

# MOLEKULARNI MEHANIZAM GENERIRANJA HELICITETA U DIOBENOM VRETENU

Lovro Vrček

Mentor: izv. prof. dr. sc. Nenad Pavin

Prirodoslovno-matematički  
fakultet u Zagrebu  
Fizički odsjek

25. Siječnja 2018.

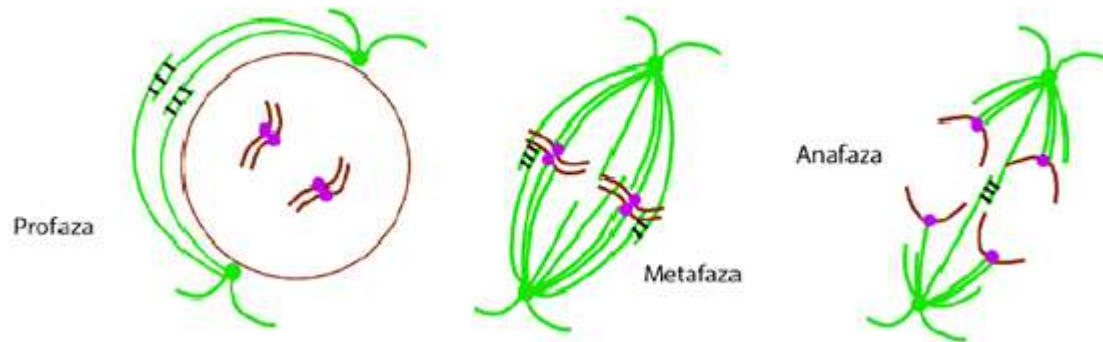
# MITOZA

Stvaranje diobenog vretena

Razdvajanje u dvije nove jezgre (kćeri)

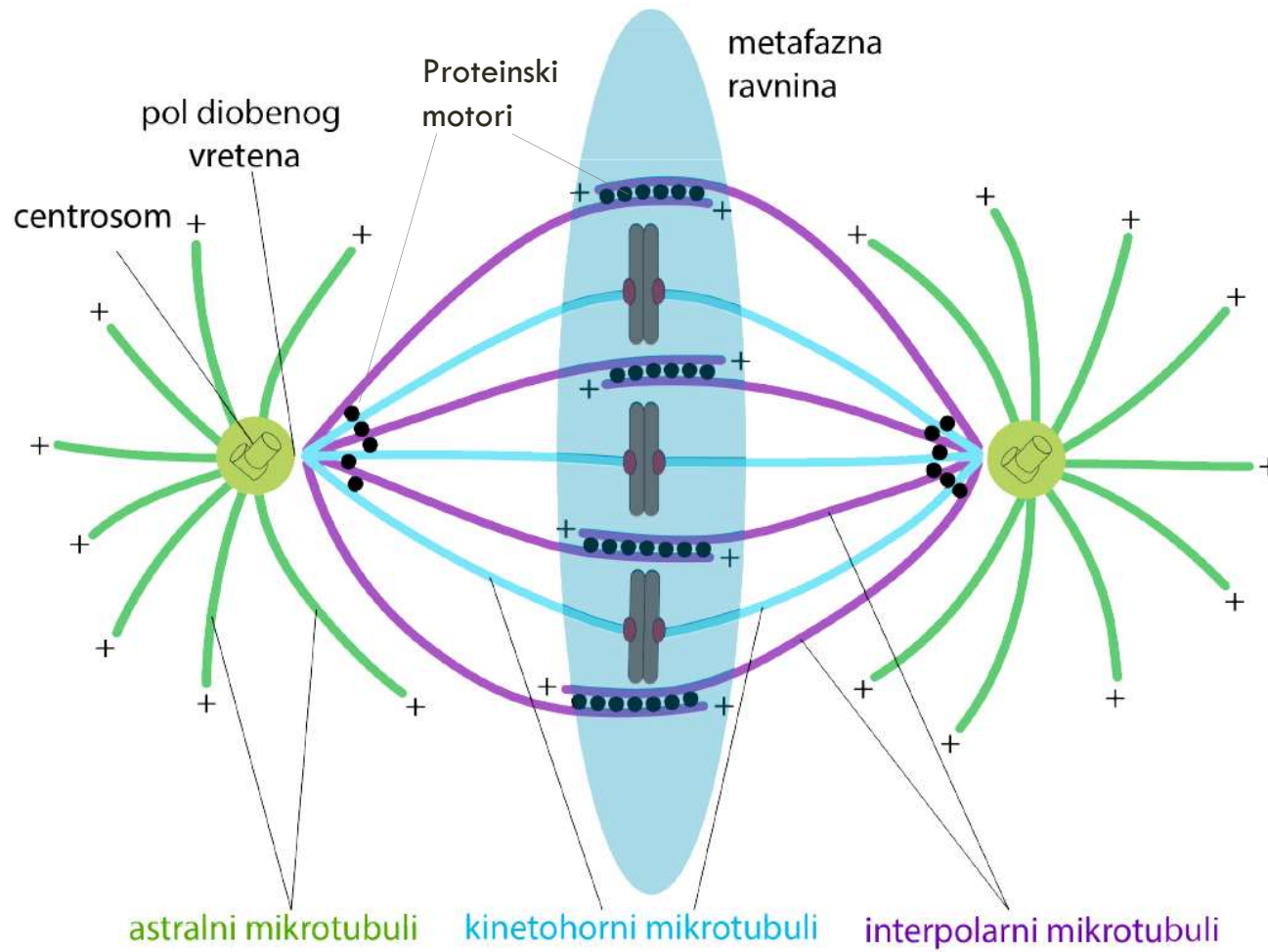
Mogući poremećaji:

