**9. CITOSZKELETON**

**Írta: Lengyel Barnabás biomérnök hallgató,**

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

**A citoszkeleton általános jellemzése és típusai**

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

**A nukleáris lamina jellemzése**

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

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

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

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

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

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

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

**Mikrotubulus mérgek**

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

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

**Mikrotubulus asszociált proteinek**

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

A szállító funkciók betöltésére képes MAP-okat a mikrotubulus motorfehérjéinek nevezzük.

**A motorfehérjék típusai, működése és funkciói**

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

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

**A mikrotubulusok szerepe a sejtek polarizáltságában**

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

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

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

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

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

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

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

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

**Az aktin filamentumok funkciói, szerkezete, képződése**

 A dinamikus, polarizált, tömör és 1-, 2- vagy akár 3-dimenziós polimerizációra is képes aktin filamentumok sokrétű feladatokat látnak el az eukarióta sejtben. Mindenekelőtt a sejtszintű stabilitásért, azaz a sejtek mechanikai szilárdságáért felelnek. A sejtmembrán P-rétege mentén, a sejtkortexben helyezkednek el, meglehetősen nagy koncentrációban. A sejtek összes fehérjetartalmának kb. 5%-a aktin, harántcsíkolt izomsejtekben pedig akár a 20%-ot is elérheti az aránya. A kortexben magas lokális aktin-koncentráció egy, a citoszolnál viszkózusabb, géles közeget hoz létre, melyet ektoplazmának nevezünk. Az ektoplazmában nincsenek huzamosabb ideig sejtalkotók, csak az aktin filamentumok, melyek egymással keresztkötésekkel kapcsolódva biztosítják a sejtforma kialakulását és megtartását. A mikrofilamentumok feladata továbbá a különböző membránkitüremkedések (mikrobolyhok) kialakítása, melyek olyan nyúlványszerű kinövekedések, amik az ostoroktól és csillóktól eltérően nem mozgást végeznek, hanem a nagyobb felület által hatékonyabb táplálékfelvételt biztosítanak (pl. a bélrendszerből). A mikrobolyhokhoz „hasonló” kitüremkedések az állábak (pseudopodiumok), melyekkel egyrészt mozogni, másrészt fagocitózissal táplálkozni is képes az állábképzésre alkalmas sejt. A mitózist követő citokinézis során az aktin filamentumok végzik azt a kontrakciót, mely az utódsejtek részleges vagy teljes szétválasztását eredményezi. A kontrakció szó szerint összehúzódást jelent. A két sejtmag között merőlegesen, a sejtmembrán mentén aktinból és annak motorjából, a miozinból egy kontraktilis gyűrű jön létre, mely lépésről lépésre összébb húzza a sejtmembránt. Magasabb rendű állati szervezetekben az aktin egyidejű mozgató és kontraktilis tulajdonsága eredményezi az izom összehúzódását.

Az aktinfonalak szerkezeti alapja a 4-6 nm átmérőjű G-aktin monomer. A „G” megnevezés a fehérje globuláris jellegére utal, ugyanakkor nem teljesen gömb alakú, inkább egy nyitott, megnyújtott kagylóra emlékeztet, melynek rövidebbik átmérője 4 nm, a hosszabbik 6 nm. A G-aktin monomerek szoros, hosszanti egymás mellé rendeződésével alakul ki az F-aktin („F” − fonalas vagy filamentózus), melyben a G-aktinok mind ugyanabba az irányba állnak (a kagylók nyitott része ugyanarra néz). Ez egyfajta szerkezeti polarizáltságot eredményez az F-aktin protofilamentumban. Az aktin filamentumot pedig végül két protofilamentum paralel lefutású egymás köré sodródása eredményezi. Az így létrejövő szuperhélix 37 nm-es menetemelkedésű, és a paralel elrendeződésből kifolyólag megkülönböztethető rajta a plusz- és a mínusz-vég.

