

УДК: 519.8

## Кластерные модели молекулярных моторов: кинезин и миозин V

В. П. Трифоненков<sup>1,а</sup>, А. В. Карговский<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ»,  
Россия, 115409, г. Москва, Каширское ш., д. 13

<sup>2</sup>Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, физический факультет,  
Россия, 119992, г. Москва, Ленинские горы, 1

E-mail: <sup>а</sup> snuclear@mail.ru

Получено 28 октября 2014 г.

Предложена полуфеноменологическая модель функционирования двух молекулярных моторов — кинезина и миозина V, играющих важнейшую роль во внутриклеточном транспорте. Исследована временная динамика изменения характерных геометрических параметров и упругих напряжений, возникающих при движении моторов. Определены скорости передвижения кинезина и миозина V и их зависимость от концентрации АТФ в среде.

Ключевые слова: молекулярные машины, миозин V, кинезин

## Cluster models of molecular motors: kinesin and myosin V

V. P. Trifonenkov<sup>1</sup>, A. V. Kargovsky<sup>2</sup>

<sup>1</sup>National Research Nuclear University “Moscow Engineering Physics Institute”, 31 Kashirskoye sh.,  
Moscow, 115409, Russia

<sup>2</sup>Faculty of Physics, Lomonosov Moscow State University, 1 Leninsky Gory, Moscow, 119992, Russia

**Abstract.** — We present a semiphenomenological model of the two molecular motors: kinesin and myosin V, which play a great role in intracellular transport. The temporal dynamics of changes in the characteristic geometric parameters and the elastic stresses generated during the movement of motors is studied. The rates of movement of kinesin and myosin V, and their dependence on the concentration of ATP are discussed.

Keywords: molecular motors, myosin V, kinesin

Citation: *Computer Research and Modeling*, 2014, vol. 6, no. 5, pp. 747–760 (Russian).

## Введение

Все клетки для продвижения и позиционирования своих органелл используют молекулярные моторы (ММ). Три класса ММ — кинезины, миозины и динеины — в процессе эволюции приспособились к транспортировке грузов внутри клеток [Vale, 2003; Hirokawa, Takemura, 2005].

Моторный белок миозин отличается большим разнообразием [Coluccio, 2008]. Известно по крайней мере 35 классов [Odrionitz, Kollmar, 2007; Cope et al., 1996; Foth et al., 2006] суперсемейства миозинов, выполняющих множество функций в клетке. Они передвигаются по актиновым филаментам (АФ) и участвуют в цитокинезе, агрегации клеток, эндокинезе, экзокинезе, движении мРНК, пигментных гранул, а также клеточной подвижности. Такое разнообразие выполняемых функций приводит к тому, что различные миозины имеют разные кинетические свойства и структурные особенности. Например, некоторые миозины адаптированы для транспортировки грузов, в то время как другие играют роль датчиков давления. Все миозины содержат одну или две тяжелых полипептидных цепи и несколько легких цепей. N-конец каждой тяжелой цепи образует глобулярную головку, которая способна связываться с актином и гидролизовать АТФ [Margossian, Lowey, 1973a; Margossian, Lowey, 1973b]. Миозины V (MV) участвуют в транспорте органелл и динамическом связывании органелл в некоторых клеточных системах. Эти миозины найдены почти во всех геномах эукариот, секвенированных на сегодняшний день [Odrionitz, Kollmar, 2007]. У человека есть 38 генов миозина, из которых три относятся к миозину V (Va, Vb и Vc), тогда как дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* имеют только пять генов миозина, два из которых кодируют миозины V класса (MYO2 и MYO4) [Berg et al., 2001]. Среди грузов, перемещаемых миозинами пятого класса, присутствуют секреторные везикулы, вакуоли, пероксисомы, мРНК, меланосомы, рециркулирующие эндосомы и др. [Hammer, Sellers, 2011].

Кинезин (КН) работает как переносчик различных органелл и супермолекулярных частиц [Vale et al., 1985; Rice et al., 1999; Rosenbaum, Witman, 2002; Vale, 2003]. Основываясь на наблюдениях, сделанных с использованием электронной микроскопии, кинезины пяти классов были впервые обнаружены в мозге мышей [Hirokawa, 1982; Aizawa et al., 1992]. Суперсемейство кинезинов включает 15 классов. Сейчас известно по крайней мере 45 генов кинезина у млекопитающих (хотя в действительности их может быть вдвое больше [Miki et al., 2001]). Двигаясь вдоль тубулиновых микротрубочек (МТ), молекула кинезина может тянуть за собой сравнительно крупные субклеточные частицы. Кинезины участвуют в нейронном транспорте, переносе везикулы с синаптическими прекурсорами, митохондриальные белки, лизосомы, тубулин, а также эндосомы и комплексы Гольджи [Hirokawa et al., 2009].

По структурным и биохимическим свойствам кинезин напоминает миозин [Jon Kull et al., 1996]. Молекула кинезина представляет собой димер, образованный двумя одинаковыми полипептидными цепями. Подобно молекуле миозина с одной стороны каждой полипептидной цепи кинезина формируется глобулярная головка, соединенная со сравнительно длинным хвостом. Хвосты двух мономерных цепей сплетены вместе, а наклоненные в разные стороны головки образуют своеобразную рогатину, которая непосредственно взаимодействует с глобулярными мономерами микротрубочки, вдоль которой перемещается кинезин [Тихонов, 1999].

В то время как большинство *in vitro* экспериментов проводится с отдельными молекулярными моторами, в клетке несколько ММ могут кооперироваться для переноса груза (причем ММ могут принадлежать даже к разным классам) [Gross et al., 2007; Hancock, 2008].

Кластерный подход к моделированию молекулярных машин сочетает в себе простоту (белок представляется как совокупность крупных элементов — субглобул, взаимодействующих между собой) и ясный физический смысл электромеханических процессов, отвечающих за функциональную динамику белка. По сравнению с широко применяющимся методами молекулярной динамики или QM/ММ в таком подходе налицо колоссальный выигрыш во времени счета. Обратной стороной служит оставление за скобками процессов, протекающих в активном центре (АЦ)

фермента, взаимодействия с водным окружением, что, конечно, ограничивает предсказания такой полуфеноменологической модели только качественным уровнем. Истоки кластерных моделей восходят к концепции «белок-машина» (см., например, [Чернавский и др., 1967; Чернавский, Чернавская, 1999]). В ее основе лежит предположение о том, что каждый цикл в работе ферментов связан с внутренними движениями отдельных молекулярных групп, которые не только вызывают изменения конфигурации электрических полей в карманах активных центров, но и запасают упругую энергию в субглобулах, образующих ферменты. Кластерные модели некоторых молекулярных моторов, в частности  $F_0F_1$  АТФаз, представлены в [Pogrebnya et al., 2005; Kargovsky et al., 2009; Романовский, Тихонов, 2010; Romanovsky et al., 2013; Романовский, Трифоненков, 2014; Kargovsky et al., 2014].

В данной работе предложены кластерные математические модели кинезина и миозина V, работающих при наличии случайных воздействий. Именно при построении математических моделей вырисовываются общие принципы, лежащие в основе их деятельности.

