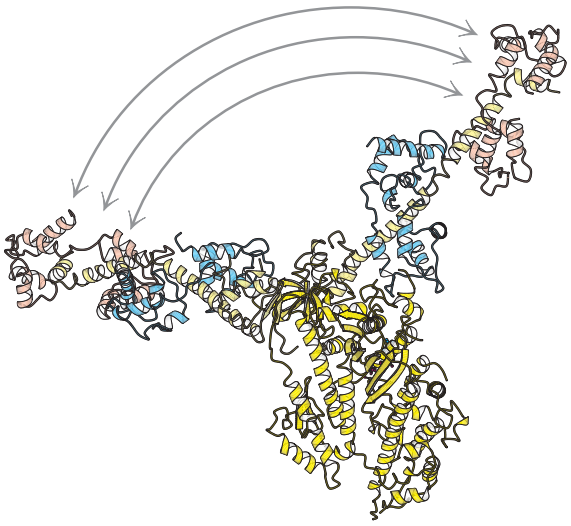
Μοριακοί κινητήρες

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 36



Οι πολύ ισχυροί μύες του αλόγου, όπως οι μύες όλων των ζώων, παίρνουν ενέργεια από έναν πρωτεϊνικό μοριακό κινητήρα, τη μυοσίνη. Ένα τμήμα της μυοσίνης μετακινείται εντυπωσιακά (όπως φαίνεται επάνω) ως απόκριση στην πρόσδεση της ATP, την υδρόλυσή της και την απελευθέρωση των προϊόντων ADP και P_i, προωθώντας τη μυοσίνη κατά μήκος ενός νηματίου ακτίνης. Αυτή η μοριακή κίνηση μετατρέπεται σε κίνηση ολόκληρου του ζώου, που απεικονίζεται με συναρπαστικό τρόπο στο ανορθωμένο άλογο του da Vinci. [(Αριστερά) Ανορθωμένο άλογο π. 1503-04 (πένα και μελάνι και κιμωλία σε χαρτί)/Vinci, Leonardo da (1452–1519)/ROYAL COLLECTION/Royal Collection Trust © Her Majesty Queen Elizabeth II, 2017/Bridgeman Images.]

ΜΑΘΗΣΙΑΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ

Μετά την ολοκλήρωση του κεφαλαίου αυτού θα πρέπει να είστε σε θέση να:

1. Συζητήσετε τα γενικά χαρακτηριστικά των μοριακών κινητήρων που μετατρέπουν τη χημική ενέργεια σε μηχανική ενέργεια.
2. Περιγράψετε τους ρόλους των επικρατειών NTPάσης με θηλιά P στους πρωτεϊνικούς μοριακούς κινητήρες.
3. Περιγράψετε τις δομές των νηματίων ακτίνης και των μικροσωληνίσκων.
4. Συζητήσετε τα βήματα της υδρόλυσης της ATP από τη μυοσίνη και το πώς τα βήματα αυτά είναι συζευγμένα με την πρόσδεση και την αποδέσμευση της ακτίνης προάγοντας τη μηχανική κίνηση.
5. Συγκρίνετε και να αντιπαραβάλετε το πώς πραγματοποιούν τη μοριακή κίνηση η κινησίνη και η δυνεΐνη.
6. Συζητήσετε τη βάση της βακτηριακής κίνησης που οφείλεται σε μαστίγια κινούμενα από μοριακούς κινητήρες οι οποίοι, με τη σειρά τους, τροφοδοτούνται με ενέργεια από τη βαθμίδωση συγκέντρωσης πρωτονίων.

ΠΕΡΙΓΡΑΜΜΑ

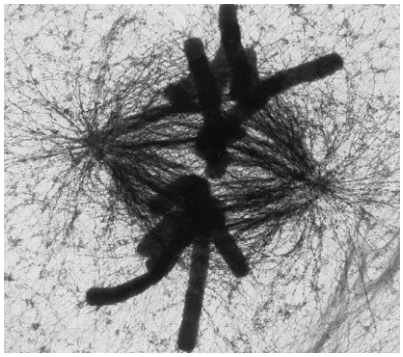
36.1 Οι περισσότεροι πρωτεϊνικοί μοριακοί κινητήρες είναι μέλη της υπεροικογένειας των NTPασών με θηλιά P

36.2 Οι μυοσίνες κινούνται κατά μήκος των νηματίων της ακτίνης

36.3 Η κινησίνη και η δυνεΐνη κινούνται κατά μήκος των μικροσωληνίσκων

36.4 Ένας περιστροφικός κινητήρας ωθεί την κίνηση των βακτηρίων

Οι οργανισμοί από τον άνθρωπο έως τα βακτήρια κινούνται προκειμένου να προσαρμοστούν στις αλλαγές του περιβάλλοντος, να κατευθυνθούν προς την τροφή τους ή να απομακρυνθούν από τον κίνδυνο. Τα κύτταρα, αυτά καθ' εαυτά, δεν είναι στατικά, αλλά αποτελούν συγκροτήματα μετακινούμενων πρωτεϊνών, νουκλεϊκών οξέων και οργανιδίων. Αυτή η κίνηση επιτυγχάνεται από δύο στοιχεία: τους πρωτεϊνικούς μοριακούς κινητήρες και ένα περίπλοκο δίκτυο από ινώ-



ΕΙΚΟΝΑ 36.1 Ενδοκυτταρική κίνηση. Αυτή η ηλεκτρονιομικρογραφία υψηλής τάσης δείχνει τη μιτωτική συσκευή ενός κυττάρου θηλαστικού στη μετάφαση. Οι μεγάλοι κύλινδροι είναι χρωμοσώματα και οι νηματοειδείς δομές που εκτείνονται εκατέρωθεν του κέντρου είναι μικροσωληνίσκοι, σημαντικές συνιστώσες του σκελετού. Οι μικροσωληνίσκοι λειτουργούν ως τροχιές για τους μοριακούς κινητήρες που μετακινούν τα χρωμοσώματα. Πολλές διεργασίες, όπως ο διαχωρισμός των χρωμοσωμάτων κατά τη μίτωση, εξαρτώνται από τη δράση πρωτεϊνικών μοριακών κινητήρων. [Ευγενική προσφορά Dr. J.R. McIntosh.]

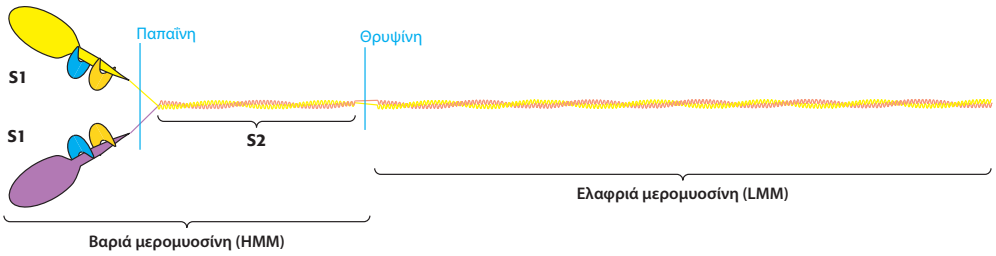
δεις πρωτεΐνες που ονομάζεται *κυτταρικός σκελετός* (Εικόνα 36.1). Η μελέτη των δυναμικών δικτύων που καθορίζουν το σχήμα και την κινητικότητα των κυττάρων αποτελεί μία από τις πλέον δραστήριες ερευνητικές περιοχές της σύγχρονης κυτταρικής βιολογίας. Είναι αξιοσημείωτο ότι οι βασικοί βιοχημικοί μηχανισμοί που προκαλούν τη μυϊκή συστολή είναι οι ίδιοι με εκείνους που ωθούν τα διάφορα οργανίδια κατά μήκος του κυτταρικού σκελετού. Στην πραγματικότητα, πολλές από τις πρωτεΐνες που παίζουν καθοριστικό ρόλο στη μετατροπή της χημικής ενέργειας σε κινητική ενέργεια είναι μέλη της ίδιας οικογένειας πρωτεϊνών, των NTPασών με θηλιά P, οι οποίες αποτελούν μια εξαιρετικά ενδιαφέρουσα ομάδα πρωτεϊνών που περιγράφηκε αρχικά στο Κεφάλαιο 9. Αυτοί οι μοριακοί κινητήρες είναι ομόλογοι με πρωτεΐνες που έχουμε ήδη συναντήσει στο πλαίσιο άλλων διεργασιών, όπως είναι οι πρωτεΐνες G στη σύνθεση πρωτεϊνών, στη σηματοδότηση και αλλού. Βλέπουμε ακόμη μία φορά την οικονομία που επιτυγχάνει η εξέλιξη, προσαρμόζοντας μια προϋπάρχουσα πρωτεΐνη στην επιτέλεση νέων λειτουργιών.

Οι μοριακοί κινητήρες λειτουργούν με μικρά βήματα, μετατρέποντας μεταβολές της πρωτεϊνικής στερεοδιάταξης σε κατευθυνόμενη κίνηση. Η συντεταγμένη μετακίνηση σε μια απόσταση χρειάζεται την ύπαρξη μιας τροχιάς η οποία καθοδηγεί τη μετακίνηση του συγκροτήματος του κινητήρα. Γεγονός είναι ότι έχουμε ήδη συναντήσει μια κατηγορία μοριακών κινητήρων οι οποίοι χρησιμοποιούν μηχανισμούς που θα εξετάσουμε εδώ – συγκεκριμένα, τις ελικάσες οι οποίες κινούνται κατά μήκος του DNA κατά την αντιγραφή του (Υποκεφάλαιο 29.1). Οι πρωτεΐνες στις οποίες θα εστιάσουμε την προσοχή μας στο κεφάλαιο αυτό κινούνται κατά μήκος της ακτίνης και των μικροσωληνίσκων – πρωτεϊνικών νηματίων που σχηματίζονται από επαναλαμβανόμενες ταυτόσημες υπομονάδες. Αποκρινόμενοι στη δέσμευση και την υδρόλυση της ATP, οι πρωτεϊνικοί κινητήρες εμφανίζουν κυκλικές εναλλαγές μεταξύ μορφών που έχουν υψηλή ή χαμηλή συγγένεια με τις τροχιές των νηματίων, διευκολύνοντας έτσι έναν μηχανισμό δέσμευσης, έλξης και απελευθέρωσης, ο οποίος προκαλεί την κίνηση.

Θα εξετάσουμε επίσης μια τελείως διαφορετική στρατηγική για τη δημιουργία κίνησης, εκείνη που χρησιμοποιείται από βακτήρια όπως η *E. coli*. Ένας αριθμός από μαστίγια λειτουργούν ως προωστήρες που περιστρέφονται από έναν κινητήρα ο οποίος βρίσκεται στη βακτηριακή μεμβράνη. Αυτός ο περιστροφικός κινητήρας δεν ωθείται από την υδρόλυση της ATP αλλά από μια βαθμίδωση συγκέντρωσης πρωτονίων μεταξύ των δύο πλευρών της μεμβράνης. Ο μηχανισμός σύζευξης της βαθμίδωσης συγκέντρωσης πρωτονίων με περιστροφική κίνηση είναι ανάλογος με εκείνον που χρησιμοποιείται από την υπομονάδα F_0 της συνθάσης της ATP. Έτσι, και οι δύο κύριοι τρόποι αποθήκευσης βιοχημικής ενέργειας –δηλαδή η ATP και οι βαθμιδώσεις συγκέντρωσης ιόντων– έχουν ζευχθεί, από την εξέλιξη, στην ώθηση της οργανωμένης μοριακής κίνησης.

36.1 Οι περισσότεροι πρωτεϊνικοί μοριακοί κινητήρες είναι μέλη της υπεροικογένειας NTPασών με θηλιά P

Τα ευκαρυωτικά κύτταρα περιέχουν τρεις κύριες οικογένειες πρωτεϊνικών κινητήρων: τις μυοσίνες, τις κινησίνες και τις δυνεΐνες. Τα μέλη καθεμίας από αυτές τις οικογένειες κινούνται κατά μήκος συστατικών του κυτταρικού σκελετού, αλλά, εκ πρώτης όψεως, αυτές οι πρωτεϊνικές οικογένειες φαίνεται ότι είναι τελείως διαφορετικές η μία από την άλλη. Η *μυοσίνη*, που χαρακτηρίστηκε για πρώτη φορά με βάση τον ρόλο της στους μυς, κινείται κατά μήκος των νηματίων της πρωτεΐνης ακτίνης. Κάθε μόριο της μυοσίνης του μυός συνίσταται από δύο αντίγραφα, το κάθε ένα από τα οποία περιέχει μια *βαριά αλυσίδα* με μοριακή μάζα 220 kDa, μια *κύρια ελαφριά αλυσίδα* και μια *ρυθμιστική ελαφριά αλυσίδα*. Το γονιδίωμα του ανθρώπου κωδικεύει περισσότερες από 40 διαφορετικές μυοσίνες· μερικές από αυτές λειτουργούν κατά τη μυϊκή συστολή, ενώ άλλες συμμετέχουν σε ποικίλες διεργασίες. Οι *κινησίνες*, οι οποίες παίζουν ρόλο στη με-



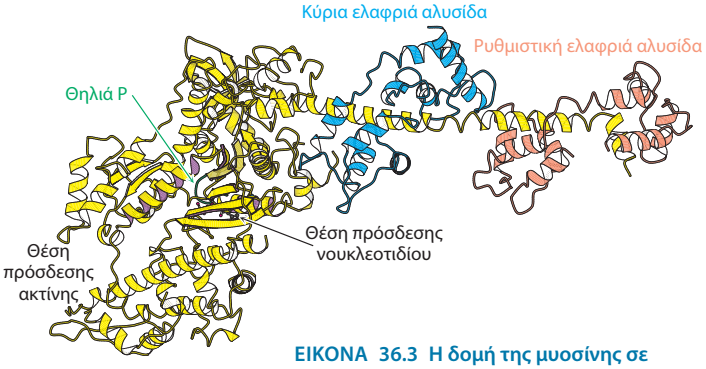
ΕΙΚΟΝΑ 36.2 Ανατομή της μυοσίνης. Η πέψη της μυοσίνης του μυός με πρωτεάσες δημιουργεί σταθερά θραύσματα, συμπεριλαμβανομένων των υποθραυσμάτων S1 και S2 και της ελαφριάς μερομυοσίνης. Κάθε θραύσμα S1 περιέχει την κεφαλή (που φαίνεται με κίτρινο και πορφυρό χρώμα) από τη βαριά αλυσίδα και ένα αντίγραφο από κάθε ελαφριά αλυσίδα (φαίνονται με μπλε και πορτοκαλί).

ταφορά πρωτεϊνών, mRNA και κυστιδίων, όπως επίσης και στη δημιουργία της μιτωτικής ατράκτου και στον διαχωρισμό των χρωμοσωμάτων, είναι συνήθως διμερή δύο πολυπεπτιδίων. Το γονιδίωμα του ανθρώπου κωδικεύει περισσότερες από 40 κινησίνες. Οι *δυνεΐνες* παρέχουν ενέργεια για την κίνηση των κροσσών και των μαστιγίων, ενώ μια γενική κυτταροπλασματική δυνεΐνη συμμετέχει σε ποικίλες κινήσεις μέσα σε όλα τα κύτταρα όπως η μεταφορά κυστιδίων και τα διάφορα συμβάντα μεταφοράς κατά τη μίτωση. Οι δυνεΐνες είναι τεράστιες, με τη μοριακή μάζα των βαριών αλυσίδων να υπερβαίνει τα 500 kDa. Το γονιδίωμα του ανθρώπου κωδικεύει περισσότερες από 10 δυνεΐνες.

Αρχικά η σύγκριση της αλληλουχίας αμινοξέων των μυοσινών, των κινησινών και των δυνεϊνών δεν ανέδειξε σημαντικές σχέσεις μεταξύ αυτών των τριών πρωτεϊνικών οικογενειών. Ωστόσο, μετά τον καθορισμό της τριδιάστατης δομής τους διαπιστώθηκε ότι υπάρχουν αξιοσημείωτες ομοιότητες μεταξύ των οικογενειών της κινησίνης και της μυοσίνης. Συγκεκριμένα, τόσο η μυοσίνη όσο και η κινησίνη περιέχουν πυρήνες ΝΤΡασών με θηλιά P, ομόλογους με εκείνους που υπάρχουν στις πρωτεΐνες G. Η ανάλυση της αμινοξικής αλληλουχίας και της δομής των βαριών αλυσίδων της δυνεΐνης αποκάλυψε ότι αυτές είναι μέλη της υποοικογένειας AAA των ΝΤΡασών με θηλιά P που αναφέραμε προηγουμένως στο πλαίσιο της περιγραφής του πρωτεασώματος 19S (Υποκεφάλαιο 23.2.). Η δυνεΐνη έχει έξι αλληλουχίες που κωδικεύουν επικράτειες ΝΤΡάσης με θηλιά P οι οποίες είναι παρατεταγμένες κατά μήκος του μορίου, αν και μόνο οι τέσσερις φαίνεται ότι προσδένουν νουκλεοτίδια. Έτσι, αναμένουμε ομοιότητες στους μηχανισμούς δράσης και μπορούμε να βασιστούμε στις γνώσεις μας για τις πρωτεΐνες G και άλλες ΝΤΡάσες με θηλιά P προκειμένου να αναλύσουμε τους μηχανισμούς δράσης αυτών των πρωτεϊνικών κινητήρων.

Οι μοριακοί κινητήρες είναι συνήθως ολιγομερείς πρωτεΐνες που περιέχουν έναν πυρήνα ΑΤΡάσης και μια επιμήκη δομή

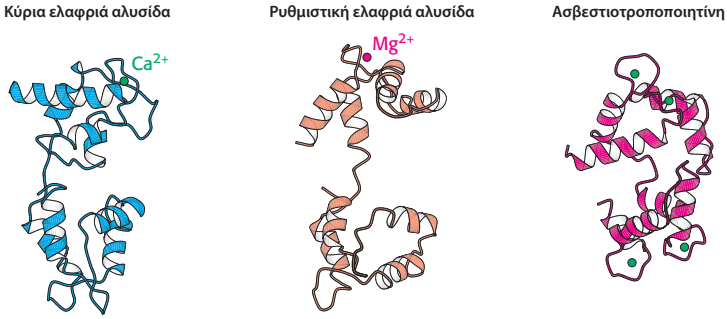
Ας εξετάσουμε πρώτα τη δομή της μυοσίνης που περιγράψαμε περιληπτικά στο Κεφάλαιο 9. Τα αποτελέσματα μελετών με ηλεκτρονιακό μικροσκόπιο της μυοσίνης των σκελετικών μυών έδειξαν ότι είναι μια δομή με δύο κεφαλές οι οποίες συνδέονται με ένα μακρύ στέλεχος (Εικόνα 9.42). Η πέψη της μυοσίνης με θρυψίνη και παπαΐνη έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία τεσσάρων θραυσμάτων: δύο θραυσμάτων S1, ενός θραύσματος βαριάς μερομυοσίνης (heavy meromyosin, HMM), που αποτελείται από τα θραύσματα S1 και μια επιπλέον περιοχή, την S2, και, ενός θραύσματος που ονομάζεται ελαφριά μερομυοσίνη (light meromyosin, LMM· Εικόνα 36.2). Κάθε *θραύσμα S1* αντιστοιχεί σε μία από τις κεφαλές της ακέραιας δομής και περιέχει 850 αμινοξέα του αμινοτελικού άκρου, από μία από τις δύο βαριές αλυσίδες, καθώς και ένα αντίγραφο από καθεμία από τις ελαφριές αλυσίδες. Η εξέταση της δομής του θραύσματος S1 με ηλεκτρονιακό μικροσκόπιο υψηλής διακριτικής ικανότητας αποκαλύπτει την ύπαρξη μιας επικράτειας με έναν πυρήνα ΝΤΡάσης με θηλιά P που είναι η θέση δέσμευσης και υδρόλυσης της ATP (Εικόνα 36.3). Στο



ΕΙΚΟΝΑ 36.3 Η δομή της μυοσίνης σε υψηλή διακριτική ικανότητα. Η δομή του θραύσματος S1 της μυοσίνης του μυός αποκαλύπτει την παρουσία της επικράτειας μιας ΝΤΡάσης με θηλιά P (σκιασμένη με πορφυρό χρώμα). *Παρατηρήστε* ότι μια α-έλικα που εκτείνεται από την περιοχή αυτή προς τα δεξιά είναι η θέση πρόσδεσης των δύο ελαφριών αλυσίδων. [Σχεδιασμένο από 1DFLpdb.]

Κεφάλαιο 9 εξετάσαμε τη δομή και τη λειτουργία της επικράτειας αυτού του κινητήρα.

