

Polskie Towarzystwo Przyrodników im. Kopernika

BEATA KLISZCZ, ANDRZEJ A. KASPRZAK

Pracownia Białek Motorycznych Zakład Biochemii, Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN Pasteura 3, 02-093 Warszawa E-mail: b.kliszcz@nencki.gov.pl a.kasprzak@nencki.gov.pl

ROLA BIAŁEK MOTORYCZNYCH W TRANSPORCIE AKSONALNYM*

WSTĘP

Neuron, czyli komórka nerwowa, jest podstawowym elementem systemu nerwowego. W okresie neurogenezy na powierzchni neuronu tworzą się wypustki, tzw. neuryty, z których jeden, wraz z różnicowaniem się komórki nerwowej, ulega znacznemu wydłużeniu, tworząc akson, natomiast pozostałe, znacznie krótsze i rozgałęzione, stają się dendrytami (Ryc. 1). Generalnie, aksony mają długość mniejszą niż 100 µm, ale w niektórych przypadkach, np. aksonów nerwu kulszowego u człowieka, przekraczającą nawet 1 m. Ponieważ większość organelli i białek aksonu jest syntetyzowanych w ciele komórki, muszą być one transportowane wzdłuż aksonu, w kierunku jego końca dystalnego, natomiast w odwrotnym kierunku transportowane są białka przeznaczone do degradacji oraz czynniki zaangażowane w przekazywanie sygnału z komórki do komórki. Nieprawidłowo funkcjonujący transport aksonalny jest przyczyną wystąpienia wielu chorób neurodegeneracyjnych, w tym choroby Alzheimera, Huntingtona i stwardnienia zanikowego bocznego (ALS) (DE VOS i współaut. 2008, HIROKAWA i współaut. 2010, EN-CALADA i GOLDSTEIN 2014, DE VOS i HAFEZ-PARAST 2017, PRIOR i współaut. 2017).

W neuronach transport organelli, np.: mitochondriów, wczesnych i późnych endosomów, autofagosomów, neurofilamentów, krótkich mikrotubul oraz różnych mRNA, białek i lipidów, odbywa się dzięki aktywności dwóch rodzajów białek motorycznych:

kinezyn i dyneiny cytoplazmatycznej, które poruszają się wzdłuż mikrotubul (VALE i MILLIGAN 2000). Przy użyciu superrozdzielczych technik mikroskopowych (stochastyczna mikroskopia rekonstrukcyjna, STORM) pokazano, że filamenty aktynowe są obecne w aksonie, gdzie tworzą podbłonowe pierścienie, połączone tetramerami spektryny, która w komórkach nieneuronalnych stanowi główna składowa szkieletu podbłonowego (LIEM 2016). Powtarzające się co około 0,2 um pierścienie aktynowe, wraz z połączeniami spektrynowymi tworzą swoiste cylindryczne rusztowanie, przypominające klatkę, która otacza akson i prawdopodobnie zapewnia mu odporność mechaniczną (XU i współaut. 2013). Co ciekawe, struktura ta występuje także w dendrytach (HAN i współaut. 2017).

Zarówno w dendrytach, jak i w aksonie transport wzdłuż mikrotubul odbywa się, odpowiednio, w kierunku ich końca plus (kinezyny) lub końca minus (dyneina cytoplazmatyczna). Na typowym przekroju poprzecznym aksonu widocznych jest od 10 do 100 mikrotubul, przy czym znaczna ich część występuje w postaci gęsto upa-kowanych wiązek. Zarówno w aksonach, jak i dendrytach odległość pomiędzy poszczególnymi mikrotubulami jest mniejsza niż 50 nm (YOGEV i współaut. 2016). Średnia długość mikrotubuli w aksonie wynosi ok. 4-8 µm (YOGEV i współaut. 2016), a więc jest bardzo prawdopodobne, że transport wzdłuż aksonu, od ciała komórki do jego dystalnego końca, będzie się odbywał z wykorzystaniem wielu mikrotubul lub ich

*Przygotowanie niniejszej publikacji było finansowane przez projekt Narodowego Centrum Nauki o numerze rejestracyjnym 2014/13/B/NZ1/03995.

