

Prof. Giorgio Sartor



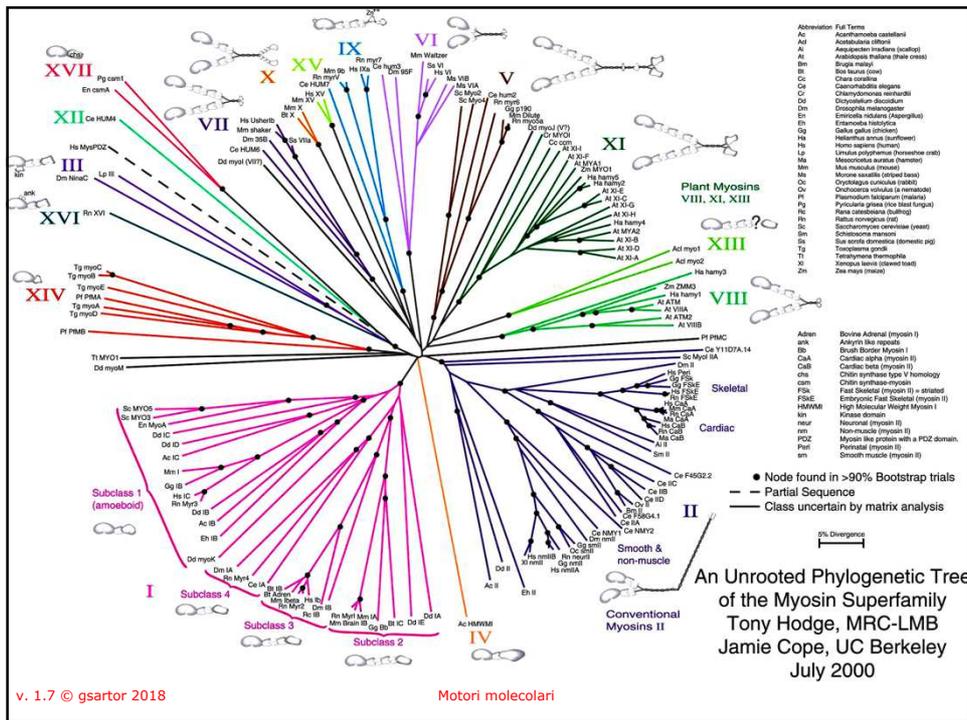
Motori molecolari

II – Miosina, Kinesine e Dineine *Strutture per il movimento*

Copyright © 2001-2018 by Giorgio Sartor.
All rights reserved.

M09 - Versione 1.7 - 02/10/2018





Miosina/e

- 18 classi:
 - Miosina I: monomero, trasporto vescicole
 - Miosina II: contrazione muscolare
 - Miosina III: coinvolta nel meccanismo della fototrasduzione in *Drosophila*
 - altre 15 ...

Miosin**A**

- 18 classi:
 - Miosina I: monomero, trasporto vescicole
 - **Miosina II: contrazione muscolare**
 - Miosina III: coinvolta nel meccanismo della fototrasduzione in *Drosophila*
 - altre 15 ...

v. 1.7 © gsartor 2018

Motori molecolari

Miosina

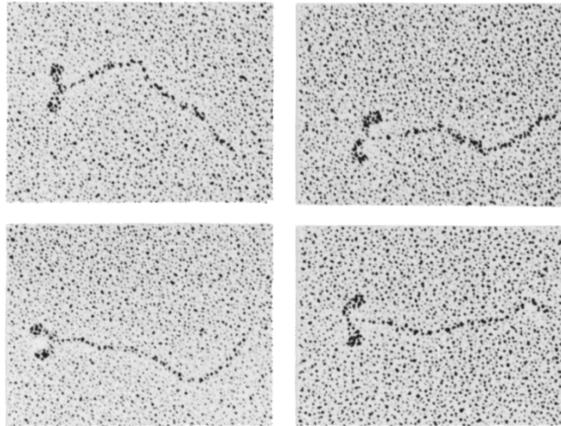
- Responsabile della contrazione muscolare;
- Si muove lungo un filamento di actina;
- Costituita da due copie di catena pesante (87 kDa) e due catene leggere, una essenziale e una regolatrice;
- 40 distinte miosine codificate dal genoma umano (alcune di esse specifiche per la contrazione muscolare).

v. 1.7 © gsartor 2018

Motori molecolari

Struttura della miosina

- Proteina con due teste ed una lunga coda



v. 1.7 © gsartor 2018

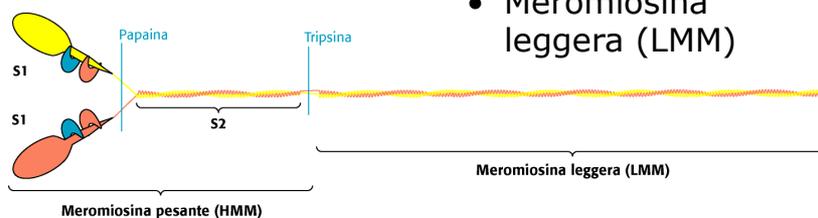
Motori molecolari

Struttura della miosina

- Dalla proteolisi con tripsina e papaina si ottengono :

- Due frammenti S1
 - Un frammento S2
- } • Meromiosina pesante (HMM)

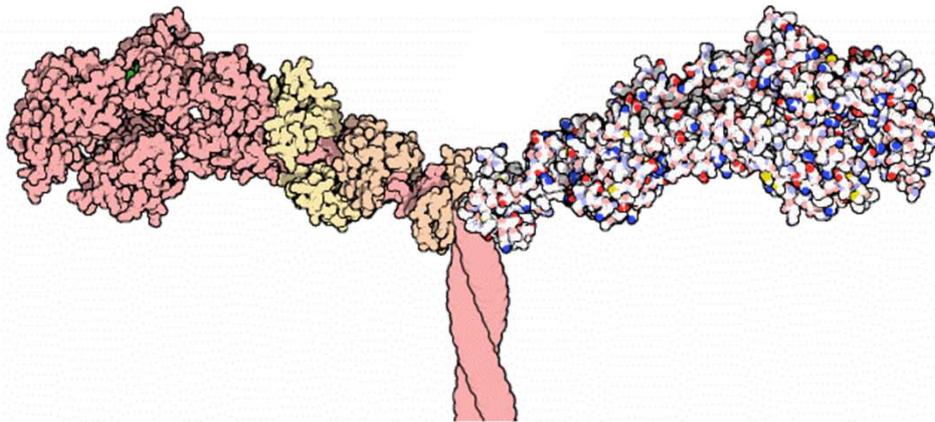
- Meromiosina leggera (LMM)