Από τη δομή αυτή εκτείνεται μια μακριά *α*-έλικα που αποτελεί τμήμα της βαριάς αλυσίδας. Η έλικα αυτή αποτελεί τη θέση σύνδεσης των δύο ελαφριών αλυσίδων. Οι ελαφριές αλυσίδες είναι μέλη της οικογένειας των πρωτεϊνών με χέρι EF και μοιάζουν ως προς τη δομή με την ασβεστιοτροποποιητίνη (βλ. Εικόνα 14.17), αν και οι περιοχές χεριού EF των ελαφριών αλυσίδων συνήθως δεν δεσμεύουν μεταλλικά ιόντα (Εικόνα 36.4). Όπως συμβαίνει και με την ασβεστιοτροποποιητίνη, αυτές οι πρωτεΐνες περιτυλίσσονται γύρω από μια *α*-έλικα, προκαλώντας έτσι την πάχυνση και την ακαμψία της. Τα υπόλοιπα θραύσματα της μυοσίνης –το S2 και η ελαφριά μερομυοσίνη– έχουν κυρίως τη μορφή της *α*-έλικας, σχηματίζοντας μια υπερσπειρωμένη δομή διπλής έλικας (ένα δίκλωνο ελικοειδές σπείραμα) που δημιουργείται από τα υπόλοιπα επιμήκη τμήματα των δύο βαριών αλυσίδων τα οποία περιτυλίσσονται το ένα γύρω από το άλλο (Εικόνα 36.5). Οι δομές αυτές μαζί έχουν μήκος περίπου 1.700 Å και συνδέουν τις κεφαλές της μυοσίνης με άλλες δομές. Στη μυοσίνη του μυός, μερικές επικράτειες LMM συνδέονται μεταξύ τους προκειμένου να σχηματίσουν δεσμίδες ανώτερης τάξης.

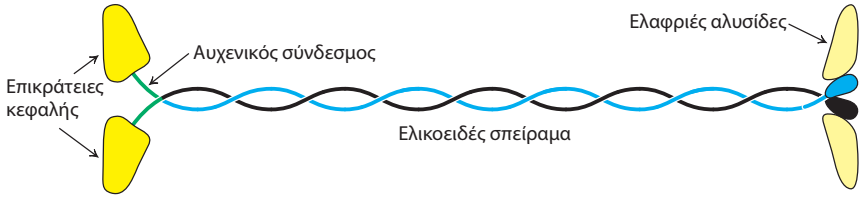


ΕΙΚΟΝΑ 36.4 Ελαφριές αλυσίδες της μυοσίνης. Οι δομές της κύριας και της ρυθμιστικής ελαφριάς αλυσίδας της μυοσίνης του μυός συγκρίνονται με τη δομή της ασβεστιοτροποποιητίνης. Παρατηρήστε την ομοιότητα στη δομή, χάρη στην οποία καθεμία από αυτές τις ομόλογες πρωτεΐνες συνδέεται με μια *α*-έλικα (δεν φαίνεται) και περιτυλίσσεται γύρω της. [Σχεδιασμένο από 1DFL.pdb και1CM1.pdb.]

Η *συμβατική κινησίνη* (κινησίνη 1), η πρώτη κινησίνη που ανακαλύφθηκε, έχει ορισμένα κοινά χαρακτηριστικά με τη μυοσίνη. Είναι μια διμερής πρωτεΐνη που έχει δύο κεφαλές συνδεδεμένες με μια επιμήκη δομή (Εικόνα 36.6). Το μέγεθος της επικράτειας κεφαλής αντιστοιχεί στο ένα τρίτο του μεγέθους της μυοσίνης. Ο καθορισμός της τριδιάστατης δομής ενός θραύσματος κινησίνης απέδειξε ότι και αυτή η επικράτεια κεφαλής έχει δομηθεί γύρω από τον πυρήνα NTPάσης με θηλιά P (Εικόνα 36.7). Η αντίστοιχη επικράτεια στη μυοσίνη είναι πολύ μεγαλύτερη από εκείνη στην κινησίνη διότι στο μόριο της πρώτης υπάρχουν δύο ένθετα τμήματα τα οποία συνδέονται με τα νημάτια της ακτίνης. Στη συμβατική κινησίνη, η επικράτεια κεφαλής ακολουθείται από μια άλλη περιοχή που αποτελείται από 500 περίπου αμινοξέα. Όπως και η αντίστοιχη περιοχή της μυοσίνης, η επιμήκης περιοχή της κινησίνης σχηματίζει μια υπερσπειρωμένη δομή τύπου *α*-έλικας. Η συμβατική κινησίνη έχει επίσης ελαφριές αλυσίδες, αλλά, σε αντίθεση με ό,τι συμβαίνει στη μυοσίνη, οι ελαφριές αλυσίδες της κινησίνης δεσμεύονται κοντά στο καρβοξυτελικό άκρο της βαριάς αλυσίδας και θεωρείται ότι συνδέουν τον κινητήρα με το ενδοκυτταρικό φορτίο.

ΕΙΚΟΝΑ 36.5 Η υπερσπειρωμένη δομή διπλής έλικας της μυοσίνης. Οι δύο *α*-έλικες δημιουργούν αριστερόστροφες υπερσπειροειδείς δομές οι οποίες περιελίσσονται η μία γύρω από την άλλη. Αυτές οι δομές σταθεροποιούνται από υδρόφοβα κατάλοιπα στα σημεία επαφής μεταξύ των δύο ελίκων. [Σχεδιασμένο από 2TMA.pdb]

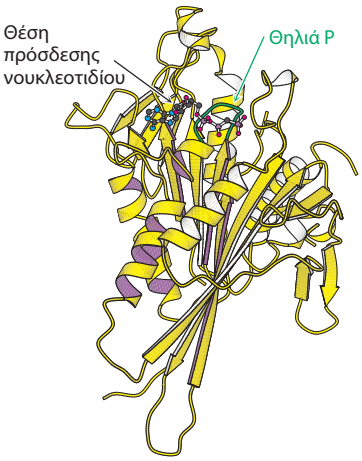
Η δυνεΐνη έχει σημαντικά διαφορετική δομή από τη μυοσίνη και την κινησίνη. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η βαριά αλυσίδα της δυνεΐνης περιέχει έξι περιοχές οι οποίες είναι ομόλογες με τις επικράτειες της υποοικογένειας ATPασών. Μελέτες προσδιορισμού της δομής των δυνεϊνών αποκαλύπτουν ότι αυτές οι έξι επικράτειες σχηματίζουν έναν δακτύλιο (Εικόνα 36.8). Η επικράτεια κεφαλής συνδέεται με μια περιοχή αποτελούμενη από 1.300 περίπου αμινοξέα η οποία



ΕΙΚΟΝΑ 36.6 Η δομή της κινησίνης. Η επιμήκης δομή έχει δύο επικράτειες κεφαλής στο ένα άκρο και δύο επικράτειες που φέρουν φορτίο στο άλλο· οι διαφορετικές επικράτειες συνδέονται μεταξύ τους με μια επιμήκη περιοχή ελικοειδούς σπειράματος.

σχηματίζει μια επιμήκη δομή που συνδέει μεταξύ τους διαφορετικές μονάδες δυνεΐνης, προκειμένου να σχηματιστούν ολιγομερή, και αλληλεπιδρά με άλλες πρωτεΐνες.

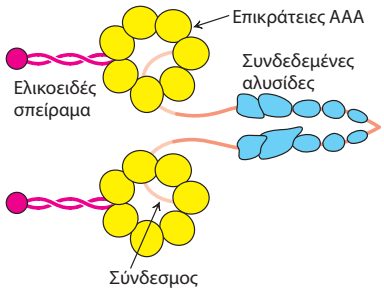
Αν και οι δομές αυτών των τριών κατηγοριών μοριακών κινητήρων έχουν σημαντικές διαφορές, έχουν αναδειχθεί ωστόσο μερικά κοινά χαρακτηριστικά. Όλες σχεδόν οι δομές είναι διμερή με δύο επικράτειες κεφαλής, έχουν επιμήκεις αλλά αρκετά συμπαγείς δομές και περιοχές που αλληλεπιδρούν με άλλες πρωτεΐνες. Όπως θα δούμε, αυτές οι δομές είναι κατάλληλες για δράσεις που μοιάζουν με την αναρρίχηση σε ένα σκοινί, με εναλλακτική κίνηση των χεριών. Οι περιοχές που αλληλεπιδρούν με άλλες πρωτεΐνες αναπαριστούν τα χέρια που κρατούν, οι επιμήκεις δομές αναπαριστούν τους βραχίονες που δρουν ως μοχλοί προκειμένου να επιτυγχάνονται κινήσεις μεγαλύτερης κλίμακας, ενώ οι επικράτειες κεφαλής είναι οι μηχανές που παρέχουν την απαιτούμενη μηχανική ενέργεια.



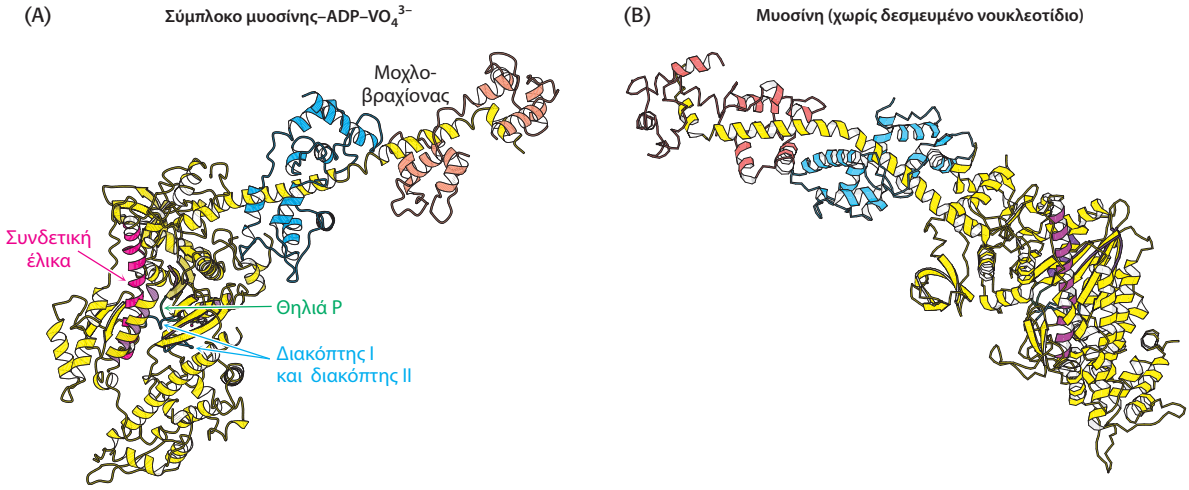
ΕΙΚΟΝΑ 36.7 Η δομή της επικράτειας κεφαλής της κινησίνης σε υψηλή διακριτική ικανότητα. *Παρατηρήστε* ότι η επικράτεια κεφαλής της κινησίνης έχει τη δομή του πυρήνα μιας NTPάσης με θηλιά P (υποδεικνύεται με πορφυρή σκίαση). [Σχεδιασμένο από 1I6I.pdb.]

Η δέσμευση και η υδρόλυση της ATP επάγουν αλλαγές στη στερεοδιάταξη και στη συγγένεια πρόσδεσης των πρωτεϊνικών κινητήρων

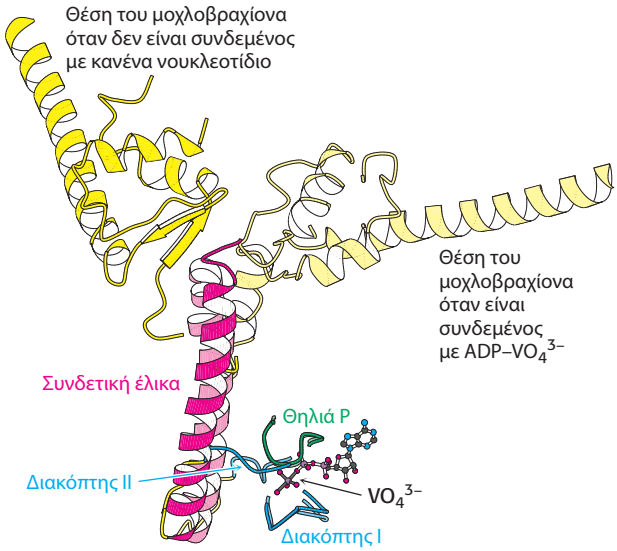
Στο Κεφάλαιο 9 εξετάσαμε τις αλλαγές στερεοδιάταξης στην επικράτεια ATPάσης της μυοσίνης του μυξομύκητα *Dictyostelium*. Προσδιορίστηκε επίσης ποικιλία μορφών στη δομή των επικρατειών ATPάσης της μυοσίνης από άλλες πηγές. Το θραύσμα S1 της μυοσίνης του μυός του μαλακίου κτένι αποτελεί ένα εντυπωσιακό παράδειγμα των αλλαγών που παρατηρούνται (Εικόνα 36.9). Η δομή αυτού του θραύσματος S1 έχει προσδιοριστεί σε διάφορες μορφές, π.χ. μια χωρίς δεσμευμένο νουκλεοτίδιο καθώς και μια δεσμευμένη με ένα σύμπλοκο ADP και βαναδικού ανιόντος (VO_4^{-3}), που, όπως αναφέρθηκε στο Κεφάλαιο 9, είναι ανάλογο της μεταβατικής κατάστασης της υδρόλυσης της ATP. Η μακριά έλικα που δεσμεύεται στις ελαφριές αλυσίδες (που στο εξής θα αναφέρεται ως *μοχλοβραχίονας*) προεξέχει από την επικράτεια κεφαλής. Η σύγκριση των δομών δείχνει ότι ο μοχλοβραχίονας στρέφεται κατά 90° περίπου στο σύμπλοκο ADP-VO_4^{-3} σε σύγκριση με τη θέση του στη μορφή που δεν περιέχει το νουκλεοτίδιο. Πώς προκαλούν οι ομάδες αυτού του μορίου στη θέση δέσμευσης του νουκλεοτιδίου μια τόσο εντυπωσιακή μεταβολή; Δύο περιοχές που βρίσκονται γύρω από τη θέση δέσμευσης του νουκλεοτιδίου (ονομάζονται *διακόπτης I* και *διακόπτης II*) προσαρμόζονται πολύ καλά στο σχήμα της φωσφορικής ομάδας *γ* του αναλόγου της ATP, ενώ υιοθετούν μια πιο χαλαρή στερεοδιάταξη όταν η φωσφορική ομάδα



ΕΙΚΟΝΑ 36.8 Η δομή της δυνεΐνης. Η συνολική δομή της δυνεΐνης.



ΕΙΚΟΝΑ 36.9 Κίνηση του μοχλοβραχίονα. Δύο μορφές του θραύσματος S1 της μυοσίνης του μυός του μαλακίου κτένι. *Παρατηρήστε* τις εντυπωσιακές αλλαγές στη στερεοδιάταξη όταν η ταυτότητα του δεσμευόμενου νουκλεοτιδίου αλλάζει από το σύμπλοκο ADP-VO_4^{-3} (A) σε μορφή χωρίς νουκλεοτίδιο (B), ή αντιστρόφως, συμπεριλαμβανομένου ενός επαναπροσανατολισμού του μοχλοβραχίονα κατά 90° σχεδόν. [Σχεδιασμένο από 1 DFL.pdb και 1 SR6.pdb.]



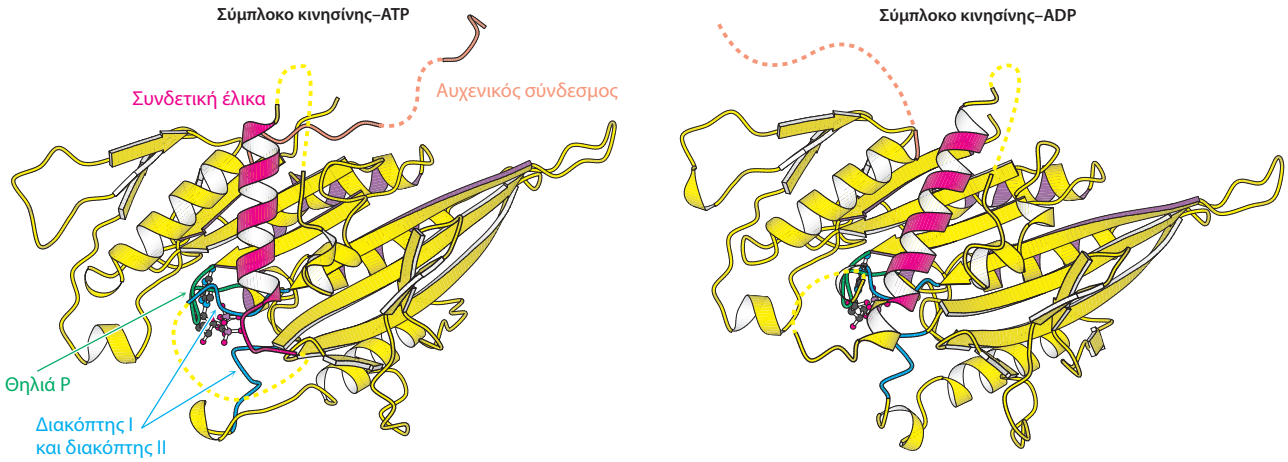
ΕΙΚΟΝΑ 36.10 Συνδετική έλικα. Η υπέρθεση των κύριων συστατικών δύο μορφών της μυοσίνης του μαλακίου κτένι αναδεικνύει τις δομικές αλλαγές που μεταδίδονται μέσω της συνδετικής έλικας από τις θηλιές των διακοπτών I και II στη βάση του μοχλοβραχίονα. Οι θηλιές του διακόπτη I και του διακόπτη II αλληλεπιδρούν με το ανιόν VO_4^{-3} στη θέση που θα καταλάμβανε η φωσφορική ομάδα γ της ATP. Η δομή του συμπλόκου μυοσίνης-ADP-VO_4^{-3} φαίνεται με πιο ανοιχτά χρώματα. [Σχεδιασμένο από 1 DFL.pdb και 1 SR6.pdb.]

απουσιάζει (Εικόνα 36.10). Αυτή η αλλαγή της στερεοδιάταξης επιτρέπει σε μια μακριά *α*-έλικα (που ονομάζεται *συνδετική έλικα*) να προσαρμόσει τη θέση της. Το καρβοξυτελικό άκρο της συνδετικής έλικας αλληλεπιδρά με τις δομές της βάσης του μοχλοβραχίονα, και έτσι μια αλλαγή στη θέση της συνδετικής έλικας οδηγεί σε επαναπροσανατολισμό του μοχλοβραχίονα.

Ανάλογες αλλαγές στη στερεοδιάταξη λαμβάνουν χώρα και στην κινησίνη. Οι κινησίνες έχουν κι αυτές μια συνδετική έλικα η οποία μπορεί να βρίσκεται σε διάφορες στερεοδιατάξεις όταν η κινησίνη συνδέεται με διάφορα νουκλεοτίδια. Ωστόσο, η κινησίνη δεν διαθέτει μοχλοβραχίονα τύπου *α*-έλικας. Αντ' αυτού, ένα σχετικά βραχύ τμήμα που ονομάζεται *αυχενικός σύνδεσμος* υφίσταται αλλαγές στη στερεοδιάταξη ως απόκριση στη δέσμευση του νουκλεοτιδίου (Εικόνα 36.11). Ο αυχενικός σύνδεσμος δεσμεύεται στην επικράτεια κεφαλής της κινησίνης όταν είναι συνδεδεμένη με ATP, αλλά απελευθερώνεται όταν η θέση σύνδεσης του νουκλεοτιδίου είναι κενή ή έχει καταληφθεί από ADP.