## Кластерная модель

### Кинезин

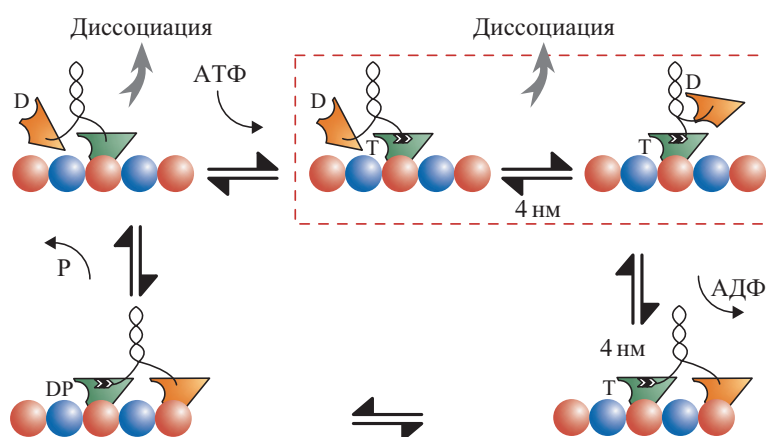


Рис. 1. Механохимический цикл кинезина (адаптировано с [Schnitzer et al., 2000]). Обозначения внутри АЦ: Т — АТФ, D — АДФ, P — фосфат

Молекула кинезина представляет собой димер. Каждый мономер состоит из глобулы (ГК) размером  $7.5 \times 4.5 \times 4.5$  нм и соединенной с ней длинной хвостовой части. Хвосты двух мономерных цепей переплетены между собой и образуют «стебель», к которому может прикрепляться груз. ГК взаимодействуют с тубулиновой микротрубочкой, вдоль которой движется кинезин. За один шаг кинезин смещается на расстояние около 8 нм, что в точности соответствует размеру двух глобул тубулина, из которых построены МТ. За одну секунду кинезин совершает порядка 100 шагов (800 нм) до полного отрыва от МТ. Заметим, что на МТ имеется 11 независимых путей, по которым могут параллельно передвигаться молекулы кинезина с грузом, преодолевая сопротивление среды. В активном центре ГК происходит гидролиз АТФ; жесткое связывание ГК с МТ происходит, когда АЦ ГК пуст. На рисунке 1 представлен механохимический цикл работы кинезина. Пусть изначально АЦ передней ГК пуст и она жестко связана с МТ, а задняя ГК свободна (слабо связана) и имеет АДФ в своем АЦ. При связывании молекулы АТФ в активном центре передней ГК кинезин переходит в композитное состояние, в котором он подвержен быстрым конформационным флуктуациям порядка 4 нм вдоль МТ. Конформационные флуктуации

слабо связанной задней ГК приводят к закреплению ее в следующем центре связывания с МТ, вызывая дальнейшее продвижение на 4 нм и выход АДФ из АЦ. Теперь обе ГК теперь сильно связаны с МТ. При последующем гидролизе АТФ и выходе фосфата из АЦ теперь уже задней ГК создаются условия для отрыва глобулы от МТ. В итоге кинезин перемещается на 8 нм вдоль МТ и возвращается в исходное состояние. ГК меняются ролями, и цикл повторяется [Schnitzer et al., 2000]. Диссоциация задней ГК от МТ менее вероятна до входа АТФ в АЦ передней ГК, нежели после связывания АТФ.

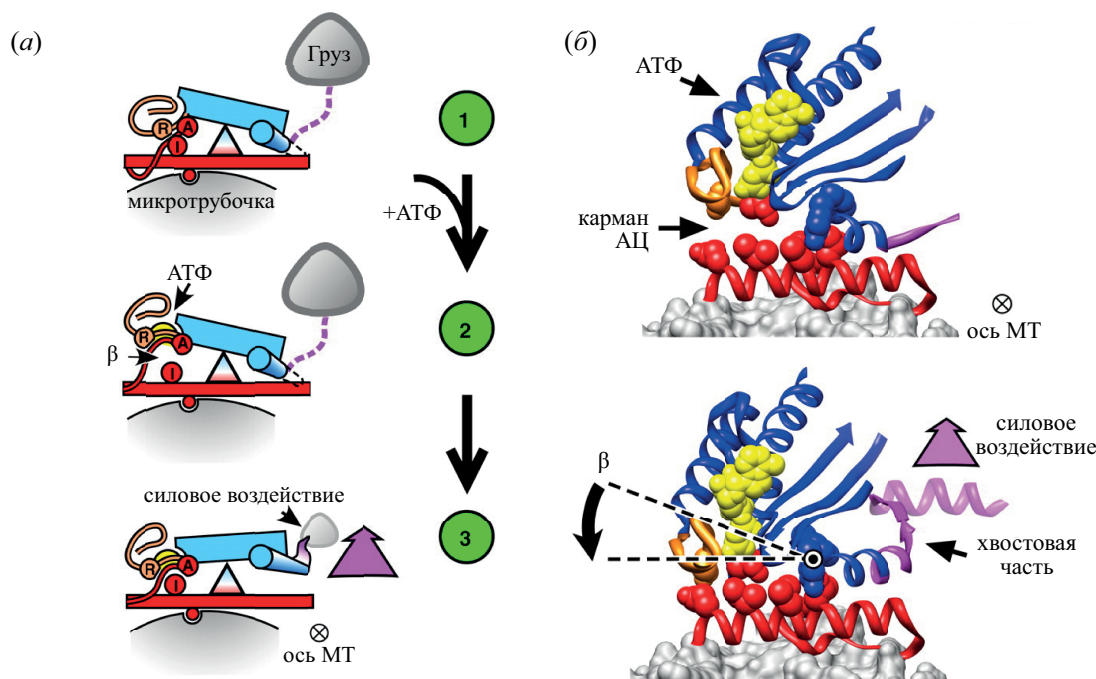


Рис. 2. (а) Механистическая схема работы кинезина; (б) молекулярная структура ГК (адаптировано с [Sindelar, Downing, 2010])

На рисунке 2 приведена схема событий в ГК при ее взаимодействии с МТ и молекулами АТФ и АДФ, приводящих к возникновению силового момента, продвигающего «стебель» с грузом. На нем представлен поперечный разрез МТ и строение ГК. «Качели» передают усилие на рычаг, который продвигает груз, закрепленный на «стебле», вдоль МТ. Знак  $\otimes$  показывает направление продвижения вперед вдоль МТ. Угол  $\beta$  характеризует раскрытие АЦ и изменяется от  $\pi/6$  до 0 при сорбции АТФ в кармане АЦ.

Будем считать, что с момента открытия угла  $\beta_2$  и выхода ГК-2 из потенциальной ямы в течение дальнейшего проворота «стебля» с грузом вплоть до прикрепления ГК-2 к МТ действующий момент при закрытии  $\beta_1$  не изменяется, но коэффициенты трения (сопротивления) разные. Известно, что только половину энергии АТФ кинезин тратит на продвижение груза. Остальная энергия тратится на отрыв задней ГК от МТ, перетаскивание ГК вперед и так далее.

