

ПРОГРАММА СПЕЦКУРСА «МЕХАНИЗМЫ КЛЕТОЧНОЙ ПОДВИЖНОСТИ»

преподаватель - д.б.н., профессор Е.А. Смирнова

Цитоскелет. Компоненты цитоскелета – микротрубочки, актиновые филаменты (микрофиламенты), промежуточные филаменты. Общие принципы формирования и функции.

Микротрубочки. Мономеры α и β тубулина. Гетеродимер α и β тубулина как субъединица для сборки полимера. Изоформы тубулина. Посттрансляционные модификации тубулина. Разнообразие семейства тубулинов. Строение микротрубочки, образование протофиламентов, листов и цилиндрических структур. Полярность микротрубочек. Динамическое равновесие между тубулином и микротрубочками. Динамика полимеризации тубулина, участие ГТФ в этом процессе. Регуляция динамического состояния микротрубочек *in vitro* и *in vivo*. Динамическая нестабильность и тредмиллинг. Взаимодействие тубулина с антимикротрубочковыми веществами (колхицином, нокадазолом, винбластином и паклитакселем/таксолом). Локализация микротрубочек в различных типах клеток (фибробласты, эпителий, нервные клетки, мышечные клетки). Белки, ассоциированные с микротрубочками (МАР). Структурные/поверхностные МАР, белки связанные с концами микротрубочек (катастрофины, +TIP белки, -TIP белки), разрезающие белки, моторные белки микротрубочек. Стабилизирующие и дестабилизирующие белки семейства МАР. Роль белков семейства МАР в регуляции динамического состояния и функциях микротрубочек. Моторные белки микротрубочек. Белки семейства кинезинов. Разнообразие суперсемейства кинезинов. Строение молекулы классического кинезина. Структурные и функциональные домены тяжелых цепей кинезина. Направленность кинезин-зависимого транспорта. Плюс и минус-конец ориентированные кинезины. Механохимический цикл кинезина, активация его АТФ-азной активности микротрубочками. Понятие процессивности кинезин-зависимого транспорта. Роль кинезинов во внутриклеточном транспорте. Белки семейства динеинов. Флагеллярный и цитоплазматический динеин, строение динеинового комплекса. Структурные и функциональные домены динеина. Роль динеина в движении ресничек и жгутиков. Цитоплазматический динеин, прикрепление к микротрубочкам и карго, механохимический цикл динеина. Строение динактинового комплекса, его взаимодействие с динеином. Локализация динеина и динактинового комплекса в клетках. Внутриклеточный транспорт, зависящий от динеина.

Центросома и ЦОМТ, типы ЦОМТ. Строение центросомы в клетках животных, ее динамика в клеточном цикле. Роль центросомы в инициации сборки микротрубочек и организации микротрубочек в цитоплазме. γ тубулин, γ -TURC, γ -TUSC, их роль в инициации сборки микротрубочек. Рекрутирование γ -TURC в центросому, механизмы и белковые комплексы, участвующие в этом процессе. Заякоривание микротрубочек в центросоме. Другие белки-нуклеаторы микротрубочек. Заякоривание микротрубочек в

центросоме. Строение центросомы: центриоли и перичентриольный материал. Структура и белковый состав центриолей. Материнская и дочерняя центриоли: сходства, отличия, функции. Образование центриолей – матричная модель и формирование *de novo*. Механизмы формирования процентриолей, контроль роста и удлинения. Белки перичентриольного материала и их функции. Центриольный и центросомный циклы. Цикл дупликации центросомы. Поведение центросомы при изменении формы клеток и при движении клеток. Центриоль как базальное тело жгутика и реснички. Роль в формировании аксонемы. Строение и функции аксонемы реснички и жгутика. Нецентросомные центры организации микротрубочек. Роль центросомы и центриолей в клетке. Патология митоза, связанные с нарушением центросомального/центриольного циклов. Аппарат Гольджи как ЦОМТ.

