

# Das Actin-Zytoskelett und seine Rolle bei Bewegungsprozessen

***Klemens Rottner***

***Abteilung Molekulare Zellbiologie***

***INSTITUT FÜR ZOOLOGIE***

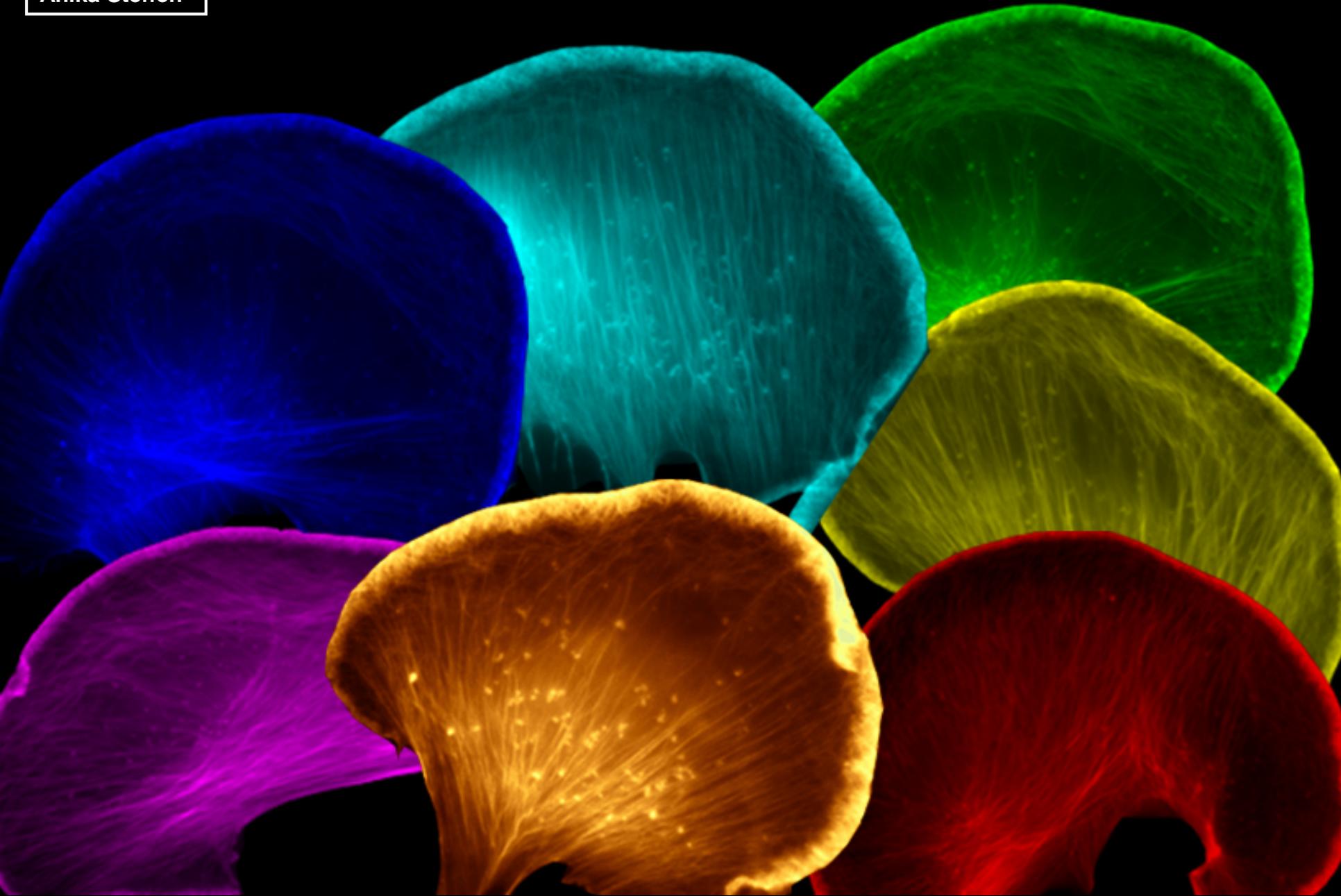
***TECHNISCHE UNIVERSITÄT BRAUNSCHWEIG***

***und***

***AG Molekulare Zellbiologie (MZBI)***

***HELMHOLTZ ZENTRUM FÜR  
INFEKTIONSFORSCHUNG (HZI)***

Anika Steffen



***Die fundamentalste Einheit des Lebens ist:***

**DIE ZELLE**

# ZELLEN

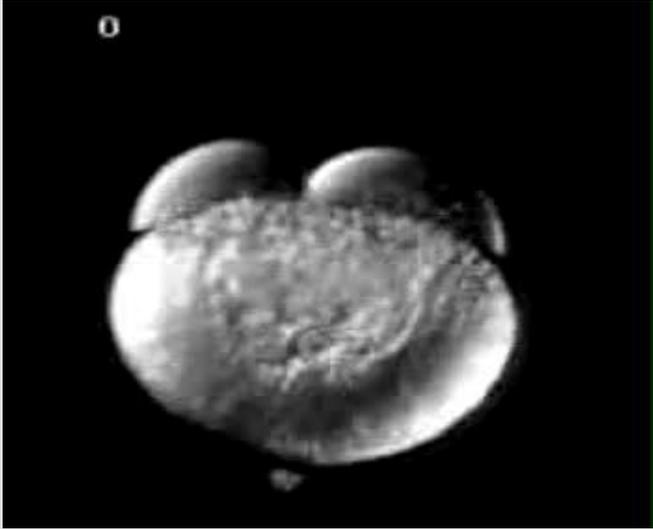
**können sich vermehren, also teilen**

**und sich bewegen, also ihre Form verändern**

## Bewegungsprozesse sind wichtig bei:

- Embryonalentwicklung
  - Wundheilung
  - Ausbreitung von Krebs / Metastasierung
  - Immunantwort
  
  - *Natürliche Zellbewegung wird von Pathogenen oft missbraucht, um die Infektion zu etablieren*
- Anhaftung an den Wirt  
Zellinvasion  
Veränderung der Immunantwort

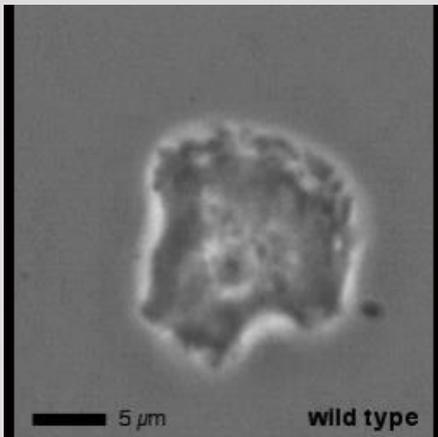
# Bewegungsprozesse verschiedener Modellsysteme



Embryonalentwicklung: Zebrafisch  
(EMBL)



Immunzelle jagt Bakterium  
(David Rogers, Vanderbilt University, USA)



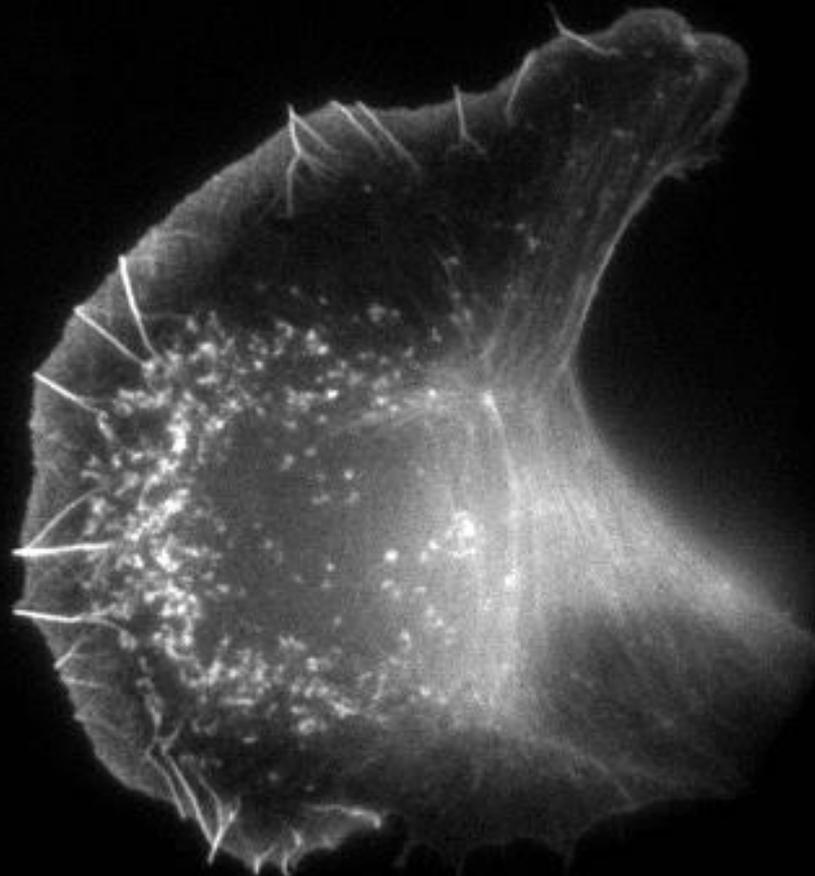
*Dictyostelium discoideum*  
(Anika Steffen, HZI Braunschweig, 2006)

# Zellbewegung braucht Formveränderung

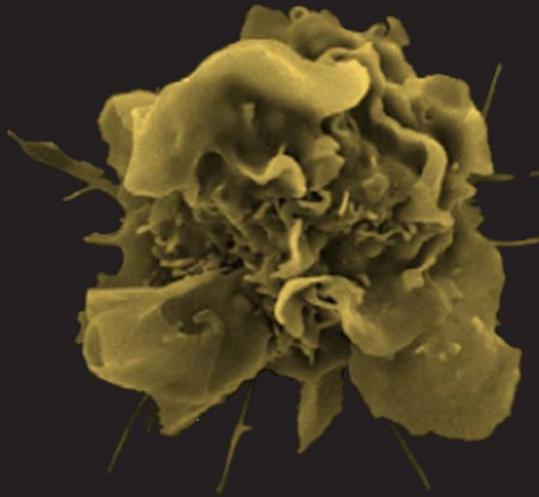


# Formveränderung braucht Actinreorganisation

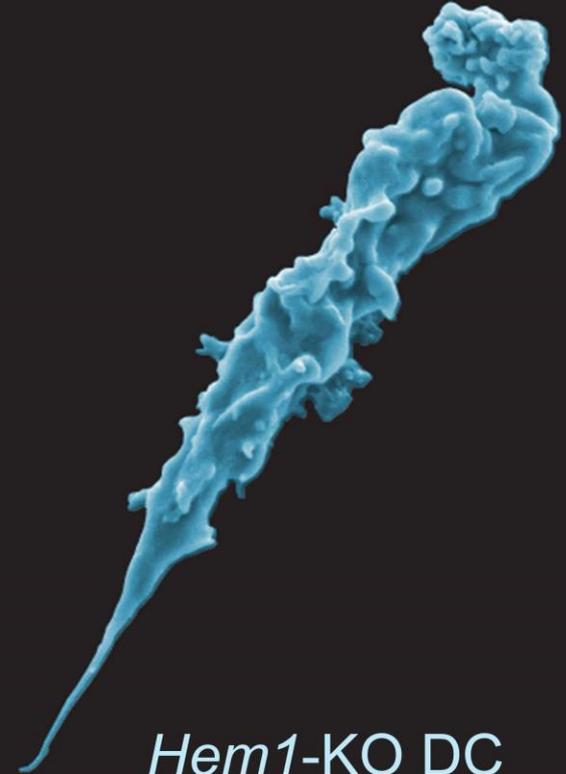
EGFP-Actin



# Manche Actinregulatoren (z.B. Hem1) sind essentiell für Erhaltung der Zellform



WT DC



*Hem1*-KO DC

Leithner, A, Eichner, A. et al., *Nature Cell Biology*, 2016

# Bewegungsprozesse werden gesteuert durch:

- Molekulare Maschinen
- Viele dieser Maschinen sind Komponenten des sogenannten

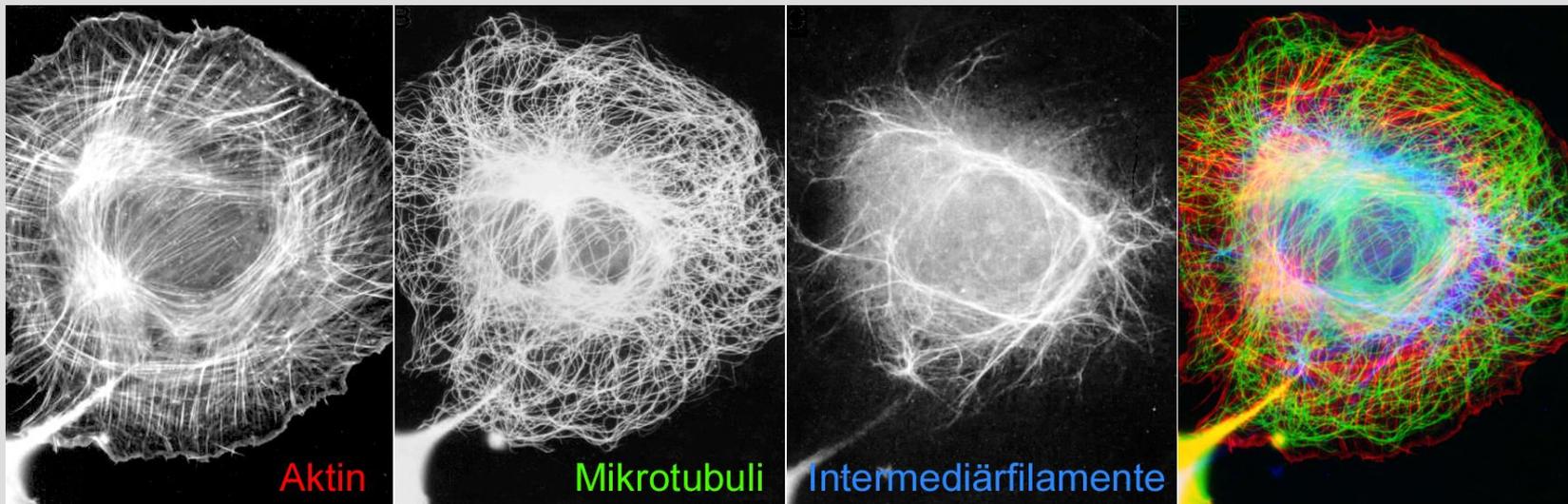
**CYTOSKELETTS / Zellskeletts**

# DAS CYTOSKELETT

...wird von 3 Haupttypen von Filamentsystemen gebildet

- **Intermediärfilamente**: verleihen Stabilität
- **Mikrotubuli**: Zellteilung (Spindelapparat), vermitteln Stoff- & Organellentransport sowie Zellpolarität
- **Actin**: vermittelt Zellbewegung, Endo/Phagozytose und Stofftransport

J. Victor Small, IMBA, Wien



# DIE HAUPTFILAMENTENSYSTEME

System:

**Mikrotubuli**

**Mikrofilamente  
(Actin)**

**Intermediärfilamente**

**Struktur**

Hohle Röhren, bestehend aus 13 Protofilamenten

bestehend aus 2 umeinander gewundenen Protofilamenten

Lösliche Tetramere zu seilartigen Filamenten aus 8 Protofilamenten zusammengelagert