v. 1.7 © gsartor 2018

Motori molecolari

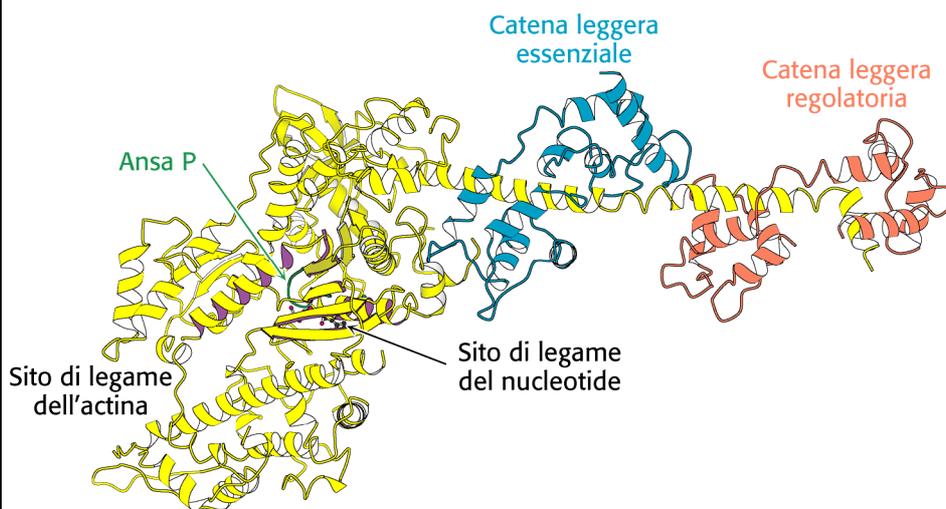
S1



v. 1.7 © gsartor 2018

Motori molecolari

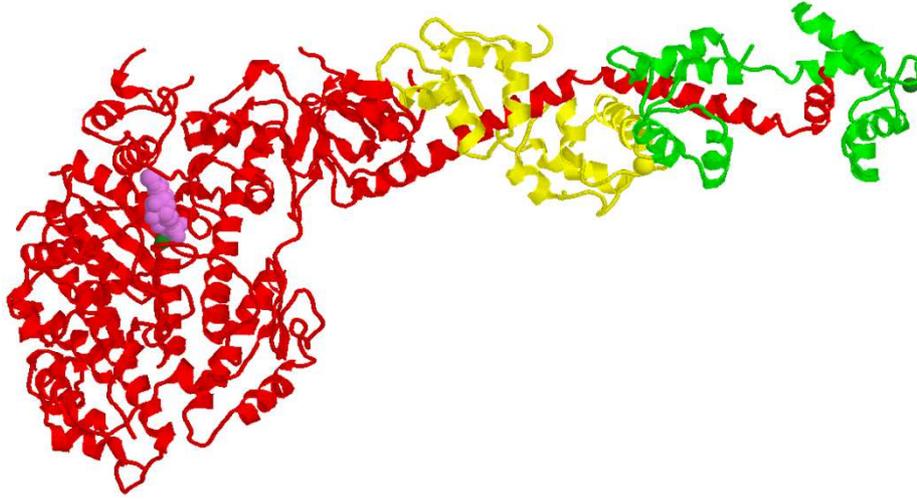
S1 - HMM



v. 1.7 © gsartor 2018

Motori molecolari

S1 - HMM

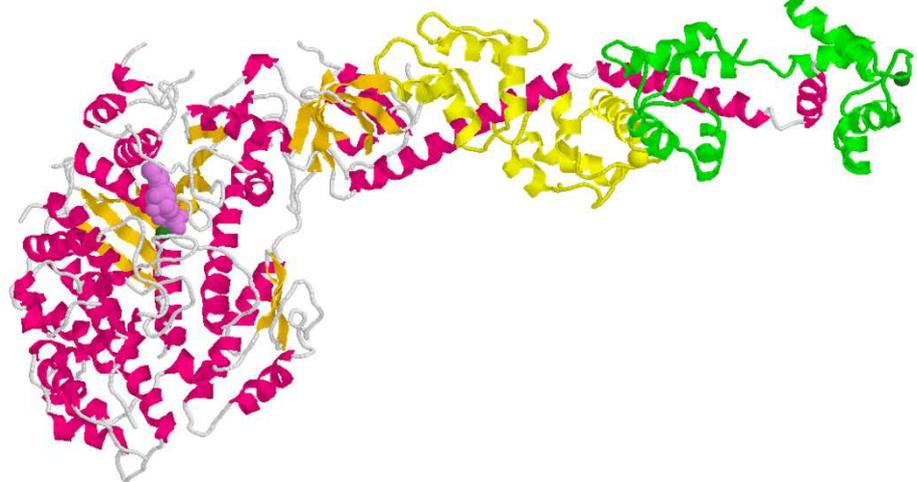


1b7t

v. 1.7 © gsartor 2018

Motori molecolari

S1 - HMM

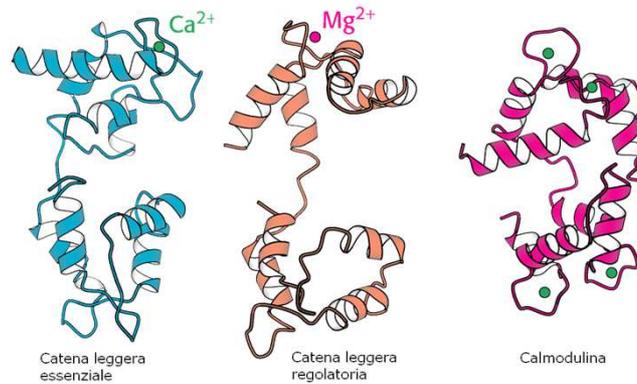


1b7t

v. 1.7 © gsartor 2018

Motori molecolari

S1 - HMM



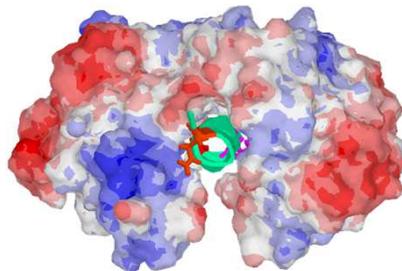
- Analogia strutturale con la calmodulina
- Legano altre proteine in α -elica

v. 1.7 © gsartor 2018

Motori molecolari

Miosina II

- Le due catene leggere (essenziale e regolatoria) si avvolgono intorno alla catena pesante della miosina II
 - Il sito di legame di ogni catena leggera è un motivo IQ (Isoleucina-Glutamina): IQxxxRGxxxR.
 - La loro struttura è simile alla struttura della calmodulina. In molti organismi hanno perso la capacità di legare Ca⁺⁺

