

Figura 16-72 Fosforilación de la cadena ligera y regulación del ensamblaje de la miosina II en los filamentos gruesos.

(A) La fosforilación controlada, producida por la quinasa de la cadena ligera de la miosina (MLCK), de una de las dos cadenas ligeras (llamada cadena ligera reguladora; se muestra en azul claro) de la miosina II no muscular en un tubo de ensayo, tiene al menos dos efectos: provoca un cambio en la conformación de la cabeza de la miosina, dejando expuesto el lugar de unión a actina, y libera la cola de la miosina de su lugar de unión en la cabeza, permitiendo que las moléculas de miosina se ensamblen en filamentos cortos, gruesos y bipolares. (B) Electromicrografía de filamentos cortos de miosina II, contrastados negativamente, cuyo ensamblaje se ha inducido en un tubo de ensayo por fosforilación de sus cadenas ligeras. Estos filamentos de miosina II son mucho más pequeños que los encontrados en las fibras del músculo esquelético (véase Figura 16-55). (B, cortesía de John Kendrick-Jones.)

El **ion de calcio de la cadena ligera de la miosina (MLCK: myosin light chain kinase)** induce a la miosina II a adoptar la forma extendida, que facilita el ensamblaje de los filamentos bipolares y conduce a la contracción celular (Figura 16-72). La MLCK también se activa durante la mitosis, induciendo a la miosina II a ensamblarse formando el anillo contráctil responsable de dividir la célula mitótica en dos. Como se describirá más adelante, la fosforilación de la miosina también es un componente importante de control en la contracción en las células musculares lisas. La regulación de otros miembros de la superfamilia de las miosinas no se comprende todavía correctamente pero se considera que en el control de estas miosinas están implicados lugares específicos de fosforilación.

Resumen

Las proteínas motoras utilizan la energía de la hidrólisis del ATP para deslizarse a lo largo de los microtúbulos y de los filamentos de actina. Facilitan el deslizamiento de los filamentos con otros filamentos y el transporte de cargas a lo largo de los mismos. Todas las proteínas motoras conocidas que se desplazan a lo largo de los filamentos de actina son miembros de la superfamilia de las miosinas. Las proteínas motoras que se desplazan a lo largo de los microtúbulos son miembros de la superfamilia de las quinesinas o de la familia de las dineínas. Las superfamilias de la miosina y de la quinesina son diversas, con cerca de 40 genes codificando cada tipo de proteína en humanos. El único elemento estructural común entre todos los miembros de cada superfamilia es el dominio motor de "cabeza". Estas cabezas se fusionan con una gran variedad de "colas" distintas, que se unen a distintos tipos de cargas y permiten a los diversos miembros de la familia realizar funciones diferentes en la célula. Estas funciones incluyen el transporte y la localización de proteínas específicas, orgánulos membranosos de membrana y mRNA.

Aunque la miosina y la quinesina viajan a lo largo de vías distintas y utilizan mecanismos diferentes para producir la fuerza y el movimiento mediante la hidrólisis del ATP, comparten un núcleo estructural común, lo cual sugiere que derivan de la misma proteína ancestral. La proteína motora dineína ha evolucionado de forma independiente, y posee una estructura y un mecanismo de acción distintos.

EL CITOESQUELETO Y EL COMPORTAMIENTO CELULAR

Un desafío importante en todas las áreas de la biología celular es comprender cómo se combinan las funciones de muchos componentes individuales dando lugar a comportamientos celulares complejos. Todos los comportamientos celulares que describimos en este apartado se basan en una organización coordinada de los componentes y de los procesos que hemos explorado en los tres primeros apartados del capítulo: el ensamblaje y desensamblaje dinámico de los polímeros del citoesqueleto, la regulación y modificación de sus estructuras por las proteínas asociadas a los polímeros y las acciones de las proteínas motoras desplazándose a lo largo de los filamentos. ¿Cómo coordina la célula todas estas actividades para definir su forma, desplazarse o dividirse en dos durante la mitosis? Estos problemas acerca de la coordinación del citoesqueleto han desafiado a los científicos durante muchos años.

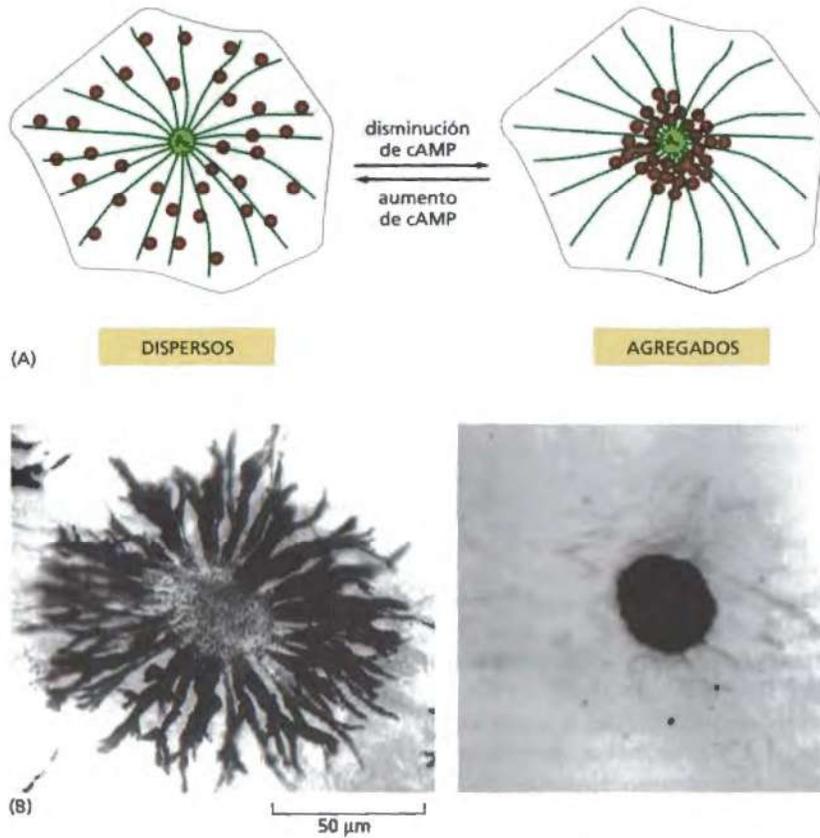
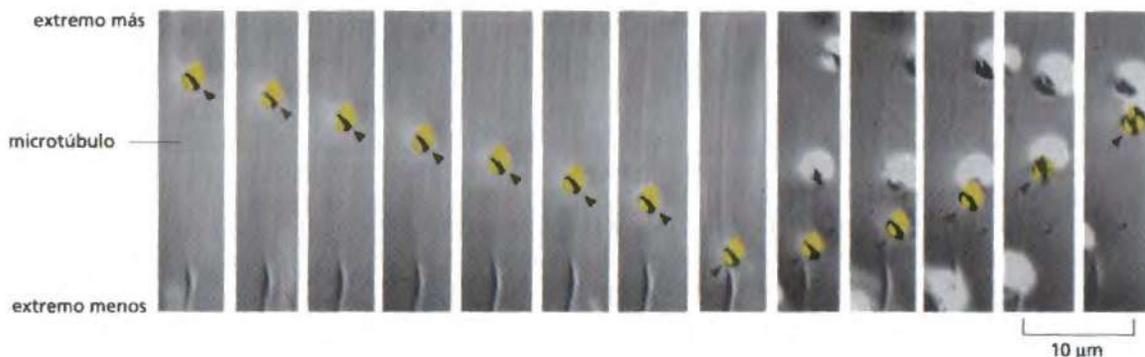


Figura 16-70 Regulación del movimiento de los melanosomas en las células pigmentarias de los peces. Estas células gigantes, responsables de los cambios de coloración de la piel en algunas especies de peces, presentan grandes gránulos de pigmento o melanosomas (*marrón*). Los melanosomas pueden cambiar su localización en la célula como respuesta a cambios hormonales o a estímulos neuronales. (A) Esquema de una célula pigmentaria, en el que se muestra tanto la dispersión como la agregación de los melanosomas en respuesta a un incremento o una disminución de los niveles de AMP cíclico (cAMP), respectivamente. Ambas redistribuciones de los melanosomas se producen a lo largo de los microtúbulos. (B) Imágenes obtenidas con campo claro de una sola célula de un pez cíclido africano, en las que se muestra sus melanosomas dispersos por el citoplasma (*izquierda*) o agregados en el centro de la célula (*derecha*). (B, cortesía de Leah Haimo.)

El tráfico de los gránulos individuales de pigmento (**Figura 16-71**) revela que el desplazamiento hacia el interior es rápido y sin interrupciones, pero que el desplazamiento hacia el exterior presenta interrupciones con algunas etapas de retroceso. Tanto la dineína como la quinesina están asociadas a los gránulos de pigmento y también la miosina V. Parece que este desplazamiento interrumpido es el resultado de una guerra de tirones entre las dos proteínas motoras con una corpulenta quinesina, la cual resulta finalmente ganadora. Cuando la cadena ligera de la quinesina se fosforila por una estimulación hormonal, que induce un cambio de color de la piel, la quinesina se inactiva y deja que la dineína transporte con rapidez los gránulos de pigmento hacia el interior de la célula; el resultado es que el color del pez cambia. De forma parecida, el desplazamiento de otros orgánulos de membrana recubiertos de proteínas motoras particulares está controlado por un balance complejo de señales competidoras que regulan tanto la actividad como la unión de las proteínas motoras.

La célula también puede utilizar la fosforilación para regular la actividad de la miosina. En las células no musculares, la miosina II puede fosforilarse en varios lugares tanto de la cadena pesada como de las cadenas ligeras, lo cual puede afectar tanto a la actividad motora como al ensamblaje de los filamentos. En estas células, la miosina II puede encontrarse en dos estados conformacionales distintos, un estado extendido capaz de formar filamentos bipolares y un estado plegado en el cual, aparentemente, el dominio de la cola interactúa con la cabeza motora. La fosforilación de la cadena ligera reguladora por la *quinasa depen-*

Figura 16-71 Desplazamiento bidireccional de un melanosoma en un microtúbulo. Un melanosoma aislado (*amarillo*) se desliza a lo largo de un microtúbulo, desde el extremo más hacia el extremo menos, en un cubreobjetos. A medio camino en la secuencia de vídeo, cambia inesperadamente de sentido y pasa a desplazarse desde el extremo menos hacia el extremo más. (De S.L. Rogers et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 94:3720-3725, 1997. Con la autorización de The National Academy of Sciences.)