- Tri ili više stanica kćeri
- Apoptoza
- Mutacije



Alberts, et al., Molecular Biology of the Cell

# DIOBENO VRETENO



# PROTEINSKI MOTORI

Biološki strojevi

Ključni za kretanje u živim stanicama

Vrste

- Kinezin, miozin, dinein

Veza sila i brzine motora:

$$v = v_0 \left( 1 - \frac{f \cdot \hat{r}}{f_0} \right)$$

Brzina bez tereta

Granična sila mirovanja

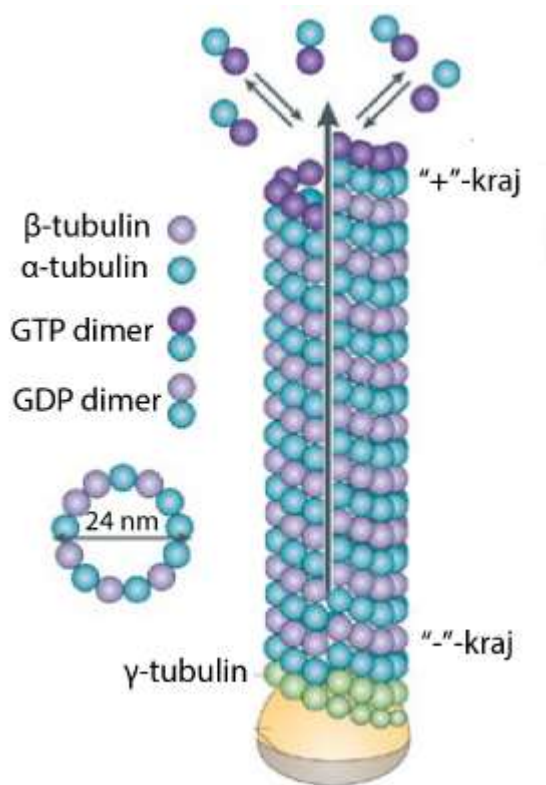
Hidrolizom ATP-a pretvaraju kemijsku energiju u mehaničku



The Inner Life of the cell, Harvard University

Izraz koji nam omogućuje da povežemo brzinu kojom se motor kreće po mikrotubulu i silu koja na njega djeluje

# GRAĐA I SVOJSTVA MIKROTUBULA

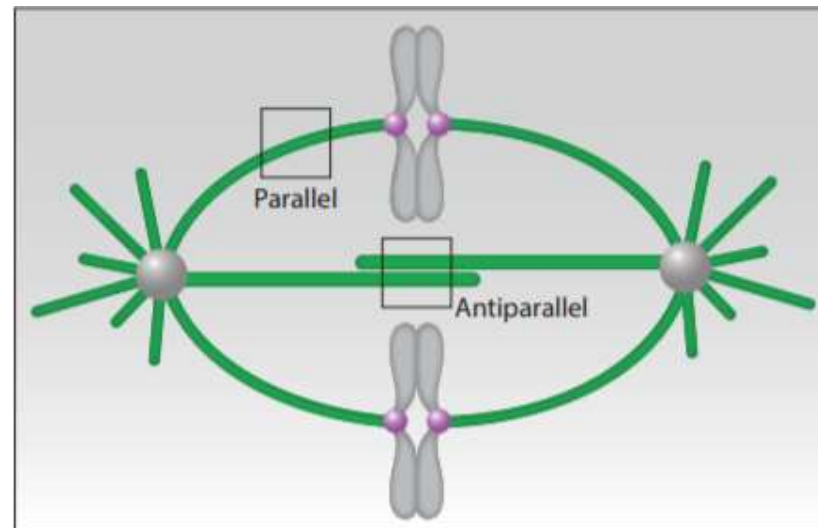


Rochlin, et al., Polymerizing microtubules activate site-directed F-actin assembly in nerve growth cones. Mol. Biol. Cell

Polarni filamenti s definiranim **plus** i **minus** smjerom

Formiraju paralelne i antiparalelne svežnjeve

**Elastična** svojstva – savijanje i uvijanje



# OTKRIĆE MOSTNOG SVEŽNJA

Youngov modul elastičnosti:

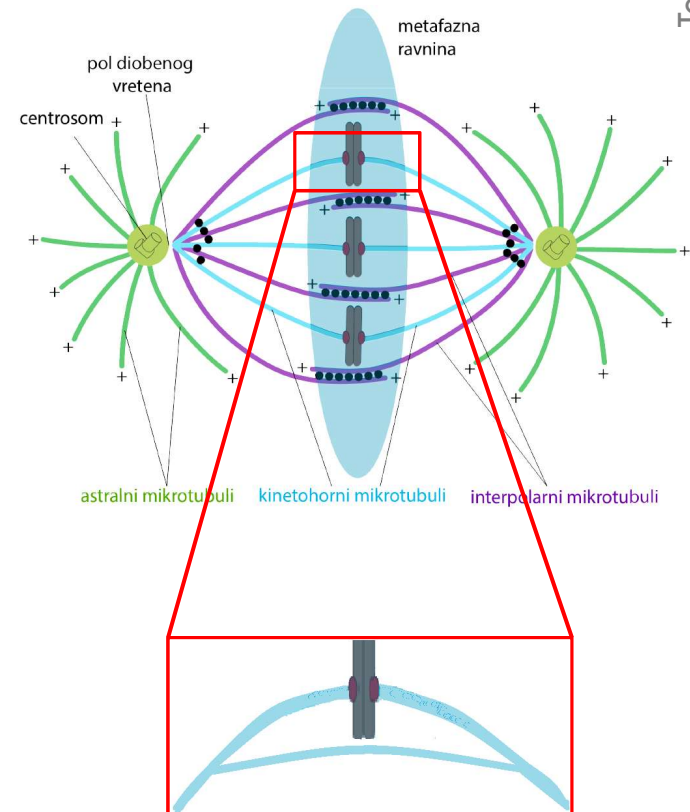
- Za kromatin sedam redova veličine manji nego za mikrotubule

