

Кинетическая модель динамики микротрубочки с учётом изогнутой конформации тубулина

Виноградов Д.С.¹, Ульянов Е.В.², Гудимчук Н.Б.^{1,2}

¹Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Россия, Москва

²Физический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Россия, Москва

ds.vinogradov@physics.msu.ru

Работа посвящена моделированию динамики микротрубочки – белкового полимера, который способен испытывать спонтанные переключения между фазами медленной полимеризации и быстрой деполимеризации, что было названо динамической нестабильностью. Микротрубочки являются ключевыми участниками митоза и мейоза, где они перемещают хромосомы, также они участвуют во многих других клеточных процессах. Несмотря на интенсивное исследование динамических свойств микротрубочек, механизм их роста по-прежнему остаётся предметом споров. Целью работы является установить, что происходит на конце микротрубочки во время её роста, укорочения, катастрофы и спасения. В данной работе развивается кинетическая модель микротрубочки, которая позволяет быстро получить порядки скоростей процессов и энергий взаимодействия компонентов трубочки и в то же время явно учитывает конформацию тубулина на конце микротрубочки. Модель предсказывает возможность роста микротрубочки с изогнутыми протофиламентами, линейную зависимость скорости роста микротрубочки от концентрации тубулина, независимость скорости разборки микротрубочки от концентрации тубулина и динамическую нестабильность микротрубочки.

Ключевые слова: микротрубочка, ГТФ-шапочка, изогнутые протофиламенты.

Kinetic model of microtubule dynamics with using curved conformation of tubulin

Vinogradov D.S.¹, Ulyanov E.V.², Gudimchuk N.B.^{1,2}

¹Center of theoretical problems of physicochemical pharmacology RAN, Russia, Moscow

²Faculty of physics of M.V. Lomonosov Moscow State University, Russia, Moscow

The work is devoted to modeling of the dynamics of a microtubule – a protein polymer that is capable of experiencing spontaneous switching between phases of slow polymerization and rapid depolymerization, which was termed as dynamic instability. Microtubules are the key participants in the accurate division of the pre-duplicated genetic material of cells, which is necessary for the successful life of two new cells that were formed as a result of division of the first, and they also participate in many other cellular processes. Despite the intensive study of the dynamic properties of microtubules, the mechanism of their growth is still a matter of controversy. The aim of our work is to establish what happens at the tip of the microtubule during its growth, shortening, catastrophe and rescue. In this paper, a kinetic model of the microtubule is developed, which allows us to quickly obtain the orders of the rates of processes and interaction energies of the tubule components and at the same time explicitly take into account the conformation of tubulin at the end of the microtubule. The model predicts the possibility of microtubule growth with curved protofilaments, linear dependence of microtubule growth rate on tubulin concentration, independence of microtubule disassembly rate on tubulin concentration and dynamic instability of microtubule.

Key words: microtubules, GTP-cap, curved protofilaments

1. Введение

Микротрубочки являются жёсткими цилиндрическими полимерами и одними из важных компонентов цитоскелета клетки, необходимого для поддержания формы клетки, транспорта внутри неё и для передвижения. Они обладают свойством

динамической нестабильности: фаза медленной полимеризации сменяется фазой быстрой деполимеризации, также может происходить обратный процесс (рис. 1). Момент перехода от роста трубочки к её укорочению называется катастрофой, а переход от укорочения к росту – спасением.

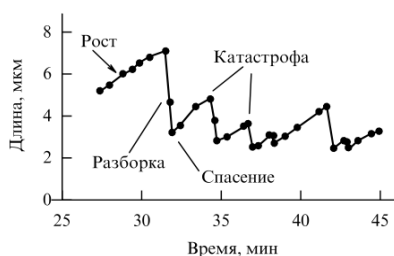


Рис. 1. Динамическая нестабильность микротрубочки [1].

Микротрубочка представляет собой полый цилиндр, по образующей которого расположены линейные протофиламенты, построенные из димеров белка тубулина (рис. 2 и рис. 3).