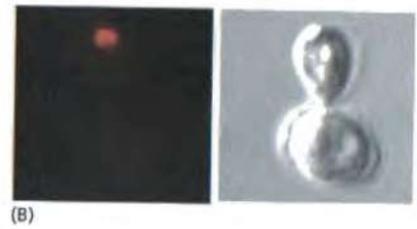
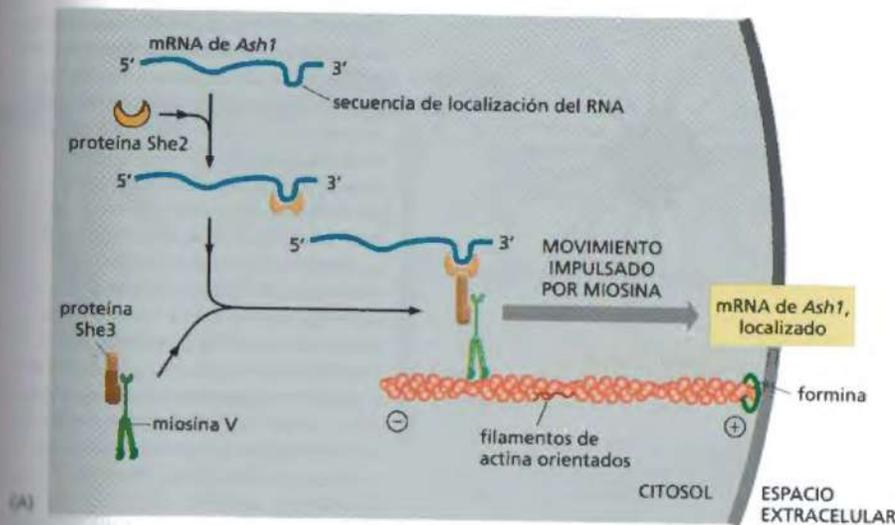


Figura 16-69 Localización polarizada de mRNA en el extremo de la yema de la levadura. (A) Mecanismo molecular de localización del mRNA de *Ash1*, que se determinó genética y bioquímicamente. (B) La localización del mRNA de *Ash1* (rojo) en esta célula de levadura en división se realizó mediante hibridación *in situ* fluorescente (FISH). El mRNA está confinado en el extremo más alejado de la célula hija (todavía una yema grande). La proteína *Ash1*, transcrita por este mRNA localizado, sólo se encuentra en la célula hija. (B, por cortesía de Peter Takizawa y Ron Vale.)

El oocito se aprovecha de su citoesqueleto polarizado de microtúbulos, donde la mayoría de los extremos menos están agrupados en la parte anterior de la célula y los extremos más se sitúan cerca de la posterior, para establecer estas distribuciones especializadas de mRNA. Así por ejemplo, el mRNA que codifica *Bicoid*, un factor de transcripción crítico para el desarrollo de la parte anterior, posee una estructura dentro del 3' UTR que se une a una proteína llamada *Swallow*, que a su vez se une a la cadena ligera de la dineína citoplasmática, presumiblemente permitiendo su transporte hacia los extremos menos de los microtúbulos en la parte anterior de la célula. Por el contrario, el transporte del mRNA que codifica *Oskar*, una proteína necesaria para el desarrollo de la célula germinal en la parte posterior del embrión, necesita de quinesina-1 para ser transportado hacia los extremos más de los microtúbulos. El anclaje de los mRNA en sus posiciones adecuadas después de ser transportados a través de los microtúbulos parece que depende del citoesqueleto cortical de actina. El mRNA de *Oskar*, por ejemplo, se une de forma directa a una proteína de unión a la actina llamada *oesina*, un miembro de la familia de ERM.

En algunas células, el transporte de los mRNA y su anclaje es dependiente de actina. La levadura madre y la levadura hija retienen identidades diferentes, como lo indican las grandes diferencias que presentan posteriormente en cuanto a su capacidad de sufrir cambios en el tipo de apareamiento (descrito en el Capítulo 7) y en la selección de su próximo lugar de gemación. Muchas de estas diferencias están provocadas por una proteína reguladora de genes llamada *Ash1*. Tanto la proteína como el mRNA para *Ash1* sólo se localizan en la yema en crecimiento y aparecen en exclusiva en la célula hija. Uno de los dos tipos de miosina V encontrado en las levaduras, *Myo4p*, es necesario para la distribución asimétrica del mRNA de *Ash1*. Un análisis genético de mutaciones que impiden las diferencias materno-filiales ha permitido observar que al menos existen otros seis productos génicos asociados con el citoesqueleto que son necesarios para la polaridad normal; incluyen una de las forminas, la tropomiosina, la profilina, la propia actina y también un complejo de dos proteínas que forman una unión directa entre secuencias específicas del mRNA de *Ash1* y la proteína miosina V (Figura 16-69).

Las células regulan la función de las proteínas motoras

La célula puede regular la función de las proteínas motoras, lo que permite cambiar la localización de los orgánulos rodeados de membrana y todos los movimientos celulares. Uno de los ejemplos más interesantes es el que proporcionan los melanocitos de los peces. Estas células gigantes, responsables de los cambios rápidos de coloración de la piel en algunas especies de peces, contienen grandes gránulos de pigmento que pueden variar su localización como respuesta a estímulos neuronales u hormonales (Figura 16-70). Estos gránulos de pigmento se agregan o se dispersan, desplazándose a lo largo de una extensa red de microtúbulos. Los extremos menos de estos microtúbulos se nuclean en el centrosoma y están localizados en el centro de la célula, mientras que los extremos más se distribuyen alrededor de la periferia celular.

cesamiento anormal de esta proteína conduce a la enfermedad de Alzheimer, generándose grandes cantidades de agregados estables de proteína en las células nerviosas del cerebro (véase Figura 6-95). En el retículo endoplasmático se han identificado otros receptores para quinesinas específicas y también en otros orgánulos rodeados de membrana que dependen del transporte mediado por microtúbulos para su localización. Las JIP (proteínas que interactúan con JNK; *JNK-interacting proteins*) son proteínas estructurales asociadas con la señalización celular. Estos receptores de quinesina proporcionan un punto de unión entre el transporte y la señalización celular.

En el caso de la dineína se conoce que su unión a las membranas está mediada por un gran ensamblaje macromolecular. La dineína citoplasmática ya es, por sí misma, un gran complejo proteico y para transportar orgánulos de forma eficiente tiene que asociarse a otro gran complejo, llamado *dinactina*. Este complejo incluye un corto filamento parecido a la actina formado por una proteína relacionada con la actina, la proteína Arp1 (distinta de Arp2 y Arp3, los componentes del complejo ARP implicado en la nucleación de los filamentos de actina convencionales). Las membranas del complejo de Golgi están recubiertas con las proteínas anquirina y espectrina. Se propone que estas proteínas se asocian con el filamento de Arp1 en el complejo dinactina y forman un citoesqueleto plano parecido al citoesqueleto de la membrana de los eritrocitos (véase Figura 10-41). Probablemente la red de espectrina en conjunto proporciona estabilidad estructural a la membrana del complejo de Golgi y, a través del filamento Arp1, hace de mediador en la unión regulable de la dineína al orgánulo (Figura 16-67). En otros casos, los motores de dineína citoplasmáticos interactúan de forma directa con su carga. La cola citoplasmática de la rodopsina, la proteína detectora de luz en los conos de la retina del ojo, se une directamente a una de las cadenas ligeras de dineína; esta interacción es indispensable para el desplazamiento normal de la rodopsina a lo largo de los conos.

Las proteínas motoras tienen también un papel significativo en el transporte de orgánulos a lo largo de los filamentos de actina. La miosina V fue la primera miosina encontrada como mediador del desplazamiento de los orgánulos, una miosina de doble cabeza que genera un gran desplazamiento en cada etapa (véase Figura 16-65). En los ratones y en los humanos, los gránulos de pigmento rodeados de membrana, llamados *melanosomas*, se sintetizan debajo de la piel, en unas células denominadas *melanocitos*. Estos melanosomas se desplazan hacia los extremos de las proyecciones dendríticas de los melanocitos, donde son liberados hacia los queratinocitos que forman la piel (y el pelaje en el ratón). La miosina V está asociada con la superficie de los melanosomas y puede intervenir en el desplazamiento basado en actina que se puede observar en un tubo de ensayo (Figura 16-68). En el ratón, mutaciones en el gen de la miosina V provocan un fenotipo diluido, con un pelaje descolorido puesto que los melanosomas no son liberados a los queratinocitos de forma eficiente, por lo que la pigmentación es defectuosa. Otras miosinas, incluyendo la miosina I, están asociadas a endosomas y a una gran variedad de otros orgánulos.

El citoesqueleto posiciona moléculas específicas de RNA

Con el objetivo de concentrar las proteínas en el lugar donde ejercen su función, las células restringen a menudo su síntesis en los lugares donde se localizan sus moléculas de mRNA, proceso que establece las asimetrías celulares. Este hecho es en particular importante cuando una célula se divide generando dos células hijas con características distintas. Otro ejemplo sería el de los mRNA que codifican proteínas implicadas en la función sináptica y que se localizan cerca de las sinapsis en la mayoría de neuronas; existen evidencias de que la localización de los mRNA y la regulación de la traducción en los lugares sinápticos desempeñan un papel importante en la regulación de la memoria a largo plazo y de la plasticidad sináptica. No es sorprendente que sea el citoesqueleto y las proteínas motoras del citoesqueleto las que posicionen las moléculas de mRNA en este tipo de situaciones.

El oocito gigante de *Drosophila* posiciona una gran cantidad de mRNA codificados maternalmente en lugares específicos dentro de la célula, como paso previo a los rápidos acontecimientos de especificación que se producen en las fases tempranas de la embriogénesis (descrito en el Capítulo 22). Un grupo de mRNA que codifican proteínas necesarias para el correcto desarrollo de la región posterior del embrión, incluyendo el desarrollo de las células germinales, se localizan en la parte posterior del oocito; un grupo distinto de mRNA que codifican proteínas necesarias para la especificación de las estructuras anteriores del embrión se localizan en la parte anterior del oocito.

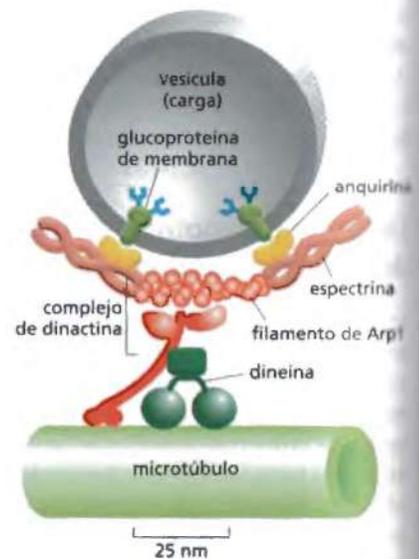


Figura 16-67 Un modelo para la unión de la dineína a un orgánulo rodeado de membrana. La dineína necesita la presencia de muchas proteínas accesorias para asociarse con los orgánulos rodeados de membrana. La dinactina es un complejo grande (rojo) que incluye componentes que se unen débilmente a los microtúbulos, componentes que se unen a la propia dineína y componentes que forman pequeños filamentos de actina con la proteína Arp1. Se cree que el filamento Arp1 puede mediar la unión de este gran complejo a los orgánulos, a través de una red de espectrina y anquirina parecida a la del citoesqueleto asociado a la membrana de los eritrocitos (véase Figura 10-41).

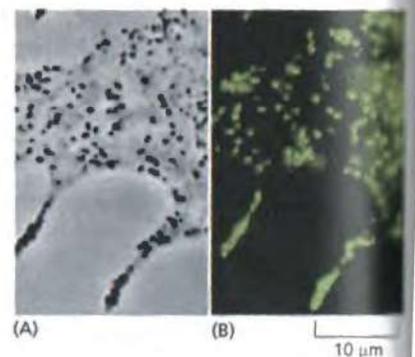


Figura 16-68 La miosina V de los melanosomas. (A) Imagen obtenida por contraste de fases de una parte de un melanocito aislado de un ratón. Las manchas negras son melanosomas, con orgánulos rodeados de membrana llenos del pigmento de la piel, la melanina. (B) La misma célula marcada con un anticuerpo fluorescente contra la miosina V. Cada melanosoma está asociado con un gran número de copias de esta proteína motora. (De X. Wu et al., *J. Cell Sci.* 110:847-859, 1997. Con la autorización de The Company of Biologists.)

cola, por su velocidad y su mantenimiento de avance, de acuerdo con las necesidades específicas de la célula. En las células eucariotas típicas existen distintos miembros de las familias de la miosina y de la quinesina, pero sólo existe una forma de dineína citoplasmática. Todavía no se sabe si las propiedades mecánicas de la dineína citoplasmática pueden modificarse respondiendo a necesidades distintas de la célula ni cómo ocurre.