Pod silama tenzije kinetohorno vlakno bilo bi sprešano

Uvođenje mostnog svežnja



Tolic & Pavin, Bridging the gap between sister kinetochores. Cell Cycle



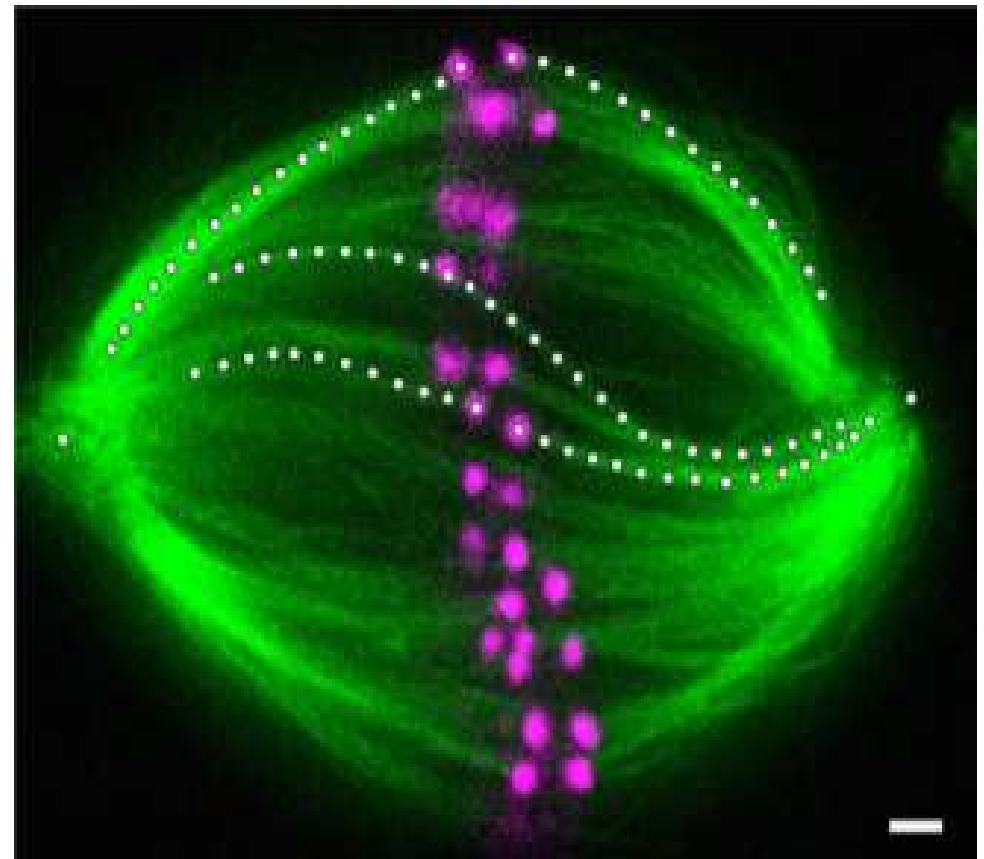
# RASPORED MIKROTUBULA U VRETENU (1)

**C** i **S** oblici

Nastaju djelovanjem sila na polovima

Rezultat elastičnih svojstava mikrotubula

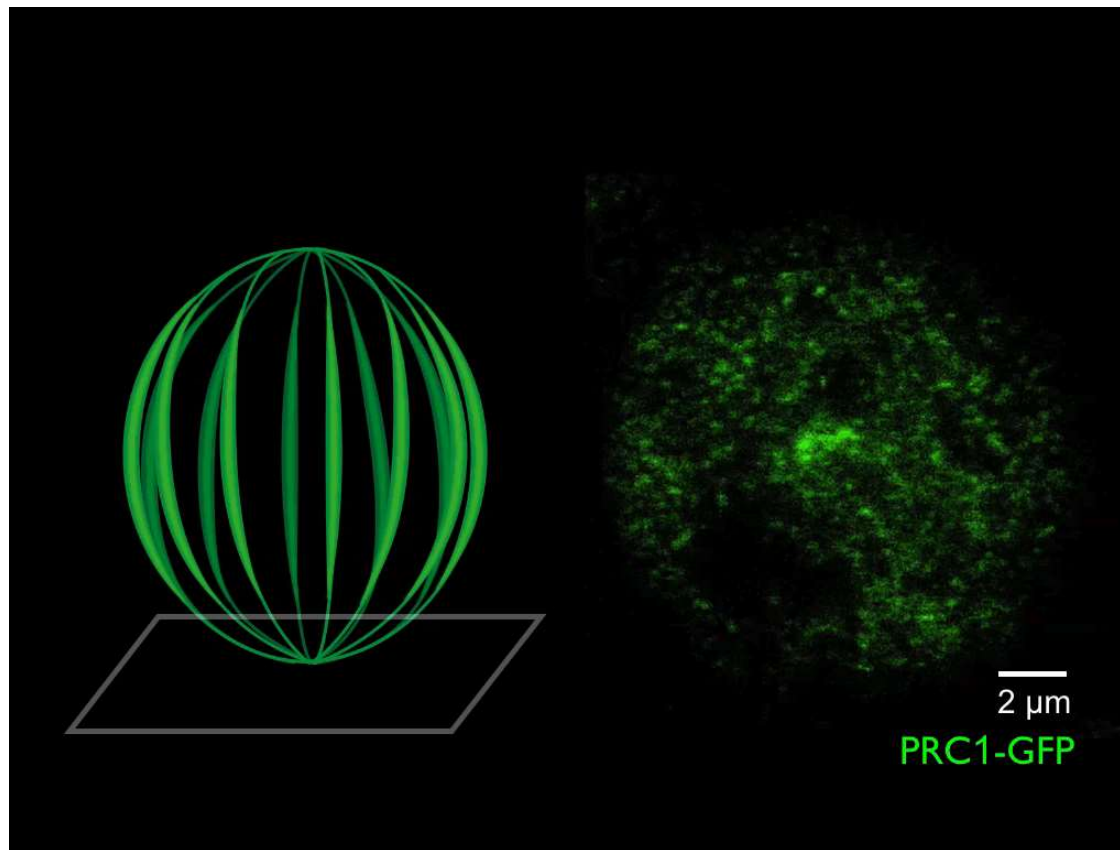
Zeleno – mikrotubuli  
Ljubičasto - kinetohore