**Dicke**

25nm mit 15nm Hohlraum

7 nm

8-12nm

**Proteine**

Tubulin, bestehend aus  $\alpha$  und  $\beta$  – Untereinheit

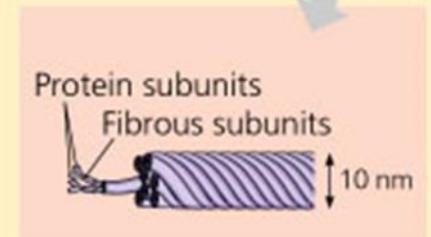
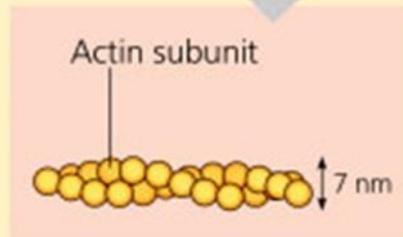
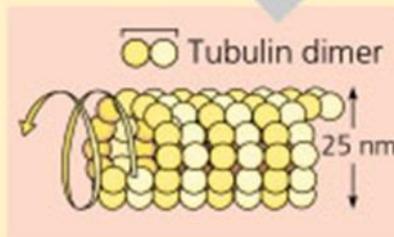
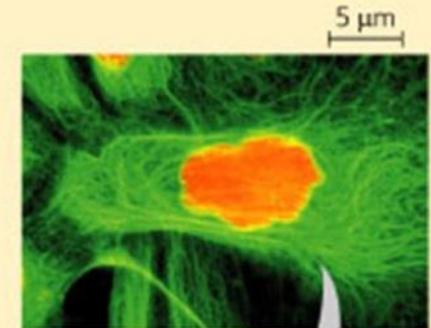
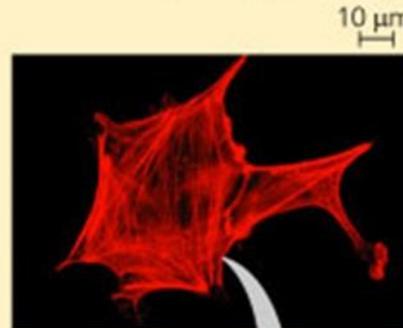
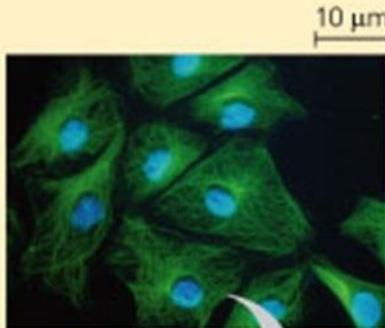
Actin (42kDa)

zelltypabhängig verschiedene Proteine: Vimentin, Desmin, Keratin, Neurofilament-Proteine

*GTP-Bindung von  $\beta$ -Tubulin*

*bindet ATP*

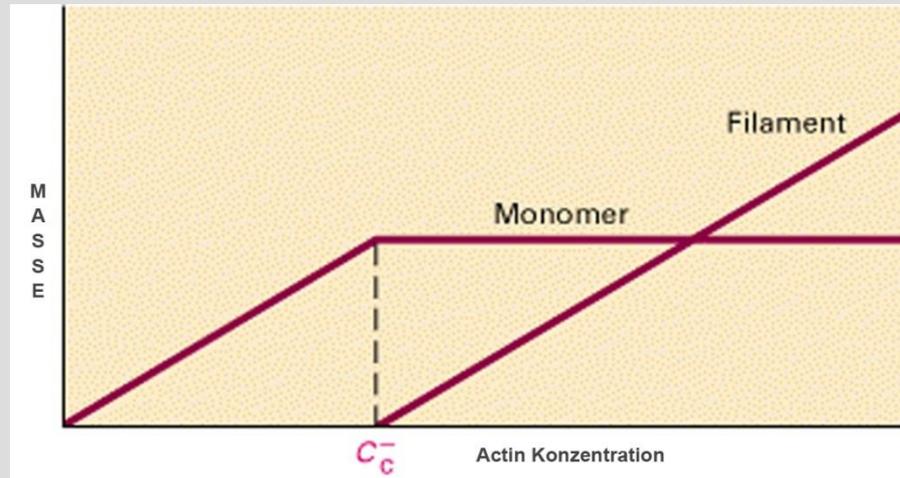
*keine Nukleotidbindung*



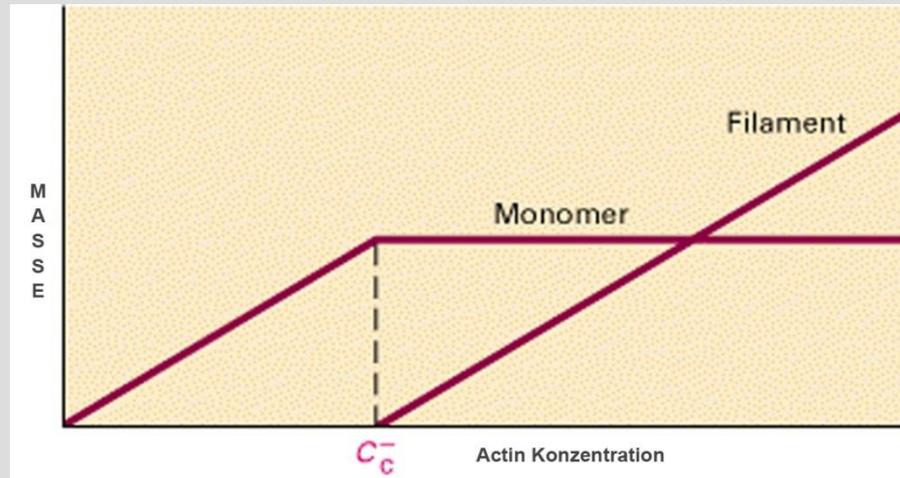
**Aber was ist Actin?**

**Actin ist das abundanteste Protein  
in unseren Zellen, nahezu globulär,  
und es kann zu Filamenten  
polymerisieren**

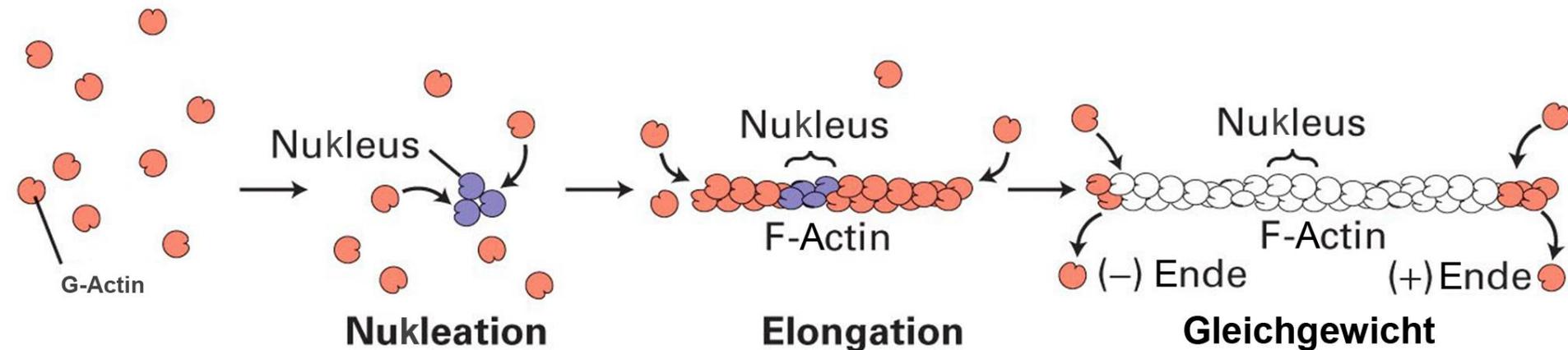
Die Polymerisation von Actin-Filamenten ist abhängig von der Konzentration von Actin-Monomeren, auch G – Actin (globuläres Actin)



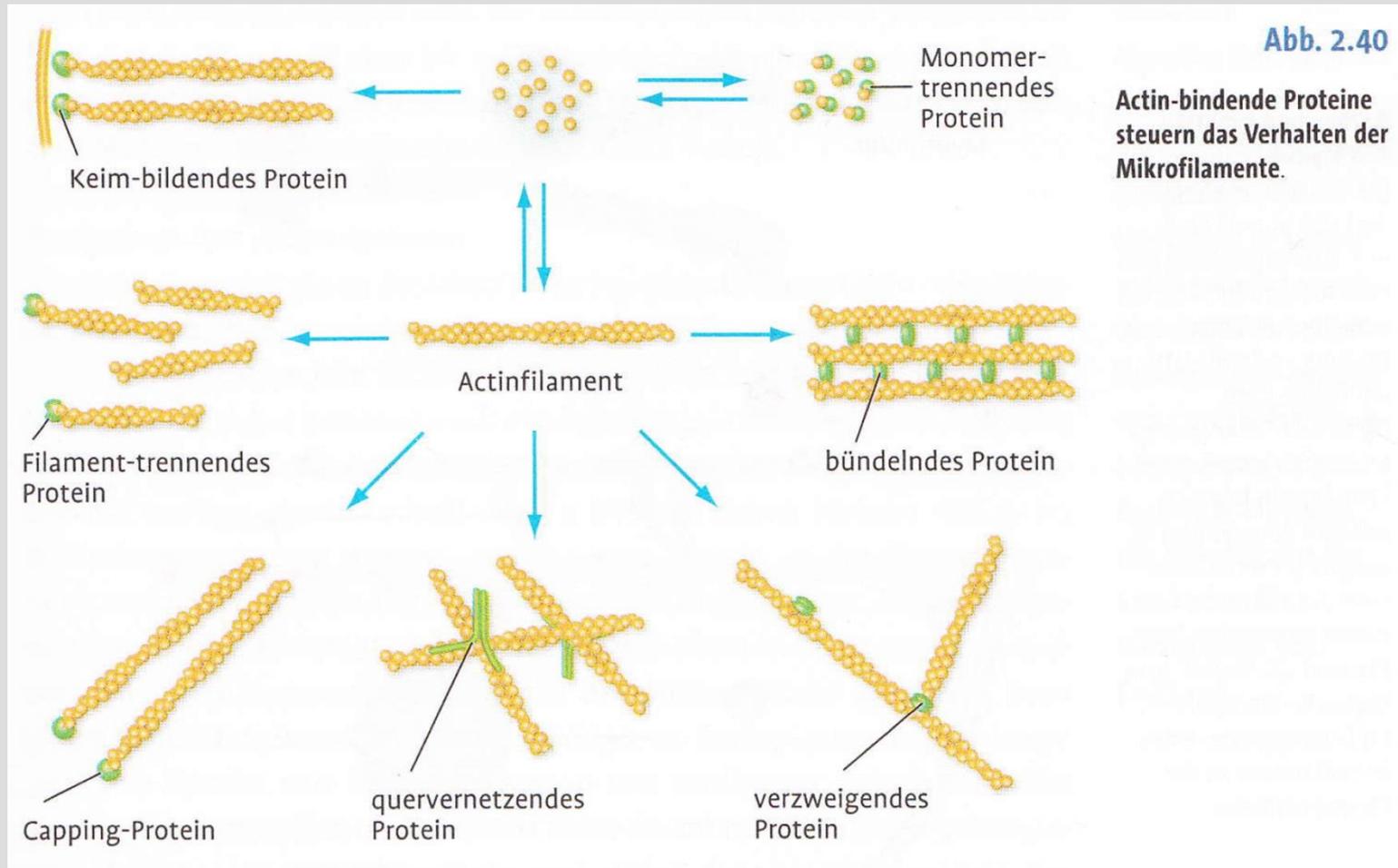
# Die Polymerisation von Actin-Filamenten ist abhängig von der Konzentration von Actin-Monomeren, auch G – Actin (globuläres Actin)



Der geschwindigkeitsbestimmende Schritt ist die Keimbildung (Nukleation)



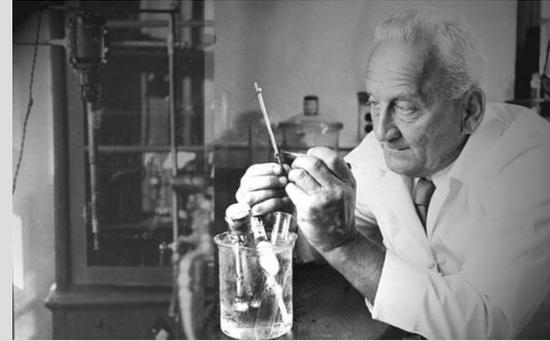
# Actinmonomere und -filamente werden von Dutzenden von Bindeproteinen reguliert



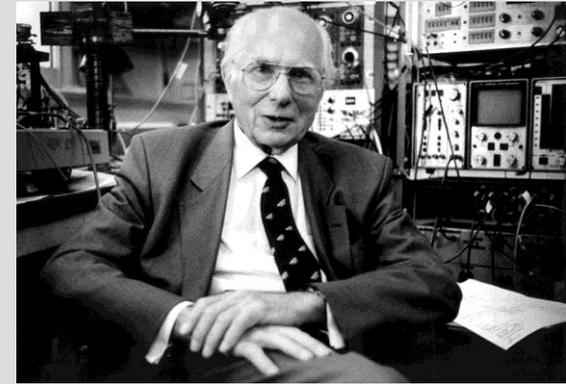
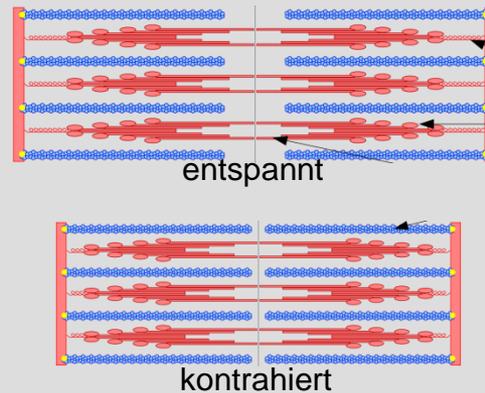
aus Ralf R. Mendel: *Zellbiologie der Pflanzen*

# Geschichte der Actin-Forschung

1940er-Jahre: Albert Szent-Gyorgyi & Kollegen entdecken Actin und Myosin im Skelettmuskel, und rekonstituieren Kontraktion von isolierten Muskelfasern durch ATP-Zugabe



1950er-Jahre: Hugh E Huxley entdeckte mit Hilfe von EM-Analysen, dass sich der Muskel durch aneinandergleitende Actin- und Myosinfilamente zusammenzieht



1960er-Jahre: Hatano & Oosawa und Adelman & Taylor entdeckten erstmals Actin und Myosin in einer Nichtmuskelzelle (Schleimpilz *Physarum*)



# Wichtige Daten der jüngeren Actin-Forschung

1975: Tilney & Lindberg entdecken das Actin-Monomerbindeprotein Profilin

1980: Isenberg & Pollard entdecken das sogenannte heterodimere Capping Protein

1980: Bamberg entdeckt ADF/cofilin (Actin-Depolymerisationsfaktoren)

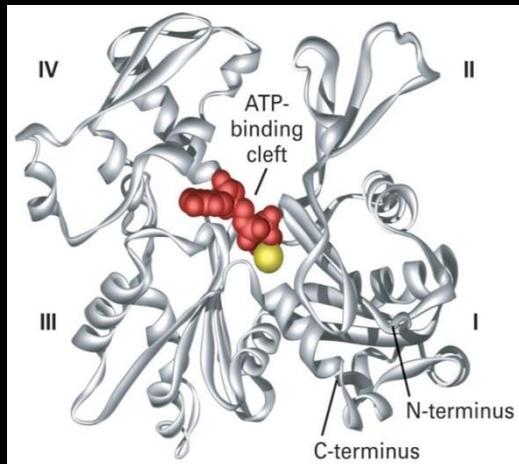
1994: Machesky & Pollard beschreiben erstmals den Actin-Nucleator Arp2/3-Komplex