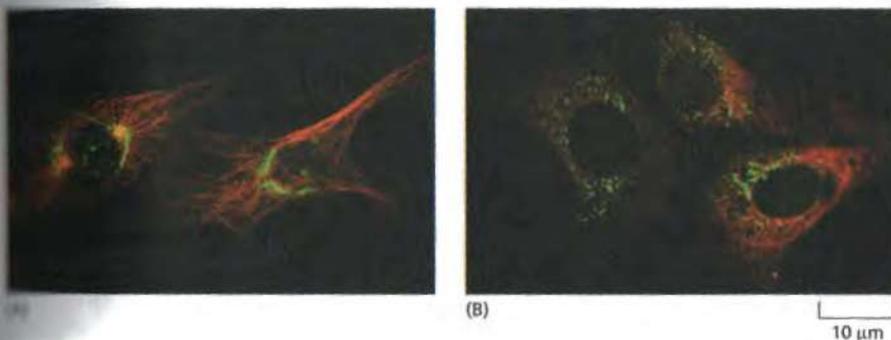
Las proteínas motoras median el transporte intracelular de los orgánulos rodeados de membrana <CAAT> <AAAT>

En las células en interfase, una función importante de los motores del citoesqueleto es el transporte y posicionamiento de los orgánulos rodeados de membrana. Inicialmente se identificó la quinesina como la proteína responsable del transporte rápido a lo largo de los axones, del desplazamiento rápido de las mitocondrias, de las vesículas secretoras precursoras y de varios componentes de las sinapsis a lo largo de las autopistas microtubulares de los axones hacia los distantes terminales nerviosos. Aunque en la mayoría de las células los orgánulos no tienen que recorrer distancias tan grandes, sigue siendo necesario su transporte polarizado. Un conjunto típico de microtúbulos de una célula en interfase está orientado con sus extremos menos cerca del centro de la célula, en el centrómero, y los extremos más extendidos hacia la periferia celular. Así pues, los desplazamientos centrípetos de los orgánulos o vesículas hacia el centro celular requieren de la acción de las proteínas motoras que se dirigen hacia los extremos menos como por ejemplo la dineína citoplasmática, mientras que los movimientos centrífugos, hacia la periferia celular, requieren motores dirigidos hacia los extremos más, como las quinesinas.

El ejemplo más claro del efecto de los microtúbulos y de las proteínas motoras de los microtúbulos, sobre el comportamiento de los sistemas membranosos intracelulares, lo constituye su papel organizador del retículo endoplasmático (ER) y del complejo de Golgi. La red de túbulos membranosos del ER se alinea con los microtúbulos y se extiende casi hasta los extremos celulares. El complejo de Golgi, por el contrario, está localizado cerca del centrosoma. Cuando se tratan las células con un compuesto que despolimeriza los microtúbulos, como por ejemplo la colchicina o el nocodazol, el ER se colapsa en el centro de la célula, mientras que el complejo de Golgi se fragmenta y queda disperso por el citoplasma (Figura 16-66). *In vitro*, las quinesinas pueden unir las membranas derivadas del ER a pistas de microtúbulos preformadas y hacerlas avanzar hacia sus extremos más, formando protuberancias tubulares y espacios membranosos muy parecidos a los del ER de las células. De manera parecida, el desplazamiento de los túbulos del ER hacia la periferia celular está asociado con el crecimiento de los microtúbulos en las células vivas. Por el contrario, las dineínas son necesarias para el posicionamiento del complejo de Golgi en el centro de la célula, desplazando las vesículas del Golgi a lo largo de los microtúbulos hacia los extremos menos en el centrosoma.

Los distintos tipos de colas y sus cadenas ligeras asociadas de las diferentes proteínas motoras específicas les permiten unirse de forma específica a los orgánulos que transportarán. Receptores motores asociados a membrana, que son dirigidos de forma específica hacia compartimientos rodeados de membrana, interactúan directa o indirectamente con las colas de determinados miembros de la familia de las quinesinas. Uno de estos receptores parece ser el precursor de la proteína amiloide (APP: *amyloid precursor protein*), que se une directamente a la cadena ligera de la cola de la quinesina-1 y se propone que sea una molécula proteica receptora motora transmembrana en los axones de las células nerviosas. El pro-

Figura 16-66 Efecto de la despolimerización de microtúbulos sobre el complejo de Golgi. (A) En esta célula endotelial, los microtúbulos están marcados en rojo y el complejo de Golgi en verde (usando un anticuerpo contra una proteína del Golgi). Mientras el sistema de microtúbulos permanece intacto, el Golgi se encuentra cerca del centrosoma, próximo al núcleo en el centro de la célula. La célula de la derecha está en interfase, con un solo centrosoma. La célula de la izquierda está en profase; los centrosomas duplicados se han desplazado hacia lados opuestos del núcleo. (B) Después de un tratamiento con nocodazol, que provoca la despolimerización de los microtúbulos (véase Tabla 16-2), el complejo de Golgi se fragmenta y se dispersa por todo el citoplasma celular. (Cortesía de David Shima.)



bacteriano G- transforma la energía química de la hidrólisis del GTP en movimiento que desplaza la molécula de mRNA por el ribosoma.

La cinética de las proteínas motoras está adaptada a las funciones celulares

Las proteínas motoras de las superfamilias de miosinas y de quinesinas presentan, además de su capacidad de desplazarse a lo largo de polímeros diferentes, una gran diversidad de propiedades móviles. Es muy interesante el hecho de que un simple dímero de quinesina-1 se desplace elegantemente y viaje durante cientos de ciclos de ATPasa a lo largo de un microtúbulo sin disociarse. Por el contrario, la miosina II del músculo esquelético no puede desplazarse de esta forma, sino que sólo avanza unos cuantos pasos a lo largo del filamento de actina y luego se libera de él. Estas diferencias son muy importantes para las diversas funciones biológicas que ejercen estas proteínas. Un pequeño número de moléculas de quinesina-1 deben ser capaces de transportar un orgánulo a lo largo de un axón de una célula nerviosa, por lo que requieren que el proceso se pueda repetir durante mucho tiempo. Por el contrario, la miosina del músculo esquelético nunca actúa como una sola molécula sino como una parte de un gran conjunto de moléculas de miosina II en un filamento grueso. En este caso una elevada capacidad de repetición del proceso podría inhibir la función biológica, puesto que una contracción muscular eficiente requiere que cada cabeza de miosina realice su fuerza impulsora y rápidamente dejar el camino libre para no interferir en las acciones de las otras cabezas de miosina adheridas al mismo filamento de actina.

Este elevado grado de repetición del proceso de los desplazamientos de la quinesina-1 se debe a dos razones. La primera es que los ciclos mecánico-químicos de las dos cabezas motoras de un dímero de quinesina-1 están coordinados, de forma que una cabeza no avanza hasta que la otra esté situada en el lugar adecuado para unirse. Esta coordinación le permite a la proteína motora actuar de forma "mano a mano", impidiendo que la carga, por ejemplo un orgánulo, difunda alejándose de la pista del microtúbulo. Por el contrario, no existe coordinación aparente entre las cabezas de miosina de un dímero de miosina II. La segunda razón es que la quinesina-1 se mantiene durante una gran parte de su ciclo de ATPasa unida al microtúbulo. En ambos casos, el de la quinesina-1 y el de la miosina II, el cambio conformacional que produce el movimiento generador de potencia debe ocurrir mientras la proteína motora esté unida al polímero; mientras que la fuerza de recuperación, que es la preparación para la próxima etapa, tienen que producirse mientras la proteína motora esté separada del polímero. Sin embargo, la miosina II sólo está unida durante un 5% del tiempo que dura el ciclo ATPasa y se mantiene separada del filamento el resto del tiempo.

Lo que la miosina pierde en capacidad de repetición del proceso continuado lo gana en velocidad; en una hilera en que la mayoría de las cabezas motoras están interactuando con un mismo filamento de actina, un grupo de miosinas unidas puede desplazar su filamento una distancia total equivalente a 20 pasos durante un ciclo simple, mientras que las quinesinas sólo se desplazarán 2. Así pues, la miosina II puede deslizarse por un filamento mucho más rápidamente que la quinesina-1, a pesar de que ambas hidrolizan ATP a la misma velocidad y tengan longitudes de avance comparables. Esta propiedad es en particular importante en la rápida contracción del músculo esquelético que se describirá más adelante.

Dentro de cada clase de proteínas motoras, la velocidad de desplazamiento varía ampliamente, desde los 0,2 hasta los 60 μm por segundo en las miosinas, y desde los 0,02 hasta los 2 μm por segundo en las quinesinas. Estas diferencias se deben a una regulación muy fina del ciclo mecánico-químico. El número de pasos que puede dar una molécula motora durante un tiempo determinado y, por tanto, su velocidad, pueden disminuir al reducir la velocidad intrínseca de la ATPasa o al aumentar la proporción del tiempo del ciclo durante el que la proteína se encuentra unida al filamento. Por ejemplo, la miosina V (que actúa como un motor vesicular con capacidad elevada de repetición del proceso) pasa el 90% de su ciclo de nucleótido unida fuertemente al filamento de actina, en contraste con la miosina II que sólo pasa el 5%. Además, una proteína motora puede cambiar la duración de cada paso, ya sea cambiando la longitud del brazo de palanca (p. ej., el de la miosina V es tres veces más largo que el de la miosina II) o el ángulo de balanceo de la hélice (Figura 16-65). Cada uno de estos parámetros varía un poco entre los distintos miembros de las familias de miosinas y de quinesinas, y se corresponde con ligeras diferencias en sus secuencias y estructuras.

Se asume que la evolución ha perfeccionado el comportamiento de cada proteína motora, cuya función viene determinada por el tipo de carga que transporta en su dominio de

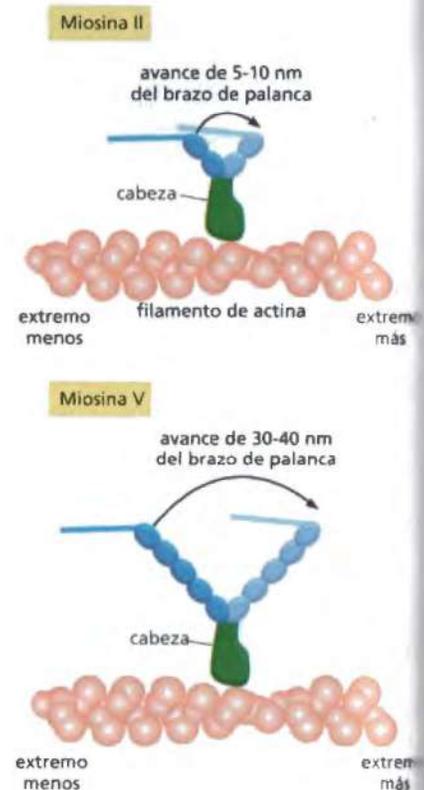


Figura 16-65 El efecto de la longitud del brazo de palanca sobre el avance de una proteína motora. El brazo de palanca de la miosina II es mucho más corto que el de la miosina V. El golpe de potencia de la cabeza gira estos brazos el mismo ángulo en ambos casos, de forma que la miosina V es capaz de realizar un paso (avance) más grande que la miosina II.

