

Proteínas motoras

Características comunes

- **Dominio motor (globular head):**
 - une e hidroliza ATP
 - interacciona con filamentos
- **Cola (Tail)**
 - interacciona con el "carga"

Miosina II muscular: Actina-F

1

Filamento grueso: interacción cola-cola ⇒ cientos de cabezas de miosina proyectadas hacia fuera del filamento

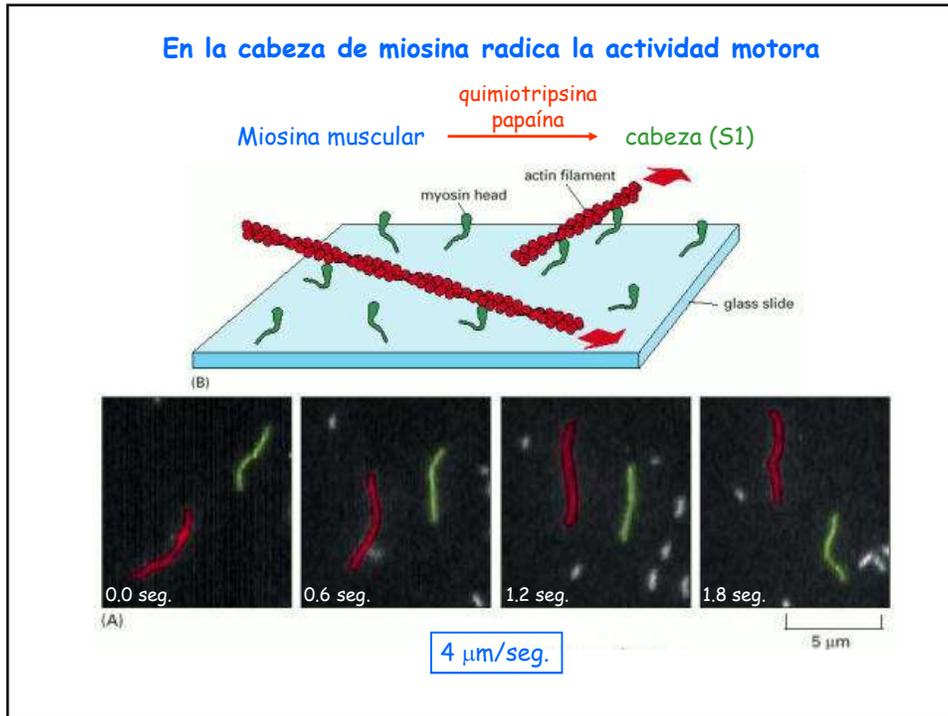
Filamento grueso aislado de músculo de sapo (micrografía electrónica, tinción negativa)

Cabeza de miosina: movimiento hacia el extremo (+) del filamento de actina

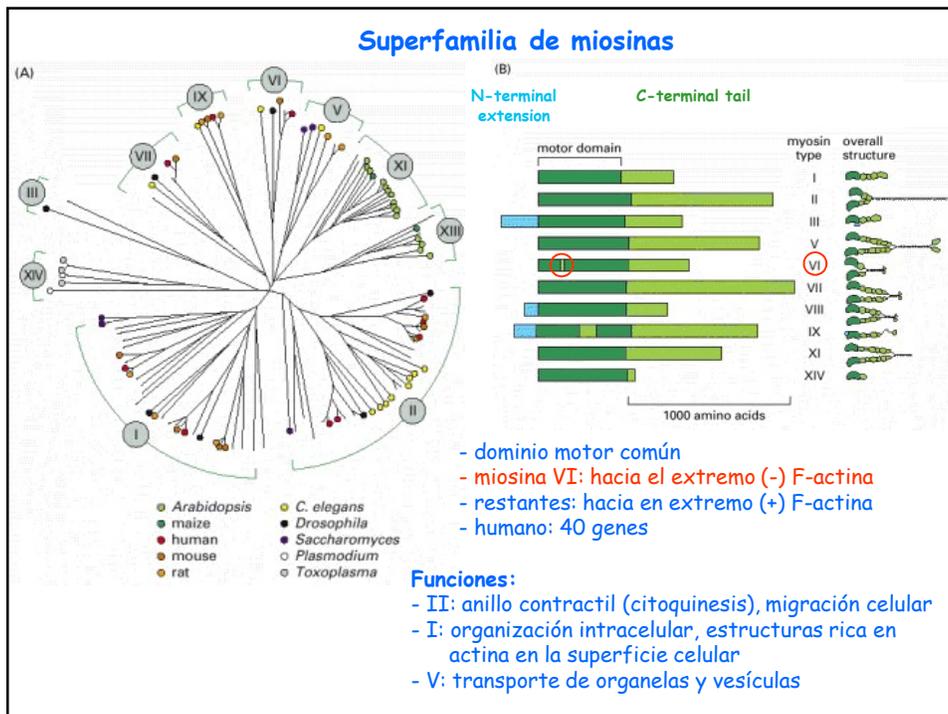
En músculo esquelético

- filamentos de actina, alineados en los filamentos finos, rodean a los filamentos gruesos
- deslizamiento impulsado por hidrólisis de ATP de los filamentos ⇒ **contracción**

2



3



4

Kinesina

- estructura similar que miosina II
- gran superfamilia con dominio motor común en el N-terminal
- humano. 40 kinesinas
- familia de proteínas relacionadas a kinesina (KRP)
- movimiento hacia el extremo (+) de Mts
- formación de huso mitótico, movimiento de cromosomas

KINESIN

KIFC2

KIF2

KIF1B

Kinesina

- dominio motor: N-terminal
- dímero: dominio medio: coiled-coil
- cola C-terminal: asociado a "carga"

KIFC2 (NCD, kar3)

- familia de kinesina C-terminal
- movimiento hacia (-) de Mts

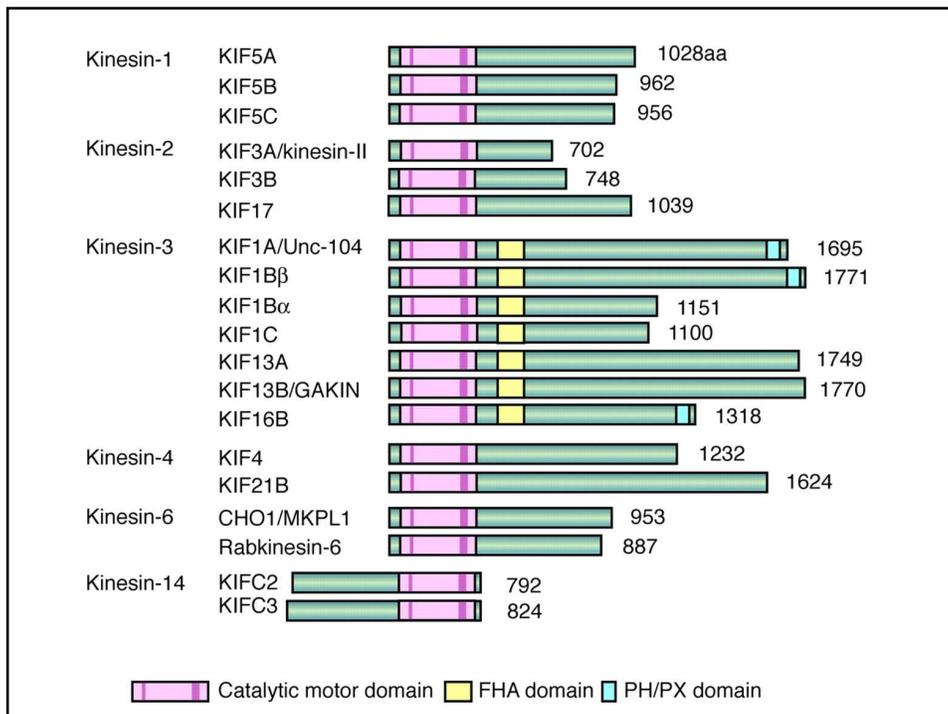
KIF2

- dominio motor en el medio
- miembro de una familia con actividad motora perdida
- se une a extremo de Mts, aumenta inestabilidad dinámica, ll' **catastrofina**