36.2 Οι μυοσίνες κινούνται κατά μήκος των νηματίων της ακτίνης

Οι μυοσίνες, οι κινησίνες και οι δυνεΐνες κινούνται μέσω ανακύκλωσης μεταξύ καταστάσεων με διαφορετική συγγένεια για διάφορα επιμήκη, πολυμερή μακρομόρια τα οποία χρησιμεύουν ως τροχιές μετακίνησής τους. Για τη μυοσίνη, η μοριακή τροχιά είναι μια πολυμερής μορφή της *ακτίνης*, μιας πρωτεΐνης 42



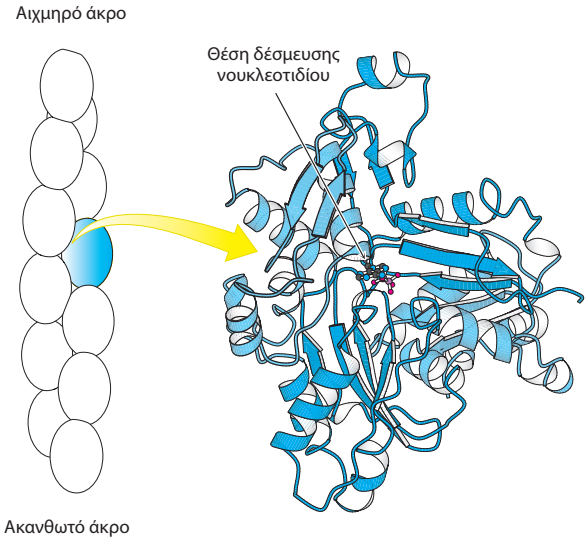
ΕΙΚΟΝΑ 36.11 Αυχενικός σύνδεσμος. Μια σύγκριση των δομών της κινησίνης που δεσμεύεται σε ADP ή σε ανάλογο της ATP. *Παρατηρήστε* ότι ο αυχενικός σύνδεσμος (πορτοκαλί χρώμα) ο οποίος συνδέει την επικράτεια κεφαλής με το υπόλοιπο του μορίου της κινησίνης δεσμεύεται στην επικράτεια κεφαλής παρουσία του αναλόγου της ATP, αλλά είναι ελεύθερος παρουσία μόνο της ADP. [Σχεδιασμένο από 1 I6I.pdb και 1 I5S.pdb.]

kDa που είναι από τις πιο άφθονες στα κύτταρα, αφού συνήθως αντιστοιχεί στο 10% περίπου της ολικής πρωτεΐνης στα ευκαρυωτικά κύτταρα. Θα αρχίσουμε με μια γενική συζήτηση για την πολυμερή δομή της ακτίνης και τη συγκρότησή της. Κατόπιν θα εξετάσουμε τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ ακτίνης και μυοσίνης, όπου θα συμπεριλάβουμε τις δομικές και τις δυναμικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των δύο πρωτεϊνικών μορίων. Τελος, θα στραφούμε στη δομή του μυός και στον ρόλο της μυοσίνης και της ακτίνης στη μυϊκή συστολή.

Η ακτίνη είναι ένα πολικό, αυτοσυγκροτούμενο δυναμικό πολυμερές

Η δομή του μονομερούς της ακτίνης έχει προσδιοριστεί σε επίπεδο ατομικής ανάλυσης με την τεχνική της κρυσταλλογραφίας με ακτίνες X και έχει χρησιμοποιηθεί για να ερμηνευθεί η δομή των νηματίων ακτίνης, που σε κάποιον βαθμό ήταν ήδη γνωστή, σε χαμηλότερο επίπεδο ανάλυσης, από μελέτες με ηλεκτρονιακό μικροσκόπιο. Κάθε μονομερές της ακτίνης περιέχει τέσσερις επικράτειες (Εικόνα 36.12). Αυτές οι επικράτειες περιβάλλουν όλες μαζί ένα συνδεδεμένο νουκλεοτίδιο, που μπορεί να είναι είτε η ATP είτε η ADP. Η μορφή ATP της ακτίνης μπορεί να μετατραπεί σε μορφή ADP με υδρόλυση.

Τα μονομερή της ακτίνης (που συχνά αναφέρονται ως *ακτίνη G*, από τη λέξη globular, σφαιρική) ενώνονται και συγκροτούν τα νημάτια της ακτίνης (που συχνά ονομάζεται *ακτίνη F*, βλ. Εικόνα 36.12). Η ακτίνη F έχει ελικοειδή μορφή· κάθε μονομερές σχετίζεται με το προηγούμενο με μετατόπιση κατά 27,5 Å και στροφή κατά 166° γύρω από τον ελικοειδή άξονα. Λόγω της στροφής σχεδόν κατά 180°, η ακτίνη F μοιάζει με ένα δίκλωνο καλώδιο. Σημειώστε ότι κάθε μονομερές της ακτίνης είναι προσανατολισμένο στην ίδια κατεύθυνση κατά μήκος του νηματίου ακτίνης F, ώστε η δομή να είναι πολική, με δύο σαφώς διαφορετικά άκρα. Το ένα άκρο ονομάζεται ακανθωτό (θετικό) και το άλλο άκρο αιχμηρό (αρνητικό). Τα ονόματα αυτά αναφέρονται στην εμφάνιση που έχει το νημάτιο της ακτίνης όταν τα θραύσματα S1 της μυοσίνης είναι συνδεδεμένα σε αυτό.



ΕΙΚΟΝΑ 36.12 Η δομή της ακτίνης. (Αριστερά) Σχηματική απεικόνιση μονομερών ακτίνης ενός νηματίου ακτίνης (εμφανίζεται το ένα με μπλε χρώμα). (Δεξιά) Οι επικράτειες ενός μονομερούς ακτίνης, που αποτελείται από τέσσερις επικράτειες, αναγνωρίζονται από τις διαφορετικές αποχρώσεις του μπλε. *Παρατηρήστε* τη θέση δέσμευσης νουκλεοτιδίου στο κέντρο της δομής. [Σχεδιασμένο από 1 J6Z.pdb.]

Πώς δημιουργούνται τα νημάτια της ακτίνης; Όπως πολλές άλλες βιολογικές δομές, τα νημάτια της ακτίνης αυτοσυγκροτούνται· αυτό σημαίνει ότι, σε κατάλληλες συνθήκες, τα μονομερή της ακτίνης ενώνονται και σχηματίζουν καλά δομημένα πολικά νημάτια. Οι συνθήκες για τη συσσώρευση των πρώτων δύο ή τριών μονομερών για τη δημιουργία νηματίου είναι πολύ δυσμενείς. Γι' αυτό, ειδικά πρωτεϊνικά σύμπλοκα, όπως το Arp2/3, χρησιμεύουν ως πυρήνες συγκρότησης της ακτίνης στο κύτταρο. Άπαξ και υπάρξει ένας τέτοιος πυρήνας νηματίου, η περαιτέρω προσθήκη και άλλων μονάδων είναι πιο εύκολη. Ας δούμε αυτή την αντίδραση πολυμερισμού λεπτομερέστερα. Ορίζουμε ένα νημάτιο ακτίνης με n υπομονάδες ως A_n. Σε αυτό το νημάτιο μπορεί να συνδεθεί ένα ακόμη μονομερές ακτίνης A, και σχηματίζεται το A_{n+1}.

$$K_d = \frac{[A_n]\,[A]}{[A_{n+1}]}$$

Η σταθερά διάστασης K_d, για αυτή την αντίδραση, ορίζει τις συγκεντρώσεις του μονομερούς στις οποίες η αντίδραση του πολυμερισμού θα πραγματοποιηθεί, διότι η συγκέντρωση των πολυμερών $n + 1$ θα ισούται στην ουσία με εκείνη των πολυμερών με μήκος n. Έτσι,

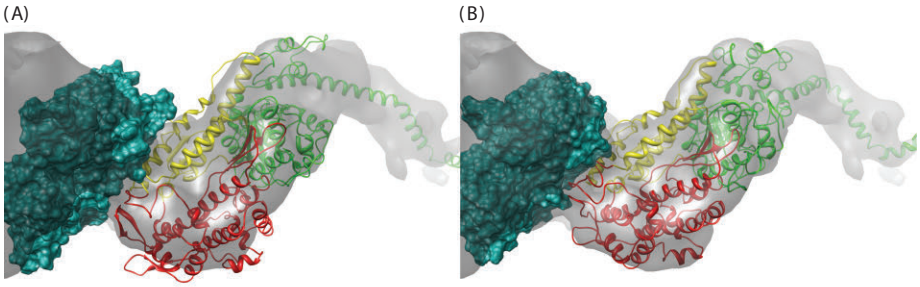
$$[A_n] \sim [A_{n+1}] \text{ και άρα } K_d = \frac{[A_n]\,[A]}{[A_{n+1}]} \sim [A]$$

Με άλλα λόγια, η αντίδραση πολυμερισμού θα προχωρήσει έως ότου η συγκέντρωση του μονομερούς μειωθεί έως την τιμή της K_d. Εάν η συγκέντρωση του μονομερούς είναι κάτω από την τιμή της K_d, η αντίδραση πολυμερισμού δεν θα προχωρήσει καθόλου· πράγματι, τα προϋπάρχοντα νημάτια ακτίνης θα αποπολυμεριστούν μέχρις ότου η συγκέντρωση του μονομερούς φθάσει στην τιμή της K_d. Λόγω αυτών των φαινομένων, η K_d αναφέρεται ως *κρίσιμη συγκέντρωση* για το πολυμερές. Υπενθυμίζεται ότι η ακτίνη περιέχει μια θέση δέσμευσης νουκλεοτιδίου που μπορεί να περιέχει ATP ή ADP. Η κρίσιμη συγκέντρωση για το σύμπλοκο ακτίνης-ATP είναι 20 φορές μικρότερη από εκείνη του σύμπλοκου ακτίνης-ADP· το σύμπλοκο ακτίνης-ATP πολυμερίζεται πιο εύκολα από το αντίστοιχο ακτίνης-ADP.

Τα νημάτια ακτίνης στο εσωτερικό των κυττάρων είναι πολύ δυναμικές κατασκευές που συνεχώς προσλαμβάνουν και αποβάλλουν μονομερή. Η πυρήνωση μέσω συμπλόκων όπως το Arp2/3 μπορούν να προκαλούν την έναρξη του πολυμερισμού της ακτίνης-ATP. Αντιθέτως, η υδρόλυση της συνδεδεμένης ATP προς ADP διευκολύνει τον *απο*πολυμερισμό της ακτίνης. Αυτή η αντίδραση λειτουργεί ως χρονόμετρο δημιουργίας κινητικά ασταθών νηματίων καθώς, στην πάροδο του χρόνου, η ATP υδρολύεται καθιστώντας τα νημάτια πιο αστα-θή. Πρωτεΐνες που συνδέονται με μονομερή ακτίνης ή προάγουν τον διαχωρισμό των νηματίων αυτών παίζουν επίσης τον δικό τους ρόλο. Οι αντιδράσεις πολυμερισμού μπορούν να ασκούν δυνάμεις εξώθησης ή έλξης των κυτταρικών μεμβρανών. *Ο ρυθμιζόμενος πολυμερισμός της ακτίνης παίζει κεντρικό ρόλο στις μεταβολές του κυτταρικού σχήματος που σχετίζονται με την κίνηση της αμοιβάδας καθώς και διάφορων κυττάρων του ανθρώπου, όπως είναι τα μακροφάγα.*

Οι επικράτειες κεφαλής της μυοσίνης συνδέονται με νημάτια ακτίνης

Δεν έχει καταστεί δυνατόν να προσδιοριστεί in vivo η δομή του συμπλέγματος μεταξύ ακτίνης και μυοσίνης με αρκούντως υψηλή διακριτική ικανότητα ώστε να μπορούν να εντοπιστούν μοριακές λεπτομέρειες. Ωστόσο, η επεξεργασία των νηματίων της ακτίνης με θραύσματα S1 μυοσίνης απουσία ATP έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός συμπλέγματος που αναφέρεται ως *διακοσμημένη ακτίνη* και του οποίου η δομή έχει καθοριστεί με κρυοηλεκτρονιακή μικροσκοπία διακριτικής ικανότητας 13 Å. Αν και αυτή η διακριτική ικανότητα, από μόνη της, δεν είναι δυνατόν να μας δώσει τη δυνατότητα να παρατηρήσουμε μοριακές λεπτομέρειες, η υπέρθεση των υψηλής διακριτικής ικανότητας δομών των μονομερών της ακτίνης και των θραυσμάτων S1 της μυοσίνης στη δομή της διακοσμημένης ακτίνης μπορεί να αποτελέσει πηγή της εις βάθος κατανόησης των λεπτομερειών της δομής της (Εικόνα 36.13). Η επικράτεια κεφαλής της μυοσίνης βρίσκεται σε μια στερεοδιάταξη παρόμοια με εκείνη που παρατηρείται για τη μορφή χωρίς νουκλεοτίδιο. Αυτή η δομή αποκαλύπτει επίσης τις επιφάνειες αλληλεπίδρασης μεταξύ μυοσίνης και ακτίνης. Η μοντελοποίηση οδηγεί στην υπόθεση ότι οι αλλαγές στη στερεοδιάταξη της επικράτειας κεφαλής της μυοσίνης προκαλούν,



ΕΙΚΟΝΑ 36.13 Η δομή μιας μυοσίνης συνδεμένης με ακτίνη. (A) Η γκρίζα επιφάνεια αναπαριστά τη δομή που παρατηρήθηκε με κρυοηλεκτρονιακή μικροσκοπία· το πράσινο χωροπληρωτικό μοντέλο αναπαριστά μια μονάδα ακτίνης. Το διάγραμμα κορδέλας δείχνει τη δομή του θραύσματος S1 της μυοσίνης αγκυρωμένου στη δομή της κρυοηλεκτρονιακής μικροσκοπίας. *Παρατηρήστε* ότι μέρος της δομής της μυοσίνης βρίσκεται έξω από τη γκρίζα επιφάνεια. (B) Η δομή, μετά την προσαρμογή της δομής του θραύσματος S1, έτσι ώστε να ταιριάζει περισσότερο στη δομή που παρατηρείται με την κρυοηλεκτρονιακή μικροσκοπία. *Παρατηρήστε* ότι τώρα η δομή της μυοσίνης ταιριάζει περισσότερο στην γκρίζα επιφάνεια. [M. Lorenz and K. Holmes. *Pro. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2010 (107): 12529-12534.]

κατά κάποιον τρόπο, αύξηση της αλληλεπίδρασής της με τα νημάτια της ακτίνης. Αυτές οι αλλαγές στη στερεοδιάταξη έχουν ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός μικρού ανοίγματος στη θέση σύνδεσης της μυοσίνης με το νουκλεοτίδιο. Η παρατήρηση αυτή έχει επιπτώσεις αναφορικά με τον μηχανισμό με τον οποίο η μυοσίνη κινείται κατά μήκος των νηματίων της ακτίνης.

Οι κινήσεις μεμονωμένων πρωτεϊνικών κινητήρων είναι δυνατόν να παρατηρηθούν άμεσα

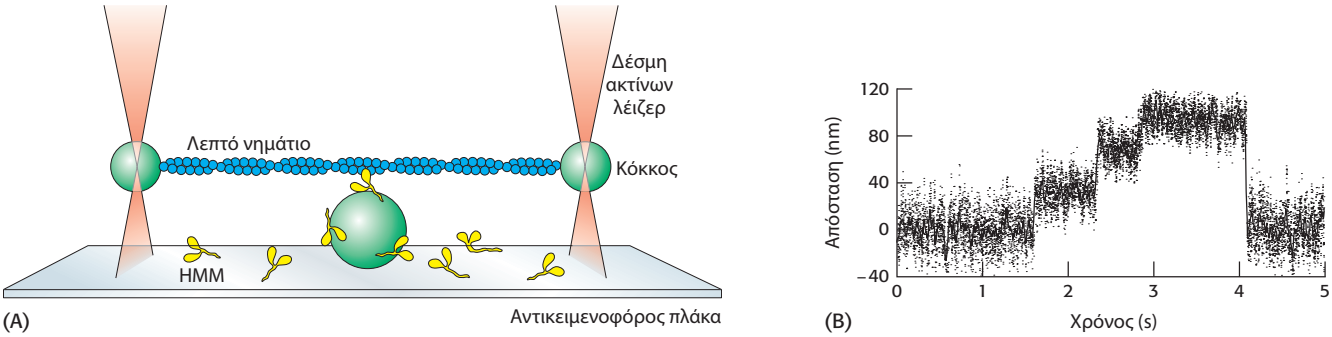
Τώρα που έχουμε καταλάβει τις αλλαγές στερεοδιάταξης που βρίσκονται πίσω από τη δράση της μυοσίνης, μπορούμε να διερευνήσουμε πώς η μυοσίνη «περπατάει» κατά μήκος της τροχιάς της ακτίνης. Οι μελέτες *μεμονωμένων μορίων μυοσίνης* που κινούνται σε σχέση με νημάτια ακτίνης έχουν αποτελέσει πηγή βαθιάς γνώσης των μηχανισμών της μυϊκής συστολής και άλλων πολύπλοκων διεργασιών. Ένα ισχυρό εργαλείο για τις μελέτες αυτές ονομάζεται *οπτική παγίδα* και στηρίζεται σε πολύ καλά εστιασμένες ακτίνες λέιζερ (Εικόνα 36.14). Μικροί κόκκοι μπορεί να πιαστούν στις παγίδες αυτές και να μεταφερθούν στην κατάλληλη θέση μέσα σε διάλυμα.

Η θέση των κόκκων μπορεί να παρατηρηθεί με ακρίβεια νανομέτρου. Ο James Spudich και οι συνεργάτες του σχεδίασαν μια πειραματική διάταξη αποτελούμενη από ένα νημάτιο ακτίνης που είχε έναν κόκκο προσκολλημένο στο κάθε άκρο του. Κάθε κόκκος μπορούσε να παγιδευθεί στην οπτική παγίδα (μία στο κάθε άκρο του νηματίου) και το νημάτιο της ακτίνης να μεταφερθεί επάνω σε μια αντικειμενοφόρο πλάκα μικροσκοπίου που περιείχε άλλους κόκκους οι οποίοι είχαν καλυφθεί με θραύσματα μυοσίνης όπως είναι τα θραύσματα της βαριάς μερομυοσίνης (βλ. Εικόνα 36.14). Με την προσθήκη ATP παρατηρήθηκαν παροδικές μετατοπίσεις του νηματίου της ακτίνης κατά μήκος του επιμήκους άξονά του. Το μέγεθος των βημάτων μετατόπισης ήταν ουσιαστικά ομοιόμορφο, με μέση τιμή 11 nm (110 Å).

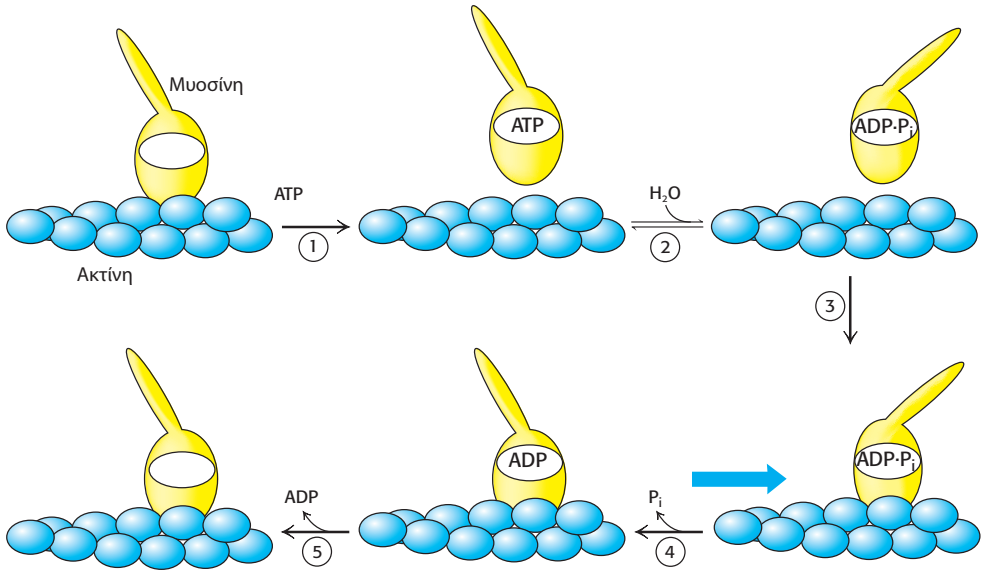
Τα αποτελέσματα από τις μελέτες αυτές, που πραγματοποιήθηκαν με διαφορετικές συγκεντρώσεις ATP, ερμηνεύονται ως να δείχνουν ότι καθεμία από τις κεφαλές της μυοσίνης προσδένεται στο νημάτιο της ακτίνης και υφίσταται μια αλλαγή της στερεοδιάταξης (*παλμός ενέργειας*), με αποτέλεσμα την έλξη του νηματίου της ακτίνης και τη μετατόπιση των κόκκων. Έπειτα από ένα ορισμένο χρονικό διάστημα, η κεφαλή της μυοσίνης απελευθερώνει την ακτίνη, η οποία αναπηδά πίσω στη θέση της.

Η απελευθέρωση του ανόργανου φωσφορικού αποτελεί το έναυσμα για τον παλμό ενέργειας

Πώς η υδρόλυση της ATP ωθεί τον παλμό ενέργειας; Μια καθοριστική παρατήρηση είναι ότι η προσθήκη ATP στο σύμπλοκο μυοσίνης-ακτίνης προκαλεί διάσταση του συμπλόκου. Έτσι, γίνεται φανερό ότι η πρόσδεση και η υδρόλυση της ATP δεν είναι δυνατόν να είναι άμεσα υπεύθυνες για τον παλμό ενέργειας. Μπορούμε να συνδυάσουμε το γεγονός αυτό με τις παρατηρήσεις των αλλαγών



ΕΙΚΟΝΑ 36.14 Παρατηρώντας έναν πρωτεϊνικό κινητήρα σε δράση. (A) Ένα νημάτιο ακτίνης (μπλε) έχει τοποθετηθεί επάνω από το θραύσμα της βαριάς μερομυοσίνης (HMM) (κίτρινο) το οποίο προβάλλει από έναν κόκκο που βρίσκεται σε μια αντικειμενοφόρο πλάκα. Ένας κόκκος που έχει συνδεθεί στο κάθε άκρο τού νηματίου της ακτίνης διατηρείται μέσα σε μια οπτική παγίδα που έχει δημιουργηθεί από μια έντονη υπέρυθρη ακτίνα λέιζερ (πορτοκαλί). Η θέση αυτών των κόκκων μπορεί να υπολογιστεί με ακρίβεια νανομέτρου. (B) Καταγραφή της μετακίνησης του νηματίου της ακτίνης εξαιτίας ενός παραγώγου της μυοσίνης προσκολλημένου σε έναν κόκκο, μετά από την προσθήκη ATP. *Παρατηρήστε* τα σχετικά ομοιόμορφα μεγέθη των βημάτων που έχουν παρατηρηθεί. [(A) Κατά J. T. Finer, R. M. Simmons and J. A. Spudich, *Nature* 368:113-119, 1994. (B) Κατά R. S. Rock, M. Rief, A. D. Metra, and J. A. Spudich. *Methods* 22:378-381, 2000.]