Мы строим систему динамических уравнений для взаимодействия двух ГК по аналогии с системой, описывающей вращение ротора в молекулярном моторе  $F_1$  АТФазы [Kargovsky et al., 2009]. Моменты в ГК и их упругие деформации создаются по очереди при сорбции в их АЦ молекул АТФ. Силовая связь между ГК создается через соединяющие их хвостовые части, и при этом возникает (через стебель) момент, продвигающий груз вдоль МТ. Система уравнений, описывающая шаг кинезина (угол  $\beta_1$  закрывается, угол  $\beta_2$  открывается), выглядит следующим

образом:

$$\begin{aligned}\zeta\dot{\beta}_1 &= M(\beta_1) - \tau_1 + \varepsilon\dot{\beta}_2, & \zeta\dot{\beta}_2 &= M(\beta_2) - \tau_2 - \varepsilon\dot{\beta}_1, \\ \mu\dot{\tau}_1 &= k\beta_1 - \tau_1; & \mu\dot{\tau}_2 &= k\beta_2 - \tau_2.\end{aligned}\quad (1)$$

Здесь  $\beta_i(t)$  — углы, описывающие закрытие карманов АЦ ГК при сорбции в них молекул АТФ;  $\tau_i(t)$  — упругие напряжения, возникающие при деформации ГК.  $\tau_i(t)$  запаздывают относительно упругих сил  $k\beta_i(t)$  из-за процессов гидролиза АТФ в АЦ.  $M(\beta_i)$  — моменты сил, создающиеся в деформирующихся карманах АЦ при сорбции в них АТФ. Значение  $\zeta$  определяется стоковым сопротивлением при перемещении груза, величина  $\mu$  — временем гидролиза АТФ,  $k$  — упругостью ГК. Момент, определяемый силами сорбции молекул АТФ или продуктами гидролиза АДФ и неорганического фосфата Pi в АЦ ГК, задается формулой

$$M(\beta) = M_0 \left( \left[ \frac{12}{\pi} \beta - 1 \right] - \frac{1}{n} \left[ \frac{12}{\pi} \beta - 1 \right]^n \right), \quad n = 3, 5, 7, \dots, \quad (2)$$

причем форма  $M(\beta)$  приближается к N-образной при больших  $n$ . Приведем характерные значения используемых величин:  $M_0 = 80$  пН нм,  $k = 50$  пН нм,  $\mu = 5$  мс,  $\zeta$  оценивается как [Романовский и др., 2013]

$$\zeta = 3\eta r L^2, \quad (3)$$

где  $\eta$  — вязкость протоплазмы (в 12–20 раз больше вязкости воды, то есть  $1.1$ – $1.8 \cdot 10^{-2}$  Па с при  $25^\circ\text{C}$ ),  $r$  — характерный радиус переносимого груза ( $0.1$  мкм),  $L = 8$  нм. Введем следующие обозначения:

$$\tilde{\beta}_i = \left[ \frac{12}{\pi} \beta_i - 1 \right], \quad \tilde{M}(\tilde{\beta}) = \frac{M(\beta)}{M_0}, \quad \tilde{t} = \frac{t}{\mu}, \quad \tilde{\zeta} = \frac{\zeta}{\mu M_0}, \quad \tilde{\tau}_i = \frac{\tau_i}{M_0}, \quad \tilde{k} = \frac{k}{M_0}, \quad \tilde{\varepsilon} = \frac{\varepsilon}{\mu M_0}. \quad (4)$$

В безразмерных переменных (4) система уравнений (1) принимает вид

$$\begin{aligned}\tilde{\zeta}\dot{\tilde{\beta}}_1 &= \tilde{M}(\tilde{\beta}_1) - \tilde{\tau}_1 + \tilde{\varepsilon}\dot{\tilde{\beta}}_2, & \tilde{\zeta}\dot{\tilde{\beta}}_2 &= \tilde{M}(\tilde{\beta}_2) - \tilde{\tau}_2 - \tilde{\varepsilon}\dot{\tilde{\beta}}_1, \\ \dot{\tilde{\tau}}_1 &= \tilde{k}\tilde{\beta}_1 - \tilde{\tau}_1; & \dot{\tilde{\tau}}_2 &= \tilde{k}\tilde{\beta}_2 - \tilde{\tau}_2.\end{aligned}\quad (5)$$

### Миозин V

Доменная структура миозина V представлена на рисунке 3а. В головке (моторный домен) MV расположены центры связывания нуклеотидов и актина. Шея состоит из  $\alpha$ -спирального сегмента тяжелой цепи, включающей шесть tandemных IQ-мотивов, каждый из которых связывает молекулу кальмодулина. Хвостовой домен состоит из суперспирального образования и двух глобул (ХГ), к которым прикрепляется груз.

На рисунке 3б представлена механохимическая схема шагания MV. Пусть изначально MV находится в состоянии, когда АДФ связаны в АЦ обеих ГК (шаг 1) [Sakamoto et al., 2008] и обе ГК жестко связаны с АФ. В шейном домене создается механическая деформация [Veigel et al., 2005; Rosenfeld, Sweeney, 2004; Purcell et al., 2005; Forgacs et al., 2008; Sakamoto et al., 2008], приводящая к выходу АДФ из АЦ задней ГК (шаг 2). Эта головка впоследствии связывает АТФ и быстро отделяется от актина (шаг 3). Происходит гидролиз АТФ, и присоединенная к актину ГК проворачивает головку с продуктами гидролиза вперед, чтобы найти новый центр связывания с актином в результате диффузионного поиска [Veigel et al., 2001] (шаг 4). После связывания с актином (шаг 5) передняя ГК быстро высвобождает неорганический фосфат, обе ГК оказываются жестко связаны с актином [de la Cruz et al., 1999], и миозин, переместившись на 36 нм, возвращается в первоначальное состояние.

В качестве основных динамических переменных будем использовать углы  $\theta_1$  и  $\theta_2$  (см. рис. 3б). При этом в первом приближении считаем, что  $\theta_1$  меняется в пределах от  $3\pi/4$  до  $\pi/4$ .



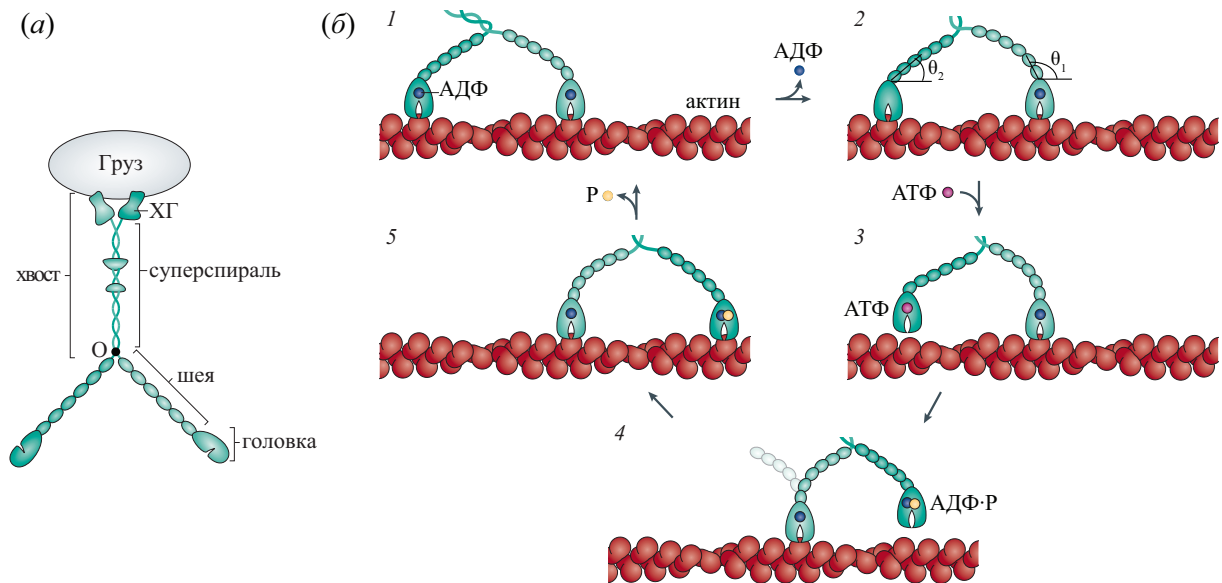


Рис. 3. (а) Доменная структура миозина V; (б) механохимический цикл миозина V (адаптировано с [Hammer, Sellers, 2011])

Важно отметить, что шарнир  $O$  на рисунке 3 и груз движутся не в плоскостях рисунков, а по веерообразным поверхностям. Соответствующее движение совершает и оторвавшаяся от АФ задняя головка. При этом переход MV из состояния 1 в состояние 4 происходит с преодолением момента сил стокова сопротивления грузу, который по размерам превосходит ГК на порядок. Таким образом, основное время шага при изменении  $\theta_1$  от  $3\pi/4$  до  $\pi/4$  определяется стоковым сопротивлением, тогда как поиск нового контакта с АФ задней свободной ГК происходит в результате быстрой диффузии (за сотни пс).