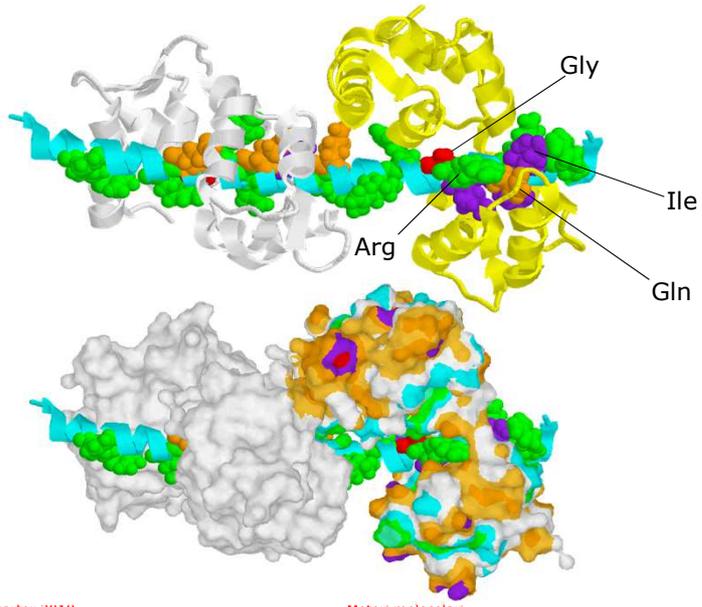


1cdm

v. 1.7 © gsartor 2018

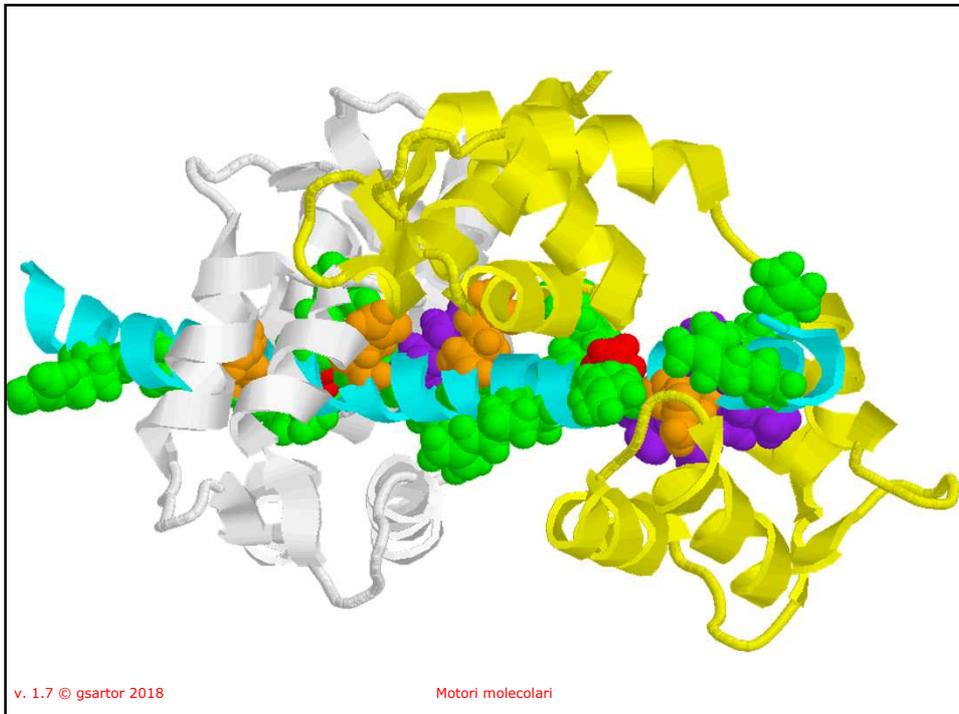
Motori molecolari

Miosina II



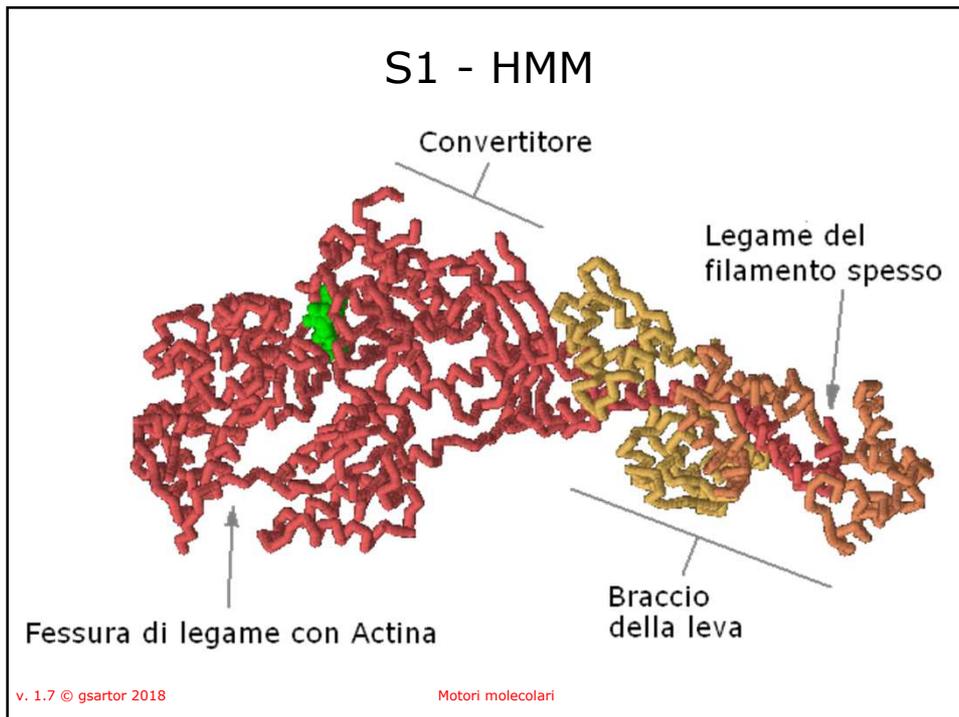
v. 1.7 © gsartor 2018

Motori molecolari



v. 1.7 © gsartor 2018

Motori molecolari



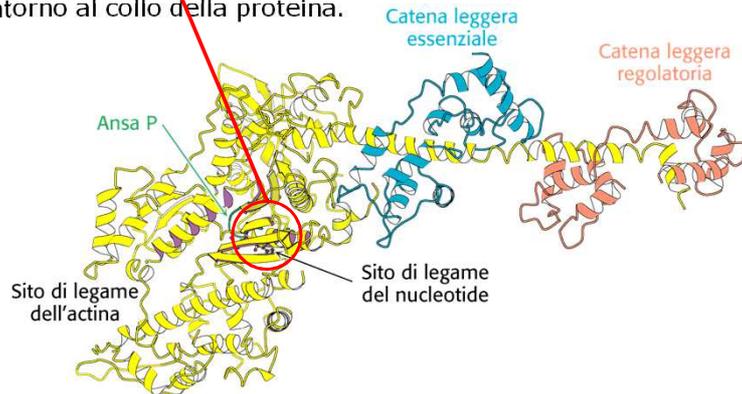
Sito di legame dell'ATP

- L'ATP si lega alla testa della miosina adiacente ai sette segmenti β che formano il β -sheet.
- I loops che si estendono di β -strands interagiscono con il nucleotide
- Il sito di legame del nucleotide è in posizione opposta alla fenditura che lega l'actina.
- L'occupazione del sito del nucleotide causa apertura e la chiusura della fenditura che lega l'actina e causa la rotazione della testa intorno al collo della proteina.

v. 1.7 © gsartor 2018 Motori molecolari

Sito di legame dell'ATP

- L'ATP si lega alla testa della miosina adiacente ai sette segmenti β che formano il β -sheet.
- I loops che si estendono di β -strands interagiscono con il nucleotide
- Il sito di legame del nucleotide è in posizione opposta alla fenditura che lega l'actina.
- L'occupazione del sito del nucleotide causa apertura e la chiusura della fenditura che lega l'actina e causa la rotazione della testa intorno al collo della proteina.

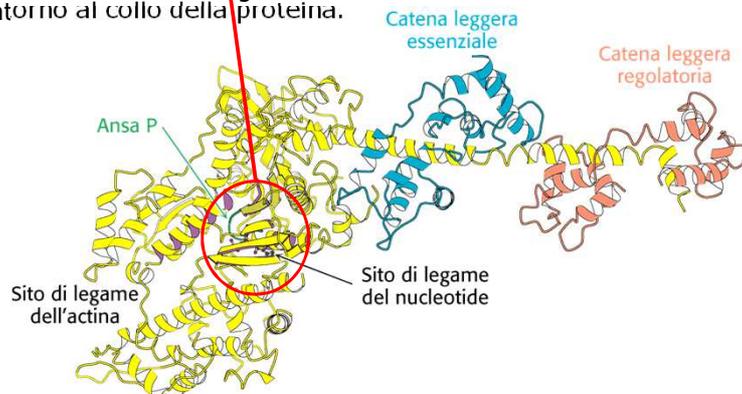


v. 1.7 © gsartor 2018

Motori molecolari

Sito di legame dell'ATP

- L'ATP si lega alla testa della miosina adiacente ai sette segmenti β che formano il β -sheet.
- I loops che si estendono di β -strands interagiscono con il nucleotide
- Il sito di legame del nucleotide è in posizione opposta alla fenditura che lega l'actina.
- L'occupazione del sito del nucleotide causa apertura e la chiusura della fenditura che lega l'actina e causa la rotazione della testa intorno al collo della proteina.

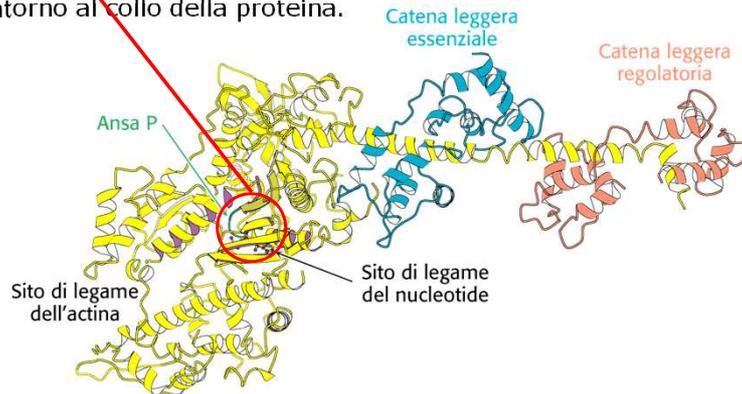


v. 1.7 © gsartor 2018

Motori molecolari

Sito di legame dell'ATP

- L'ATP si lega alla testa della miosina adiacente ai sette segmenti β che formano il β -sheet.
- I loops che si estendono di β -strands interagiscono con il nucleotide
- Il sito di legame del nucleotide è in posizione opposta alla fenditura che lega l'actina.
- L'occupazione del sito del nucleotide causa apertura e la chiusura della fenditura che lega l'actina e causa la rotazione della testa intorno al collo della proteina.

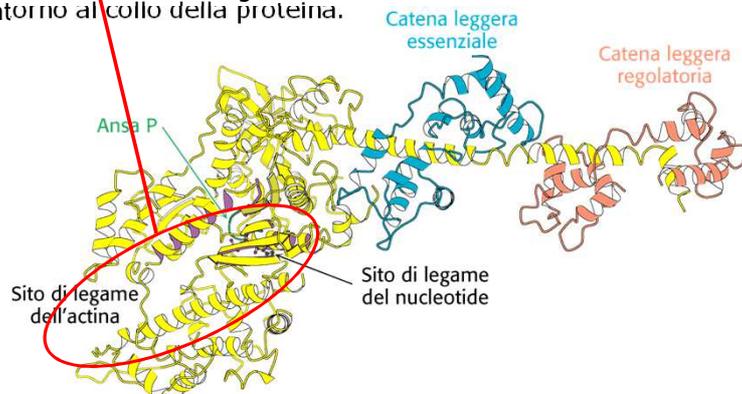


v. 1.7 © gsartor 2018

Motori molecolari

Sito di legame dell'ATP

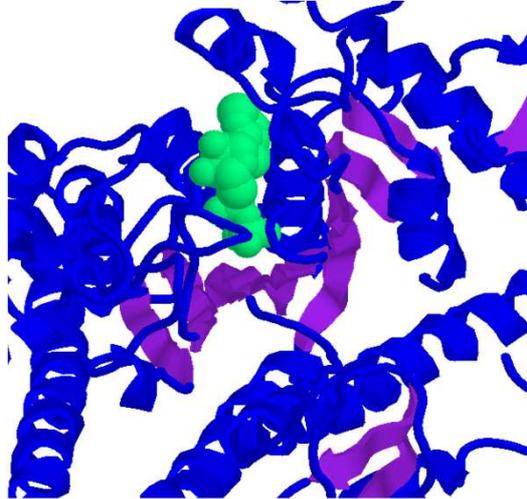
- L'ATP si lega alla testa della miosina adiacente ai sette segmenti β che formano il β -sheet.
- I loops che si estendono di β -strands interagiscono con il nucleotide
- Il sito di legame del nucleotide è in posizione opposta alla fenditura che lega l'actina.
- L'occupazione del sito del nucleotide causa apertura e la chiusura della fenditura che lega l'actina e causa la rotazione della testa intorno al collo della proteina.