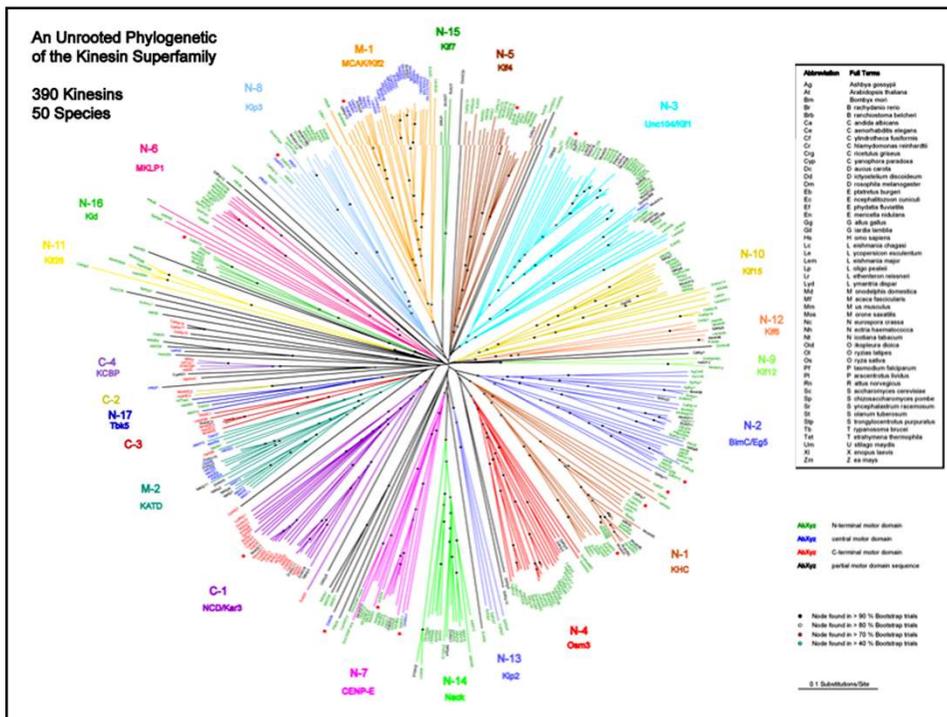
KIF1B

- monómero
- mueve organelas sobre Mts

7



8



9

Dineína

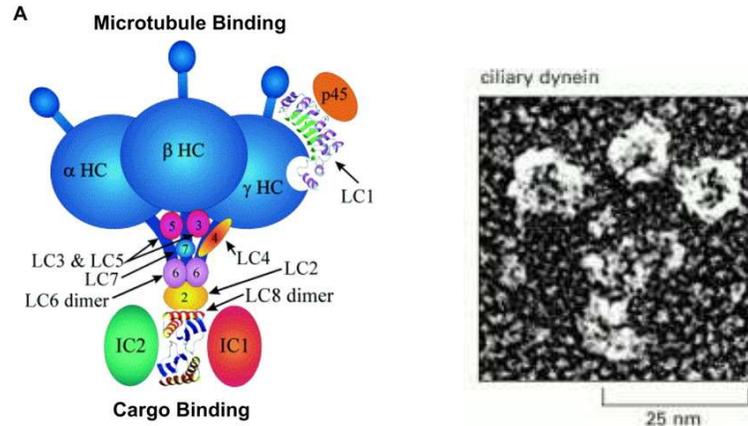
- cadenas pesadas: dos o tres (dominio motor incluido)
- cadenas livianas: número alto y variable
- movimiento hacia el (-) de Mts

cytoplasmic dynein

- dineína citoplasmática: tráfico vesicular y localización del A. Golgi

10

- dineína del axonema: movimiento de cilias y flagelos (14 $\mu\text{m}/\text{seg.}$)

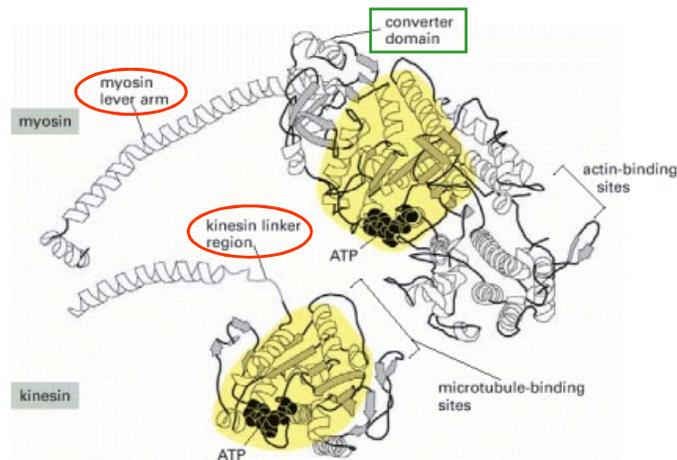


11

Estructura: miosina vs. kinesina

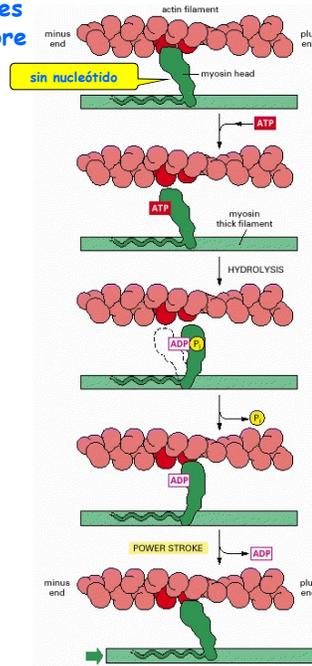
- dominio motor: 850 Aa vs. 350 Aa
- asociación a filamentos: filamentos de actina vs. Mts
- secuencias: no similares

estructura tridimensional de dominio motor: similitud



12

Ciclo de cambios estructurales de miosina para moverse sobre un filamento de actina



ATTACHED At the start of the cycle shown in this figure, a myosin head lacking a bound nucleotide is locked tightly onto an actin filament in a *rigor* configuration (so named because it is responsible for *rigor mortis*, the rigidity of death). In an actively contracting muscle, this state is very short-lived, being rapidly terminated by the binding of a molecule of ATP.

RELEASED A molecule of ATP binds to the large cleft on the "back" of the head (that is, on the side furthest from the actin filament) and immediately causes a slight change in the conformation of the domains that make up the actin-binding site. This reduces the affinity of the head for actin and allows it to move along the filament. (The space drawn here between the head and actin emphasizes this change, although in reality the head probably remains very close to the actin.)

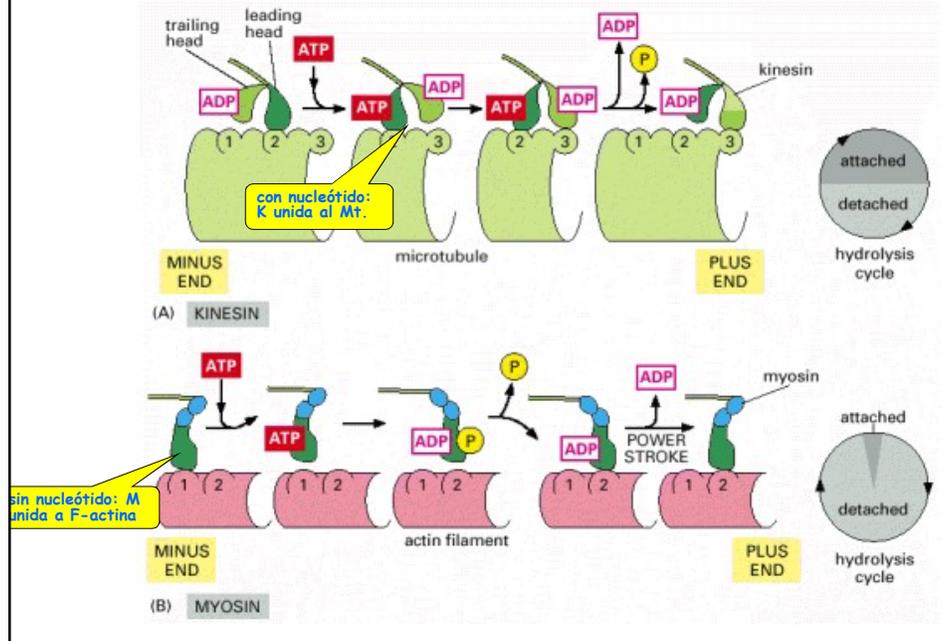
COCKED The cleft closes like a clam shell around the ATP molecule, triggering a large shape change that causes the head to be displaced along the filament by a distance of about 5 nm. Hydrolysis of ATP occurs, but the ADP and inorganic phosphate (P_i) produced remain tightly bound to the protein.