При продвижении груза используется не только усилие рычага (шея), но и момент упругих сил, порождаемый его деформацией [Craig, Linke, 2009]. При сорбции АТФ в АЦ его карман закрывается, что вызывает открытие центра связывания головки с АФ («пасть» в терминологии [Кубасова, Цатурян, 2011]) и диссоциация ГК от АФ. Для того чтобы «пасть» снова закрылась с поворотом рычага в исходное положение, в АЦ должен произойти гидролиз АТФ и выход продуктов реакции из АЦ, а для этого требуется промежуток времени, который существенно больше, чем время протаскивания груза, определяемое и действующим моментом, и стоковым сопротивлением движению груза. После чего в случае нового контакта головки с АФ цикл повторяется.

Мы считаем, что сила на протяжении шага действует неравномерно. Энергия, высвобождающаяся при гидролизе АТФ:  $W_{ATP} = 30.5$  кДж/моль (см., например, [Романовский, Тихонов, 2010]). То есть,  $W_{ATP}$  примерно на 20% больше затрат на продвижение груза. Отметим также, что в отличие от кинезина моменты стоковых сил при запасании упругой энергии и при движении груза значительно отличаются, что мы учитываем в разных коэффициентах сопротивления  $\zeta_i$ .

Вводя безразмерное время и другие безразмерные величины подобно тому, как это сделано в случае кинезина (см. (4)), а также положив  $\tilde{\theta}_i = 2 - \frac{4}{\pi}\theta_i$ , получаем соответствующую систему уравнений в безразмерных переменных для одного шага MV:

$$\begin{aligned}\tilde{\zeta}_1\dot{\tilde{\theta}}_1 &= \tilde{M}(\tilde{\theta}_1) - \tilde{\tau}_1 - \tilde{\varepsilon}_1\dot{\tilde{\theta}}_2, & \tilde{\zeta}_2\dot{\tilde{\theta}}_2 &= \tilde{M}(\tilde{\theta}_2) - \tilde{\tau}_2 + \tilde{\varepsilon}_2\dot{\tilde{\theta}}_1, \\ \dot{\tilde{\tau}}_1 &= \tilde{k}\tilde{\theta}_1 - \tilde{\tau}_1; & \dot{\tilde{\tau}}_2 &= \tilde{k}\tilde{\theta}_2 - \tilde{\tau}_2.\end{aligned}\quad (6)$$

Соответственно, во время шага  $\theta_1$  уменьшается от  $3\pi/4$  до  $\pi/4$ , а  $\theta_2$  изменяется от  $\pi/4$  до  $3\pi/4$ . Затем  $\theta_1$  и  $\theta_2$  меняются местами. Момент  $\tilde{M}(\tilde{\theta})$  задается так же, как и в случае кинезина. Характерные значения параметров модели для миозина V:  $M_0 = 40\text{--}80$  пН·нм,  $k = 30$  пН·нм,  $\mu = 50$  мс,  $\zeta_1 = 3 \cdot 10^{-2}$  пН·нм·с,  $\zeta_2 = 3 \cdot 10^{-3}$  пН·нм·с.

## Результаты и обсуждение

### Кинезин

На рисунках 4, 5 представлены фазовые плоскости  $(\tilde{\beta}, \tilde{\tau})$  и зависимости  $\tilde{\beta}_i(t)$ ,  $\tilde{\tau}_i(t)$  для кинезина при одиночном шаге. При моделировании использованы следующие параметры:  $n = 11$ ,  $\tilde{k} = 0.7$ ,  $\tilde{\zeta} = 5 \cdot 10^{-2}$ ,  $\tilde{\varepsilon} = 1.5 \cdot 10^{-2}$ .

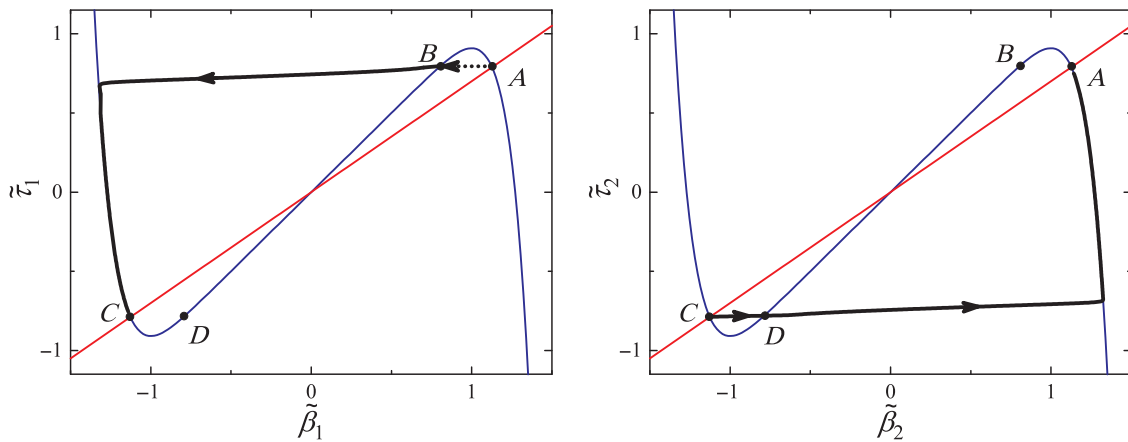


Рис. 4. Фазовые плоскости  $(\tilde{\beta}, \tilde{\tau})$  для передней (слева) и задней (справа) ГК при одиночном шаге

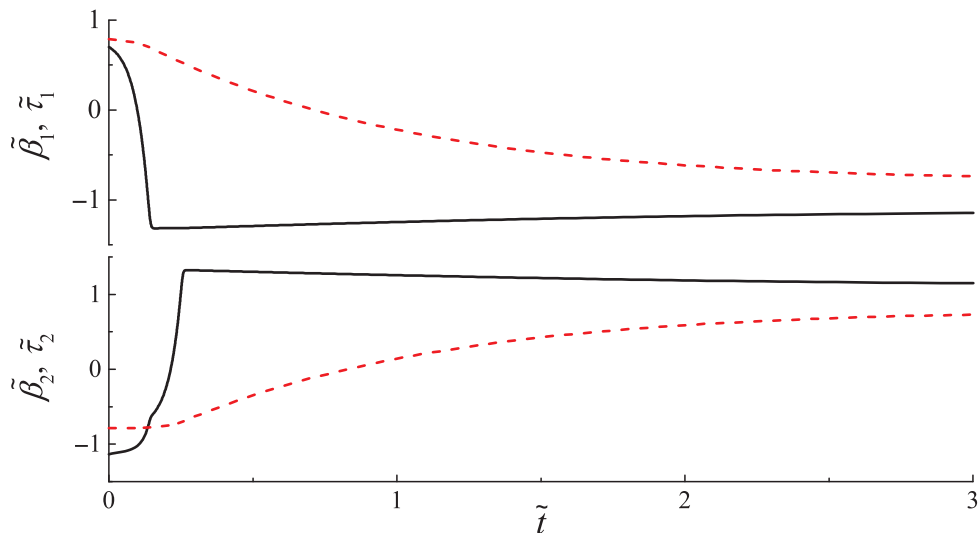


Рис. 5. Зависимости углов  $\tilde{\beta}_i(t)$  (сплошные линии) и напряжений  $\tilde{\tau}_i(t)$  (прерывистые линии) от времени, соответствующие одному шагу кинезина, показанному на рис. 4

Для закрытия угла  $\tilde{\beta}_1$  необходимо, чтобы в АЦ сорбировалась молекула АТФ. Тогда возникают начальные условия в точке В и фазовая траектория идет от В до С. При открытии угла  $\tilde{\beta}_2$  нужно преодолеть порог (от С до D), чему может способствовать момент, передаваемый

от передней ГК. Скачок в траектории  $\tilde{\beta}_2$  как раз и соответствует переходу  $C \rightarrow D$ , связанному с отделением ГК-2 от МТ.