v. 1.7 © gsartor 2018

Motori molecolari

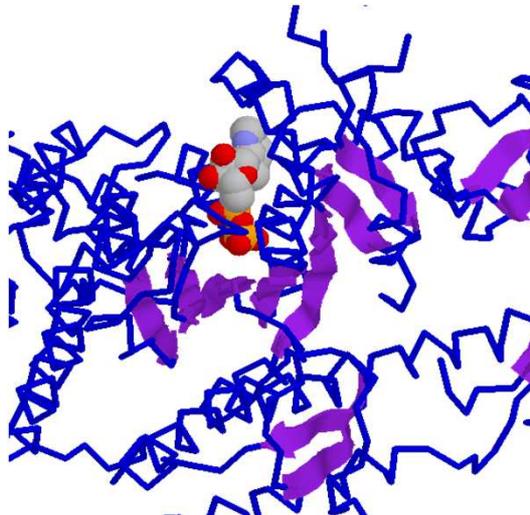
Sito di legame dell'ATP



v. 1.7 © gsartor 2018

Motori molecolari

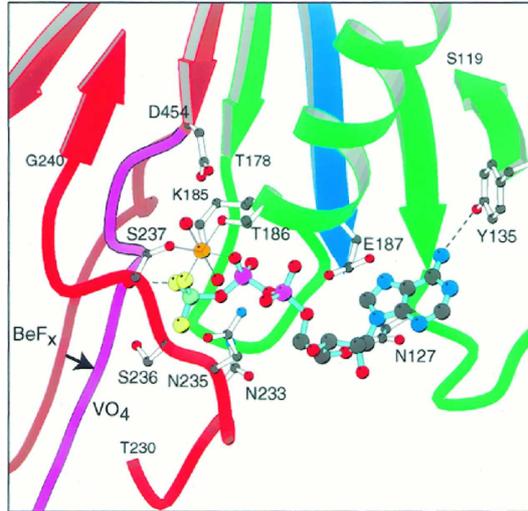
Sito di legame dell'ATP



v. 1.7 © gsartor 2018

Motori molecolari

Expanded view of the nucleotide binding site of MgADP·BeF_x·S1Dc where the MgADP-beryllium fluoride complex mimics MgATP in a prehydrolysis state.



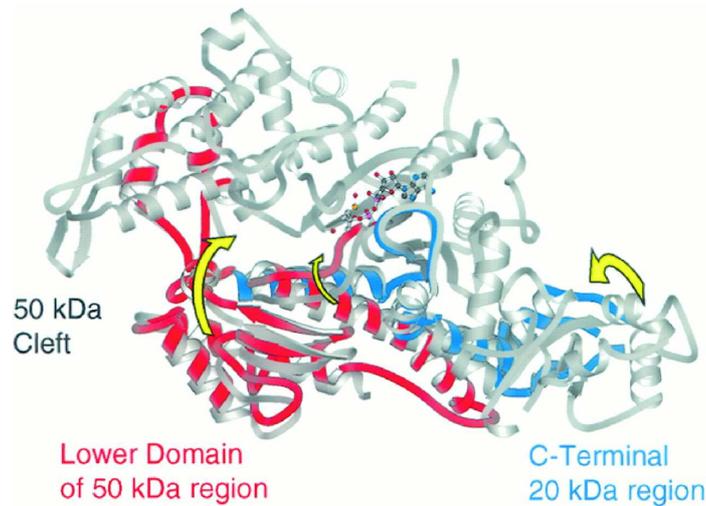
Rayment I J. Biol. Chem. 1996;271:15850-15853

v. 1.7 © gsartor 2018
©1996 by American Society for Biochemistry and Molecular Biology

Motori molecolari

jbc

Ribbon representation of the movement of the lower 50-kDa domain in the vanadate complex relative to the position in the beryllium fluoride complex.



Rayment I J. Biol. Chem. 1996;271:15850-15853

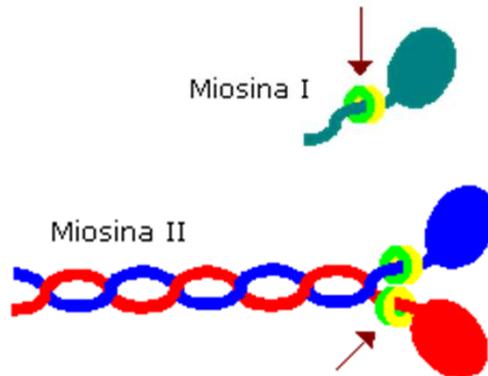
v. 1.7 © gsartor 2018
©1996 by American Society for Biochemistry and Molecular Biology

Motori molecolari

jbc

Le miosine – differenze strutturali

- La **Miosina I** possiede una catena pesante con un singolo dominio globulare (monomero). La sua catena corta non possiede la sequenza di sette AA del α -helical coiled coil.
- La **Miosina II** possiede due catene pesanti.
- Il dominio globulare di ogni catena pesante catalizza l'idrolisi di ATP e interagisce con l'actina
 - Ogni catena pesante continua con un dominio (coda) dove una sequenza di sette AA è ripetuta e dimerizza per formare una struttura rod-like α -helical coiled coil.

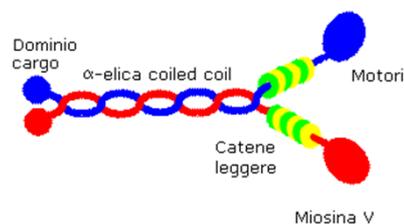


v. 1.7 © gsartor 2018

Motori molecolari

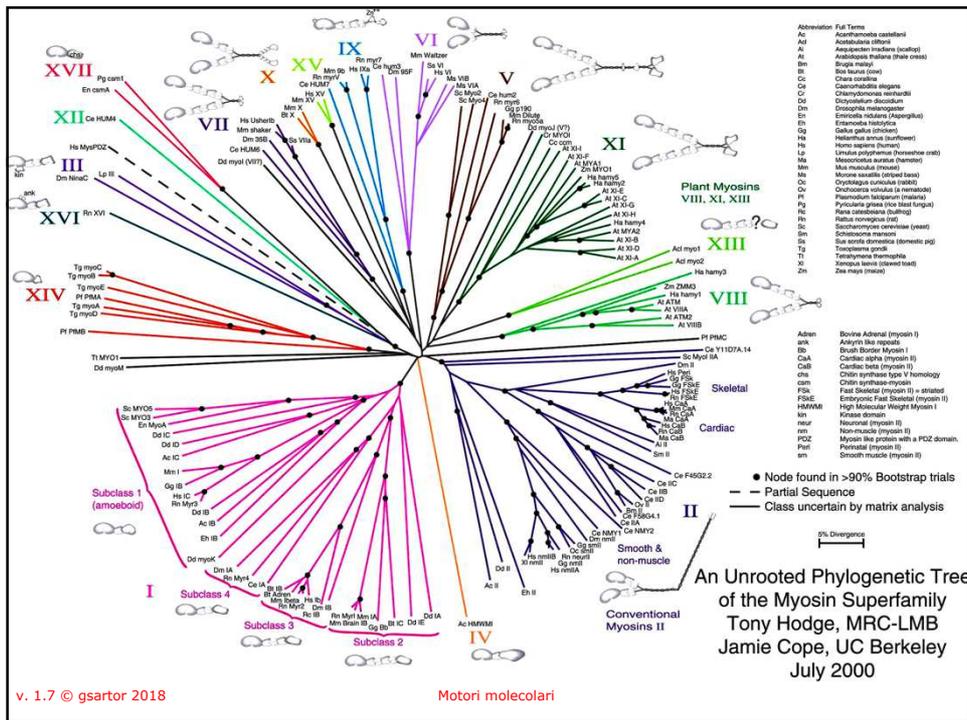
Le miosine – differenze strutturali

- La **Miosina V** possiede due catene pesanti come al Miosina II ma ha una regione più lunga con sei siti di legame della calmodulina. La sua corta regione α -helix-coiled-coil è seguita da un dominio globulare alla fine dei ogni catena che lega un "carga".
- Il dominio della coda della **Miosina VI** possiede un corto segmento ripetuto di sette AA e si può trovare nella forma monomerica e dimerica a seconda delle condizioni.