Słowa kluczowe: akson, dyneina, kinezyna, motor molekularny, mikrotubula, neuron



Ryc. 1. A. Schemat budowy neuronu. Mikrotubule aksonu mają jednolitą orientację i są skierowane końcem plus w kierunku synapsy. B. Transport przykładowych ładunków w aksonie wzdłuż mikrotubul aksonu zachodzi wskutek działania dwóch białek motorycznych: kinezyny, poruszającej się na mikrotubuli w kierunku jej końca plus i dyneiny, poruszającej się w kierunku odwrotnym przeciwnym.

wiązek. W aksonie zachodzące na siebie, tworzące wiązki mikrotubule położone są w sposób uporządkowany: wszystkie mikrotubule wzdłuż aksonu, skierowane są końcem "plus" w stronę zakończeń synaptycznych (ang. plus-end out). Taka jednolita orientacja mikrotubul w aksonach jest różna od tej, występującej w dendrytach, gdzie mamy do czynienia z orientacją mieszaną (YAU i współaut. 2016).

W jaki sposób powstaje taka jednolita orientacja mikrotubul w aksonie? W aksonie może dochodzić do eliminacji "niewłaściwie" zorientowanych mikrotubul, ale również do stabilizacji mikrotubul zorientowanych końcem plus w kierunku synapsy (YAU i współaut. 2016). Selektywna eliminacja obejmuje takie procesy, jak depolimeryzacja lub destabilizacja i fragmentacja niewłaściwie zorientowanych mikrotubul przez białka tnące mikrotubule, takie jak katanina lub spastyna. Z drugiej strony, niektóre modyfikacje potranslacyjne mikrotubul, takie jak acetylacja, są związane ze wzrostem ich stabilności (WITTE i współaut. 2008). Uważa się, że w procesach orientacji mikrotubul w aksonie biorą udział również dwie tzw. "mitotyczne" kinezyny: KIF23 (kinezyna-6) i KIF-15 (kinezyna-12) (LIN i współaut. 2012) oraz kine-

zyna-1, która, jak wykazano, przesuwa mikrotubule względem siebie (ang. microtubule pair sliding) (JOLLY i współaut. 2010, DEL CASTILLO i współaut. 2015). Udział tych kinezyn w organizacji mikrotubul aksonu nie jest przypadkowy. Kinezyny z rodzin 5 i 14, ale także 6 i 12, odgrywają bowiem podstawową rolę w organizacji wrzeciona podziałowego, gdzie przemieszczają mikrotubule względem siebie w zależności od ich wzajemnej orientacji (BRAUN i współaut. 2009, FINK i współaut. 2009, DRECHSLER i MCA-INSH 2016) i prawdopodobnie pełnią podobną funkcję w porządkowaniu mikrotubul aksonu. Oprócz tego, do utrzymania jednolitej orientacji mikrotubul aksonalnych wymagana jest obecność dyneiny (ZHENG i współaut. 2008, DEL CASTILLO i współaut. 2015, RAO i współaut. 2017).

Chociaż w transporcie aksonalnym główną role odgrywają trzy rodziny kinezyn: kinezyna-1, -2 i -3, kinezyny z innych rodzin również biorą udział w transporcie, np. kinezyny z rodzin 4, 5 i 6 (LIPKA i współaut. 2016). Trzy kinezyny z rodziny 3 (KIF1A, KIF1B i KIF1C) oraz dwie z rodziny 4: KI-F21A (w aksonie) i KIF21B (zarówno w aksonie jak i dendrytach), przenoszą ładunki wzdłuż mikrotubul (LIPKA i współaut. 2016). Kinezyny z rodziny 4 biorą także udział w regulacji dynamiki końca "plus" mikrotubul. Z wyjątkiem motorów z rodzin 14 i 13, pozostałe kinezyny poruszają się w kierunku końca "plus" mikrotubuli. Z kolei cytoplazmatyczna dyneina przenosi ładunek w kierunku końca minus, czyli biorąc pod uwagę ułożenie mikrotubul, w stronę ciała komórki. Kinezyna-1, której 3 izoformy: KIF5A, KIF5B i KIF5C, występują w neuronach, jest tetramerycznym białkiem składającym się z 2 łańcuchów ciężkich i przyłączonych do nich 2 łańcuchów lekkich. Domena motoryczna, zwana także "główką", oddziałująca z mikrotubulami i odpowiadająca za hydrolizę ATP, znajduje się na końcu aminowym łańcucha ciężkiego. Łańcuchy lekkie, które uczestniczą zwykle w wiązaniu ładunku, znajdują się w pobliżu końca karboksylowego. Kinezyna-1 wykonuje serię kroków, przesuwając naprzemiennie jedną z domen motorycznych w kierunku końca plus mikrotubuli, co związane jest z hydrolizą jednej cząsteczki adenozynotrifosforanu (ATP). Brak dysocjacji z mikrotubuli po wykonaniu każdego kroku jest spowodowany sprzężeniem pomiędzy reakcją chemiczną w domenie motorycznej kinezyny i jej powinowactwem do mikrotubuli. Leży to u podstawy zjawiska zwanego "procesywnością", które polega na takiej koordynacji zmian strukturalnych w dwóch domenach motorycznych kinezyny, aby w żadnym momencie cyklu nie doszło do odłączenia od mikrotubuli obu główek jednocześnie (HAN-COCK i HOWARD 1999, HIGUCHI i ENDOW 2002). Kinezyna-1 "kroczy" po mikrotubuli, zarówno in vitro, jak i w komórkach, wykonując bez dysocjacji około 100 kroków o długości ~8-nm, czyli przemierzając średnio odległość nieco mniejszą niż 1 µm. Oznacza to, że do pokonania długości nawet krótkiego aksonu proces taki musi wielokrotnie się powtarzać. Ponadto, kinezyna w trakcie transportu ładunku zmienia mikrotubule, po których się porusza i szybkość tego procesu może być czynnikiem ograniczającym szybkość całego transportu aksonalnego (YOGEV i współaut. 2016).