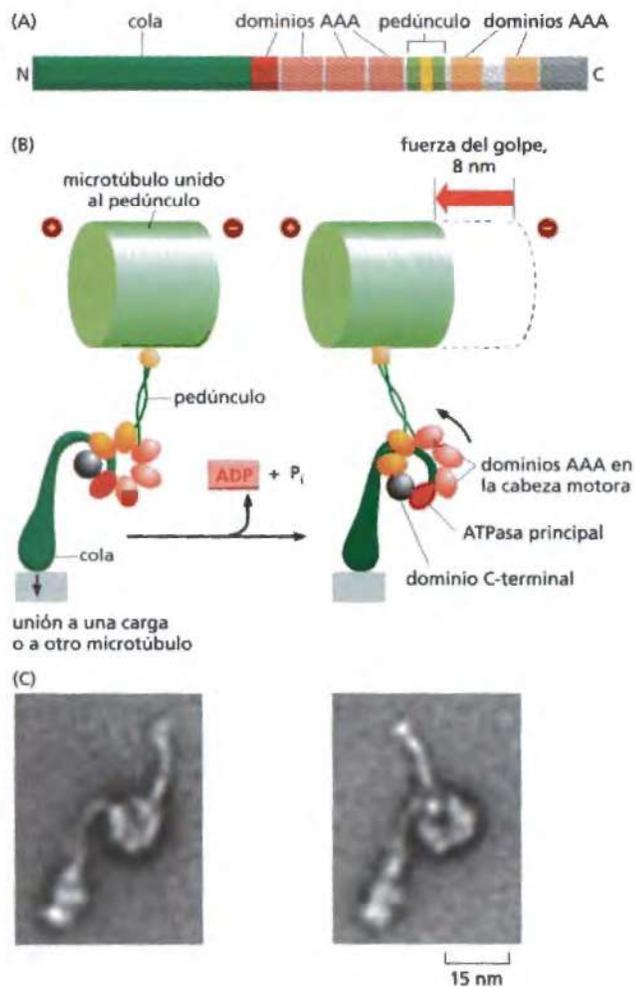


Figura 16-64 El golpe de potencia de la dineína. (A) La organización de los dominios en cada una de las cadenas pesadas de dineína. Se trata de una molécula muy grande, que tiene alrededor de 5000 aminoácidos. El número de cadenas pesadas en una dineína es igual al número de sus cabezas motoras. (B) La dineína es una dineína monomérica de los flagelos, que se ha encontrado en el alga verde unicelular *Chlamydomonas reinhardtii*. El gran dominio motor de cabeza es un anillo plano que contiene el dominio C-terminal (*gris*) y seis dominios AAA, cuatro de los cuales mantienen secuencias de unión a ATP aunque sólo una de ellas (*rojo oscuro*) tiene la principal actividad ATPasa. Extendiéndose a partir de la cabeza encontramos un largo pedúnculo en superenrollamiento con el lugar de unión a los microtúbulos en un extremo y una cola con unión para una carga. En el estado de unión al ATP, el pedúnculo no está unido al microtúbulo, pero la hidrólisis del ATP lo une a él. La liberación del ADP y del P_i comporta un "golpe de potencia" que implica la rotación de la cabeza y del pedúnculo en relación a la cola. Cada ciclo genera un paso de cerca de 8 nm de avance a lo largo del microtúbulo y hacia el extremo menos. (C) Electromicrografía de dineínas purificadas en dos conformaciones distintas representando dos etapas distintas de su ciclo mecánico-químico. (B, de S.A. Burgess et al., *Nature* 421:715-718, 2003. Con la autorización de Macmillan Publishers Ltd.)

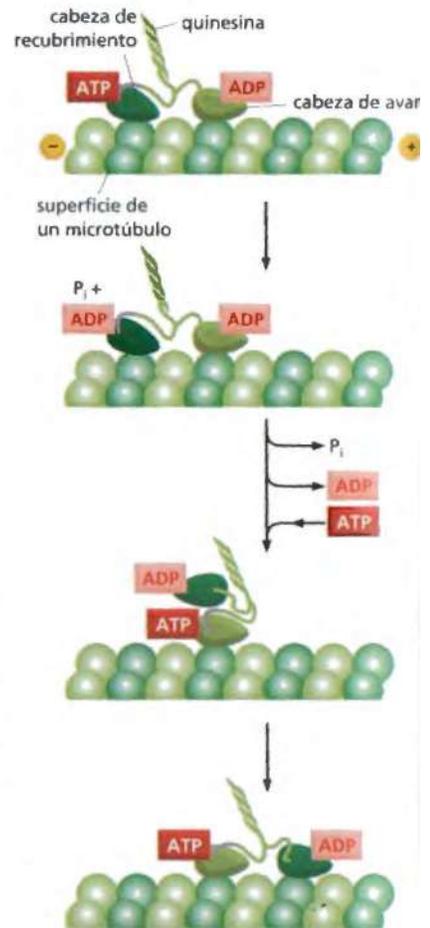
un dominio de cadena pesada que forma un pedúnculo largo y enrollado de forma antiparalela. Este pedúnculo se extiende desde el extremo superior del anillo, con un lugar de hidrólisis de ATP regulado por unión a un microtúbulo en su extremo. La "potencia de empuje" de las dineínas está dirigida por la liberación del ADP y del fosfato inorgánico, y provoca la rotación del anillo en relación a la cola (Figura 16-64).

Aunque tanto la miosina, como la quinesina y la dineína sufren ciclos mecánico-químicos parecidos, la naturaleza exacta del acoplamiento entre los ciclos mecánicos y químicos es diferente en los tres casos. Por ejemplo, cuando la miosina no se halla unida a ningún nucleótido, está fuertemente unida a su filamento de actina, el llamado estado "rigor", y se libera de su anclaje cuando une ATP. Por el contrario, la quinesina forma una asociación de tipo "rigor" con el microtúbulo cuando tiene el ATP unido y es la hidrólisis de este ATP la que la libera de su punto de unión. El ciclo mecánico-químico de la dineína es más parecido al de la miosina que al de la quinesina, en el cual, la dineína libre de nucleótido está unida con fuerza al microtúbulo y se libera cuando se une al ATP. Sin embargo, para la dineína, parece que el ADP y el fosfato inorgánico se liberan al mismo tiempo provocando el cambio conformacional que dirige el empuje impulsor, mientras que para la miosina el fosfato se libera en primer lugar y el empuje impulsor no se produce hasta que el ADP se disocia de la cabeza motora.

Así pues, las proteínas motoras del citoesqueleto trabajan de forma muy análoga a las proteínas que unen GTP, con la excepción de que en las proteínas motoras los pequeños cambios conformacionales (unas cuantas decenas de nanómetros) asociados a la hidrólisis de un nucleótido están amplificados por dominios proteicos especiales —el brazo de palanca en el caso de la miosina, el segmento de unión en el caso de la quinesina y el anillo y el pedúnculo en el caso de la dineína— generando grandes cambios conformacionales (de algunos nanómetros) que desplazan las proteínas motoras a lo largo de las vías de filamentos. Recientemente la analogía entre las GTPasas y las proteínas motoras del citoesqueleto se ha ampliado, al observarse que una de las proteínas de unión a GTP —el factor de elongación

Figura 16-62 El ciclo mecánico-químico de la quinesina. <GAAT> La quinesina-1 es un dímero de dos dominios motores de unión a nucleótidos (cabezas) que están conectados a través de una larga cola con sobreenrollamiento (véase Figura 16-58). Los dos dominios motores de quinesina actúan de forma coordinada; durante un "paso" de quinesina, la cabeza posterior se libera de su lugar de unión a la tubulina, atraviesa el dominio motor de su pareja y entonces se une de nuevo al lugar de unión de la siguiente tubulina disponible. Usando este movimiento de "mano a mano", el dímero de quinesina puede desplazarse largas distancias por los microtúbulos sin apartarse demasiado de su vía.

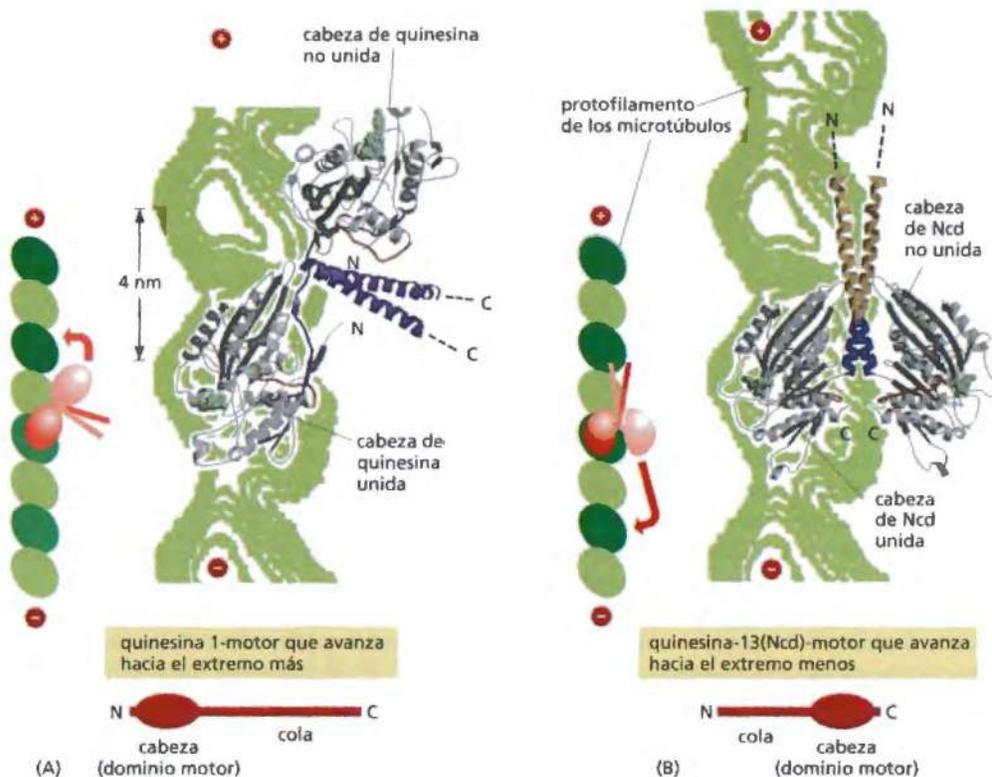
Al principio de cada paso, una de las dos cabezas de quinesina, la posterior o de retención (verde oscuro), está unida con fuerza al microtúbulo y al ATP, mientras que la cabeza frontal o de avance está débilmente unida al microtúbulo y al ADP en el dominio motor de su pareja (entre los pasos 2 y 3 de este esquema). La unión del ATP a este dominio motor provoca que un pequeño péptido llamado "conector del cuello" cambie de una conformación hacia atrás a una conformación hacia adelante (el conector de cuello aparece como una línea conectora entre el dominio motor y la zona de superenrollamiento entrelazada). Este cambio impulsa al dominio motor posterior hacia delante, después de liberarse del microtúbulo con el ADP unido; la liberación requiere de la hidrólisis de ATP y la liberación de un fosfato (P_i). La molécula de quinesina está ahora colocada para su próximo paso, que se producirá como una repetición exacta del proceso mostrado.