Переход из точки  $A$  в точку  $B$  на фазовой плоскости ГК-1 (см. рис. 4) соответствует приходу АТФ в ее АЦ. Этот переход связан с некоторой задержкой, которая определяется концентрацией АТФ в среде (при максимальных концентрациях задержки практически не происходит). В случае избытка АТФ в среде задержки, связанные с ожиданием прихода АТФ в АЦ, становятся практически незаметными и движение кинезина по МТ при этом носит периодический характер (см. рис. 6, 7).

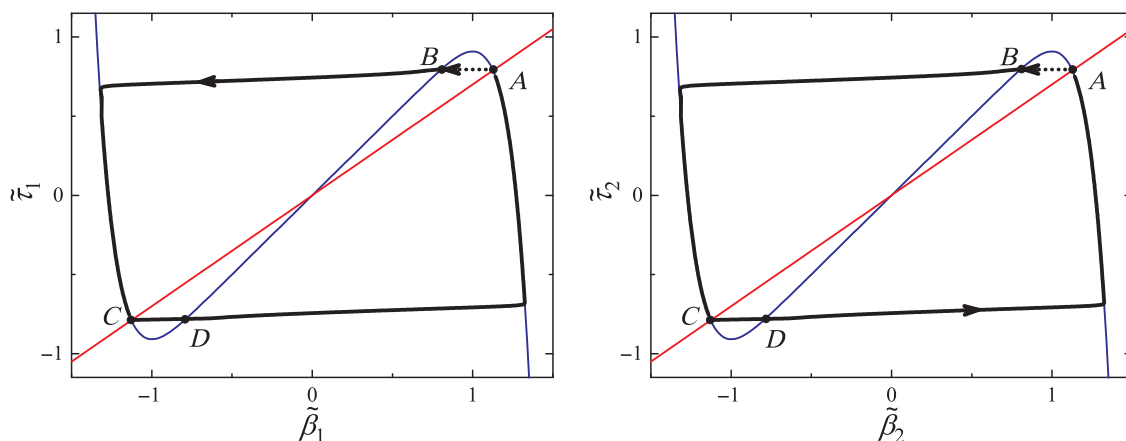


Рис. 6. Фазовые плоскости  $(\tilde{\beta}, \tilde{\tau})$  ГК-1 и ГК-2 в случае избытка АТФ в среде. Стрелками указано направление движения соответствующих фазовых точек вдоль траекторий

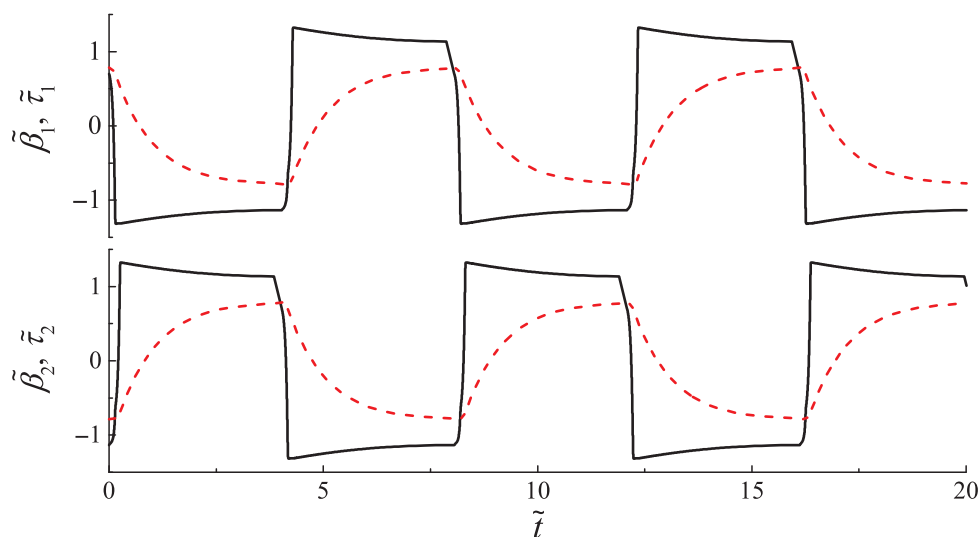


Рис. 7. Зависимости углов  $\tilde{\beta}_i(t)$  (сплошные линии) и напряжений  $\tilde{\tau}_i(t)$  (прерывистые линии), соответствующие движению кинезина в случае избытка АТФ в среде

Естественно, углы  $\tilde{\beta}_1$  и  $\tilde{\beta}_2$ , а также соответствующие напряжения изменяются в противофазе.

Подчеркнем еще раз, что переход  $A \rightarrow B$  (см. фазовую плоскость слева на рис. 4) осуществляется лишь при сорбции АТФ в АЦ. Вероятность этого перехода зависит от концентрации АТФ в среде. Оценим среднее время ожидания прихода молекулы АТФ при низких концентрациях по



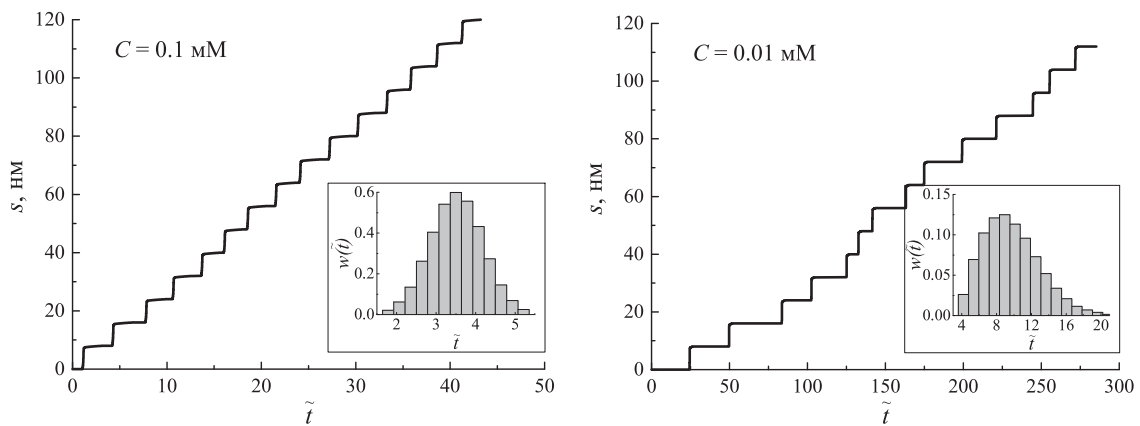


Рис. 8. Зависимость пути, пройденного кинезином, от времени при разных концентрациях АТФ; (врезка) распределение длительности циклов работы кинезина

следующей формуле:

$$t_{ATP} = \frac{\pi}{24} \frac{1}{DS C^{4/3}}, \quad (7)$$

где  $D$  — коэффициент диффузии АТФ в среде,  $S$  — эффективная площадь входного «отверстия» кармана АЦ,  $C$  — концентрация АТФ. Пусть времена ожидания АТФ подчиняются распределению Рэлея с параметром  $\sigma = \sqrt{\frac{2}{\pi}} t_{ATP}$  и  $D = 1.5 \cdot 10^{-10} \text{ м}^2/\text{с}$ ,  $S = 2 \cdot 10^{-19} \text{ м}^2$ .

