

Motorfehérjék szerepe a hallásban

Szakdolgozat
biológia alapszak, biológus szakirány

készítette:
Gervai Judit

témavezető:
DR. KOVÁCS MIHÁLY, habilitált tudományos főmunkatárs
Biokémiai Tanszék

EÖTVÖS LORÁND TUDOMÁNYEGYETEM
TERMÉSZETTUDOMÁNYI KAR
BIOLÓGIAI INTÉZET



Budapest, 2010

Tartalomjegyzék

Tartalomjegyzék	2
Rövidítésjegyzék	3
1. Bevezetés	4
2. A hallás anatómiája	6
3. A hallás mechanizmusa	7
3.1. Adaptáció	8
4. A hallásban fontos szerepet betöltő motorfehérjék	10
4.1. Miozin I	10
4.2. Nem-izom miozin II	14
4.3. Miozin III	15
4.4. Miozin V	16
4.5. Miozin VI	17
4.6. Miozin VII	19
4.7. Miozin XV	20
5. A halláskárosodás	22
6. Következtetés	23
7. Összefoglalás	24
8. Summary	25
Felhasznált irodalom	26
Köszönetnyilvánítás	28

Rövidítésjegyzék

Rövidítés	Magyarázat
ADP	adenozin-difoszfát
ADP β S	adenozin-5'- β -tiodiszfoszfát
ATP	adenozin-trifoszfát
GFP	zöld fluoreszcens fehérje
IQ	izoleucin-glutamin
MET	mechanoelektromos transzdukció
NM	nem-izom miozin
NMB-ADP	N ⁶ -(2-metilbutil)-ADP
NTP	nukleozid-trifoszfát
P _i	inorganikus foszfát
USH	Usher szindróma

1. Bevezetés

A motorfehérjék elengedhetetlenül szükségesek a legalapvetőbb életjelenségek lebonyolításához. Szerepet játszanak a mozgatórendszer működésében, az izmok összehúzódásában (például konvencionális miozin), az organelumok transzlokációjában (például nem-konvencionális miozin, kinezin, dinein), és a biológiai információ továbbításában (például helikázok, polimerázok). Működésük során egy „sín” mentén mozogva (NTP hidrolízisével) kémiai energiát képesek átalakítani mechanikai munkává.

A motorfehérjék két nagy csoportját a lineáris, illetve forgó motorok (például. ATP-szintáz, bakteriális flagellum) alkotják. A lineáris motorokon belül megkülönböztetünk citoskeletális (miozin, kinezin, dinein), illetve nukleinsav motorokat (polimeráz, helikáz). A citoskeletális motorok közül a kinezin és a dinein mikrotubulusok mentén mozog (a legtöbb kinezin a pozitív vég felé, a sejtek periferiájára szállít, míg a dinein az ellenkező irányban, negatív tubulin vég felé, a sejtek centrumába halad). Ezzel ellentétben a miozin motorok aktin-filamentumok mentén mozognak. Az azonban mindegyikre igaz, hogy az ATP hidrolízisével szerzett energiát konformáció-változáson keresztül alakítják mechanikai energiává.

A miozin szupercsalád legalább 35 családból álló nagy diverzitású csoport, mégis a csoport minden tagjának azonos az alapvető ATPáz mechanizmusa (De La Cruz és Ostap, 2004). Aktinhoz való affinitásuk alapján gyenge- illetve erős aktinkötő állapotokat különböztethetünk meg. ATP hiányában erős aktinkötő állapotról beszélünk, azonban egy ATP-molekula bekötődése konformáció-változást indukál a miozin-molekulában, ezáltal gyengén kötő állapotba kerül, majd leválik az aktinról. Az ATP hidrolíziséhez kapcsolatosan (amelyből ADP és foszfát (P_i) termékek keletkeznek) újabb konformáció-változás történik, ami az erőkar „felhúzását” eredményezi. A hidrolízis-termékek közül először a foszfát szabadul fel. Ehhez kapcsolatosan megtörténik az erő kifejtő lépés, vagyis az erőkar „lecsap”, a miozin molekula megtesz egy „lépést” az aktinfilamentum mentén (ezalatt már erős aktinkötő állapotban van). Végül az ADP is távozik, és a miozin-molekula a kiindulási állapotba jut vissza. Ez a ciklus ismétlődik, amíg van elegendő ATP a rendszerben.

A motorfehérjék többek között a hallásban is jelentős szerepet játszanak. A hallórendszer az egyik legkifinomultabb érzékszerv, amely folyamatosan (még alvás alatt is) tájékoztat a környezetről, elősegíti a kommunikációt azáltal, hogy észleli és feldolgozza a

hangfrekvenciájú rezgéseket. A hallásért felelős belsőfül (annak is a csiga részében megtalálható Corti-szerv) mechanoszenzitív szőrsejtjei aktinban gazdag struktúrák, így nem meglepő, hogy motorfehérjéket is tartalmaznak (Gillespie és Cyr, 2004).

Megkülönböztetünk külső és belső szőrsejtet. Míg a külső szőrsejt elektromotilitási képességgel rendelkezik, amely membránpotenciál-változással képes a sejt hosszát változtatni, így a hallás érzékenységét befolyásolni, addig a belső szőrsejt felel az érzékelésért, a hangingert ingerületi folyamattá alakítja át, majd továbbítja az agy felé (Gillespie, 2004).

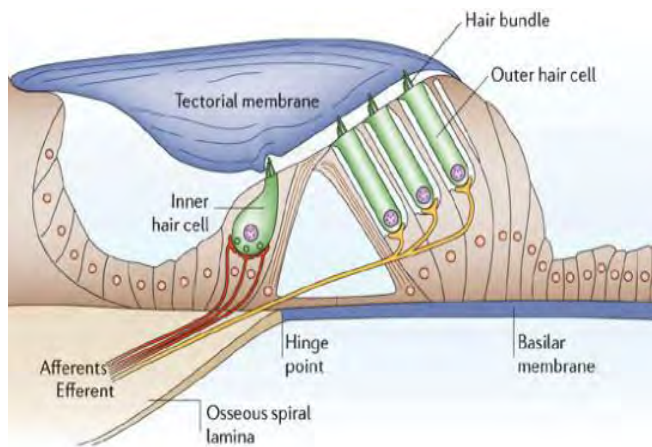
Mindkét típusú szőrsejt apikális felszínén sztereociliumokból és kinociliumból álló szőrnyaláb található. A belső szőrsejtek esetében ezek valósítják meg a hangérzékelést mechanikai ingerek hatására, miozin motorok közreműködésével. A sztereociliumokat apikális és oldalsó részüknél speciális kapcsoló struktúra, *tip link* köti össze. Ennek köszönhetően mechanikai inger hatására a sztereociliumok elcsúsznak egymáson, így egyfajta húzóerő alakul ki, kiváltva ezzel a mechanikai átrendeződést és az ionáramlást. A húzóerő hatására a sztereocilium ioncsatornája kinyílik, kation áramlik be a sejtbe, depolarizációt és neurotranszmitter leadást idézve elő. Ezzel együtt a *tip link* „lecsúszik” a sztereocilium oldalán, aminek hatására csökken a tenzió, a csatorna bezárul, a *tip link* az eredeti helyére kerül, hiperpolarizálódik a sejt és megszűnik a transzmitter leadása.

A miozin izoformáknak többfajta szerepe van a hallás mechanizmusában: többek között részt vesznek a *tip link*ek koordinációjában, valamint a sztereociliumok épségének fenntartásában.

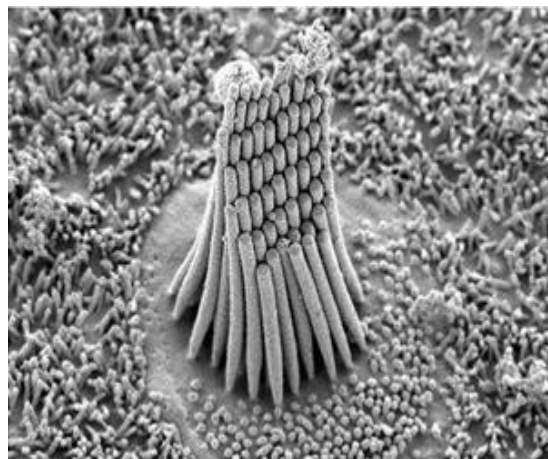
Szakedolgozatomban a mai ismeretek alapján összefoglalom a hallás mechanizmusát, kiemelve a fontos szerepet betöltő miozin izoformákat (miozin I, nem-izom miozin II, miozin III, miozin V, miozin VI, miozin VII, miozin XV) kitérve ezek funkcióira, valamint defektusuk hatására.

2. A hallás anatómiája

A hangok érzékeléséért a belfül, annak is a csiga (*cochlea*) része felelős. Feladata a hang mechanikai stimulusának frekvencia-komponensekké történő szétbontása, a frekvencia átalakítása elektrokémiai jellé, valamint a keletkezett jel továbbítása a hallóidegen keresztül a hangingert feldolgozó központokba. A csiga három kamrából álló spirális, csontos szerv, amelyben a hártás csiga található. Két kamráját (*scala vestibuli és media*) a Reissner-membrán választja el egymástól. A spirális szalag a csigavazatékban található megvastagodott csonthártya. A csiga teljes hosszán baziláris membrán (alaphártya) fut végig, amelynek szélessége és feszsége nem állandó. A csiga alapjánál a legkeskenyebb és legfeszesebb, a teteje felé fokozatosan szélesedik és laza szerkezetűvé válik. Ez a felépítés teszi lehetővé, hogy a különböző magasságú hangok különböző helyeken rezegtetik meg a membránt, a magas (nagyobb frekvenciájú) hangok a csiga alapjánál, a mély (kisebb frekvenciájú) hangok a csiga tetejénél (Eisen és Ryugo, 2007). A baziláris membránon található a Corti-féle szerv. Ez a receptorszerv kocsonyás extracelluláris mátrixszal bélelt, receptorsejteket (szőrsejteket), valamint támasztósejteket tartalmaz, amelyekre felülről a tektoriális membrán (fedőhártya) borul (1. ábra). A szőrsejtek felépítésük és funkciójuk alapján külső és belső szőrsejtekre különíthetők el, amelyek összehangolt működése nélkülözhetetlen a halláshoz. Míg a külső szőrsejtek elektromotilitási elemeket tartalmaznak és a hang stimulusának mechanikai erősítését végzik, addig a belső szőrsejtek feladata a mechanikai energia elektromos impulzussá történő átalakítása, vagyis a mechanoelektromos transzdukció.