1997: Machesky & Insall verknüpfen die Funktion von WASp mit Arp2/3-Komplex

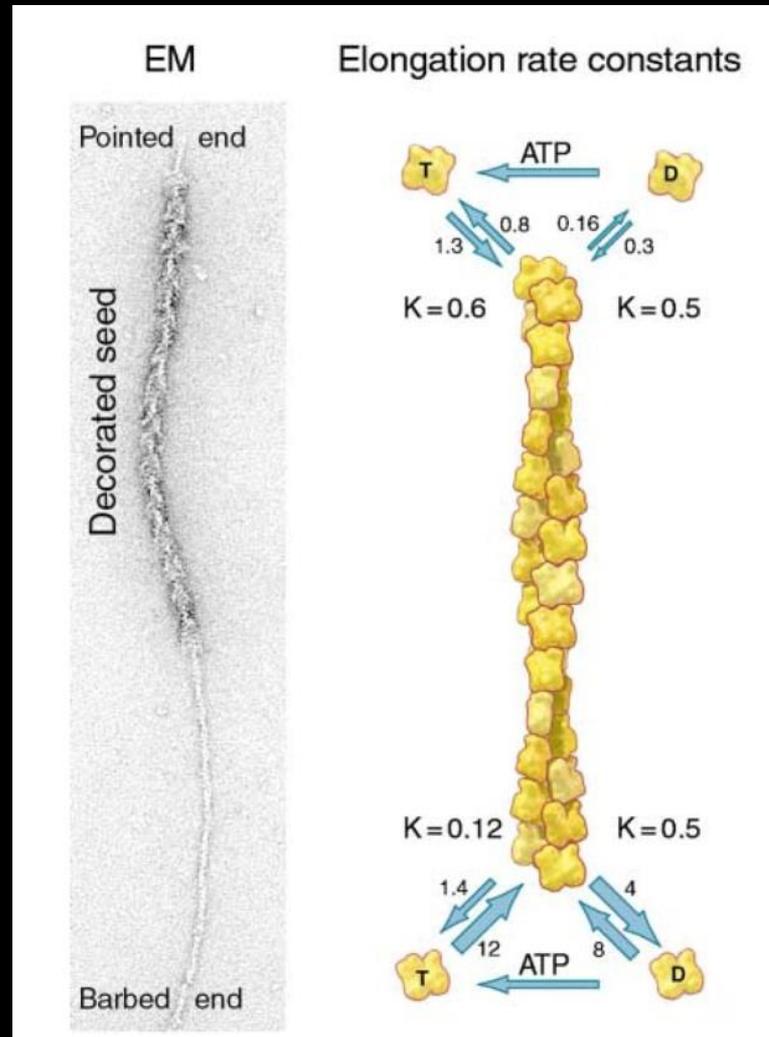
1999: Das Labor von Marie-France Carlier definiert erstmals ein Minimalmedium für Motilität aus gereinigten Proteinen, mit Arp2/3-Komplex inklusive Aktivator, ADF/cofilin und capping protein

**Actinfilamente sind polar, was auf der Polarität des Monomers beruht:  
Diese Polarität hat strukturelle und FUNKTIONELLE KONSEQUENZEN**

G-actin



*Kabsch & Holmes, 1990*



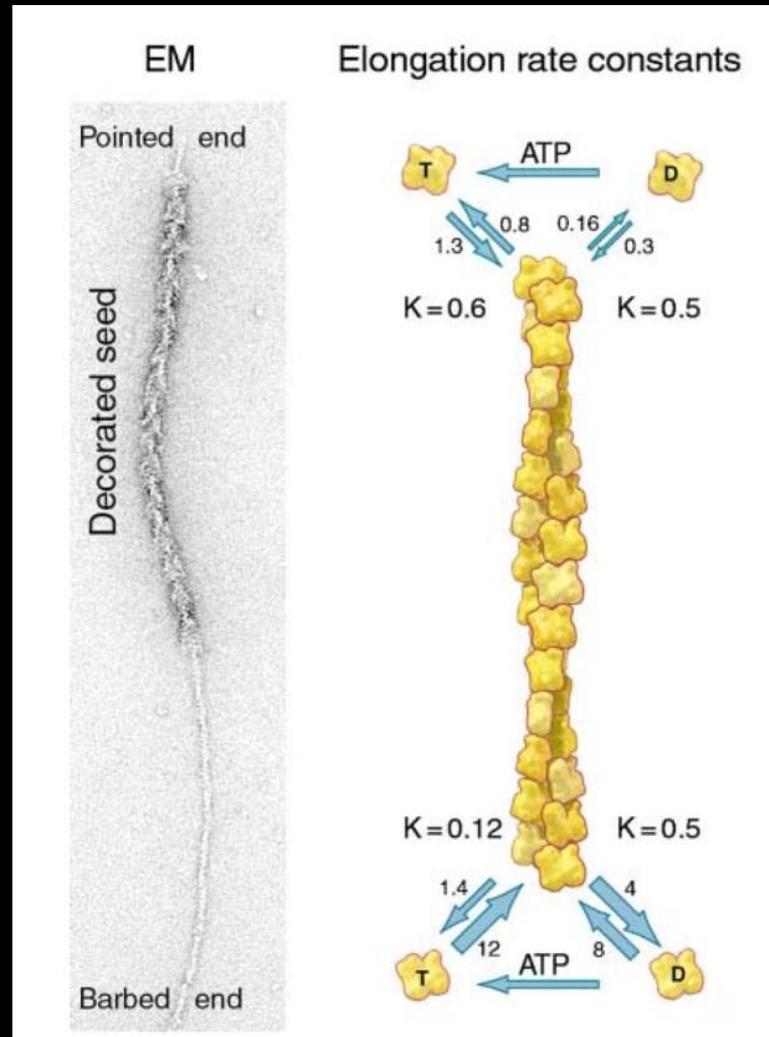
*Woodrum, 1975*

*Pollard, 1986*

# Actinfilamente sind polar, was auf der Polarität des Monomers beruht: Diese Polarität hat strukturelle und FUNKTIONELLE KONSEQUENZEN

**Spitzes Ende =  
Langsam wachsendes  
Ende (auch ‚Minus‘-  
Ende)**

**Stumpfes Ende =  
Schnell wachsendes  
Ende (auch ‚Plus‘-  
Ende)**



Woodrum,  
1975

Pollard,  
1986

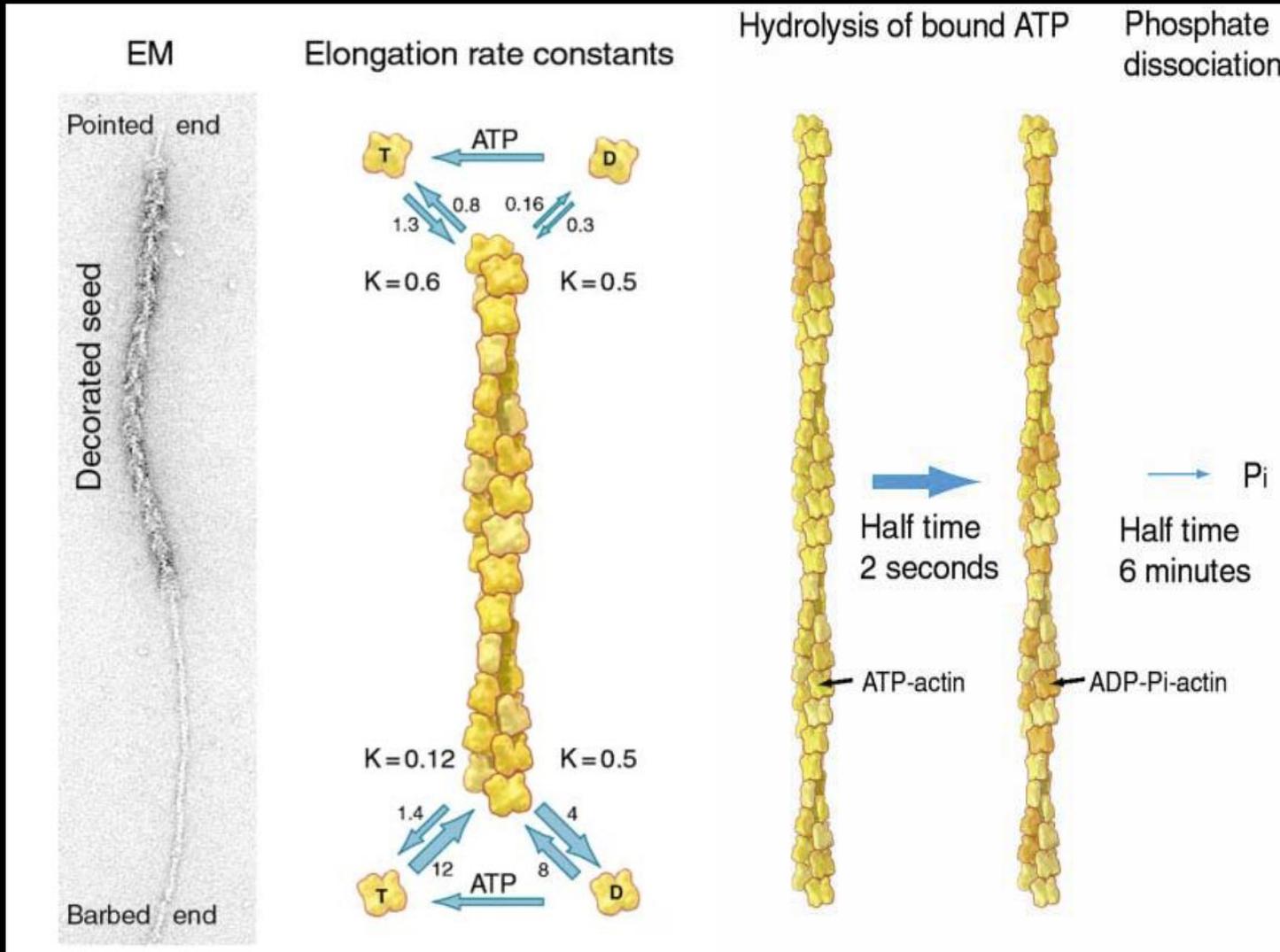
*Total internal reflection-Mikroskopie  
(TIRFM)*



Amman,  
2001

Kovar,  
2006

# Elongation und Filamentregulation durch ATP-Hydrolyse



Woodrum,  
1975

Pollard,  
1986

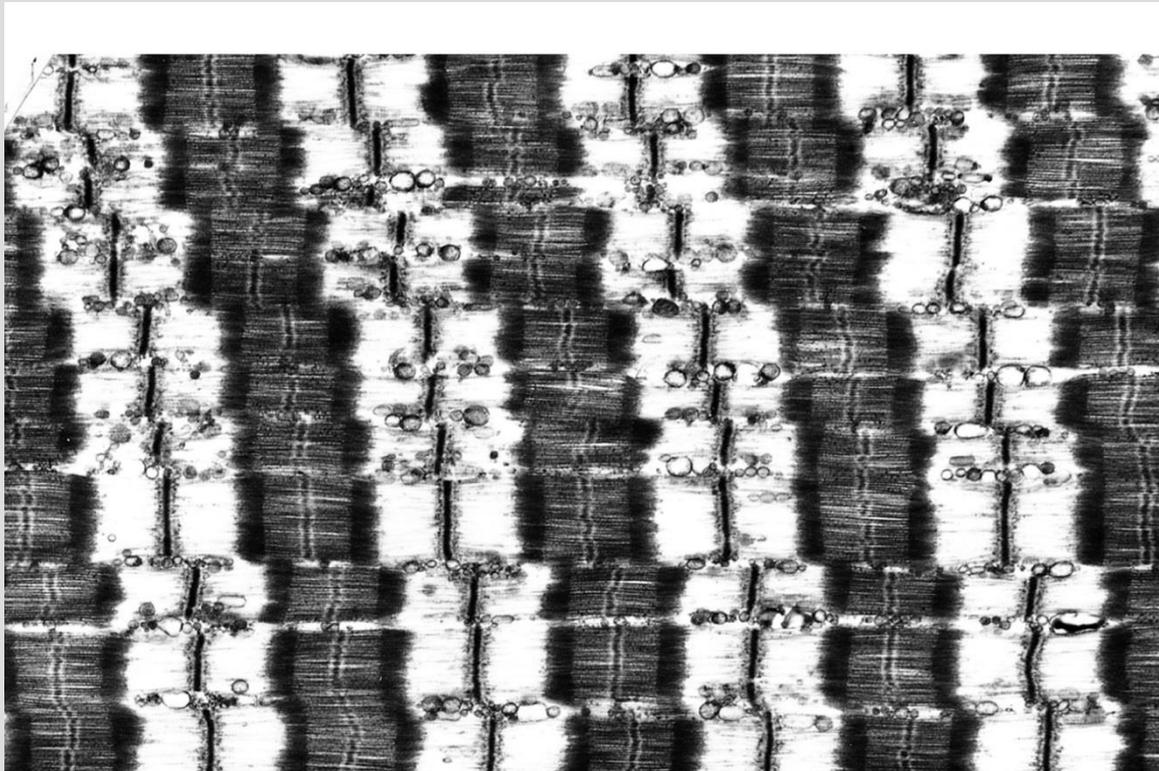
Blanchoin,  
2001

Carlier,  
1987

**Der kontinuierliche Aufbau und  
Umbau von Actinfilamenten treibt  
die Zellmigration**

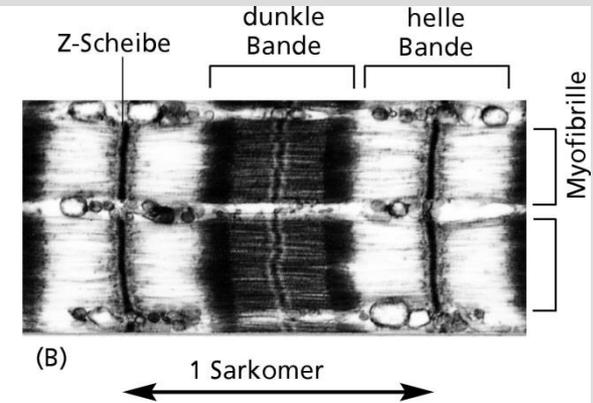
**DAS ACTIN-CYTOSKELETT HAT**  
**UNTERSCHIEDLICHSTE FUNKTIONEN**

# Das Actin-Cytoskelett kann in differenzierten Zellen sehr spezifische Strukturen ausbilden. Beispiel 1: SKELETTMUSKEL



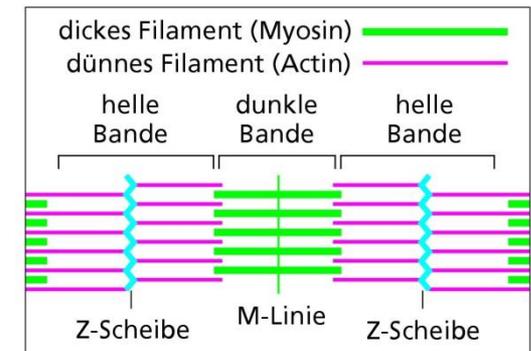
(A)

2 μm

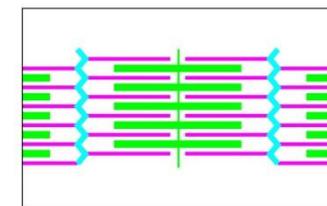


(B)