FORCE-GENERATING A weak binding of the myosin head to a new site on the actin filament causes release of the inorganic phosphate produced by ATP hydrolysis, concomitantly with the tight binding of the head to actin. This release triggers the power stroke—the force-generating change in shape during which the head regains its original conformation. In the course of the power stroke, the head loses its bound ADP, thereby returning to the start of a new cycle.

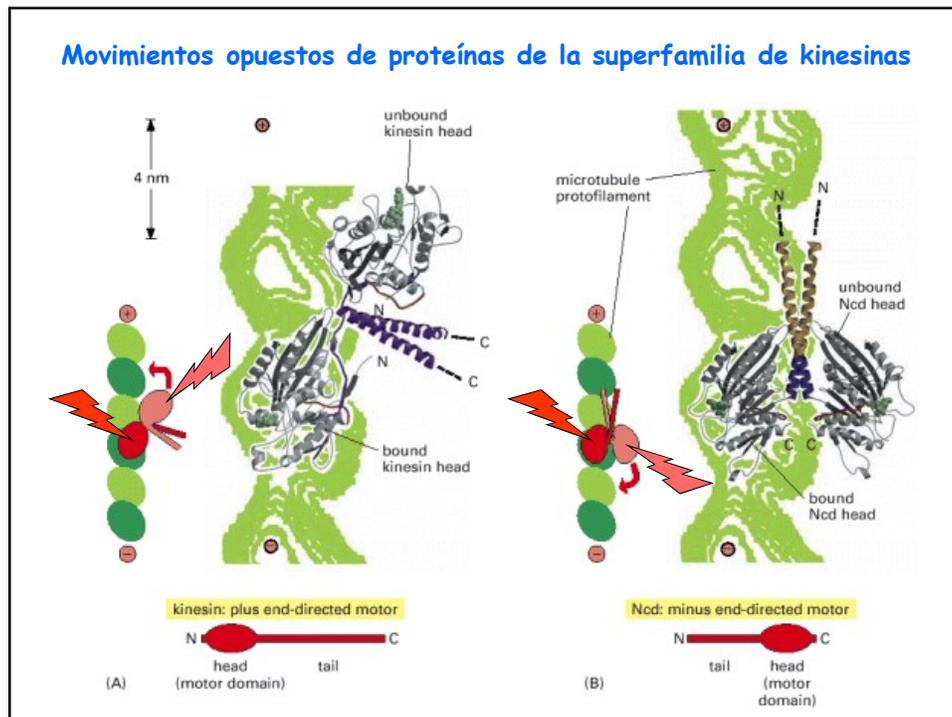
ATTACHED At the end of the cycle, the myosin head is again locked tightly to the actin filament in a rigor configuration. Note that the head has moved to a new position on the actin filament.

13

Comparación de los ciclos mecanoquímicos de kinesina y miosina II



14



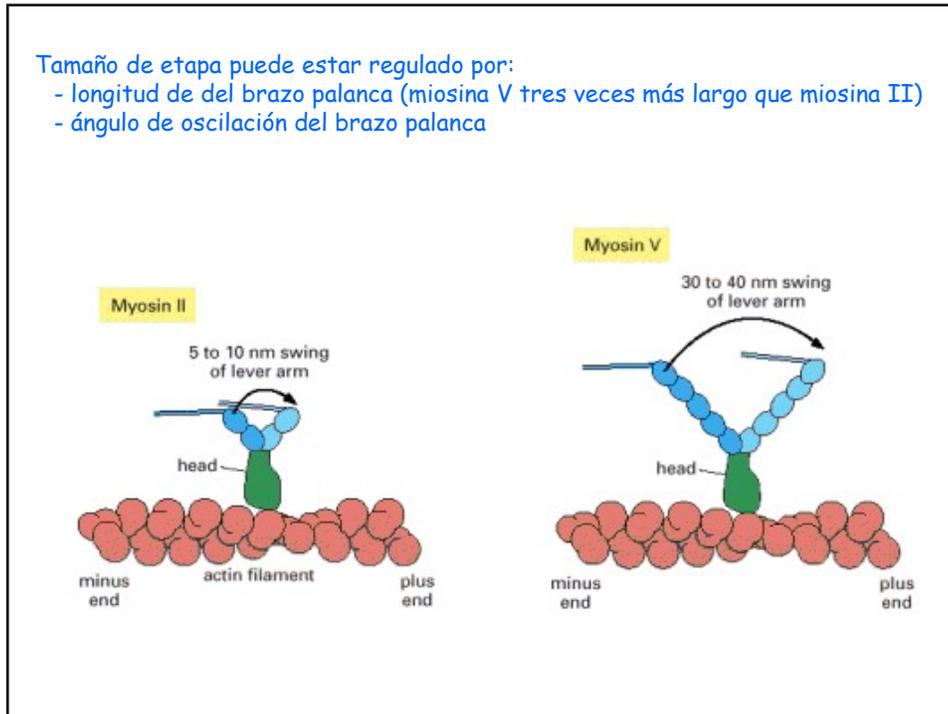
15

Diversidad de las propiedades de movimiento de las proteínas motoras

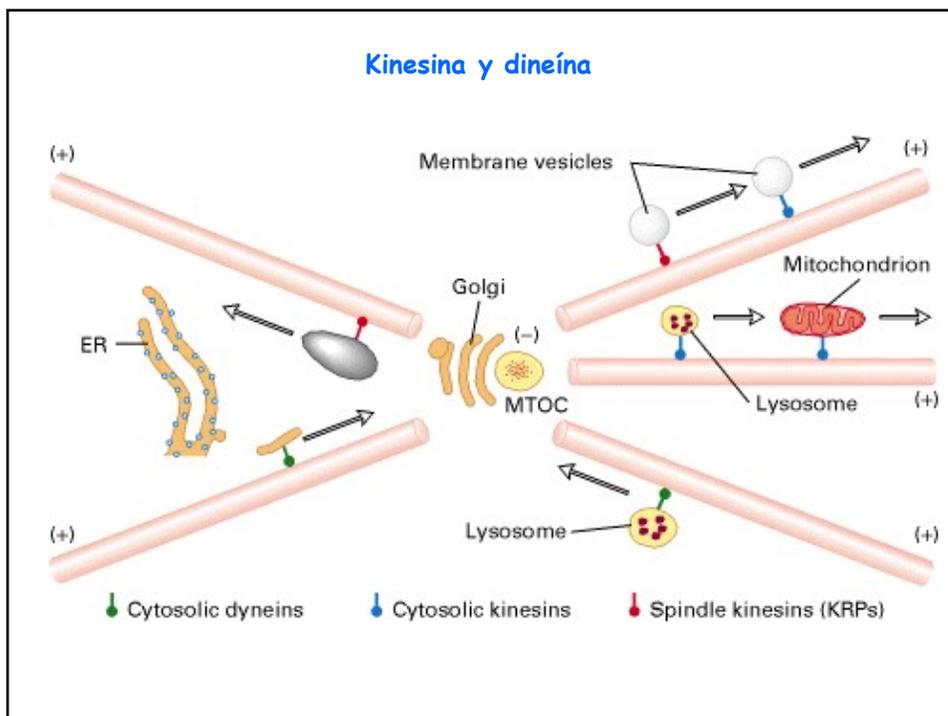
- Utilizan diferentes filamentos (Mts o F-actina)
- **Kinesina**: dímero viaja por cientos de ciclos de ATPase sin disociarse del Mt (axón)
- **Miosina II**: se mueve una o pocas etapas antes de despegarse de F-actina (músculo)
- Ciclos mecanoquímicos entre las dos cabezas motoras de **kinesina** están coordinados entre ellas: una cabeza no se separa hasta que la otra está lista para unirse
- Ciclos mecanoquímicos entre las cabezas de **miosina II** no están coordinados
- **Kinesina** gasta una fracción relativamente larga (50%) de su ciclo de ATPasa firmemente unida al Mt
- **Miosina** gasta una fracción corta (5%) de su ciclo de ATPasa firmemente unida a F-actina, sin embargo gana en velocidad de transporte
- **Miosina** 0.2 a 60 $\mu\text{m}/\text{seg.}$, **kinesina** 0.02 a 2 $\mu\text{m}/\text{seg}$
- Aumentar la velocidad: \uparrow actividad ATPasa o \downarrow tiempo del ciclo gastado en permanecer unido al filamento