На рисунке 8 представлены смещения кинезина при перемещении вдоль МТ (пройденный путь вычислялся как сумма шагов по 8 нм) и нормированные распределения длительности циклов работы КН, полученные при разных значениях концентрации АТФ в среде (0.1 и 0.01 мМ). При моделировании использованы следующие параметры:  $n = 11$ ,  $\tilde{k} = 0.7$ ,  $\tilde{\zeta} = 2 \cdot 10^{-3}$ ,  $\tilde{\varepsilon} = 7 \cdot 10^{-4}$ .

Зависимость скорости движения КН от концентрации АТФ приведена на рисунке 9 для грузов радиусом 0.1 и 0.5 мкм.

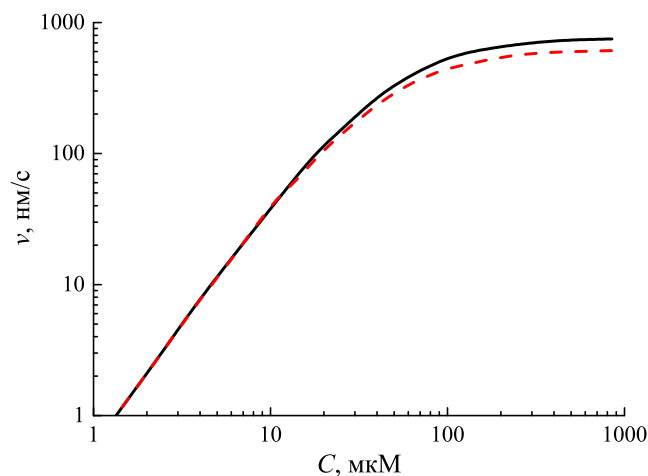


Рис. 9. Зависимость скорости движения кинезина по МТ от концентрации АТФ в среде:  $r = 0.1 \text{ мкм}$  (сплошная линия),  $r = 0.5 \text{ мкм}$  (прерывистая линия)

В работе [Visscher et al., 1999] экспериментально исследовалась зависимость скорости движения кинезина по микротрубочке с нагрузкой в виде бусинки из диоксида кремния (диаметр

0.5 мкм) от концентрации молекул АТФ. Движение бусинки контролировалось с помощью оптического пинцета с изменяемой силой [Svoboda, Block, 1994]. Полученный нами результат качественно соответствует экспериментальным данным, а именно, с увеличением концентрации АТФ скорость движения кинезина возрастает с тенденцией к насыщению. Однако наши расчеты относятся к «реальному» случаю движения кинезина с грузом *in vivo* с переменной силой сопротивления, тогда как эксперимент в [Visscher et al., 1999] проводился *in vitro* при наличии постоянной силы, создаваемой лазерными пинцетами.

### Миозин V

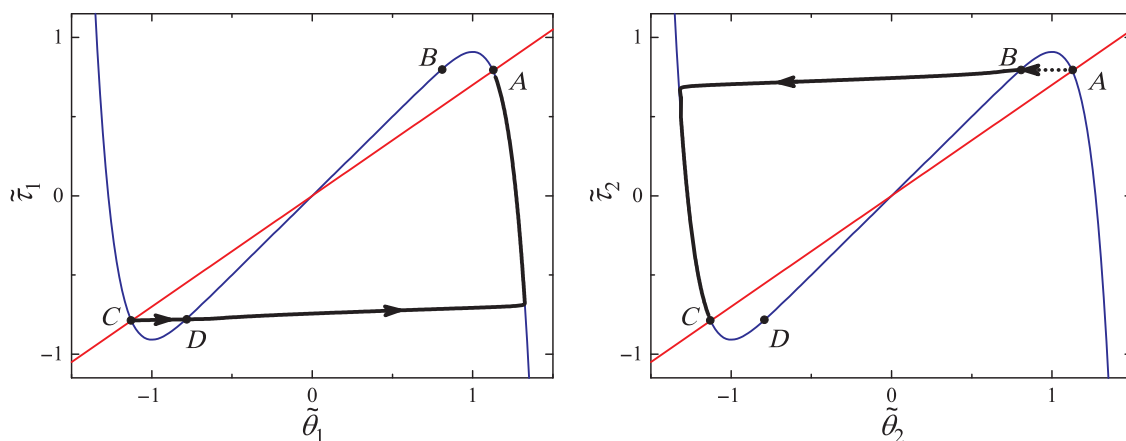


Рис. 10. Фазовые плоскости  $(\tilde{\theta}, \tilde{\tau})$  ГК-1 (слева) и ГК-2 миозина V (справа)

Сначала, как и в случае кинезина, приведем фазовые плоскости модели и развертки решений для взаимодействующих моторных доменов (или головок) MV (рис. 10). При медленных движениях траектория изображающей точки на фазовых плоскостях в силу релаксационности системы практически совпадает с ветвями главных изоклин. Для MV использованы следующие параметры:  $n = 11$ ,  $\tilde{k} = 0.6$ ,  $\tilde{\zeta}_1 = 1.5 \cdot 10^{-2}$ ,  $\tilde{\zeta}_2 = 1.5 \cdot 10^{-3}$ ,  $\tilde{\varepsilon}_1 = 5 \cdot 10^{-3}$ ,  $\tilde{\varepsilon}_2 = 5 \cdot 10^{-4}$ .

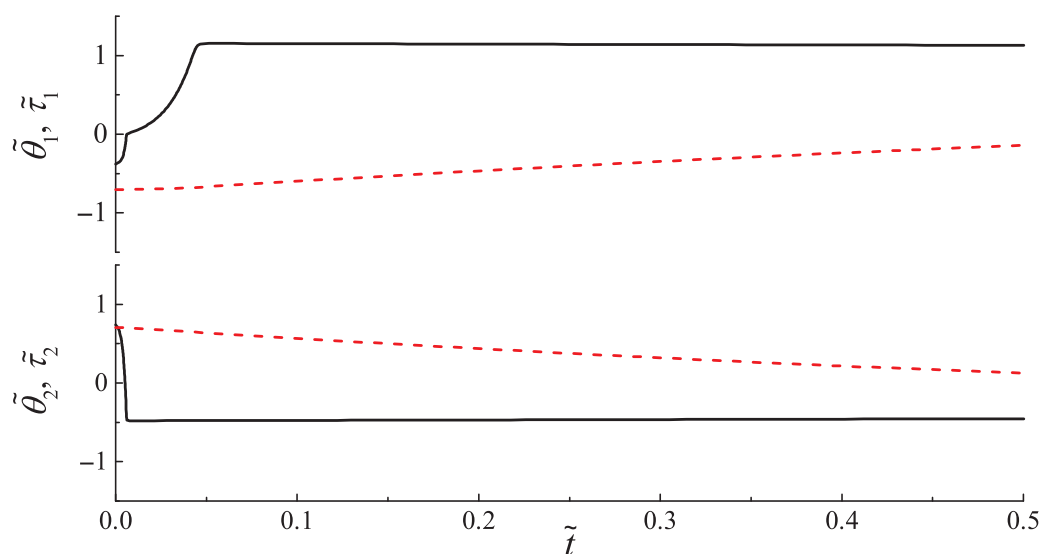


Рис. 11. Зависимости кинематических углов  $\tilde{\theta}_i(t)$  (сплошные линии) и напряжений  $\tilde{\tau}_i(t)$  (прерывистые линии) от времени, соответствующие одному шагу миозина V, показанному на рис. 10

Переход фазовой изображающей точки через барьер (от  $A$  до  $B$ ) возможен, только если в открытый АЦ задней ГК пришла АТФ, карман АЦ закрывается, «пасть» открывается, энергия запасается при изменении  $\theta_2$  от  $\pi/4$  до  $3\pi/4$ . Стоксова работа при этом очень мала.

