

Filamento de miosina

Modelo atómico

El mantenimiento, la división y el movimiento de las células requieren la operación de varios motores moleculares, lineales o rotatorios. Los motores son proteínas. Algunos, así la miosina, la kinesina o la dineína, se desplazan por “rieles” proteínicos (filamentos de actina o microtúbulos) en procesos cuya energía proviene de la hidrólisis del adenosín trifosfato (ATP). Por su tamaño macroscópico, el primer sistema motriz que se estudió fue el músculo. Se proponía averiguar el modo en que se generaba y controlaba la fuerza muscular.

En 1954, Hugh Huxley y Andrew Huxley, de forma independiente, de-

mostraron que los músculos estriados contienen miosina y actina. Descubrieron también que ambas proteínas forman un sistema mecánico, el sarcómero, que consta de dos conjuntos de filamentos interdigitados: los filamentos gruesos (de miosina) y los filamentos delgados (de actina), cuyo deslizamiento relativo causa el acortamiento del músculo.

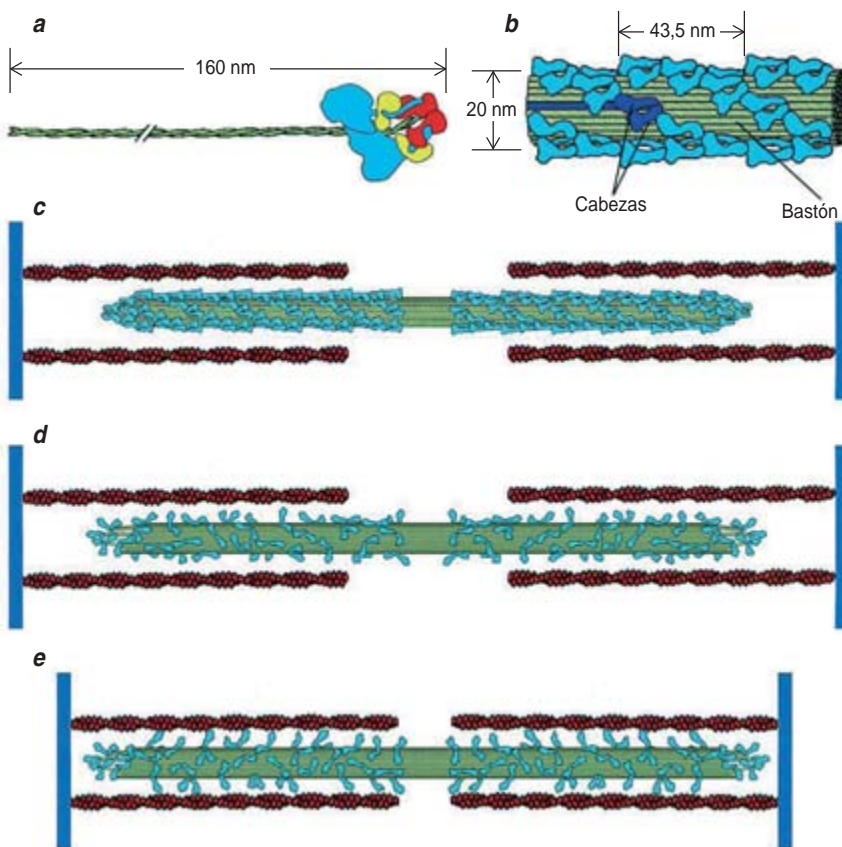
Se conocen 17 tipos de miosina. En su mayoría constan de dos cabezas globulares. La miosina del músculo estriado, la miosina II, “camina” a lo largo de filamentos de actina; la fuerza ejercida promueve el deslizamiento de los filamentos delgados a lo largo de los gruesos, así como el acortamiento del sarcómero.

Hace poco más de un decenio se produjo un avance crucial para la dilucidación del mecanismo molecu-

lar de la contracción muscular. En 1993, el grupo que dirige Iván Rayment, de la Universidad de Wisconsin en Madison, cristalizó cabezas de miosina para determinar su estructura. El análisis, por cristalografía de rayos X, reveló que la cabeza constaba de dos dominios: uno globular y otro elongado.

