachsen vorwiegend zwischen den sich trennenden Polstrahlungen Bündel polarer Mikrotubuli. Dadurch wird die Mitosespindel sehr schnell gebildet. Während der Prometaphase löst sich die Kernhülle auf, dadurch können die Spindel-Mikrotubuli Kontakt mit den Chromosomen aufnehmen (→ Kinetochor-Mikrotubuli). Während der Cytokinese bildet sich die Kernhülle um die Chromosomen wieder neu, das Centrosom bleibt dabei ausserhalb der Kernhülle.

18.1.3 Traditionell unterteilt man die M-Phase in sechs Stadien

Der Ablauf der Zellteilung verläuft bei allen eukaryontischen Zellen in den Grundzügen gleich ab. Die ersten fünf Stadien der Zellteilung bilden die Mitose:

Prophase : Chromosomen beginnen zu kondensieren, spätere Prophase beginnt Mitosespindel-Bildung
Prometaphase : Auflösung der Kernhülle, Anheftung der Mikrotubuli an die Kinetochore der Chromosomen
Metaphase : Chromosomen sind an den Spindelfasern angeheftet, liegen in der Äquatorialebene

Anaphase	: Chromosomen werden zu den Polen hin auseinandergezogen
Telophase	: Kernhülle wird neu gebildet, Kinetochor-Mikrotubuli verschwinden, Chromosomen sind nicht mehr kondensiert

Der sechste Schritt, die Cytokinese überschneidet sich mit der Mitose. Sie beginnt in der Anaphase und endet mit dem Mitosenende.

18.1.4 Grosse cytoplasmatische Organellen werden während der M-Phase zerteilt, um sicher vererbt zu werden

- Organellen, welche in sehr grosser Menge vorkommen werden vererbt, wenn sich im Durchschnitt ihre Anzahl in jeder Zellgeneration verdoppelt
- Der Golgi-Apparat und das ER zerbrechen während der Mitose in kleinere Fragmente und Vesikel → diese Strukturen werden während der Zellteilung besser verteilt

18.2 Mitose

Die Mitosenspindel wird hauptsächlich von Mikrotubuli gebildet, die sowohl zum Schieben, als auch zum Ziehen eingesetzt werden. Die entscheidenden Prozesse der Bildung der Spindel, die Anheftung der Chromosomen und die Anordnung in der Metaphase, sowie die Verlängerung der Spindel, finden an oder nahe an den Enden der Mikrotubuli statt.

Es gibt drei Arten von Spindel-Mikrotubuli

- Polaren Mikrotubuli:**
- überschneiden sich in der Mittellinie der Spindel
 - Ziehen die Spindelpole in der Prophase auseinander
 - Treiben Verlängerung der Spindel in der Anaphase voran

- Kinetochor-Mikrotubuli:**
- heften sich an die Kinetochore der Chromosomen an
 - manövrieren die Chromosomen

- Astral-Mikrotubuli:**
- erstrecken sich vom Centrosom in alle Richtungen, liegen ausserhalb der Spindel
 - tragen vermutlich zu den Kräften bei, welche die Pole trennen

18.2.1 Die Bildung der Mitosenspindel wird in einer Zelle in der M-Phase von auffallenden Veränderungen der dynamischen Eigenschaften der Mikrotubuli begleitet

Die Ansammlung der Interphase-Mikrotubuli, die sich um das Centrosom lagern, befinden sich in einem Stadium von dynamischer Instabilität, in dem Mikrotubuli fortlaufend auf- und abgebaut werden. Der Beginn der M-Phase ist von einer Umwandlung relativ weniger langer Mikrotubuli gekennzeichnet, die vom Centrosom bis zur Zellperipherie reichen (die Ansammlung der Interphase Mikrotubuli), zu einer grossen Anzahl kurzer Mikrotubuli, die jedes Centrosom umgeben (die Astral-Mikrotubuli).

18.2.2 Die Interaktionen zwischen entgegengesetzt orientierten Mikrotubuli verursachen die Bildung der Spindel

Die Mikrotubuli wachsen zuerst in alle Richtungen aus dem Centrosom, dabei befindet sich das Minus-Ende der Mikrotubuli bei dem Centrosom. Das Plus-Ende ist dynamisch instabil und befindet sich in einem schnellen Wechsel zwischen Wachstum und Zerfall. Wenn zwei Mikrotubuli aus den beiden Centrosomen mit den Plus-Enden miteinander in Wechselwirkung treten, bildet sich eine Überlappungszone, welche durch assoziierte Proteine verbunden wird. Dabei stabilisieren die Proteine nicht nur die bipolare Spindel, sondern sie schieben die antiparallelen sich überschneidenden Mikrotubuli auch nacheinander in eine Richtung, was ein Auseinanderschieben der Spindel zur Folge hat.

18.2.3 Replizierte Chromosomen werden über ihr Kinetochor an die Mikrotubuli angeheftet

- Centromer:**
- Spindelfaser Ansatzstelle der Chromosomen und Ort wo die Schwesterchromatiden zusammengehalten werden
 - Region, an dem Chromatin besonders kondensiert ist

Kinetochor: - Mehrschichtiger Proteinkomplex am Centromer eines Chromosoms, der sich in der späten Prophase von Kernteilungen bildet

- an das Kinetochor binden die Kinetochor-Mikrotubuli
- ist nicht nur eine passive Anhaftungsstelle von Mikrotubuli, sondern spielt zentrale Rolle bei dem auf und Abbau der Kinetochor-Mikrotubuli, bildet die Spannung in ihnen und ist zuletzt aktiv an der Bewegung der Chromosomen zum Pol beteiligt

In der späten Prophase bilden sich an jedem Centromer zwei Kinetochore (eins an jedem Schwesterchromatid), welche in entgegengesetzte Richtungen zeigen. An die Kinetochore binden sich dann Kinetochor-Mikrotubuli. In den Kinetochor-Mikrotubuli entsteht eine Spannung nach aussen auf das Chromosom und nach innen auf die Spindelpole.

18.2.4 Kinetochor-Proteinkomplexe werden in Hefechromosomen von spezifischer DNA-Sequenzen des Centromers gebildet

18.2.5 Kinetochore fangen die Mikrotubuli ein, die von den Spindelpolen ausgehen

18.2.6 Die plus-Enden der Kinetochor-Mikrotubuli können bei der Anheftung an das Kinetochor Tubulin-Untereinheiten gewinnen und verlieren

Wie die polaren Mikrotubuli befinden sich auch die Kinetochor-Mikrotubuli in einem dynamischen Zustand. In der Metaphase bauen die Kinetochor-Mikrotubuli in der Nähe der Anheftstelle des Kinetochors Mikrotubuli ein. In der Anaphase findet genau die umgekehrte Reaktion statt, in der Nähe der Anheftstelle des Kinetochors werden Mikrotubuli abgebaut, was zur Folge hat, dass die Chromatiden sich zu den Spindelpolen bewegen. Sowohl beim Abbau, wie beim Zuwachs an Kinetochor-Mikrotubuli hält das Kinetochor eine feste mechanische Verbindung zu den Mikrotubuli (Kinetochor wirkt wie eine Schiebehülse).

18.2.7 Die Spindelpole weisen Chromosomen zurück

Die Kinetochor-Mikrotubuli ziehen die Chromosomen zu den Polen hin. An den Polen gibt es hingegen eine entgegengesetzte Kraft, die jedes grosse Objekt, das den Polen zu nahe kommt, zurückweist. Diese Kraft nennt man „Astral-Ausschluss-Kraft“ oder „Pol-Wind“. Die genaue Ursache für diese Kraft ist noch nicht bekannt. Vermutlich spielt sie eine Rolle bei der Anordnung der Chromosomen in der Äquatorialebene der Spindel in der Metaphase.

18.2.8 Schwesterchromatiden verbinden sich über ihre Kinetochoren mit entgegengesetzten Spindelpolen

Der häufigste Mitosefehler ist der, dass beide Schwesterchromatiden in einer der beiden Tochterzellen enden.

18.2.9 Ein Gleichgewicht entgegengesetzt wirkender Kräfte hält die Chromosomen in der Metaphasenplatte fest

Welche Kräfte ordnen die Chromosomen in der Metaphase in der Mitte der beiden Spindelpole an?

1. Hypothese „Zug“: Zugkräfte wirken auf die Kinetochore und ziehen sie in Richtung der Spindelpole → je weiter das Chromosom vom Pol entfernt, desto stärker ist die Kraft → es wirkt keine Zugkraft, wenn sich das Chromosom in der Mitte der beiden Pole befindet

2. Hypothese „Schub“: Die „Astral-Ausschluss-Kräfte“ schieben die Chromosomen von den Polen fort in Richtung Äquatorialebene → das Chromosomen wird um so stärker von dem Spindelpol fortgeschoben, je näher es sich annähert → es wirkt keine Schubkraft, wenn sich das Chromosom in der Mitte der beiden Pole befindet

In beiden Hypothesen werden die Chromosomen in der Äquatorialebene aufgrund ausbalancierter Kräfte unter Spannung gehalten. Die beiden Hypothesen schliessen sich gegenseitig nicht aus. Die Kräfte, welche die Chromosomen in die Metaphasenplatte schieben, arbeiten während der Metaphase weiter. Ebenfalls treten die Kräfte, welche die Chromatiden in der Anaphase polwärts ziehen, nicht erst bei dem Metaphase-Anaphase-Übergang auf, sondern sie sind vorhanden, sobald sich die Mikrotubuli an die Kinetochoren anheften.

18.2.10 Mikrotubuli sind in der Metaphasespindel in einem dynamischen Zustand

Alle Mikrotubuli der Metaphasespindel tauschen kontinuierlich Tubulinuntereinheiten mit dem Vorrat an löslichem freiem Tubulin aus. Dies konnte gezeigt werden indem man einzelne Untereinheiten mit einem Fluoreszenzlaserstrahl markierte. Es wurde beobachtet, dass die Markierung sich ständig polwärts bewegte. Dieser Vorgang wird auch als Tretmühle bezeichnet (Abb.18-24). Bei den Kinetochormikrotubuli, welche eine konstante Länge haben, muss ein genaues Gleichgewicht zwischen abgebauten und zugefügten Tubulinuntereinheiten herrschen. Dieses System hat Folgen für die Bauweise der Spindel. Wahrscheinlich entstehen Bindungen zwischen Mikrotubuli und Mikrotubuli und anderen Strukturen durch Mikrotubulus-Proteine. Diese durchlaufen ständig einen katalytischen Zyklus von Auf- und Abbau und sind somit bestens geeignet, die sich in der Länge verändernden Mikrotubuli festzuhalten.

18.2.11 Die Schwesterchromatiden trennen sich in der Anaphase sehr plötzlich

Die Anaphase wird durch den Abbau von Cyclin und der darauf folgenden Inaktivierung von MPF ausgelöst. Möglicherweise werden bis dahin die Schwesterchromatiden durch chromosomale Proteine zusammengehalten, die jetzt plötzlich irgendwie verändert werden, und darum eine Trennung der Chromatiden ermöglichen.

18.2.12 Die Anaphase wird so lange verzögert, bis alle Chromosomen in der Metaphaseplatte ausgerichtet sind

In der Metaphase legen die Zellen eine Pause ein, und zwar so lange, bis alle Chromosomen in der Metaphaseplatte angeordnet sind. Möglicherweise sendet ein Kinetochor, das nicht an die Mikrotubuli angeheftet ist ein Signal aus, welches die Inaktivierung von MPF und dadurch die Einleitung der Anaphase verzögert.

18.2.13 Zwei verschiedene Vorgänge trennen in der Anaphase die Schwesterchromatiden

Die Bewegung der Chromatiden auf die beiden Spindelpole zu, kommt durch zwei voneinander unabhängige Vorgänge zustande. Der erste Vorgang (Anaphase A) ist die Verkürzung der Kinetochor-Mikrotubuli. Beim zweiten Vorgang (Anaphase B) weichen die Pole selbst auseinander, indem die polaren Mikrotubuli verlängert werden und aneinander vorbeigleiten. Das Verhältnis dieser beiden Vorgänge ist sehr verschieden in verschiedenen Organismen. (Abb.18-27)

18.2.14 In der Anaphase A zerfallen die Kinetochor-Mikrotubuli

In der Anaphase werden die Kinetochor-Mikrotubuli an beiden Enden abgebaut, wobei die häufigste Depolymerisation (60-80%) an der Kinetochoren erfolgt. An den Polen geht der Abbau mit der gleichen Rate weiter wie in der Metaphase. Die Kraft für die Chromosomenbewegung entsteht also vermutlich hauptsächlich an den Kinetochoren. Der Mechanismus, der das Kinetochor gegen den Pol zieht ist immer noch unbekannt. Ein Modell, das Zuspriech findet ist folgendes: Ein Protein im Kinetochor hydrolisiert ATP um sich an seinem Mikrotubulus entlangzubewegen. Das Plus-Ende des Mikrotubulus wird freigelegt und zerfällt (Abb.18-28 A). Tatsächlich sind im Kinetochor gegen das Minus-Ende gerichtete Proteine entdeckt worden.

18.2.15 Zur Anaphase B dürften zwei getrennte Kräfte beitragen

In der Anaphase B werden polare Mikrotubuli an ihren Plus-Enden aufgebaut. Der zeitlich Abstand der Spindelpoltrennung und der Überlappungsgrad der polaren Mikrotubuli ist von Art zu Art verschieden. *Beispiel Diatomeen (Kieselalgen, Mitose innerhalb der Kernhülle): Es wurde gezeigt, dass sich der Überlappungsbereich der polaren Mikrotubuli in der Anaphase verkleinert. Eventuell ist darin ein Protein der Kinesin-Familie involviert.*

Die astralen Mikrotubuli erzeugen wahrscheinlich eine ziehende Kraft, die die Trennung der Pole unterstützt. Dies geschieht möglicherweise durch eine Wechselwirkung mit Proteinen an der Zellrinde. Diese Kräfte wirken wahrscheinlich schon während der Bildung der Spindel.

18.2.16 In der Telophase bildet sich die neue Kernhülle zunächst um die einzelnen Chromosomen herum

In der Telophase entstehen die neuen Zellkernhüllen. Drei Komponenten sind wichtig:

1. Kern-Innen- und -Aussenmembran (mit Verbindung zum ER)
2. die darunterliegende Kernfaserschicht (Wechselwirkungen mit der Kern-Innenmembran, Chromatin und den Kernporen)
3. Kernporen (aus grossen Proteinkomplexen)

Der plötzliche Übergang von der Metaphase in die Anaphase führt wahrscheinlich bei vielen in der Prophase phosphorylierten Proteinen zur Dephosphorylierung, was einen erneuten Aufbau der Kernhülle ermöglicht. In der Telophase bilden Kernmembranvesikel zunächst neue Membranen um kleinere Chromosomengruppen und verbinden sich dann. Währenddessen werden auch die Kernporen neu gebildet und es werden Kernproteine eingeschleust. Die Chromosomen dekondensieren und die RNA-Synthese wird wieder aufgenommen. Der Zellkernauf- sowie der -abbau können in vitro in *Xenopus*-Eizellen-Rohextrakten nachvollzogen werden. Der Vorgang läuft normal ab, man kann sie also als Testsysteme benutzen um katalysierende Proteine nachzuweisen. Zu diesen Extrakten muss jedoch DANN hinzugefügt werden, damit ein Zellkern entsteht. Um gereinigte DANN bildet sich meistens eine Kernhülle, es sind also DANN-bindende Moleküle beteiligt. Der Abbau der Kernhülle ist keine Voraussetzung für die Mitose. Es gibt sowohl offene als auch geschlossene Mitosespindeln.

18.3 Die Cytokinese

Obwohl die Cytokinese normalerweise (nicht immer!) auf die Kernteilung folgt, handelt es sich um zwei getrennte Ereignisse. Die Cytokinese erfolgt nach der Mitose; sie beginnt in der Anaphase und endet, wenn die nächste Interphase beginnt.

18.3.1 Die Mitosespindel bestimmt die Stelle, an der sich während der Cytokinese das Cytoplasma teilt

In der Anaphase beginnt die Furchung bei tierischen Zellen. Sie beginnt auf Höhe der Metaphaseplatte senkrecht zur Längsachse der Mitosespindel. Dadurch erhält jede Tochterzelle eine identische Kopie der Genmaterials. Die Furchung geschieht auch zwischen den Centrosomen, wenn keine Spindel vorhanden ist. Eine Hypothese besagt, dass die beiden Gruppen von Astral-Mikrotubuli die Zellrinde berühren und so die Teilungsstelle bestimmen. Eine andere Hypothese ist, dass die Rinde einen von der Spindel hervorgerufenen Ca^{2+} -Gradienten spürt. Die Furchung könnte ein sich selbst verstärkendes System darstellen, das sich durch einziehen von Filamenten selbst organisiert.

18.3.2 Die Spindel ist besonders dazu geeignet, asymmetrische Zellteilungen auszuführen

Meistens teilen sich Zellen symmetrisch und zwar am Zelläquator. Die Spindel ordnet sich entlang einer speziellen Zellachse in der Mitte des Cytoplasmas an. Eventuell wird diese Stellung durch Astral-Mikrotubuli gefestigt. In der Embryonalentwicklung laufen aber auch viele asymmetrische Teilungen ab, was zu einer unterschiedlichen Entwicklung der Tochterzellen führt. Die Spindel rotiert auf eine vorprogrammierte Weise um die asymmetrische Teilungsebene zu bestimmen. Vermutlich spielen dabei Veränderungen in der Zellrinde eine Rolle. Die asymmetrische Zellteilung ist besonders in Pflanzenzellen wichtig.

18.3.3 Actin und Myosin erzeugen die Teilungskräfte

Die Teilung der Zelle wird durch den kontraktile Ring bewirkt. Dieser besteht aus an der Peripherie orientierten Actin und Myosinfilamenten die sich überlappen. Er bildet sich zu Beginn der Anaphase und hat durch seine muskelartige Gleitbewegung eine enorme Kraft. Er kann eine feine Glasnadel zerbrechen. Der Ring besteht aus mehr als 20 Actin-Filamenten. Da er ständig Filamente verliert ist die Furche eine dynamische Struktur. Nach der Teilung löst sich der Ring auf und es entsteht der Mittelkörper, ein dünner Kanal zwischen den Tochterzellen, worin sich die Reste der polaren Mikrotubuli befinden (Abb.18-35). Damit der kontraktile Ring gebildet werden kann, müssen die Actin- und Myosinfilamente in der Zellrinde vollständig umorganisiert werden. Andere Funktionen der Zellrinde (besonders die Zelladhäsion) werden nach unten reguliert.

18.3.4 In Sonderfällen können einzelne Zellbestandteile nur an eine Tochterzelle weitergegeben werden

Vor allem bei den ersten Furchungsteilungen einer Eizelle kommt es zu (biochemisch) verschiedenen Tochterzellen. Ein Beispiel sind die P-Granula in *C. elegans*, die zuerst in der ganzen Zelle verteilt sind, dann aber vor der ersten Teilung zum hinteren Ende der Zelle wandern und so nur an eine Tochterzelle weitergegeben werden. Die Granula gelangen schliesslich in die Ei-/Samenzellen des Wurms. Dasselbe geschieht auch, wenn die Spindel im rechten Winkel zur Normalposition liegt. Die Bewegung der P-Granula scheint von Actin-Filamenten abzuhängen.