Az aktinfonalak spontán önszerveződéssel is össze tudnak épülni; nukleációs helyek nem szükségesek a polimerizációhoz, de előfordulhatnak. A szabad G-aktin monomer nagy koncentrációban van jelen a sejtben, így az aktin meglehetősen dinamikus struktúrát alkot, polimerizáció és depolimerizáció a filamentum mindkét végén egyaránt be tud következni. A G-aktin egy ATP-kötő fehérje, melynek késleltetett ATPáz aktivitása is van. Az ATP-s forma alkalmasabb a bekötődésre, mint az ADP-s. Az ATPáz aktivitás miatt a bekötődött ATP-s forma az ATP elhidrolizálásával idővel ADP-ssé alakul. A folyamat „reverzibilitását” a citoszolban lévő cserefaktorok teszik lehetővé, melyek a lehasadt G-aktinok ADP-jét ATP-re cserélik, mely újra könnyen be tud kötődni a láncba, és egy ideig stabilizálja a láncvéget. Az aktinon a plusz-végen van általában polimerizáció, a mínusz-végen pedig inkább depolimerizáció történik.

Meglehetősen nagy (*in vitro* kísérletek során vizsgált) G-aktin koncentráció esetén, amikor mindkét végen csak polimerizáció van, a plusz-vég körülbelül tízszer gyorsabban nőhet, mint a mínusz-vég, ez egyfajta kinetikai polaritást eredményez (tehát az aktinnak szerkezeti és kinetikai polaritása is van). A sejt élettani viszonyai közötti reális G-aktin koncentráció esetén a folyamatos egyidejű polimerizáció (plusz-vég) és depolimerizáció (mínusz-vég) által az aktinlánc hossza egy idő után állandósul, a plusz-végen újonnan bekötődő G-aktin tulajdonképpen „végigmegy” a láncon, majd a mínusz-végen kilép. Ezt a jelenséget taposómalom viselkedésnek nevezzük.

**Aktin mérgek**

A sejtbiológiai vizsgálatok során használt aktin mérgeket a mikrotubulus mérgekkel ellentétben nem növényekből, hanem rendszerint szivacsokból és gombákból izolálják.

A szivacsból izolálható *latrunculin* működését tekintve a mikrotubulusoknál használt *kolhicin*hez hasonló, a G-aktin monomerekhez kapcsolódik, így csökkenti a szabad aktin-koncentrációt, mely az aktin-polimerizáció lelassulásához, szélsőséges esetben annak leállásához vezet. Szintén szivacsokból nyerhető a *cytochalasin*, mely a fonál plusz-végéhez kapcsolódva állítja le a taposómalom viselkedést, hiszen a plusz-vég lezárulásával csak a mínusz-végen történhetne a polimerizáció is. *Cytochalasin*nal kezelt sejtben a lokális szabad aktin-koncentráció függvénye, hogy polimerizáció vagy depolimerizáció történik-e (vagy épp egyik sem). A *taxol*hoz hasonló működésű *phalloidin* egy gombaméreg, mely az aktinfonalat stabilizálja azáltal, hogy annak végeihez kapcsolódik, egyaránt gátolva a polimerizációt és a depolimerizációt is.

Mindkét méregcsaládot citológiai kutatásokban lehet felhasználni. Vizsgálható, hogy az adott méreg alkalmazásával mely funkciók sérülnek és melyek nem. Továbbá a sejtbiológiai folyamatokban ilyen szelektív mérgek alkalmazásával lehet megállapítani, hogy az aktinnak vagy a mikrotubulusnak van-e szerepe az adott folyamatban. Ha egy folyamat aktin méreggel gátolható, akkor értelemszerűen az aktin vesz benne részt, ha mikrotubulus méreggel, akkor pedig a mikrotubulus.

**Aktinkötő fehérjék**

Az aktinkötő fehérjék (actin-binding protein – ABP) alatt az aktinhoz stabilan kapcsolódó egyéb fehérjéket értjük. Az ABP-k az aktin polimerizációját és depolimerizációját, valamint a taposómalom viselkedését befolyásolhatják, hasonlóan ahhoz, amint a MAP-ok a mikrotubulusok dinamikus viselkedését módosítják. Számos fehérjecsalád tartozik az aktinkötő fehérjék közé.