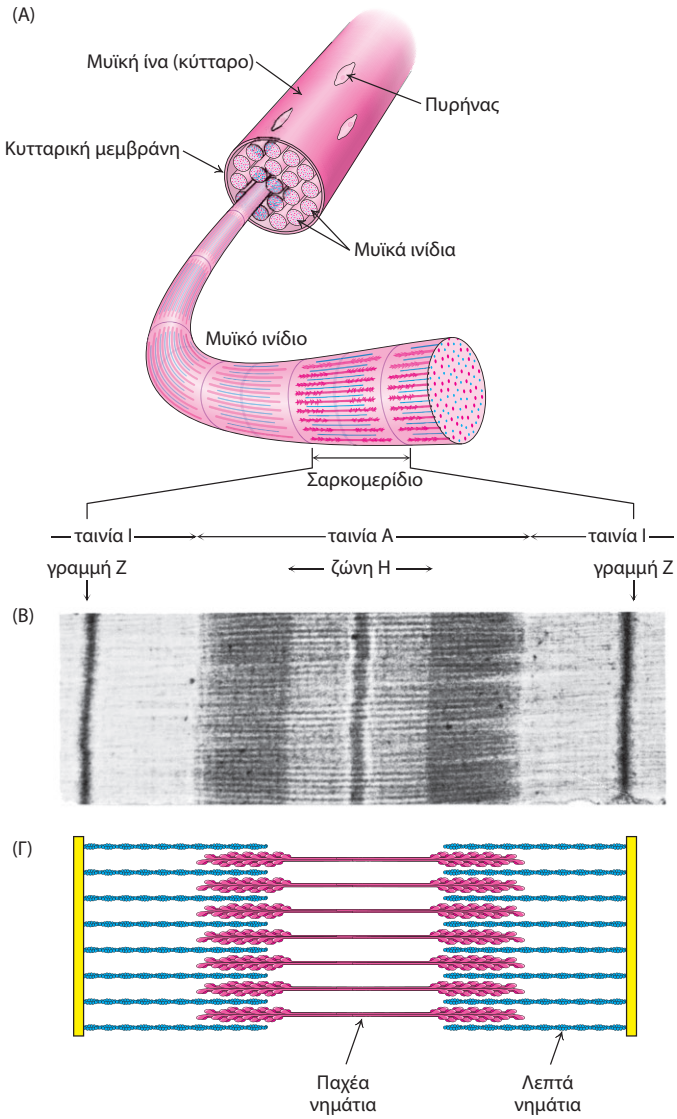
ΕΙΚΟΝΑ 36.15 Η κίνηση της μυοσίνης κατά μήκος της ακτίνης. Μια κεφαλή της μυοσίνης (κίτρινο) στην αποδεσμευμένη μορφή έχει προσδεθεί σε ένα νημάτιο ακτίνης (μπλε). Η πρόσδεση της ATP (1) προκαλεί απελευθέρωση της μυοσίνης από την ακτίνη. Η αναστρέψιμη υδρόλυση της ATP που έχει προσδεθεί στη μυοσίνη (2) μπορεί να προκαλέσει επαναπροσανατολισμό του μοχλοβραχίονα της μυοσίνης. Με την υδρόλυση της ATP, αλλά με προϊόντα της υδρόλυσης ακόμη συνδεμένα με τη μυοσίνη, η μυοσίνη μπορεί να προσδεθεί στην ακτίνη (3). Η απελευθέρωση P_i (4) έχει ως αποτέλεσμα τον επαναπροσανατολισμό του μοχλοβραχίονα και τη σύγχρονη μετακίνηση της ακτίνης σε σχέση με τη μυοσίνη. Η απελευθέρωση της ADP (5) περατώνει τον κύκλο.

της δομής που περιγράφηκαν προηγουμένως, προκειμένου να δομήσουμε έναν μηχανισμό για τη μετακίνηση της μυοσίνης κατά μήκος της ακτίνης (Εικόνα 36.15). Ας αρχίσουμε με τη μυοσίνη χωρίς νουκλεοτίδιο και συνδεδεμένη με την ακτίνη. Η πρόσδεση ATP στη μυοσίνη προκαλεί διάσταση της μυοσίνης από την ακτίνη. Όταν η μυοσίνη είναι συνδεδεμένη με την ATP και ελεύθερη από την ακτίνη, η επικράτεια κεφαλής υφίσταται αλλαγή της στερεοδιάταξης που συνδέεται με τη μεταβατική κατάσταση για την υδρόλυση της ATP. Αυτή η αλλαγή της στερεοδιάταξης έχει ως αποτέλεσμα τον επαναπροσανατολισμό του μοχλοβραχίονα. Σε αυτή τη μορφή, η κεφαλή της μυοσίνης μπορεί να ελλιμενιστεί επάνω στο νημάτιο της ακτίνης· το φωσφορικό απελευθερώνεται με σύγχρονη μετακίνηση του μοχλοβραχίονα. *Η αλλαγή αυτή της στερεοδιάταξης αντιπροσωπεύει τον παλμό ενέργειας και μετακινεί το σώμα του μορίου της μυοσίνης σε σχέση με το νημάτιο της ακτίνης κατά 110 Å περίπου.* Η απελευθέρωση της ADP ολοκληρώνει τον κύκλο.

Οι μύες είναι σύμπλοκα μυοσίνης και ακτίνης

Ο μηχανισμός μετακίνησης ενός μορίου μυοσίνης σε σχέση με ένα νημάτιο ακτίνης εξηγεί τη μυϊκή συστολή. Οι μύες των σπονδυλωτών που βρίσκονται κάτω από τον έλεγχο της βούλησης, όπως ο δικέφαλος και ο τρικέφαλος του άνω άκρου, όταν εξεταστούν με το οπτικό μικροσκόπιο, εμφανίζουν γραμμωτή όψη. Αποτελούνται από πολυπύρηνα κύτταρα τα οποία περιβάλλονται από μια ηλεκτρικά διεγέρσιμη κυτταρική μεμβράνη. Ένα μυϊκό κύτταρο περιέχει πολλά παράλληλα *μυϊκά ινίδια*, καθένα από τα οποία έχει διάμετρο περίπου 1 μm. Η λειτουργική μονάδα, που ονομάζεται *σαρκομερίδιο*, επαναλαμβάνεται συνήθως κάθε 2,3 μm (23.000 Å) κατά μήκος του άξονα του ινιδίου ενός μυός σε χάλαση (Εικόνα 36.16). Μια σκοτεινή *ταινία A* (ανισότροπη) και μια φωτεινή *ταινία I* (ισότροπη) εναλάσσονται κανονικά. Η κεντρική περιοχή της ταινίας A, που ονομάζεται *ζώνη H*, είναι λιγότερο πυκνή από την υπόλοιπη ταινία. Η ταινία I χωρίζεται στα δύο από μια πολύ πυκνή στενή *γραμμή Z*.

Η μοριακή βάση ενός σαρκομεριδίου αποκαλύπτεται από την εγκάρσια διατομή ενός μυϊκού ινιδίου. Αυτές οι εγκάρσιες διατομές αναδεικνύουν την ύπαρξη δύο τύπων αλληλεπιδρώντων πρωτεϊνικών νηματίων. Τα *παχέα νημάτια* έχουν διάμετρο περίπου 15 nm (150 Å) και αποτελούνται κυρίως από μυοσίνη. Τα *λεπτά νημάτια* έχουν διάμετρο περίπου 8 nm (80 Å) και αποτελούνται από ακτίνη, καθώς επίσης από *τροπομυοσίνη* και από το *σύμπλοκο της τροπονίνης*. Η μυϊκή συστολή επιτυγχάνεται με την ολίσθηση των λεπτών νηματίων κατά μήκος των παχέων νηματίων, που ωθείται από την υδρόλυση της ATP (Εικόνα 36.17).

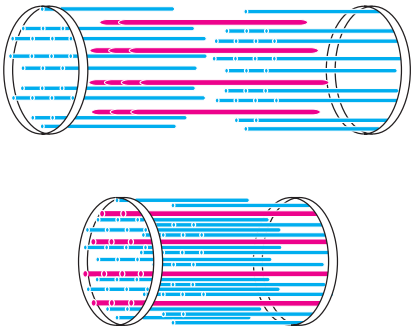


ΕΙΚΟΝΑ 36.16 Σαρκομερίδιο. (A) Δομή ενός μυϊκού κυττάρου και ενός μυϊκού ινιδίου που περιέχει σαρκομερίδια. (B) Ηλεκτρονιομικρογραφία μιας επιμήκους τομής ενός μυϊκού ινιδίου σκελετικού μυός που δείχνει ένα σαρκομερίδιο. (Γ) Σχηματική αναπαράσταση των περιοχών ενός σαρκομεριδίου που αντιστοιχούν στην ηλεκτρονιομικρογραφία. [(B) Ευγενική προσφορά Dr. Hugh Huxley.]

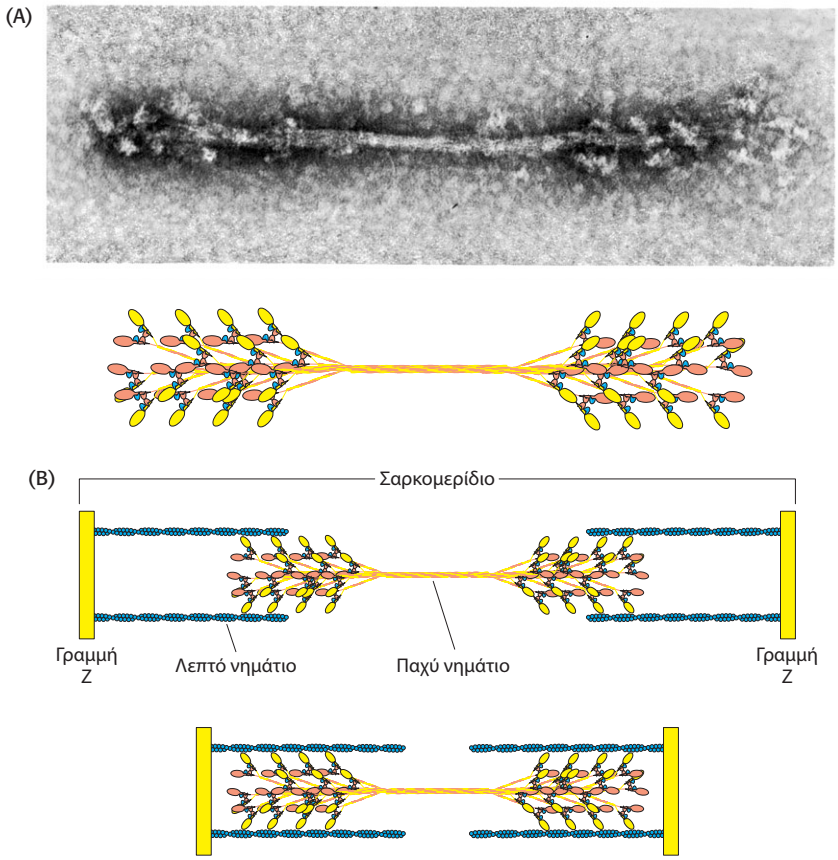
Προκειμένου να δημιουργηθούν τα παχέα νημάτια, τα μόρια της μυοσίνης αυτο-συγκροτούνται σε παχείες διπολικές δομές, με τις κεφαλές της μυοσίνης να προεξέχουν από τα δύο άκρα μιας γυμνής περιοχής στο κέντρο (Εικόνα 36.18A). Περίπου 500 επικράτειες κεφαλής συγκροτούν την επιφάνεια ενός παχέος νηματίου. Κάθε περιοχή πλούσια σε κεφαλές συνδέεται με δύο νημάτια ακτίνης, ένα στην κάθε πλευρά των μορίων της μυοσίνης (Εικόνα 36.18B). Η αλληλεπίδραση της κάθε κεφαλής της μυοσίνης με μονάδες ακτίνης δημιουργεί τη δύναμη διολίσθησης που προκαλεί τη μυϊκή συστολή.

Η τροπομυοσίνη και το σύμπλοκο της τροπονίνης ρυθμίζουν αυτή την ολίσθηση ως απόκριση σε νευρικές ώσεις. Σε συνθήκες ηρεμίας, η τροπομυοσίνη παρεμποδίζει τη στενή αλληλεπίδραση μεταξύ μυοσίνης και ακτίνης. Μια νευρική ώση οδηγεί σε αύξηση της συγκέντρωσης των ιόντων ασβεστίου μέσα στο μυϊκό κύτταρο. Μια συνιστώσα του συμπλόκου της τροπονίνης αντιλαμβάνεται την αύξηση των Ca^{2+} και, ως απόκριση, μειώνει την αναστολή που προκαλεί η τροπομυοσίνη στις αλληλεπιδράσεις μυοσίνης και ακτίνης.

Πώς εφαρμόζεται ο κύκλος αντιδράσεων της μυοσίνης στη μυϊκή συστολή; Υπενθυμίζεται ότι εκατοντάδες επικράτειες κεφαλής μυοσίνης προβάλλουν από τα άκρα του κάθε παχέος νηματίου. Οι επικράτειες κεφαλής σχηματίζουν ζεύγη από διμερή μυοσίνης, αλλά η κάθε κεφαλή μέσα στο ίδιο διμερές δρα ανεξάρτητα από την άλλη. Τα νημάτια ακτίνης προσδένονται στην κάθε πλούσια σε κεφαλές περιοχή, ενώ τα ακανθωτά άκρα της ακτίνης κείνται προς τη γραμμή



ΕΙΚΟΝΑ 36.17 Μοντέλο του ολισθαίνοντος νηματίου. Η μυϊκή συστολή εξαρτάται από την κίνηση των λεπτών νηματίων (μπλε) σε σχέση με τα παχέα νημάτια (κόκκινο). [Κατά H. E. Huxley. The mechanism of muscular contraction. Copyright © 1965 by Scientific American, Inc. All rights reserved.]



ΕΙΚΟΝΑ 36.18 Παχύ νημάτιο. (A) Ηλεκτρονιομικρογραφία ενός ανασυσταθέντος παχέος νηματίου που αναδεικνύει την παρουσία επικρατειών κεφαλής μυοσίνης σε κάθε άκρο και μια σχετικά στενή κεντρική περιοχή. Η σχηματική παρουσίαση δείχνει πώς συναθροίζονται τα μόρια της μυοσίνης για να συγκροτήσουν το παχύ νημάτιο. (B) Διάγραμμα που δείχνει την αλληλεπίδραση των παχέων και των λεπτών νηματίων κατά τη μυϊκή συστολή. [(A, Επάνω) Ευγενική προσφορά Dr. Hugh Huxley.]

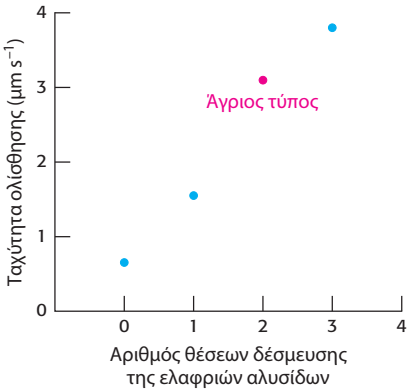
Z. Παρουσία φυσιολογικών επιπέδων ATP, οι περισσότερες κεφαλές μυοσίνης δεν είναι συνδεδεμένες με την ακτίνη. Κάθε κεφαλή μπορεί, ανεξάρτητα από τις άλλες, να υδρολύει ATP, να συνδέεται με την ακτίνη, να απελευθερώνει P_i και να υποβάλλεται σε παλμό ενέργειας. Επειδή λίγες από τις άλλες κεφαλές είναι συνδεδεμένες, το νημάτιο της ακτίνης είναι σχετικά ελεύθερο να διολισθήσει. Κάθε κεφαλή κάνει τον κύκλο πέντε φορές περίπου ανά δευτερόλεπτο και μετακινείται κατά 110 Å ανά κύκλο. Ωστόσο, όταν εκατοντάδες κεφαλές αλληλεπιδρούν με το ίδιο νημάτιο ακτίνης, τότε η ολική ταχύτητα μετακίνησης της μυοσίνης σε σχέση με την ακτίνη μπορεί να φθάσει τις 80.000 Å το δευτερόλεπτο, επιτρέποντας στο σαρκομερίδιο να συστέλλεται πολύ γρήγορα από την κατάσταση της πλήρους χάλασης στην πλήρη σύσπαση του μυός. Χάρη στο γεγονός ότι πολλές κεφαλές μυοσίνης συνδέονται και κινούν για βραχύ χρονικό διάστημα, και ανεξάρτητα η μία από την άλλη, ένα νημάτιο ακτίνης, επιτυγχάνεται πολύ μεγαλύτερη ταχύτητα από εκείνη που μπορεί να επιτευχθεί από έναν μόνο πρωτεϊνικό κινητήρα.

Το μήκος του μοχλοβραχίονα καθορίζει την ταχύτητα του κινητήρα

Ένα καθοριστικό χαρακτηριστικό των κινητήρων της μυοσίνης είναι ο ρόλος ενισχυτή που παίζει ο μοχλοβραχίονας. Ο μοχλοβραχίονας ενισχύει μικρές δομικές αλλαγές στη θέση δέσμευσης του νουκλεοτιδίου προκειμένου να επιτευχθεί η μετακίνηση των 110 Å κατά μήκος του νηματίου της ακτίνης που λαμβάνει χώρα σε κάθε κύκλο υδρόλυσης της ATP. Μια σημαντική πρόβλεψη για τον συγκεκριμένο μηχανισμό μετακίνησης της μυοσίνης κατά μήκος της ακτίνης είναι ότι το μήκος της μετακίνησης ανά κύκλο πρέπει να εξαρτάται από το μήκος του μοχλοβραχίονα. Έτσι, το μήκος του μοχλοβραχίονα πρέπει να επηρεάζει το ολικό μέγεθος της μετακίνησης της ακτίνης σε σχέση με μια συλλογή κεφαλών μυοσίνης.

Η πρόβλεψη αυτή ελέγχθηκε με τη χρήση μεταλλάξεων μυοσίνης με μοχλοβραχίονες διαφορετικού μήκους. Ο μοχλοβραχίονας της μυοσίνης του μυός πε-

ριλαμβάνει θέσεις δέσμευσης για δύο ελαφριές αλυσίδες (Υποκεφάλαιο 36.1). Έτσι, οι ερευνητές μείωσαν το μήκος του μοχλοβραχίονα απαλείφοντας τις αλληλουχίες που αντιστοιχούν στη μία ή και στις δύο θέσεις πρόσδεσης. Στη συνέχεια έλεγξαν τον ρυθμό με τον οποίο τα νημάτια της ακτίνης κινούνταν κατά μήκος αυτών των διαφορετικών μεταλλάξεων της μυοσίνης (Εικόνα 36.19). Όπως είχε προβλεφθεί, ο ρυθμός μειωνόταν καθώς ο μοχλοβραχίονας μίκραινε. Μια μετάλλαξη μυοσίνης με έναν μοχλοβραχίονα ασυνήθιστα μεγάλο δημιουργήθηκε με την προσθήκη των 23 αμινοξέων που αντιστοιχούν στη θέση πρόσδεσης προκειμένου να δημιουργηθεί μια επιπλέον θέση δέσμευσης για μια ρυθμιστική ελαφριά αλυσίδα. Είναι αξιοπρόσεκτο το γεγονός ότι η μορφή αυτή ήταν σε θέση να υποστηρίξει μια μετακίνηση της ακτίνης που ήταν *ταχύτερη από εκείνη που υποστηρίζει η πρωτεΐνη άγριου τύπου.* Τα αποτελέσματα αυτά παρέχουν ισχυρή υποστήριξη στον προταθέντα ρόλο του μοχλοβραχίονα, ότι δηλαδή συμβάλλει στη δραστικότητα κίνησης της μυοσίνης.