18.3.5 In Pflanzenzellen unterliegt die Cytokinese einem vollkommen anderen Mechanismus

Da höhere Pflanzenzellen meist von einer festen Zellwand umgeben sind, wird bei ihnen statt des Abschnürens, eine neue Zellwand (Zellplatte) im Innern der Zelle aufgebaut. Diese bestimmt Stellung und Form der neuen Zellen. Bei der Entstehung der Zellplatte treten kleine mit Zellwandbausteinen gefüllte Vesikel mit den

Mikrotubuli beidseits des Phragmoplasten (Der Phragmoplast ist eine zylinderförmige Struktur und besteht aus den restlichen polaren Spindel-Mikrotubuli.) in Kontakt und werden von diesen zur Äquatorialebene transportiert, wo sie sich zur sogenannten frühen Zellplatte vereinigen. Die Polysaccharid-Bausteine dieser Vesikel bilden das Grundmaterial der primären Zellwand. Die Mikrotubuli des Phragmoplasten werden umgebaut. Sie holen neue Vesikel heran welche die frühe Zellplatte vergrößern bis diese die Plasmamembran der ursprünglichen Zelle erreicht hat und mit dieser verschmilzt. Somit ist die Trennung der Tochterzellen vollständig, und die neue Zellwand wird durch Mikrofibrillen aus Cellulose vervollständigt.

18.3.6 Ein Cytoskelett-Netzwerk bestimmt die Zellteilungsebene bei Pflanzen

Bei Pflanzenzellen beobachtet man kurz nach der Interphase das Verschwinden einer Ansammlung von Mikrotubuli der Zellrinde. Gleichzeitig formt ein Mikrotubuliband (Präprophaseband) unter der Plasmamembran einen Ring um die Zelle. Das Band verschwindet noch vor der Metaphase, legt aber fest wo die Zellplatte sich mit der Zellwand der Mutterzelle verbinden wird. Die Spindel genügt hier nicht. Das Präprophaseband enthält auch Actin-Filamente. Wenn die Mikrotubuli des Bandes depolymerisiert sind, bilden die Actin-Filamente eine Art Gedächtnis für die Teilungsebene. Sie verbinden die wachsende Zellplatte mit der Seite des Präprophasebandes.

(Übersicht: Abb. 18-39 A)

18.3.7 Die hochentwickelte M-Phase höherer Organismen ist stufenweise aus prokaryontischen Teilungsmechanismen hervorgegangen

Bei Prokaryonten heftet sich die DNA nach der Teilung an die Zellmembran. Die Zelle teilt sich indem die Membran zwischen den beiden Anheftungsstellen in die Zelle hineinwächst.

Cryptothecodium cohnii (eine einzellige Alge) nimmt eine Zwischenstellung zwischen Pro- und Eukaryonten ein. Bei ihr heftet sich die DNA an die Kernhülle, die während der Teilung ganz bleibt. Die Spindel ausserhalb ordnet die Kernmembran und legt so die Teilungsebene fest. Die Kinetochoren sind anscheinend in die Kernmembran integriert.

Die Hypermastigoten haben einen höher entwickelten Spindelapparat aber immer noch eine bleibende Kernhülle. Die Schwesterkinetochoren werden durch das Wachstum der Kernhülle an die sie gebunden sind getrennt, und heften sich erst dann an die Spindel, wenn sie in der Nähe der Pole sind. Dazu bilden sich ausserhalb des Kerns Kinetochorfasern, die die Chromosomen durch die Hülle hindurch binden.

Eine weitere Stufe der Evolution stellen Hefen und Diatomeen dar, wo sich der ganze Vorgang innerhalb der Kernhülle abspielt, sonst aber wie bei den bekannten Säugerzellen abläuft. Warum sich bei höheren Organismen ein Mechanismus entwickelt hat bei dem sich die Kernhülle auflösen muss ist nicht geklärt.

Kapitel 19: Cell Junctions, Cell Adhesion, and the Extracellular Matrix

Bei diesem Kapitel sind die Bilder und Tabellen im Buch sehr hilfreich, daher habe ich versucht möglichst viele Hinweise zu geben.

Begriffe (meist auf englisch) habe ich kursiv und die wichtigsten oder fundamentalsten auch fett geschrieben.

Verwendetes Buch: „Molecular Biology of the Cell“, third edition, engl.

19. Cell Junctions, Cell Adhesion, and the Extrazelluläre Matrix

19.1 Cell Junctions

1. **Occluding junctions:** Die Zellen sind so miteinander verbunden, dass nichts mehr hindurch kommen kann.
 2. **Anchoring junctions:** Die Zelle wird an einer anderen Zelle oder an der Extrazellulären Matrix verankert.
 3. **Communicating junction:** Ein Weg um chemische und elektrische Signale direkt zu einer anderen Zelle zu leiten.
- (Übersicht: Tab. 19-1, S. 950)

19.1.1 Occluding junction (*tight junction*) (Abb. 19-5, S. 953)

Erklärung an Hand der Epithelzellen, die als selektivpermeable Barriere fungieren.

Beim **transcellular transport** werden Moleküle durch die **apical surface** in die Zelle und durch die **basolateral surface** aus der Zelle transportiert (oder umgekehrt). Die Funktion der tight junction ist einerseits die Zelloberfläche in apical und basolateral zu unterteilen, indem sie die Diffusion der Membranproteine auf ihre Teilgebiete einschränkt. Die zweite Funktion ist die Unterteilung des interzellulären Raumes, damit die gerade sortierten Moleküle nicht zurückdiffundieren. (Abb 19-2, 951)

Trotz allem ist die *tight junction* variabel und nicht absolut unpassierbar. Dieser Transport heisst **paracellular transport**. Er erfolgt durch Lücken in der Barriere, durch die Lösungen und Wasser kommen können. Ausserdem ist dieser Weg für Aminosäuren und Monosaccharide wichtig. Bei all diesen parazellulären Transporten handelt es sich um passive Transporte.

19.1.2 Anchoring junction (*adherens junctions, desmosomes, hemidesmosomes*)

Grundsätzlicher Aufbau: (Abb. 19-7, S. 954 und Abb. 19-12C, S. 957) Begriffe: **intercellular attachment proteins, plaque, transmembrane linker proteins**

Die Unterschiede der verschiedenen *anchoring junctions* bestehen in ihrer Struktur und Funktion. *Adherens junctions* binden an *actin filaments*, die anderen beiden an *intermediate filaments*. Die *Desmosome* bilden interzelluläre Kontakte aus und die *Hemidesmosome* zu der extrazellulären Matrix (*basal lamina*).

Cell-cell adherens junction sind normalerweise kleine punktuelle Befestigungen. In der Epithelschicht gibt es aber auch eine kontinuierliche **adhesion belt**, die um die Zelle unterhalb der *tight junction* geht. Hierbei agieren *cadherins*, Ca^{2+} dependent cell-cell adhesion molecules, die als *transmembrane linker proteins* wirken (α -, β -, γ -cathepins, vinculin α -actinin, plakoglobin). (Abb. 19-8, S.955)

Cell-matrix adherens junction wird am Beispiel der Fibroblasten gezeigt, wo die Zelle an die extrazelluläre Matrix bindet. Aufbau der Verankerung: Actinbündel, die an der Membran enden, binden über *attachment proteins* (talin, α -actinin, vinculin) an **focal contacts** oder *adhesion plaques*, die aus *integrins* bestehen, die durch die Membran gehen und an der extrazellulären Matrix binden.

Eine spezielle Gruppe *adherens junctions* sind die **septate junctions**, die es aber nur in invertebraten Geweben gibt. Da sie nur kurz erwähnt wurden, lasse ich diese Gruppe weg. (Abb.19-11, S. 956)

Desmosome und *Hemidesmosome* verteilen Druck- Spannungs- und Scherkräfte.

Desmosomen vernieten die Zellen über punktuelle interzelluläre Kontakte. Durch diese Kontakte entsteht ein Netzwerk aus *intermediate filaments* über das ganze Gewebe. (keratin filaments in den meisten Epithelzellen, desmin filaments in Herzmuskelzellen). (Struktur: Abb. 19-12C, S. 957).

Hautkrankheit *pemphigus*: Der Körper bildet Antikörper gegen eine der eigenen desmosomalen Cadherine. Die Hautepithelien sind nicht mehr so gut vernetzt. Es kommt zur Blasenbildung verursacht durch Auslaufen von Körperflüssigkeit.

Hemidesmosomen verbinden Zellen mit der *basal lamina*. Die Verbindung gleicht mehr den *focal contacts*. Die *transmembrane linker proteins* sind auch *Intergrine*. Innerhalb der Zelle wird aber an

Kapitel 19: Cell Junctions, Cell Adhesion, and the Extracellular Matrix

intermediate filaments gebunden. *Hemidesmosome* und *Desmosome* sind also im gleichen Netzwerk der *intermediate filaments*. (Abb. 19-13, S. 957)
(Überblick, anchoring junctions: Tab. 19-2, S. 958)

19.1.3 Communication junctions

Bei **gap junctions** kommt es zu einem *cell coupling*, indem Proteine einen Kanal bilden, die Ionen und andere wasserlösliche Moleküle passieren lassen. Die Moleküle dürfen nur nicht grösser als 1000 Da sein (etwa 1.5 nm). Die Zellen sind also elektrisch und metabolisch gekoppelt. So kann ein Gewebe durch die ständige Fluktuation von Stoffen zwischen den Zellen koordiniert werden. Extrazelluläre Signale können über diesen Weg weitergeleitet werden, da zyklisches AMP und Ca^{2+} passieren können. Die Gradienten können eine bedeutende Rolle in der Embryonalentwicklung haben.

Die Transmembranproteine formen **Connexone**. Zwei *Connexone* von verschiedenen Zellen binden aneinander und bilden einen Tunnel. Eine *gap junction* besteht aus mehreren hundert *Connexonen*. (Abb. 19-15 und 16, S. 959)

Ein *Connexon* wird aus sechs Untereinheiten eines Proteins, den **Connexinen** aufgebaut. Es gibt verschiedene *Connexine*, die unterschiedlich miteinander kombinieren. Die *gap junctions* sind dadurch sehr selektiv.

Eine *gap junction* kann offen oder geschlossen sein. Bei ansteigender Ca^{2+} -Konzentration oder sinkendem pH kommt es zu einer Senkung der Permeabilität. Die pH-Abhängigkeit ist noch nicht verstanden. Beim Ca^{2+} vermutet man, dass, wenn eine Zelle platzt, extrazelluläre Flüssigkeit in die Zelle kommt, die eine höhere Na^+ und Ca^{2+} -Konzentration hat. Damit nicht diese Konzentrationsänderung (nicht nur dieser Ionen) nicht auch die gesunden Zellen erreicht, schliessen sich die Kanäle.

In Pflanzenzellen sind die Membranen nicht in direktem Kontakt, die Zellwand ist noch dazwischen. Die Zellkommunikation läuft über die **Plasmodesmata**. Dies ist ein feiner Zytoplasmakanal (20-40 nm, Moleküle < 800 Da), deren Wand die Zellmembran ist. In diesem Kanal gibt es meistens ein *desmotubule*, die das smooth endoplasmic reticulum von den beiden Zellen verbindet. Auch diese Verbindungen können geregelt werden wie die *gap junctions*. (Abb. 19-19, S. 962)

Einige Viren können *Plasmodesmata* vergrössern und sie passieren. So können sie sich von Zelle zu Zelle ausbreiten.

(Übersicht: Abb. 19-18, S. 961, Summary S. 962, 963)

19.2 Cell-Cell Adhesion

Bei der *cell-cell adhesion* geht es nicht nur um die Bindung zwischen zwei Zellen, sondern vor allem um die artspezifische Bindung. Dies ermöglicht, dass artspezifische Zellen zu einem Gewebe agglomerieren können, dass andere Zellen möglichst ausgeschlossen werden und dass wandernde Zellen zu ihrem Zielort geleitet werden können. (Beispiele: Abb. 19-22, S. 964, Abb. 19-23, S. 965)

Integrine sind einerseits für die Verankerung verantwortlich (an der *basal lamina*). Dies wird später genauer behandelt. Bei den **cell-cell adhesion molecules (CAMs)**, die auch sehr selektiv sind, gibt es Ca^{2+} -abhängige und Ca^{2+} -unabhängige Moleküle. Die ersten scheinen beim frühen vertebraten Embryo für den gewebespezifischen *cell-cell adhesion* verantwortlich zu sein.

Die Ca^{2+} -abhängigen Moleküle sind die **Cadherins**. Sie werden in drei Gruppen aufgeteilt: *E-Cadherin* (E von epithelial) in vielen Epithelzellen in dem *adhesion belt*, *N-Cadherin* (N von neuron) in Nerven-, Muskel-, Linsenzellen, *P-Cadherin* (P von Plazenta) in der Plazenta und der Epidermis. (Aufbau: Abb. 19-24, S. 966)

Die intrazelluläre Bindung kann homophil (normalerweise), heterophil oder über ein extrazelluläres Linkerprotein laufen.

Cadherins interagieren über (drei) *Catenins* als *intrazelluläre attachment Proteine* mit Actin.

Selectin (Kapitel 10, Abb. 10-42, S. 503) auch ein Ca^{2+} -abhängiges CAM wird von weissen Blutzellen verwendet, um an Endothelzellen zu binden, um von dort aus dem Blutkreislauf zu der Entzündung zu gelangen.

Unter den CAMs scheinen die *Cadherins* die häufigste Gruppe zu sein, die auch am meisten wirkt.

Ausserdem nimmt man an, dass die Affinität bei den *Cadherins* geregelt werden kann.

Für die Ca^{2+} -unabhängigen Adhesion ist die **immunoglobulin (Ig)** Superfamilie verantwortlich. Ein Beispiel für eine homophile Adhesion ist das neural cell adhesion molecule (**N-CAM**). Die 20 verschiedenen *N-CAM* werden durch Splicing der RNA generiert. *N-CAM* haben variable intrazelluläre Domänen, die, wie es scheint, beim Signaling und bei Bindungen am Cytoskeleton beteiligt sind. Eine spezielle Art geht nicht durch die Membran, sondern bindet an einem *glycosylphosphatidylinositol (GPI)*. Eine andere Art wird von der Zelle abgegeben und wird von der Extrazellulären Matrix aufgenommen. (Abb. 19-27, S. 968)

Kapitel 19: Cell Junctions, Cell Adhesion, and the Extracellular Matrix

Die Ig-Familie scheint für die Zelle die Rolle der Regulation und der Feinabstimmungen der adhesiven Interaktion bei der Entwicklung und Regenerierung zu spielen. Diese verschiedenen Möglichkeiten der *Cell-cell Adhesion* erlauben eine Orientierung der Zelle. Die geringere Affinität führt dazu, dass sich Zellen im Gewebe fortbewegen können (im Gegensatz zu Cell Junctions). Ihre Aufgabe ist also beim Embryo von grosser Bedeutung. Wenn eine Zelle stationär wird, werden zum Teil Integrine und Cadherine in Junctions eingebaut. (Übersicht: Abb.19-28, S. 969, Summary S. 971)

19.3 Die Extrazelluläre Matrix in Tieren

Die extrazelluläre Matrix ist aus Proteinen und Polysacchariden aufgebaut. Diese werden von den lokalen Zellen aufgebaut, ausgeschieden und organisieren sich zu einem Netzwerk, das immer noch mit der Zelloberfläche interagiert.

1. gibt es das **connective tissue**. Dieses Gewebe findet man überall, da es das Grundgerüst bildet. Die Konzentrationen sind aber verschieden; hoch in der Haut und Knochen, tief im Gehirn und Rückenmark. Je nach Funktion, ist die Zusammensetzung anders.
2. gibt es die **basal lamina**. Eine dünne Schicht zwischen Epithel und *connective tissue*. Sie nimmt eine kontrollierende Rolle ein.

Auch die extrazelluläre Matrix ist dynamisch und spielt eine Rolle bei der Entwicklung, Migration, Vermehrung, Form und Funktion der Zellen/des Gewebes.

Die Matrixmoleküle werden von **Fibroblasten** ausgeschieden. Bei den Matrixmolekülen gibt es zwei Klassen 1. Polysaccharidketten, die **Glycosaminoglycans (GAGs)** werden und meistens an **Proteoglycans** kovalent binden und 2. **fibrous proteins**, die grösstenteils für die Struktur (**Collagen, Elastin**) oder die adhesion (**fibronectin, laminin**) verantwortlich sind.

19.3.1 GAGs und Proteoglycane

GAGs sind unverzweigte Polysaccharide, die sich aus repetierenden Disacchariden aufbauen. Einer davon ist immer ein Aminozucker, der häufig sulfatisiert ist. Der andere Zucker hat meistens eine Uronsäure (Abb.19-33, S. 973). Dies führt dazu, dass GAGs stark negativ geladen sind, diese Ladung zieht Kationen an, die osmotisch aktiv sein können (Na^+). Diese Ionen werden stark solvatisiert. Es kommt zu einem Turgor, der Druckkräften entgegen wirkt.

Die hohe Solvatisierung erlaubt auch gute Diffusion von Nährstoffen und Hormonen durch das Gewebe. Die Migration von Zellen wird durch die gelartige Masse möglich.

Auch wenn die GAGs nur 10% des Gewichtes im *connective tissue* ausmachen, füllen sie den meisten extrazellulären Raum aus.

Das simpelste GAG ist das **Hyaluronan** (Hylaronsäure), es ist aber nicht typisch (Abb. 19-35, S. 974). Alle anderen enthalten 1. sulfatisierten Zucker, tendieren 2. zu komplexeren Disaccharideinheiten, haben 3. viel kleinere Ketten (300 Zuckereinheiten, Hyaluronan 25'000 Disaccharideinheiten) und sind 4. kovalent an Proteine von *Proteoglycans* gebunden. Ausserdem wird **Hyaluronan** direkt an der Zelloberfläche aus der Zelle synthetisiert.

Hyaluronan ist resistent gegen Druckkräfte und dient als Raumfüller bei der Embryonalentwicklung. Es kann als zellfreier Raum dienen, in den andere Zellen dann migrieren können, indem sie Hyaluronan mit dem Enzym *hyaluronidase* abbauen.

Alle anderen GAGs sind an Proteine gebunden und ergeben *Proteoglycane* (Abb.19-36, S. 975). An ein Serin des *core protein* wird im Golgi ein spezielles *link tetrasaccharide* angehängt, dann werden die Zucker angehängt und sulfatisiert. (Grössenvergleich Abb. 19-37, S. 976)

GAG-ketten können den Verkehr der Moleküle regeln, indem sie die Porengrösse oder die Ladung ändern. Sie binden auch an Signalmoleküle wie *growth factors* und verstärken oder inhibieren dadurch das Signal. Verstärkung: Sie aktivieren zum Teil die Rezeptoren (eine Art Vorsignal) oder erhöhen die Konzentration der Botenstoffe in einer Region.