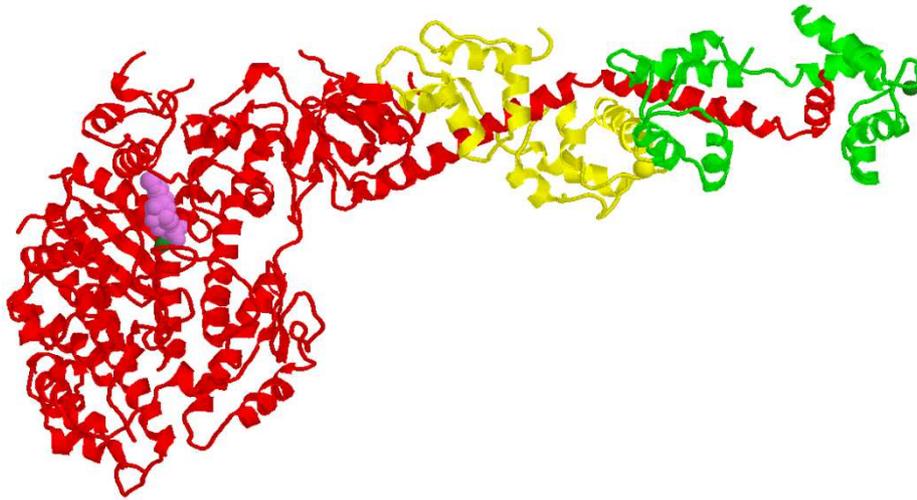


v. 1.7 © gsartor 2018

Motori molecolari



S1 - HMM



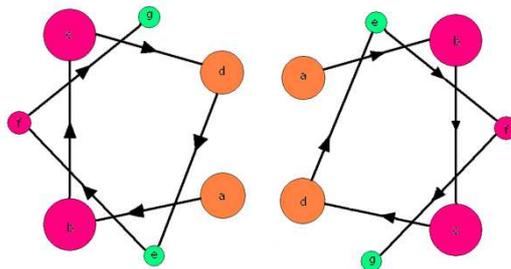
1b7t

v. 1.7 © gsartor 2018

Motori molecolari

α -helix coiled-coil

- Il motivo strutturale α -elica coiled-coil consiste in due lunghe α -eliche con un pattern ripetitivo di AA con catena laterale idrofobica che produce una struttura superavvolta.
- Le strutture superavvolte sono proprie nelle miosine di classe II, V, VI, VII, VIII, X, XI and XII.
- Nella Miosina II la porzione C terminale forma una struttura molto lunga.
- Le cariche si ripetono al di fuori del coiled-coil permettono un assemblaggio di più filamenti.

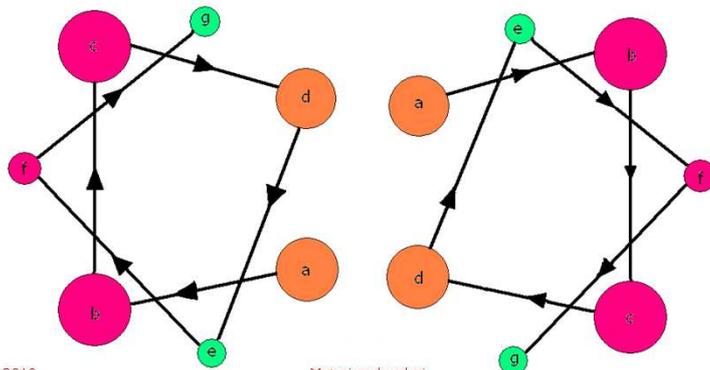


v. 1.7 © gsartor 2018

Motori molecolari

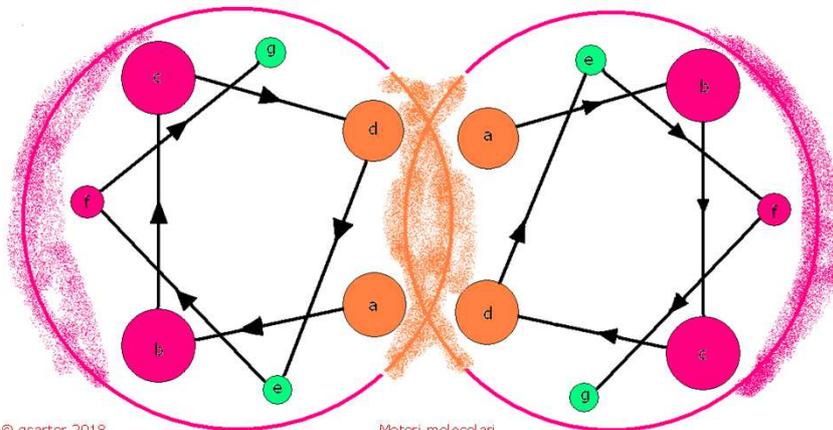
α -helix coiled-coil

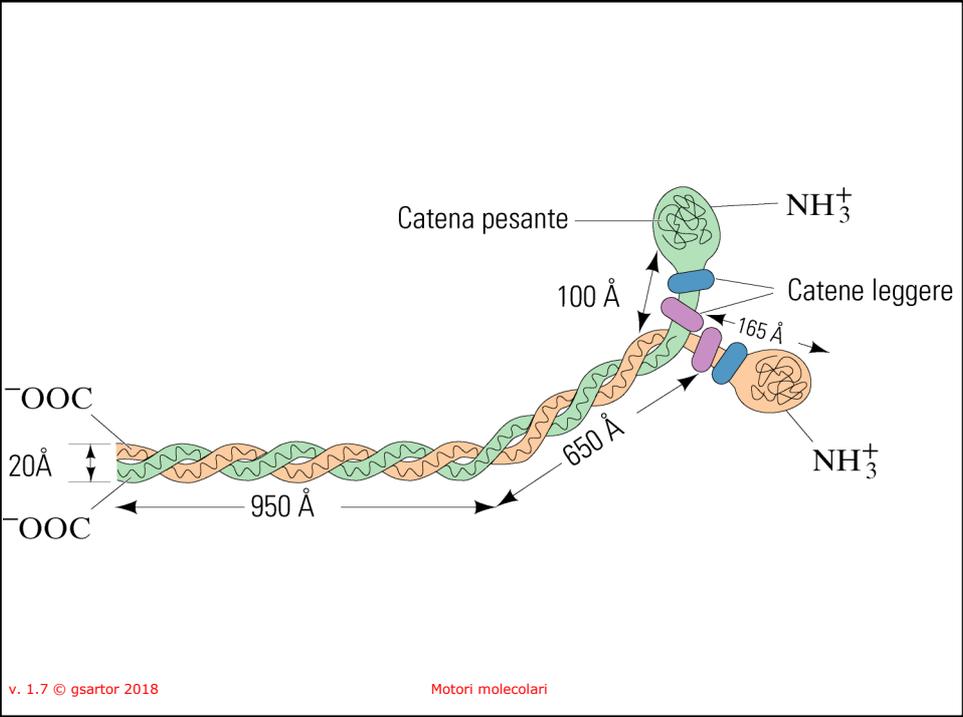
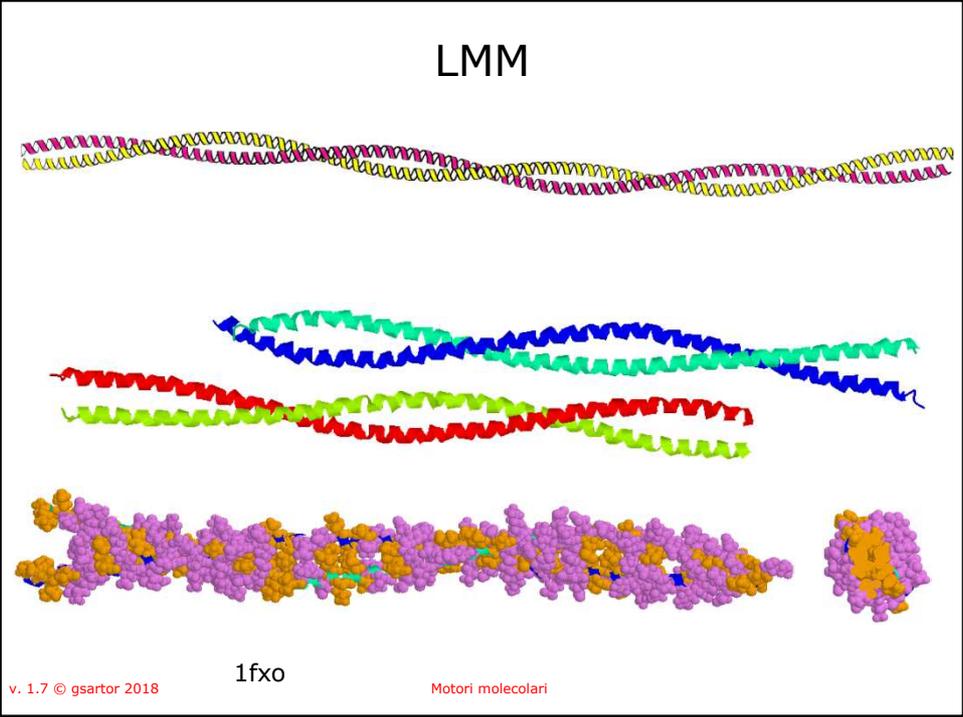
- Le ripetizioni di 7, 28 e 196 residui sono responsabili dell'organizzazione dei filamenti
- I residui 1 e 4 (**a** e **d**) sono idrofobici
- I residui 2,3 e 6 (**b**, **c** e **f**) sono ionici