Novak, et al., The mitotic spindle is chiral due to torques generated by motor proteins

1  $\mu\text{m}$

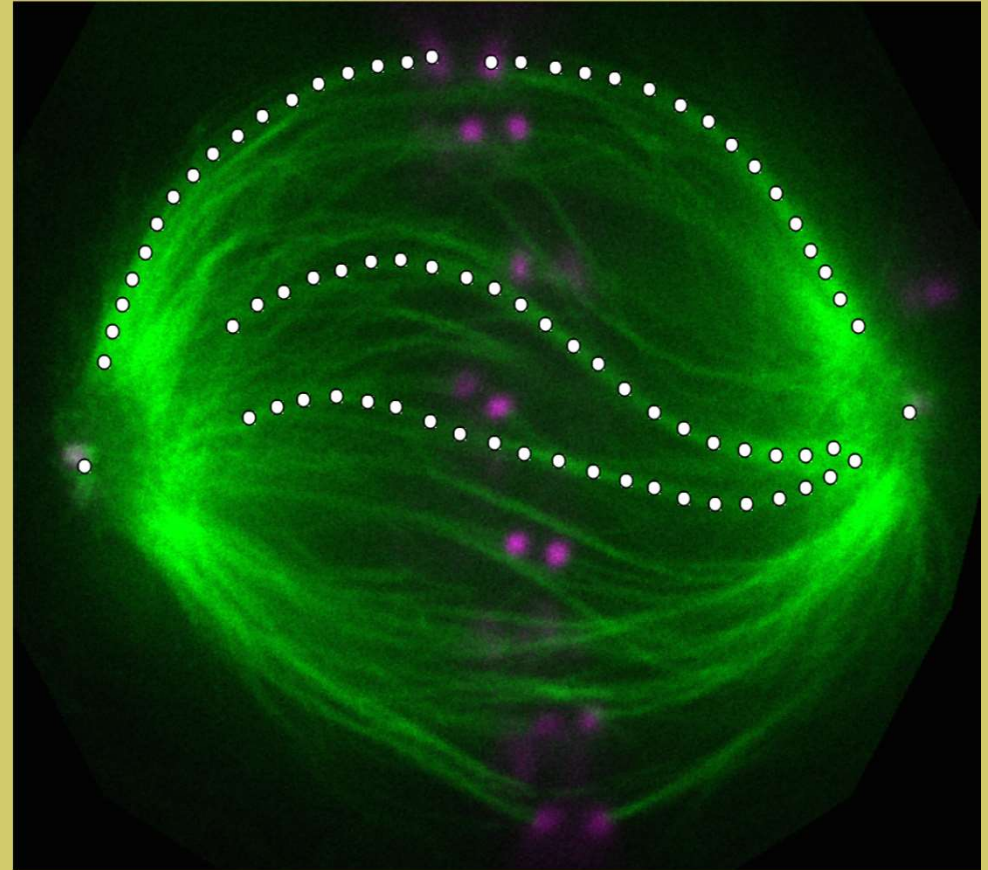
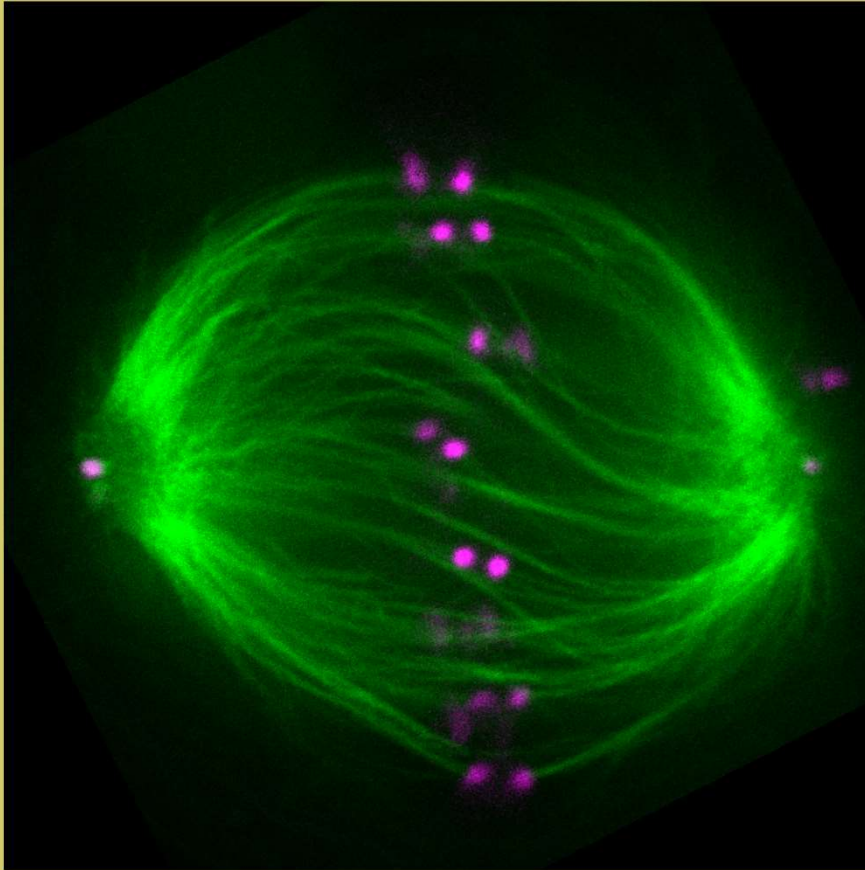
# RASPORED MIKROTUBULA U VRETENU (2)