1. ábra: A Corti-féle szerv felépítése. (<http://www.nature.com/nrn/journal/v7/n1/images/nrn1828-f2.jpg>) A "tectorial membrane" a fedőhártyát, az "inner és outer hair cell" a külső és belső szőrsejtet, a "hair bundle" a szőrnyaláb szelvényét szemlélteti.

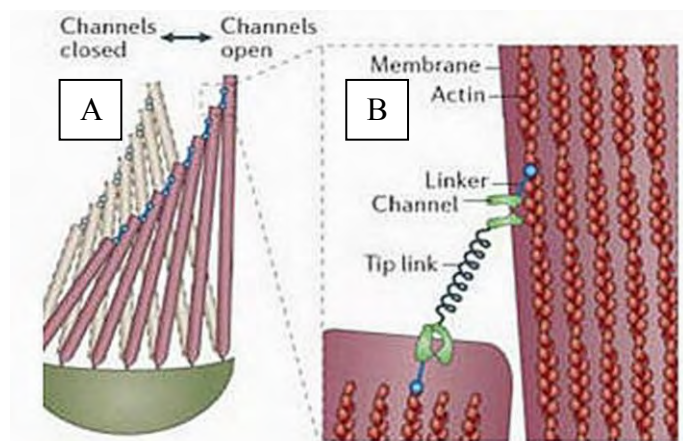


2. ábra: A szőrnyaláb scenning elektronmikroszkópos felvétele (<http://scienceblogs.com/>)

Mindkét fajta szőrsejtre jellemző, hogy apikális (csúcsi) felszínükön egy mechanikailag érzékeny szőrnyaláb található (1., 2. ábra). A szőrnyalábot mikrovillus-szerű sztereociliumok és (emlősök kivételével) egy csillószerű kinocilium alkotja. A sztereociliumok 20-300, sőt gyíkokban akár 3000 polarizált aktin-filamentumot tartalmaznak, melyek nemcsak vázként funkcionálnak, hanem a szállítást is lehetővé teszik (Tilney és mtsai, 1980). Mindemellett 10-20 aktin-filamentum a szőrnyaláb szőrsejthez való rögzítéséért is felel azáltal, hogy a szőrsejt apikális részén lévő kutikuláris lemez aktinhálózatához kapcsolódik. A sztereociliumok a kinocilium felé 3-4 sorba rendeződnek magasságuk szerinti növekvő sorrendben. A sztereociliumok között többféle kapcsoló struktúra található. Az egyik a tip link, ami három szálú, sorok közötti struktúra, a magasabb sztereocilium oldalát és a szomszédos alacsonyabb sztereocilium tetejét köti össze (3. ábra) (El-Amraoui és Petit, 2005). Ennek funkciója az egységes struktúrájú szőrnyaláb kialakítása mellett a mechanoelektromos transzdukciós csatornák szabályozása is. További kapcsoló struktúrák a felső kapcsoló elemek (a tip link alatt foglalnak helyet), a tengelyi elemek (a sztereocilium hosszán megtalálhatóak) és a „boka” kapcsolók (a sztereocilium alján vannak). A kapcsolók által biztosított többszörös rögzítés következtében a sztereociliumok egységes merev nyálábként, meghajlás nélkül téríthetők ki.

3. A hallás mechanizmusa

A csigába a hanginger a hallócsontocskák révén jut el, amelyek a levegő rezgéseit továbbítják azáltal, hogy áramoltatják a belsejében lévő folyadékot. A folyadékban terjedő rezgések a baziláris membrán különböző helyein okoznak maximális kilengést (a fent említett membrán szerkezete miatt), ennek megfelelően ingerlődnek a membránon található szőrsejtek. A membrán oszcillációja a szőrnyaláb serkentő (kinocilium – illetve mivel emlősöknél nincs, a



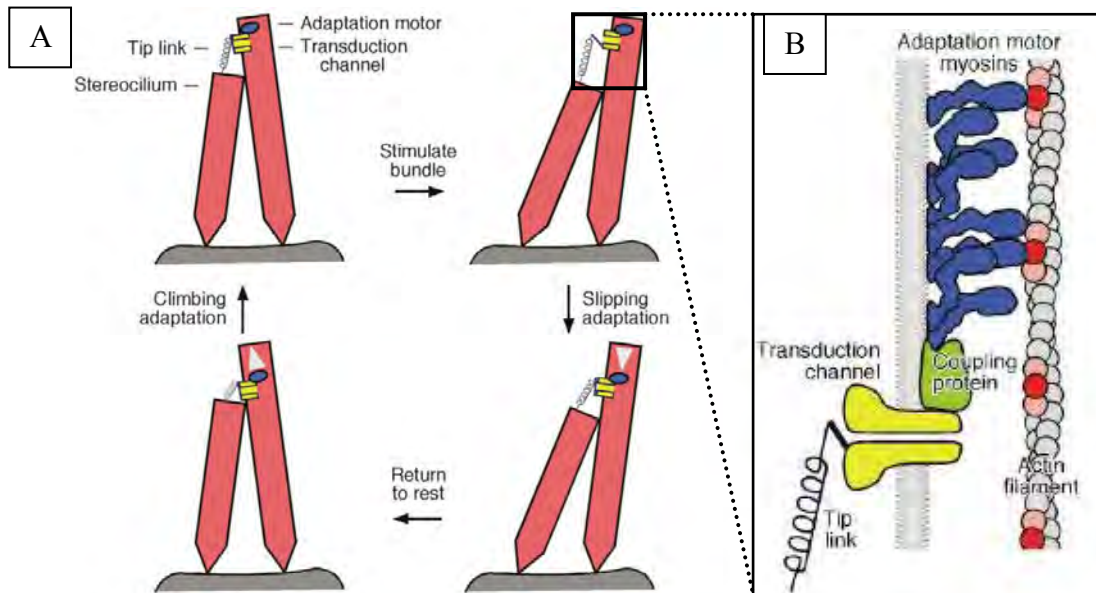
3. ábra: Az A ábrán a szőrnyaláb serkentő irányú (jobbra) elhajlása látható, amely a csatornák nyitódását („channels open”) váltja ki. A B ábrán a MET csatorna („channel”) és a hozzá kapcsolódó tip link látható. (Perozo: Gating prokaryotic mechanosensitive channels)

legmagasabb sztereocilium – felé történő), illetve gátló (legkisebb sztereocilium felé történő) elmozdulását válthatja ki (Eisen és Ryugo, 2007; Gillespie és Cyr, 2004; El-Amraoui és Petit, 2005). A szőrnyaláb serkentő irányú elmozdulásának hatására a sztereociliumok tetején, a plazmamembránban lévő mechanoelektromos transzdukciós (későbbiekben MET) csatornához kapcsolódó tip linkek megnyúlnak, tenziójuk megnő, aminek hatására kinyílnak a kation-szelektív MET csatornák (3. ábra). A nyitott csatornákon keresztül a szőrnyaládba jutó kationok (K^+ , Ca^{2+}) depolarizálják a szőrsejtet, megváltozik a sejt membránpotenciálja. A potenciál-változásra a belső és külső szőrsejt eltérő folyamattal reagál. A külső szőrsejtek elektromotilitási elemek segítségével megrövidülnek, ezáltal növelik a maximális kiterést, vagyis felerősítik a rezgéseket. Ezek a rezgések már képesek a magas ingerküszöbű belső szőrsejteket is ingerületbe hozni. A belső szőrsejtek a membránpotenciál változására ingerületátvivő anyagot bocsátanak ki. Ez az úgynevezett neurotranszmitter a belső szőrsejthez szinapszissal kapcsolódó afferens hallóidegek receptorához kötődik és akciós potenciált generál, ami továbbítódik az agy hallóközpontja felé (Eisen és Ryugo, 2007).

3.1. Adaptáció

Az adaptáció a halló- és egyensúlyérző rendszer működéséhez nélkülözhetetlen folyamat, amely a szőrsejt fontos tulajdonsága. Ennek köszönhető, hogy a szőrnyaláb megőrzi a hangingerekre való nagyfokú érzékenységet. Ez azt jelenti, hogy egy hosszantartó stimulusra adott válasz – a mechanoelektromos transzdukció során keletkezett jel áramlása – csökken, de eközben már egy újabb ingerre képes reagálni (Gillespie és Cyr, 2004). Az érzékenység fenntartása az adaptáció során történő mechanikai átrendeződés következménye. Serkentő stimulus hatására kinyílnak a MET csatornák, majd a tip link felső kapcsolódási pontja „lecsúszik” a sztereociliumon, így csökkenti a benne kialakult magas tenziót és a nyaláb további serkentő irányú elhajlását teszi lehetővé. A lecsökkent tenzió zárja a nyitott csatornát és elősegíti a tip link kapcsolódási pontjának a kiindulási állapotba kerülését (4. ábra).