α -helix coiled-coil

- Le ripetizioni di 7, 28 e 196 residui sono responsabili dell'organizzazione dei filamenti
- I residui 1 e 4 (**a** e **d**) sono idrofobici
- I residui 2,3 e 6 (**b**, **c** e **f**) sono ionici





Stabilizzazione del filamento

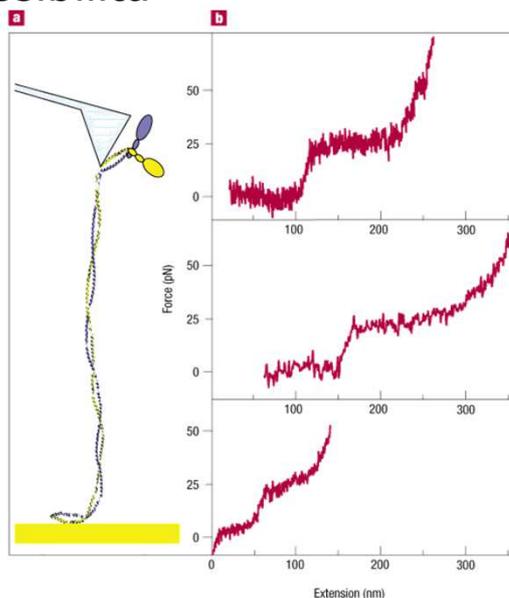
- La ripetizione di 28 residui (4 x 7) consiste in pattern distinti di catene laterali di carica opposta e si impaccano con la regione della miosina adiacente per stabilizzare il filamento
- La ripetizione di 196 residui (7 x 28) contribuisce a stabilizzare l'impaccamento

v. 1.7 © gsartor 2018

Motori molecolari

Flessibilità

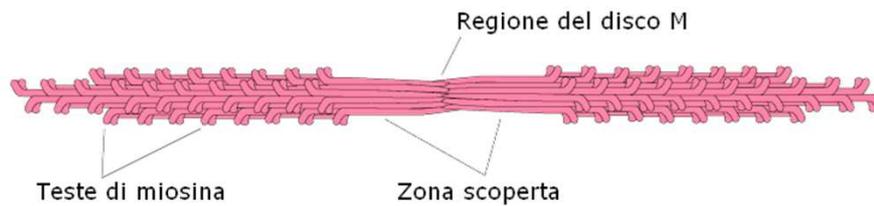
- a. Geometria dell'esperimento
- b. Grafico della forza applicata contro l'estensione:
 - I. Miosina II di muscolo di coniglio
 - II. Miosina II di *Dictyostelium*
 - III. Coda accorciata di miosina II da *Dictyostelium* espressa in batteri



v. 1.7 © gsartor 2018

Motori molecolari

Impaccamento



v. 1.7 © gsartor 2018

Motori molecolari

Movimento!!!

- Tutti gli organismi si muovono (Singole cellule e organismi complessi)
 - Verso le sorgenti di energia (cibo, luce, ecc.)
 - Lontano dai pericoli
 - ... dovunque serva ...
- ... e si muovono al loro interno.

v. 1.7 © gsartor 2018

Motori molecolari



Kinesine e Dineine

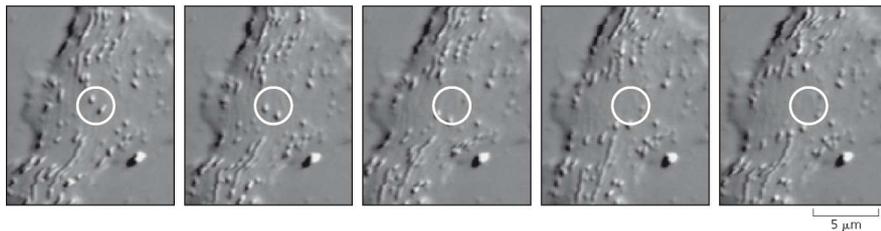
- Le kinesine e le dineine si muovono lungo microtubuli trascinando il loro carico.
- Tutti questi motori sono composti da un dominio motore che scinde l'ATP e converte l'energia in movimento, ed un dominio di legame che si connette all'oggetto che viene mosso

Andare sui binari

- Le kinesine vengono usate per trascinare verso l'esterno delle cellule grandi oggetti, come vescicole, lisosomi o il reticolo endoplasmatico, dall'interno (membrana nucleare) verso la membrana cellulare.
- Le Dineine vengono usate per lo scopo opposto, tirare oggetti verso l'interno.

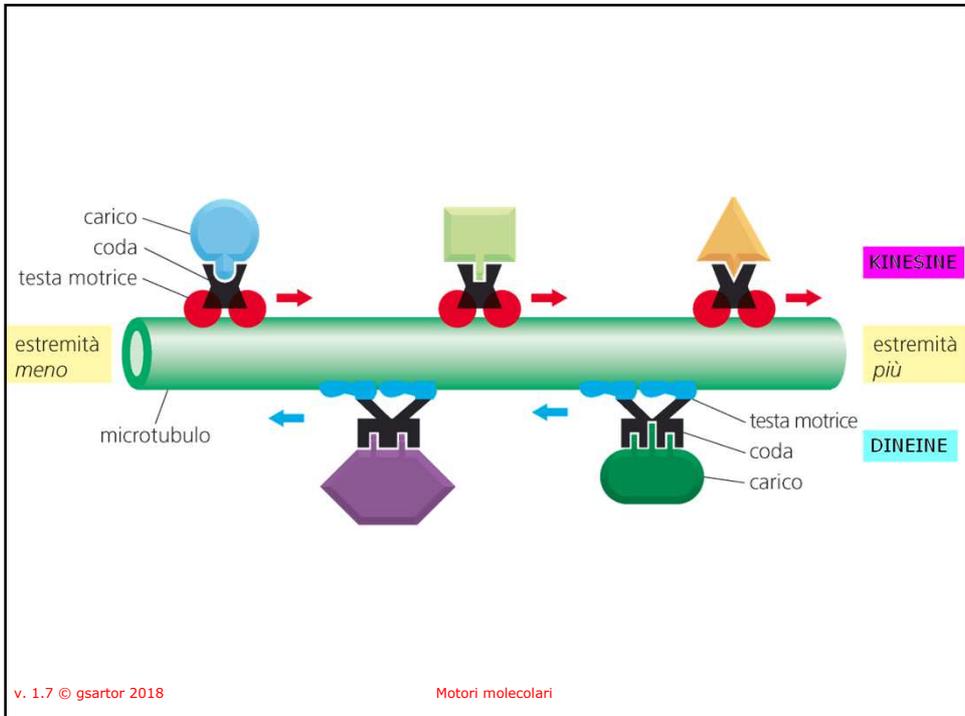
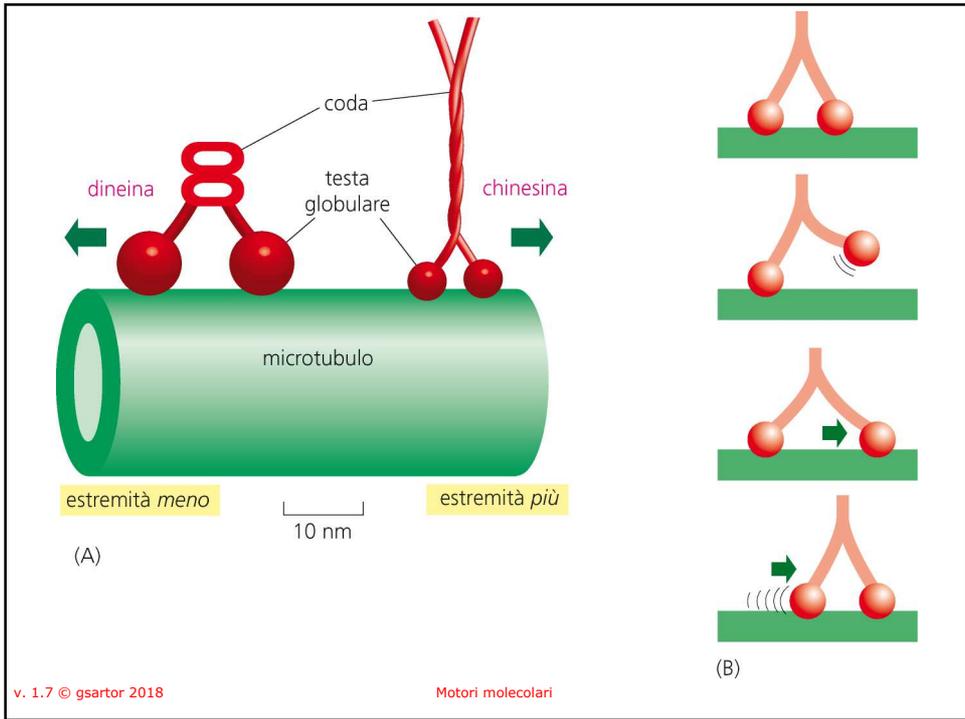
v. 1.7 © gsartor 2018