16

Tamaño de etapa puede estar regulado por:
 - longitud de del brazo palanca (miosina V tres veces más largo que miosina II)
 - ángulo de oscilación del brazo palanca



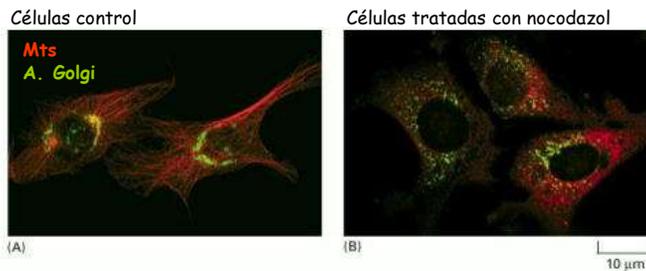
17



18

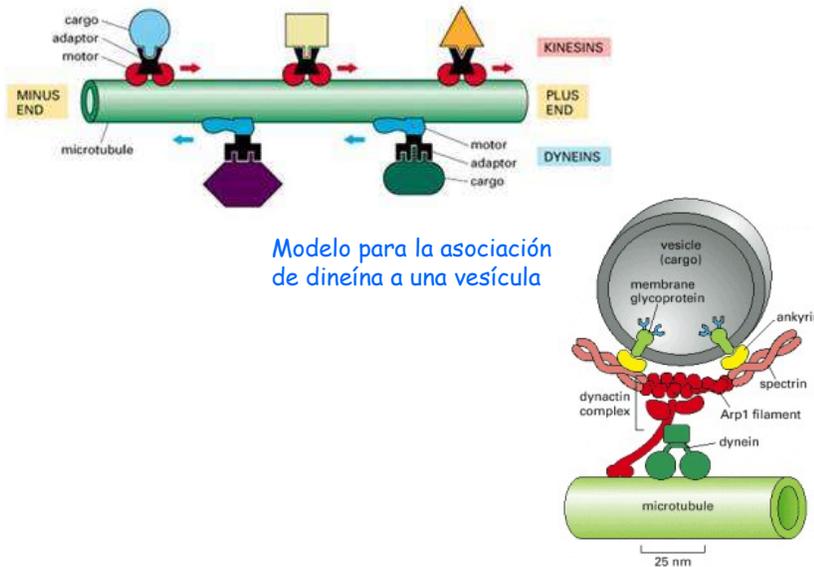
Transporte de organelas membranosas

- movimiento centrípetos: dineína citoplasmática hacia el extremo (-) de Mts
- movimiento centrífugos: kinesinas hacia el extremo (+) de Mts
- las diferentes colas y sus cadenas liviana asociadas definen el "carga"
- Transporte axonal: mitocondrias, vesículas secretoria precursoras desde el cuerpo de la neurona hacia el terminal nervioso.
- Organización del ER y del A. Golgi

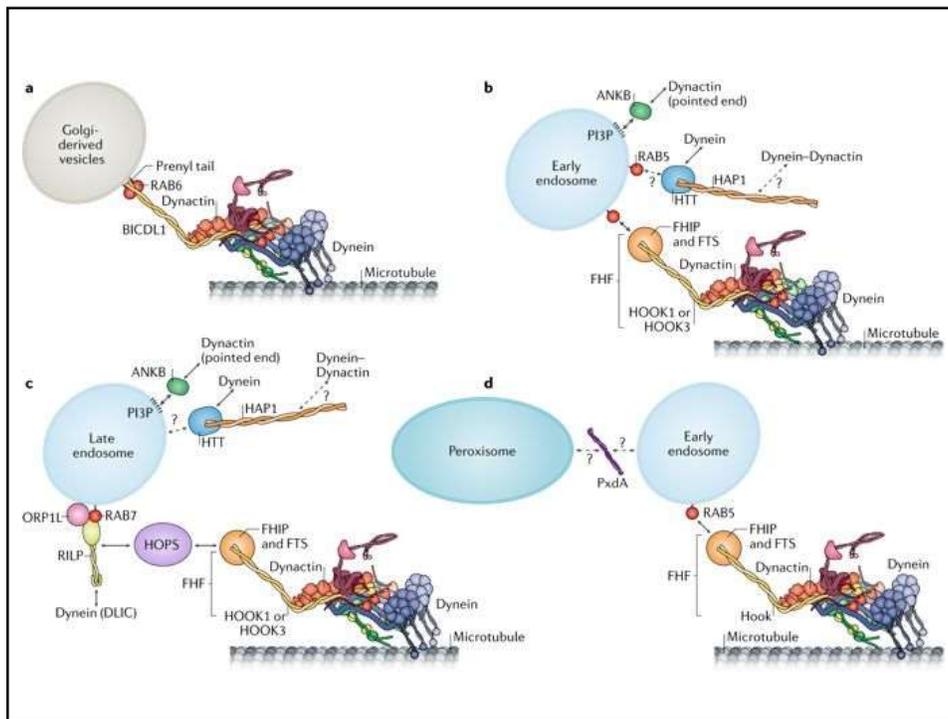


19

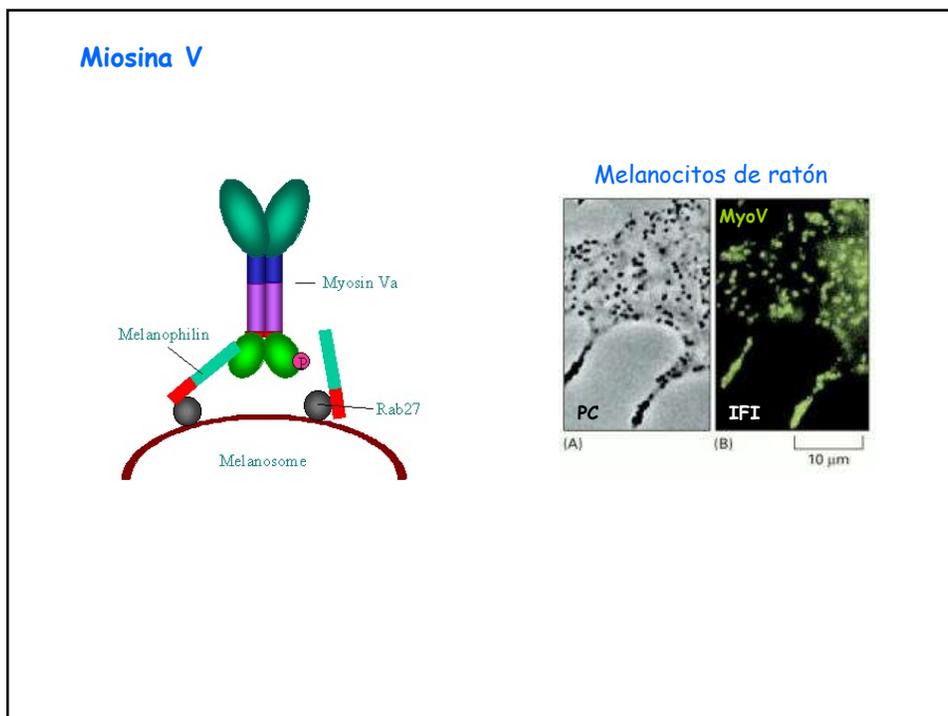
Las diferentes colas y sus cadenas liviana asociadas determinan el "carga"
 Un receptor de membrana presente en el cargo interactúa directa o indirectamente con las colas de la proteína motora adecuada