A monomer-elkülönítő fehérjék a *latrunculin* méreghez hasonlóan működnek. A G-aktin monomerekhez kapcsolódva gátolják azok beépülését a láncba. Ilyen módon a sejt önmaga aktinfonal-szintetizálását is képes szabályozni. Jellemző monomer-elkülönítő fehérje pl. a profilin.

Az aktin polimerizációja ugyan nukleációs hely nélkül meg tud történni, de a hatékonyság növelése érdekében szerepet kaphatnak nukleációs fehérjék, melyek jellemzően a mínusz-véget stabilizálva gátolják az ott zajló depolimerizációt, így segítve a lánc gyorsabb növekedését.

Külön polimerizációt elősegítő fehérjékként tartjuk számon azokat a gyűrű formájú proteineket, melyek a plusz-véghez kapcsolódnak, körülzárják azt, és G-aktin monomereket vonzanak a lánc végéhez, majd annak beépülése után ismét a lánc plusz-végére ugranak. Ilyen fehérje például a dimerizációra is képes formin.

Szintén a plusz-véghez kötődnek a záró- (vagy sapkaképző) fehérjék, melyek jellemzően a sejtmembrán közvetlen környezetében vannak. Amennyiben a mínusz-vég is stabilizálva van (pl. nukleációs fehérje által), akkor gyakorlatilag nem tud polimerizáció és depolimerizáció sem történni, így az aktinfonal egy adott hosszúságon rögzül (de ilyenkor statikus a rendszer, nem dinamikus, mint a taposómalom viselkedés esetében).

Az aktin filamentum magasabb dimenziószámú polimerizációját a keresztkötő (vagy gélképző) fehérjék teszik lehetővé. Ezeknek a fehérjéknek két kötőhelyük van, melyekkel egymásra merőlegesen tudnak egy-egy aktinfonalat egymáshoz kapcsolni. Ilyen módon 2D-s és 3D-s polimerizációs fok is elérhető, mely egy összefüggő aktin-hálót eredményez a sejtplazmában. Az egymással párhuzamos aktinfonalak kialakítására pedig a távtartó faktorok szolgálnak.

A keresztkötések megszüntetését az elfolyósító (vagy szétkapcsoló) fehérjék végzik. A keresztkötő fehérjék alkotta gélt elfolyósítják, valamint széttördelik az aktinfonalakat rövidebb darabokra. Ilyen funkcióval rendelkező fehérje például a gelsolin.

A stabilizáló faktorok, mint például az izomsejtekben a tropomiozin, oldalról burkolják az aktin filamentumot, ezzel mechanikailag védve azt, továbbá a szintén ABP-nek számító motorfehérjék hozzákapcsolódását is gátolják ezáltal. A motorfehérjék – akárcsak a mikrotubulus esetében – szállító funkciót betöltő fehérjék. Az aktin motorfehérjéi az I-es és a II-es típusú miozinok, melyek mindketten (+)-motorok. Mivel a tropomiozinnal burkolt aktinfonalhoz nem tud hozzákapcsolódni a miozin (jelen példában a II-es típusú), így az izom összehúzódása gátlódik (amit egy másik fehérje, a troponin viszont meg tud szüntetni).

Az egy láncból történő magasabb dimenziószámú polimerizációért az aktinszerű fehérjék (actin related protein – ARP) felelnek. Szemben a keresztkötő fehérjékkel, a 2D-3D-s struktúrák kialakítását nem az 1D-s fonalak egymáshoz kapcsolásával érik el, hanem úgy, hogy oldalról az aktinhoz kötődnek komplexként, majd nukleációs helyként funkcionálva az eredeti lánccal valamekkora α-szöget bezáró oldalágakat hoznak létre.

**Az aktin motorfehérjéi, a miozinok**

Az aktinnak két fajta motorfehérjéje van: az I-es és a II-es típusú miozin.