A tip link kapcsolódási pontjának elmozdulásáért a miozin-molekulákat tartalmazó adaptációs motor felelős (4. ábra).



4. ábra: Az A kép az adaptációs modellt ábrázolja. Bal felső ábrán látható a nyugalmi állapot, alacsony tenzió. A jobb felső ábra szemlélteti a serkentő stimulus hatására növekvő tenziójú tip linket, amely hatására kinyílik a transzdukciós csatorna („transduction channel”, sárga). Csúszó adaptáció hatására a tip link tenziója csökken, a csatorna zárul (jobb alsó ábra). A nyaláb nyugalmi állapotba kerül („return to rest”) (bal alsó ábra), majd mászó adaptációval („climbing adaptation”) az adaptációs motor a kiindulási helyére jut. A B ábrán az adaptációs komplex látható. Az adaptációs motorok („Adaptation motor myosins”, kék) egymással és a transzdukciós csatornával („transduction channel”, sárga) is összekapcsoltak. A transzdukciós csatornákhöz egy hipotetikus kapcsoló fehérjével („coupling protein”, zöld) rögzítettek. (Gillespie és Cyr, 2004)

Az alapján, hogy milyen gyorsan csökken a transzdukciós jel terjedése, gyors és lassú adaptációt írtak le. A gyors adaptáció során a jel néhány milliszekundumon belül elterjed. A rendkívül gyors áramlás annak köszönhető, hogy a nyitott MET csatornákon át belépő Ca^{2+} -ion a csatornák záródását okozza, vagyis a Ca^{2+} negatív visszacsatolással szabályozza a csatornák állapotát (Gillespie és Cyr, 2004; Gillespie, 2004). Ez az adaptáció-típus felel a szőrsejt érzékenységéért.

A lassú adaptációs folyamat során a transzdukciós jel terjedése 20 milliszekundumig tart, valamint a Ca^{2+} -ion mellett az adaptációs motor is felel a csatornák állapotáért. A Ca^{2+} -ion, hasonlóan a gyors adaptációhoz, itt is negatív visszacsatolással szabályoz. Magas tenzió esetén a Ca^{2+} beáramlik a nyitott csatornán át, aminek hatására a motor „lecsúszik” az aktin-filamentumon. Így csökken a tip link tenziója és a csatorna zárul. Alacsony tenzió esetén a Ca^{2+} belépése gátolt, a motor a tip link tenziójának szabályozásával koordinálja a transzdukciós csatornák nyitottsági állapotát (Gillespie és Cyr, 2004).

Az auditórikus és vesztibuláris sejtek egyaránt képesek mindkét típusú adaptív válaszra, de míg előbbieknél a lassú adaptáció, addig utóbbiaknál a gyors adaptáció gyakoribb.

4. A hallásban fontos szerepet betöltő motorfehérjék

A körülbelül 40 miozin izozimból legalább 7 nélkülözhetetlen a halló- és egyensúlyérző rendszer működéséhez: a miozin Ic, a nem-izom miozin IIa, a miozin IIIa, a miozin V, a miozin VI, a miozin VIIa, és a miozin XV (Gillespie és Cyr, 2004; Hasson és mtsai, 1997a; Wu és mtsai, 2000).

A miozin-molekulák funkcióira általában úgy derül fény, hogy mutációjukat idézik elő, ezzel megakadályozzák a működésüket. Az említett miozin izoformákra egyaránt jellemző, hogy mutációjuk esetében a halló- és egyensúlyérző rendszer működésében hiba lép fel, mely halláskárosodás és egyensúlyi zavarok formájában nyilvánul meg. Azonban a különféle izoformák – eltérő elhelyezkedésükből és funkciójukból kifolyólag – másképpen idézik elő a rendellenességet.

4.1. Miozin I

A miozin I filamentumot nem alkotó, „egyfejtű” formában előforduló nagyon diverz csoport (Coluccio, 2007, 4. fejezet). A miozin I nehézlánc – más miozinokéhoz hasonlóan – három részre osztható: motor, nyak (előbbi kettő együttesét nevezik „fejnek”) és fark régiókra. A motordomén általában az N-terminálison található (kivéve az élesztőkben megtalálható izoforma esetén), és tartalmazza a nukleotid és az aktin kötőhelyét, valamint az erőként funkcionáló nyak kiindulópontját. A nehézlánc nyaki régiója IQ (izoleucin-glutamin) aminosavakkal kezdődő konszenzus szekvenciák találhatóak, ami alapján az izoformák elkülöníthetők egymástól. Ehhez a szakaszhoz képes kötődni több fehérje, mint például a kalmodulin, ami ezáltal képes szabályozni a miozin I működését. A C-terminálison három különböző domént tartalmazó farki régió található, amelyek megléte vagy hiánya alapján fark nélküli, hosszú, avagy rövid farkú miozinokat különítünk el. Ez a szakasz felel a foszfolipid és a membrán kötésért.

A protistáktól kezdve, élesztőkön át a gerincesekig minden szervezetben megtalálhatóak a miozin I család képviselői, bár struktúrájuk és funkciójuk nagyon különböző (Coluccio, 2007, 4. fejezet; Kim és Flavell, 2008). Fontos szerepet töltenek be fagocitózisban, endocitózisban, vezikulum-transzportban, mechanikai jelátalakításban, növekedésben, az aktin polimerizációjában, ezzel a sejtváz kialakításában.

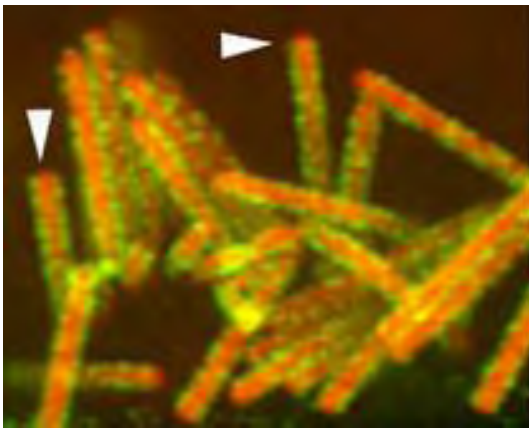
Gerincesekben hat rövid (miozin Ia, b, c, d, g, h) és két hosszú (miozin Ie, f) farkú miozin izoforma található. A miozin Ia mikrovillusok aktin-filamentumai mentén található és a mikrovillusok teteje felé történő vezikulum-transzportot biztosítja. Mindemellett a szőrsejtekben is megtalálható, mutációja halláskárosodáshoz vezet. A miozin Ib megtalálható a tüdőben, májban, szívben, agyban; feladata vezikulumok transzportja. A miozin Ic a sejtek kérgi részében található, a plazmamembránhoz közel eső aktinban gazdag területeken. Többek között a belfül szőrsejtjeinek szőrnyalábjában is megtalálható, ahol adaptációs motorként működik: a MET csatornák nyitása-zárása által szabályozza a tip link tenzióját. Mindezek mellett szerepe van az aktin polimerizációjában, az aktin-filamentumok mentén történő vezikulum-transzportban, valamint a sejtmagban található miozin Ic RNS-polimerázokkal áll interakcióban és a transzkripció során részt vesz a kromoszómák mozgásában is. A miozin Id különféle szövetekben megtalálható, de az agyban a legjelentősebb. Feladata membrán és transzferrin szállítása, valamint az axon mozgása lassú axonális transzport során. A miozin Ie és f szintén sokféle szövetben fejeződik ki, a legjellemzőbb azonban immun- és idegsejtekben. Ezen izoformáknak a neuronmigrációban és granulomok excitációjában van jelentős feladata.

Miozin Ic

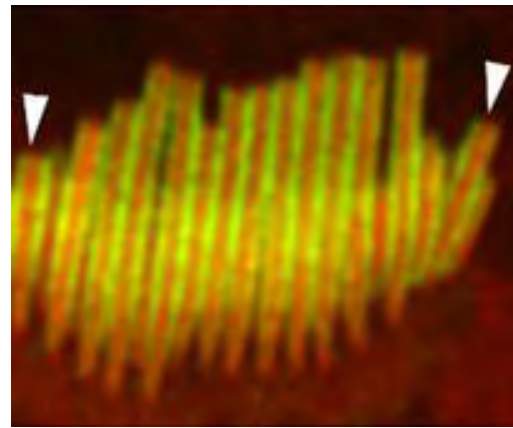
Az már korábban ismert volt, hogy a sztereociliumok aktin-filamentumokat tartalmaznak (Tilney és mtsai, 1980), valamint hogy az adaptációs motor a MET csatornák közelében található és erőgenerálásra, a szőrnyaláb mozgására képes. Mindezek arra utaltak, hogy a tip link kapcsolódási pontjának „vándorlásáért”, és ezzel az adaptáció lebonyolításáért egy motorfehérje felelős (Gillespie, 2004). Ennek alátámasztásához kinetikai (Gillespie és Hudspeth, 1993), immuncitokémiai (Hasson és mtsai, 1997a) és elektronmikroszkópos (García és mtsai, 1998) méréseket végeztek.

Gillespie és Hudspeth kísérletei során az ADP és ADP analógok (például ADP β S (adenozin 5'- β -tiodiszfoszfát)) gátolták az adaptációt. Mivel ezek az anyagok a miozinok működését gátolják (azáltal, hogy hatásukra a miozin az aktin-filamentumról nem tud leválni, a rigiditás pedig nő), arra következtettek, hogy az adaptációban miozinok játszanak közre (Gillespie és Hudspeth, 1993). Az ADP-analóg molekulák az adaptáció hatékonyságára és az adaptációs motor erő kifejtésére hatnak, vagyis az adaptációt blokkolják, de a transzdukció ép marad.