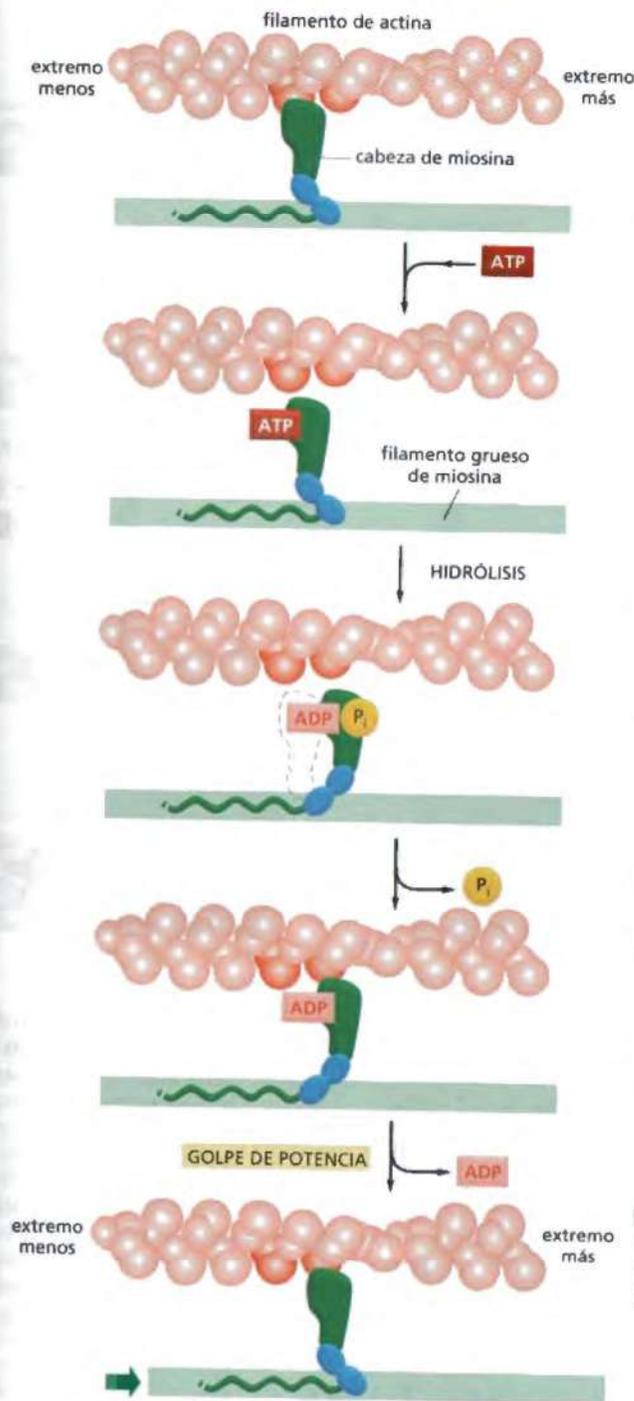


próximo lugar de unión de la segunda cabeza y, probablemente, determina el sentido del desplazamiento motor (Figura 16-63).

El motor de dineína no está relacionado estructuralmente con las miosinas y con las quinesinas pero mantiene la norma general de acoplar la hidrólisis de un nucleótido a la unión y desunión de un microtúbulo y también la generación de fuerza a través de los cambios conformacionales. Una cadena pesada gigante de 500.000 daltons forma la estructura básica generadora del movimiento. Su parte N-terminal forma una cola que se une a un conjunto de cadenas ligeras y conecta con otras cadenas pesadas dentro de la molécula de dineína, mientras que la mayor parte de la cadena pesada se utiliza para formar una cabeza muy elaborada en forma de anillo. Esta cabeza consiste en un anillo plano formado por siete dominios: seis dominios AAA más el dominio C-terminal de la cadena pesada; por consiguiente, es un pariente complejo de la ATPasa hexamérica descrita en el Capítulo 6 (véase Figura 6-91). Una región de unión en forma de gancho une la cola de la cadena pesada al dominio AAA que es más activo que una ATPasa. Entre el cuarto y el quinto dominio AAA hay

Figura 16-63 Orientación del "paso adelante" y del "paso hacia atrás" de las proteínas de la superfamilia de las quinesinas unidas a microtúbulo. Estas imágenes fueron generadas superponiendo las estructuras de los dímeros libres de las proteínas motor (determinadas por cristalografía de rayos X) sobre una imagen, a menor resolución, de los dímeros unidos a los microtúbulos (determinada por crioelectromicroscopía). (A) La quinesina-1 (quinesina convencional) tiene su dominio motor en el extremo N-terminal de la proteína y se desplaza hacia el extremo más del microtúbulo. Cuando un extremo del dímero está unido a microtúbulo en un estado posterior del golpe de potencia (con el ATP en el sitio de unión), la segunda cabeza no unida apunta hacia el extremo más los microtúbulos, preparada para el siguiente paso. (B) La quinesina-13 (Ncd) (llamada Ncd en la *Drosophila*), un motor que avanza hacia el extremo menos, con el dominio motor en el extremo C-terminal, forma dímero en orientación opuesta. (De E. Sabli et al., *Nature* 395:813-816, 1998. Con la autorización de Macmillan Magazines Ltd.)





UNIÓN: Al iniciarse el ciclo que se muestra en la figura, una cabeza de miosina, sin ningún nucleótido unido, se une fuertemente a un filamento de actina en una configuración de *rigor* (así llamada porque es la responsable del *rigor mortis*, la rigidez de la muerte). En un músculo en contracción activa, este estado es de corta duración y finaliza rápidamente mediante la unión de una molécula de ATP.

LIBERACIÓN: Una molécula de ATP se une en el surco de la "parte trasera" de la cabeza (es decir, en la parte más alejada del filamento de actina) e inmediatamente provoca un ligero cambio en la conformación de los dominios que libera el lugar de unión a la actina. Esto reduce la afinidad de la cabeza por la actina y le permite desplazarse a lo largo del filamento. (El espacio dibujado entre la cabeza y la actina destaca este cambio, aunque en realidad probablemente se mantiene muy cerca de la actina.)

MOVIMIENTO: El surco se cierra como la concha de una almeja alrededor de la molécula de ATP, induciendo un gran cambio morfológico que provoca el desplazamiento de la cabeza a lo largo del filamento, a una distancia de unos 5 nm. Se produce la hidrólisis del ATP, pero el ADP y el fosfato inorgánico (P) producidos se mantienen íntimamente unidos a la proteína.

GENERACIÓN DE LA FUERZA: La débil unión de la cabeza de la miosina a un nuevo lugar en el filamento de actina provoca la liberación del fosfato inorgánico producido por la hidrólisis del ATP, con lo cual se refuerza la unión de la cabeza con la actina. Esta liberación proporciona el gran golpe de potencia: el cambio de forma que genera la fuerza, mediante el cual la cabeza recupera su conformación original. Durante este golpe de potencia, la cabeza pierde el ADP que tenía unido y se inicia un nuevo ciclo.

UNIÓN: Al final del ciclo, la cabeza de la miosina se encuentra de nuevo íntimamente unida al filamento de actina en la configuración de rigor. Nótese que la cabeza se ha desplazado hacia una nueva posición en el filamento de actina.

Parece que el dominio de sobreenrollamiento coordina los ciclos mecánico-químicos de ambas cabezas (dominios motores) del dímero de quinesina y determina la direccionalidad de su desplazamiento. Hay que recordar que la mayoría de los miembros de la superfamilia de las quinesinas, con sus dominios motores en el extremo N-terminal, se desplazan hacia los extremos más de los microtúbulos, pero que unos cuantos miembros de la superfamilia tienen los dominios motores en el extremo C-terminal y se desplazan hacia los extremos menos. Sin embargo, los dominios motores de ambos tipos de proteína son idénticos. ¿Cómo pueden desplazarse en sentidos opuestos? La respuesta parece encontrarse en la forma en la que están conectadas sus cabezas. En imágenes de alta resolución de las cabezas de ambos tipos, unidas a los microtúbulos, las cabezas que están unidas al microtúbulo prácticamente no se pueden distinguir, pero las segundas cabezas, no unidas, están orientadas de forma distinta. Esta diferencia de inclinación parece que influye en cuál será el

Figura 16-61 Ciclo de cambios mediante los cuales una molécula de miosina II se desplaza a lo largo de un filamento de actina. <ATAT> En el ciclo de la miosina II, la cabeza permanece unida al filamento de actina sólo un 5% del ciclo, permitiendo que muchas miosinas trabajen a la vez desplazando un mismo filamento de actina. (Basado en I. Rayment et al., *Science* 261:50-58, 1993. Con la autorización de AAAS.)

selección de la vía. Estas regiones incluyen el lugar de unión a actina y de unión a los microtúbulos, en la miosina y en la quinesina respectivamente. Se cree que ambas proteínas descienden de una proteína motora precursora ancestral común y que las diferencias en la especialización de sus funciones se producen a través de duplicaciones génicas y modificaciones de los lazos producidas a lo largo de la evolución y a partir del núcleo central.

Una clave importante sobre el grado de implicación de este núcleo central en la generación de la fuerza procede de los parecidos estructurales entre el lugar de unión de los nucleótidos entre estas proteínas y las pequeñas GTPasas de la superfamilia de Ras. Como hemos indicado en el Capítulo 3 (véase Figura 3-72), estas proteínas presentan conformaciones diferentes en su estado unido a GTP (activo) y en su estado unido a GDP (inactivo): el lazo móvil del lugar de unión al nucleótido está íntimamente en contacto con el γ -fosfato del estado unido a GTP, pero estos lazos cambian de conformación cuando el γ -fosfato hidrolizado se libera. Aunque los detalles del movimiento son distintos para las dos proteínas motoras y en un caso se hidroliza ATP y en el otro GTP, el cambio estructural relativamente pequeño que se produce en el lugar activo—por la ausencia o presencia de un fosfato terminal—se amplifica de forma parecida en ambos casos y produce la rotación de una parte diferente de la proteína.

En la quinesina y en la miosina, un lazo de este tipo interacciona con las regiones de la proteína implicadas en la unión a la actina y a los microtúbulos respectivamente, permitiendo que los cambios estructurales causados por el ciclo de hidrólisis del ATP sean transmitidos a la interfase de unión al polímero. Parece que la transmisión de cambios estructurales entre el sitio de unión al polímero y el lugar de hidrólisis del nucleótido actúa en ambos sentidos, ya que la actividad ATPasa de las proteínas motoras está activada con intensidad por la unión a los filamentos que hacen de carriles.

Las proteínas motoras generan fuerza acoplado la hidrólisis del ATP a cambios conformacionales

Las proteínas motoras del citoesqueleto y las proteínas que unen GTP utilizan los cambios estructurales, que se producen en sus lugares de unión a los nucleósidos trifosfato, para producir interacciones cíclicas con la proteína a la que se unen. Sin embargo, las proteínas motoras tienen un requerimiento adicional: cada ciclo de unión y liberación debe empujarlas en un sentido determinado a lo largo del filamento, hacia un nuevo lugar de unión del mismo filamento. Para conseguir este movimiento unidireccional las proteínas motoras utilizan la energía derivada de la unión e hidrólisis del ATP, generando un movimiento amplio en una parte de la molécula proteica. En el caso de la miosina, cada etapa del movimiento a lo largo de la actina viene generada por un balanceo de unos 8,5 nm de largo en la hélice α , o *brazo de palanca*, estabilizado estructuralmente por la unión de las cadenas ligeras. En la base de este brazo de palanca y cerca de la cabeza existe una hélice parecida a un pistón, que conecta los movimientos producidos en la hendidura de unión del ATP de la cabeza, con pequeñas rotaciones en el dominio llamado convertidor (véase Figura 16-60). Un pequeño cambio en este punto provoca un balanceo de la hélice, como si fuera una larga palanca, que hace que el extremo de la hélice se desplace cerca de 5 nm.

Estos cambios conformacionales de la miosina están acoplados con cambios en su afinidad de unión a la actina, permitiendo que la cabeza de miosina se libere del punto de agarre a la actina y busque otro punto de agarre. El ciclo mecanoquímico completo de unión del nucleótido, hidrólisis del nucleótido y liberación del fosfato (que provoca la fuerza impulsora) produce una etapa del movimiento (Figura 16-61).