1 Sarkomer

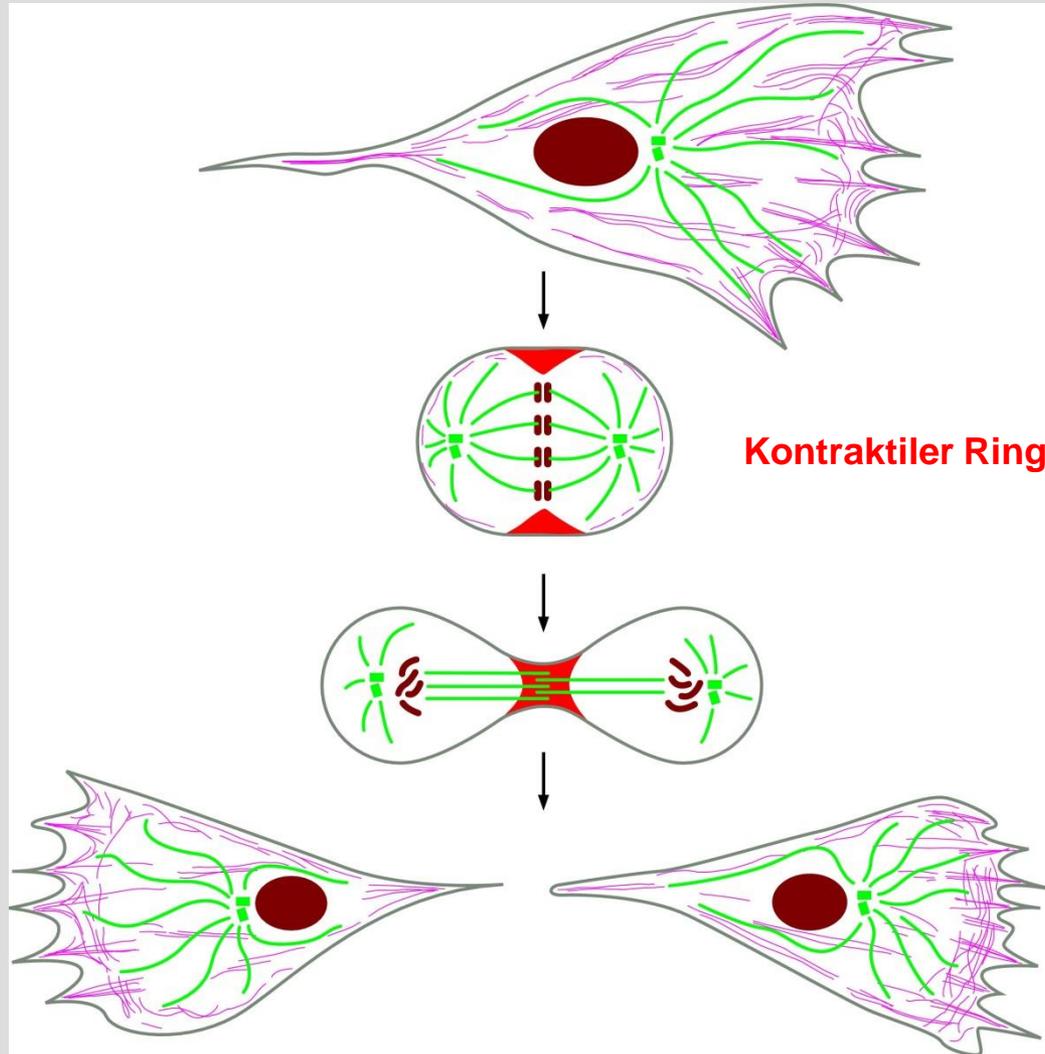


(C)

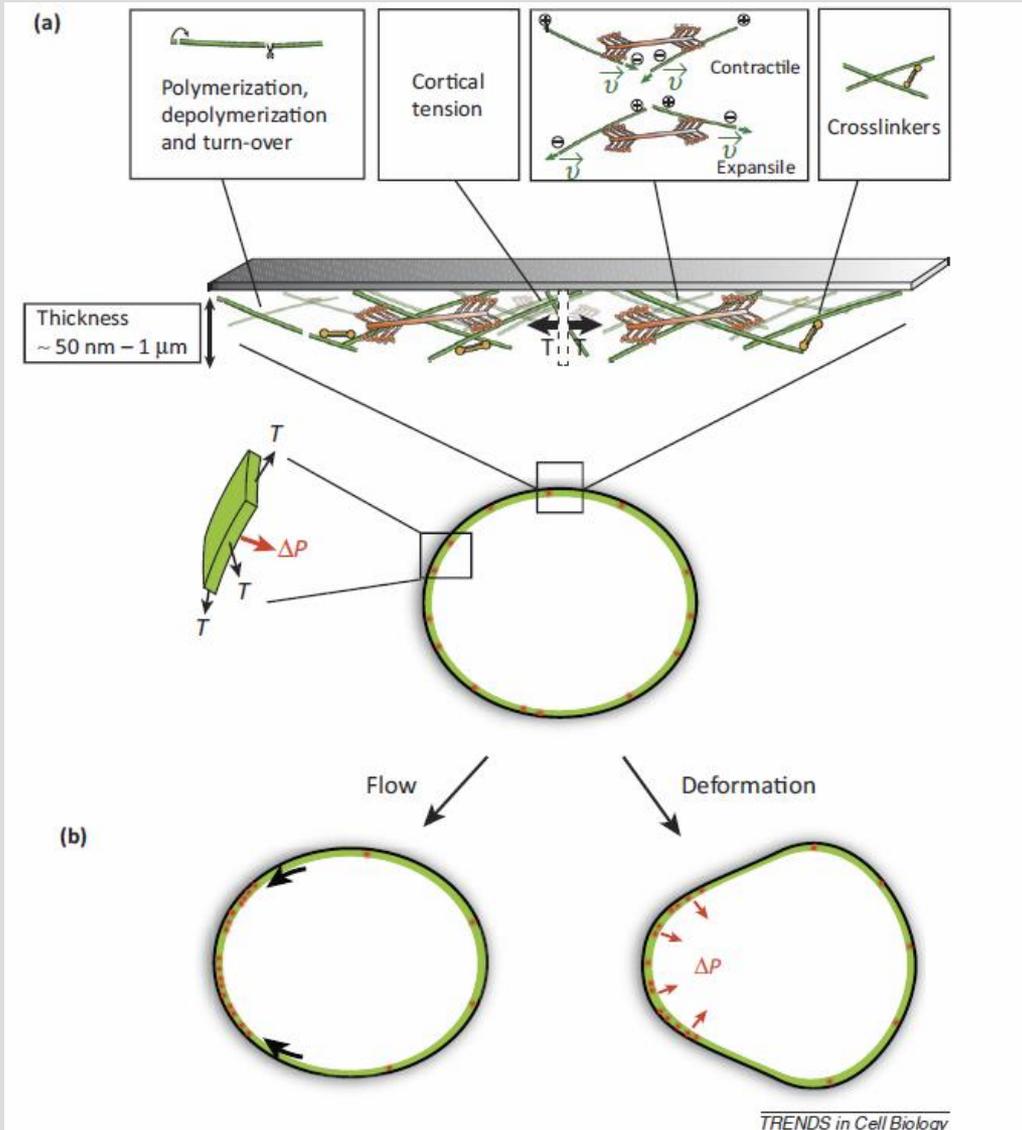


(D)

## Beispiel 2: Das Actin-Cytoskelett kann sich dynamisch in verschiedenen, zellulären Phasen verändern: z.B. während der ZELLEILUNG



# Beispiel 3: Für all diese Funktionen brauchen Zellen aber auch einen Cortex



Dünnes Netzwerk aus Aktinfilamenten unterhalb der Plasmamembran

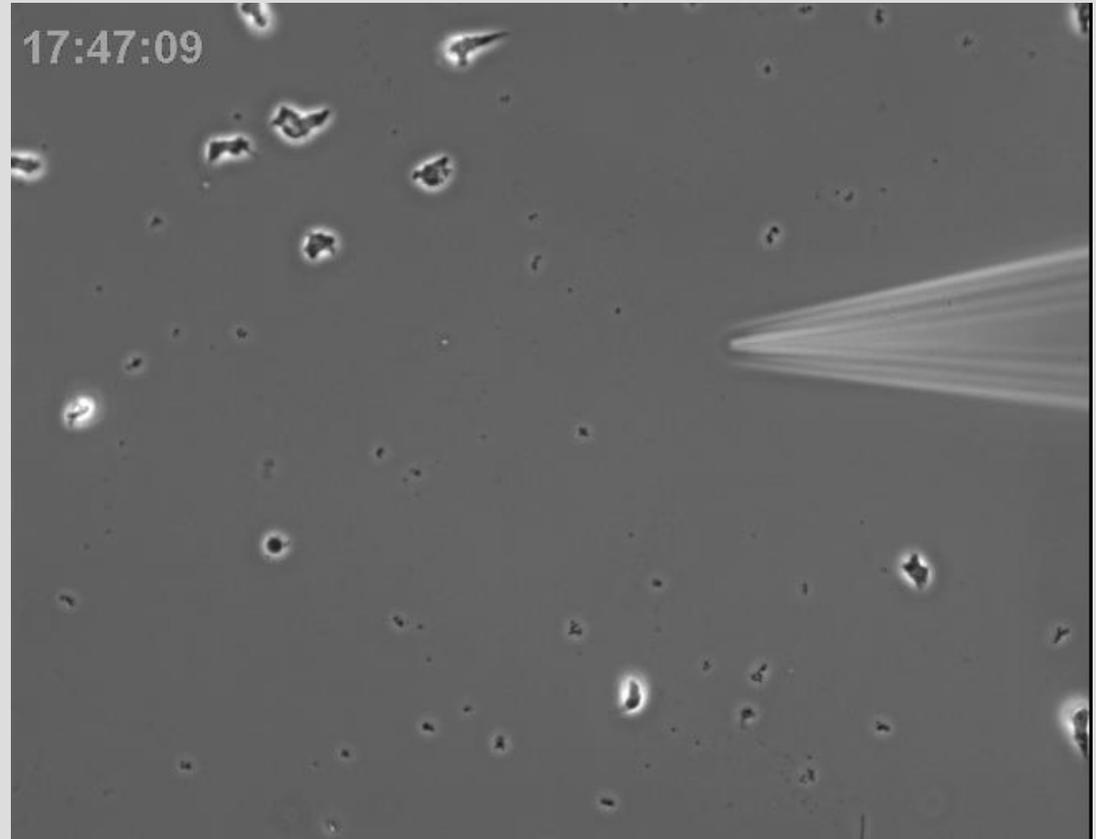
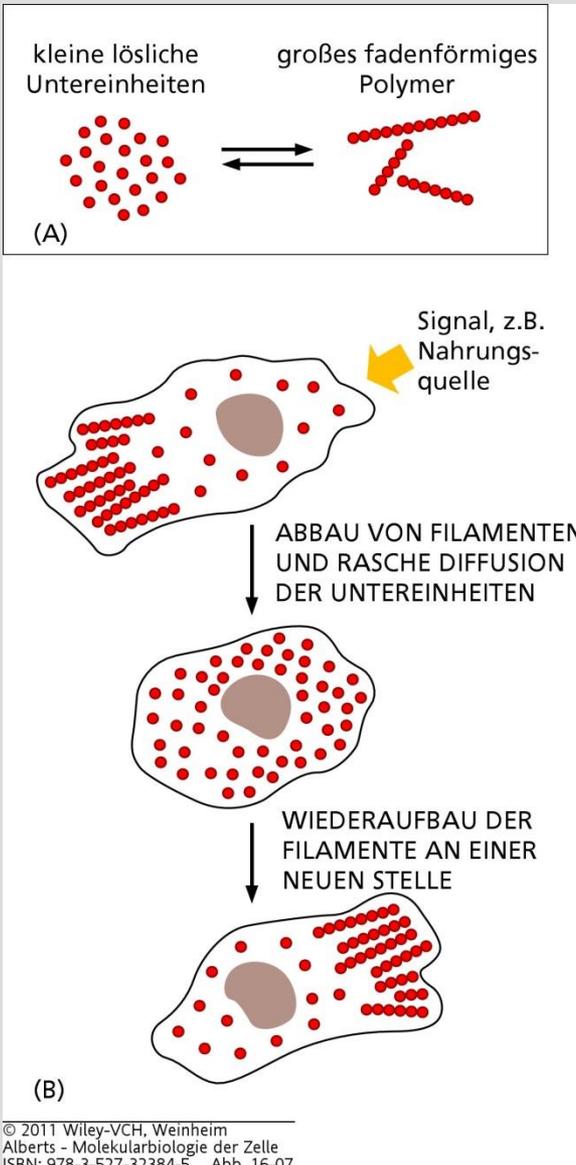
Myosin Motoren vermitteln Spannung

Wichtige Rolle bei der Kontrolle der Zellform

Mechanisch sowohl rigide als auch flexibel, eine für seine Funktionen essentielle Kombination

Wichtige Rolle bei der Morphogenese, der Zytokinese und Migration

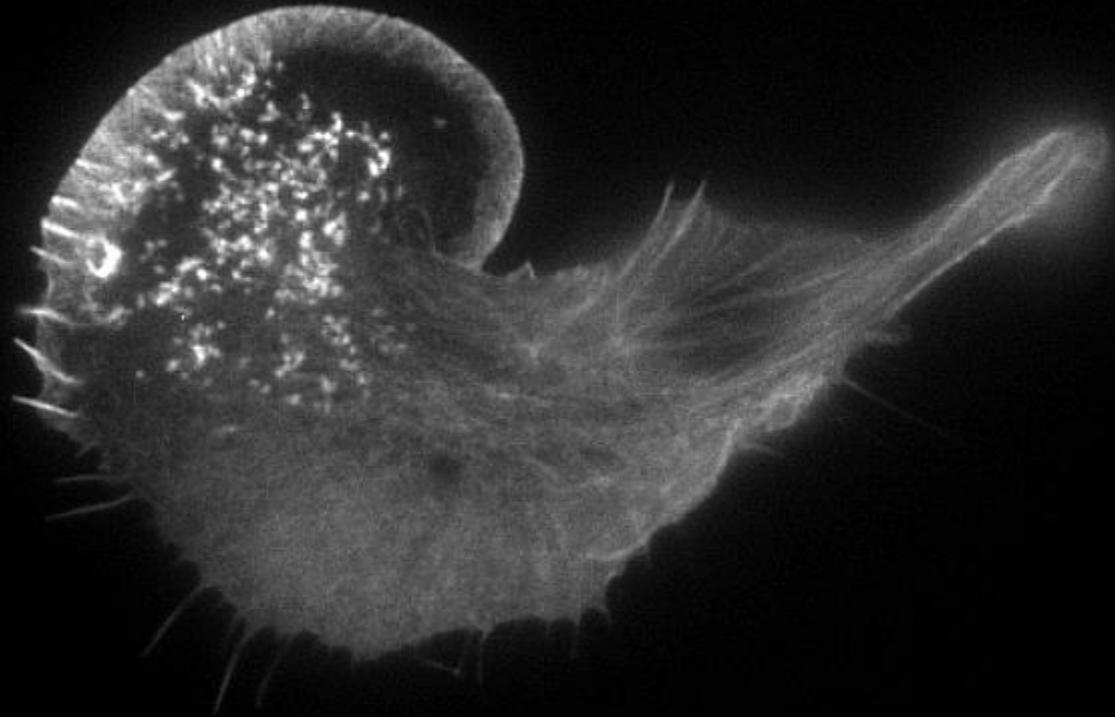
# Beispiel 4: Actinfilamente werden aber auch sehr schnell umgebaut, also ab- und aufgebaut, wie beispielsweise bei der ZELLBEWEGUNG und CHEMOTAXIS