Egy kísérletben Y61G (a 61. aminosavat tirozin helyett glicinre cserélték) mutáns miozin Ic-t állítottak elő, ami illeszkedett az NMB-ADP (N⁶-(2-metilbutil)-ADP) ADP-analóghoz. Ez az ADP-analóg azért volt szükséges, mert a mutáns miozin Ic-t aktinhoz kötött állapotban tartja, azonban a vad típusú miozinra csak minimális hatást gyakorol, és annak ATPáz aktivitását nem befolyásolja jelentősen (Gillespie és mtsai, 1999). Az NMB-ADP tehát a mutánst specifikusan gátló nukleotidanalóg. A mutánsnak köszönhetően az adaptáció NMB-ADP-re érzékeny lett. Amennyiben a kísérlet során a nukleotidanalóg jelen volt, a mutáns miozin Ic pozitív elhajlásának mértéke az adaptáció során ötödére csökkent, míg a negatív irányú elhajlás majdnem minden sejtben teljesen megszűnt. Bár a kísérletben jelen voltak vad típusú miozinok is, hiszen azok is expresszázódtak (és az adaptációt feltehetőleg normál módon végezték NMB-ADP jelenlétében is), de néhány mutáns molekula is elegendő volt a motorkomplex megakasztásához. Ezt az eredményt csak a nukleotidanalóg jelenlétében kapták, ami arra utal, hogy a mutáns miozin is részt vesz az adaptációban. Bár ez a kísérlet bebizonyította, hogy a miozin Ic fontos az adaptációban, de azt nem, hogy kizárólag ez lenne az egyetlen miozin, ami ebben a folyamatban részt vesz. A miozin Ic kizárólagos szerepét két kísérlettel bizonyították. Az egyik kísérletben más szőrsejtben található miozin izoformán végezték el a fent említett mutációs mérést. A másik kísérletben az Y61G-miozin Ic működését tesztelték, a szőrsejtben lévő minden egyéb miozin gátlása mellett.



5. ábra: Immunofluoreszcens módszerrel kimutatott miozin Ic a szőrsejtben (Schneider és mtsai, 2006). A piros szín az aktint, a zöld szín a miozint jelöli. Látható, hogy a miozin Ic a sztereocilium teljes hosszában megtalálható, a csúcsát kivéve (nyilak).



6. ábra: GFP-vel jelölt miozin Ic kimutatása a sztereociliumokban (Schneider és mtsai, 2006). Zöld szín a miozin Ic-t, piros szín az aktin-filamentumot jelöli.

A miozin Ic a szőrsejtben a legnagyobb mennyiségben a sztereociliumokban (5., 6., 12. ábra), a tip linkek kapcsolódásánál, a mechanikai transzdukció helyén, kisebb koncentrációban a kutikuláris lemezben, a perikutikuláris nyakláncban és a sejtmagban található, amit immunfluoreszcens módszerrel határoztak meg (Hasson és mtsai, 1997a). A sztereociliumban elhelyezkedése alapján egyértelmű, hogy ez az izoforma felelős az adaptációért és szabályozza a tip link tenzióját a MET csatornák nyitása és zárása által (4. ábra).

Az adaptációs motor 100-200 miozin Ic molekulából áll. A transzdukciós apparátushoz való kapcsolódására két modellt állítottak fel. Az egyik szerint az adaptációs motor minden miozinja kapcsolódik egymáshoz és ebből a csoportból csak egy vagy néhány miozin kapcsolódik a transzdukciós csatornához. A második modell szerint a miozin Ic molekuláknak nem kell egymáshoz kapcsolódnuk, ehelyett miozin Ic kötő molekulák vannak, amik segítik az interakciót a transzdukciós csatornákkal (4. ábra). Fiziológiai kísérletek alapján kiderült, hogy az adaptációs motor összes miozin molekulája közül adott időpontban csak 5-10 van aktinhoz kötött állapotban (Gillespie és Cyr, 2004).

A miozin Ic ATPáz ciklusa során az erőgeneráló lépés 2 fázisra osztható: az első a foszfát-felszabaduláshoz (3 nm-es elmozdulás), a második az ADP-felszabaduláshoz kapcsolt (1 nm-es elmozdulás). Ez a kétfázisú erőgeneráló lépés arra utal, hogy a miozin Ic jelentős tenziót képes fenntartani ADP állapotban, további ATP-hidrolízis nélkül. Az összekapcsolt miozinok által fenntartott tenzió megakadályozza, hogy a többi miozin Ic befejezze az ATPáz ciklusát és leváljon az aktinról. Ez a tulajdonság teszi lehetővé a szükséges tenzió fenntartását az aktinról való leválás és ATP-fogyasztás nélkül.

Mint azt korábban említettem, az adaptációs folyamatok Ca^{2+} által szabályozottak. A Ca^{2+} a miozin Ic IQ-motívumához kapcsolódó kalmodulinon keresztül képes a miozinra hatni. Alacsony Ca^{2+} -koncentráció esetén nő az ATPáz ciklust végrehajtó motorok aránya, vagyis több miozin végez erőgeneráló lépést (Gillespie és Cyr, 2004). Amennyiben egy nyaláb serkentő irányban elmozdul, a tip link tenziója azonnal megemelkedik az adaptációs motornak köszönhetően. A „csúszó” adaptáció során a megnövekedett tenzió az adaptációs motort lefele húzza a sztereociliumon. A csúszás során az adaptációs motor nem végez ATPáz aktivitást. A csúszás befejeztével a tenzió csökkenése lehetővé teszi a motor eredeti helyére kerülését, ATPáz működéshez kapcsolatlan („mászó adaptáció”) (4. ábra).

4.2. Nem-izom miozin II

A nem-izom miozin (NM) II három izoformáját különítik el egymásból: a NM II-A-t, B-t és C-t, amelyek nehézláncát más-más gén kódolja: rendre a MYH9, MYH10 és MYH14 (Coluccio, 2007, 7. fejezet). Mindegyik nehézlánc homodimert alkot, melyekhez két pár könnyűlánc kapcsolódik. A nehézláncok két feji régióra és filamentális szerkezetű *coiled-coil* régióra oszthatóak. A fejben található nyaki régióhoz kapcsolódik a két pár miozin-specifikus könnyűlánc, míg a coiled-coil régió a C-terminálison található, mely két helikális lánc összecsavarodásából keletkezett. A három izoforma széles körben elterjedt, sok fajta szövetben megtalálható, és fontos funkciókban vesznek részt, mint például a sejt-sejt adhézióban (például szoros sejtkapcsolat kialakításában), a sejtmigrációban (vándorlásban) és a citokinézisben (osztódáskor a két utódsejt kialakításában).

Mindezek mellett az NM II-A és C izoforma a hallásban is szerepet játszik. Mindkét izoforma megtalálható a Corti-féle szerv szöveteiben, a külső és belső szőrsejtekben (kutikuláris lemezben nagyobb mennyiségben) és sztereociliumaikban. A nagy különbség, hogy míg a NM II-A a Reissner-membránban és a spirális szalagban is kifejeződik, addig az NM II-C nem.

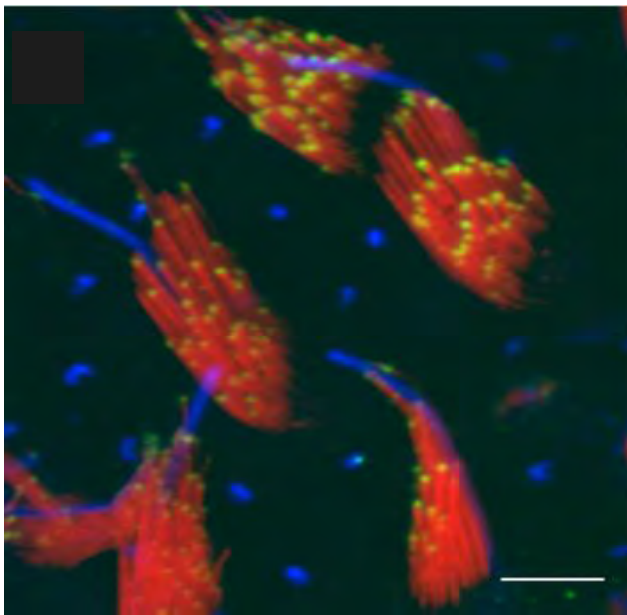
A MYH9 (vagyis az NM II-A) R705H mutánsa – amelynél a 705. aminosav arginin helyett hisztidinre cserélődött – a motordomén ATPáz aktivitásának rendellenes működését idézte elő, amely halláskárosodást okozott (Lalwani és mtsai, 2000). A mutáció a Corti-féle szerv folyadékáramlásában okozott gondot, ami arra utal, hogy a szövetben lévő motorfehérjék a csiga kamráinak és járatainak struktúráját biztosítják. Sajnos azonban a NM II-A szőrsejtekben betöltött pontos feladata nem ismert; itt a motor a sztereociliumok struktúrájának fenntartásáért felelhet (Mhatre és mtsai, 2006).

A NM II-C mutációja autoszómális domináns halláskárosodáshoz vezet (Donaudy és mtsai, 2004). Ezt négy fajta mutáció létrehozásával mutatták ki. Egy nonszensz mutációt és három misszensz mutációt hoztak létre. Mind a négy mutáció ugyanazt a hatást váltotta ki. (Nonszensz mutációnak nevezik, mikor a mutáció során az eredeti aminosav helyett stop kodon keletkezik, aminek következtében a fehérje rövidebb lesz és ezáltal képtelen ellátni funkcióját. Misszensz mutáció esetén az eredeti aminosav helyére egy új aminosav épül be. Ebben az esetben, bár a mutáns fehérje hossza nem változik, azonban a feladatát nem képes teljeskörűen ellátni.)