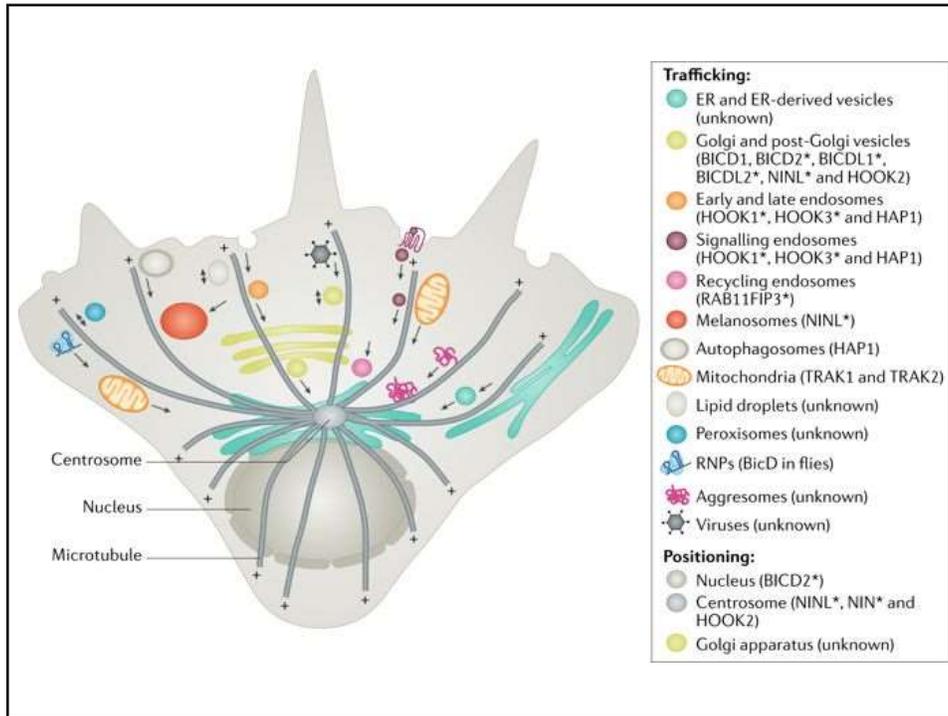
20



21



22



23

Regulación de la función de las proteínas motoras

Melanocitos de pez

- melanosomas: gránulos con pigmentos con proteínas motoras
- movimiento regulado por estímulos neuronales u hormonales
- kinesina: movimiento hacia la periferia celular sobre Mts ⇒ dispersión de gránulos
- dineína: movimiento hacia el centro celular sobre Mts ⇒ agregación de gránulos

- inactivación de cadena liviana de kinesina por fosforilación luego del estímulo hormonal ⇒ dineína transporta gránulos hacia el centro celular ⇒ cambio de color del pez

(A) DISPERSED

decrease cAMP

increase cAMP

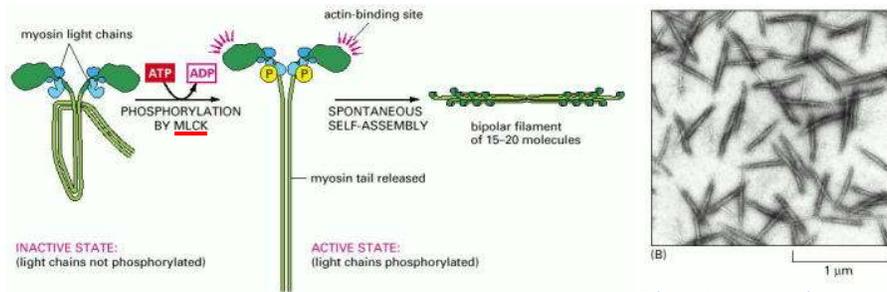
(A) AGGREGATED

(B)

24

Regulación de miosina II en células no musculares

Fosforilación de la una de las cadena liviana (subunidad regulatoria) de miosina por la kinasa de la cadena liviana de miosina, dependiente de Ca^{2+} (MLCK)



Estado curvado

Estado extendido

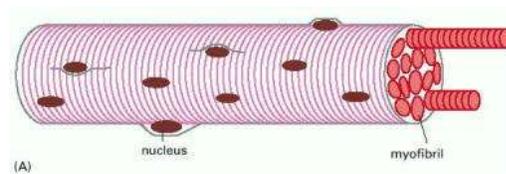
Filamentos cortos de miosina II preparados in vitro (micrografía electrónica, tinción negativa)

25

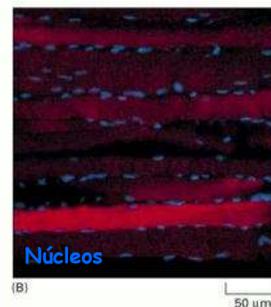
Contracción muscular: Miosina II y filamentos de actina

Célula muscular esquelética (fibra muscular)

- célula multinucleada
- núcleos se ubican por debajo de la membrana plasmática
- citoplasma ocupado por miofibrillas
- miofibrilla (1-2 mm diámetro): cadena repetida larga de unidades contráctiles llamadas sarcómeros (2.2 mm longitud) ⇒ aspecto estriado



Músculo de rata

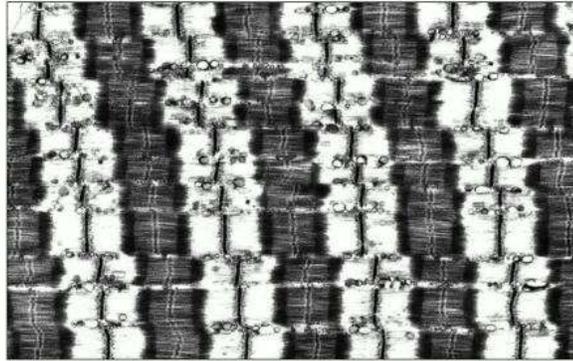


Microscopía de fluorescencia

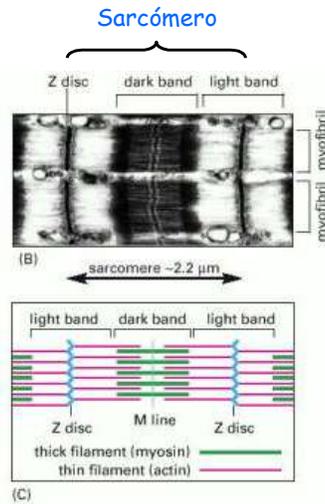
26

Miofibrillas de músculo esquelético

Célula muscular esquelética de conejo



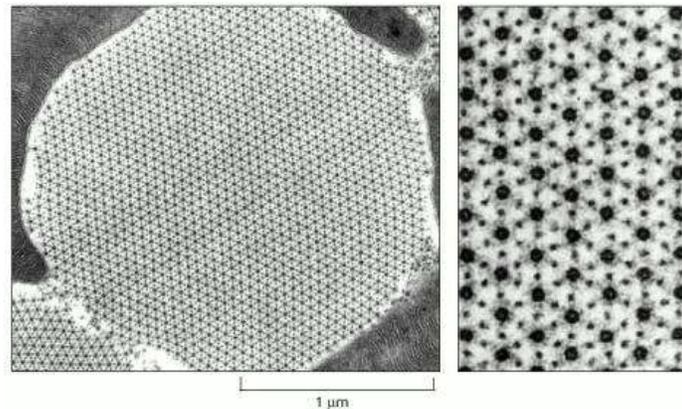
(A) Sección longitudinal de célula muscular (Microscopía electrónica)



- Banda oscura: banda A (anisotrópica)
- Banda clara: banda I (isotrópica)

27

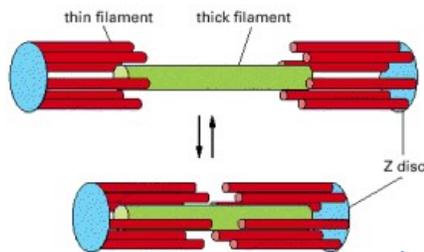
Filamentos de miosina: reordenamiento en reticulado hexagonal



Sección transversal de músculo volador de insecto (Microscopía electrónica)

28

Modelo de desplazamiento de filamentos de la contracción muscular

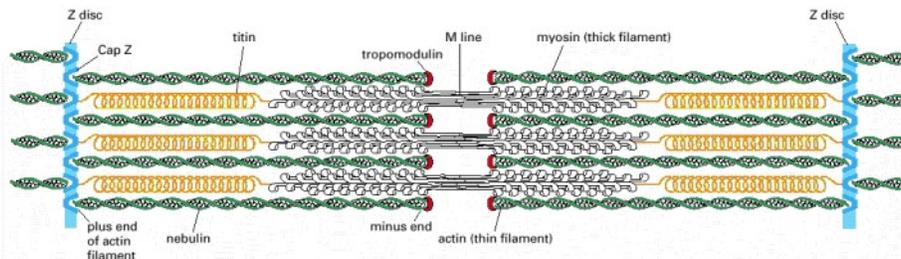


- Deslizamiento sin alteración de la longitud de ambos filamentos
- Filamento grueso camina hacia extremos (+) de dos conjuntos de filamentos finos de orientación opuesta,
- 300 cabezas de miosina/filamento grueso
- cada cabeza cicla 5 veces/seg. en una contracción rápida
- deslizamiento entre filamento grueso y fino: 15 mm/seg. \Rightarrow 10 % de acortamiento del sarcómero en menos de 1/50 seg.

