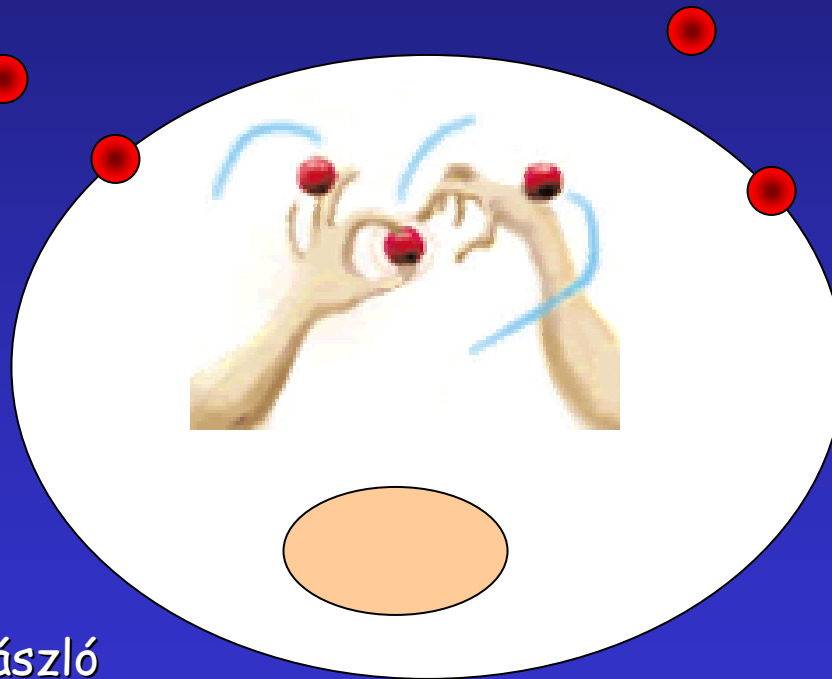
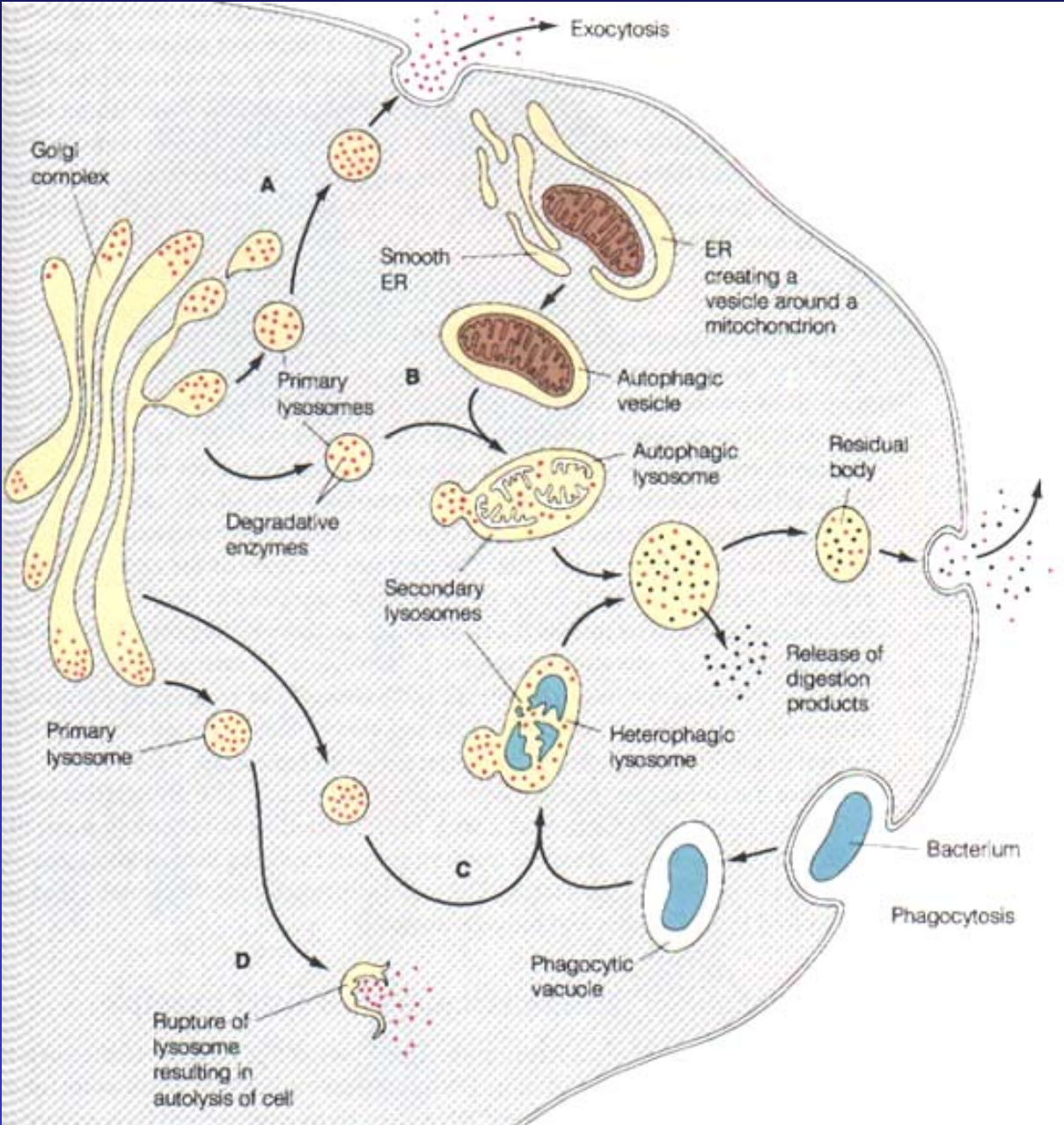


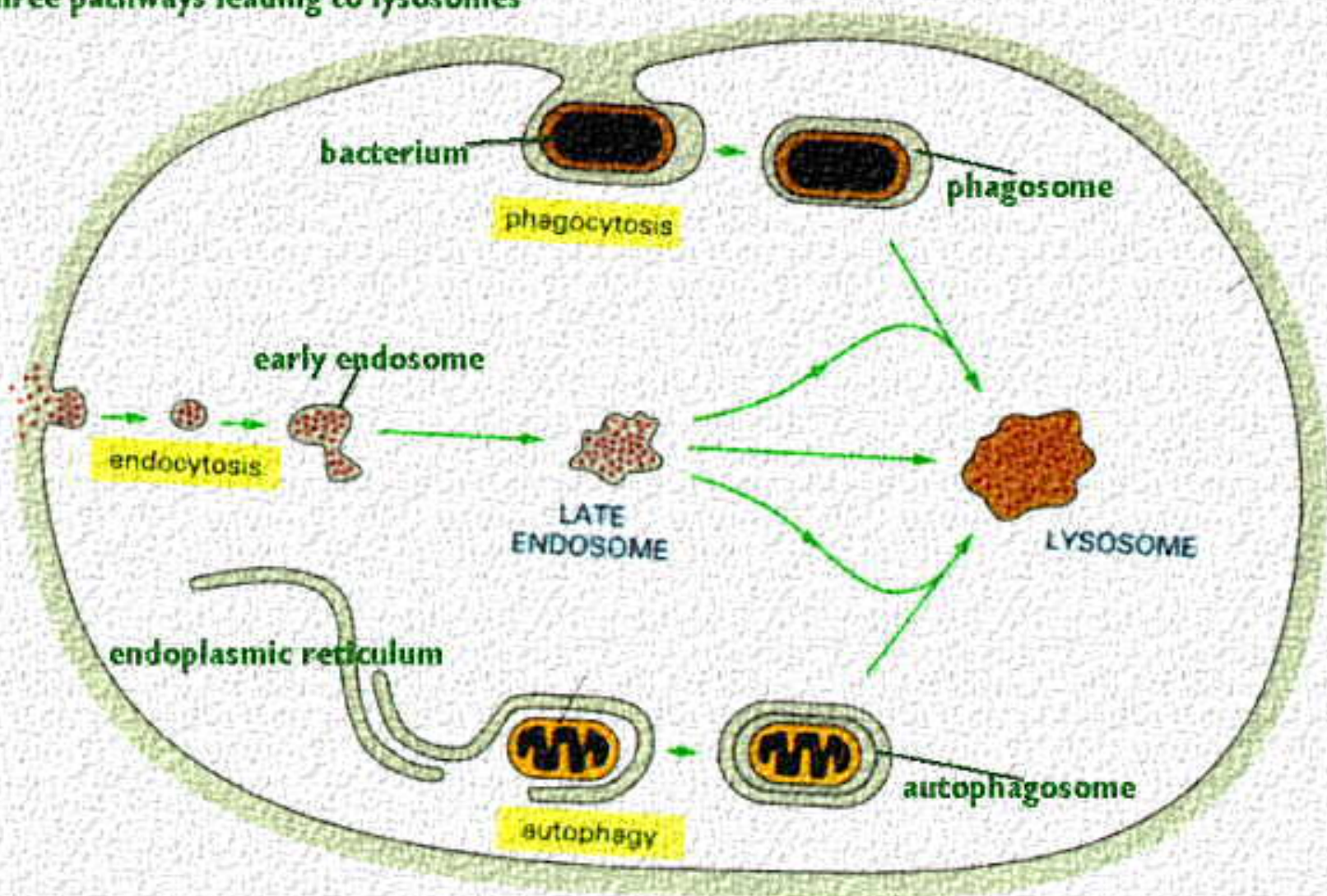
Endocitózis - Exocitózis



Dr. habil. Kőhidai László
Semmelweis Egyetem
Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet
Budapest



Three pathways leading to lysosomes



Endocitózis

- Fagocitózis - szilárd fázishoz közel álló anyag felvétele
- Pinocitózis - folyadék fázisú anyagok felvétele (general)

Endocitózis:

- anyagfelvétel
- compartmentek protein vagy lipid alkotórészeinek transzportja
- metabolikus folyamatokat és sejtosztódást befolyásoló szignálok sejtbejuttatása
- mikroorganizmusok elleni védelem

Fagocitózis (1)

Sejtek:

- egysejtűek
- makrofágok
- oszteoklasztok
- trofoblaszt sejtek

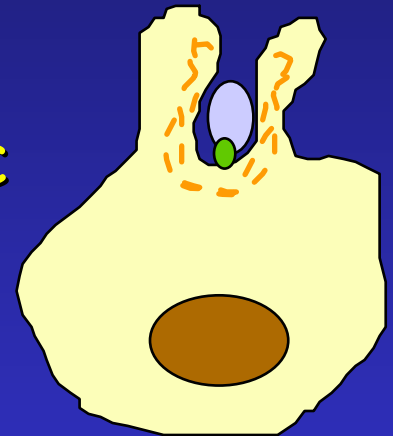
Funkciók:

- tápanyagok felvétele
- immunválasz
- elöregedett sejtek eliminálása (pl. vvt.)

Fagocitózis (2)

Szükséges elemei:

- jel
- membrán receptor (pl.: antitest Fc receptora)
- álláb képződés
- corticális aktin hálózat

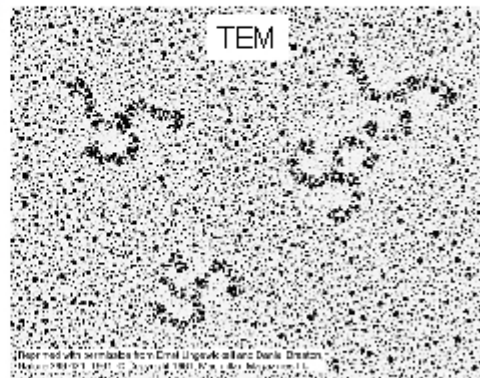
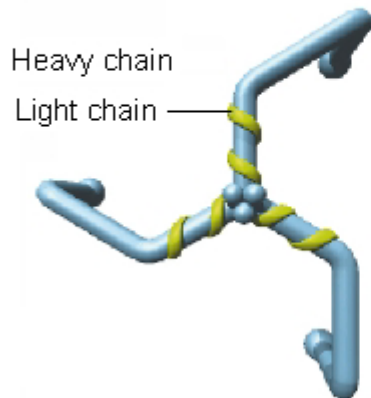


A kialakuló vezikulum: fagoszóma (hetero-; auto-)

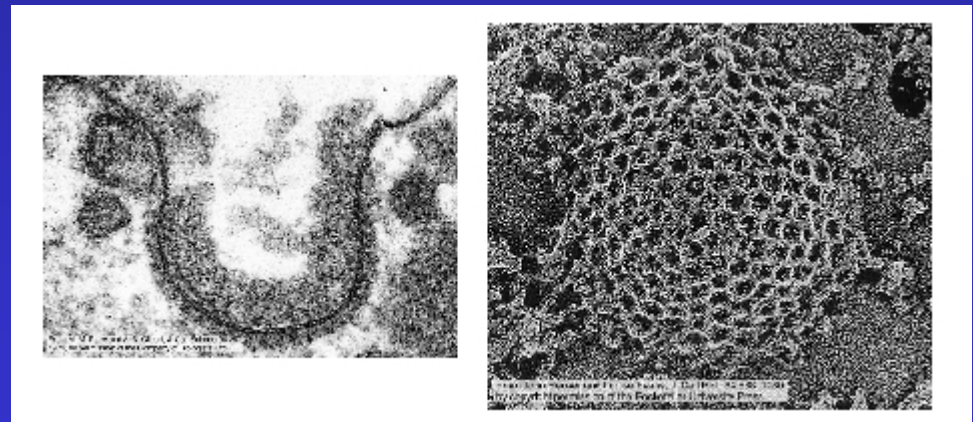
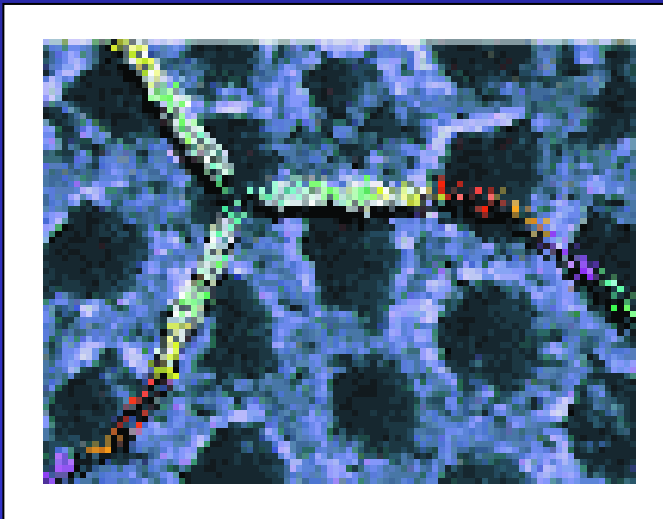
Endocitózis

- Clathrin-burkolt vezikulum
- Nem-clathrin burkos vezikulum
- Makropinocitózis
- Potocitózis

- Formed by triskelions built from clathrin protein (331-40)
 - 3 heavy chains & 3 light chains



