

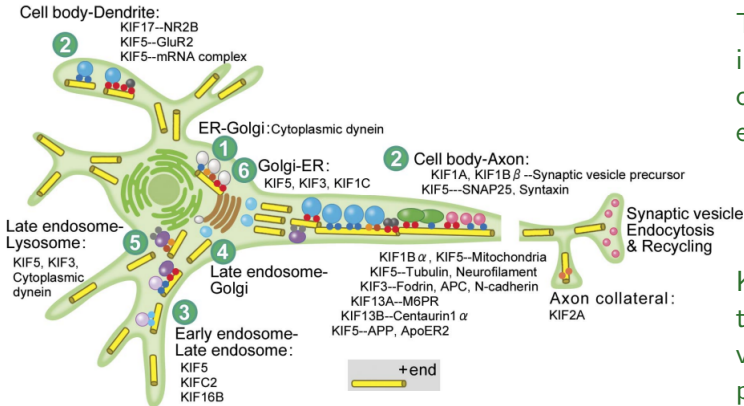
Modelado del transporte intracelular en presencia de una proteína asociada al microtúbulo Efecto de la MAP tau en la dinámica de KIF1A

Javier Sparacino

La Falda, 06 de agosto de 2014



Motivación: ¿qué? y ¿para qué?



(N.Hirokawa, and Y. Noda, *Physiol Rev* 88, 1089 (2008))

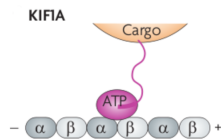
Transporte intracelular en células eucariotas.

KIF1A : transporte de vesículas con precursores sinápticos en axones.

Disfunciones y defectos en el transporte intracelular está asociado a varias enfermedades neurodegenerativas.

¿Qué son los motores moleculares KIF1A?

- Motores moleculares citoesqueléticos de la familia kinesina.
- Función biológica: transporte de cargas en las células eucariotas.
- Usan la energía derivada de la hidrólisis de ATP para moverse a lo largo de los microtúbulos.
- Monómeros altamente procesivos $\rightarrow \sim 1\mu m$



KIF1A \rightarrow alterna entre dos estados de diferente afinidad con el microtúbulo:

estado 1: motor fuertemente **ligado a un sitio**

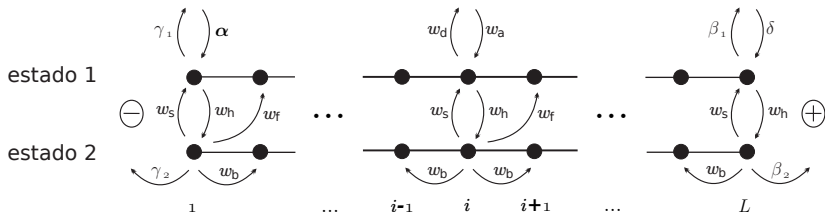
estado 2: motor **anclado** mediante una atracción electrostática
 \rightarrow difusión 1-D, paralela al microtúbulo

Modelo para KIF1A

Microtúbulo: red 1-D de $L = 600$ sitios de ligadura con dos estados internos.

Parámetro de red: $8nm$ (longitud de la tubulina)

KIF1A: partículas que saltan a lo largo de la red 1-D con exclusión mutua.



* K.Nishinari, Y.Okada, A.Schadschneider, and D.Chowdhury, Phys. Rev. Lett. 95, 118101 (2005).

* P.Greulich, A. Garai, K.Nishinari, A.Schadschneider, and D.Chowdhury, Phys. Rev. E 75, 041905 (2007).

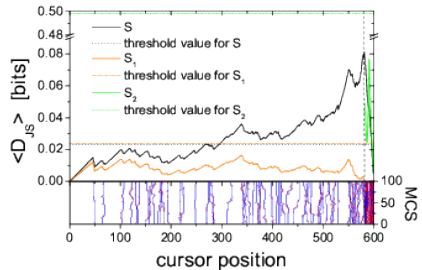
$$w_a \propto C_{KIF1A}$$

$$w_h = w_h(C_{ATP})$$

Localización de paredes de dominio

Realizamos **simulaciones Montecarlo** que actualizan el estado de todos los sitios del filamento en orden secuencial aleatorio.

Implementamos un procedimiento basado en cantidades de T.I. para caracterizar el estado estacionario y detectar automáticamente paredes de dominio.