Jan Faix, *Medizinische Hochschule Hannover*

**Der Vorschub der Plasmamembran (z.B. im lamellipodialen Actinnetzwerk an der Zellfront) wird durch Polymerisation von Actinfilamenten vorangetrieben**

Actin-GFP

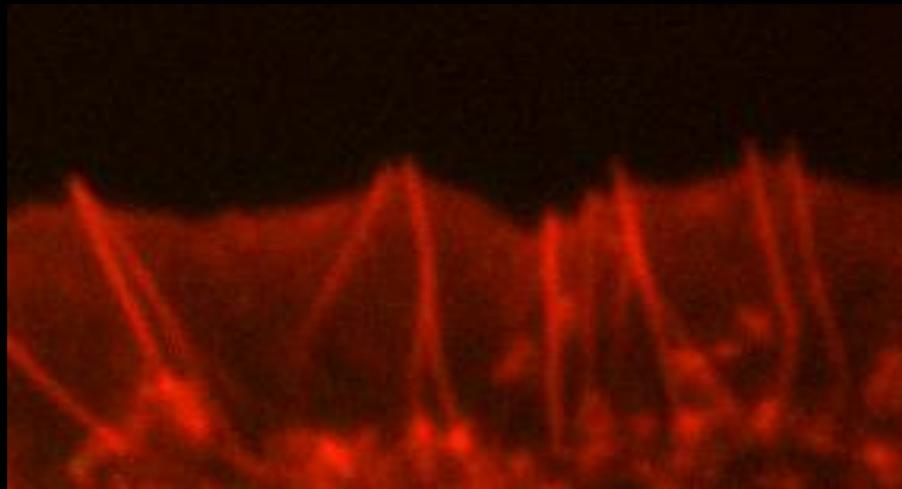


*Dies lässt sich durch Photomanipulation direkt visualisieren:*

**Actin-Filamente (im Lamellipodium) werden  
an der Zellmembran polymerisiert**

mCherry-Actin

PA-EGFP-Actin



Frieda Kage  
Anika Steffen

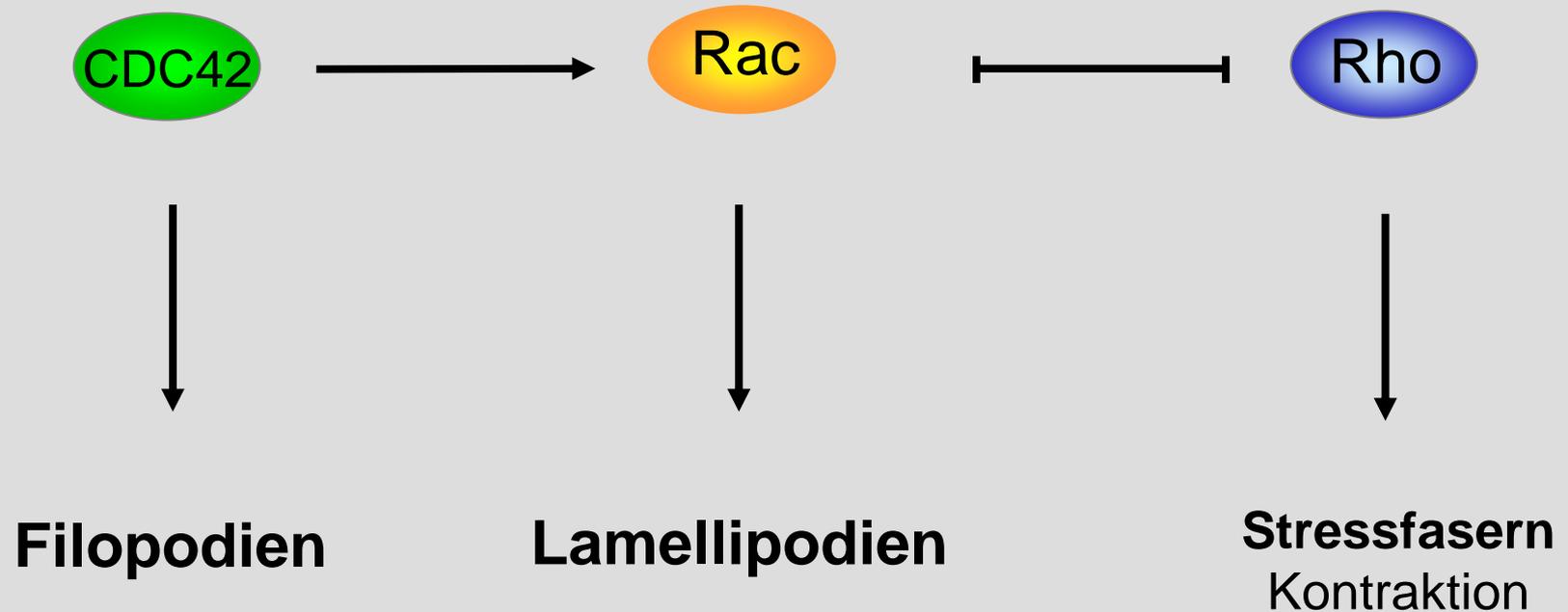


**Wie wird die Ausbildung von  
verschiedenen Actin-Strukturen  
reguliert?**

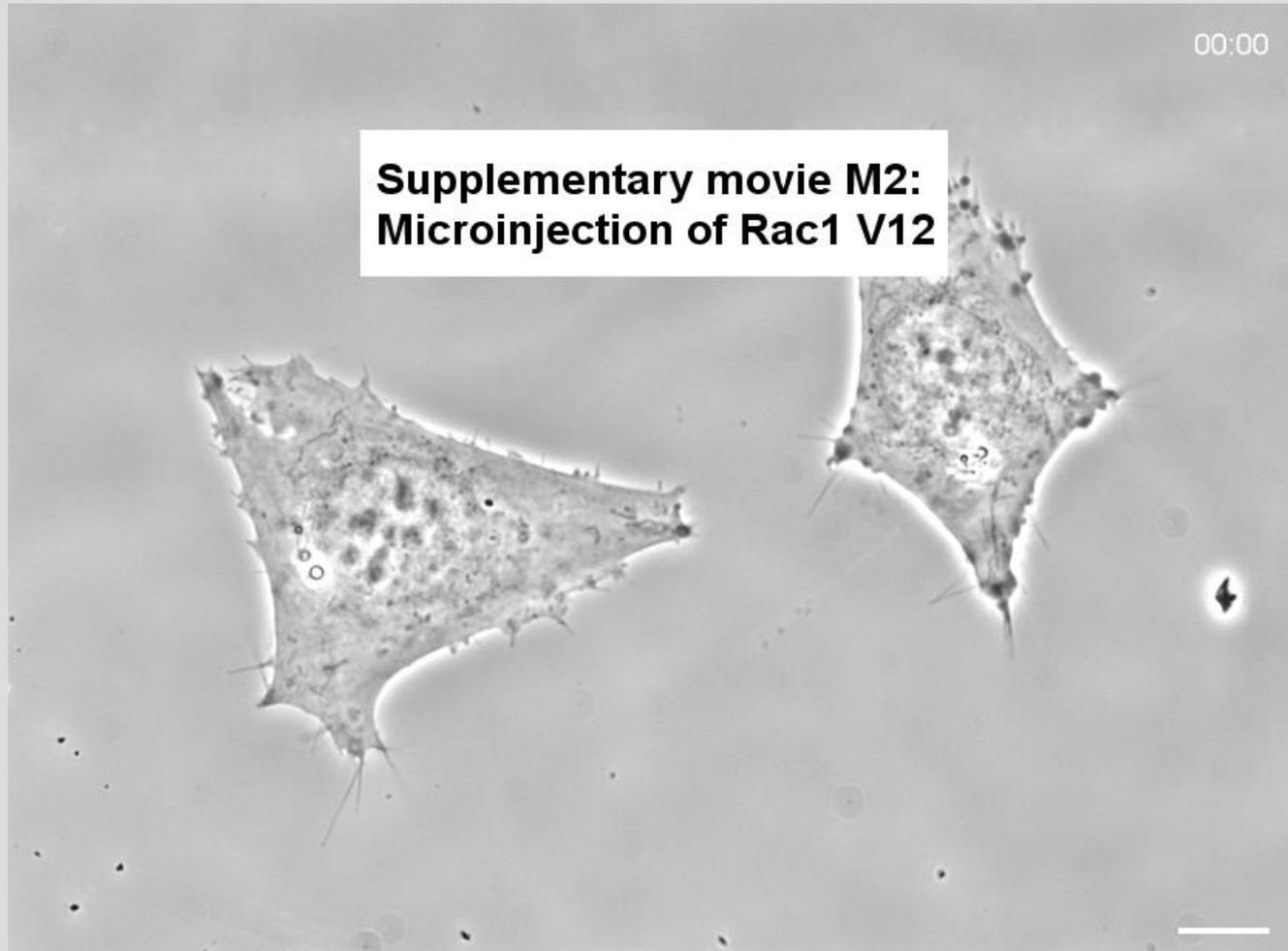
**Wie werden Actin-Strukturen induziert?**

**BEISPIELE AUS UNSERER JÜNGEREN FORSCHUNG**

# Signaltransduktion zum Actin-Cytoskelett durch kleine GTPasen der Rho-Familie

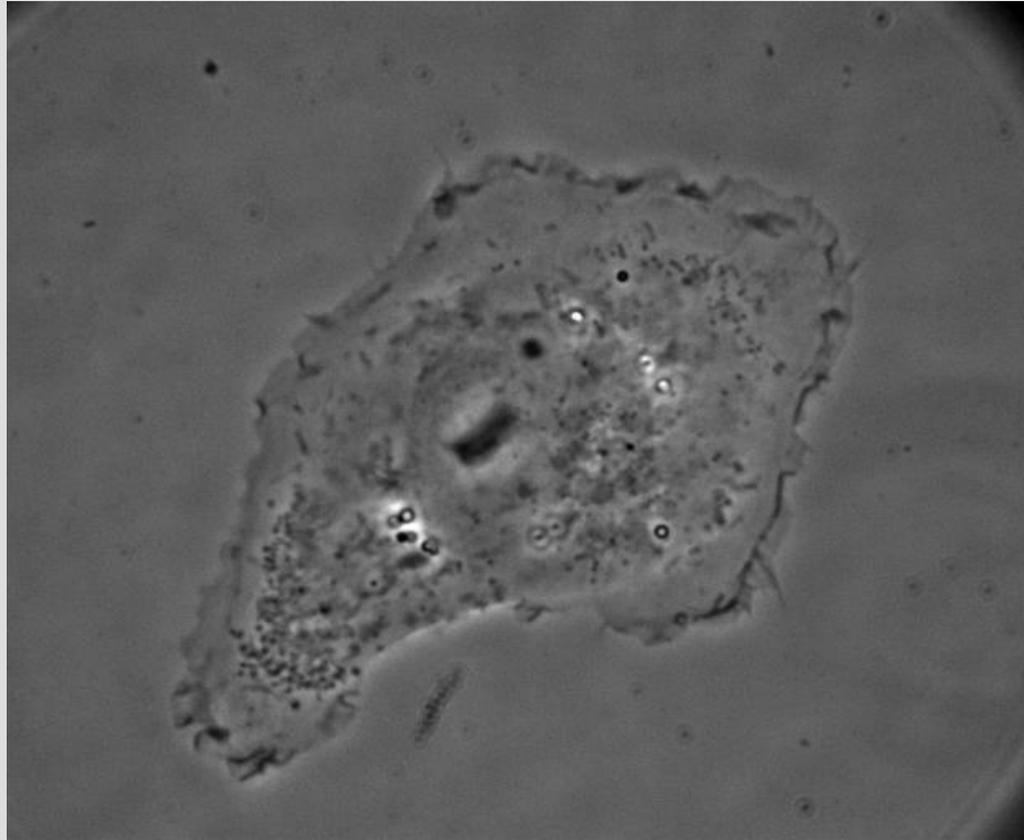


**Kleine GTPasen der Rho-Familie sind molekulare Schalter, die unmittelbar funktionieren (keine Genexpression erforderlich)**  
**WICHTIG: Können im GTP-gebundenen Zustand Effektoren binden**



**Rac → LAMELLIPODIEN**

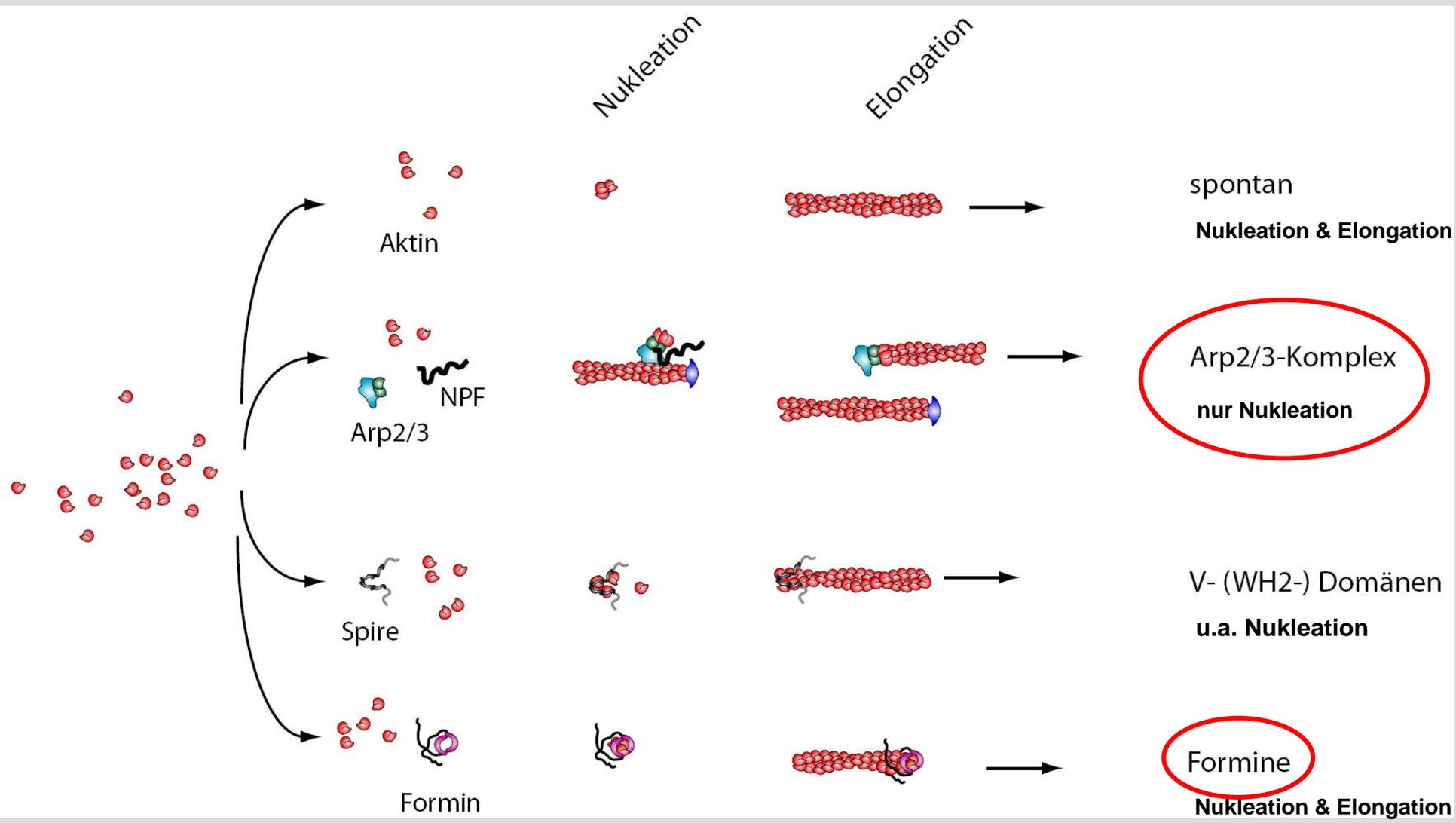
**Kleine GTPasen der Rho-Familie sind molekulare Schalter, die unmittelbar funktionieren (keine Genexpression erforderlich)**  
**WICHTIG: Können im GTP-gebundenen Zustand Effektoren binden**