Motori molecolari



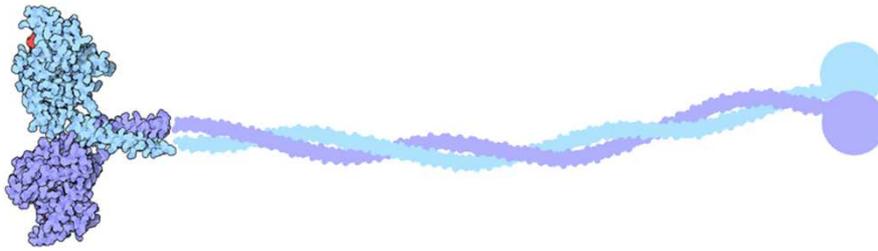
v. 1.7 © gsartor 2018

Motori molecolari



Kinesina

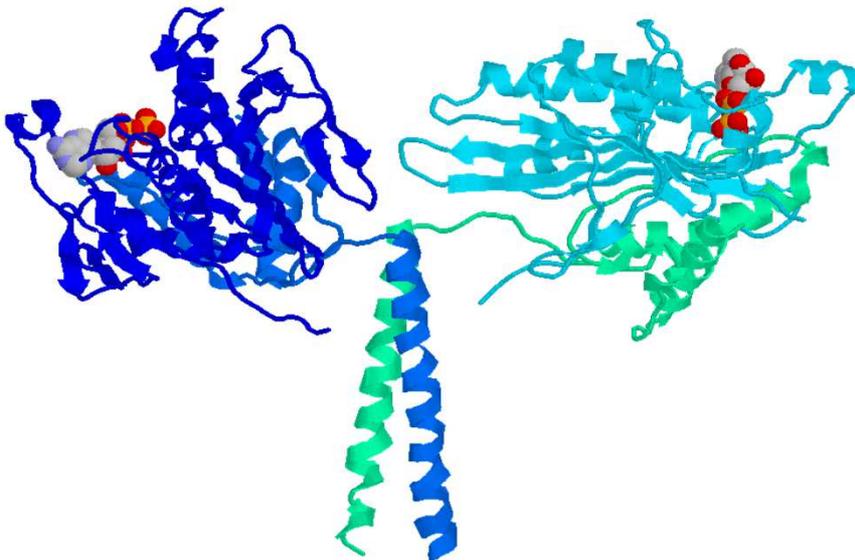
- Struttura simile alla miosina:
 - Testa
 - Coda