Запасенная «упругая» энергия освобождается при осуществлении шага (переход от точки  $C$  до  $D$ ) и идет на работу по переносу груза и на выход задней ГК MV из потенциальной ямы на АФ.

На рис. 12 представлены смещения миозина V при перемещении вдоль АФ (пройденный путь вычислялся как сумма шагов по 36 нм) и нормированные распределения длительности циклов работы MV, полученные при разных значениях концентрации АТФ в среде (0.1 и 0.01 мМ). Задержка посадки АТФ в АЦ головки MV моделировалась так же, как в случае кинезина (7).

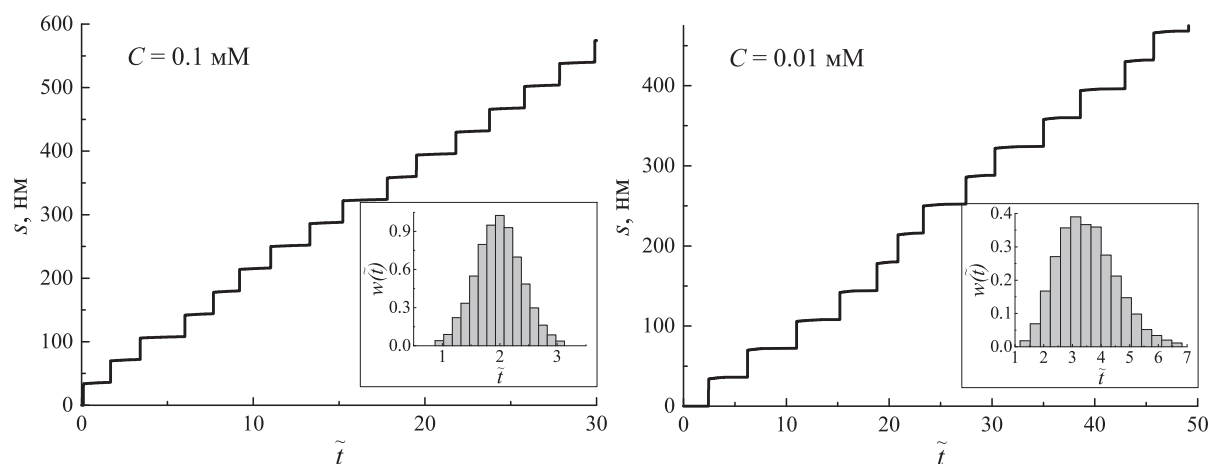


Рис. 12. Зависимость пути, пройденного миозином V, от времени при разных концентрациях АТФ; (врезка) распределение длительности циклов работы MV

На рисунке 13 представлено сравнение зависимостей скорости движения рассматриваемых ММ от концентрации АТФ для грузов радиусом 0.1 мкм. Видно, что скорость движения миозина больше при малых концентрациях АТФ, однако в режиме насыщения кинезин движется быстрее.

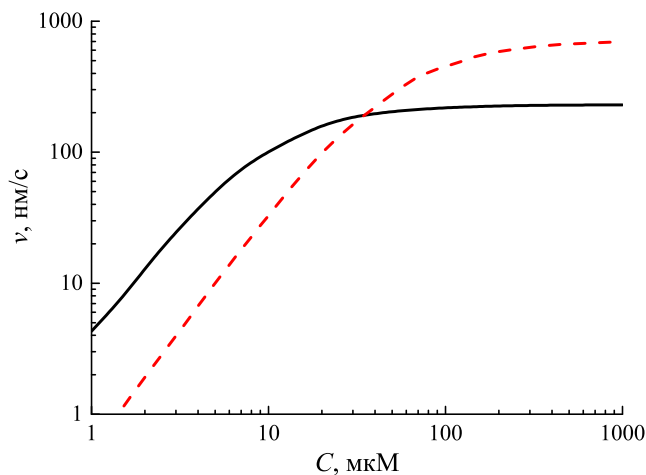


Рис. 13. Зависимости скорости движения миозина V по АФ (сплошная линия) и кинезина по МТ (прерывистая линия) от концентрации АТФ в среде

Основное отличие моделей кинезина и миозина V состоит в следующем. Сорбция АТФ в АЦ КН приводит к генерации момента, продвигающего груз против сил Стокса. Сорбция АТФ в АЦ MV приводит к запасанию упругой энергии. При этом внутренние потери на стоксово сопротивление малы. Шаг же MV и перенос груза осуществляет при расходовании запасенной энергии упругой деформации. Еще одно отличие состоит в том, что кинезин шагает преимущественно по выделенным путям на МТ (их 11), тогда как миозин V передвигается по АФ не обязательно по прямой, «след» MV на АФ может образовывать винтовую линию [Cappello et al., 2007].

Многие авторы подчеркивают, что диффузионный поиск нового центра связывания с актином длится хотя и не долго, но может привести к ассоциации с АЦ АФ вовсе не в той плоскости, в которой движется груз [Watanabe et al., 2010; Hinczewski et al., 2013].

## Заключение

В работе предложены механические кластерные модели двух «шагающих» молекулярных моторов — кинезина и миозина V, играющих важнейшую роль во внутриклеточном транспорте. Силовые параметры моделей оценивались на основе экспериментальных данных, доступных для данных белков. Определены скорости передвижения КН и MV и их зависимость от концентрации АТФ.

В заключение подчеркнем еще раз, какие трудности мешают усовершенствованию математических моделей ММ. Это прежде всего уточнение параметров  $\mu$  и  $k$ . Для их определения необходимо применение методов молекулярной динамики (МД). В развитии усилий в кармане АЦ при сорбции в нем молекулы АТФ, определенную роль может играть образование многочисленных водородных связей, связывающих АТФ и продукты ее гидролиза с карманом АЦ. Методы МД могут применяться с использованием данных не только биохимической кинетики, но и рентгеноструктурного анализа [Hwang et al., 2008].

Авторы выражают глубокую признательность Ю. М. Романовскому за неподдельный интерес к теме исследования и плодотворные дискуссии.

## Список литературы

- Кубасова Н. А., Цатурян А. К. Молекулярный механизм работы актин-миозинового мотора в мышце // УБХ. — 2011. — Т. 51. — С. 233–282.
- Романовский Ю. М., Карговский А. В., Приезжев А. В., Трифоненков В. П. Внутриклеточная автоволновая гидродинамика и молекулярные моторы // Труды XII Международной научно-технической конференции «Оптические методы исследования потоков» / МЭИ. — М.: Перо, 2013. — С. 1–21.
- Романовский Ю. М., Тихонов А. Н. Молекулярные преобразователи энергии живой клетки. Протонная АТФ-синтаза — вращающийся молекулярный мотор // УФН. — 2010. — Т. 180. — С. 931–956.
- Романовский Ю. М., Трифоненков В. П. Молекулярные моторы: кинезин, миозин V, динеин и стохастическая динамика внутринейронного транспорта // Доклады V Международной конференции «Математическая биология и биоинформатика» / Лахно В. Д. (ред.); ИМПБ РАН. — Пушкино: 2014. — С. 211–212.
- Тихонов А. Н. Молекулярные моторы. II. Молекулярные основы биологической подвижности // Сорос. Обр. ж. — 1999. — Т. 6. — С. 17–24.
- Чернавский Д. С., Хургин Ю. И., Шноль С. Э. Об упругих деформациях белка-фермента // Мол. биол. — 1967. — Т. 1. — С. 419–424.