ΕΙΚΟΝΑ 36.19 Το μήκος του μοχλοβραχίονα της μυοσίνης. Η εξέταση του ρυθμού μετακίνησης της ακτίνης ανάλογα με διάφορες μεταλλάξεις μυοσίνης που διαθέτουν διαφορετικό αριθμό θέσεων πρόσδεσης με την ελαφριά αλυσίδα, αναδεικνύει μια γραμμική σχέση· όσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός των θέσεων πρόσδεσης στην ελαφριά αλυσίδα (και επομένως το μήκος του μοχλοβραχίονα) τόσο μεγαλύτερη είναι η ταχύτητα της ολίσθησης. [Κατά T. Q. P. Uyeda, P. D. Abramson, and J. A. Spudich, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 93: 4459-4464, 1996.]

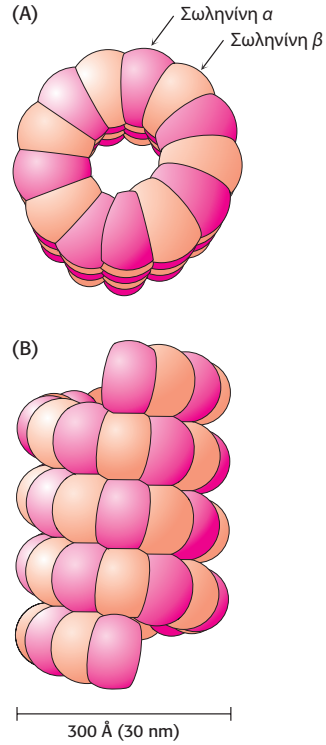
36.3 Η κινησίνη και η δυνεΐνη κινούνται κατά μήκος των μικροσωληνίσκων

Εκτός από την ακτίνη, ο κυτταρικός σκελετός περιέχει και άλλα συστατικά, συγκεκριμένα τα ενδιάμεσα νημάτια και τους μικροσωληνίσκους. Οι μικροσωληνίσκοι χρησιμεύουν ως τροχιές για τη μετακίνηση δύο κατηγοριών πρωτεϊνικών κινητήρων, των κινησινών και των δυνεϊνών. Οι κινησίνες που κινούνται κατά μήκος των μικροσωληνίσκων συνήθως μεταφέρουν φορτίο, όπως οργανίδια και κυστίδια, από το κέντρο του κυττάρου προς την περιφέρεια. Οι δυνεΐνες έχουν σημαντικό ρόλο στην ολίσθηση του ενός μικροσωληνίσκου σε σχέση με τον άλλο κατά την κίνηση των κροσσών και των μαστιγίων της επιφάνειας ορισμένων ευκαρυωτικών κυττάρων. Επιπλέον, η δυνεΐνη μεταφέρει φορτίο από την περιφέρεια του κυττάρου προς το κέντρο.

Ορισμένα μέλη της οικογένειας των κινησινών παίζουν κρίσιμο ρόλο στη μεταφορά οργανιδίων και άλλων φορτίων στις νευρικές απολήξεις στην περιφέρεια των νευρώνων. Δεν εκπλήσσει λοιπόν το γεγονός ότι ορισμένες μεταλλάξεις αυτών των κινησινών μπορούν να οδηγήσουν σε διαταραχές του νευρικού συστήματος. Παραδείγματος χάριν, μεταλλάξεις σε μια κινησίνη που ονομάζεται KIF1β μπορούν να οδηγήσουν στην πιο κοινή περιφερική νευροπάθεια (αδυναμία και πόνοι στα χέρια και τα πόδια), τη νόσο Charcot-Marie-Tooth, που προσβάλλει 1 στα 2.500 άτομα. Μια μετάλλαξη της γλουταμίνης σε λευκίνη στη θηλιά P της επικράτειας του κινητήρα αυτής της κινησίνης έχει εντοπιστεί σε μερικά από τα άτομα που έχουν προσβληθεί από τη νόσο. Έχουν δημιουργηθεί ποντικοί που έχουν υποστεί καταστροφή του ορθόλογου γονιδίου. Ποντικοί που είναι ετερόζυγοι ως προς την καταστροφή του γονιδίου αυτού εμφανίζουν συμπτώματα παρόμοια με εκείνα των ανθρώπων· οι ομοζυγώτες πεθαίνουν σε βραχύ χρονικό διάστημα μετά τη γέννηση. Μεταλλάξεις σε άλλα γονίδια κινησίνης έχουν συνδεθεί με τη σπαστική παραπληγία του ανθρώπου. Σε αυτές τις διαταραχές, ελαττώματα στη μεταφορά που συνδέεται με την κινησίνη μπορεί να παρεμποδίσουν άμεσα τη λειτουργία των νεύρων, ενώ η μείωση της δραστηριότητας συγκεκριμένων νευρώνων μπορεί να οδηγήσει σε άλλες εκφυλιστικές διεργασίες.

Οι μικροσωληνίσκοι είναι κοίλα κυλινδρικά πολυμερή

Οι *μικροσωληνίσκοι* αποτελούν βασικό συστατικό του κυτταρικού σκελετού. Σχηματίζονται από δύο τύπους ομόλογων υπομονάδων 50 kDa, τη σωληνίνη *α* και τη σωληνίνη *β*, οι οποίες συγκροτούνται εναλασσόμενες σε μια ελικοειδή διάταξη προκειμένου να σχηματίσουν το τοίχωμα ενός κοίλου κυλίνδρου (Εικόνα 36.20). Εναλλακτικά, ένας μικροσωληνίσκος μπορεί να θεωρηθεί ως 13

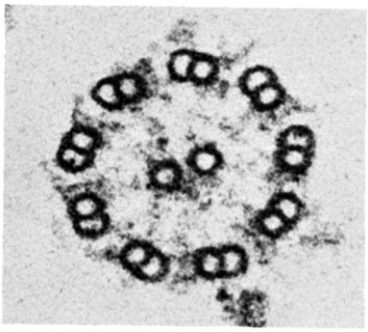


ΕΙΚΟΝΑ 36.20 Δομή του μικροσωληνίσκου. Σχηματικές όψεις της ελικοειδούς δομής ενός μικροσωληνίσκου. Η σωληνίνη *α* φαίνεται με κόκκινο και η σωληνίνη *β* με πορτοκαλί. (A) Κάτοψη. (B) Πλάγια όψη.

πρωτονημάτια τα οποία εκτείνονται παράλληλα κατά μήκος του επιμήκους άξονα του μικροσωληνίσκου. Η εξωτερική διάμετρος ενός μικροσωληνίσκου είναι 30 nm, πολύ μεγαλύτερη από εκείνη της ακτίνης (8 nm). Όπως η ακτίνη, οι μικροσωληνίσκοι εμφανίζουν πολικότητα. Το ένα άκρο, που ονομάζεται αρνητικό άκρο, αγκυροβολεί κοντά στο κέντρο του κυττάρου, ενώ το θετικό άκρο εκτείνεται προς την επιφάνεια του κυττάρου.

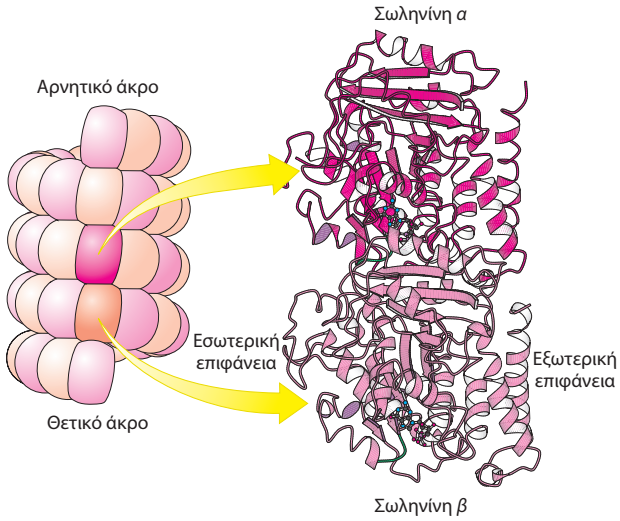
Οι μικροσωληνίσκοι είναι επίσης από τα κύρια συστατικά των κροσσών και των μαστιγίων που υπάρχουν σε ορισμένα ευκαρυωτικά κύτταρα. Παραδείγματος χάριν, τα σπερματοζωάρια προωθούνται με την κίνηση των μικροσωληνίσκων του μαστιγίου τους. Οι μικροσωληνίσκοι που υπάρχουν σε αυτές τις δομές έχουν κοινή αρχιτεκτονική (Εικόνα 36.21). Ένα δεμάτιο από μικροσωληνίσκους που ονομάζεται *αξόνημα* περιβάλλεται από μια μεμβράνη η οποία εφάπτεται με την κυτταρική μεμβράνη. Το αξόνημα αποτελείται από μια περιφερειακή ομάδα εννέα ζευγών μικροσωληνίσκων που περιβάλλουν δύο μονούς μικροσωληνίσκους. Αυτό το επαναλαμβανόμενο μοτίβο ονομάζεται συχνά *διάταξη 9 + 2*. Η δυνεΐνη ωθεί την κίνηση ενός μέλους από κάθε εξωτερικό ζεύγος σε σχέση με το άλλο, προκαλώντας έτσι την κάμψη όλης της δομής.

Οι μικροσωληνίσκοι έχουν μεγάλη σημασία στον καθορισμό του σχήματος των κυττάρων και στον διαχωρισμό των θυγατρικών χρωμοσωμάτων κατά τη μίτωση. Πρόκειται για πολύ δυναμικές μορφές που αυξάνονται με την προσθήκη σωληνίνης *α* και *β* στα άκρα των ήδη υπαρχουσών δομών. Όπως η ακτίνη, οι *σωληνίνες* προσδένουν και υδρολύουν τριφωσφορικούς νουκλεοζίτες, αν και, για τη σωληνίνη, το νουκλεοτίδιο που διασπά είναι μάλλον η GTP παρά η ATP. Η κρίσιμη συγκέντρωση για τον πολυμερισμό των μορφών GTP της σωληνίνης είναι χαμηλότερη από εκείνη των μορφών GDP. Έτσι, ένας νεοσχηματισθείς μικροσωληνίσκος αποτελείται κυρίως από σωληνίνες-GTP. Με την πάροδο του χρόνου, η GTP υδρολύεται σε GDP. Οι υπομονάδες σωληνίνης-GDP κατά μήκος του εσωτερικού ενός μικροσωληνίσκου παραμένουν σταθερά πολυμερισμένες, ενώ οι υπομονάδες σωληνίνης-GDP που εκτίθενται σε ένα άκρο έχουν ισχυρή τάση να αποπολυμεριστούν. Οι Marc Kirschner και Tim Mitchison διαπίστωσαν ότι σε έναν πληθυσμό μικροσωληνίσκων ορισμένοι έχουν την τάση να επιμηκύνονται και άλλοι την τάση να βραχύνονται κατά την ίδια χρονική στιγμή. Αυτή η ιδιότητα, που ονομάζεται *δυναμική αστάθεια*, προέρχεται από τυχαίες διακυμάνσεις του αριθμού των υπομονάδων GTP και GDP της σωληνίνης στο θετικό άκρο του πολυμερούς. Ο δυναμικός χαρακτήρας των μικροσωληνίσκων είναι κρίσιμος για διεργασίες, όπως η μίτωση, που χρειάζονται τη συγκρότηση και αποσυγκρότηση περίπλοκων δομών οι οποίες στηρίζονται στους μικροσωληνίσκους, όπως οι ίνες της ατράκτου.



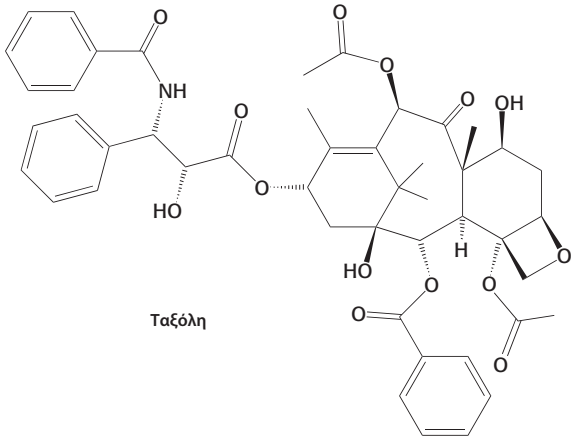
ΕΙΚΟΝΑ 36.21 Η διάταξη των μικροσωληνίσκων. Ηλεκτρονιομικρογραφία μιας εγκάρσιας διατομής του αξονήματος ενός μαστιγίου. Δείχνει εννέα δυάδες μικροσωληνίσκων που περιβάλλουν δύο μονούς μικροσωληνίσκους. [Ευγενική προσφορά Dr. Joel Rosenbaum.]

Η δομή ενός διμερούς της σωληνίνης έχει καθοριστεί με τις υψηλής διακριτικής ικανότητας μεθόδους της ηλεκτρονιακής κρυσταλλογραφίας (Εικόνα 36.22). Όπως αναμενόταν από την κατά 40% παρόμοια αλληλουχία αμινοξέων, οι σωληνίνες *α* και *β* έχουν παρόμοια τριδιάστατη δομή. Η περαιτέρω ανάλυση απέδειξε ότι οι σωληνίνες ανήκουν στην οικογένεια των NTPασών με θηλιά P και περιέχουν μια θέση σύνδεσης με νουκλεοτίδια που βρίσκεται κοντά στη θηλιά P. Σωληνίνες υπάρχουν μόνο στους ευκαρυώτες, αν και έχει ανακαλυφθεί ένα προκαρυωτικό ομόλογο. Η ανάλυση της αλληλουχίας αμινοξέων απέδειξε την ύπαρξη μιας προκαρυωτικής πρωτεΐνης που ονομάζεται FtsZ (filamentous temperature-sensitive mutant *Z*, νηματοειδές θερμοευαίσθητο μεταλλαγμένο στέλεχος *Z*), η οποία είναι αρκετά όμοια με τις σωληνίνες. Η ομολογία επιβεβαιώθηκε με τη μελέτη της δομής μέσω κρυσταλλογραφίας με ακτίνες X. Είναι ενδιαφέρον ότι αυτή η πρωτεΐνη συμμετέχει στην κυτταρική διαίρεση των βακτηρίων, σχηματίζοντας δακτυλιοειδείς δομές στην περίσφιξη που εμφανίζεται όταν διαιρείται το βακτήριο. Αυτές οι παρατηρήσεις υποδηλώνουν ότι οι σωληνίνες έχουν προέλθει από μια αρχαία πρωτεΐνη της κυτταρικής διαίρεσης.



ΕΙΚΟΝΑ 36.22 Σωληνίνη. Οι μικροσωληνίσκοι μπορούν να θεωρηθούν ως συγκρότηση διμερών σωληνίνης *α* και σωληνίνης *β*. Οι δομές της σωληνίνης *α* και *β* είναι παραπλήσιες· η καθεμία περιέχει μια επιικράτεια ΝΤΡάσης με θηλιά Ρ (πορφυρή σκίαση) και ένα προσδεμένο νουκλεοτίδιο γουανίνης. [Σχεδιασμένο από 1JFF.pdb.]

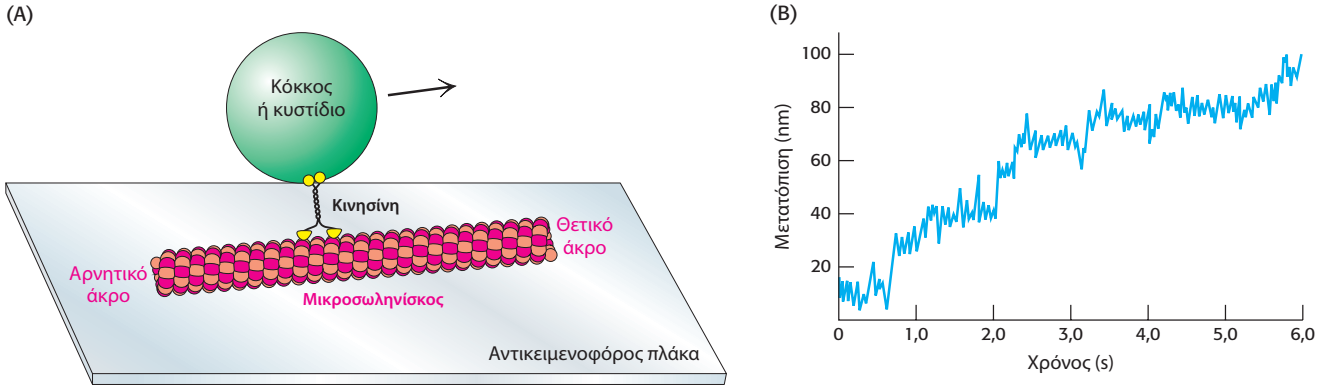
Η συνεχής επιμήκυνση και βράχυνση των μικροσωληνίσκων είναι απαραίτητες για τον ρόλο τους στην κυτταρική διαίρεση. Η *ταξόλη*, μια ουσία που έχει απομονωθεί από τον φλοιό του τάξου του Ειρηνικού (*Taxus brevifolia*), ανακαλύφθηκε λόγω της ιδιότητάς της να παρεμποδίζει την κυτταρική διαίρεση.



Η ταξόλη συνδέεται με τους μικροσωληνίσκους και σταθεροποιεί την πολυμερισμένη μορφή. Η ταξόλη και τα παράγωγά της χρησιμοποιούνται ως αντικαρκινικοί παράγοντες διότι επιδρούν κατά προτίμηση σε ταχέως διαιρούμενα κύτταρα, όπως είναι εκείνα των όγκων.

Η κίνηση της κινησίνης είναι εξαιρετικά επεξεργαστική

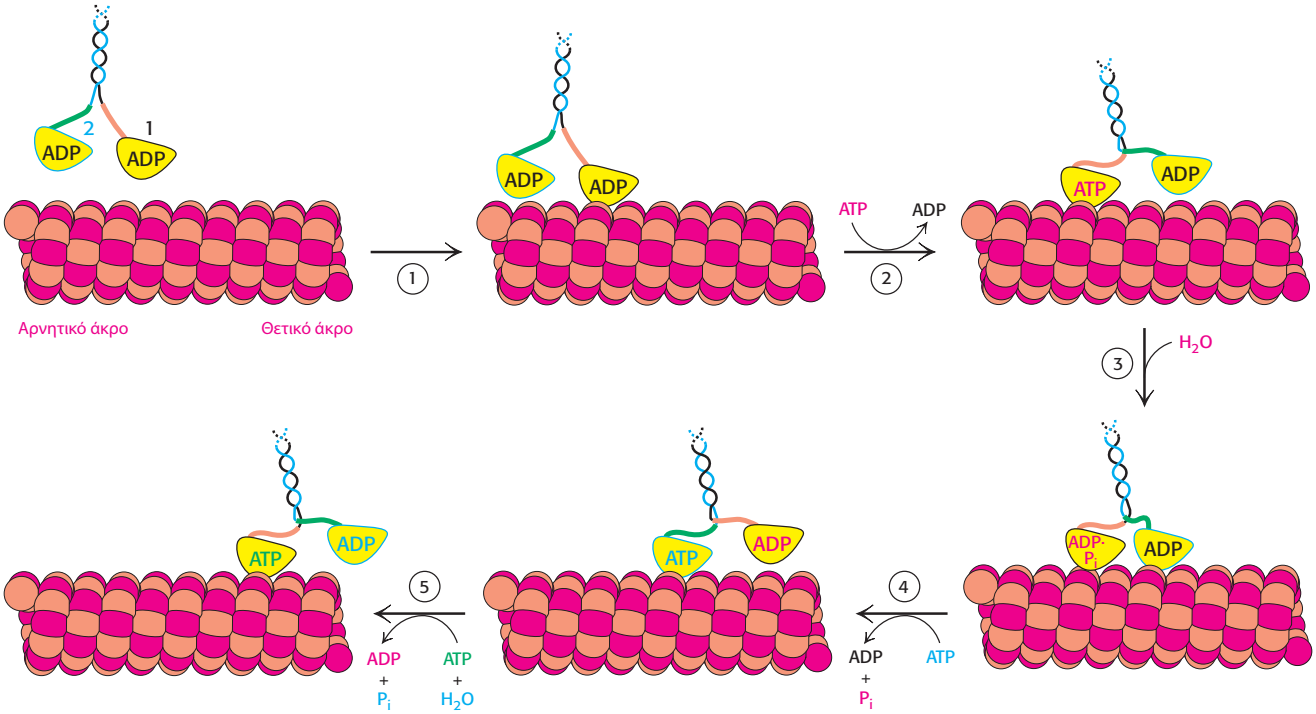
Οι κινησίνες είναι πρωτεϊνικοί κινητήρες που κινούνται κατά μήκος των μικροσωληνίσκων. Είδαμε ότι η μυοσίνη κινείται κατά μήκος των νηματίων της ακτίνης με μια διεργασία κατά την οποία η ακτίνη απελευθερώνεται σε κάθε κύκλο· κάθε κεφαλή μυοσίνης, δρώντας ανεξάρτητα, αποσυνδέεται από την ακτίνη μετά από κάθε παλμό ενέργειας. Αντιθέτως, όταν ένα μόριο κινησίνης κινείται κατά μήκος ενός μικροσωληνίσκου, οι δύο κεφαλές του μορίου της κινησίνης λειτουργούν εν σειρά: προσδένεται η μία και κατόπιν προσδένεται η επόμενη. Ένα μόριο κινησίνης μπορεί να κάνει πολλά βήματα μέχρι να φθάσει στην κατάσταση να είναι αποσυνδεδεμένες και οι δύο κεφαλές του την ίδια χρονική στιγμή. Με άλλα λόγια, η κίνηση της κινησίνης είναι εξαιρετικά επεξεργαστική. Μετρήσεις που αφορούν ένα μόριο κινησίνης επιτρέπουν την παρατήρηση της επεξεργαστικής κίνησης (Εικόνα 36.23). Ένα μόριο κινησίνης θα κάνει συνήθως 100 ή περισσότερα βήματα προς το θετικό άκρο ενός μικροσωληνίσκου σε χρονικό διάστημα μερικών δευτερολέπτων μέχρι να διασταθεί. Οι ίδιες μετρήσεις έδει-



ΕΙΚΟΝΑ 36.23 Έλεγχος των κινήσεων που διεκπεραιώνονται από την κινησίνη. (A) Η κίνηση κόκκων ή κυστιδίων που μεταφέρονται από ανεξάρτητα διμερή κινησίνης κατά μήκος του μικροσωληνίσκου είναι δυνατόν να παρατηρηθεί άμεσα. (B) Ένα ίχνος που δείχνει τη μετάθεση ενός κόκκου που μεταφέρεται από ένα μόριο κινησίνης. Πολλαπλά βήματα έχουν γίνει σε διάστημα 6 s. Το μέσο μέγεθος του βήματος είναι περίπου 8 nm (80 Å). [(B) Κατά K. Svoboda et al. *Nature* 365:721-727, 1993.]