4.3. Miozin III

A miozin III csoport a többi családhoz hasonlóan 3 régióra osztható: motor doménra, IQ-motívumokat tartalmazó nyaki és variábilis farki régióra. Más miozinoktól eltérően azonban a miozin III N-terminálisán kináz domén is található, valamint a fehérje C-terminálisa is tartalmaz aktinkötő régiót (Coluccio, 2007, 8. fejezet). Ezek a régiók nagyon konzervatívak, a különböző fajokban nagyon hasonló a felépítésük és funkciójuk.

A miozin III családot IQ-motívumaik helye és száma alapján csoportosították. Gerinctelenekben a nyaki régió két IQ-motívumot tartalmaz. Gerincesekben két izoformát különböztetünk meg: egy hosszabbat (miozin IIIA) és egy rövidebbet (miozin IIIB).



7. ábra: Miozin IIIA elhelyezkedése a szőrnyaláiban GFP-hez kapcsolt miozin IIIA fehérjével kimutatva (Schneider és mtsai, 2006).

A miozin IIIA zöld színnel látható, az aktin filamentumok piros színűek, a kinocilium pedig kék színű. Az ábrán jól látható a szőrnyaláb lépcsősor szerű felépítése. A jobb alsó sarokban látható fehér vonal 5 μm -t jelöl.

A miozin IIIA az egyetlen olyan izoforma, amelyben az IQ-motívum a farki doménban található. Kimutatták halak agyában, bélrendszerében, emlősök veséjében, hasnyálmirigyében és heréjében, de a legnagyobb mennyiségben érzékszervekben fejeződik ki, mint például a belsőfül szőrsejtjeinek sztereo-ciliumaiban vagy a fotoreceptor sejtekben. Nagy aktinaffinitása segítségével részt vesz különféle molekulák (például szerkezeti elemek, kalmodulin, jelmolekulák) szállításában, lehorgonyzásában, ezáltal a szignáltranszdukcióban, valamint az aktin strukturális szerveződésében.

A miozin IIIA izoforma a hallásban is nélkülözhetetlen szerepet játszik. A motorfehérje a sztereociliumok teteje közelében található, amit Schneider és mtsai mutattak ki immunológiai jelöléssel és zöld fluoreszcens fehérjéhez kapcsolt miozin IIIA-val (7., 12. ábra) (Schneider és mtsai, 2006).

A miozin IIIA három különböző funkcióvesztéses mutációja halláskárosodást okoz. Ezek közül kettőben a motordomén sérül, a harmadik pedig a fehérje kifejeződését gátolja (Redowicz, 2002). Ez a nullmutáns emberben recesszív, autoszómás, nem-szindrómás

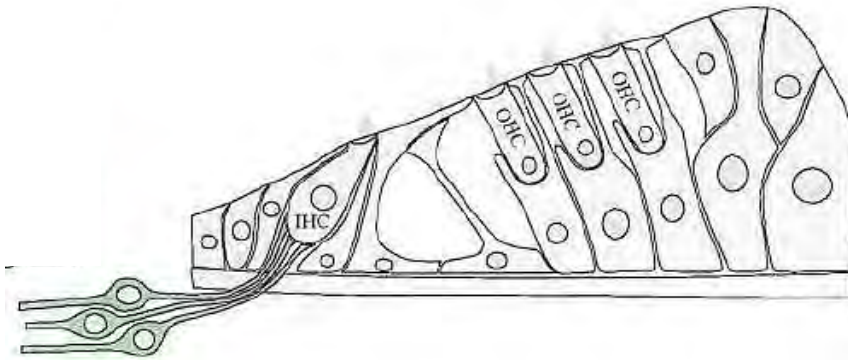
siketséget okoz, amelyet Walsh és mtsai egy izraeli családon vizsgáltak meg (Walsh és mtsai, 2002). A különös az volt, hogy annak ellenére, hogy a miozin IIIA fotoreceptor sejtekben és szőrsejtekben egyaránt megtalálható, a betegek látása és vesztibuláris funkciója mégis kifogástalan volt, csak a hallásukkal volt probléma. Mindez annak tudható be, hogy a fotoreceptor sejtekben és a vesztibuláris szőrsejtekben a miozin IIIB izoforma kompenzálta a miozin IIIA hiányát, míg a hallásért felelős szőrsejtekben nem.

Mint már említettem, a miozin IIIA-nak szerepe van a szabályozó anyagok szállításában és/vagy lehorgonyzásában, esetleg szerkezeti elemek vagy szignáltranszdukcióhoz szükséges anyagok szállításában. Szállítási feladata döntő fontosságú, hiszen hiányában például nem jöhet létre a mechanoelektromos transzdukció, vagy akár megváltozik a sztereociliumok felépítése. Schneider és mtsai kísérletei alapján kiderült, hogy a sztereociliumok struktúrájának fenntartásáért és az aktin polimerizációjáért a kináz régió felel. Kizárólag a kináz nélküli miozin IIIA mutáns (amely sztereociliumon belüli elhelyezkedése azonos a vad típusú fehérjéével) hatására megbomlott a szőrnyaláb lépcsősorszerű struktúrája, a sztereociliumok hosszabbakká, merevebbekké és kidomborodóvá váltak az aktin-filamentumok elrendeződésének megváltozása miatt (Schneider és mtsai 2006).

4.4. Miozin V

A miozin V kétféjű, dimer, filamentumot nem képező szállítómolekula (Coluccio, 2007, 9. fejezet). A miozin V nehézlánc N-terminálison lévő motordoménra, 6 IQ-motívumot tartalmazó nyaki vagy emelőkar régióra és egy *coiled-coil*-t alkotó, két globuláris farki doménban végződő farki régióra osztható. A nyaki régió IQ-motívumaihoz hat (kalmodulin vagy kalmodulin családhoz tartozó) könnyűlánc kapcsolódik. A globuláris farki domén teszi lehetővé a szállítandó „áru” (kargó) megkötését.

A miozin V az egyik legjobban ismert miozin család, köszönhetően nagy aktin affinitásának és nagy processzivitásának, amelyek lehetővé tették mozgási mechanizmusának feltérképezését. Sokféle anyagot, molekulát képes szállítani: például melanoszómát (pigmentsejt), endoplazmatikus retikulumot, vezikulumokat, vakuólumokat. Emlősökben három különböző gén kódolja a miozin Va, b, c izoformákat.



8. ábra: A miozin V külső („OHC”) és belső („IHC”) szőrsejtekben nem található, csak a belső szőrsejtekhez kapcsolódó afferens idegrostokban (Hasson és mtsai, 1997a). Az ábra tengerimalac Corti-féle szervének vázlata.

A miozin Va az agyszövetben és az idegrostokban fejeződik ki nagy koncentrációban (Hasson és mtsai, 1997a). Bár szőrsejtekben nem expresszálódik, de a körülötte lévő régióban és a szőrsejthez kapcsolódó szinapszisokban és ganglionokban megtalálható (8. ábra). Neuronokban a vezikuláris transzport (neurális transzport) a feladata, amely elengedhetetlen a halláshoz, hiszen csak akkor tudatosul a hang, mikor eléri az agyi központot.

4.5. Miozin VI

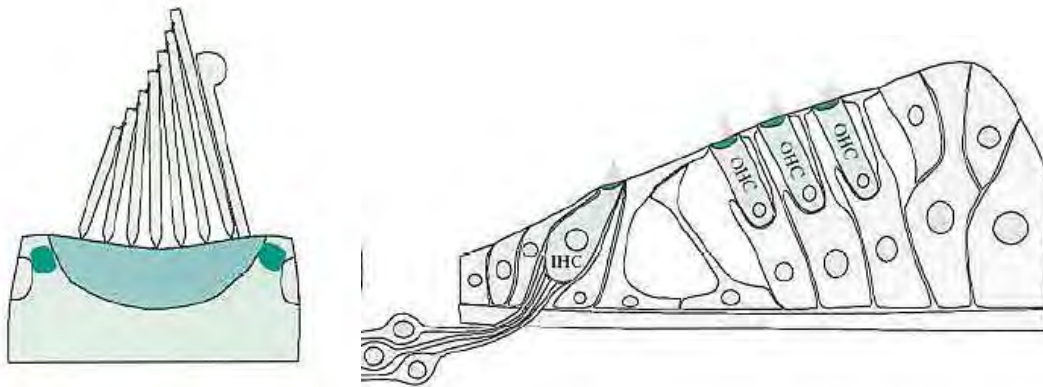
Ellentétben a többi miozin családdal, a miozin VI az aktinfilamentum negatív vége felé halad, vagyis a plazmamembrántól távolodva, a sejt belseje felé. Az eltérő irányú mozgáshoz nem társul jelentősen eltérő szerkezet (Coluccio, 2007, 10. fejezet). Az N-terminálison lévő motordomén, a rövid emelőkar és a farki régió hasonló az eddig bemutatott miozin családokéhoz. Jelentős különbség csupán az ATP-kötő zsebnél, valamint a motor és az emelőkar közé ékelődött peptidszakasz esetében található. Míg az előbbi inszerció az ATP-vel való kölcsönhatás finomhangolását végzi, utóbbi peptidszakasz – amely egy újszerű kalmodulinkötő motívum – az ellentétes irányú haladást biztosítja. Jelenleg is vita tárgya, hogy a miozin VI a sejtben monomer, vagy processzív dimer formájában fordul elő. Kargó vagy aktin kötődése feltehetőleg stabilizálja a dimer szerkezetet.