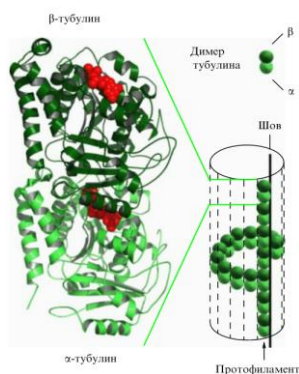


Рис. 2. Строение микротрубочки и димера тубулина. [2].

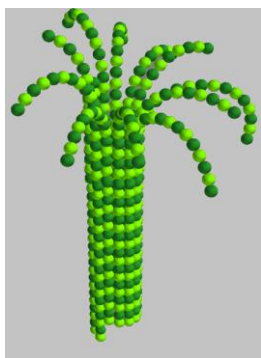


Рис. 3. Строение микротрубочки.

Параллельно расположенные в трубке протофиламенты сдвинуты относительно друг друга таким образом, что слой димеров тубулина образует левую спираль (рис. 2, справа), из-за чего в микротрубке возникает шов — единственное место, где α и β мономеры тубулина соединены боковыми связями.

2. Структура конца микротрубочки

Димер тубулина содержит молекулу ГТФ, которая может спонтанно гидролизироваться после присоединения димера тубулина к концу микротрубочки. Очевидно, что энергия гидролиза ГТФ идёт на изменение конформации тубулина, но из экспериментов с микротрубочками неясно, каким образом эта энергия используется. Когда к концу

микротрубочки присоединяется множество молекул тубулина, они образуют так называемый ГТФ-колпачок. Одной из важных, на наш взгляд, нерешённых проблем является вопрос о принципе работы ГТФ-колпачка. С одной стороны, классические работы по моделированию [3–6] продемонстрировали жизнеспособность представлений [7] о том, что ГТФ-колпачок может стабилизировать микротрубочку благодаря прямой конформации ГТФ-тубулина. Однако число экспериментальных работ [8–14], указывающих на то, что и ГТФ-димеры, и ГДФ-димеры тубулина имеют одинаково изогнутую конформацию, всё время растёт. Это заставляет рассмотреть альтернативную модель, где ГТФ-колпачок удерживает микротрубочку от разборки благодаря усилению боковых связей между ГТФ-тубулинами.

3. Модель

В нашей модели микротрубочки применяется кинетический метод Монте-Карло. Модель содержит 5 видов событий, это присоединение ГТФ-тубулина, его отсоединение, гидролиз ГТФ, выпрямление и искривление тубулина (рис. 4).

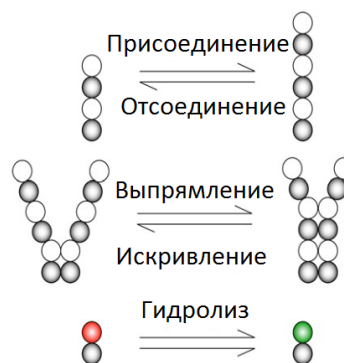


Рис. 4. Виды событий в модели.

Тубулин присоединяется всегда в изогнутом состоянии. Микротрубочка в модели представляется решёткой (матрицей $x(t)$) состояний, этими состояниями являются: пустое место, изогнутый ГТФ-тубулин, изогнутый ГДФ-тубулин, прямой ГТФ-тубулин, прямой ГДФ-тубулин. ГТФ-тубулин отличается от ГДФ-тубулина тем, что ГТФ-тубулин образует более сильные боковые и продольные связи между протофиламентами, чем ГДФ-тубулин.

Для описания эволюции микротрубочки используются следующие величины: параметр $j = 1; 2; 3; 4; 5$ — одно из пяти событий, k_j — константа скорости каждого события. Чтобы найти траекторию микротрубочки проводятся следующие шаги:

- 1) проводится инициализация времени $t = t_0$ и начального состояния $x = x(t_0)$;
- 2) для каждого i -го мономера и возможного j -го события генерируется случайная величина r_{ij} , равномерно распределённая на интервале от 0 до 1;
- 3) находятся все времена для каждого элементарного события:

$$t_{ij} = -\frac{\ln(1-r_{ij})}{k_j};$$

4) произошедшим считается то событие, которому соответствует меньшее время t_{ij} ;

5) в соответствии с принятым событием обновляется состояние x и производится замена t на $t + t_{ij}$;

6) повторяются шаги 2–5.