Ukazuje na postojanje **lijevog helicitet** – potrebno proširiti prijašnje modele

Pretpostavka: Proteinski motori generiraju moment u smjeru osi vretena





Novak, et al., The mitotic spindle is chiral due to torques generated by motor proteins

# FORMIRANJE C I S OBLIKA MIKROTUBULA

## Model 1

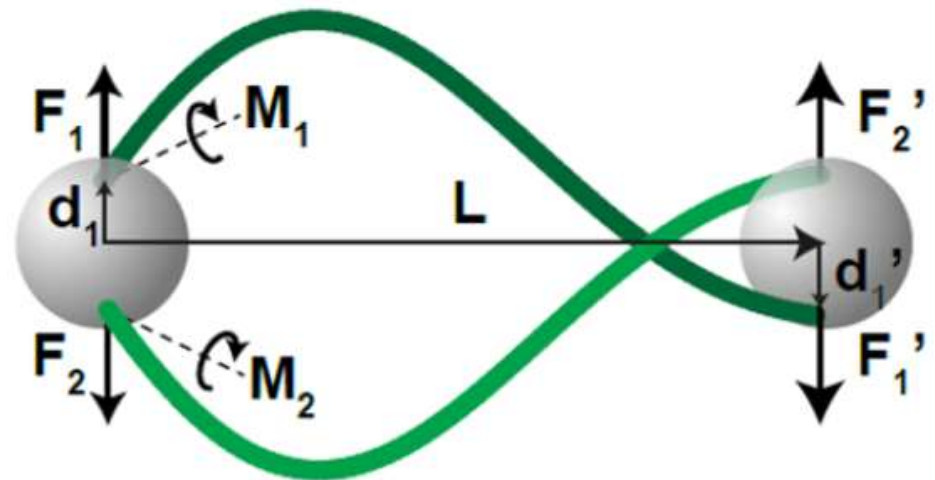
(Novak, et al., The mitotic spindle is chiral due to torques generated by motor proteins)

## 2 POLA I 2 MIKROTUBULA

Polovi (centromeri) - kao kugle polumjera  $d$ , središta udaljenih za  $L$

Mikrotubuli – elastični štapovi

Ravnoteža sila i momenata



Novak, et al., The mitotic spindle is chiral due to torques generated by motor proteins

# SET JEDNADŽBI MODELA

Za lijevi pol :

$$\sum_i \mathbf{F}_i = 0,$$
$$\sum_i (\mathbf{M}_i + \mathbf{d}_i \times \mathbf{F}_i) = 0$$

Za pojedini svežanj  
mikrotubula:

$$\mathbf{F}_i + \mathbf{F}'_i = 0,$$
$$\mathbf{M}_i + \mathbf{M}'_i + \mathbf{d}_i \times \mathbf{F}_i + (\mathbf{L} + \mathbf{d}'_i) \times \mathbf{F}'_i = 0$$

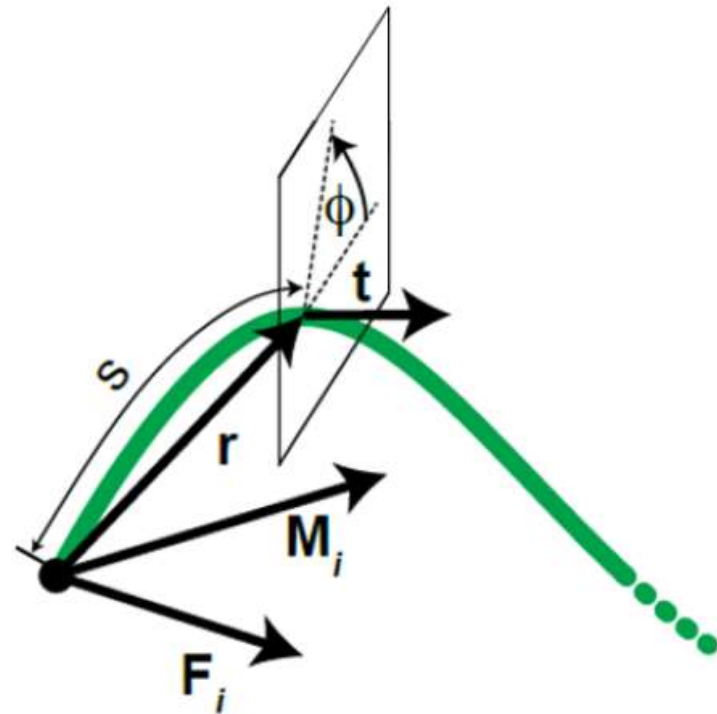
Rotacijska  
simetrija:

$$\mathbf{F}_{1\parallel} = \mathbf{F}_{2\parallel}, \quad \mathbf{F}_{1\perp} = -\mathbf{F}_{2\perp},$$
$$\mathbf{M}_{1\parallel} = \mathbf{M}_{2\parallel}, \quad \mathbf{M}_{1\perp} = -\mathbf{M}_{2\perp}$$