Proteoglycane regulieren aber auch ausgeschiedene Proteine wie proteolytische Enzyme und Proteaseninhibitoren, indem sie wie folgt reagieren können: 1. Sie behindern die Proteine sich zu verteilen, dadurch ist ihr Aktionsradius auf den Ort, wo sie ausgestossen wurden, beschränkt. 2. Sie blockieren sterisch die Proteine und ihre Aktivität. 3. Sie können die Proteine für späteren Gebrauch lagern. 4. Sie können vor abbauenden Enzymen schützen und so ihre Aktivität verlängern. 5. Sie ändern die Konzentration der Proteine für eine effektivere Präsentation gegenüber den Membranrezeptoren.

GAGs und *Proteoglycane* können riesige Polymerkomplexe bilden (Abb.19-38, S. 977). Ausserdem verbinden sich GAGs und *Proteoglycane* mit *fibrous proteins* wie **Collagen** und mit Proteinnetzwerken wie die *basal lamina*. Daraus entsteht eine komplexe Struktur, die abhängig ist vom pH, ionischen oder osmotischen Bedingungen.

Kapitel 19: Cell Junctions, Cell Adhesion, and the Extracellular Matrix

Nicht alle *Proteoglycane* werden aus der Zelle ausgeschieden, manche wie *serglycin* befinden sich in intrazellulären sekretorischen Vesikeln und helfen beim „Verpacken“ und Lagern der sekretorischen Moleküle. Andere sind in die Plasmamembran integriert, wobei entweder das *core protein* durch die Membran geht oder sie an **glycosylphosphatidylinositol (GPI)** binden.

Ein Beispiel eines Plasmamembranproteoglycan ist *syndecan*. Die extrazelluläre Domäne trägt eine variable Anzahl an Chondroitinsulfat- und Heparansulfat-GAG-ketten während der intrazelluläre Teil mit dem Aktin des Zytoskeletons interagiert. Syndecane binden auch an *fibroblast growth factors (FGF)* und präsentieren sie den FGF-Rezeptoren. Analog macht es *betaglycan* mit dem *transforming growth factor β (TGF- β)*. Die beiden agieren als so genannte *co-rezeptoren*. (Übersicht Proteoglycane: Tab.19-3, S. 978)

19.3.2 Collagen

Im Gegensatz zu GAGs, die resistent gegenüber Druckkräften sind, sind *Collagenfibrillen* resistent gegenüber Zug- oder Spannungs Kräften.

Collagene gehören zu den **fibrous proteins**, die in allen mehrzelligen Lebewesen gefunden werden. Die typisch charakteristische Eigenschaft von Collagenmolekülen ist die lange, steife, dreisträngig helikale Struktur, bei der drei Collagenpolypeptidketten (α Ketten) sich wie ein Seil zu einer Superhelix umeinanderwinden. *Collagen* ist sehr reich an Prolin und Glycin (Struktur: Abb. 19-40, S. 979). Nur 15 verschiedene Typen von Collagenmolekülen sind gefunden worden. In *connective tissue* gibt es vor allem **Typ I, II, III, V und XI**. Es sind **fibrillar collagens**. Polymere davon werden **collagen fibrils** genannt, und diese aggregieren zu **collagen fibers**. **Typ IX und XII** sind **fibril-associated collagens**, die auf den *collagen fibrils* sitzen und diese mit einander oder mit der extrazellulären Matrix verbinden. **Typ IV und VII** sind **network-forming collagens**. *Typ IV* bilden ein schichtähnliches Netzwerk das der Hauptbestandteil der *basal lamina* ist (späteres Kapitel, *basal lamina*). *Typ VII* bildet Dimere die sich zu *anchoring fibrils* zusammenschließen und die *basal lamina* an das Epithel und das *connective tissue* bindet.

(Übersicht: Tab.19-4, S. 980)

Collagene werden vorzu auf- und abgebaut. Der Turnover kann zwischen einer Stunde und im extremen Fall 10 Jahre (in Knochen) dauern.

Wie *Collagene* entstehen, wird in Abb.19-43, S. 981 gut veranschaulicht (Begriffe: **pro- α chain**, **propeptid**, **procollagen**, **collagen molecule**). Die *Propeptide* haben zwei Funktionen: 1. Sie dirigieren die intrazelluläre Dreistrangbildung der Collagenmoleküle. 2. Weil sie erst im extrazellulären Raum wegkommen, verhindern sie die Bildung von *collagen fibrils*. Die Fibrillenbildung wird dadurch vorangetrieben, dass die Fibrillen 1000-mal weniger löslich als die *Procollagene* sind. (Aufbau: Abb. 19-44, S. 982). Die Fibrillen werden mit Lysinresten kovalent miteinander verbunden.

Mutationen und Krankheiten: Mutation im *Typ I* verursacht die *osteogenesis imperfecta*: schwache Knochen, die leicht brechen. Mutation im *Typ II* verursacht die *chondrodysplasias*: abnormale Knorpel, Knochen- und Gelenkdeformationen. Mutation im *Typ III* verursacht das *Ehlers-Danlos syndrome*: schwache Haut und Blutbahnen, sowie überelastische Gelenke.

Trotz gleichen Collagenmolekülen können Fibrillen verschieden arrangiert sein in einem Gewebe.

Dies kommt daher, dass die Zelle die *Collagene* leiten und beeinflussen kann. Dabei spielen die **fibril-associated collagens (Typ IX oder XII)** eine Rolle. Ihre Struktur ist anders. 1. Sie haben ein bis zwei nicht-helikale Domänen -> sie sind flexibler. 2. Sie behalten das Propeptid. 3. Sie aggregieren nicht -> keine Fibrillen. Dafür binden sie periodisch an Collagenfibrillen. *Typ IX* an *Typ II* (Knorpel, Hornhaut). *Typ XII* an *Typ I* (Sehnen und andere Gewebe). (Abb. 19-47, S. 983)

Fibroblasten bearbeiten die ausgeschiedenen *Collagene*, indem sie sie in Schichten oder Kabel anordnen. Die *Collagene* beeinflussen wiederum die Verteilung der *Fibroblasten*.

19.3.3 Elastin

Elastische Gewebe wie Haut, Blutbahnen und die Lunge sind mit einem Netzwerk von **elastic fibers** durchzogen (Abb. 19-50, S. 985). Damit das Gewebe nicht reißt, hat es dazwischen inelastische Collagenfibrillen. Die **elastic fibers** bestehen vor allem aus **Elastin**, ein stark hydrophobes Protein, dass wie Collagen reich an Prolin und Glycin ist, aber weniger glycolysiert, mit wenig Hydroxyprolin und keinem Hydroxylysin.

Wenn *Elastin* in die extrazelluläre Umgebung kommt, verbindet es sich zu einem Netzwerk von *fibers* und Schichten. Die Bindungen werden von den Lysinresten hergestellt. Das Protein besteht aus zwei Segmenten: 1. Hydrophobes Segment für die elastischen Eigenschaften. 2. Alanin- und lysinreiches α -Helixsegment, verantwortlich für die Cross-links.

Kapitel 19: Cell Junctions, Cell Adhesion, and the Extracellular Matrix

Elastin ist immer mit einer Schicht von *Microfibrils* (10nm) bedeckt. Die *Microfibrils* bestehen aus einer Anzahl Glycoproteine, wie *fibrillin*. Auch wenn die *elastic fibers* von *Microfibrils* abhängen, so existieren *Microfibrils* auch ohne *Elastin*.

Mutation in *fibrillin*: *Marfan's syndrome*: *connective tissues*, die eine Menge von *elastic fibers* haben, wie die Aorta, können reißen.

19.3.4 Fibronectin

Es gibt *adhesive proteins*, die mehrere verschiedene Domänen mit spezifischen Bindungsseiten haben, wie für extrazelluläre Makromoleküle oder Rezeptoren an einer Zelloberfläche. *Fibronectin* ist eins von diesen Glycoproteinen. Es ist ein Dimer, deren sehr grosse Untereinheiten mit einem Paar von Disulfidbrücken am Carboxylende miteinander verbunden sind. (Abb. 19-51, S. 986). Das Hauptmodul ist das **Typ III fibronectin repeat**. Es kommt mindestens 15-mal vor und nicht nur in diesen Glycoproteinen sondern auch in Matrixproteinen und in einigen Plasmamembran- und Zytoplasmaproteinen. Die Hauptregion, die an Zellen bindet, ist die **RGD Sequenz** (Arg-Gly-Asp = RGD). Andere Moleküle mit einer *RGD Sequenz* wirken also als Inhibitoren. Auch extrazelluläre Matrixproteine besitzen diese Sequenz. Trotz allem binden die Rezeptoren selektiv an Matrixmoleküle. Sie erkennen also nicht nur die *RGD Sequenz*.

Es gibt verschiedene Formen des *fibronectins*. Eines ist das **plasma fibronectin**, das löslich ist und im Blut oder anderen Körperflüssigkeiten vorkommt. Es unterstützt die Blutgerinnung, die Wundheilung und die Phagozytose. Die anderen Formen sind unlöslich und ergeben **fibronectin filaments**. Die Bindungen bestehen aus Disulfidbrücken, die aber nur in Anwesenheit spezieller Zellen entstehen. Es braucht wahrscheinlich Proteine für die Filamentformierung.

Durch Splicing können *Fibronectine* nach „Wunsch“ des Gewebes hergestellt werden. Da das Splicing im frühen Embryo anders als im Erwachsenen verläuft, aber bei der Wundheilung die *Fibronectine* nach Art des frühen Embryo gesplacet werden, nimmt man an, dass diese nun frühembryonalen *fibronectine* geeignet sind, um Zellmigration und Fortpflanzung für die Gewebeentwicklung und Reparatur voranzutreiben. („Signalfunktion“)

Fibronectin ist also auch für die Zellmigration verantwortlich, indem es die Zelle in der Masse an die Matrix bindet, dass die Zelle nicht an der Matrix kleben bleibt. Sie ermöglicht aber nicht nur die Migration, sondern regelt sie auch. *Tenascin* zum Beispiel kann die Adhesion an Zellen sowohl verstärken sowie inhibieren. Es kommt auf den Zelltyp an.

19.3.5 Basal Lamina

Die *Basal Lamina* besteht im Grundgerüst aus dem *Typ IV Collagen*. Dieses Collagen ist flexibler als das *fibrillar collagen*. Seine Helix ist in 26 Regionen unterteilt, was zu einer guten Biegsamkeit führt. Da beim *Typ IV Collagen* das Propeptid nicht entfernt wird, können sich keine Fibrillen bilden. Sie interagieren dafür mit ihren Enddomänen (Kopf-Kopf-Dimere) und bilden ein flexibles, mehrschichtiges Netzwerk. Disulfide und andere kovalente Bindungen stabilisieren diese Struktur. (Abb. 19-52, S. 989)

Die Funktion der *Basal Lamina* ist die Abgrenzung von Zellgewebe (Epithelschicht, Muskelzellen, Fettzellen, Schwann'sche Zellen) zu dem *connective tissue*. Sie ist ein hochselektiver Filter. (Abb. 19-53, S. 989). Mögliche Aufgaben: 1. Bestimmung der Zellpolarität. 2. Beeinflussung des Zellmetabolismus. 3. Organisieren der Proteine der angrenzenden Plasmamembranen. 4. Induzieren der Zelldifferenzierung. 5. Dienen den spezifischen highways für Zellmigration.

Die *Basal Lamina* besitzt zwei Schichten. Eine elektronenarme Schicht (*lamina lucida* oder *rara*), die auf der Seite der angrenzenden basalen Plasmamembran liegt und eine elektronenreiche Schicht (*lamina densa*), die darunter liegt. Ab und zu gibt es noch eine dritte Schicht (*lamina fibroreticularis*), die Collagenfibrillen enthält und die *Basal Lamina* an das darunterliegende *connective tissue* heftet. (Einige Biologen bezeichnen die drei Schichten auch als *basement membrane*).

Die *Basal Lamina* kann aber auch von *anchoring fibrils* (*Typ VII collagen molecules*) an das *connective tissue* befestigt werden.

Auch wenn die *Basal Lamina* überall variiert, enthält sie meistens *Typ IV collagen*, das grosse heparan sulfate proteoglycan *perlecan* und die glycoproteine *laminin* und *entactin*. (Abb. 19-56, S. 991)

Laminin ist das erste synthetisierte extrazelluläre Matrixprotein in einem sich entwickelnden Embryo. (Struktur: Abb. 19-55, S. 990)

Bei *Laminin* bindet eine Domäne an *Typ IV Collagen*, eine an *Heparansulfat*, eine an *entactin* und zwei oder mehr an Lamininrezeptorproteine an der Zelloberfläche. *Laminin* können sich selbst schichtähnlich zusammenlagern.

Entactin verknüpft *Laminin* und *Typ IV Collagen*, indem es an beide binden kann.

Genauere Funktionen der *Basal Lamina* an verschiedenen Orten:

Kapitel 19: Cell Junctions, Cell Adhesion, and the Extracellular Matrix

Der Nierenglomerulus hat eine aussergewöhnlich dicke *Basal Lamina*, die als Filter wirkt.

Heparansulfats scheinen eine wichtige Rolle zu spielen, da ohne diese GAG-Ketten die Filterfunktion zerstört ist.

Beim Epithel verhindert es den Kontakt zwischen *Fibroblasten* und *Epithelzellen*. Trotzdem ist es für Macrophagen, Lymphocyten und Nerven möglich hindurch zu kommen.

Bei Wunden, bei denen die *Basal Lamina* noch intakt ist, ist es möglich das Gewebe zu rekonstruieren. Dies wurde bei einem Versuch untersucht: (Abb.19-58, S. 993, Begriff: **junctional basal lamina**). Was auch gezeigt wird, dass *junctional basal lamina*, die *neuromuscular junctions* hervorrufen, dort ein Protein enthalten, das *agrin*. Dieses *Agrin* scheint von den Neuronen ausgeschieden zu werden.

19.3.6 Kontrollierter Abbau der extrazellulären Matrix

Einerseits gibt es den steten Turnover der extrazellulären Matrix., andererseits wird die Matrix gezielt abgebaut, um Zellmigration zu ermöglichen (wichtig auch bei Krebs, bei der Metastasis). Bei allen Prozessen handelt es sich um einen Abbau, der von extrazellulären Proteinenzymen durchgeführt wird. Es gibt zwei Klassen: **Metalloproteasen**, die abhängig von gebundenen Ca^{2+} oder Zn^{2+} für ihre Aktivität sind. **Serinproteasen**, die hochreaktiv bei Serinresten in ihrer „active site“ sind. Die beiden Arten bauen Matrixproteine, wie *Collagen*, *Laminin* und *Fibronectin* ab. Das Zerstören der strukturellen Einheit der Matrix ist mit einer relativ limitierten Anzahl an Proteolysen möglich.

Zellmigration ist also mit wenigen Proteolysen machbar.

Eine wichtige Serinprotease ist *urokinasetyp plasminogen activator (U-PA)*. Sie löst eine proteolytische Kaskade aus. Ihr Ziel ist *plasminogen*, das ein inaktiver Serinproteasevorläufer im Blut ist. Dieser wird durch U-PA zum aktiven *plasmin*, das eine hohe Spezifität für Proteinspaltung bei *Fibrin*, *Fibronectin* und *Laminin* besitzt (wichtige Bestandteile der Wundheilung und Blutgerinnung).

Die meisten Proteasen werden inaktiv ausgeschieden und erst an Ort und Stelle aktiviert.

Ausserdem wird die Aktivität mit Inhibitoren eingeschränkt und kontrolliert. (*tissue inhibitors of metalloproteases (TIMPs)* und *serpins* bei Serinproteasen). Dabei wird nicht nur die Matrix geschützt sondern auch die Zelloberflächenproteine.

Es gibt auch Zellen die U-PA auf ihrer Zelloberfläche haben. Diese wurden Nervenzellen am wachsenden Ende, bei weissen Blutzellen, aber auch bei Krebszellen (Metastase) gefunden. Es ist also sehr wahrscheinlich notwendig bei Zellmigration, um sich einen Weg zu bahnen. (Abb. 19-59, S. 994)

(Summary: S.995)

19.4 Extrazelluläre Matrixrezeptoren bei Tierzellen: Integrine

Die eigentlichen Matrixrezeptoren bei Tierzellen, die *Collagen*, *Fibronectin* und *Laminin* binden, sind die **Integrine**. Es ist eine grosse Familie von homologen Transmembranlinkerproteinen. *Integrine* haben eine relativ geringe Affinität und haben normalerweise eine 10-100-mal höhere Konzentration an der Zelloberfläche als Rezeptoren für Hormone oder andere lösliche Signalmoleküle. Dies macht Sinn. So kann die Zelle die Umgebung wahrnehmen, ohne den Kontakt zu verlieren und klebt dennoch nicht irreversibel an der Matrix fest.

19.4.1 Integrine: Aufbau

Integrine bestehen aus zwei nicht kovalent gebundenen Transmembranglycoproteinen, den

Untereinheiten α und β (Abb. 19-60, S. 996). Einige *Integrine* binden mehrere Matrixmakromoleküle, andere sind sehr selektiv.

Die Ausbildung einer Bindung hängt von den extrazellulären zweiwertigen Kationen (Ca^{2+} oder Mg^{2+}) ab, da die α -Kette eine drei- oder vierwertige Bindungsdomäne im extrazellulären Bereich besitzt.

Die Kationen können die Affinität sowie die Spezifität der Bindung zwischen *Integrin* und Ligand beeinflussen. Die genaue Bedeutung ist aber noch nicht verstanden.

Bis jetzt wurden 20 Integrinheterodimere gefunden, zusammengesetzt aus 9 Typen von β -Untereinheiten und 14 Typen von α -Untereinheiten.

β_1 : Dimere mit 9 verschiedenen α -Ketten, die in fast allen vertebraten Zellen gefunden werden.

$\alpha_5\beta_1$: Fibronectinrezeptor

$\alpha_6\beta_1$: Lamininrezeptor in den meisten Zelltypen

β_2 : Dimere mit 3 verschiedenen α -Ketten. Nur an der Oberfläche von Weissen Blutzellen. Spielen eine grosse Rolle bei der Bekämpfung von Infektionen

$\alpha_L\beta_2$ oder *LFA-1*: bei Lymphocyten

$\alpha_M\beta_2$ oder *Mac-1*: bei Macophagen

Kapitel 19: Cell Junctions, Cell Adhesion, and the Extracellular Matrix

β_2 *Integrine* bilden mehr Zell-Zell- als Zell-Matrixbindungen aus.

Krankheit, *leucocyte adhesion deficiency*: β_2 können nicht mehr synthetisiert werden. Da die Weissen Blutzellen keine β_2 -Rezeptoren mehr besitzen, leiden die Patienten häufig an Bakterieninfektionen.

β_3 *Integrine* findet man bei Blutplättchen. Sie binden unter anderem *Fibrinogen* und fördern so die Blutgerinnung.

Krankheit, *Glanzmann's disease*: Sie haben zu wenig β_3 *Integrine*. Es blutet viel stärker.

Kapitel 19: Cell Junctions, Cell Adhesion, and the Extracellular Matrix

19.4.2 Cytoskeleton, Integrin, Extrazelluläre Matrix

Die meisten *Integrine* binden an Bündel von Actinfilamenten. Das zytoplasmatische Ende der β -Kette bindet an *talín* und α -actinin und initiiert dadurch die Bildung eines intrazellulären attachment-Protein-Komplex, der das *Integrin* an das Actinfilament im Zellcortex heftet. (*focal contact*).