¿Por qué incluir a tau en el modelo?

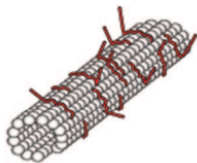
Los microtúbulos están abundantemente decorados de proteínas no móviles:

MAP2, tau, MAP4, . . .

(N.Hirokawa, *Current Opinion in Cell Biology*, 6, 74 (1994).)

Tau es el MAP más abundante en los axones de las neuronas

(S.Ch.Papasozomenos, L.I. Binder, *Cell Motility and the Cytoskeleton*, 8, 210 (1987).)

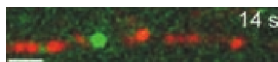


MAPs pueden afectar el transporte intracelular.

Tau compite con las kinesinas por los sitios de ligadura y pueden bloquear el paso de proteínas motoras que se están desplazando por el microtúbulo.

(A.Ebneth et al., *The Journal of Cell Biology*, 143, 777 (1998).
B. Trinczek et al., *Journal of Cell Science*, 112, 2355, (1999).
R. Dixit, J.L.Ross, Y.E.Goldman, E.L.F.Holzbaur, *Science*, 319, 1086 (2008).)

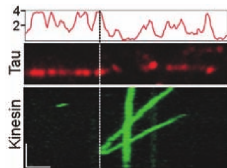
Observación directa de interacción kinesina-tau



Dixit et al., Science **319**, 1086 (2008).

Principales resultados:

- en un encuentro kinesina-tau, la kinesina se desliga (50%), se detiene (20%) o atraviesa (30%).
- la frecuencia de ligadura depende de la concentración local de tau.
- la frecuencia de ligadura promedio en presencia de tau se reduce a aprox. un tercio del valor sin tau.
- tau disminuye la longitud de corrida de la kinesina
- la probabilidad de desligadura es una función de la concentración local de tau.



Interacción kinesina-tau

Agrupamos las observaciones en dos efectos diferentes:

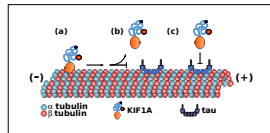
- 1 tau afecta la frecuencia de ligadura de la kinesina
- 2 tau afecta a motores ya ligados que se desplazan por el filamento

dependen de la concentración local de tau

Modelamos la interacción individual kinesina-tau:

p_a : prob. de que tau impida la ligadura al filamento de una kinesina ($p_a = 0,67$)

p_m : prob. de que en un encuentro con tau, una kinesina desplazándose por el MT se desligue ($p_m = 0,5$)



Modelo para KIF1A con tau

Distribución de moléculas de tau decorando el filamento:

cada sitio de ligadura del filamento
podrá o no tener una molécula de tau ligada

C_{tau} : número de moléculas de tau por sitio del filamento.

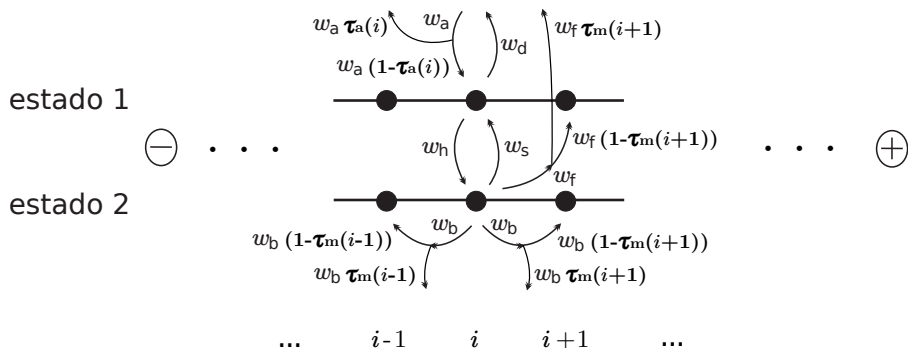
Si hay n moléculas de tau presentes en un filamento con L sitios,
diremos que éste tiene una concentración de tau: $C_{tau} = \frac{n}{L}$

$$0 \leq C_{tau} \leq 1$$

Consideraremos una **distribución estable** de moléculas de tau en el filamento.

* J.S., M.G.Farías, P.W. Lamberti, Phys. Rev. E 89, 022714 (2014).