v. 1.7 © gsartor 2018

Motori molecolari

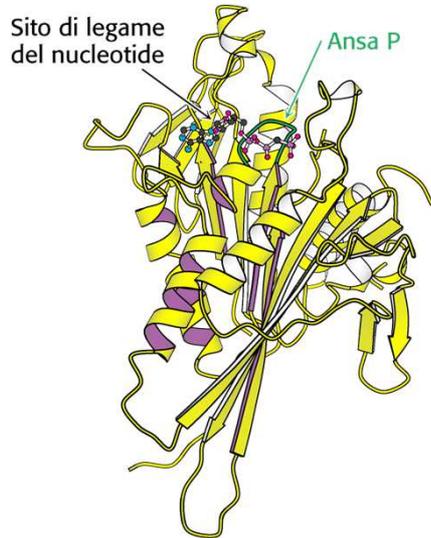
Kinesina



v. 1.7 © gsartor 2018

Motori molecolari

Kinesina

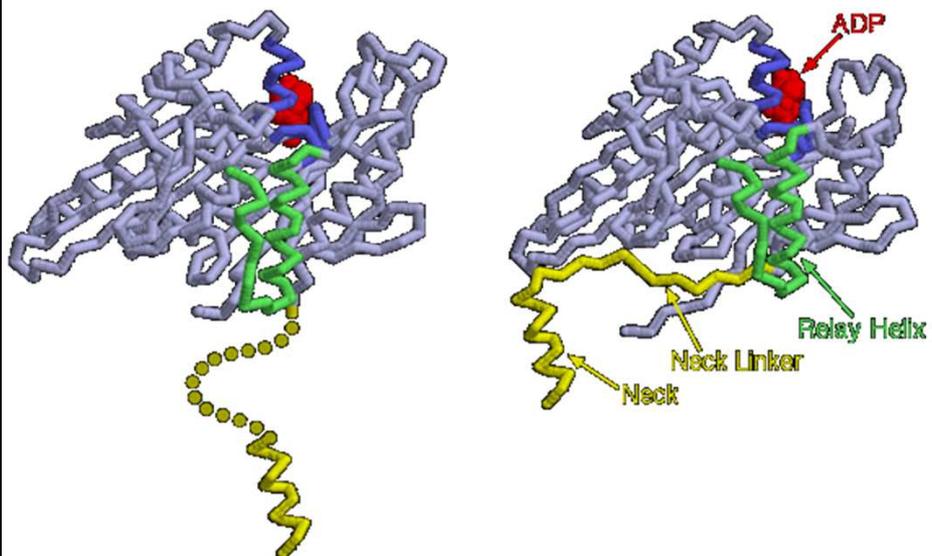


- Struttura simile alla miosina:
 - Testa
 - Coda

v. 1.7 © gsartor 2018

Motori molecolari

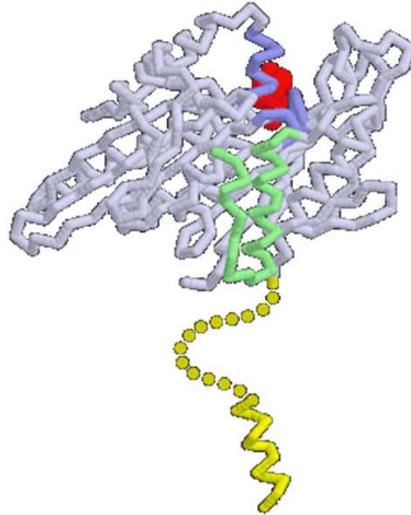
Kinesina



v. 1.7 © gsartor 2018

Motori molecolari

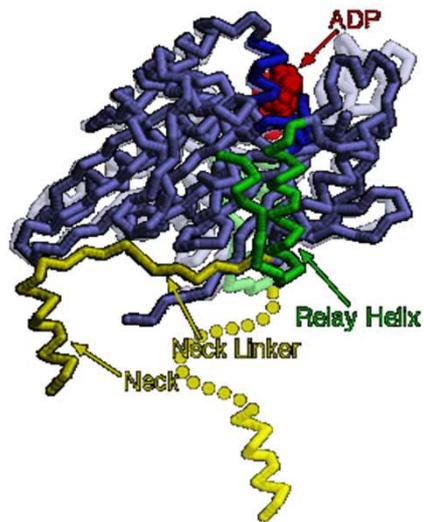
Kinesina



v. 1.7 © gsartor 2018

Motori molecolari

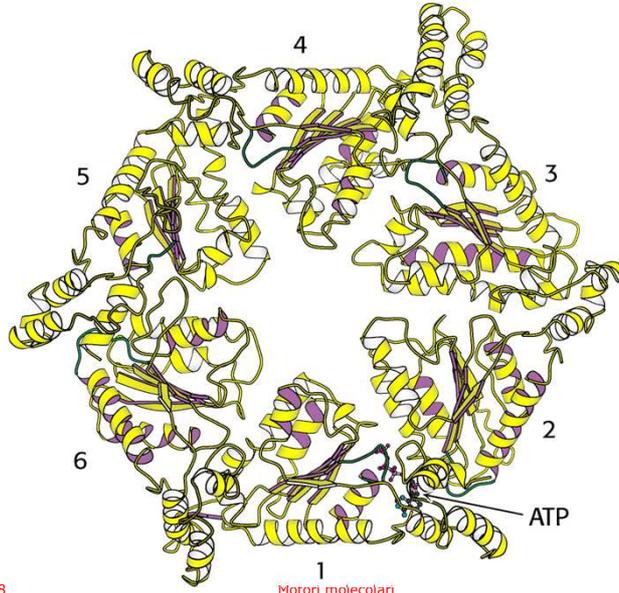
Kinesina



v. 1.7 © gsartor 2018

Motori molecolari

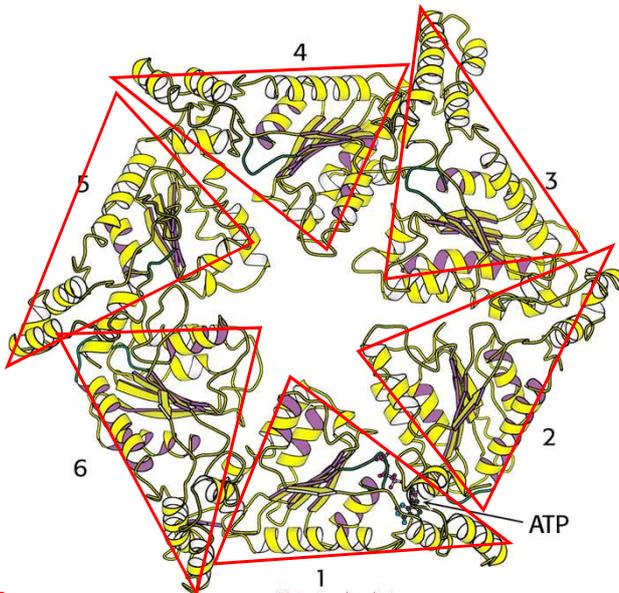
Dineina



v. 1.7 © gsartor 2018

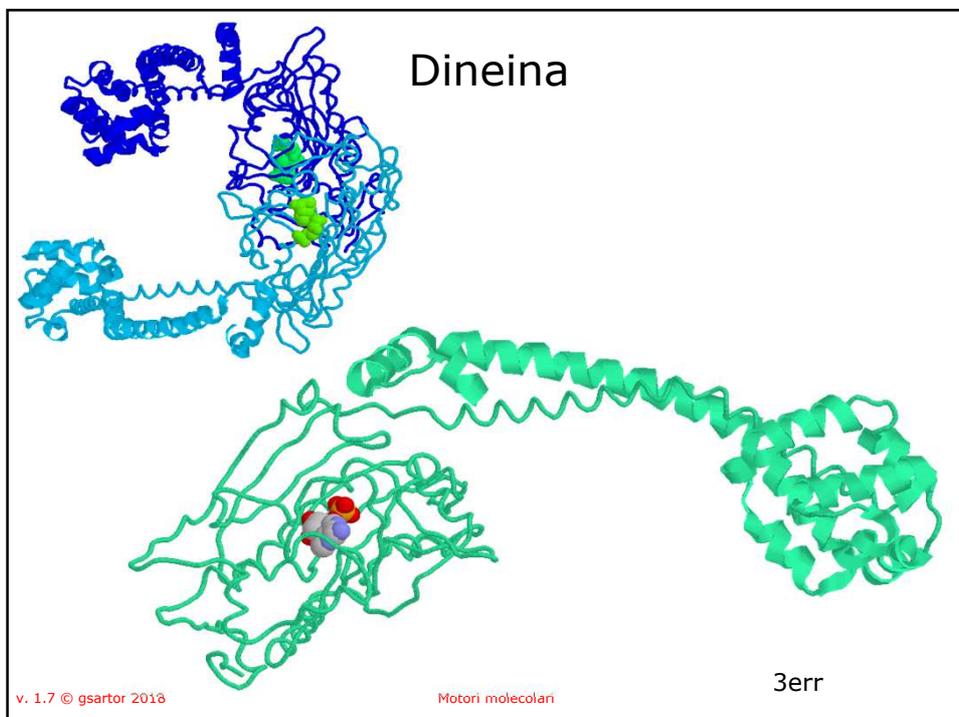
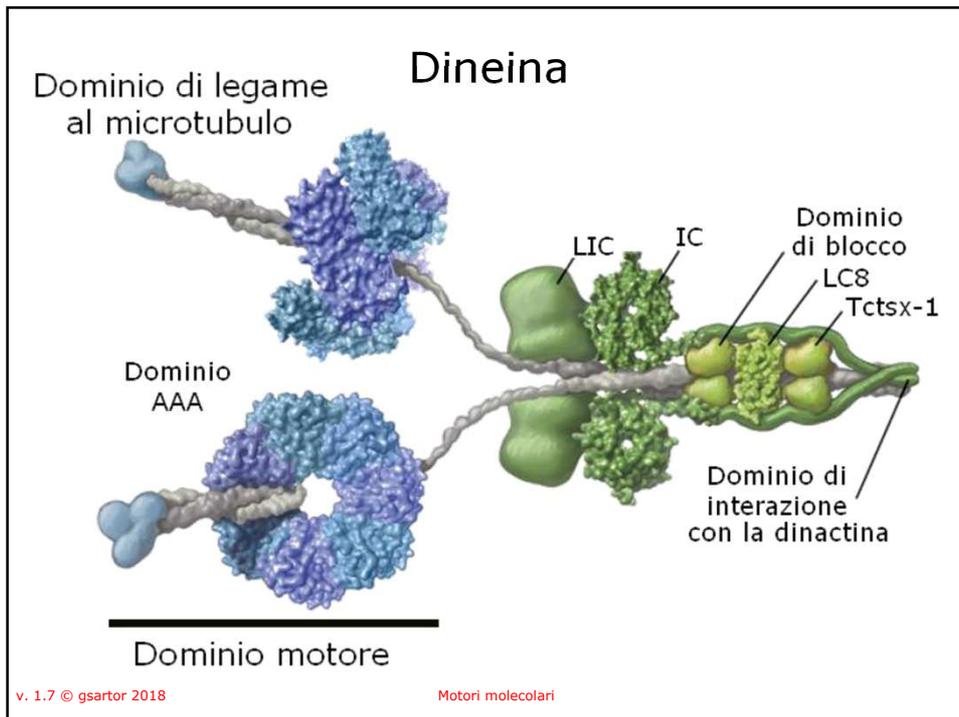
Motori molecolari

Dineina



v. 1.7 © gsartor 2018

Motori molecolari



Crediti e autorizzazioni all'utilizzo

- Questo materiale è stato assemblato da informazioni raccolte dai seguenti testi di Biochimica:
 - CHAMPE Pamela , HARVEY Richard , FERRIER Denise R. LE BASI DELLA BIOCHIMICA [ISBN 978-8808-17030-9] - Zanichelli
 - NELSON David L. , COX Michael M. I PRINCIPI DI BIOCHIMICA DI LEHNINGER - Zanichelli
 - GARRETT Reginald H., GRISHAM Charles M. BIOCHIMICA con aspetti molecolari della Biologia cellulare - Zanichelli
 - VOET Donald , VOET Judith G , PRATT Charlotte W FONDAMENTI DI BIOCHIMICA [ISBN 978-8808-06879-8] - Zanichelli
- E dalla consultazione di svariate risorse in rete, tra le quali:
 - Kegg: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes <http://www.genome.ad.jp/kegg/>
 - Brenda: <http://www.brenda.uni-koeln.de/>
 - Protein Data Bank: <http://www.rcsb.org/pdb/>
- Il materiale è stato inoltre rivisto e corretto dalla **Prof. Giancarla Orlandini** dell'Università di Parma alla quale va il mio sentito ringraziamento.

Questo ed altro materiale può essere reperito a partire da:

<http://www.gsartor.org/pro>

Il materiale di questa presentazione è di libero uso per didattica e ricerca e può essere usato senza limitazione, purché venga riconosciuto l'autore usando questa frase:

Materiale ottenuto dal Prof. Giorgio Sartor
Università di Bologna a Ravenna

Giorgio Sartor - giorgio.sartor@unibo.it

v. 1.7 © gsartor 2018

Motori molecolari