4. Результаты

Модель предсказывает возможность роста микротрубочки с изогнутыми протофиламентами (Рис. 5), линейную зависимость скорости роста микротрубочки от концентрации тубулина (рис. 6), независимость скорости разборки микротрубочки от концентрации тубулина (рис. 7) и динамическую нестабильность микротрубочки (рис. 8 и рис. 9).

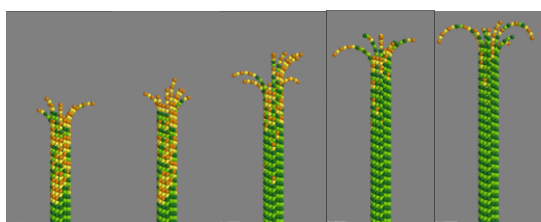


Рис. 5. Рост микротрубочки с изогнутыми протофиламентами.

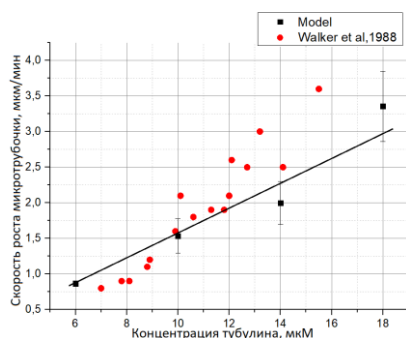


Рис. 6. Линейная зависимость скорости роста микротрубочки от концентрации тубулина, полученная в модели, коэффициент корреляции $r = 0.95$ и данные из [15].

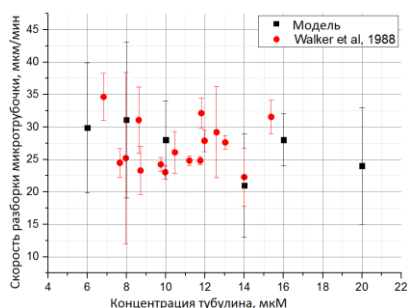


Рис. 7. Независимость скорости разборки микротрубочки от концентрации тубулина в модели и данные из [15].

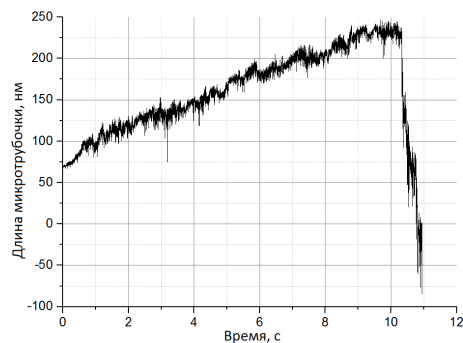


Рис. 8. Катастрофа микротрубочки – переход от роста к укорочению.

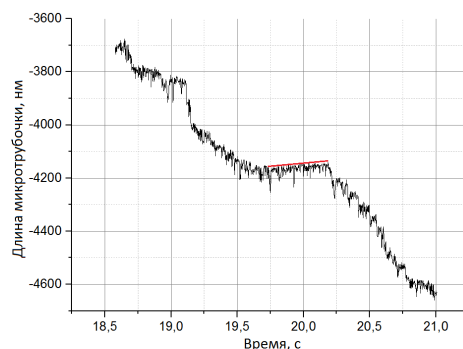


Рис. 9. Спасение (переход от укорочения к росту) и катастрофа микротрубочки.

5. Заключение

Модель качественно описывает основное поведение микротрубочки, однако, для точного соответствия модели эксперименту требуется дополнительная калибровка параметров модели. Отличительной особенностью данной кинетической модели является то, что она явно учитывает конформацию тубулина и предсказывает рост микротрубочки с изогнутыми протофиламентами.