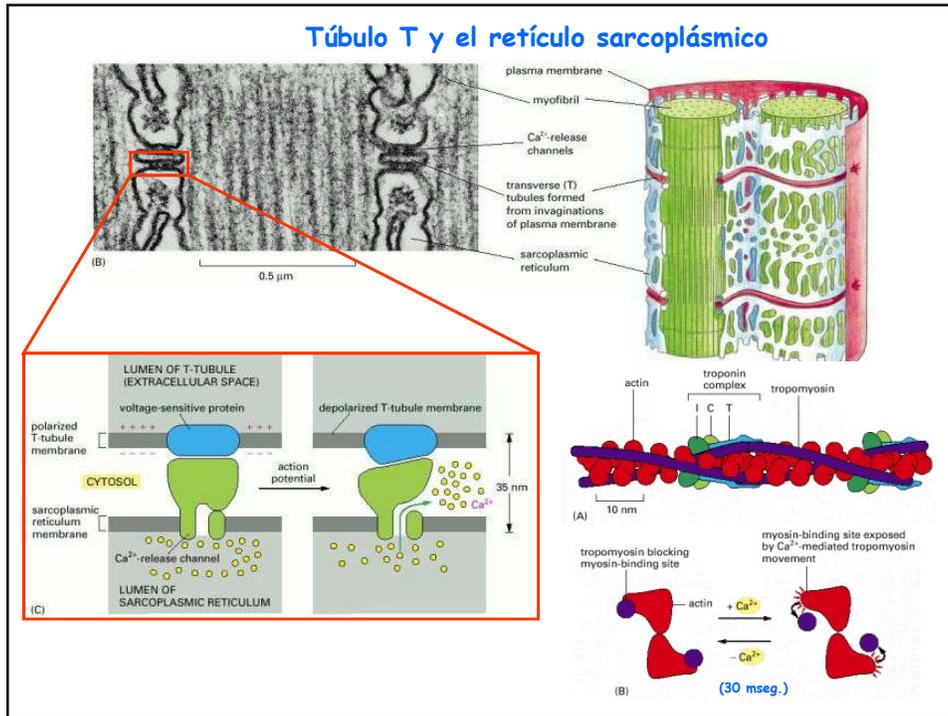
29

Proteínas accesorias en el sarcómero

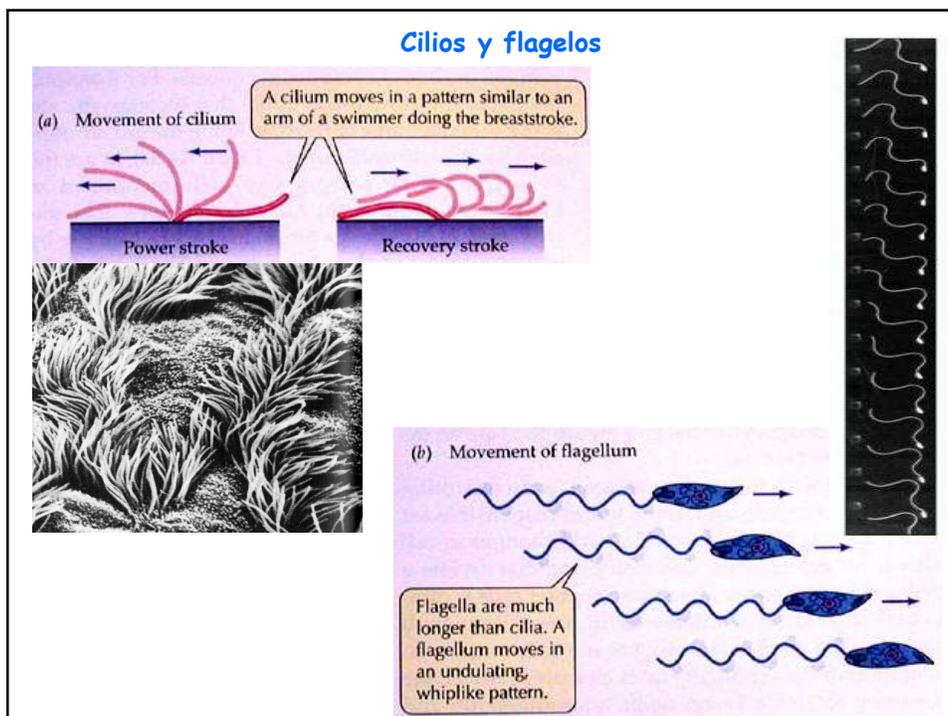
- **CapZ** y **α -actinina** (disco Z): "capping" del extremo (+) de filamentos de actina
- **nebulina**: motivo de "binding" de actina de 35 Aa, repetido. Se extiende desde el disco Z a lo largo del filamento hasta el extremo (-). Determina la longitud del filamento fino
- **tropomodulina**: "capping" del extremo (-) \Rightarrow estabilización filamento fino
- **titina**: actúa como un resorte con una larga serie de dominios similares a IG que pueden desplegarse a medida que el estrés es aplicado sobre la proteína. El desplegado y plegado de titina mantiene los filamentos gruesos en el medio del sarcómero y permite que la fibra muscular se recupere después de ser estirada