- Чернавский Д. С., Чернавская Н. М. Белок-машина. Биологические и макромолекулярные конструкции. — М.: Янус-К, 1999.
- Aizawa H., Sekine Y., Takemura R. *et al.* Kinesin family in murine central nervous system // *J. Cell. Biol.* — 1992. — Vol. 119. — P. 1287–1296.
- Berg J. S., Powell B. C., Cheney R. E. A millennial myosin census // *Mol. Biol. Cell.* — 2001. — Vol. 12. — P. 780–794.
- Cappello G., Pierobon P., Symonds C. *et al.* Myosin V stepping mechanism // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2007. — Vol. 104. — P. 15328–15333.
- Coluccio L. M. *Myosins. A superfamily of molecular motors.* — Dordrecht: Springer, 2008.
- Cope M. J. T. V., Whisstock J., Rayment I., Kendrick-Jones J. Conservation within the myosin motor domain: implications for structure and function // *Structure.* — 1996. — Vol. 4. — P. 969–987.
- Craig E. M., Linke H. Mechanochemical model for myosin V // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2009. — Vol. 106. — P. 18261–18266.
- de la Cruz E. M., Wells A. L., Rosenfeld S. S. *et al.* The kinetic mechanism of myosin V // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1999. — Vol. 96. — P. 13726–13731.
- Forgacs E., Cartwright S., Sakamoto T. *et al.* Kinetics of ADP dissociation from the trail and lead heads of actomyosin V following the power stroke // *J. Biol. Chem.* — 2008. — Vol. 283. — P. 766–773.
- Foth B. J., Goedecke M. C., Soldati D. New insights into myosin evolution and classification // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2006. — Vol. 103. — P. 3681–3686.
- Gross S. P., Vershinin M., Shubeita G. T. Cargo transport: two motors are sometimes better than one // *Curr. Biol.* — 2007. — Vol. 17. — P. R478–R486.
- Hammer J. A., Sellers J. R. Walking to work: roles for class V myosins as cargo transporters // *Nature Rev. Mol. Cell. Biol.* — 2011. — Vol. 13. — P. 13–26.
- Hancock W. O. Intracellular transport: kinesins working together // *Curr. Biol.* — 2008. — Vol. 18. — P. R715–R717.
- Hinczewski M., Tehver R., Thirumalai D. Design principles governing the motility of myosin V // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2013. — Vol. 110. — P. E4059–E4068.
- Hirokawa N., Noda Y., Tanaka Y., Niwa S. Kinesin superfamily motor proteins and intracellular transport // *Nature Rev. Mol. Cell. Biol.* — 2009. — Vol. 10. — P. 682–696.
- Hirokawa N. Cross-linker system between neurofilaments, microtubules and membranous organelles in frog axons revealed by the quick-freeze, deep-etching method // *J. Cell. Biol.* — 1982. — Vol. 94. — P. 129–142.
- Hirokawa N., Takemura R. Molecular motors and mechanisms of directional transport in neurons // *Nature Rev. Neurosci.* — 2005. — Vol. 6. — P. 201–214.
- Hwang W., Lang M. J., Karplus M. Force generation in kinesin hinges on cover-neck bundle formation // *Structure.* — 2008. — Vol. 16. — P. 62–71.
- Jon Kull F., Sablin E. P., Lau R. *et al.* Crystal structure of the kinesin motor domain reveals a structural similarity to myosin // *Nature.* — 1996. — Vol. 380. — P. 550–555.
- Kargovsky A. V., Romanovsky Y. M., Tikhonov A. N. F1-ATPase as an auto-oscillatory system // *Biophysics.* — 2009. — Vol. 54. — P. 1–7.
- Kargovsky A. V., Romanovsky Y. M., Trifonenkov V. P., Trifonenkov A. V. Stochastic dynamics of intraneuronal transport // *Materials of international symposium «Biological motility: new facts and hypotheses» / ITEB RAS.* — Pushino: 2014. — P. 106–108.
- Margossian S. S., Lowey S. J. Substructure of the myosin molecule. III. Preparation of single-headed derivatives of myosin // *J. Mol. Biol.* — 1973a. — Vol. 74. — P. 301–311.
- Margossian S. S., Lowey S. J. Substructure of the myosin molecule. IV. Interactions of myosin and its subfragments with adenosine triphosphate and F-actin // *J. Mol. Biol.* — 1973b. — Vol. 74. — P. 313–330.

- Miki H., Setou M., Kaneshiro K., Hirokawa N.* All kinesin superfamily protein, KIF, genes in mouse and human // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2001. — Vol. 98. — P. 7004–7011.
- Odronitz F., Kollmar M.* Drawing the tree of eukaryotic life based on the analysis of 2269 manually annotated myosins from 328 species // *Genome Biol.* — 2007. — Vol. 8. — P. R196.
- Pogrebnaya A., Romanovsky Y., Tikhonov A.* Rotation of ATPase: the stochastic model // *Fluct. Noise Lett.* — 2005. — Vol. 5. — P. L217–L224.
- Purcell T. J., Sweeney H. L., Spudich J. A.* A force-dependent state controls the coordination of processive myosin V // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2005. — Vol. 102. — P. 13873–13878.
- Rice S., Lin A. W., Safer D. et al.* A structural change in the kinesin motor protein that drives motility // *Nature.* — 1999. — Vol. 402. — P. 778–784.
- Romanovsky Y. M., Kargovsky A. V., Ebeling W.* Models of active brownian motors based on internal oscillations // *Eur. Phys. J. ST.* — 2013. — Vol. 222. — P. 2465–2479.
- Rosenbaum J. L., Witman G. B.* Intraflagellar transport // *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* — 2002. — Vol. 3. — P. 813–825.
- Rosenfeld S. S., Sweeney H. L.* A model of myosin V processivity // *J. Biol. Chem.* — 2004. — Vol. 279. — P. 40100–40111.
- Sakamoto T., Webb M. R., Forgacs E. et al.* Direct observation of the mechanochemical coupling in myosin Va during processive movement // *Nature.* — 2008. — Vol. 455. — P. 128–132.
- Schnitzer M. J., Visscher K., Block S. M.* Force production by single kinesin motors // *Nat. Cell. Biol.* — 2000. — Vol. 2. — P. 718–723.
- Sindelar C. V., Downing K. H.* An atomic-level mechanism for activation of the kinesin molecular motors // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2010. — Vol. 107. — P. 4111–4116.
- Svoboda K., Block S. M.* Biological applications of optical forces // *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* — 1994. — Vol. 23. — P. 247–285.
- Vale R. D.* The molecular motor toolbox for intracellular transport // *Cell.* — 2003. — Vol. 112. — P. 467–480.
- Vale R. D., Reese T. S., Sheetz M. P.* Identification of a novel force-generating protein, kinesin, involved in microtubule-based motility // *Cell.* — 1985. — Vol. 42. — P. 39–50.
- Veigel C., Schmitz S., Wang F., Sellers J. R.* Load dependent kinetics of myosin-V can explain its high processivity // *Nature Cell. Biol.* — 2005. — Vol. 7. — P. 861–869.
- Veigel C., Wang F., Bartoo M. L. et al.* The gated gait of the processive molecular motor, myosin V // *Nature Cell. Biol.* — 2001. — Vol. 4. — P. 59–65.
- Visscher K., Schnitzer M. J., Block S. M.* Single kinesin molecules studied with a molecular force clamp // *Nature.* — 1999. — Vol. 400. — P. 184–189.
- Watanabe T. M., Iwane A. H., Tanaka H. et al.* Mechanical characterization of one-headed myosin-V using optical tweezers // *PLoS ONE.* — 2010. — Vol. 5. — P. E12224.