Clathrin burkos gödör/vezikulum

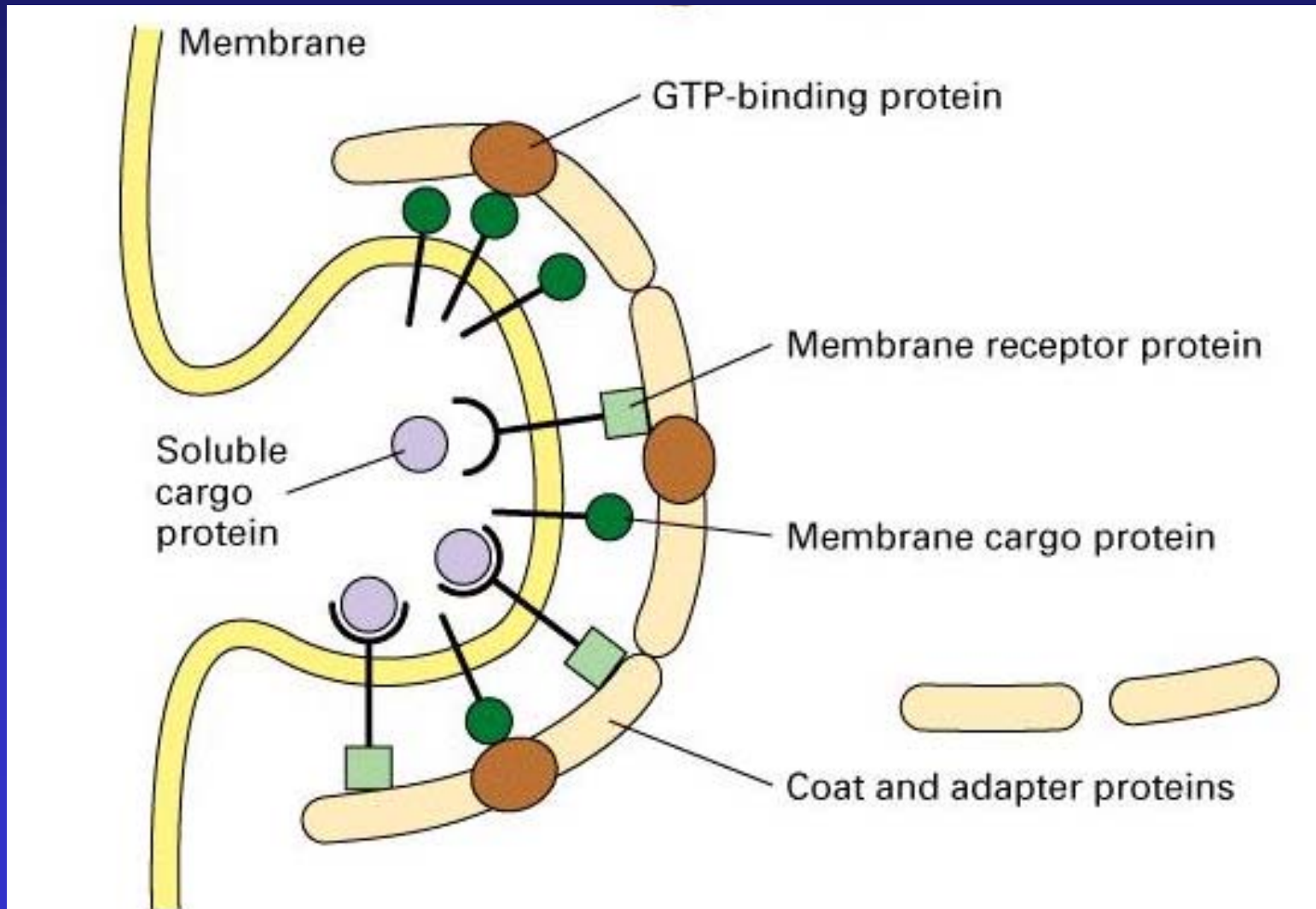


A clathrin burkos vezikulumok

Receptor mediált endocitózis

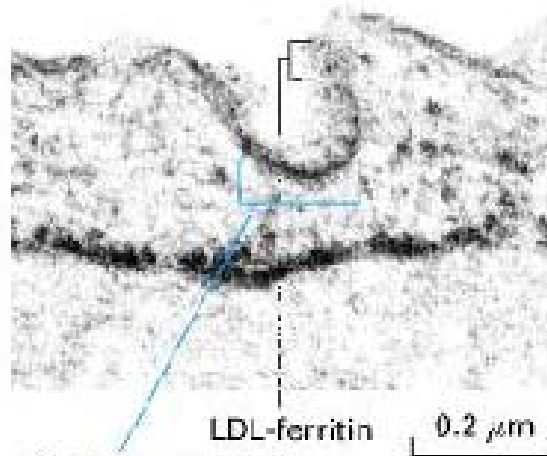
- Molekulák szelektív felvétele
(alacsony környezeti konc.)
- Membrán receptorok
- Ligand koncentrációja (1000x)

A burkos vezikulum felépítése

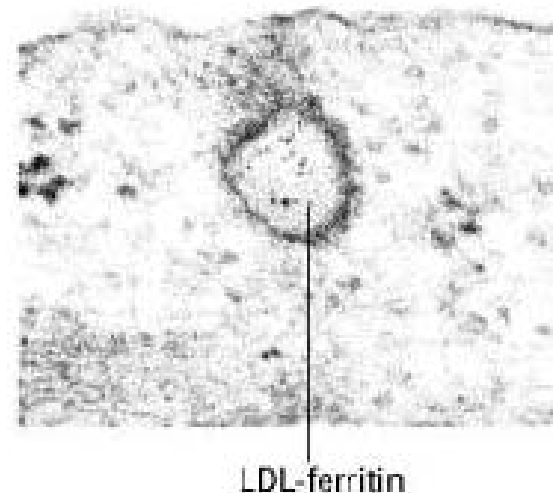


LDL receptor-mediált endocitózis

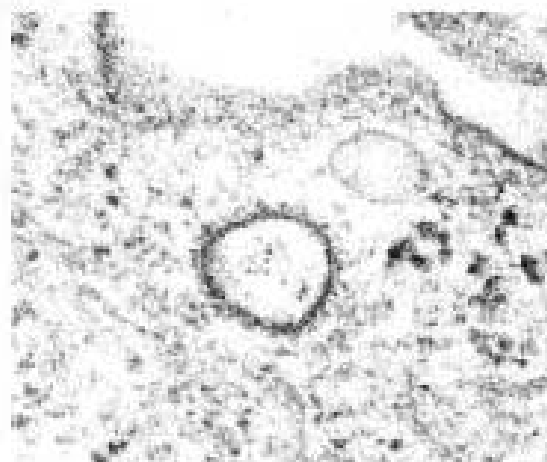
(a)



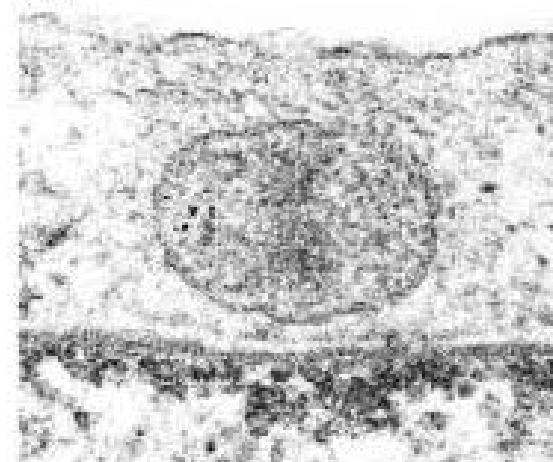
(b)



(c)



(d)



Szecernált és membrán-proteinek transzport vezikulumokba történő válogatása

Szignál szekvenciák

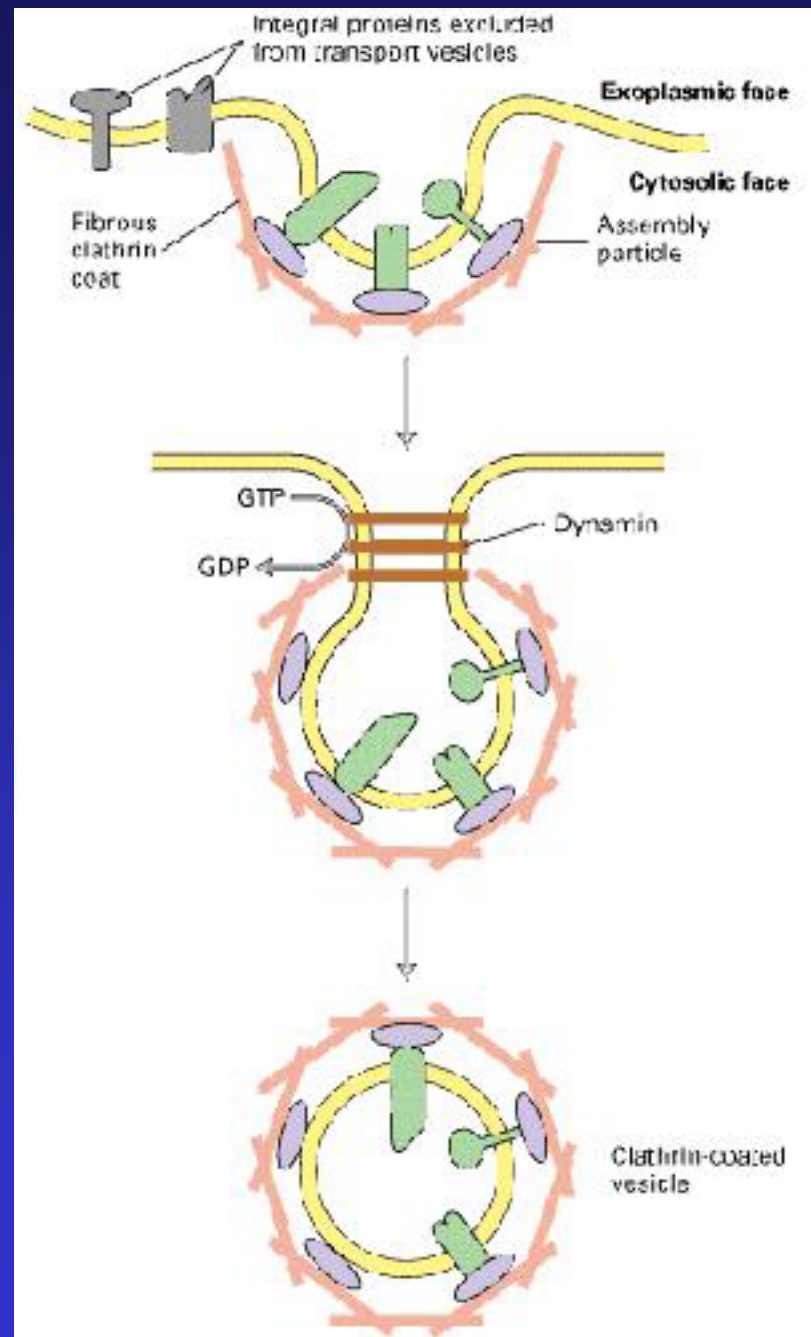
TABLE 17-6 Sorting Signals That Direct Secreted and Membrane Proteins to Specific Transport Vesicles

Signal Sequence*	Type of Protein†	Transport Step	Vesicle Type	Signal Receptor
Lys-Asp-Glu-Leu (KDEL)	Secreted	Golgi to ER	COP I	KDEL receptor (ERD2 protein) in Golgi membrane
Lys-Lys-X-X (KKXX)	Membrane	Golgi to ER	COP I	COP α and β subunits
Di-acidic (e.g., Asp-X-Glu)	Membrane	ER to Golgi	COP II	Not known
Mannose 6-phosphate (M6P)	Secreted	Trans-Golgi and plasma membrane to late endosome	Clathrin	M6P receptor in Golgi and plasma membrane; AP1 and AP2 adapter proteins
Tyr-X-X- ϕ (YXX ϕ)	Membrane	Plasma membrane to endosome	Clathrin	AP2 adapter proteins
Leu-Leu (LL)	Membrane	Plasma membrane to endosome	Clathrin	AP2 adapter proteins

*X = any amino acid; ϕ = bulky hydrophobic residues. Single-letter abbreviations are shown in parentheses.

†Signal sequences are located in the cytosolic domains of membrane proteins.