En la quinesina, en vez del golpe del brazo de palanca, los pequeños movimientos del brazo en el lugar de unión del nucleótido regulan la unión y liberación del dominio motor de la cabeza hacia una región larga de unión que conecta esta cabeza motora en un extremo con el dominio de dimerización sobre enrollado situado en el otro extremo (véase Figura 16-61). Cuando el frente (director) de la cabeza de quinesina está unido al microtúbulo antes de que se inicie la fuerza impulsora, su región de unión está desestructurada. Al unirse el ATP, la región de unión se desplaza a lo largo de la cabeza de forma lateral, lo cual empuja a la segunda cabeza hacia una posición en la que podrá unirse de nuevo al protofilamento, 8 nm más cercana al extremo más del microtúbulo que el lugar de unión para la primera cabeza. Los ciclos de hidrólisis del nucleótido en las dos cabezas están coordinados y permiten que las dos cabezas motoras se desplacen mano a mano (o cabeza a cabeza) a modo de escalera (Figura 16-62) y avancen cada vez un discreto "escalón" de 8 nm.

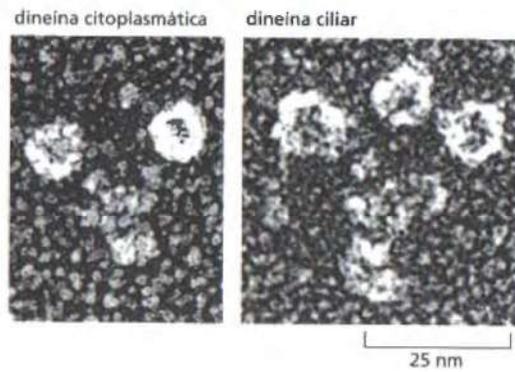


Figura 16-59 Dineínas. Electromicrografía de grabado por congelación de una molécula de dineína citoplasmática y una molécula de dineína ciliar (del axonema). Como en la miosina II y en las quinesinas, las dineínas citoplasmáticas son moléculas con dos cabezas. La dineína ciliar mostrada procede de un protozoo y tiene tres cabezas; la dineína de animales tiene dos cabezas. Obsérvese que la cabeza de dineína es muy grande comparada con la de las miosinas o la de las quinesinas. (Cortesía de John Heuser).

Las dineínas eucariotas y son importantes para el tráfico de vesículas y también para la localización del complejo de Golgi cerca del centro de la célula. La otra gran rama son las *dineínas axonemales*, heterodímeros o heterotrímeros, con dos o tres dominios motores o cabezas respectivamente. Están altamente especializadas para el desplazamiento deslizante eficiente y rápido de los microtúbulos en los cilios y flagelos (se tratará más adelante). Una tercera rama minoritaria comparte semejanzas de secuencia con las dineínas citoplasmáticas aunque parece que participa en el movimiento de cilios y flagelos.

Las dineínas son los motores moleculares conocidos de mayor tamaño y también son uno de los más rápidos: las dineínas axonemales pueden desplazar los microtúbulos en un ensayo de ensayo a la velocidad de 14 $\mu\text{m}/\text{segundo}$. En comparación, las quinesinas más rápidas pueden desplazar los microtúbulos cerca de 2-3 μm por segundo. Más adelante se explicará cómo funcionan.

El parecido estructural entre la miosina y la quinesina refleja un origen evolutivo común

Los dominios motores de las miosinas son más grandes que los de las quinesinas, cerca de 850 aminoácidos respecto a 350. Estos dos tipos de proteínas motoras viajan a lo largo de filamentos distintos, presentan propiedades cinéticas distintas y no tienen semejanzas identificables en sus secuencias de aminoácidos. Sin embargo, el estudio de la estructura tridimensional de los dominios motores de la miosina y de la quinesina ha revelado que estos dos dominios están contruidos alrededor de núcleos casi idénticos (Figura 16-60). El elemento generador de la fuerza central que tienen en común los dos tipos de proteínas motoras incluye el lugar de unión al ATP y la maquinaria necesaria para transformar la hidrólisis del ATP en un cambio conformacional alostérico. Grandes lazos que se extienden a partir del núcleo central causan las diferencias de tamaño del dominio y son los responsables de la

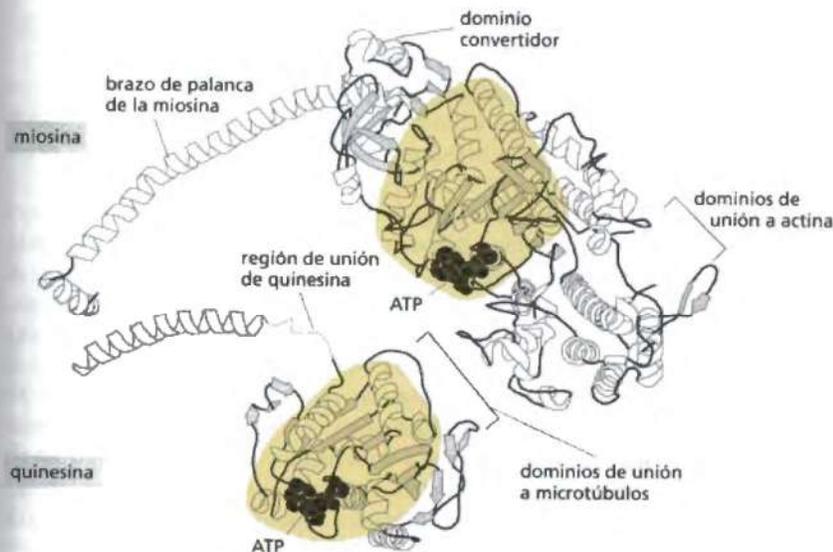


Figura 16-60 Estructuras obtenidas mediante cristalografía de rayos X de cabezas de miosina y de quinesina. Los dominios centrales de unión al nucleótido (sombreado amarillo) son estructuralmente muy parecidos. Los distintos tamaños y funciones de los dos motores son debidos a diferencias importantes en los dominios de unión al polímero y las zonas de transducción de fuerza del dominio motor. (Adaptado de L.A. Amos y R.A. Cross, *Curr. Opin. Struct. Biol.* 7:239-246, 1997. Con la autorización de Elsevier.)

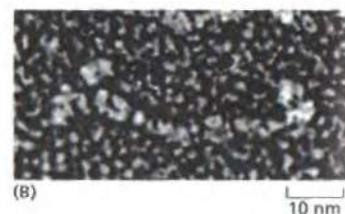
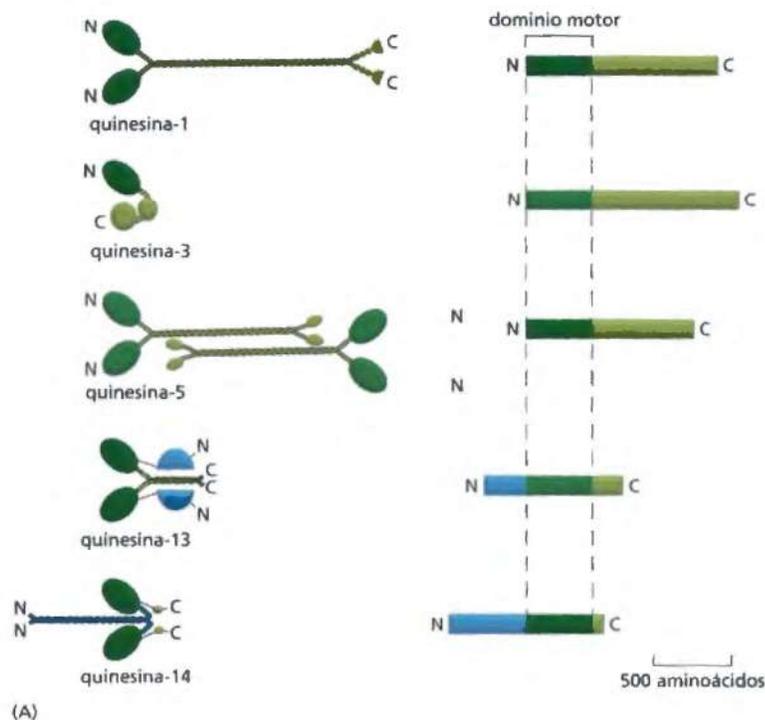


Figura 16-58 La quinesina y las proteínas relacionadas con la quinesina. (A) Estructura de cinco miembros de la superfamilia de las quinesinas. Como sucede también en la superfamilia de la miosinas, sólo se ha conservado el dominio motor. La quinesina-1 tiene el dominio motor en el extremo N-terminal de la cadena pesada. El dominio del centro forma un largo sobreenrollamiento que permite la dimerización. El extremo C-terminal forma una cola que se une a una carga, como por ejemplo a orgánulos rodeados de membrana. La quinesina-3 representa un miembro poco común de la familia que parece actuar como monómero y desplaza a los orgánulos rodeados de membrana a lo largo de los microtúbulos. La quinesina-5 forma tetrámeros en los que los dos dímeros se asocian a través de sus colas. El tetrámero bipolar de quinesina-5 es capaz de deslizar dos microtúbulos, uno respecto al otro, en una actividad análoga a la de los gruesos filamentos bipolares formados por miosina II. La quinesina-13 tiene su dominio motor localizado en el centro de la cadena pesada. Es un miembro de la familia de las quinesinas que ha perdido la actividad motora típica y se une a los extremos de los microtúbulos aumentando su inestabilidad dinámica; se les llama factores de catástrofe (véase p. 1003). La quinesina-14 es un miembro de la familia de las quinesinas de extremo C-terminal que incluye la proteína Ncd de *Drosophila* y la proteína Kar3 de levaduras. Generalmente estas quinesinas viajan en sentido contrario al resto de quinesinas, es decir hacia el extremo menos de los microtúbulos en lugar de hacia los extremos más. (B) Electromicrografía de una molécula de quinesina obtenida por criofijación, con sus dominios de cabeza a la izquierda. (B, cortesía de John Heuser.)

Existen dos tipos de proteínas motoras de microtúbulos: las quinesinas y las dineínas

La **quinesina** es una proteína motora que se desplaza a lo largo de los microtúbulos. Fue identificada en el axón gigante del calamar, donde transporta orgánulos celulares rodeados de membrana desde el soma neuronal hacia el axón terminal, desplazándose hacia los extremos más de los microtúbulos. La quinesina es estructuralmente parecida a la miosina II, ya que cada motor activo tiene dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras; éstas forman dos cabezas globulares que actúan de dominios motores y una cola helicoidal alargada responsable de la dimerización de la cadena pesada. Como la miosina, la quinesina es miembro de una gran superfamilia de proteínas cuyo único elemento común es el dominio motor (Figura 16-58). La levadura *Saccharomyces cerevisiae* tiene seis quinesinas diferentes. El nematodo *C. elegans* tiene 16 quinesinas mientras que los humanos tenemos cerca de 45.

En la superfamilia de las quinesinas existen al menos catorce familias distintas. La mayoría de ellas tienen el dominio motor en el extremo N-terminal de la cadena pesada y se dirigen hacia el extremo más de los microtúbulos. Una familia en particular interesante dispone del dominio motor en el extremo C-terminal y se desplaza en la dirección opuesta, hacia los extremos menos de los microtúbulos. Algunas cadenas pesadas de la quinesina han perdido la secuencia helicoidal y actúan como monómeros, de forma análoga a la miosina I. Otras son homodímeros o heterodímeros. Miembros de la familia de la quinesina-5 se autoasocian a través de su dominio de cola y forman un motor bipolar que desliza dos microtúbulos en sentido opuesto uno del otro, acercándolos, igual que los filamentos gruesos de miosina II con filamentos de actina. La mayoría de quinesinas disponen de un lugar de unión en la cola que transporta orgánulos rodeados de membrana u otros microtúbulos. Muchos de los miembros de la superfamilia de las quinesinas tienen papeles específicos en la formación de los husos mitótico y meiótico y en la separación de los cromosomas durante la división celular.