A miozin VI különféle szervezetekben szövetspecifikusan fejeződik ki. *Drosophilában* például egy génről átíródó 3 splice-formája expresszálódik. Emlősökben négy splice-formája van, amelyek közül emberben csak kettő fejeződik ki.

A miozin VI polarizált apikális felszíni mikrovillusokat tartalmazó epitélium-sejtekben (például bélrendszerben, vesében, szőrsejtekben, valamint tüdőben és herében) fejeződik ki.

Fontos feladata van endocitózisban, exocitózisban, a Golgi-készülék morfológiájának fenntartásában és sejt migrációban, amely funkciók szükségesek a sejt életben maradásához.

Mindezek mellett a miozin VI a hallásban is fontos szerepet játszik. A sztereociliumok a bennük lévő aktin-filamentumokkal a kutikuláris lemezhez rögzülnek (9., 12. ábra). A miozin VI szorosan a „gyökérke” (*rootlet*) aktin-filamentumhoz kötődik (Hasson és mtsai, 1997a; Hasson 1997b). A miozin VI két másik miozinnal együtt (miozin Ic, VII) részt vesz a szőrsejten belül a perikutikuláris nyakláncnak nevezett struktúra kialakításában. A perikutikuláris nyaklánc membrán-vezikulumokban és mikrotubulus-végekben gazdag: innen szállíthatnak különböző motorok vezikulumokat mikrotubulusok mentén a sejt belsejébe, vagy aktin-filamentumok mentén a kutikuláris membránon át a sztereociliumokba. A miozin VI izoformák a fentiek mellett szerepet játszanak az organellek szállításában és a sztereociliumok közti kapcsolat biztosításában.



9. ábra: Miozin VI elhelyezkedése a szőrsejtben (Hasson és mtsai, 1997a). Minél sötétebb zöld a jelölés, annál nagyobb a miozin VI koncentrációja. Bal oldali ábrán a kecskebéka vesztibuláris szőrsejtje látható, amelyben a kutikuláris lemezben és a perikutikuláris nyakláncban a legnagyobb a miozin VI koncentrációja. A jobb oldali ábrán tengerimalac szőrsejtjei láthatóak.

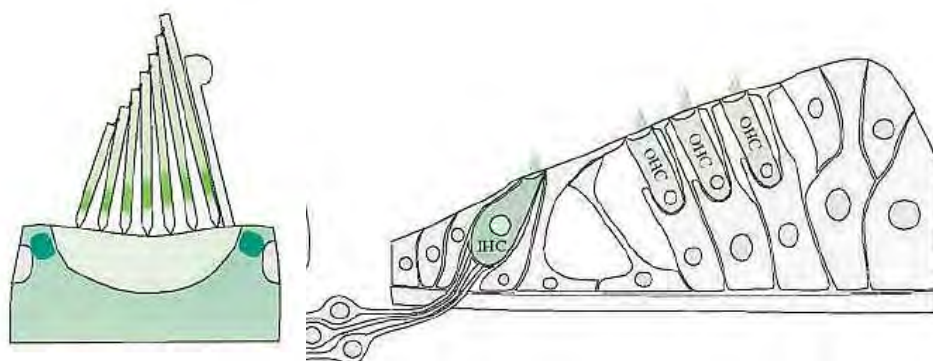
Miozin VI nullmutáns „*Snell's waltzer*” egerek a szédülés, hiperaktivitás és siketség tüneteit mutatják. Születésükkor ezen állatok szőrsejtjei normálisnak tűnnek, de három nap múltán a sztereociliumok rendezetlenné válnak, egyesülnek, az egerek így megsüketülnek (Self és mtsai, 1999). Ez arra utal, hogy a miozin VI a szőrnyaláb strukturáltságáért felel azáltal, hogy a felépítéshez szükséges anyagokat szállítja, és a sztereociliumok növekedését szabályozza.

A miozin VI misszensz mutációja nem-szindrómás domináns siketséget okoz, amit egy olasz családon vizsgáltak (Melchionda és mtsai, 2001). Ez a mutáció az ATP-kötőzsebben található egyik aminosavat érinti. Kinetikai mérésekből kiderült, hogy a mutáció az ADP disszociációjának sebességét csökkenti (Sato és mtsai, 2004). A mutáció fenotípusa arra utal, hogy – bár a miozin VI sokfajta sejtfolyamatban vesz részt – funkciójának kiesése mégsem letális; feltehetőleg azért, mert hatását más motorfehérjék képesek kompenzálni.

4.6. Miozin VII

A miozin VII az állatvilágban az egyik legerjedtebb miozin. Két különböző izoformáját különítjük el: a VIIa-t és b-t, amelyek eltérő kinetikai tulajdonságokkal rendelkeznek (Coluccio, 2007, 11. fejezet). A két izoforma felépítése hasonló: nehézláncuk motordoménra, 4 vagy 5 IQ-motívumot (gerincesekben 5) tartalmazó nyaki és hosszú farki régióra osztható.

A miozin VII a retina fotoreceptor sejtjeiben, szőrsejtokban, a herében és a vesében fejeződik ki. A belsőfül és a retina fejlődésért felel. A belsőfülben a miozin VIIa izoforma található, amely a szőrnyaláb differenciálódásához szükséges Usher fehérjék (például harmonin b, kadherin 23, protokadherin 15, Sans, vezatin) szállításáért felel. Kötőpartnerei alapján arra következtettek, hogy ezen izoforma feladata a szállítás mellett a tip link tenziójának fenntartása. A miozin VIIa a szőrsejtben az oldalsó plazmamembrán mentén, az idegek kapcsolódásánál (a szinaptikus régiónál), a kutikuláris lemezben és a szőrnyalábban található meg (10., 12. ábra) (Hasson és mtsai, 1997a). E miozin a szőrnyaláb kohézióját tartja fenn a sztereociliumok közti kapcsolókban betöltött szerepe révén.



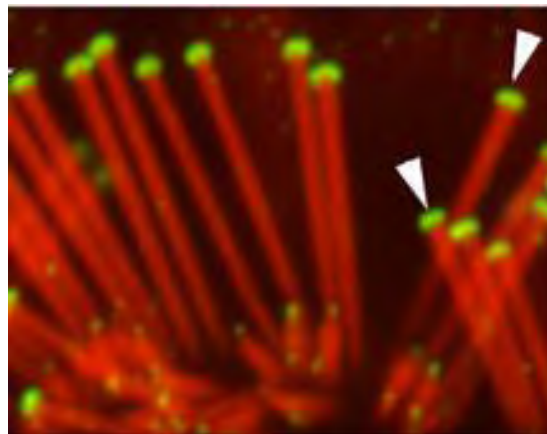
10. ábra: A miozin VIIa a szőrsejt sejttestjében és a sztereociliumokban egyaránt megtalálható (Hasson és mtsai, 1997a). A zöld szín jelzi a miozin VIIa jelenlétét, árnyalatai a koncentrációra (sötébb zöld nagyobb koncentrációra) utalnak. Bal oldali ábrán a kecskebéka vesztibuláris szőrsejt, a jobb oldali ábrán a tengerimalac szőrsejtjei láthatóak.

Több mint száz különböző miozin VIIa mutáns ismert. Ezek közül hét eredményezi az úgynevezett *Shaker 1* mutánst egerekben, mely kizárólag a halló- és egyensúlyérző rendszer károsodását okozza. Ezekben az egerekben a belsőfül szőrsejtjein rendezetlen a szőrnyaláb struktúrája (El-Amraoui és Petit, 2005). Ez azt mutatja, hogy a miozin VIIa a szőrnyaláb fejlődése során a kohézióért felel. Egy, a motordoménben található nonszensz mutáció hatására a miozin VIIa nem képes elérni a sztereociliumot, és az általa szállított Usher fehérjékkel együtt a sejttestben marad. A mutánsokban ráadásul a sztereociliumok közti „boka” kapcsoló struktúrák is hiányoznak, ami a motorfehérje tenzió-fenntartásban betöltött szerepére utal. A miozin VIIa funkcióvesztéses mutációja az Usher I szindrómát (USH1B) okozza, amelyben a szenzorineurális hallásvesztés vakságot eredményező retinitis pigmentosával társul (lásd később).

4.7. Miozin XV

A miozin XV-nek közel harminc splice-formája ismert (Coluccio, 2007, 16. fejezet). E formák az N-terminálison lévő motordomén előtti régióban különböznek, amely valószínűleg rugalmas kapcsolóelemként funkcionál. A splice-formák erőkar régiójukban két IQ-motívumot tartalmaznak, farki doménjük hasonló.

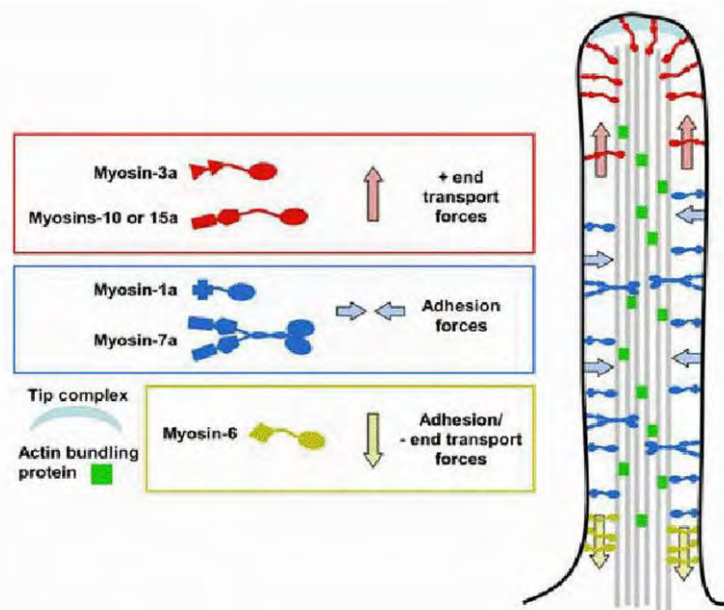
A miozin XVa a neuroendokrin rendszerben (például agyalapi mirigyben, mellékvesevelőben, mellékpajzsmirigyben, hasnyálmirigyben) és az érzékszervekben (elsősorban a halló- és egyensúlyérző rendszerben) fejeződik ki. E miozin rendkívül fontos szerepet tölt be a hallásban (Redowicz, 2002): huszonnégyféle recesszív mutációja okoz öröklött siketséget (Coluccio, 2007, 16. fejezet).