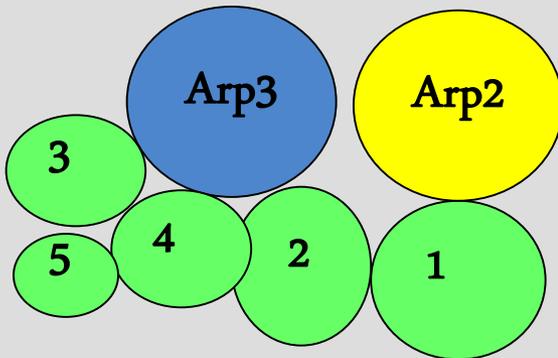
**Cdc42 → FILOPODIEN**

**Wie werden nun Actinfilamente in  
Lamellipodien und Filopodien nukleiert?**

# Es gibt verschiedene Klassen von Faktoren, die Nukleation und Elongation von Actin-Filamenten fördern

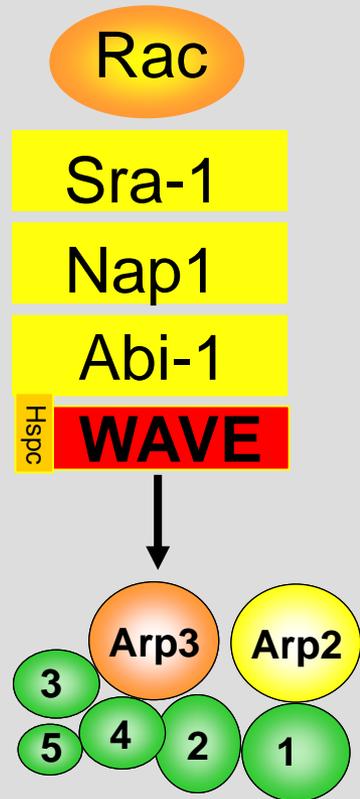
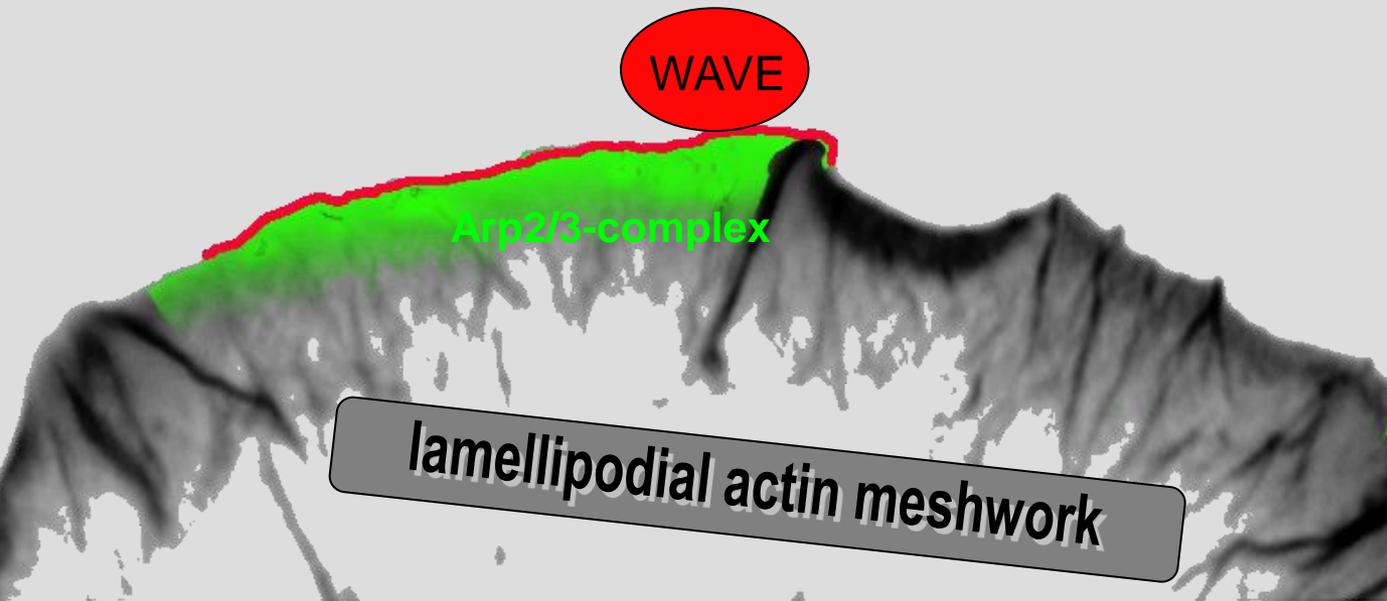


# Nukleation von Actinfilamenten: Arp2/3-Komplex

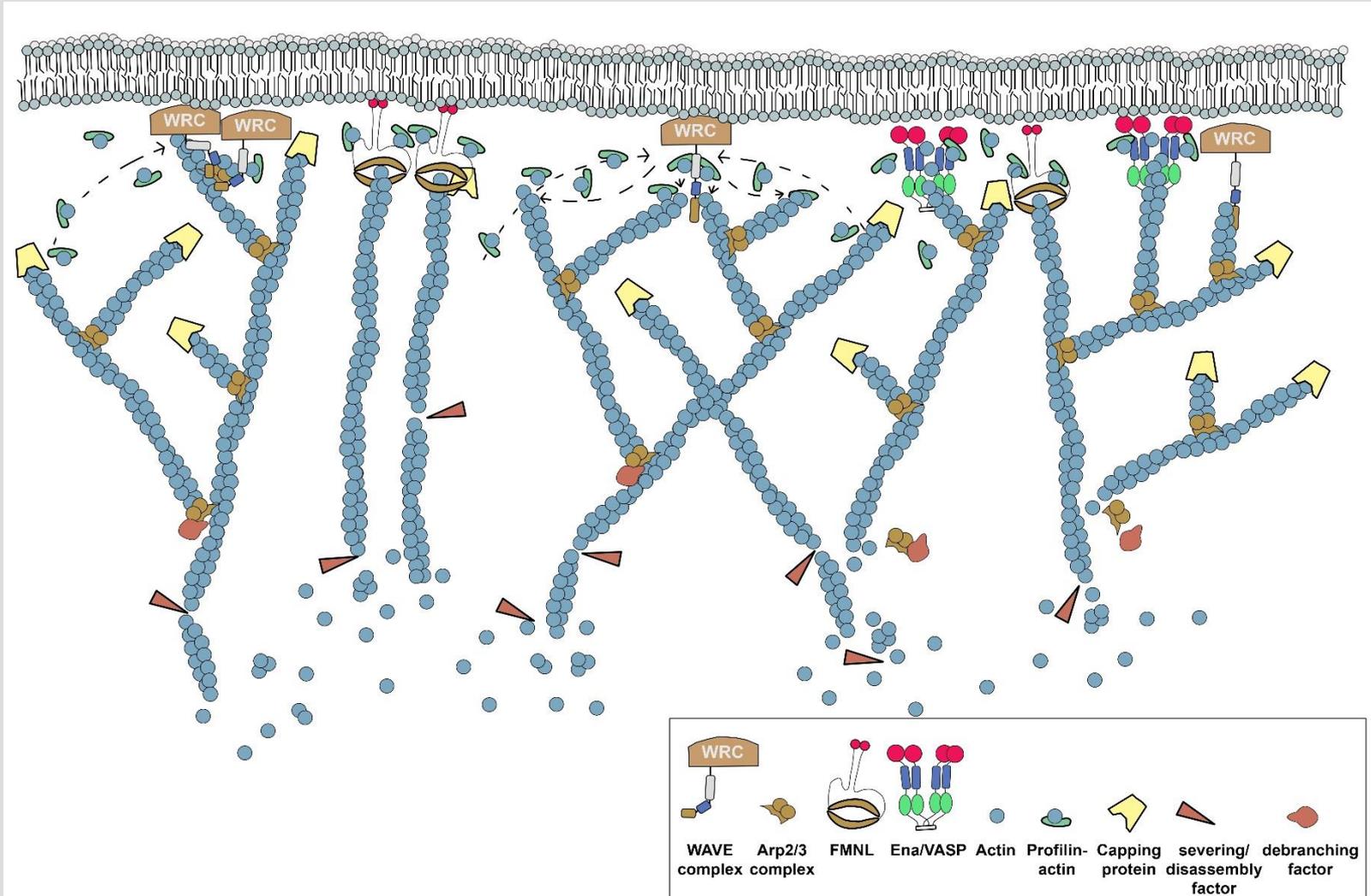


- 7 hochkonservierte Untereinheiten
- niedrige/keine Ausgangsaktivität
- fördert Nukleation und/oder Verzweigung von Actinfilamenten
- wird durch aktivierende Faktoren, sogenannte *nucleation promoting factors*, NPFs aktiviert, z.B. durch WASP oder WAVE

# Lamellipodienbildung wird durch WAVE- und Arp2/3-Komplex vermittelt



# Aktivierung von Arp2/3-Komplex durch WAVE (WRC) und viele weitere Aktivitäten tragen zur Lamellipodienbildung bei



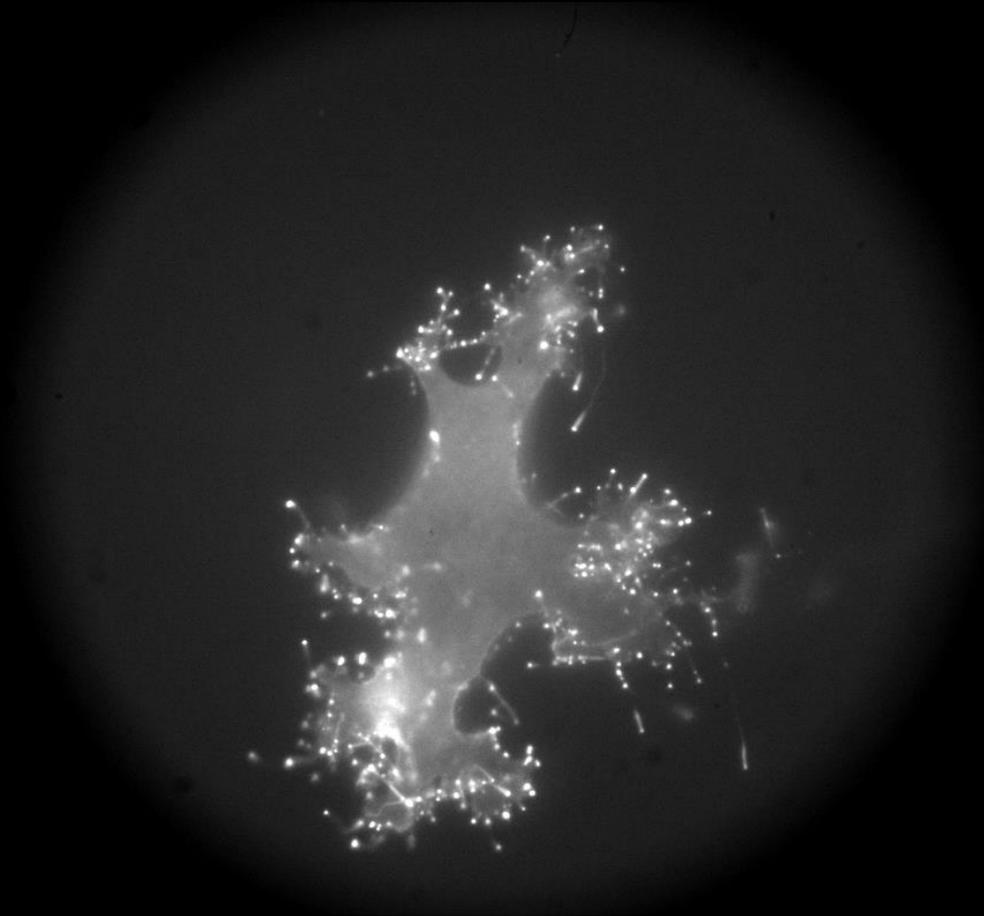
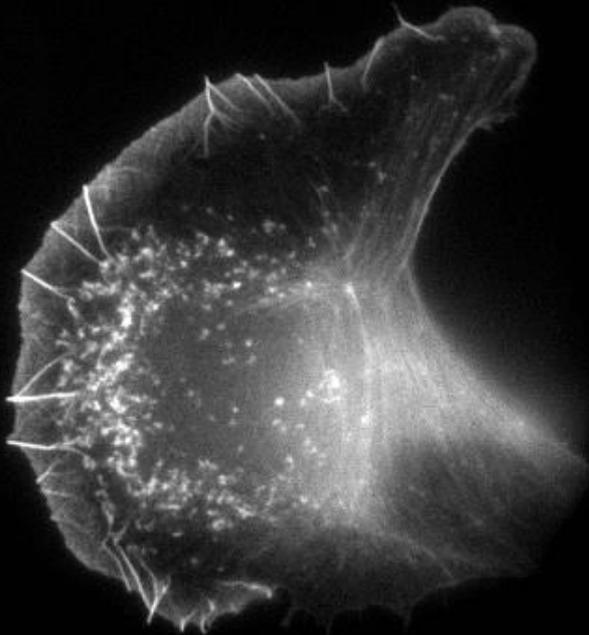
Schaks et al., 2018