Die extrazelluläre Matrix kann die Organisation des Zytoskeleton beeinflussen sowie umgekehrt. So kann die extrazelluläre Matrix im Prinzip die Ordnung von Zelle zu Zelle weitergeben. (Abb. 19-62, S. 998)

19.4.3 Regulierungen

Bei Blutzellen werden die *Integrine* aktiviert, bevor sie Zelladhäsionen ausführen. Da diese *Integrine* nicht von neuem synthetisiert werden müssen, sondern inaktiv schon vorhanden sind, ist die Antwort auf Signale schnell. Ein Beispiel ist die Aktivierung der β_3 *Integrine* in den Blutplättchen, bei der Blutgerinnung, wo es durch die Konformationsänderung zu einer hohen Affinität gegenüber *Fibronectin* kommt. Andere Begebenheiten können *Integrine* auch inaktivieren. Die Phosphorylierung des Serinrestes am zytoplasmatischen Ende des β_1 während der Mitose führt dazu, dass *fibronectin* nicht mehr gebunden werden kann. Dies erklärt eventuell, warum die Zellen rund werden und sich lösen während dieser Zeit. (Abb. 19-63, S. 999)

Die extrazelluläre Matrix kann meist über *Integrine* die Form, Polarität, Metabolismus, Entwicklung und Differenzierung der Zelle beeinflussen. Gruppen von *Integrinen* generieren wahrscheinlich intrazelluläre Signale, indem sie eine Anhäufung von Signalkomplexen an der Zytoplasmaseite der Membran initiiert, ähnlich wie auch der Weg des *growth factor Rezeptors tyrosine kinase* funktioniert (Kap. 15). Es scheint das für eine optimale Zellantwort beide Wege, *Integrine* und *growth factors*, benötigt werden.

(Summary: S.999-1000, Übersicht (Cell-Cell Adhesion, Cell-Matrix Adhesion): Tab.19-5, S. 1000)

19.5 Pflanzliche Zellwand

Die neuen Zellen sind klein im Verhältnis zu ihrer Grösse zum Schluss. Weil sie noch wachsen müssen, ist ihr **primary cell wall** dünn und nur halbfest. Wenn sie nicht mehr wachsen, wird ein fester **secondary cell wall** aufgebaut, indem sie entweder die erste verdickt oder eine zweite mit anderen Komponenten unterhalb der Ersten aufbaut. Die Zellwände werden verschieden produziert, je nach Spezialisierung der Zelle. Dadurch können Zellen erkannt und klassifiziert werden. Das Konstruktionsprinzip ist trotzdem gleich. Ihre Druckkräfte werden von langen *fibers* erhalten. Die Kompressionsresistenz kommt von einer Matrix von Proteinen und Polysacchariden, die in den *fibers* eingelagert sind. In Zellwänden von höheren Pflanzen bestehen die Polysaccharide vor allem aus **Cellulose**, die andern zwei Typen sind **Hemicellulose** und **Pectin**.

Die Flüssigkeit ausserhalb der Zelle ist hypertonisch gegenüber der externen Pflanzenumgebung, aber gegenüber dem Zellplasma hypotonisch. Daher kommt es zu einem *turgor pressure* in der Zelle, die nach aussen auf die Zellwand drückt. Dies ist wichtig, weil es die einzige treibende Kraft beim Zellwachstum ist und eine mechanische Festigkeit im lebenden Pflanzengewebe ergibt.

Cellulose ist über H-Brücken miteinander verbunden. Es kommt zu einem Bündel von 60-70 Celluloseketten, die die gleiche Polarität besitzen und sich parallel ausrichten. Die kristalline Anordnung wird **cellulose microfibrils** genannt. Diese *cellulose microfibrils* organisieren sich in Schichten. Die Schichten werden mit Hemicellulosemolekülen miteinander verbunden.

Hemicellulose ist eine heterogene Gruppe von verzweigten Polysacchariden, die fest über H-Brücken an Cellulose oder seinesgleichen bindet. Zu diesem Netzwerk kommt ein anderes, das aus **Pectin** aufgebaut ist. Es ist auch eine heterogene Gruppe, die aus verzweigten Polysacchariden besteht, die aber stark negativ geladen ist, da sie galacturonic acid Reste enthält. Wegen ihrer Ladung ist sie stark hydratisiert und eine Gruppe von Kationen ist auch darin solvatisiert. (Abb. 19-65, S. 1002) Spezielle **Pectine** scheinen vorallem in der *middle lamella* vorzukommen. Die *middle lamella* ist eine spezialisierte zentrale Region, wo die Zellwände mit einander verbunden sind, wie mit Ca^{2+} cross-linker.

Wenn Zellen wachsen oder ihre Form ändern, müssen die Microfibrillen wegen ihrer kristallinen Struktur übereinandergleiten oder separiert werden oder beides. Die Wachstumsrichtung ist abhängig von der Anordnung der Cellulosemicrofibrillen. Diese wird beim Aufbau von der Zelle bestimmt. Auch wenn die ersten äusseren Schichten eine andere Orientierung haben, so beeinflusst nur die innere Schicht hauptsächlich die Expansionsrichtung.

Eine wertvolle Entdeckung war, dass die Zytoplasmamikrofilament gleich ausgerichtet sind wie die gerade synthetisierten Cellulosemicrofibrillen. Dieser sogenannte *cortical array* liegt nahe der Zellmembran (innerhalb der Zelle). Als man diese Struktur zerstörte, sah man aber, dass die Orientierung der Cellulose trotzdem beibehalten wurde. Es scheint, dass die vorherigen Fibrillen die

Kapitel 19: Cell Junctions, Cell Adhesion, and the Extracellular Matrix

Orientierung weitergeben. Die neu synthetisierten Fibrillen bilden indirekte Cross-links mit der bestehenden Schicht aus.

Die Mikrotubuli in der Zelle können aber die vorbestimmte Orientierung ändern. Sie bauen „Grenzen“ auf, die die Bewegung der synthetisierten Komplexe kanalisiert. (Abb. 19-69, S. 1005)

So kontrollieren die Zellen, in welche Richtung sie in Zukunft wachsen.

(Summary: S. 1006)

Zusammenfassung Kapitel 20 (Germ Cells and Fertilization)

Sexuelle Fortpflanzung (Grösstenteil Repetition)

Die meisten Organismen vermehren ihre Zellen während der diploiden Phase
Einige primitiven Organismen befinden sich meist in der haploiden Phase, diploide Zellen gehen direkt zur Meiose über.

Höhere Pflanzen haben sowohl eine (lange) diploide Phase als auch eine (kurze) haploide Phase. Bei mehrzelligen Tieren existieren haploide Zellen nur kurz, teilen sich nicht und sind auf sexuelle Vereinigung ausgerichtet (Gameten). Man spricht von einer Keimbahn, die Körperzellen werden somatische Zellen genannt.

Fig 20-3

Sinn der sexuellen Fortpflanzung: vorteilhafte Mutationen, die unabhängig voneinander entstanden sind, können kombiniert werden und stellen keine Konkurrenz füreinander dar.

Meiose (Repetition):

Fig 20-5

In der Meiose müssen homologe Chromosomen einander erkennen, dieser Vorgang ist noch nicht genau verstanden.

Nondisjunction: I. oder II. meiotische Teilung findet nicht richtig statt, homologe Chromosomen bzw Schwester-chromatiden trennen sich nicht. Dadurch entsteht je eine Zelle mit einem Chromosom zuviel und eine mit einem Chromosom zuwenig. Meistens sind diese entstehenden Zellen nicht lebensfähig, Ausnahme ist zum Beispiel die Trisomie 21 (Down-Syndrom), dort ist das 21. Chromosom dreifach vorhanden.

Gene werden auf zwei Arten vermischt:

Mütterliche/ Väterliche Chromosomen werden zufällig verteilt

Fig 20-7

Während der meiotischen Prophase I finden **Crossing-over** statt (gut sichtbar als **Chiasmata** am Ende der 1. Meiotischen Teilung, wenn die Chromosomen kondensiert sind).

Fig 20-7

Die I. meiotische Prophase ist in fünf Phasen aufgeteilt:

Fig 20-9

- Leptotän
- Zygotän: Synaptonomaler Komplex beginnt sich zu bilden
- Pachytän: beginnt mit vollendeter Synapse, dauert normalerweise Tage
- Diplotän: Desynapse beginnt
- Diakinese

Synapse: Paarung der homologen Chromatiden

Desynapse: Trennung der homologen Chromatiden

Wie genau die Synapse stattfindet, ist noch unklar. Eine wichtige Rolle spielt dabei der synaptonemale (oder synaptische) Komplex, dies ist ein leiterartiges Protein, welches sich zwischen den Chromatiden bildet.

Fig 20-10

Eine ebenfalls wichtige Rolle spielen die **Knoten**, das sind grosse (90nm Durchmesser) Proteinansammlungen, die wie Bälle auf dem synaptonemalen Komplex liegen. Sie dienen vermutlich als Vermittler, dafür gibt es folgende Hinweise:

- Ihre Anzahl entspricht der Anzahl Chiasmata
- Ihre Verteilung entlang des synaptonemalen Komplexes entspricht der Verteilung der Crossing-over (zb nicht nah beieinander)
- In einer Drosophila-Mutation, welche zu einer abnormalen Verteilung der Crossing-over führt,

sind entsprechend auch die Knoten abnormal verteilt. Dies ist ein Hinweis darauf, dass die Knoten die Stellen der Crossing-over bestimmen.
Radioaktive DNA-Vorläufer werden bevorzugt in die Nähe von Knoten in die pachytäne DNA aufgenommen

Chiasmata:

Spielen eine wichtige Rolle bei der I. meiotischen Teilung, ihre Funktion ist analog zu jener der Centromeren bei der II. meiotischen Teilung. Falls es zu wenige Chiasmata gibt, kann es zu Nondisjunction kommen.

Fig 20-11

Kinetochore: Bei der I. meiotischen Teilung zeigen die Kinetochore der Schwesterchromatiden in dieselbe Richtung, bei der II. meiotischen Teilung hingegen in entgegengesetzte Richtungen.

Auch die Sexchromosomen paaren sich: das X- und Y-Chromosom haben einen kurzen **homologen Teil** am Ende, dort finden Crossing-over statt. Die beiden durchlaufen wie alle anderen Chromosomen die beiden meiotischen Teilungen.

Anmerkungen zur Meiose:

Fig 20-12

Prophase I ist sehr lang, macht bis zu 90% der Meiose aus und dauert Tage bis Jahre. Eigentlich ist es eher eine G2-Phase, da die Zellhülle sich erst beim Eintritt in die Metaphase I auflöst.

Nach der I. meiotischen Teilung findet eine kurze Interphase statt, während der die Chromosomen dekontensieren und sich eine Zellhülle bildet. Kurz darauf kondensieren die Chromosomen wieder und die Meiose II beginnt. Diese entspricht im Wesentlichen einer Mitose, mit dem Unterschied, dass von jedem Chromosom nur eine Kopie vorhanden ist. Am Ende der Meiose sind vier haploide Zellen aus einer diploiden entstanden.

Eizellen

- Eizellen können durch chemische oder physische Behandlung künstlich aktiviert werden.
- Parthenogenese: unbefruchtete Eier entwickeln sich zu Tieren (z.B. bei Eidechsen)
- Eizelle ist hochspezialisiert und trotzdem totipotent
- Grösse der Eizelle:
 - Mensch 100µm
 - Frösche, Fische: 1-2mm
 - Vögel, Reptilien: mehrere cm
 - Vergleich: somatische Zelle: 10-20µm

Dotter:

Eizellen sind so gross, dass sie alles Material enthalten, das zur Entwicklung des Embryos benutzt wird. Säugereizellen sind kleiner, da sie Nährstoffe von der Mutter aufnehmen können. Die Reserven sind in Form des Dotters in der Eizelle gespeichert, dieser ist lipid- und proteinreich und enthält normalerweise **Dotterkörner** (yolk granules), welche je nach Spezies von einer Membran umgeben sein können. Dotter wird normalerweise ausserhalb der Ovarien gebildet und in die Oozyten importiert. In Vögeln, Reptilien und Amphibien wird es von der Leber hergestellt, ins Blut sekretiert und in den Ovarien von den Oozyten aufgenommen durch Rezeptor-vermittelte Endozytose

Eihülle (Zona Pellucida)

- Besteht v.a. aus Glycoproteinmolekülen
- z.T. von der Eizelle, z.T. von umliegenden Zellen synthetisiert
- heisst bei Nicht-Säugetieren **Vitellinschicht** (vitelline layer)
- relativ dicke Schicht, direkt ausserhalb der Plasmamembran, schützt vor mechanischen Schäden und artfremden Spermien

Oft werden zusätzliche Schutzzellen synthetisiert, so z.B. das Eiweiss (Albumin) und die Schale beim Vogelei, wenn es nach der Befruchtung durch den Eileiter wandert. In Insekteneiern ist die Vitellinschicht vom **Chorion** umgeben, welches von Follikelzellen gebildet wird.

Entwicklung der Eizelle (Oogenese):

- Variiert in unterschiedlichen Spezies, grundlegende Schritte sind jedoch gleich:
- Primordiale Keimzellen wandern in die Gonaden und werden zu Oogonia

- Oogonia teilen sich mehrmals mitotisch, differenzieren dann zu primären Oozyten
- Meiose I beginnt
- In der Prophase I (Chromosomen kondensiert, Chiasmata vorhanden) bleibt die Entwicklung während Tagen bis Jahren stehen (ähnlich der G2-Phase). Während dieser Phase synthetisiert die primäre Oozyte eine Hülle, **Rindengranula** und (ausser bei Säugetieren) sammelt Ribosomen, Dotter, Lipide, Glykogen und mRNA an.
- „lampbrushappearance“: Zeichen, dass Chromosomen mit der RNA-Synthese beschäftigt sind.

Oozytenreifung (oocyte maturation):

- Beginnt normalerweise mit sexueller Reife, durch Hormone stimuliert
- Zelle beendet I. meiotische Teilung durch asymmetrische Teilung in ein **Polkörperchen** (polar body) und in eine grosse sekundäre Oozyte
- II. meiotische Teilung findet statt: In der Anaphase II teilt sich die sek. Oozyte wiederum asymmetrisch, es entsteht ein zweites Polkörperchen und ein Ovum (Eizelle)
- Die beiden Polkörperchen degenerieren.
- In den meisten Vertebraten bleibt die II meiotische Teilung in der Metaphase II stehen, bis die Eizelle befruchtet wird.

Fig. 20-16

Eizellen müssen spezielle Mechanismen haben, dass sie innerhalb einer relativ kurzen Zeit eine derartige Grösse erreichen können. Strategien dazu:

- Extra-Kopien von Genen in der Zelle vorhanden haben
- Zelle während der Prophase wachsen lassen, wenn die Chromosomen doppelt vorliegen
- In manchen Amphibien werden Gene 1-2 Millionen mal amplifiziert (Besonders Ribosomale-RNA-Gene)

Nährstoffe können auch von Nachbarzellen in die Ovarien gelangen, es gibt davon zwei Typen:

Fig 20-17

- In Invertebraten: **Nährzellen** (nurse cells): aus Vorläufern der Oogonia entstanden, mit den Oozyten durch cytoplasmatische Brücken verbunden. Sie liefern z.B Ribosomen, mRNA, Proteine
- **Follikelzellen** (Invertebraten und Vertebraten): somatische Zellen, als Epithelschicht um Oozyte gelegt und durch „gap junctions“ verbunden (nur kleine Moleküle können durch). Sie liefern Bausteine für Makromoleküle sowie manchmal Makromoleküle, die für die Eihülle verwendet werden, durch Rezeptor-vermittelte Endozytose in die Oozyte aufgenommen werden oder die axiale Asymmetrie der Eizelle steuern.

Fig 20-18

Spermien

- Aufbau: Kopf- und Schwanzteil
- **Acrosomales Vesikel**: Enthält hydrolytische Enzyme, diese werden in der acrosomalen Reaktion (bei Kontakt mit Eizelle) freigesetzt.
- Ribosomen, Golgi-Apparat, ER fehlen
- Anstelle der Histone oft Protamine vorhanden
- Im Mittelstück befindet sich ein aus mehreren Mitochondrien fusioniertes, spiralförmiges Mitochondrion
- Ein 9+2 Axonem zur Bewegung des Flagellums befindet sich im Mittelstück, es ist umgeben von 9 äusseren dichten Fasern („outer dense fibers“), deren genaue Funktion noch unbekannt ist. Die Bewegung des Flagellums wird durch **Dynein-Proteine** gesteuert

Fig. 20-19

Fig. 20-20

Kap. 16

Bildung der Spermien (Spermatogenese):

- Unterschiede zur Eizellenbildung:
- Neue Zellen werden ab der Pubertät kontinuierlich gebildet
- Jede Zelle, die die Meiose beginnt, bildet schliesslich vier Spermien
- Die Differenzierung zu Spermien findet statt, nachdem die Meiose abgeschlossen ist.

Fig. 20-21

Die Bildung findet in den **Samenkanälchen** statt. Spermatogonia befinden sich direkt an der Basallamina, wo sie sich kontinuierlich teilen. Einige davon differenzieren zu primären Spermatozyten. Diese durchlaufen die I. meiotische Teilung (es entstehen zwei sekundäre Spermatozyten) und die II. meiotische Teilung (vier Spermatiden entstehen) und differenzieren dann zu Spermien. Die Spermien werden ins Lumen entlassen und gelangen von dort in die **Epididymis** (Nebenhoden), wo sie gespeichert werden und reifen.

Fig 20-22

Während der Spermatogenese bleiben die Tochterzellen durch cytoplasmatische Brücken

verbunden. Dadurch können sie von den Proteinprodukten eines diploiden Genoms profitieren.

Fig. 20-23

Befruchtung

Im Ovidukt angelangt, muss ein Spermium die Lipid- und Glykoproteinzusammensetzung seiner Plasmamembran verändern. Der genaue Mechanismus ist noch unklar.

Vorgang:

- 200 von 300 Mio der bei der Ejakulation freigesetzten Spermien erreichen den Ovidukt
- Spermium durchdringt Follikelzellenschicht
- Zona Pellucida muss durchdrungen werden
- Zona Pellucida besteht aus drei Glycoproteinen:
 - **ZP2** und **ZP3** bilden Filamente, **ZP1** verbindet diese zu einem 3D-Netzwerk
 - ZP3 wirkt als Spermienrezeptor: Ein Molekül auf dem Spermienkopf (möglicherweise das Enzym Galactosyltransferase) bindet an sauerstoffgebundene Oligosaccharide auf dem ZP3

Acrosomale Reaktion:

- Entlässt Proteasen und Hyaluronidasen (essentiell für Penetration der Zona Pellucida)
- Setzt Proteine auf der Oberfläche des Spermiums frei, welche an ZP2 binden und somit helfen, das Spermium festzuhalten.