11. ábra: Miozin XVa elhelyezkedése a szőrnyalábban immunofluoreszcens jelöléssel kimutatva (Schneider és mtsai, 2006). Zöld színnel a miozin XVa, piros színnel az aktin-filamentum látható. A miozin XVa a sztereocilium tetején található, erre mutatnak a fehér nyilak is.

A miozin XVa a szőrsejtekből a sztereociliumok legtetején, az aktin pozitív végén található, amit GFP-hez fuzionált miozin XVa fehérjével mutattak ki (11., 12. ábra) (Belyantseva és mtsai, 2003). Ezen a részen magas az aktin polarizációs affinitása, tehát a sztereocilium teteje felé növekedik, rendeződik át az aktinfilamentum. Bár még nem ismert a miozin XVa pontos hatásmechanizmusa, de szabályozhatja vagy koordinálhatja az aktin-polimerizációt (Lin és mtsai, 2005). Ezt a feltételezést támasztja alá az a megfigyelés, hogy a miozin XVa motordomén misszensz mutációja (*Shaker 2* mutáns) vagy a miozin XVa utolsó hat exonjának deléciónja (*Shaker 2'* mutáns) abnormálisan rövid sztereociliumok, megbomlott nyálbelfelépítés és torzult lépcsősor-struktúra létrejöttét okozza, melynek tünete siketség és szédülés (Anderson és mtsai, 2000). Az abnormális szőrnyáláb-szerkezet nemcsak a rövid sztereociliumoknak köszönhető, hanem a sztereociliumok közti kapcsoló-struktúrák hiányának is. Utóbbi alapján feltételezhető volt, hogy a mechanotranszdukcióra is hatással van ez a motorfehérje. Azonban további miozin XVa mutánsal végzett kísérletek a fehérje hiányában is mutattak transzdukciót (Stepanyan és mtsai, 2006).

A miozin XVa-nak a sztereociliumok növekedésében és a szőrnyáláb lépcsősor-szerű struktúrájának kialakításában betöltött szerepe mellett különböző fehérjéket (például *whirlin*, állvány fehérjék) képes kötni és szállítani. Ezek a fehérjék szintén a sztereociliumok növekedéséért felelnek; együttműködésük elengedhetetlen egyedi funkcióik betöltéséhez és a hallás zavartalan működéséhez.



12. ábra: Motorfehérjék lokalizációja a sztereociliumban. (Nambiar és mtsai, 2010) A piros színnel ábrázolt miozinok (miozin IIIa és XVa) az aktin mentén a pozitív vég felé haladnak, szállító funkciót látnak el. A kék színnel ábrázolt miozinok (miozin I és VIIa) szintén az aktin-filamentum pozitív vége felé haladnak, azonban feladatuk a szőrnyáláb adhéziójának fenntartása. A sárga színnel jelölt miozin VI az aktin-filamentum negatív vége felé halad, az adhézió fenntartásában és a szállításban is egyaránt szerepet játszik.

5. A halláskárosodás

A hallás mechanizmusa két funkcionális részre osztható: mechanikai (szőrnyaláb elmozdulása) és elektrokémiai (ionáramlás hatására bekövetkező depolarizáció és neurotranszmitter kibocsátás) folyamatra (Eisen és Ryugo, 2007; Hirokawa és Takemura, 2003). Bármelyik folyamat hibás működése a hallás elvesztéséhez vezet. A mechanikai folyamatban bekövetkezett sérülés a „konduktív hallásvesztés”, amely esetben a vezetőképesség károsodik. Ezt a középfül sérülése (a dobhártya perforációja, a hallócsontocskák fixálódása vagy a kapcsolatuk megszakadása, esetleg a középfül fertőzése) okozza. Az elektrokémiai folyamat sérülése a „szensorineurális hallásvesztés”, amit a hallójárat bármely területének hibás működése okozhat, a szőrsejtektől kezdve a hallóidegen át a magasabb feldolgozó-központokig.

Megkülönböztetünk nem-szindrómás, kizárólag a hallórendszerre ható betegséget és szindrómás, a halláson kívül más szervrendszerben (például látás) is kárt okozó betegséget .

Fentebb már említettem néhány nem-szindrómás halláskárosodást okozó miozin mutációt, mint például egérben a *Snell's waltzer* (miozin VI mutációja), *Shaker 1* (miozin VIIa mutációja) és *Shaker 2* (miozin XVa mutációja), amelyekkel igazolták az egyes miozinok szerepét.

Mint említettem, a szindrómás halláskárosodás során más szerv is károsodik. Egyik példa, mikor a látás sérül, az Usher szindróma (USH). A beteg öröklött szensorineurális siketség mellett látássérülésben (*retinitis pigmentosa*) is szenved (El-Amraoui és Petit, 2005). A szindróma három típusát különböztetik meg a sérülés súlyossága alapján. Az USH1 a legsúlyosabb, veleszületett siketességgel, egyensúlyérzékelés hiányával és pubertás előtti látásvesztéssel jár. Az USH2 kevésbé súlyos, a halláskárosodás az egész élet során fennmarad, de egyensúlyi zavarokat nem okoz és látásvesztés is csak pubertás után alakul ki. Az USH3 esetén mindhárom tünet eltérő életkorban jelentkezik. A betegségek kialakulásáért több fehérje felelős, mint például a miozin VIIa, harmonin b, kadherin 23, protokadherin 15, Sans, vezatin, melyeket közösen USH1 fehérjéknek neveznek. Az USH1 fehérjék szoros együttműködésben dolgoznak, így bármelyik meghibásodása kihat a többi működésére is.

A miozin VIIa mutációja az USH1B fajtájú megbetegedést okozza. Mint azt már említettem, a miozin VIIa a szőrnyaláb kohéziójáért, az USH1 fehérjék szállításáért, a kapcsoló-struktúrák tenziójának fenntartásáért felel. Emellett a retinában, a fotoreceptor sejtekben is megtalálható, ahol feladata a pigmentek, a fagoszómák és az opszin molekulák szállítása. Ezeket a funkciókat más fehérje nem tudja pótolni, ezért fordulhat elő, hogy bizonyos miozin VIIa mutációk hatására mindkét érzékszerv károsodik.

6. Következtetés

A hallórendszer az egyik legfontosabb érzékszervünk; működésbeli zavara megnehezíti az ember mindennapjait. A kutatók a hallás mechanizmusát egyre mélyrehatóbban vizsgálják, egyre több hallásban szerepet játszó molekulát fedeznek fel és ismerik meg a hallásban betöltött szerepüket. Látható, hogy ebben milyen fontos szerepet töltenek be a motorfehérjék, és meghibásodásuk mekkora károkat okoz. Mivel a legtöbb motorfehérjénél csak azt tudjuk, hogy milyen feladatban játszanak szerepet, azt azonban ma még nem ismerjük, hogy ezeket a feladatokat hogyan is végzik, ezért szükséges a további kutatás, az ismeretek bővítése ezen a területen. Fontos, hogy minél részletesebben megértsük a működési elveket, így a későbbiekben az orvostudomány ezeket az információkat felhasználhatja gyógyítási célokra. A halláskárosodás ezáltal akár megelőzhető, vagy kezelhető lenne, ami jelentősen megkönnyítené a betegek életét.

7. Összefoglalás

A motorfehérjék sokfajta funkciót látnak el: szerepük van az izmok összehúzódásában, a biológiai információ továbbításában, a jelmolekulák, fehérjék, sejtorganellumok szállításában, kihorgonyzásban, az aktin-polimerizációban, az endocitózisban és az exocitózisban. NTP-hidrolízishez kapcsoltn konformáció-változáson mennek keresztül, amely lehetővé teszi valamely „sín” mentén történő mozgásukat. Működésük nélkülözhetetlen a sejtek életképességéhez.

A motorfehérjék együttes munkája létfontosságú a hallás élettani folyamatai során. A hallórendszer végzi a hang feldolgozását, elektrokémiai jellé történő átalakítását, valamint a keletkezett jel továbbítását a hangingert feldolgozó központokba. Az elektrokémiai jel átalakításáért a belső fülben lévő belső szőrsejtek felelnek, melyek motorfehérjékben gazdag struktúrák.

A miozin Ic a sztereociliumban, a tip link kapcsolódási pontjánál található, adaptációs motorként működik. A nem-izom miozin IIA és C a Corti-féle szerv szöveteiben vannak, melyek a szerv struktúrájáért felelnek. A miozin IIIa sztereociliumok teteje közelében található, jelmolekulák és fehérjék szállításában, valamint az aktin polimerizációjában vesz részt. A miozin V nem a szőrsejtben fordul elő, hanem az ehhez kapcsolódó afferens idegekben van jelen, ahol a kialakult ingerület továbbításában játszik szerepet. A miozin VI a perikutikuláris nyakláncban valamint a *rootlet* aktin-filamentumhoz kapcsoltn van jelen, sztereociliumok kutikuláris lemezhez történő rögzítéséhez szükséges. A miozin VIIa a kutikuláris lemezben és a szörnyaláiban található meg, fönntartja a szörnyaláb kohézióját és a sztereociliumok közti kapcsoló struktúrák tenzióját. A miozin XVa a sztereociliumok legtetején, az aktin pozitív végén található, fontos a sztereociliumok szerkezeti felépítésének kialakításában.