Membrán proteinek szelektív burkos vezikulumba épülése



dER

TGN

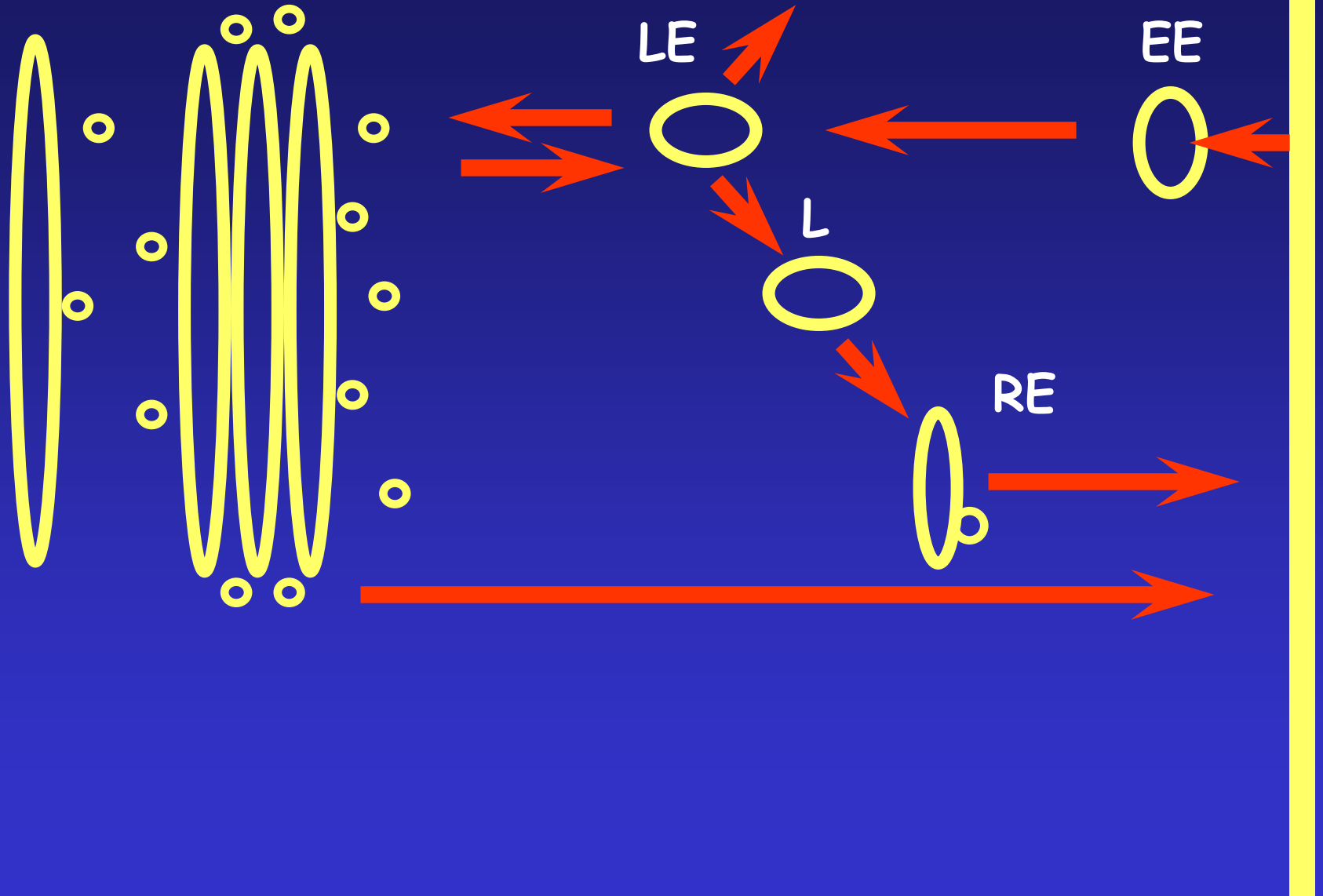
LRO

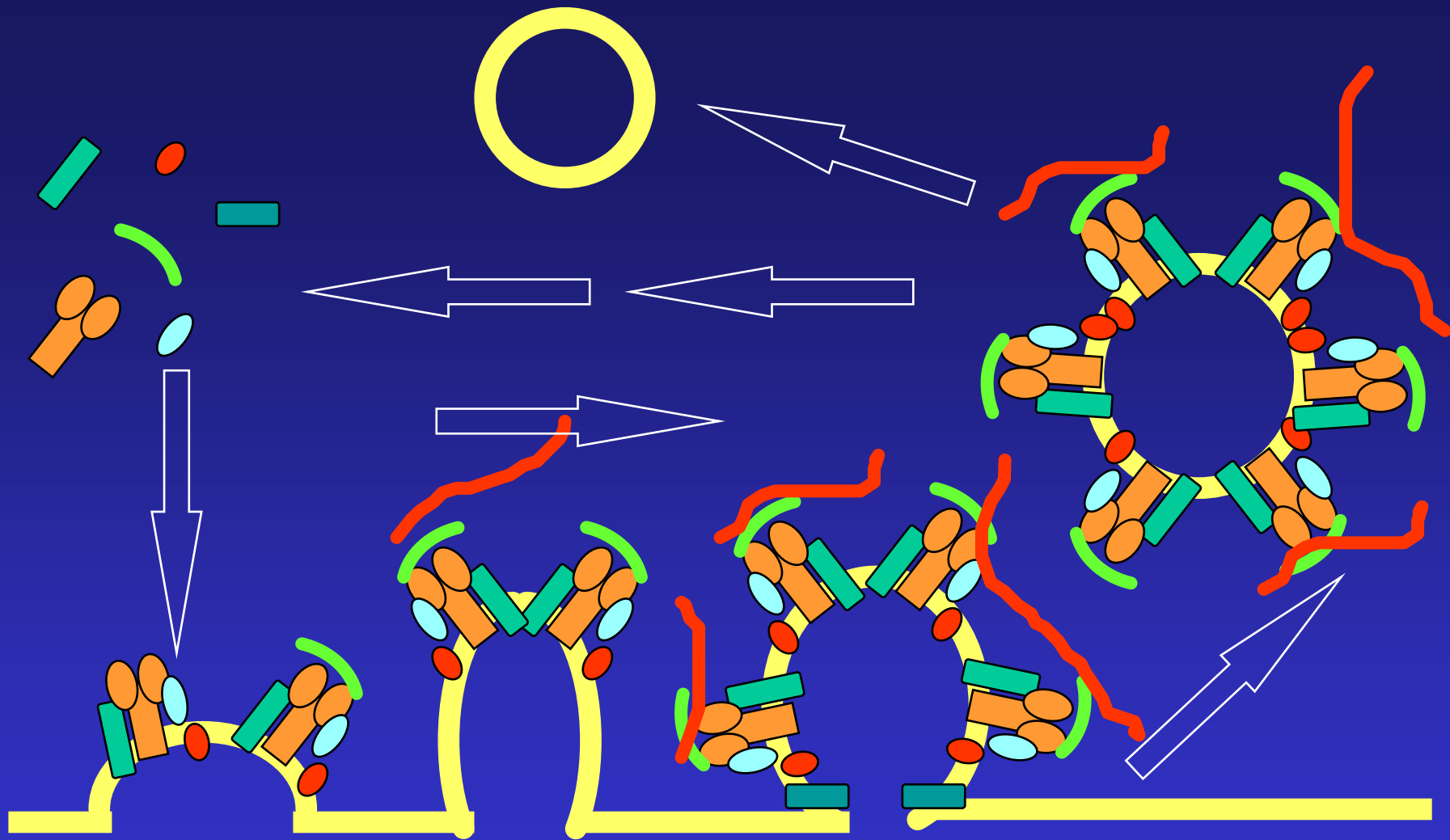
LE

EE

L

RE





- -clathrin
 - -AP-2
 - -AP180
 - -PIP2
- -aktin
 - -synaptotagmin
 - -dynamin

Endoszómális-lizoszómális compartment Szerkezet

- csöves, vezikuláris
- savas pH - vezikuláris H^+ ATP-áz - proton pumpa
- korai (early)-endosoma (EE) és késői (late)-endosoma (LE), valamint lizoszóma (L)
- EE pH= 6; LE pH=5
- az EE-ban NINCSENEK lizoszómális membrán proteinek vagy enzimek (szemben a LE-val)

Endoszómális-lizoszómális compartment Funkció

- osztályozás
- transzport
- degradáció

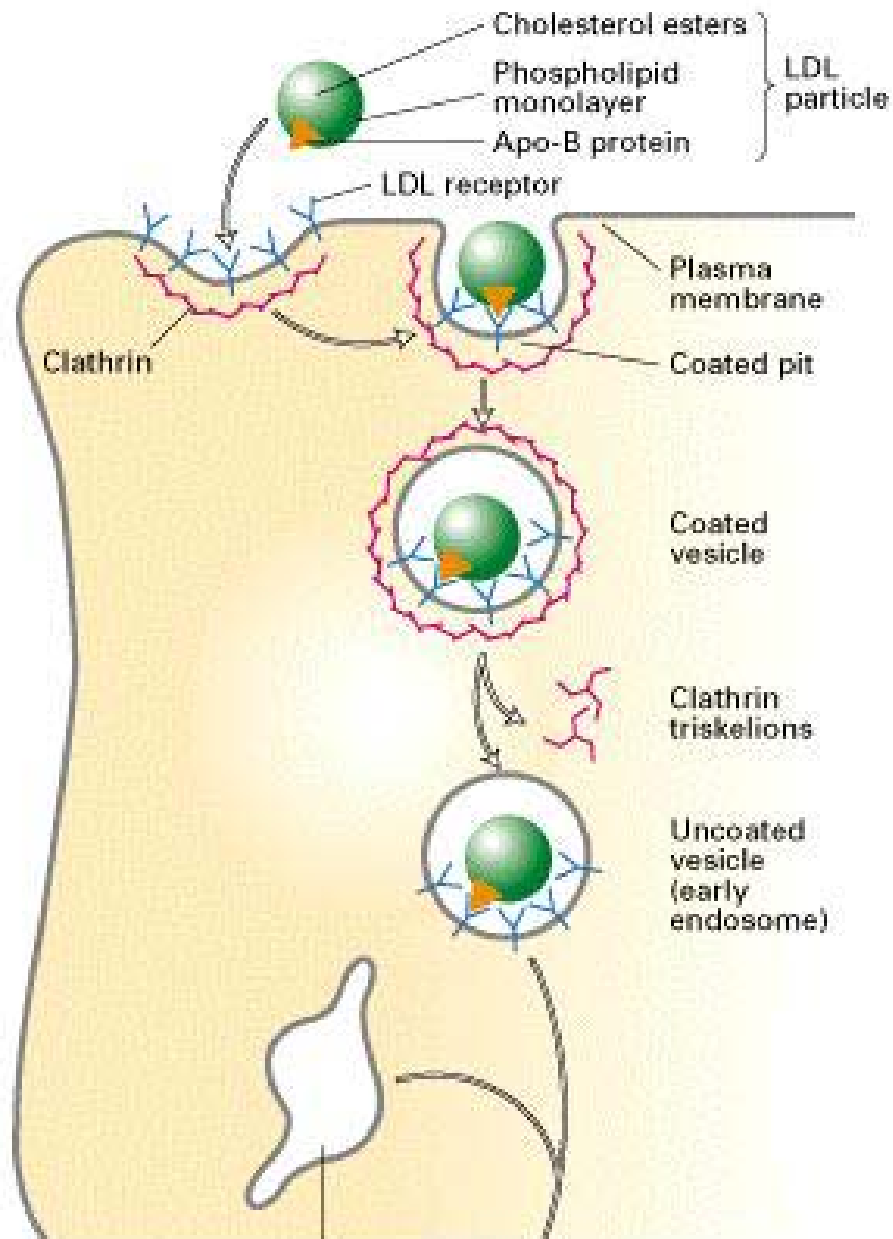
- clathrin burok eltávolítása
- EE képződése

A korai endoszómában (EE):

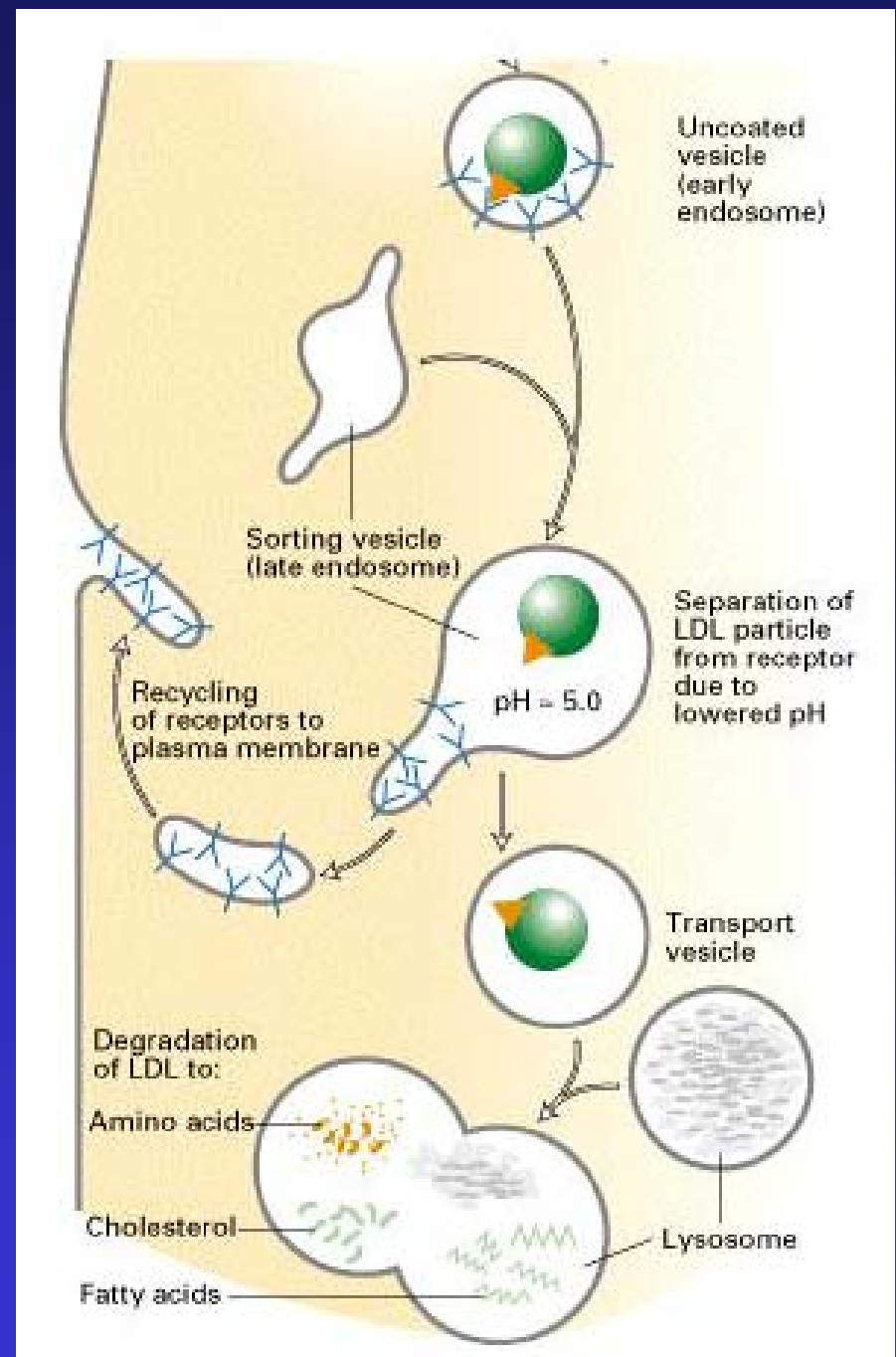
- a receptor-ligand komplex disszociációja - **receptor-reciklizáció** (pl. *LDL*, *transferrin*)
- receptor-ligand komplex közösen transzportálódik - **receptor down reguláció** (pl. *EGF*)

Receptor- mediált endocitózis

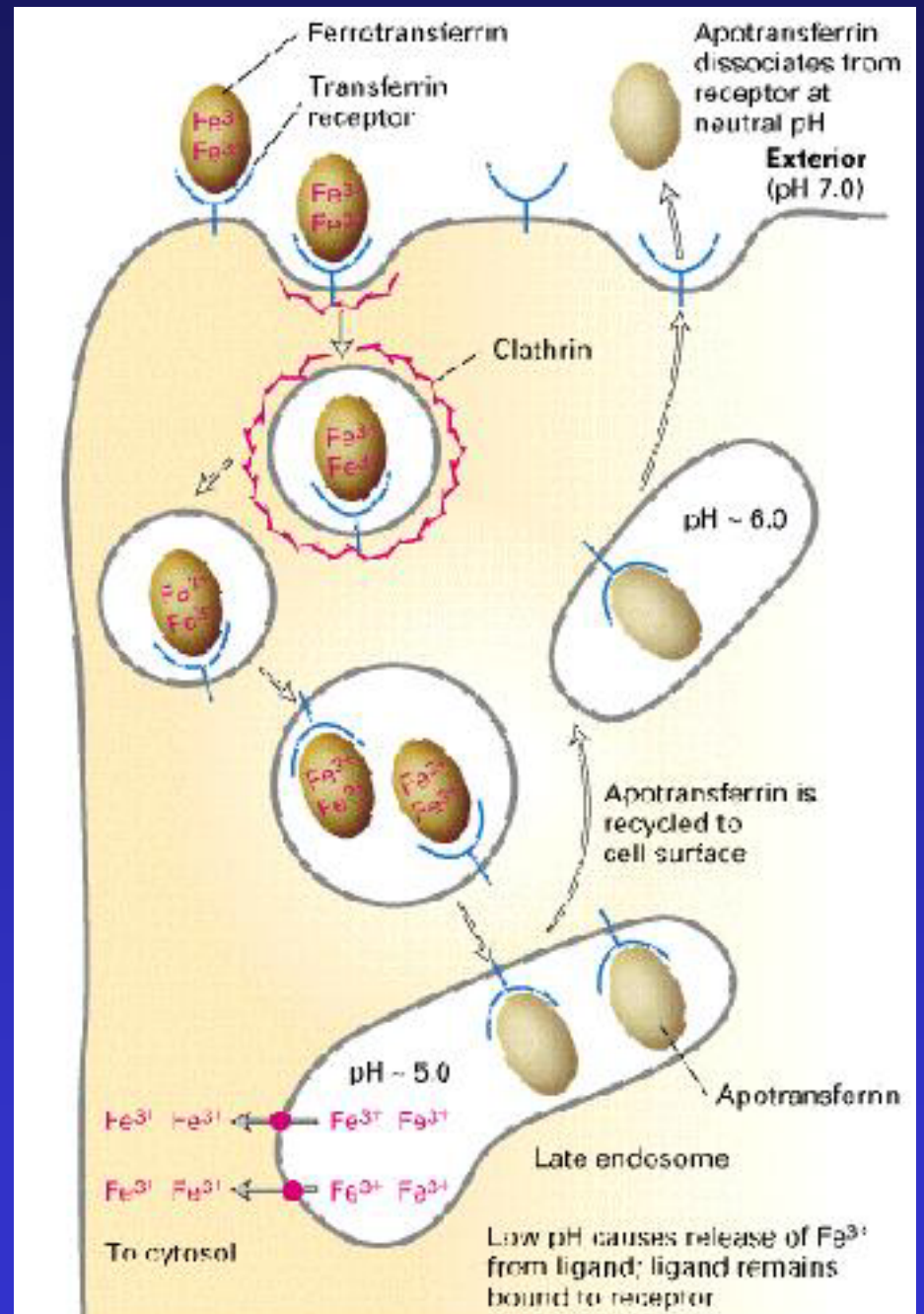
(inzulin, LDL
vagy egyéb
hormonok)