Polyspermie: Mehr als ein Spermium fusioniert mit der Eizelle

Verhinderung der Polyspermie:

- primärer Block (kurzfristig): Membranpotential wird durch Fusion des ersten Spermiums verändert
- Sekundärer Block: Corticalreaktion der Eizelle

Corticalreaktion der Eizelle:

Wenn das Spermium mit der Plasmamembran fusioniert, wird die **Inositol-Phospholipid Signalkaskade** (inositol phospholipid cel-signaling pathway) aktiviert. Dies hat zur Folge, dass die Ca^{2+} -Konzentration in der Eizelle erhöht wird, worauf die corticalen Vesikel ihren Inhalt durch Exozytose entleeren. Diese Aktivierung kann auch durch künstliche Erhöhung des Ca^{2+} -Gehalts erfolgen. Die Enzyme in den corticalen Vesikeln verhärten die Zona Pellucida, indem sie u.a. ZP2 proteolytisch spalten und Zuckergruppen an ZP3 hydrolisieren. Durch die Erhärtung können keine Spermien mehr binden.

Kap. 15

Fig. 20-26

Der Nucleus des Spermiums und der Eizelle nähern sich einander, die Membranen brechen auf und eine Spindel bildet sich. Die Centriole des Spermiums ist dabei manchmal an der Spindelbildung beteiligt. In der Eizelle hat es zwar ein Centrosom aber keine Centriole.

Fig. 20-28

Fusionierung:

Nachdem das Spermium die Zona Pellucida durchdrungen hat, belegt es die **Microvilli** auf der Eizellenoberfläche. Von denen verlängern sich einige, halten das Spermium fest. Die Microvilli werden resorbiert und die ganze Spermienzelle wird kopfvoran in die Eizelle gezogen.

Transmembranprotein PH-30 auf der Spermienoberfläche:

- Spielt eine grosse Rolle bei der Bindung der Spermienzelle an die Eizellenplasmamembran und der Fusionierung der beiden Plasmamembranen.
- Aufgebaut aus **α - und β -Untereinheit**:
 - α -Untereinheit: enthält Untereinheit aus ca. 20 Aminosäureresten, welche einer fusiogenen Region von viralen Fusionsproteinen gleicht
 - β -Untereinheit: enthält Untereinheit ähnlich einer Domäne, die an Integrin (Zelloberflächenrezeptor) bindet. β -Untereinheit bindet vermutlich an einen Rezeptor auf der Eizelle

Fig. 20-17

Durch diese Erkenntnisse werden neue Ansätze für empfängnisverhütende Mittel geschaffen, eine dieser Ideen wäre, durch Antikörper PH-30 oder ZP3 zu blockieren.

21 Cellular Mechanisms of Development

Morphogenetic Movements and the Shaping of the Body Plan

Focus: How cells move into the correct positions?

How cells adopt the correct differentiated characters?

The traditional 3 Phases in the development of a vertebrate are

1. Cleavage of the fertilized egg, Gastrulation and Neurulation, Creation of the basic body plan with a rudimentary gut cavity and a neural tube.
2. Organogenesis: rudiments of various organs (exp. limbs, eyes, heart) are formed.
3. The tiny structures that have been generated in organogenesis proceed to grow to their adult size.

The Polarity of the Amphibian Embryo Depends on the Polarity of the egg

Different Distribution of yolk, mRNA and other cell components defines a **vegetal pole**, the lower end of the egg, and an **animal pole**, the upper end.

The vegetal end of the egg is destined to form internal tissues (in particular, the gut), and the animal end, external ones (such as the skin).

A complex series of cell movements, one is called Gastrulation, will establish the 3 principal axes of the body: anteroposterior, from head to tail; dorsoventral, from back to belly; and mediolateral, from the median plane outward to the left or to the right.

The first morphogenetic movement following fertilization of a frog's egg is the **cortical rotation**, which defines a dorsoventral difference: the egg cortex rotates through about 30° relative to the core of the egg in a direction determined by the site of sperm entry and the grey crescent (grauer Halbmond) becomes visible.

Cleavage Produces Many Cells from One

After the cortical rotation has been completed (about 1 hour), the large single cell subdivides by repeated mitosis in many smaller cells, called **blastomeres**, without any change in total mass.

After about 12 cycles of cleavage (7 hours), the cell division rate slows down abruptly, and transcription of the embryo's genome begins. This change, known as the **mid-blastula transition**, is triggered by attainment ¹ of a critical ratio of DNA to cytoplasm.

The Blastula Consists of an Epithelium Surrounding a Cavity

At about a 16-cell stage, as result of the creation of an osmotic pressure gradient (Na⁺-pump activity), the intercellular spaces inside the embryo enlarge to form a single cavity, the **blastocoel**. The embryo is now termed a **blastula**. The cells that form the exterior of the blastula are organized as an epithelial sheet, which will be important for gastrulation.

Gastrulation Transforms a Hollow Ball of Cells into a Three-layered Structure with a Primitive Gut

Gastrulation is the formation of a gut by tucking cells from the exterior of the early embryo into the interior.

Subsequent development depends on the interactions of the inner, outer, and middle layers of cells thus formed.

The three primary **germ layers** are: the innermost layer, the tube of the primitive gut, is the **endoderm**; the outermost layer, the epithelium, is the **ectoderm**; and between, the looser layer of tissue composed of mesenchyme cells is the **mesoderm**.

In *Xenopus*, the site where invagination starts defines the dorsal lip of the blastopore. The blastopore is a line of invagination that eventually curves around to encircle the vegetal pole. (Figure 21-6)

Gastrulation Movements Are Organized Around the Dorsal Lip of the Blastopore

The dorsal lip of the blastopore plays a central role as the source of a controlling influence and is known as the **Organizer** (or Spemann's Organizer). If transplanted, it organizes the formation of a second set of body structures, and a double embryo results (Siamese twins). (Figure 21-7)

Active Changes of Cell Packing Provide a Driving Force for Gastrulation

The movements seems to be mainly driven by active repacking of the cells, especially those in the dorsal part of the marginal zone neighboring the blastopore lip. Here **convergent extension** occurs. (Figure 21-9)

The Three Germ Layers Formed by Gastrulation Have Different Fates

Endoderm: primordium of the digestive tract, from mouth to the anus
Gives rise to the pharynx, esophagus, stomach, intestines and many associated glands. Epithelial components of liver, lungs, pancreas, trachea, etc.

Mesoderm: Notochord
Muscular, vascular and connective system
Bone, cartilage and fibrous tissues
Supporting muscular and fibrous elements of internal Organs
Urogenital system

Ectoderm: Nervous system (Neurulation: formation of a neural tube, Figure 21-10)
Cells of the neural crest
Epidermis
Sense organs

The Mesoderm on Either Side of the Body Axis Breaks Up into Somites from Which Muscle Cells Derive

The mesoderm on either side of the newly formed neural tube breaks up into separate blocks, called **somites**, in a process called segmentation. (Figure 21-12) The somites develop into skeletal muscle, vertebrae and connective tissues.
Some cells of the somites migrate and form skeletal muscle elsewhere in the body.

Changing Patterns of Cell Adhesion Molecules Regulate Morphogenic Movements

Specific cell-adhesion molecules, such as cadherins and integrins, help to guide the migrations and control the selective cohesion of cells in epithelia.

Cell Diversification in the Early Animal Embryo

Focus: How the first steps of cell diversification are coordinated in early embryos, taking frog and mouse as examples.

Spatial Segregation of Determinants in the egg

Localized determinants arise from asymmetric distributions of cellular contents in the egg. The importance of such localized determinants varies from species to species.
It is traditional to distinguish two extremes: in **mosaic development** the whole future pattern of the body is delineated by localized determinants, no subsequent cell-cell interactions. In **regulative development** there are no localized determinants and the whole future pattern is generated entirely by subsequent cell-cell interactions.
In reality, none is truly mosaic; regulative interactions always play an important part. Mammalian eggs appear to be entirely regulative.

Inductive Interactions Generate New Types of Cells

To generate the full range of cell types, the blastomeres must interact with one another. The switching of cells one pathway into another by the influence of an adjacent group of cells is called **induction**. By a series of inductions, it is possible to generate many different kinds of cells from interactions between a few kinds. (Figure 21-22)

A Simple Morphogen Gradient Can Organize a Complex Pattern of Cell Responses

If a substance is produced at a point source and is degraded as it diffuses from that point, a concentration gradient results with a maximum at the source. The substance can serve as a

morphogen, whose local concentration controls their behavior of cells according to their distance from their source. (Figure 21-27). According to a threshold in their response to a smoothly graded signal, different cells can develop in an initially uniform population.

The Role of an Intracellular Clock

Cells can react differently to a signal according to the time when they receive it. Spatial pattern can be produced in this way. (Figure 21-28)

The general strategy of pattern formation can be summarized as follows:

1) patterns begin from simple asymmetries, 2) details are filled in sequentially through inductive cell-cell interactions, and the pattern of cell diversification that results depends both on 3) the positional signals between cells and on 4) intracellular programs that change a cell's response to these signals with time.

An Unusual Style of Early Development of the Mammalian Embryo

The mammalian embryo does many things differently from other animals.

It develops in the protected environment of the uterus, so it does not have to complete the early stages of development quickly as other species. Its cleavage divisions occur no more quickly than the divisions of ordinary somatic cells, and gene transcription has already begun by the two-cell stage. Moreover the egg does not have to contain large stores of yolk because of the placenta, which provides quickly nutrition from the mother.

The early stages of mouse development are summarized in Figure 21-29.

All the Cells of the Very Early Mammalian Embryo Have the Same Development Potential

The cells of the very early mammalian embryo, up to the eight-cell stage, are initially identical and unrestricted in their capabilities: they are all **totipotent**. Localized determinants apparently have no part to play in the mammalian egg. The development of a Mammalian is highly regulative. The fate of each cell is governed by interactions with its neighbours.

Through cell-cell interactions cells from two different early mouse embryos can adjust their fates and collaborate to form a single chimeric mouse.

Cell Memory, Cell Determination, and the Concept of Positional Values

Focus: How cells remember effects of past influences and pass them on to their descendants.

Cells Often Become Determined for a Future Specialized Role Before They Differentiate Overtly

For definition a cell is **determined**, if it has undergone a self-perpetuating change of internal character that distinguishes it and its progeny from other cells in the embryo and commits them to a specialized course of development. The term **differentiation** is generally reserved for overt cell specialization, that is, for a specialization of cell character that is grossly apparent. Usually, a cell becomes determined before it differentiates.

The State of Determination May Be Governed by the Cytoplasm or Be Intrinsic to the Chromosomes

Cell memory, as manifested in the phenomenon of determination, presents one of the most challenging problems in molecular biology. In the context of cell determination three broad categories of cell memory can be distinguished, which are called cytoplasmic, autocrine, and nuclear memory, respectively.

In **cytoplasmic memory** components encoded by the set of active genes are present in the cytoplasm and act back on the genome, directly or indirectly, to maintain the selective expression of that specific set of genes. An implication of this mechanism is that if a nucleus is taken from one type of differentiated cell and injected into the cytoplasm of another type, the pattern of gene expression should alter to match the character of the host cytoplasm.

The **autocrine memory** is a variant of the cytoplasmic, involving secreted molecules that act back on the cell with an important side effect: since neighbouring cells share the same extracellular environment, they will tend to behave **cooperatively**.

Nuclear memory depends on self-sustaining changes that are intrinsic to the chromosomes—changes that define the selection of genes to be expressed and yet leave the DNA sequence unaltered, X-chromosome inactivation and genomic imprinting for example.

Cells in Developing Tissues Remember Their Positional Values

Before cells become committed to a particular mode of differentiation, they usually become regionally specified; they acquire distinct biochemical address labels, or **positional values**, that reflect their location in the body. The cues that control the choice of positional value are said to provide the cell with positional information.

Cells in the early forelimb and hindlimb rudiments of a vertebrate embryo, for example, acquire different positional values, making forelimb and hindlimb cells non-equivalent in their intrinsic character, long before the detailed pattern of cell differentiation has been determined. In this way the final specification of how a limb cell should behave is built up combinatorially: first it is supplied with information as to whether it is to be leg or wing; then signals within the growing limb bud specify more fine-grained components of positional value, reflecting the precise position within the leg. (Figure 21-35)

The Pattern of Positional Values Controls Cell Proliferation and Is Regulated by Intercalation

In many cases growth and the pattern of positional values both depend in a closely coupled way on continuing cell-cell interactions.

Intercalary regeneration occurs, for example, when mismatched portions of an insect's limb are grafted together. The missing middle part of the pattern has regenerated. There seems to be a system of positional values in the insect epidermis that makes the cells at different positions along the limb axis non-equivalent, and that is intimately coupled to the control of cell proliferation.

This behavior is summed up in the **rule of intercalation**: *discontinuities of positional value provoke local cell proliferation, and the newly formed cells take on intermediate positional values so as to restore continuity in the pattern.*

C. Elegans: Developmental Control Genes and the Rules of Cell Behavior

Focus: The cells of the embryo can be likened to an array of little computers, or *automata*, operating in parallel and exchanging information with one another.

In this enterprise the nematode worm *Caenorhabditis elegans* offers some exceptional advantages, and it has become one of the foremost model systems in developmental genetics.

The Nematode Worm *C.Elegans* Is Anatomically and Genetically Simple

- 1 mm long
About 1000 somatic cells and 1000-2000 germ cells
Anatomy has been entirely reconstructed cell by cell
- The body plan is fundamentally the same as that of most higher animal
roughly bilateral symmetry and the same basic tissues (nerve, muscle, gut, skin)
organized in the same basic way (mouth and brain at the anterior, anus at the posterior end)
- *C. elegans* has two sexes: a male and a hermaphrodite (self-fertilization)
- The genome consists of 6 homologous pairs of chromosomes
estimated to carry a total of 3000 “essential” genes and about 16000 nonessential
100 Millions nucleotide pairs of DNA

Nematode Development Is Almost Perfectly Invariant

Because *C.elegans* is small and transparent, its individual cells can be followed as they divide, migrate, differentiate, and die in the living embryo, and their pedigree can be traced from egg to adult embryo.

The somatic structures develop by an invariant, predictable cell lineage, and each of the many cell divisions is precisely timed. This has made possible a detailed **lineage analysis**.

The nematode, like most animals, is formed from a relatively large number of cells that can be classified into a much smaller number of differentiated cell types.

Developmental Control Genes Define the Rules of Cell Behavior That Generate the Body Plan

Developmental control genes, identified by **mutations** that will disturb the body plan, can be classified according to the parts of the lineage tree that are affected and according to the rules of cell behavior for which they are responsible.

To illustrate the principles of genetic analysis of a development mechanism, we discuss one example of a cell-cell interaction in the nematode- the induction of the vulva.

Induction of the Vulva Depends on a Large Set of Developmental Control Genes

The vulva is the egg-laying orifice in a hermaphrodite, a ventral opening in the hypodermis (skin) formed by 22 cells. A single nondividing cell in the gonad, called **anchor cell**, attaches the developing vulva to the overlying gonad (the uterus) to create a passway through which the egg can pass to the outside world.

The anchor cell induces vulval differentiations in *C.elegans* just as the vegetal blastomeres induce mesodermal differentiation in the early *Xenopus* embryo. (Figure 21-41)

More than 30 distinct identified genes have been implicated in the control of vulval development.

Molecular genetic analysis reveals the individual functions of these genes and shows that several of them code for components of a signaling pathway that operates in vertebrates too. (Figure 21-44 and 21-45).

The Tempo of Development Is Not Controlled by the Cell-Division Cycle

A fundamental question in development is: How is the division cycle regulated in development, and how is it coordinated with cell specialization?

The evidence has risen that cells in developing embryos frequently go on to differentiate in an almost normal way even when cell division is artificially prevented. It seems clear that cell divisions are not the ticks of a clock that sets the tempo of development. Rather, the cell changes its chemical state with time regardless of cell division, and this changing state controls both the decision to divide and the decision as to when and how to specialize.

Cells Die Tidily as a Part of the Program of Development

A *C. elegans* hermaphrodite generates 1030 somatic cell nuclei in the course of its development, but 131 of the cells die. These **programmed cell deaths** occur in an absolutely predictable pattern, and they create no mess. The normal cell death occurs by a process known as apoptosis, in which the cell nucleus becomes condensed, the cell itself shrivels, and the shrunken corpse is rapidly engulfed and digested by neighboring cells. (Figure 21-46)

Cell death may be as important as cell division in generating an individual with the right cell types in the right numbers and places.

Both the mechanism of programmed cell death and its regulation have been highly conserved in evolution from worms to humans, confirming that the ability to commit suicide in this way is a fundamental property of animal cells.

***Drosophila* and the Molecular Genetics of Patten Formation**

I.Genesis of the Body Plan

Focus on the mechanisms of genetic control of body structures.

The first section deals with event in the early embryo and describes how the basic body plan is created.

The second section deals with later events and discusses the genetic apparatus that endows cells with positional values that make the cells of one segment different from those of their next.

The Insect Body Is Constructed by Modulation of a Fundamental Pattern of Repeating Units

The timetable of *Drosophila* Development, from egg to adult, is summarized in Figure 21-48. The fly consists of a head, three thoracic segments (numbered T1 to T3) and eight or nine abdominal segments (numbered A1 to A9). Each segment, although different from the others, is built according to a similar plan. The quasi-repetitive segmentation develops in the early embryo during the first few hours after fertilization (Figure 21-49).

At the two ends of the animal, however, there are highly specialized terminal structures that are not segmentally derived.

Segmentation in *Drosophila* can be described in terms of either segments or parasegments: the relationship is shown in Figure 21-50.

***Drosophila* Begins Its Development as a Syncytium**

Like the egg of other insects, *Drosophila* begins its development in an unusual way: a series of nuclear divisions without cell division creates a syncytium and no segmentation is visible. Although in this syncytial blastoderm stage a fate map can be drawn showing the future segmented regions (Figure 21-50). After another four rounds of nuclear divisions, plasma membranes grow inward from the egg surface to enclose each nucleus, thereby converting the syncytial blastoderm into a cellular blastoderm consisting of about 6000 separate cells (Figure 21-51). Gastrulation follows as soon as cellularization is complete. Through coordinated cell movements, endodermal cells are invaginated into interior to form the gut extending along the axis of the embryo. Mesoderm surrounds the gut rudiment and occupies the space between it and an enveloping layer of ectoderm on the exterior.

As gastrulation nears completion, a series of indentations and bulges appear in the surface of the embryo, marking the subdivision of the body into parasegments along its anteroposterior axis.

Two Orthogonal Systems Define the Ground Plan of the Embryo

Two coordinates are needed to define each position in the blastoderm, and, correspondingly, one can distinguish two sets of **egg-polarity genes** that specify independently the two main axes of the embryo – the dorsoventral and the anteroposterior. These genes define the spatial coordinates of the embryo by setting up a morphogen gradient in the egg (Figure 21-53).

The four primary spatial signals – anterior, posterior, terminal, and ventral – organize the subsequent patterning of the embryo by governing the expression of other sets of genes, which serve to interpret, refine, and record the positional information that the primary signals supply.

The Patterning of the Embryo Begins with Influences from the Cells Surrounding the Egg

The egg-polarity genes are transcribed from the maternal genome during oogenesis, and their products act very soon after fertilization. Thus the phenotype of the embryo is determined by the alleles present in the mother (and in her oocytes) rather than by the combination of genes possessed by the embryo itself. Genes acting in this way are called **maternal-effect genes**.