Las **dineínas** son una familia de proteínas motoras que se dirigen hacia los extremos menos de los microtúbulos, pero que no están relacionadas con la superfamilia de las quinesinas. Están formadas por dos o tres cadenas pesadas (que incluyen un dominio motor) y un número grande y variable de cadenas intermedias y cadenas ligeras asociadas. La familia de las dineínas tiene dos ramas principales (Figura 16-59). La rama más ancestral contiene las **dineínas citoplasmáticas**, homodímeros de cadenas pesadas con dos dominios motores muy grandes como cabeza. Las dineínas citoplasmáticas se encuentran en casi todas las cé-

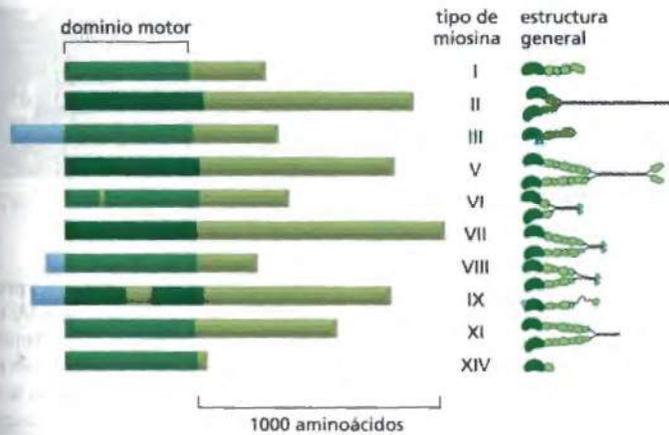


Figura 16-57 Miembros de la superfamilia de las miosinas. Comparación del dominio estructural de las cadenas pesadas de algunos tipos de miosinas. Todas las miosinas comparten dominios motores parecidos (se presenta en verde oscuro), pero sus colas C-terminales (verde claro) y sus extensiones N-terminales (azul claro) son muy diversas. A la derecha se representan las estructuras moleculares de miembros de estas familias. Muchas miosinas forman dímeros, con dos dominios motores por molécula, pero algunas (como la I, la IX y la XIV) parece que actúan como monómeros, con un solo dominio motor. La miosina VI, a pesar de tener una estructura muy parecida al resto de miembros de la familia, es la única que se desplaza hacia el extremo menos (en vez de hacia el extremo más) de los filamentos de actina. Probablemente el responsable de esta variación en el sentido del desplazamiento sea la pequeña inserción dentro del dominio motor de la cabeza, que no se ha encontrado en otras miosinas.

celulas no musculares, incluyendo a los protozoos. Casi al mismo tiempo otro grupo de investigación encontró una miosina en la ameba de agua dulce *Acanthamoeba castellanii*, que dispone de un dominio motor similar al dominio apical de la miosina muscular pero con una cola completamente distinta. Parece que esta molécula funciona en forma de un monómero por lo que se la llamó *miosina I* (por una cabeza); entonces, la miosina convencional se rebautizó como *miosina II* (por dos cabezas).

A partir de este momento, se descubrieron más miosinas. Tienen cadenas pesadas que generalmente empiezan con un dominio motor de miosina reconocible en el extremo N-terminal mientras que los dominios de cola C-terminales son muy variados (Figura 16-57). Los nuevos tipos de miosina identificados incluyen un gran número de variedades de una y dos cabezas, relacionadas de forma casi igual con la miosina I que con la miosina II. La nomenclatura refleja (excepto para I y II) el orden en el cual han sido descubiertas (desde la miosina III hasta la miosina XVIII). Comparaciones de secuencia entre los diversos eucariotas indican que existen al menos 37 familias de miosinas distintas dentro de la superfamilia. Las colas de miosina (y por lo general las colas de las proteínas motoras) se han diversificado a lo largo de la evolución permitiendo que estas proteínas dimericen con otras subunidades e interactúen con cargas distintas.

Algunas miosinas (como p. ej. la VIII y la XI) sólo se han encontrado en plantas, y algunas otras sólo en vertebrados (la IX). Sin embargo, la mayoría de ellas se han encontrado en todos los eucariotas, lo cual sugiere que las miosinas aparecieron pronto en la evolución eucariota. La levadura *Saccharomyces cerevisiae* contiene cinco miosinas: dos miosinas I, una miosina II y dos miosinas V. Puede especularse que estos tres tipos de miosina son los necesarios para que cualquier célula eucariota sobreviva, mientras que el resto de miosinas realizan funciones más especializadas, en particular en los organismos pluricelulares. El nematodo, *C. elegans*, por ejemplo, tiene al menos 15 genes de miosina que representan siete clases estructurales; el genoma humano incluye 40 genes de miosina. Nueve de las miosinas humanas se expresan principalmente o exclusivamente en las células pilosas del oído interno, y se sabe que mutaciones en cinco de ellas provocan sordera hereditaria. Estas miosinas muy especializadas son importantes para la construcción y función de los hermosos y complejos haces de estereocilios ricos en actina que se encuentran en la superficie apical de estas células (véase Figura 9-50), que se inclinan como respuesta al sonido y convierten las ondas sonoras en señales eléctricas (tratado en el Capítulo 23).

Todas estas miosinas excepto una se desplazan hacia los extremos más de los filamentos de actina, aunque lo hacen a velocidades distintas. La excepción es la miosina VI, que se desplaza hacia el extremo menos.

Las funciones exactas de la mayoría de las miosinas todavía no se han determinado. La miosina V interviene en el transporte de orgánulos y vesículas. La miosina II siempre está asociada a la actividad contráctil en células musculares y no musculares. También es necesaria para la citocinesis, para dividir la célula en dos células hijas y para desplazar el soma celular durante la migración. La miosina I contiene a menudo un segundo lugar de unión a actina o un lugar de unión a la membrana en sus regiones de cola y, generalmente, están involucrados en la organización intracelular incluyendo la protuberancia de estructuras ricas en actina de la superficie de la célula, como se ha indicado para la construcción de los microvi-

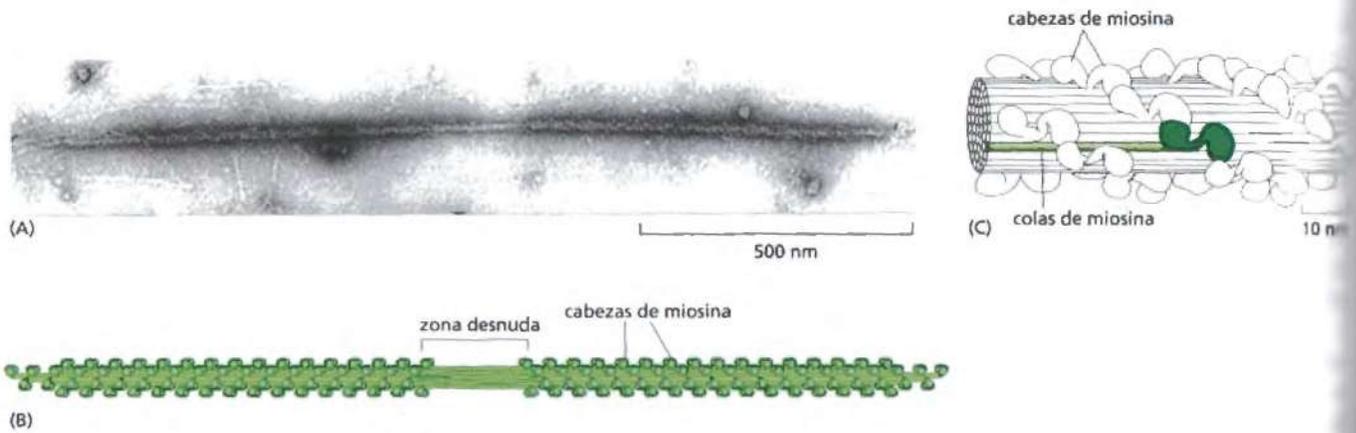


Figura 16-55 El filamento grueso bipolar de la miosina II en el músculo. (A) Electromicrografía de un filamento grueso de miosina II aislado a partir de músculo de rana. Nótese la zona central desnuda, libre de dominios de cabeza. (B) Esquema no dibujado a escala. Las moléculas de miosina II se agregan conjuntamente a través de sus colas, de forma que sus cabezas se proyectan hacia el exterior del filamento. La zona desnuda del centro del filamento está formada por colas de miosina II. (C) Pequeña sección de un filamento de miosina II, reconstruido a partir de electromicrografías. En verde se ha representado una molécula de miosina. Los filamentos citoplasmáticos de miosina II en las células no musculares son mucho más pequeños aunque de organización parecida (véase Figura 16-72). (A, por cortesía de Murray Stewart C, basado en R.A. Crowther, R. Padron y R. Craig, *J. Mol. Biol.* 184:429-439, 1985. Con la autorización de Academic Press.)

mados por cientos de cabezas globulares, que en los extremos del filamento grueso se hallan orientadas en sentidos opuestos (**Figura 16-55**).

Cada cabeza de miosina une e hidroliza ATP, utilizando la energía de la hidrólisis para "caminar" hacia el extremo más del filamento de actina. La orientación opuesta de las cabezas en el filamento grueso hace que el filamento sea eficiente para deslizar pares de filamentos de actina orientados de forma opuesta, acercándolos entre sí. En el músculo esquelético, en el cual los filamentos de actina están organizados cuidadosamente y alineados formando filamentos finos que envuelven a los gruesos filamentos de miosina, el deslizamiento dirigido por el ATP de los filamentos de actina provoca la contracción muscular (descrito más adelante). Los músculos cardíaco y liso tienen moléculas de miosina II dispuestas de forma parecida, aunque están codificadas por genes distintos.

Cuando una miosina muscular es digerida por quimiotripsina y papaína, el dominio apical (o cabeza) se libera como un fragmento intacto (llamado S1). El fragmento S1, por sí solo, puede generar *in vitro* el deslizamiento de los filamentos, lo cual indica que la actividad motora radica por completo en esta cabeza (**Figura 16-56**).

Inicialmente se pensó que la miosina sólo estaba presente en el músculo, pero en la década de 1970 un grupo de investigación descubrió una miosina similar de doble cabeza en

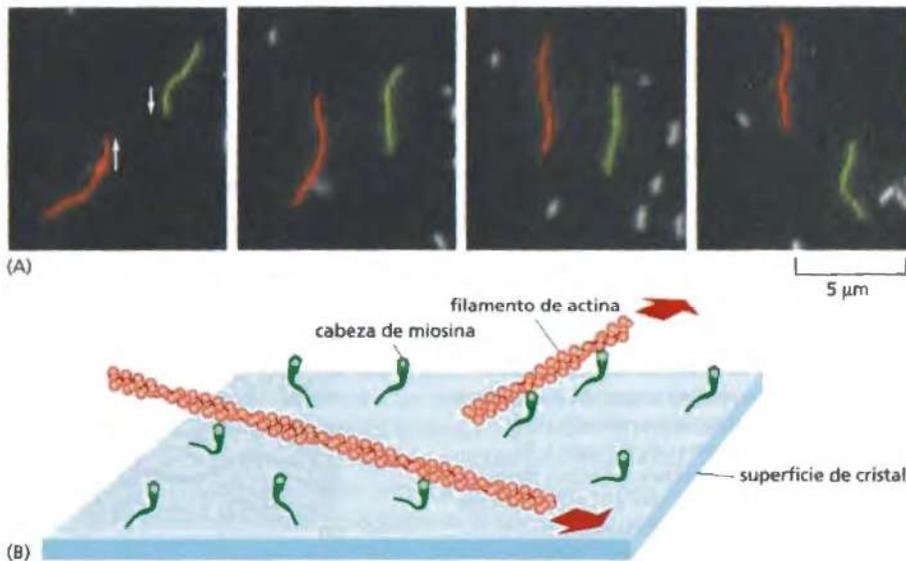


Figura 16-56 Evidencia directa de la actividad motora de la cabeza de miosina <TTAT> En este experimento, se unieron cabezas de miosina S1 purificadas a una superficie de cristal y se añadieron filamentos de actina marcados con faloidina fluorescente permitiendo que se unieran a las cabezas de miosina. (A) Cuando se añadió ATP, los filamentos de actina empezaron a desplazarse por la superficie, obligados por cada uno de los pasos dados por las docenas de cabezas de miosina unidas al filamento. Las imágenes de video fueron grabadas a intervalos de 0,6 segundos; los dos filamentos de actina mostrados (uno rojo y otro verde) se desplazan en sentidos opuestos, a una velocidad aproximada de 0,4 µm/segundo. (B) Diagrama del experimento. Las grandes flechas rojas indican el sentido del desplazamiento del filamento de actina. (A, por cortesía de James Spudich.)

las fuerzas que permiten fenómenos tales como la contracción muscular, el batido de los cilios o la división celular.