A receptor mediált endocitózis útján internalizálódott LDL sorsa



A transferrin-ciklus



A burkos vezikulumok leválásában részt vevő komponensek

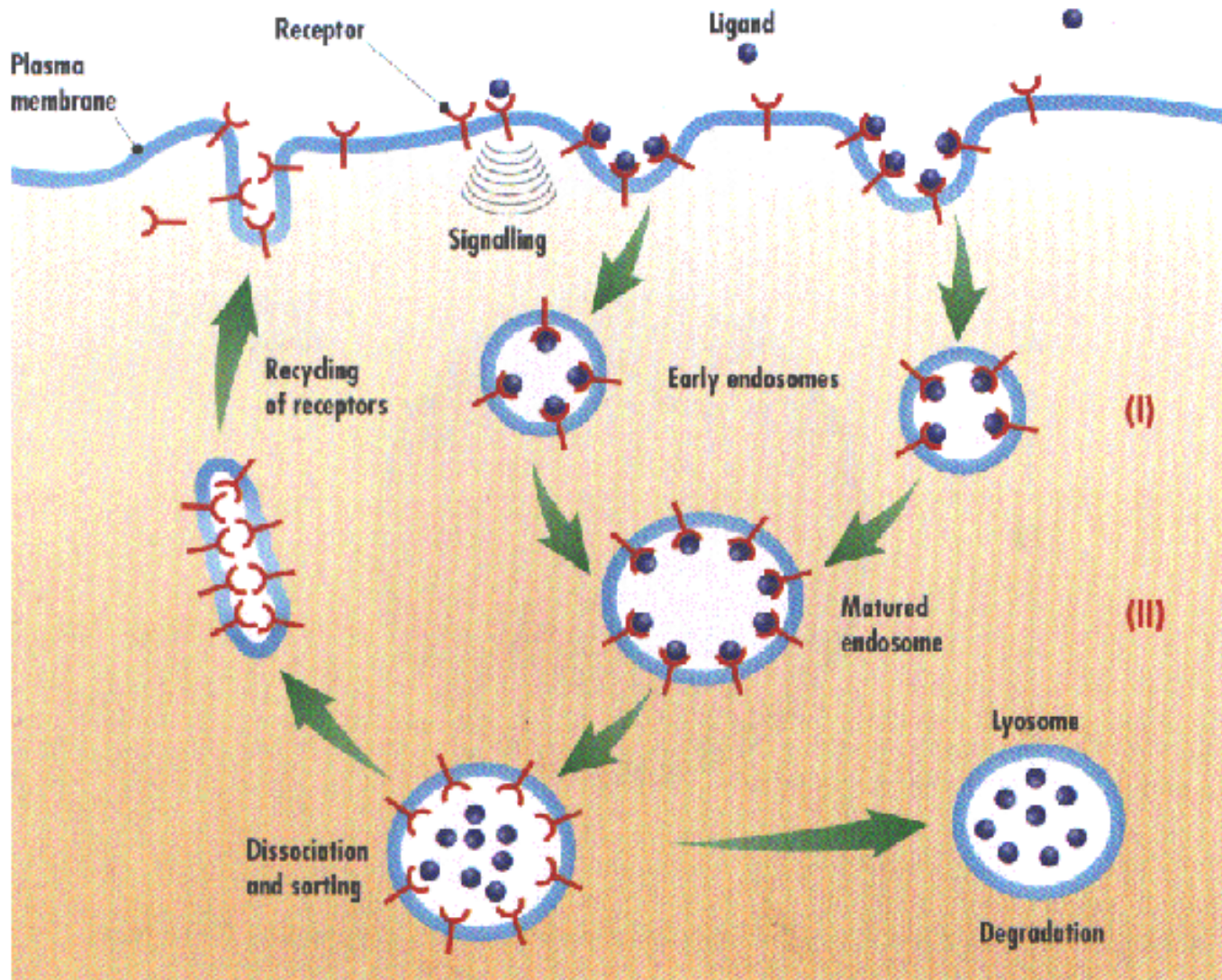
Vesicle	Coat and Adapter Proteins	Small GTP-Binding Protein	Transport Step
Clathrin	Clathrin heavy and light chains; AP2	ARF	Plasma membrane → endosome (endocytosis)
	Clathrin heavy and light chains; AP1	ARF	Golgi → endosome
	Clathrin heavy and light chains; AP3	ARF	Golgi → lysosome, vacuole, melanosome, or platelet vesicles
COPI	COP α , β , β' , γ , δ , ϵ , ζ	ARF	Golgi → ER Retrograde transport between Golgi cisternae
COPII	Sec23/Sec24 complex; Sec13/Sec31 complex; Sec16	Sar1	ER → Golgi

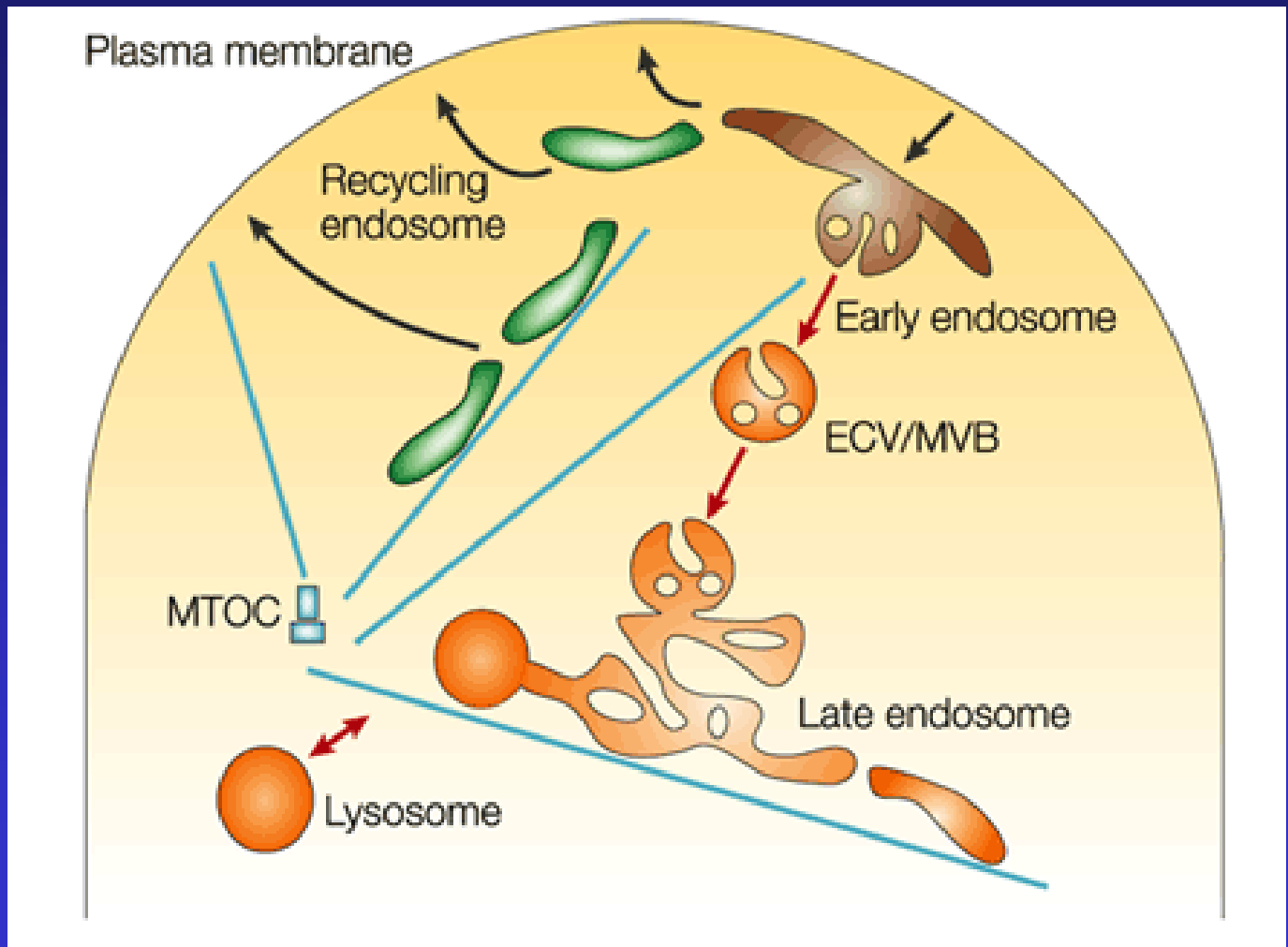
Késői endoszóma

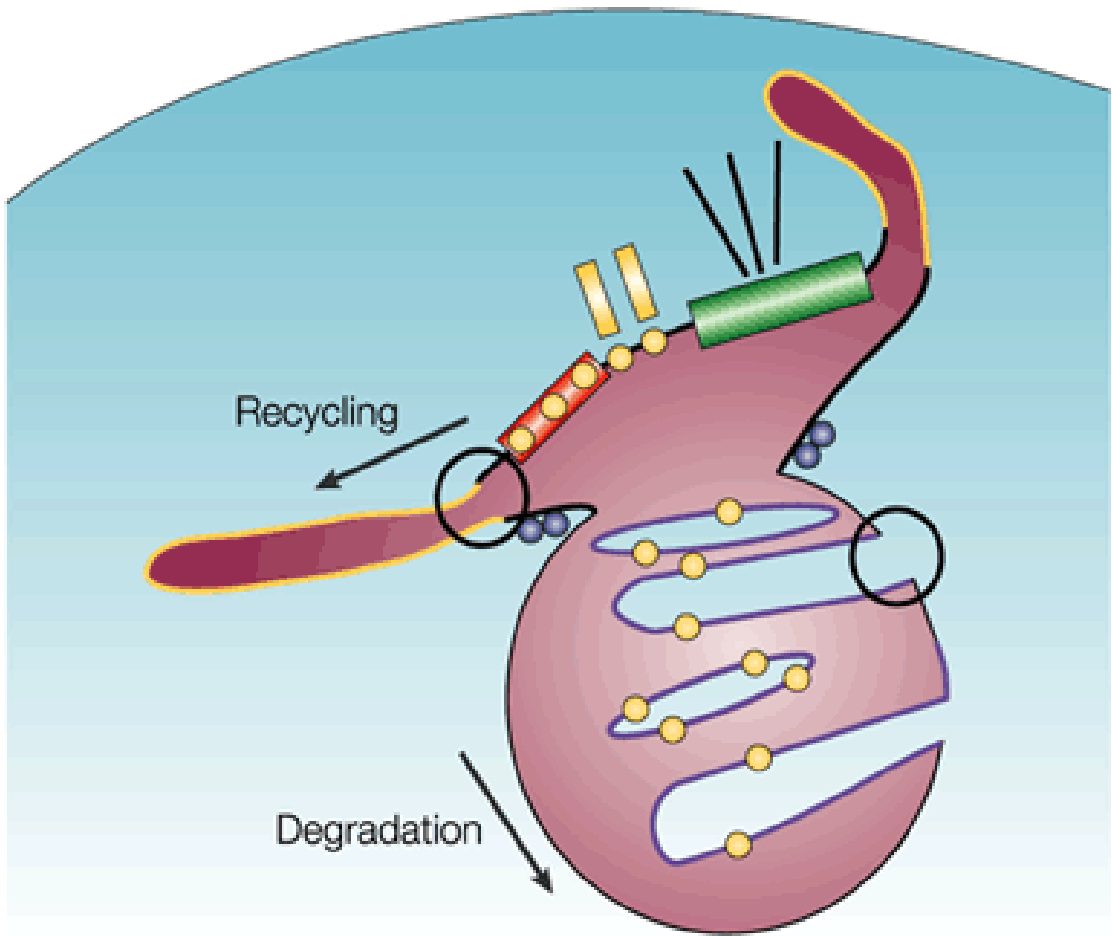
- EE, TGN és autofagoszómákból képződik
- a lizoszómális enzimek M-6-P szignálja változik - a foszfát csoport lehasad - az M-6-P receptorok már nem kötik az enzimet
- a vezikulumok enzim tartalma a lumenbe kerül