Актиновые микрофиламенты. Строение молекулы/мономера актина. Изоформы актина, их экспрессия в различных типах клеток. Полимеризация актина *in vitro*, G- и F-актин. Строение актинового филамента, полярность и ее определение с помощью декорирования миозиновыми головками. Динамика полимеризации актина, динамическое равновесие G- и F-актина, участие АТФ в этом процессе. Взаимодействие актина с фаллоидином, цитохалазинами и латрункулином и применение этих веществ в экспериментальных исследованиях. Нуклеация актиновых филаментов в клетках. Белки-нуклеаторы Arp2/3, формины, *spire* и другие. Формирование сети микрофиламентов при участии Arp2/3 и пучков микрофиламентов при участии форминов. Классы актин-связывающих белков, их роль в регуляции динамики микрофиламентов. Белки, связывающиеся с G-актином – тимозин, профилин. Белки, связывающиеся с F-актином. ADF/кофилин как универсальный регулятор деполимеризации актина, его роль в обеспечении клеточной подвижности. Кэпирующие белки и их влияние на полимеризацию актина. Разрезающие белки и их взаимодействие с актином. Белки образующие поперечные связи между актиновыми филаментами (пучкующие и образующие сети) – филамин, фимбрин, α -актинин, спектрин.

Актин в клеточном морфогенезе. Локализация актина в культивируемых клетках и в клетках организма *in situ*: стресс-фибриллы и клеточный кортекс. Функции кортикальной сети актина и стресс-фибрилл. Ламеллоподии, филоподии. Расположение актиновых филаментов и регуляция их полимеризации на переднем крае движущихся по субстрату фибробластов и кератоцитов. Роль Arp2/3 и кофилина. Роль белков семейства RhoGTP в формировании пучков и сетей актиновых филаментов. Расположение актиновых филаментов в микроворсинках, роль виллина, фимбрина и белка CapZ в образовании микроворсинок. Взаимодействие актиновых филаментов с плазмалеммой. Фокальный контакт, его строение. Специфические белки фокальных контактов: винкулин, таллин и другие. Опосредованное интегринами взаимодействие пучков актиновых филаментов и межклеточного матрикса в зоне фокального контакта. Взаимодействие стресс - фибрилл с межклеточными контактами эпителиоцитов. Суперсемейство миозинов. Разнообразие и общие свойства миозинов. Сходства и отличия с кинезинами и динеинами. Структура разных молекул миозина и миозина II. Структурные и функциональные домены тяжелых

цепей миозина. Механохимический цикл миозина. Скорость движения различных миозинов по актину. Локализация различных типов миозинов в немышечных клетках. Миозин I, его взаимодействие с мембранами и роль в образовании микроворсинок. Миозин V и его роль в движении клеточных органелл. Образование биполярных пучков миозина II *in vitro* и в немышечных клетках *in vivo*, строение этих пучков. Роль миозина II в движении клеток по субстрату. Расположение миозина II в стресс - фибриллах и функции стресс-фибрилл. Перестройки актомиозиновой системы при распластывании клеток по субстрату, движении и при делении клеток.

Промежуточные филаменты. Свойства промежуточных филаментов, их отличия от микротрубочек и актиновых филаментов. Экспрессия разных белков промежуточных филаментов в клетках и тканях. Молекулярная организация промежуточных филаментов. Структура палочковидного мономера промежуточных филаментов. Механизм сборки промежуточных филаментов из октамерных субъединиц (ULF). Динамика промежуточных филаментов в клетках. Классы промежуточных филаментов. Кератины I и II типа, группа белков III типа (виментин, GFAP, десмин), IV типа (нейрофиламенты), белки ламины. Строение ядерной ламины. Заболевания, связанные с нарушением структуры ламинов (ламинопатии). Нестандартный тип промежуточных филаментов. Белки промежуточных филаментов как маркеры типа клеток. Локализация промежуточных филаментов в клетках. Взаимодействие различных белков промежуточных филаментов при их совместной экспрессии в клетках. Белки IFAP (белки связанные с промежуточными филаментами) и их роль в организации сети промежуточных филаментов, и связи с другими элементами цитоскелета. Заболевания, связанные с дефектами промежуточных филаментов. Система промежуточных филаментов как интегратор клеточной и тканевой архитектуры.