ξαν επίσης ότι το μέσο μέγεθος ενός βήματος είναι περίπου 80 Å, τιμή που αντιστοιχεί στην απόσταση μεταξύ δύο επάλληλων μονάδων σωληνίνης *α* ή *β* κατά μήκος κάθε πρωτονηματίου.

Ένα ακόμη γεγονός είναι κρίσιμο για την ανάπτυξη ενός μηχανισμού κίνησης της κινησίνης, δηλαδή ότι η προσθήκη ATP *αυξάνει* σημαντικά τη συγγένεια της κινησίνης προς τους μικροσωληνίσκους. Η συμπεριφορά αυτή είναι αντίθετη από εκείνη της μυοσίνης· η σύνδεση της ATP στη μυοσίνη προάγει την *αποδέσμευσή* της από την ακτίνη. Μήπως αυτές οι διαφορές υποδηλώνουν ότι η κινησίνη και η μυοσίνη λειτουργούν με τελείως διαφορετικούς μηχανισμούς; Στην πραγματικότητα κάτι τέτοιο δεν συμβαίνει. Η κίνηση που δημιουργείται από την κινησίνη φαίνεται ότι λαμβάνει χώρα με μηχανισμό αρκετά παρόμοιο με εκείνον που χρησιμοποιείται από τη μυοσίνη (Εικόνα 36.24). Ας αρχίσουμε με ένα μόριο κινησίνης που περιέχει δύο κεφαλές, είναι συνδεδεμένο με ADP και έχει αποδεσμευθεί από έναν μικροσωληνίσκο. Υπενθυμίζεται ότι ο αυχενικός σύνδεσμος δεσμεύεται στην επικράτεια κεφαλής όταν είναι προσδεμένη



ΕΙΚΟΝΑ 36.24 Η κίνηση της κινησίνης κατά μήκος των μικροσωληνίσκων. (1) Η μία από τις δύο κεφαλές του μορίου της κινησίνης, που αρχικά είναι συνδεδεμένες με ADP, προσδένεται σε έναν μικροσωληνίσκο. (2) Η απελευθέρωση της ADP και η πρόσδεση ATP προκαλούν αλλαγή της στερεοδιάταξης, η οποία κλειδώνει την κεφαλή στον μικροσωληνίσκο και έλκει τον αυχενικό σύνδεσμο (πορτοκαλί) προς την επικράτεια της κεφαλής, προωθώντας τη δεύτερη επικράτεια προς το θετικό άκρο του μικροσωληνίσκου. (3) Η υδρόλυση της ATP λαμβάνει χώρα όταν η δεύτερη κεφαλή αλληλεπιδρά με τον μικροσωληνίσκο. (4) Η ανταλλαγή της ATP με ADP στη δεύτερη κεφαλή ωθεί την πρώτη κεφαλή μακριά από τον μικροσωληνίσκο, απελευθερώνοντας P_i και μετακινώντας την πρώτη επικράτεια κεφαλής κατά μήκος του μικροσωληνίσκου. (5) Ο κύκλος επαναλαμβάνεται, μετακινώντας το διμερές της κινησίνης κατά μήκος του μικροσωληνίσκου.

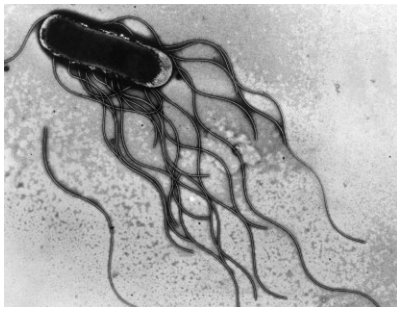
η ATP και αποδεσμεύεται όταν είναι προσδεμένη η ADP. Η αρχική αντίδραση μίας από τις επικράτειες κεφαλής με ένα διμερές σωληνίνης σε έναν μικροσωληνίσκο διεγείρει την απελευθέρωση ADP από την επικράτεια κεφαλής και την επακόλουθη πρόσδεση ATP. Η πρόσδεση της ATP πυροδοτεί αλλαγή της στερεοδιάταξης στην επικράτεια κεφαλής που οδηγεί σε δύο σημαντικά γεγονότα. Πρώτον, η συγγένεια της επικράτειας κεφαλής για τον μικροσωληνίσκο αυξάνεται, κλειδώνοντας έτσι αυτή την επικράτεια κεφαλής στη θέση της. Δεύτερον, ο αυχενικός σύνδεσμος συνδέεται με την επικράτεια κεφαλής. Η αλλαγή αυτή μεταβάλλει τη θέση της άλλης επικράτειας κεφαλής, δρώντας μέσω της επικράτειας του ελικοειδούς σπειράματος η οποία συνδέει τα δύο μονομερή της κινησίνης. Στη νέα θέση της, η δεύτερη επικράτεια κεφαλής βρίσκεται κοντά σε ένα δεύτερο διμερές σωληνίνης, σε απόσταση 80 Å προς την κατεύθυνση του θετικού άκρου. Εν τω μεταξύ, η ενδογενής δραστικότητα ATPάσης της πρώτης κεφαλής υδρολύει την ATP σε ADP και P_i. Όταν η δεύτερη επικράτεια κεφαλής προσδένεται στον μικροσωληνίσκο, η πρώτη κεφαλή απελευθερώνει την ADP και προσδένει ATP. Και πάλι, η πρόσδεση της ATP διευκολύνει μια αλλαγή της στερεοδιάταξης η οποία έλκει την πρώτη κεφαλή προς τα εμπρός. Η ίδια διεργασία συνεχίζεται για πολλούς κύκλους έως ότου, τυχαία, και οι δύο επικράτειες κεφαλών να είναι συγχρόνως συνδεδεμένες με ADP και η κινησίνη να αποχωρίζεται από τον μικροσωληνίσκο. Λόγω των σχετικών ρυθμών των συνιστωσών αντιδράσεων, μια ταυτόχρονη αποδέσμευση και των δύο κεφαλών παρατηρείται κάθε 100 περίπου κύκλους. Έτσι η κινησίνη «περπατάει» χέρι-χέρι κατά μήκος του μικροσωληνίσκου για περίπου 100 βήματα προτού και τα δύο «χέρια» απομακρυνθούν συγχρόνως. Αν και πρόσφατες μελέτες έχουν οδηγήσει σε ένα δομικό μοντέλο για τον παλμό ενέργειας της δυνεΐνης, ο μηχανισμός με τον οποίο πραγματοποιείται είναι άγνωστος και αποτελεί ένα ενδιαφέρον πεδίο πρωτοποριακής έρευνας.

Η κινησίνη υδρολύει την ATP με ρυθμό 80 μορίων ανά δευτερόλεπτο. Έτσι, με δεδομένο ότι το μέγεθος ενός βήματος είναι 80 Å ανά μόριο ATP, η κινησίνη κινείται κατά μήκος του μικροσωληνίσκου με ταχύτητα 6.400 Å ανά δευτερόλεπτο. Η ταχύτητα αυτή θεωρείται μικρότερη από τον μέγιστο ρυθμό της μυοσίνης, η οποία κινείται σε σχέση με την ακτίνη με ταχύτητα 80.000 Å ανά δευτερόλεπτο. Υπενθυμίζεται, ωστόσο, ότι η κίνηση της μυοσίνης εξαρτάται από την ανεξάρτητη δράση εκατοντάδων διαφορετικών επικρατειών κεφαλής οι οποίες λειτουργούν κατά μήκος του ίδιου νηματίου ακτίνης, ενώ η κίνηση της κινησίνης ωθείται από την επεξεργαστική δράση των κεφαλών της κινησίνης που εργάζονται σε ζεύγη. Η μυοσίνη του μυός εξελίχθηκε με στόχο την επίτευξη της μέγιστης ταχύτητας στην κίνηση, ενώ η κινησίνη λειτουργεί προκειμένου να επιτευχθεί σταθερή, αλλά βραδύτερη, μεταφορά προς μία κατεύθυνση κατά μήκος του νηματίου.

36.4 Ένας περιστροφικός κινητήρας ωθεί την κίνηση των βακτηρίων

Ένα κινούμενο βακτήριο μπορεί να μετακινηθεί σε απόσταση 25 περίπου μικρομέτρων, μήκος περίπου δεκαπλάσιο από εκείνο του σώματός του, σε ένα δευτερόλεπτο. Ένας δρομέας κινούμενος με ανάλογη ταχύτητα θα διήνυε τα 100 μέτρα σε χρόνο λίγο μεγαλύτερο από 5 δευτερόλεπτα. Οι κινητήρες που προκαλούν την εντυπωσιακή αυτή κίνηση είναι πολύ διαφορετικοί από τους κινητήρες των ευκαρυωτικών κυττάρων που έχουμε γνωρίσει έως τώρα. Στον βακτηριακό κινητήρα, ένα στοιχείο περιστρέφεται γύρω από έναν κεντρικό άξονα, αντί να κινείται σε μια τροχιά που σχηματίζει ένα πολυμερές. Η κατεύθυνση της περιστροφής μπορεί να αλλάξει γρήγορα, ένα χαρακτηριστικό που είναι βασικό για τον χημειοτακτισμό, τη διεργασία με την οποία τα βακτήρια κολυμπούν κατά προτίμηση προς την αυξανόμενη συγκέντρωση κάποιων χρήσιμων ουσιών ή απομακρύνονται από εν δυνάμει βλαπτικές ουσίες. Ένας τύπος μαστιγιακού κι-

νητήρα, η κίνηση του οποίου ωθείται από τη βαθμίδωση Na^+, περιστρέφεται με ρυθμό 200.000 περιστροφών το λεπτό.

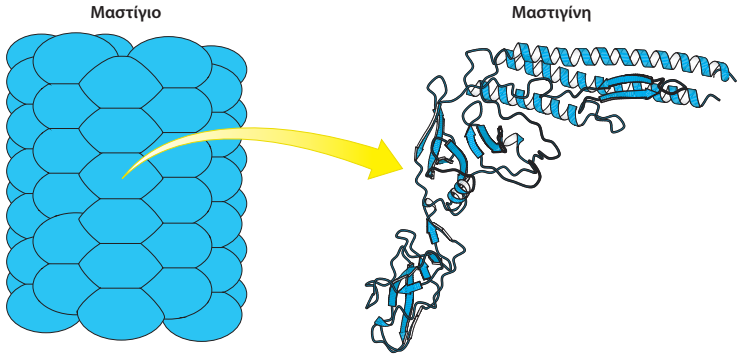


ΕΙΚΟΝΑ 36.25 Τα μαστίγια των βακτηρίων. Η ηλεκτρονιομικρογραφία της *Salmonella typhimurium* αναδεικνύει μαστίγια που κατευθύνονται προς τα πίσω, όπου μπορούν να σχηματίσουν δέσμη υπό κατάλληλες συνθήκες. [USDA/Science Source.]

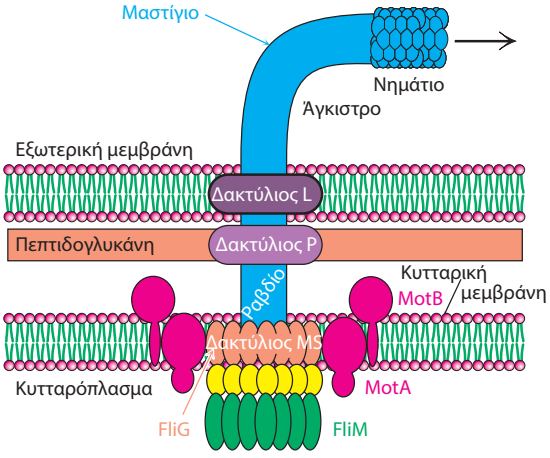
Τα βακτήρια κολυμπούν περιστρέφοντας τα μαστίγιά τους

Βακτήρια όπως η *Escherichia coli* και η *Salmonella typhimurium* κολυμπούν περιστρέφοντας τα μαστίγια που βρίσκονται στην επιφάνειά τους (Εικόνα 36.25). Όταν τα μαστίγια περιστρέφονται με κατεύθυνση αντίθετη από εκείνη των δεικτών του ρολογιού (βλέποντας το βακτήριο από έξω) τα ξεχωριστά μαστίγια σχηματίζουν μια δέσμη η οποία προωθεί πολύ αποτελεσματικά το βακτήριο μέσα στο διάλυμα.

Τα μαστίγια των βακτηρίων είναι πολυμερή διαμέτρου περίπου 15 nm και μήκους μέχρι 15 μm, και αποτελούνται από υπομονάδες 53 kDa μιας πρωτεΐνης που ονομάζεται *μαστιγίνη* (Εικόνα 36.26). Οι υπομονάδες αυτές συνενώνονται σε μια ελικοειδή δομή η οποία περιέχει 5,5 υπομονάδες ανά περιστροφή, δίδοντας την εμφάνιση 11 πρωτονηματίων. Κάθε μαστίγιο έχει έναν κοίλο πυρήνα. Είναι αξιοσημείωτο ότι τα μαστίγια δεν μεγεθύνονται με την προσθήκη υπομονάδων στη βάση που βρίσκεται κοντά στο σώμα του κυττάρου αλλά, αντιθέτως, με την προσθήκη νέων υπομονάδων οι οποίες διαπερνούν τον κοίλο πυρήνα και προστίθενται στο ελεύθερο άκρο. Κάθε μαστίγιο είναι εγγενώς περιστραμμένο αριστερόστροφα και έχει στη βάση του έναν περιστροφικό κινητήρα.



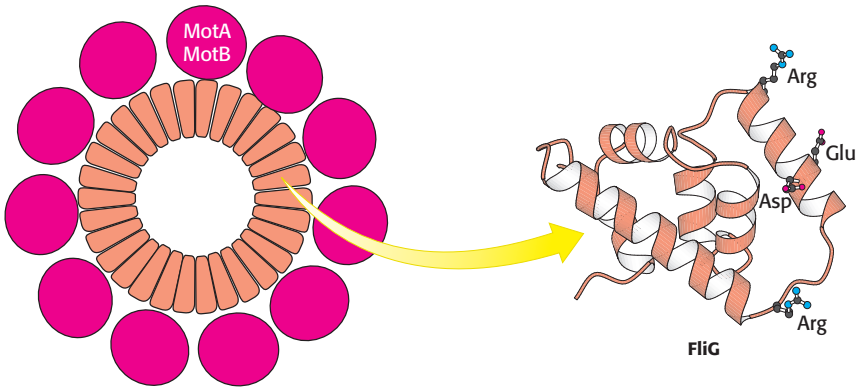
ΕΙΚΟΝΑ 36.26 Η δομή της μαστιγίνης. Ένα βακτηριακό μαστίγιο είναι ένα ελικοειδές πολυμερές της πρωτεΐνης μαστιγίνης. *Παρατηρήστε* ότι κάθε υπομονάδα αντιστοιχεί σε μια κεκαμμένη δομή με σχετικά επίπεδη επιφάνεια, η οποία βλέπει προς τον κενό πυρήνα του μαστιγίου. [Σχεδιασμένο από 1IO1.pdb.]



ΕΙΚΟΝΑ 36.27 Ο κινητήρας του μαστιγίου. Σχηματική αναπαράσταση του κινητήρα του μαστιγίου, μιας περίπλοκης δομής που περιέχει έως και 40 διαφορετικούς τύπους πρωτεΐνης. Φαίνονται οι θέσεις των πρωτεϊνών MotA και MotB (κόκκινο), FliG (πορτοκαλί), FliN (κίτρινο) και FliM (πράσινο).

Η ροή των πρωτονίων ωθεί την περιστροφή των μαστιγίων

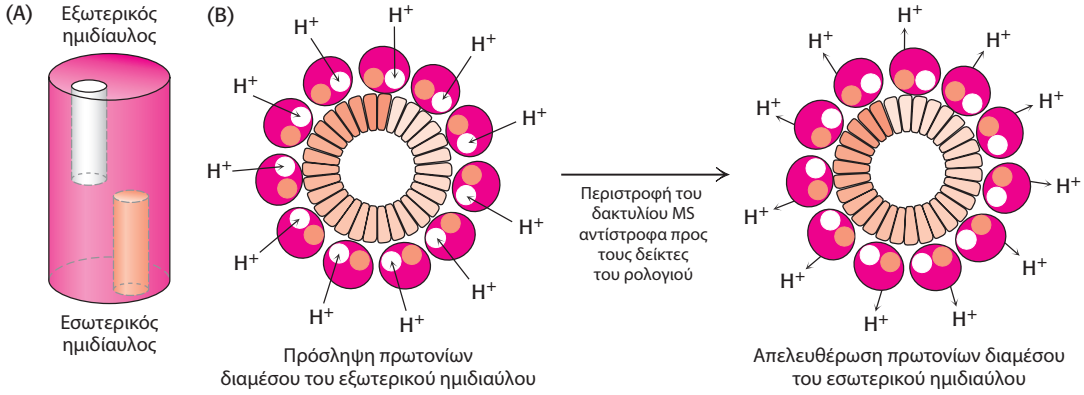
Τα πρώτα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν από τον Julius Adler απέδειξαν ότι *δεν* απαιτείται ATP για την κίνηση των μαστιγίων. Ποια δύναμη κινεί αυτούς τους περιστροφικούς κινητήρες; Η απαραίτητη ελεύθερη ενέργεια προέρχεται από τη βαθμίδωση συγκέντρωσης πρωτονίων μεταξύ των πλευρών της κυτταρικής μεμβράνης. Ο κινητήρας του μαστιγίου είναι αρκετά περίπλοκος και περιέχει 40 περίπου διαφορετικές πρωτεΐνες (Εικόνα 36.27). Γενετικές μελέτες ανέδειξαν πέντε εξαιρετικά κρίσιμα στοιχεία για τη λειτουργία του κινητήρα. Η MotA είναι μια μεμβρανική πρωτεΐνη η οποία φαίνεται ότι έχει τέσσερις διαμεμβρανικές έλικες καθώς και μια κυτταροπλασματική επικράτεια. Η MotB είναι μια άλλη μεμβρανική πρωτεΐνη με μία μόνο διαμεμβρανική έλικα και μια μεγάλη περιπλασματική επικράτεια. Περίπου 11 *ζεύγη MotA-MotB* σχηματίζουν έναν δακτύλιο γύρω από τη βάση του μαστιγίου. Οι πρωτεΐνες *FliG*, *FliM* και *FliN* είναι μέρος μιας δισκοειδούς δομής που ονομάζεται δακτύλιος MS (membrane and supramembrane, MS). Περιέχει περίπου 30 υπομονάδες FliG οι οποίες συνενώνονται για να δημιουργήσουν τον δακτύλιο. Η τριδιάστατη δομή του καρβοξυτελικού ημίσεος της FliG αναδεικνύει μια επικράτεια σχήματος σφήνας με μια σειρά φορτισμένων αμινοξέων, τα οποία έχουν



ΕΙΚΟΝΑ 36.28 Τα συστατικά του κινητήρα του μαστιγίου. Τριάντα περίπου υπομονάδες της FliG συγκροτούνται για να σχηματίσουν έναν δακτύλιο MS. Ο δακτύλιος περιβάλλεται από 11 περίπου δομές που αποτελούνται από MotA και MotB. *Παρατηρήστε* ότι η καρβοξυτελική επικράτεια της FliG περιέχει μια ράχη που καλύπτεται από φορτισμένα κατάλοιπα τα οποία συμμετέχουν πιθανώς στη μεταφορά πρωτονίων. [Σχεδιασμένο από 1QC7.pdb.]