Lizoszómák

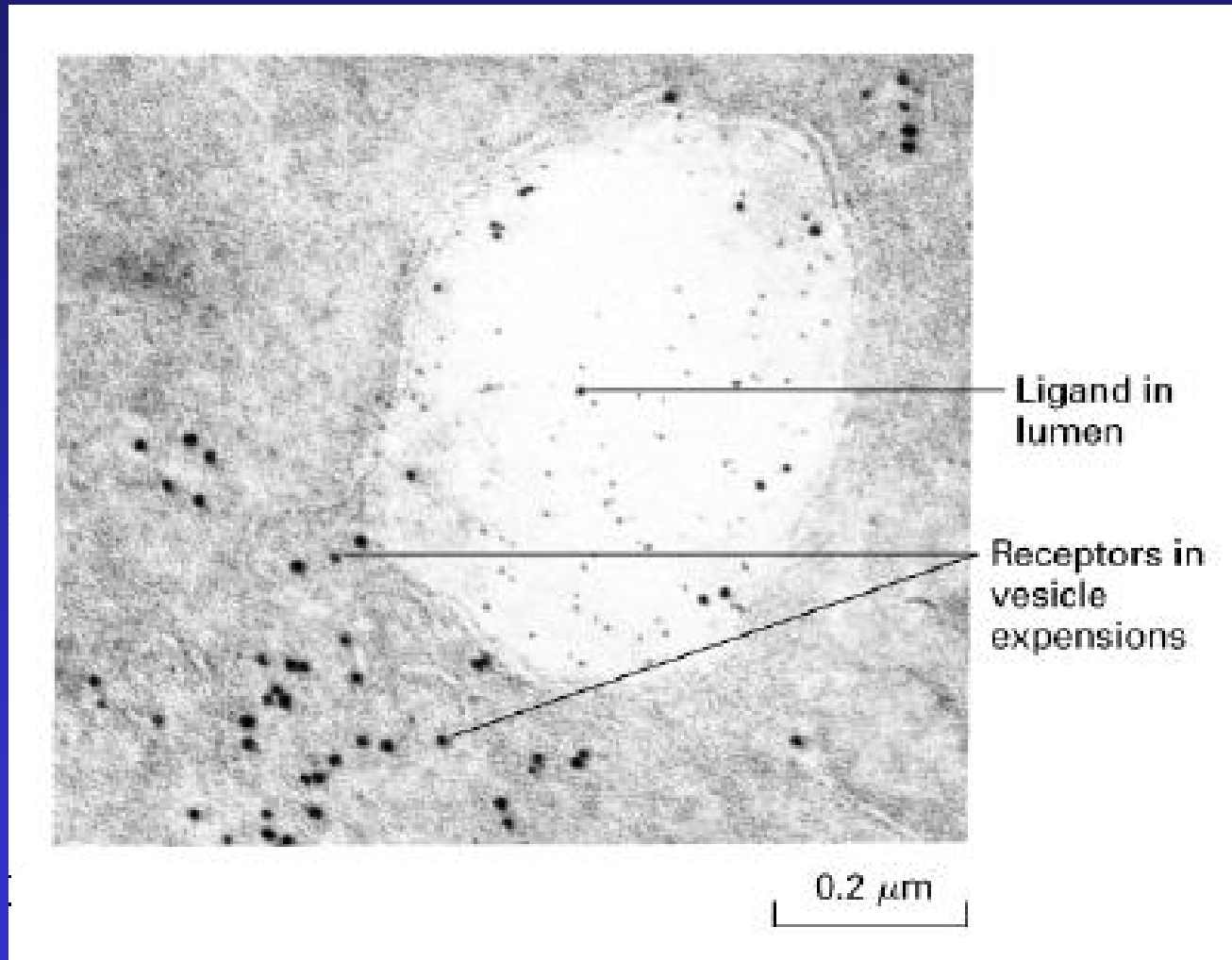




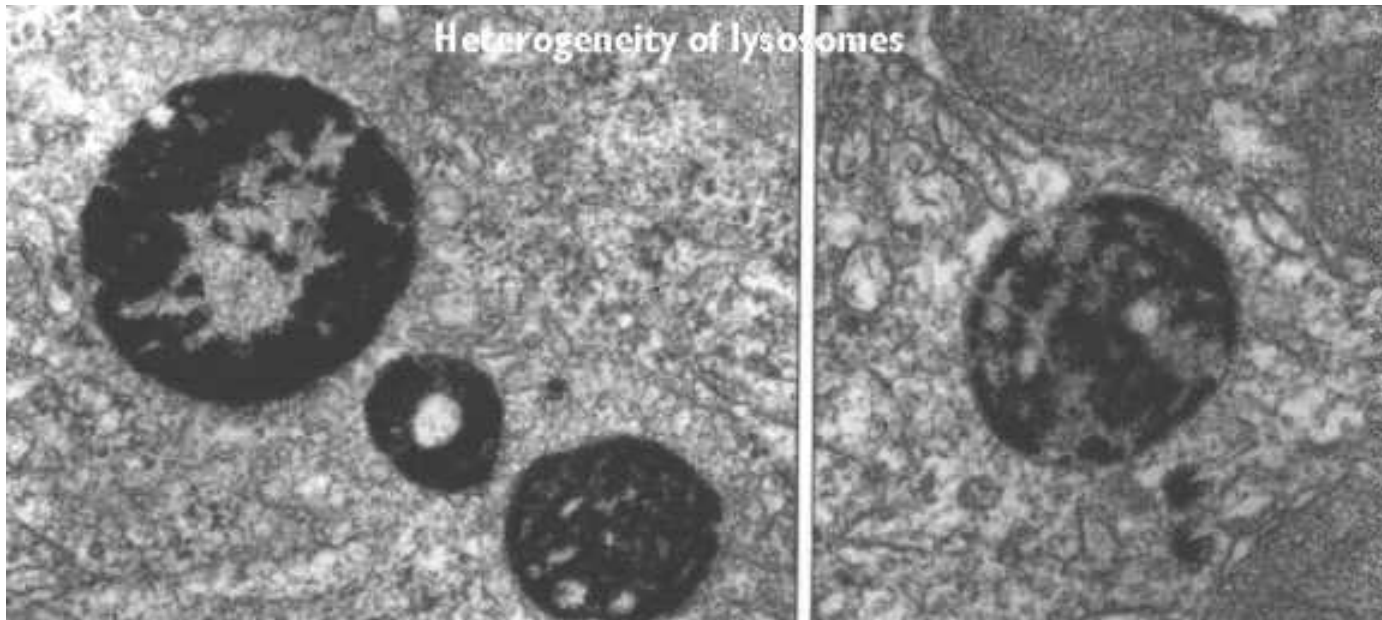


- PtdIns(3)P signalling pathway, FYVE and PHOX proteins
- Rab5 and effectors
- Annexin II-cholesterol
- Endosomal COPs

A receptor-ligand komplex disszociációja a késői endoszómában



Lizoszómák (TEM)

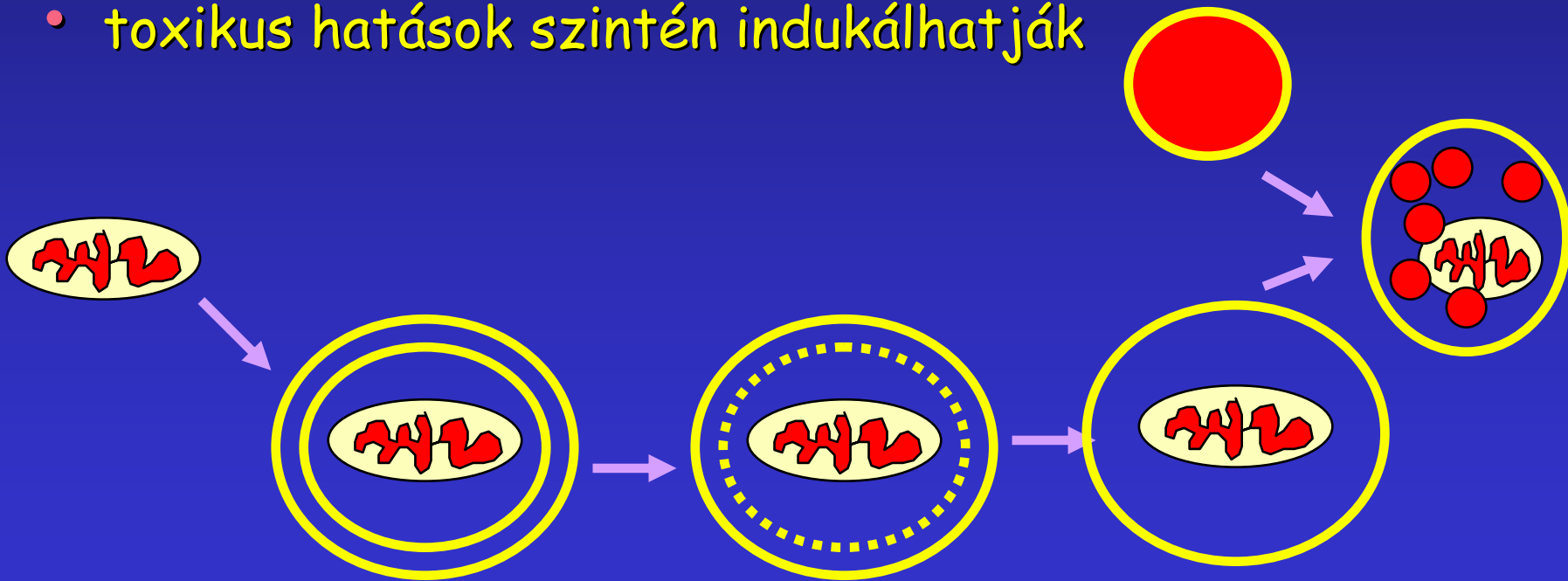
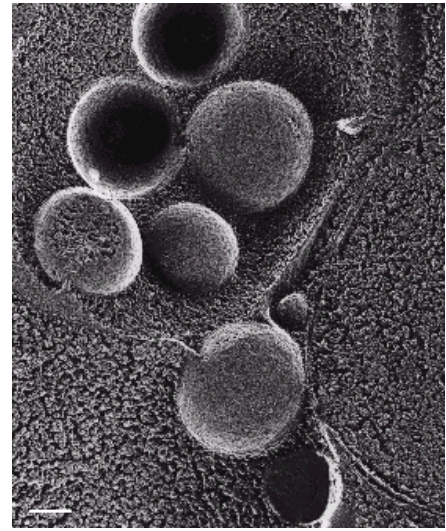


Lizoszóma

- **enzimek** - savas hidrolázok
pl. proteáz, nukleáz, glikozidáz, foszfatáz
- több mint 40 fajta enzim
- **membrán proteinek** - glikoziláltak, mely megvédi őket az enzimek bontó hatásától
- **transzport molekulák** a membránban - a proteolitikus bontás termékeit szállítják a citoplazmába
- a salakanyagok a sejtből kikerülnek vagy raktározódnak a citoplazmában (zárványok; reziduális test)

Autofágia - Autofagoszóma

- saját komponensek felvétele és bontása
- a sejtorganellumok számát szabályozza
- toxikus hatások szintén indukálhatják



Nem-clathrin burkos vezikulumok

- a membránban nincsenek receptorok vagy clathrin
- az anyagok felvétele kevésbé szelektív
- elsődlegesen folyadék-fázisú endocitózis

Makropinocitózis

- a felszíni membrán fodrozódása képi a vakuólumot
- nem borítja membrán
- mérete 0.2-5 mm - a tömeg/felszín arány nagyon kedvező

Jelentőség:

- folyadék-fázisú pinocitózis
- mintavételek a környezetből
 - antigén felismerés makrofágok esetében

Caveola

- 50-80 nm-es, palackszerű beboltosulásai a felszíni membránnak
- endothél, adipociták
- jellegzetes komponens - *caveolin*
- potocitózis - a caveóla bezárul de nem internalizálódik, az anyagok innen a citoplazmába speciális hordozó molekulák útján kerülnek be
pl. *B4 vitamin*
- egyes caveolák belépnek a sejtbe !!!

Caveola

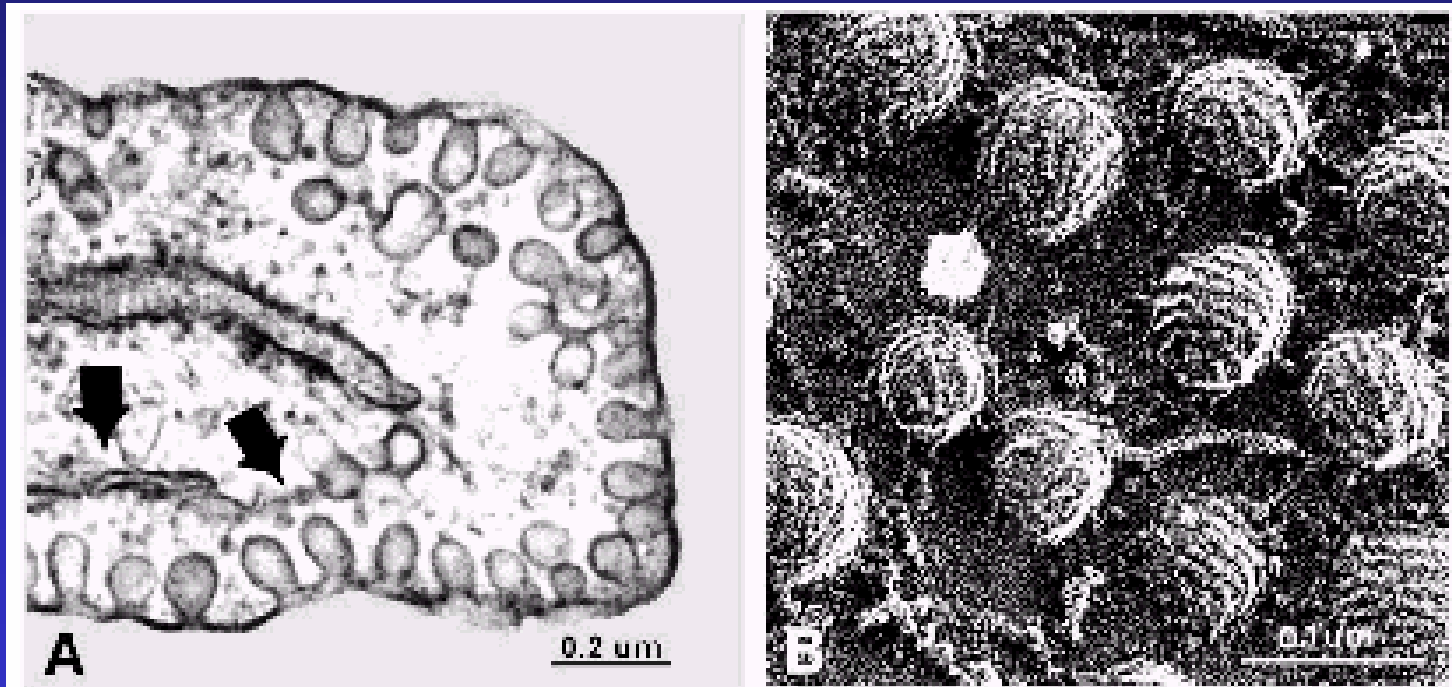
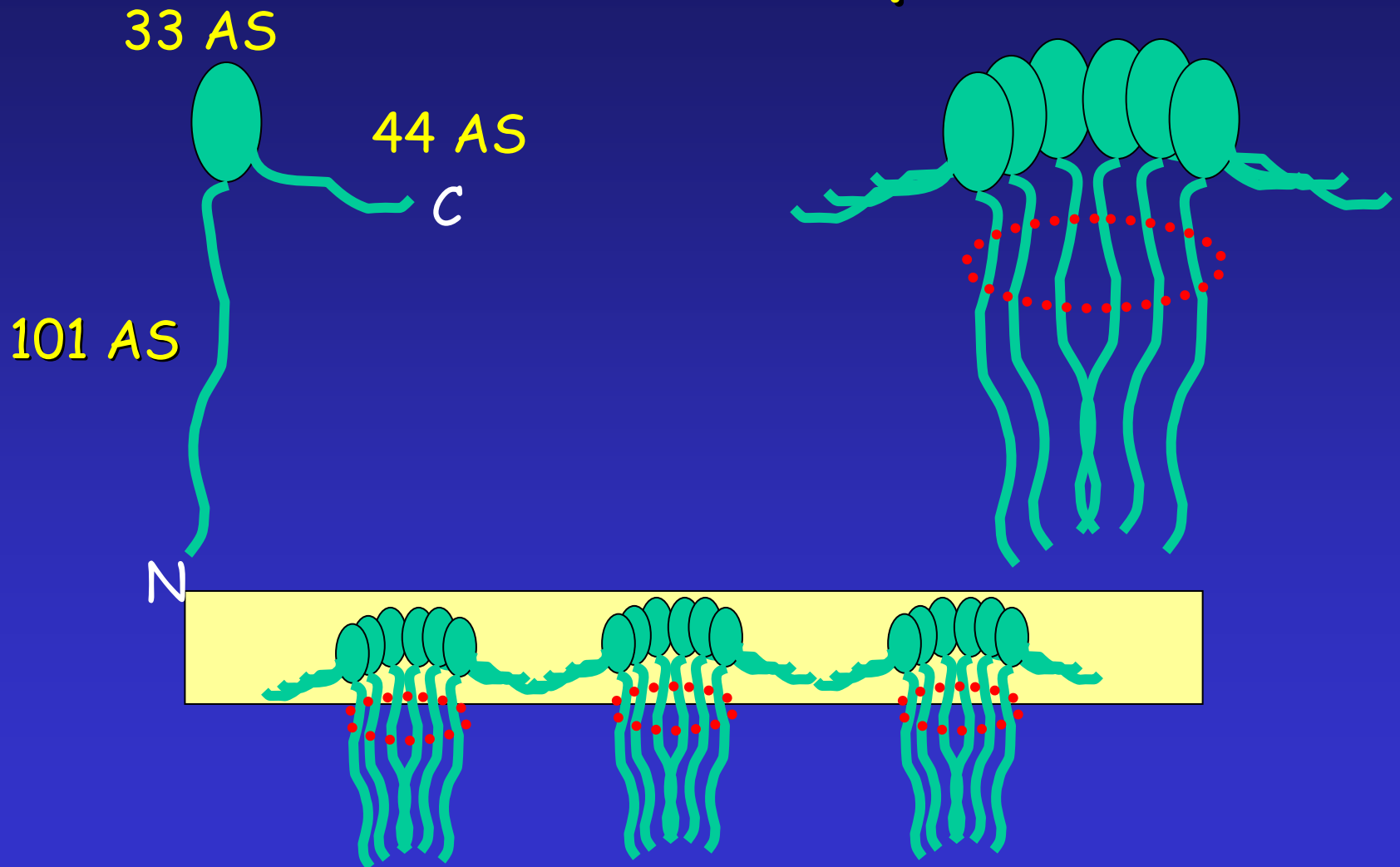


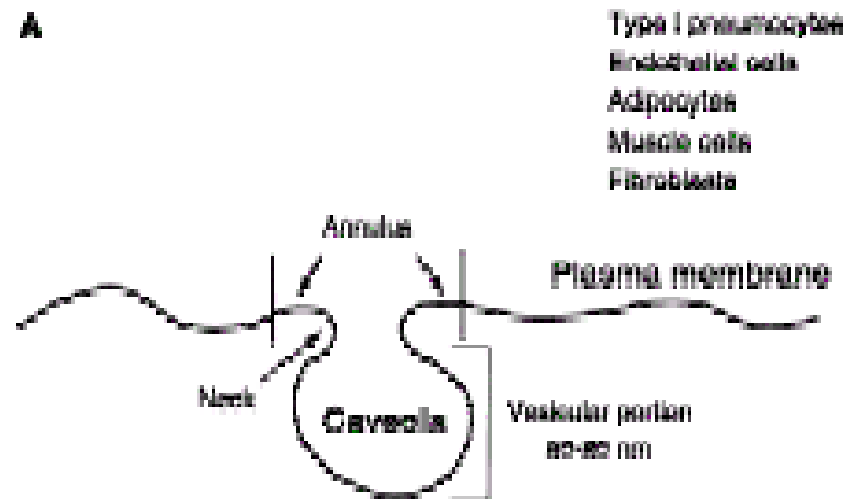
Figure 1 (A) Thin-section electron microscopy (EM) image and (B) rapid-freeze deep-etch image of fibroblast caveolae. *Arrows* point to endoplasmic reticulum near invaginated caveolae.