Esquema del modelo



$$\tau_a(i) = \begin{cases} p_a & \text{con tau} \\ 0 & \text{sin tau} \end{cases}$$

$$\tau_m(i) = \begin{cases} p_m & \text{con tau} \\ 0 & \text{sin tau} \end{cases}$$

Ecuaciones maestras

$r_i(t)$: estado 1 $q_i(t)$: estado 2 $1 - r_i(t) - q_i(t)$: desocupado

$$\frac{dr_i}{dt} = (1 - \tau_a(i))\omega_a(1 - r_i - q_i) - (\omega_d + \omega_h)r_i + \omega_s q_i \\ + (1 - \tau_m(i))\omega_f q_{i-1}(1 - r_i - q_i)$$

$$\frac{dq_i}{dt} = \omega_h r_i - \omega_s q_i - \omega_f q_i(1 - r_{i+1} - q_{i+1}) \\ - \omega_b q_i(2 - r_{i-1} - q_{i-1} - r_{i+1} - q_{i+1}) \\ + (1 - \tau_m(i))\omega_b(q_{i-1} + q_{i+1})(1 - r_i - q_i)$$

$$\tau_a(i) = \begin{cases} p_a & \text{con tau} \\ 0 & \text{sin tau} \end{cases}$$

$$\tau_m(i) = \begin{cases} p_m & \text{con tau} \\ 0 & \text{sin tau} \end{cases}$$

Límite de alta densidad (ω_a “alto”)

- condiciones de contorno periódicas
- estado estacionario
- $\tau_a(i) = p_a C_{\tau} \equiv \tilde{\tau}_a$ y $\tau_m(i) = p_m C_{\tau} \equiv \tilde{\tau}_m$

*todos los sitios
son equivalentes*

Soluciones $(r_i, q_i) \equiv (r, q)$ de las ecuaciones maestras, son:

$$r = \frac{1 + (K_s(1 - \Omega_f) - 1)q}{1 + K_d + K_h(1 - \Omega_f)}$$
$$q = \frac{-A - \sqrt{A^2 - 4\Omega_h(K_d + (K_h + K_s)(1 - \Omega_f))}}{2(K_d + (K_h + K_s)(1 - \Omega_f))}$$

$$A = K_h(\Omega_f - 1) - K_d(\Omega_s + 1) - (\Omega_s + \Omega_h)$$

$$K_s = \frac{\omega_s}{(1 - \tilde{\tau}_a)\omega_a}$$

$$K_h = \frac{\omega_h}{(1 - \tilde{\tau}_a)\omega_a}$$

$$K_d = \frac{\omega_s}{(1 - \tilde{\tau}_a)\omega_a}$$

$$\Omega_s = \frac{\omega_s}{\omega_f + 2\omega_b\tilde{\tau}_m}$$

$$\Omega_h = \frac{\omega_h}{\omega_f + 2\omega_b\tilde{\tau}_m}$$

$$\Omega_f = \frac{(1 - \tilde{\tau}_m)\omega_f}{\omega_f + 2\omega_b\tilde{\tau}_m}$$

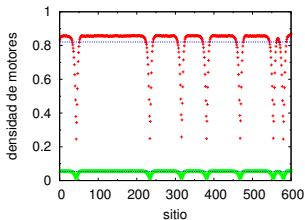
Límite de alta densidad

$$r = \frac{1 + (K_s(1 - \Omega_f) - 1)q}{1 + K_d + K_h(1 - \Omega_f)}$$

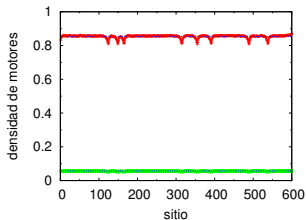
$$q = \frac{-A - \sqrt{A^2 - 4\Omega_h(K_d + (K_h + K_s)(1 - \Omega_f))}}{2(K_d + (K_h + K_s)(1 - \Omega_f))}$$