Ograničenja:  $|\mathbf{M}_i| = |\mathbf{M}'_i| \quad \mathbf{M}_{i\parallel} = -\mathbf{M}'_{i\parallel} \quad \mathbf{d} \cdot \mathbf{M}_{i\perp} = \mathbf{d}' \cdot \mathbf{M}'_{i\perp} = 0,$

# ELASTIČNA SVOJSTVA MIKROTUBULA

- Elastično pri savijanju –  $\kappa$
- Krutost na uvijanje –  $\tau$
- Put duž štapa –  $s$
- Radij vektor –  $\mathbf{r}(s)$
- Tangencijalni vektor –  $\mathbf{t} = d\mathbf{r}/ds$
- Kut torzije –  $\phi(s)$



Novak, et al., The mitotic spindle is chiral due to torques generated by motor proteins

Statička Kirchoffova  
jednadžba :

$$\kappa \mathbf{t} \times \frac{d\mathbf{t}}{ds} + \tau \frac{d\phi}{ds} \mathbf{t} = \mathbf{r} \times \mathbf{F}_i - \mathbf{M}_i$$

# ANALITIČKO RJEŠENJE

$$-\tau \frac{d\phi}{dx} = M_{ix}$$

$$-\kappa \frac{d^2 z}{dx^2} - M_{ix} \frac{dy}{dx} = F_{ix} z - F_{iz} x - M_{iy}$$

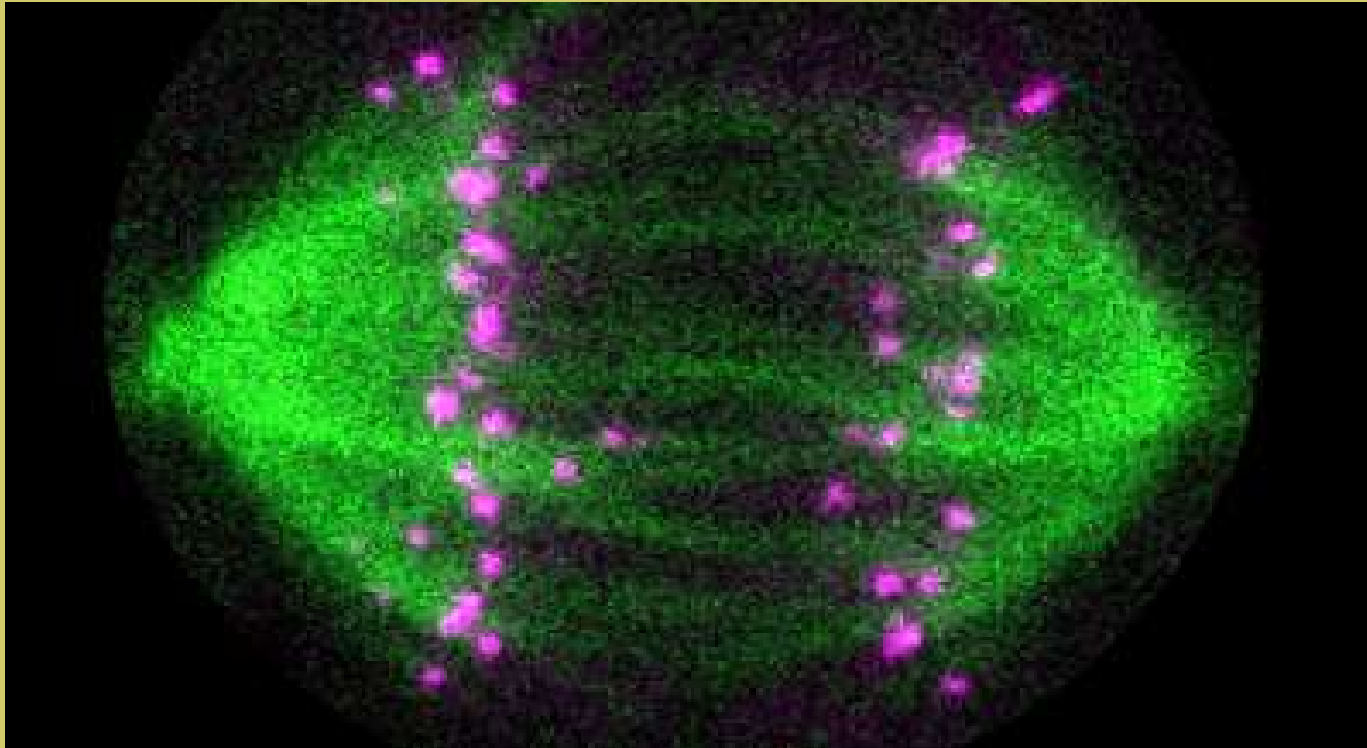
$$\kappa \frac{d^2 y}{dx^2} - M_{ix} \frac{dz}{dx} = F_{iy} x - F_{ix} - M_{iz}$$

Koristeći aproksimaciju malih kuteva dobivamo sustav diferencijalnih jednažbi

RJEŠENJA:

$$y_i(x) = -A_i \kappa \cos\left(\frac{M_{ix}}{\kappa} x\right) + B_i \kappa \sin\left(\frac{M_{ix}}{\kappa} x\right) + \frac{F_{iz}}{2M_{ix}} x^2 + M_{iy} x + C_i$$

$$z_i(x) = A_i \sin\left(\frac{M_{ix}}{\kappa} x\right) + B_i \cos\left(\frac{M_{ix}}{\kappa} x\right) + \left( \kappa \frac{F_{iz}}{M_{ix}^2} + \frac{M_{iz}}{M_{ix}} \right) + D_i$$