Las proteínas motoras del citoesqueleto, que se desplazan de forma unidireccional a lo largo de un polímero, actúan de forma parecida a otras proteínas o complejos motores de las que ya hemos tratado, tales como las polimerasas de DNA y de RNA, las helicasas y los ribosomas. Todas ellas tienen capacidad de utilizar energía libre para propulsarse a lo largo de una vía determinada; la dirección de este deslizamiento es dependiente de la polaridad estructural de la vía. Todas ellas generan desplazamiento acoplando la hidrólisis de nucleótidos trifosfato a cambios conformacionales a gran escala de la proteína, como explicamos en el Capítulo 3 (véase Figura 3-77).

Las proteínas motoras del citoesqueleto se asocian a sus vías de filamentos mediante regiones apicales o "cabeza", también llamadas *dominios motores*, que unen ATP y lo hidrolizan. Dirigidas por ciclos de hidrólisis del nucleótido que produce cambios conformacionales, las proteínas oscilan entre estados en los cuales están fuertemente unidas al filamento y estados en los que no lo están. A través de un ciclo mecánico-químico de unión al filamento, cambio conformacional, liberación del filamento, relajación conformacional y unión de nuevo al filamento, la proteína motora y su carga asociada se desplazan, paso a paso, a lo largo del filamento (de forma característica una distancia de unos cuantos nanómetros). El dominio motor (cabeza) determina la identificación de la vía y la dirección del desplazamiento mientras que las colas de las proteínas motoras determinan el tipo de carga y, por tanto, la función biológica de cada proteína motora.

Esta sección, se inicia con la exposición de los tres grupos de proteínas motoras: miosinas, quinesinas y dineínas. A continuación describiremos de qué manera pueden transportar los orgánulos rodeados de membrana o cambiar la forma de estructuras construidas a partir de filamentos del citoesqueleto. En el último apartado de este capítulo, se examinará cómo la colaboración entre las proteínas motoras y los filamentos dinámicos del citoesqueleto descrito anteriormente inducen comportamientos celulares complejos.

Las proteínas motoras basadas en actina son miembros de la superfamilia de las miosinas

La primera proteína motora identificada fue la **miosina** del músculo esquelético, que genera la fuerza de la contracción muscular. Esta miosina llamada *miosina II* (véase más abajo) es una proteína alargada formada por dos cadenas pesadas y dos copias de dos cadenas ligeras. Cada una de las cadenas pesadas dispone de un dominio apical globular en su extremo terminal que contiene la maquinaria generadora de la fuerza, seguida de una secuencia de aminoácidos muy larga que forman un dominio helicoidal que favorece la dimerización de la cadena pesada (Figura 16-54). Las dos cadenas ligeras se unen cerca del dominio apical terminal, mientras que la cola helicoidal se empaqueta con las colas de otras moléculas de miosina. Estas interacciones cola-cola forman grandes "filamentos gruesos" bipolares for-

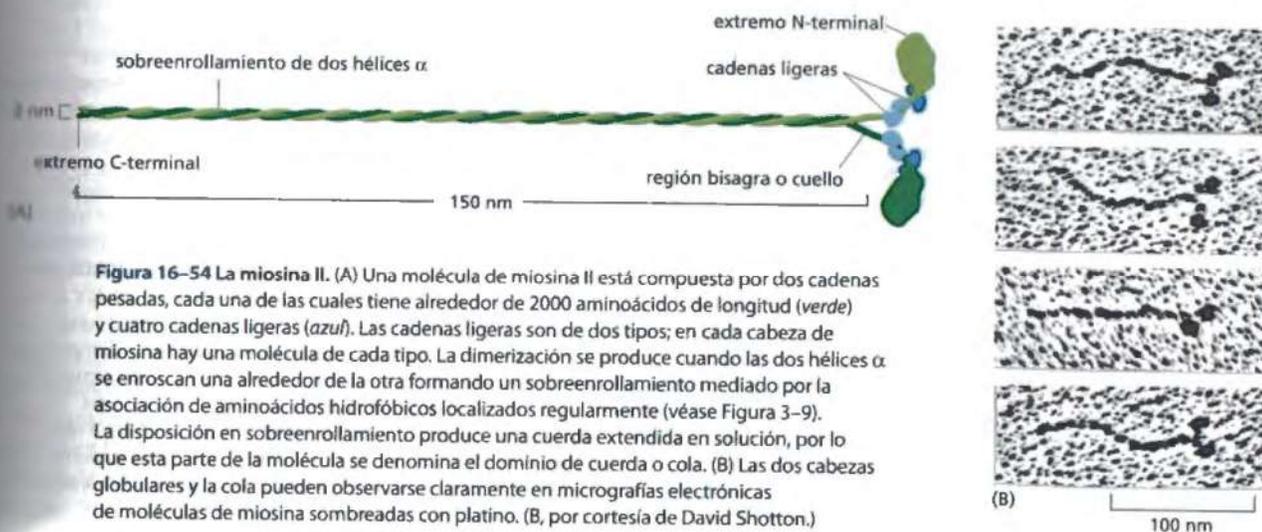


Figura 16-54 La miosina II. (A) Una molécula de miosina II está compuesta por dos cadenas pesadas, cada una de las cuales tiene alrededor de 2000 aminoácidos de longitud (verde) y cuatro cadenas ligeras (azul). Las cadenas ligeras son de dos tipos; en cada cabeza de miosina hay una molécula de cada tipo. La dimerización se produce cuando las dos hélices α se enroscan una alrededor de la otra formando un sobreenrollamiento mediado por la asociación de aminoácidos hidrofóbicos localizados regularmente (véase Figura 3-9). La disposición en sobreenrollamiento produce una cuerda extendida en solución, por lo que esta parte de la molécula se denomina el dominio de cuerda o cola. (B) Las dos cabezas globulares y la cola pueden observarse claramente en micrografías electrónicas de moléculas de miosina sombreadas con platino. (B, por cortesía de David Shotton.)

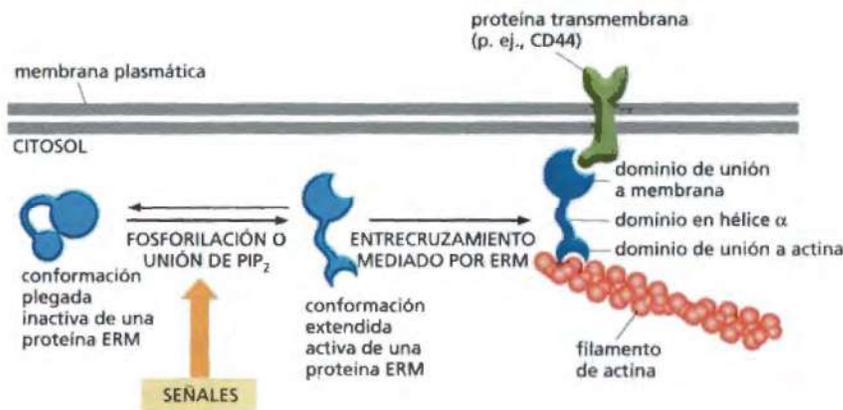


Figura 16-53 Papel de las proteínas de la familia ERM en la adhesión de los filamentos de actina a la membrana plasmática. El desplegamiento regulado de las proteínas de la familia ERM, inducido por fosforilación o unión a PIP₂, deja expuestos dos lugares de unión, uno para un filamento de actina y otro para una proteína transmembrana. Por tanto, la activación de estas proteínas puede originar y estabilizar protuberancias de la superficie de la célula en respuesta a señales extracelulares.

desarrollan múltiples tumores benignos en los nervios auditivos y en otras partes del sistema nervioso. Esta es una de las muchas indicaciones de la existencia de un sistema de retroalimentación que conecta los elementos estructurales celulares con el control del crecimiento celular (véase Capítulo 17).

Las proteínas descritas en este apartado, que controlan el ensamblaje y posicionamiento de los filamentos de actina y de los microtúbulos, se resumen en el Panel 16-3 (pp. 994-995). Algunas de estas proteínas tienen una función adicional de ayuda conectando la estructura interna de la célula con otras células o con la membrana basal extracelular. Tanto los filamentos de actina como los filamentos intermedios son cruciales para este tipo de conexiones, que requieren las uniones célula-célula y célula-matriz que se describirán en el Capítulo 19.

Resumen

Las diversas formas y funciones de las estructuras de los filamentos del citoesqueleto en las células eucariotas dependen de un repertorio muy versátil de proteínas accesorias. Cada uno de los tres tipos de filamentos (microtúbulos, filamentos intermedios y filamentos de actina) dispone de un conjunto importante de tales proteínas accesorias.

Un determinante primario de los lugares donde se forman estructuras del citoesqueleto es la regulación de los procesos que permiten la nucleación de nuevos filamentos. En la mayoría de células animales, los microtúbulos se nuclean en el centrosoma, un complejo de ensamblaje localizado cerca del centro de la célula. Por el contrario, la mayor parte de los filamentos de actina se nuclean cerca de la membrana plasmática.

La cinética de ensamblaje y desensamblaje de un filamento puede verse enlentecida o acelerada por proteínas accesorias que se unen a las subunidades libres o a los filamentos. Algunas de estas proteínas alteran la dinámica de los filamentos uniéndose a sus extremos o fragmentándolos en segmentos más pequeños. Otro grupo de proteínas accesorias ensambla los filamentos en grandes estructuras ordenadas, entrecruzándolos en formas definidas geométricamente, y otra familia de proteínas accesorias determina la forma y las propiedades adhesivas de las células, uniendo los filamentos a la membrana plasmática.

MOTORES MOLECULARES

Entre las proteínas más fascinantes que se asocian con el citoesqueleto están los motores moleculares llamados **proteínas motoras**. Estas proteínas extraordinarias se unen a los filamentos polarizados del citoesqueleto y utilizan la energía derivada de ciclos repetidos de hidrólisis del ATP para desplazarse sobre ellos. En cada célula eucariota pueden coexistir docenas de proteínas motoras diferentes. Se diferencian en el tipo de filamento al que se unen (unas a los de actina y otras a los microtúbulos), en el sentido en el que se desplazan a lo largo del filamento y en la carga que transportan. Muchas proteínas motoras transportan orgánulos rodeados de membrana —tales como mitocondrias, cisternas del Golgi o vesículas secretoras— a sus localizaciones apropiadas de la célula. Otras proteínas motoras inducen a los filamentos del citoesqueleto a ejercer tensión o a deslizarse unos contra otros, generan-