El dominio globular, o motor, estaba constituido por el extremo N-terminal de la cadena pesada de la miosina, con un sitio de enlazamiento para ATP y un sitio para enlazamiento con actina. El dominio elongado, o regulador, en el que la cadena pesada, en conformación de α -hélice, tiene adosadas dos cadenas ligeras (una esencial y otra reguladora), que confieren rigidez a la cabeza y, en algunos músculos, controlan la actividad contráctil. El resto de la cadena pesada hasta el C-terminal se superenrolla con la cadena pesada de la otra cabeza, formando el bastón. El dominio regulador opera como

1. Estructura del filamento grueso del músculo estriado de tarántula (*b*). En el estado relajado, las cabezas rígidas de miosina (*a*) apuntan hacia el bastón de la miosina; las cadenas ligeras reguladoras están defosforiladas. Cada molécula de miosina (*a*) consta de dos cadenas pesadas (azul), que se superenrollan y generan un bastón (verde) en su extremo C-terminal y dos cabezas globulares (azul) en sus extremos N-terminales. Dos pares de cadenas ligeras se alojan en el cuello de ambas cabezas, llamadas reguladora (rojo) y esencial (amarillo). Esta estructura garantiza que las cabezas se mantengan plegadas sobre la superficie, de manera que no interactúen con los filamentos delgados (*c*). Cuando el Ca^{2+} se enlaza con la calmodulina, se activa una quinasa específica, que fosforila las cadenas ligeras reguladoras de la miosina. Se produce entonces la activación de los filamentos: se flexibilizan, se desordenan las cabezas, salen de la superficie (*d*) y se acercan a los filamentos delgados. Los filamentos gruesos activados interactúan con los filamentos delgados, si éstos se encuentran también activos; se estimula así la producción de fuerza y el deslizamiento de ambos filamentos entre sí, lo que acorta el sarcómero (*e*).



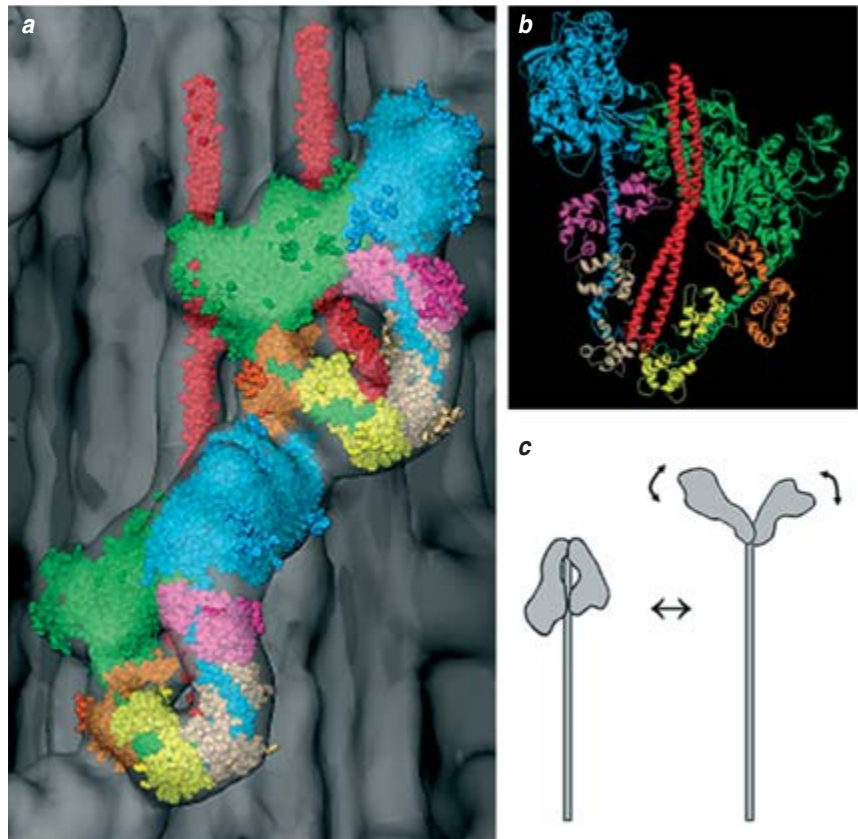
un brazo de palanca: acopla la fuerza generada por la interacción entre el dominio motor y la actina con el bastón. De esa acción resulta el cambio de conformación que desliza ambos filamentos entre sí.

En 1963 Hugh Huxley demostró, mediante microscopía electrónica y tinción negativa, que en los músculos estriados de vertebrado las miosinas se agregaban en filamentos bipolares. Los bastones ocupaban, apretados, el centro del filamento, mientras que las cabezas aparecían desordenadas en la superficie del esqueleto. Sin embargo, en 1967 el propio Huxley descubrió, mediante difracción de rayos X, que las cabezas de miosina no estaban desordenadas, sino que desarrollaban una estructura en hélice, con una repetición de 43 nanómetros y una distancia axial entre cabezas de 14,3 nanómetros.