Vukušić, et al., Microtubules sliding within the Bridging Fiber Pushes  
Kinetochores Fibers Apart to Segregate Chromosomes

# UTJECAJ MOTORA NA RAZDVAJANJE KINETOHORA

## Model 2

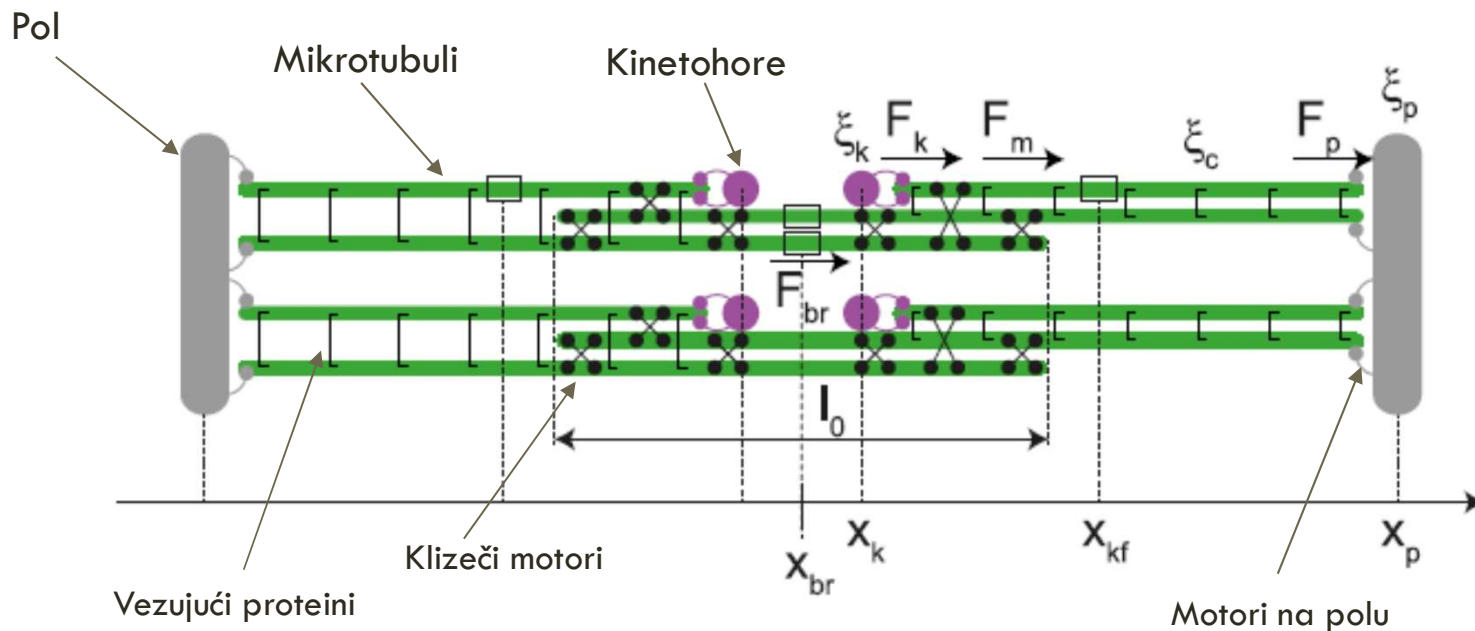
(Vukušić, et al., Microtubules  
sliding within the Bridging  
Fiber Pushes Kinetochores  
Fibers Apart to Segregate  
Chromosomes)

# SKICA MODELA

**1D** model anafaze – značajan utjecaj motora:

- Odvajanje kinetohora i putovanje kromatida prema polovima

Putovanje kromatida – klizanje mikrotubula u mostnom svežnju



Vukušić, et al., Microtubules sliding within the Bridging Fiber Pushes Kinetochores Fibers Apart to Segregate Chromosomes



# OPIS SUSTAVA

Sustav se opisuje „force-velocity” relacijama

Npr. pomicanje kinetohora:

$$\chi_k \frac{dx_k^\pm}{dt} = F_k^\pm,$$

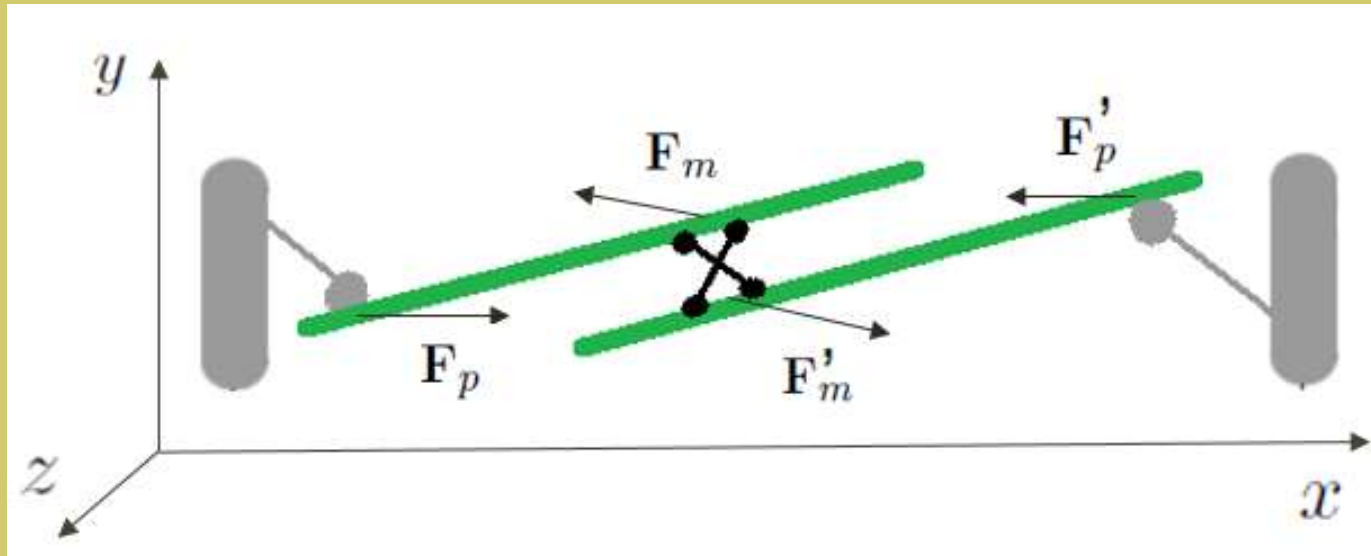
$$F_k^\pm = f_k \left( \pm 1 - \frac{v_k^\pm - v_{kf}^\pm}{v_{k0}} \right)$$