Caveolin oligomerek és a caveola összeépülése



Caveolinok

A

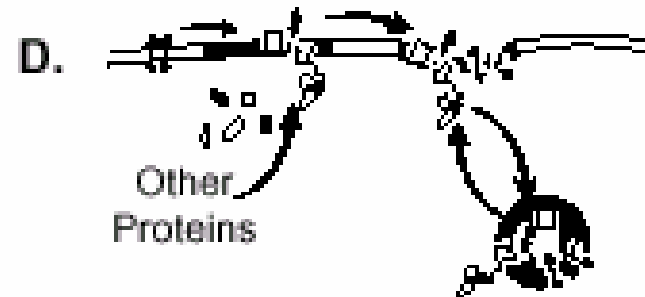
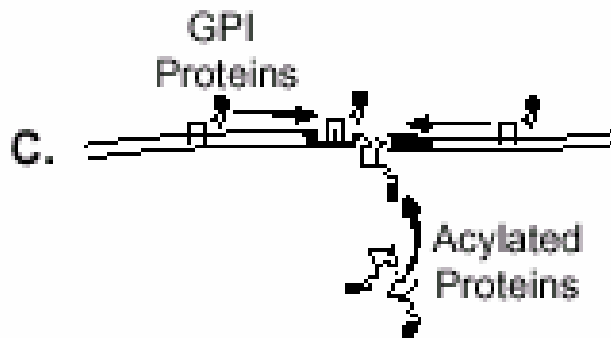
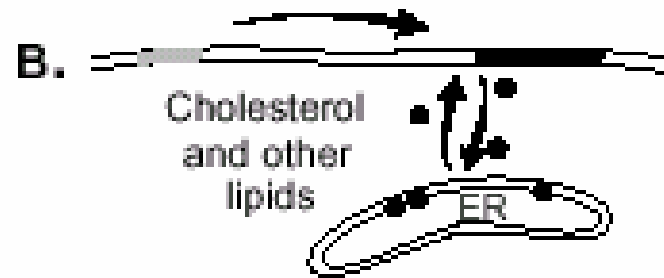
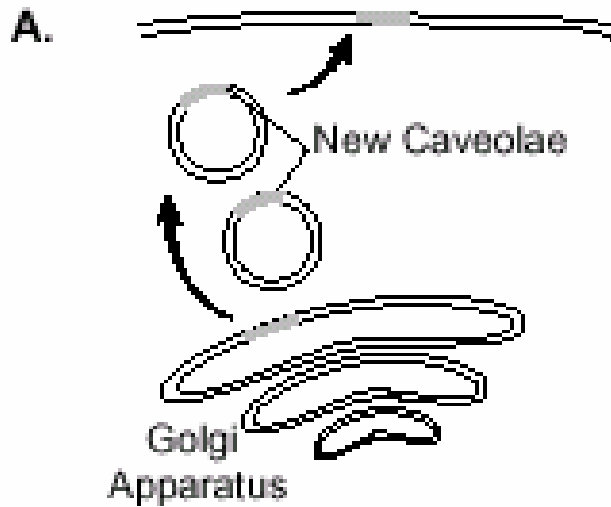


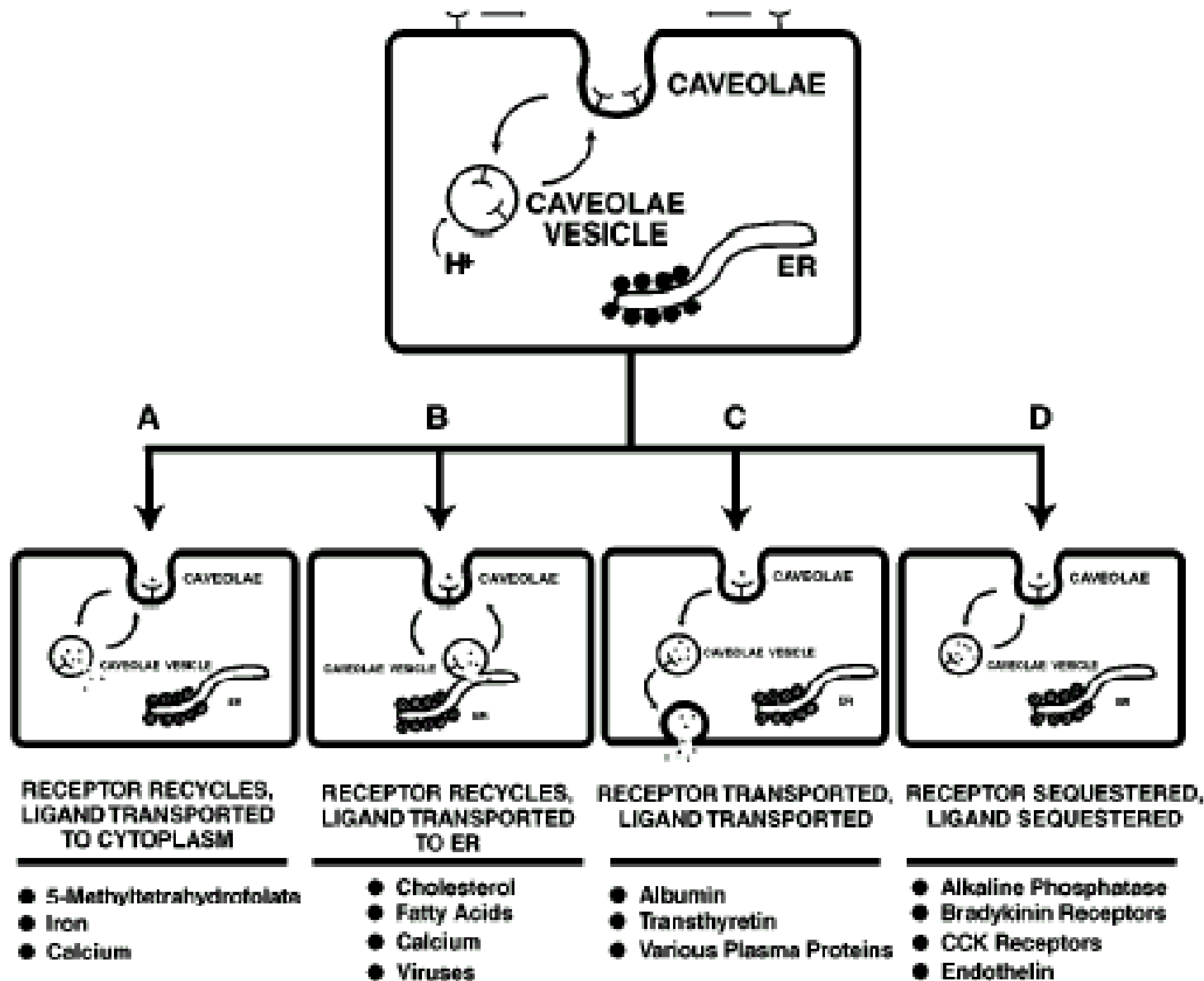
B

	N	TM	C	total aa	% similarity/ % identity	activities
Cav-1	101	55	44	178		GDI
	70	33	44	147		
Cav-2	73	33	43	149	58/30	GAP
Cav-3	74	33	44	151	65/30	GAP/GDI