A partir de 1980, con el fin de resolver la discrepancia entre la tinción negativa y la difracción de rayos X, varios grupos estudiaron la estructura de los filamentos gruesos mediante microscopía electrónica. En 1983, Robert Kensler, de la Universidad de Puerto Rico, y sus colaboradores visualizaron, mediante tinción negativa, la disposición en hélice de cabezas en filamentos gruesos del invertebrado *Limulus*. Asimismo, calcularon su reconstrucción tridimensional.

En 1985, con Anthony R. Crowther y Roger Craig, entonces en el Laboratorio de Biología Molecular MRC en Cambridge, obtuvimos micrografías electrónicas de filamentos gruesos de tarántula teñidos negativamente. Mediante una reconstrucción tridimensional a 5 nanómetros de resolución, resolvimos ambas cabezas de miosina: en el estado relajado, las cabezas de miosina formaban 4 hélices. En 1987, descubrimos, con Craig, de la Escuela de Medicina de la Universidad de Massachusetts, y John Kendrick-Jones, del Laboratorio de Biología Molecular MRC en Cambridge, que la activación producía el desordenamiento de las cabezas, causado por la fosforilación de las cadenas ligeras reguladoras de la miosina. Resultaba evidente la importancia de la transición orden-desorden de las cabezas para la relajación y activación de la contracción muscular.

En colaboración con el grupo de Craig obtuvimos, mediante criomi-



2. Modelo atómico del filamento grueso de músculo estriado de tarántula (a). Se muestran dos miosinas (color) y el mapa tridimensional (gris). Se observan dos interacciones intermoleculares: una entre el dominio enlazador de actina de una cabeza (azul) con la cadena ligera esencial (naranja) de la cabeza vecina (verde), y otra entre el bastón (rojo) y el dominio SH3 de la cabeza vecina (verde). Modelo atómico de la molécula de miosina relajada (b). Muestra tres interacciones intramoleculares: una entre el dominio enlazador de actina de una cabeza (verde) y la cadena ligera esencial (lila) de la otra cabeza (azul); una segunda, entre el mismo dominio y el dominio convertidor de la otra cabeza (azul); y otra tercera, entre el mismo dominio y el subfragmento S2 (rojo) del bastón. Diagrama de una miosina (c). A la izquierda, la estructura relajada (cadenas ligeras defosforiladas), con ambas cabezas rígidas y en mutua interacción. A la derecha, activada, con ambas cabezas móviles y desordenadas (cadenas ligeras reguladoras fosforiladas).

croscopía electrónica, micrografías electrónicas de filamentos gruesos de tarántula congelados e hidratados. El método permitía calcular estructuras tridimensionales en hélice a mayor resolución. En 2004, gracias a la técnica de reconstrucción iterativa en hélice en espacio real, desarrollada por Edward Egelman, de la Universidad de Virginia, aumentamos la resolución hasta 2,5 nanómetros. Ajustamos luego la estructura atómica de las cabezas de miosina de músculo liso de vertebrado (determinada por el equipo de Kenneth Taylor, de la Universidad estatal de Florida en Tallahassee), al mapa tridimensional. ¿Qué observamos?

Ambas cabezas de la molécula de miosina interactuaban entre sí. Se distinguían, en concreto, tres interacciones intramoleculares (dos cabeza-cabeza y una cabeza-bastón), que mantenían plegadas las dos cabezas sobre la superficie del esqueleto, y dos interacciones intermoleculares, entre miosinas vecinas (una cabeza-bastón y otra cabeza-cabeza).

Estas cinco interacciones explicaban la formación —regulada por la miosina— de las hélices de cabezas asociadas al estado relajado de los filamentos gruesos en músculo liso y estriado en un amplio rango de especies.

De forma inesperada, la estructura atómica de miosina de músculo liso de vertebrado se ajustó a la reconstrucción tridimensional de un filamento grueso de músculo estriado de invertebrado. La precisión del ajuste entre sistemas tan distantes (desde el punto de vista evolutivo) sugería que la estructura de cabezas interactuantes podía constituir un motivo general para el estado relajado de filamentos gruesos de miosina regulados por fosforilación en músculos estriados y lisos de numerosas especies.

La activación de los filamentos gruesos se producía por la debilitación de estas interacciones. Acontecía ese fenómeno tras fosforilarse las cadenas ligeras reguladoras, cuando el Ca^{2+} activaba al complejo calmodulina-quinasa de cadena ligera de la miosina. El modelo atómico del filamento grueso de miosina abre las puertas para dilucidar el mecanismo molecular de la activación de la contracción muscular mediante la fosforilación de las cadenas ligeras reguladoras.

RAÚL PADRÓN

Departamento de Biología Estructural,
Instituto Venezolano
de Investigaciones Científicas
Caracas
Instituto Howard Hughes
de Investigaciones Médicas