estado 1

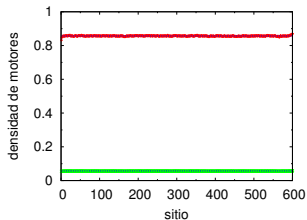
estado 2



$$p_m = 0,5, p_a = 0,67$$



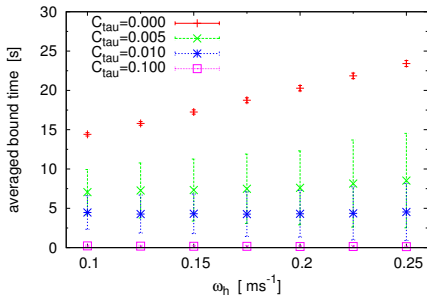
$$p_m = 0,05, p_a = 0,067$$



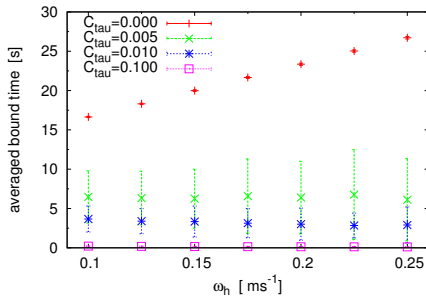
$$p_m = 0,005, p_a = 0,0067$$

Observables: tiempo de ligadura

Densidad de motores “baja”



Densidad de motores “alta”

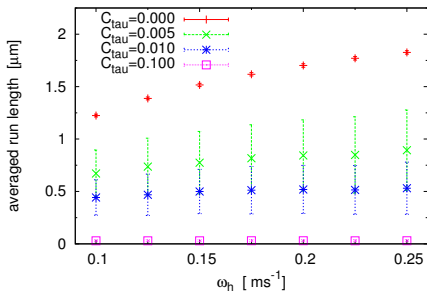


Mientras más ATP, más combustible y más encuentros con tau (dependiendo la concentración)

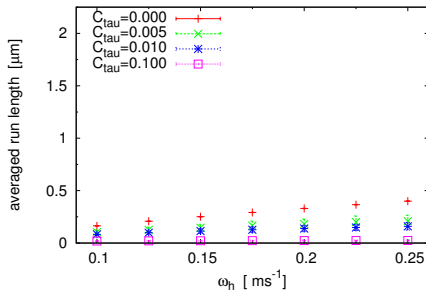
tau disminuye los tiempos de ligadura

Observables: longitud de corrida

Densidad de motores “baja”



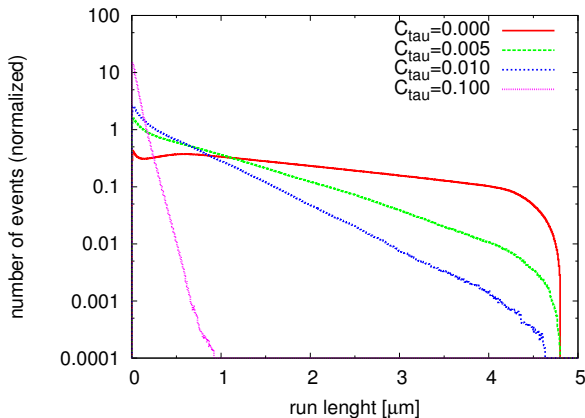
Densidad de motores “alta”



tau disminuye las longitudes de corrida

Observables: longitud de corrida

Histograma



tau disminuye las longitudes de corrida

A modo de énfasis

- Propusimos un modelo para KIF1A que incluye la interacción con la proteína tau. El modelo es una extensión del de Nishinari et al.
- Se introducen dos parámetros para caracterizar el efecto de tau (p_a y p_m) y sus valores se determinan a partir de los experimentos de Dixit et al.
- Chequeamos con un límite analítico aproximado.
- Resultados robustos ante cambios de parámetros p_a y p_m .
- Tau tiene efectos significativos tanto en la longitud de corrida y los tiempos de ligadura. Ambos observables están asociados a la procesividad, que es clave para la función biológica del motor molecular.

¡Gracias por la atención!

Fin.

“Review” del mecanismo de motilidad de KIF1A

- N.Hirokawa, R.Nitta, and Y.Okada, Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 10, 877 (2009).

Modelo para KIF1A

- K.Nishinari et al., Phys. Rev. Lett. 95, 118101 (2005).
- P.Greulich et al., Phys. Rev. E 75, 041905 (2007).

Experimento con tau

- R. Dixit, J.L. Ross, Y.E. Goldman, and E.L.F. Holzbaur. Science, 319, 1086 (2008).

Nuestros resultados

- J.Sparacino, P.W.Lamberti, C.M.Arizmendi, Phys. Rev. E 84, 041907 (2011).
- J.Sparacino, M.G. Farías, and P.W. Lamberti, Phys. Rev. E 89, 022714 (2014).