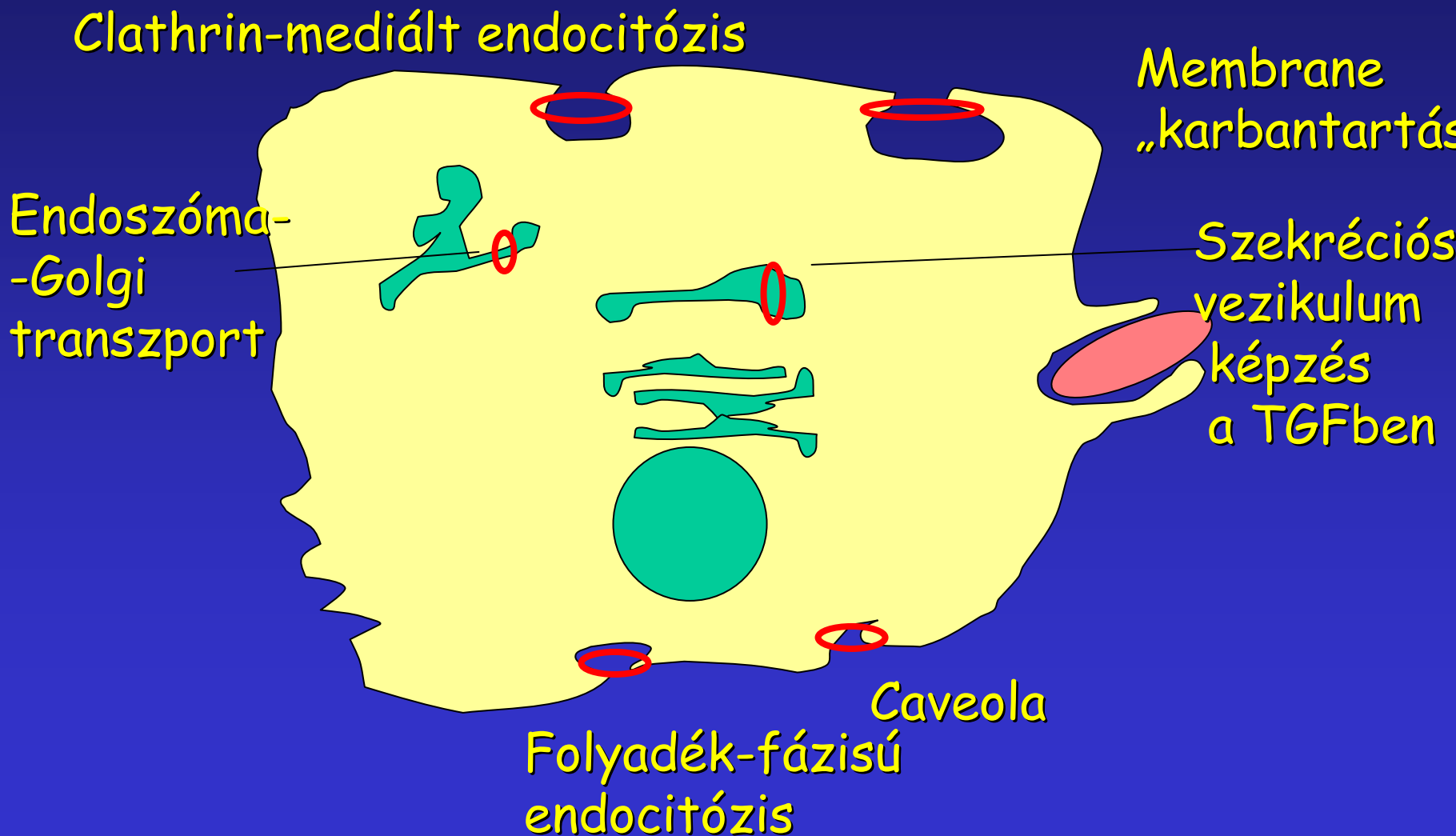
FEDVIAEP

A caveola-képződés dinamikusa

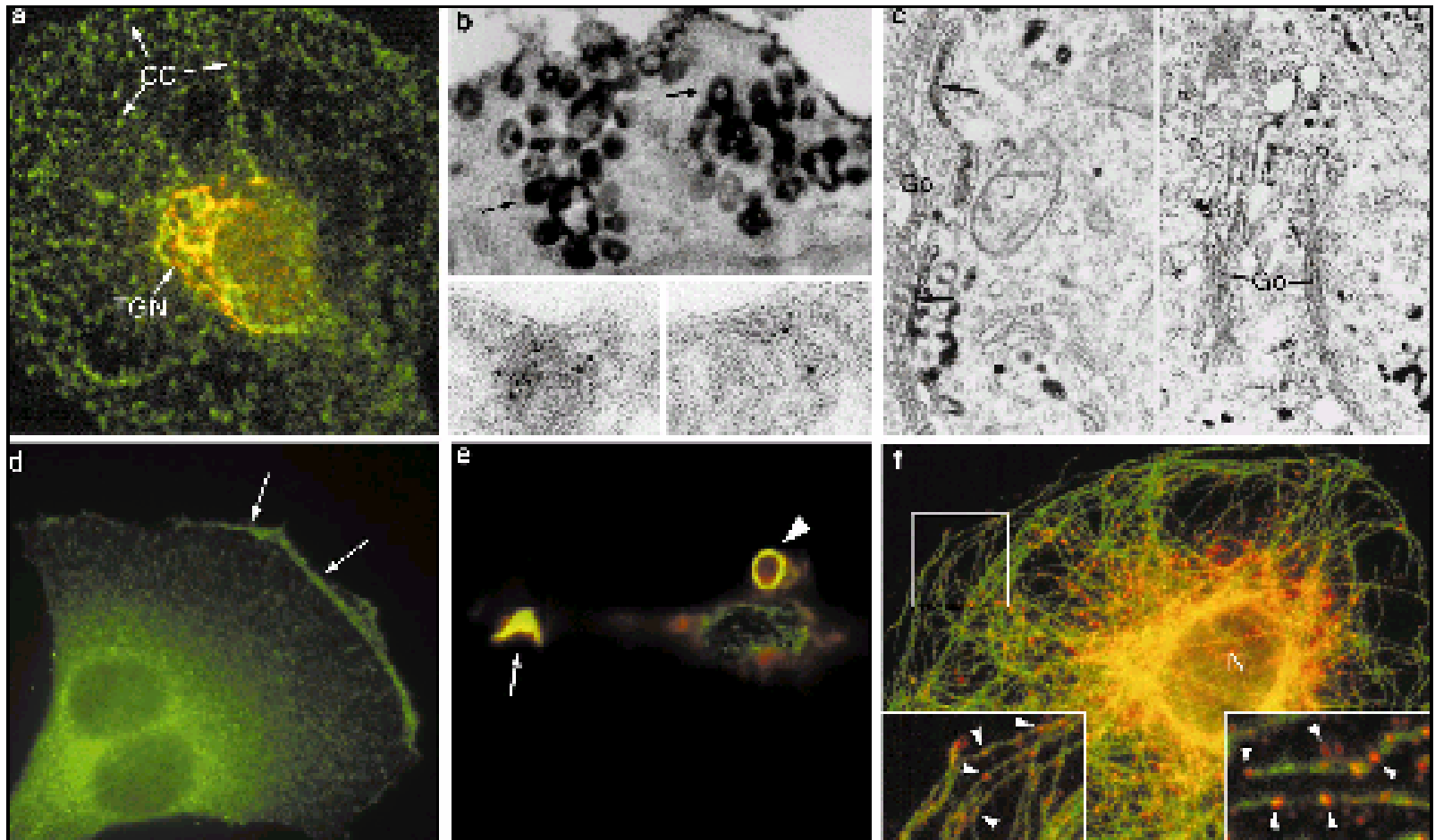




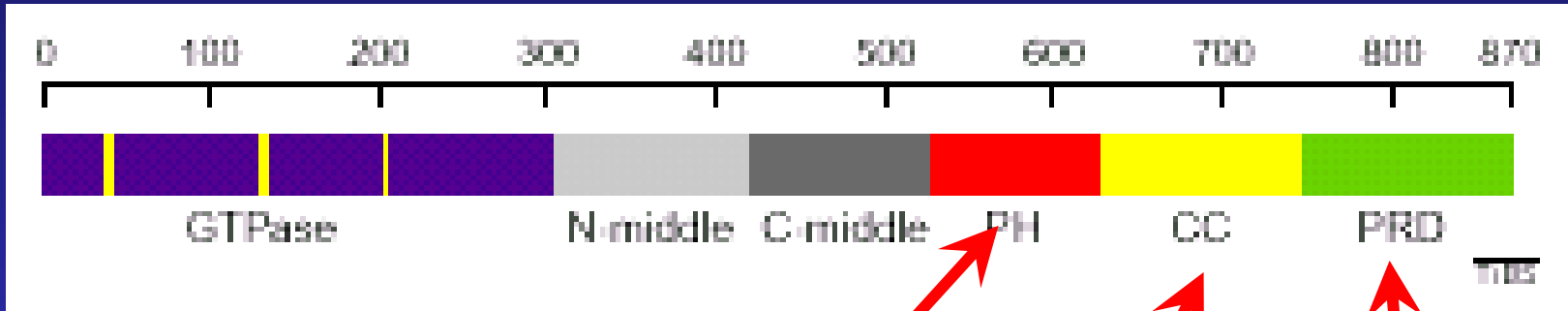
A dynamin szerepe



Dynamin kimutatása a sejtben



A dynamin szerkezete

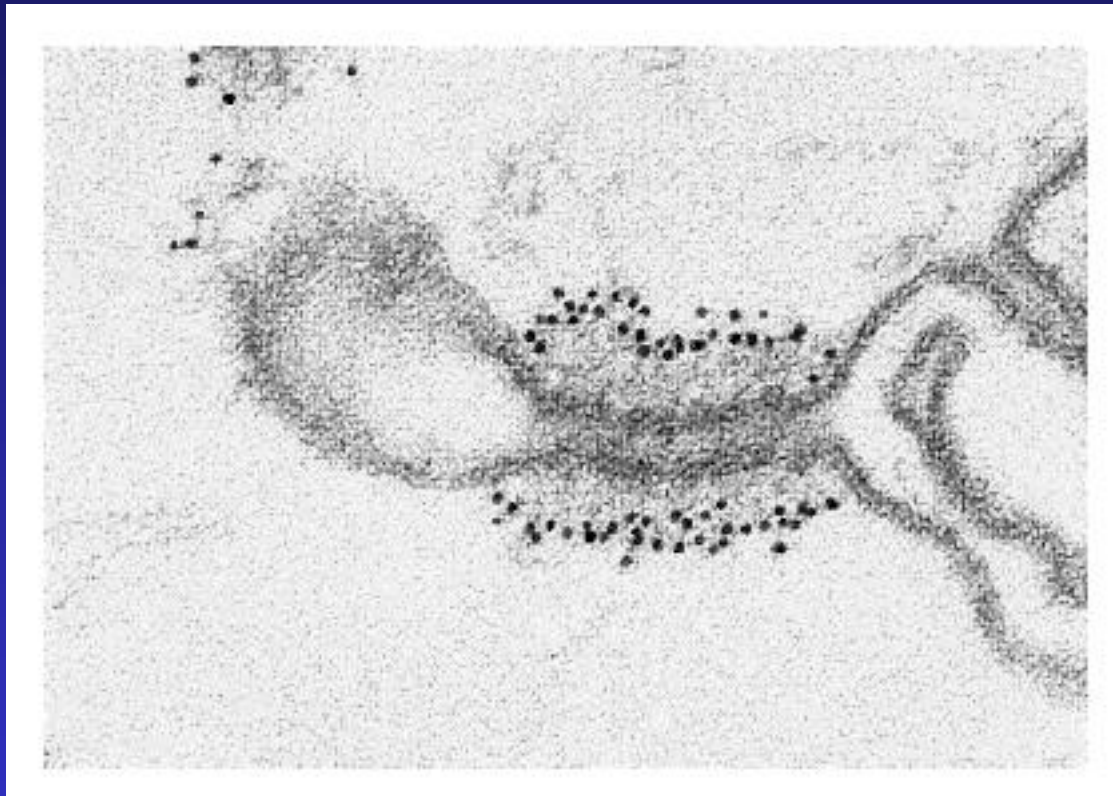


Membránnal való
kapcsolat

GTP-áz domain
aktiválása

Citoszkeletonhoz
kapcsolódás

A dynamin GTP hidrolízisét igényli a vezikulumok leválasztásához



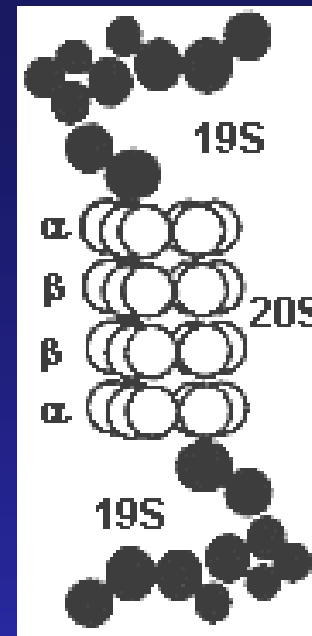
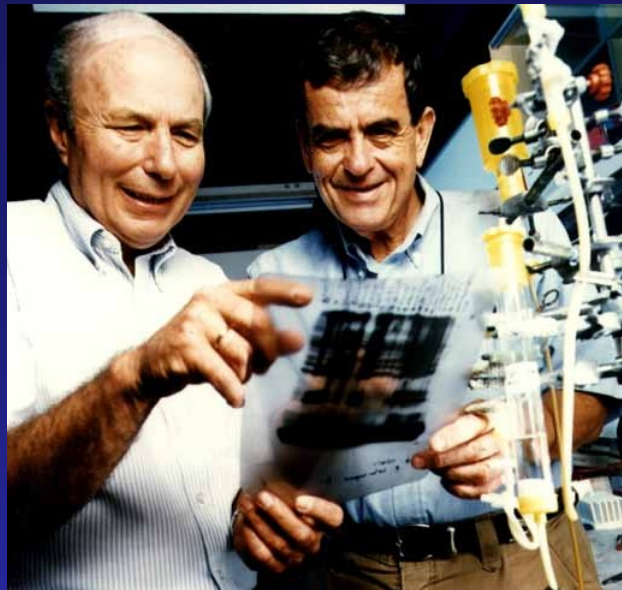
- nem-hidrolizálható $GTP-\gamma S$ hozzáadása
- a pontok az anti-dynamin antitest kötődés helyét jelzik
- a megnyúlt nyak jelzi, hogy bár a burkos vezikulum kialakult, GTP hidrolízis hiányában az leválni nem tud

Carrier mediált proteolízis

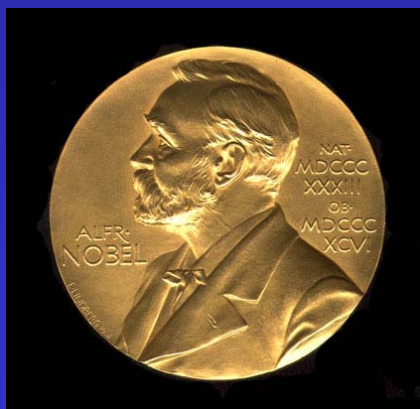
- egyes molekulák **közvetlenül** a citoplazmából tudnak a lizoszómába jutni
- a belépés szignálja: KFERQ (Lys-Phe-Glu-Arg-Gln) szekvencia

Proteasoma

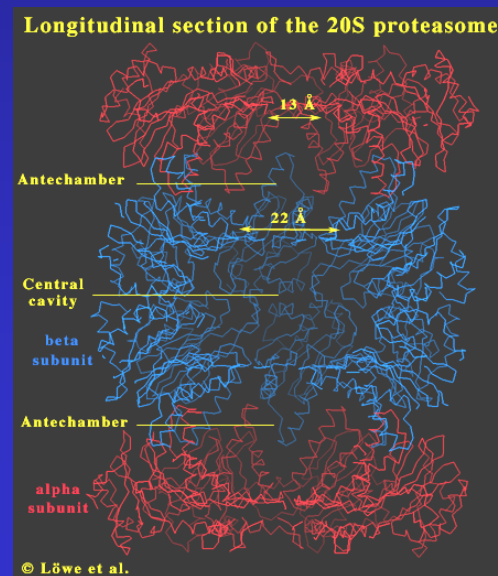
- Proteinek nem-lizoszómális bontása
- hengeres, multienzim komplex
- részei: ATP-kötő-, szubsztrát-kötő-, szabályozó-domain
- elhelyezkedés: közel az ER-translocon külső részéhez
- **ubiquitin** - degradációs-szignál - elengedhetetlen
- nem megfelelően hajtogatott vagy sérült fehérjék bontása
- szabályozó - elimináló - szerep ld. *ciklinek*
- **cisztikus fibrózis** - Cl⁻ fakultatív transzportja érintett, mivel a felelős membrán protein a proteasomában lebomlik