Az I-es típusú miozin monomer szerkezetű: globuláris feji részével lépegető mozgással halad az aktin plusz-vége felé, miközben α-hélixes farki részével pl. transzport vezikulumokat képes magával szállítani. Ha a plusz-vég rögzül a sejtmembrán zárófehérjéin, akkor egészen odáig is történhet a szállítás. Az I-es típusú motorok egy további jellemzője, hogy hozzá tudnak kapcsolódni a plazmamembrán egyes fehérjéihez, így ezek az aktinfonalak közelítőleg párhuzamosak lesznek a sejtmembránnal. Ez a membránnal párhuzamos irányú szállítás mellett lehetővé teszi az aktin és a membrán egymáshoz képesti elmozdulását, azaz a membrán deformálását. A sejt ilyen módon képes létrehozni és mozgatni a nyúlványszerű kinövekedéseit, valamint az állábait.

A II-es típusú miozin viszont dimer szerkezetű, benne a monomerek paralel elrendeződésűek. Ezek a dimerek szintén paralel elrendeződéssel kötegeket alkothatnak, ezután pedig két ilyen köteg, egymással ellentétes (antiparalel) orientációban, összekapcsolódhat egy miozinfonallá. Ez a miozinfonal pedig össze tud kapcsolni két aktinfonalat, melyek a motorok működése közben egymáshoz képest elcsúsznak. Ezen folyamat egyidejű lejátszódása vezet citokinézis során a kontrakcióhoz, illetve egy ehhez hasonló folyamat az izomsejtek kontrakciója is.

**A motorfehérjék vizsgálata**

A motorfehérjék vizsgálata megfelelő *in vitro* körülmények megteremtése után lehetséges. Ehhez az élő sejtből ép sejtváz darabokat kell izolálni. Az aktin izolálását megnehezíti az a körülmény, hogy a fonal rendkívül könnyen eltörik (minthogy az aktin meglehetősen vékony, mindössze 7 nm-es vastagságú). Éppen ezért a miozinok vizsgálata nagyon nehéz, a gyakorlatban a motorfehérjék tanulmányozására inkább a mikrotubulus kinezin és dinein motorjait használják, mivel a mikrotubulus jóval vastagabb (25 nm), és ezáltal jóval stabilabb is mechanikai hatásokkal szemben, mint az aktinfonal.

A mikrotubulusok izolálása a gyakorlatban tintahal idegsejtjéből, az ún. óriás axonból történik, mely akár mm-es vastagságú is lehet. (Ennek biológiai jelentősége, hogy az óriás axonon az akciós potenciál nagyobb sebességgel tudjon terjedni, így a tintahal gyorsan irányt tudjon változtatni). A preparáció során az óriás axonból mechanikai eljárással kipréselik annak citoplazmáját, az ún. axoplazmát. A kifolyt axoplazmában a mikrotubulusok és a transzport-vezikulumok szuperfelbontású fénymikroszkópiával tanulmányozhatók, a motorfehérjék jelenlétét a mikrotubulus-darabkák helyváltoztató mozgása bizonyítja. A kinezin motorok farki részükkel ugyanis le tudnak tapadni üveglapra is, így a mikrotubulus plusz-vége felé történő lépegető mozgásuk az egész filamentum-darabot odébb csúsztatja. A motorfehérjék szállítási sebessége például szilikagyöngyök hozzáadásával állapítható meg. A szilikagyöngyhöz a kinezin motorok ugyanúgy kötődnek, mint az üveglaphoz, viszont a kisebb méretéből adódóan ezt már szállítani is képesek. A motorfehérjék jellemző szállítási sebessége tized μm/s nagyságrendű. Ez azt jelenti, hogy a 8 nm-es lépéshosszú fehérjekomplex (ami megfelel egy tubulindimer hosszának), ha mérések szerint 1 másodperc alatt kb. 0,3 μm-t tesz meg, akkor ezalatt közel negyven lépést, tehát majdnem húsz lépéspárt halad.