To see how the patterns are set up inside the egg, we focus first on the dorsoventral system.

A Gene Regulatory Protein with a Graded Intranuclear Concentration specifies the Dorsoventral Axis Inside the Embryo

The role of the follicle cells in establishing the dorsoventral gradient in the *Drosophila* egg is to provide a localized signaling molecule that binds to a receptor on the outside of the egg and thereby controls the distribution of a gene regulatory protein inside the egg.

The signal molecule binds to transmembrane receptors in the ventral surface of the egg, leading ultimately to a graded intranuclear concentration of the gene regulatory protein Dorsal along the dorsoventral axis of the early embryo. The Dorsal protein regulates expression of other genes, including *dpp*, whose product acts in turn as a morphogen to specify finer subdivisions of the dorsoventral axis, like the early inductive signals that operate in *Xenopus*. See Figure 21-56.

The anterior and posterior systems of egg-polarity genes, by contrast, set up gradients that depend instead on localized accumulations of specific mRNAs inside the egg (see Figure 21-57). The posterior system Specifies germ cells as well as posterior body segments.

mRNA Localized at the Anterior Pole Code for a Gene Regulatory Protein That Forms an Anterior Morphogen Gradient

In the case of the anterior group of egg-polarity genes, the gradient arises from a localized deposit of mRNA, the product of the *bicoid* gene, at the anterior end of the egg. Because the insect egg develops initially as a syncytium, the Bicoid protein translated from this mRNA is able to diffuse in the cytosol along the length of the embryo, guiding the global organization of its anterior half.

Three Classes of Segmentation Genes Subdivide the Embryo

The gradient of the Bicoid gene regulatory protein guides the creation of a series of discrete body segments. This process depends on a collection of **segmentation genes**, about 25 of which have been characterized. The segmentation genes act at later stages than the egg-polarity genes, when the embryo is transcribing its own genome instead of relying on stored maternal mRNA. Because the embryo gene transcripts, rather than maternal transcripts, determine the phenotype, these genes are classed as **zygotic-effect genes**.

The segmentation genes fall into three groups according to their mutant phenotypes and the stages at which they act (Figure 21-60)

- I. First come a set of 6 **Gap genes**, whose product mark out the coarsest subdivisions of the embryo. Mutations in a gap gene eliminate one or more group of adjacent segments. (See the mutant Krüppel in Figure 21-60)
- II. The next segmentation genes to act are a set of 8 **pair-rule genes**. Mutations in these cause a series of deletions affecting alternate deletions, leaving the embryo with only half as many segments as usual.
- III. Finally, there are at least 10 **segment-polarity genes**, defining much finer subdivision in the segments. Mutation in these genes produce larvae with a normal number of segments but with a part of each deleted and replaced by mirror-image duplicate of all or part of the rest of the segment.

We see later that, in parallel with the segmentation process, a further set of genes, the **homeotic selector genes**, serve to define and preserve the differences between one parasegment and the next.

The Localized Expression of Segmentation Genes Is Regulated by a Hierarchy of Positional Signals

Many observations with mutation experiments imply that the products of the egg-polarity genes provide global positional signals that cause particular gap genes to be expressed in particular regions, and the products of the gap genes then provide a second tier of positional signals that act more locally to regulate finer details of patterning by influencing the expression of yet other genes, including the pair rule genes. In this way the global gradients produced by the egg-polarity genes organize the creation of a fine-grained pattern through a process of sequential subdivision using a hierarchy of sequential positional controls.

This is a reliable strategy: because the global positional signals do not have to specify fine details, the individual nuclei that respond to them do not have to react with extreme precision to small differences of signal concentration (Figure 21-63).

Figure 21-64 shows how the product of one segmentation gene controls the expression of another to create a detailed pattern. The whole set of pair-rule genes, for example, in combination defines, by adjacency and overlapping, a much finer subdivision of the blastoderm in stripes only one cell wide.

Egg-Polarity, Gap, and Pair-Rule Genes Create a Transient Pattern That Is Remembered by Other Genes

The regular and crisply defined system of the mRNA products is unstable and transient (Figure 21-65). As the embryo proceeds through gastrulation and beyond, the regular segmental pattern of gap and pair-rule gene products disintegrates. Their actions, however, have stamped a permanent set of labels (positional values) on the cells of the blastoderm.

***Drosophila* and the Molecular Genetics of Pattern Formation**

II. Homeotic Selector Genes and the Patterning of Body Parts

The Focus on this section is on *Drosophila* development through to the final steps in the formation of the adult fly to see how the homeotic selector genes do their job.

At the end of the section we see that the same genes have a central role in patterning the body parts of other animals, including ourselves.

A **homeotic mutation** is shown in Figure 21-67. On the *Antennapedia* mutant, the antennae are converted into leg structures by a mutation in the *Antennapedia* gene that causes it to be expressed in the head.

The mutations that transform parts of the body into structures appropriate to other positions are called *homeotic*.

A whole set of **homeotic selector genes** determines the anteroposterior character of the segments of the fly.

The Homeotic Selector Genes of the Bithorax Complex and the Antennapedia Complex Specify the Differences Among Parasegments

The homeotic selector genes of interest to us here all lie in one or the other of two gene clusters known as the **bithorax complex** and the **Antennapedia complex**.

In some other insects the corresponding groups of genes all lie in a single complex, called the *HOM complex*.

Each homeotic selector gene has a characteristic domain of action, defined as the region of the body that is transformed as a result of mutation in that gene. This domain has sharp boundaries and is usually a parasegment or a block of parasegment.

The essential role of the homeotic selector genes in defining the differences among the parasegments is: when the genes are missing, the distinctions between one parasegment and another are not made.

Homeotic Selector Genes Encode a System of Molecular Address Labels

The products of the selector genes can be viewed as molecular address labels possessed by the cells of each parasegment. The combination of a particular homeotic selector gene product with a particular set of segmentation gene products reliably defines a unique address carried only by the cells in one subdivision of one segment.

They somehow equip cells with a memory of their positional value.

The Control Regions of the Homeotic Selector Genes Act as Memory Chips for Positional Information

The homeotic selector genes all code for DNA-binding proteins containing a characteristic highly conserved homeobox sequence. This homeobox DNA includes binding sites for the products of egg-polarity and segmentation genes.

The regulatory DNA in the HOM complex acts as an interpreter of the multiple items of positional information supplied to it by all these factors, and, in response to them, it makes a decision to transcribe or not to transcribe a particular set of homeotic selector genes.

One remarkable feature is that the sequence in which the genes are ordered along the chromosome in the HOM complex corresponds almost exactly to the order in which they are expressed along the axis of the body (See Figure 21-69).

The HOM complex serves to make each parasegment different from the next, but this difference is defined not simply by the presence of different homeotic selector gene products but, more subtly, by persistent differences of some sort in the states of the control regions associated with those genes.

A control region behaves like a computer microchip: it receives inputs (in the form of gene regulatory factors and other molecules that bind to it), it produces an output (in the form of a directive to transcribe or not to transcribe the homeotic selector gene), and it can store memory trace (a record of positional information) that affects the way the output is computed from the inputs.

The mechanism that maintains the memory trace is unclear but one possibility is that it involves positive feedback, where the product of a gene, once it is made, stimulates its own transcription.

The Adult Fly Develops from a Set of Imaginal Discs That Carry Remembered Positional Information

The adult fly is formed largely from groups of cells, called *imaginal cells*, that are set aside, apparently undifferentiated, in each segment of the larva. The imaginal cells for the head, thorax, and genitalia are organized into **imaginal discs** (Figure 21-71).

The cells of one imaginal disc look like those of another, and when they differentiate, they will give rise to generally similar sets of specialized cell types. But transformation experiments show that they are in fact already regionally determined and nonequivalent.

The imaginal disc cells are governed by a memory of their original position.

The homeotic selector genes are essential components of the memory mechanism.

The Homeotic Selector Genes and Segment-Polarity Genes Define Compartments of the Body

The remembered distinctions specified by the homeotic selector genes are discrete: there is an abrupt difference of gene expression between cells in adjacent parasegments. The same is true for at least some of the segment-polarity genes.

Thus, through the differential expression of these two classes of genes, the body is subdivided into a series of discrete regions comprising cells in different states of determination.

A subdivision of the body defined in this way – in the wing or any other organ – is called a **compartment** (Figure 21-75).

By definition, a compartment boundary is a frontier where two populations of cells in different states of determination are prohibited from mixing. Because the state of determination is not normally reversible, each compartment has to be a self-sufficient unit. Subsequent processes generate a fine-grained pattern of cell differentiation inside each compartment.

Lateral Inhibition Regulates the Fine-grained Pattern of Differentiated Cell Types

Lateral inhibition, mediated by the so-called **neurogenic genes**, plays a key part in this final stage of cell diversification, causing cells that are in contact with one another to differentiate in different ways and so helping to organize the creation of minutely specialized sets of cells forming structures such as sensory bristles (See Figure 21-76 and 21-78)

Lateral inhibition is a key strategy in the control of multicellular patterns of differentiation throughout the animal world and almost certainly in plants also.

In the final part of this section we consider how far *Drosophila* does actually provide a universal model for the molecular genetics of pattern formation.

It turns out that the development control genes of *Drosophila* have homologues in vertebrates

Mammals Have Four Homologues HOM Complexes

The homedomain of the homeotic selector genes has been highly conserved in evolution.

Homologues of the *Drosophila* genes have been found in almost any classes of animals. In the mouse there are four such complexes – called the HoxA, HoxB, HoxC, and HoxD complexes – each on a different chromosome.

It appears that each of the four mammalian Hox complexes is, roughly speaking, the equivalent of a complete insect HOM complex (Figure 21-80). The ordering of the genes within each Hox complex is essentially the same as in the insect HOM complex, suggesting that all four vertebrate complexes originated by duplications of a single primordial complex and have preserved its basic organization. It turns out that the members of each complex are expressed in a head-to-tail series along the axis of the body, just as they are in *Drosophila*. (See Figure 21-81)

Hox Genes Specify Positional Values in Vertebrates as in Insects

The Hox genes appear to have not only similar expression patterns to the insect HOM genes but also similar controlling functions.

But the multiple versions of the Hox genes have overlapping and partially interchangeable functions, and this partial redundancy makes it very difficult to identify the basic role of any single gene.

This is not to say that an individual gene in a vertebrate set is superfluous; for as evolution proceeds, the duplicated genes diverge and begin to take on new and more specialized functions that distinguish them from one another.

The limbs of higher vertebrates provide a beautiful example (See Figure 21-83).

Evidently, when vertebrates evolved limbs, they co-opted the different sets of Hox genes in different ways to control limb patterning as well as the patterning of the main body axis.

A central problem and yet open question for vertebrate embryology is to find out how the Hox genes themselves are regulated.

Zusammenfassung Kapitel 22: Differentiated Cells and the Maintenance of Tissues

Mit den Unterkapiteln:

- a) Maintenance of the differentiated state
- b) Tissues with permanent cells
- c) Renewal by simple duplication
- d) Renewal by stem cells: Epidermis
- e) Renewal by pluripotent stem cells: Blood cell formation
- f) Genesis, modulation and Regeneration of skeletal muscle
- g) Fibroblasts and their transformations: The connective-tissue cell family
- h) Appendix

Zuerst zum Aufbau des Kapitels:

Das erste Unterkapitel gibt eine kurze Einführung in das Thema und die Fragestellung, die folgenden Unterkapitel beschreiben die einzelnen Mechanismen der Gewebeerhaltung anhand von verschiedenen Beispieltgeweben (welche zum Teil extrem genau in ihrer Funktion erklärt werden). Die Appendix ist eine Liste aller Zellsorten im erwachsenen Menschen (nicht zusammengefasst©).

a) Maintenance of the Differentiated State

Die verschiedenen Gewebe im Körper müssen einige grundlegende Eigenschaften aufweisen, zum Beispiel mechanische Widerstandsfähigkeit. Diese Eigenschaften können dadurch erreicht werden, dass verschiedene Zelltypen zur Gewebebildung beitragen. Im Falle der Widerstandsfähigkeit wären die Fibroblasten zuständig, festigende extrazelluläre Matrix auszusekretieren. Die Funktion des Gewebes kann also nur durch Zusammenspiel verschiedener ausdifferenzierter Zellsorten wahrgenommen werden. Die meisten differenzierten Zellen können sich bis zu einem gewissen Grad an die Umgebung anpassen (z.B. durch vermehrte Synthese eines Proteins), sind aber mehrheitlich nicht fähig, sich in eine andere Zellsorte umzuwandeln, auch wenn sie in eine andere Umgebung gesetzt werden.

The differentiated state can be modulated by a cell's environment

Most differentiated Cells remember their essential character even in a novel environment

b) Tissues with permanent cells (lens cells, photoreceptors)

Es gibt im Körper Gewebe, deren Zellen durch das ganze Leben hindurch nicht mehr erneuert werden.

Beispiele:

- Nervenzellen
- Herzmuskelzellen
- Linsenzellen im Auge
- Photorezeptorzellen auf der Retina
- Haarzellen im Ohr

Wie man sieht, liegen diese Zellen gut geschützt. Warum erneuern sich diese Gewebe nicht? Gründe könnten zum Beispiel sein, dass bei einer Erneuerung Informationen verloren gehen würden (Nervenzellen), oder dass diese Zellen sowieso aus toten Zellen bestehen und nicht erneuert werden können (Linse im Auge).

Beispiele:

Linse

Die Linse wird im Embryo zuerst als Vesikel (**embryonic lens vesicle**) gebildet (Figure 22-4). Die Zellen, die der Retina zugewandt sind, synthetisieren das Protein **Cristallin** (crystalline) lagern es ein, und differenzieren sich zu langen Linsenfasern (**lens fibers**) wobei der Hohlraum des Vesikels ausgefüllt wird. Schliesslich wird der Zellkern aufgelöst und die Zelle stirbt. Die Zellen auf der nach aussen gewandten Seite der Linse bleiben aber am Leben und teilen sich weiter. Die Linse kann durch Differenzierung dieser Zellen weiter wachsen. Einmal differenzierte Zellen werden aber nicht ersetzt.

The cells at the center of the lens of the adult eye are remnants of the Embryo

Photorezeptorzellen der Retina

Die Photorezeptorzellen (**photoreceptor cells**), welche das Licht in Nervensignale umwandeln, bleiben auch zeitlebens die gleichen. Der Unterschied zu den Linsenzellen ist, dass sie auch differenziert am Leben bleiben und Stoffwechsel betreiben. Die Membranproteine dieser Zellen zum Beispiel werden kontinuierlich umgewälzt und schliesslich von der benachbarten Epithelzelle aufgenommen und verdaut. (Figure 22-8)

Most permanent cells renew their parts the photoreceptor cells of the retina

c) Renewal by Simple Duplication (Liver, Endothelial cells)

Einige Gewebe werden dadurch erneuert, dass sich die vollständig differenzierten Gewebszellen einfach durch Mitose zweiteilen.

Leber

Aufbau:

Die Leber ist von vielen Blutgefässen, die hier **Sinusoide (sinusoids)** genannt werden, durchzogen, zwischen welchen die Leberzellen (**Hepatocyten**) in Reihen angeordnet sind. Zwischen den Hepatocyten befindet sich ein Kanal (**bile canaliculus**), durch den die Galle abtransportiert wird.

The liver functions as an interface between the digestive tract and the blood

Die Sinusoide sind mit Endothelzellen und einigen **Kupfferzellen (Kupffer cells)** ausgekleidet. Kupfferzellen fischen die alten oder beschädigten Erythrocyten aus der Blutbahn und verdauen sie. (Figure 22-10)

Gewebserneuerung:

Da die Hepatocyten nicht direkt mit Verdauungsenzymen in Kontakt kommen, haben sie verglichen mit Darmepithelzellen eine längere Lebensdauer. Dadurch ist die Erneuerungsrate der Leberzellen ziemlich tief, was z.B. bei häufigem übermässigem Alkoholgenuß dazu führen kann, dass die durch die langsame Erneuerung der vergifteten Leberzellen entstehenden Lücken irreversibel mit Bindegewebe aufgefüllt werden (Leberzirrhose, liver cirrhosis).

Regeneration requires coordinated growth of tissue components

Die Teilung der Hepatocyten kann aber durch bestimmte Wachstumsfaktoren (oder Medikamente, z.B. Phenobarbital) angekurbelt werden. Der am besten untersuchte Leber-Wachstumsfaktor heisst **hepatocyte growth factor**. Bei Leberverletzungen steigt dessen Konzentration im Blut steil an. Der Mechanismus ist noch unbekannt, ebenso wenig, warum z.B. Epithelzellen bei Anwesenheit dieses Faktors ihre Bindungen untereinander teilweise auflösen (deshalb wird der Faktor auch **scatter factor** genannt).

Liver cell loss stimulates liver cell proliferation

Es ist interessant, dass die Leber (und andere Organe) immer zu ihrer Ursprungsgrösse zurückkehren wollen, auch nach künstlicher Vergrösserung durch Phenobarbitalgabe.

Endothelzellen

Endothelzellen (endothelial cells), welche das Innere der Blutgefäße einschichtig auskleiden, können nicht nur Verletzungen im Endothel durch Mitoseteilung heilen, sondern bei Bedarf auch neue Kapillaren bilden. Dieser Vorgang wird **Angiogenese (angiogenesis)** genannt. Dabei sekretieren die Endothelzellen zuerst Proteasen, um die Basalmembran an dieser Stelle aufzulösen, dann wächst eine Zelle in die Richtung des Signals und teilt sich. Innerhalb dieser Zellen werden grosse Vakuolen ausgebildet, durch deren Verschmelzung eine Röhre gebildet wird (Figure 22-13). Die Angiogenese wird durch Wachstumsfaktoren kontrolliert, welche vom umliegenden Gewebe sekretiert werden (wichtig in der Tumorforschung!). Der am besten untersuchte Faktor ist der **vascular endothelial growth factor (VEGF)**. Auch andere Faktoren wie der **fibroblast growth factor** stimulieren die Angiogenese, aber beeinflussen gleichzeitig auch andere Gewebe.

Endothelial cells line all blood vessels

New endothelial cells are generated by simple duplication of existing endothelial cells

New capillaries form by sprouting

Angiogenesis controlled by growth factors released by the surrounding tissues

d)Renewal by Stem Cells: Epidermis

Viele Gewebesorten entstehen aus einigen nicht differenzierten Zellen, den **Stammzellen (stem cells)**. Diese Art der Gewebserneuerung ist vorteilhaft oder nötig, wenn

- die differenzierte Zelle nicht imstande ist sich zu teilen (Erythrocyten, Muskelfasern).
- die Erneuerungsrate und/oder Verschleiss des Gewebes hoch ist (Darmepithel).
- das Gewebe nur zeitweise benötigt wird (Milchdrüsen).

Die Eigenschaften der Stammzellen:

- nicht vollständig ausdifferenziert
- können sich beliebig viele Male teilen
- jede Tochterzelle hat die Wahl, eine Stammzelle zu bleiben oder zu differenzieren.

Stem cells can divide without limit and give rise to differentiated progeny

Im Körper haben wir **unipotente** und **pluripotente** Stammzellen, die sich dadurch unterscheiden, ob sie nur zu einer Zellsorte oder zu mehreren Sorten differenzieren können.