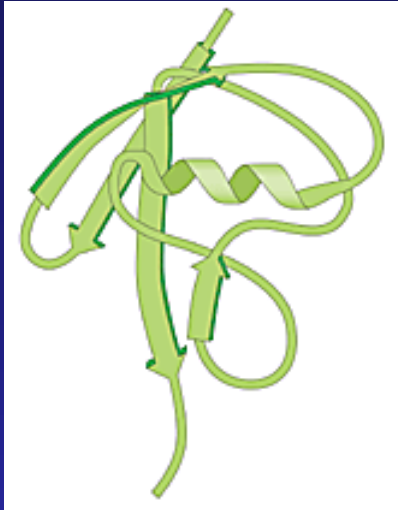


A. Hershko és A. Ciechanover

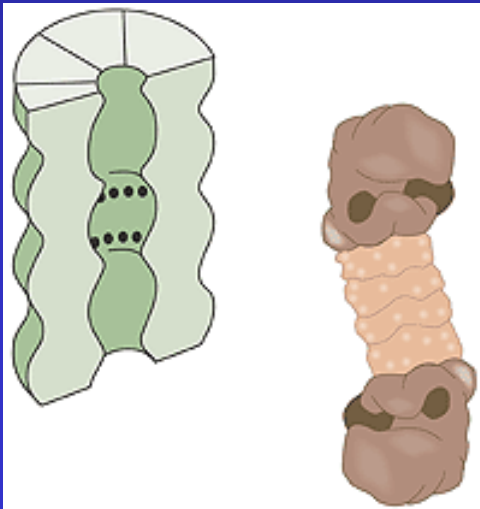


2004 - Kémia

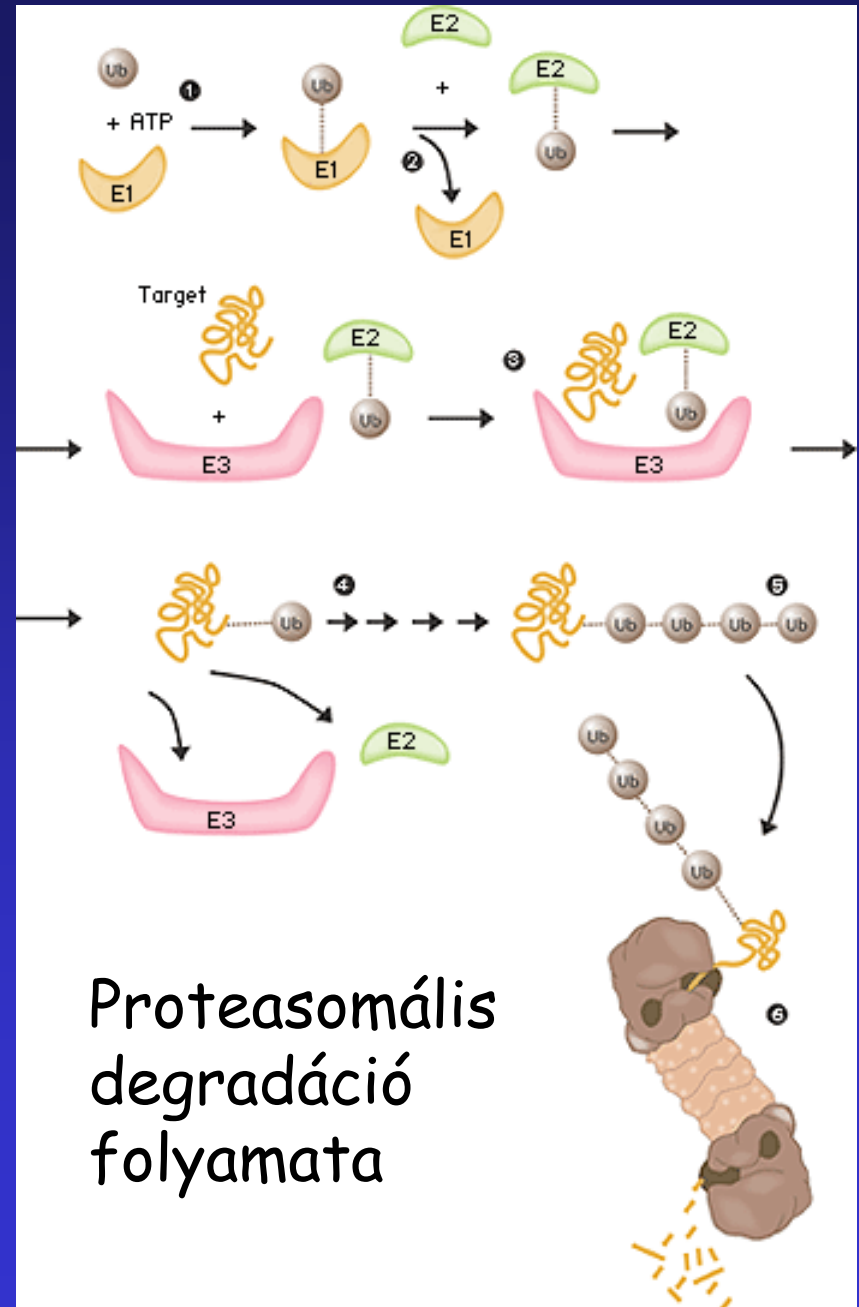




Ubiquitin

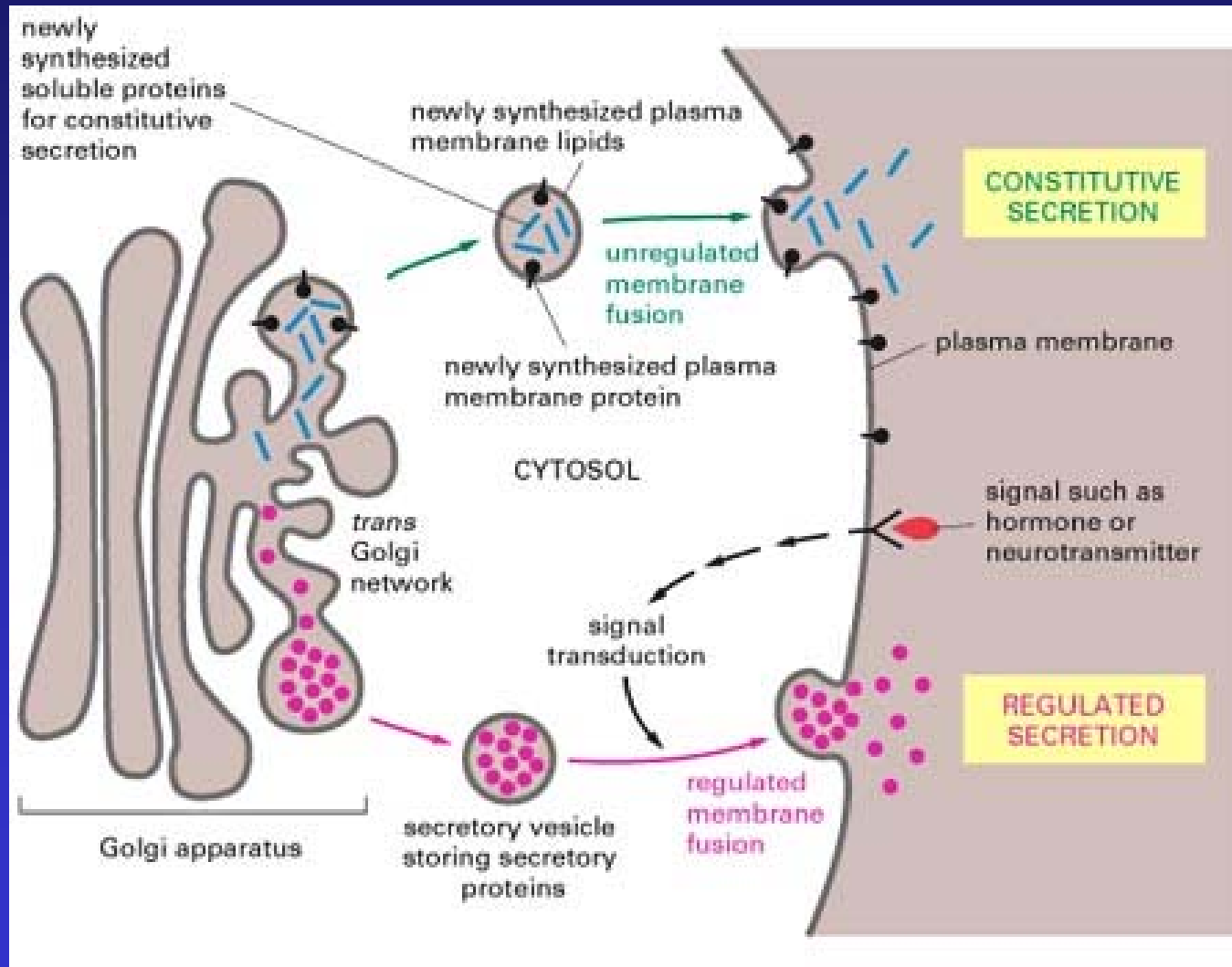


Proteasoma

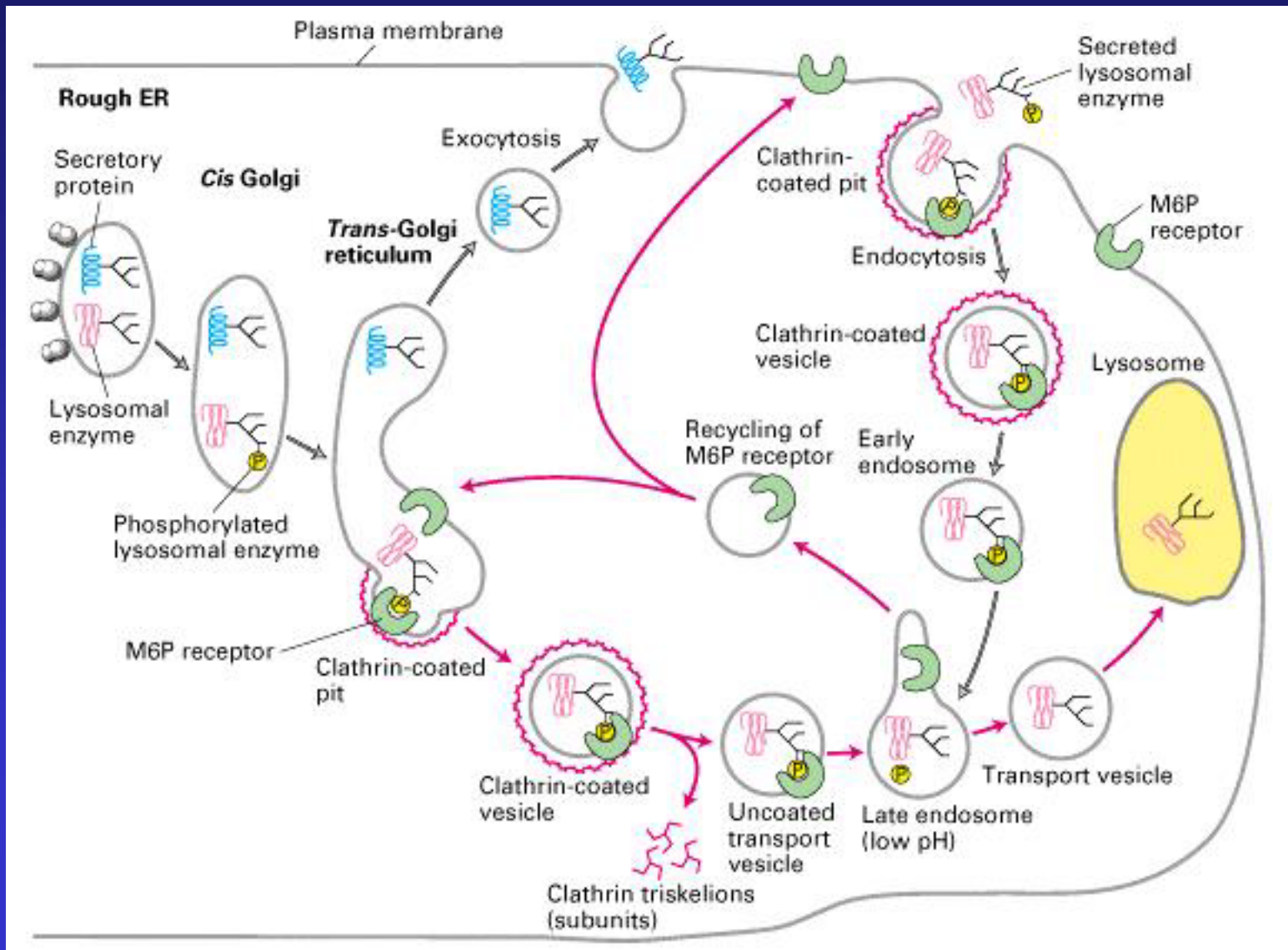


Proteasomális
degradáció
folyamata

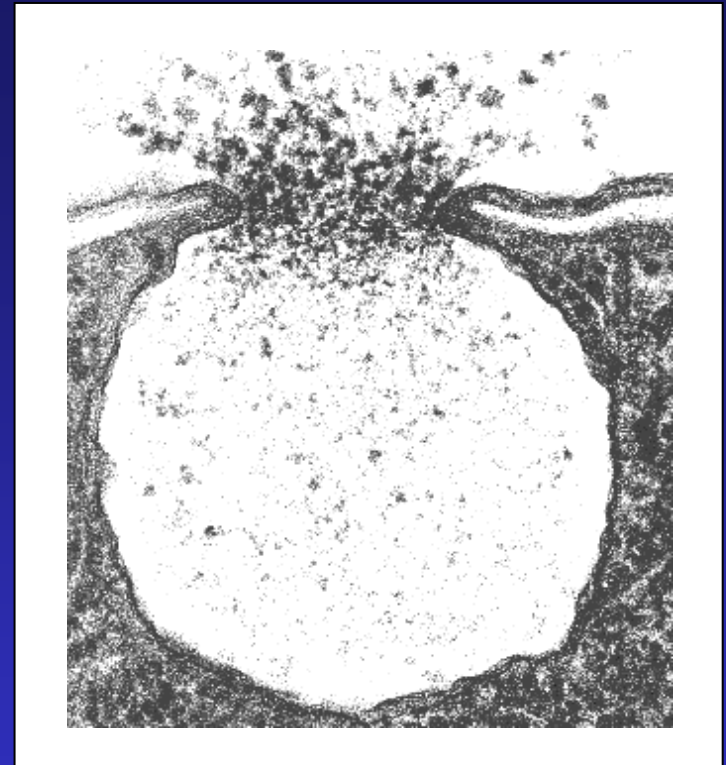
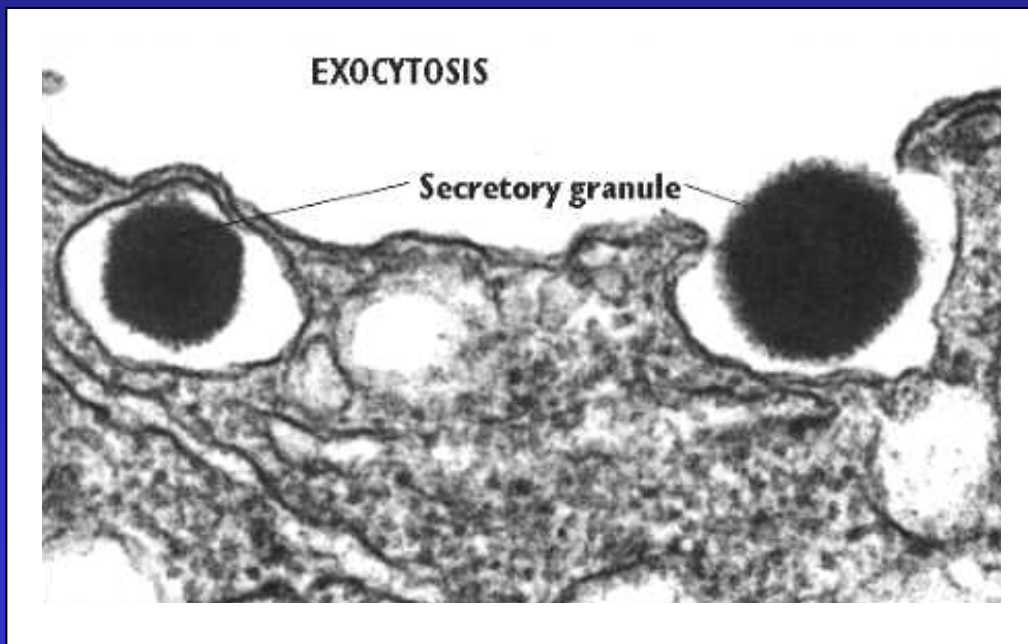
„Exocitotikus“ folyamatok



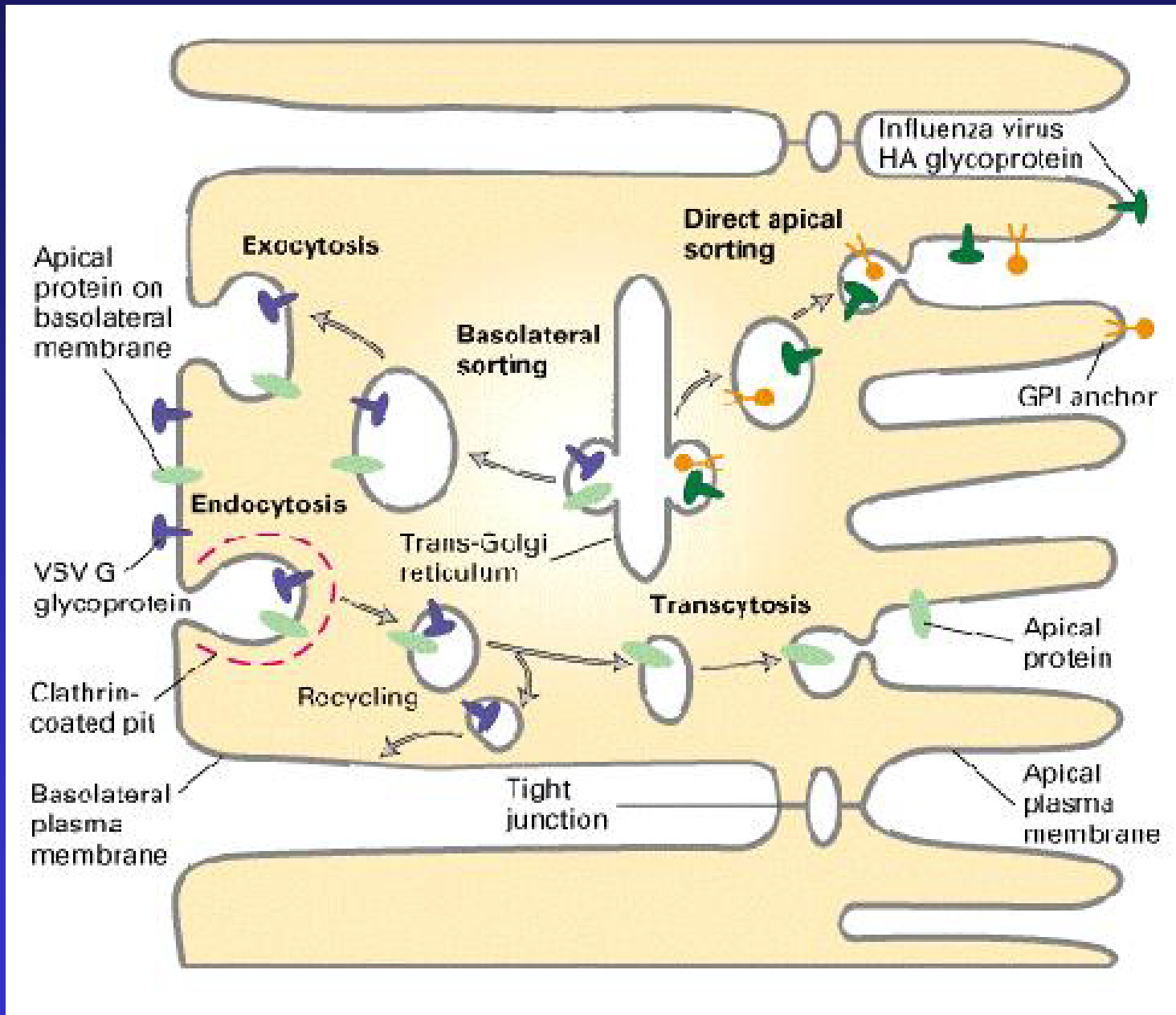
A mannóz-6-P útvonal és a lizoszómális enzimek



Exocitózis (TEM)

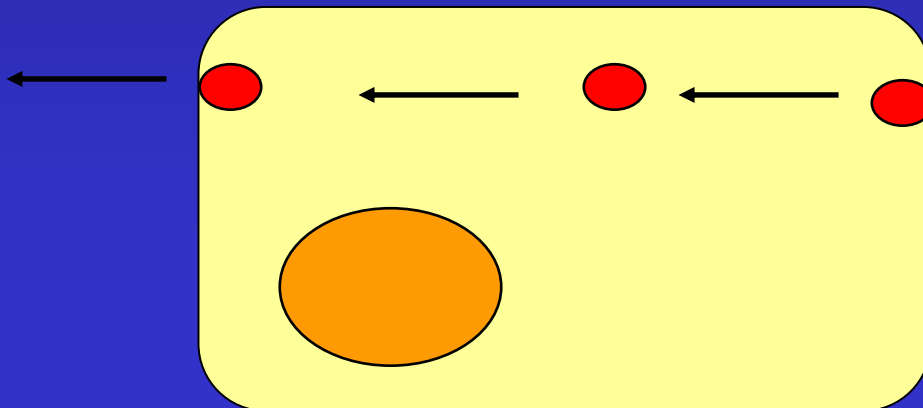


Apicalis és bazolaterális célbajuttatás epitheliumban



Transzcitózis

- A ligandok az endoszómális compartmenteket megkerülik - **nincs módosítás**
- A ligandok a sejt egyik pólusáról a másik pólusára szállítódnak
- pl. az anyatej *immunoglobulinjai* a bél epithéliumán transzcitózissal jutnak át



Neurotranszmitterek felszabadulása