**Az aktin szerepe a sejtek mozgásában**

 A magasabb rendű élőlényeknél elengedhetetlenül fontos, hogy a sejtek a szervezeten belül a környezet változásaira reagálva pozícionálni tudják magukat (pl. érpálya elhagyása, szöveti térben való elrendeződés osztódás után, stb.). Ennek *in vitro* körülmények közötti vizsgálatára a sejtbiológusok fibroblasztot használnak, mely egy izolált kötőszöveti sejt. A fibroblasztot műanyag- vagy üveglapra helyezve lassú csúszó mozgás figyelhető meg egy adott kemotaktikus inger hatására. Ennek hátterében egyrészt az integrin nevű transzmembrán fehérje áll, mely ilyenkor többedmagával letapadási felületeket hoz létre. Másrészt pedig az attraktor hatására polarizálódik a sejt, nyúlványok erednek a sejt inger irányába eső részén. Ezek a nyúlványok kétfélék lehetnek: a kiterjedtebb, kilapultabb nyúlványok a lamellipodiumok, míg a kisebb, hegyesebb kinövekedések pedig a filopodiumok.

 Az új letapadási felületek miozin motorok segítségével alakulnak ki, intenzív aktin-polimerizáció által, a sejt elülső (inger felé eső) oldalán. Hogy a folyamatból valóban haladó mozgás, és ne csak a sejt kilapulása következzen, az új tapadási helyek kialakulásával egyidejűleg a haladási iránytól távolabb eső részeken aktin-kontrakció és aktin-depolimerizáció történik, és egyes régi letapadási felületek megszűnnek.

 Sejtosztódás ilyen alaktalan, csúszó sejtek esetében nem tud megtörténni, azaz ilyen mozgás csak az interfázisban (vagy G0-fázisban) lehetséges. Mitózis elején integrin-foszforiláció történik, melynek hatására a letapadási felületek megszűnnek, a sejt pedig felgömbölyödik, és ezután már osztódni is tud.

 Korábban már említésre kerültek az állábak (vagy pszeudopodiumok). Ezek is aktin polimerizáció révén kialakított nyúlványok, amelyek a sejt mozgását vagy fagotróf táplálkozását egyaránt segíthetik. Amőbák és egyes fehérvérsejtek (pl. a makrofágok) képezhetnek állábakat.

**A Rho-fehérjék funkciói**

A vizsgált fibroblaszt a külső környezeti jelekre a választ a citoszolban foszforilációs kaszkádok által alakítja ki. Ezen kaszkádok egyes tagjai olyan GTP-kötő fehérjék, melyek az aktin polimerizációját tudják valamilyen módon befolyásolni. E fehérjéknek két formája ismeretes: a GTP-kötött aktív, valamint a GDP-kötött inaktív forma. A GTP-nek a fehérje inaktiválásában (GTP késleltetett hidrolizálása GTPáz aktivitás révén), illetve az inaktív fehérje aktiválásában (GDP GTP-re történő cseréje megfelelő cserefaktorokkal) van szerepe. A fibroblaszt mozgását irányító GTP-kötő fehérjecsalád tagjait összefoglalóan Rho-proteineknek nevezzük. Ezek a fehérjék az aktin polimerizációjának fokát és formáját alapvetően meghatározzák.

A vizsgálat során a sejtbiológusok a különböző Rho-fehérjéket tisztán egy-egy fibroblasztba injektálták, és a tapasztalt változásokat egy kontroll sejttel összevetve tudták megállapítani, hogy az adott fehérjetípus a sejt csúszó mozgásának melyik részfolyamatáért felel, valamint hogy az aktin polimerizációra milyen hatással van. Fontos, hogy minden egyes kísérletben nagy mennyiségben történjen az adott fehérje beinjektálása, hogy a változás egyértelműen tapasztalható legyen.

A fehérjecsaládon belül Rho-fehérjének nevezték el azt, melyet a fibroblasztba injektálva az aktint gyors 1D-s polimerizációra serkenti. A Rac-fehérje hatására a sejt teljes kerületén letapadási felületek, lamellipodiumok jönnek létre. Végül pedig a Cdc42-fehérje felel azért, hogy a sejt filopodiumokat növesszen körben mindenfelé a sejt kerületén. Ezen részfolyamatok összehangolt működése eredményezi a sejt csúszó mozgását.