В дальнейшем планируется калибровка параметров модели, при которой будет учтён наклон зависимости скорости роста микротрубочки от концентрации тубулина, частота катастроф и спасений и явление старения микротрубочки.

Также будет изучено влияние константы выпрямления тубулина на динамику микротрубочки.

6. Благодарности

Работа была поддержана грантами РФФИ № 16-04-01862 и 18-34-00944.

7. Список литературы

1. Horio T., Hotani H. Visualization of the dynamic instability of individual microtubules by dark-field microscopy. *Nature*. 1986. V. 321. № 6070. P. 605–607.
2. Захаров П.Н., Аржаник В.К., Ульянов Е.В. и др. Микротрубочка – динамически нестабильный биополимер со спонтанными переключениями между фазовыми состояниями. *Успехи*

- физических наук*. 2016. V. 186. № 8. P. 853–868.
3. Zakharov P., Gudimchuk N., Voevodin V. et al. Molecular and Mechanical Causes of Microtubule Catastrophe and Aging. *Biophys. J.* 2015. V. 109. № 12. P. 2574–2591.
 4. VanBuren V., Odde D.J., Cassimeris L. Estimates of lateral and longitudinal bond energies within the microtubule lattice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2002. V. 99. № 9. P. 6035–6040.
 5. VanBuren V., Cassimeris L., Odde D.J. Mechanochemical Model of Microtubule Structure and Self-Assembly Kinetics. *Biophys J.* 2005. V. 89. № 5. P. 2911–2926.
 6. Margolin G., Gregoret I.V., Cickovski T.M. et al. The mechanisms of microtubule catastrophe and rescue: implications from analysis of a dimer-scale computational model. *Mol. Biol. Cell.* 2012. V. 23. № 4. P. 642–656.
 7. Mandelkow E.-M., Mandelkow E., Milligan R.A. Microtubule dynamics and microtubule caps: a time-resolved cryo-electron microscopy study. *J. Cell. Biol.* 1991. V. 114. № 5. P. 977–991.
 8. Höög J.L., Huisman S.M., Sebö-Lemke Z. et al. Electron tomography reveals a flared morphology on growing microtubule ends. *J. Cell. Sci.* 2011. V. 124. № 5. P. 693–698.
 9. McIntosh J.R., O'Toole E., Morgan G. et al. Microtubules grow by the addition of bent guanosine triphosphate tubulin to the tips of curved protofilaments. *J. Cell. Biol.* 2018. P. jcb.201802138.
 10. Ayaz P., Ye X., Huddleston P. et al. A TOG: $\alpha\beta$ -tubulin complex structure reveals conformation-based mechanisms for a microtubule polymerase. *Science.* 2012. V. 337. № 6096. P. 857–860.
 11. Ayaz P., Munyoki S., Geyer E.A. et al. A tethered delivery mechanism explains the catalytic action of a microtubule polymerase. *Elife.* 2014. V. 3. P. e03069.
 12. Brouhard G.J., Rice L.M. The contribution of $\alpha\beta$ -tubulin curvature to microtubule dynamics. *J. Cell Biol.* 2014. V. 207. № 3. P. 323–334.
 13. Vemu A., Atherton J., Spector J.O. et al. Tubulin isoform composition tunes microtubule dynamics. *Mol. Biol. Cell.* 2017. V. 28. № 25. P. 3564–3572.
 14. Atherton J., Stouffer M., Francis F. et al. Microtubule architecture in vitro and in cells revealed by cryo-electron tomography. *Acta Crystallogr. Sect. D Struct. Biol.* 2018. V. 74. № 6. P. 572–584.
 15. Walker R.A., O'Brien E.T., Pryer N.K. et al. Dynamic instability of individual microtubules analyzed by video light microscopy: rate constants and transition frequencies. *J. Cell Biol.* 1988. V. 107. № 4. P. 1437–1448.