Epidermis

Aufbau (Figure 22-21):

Die Epidermis ist schichtartig aufgebaut. Direkt über der **Basallamina (basal lamina)** liegt eine Schicht **Basalzellen (basal cells)**, darüber einige Schichten **prickle cells**, welche durch mehrere Desmosomen untereinander verbunden sind (Figure 22-20). Dann folgt eine Lage **granular cells** welche durch **keratohyalin**, welche Keratinfasern untereinander verbinden, dunkel pigmentiert sind (Figure 22-19). Hier werden alle Organellen der Zellen abgebaut. Die Zellen werden zu keratinreichen **Hautschuppen (squames)**, welche immer weiter nach oben geschoben werden und schliesslich abfallen. Nach jedem Differenzierungsschritt werden andere Keratine hergestellt.

Epidermal stem cells lie in the basal layer

Differentiating epidermal cells synthesize a sequence of different keratins as they mature

Stammzellen:

Nur etwa 10% der Basalzellen sind Stammzellen. Die anderen Basalzellen können sich allenfalls einige wenige Male teilen und differenzieren in jedem Fall. Anscheinend hat die Expression von bestimmten Membranrezeptoren der Integrin-Familie mit der Bestimmung einer Basalzelle zu tun. Der Kontakt mit der Basallamina alleine reicht nicht, denn auch wenn die Zellen gezwungen werden, immer in Kontakt mit der Lamina zu bleiben, differenzieren die meisten Zellen weiter. Wenn andererseits die Basalzellen in einer Suspension ohne Kontakt zur Lamina gehalten werden, differenzieren alle Zellen.

Epidermal stem cells are a subset of basal cells

Enthält aber die Suspension Fibronectin, einen Bestandteil der Basallamina, bleiben diejenigen Zellen, welche Rezeptoren dafür exprimieren, Basalzellen, während die anderen differenzieren.

Die Geschwindigkeit der Basalzellproliferation passt sich der Dicke der Epidermis an, und versucht immer eine möglichst konstante Dicke zu erhalten. Man kennt zwar einige Faktoren, die die Teilung der Basalzellen anregen (z.B. **Epidermal growth factor, EGF**) was genau die Regulation steuert, ist noch nicht genau bekannt. Eine übermässige Teilung der Basalzellen führt zur Schuppenflechte (Psoriasis).

Basal cell proliferation is regulated according to the thickness of the epidermis

Milchdrüsen (Figure 22-23)

Viele Drüsen im Körper stammen von der embryonalen Epidermis ab, haben aber abgewandelte Formen der Gewebeerneuerung. Die Bildung der eigentlichen Milchdrüsen ist hormongesteuert. Normalerweise inaktive Epithelzellen in der Brust dienen als Stammzellen. Bei Bedarf teilen sich diese schnell und bilden mit Milchbildenden Drüsenzellen ausgekleidete Alveolen. Später sterben diese Drüsenzellen wieder ab und werden von Makrophagen weggeräumt.

Secretory cells in the epidermis are seclused in glands that have their own population kinetics

e) Renewal by Pluripotent Stem Cells: Blood Cell Formation

Die verschiedenen Sorten von Blutzellen (Table 22-11) stammen alle von einer Sorte **pluripotenter Stammzellen** ab (Figure 22-30).

Die **Blutzellbildung (Hemopoiesis)** erfolgt ausser für T-Lymphozyten (Thymusdrüse) im Knochenmark.

A pluripotent stem cell gives rise to all classes of blood cells

There are three main categories of white blood cells: granulocytes, monocytes, and lymphocytes

Alle differenzierten Zellen ausser der Megakaryozyten, welche im Knochenmark bleiben (Figure 22-28) und Blutplättchen herstellen, werden in besonders dünnwandige Blutgefässe (**Blood sinuses**), die das Knochenmark durchziehen, entlassen.

Bone marrow contains hemopoietic stem cells

Es ist nicht so, dass alle Blutzellsorten gleichmässig hergestellt werden. Bei einer Infektion durch grössere Parasiten zum Beispiel, wird durch entsprechende Signalmoleküle die Produktion von Eosinophilen angeregt.

The Produktion of each type of blood cell in the bone marrow is individually controlled

Die Stammzelle entwickelt sich zu **Vorläuferzellen (committed progenitor cells)**, welche als Vorläufer von nur wenigen Blutzellsorten bestimmt sind. Nach einer bestimmten Anzahl von **Amplifikationsteilungen** differenzieren sie zu den einzelnen Blutzellen.

The number of specialized blood cells is amplified by divisions of committed progenitor cells

Diese Vorläuferzellen heissen hier **colony-forming cells (CFC)**, weil sie sich mehrmals teilen und so eine Kolonie bilden können. In der Entwicklung der Erythrozyten (**erythropoiesis**) gibt es noch eine Stufe, die **erythrocyte burst-forming cells (BFC-E)** genannt wird. Sie unterscheidet sich von CFC-E in Grösse und in ihrer Indifferenz gegenüber **Erythropoietin**, einem Wachstumsfaktor.

The factors that regulate hemopoiesis can be analysed in culture

Die Faktoren, welche die Blutbildung anregen, werden **colony-stimulating factors (CSF)** genannt und sind normalerweise Glycoproteine. Sie stimulieren nicht nur die Zellteilung der Vorläuferzellen, sondern „schalten“ auch die charakteristischen Eigenschaften der differenzierten Blutzelle (z.B. Fähigkeit zur Phagozytose) an. Auf der Tabelle 22-2 findet sich eine Auflistung einiger CSFs.

Erythropoiesis depends on the hormone Erythropoietin

Die Membranrezeptoren für die CSFs gehören entweder zur Familie der Rezeptor-Tyrosinkinase oder zur Familie der Cytokine (Figure 22-3).

Multiple CSFs influence the production of Neutrophils and Macrophages

Der **Steel factor**, der letzte Faktor auf der Tabelle, ist ein Ligand für den Rezeptor **c-kit**, der von der hemopoietischen Stammzelle exprimiert wird. Der Faktor wird in einer

Hemopoietic stem cells depend on contact with cells expressing the steel

membrangebundenen und in einer freien Form hergestellt, aber nur die membrangebundene Form kann den c-kit-Rezeptor effizient aktivieren. Das heisst, die Stammzelle muss für eine Aktivierung direkten Zell-Zell-Kontakt mit einer anderen Zelle haben, welche Steel factor exprimiert. Im Knochenmark finden sich solche Zellen. Das erklärt auch teilweise, warum Blutbildung nicht an jeder beliebigen Stelle im Körper erfolgen kann, obwohl immer einige Stammzellen im Blut herumschwimmen.

factor

Die CSFs können zwar eine Zelle beeinflussen und sie in eine bestimmte Richtung lenken, aber nicht genau bestimmen, was sie als nächstes machen soll. Sie können nur einige wenige Parameter beeinflussen (Figure 22-34). Was die Zelle genau tut, hängt stark vom Zufall ab.

The behavior of a hemopoietic cell depends partly on chance

Wenn aber eine Zelle überhaupt kein CSF „spürt“, stirbt sie. Diesen programmierten Zelltod nennt man **Apoptose (apoptosis)** im Gegensatz zur **Nekrose (necrosis)**, dem Unfalltod der Zelle.

Regulation of cell survival is as important as regulation of cell proliferation

Bei der Apoptose schrumpft der Zellkern und oft fällt er auch auseinander. Die ganze Zelle schrumpft auch und wird schliesslich von einer Nachbarzelle oder einem Makrophagen aufgenommen und verdaut. Eine apoptotische Zelle ändert ihre Zelloberfläche, damit Makrophagen sie erkennen. Die Art der Änderung und auch der Erkennung ist je nach Gewebe und Zelltyp sehr unterschiedlich.

f) Genesis, Modulation, and Regeneration of Skeletal Muscle

Die **Skelettmuskelzelle (skeletal muscle cell)** ist eine von den vier Muskelzellsorten, die wir im Körper haben. Die anderen drei sind **Herzmuskelzelle (heart muscle cell)**, im Herz), **glatte Muskelzelle (smooth muscle cell)**, im Verdauungstrakt) und **Myoepithelzelle (myoepithelial cell)**, in der Iris, in Drüsen).

Aus den **Somit**en, die in einer frühen Phase der Embryonalentwicklung gebildet werden, entstehen die **Myoblasten (myoblasts)**, Vorläuferzellen der Skelettmuskelzellen. Für die Entwicklung zu Myoblasten müssen die **myogenic genes**, welche Genregulationsproteine der Helix-Loop-Helix-Familie codieren, aktiviert werden.

New skeletal muscle cells form by the fusion of myoblasts

Die Myoblasten proliferieren einige Zeit, dann verschmelzen sie zu mehrkernigen, langen Muskelzellen. Der **fibroblast growth factor (FGF)** scheint die Fusion zu verhindern und die Proliferation der Myoblasten anzuregen. Die Verschmelzung findet nur statt, wenn alle Myoblasten Kontakt zur Extrazellulären Matrix haben. Nach der Fusion ist die Muskelzelle nicht mehr in der Lage, sich selbst oder ihre DNA zu teilen.

Eine Muskelzelle kann eine ganze Palette von verschiedenen Proteinvarianten exprimieren, welche die Eigenschaften der Muskelzellen bestimmen. Je nach Bedingung können so verschiedene Muskelzellsorten entstehen, z.B. die weissen und die roten Muskelfasern.

Muscle cells can vary their properties by changing the protein isoforms that they contain

Die Muskelzelle kann sich zwar nicht mehr teilen, aber die Muskeln können auf drei Arten wachsen, und zwar:

- durch Bildung neuer Muskelfasern durch Fusion von Myoblasten (geschieht fast nur in der Embryonalentwicklung).
- durch Anlagern neuer Myoblasten an die Enden der bestehenden Fasern (Längenwachstum).
- durch Zellwachstum und Synthese neuer Myofibrillen innerhalb der Zelle (Dickenwachstum).

In erwachsenen Menschen sind nur noch wenige Myoblasten als **Satellitenzellen (satellite cells)** vorhanden. Sie stehen in engem Kontakt zu den Muskelfasern und können durch FGF zur Teilung angeregt werden. Bei kleineren Tieren (z.B. Mäusen)

Some myoblasts persist as quiescent stem cells in the adult

können durch Neubildung von Muskelzellen aus Myoblasten grosse Muskelschäden behoben werden, bei grossen Tieren funktioniert das nicht.

g) Fibroblasts and their Transformations: the Connective-Tissue Cell Family

Die Familie der **Bindegewebszellen (connective-tissue cell)** beinhaltet Zellen des Stützapparates (Knochen, Knorpel), des normalen Bindegewebes, der glatten Muskulatur und des Fettgewebes.

Bemerkenswert bei diesen Zellen ist, dass die **Fibroblasten** (Bindegewebszellen) sich – zum Teil reversibel – je nach Umgebung in eine der anderen Zellsorten der Familie umwandeln können (Figure 22-40). Es ist aber unklar, ob alle Fibroblasten sich in all die anderen Zellsorten umwandeln können oder ob es unterschiedliche „Fibroblastensorten“ gibt, die sich nur in bestimmte andere Zellen verwandeln können. Die Umwandlungen werden auch von Wachstumsfaktoren gesteuert. Wenn zum Beispiel **transforming growth factor b (TGF-b)** und bestimmte **bone morphogenetic proteins (BMPs)**, gehören auch in die Superfamilie der TGF-b) in das Bindegewebe unter der Haut gespritzt werden, bilden sich dort je nach Stelle entweder Knochen, Knorpel oder faseriges Bindegewebe aus.

Fibroblasts change their character in response to signals in the extracellular matrix

Durch Experimente fand man heraus, dass auch die Zellform eine wichtige Rolle bei diesen Umwandlungen spielt. Wenn zum Beispiel **Knorpelzellen (chondrocytes oder cartilage cells)**, welche eine rundliche Form haben, einschichtig und bei geringer Zelldichte kultiviert werden, werden sie flach und verwandeln sich in Fibroblasten. Transferiert man diese in ein Agarosegel, wo die Zellen eine runde, knorpelzellähnliche Form annehmen müssen, wandeln sie sich wieder in Chondrozyten um.

The extracellular matrix may influence connective-tissue cell differentiation by affecting cell shape and attachment

Man nimmt an, dass **Fettzellen (adipocytes, fat cells)** auch aus fibroblastenähnlichen Vorläufern entstehen (Figure 22-42). Ihre Differenzierung wird durch das growth hormone induziert. Die dadurch stimulierten Fettzellvorläufer werden durch den **insulinlike growth factor-1 (IGF-1)** zur Proliferation angeregt. Auch hier spielt die Zellform eine grosse Rolle. Werden zum Beispiel die Actinfilamente in den Vorläuferzellen durch das Gift Cytochalasin zerstört, so dass die Zellen rund werden, erfolgt die Differenzierung zu Fettzellen leichter.

Different signalling molecules act sequentially to regulate production of fat cells

Knochen bestehen aus etwa 15% Zellmasse und aus einer Matrix (v.a. Typ I Collagenfibrillen mit eingelagertem Calciumphosphat). Im Unterschied zum Knorpel, welcher nur eine, Knorpel aufbauende Zellsorte hat (Figure 22-43), entsteht ein Knochen aus dem Zusammenspiel von **Osteoblasten** (Aufbau von Knochen) und **Osteoclasten** (Abbau von Knochen). Osteoblasten gehören zur Familie der Bindegewebszellen und produzieren den organischen Teil der Knochenmatrix (**Osteoid**). Dabei werden sie selbst eingeschlossen und werden zu **Osteocyten**, die aber noch durch dünne Kanäle, sogenannten **Canaliculi**, untereinander verbunden sind (Figure 22-44). Die Osteoclasten entstehen aus bestimmten weissen Blutkörperchen, den **Monocyten** (vgl Fig 22-30). Sie sind sehr gross und mehrkernig. An ihrer gefurchten Unterseite scheiden sie Säuren und Hydrolasen aus und lösen damit den Knochen auf. Osteoclasten bohren Tunnels in die Knochen, so dass Blutgefässe hineinwachsen können. Der Tunnel wird dann durch die Aktion von Osteoblasten schichtweise wieder aufgebaut (Figure 22-46), was Knochenquerschnitten das geringelte Aussehen gibt (Figure 22-47). Osteoclasten bauen auch während der Entwicklung eines Knochens laufend Knorpel ab und Osteoblasten ersetzen es durch Knochen.

Bone is continually remodelled by the cells within it

Osteoblasts secrete bone matrix, while osteoclasts erode it

During development, cartilage is eroded by osteoclasts to make way for bone

Warum vermischen sich im Laufe des Lebens die verschiedenen Gewebe nicht miteinander?

Ein Grund ist, dass die meisten Zellen sterben, wenn sie in einer anderen Umgebung sind und nicht die richtigen Wachstumsfaktoren „spüren“.

Ein anderer ist, dass die Zellen der gleichen Sorte ganz bestimmte Zell-Zell-Bindungen eingehen, wodurch sie sich automatisch erkennen und gruppieren.

The structure of the body is stabilized by its connective-tissue framework and by the selective cohesion of cells

Zusammenfassung Zellbiologie

Krebs, Kap. 24

Grundelemente von Krebs:

Mutation, Konkurrenz und natürliche Auslese innerhalb der Population der somatischen Zellen. Einzelne Zellen vermehren sich auf Kosten ihrer Nachbarzellen, dies führt zu einer Zerstörung der Lebensgemeinschaft.

Eigenschaften von Krebszellen:

Sie vermehren sich unabhängig von üblichen Einschränkungen.

Sie dringen in Bereiche anderer Zellen ein. Krebszellen sind Klone und stammen von einer Zelle ab.

Tumor = Neoplasma = unaufhörlich wachsende Masse anormaler Zellen.

Gutartig (benigne): Tumorzellen bleiben als Haufen zusammengeballt.

Bösartig (maligne): Tumorzellen dringen in andere Gewebe, Zellen können sich lösen, gelangen in Blut und Lymphbahnen und bilden in anderen Geweben Metastasen (sekundäre Tumore).

Carcinome: Krebsgeschwüre aus Epithelzellen (90%), sind am meisten physikalischen- und chemischen Schädigungen ausgesetzt.

Sarcome: Krebsgeschwüre aus Bindegewebe oder Muskelzellen.

Leukämie: Krebsgeschwüre aus blutbildenden Zellen.

Carcinogenese = Krebserzeugung

Mutagenese = Veränderung der DNS Sequenz

(epigenetische Veränderung einer Zelle erfolgt ohne DNS Sequenzveränderung)

Die meisten Krebsarten entstehen durch genetische Veränderung, da alle Zellen des Tumors die gleiche genetische Abweichung aufweisen.

Philadelphia Chromosom: (bei Menschen mit myeloischer Leukämie). Die leukämischen Blutkörperchen unterscheiden sich durch die gleiche Chromosomenaberration von normalen Zellen. Das Philadelphia Chromosom entsteht durch eine Translokation zwischen den langen Armen der Chromosomen Nr. 22 und 9. Durch Klonierung und Sequenzierung der DNS stellt sich heraus, dass die Bruch- und Verschmelzungsstelle aller Leukämiezellen bei einem Patienten identisch sind. (Abb. S.1492)

Chemische Carcinogene (krebserzeugende chem. Substanzen) :

Damit Krebs entsteht (normalerweise) müssen mehrere voneinander unabhängige Vorgänge zusammentreffen, es entsteht ein kumulativer Effekt. Es gibt jedoch Carcinogene (Agentien) bei denen diese Ereignisse mit grosser Sicherheit eintreffen (durch die chemischen Stoffe werden diese Ereignisse wahrscheinlicher), wenn die Konzentration genügt (mind. 1 Zelle im Körper wird zur Krebszelle). Bsp.: 2 – Naphtylamin.

Manche chemische Carcinogene wirken unmittelbar auf die Zelle ein. Die meisten jedoch werden erst wirksam wenn sie in eine reaktionsfreudigere Form überführt werden: Enzyme, welche in Stoffwechselvorgängen beteiligt sind (Cytochrom p-450-Oxidasen) dienen dazu Giftstoffe in ungefährliche Substanzen umzuwandeln, bei bestimmten Verbindungen versagen sie und machen daraus die eigentlichen Carcinogene.

(Abb. 24-6, S.1494, Abb. 24-7, S.1494)

Eine Mutation reicht nicht aus um Krebs hervorzurufen. Es braucht ca. 3(Leukämie) bis 7(Carcinome) seltene Zufallsereignisse, die unabhängig voneinander passieren bis eine Zelle zur Krebszelle werden kann. Krebs ist auch vom Alter abhängig, was auch beweist, dass eine Mutation nicht ausreicht.

Krebs entwickelt sich aus langsamen Schritten aus leicht gestörten Zellen. Bsp.: Erst nach ca. 10 Jahren Tabakkonsums steigt die Lungenkrebshäufigkeit. In Hiroshima dauerte es 5 – 8 Jahre nach der Atombombe bis die Zahl der Leukämieerkrankten stieg. Verzögerter Ausbruch von Krebs nach der Einwirkung eines Carcinogens.