A belsőfülben lévő motorfehérjék szerepe meghatározó, mert hiányuk esetén sérül a mechanoelektromos transzdukció vagy a szőrsejt strukturális felépítése. E sérülések működésképtelenné teszik a mechanikai stimulusokra érzékeny szőrsejtet, amely siketséghez vezet.

8. Summary

Motor proteins perform a variety of functions in living organisms. They carry signal molecules, proteins, organelles, and coordinate actin polymerisation, endocytosis and exocytosis. Their conformation changes through the NTP hydrolysis cycle, which enables their movement along the track. Their functioning is essential for survival, development and adaptation. Among other functions, motor proteins are essential in the process of hearing.

Motor proteins work together in a concerted fashion, which is important in the hearing mechanism. The auditory system transforms sound to electrochemical signal and transmits this signal to the processing center. The inner hair cells, which are found in the inner ear respond to the stimuli and transform the electromechanical signal. The inner hair cells contain a variety of motor proteins.

Myosin Ic is located in the stereocilia, near the tip link's connecting point. This protein is necessary for adaptation. Non-muscle myosin IIA and C are in the tissue of organ of Corti and they ensure the structure of the organ of Corti. Myosin IIIa is found in the top of stereocilia. This motor protein carries signal molecules and proteins and facilitates actin polymerisation. Myosin V is not found in the inner hair cells but it localises in the connected afferent neurons, where transmits stimuli through hearing neurons. Myosin VI is in the pericuticular necklace and is connected to the rootlet actin filament. This protein anchors stereocilia to the cuticular plate. Myosin VIIa is present in the cuticular plate and hair bundle, where it maintains the cohesion of the hair bundle and the tension in the tip link. Myosin XVa is in the top of stereocilia and it is necessary for the development of the structure of stereocilia.

The motor proteins, which are present in the inner hair cells have decisive functions. Absence of these motor proteins can cause injury of mechano-electrical transduction or disruption of the structure of stereocilia. These damages cause functional disorders in hair cells, which leads to deafness.

Felhasznált irodalom

- Anderson DW, Probst FJ, Belyantseva IA, Fridell RA, Beyer L, Martin DM, Wu D, Kachar B, Friedman TB, Raphael Y, Camper SA. The motor and tail regions of myosin XV are critical for normal structure and function of auditory and vestibular hair cells. *Hum Mol Genet* 2000;9(12):1729-1738.
- Belyantseva IA, Boger ET, Friedman TB. Myosin XVa localizes to the tips of inner ear sensory cell stereocilia and is essential for staircase formation of the hair bundle. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100(24):13958-13963.
- Coluccio LM, editor. *Myosins: A superfamily of molecular motors*. Springer Verlag; 2007. 475 p., ISBN 978-1-4020-6516-3. 4. *fejezet*: Coluccio LM, Myosin I (95-124); 7. *fejezet*: Conti MA, Kawamoto S, Adelstein RS, Non-muscle myosin II (223-264); 8. *fejezet*: Dosé A, Lin-Joanes J, Burnside B, Class III myosins (265-288); 9. *fejezet*: Sellers JR, Weisman LS, Myosin V (289-324); 10. *fejezet*: Buss F, Kendrich-Jones J, Myosin VI: A multifunctional motor protein (325-352); 11. *fejezet*: El-Amraoui A, Bahloul A, Petit C, Myosin VII (353-374); 16. *fejezet*: Boger ET, Frolenkov GI, Friedman TB, Belyantseva IA, Myosin XVa (441-498)
- De La Cruz EM, Ostap EM. Relating biochemistry and function in the myosin superfamily. *Curr Opin Cell Biol* 2004;16(1):61-67.
- Donaudy F, Snoeckx R, Pfister M, Zenner HP, Blin N, Di Stazio M, Ferrara A, Lanzara C, Ficarella R, Declau F, Pusch CM, Nürnberg P, Melchionda S, Zelante L, Ballana E, Estivill X, Van Camp G, Gasparini P, Savoia A. Nonmuscle myosin heavy-chain gene MYH14 is expressed in cochlea and mutated in patients affected by autosomal dominant hearing impairment (DFNA4). *Am J Hum Genet* 2004;74(4):770-776.
- Eisen MD, Ryugo DK. Hearing molecules: contributions from genetic deafness. *Cell Mol Life Sci* 2007;64(5):566-580.
- El-Amraoui A, Petit C. Usher I syndrome: unravelling the mechanisms that underlie the cohesion of the growing hair bundle in inner ear sensory cells. *J Cell Sci* 2005;118(Pt 20):4593-4603.
- García JA, Yee AG, Gillespie PG, Corey DP. Localization of myosin-Ibeta near both ends of tip links in frog saccular hair cells. *J Neurosci* 1998;18(21):8637-8647.
- Gillespie PG, Gillespie SK, Mercer JA, Shah K, Shokat KM. Engineering of the myosin-ibeta nucleotide-binding pocket to create selective sensitivity to N(6)-modified ADP analogs. *J Biol Chem* 1999;274(44):31373-31381.
- Gillespie PG, Hudspeth AJ. Adenine nucleoside diphosphates block adaptation of mechano-electrical transduction in hair cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90(7):2710-2714.
- Gillespie PG. Myosin I and adaptation of mechanical transduction by the inner ear. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2004;359(1452):1945-1951.
- Gillespie PG, Cyr JL. Myosin-1c, the hair cell's adaptation motor. *Annu Rev Physiol* 2004;66:521-545.
- Hasson T, Gillespie PG, Garcia JA, MacDonald RB, Zhao Y, Yee AG, Mooseker MS, Corey DP. Unconventional myosins in inner-ear sensory epithelia. *J Cell Biol* 1997a;137(6):1287-1307.

- Hasson T. Unconventional myosins, the basis for deafness in mouse and man. *Am J Hum Genet* 1997b;61(4):801-805.
- Hirokawa N, Takemura R. Biochemical and molecular characterization of diseases linked to motor proteins. *Trends Biochem Sci* 2003;28(10):558-565.
- Kim SV, Flavell RA. Myosin I: from yeast to human. *Cell Mol Life Sci* 2008;65(14):2128-2137.
- Lalwani AK, Goldstein JA, Kelley MJ, Luxford W, Castelein CM, Mhatre AN. Human nonsyndromic hereditary deafness DFNA17 is due to a mutation in nonmuscle myosin MYH9. *Am J Hum Genet* 2000;67(5):1121-1128.
- Lin HW, Schneider ME, Kachar B. When size matters: the dynamic regulation of stereocilia lengths. *Curr Opin Cell Biol* 2005;17(1):55-61.
- Melchionda S, Ahituv N, Bisceglia L, Sobe T, Glaser F, Rabionet R, Arbones ML, Notarangelo A, Di Iorio E, Carella M, Zelante L, Estivill X, Avraham KB, Gasparini P. MYO6, the human homologue of the gene responsible for deafness in Snell's waltzer mice, is mutated in autosomal dominant nonsyndromic hearing loss. *Am J Hum Genet* 2001;69(3):635-640.
- Mhatre AN, Li Y, Atkin G, Maghnouj A, Lalwani AK. Expression of Myh9 in the mammalian cochlea: localization within the stereocilia. *J Neurosci Res* 2006;84(4):809-818.
- Nambiar R, McConnell RE, Tyska MJ. Myosin motor function: the ins and outs of actin-based membrane protrusions. *Cell Mol Life Sci* 2010;67(8):1239-1254.
- Redowicz MJ. Myosins and pathology: genetics and biology. *Acta Biochim Pol* 2002;49(4):789-804.
- Sato O, White HD, Inoue A, Belknap B, Ikebe R, Ikebe M. Human deafness mutation of myosin VI (C442Y) accelerates the ADP dissociation rate. *J Biol Chem* 2004;279(28):28844-28854.
- Schneider ME, Dosé AC, Salles FT, Chang W, Erickson FL, Burnside B, Kachar B. A new compartment at stereocilia tips defined by spatial and temporal patterns of myosin IIIa expression. *J Neurosci* 2006;26(40):10243-10252.
- Self T, Sobe T, Copeland NG, Jenkins NA, Avraham KB, Steel KP. Role of myosin VI in the differentiation of cochlear hair cells. *Dev Biol* 1999;214(2):331-341.
- Stepanyan R, Belyantseva IA, Griffith AJ, Friedman TB, Frolenkov GI. Auditory mechanotransduction in the absence of functional myosin-XVa. *J Physiol* 2006;576 (Pt 3):801-808.
- Tilney LG, Derosier DJ, Mulroy MJ. The organization of actin filaments in the stereocilia of cochlear hair cells. *J Cell Biol* 1980;86(1):244-259.
- Walsh T, Walsh V, Vreugde S, Hertzano R, Shahin H, Haika S, Lee MK, Kanaan M, King MC, Avraham KB. From flies' eyes to our ears: mutations in a human class III myosin cause progressive nonsyndromic hearing loss DFNB30. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99(11):7518-7523.
- Wu X, Jung G, Hammer JA. Functions of unconventional myosins. *Curr Opin Cell Biol* 2000;12(1):42-51.

Köszönetnyilvánítás

Szeretném megköszönni témavezetőmnek, Dr. Kovács Mihálynak, a szakdolgozatom elkészítésében nyújtott segítségét és útmutató tanácsait. Köszönöm családomnak és barátaimnak a támogatást.