$\chi_k$  - koeficijent trenja  
kromosoma

Prvi model koji u razmatranje odvajanja kinetohora uključuje i mostno vlakno

U odnosu na druge, slične modele, ovaj najbolje opisuje eksperiment rezanja mostnog i K-vlakna

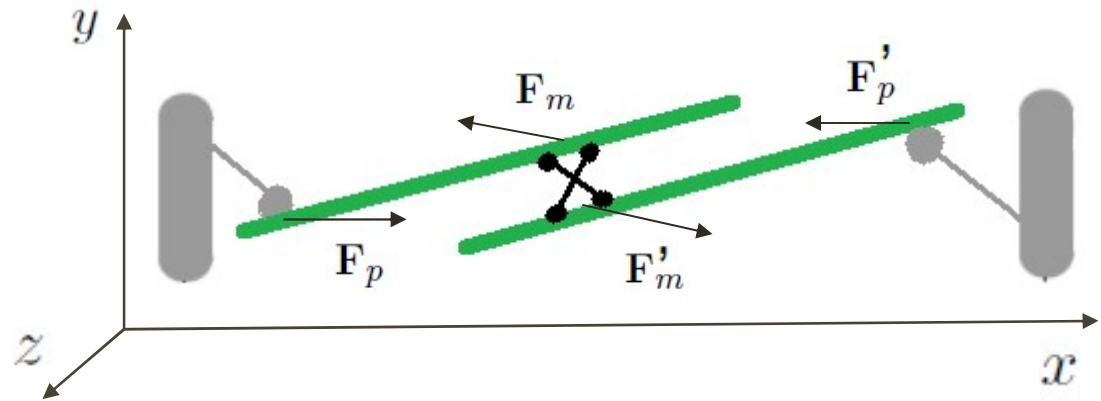




# UTJECAJ PROTEINSKIH MOTORA NA GENERIRANJE HELICITETA

Model 3

# SKICA MODELA



Sustav se sastoji od 2 pola, 2 mikrotubula, po jednim motorom na svakom polu i jednim motorom u regiji preklapanja

Razmatramo sve tri dimenzije

Analogno prethodnom slučaju, koristimo relaciju između sila i brzina za opisivanje sustava:

$$\mathbf{F}_p = \mathbf{f}_{p0} \left( 1 - \frac{v_p}{v_{p0}} \right), \quad \mathbf{F}_m = \mathbf{f}_{m0} \left( 1 - \frac{v_m}{v_{m0}} \right)$$

p – pol  
m – motor

# JEDNADŽBE RAVNOTEŽE

Sile:

$$\chi c \frac{x_m - x_p}{dt} = F_{m,x} - F_{p,x}$$

$$\chi c \frac{y_m - y_p}{dt} = F_{m,y} - F_{p,y}$$

$$F_{m,z} = F_{p,z}$$

$\chi c$  - Koeficijent trenja proteinskog motora u regiji preklopa mikrotubula

Momenti:

$$\eta \frac{d\phi}{dt} = (\mathbf{r}_p \times \mathbf{F}_p)_x - (\mathbf{r}_m \times \mathbf{F}_m)_x$$

$$(\mathbf{r}_p \times \mathbf{F}_p)_y = (\mathbf{r}_m \times \mathbf{F}_m)_y,$$

$$\eta \frac{d\theta}{dt} = (\mathbf{r}_p \times \mathbf{F}_p)_z - (\mathbf{r}_m \times \mathbf{F}_m)_z$$

$\eta$  - Koeficijent trenja pri uvijanju mikrotubula

# IDUĆI KORAK...

Ono što nas najviše zanima u prošlom jest promjena kuta  $\phi$

Ona nastaje djelovanjem momenta u x smjeru i označava generiranje heliciteta

Iduće što bi bilo potrebno napraviti jest riješiti ovaj sustav jednačbi i pomoću statičke Kirchoffove jednačbe naći analitičke izraze za oblike mikrotubula u prostoru

Izvan dosega ovog seminara...

# ZAKLJUČAK

Dioba stanice promatra se već se desetljećima

I dalje goruće područje s mnogo nepoznanica

Ukazali na kompleksne oblike koji nastaju prilikom diobe stanice

Predložili model koji opisuje način na koji molekularni motori generiraju helicitet u diobenom vretenu

Potpuna razrada i poopćenje modela su izvan dosega ovog seminara

**Ostaje otvoreno pitanje**

# ZAHVALE



Nenad Pavin  
PMF, Fizički odsjek



Ivana Ban,  
PMF, Fizički odsjek



Maja Novak  
PMF, Fizički odsjek



Agneza Bosilj  
PMF, Fizički odsjek



Marcel Prelogović  
PMF, Fizički odsjek