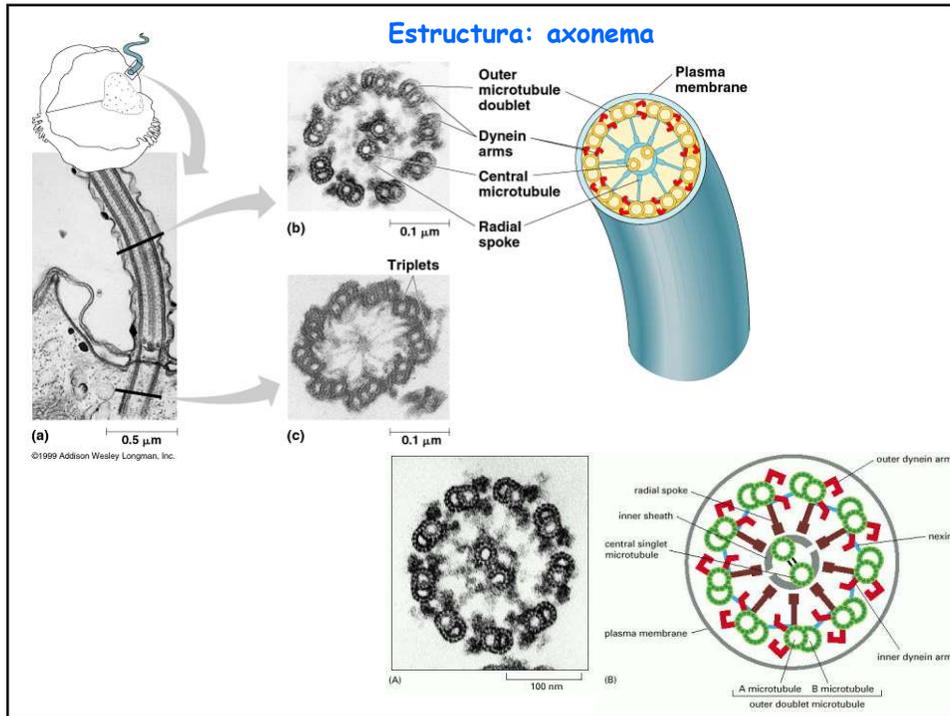
30



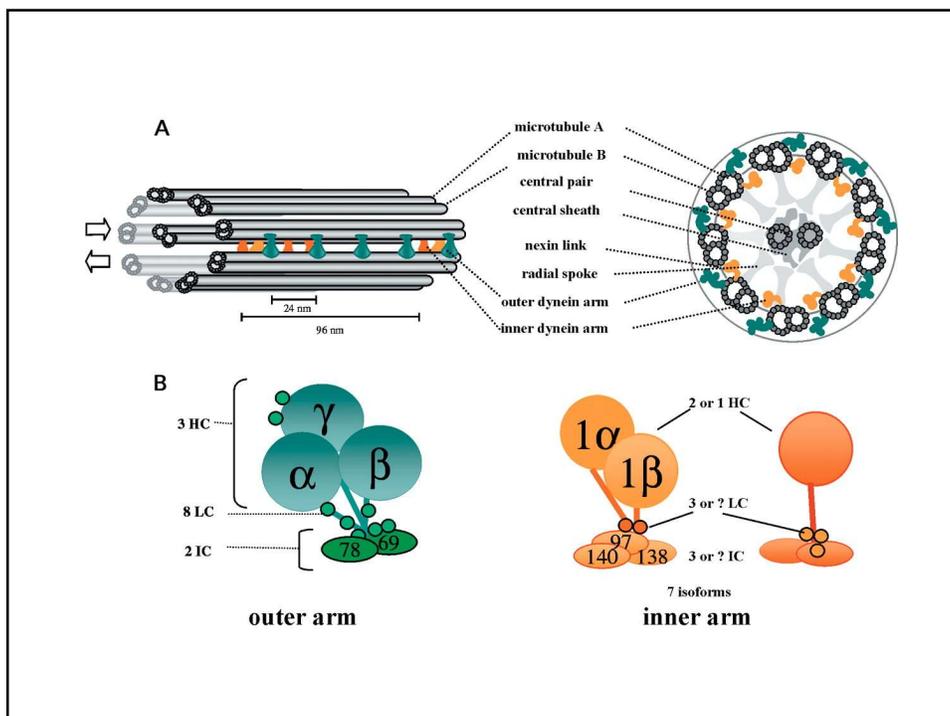
31



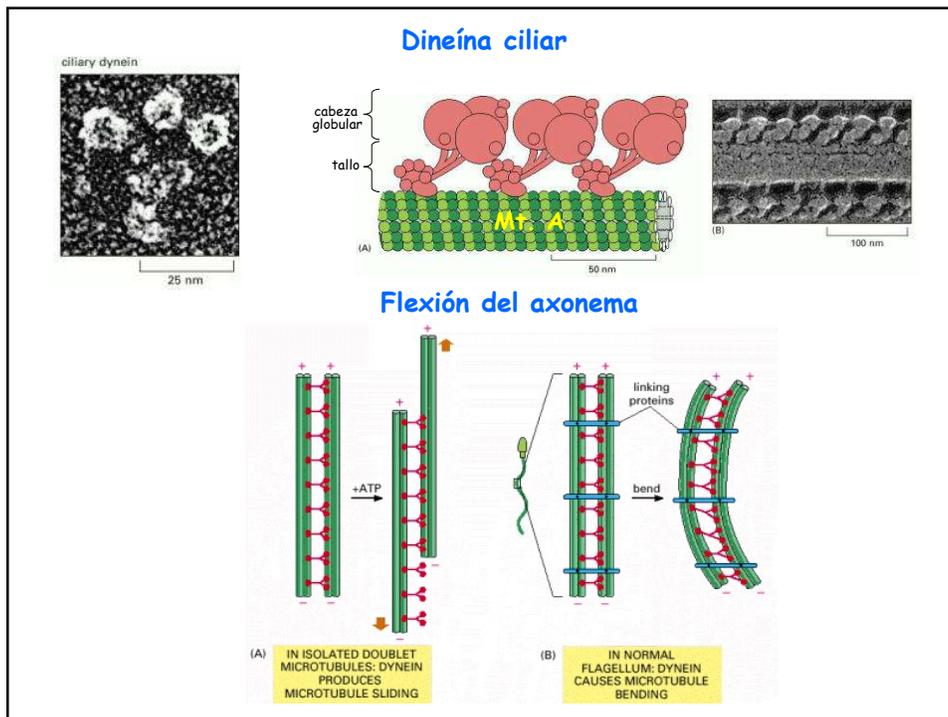
32



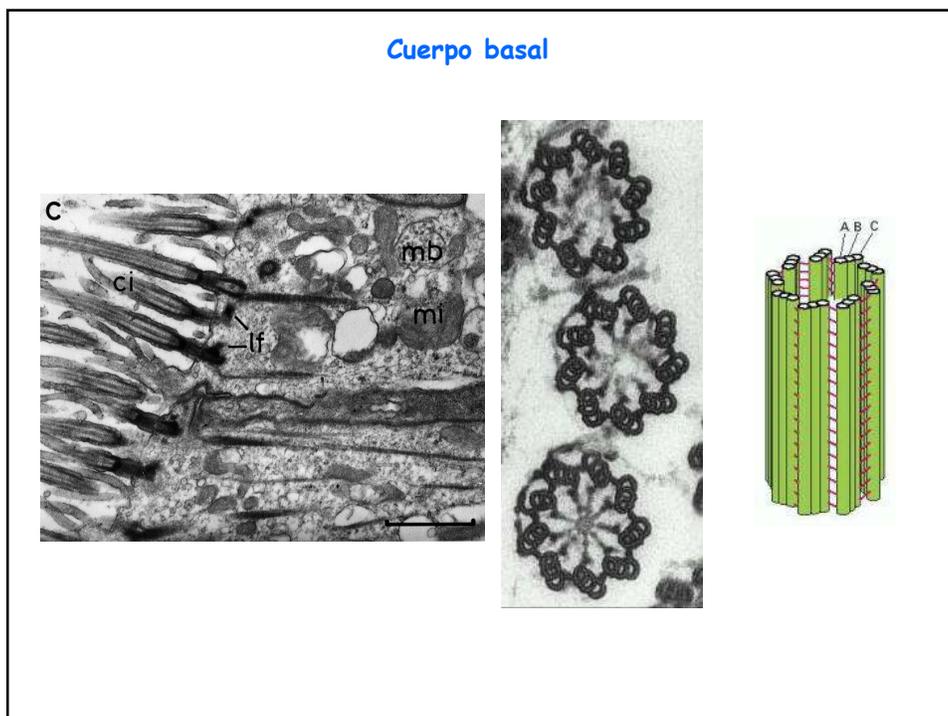
33



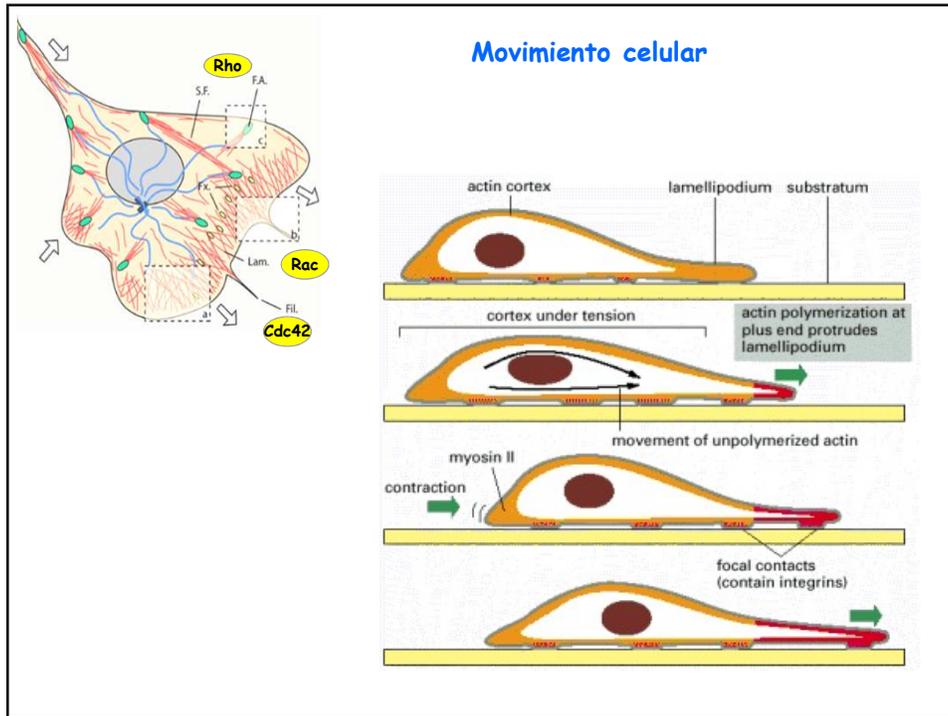
34



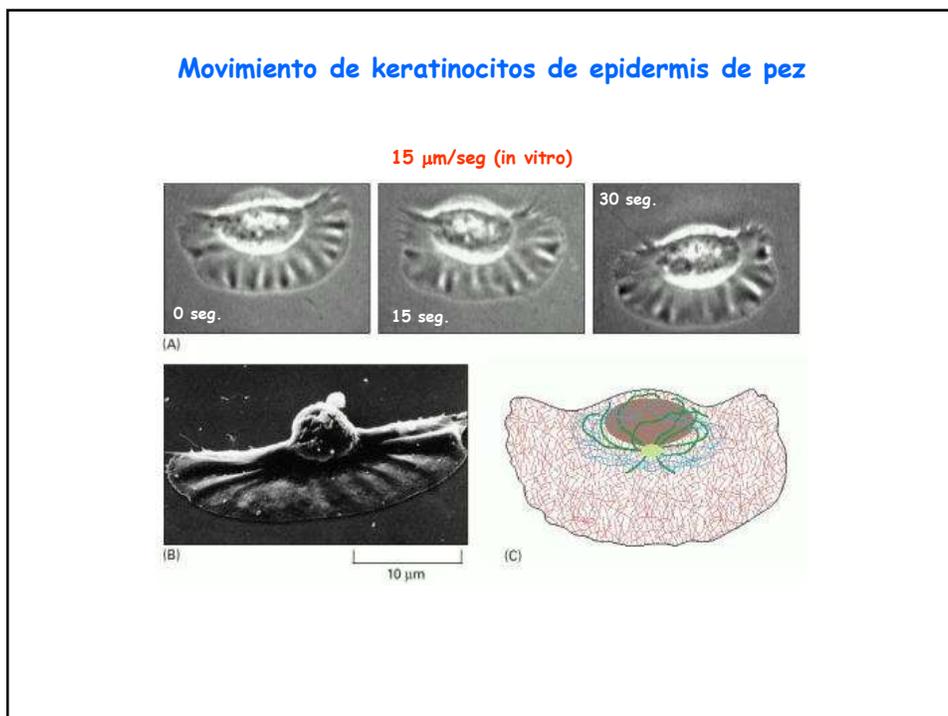
35