Rottner & Schaks, 2019

# Mechanismen der Actinnukleation in Filopodien noch nicht endgültig geklärt

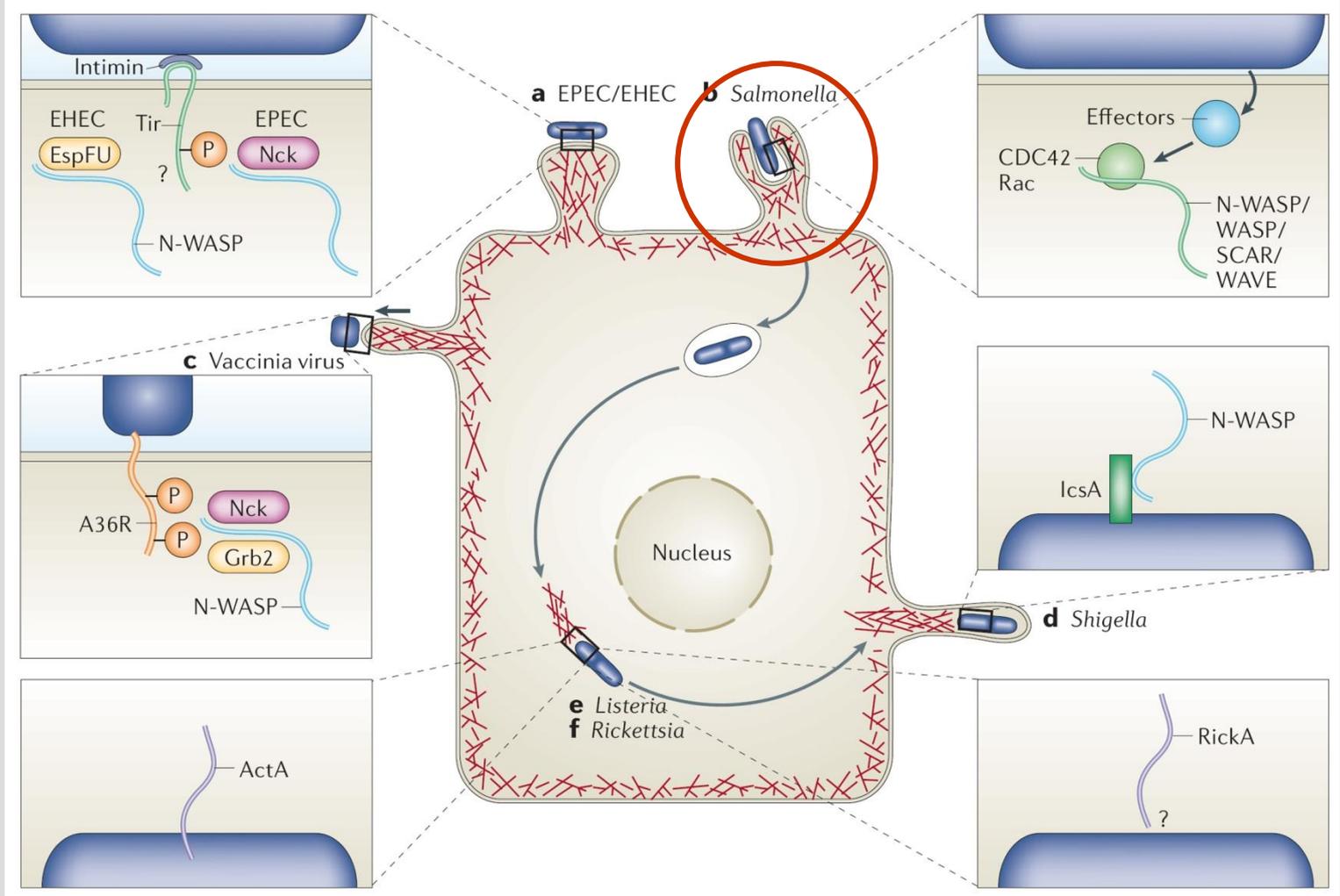
(ABER: Formine in jedem Fall wichtig)

EGFP-Actin

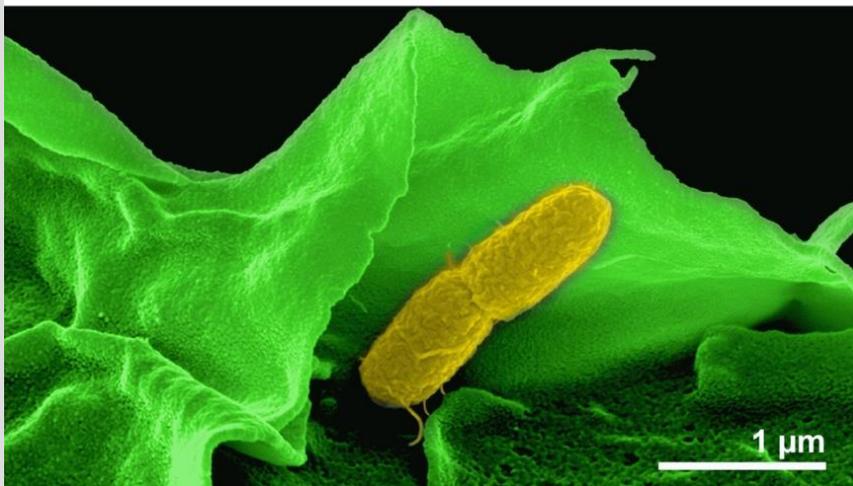
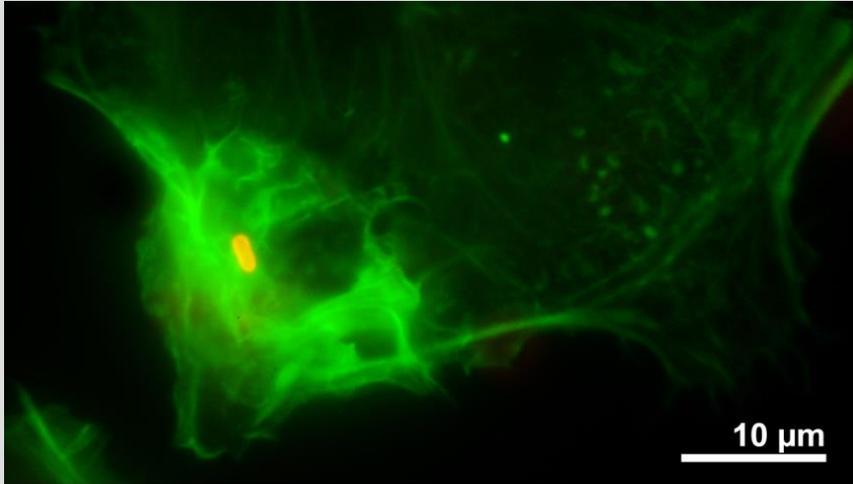


***Aktives Formin (mDia2) potenziert  
Filopodienbildung***

# Und wie können Pathogene das Actin-Zytoskelett benutzen?

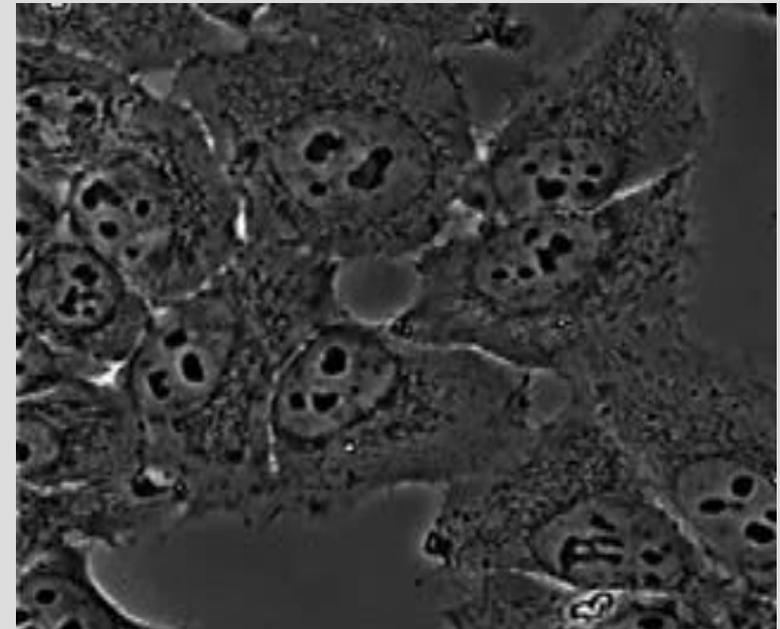
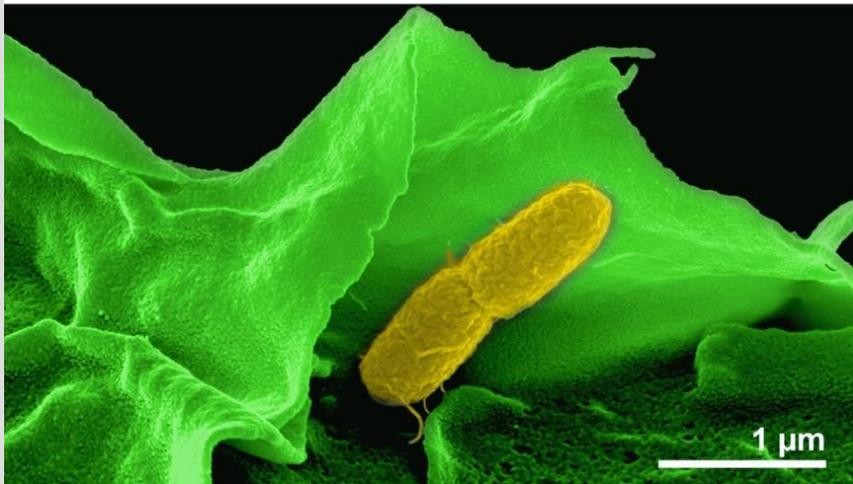
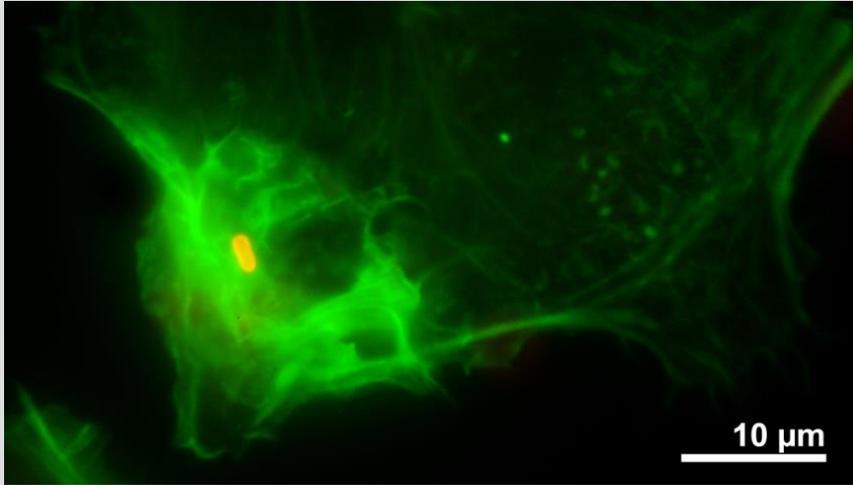


# Beispiel 1: Pathogene können ihre Aufnahme in Wirtszellen induzieren (*Salmonella enterica* Serovar Typhimurium)



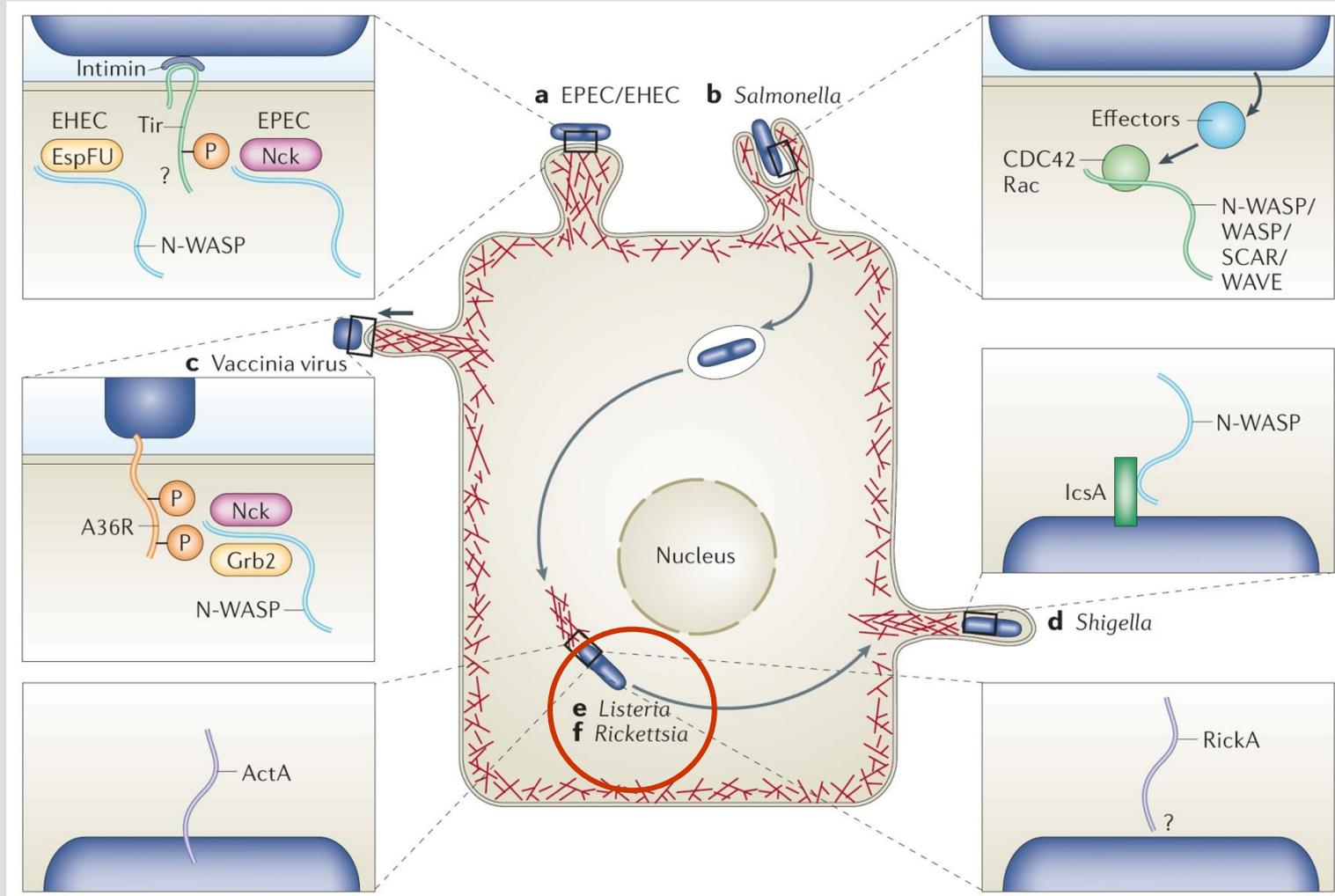
# Beispiel 1: Pathogene können ihre Aufnahme in Wirtszellen induzieren

(*Salmonella enterica* Serovar Typhimurium)