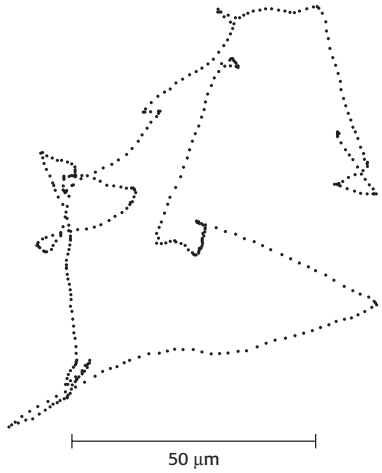
συντηρηθεί μεταξύ πολλών ειδών και εκτείνονται κατά μήκος του παχέος άκρου της σφήνας (Εικόνα 36.28).

Το ζεύγος MotA-MotB και η FliG συνδυάζονται προκειμένου να σχηματίσουν έναν δίαυλο πρωτονίων ο οποίος ωθεί την περιστροφή του μαστιγίου. Πώς ωθεί τη μηχανική περιστροφή η ροή πρωτονίων διαμέσου της μεμβράνης; Έχουμε ξαναδεί μια παρόμοια διεργασία σε σχέση με τη συνθάση της ATP (Υποκεφάλαιο 18.4). Υπενθυμίζεται ότι το κλειδί για την ώθηση της περιστροφής της υπομονάδας γ της συνθάσης της ATP είναι η υπομονάδα **a** του θραύσματος F_0. Αυτή η υπομονάδα φαίνεται ότι περιέχει δύο ημιδιαύλους· πρωτόνια μπορούν να διαπερνούν τη μεμβράνη μόνο διαμέσου του ημιδιαύλου από την πλευρά της μεμβράνης με την υψηλότερη τοπική συγκέντρωση πρωτονίων, συνδεόμενα με μια δισκοειδή δομή που σχηματίζεται από τις υπομονάδες **c**· τα πρωτόνια «ιππεύουν» σε αυτή τη δομή καθώς περιστρέφεται προς το άνοιγμα του άλλου ημιδιαύλου και εξέρχονται από την πλευρά με τη χαμηλότερη τοπική συγκέντρωση προτωνίων. Μπορεί ένας παρόμοιος μηχανισμός να ισχύει και για την περιστροφή του μαστιγίου; Πράγματι, έναν τέτοιο μηχανισμό πρότεινε πρώτος ο Howard Berg προκειμένου να ερμηνεύσει την περιστροφή του μαστιγίου, πριν διευκρινιστεί ο περιστροφικός μηχανισμός της συνθάσης της ATP. Εικάζεται ότι το ζεύγος MotA-MotB σχηματίζει μια δομή με δύο ημιδιαύλους· η FliG χρησιμεύει ως περιστρεφόμενος φορέας πρωτονίων, με τη συμμετοχή ίσως μερικών φορτισμένων καταλοίπων τα οποία έχουν εντοπιστεί από κρυσταλλογραφικές μελέτες (Εικόνα 36.29). Σύμφωνα με την υπόθεση αυτή, ένα πρωτόνιο από το περίπλασμα περνά μέσα στον εξωτερικό ημιδίαυλο και μεταφέρεται σε μια υπομονάδα FliG. Ο δακτύλιος MS περιστρέφεται, περιστρέφοντας έτσι το μαστίγιο



ΕΙΚΟΝΑ 36.29 Περιστροφή του μαστιγίου συζευγμένη με μεταφορά πρωτονίων. (A) Το ζεύγος MotA-MotB μπορεί να δημιουργήσει μια δομή που περιέχει δύο ημιδιαύλους. (B) Ένα μοντέλο για τον μηχανισμό σύνδεσης της περιστροφής με βαθμίδωση συγκέντρωσης πρωτονίων απαιτεί τα πρωτόνια να προσλαμβάνονται διαμέσου του εξωτερικού ημιδιαύλου και να μεταφέρονται στον δακτύλιο MS. Ο δακτύλιος MS περιστρέφεται με κατεύθυνση αντίστροφη εκείνης των δεικτών του ρολογιού και τα πρωτόνια απελευθερώνονται μέσα στον εσωτερικό ημιδίαυλο. Το μαστίγιο είναι συνδεδεμένο με τον δακτύλιο MS και γι' αυτό περιστρέφεται και το ίδιο.

και επιτρέποντας στο πρωτόνιο να περάσει στον εσωτερικό ημιδίαυλο και κατόπιν μέσα στο κύτταρο. Μελέτες δομής και μεταλλαξιγένεσης βρίσκονται σε εξέλιξη προκειμένου να ελέγξουν και να βελτιώσουν την υπόθεση αυτή.



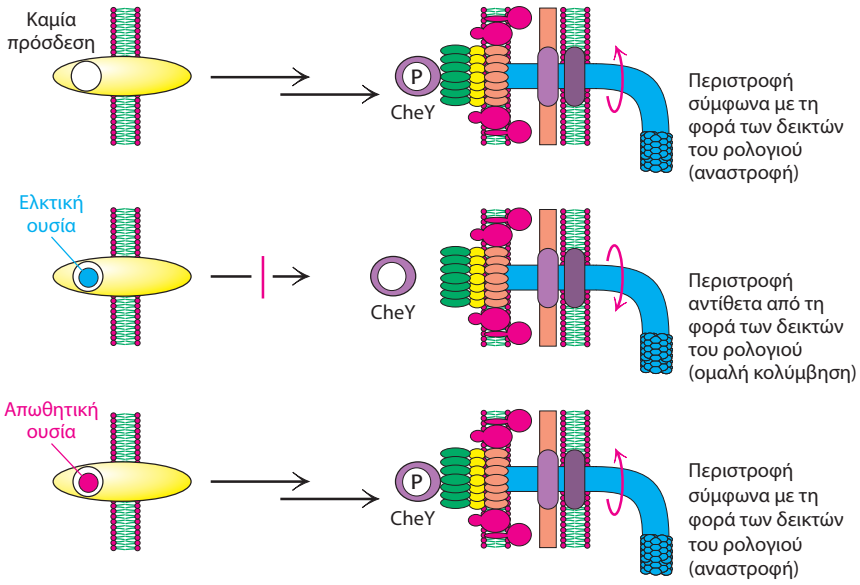
ΕΙΚΟΝΑ 36.30 Χαρτογράφηση μιας πορείας. Η προβολή της πορείας που ακολουθεί μια *E. coli* επιτεύχθηκε με τη βοήθεια ενός μικροσκοπίου που ακολουθεί αυτόματα την κίνηση ενός βακτηρίου στις τρεις διαστάσεις. Τα σημεία δείχνουν τις θέσεις του βακτηρίου σε ενδιάμεσα χρονικά διαστήματα 80 ms. [Κατά H. C. Berg. *Nature* 254:389-392, 1975.]

Ο βακτηριακός χημειοτακτισμός εξαρτάται από την αντιστροφή της κατεύθυνσης περιστροφής του μαστιγίου

Πολλά είδη βακτηρίων αντιδρούν στις αλλαγές του περιβάλλοντος με προσαρμογή του τρόπου κολύμβησης. Η εξέταση των πορειών που ακολουθούν είναι εξαιρετικά αποκαλυπτική (Εικόνα 36.30). Τα βακτήρια κολυμπούν προς μία κατεύθυνση για κάποιο χρονικό διάστημα (συνήθως ένα δευτερόλεπτο), κάνουν μια γρήγορη αναστροφή και κατόπιν κατευθύνονται προς νέα κατεύθυνση. Η αναστροφή προκαλείται από μια σύντομη αλλαγή της κατεύθυνσης περιστροφής του κινητήρα του μαστιγίου. Όταν τα μαστίγια περιστρέφονται με κατεύθυνση αντίθετη εκείνης των δεικτών του ρολογιού, τα ελικοειδή αυτά νημάτια σχηματίζουν μια συνεκτική δέσμη που διευκολύνεται από το ενδογενές σχήμα τού κάθε νηματίου και το βακτήριο κολυμπά ομαλά. Όταν η περιστροφή αντιστρέφεται, η δέσμη αποδιατάσσεται διότι η φορά της έλικας των ελικοειδών μαστιγίων δεν ταιριάζει με την κατεύθυνση της περιστροφής. Τότε, κάθε μαστίγιο έλκει προς διαφορετική κατεύθυνση και το βακτήριο κάνει αναστροφή.

Όταν υπάρχει μια βαθμίδωση συγκέντρωσης ορισμένων ουσιών όπως η γλυκόζη, τότε τα βακτήρια κολυμπούν κατά προτίμηση προς την περιοχή της υψηλής συγκέντρωσης της ουσίας. Οι ουσίες αυτές ονομάζονται *χημειοελκτικές*. Τα βακτήρια κολυμπούν επίσης κατά προτίμηση αντίθετα από εν δυνάμει βλαπτικές ουσίες όπως είναι οι φαινόλες, που ονομάζονται *χημειοαπωθητικές*. Η διεργασία μετακίνησης προς συγκεκριμένη κατεύθυνση ως απόκριση σε περιβαλλοντικά ερεθίσματα ονομάζεται *χημειοτακτισμός*. Όταν υπάρχει βαθμίδωση συγκέντρωσης μιας χημειοελκτικής ουσίας, τότε τα βακτήρια κολυμπούν για μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα προς τις περιοχές των υψηλών συγκεντρώσεων χωρίς να πραγματοποιούν αναστροφές. Αντιθέτως, πραγματοποιούν πιο συχνά αναστροφές όταν κινούνται προς τις περιοχές με χαμηλές συγκεντρώσεις της ουσίας. Η συμπεριφορά αυτή αντιστρέφεται για τις χημειοαπωθητικές ουσίες. Το αποτέλεσμα αυτών των δράσεων είναι ένα *προκατειλημμένο τυχαίο βάδισμα* που διευκολύνει την καθαρή κίνηση προς συνθήκες πιο ευνοϊκές για το βακτήριο.

Ο χημειοτακτισμός εξαρτάται από μια πορεία σηματοδότησης που καταλήγει στον κινητήρα του μαστιγίου. Η πορεία σηματοδότησης αρχίζει με την πρόσδεση μορίων σε υποδοχείς στην κυτταρική μεμβράνη (Εικόνα 36.31). Όταν οι



ΕΙΚΟΝΑ 36.31 Πορεία σηματοδότησης του χημειοτακτισμού. Οι υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης εκκινούν μια πορεία σηματοδότησης που οδηγεί στη φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης CheY. Η φωσφορυλιωμένη CheY συνδέεται με τον κινητήρα του μαστιγίου και ευνοεί την περιστροφή κατά τη φορά των δεικτών του ρολογιού. Όταν μια χημειοελκτική ουσία συνδέεται με τον υποδοχέα, η πορεία αυτή αναστέλλεται, με αποτέλεσμα την περιστροφή του μαστιγίου με κατεύθυνση αντίθετη εκείνης των δεικτών του ρολογιού, και επομένως την ομαλή κολύμβηση. Όταν δεσμεύεται μια χημειοαπωθητική ουσία, η πορεία αυτή διεγείρεται και οδηγεί σε αυξημένη συγκέντρωση της φωσφορυλιωμένης CheY, με αποτέλεσμα πιο συχνή περιστροφή κατά τη φορά των δεικτών του ρολογιού και πιο συχνές αναστροφές.

υποδοχείς βρίσκονται στη μορφή *χωρίς πρόσδεμα*, εκκινούν μια πορεία η οποία τελικά οδηγεί στη φωσφορυλίωση ενός συγκεκριμένου καταλοίπου ασπαραγινικού σε μια διαλυτή πρωτεΐνη που ονομάζεται *CheY*. Στη φωσφορυλιωμένη μορφή της, η CheY συνδέεται με τη βάση του κινητήρα του μαστιγίου. Όταν είναι συνδεδεμένος με τη φωσφορυλιωμένη CheY, ο κινητήρας του μαστιγίου περιστρέφεται προς την κατεύθυνση των δεικτών του ρολογιού και όχι αντίθετα, με αποτέλεσμα να προκαλεί αναστροφές στην κίνηση του βακτηρίου.

Η σύνδεση μιας χημειοελκτικής ουσίας με έναν επιφανειακό υποδοχέα προκαλεί αναστολή της πορείας που οδηγεί στη φωσφορυλίωση της CheY. Η φωσφορυλιωμένη CheY αυθόρμητα υδρολύει και απελευθερώνει τη φωσφορική ομάδα της με μια διεργασία που επιταχύνεται από μια άλλη πρωτεΐνη, την CheZ. Η συγκέντρωση της φωσφορυλιωμένης CheY μειώνεται και η περιστροφή των μαστιγίων δεν φαίνεται να ακολουθεί τη φορά των δεικτών του ρολογιού. Υπό τις συνθήκες αυτές, το βακτήριο κολυμπά ομαλά χωρίς να κάνει αναστροφές. Έτσι, ο αναστρέψιμος περιστροφικός κινητήρας του μαστιγίου και μια σηματοδοτική πορεία που στηρίζεται στη φωσφορυλίωση συνεργάζονται προκειμένου να δημιουργήσουν επιτυχείς τρόπους αντίδρασης στις συνθήκες του περιβάλλοντος.

Τα βακτήρια αντιλαμβάνονται τις χωρικές βαθμιδώσεις συγκεντρώσεων των χημειοελκτικών ουσιών με μετρήσεις οι οποίες επιτελούνται σε ξεχωριστά χρονικά διαστήματα. Ένα βακτήριο αρχίζει να κινείται προς μια τυχαία κατεύθυνση και, εάν η συγκέντρωση της χημειοελκτικής ουσίας έχει αυξηθεί ενώ το βακτήριο έχει κολυμπήσει για κάποιο χρονικό διάστημα, η πιθανότητα να κάνει αναστροφές μειώνεται και το βακτήριο συνεχίζει να κινείται προς την ίδια περίπου κατεύθυνση. Αν η συγκέντρωση έχει μειωθεί, η συχνότητα των αναστροφών του αυξάνεται και το βακτήριο ελέγχει άλλες τυχαίες κατευθύνσεις. Η επιτυχία του μηχανισμού αυτού αναδεικνύει για μία ακόμη φορά τη δύναμη της εξελικτικής διεργασίας επίλυσης προβλημάτων – πολλές δυνατές λύσεις δοκιμάζονται στην τύχη και εκείνες που είναι ωφέλιμες επιλέγονται και αξιοποιούνται.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

36.1 Οι περισσότεροι πρωτεϊνικοί μοριακοί κινητήρες είναι μέλη της υπεροικογένειας των NTPασών με θηλιά P

Τα ευκαρυωτικά κύτταρα διαθέτουν τρεις οικογένειες πρωτεϊνικών μοριακών κινητήρων: τις μυοσίνες, τις κινησίνες και τις δυνεΐνες. Αυτές οι πρωτεΐνες κινούνται κατά μήκος τροχιών που καθορίζονται από την ακτίνη και τους μικροσωληνίσκους του κυτταρικού σκελετού των ευκαρυωτικών κυττάρων, συμμετέχοντας έτσι στην κίνηση κυττάρων ή οργανισμών καθώς και στην ενδοκυτταρική μεταφορά πρωτεϊνών, κυστιδίων και οργανιδίων. Παρά τις σημαντικές διαφορές ως προς το μέγεθος και την έλλειψη ανιχνεύσιμης ομοιότητας στο επίπεδο της αλληλουχίας αμινοξέων, οι πρωτεΐνες αυτές είναι ομόλογες, περιέχοντας τον δομικό πυρήνα της οικογένειας των NTPασών με θηλιά P. Η ικανότητα αυτών των δομικών πυρήνων να αλλάζουν στερεοδιάταξη ως απόκριση στην πρόσδεση και την υδρόλυση τριφωσφορικών νουκλεοζιτών αποτελεί καθοριστική ιδιότητα για τη λειτουργία του μοριακού κινητήρα. Οι πρωτεϊνικοί κινητήρες αποτελούνται από κινητήριες επικράτειες που προσκολλώνται σε επιμήκεις δομές οι οποίες χρησιμεύουν για να ενισχύουν τις αλλαγές της στερεοδιάταξης στους δομικούς πυρήνες και να συνδέουν τους διάφορους δομικούς πυρήνες μεταξύ τους ή με άλλες δομές.

36.2 Οι μυοσίνες κινούνται κατά μήκος των νηματίων της ακτίνης

Η κινητική μονάδα του μυός συνίσταται από ένα σύμπλεγμα μυοσίνης και ακτίνης, συνοδευόμενο από βοηθητικές πρωτεΐνες. Η ακτίνη, μια πρωτεΐνη 42 kDa που αφθονεί μέσα στα κύτταρα, πολυμερίζεται προκειμένου να σχηματίσει επιμήκη νη-

μάτια. Κάθε μονομερές της ακτίνης μπορεί να προσδένει είτε ATP είτε ADP. Η κινητήρια επικράτεια της μυοσίνης κινείται κατά μήκος των νηματίων της ακτίνης περνώντας διαδοχικά από κύκλο στερεοδιατάξεων, ξεκινώντας με τη μυοσίνη ελεύθερη από συνδεδεμένα νουκλεοτίδια ως εξής: (1) η ATP συνδέεται με τη μυοσίνη και η μυοσίνη απελευθερώνεται από την ακτίνη· (2) μια αναστρέψιμη αλλαγή της στερεοδιάταξης που σχετίζεται με την υδρόλυση της ATP η οποία είναι ακόμη συνδεδεμένη με τη μυοσίνη, οδηγεί σε μεγάλη μετακίνηση του μοχλοβραχίονα της μυοσίνης ο οποίος αποτελεί προέκταση της κινητικής επικράτειας· (3) η συνδεδεμένη με ADP και P_i μυοσίνη συνδέεται με την ακτίνη· (4) το P_i απελευθερώνεται από τη μυοσίνη, με αποτέλεσμα την επαναφορά του μοχλοβραχίονα και τη μετακίνηση της ακτίνης σε σχέση με τη μυοσίνη· (5) η απελευθέρωση της ADP επαναφέρει την κινητική επικράτεια στην αρχική της κατάσταση. Το μήκος του μοχλοβραχίονα καθορίζει το μέγεθος του βήματος που πραγματοποιείται κατά μήκος του νηματίου ακτίνης σε κάθε κύκλο. Η δυνατότητα των ερευνητών να μελετούν μεμονωμένους πρωτεϊνικούς κινητήρες παρέχει σημαντικούς τρόπους ελέγχου υποθέσεων που σχετίζονται με την κινητική λειτουργία. Η μυϊκή συστολή συνεπάγεται την ταχεία διολίσθηση των λεπτών νηματίων της ακτίνης, σε σχέση με τα παχέα νημάτια της μυοσίνης. Τα παχέα νημάτια συνίστανται από πολλά, συνδεδεμένα μεταξύ τους, μόρια μυοσίνης. Κάθε μόριο μυοσίνης έχει δύο κεφαλές που μπορούν να συνδεθούν με την ακτίνη και να την μετακινήσουν σε σχέση με τη μυοσίνη, διεργασία που ωθείται από την υδρόλυση της ATP από τη μυοσίνη. Η σύσπαση των μυών ρυθμίζεται από την τροπομυοσίνη και από το σύμπλοκο της τροπονίνης. Αυτές οι πρωτεΐνες παρεμποδίζουν την αντίδραση της ακτίνης με τη μυοσίνη έως ότου η αύξηση της συγκέντρωσης των ιόντων ασβεστίου, που σχετίζεται με τη νευρική ώση, προκαλέσει μεταβολές στην τροπονίνη και την τροπομυοσίνη που αίρουν την προαναφερθείσα παρεμπόδιση.