Krebserkrankung im Muttermund (Cervix uteri):

(Abb. 24-10, S.1497 Stadien der Krebserkrankung)

Wenn der Tumor die Basalmembran durchbricht und in das darunterliegende Bindegewebe eindringt spricht man von einem bösartigen Tumor (Cervix Carcinom). Das Cervixepithel ähnelt in seiner Struktur der Epidermis. Wenn die Zellen sich nicht nur in der Basalschicht vermehren spricht man von Dysplasie – Bereiche. Das ist aber noch nicht so gefährlich, die vermehrten Zellen bleiben undifferenziert. Es kann sich zu Carcinoma in situ entwickeln. Hier ist der Ablauf der Differenzierung und der Zellteilung schon stark zerstört. Kann aber noch behandelt werden (chirurgisch) oder kann sich auch noch von selbst zurückbilden.

Die Krebsentstehung kann auch durch Faktoren begünstigt sein, die die DNS Sequenz der Zellen nicht verändern.

Tumorinitiator: Carcinogen, welches z.B. durch mehrmaliges Pepinseln der Haut (wie ein Experiment an Mäusen zeigt) den Keim für einen Tumor legt. Tumorinitiatoren wirken mutagen. Die Defekte, welche durch einen Tumor-Initiator erzeugt werden sind irreversibel. Bsp.: Benzpyren, DMBA

Tumor-Promotoren: wirken selbst nicht mutagen, können aber zu Krebs führen, wenn z.B. wie in diesem Experiment mit Mäusen die Haut (oder ein anderes Organ) vorher mit einem Tumor-Initiator in Verbindung kam. Tumor-Promotor stimuliert die Zellteilung, bringt Zellen, die sich vollständig differenzieren möchten dazu sich zu teilen. Es entstehen Papillome (gutartige warzenähnliche Tumore). Durch den Promotor oder durch eine Verletzung wird die Expression einiger Gene in Gang gesetzt, welche die Zellteilung beeinflussen. Wenn die Behandlung mit dem Promotor gestoppt wird, können sich die Papillome wieder zurückbilden oder sie können weitermutieren und sich so zu bösartigen Tumoren entwickeln.

Bsp.: Phorbolester (TPA) (Abb. 24-12, S. 1500)

Die meisten Krebserkrankungen entstehen durch vermeidbare Kombinationen von Umwelteinflüssen. Beim Brustkrebs z.B. spielen Hormone (Oestrogen), welche als natürliche Tumor-Promotoren agieren eine Rolle.

Heilungsmittel: Krebszellen können resistent gegen die Gifte werden, mit denen man sie zu bekämpfen versucht. Krebsartiges Wachstum ist oft mit Störungen der Zelldifferenzierung oder des Zelltodes gekoppelt. Die Tumorzelle muss einige Voraussetzungen erfüllen: Sie entgehen der normalen Zellteilungskontrolle, sie muss die Neubildung von Blutgefäßen anregen, die sie mit Nähr- und Sauerstoff versorgen.

Differenzierte Zellen werden an der Oberfläche (z.B. bei Cervixepithel und Epidermis, sie werden ständig erneuert) abgestossen und durch Teilung der Stammzellen in der Basalschicht ersetzt. Aus der Teilung einer Stammzelle entsteht wieder eine Stammzelle und eine Zelle, die sich endgültig differenziert und sich nicht mehr teilt. Das Gleichgewicht bleibt immer erhalten.

Bei Tumor: Grundregeln für die Teilung der Stammzellen müssen sich ändern, mehr als 50% der Tochterzellen werden wieder zu Stammzellen oder die differenzierbaren Zellen können sich weiter teilen und werden nicht abgestossen. (Bei Cervix Uteri, Haut, Darmepithel, beim blutbildenden System teilen sich die Zellen unaufhörlich anstatt sich zu differenzieren).

(Abb. 24-15, S.1504)

Für die Heilung der Krebszellen müssen die Zellen nicht einfach (oder nur) abgetötet werden, sondern es sollen Verbindungen eingesetzt werden, welche die Zelldifferenzierung fördern.

Metastasen: Um Metastasen zu bilden, müssen Krebszellen die Basalmembranen durchdringen können:

Die Zellen eines festen Tumors müssen die Adhesion an ihre Nachbarzellen lockern. Das Zell/Zell Adhesionsmolekül E-Cadherin kommt zum Erliegen.

Durch Bildung von proteolytische Enzyme können die Zellen durch das Gewebe wandern. Tumoren entlassen Zellen in den Kreislauf – aber nur einem kleinen Teil gelingt es metastatische Kolonien zu bilden. (Abb. 24-16, S.1505)

Die Zellen eines einzelnen Tumors sind unterschiedlich gut zur Metastasenbildung fähig. (Abb. 24-18, S. 1506). Tumorzellen können nur dann die Basalmembran durchdringen, wenn sie geeignete Integrine besitzen. Man kann Antikörper konstruieren, die diese Fähigkeit die Basalmembran zu durchdringen blockieren, dies kann zu einer Verhinderung der Metastasenbildung führen.

Genetisch bedingte Mutationen: In der Zelle ist der Apparat für Replikation, Rekombination oder Reparatur der DNS defekt. Die höhere Mutationsfähigkeit hilft den Krebszellen der Zerstörung durch Krebsmedikamente zu entgehen. Durch Medikamente die selektiv giftig sind für sich teilende Zellen kann man einen Teil der neoplastischen Zellen vernichten, jedoch sind einige Zellen gegen diese Medikamente resistent, die Weiterentwicklung dieser Zellen wird durch die Behandlung begünstigt. Krebszellen sind mehrfach resistent, ein kleiner Abschnitt des Genoms ist stark amplifiziert, amplifizierte DNS enthält ein Gen das man als Mehrfachresistenzgen bezeichnet. In den Zellen, die mehrfachresistent sind findet man entweder zusätzliche Paare kleiner Chromosomen (Double-Minute-Chromosomen) oder eine homogen anfärbbare Region, die das normale Bandenmuster eines Chromosoms unterbricht. Durch diesen Fehler in der DNS-Stoffwechsel sind die Krebszellen aber auch empfindlicher auf Medikamente, sie sind besser angreifbar. Tumorzellen lassen sich durch Bestrahlung oder durch Medikamente, die auf den DNS-Stoffwechsel wirken besser abtöten als normale Zellen.

Tumorprogression: Krebserkrankungen gehen auf eine einzige somatische Zelle in der eine Mutation stattgefunden hat zurück, die Nachkommen dieser Zelle müssen sich noch verändern und weitere Mutationen durchmachen. Es kann Jahre dauern bis es wirklich zu einer Krebserkrankung kommt.

Die Molekulargenetik von Krebs:

Es sind relativ wenige Gene, deren Veränderungen für die meisten Fehlsteuerungen der Zellvermehrung der Krebserkrankung verantwortlich ist. Manche Produkte der Gene regen die Zellvermehrung an und andere Produkte der Gene verhindern die Zellvermehrung.

Mutierte Gene: Oncogen: stimulierendes Gen wird überaktiviert, Mutationen sind dominant, nur eine der Genkopien muss Veränderung durchmachen. Proto-Oncogen: entsprechendes normales Allel. **Tumorsuppressor Gene:** Inaktivierung eines hemmenden Gens, Mutationen sind rezessiv, beide Genkopien müssen inaktiviert sein oder fehlen.

Retroviren können als Vehikel für Oncogene dienen, die das Zellverhalten ändern. Wenn ein Virus eine Zelle infiziert wird seine RNA durch Umkehrtranskription in DNS umgeschrieben. Diese DNS wird dann in das Genom der Wirtszelle eingebaut. Der erste Tumorigen wurde in den 80. Jahren bei Hühnern festgestellt (Rous-Sarcom-Virus, kann zu einem Sarcom führen). Wie verursacht eine Virusinfektion Tumore? Tumorigen werden zu Fibroblasten (in Kulturschale) dazugegeben. Es entstehen Kolonien von transformierten Zellen (Klone). Diese

überwuchern die normalen Zellen. Diese transformierten Zellen zeigen eine Kombination von Anomalien (veränderte Form, brauchen keine Haftung, sind immer zu Vermehrung in der Lage, unsterblich, sie lassen in einem Tier einen Tumor entstehen).

Retroviren nehmen Oncogene zufällig auf: Gen: v-src, Gen des Rous-Sarcom-Virus
Oncogen: v-src Proto-Oncogen: c-src

Der Retrovirus hat das Gen als Proto-Oncogen zufällig aus dem Genom einer Wirtszelle aufgenommen, worauf das Gen eine Mutation durchmachte. Dies führt zu einer gestörten Genfunktion und so zu Krebs. Das Proto-Oncogen befindet sich in jeder normalen Zelle. (Abb. 24-23, S.1513)

Ein Retrovirus kann seine DNS in der Nähe eines Proto-Oncogens der Wirtszelle einbauen und so die Zelle transformieren. Proto-Oncogen wird zu Oncogen.

1. Die Sequenz des Proto-Oncogens verändert sich so, dass es ein falsches Protein codiert (mit anormalen Aktivität)
2. Promotoren sorgen dafür, dass das Produkt in zu grossen Mengen oder falschen Zusammenhang entsteht.

Insertions-Mutation: Genunterbrechung, da die DNS-Kopie der Virus-RNA in der Nähe eines Proto-Oncogens oder in der Sequenz eines solchen Gens in das Genom der Wirtszelle eingebaut wird. Dieses Genom wird weitervererbt. (Tab. 24-5, S. 1514)

DNS Sequenzanalysen lassen darauf schliessen, dass die Translokation (siehe Philadelphia Chromosom) in einigen Fällen aus einem Proto-Oncogen ein Oncogen macht. Das Proto-Oncogen wird mit einem anderem Gen verbunden, es entsteht ein anderes Protein, oder sein Genprodukt entsteht in übergrossen Mengen wegen der falschen Umgebung.

Ein Proto-Oncogen kann auf viele verschiedene Arten zu einem Oncogen werden.

Funktion der Proto-Oncogene: sie codieren Bestandteile der Mechanismen, die das Sozialverhalten der Körperzellen regulieren, Teilen, Differenzieren oder Absterben der Zelle. Produkte von Proto-Oncogenen sind: sezernierte Proteine, Transmembranrezeptoren, Proteinkinase, GTP-bindende Proteine, usw. All diese Produkte sorgen bei Bedarf für die Entstehung neuer Zellen. Durch Mutation ändern sie sich und senden die Signale auch ohne Bedarf aus. (Abb. 24-27, S. 1517)

Ein Oncogen reicht nicht aus um die neoplastische Transformation herbeizuführen, steigert aber das Krebsrisiko. Auch wenn zwei Oncogene exprimiert werden, sind noch weitere zufällige Veränderungen notwendig damit die Zellen krebsartig werden.

Der Verlust einer Kopie eines Tumorsuppressor-Gens kann eine erbliche Veranlagung für Krebs schaffen. Die meisten Erkenntnisse stammten aus der Untersuchung des Retinoblastoms (Krebserkrankung des Menschen). Tumor entwickelt sich aus den Nerven-Vorläuferzellen der unausgereiften Netzhaut bei Kindern. Diese Krebserkrankung kann erblich sein muss aber nicht. Bei der erblichen Form sind beide Augen von einem Tumor befallen, sonst nur Eines. Erblich: Anomalien des Karyotyps auf dem Chromosom 13. Nicht erblich: der gleiche Ort ist auch deletiert. Dieser Krebs entsteht durch einen Verlust eines Tumorsuppressor-Gens (erbliche Form: den Patienten fehlt eine der beiden Kopien des TS-Gens). Durch eine somatische Mutation kann Krebs entstehen.

Gen: Retinoblastomgen (Rb)

Erblich: gesunde Zellen: 1 inaktiv, 1 aktiv

Krebszellen: 2 inaktiv

Nicht erblich: gesunde Zellen: 2 aktiv

Krebszellen: 2 inaktiv

Die normale heterozygote Kombination mütterlicher und väterlicher Allele geht für die Gene des entsprechenden Chromosomenabschnittes verloren. Dies bedeutet einen Verlust der Heterozygotie. Der Verlust des Retinoblastom-Tumorsuppressor-Gens ist für viele verschiedene Krebserkrankungen von Bedeutung. Rb-Gen fehlt bei Lungen- Brust- und Blasencarcinomen. Rb wird in allen Körperzellen exprimiert. Sein Produkt (Rb-Protein) ist

wichtig für den Zellteilungszyklus (wirkt als Bremse). Wenn Rb nicht phosphoryliert ist in Zellen, die den Zyklus verlassen haben, verhindert es, dass die DNS-Replikation in Gang gesetzt wird. Beim Verlust des Gens ist diese Beschränkung nicht mehr vorhanden.

DNS-Viren: 15% aller Krebserkrankungen entstehen durch DNS-Viren (nicht Retro-Viren). Bsp: Leberkrebs an Orten verbreitet, wo Hepatitis-B-Viren vorkommen. Hepatitis-B-Virus richtet in den Leberzellen Schäden an, die zu schnelleren Zellteilung führen. Hier spielen aber auch Umweltfaktoren eine wichtige Rolle. Virus alleine kann keinen Krebs erzeugen. Manchmal werden die Virusgene in ein Zellchromosom integriert. Dies führt zur neoplastischen Transformation der Zelle, oder die Virusgene bleiben als extrachromosomales Plasmid erhalten, welches im Einklang mit den Chromosomen repliziert. Dies gilt für DNS- und Retroviren, sie unterscheiden sich aber in der Art der Gene, welche die neoplastische Transformation hervorrufen.

DNS-Viren: Die Virus-DNS repliziert nicht, sondern sie wird stabil in ein Chromosom der Wirtszelle aufgenommen. Wenn das Virus-Gen transkribiert, kann es als Oncogen wirken. (Es hat in der normalen Wirtszelle kein Gegenstück wie bei Retroviren). Bsp.: SV40 Affenvirus. DNS-Tumurviren aktivieren den DNS-Replikationsapparat der Zelle, indem sie die Wirkung wichtiger Tumorsuppressor-Gene blockieren. (Abb. 24-32/24-33, S.1523/1524, SV40)

P-53-Gen: Mutation im p53-Gen setzen eine Notbremse der Zellvermehrung ausser Kraft und führen zu genetischer Instabilität. P53 ist ein Tumorsuppressor-Gen! Menschen mit nur einer funktionsfähigen Kopie des p53-Gens sind anfällig für Krebs. Bsp: Li-Fraumeni-Syndrom: in den Tumorzellen sind beide Kopien des p53 defekt (wie beim Rb-Gen). P53-Protein bindet an DNS und setzt Transkription eines anderen Regulations-Gens (dieses Protein des Gens verhindert die Zellteilung, p53-Protein hindert die Zellen an der Vermehrung) in Gang. Zelle tritt nicht in die S-Phase ein, DNS wird nicht repliziert. P53-Protein existiert unter normalen Umständen nur in sehr geringen Mengen (Aber Transgene Mäuse ohne p53 bekommen mit 3 Monaten Krebs). Zellen unter UV-Licht, Anstieg der Konzentration des p53-Proteins. Dies führt zu einer Verhinderung der Zellvermehrung: Zellen bleiben in G1-Phase oder sterben ab durch Apoptose. Zellen ohne p53: replizieren überstürzt DNS, somit vermehren sie sich mit ihren beschädigten Genomen, so kann es zu Krebs führen wenn die Zelle nicht abstirbt. Funktion von p53: mit DNS-Schäden gefahrlos fertigzuwerden. Viele Krebszellen enthalten die mutierte unwirksame Form des p53 in grossen Mengen, so können weitere krebserzeugende Mutationen entstehen. Dieser Schaden des p53 ist der häufigste genetische Schaden bei Krebserkrankungen des Menschen.

Dickdarmkrebs entsteht langsam in einer Abfolge erkennbarer Strukturveränderungen.

Dickdarmkrebs (Colonicarcinom) geht von dem Epithel aus, welches den Dick- und Enddarm auskleidet. Adenom (kleiner gutartiger Tumor) ragt als Polyp (Gewebemasse) in den Darm. Adenomatöser Polyp gilt als Vorläufer für bösartige Dickdarmtumore. Es geht 10 – 35 Jahre bis sich der Polyp weiterentwickelt, er kann chirurgisch gut entfernt werden.

Tumorprogression (Dickdarmkrebs als Bsp.). Polyp ist kleiner als 1cm, es ist fast normal, je grösser desto wahrscheinlicher enthält er anormale undifferenzierte Zellen. Es kann Regionen geben, die krebserkrankt aussehen, wie ein mutierter Subklon. Tumorzellen bilden Metastasen, durchdringen die Basalmembran, breiten sich in der Muskelschicht aus und siedeln sich in Lymphknoten, Lunge oder Leber an.

Bei 75% der Dickdarmpatienten: Mutationen, die das p53 Gen inaktivieren, bei 50% Mutationen im ras-Proto-Oncogen, bei wenigen Prozent, erhöhte Kopienzahl eines mycproto-Oncogens.

APC (familiäre adenomatöse Polyposis coli): dies ist ein genetischer Defekt, welcher eine erbliche Anfälligkeit für Dickdarmkrebs hervorruft. Auf der ganzen Länge des Darms finden

sich 100 –1000 Polypen. (Tab. 24-7, S. 1527). Es basiert auf einer Mutation im APC-Gen (Tumorsuppressor-Gen) auf dem Chromosom 5 (Deletion oder inaktivierende Mutationen). Patienten bei denen es nicht erblich ist, haben diese Mutation in Krebszellen nicht, aber in Gesunden. APC-Protein: bindet an B-Catenin, welches wiederum am Steuerungsmechanismus beteiligt ist (Verankerungsstelle Cyto-Skelett an Zell/Zell Verbindung). An dieser Stelle, wo ein Tumorsuppressor-Gen vermutet wird, tritt ein Verlust der Heterozygotie auf (Orte des APC- und des p53-Gens). DCC-Gen: codiert Transmembranprotein, ist an der Zell/Zell oder Zell/Matrix Adhesion beteiligt. Die Schritte der Tumorprogression kann man mit bestimmten Mutationen in Zusammenhang bringen. Erster Schritt: Mutation, die das APC-Gen inaktivieren. Dies führt zu einer schnelleren Zellvermehrung ohne Beeinflussung der Differenzierung. Zweiter Schritt: Mutation des ras-Oncogens: transformierte Zellen schon häufig. Zellen wachsen ohne an einer Unterlage angeheftet zu sein. Es entstehen Polypen und aus ihnen später bösartige Tumore. Nächster Schritt: Mutation von DCC und p53 (in bösartigen Tumoren häufig) p53 in normalen Zustand kann die Vermehrung verhindern. Wenn p53 wegfällt, kommt es zur Krebserkrankung. Die Zellen können auch noch mehrere Mutationen durchmachen, weil der Zellzyklus weitergeht. (Abb. 24-36, S. 1529)

Andere Möglichkeit für die Entstehung von Dickdarmkrebs: 15% erblich: es passieren mutationsfördernde Mutationen: Krankheitsbild: HNPCC = erblich nicht-polypösen Dickdarmkrebs. HNPCC-Gen ist erforderlich für die Reparatur von DNS-Abschnitten. Tumorzellen mit Mutationen in HNPCC führen sehr rasch zu Anhäufung von Mutationen, die zur Krebsentstehung erforderlich sind.