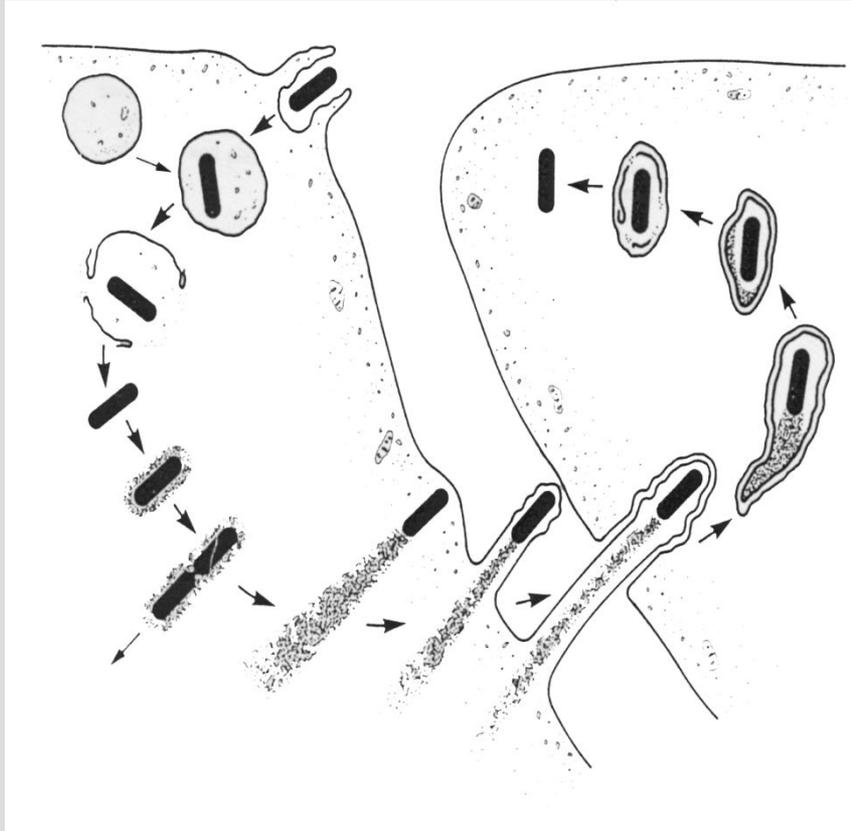


modifiziert von Patel und Galan, 2005

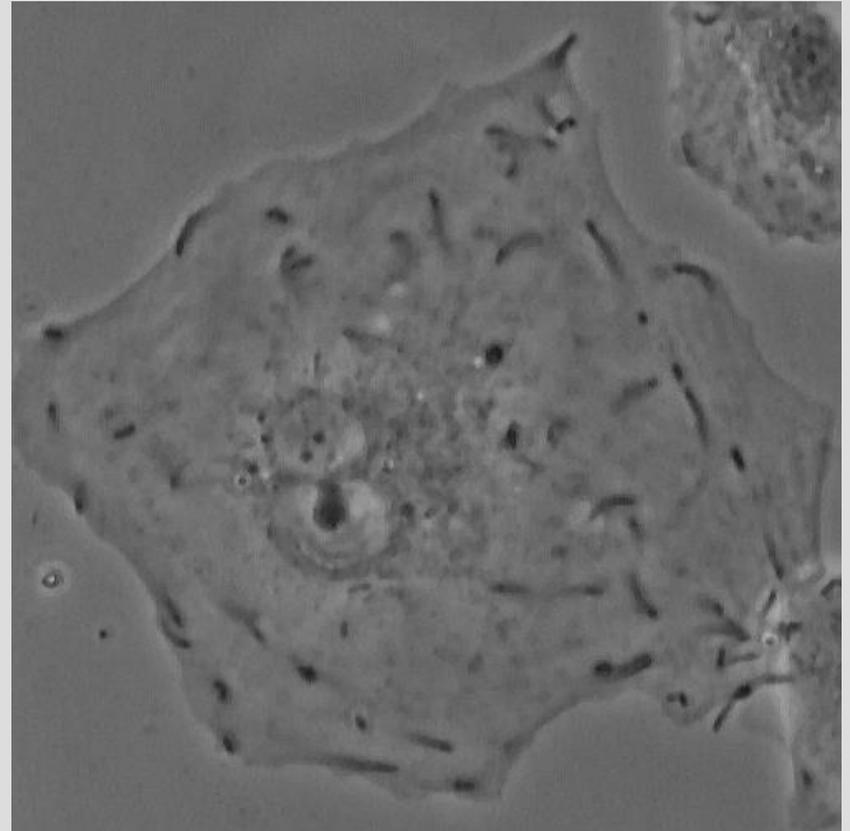
# Die durch Actinpolymerisation entstehenden Kräfte können Pathogene für ihre Bewegung benutzen



# Beispiel 2: Intrazelluläre Bewegung von Listerien

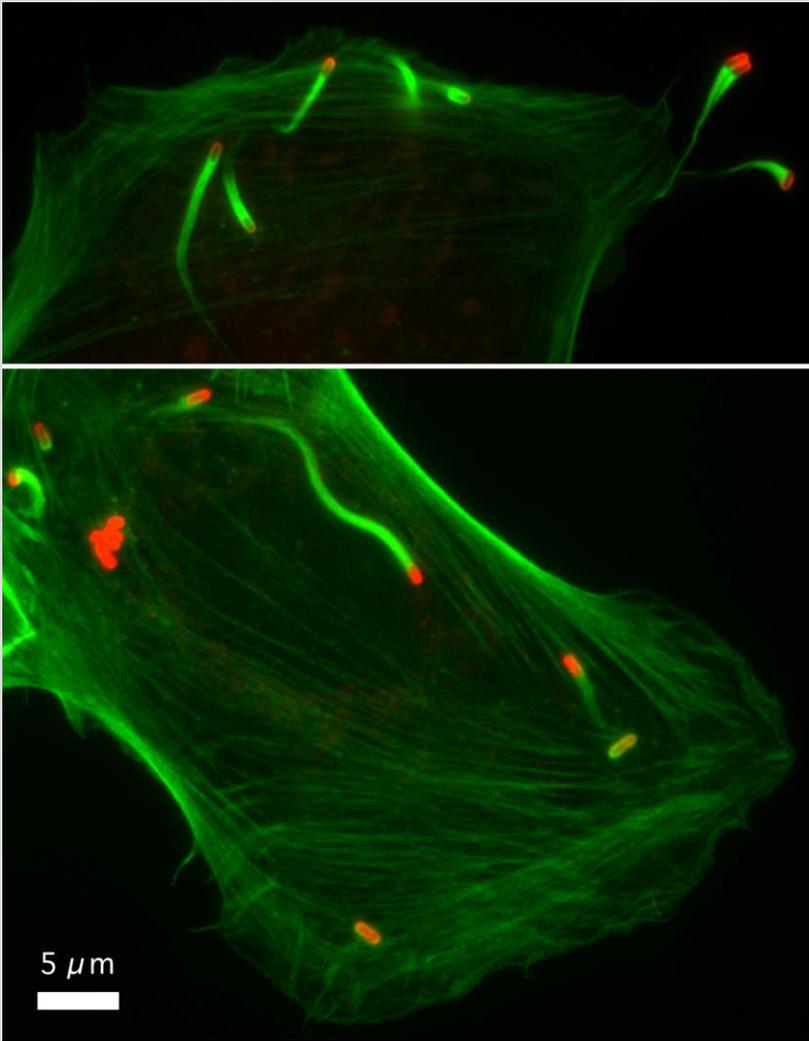


aus Tilney und Portnoy, 1989



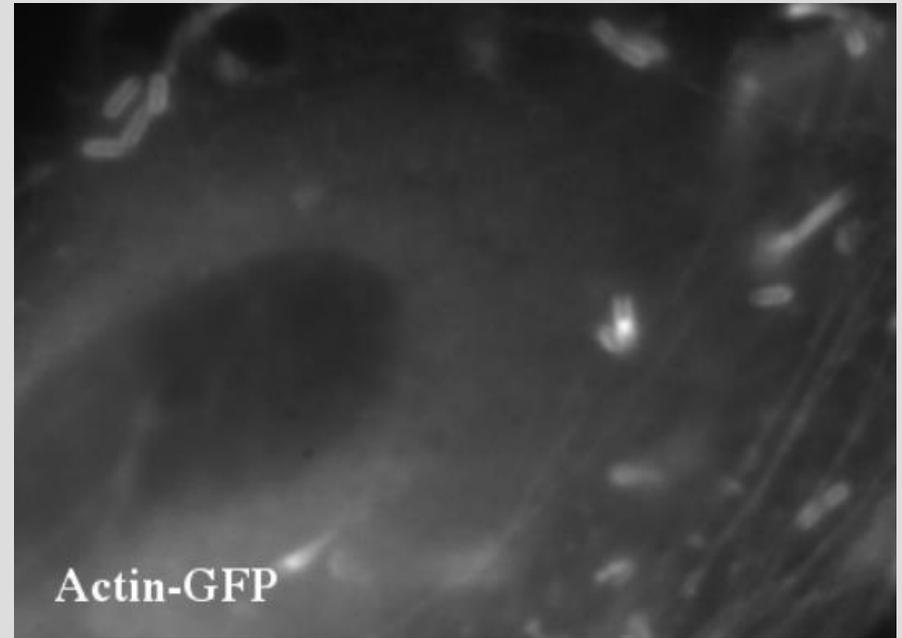
Marcus Geese

# Beispiel 2: Intrazelluläre Bewegung von Listerien



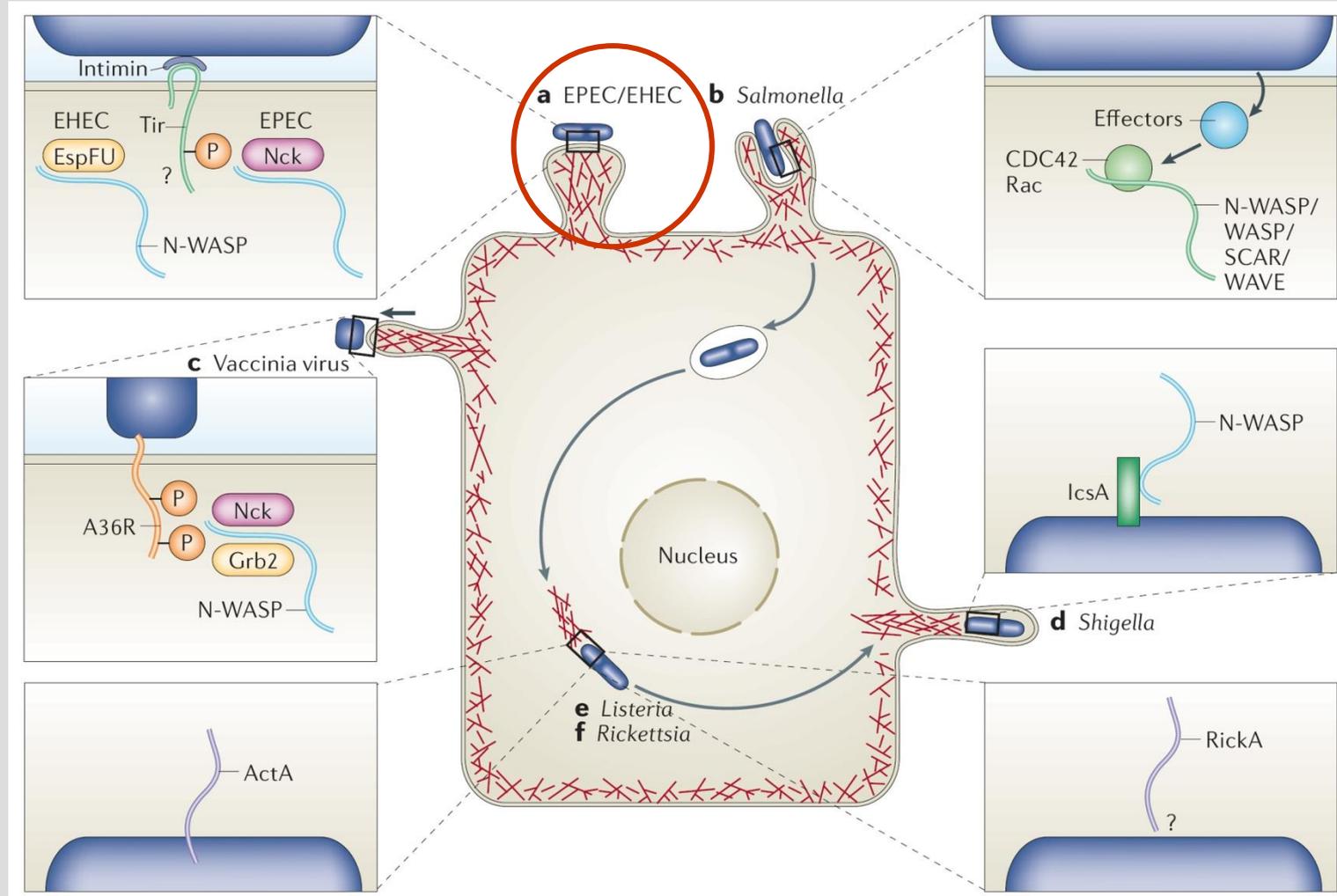
Actin: grün

Listerien: rot



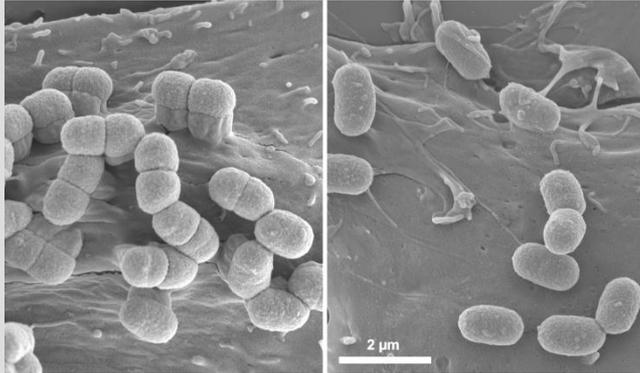
Antonio Sechi

# Die durch Actinpolymerisation entstehenden Kräfte können Pathogene für ihre Bewegung benutzen

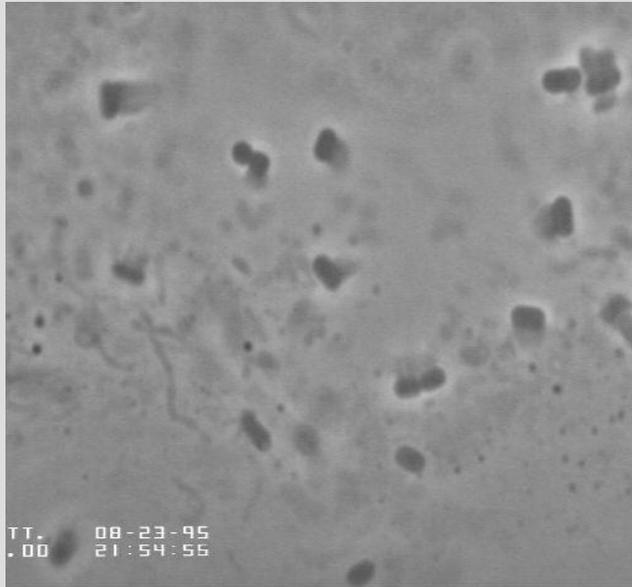


# Beispiel 3: Extrazelluläre Bewegung von pathogenen *E. coli*

**EPEC**

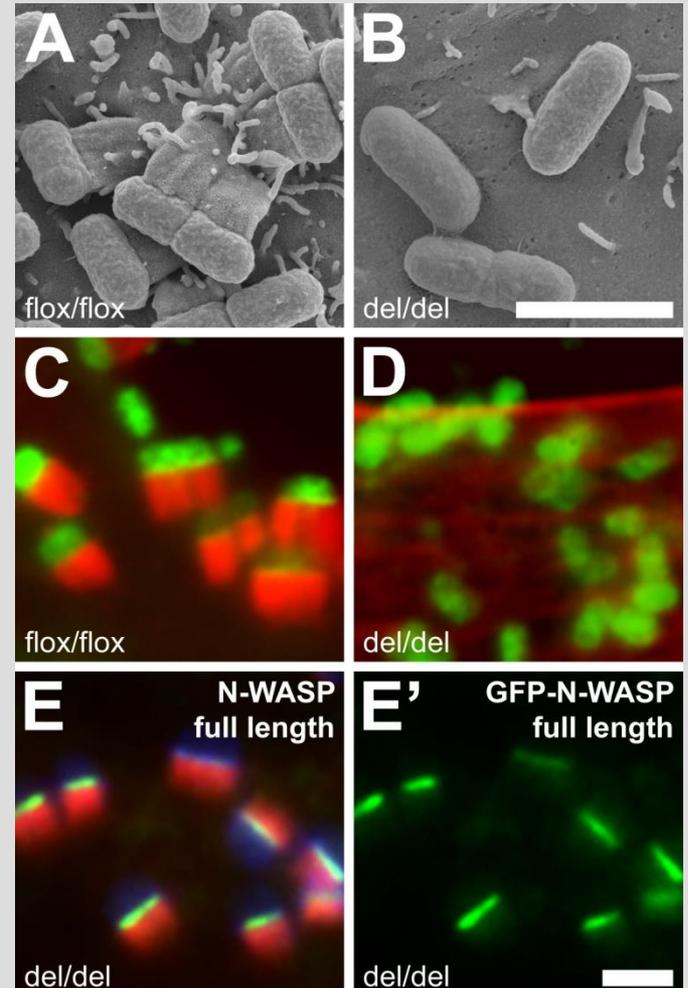


Lommel et al., 2001



aus Sanger et al., 1996

**EHEC**



Lommel et al., 2004



**DANKE**