36.3 Η κινησίνη και η δυνεΐνη κινούνται κατά μήκος των μικροσωληνίσκων

Η κινησίνη και η δυνεΐνη κινούνται κατά μήκος των μικροσωληνίσκων και όχι κατά μήκος της ακτίνης. Οι μικροσωληνίσκοι είναι πολυμερή που αποτελούνται από σωληνίνη α και β, δύο παρόμοιες πρωτεΐνες οι οποίες προσδένουν νουκλεοτίδια της γουανίνης. Κάθε μικροσωληνίσκος περιέχει 13 πρωτονημάτια με εναλασσόμενες υπομονάδες σωληνίνης α και β. Οι κινησίνες κινούνται κατά μήκος των μικροσωληνίσκων με έναν μηχανισμό παρόμοιο με εκείνον που χρησιμοποιείται από τη μυοσίνη κατά την κίνησή της κατά μήκος των νηματίων ακτίνης αλλά και με αρκετές σημαντικές διαφορές. Πρώτον, η πρόσδεση της ATP στην κινησίνη προάγει τη δέσμευση των κινητήριων επικρατειών και όχι την αποσύνδεσή τους. Δεύτερον, ο παλμός ενέργειας πυροδοτείται από την πρόσδεση της ATP και όχι από την απελευθέρωση του P_i. Τέλος, η κίνηση της κινησίνης είναι επεξεργαστική. Οι δύο κεφαλές του διμερούς της κινησίνης συνεργάζονται ώστε πότε η μία και πότε η άλλη να συνδέονται με τους μικροσωληνίσκους ή να απελευθερώνονται από αυτούς, κάνοντας έτσι πολλά βήματα κατά μήκος του μικροσωληνίσκου προτού απελευθερωθούν και οι δύο κεφαλές. Οι περισσότερες κινησίνες κινούνται προς το θετικό άκρο των μικροσωληνίσκων.

36.4 Ένας περιστροφικός κινητήρας ωθεί την κίνηση των βακτηρίων

Πολλά κινούμενα βακτήρια χρησιμοποιούν περιστρεφόμενα μαστίγια για να μετακινηθούν. Δεμάτια που δημιουργούνται από τη σύνδεση πολλαπλών μαστιγίων τα οποία περιστρέφονται με κατεύθυνση αντίθετη από εκείνη των δεικτών του ρολογιού προωθούν επιτυχώς το κύτταρο μέσα σε διάλυμα. Ο κινητήρας του μαστιγίου τροφοδοτείται με ενέργεια από μια βαθμίδωση συγκέντρωσης πρωτονίων μεταξύ των δύο πλευρών της κυτταρικής μεμβράνης και όχι από την υδρόλυση της ATP. Ο μηχανισμός σύζευξης της διαμεμβρανικής μετακίνησης πρωτονίων με την περιστροφή μακρομορίων φαίνεται ότι είναι παρόμοιος με εκείνον που χρησιμοποιείται από τη συνθάση της ATP. Όταν τα μαστίγια περιστρέφονται προς την κατεύθυνση των δεικτών του ρολογιού, τότε αυτά απομακρύνονται το ένα από το άλλο και το κύτταρο

αναστρέφεται. Τα βακτήρια κολυμπούν κατά προτίμηση προς χημειοελκτικές ουσίες με μια διεργασία που ονομάζεται χημειοτακτισμός. Όταν τα βακτήρια κολυμπούν με κατεύθυνση μια περιοχή υψηλής συγκέντρωσης της χημειοελκτικής ουσίας, τότε υπερισχύει η περιστροφή των μαστιγίων με κατεύθυνση αντίθετη εκείνης των δεικτών του ρολογιού και καταστέλλεται η αναστροφή, γεγονός που οδηγεί σε προκατειλημμένο τυχαίο βάδισμα με κατεύθυνση την αυξανόμενη συγκέντρωση της χημειοελκτικής ουσίας.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Πρόσθετες γνώσεις

Κινητήρες μυοσίνης φαίνεται πως μας βοηθούν να ακούμε

Το ανθρώπινο γονιδίωμα κωδικεύει περισσότερες από δέκα ισομορφές της βαριάς αλυσίδας της μυοσίνης. Ορισμένες από αυτές εμπλέκονται σε διεργασίες όπως η μυϊκή συστολή, ενώ κάποιες εμπλέκονται σε άλλες διεργασίες. Στο Κεφάλαιο 34 (βλ. Κεφάλαιο 34 στην ιστοσελίδα των ΠΕΚ), εξετάσαμε τον μηχανισμό της μεταγωγής σήματος που διέπει την ακοή. Θεμελιώδους σημασίας για την εν λόγω διεργασία είναι οι λεγόμενοι «σύνδεσμοι αιχμής», δηλαδή νημάτια που συνδέουν μεταξύ τους γειτονικούς στερεοκροσσούς στα τριχωτά κύτταρα. Οι σύνδεσμοι αιχμής είναι απαραίτητοι για να συζεύγνυνται οι μικρές χωρικές μετατοπίσεις με τη διάνοιξη κρίσιμων διαύλων ιόντων. Για να είναι, βέβαια, αποτελεσματική τούτη η διαδικασία, αναγκαία προϋπόθεση είναι οι σύνδεσμοι αιχμής να διατηρούνται σε μια αρκούντως τεταμένη κατάσταση.

Γενετικές μελέτες υποδηλώνουν ότι οι μυοσίνες, συμπεριλαμβανομένης της μυοσίνης VIIa, εμπλέκονται στην ακοή. Έχει διαπιστωθεί ότι τα άτομα που έχουν κώφωση σχετική με το σύνδρομο Usher φέρουν μεταλλάξεις στο γονίδιο της μυοσίνης VIIa. Ωστόσο, ο μηχανισμός μέσω του οποίου οι μεταλλάξεις αυτές οδηγούν σε κώφωση παραμένει αδιευκρίνιστος. Ένας τρόπος για να διαλευκανθεί είναι να χρησιμοποιηθούν βιοχημικά εργαλεία όπως αντισώματα, προκειμένου να ταυτοποιηθεί η θέση των πρωτεϊνών αυτών μέσα σε ιστούς και κύτταρα. Τέτοια πειράματα μπορούν να γίνουν σε οργανισμούς-μοντέλα όπως τα ποντίκια και οι αρουραίοι, και τούτο διότι η μυοσίνη VIIA που έχουν οι εν λόγω οργανισμοί είναι πάνω από 95% ταυτόσημη ως προς την αλληλουχία αμινοξέων με την αντίστοιχη ανθρώπινη.

Μελέτες μικροσκοπίας για την ταυτοποίηση της θέσης σημασμένων με φθορισμό αντισωμάτων που στοχεύουν τη μυοσίνη VIIa έχουν αποκαλύψει ότι η εν λόγω πρωτεΐνη εντοπίζεται στους στερεοκροσσούς. Η θέση της έχει χαρακτηριστεί περαιτέρω μέσω της σύγκρισης των προτύπων που παρατηρούνται με αντισώματα τα οποία στοχεύουν ένα γνωστό συστατικό του ίδιου του συνδέσμου αιχμής. Πρόσθετες δε μελέτες έχουν δείξει ότι δύο άλλες πρωτεΐνες που έχει διαπιστωθεί ότι συνδέονται με τη μυοσίνη VIIA επίσης εντοπίζονται στους συνδέσμους αιχμής. Συνολικά, τούτα τα δεδομένα παρέχουν ενδείξεις ότι η μυοσίνη VIIa σχετίζεται με τους συνδέσμους αιχμής.

Τα δεδομένα αυτά αναδεικνύουν έναν νέο ρόλο για ένα μέλος της οικογένειας των μυοσινών. Σύμφωνα με το μοντέλο που υποδηλώνουν, η μυοσίνη VIIa προσκολλάται στον κυτταροσκελετό ακτίνης μέσα σε έναν στερεοκροσσό, ενώ το άλλο άκρο της συνδέεται με τον σύνδεσμο αιχμής, ενδεχομένως μέσω μιας πρωτεΐνης-προσαρμοστή. Ο κινητήρας μυοσίνης μπορεί να χρησιμοποιήσει την εξαρτώμενη από την υδρόλυση της ATP κίνησή του ώστε να τραβήξει το νημάτιο του συνδέσμου αιχμής και να το διατηρήσει σε κατάλληλη τάση για να καταστεί εφικτή η ανίχνευση πολύ μικρών μετατοπίσεων του δεματίου των στερεοκροσσών. Τούτο αποτελεί ακόμα ένα παράδειγμα που αποτυπώνει ξεκάθαρα το πώς μια βασική βιοχημική λειτουργία μπορεί να αξιοποιηθεί σε ευρύ φάσμα βιολογικών διεργασιών.

ΟΡΟΙ-ΚΛΕΙΔΙΑ

κυτταρικός σκελετός, σελ. 1172
μυοσίνη, σελ. 1172
κινησίνη, σελ. 1172
δυνεΐνη, σελ. 1173
θραύσμα S1, σελ. 1173
συμβατική κινησίνη, σελ. 1174
μοχλοβραχίονας, σελ. 1175
συνδετική έλικα, σελ. 1176
αυχενικός σύνδεσμος, σελ. 1176
ακτίνη, σελ. 1176
ακτίνη G, σελ. 1177
ακτίνη F, σελ. 1177
κρίσιμη συγκέντρωση, σελ. 1178
οπτική παγίδα, σελ. 1179
παλμός ενέργειας, σελ. 1179
μυϊκό ινίδιο, σελ. 1180
σαρκομερίδιο, σελ. 1180
παχέα νημάτια, σελ. 1180
λεπτά νημάτια, σελ. 1180
τροπομυοσίνη, σελ. 1180
σύμπλοκο τροπονίνης, σελ. 1180
μικροσωληνίσκοι, σελ. 1183
αξόνημα, σελ. 1184
διάταξη 9 + 2, σελ. 1184
σωληνίνη, σελ. 1184
δυναμική αστάθεια, σελ. 1184
μαστιγίνη, σελ. 1188
ζεύγος MotA-Mot-B, σελ. 1188
FliG, σελ. 1188
χημειοελκτική ουσία, σελ. 1190
χημειοαπωθητική ουσία, σελ. 1190
χημειοτακτισμός, σελ. 1190
CheY, σελ. 1191

ΑΣΚΗΣΕΙΣ

1. *Διάφοροι κινητήρες.* Οι σκελετικοί μύες, οι κροσσοί των ευκαρυωτικών κυττάρων και τα μαστίγια των βακτηρίων χρησιμοποιούν διαφορετικές στρατηγικές για τη μετατροπή της ελεύθερης ενέργειας σε μια συνεκτική κίνηση. Να συγκρίνετε και να αντιπαραβάλετε αυτά τα κινητικά συστήματα σε σχέση με (α) την πηγή της ελεύθερης ενέργειας και (β) τον αριθμό των απαραίτητων συστατικών και την ταυτότητά τους. ✓1

2. *Το ονομάζετε αυτό αργό;* Κατά τη μέγιστη ταχύτητα, το μόριο της κινησίνης κινείται με ταχύτητα 6.400 Å ανά δευτερόλεπτο. Με δεδομένο ότι οι διαστάσεις της κινητήριας περιοχής ενός διμερούς κινησίνης είναι περίπου 80 Å, να υπολογίσετε την ταχύτητά της σε «σωματικά μήκη» ανά δευτερόλεπτο. Αυτή η ταχύτητα σε σωματικό μήκος, με ποια ταχύτητα ενός αυτοκινήτου μήκους 3 μέτρων είναι αντίστοιχη; ✓1

3. *Άρση βαρέων βαρών.* Μία επικράτεια κινητήρα της μυοσίνης μπορεί να δημιουργήσει δύναμη 4 piconewton (4 pN) περίπου. Πόσες φορές μπορεί να σηκώσει το «σωματικό βάρος της» μια επικράτεια κινητήρα της μυοσίνης; Σημειώστε ότι 1 newton = 0,22 λίβρες (100 g). Ας θεωρήσουμε ότι η μοριακή μάζα μίας επικράτειας κινητήρα είναι 100 kDa.

4. *Κάντε σύγκριση και αντιπαραβολή.* Περιγράψτε δύο ομοιότητες και δύο διαφορές μεταξύ των νηματίων της ακτίνης και των μικροσωληνίσκων. ✓3

5. *Αναδείξτε.* Ποιος είναι ο κύριος ρόλος των ελαφριών αλυσίδων της μυοσίνης και της κινησίνης;

6. *Νεκρική ακαμψία.* Να προτείνετε μια εξήγηση για το γεγονός ότι το σώμα γίνεται άκαμπτο μετά τον θάνατο. ✓4

7. *Τώρα το βλέπετε, τώρα δεν το βλέπετε.* Υπό ορισμένες συνθήκες σταθερής συγκέντρωσης, τα μονομερή της ακτίνης στη μορφή της ATP θα πολυμεριστούν για να σχηματίσουν νημάτια τα οποία με τον χρόνο θα αποδιαταχθούν πάλι σε μονομερή. Να δώσετε μια εξήγηση αυτών των φαινομένων.

8. *Ελικάσες ως κινητήρες.* Οι ελικάσες μπορούν να χρησιμοποιήσουν μονόκλωνο DNA ως τροχιά. Ας θεωρήσουμε μια ελικάση η οποία σε κάθε κύκλο κινείται κατά μία βάση στην κατεύθυνση 3′ → 5′. Με δεδομένο ότι η ελικάση μπορεί να υδρολύσει ATP με ρυθμό 50 μορίων ανά δευτερόλεπτο παρουσία ενός εκμαγείου μονόκλωνου DNA, να υπολογίσετε την ταχύτητα της ελικάσης σε μικρόμετρα ανά δευτερόλεπτο. Να συγκρίνετε την ταχύτητα αυτή με την ταχύτητα της κινησίνης. ✓2

9. *Νέες κινήσεις.* Όταν βακτήρια όπως η *E. coli* στερούνται τροφής, ακινητοποιούνται. Ωστόσο, όταν τα βακτήρια αυτά τοποθετούνται σε όξινο περιβάλλον αρχίζουν και πάλι να κολυμπούν. Να δώσετε την ερμηνεία των φαινομένων αυτών. ✓6

10. *Πηγαίνοντας ίσα.* Ας υποθέσουμε ότι μετράμε τη μέση απόσταση που διανύει σε ευθεία γραμμή, σε μια συγκεκριμένη χρονική περίοδο, ένα βακτήριο *E. coli* προτού να κάνει αναστροφή. Θα περιμένατε αυτή η απόσταση να αλλάξει όταν εμφανιστεί βαθμίδωση μιας χημειοελκτικής ουσίας; Νομίζετε ότι θα είναι βραχύτερη ή μακρύτερη; ✓6

11. *Μετακινώντας ένα βάρος.* Ας εξετάσουμε τη δράση ενός απλού μορίου κινησίνης κατά τη μετακίνηση ενός κυστιδίου κατά μήκος ενός μικροσωληνίσκου. Η δύναμη που απαιτείται για την έλξη ενός σφαιρικού σωματιδίου με ακτίνα a σε οριακή ταχύτητα υ σε ένα υλικό που έχει ιξώδες η είναι:

$$F = 6\pi\eta a\upsilon$$

Ας υποθέσουμε ότι ένας κόκκος διαμέτρου 2 μm φέρεται με μια ταχύτητα 0,6 μm s^{-1} σε ένα υδατικό μέσο (η = 0,01 poise = 0,01 g cm^{-1} s^{-1}).

(α) Ποιο είναι το μέγεθος της δύναμης που ασκείται από το μόριο της κινησίνης; Να εκφράσετε την τιμή σε δύνες (1 δύνη = 1 g cm s^{-2}).

(β) Πόσο έργο παράγεται σε 1 δευτερόλεπτο; Να εκφράσετε την τιμή σε έργια (1 έργιο = 1 δύνη cm).

(γ) Ένας κινητήρας κινησίνης υδρολύει περίπου 80 μόρια ATP ανά δευτερόλεπτο. Πόση είναι η ενέργεια που σχετίζεται με την υδρόλυση τόσης ATP σε έργια; Να συγκρίνετε την τιμή αυτή με το πραγματικό έργο που επιτελείται.

12. *Ασυνήθη βήματα.* Μια δημοσίευση περιγράφει ένα μόριο κινησίνης το οποίο, σύμφωνα με τη δημοσίευση, κινείται κατά μήκος των μικροσωληνίσκων με μέγεθος βήματος 6 nm. Έχετε αμφιβολίες. Γιατί;

13. *Ο ήχος του χειροκροτήματος ενός χεριού.* Η KIF1A είναι ένας πρωτεϊνικός κινητήρας ο οποίος κινείται προς το θετικό άκρο μικροσωληνίσκων *ως μονομερές*. Η KIF1A έχει μόνο μία επικράτεια κινητήρα. Ποια επιπλέον δομικά στοιχεία θα περιμένατε να βρείτε στη δομή της KIF1A; ✓5

14. *Δομικά υλικά.* Τα νημάτια της ακτίνης, οι μικροσωληνίσκοι και τα μαστίγια των βακτηρίων είναι σχηματισμένα από μικρές υπομονάδες. Περιγράψτε τρία πλεονεκτήματα που έχει η δημιουργία μακριών ινωδών δομών από υπομονάδες και όχι από μία και μόνο επιμήκη πρωτεΐνη. ✓3

Άσκηση μηχανισμού

15. *Προς τα πίσω περιστροφή.* Με βάση την προτεινόμενη δομή στην Εικόνα 36.29 για τον κινητήρα των βακτηριακών μαστιγίων, να προτείνετε μια πορεία για τη διαμεμβρανική ροή πρωτονίων όταν ο κινητήρας του μαστιγίου περιστρέφεται κατά τη φορά των δεικτών του ρολογιού και όχι αντίθετα.

Άσκηση συνδυασμού ύλης από διάφορα κεφάλαια

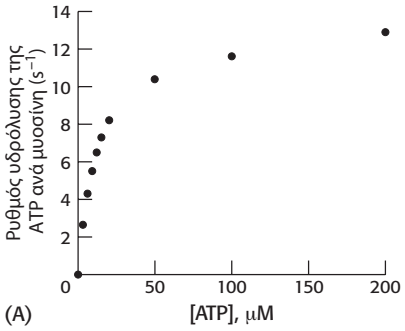
16. *Λείος μυς.* Ο λείος μυς, σε αντίθεση με τον σκελετικό μυ, δεν ρυθμίζεται από τον μηχανισμό τροπομυοσίνης-τροπονίνης. Αντ' αυτού, η σύσπαση του λείου μυός των σπονδυλωτών ελέγχεται από τον βαθμό της φωσφορυλίωσης των ελαφριών αλυσίδων του. Η φωσφορυλίωση επάγει τη σύσπαση ενώ η αποφωσφορυλίωση οδηγεί στη χάλαση του μυός. Όπως στον σκελετικό μυ, έτσι και στον λείο, το έναυσμα για τη σύσπαση είναι η

αύξηση των κυτταροπλασματικών επιπέδων του ιόντος ασβεστίου. Στηριζόμενοι στις γνώσεις σας για άλλους μηχανισμούς μεταγωγής σήματος να προτείνετε έναν μηχανισμό για αυτή τη δράση των ιόντων ασβεστίου.

Άσκηση ερμηνείας δεδομένων

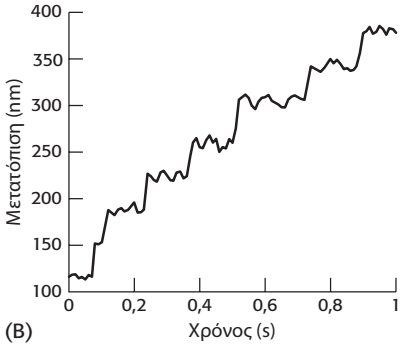
17. *Μυοσίνη V.* Ένα μέλος της οικογένειας της μυοσίνης που αφθονεί, η μυοσίνη V, απομονώθηκε από τον εγκεφαλικό ιστό. Η μυοσίνη αυτή παρουσιάζει ορισμένες ασυνήθιστες ιδιότητες. Πρώτον, με βάση την αλληλουχία αμινοξέων της, κάθε βαριά αλυσίδα έχει έξι διαδοχικές θέσεις δέσμευσης για ελαφριές αλυσίδες που μοιάζουν με την ασβεστιοτροποποιητίνη. Δεύτερον, δημιουργεί διμερή αλλά όχι υψηλότερης τάξης ολιγομερή. Τέλος, σε αντίθεση με όλα τα άλλα μέλη της οικογένειας των μυοσινών, η μυοσίνη V είναι πολύ επεξεργαστική.

Ο ρυθμός της υδρόλυσης της ATP από τη μυοσίνη εξετάστηκε ως συνάρτηση της συγκέντρωσης της ATP και τα αποτελέσματα φαίνονται στη γραφική παράσταση A.



(α) Να εκτιμήσετε τις τιμές k_{cat} και K_M για την ATP.

Με τη χρήση μετρήσεων οπτικής παγίδας, η κίνηση ενός μοναδικού διμερούς μυοσίνης V ήταν δυνατόν να ακολουθηθεί, όπως φαίνεται στη γραφική παράσταση B:



[Βασισμένο σε M. Rief et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 97:9482-9486, 2000.]

(β) Να εκτιμήσετε το μέγεθος του βήματος της μυοσίνης V.

Ο ρυθμός της απελευθέρωσης ADP από τη μυοσίνη V βρέθηκε ότι είναι περίπου 13 μόρια s^{-1}.

(γ) Να συνδυάσετε τις παρατηρήσεις που αφορούν την αλληλουχία των αμινοξέων της μυοσίνης, το μέγεθος του βήματος και τα αποτελέσματα των μελετών της κινητικής, προκειμένου να προτείνετε έναν μηχανισμό για την επεξεργαστική κίνηση της μυοσίνης V.