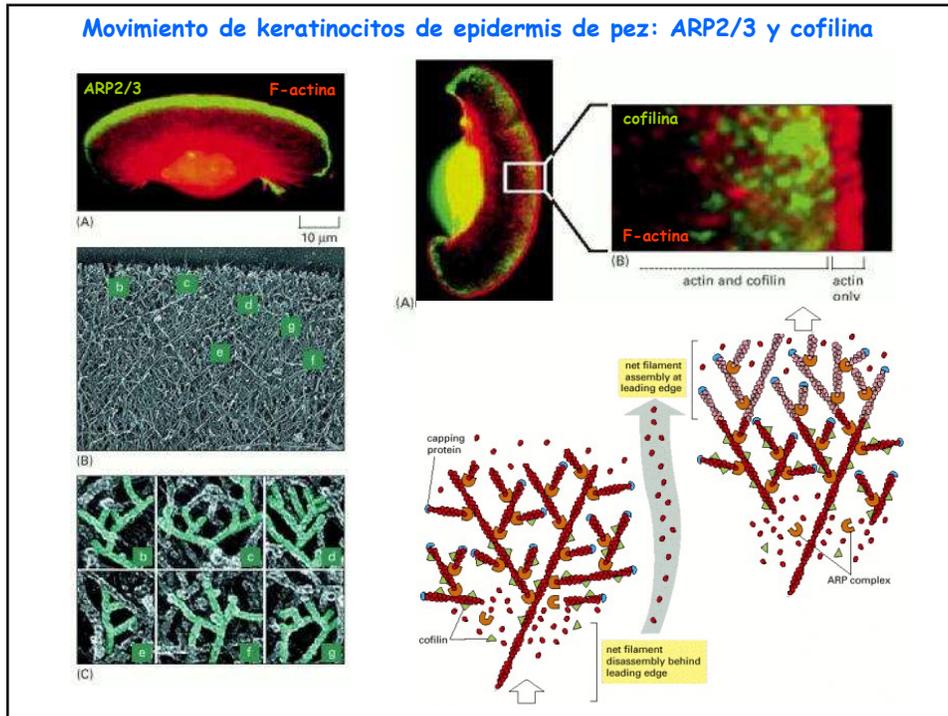
36



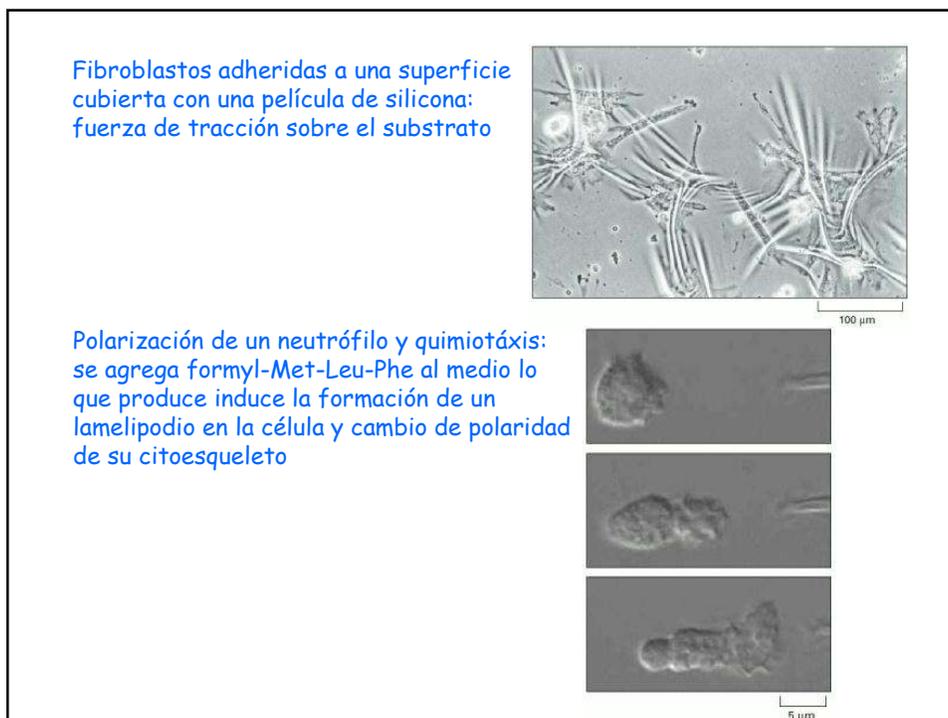
37



38

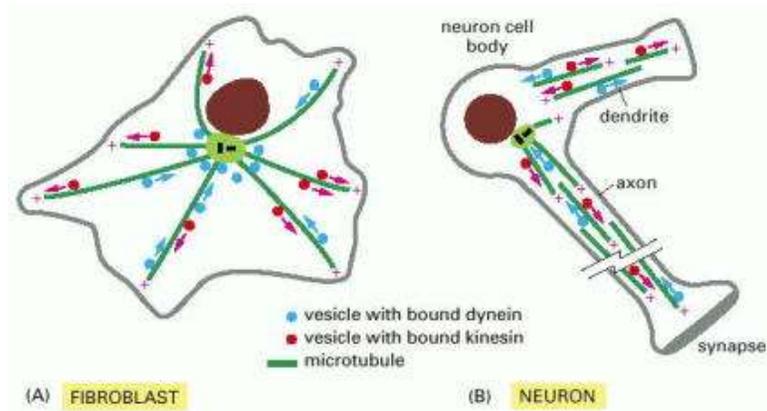


39



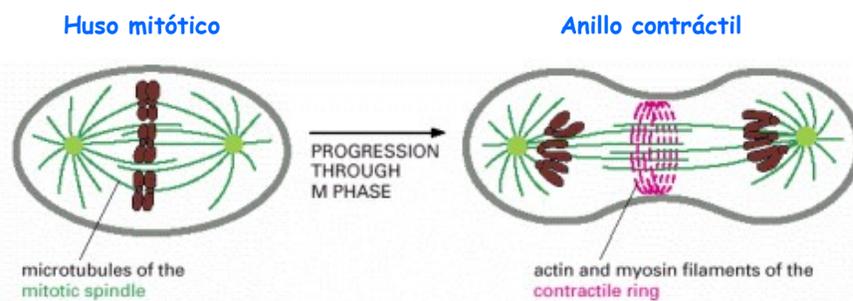
40

Organización de Mts en fibroblastos y en neuronas en interfase



41

Role del citoesqueleto en la mitosis



42