Również pozostałe kinezyny występujące w aksonie wykazują cechę procesywności: kinezyny-2 występują jako homodimery (KIF17) (w dendrytach) lub heterotrimery (w aksonach) (SCHOLEY 2013, FRANKER i współaut. 2016). Heterotrimeryczne kinezyny-2 wykonują średnio około 60 kroków przenosząc ładunek na odległość ~0,5 µm, a więc nieco mniejszą niż kinezyna-1 (SCHOLEY 2013). Kinezyna ta składa się z dwóch różnych łańcuchów (KIF3AC, KIF3AB) i niemotorycznej podjednostki adaptorowej KAP, z którą związany jest ładunek (SCHOLEY 2013). Dimeryczne kinezyny-3 (KIF1, KIF13, KIF16) biorą udział w transporcie pęcherzyków synaptycznych, lizosomów, endosomów, białek sygnałowych i mitochondriów wzdłuż aksonu (HIROKAWA i współaut. 2010). Są to motory superprocesywne: *in vitro* KIF13B lub KIF16B pokonują odległość ~10 µm bez oddysocjowania od mikrotubuli. Domeny motoryczne tych białek zawierają dodatnio naładowaną pętlę, której zadaniem jest utrzymywanie wysokiego powinowactwa do mikrotubuli nawet, gdy w centrum aktywnym tej kinezyny jest związane jest ADP (SOPPINA i VERHEY 2014), co ułatwia przyłączenie się tego motoru do mikrotubuli, gdy przenosi on ładunek.

Cytoplazmatyczna dyneina jest motorem, który, wraz z dynaktyną oraz białkami adaptorowymi, tworzy maszynerię transportową zdolną do przenoszenia ładunków na duże odległości w kierunku końca minus mikrotubuli (ZHANG i współaut. 2017). Podobnie jak kinezyna-1, dyneina zawiera 2 główki i jest białkiem procesywnym o średniej długości przebiegu ~1 µm (JHA i SURREY 2015), chociaż w obecności dynaktyny i białka BicD2, kompleks dyneiny może przemieszczać się bez dysocjacji z mikrotubuli na odległość nawet 5-9 µm (JHA i SURREY 2015). Mechanizm generacji ruchu przez ten motor różni się zasadniczo od tego dla kinezyny. Chociaż średnia długość kroku roboczego dyneiny wynosi ~8 nm, w ruchu dyneiny występuje wiele kroków znacznie dłuższych; pojawiają się także kroki w kierunku przeciwnym, tj. w stronę końca plus, jak również kroki w kierunku poprzecznym do osi mikrotubuli (wiązanie do sąsiedniego protofilamentu; ang. side-stepping) (CIANFROCCO i współaut. 2015). Związane jest to z niedoskonałą koordynacją pomiędzy działaniami obu główek dyneiny i częściowo stochastycznym sposobem generacji ruchu przez dyneinę (QIU i współaut. 2012).

SZYBKOŚĆ I MECHANIZM TRANSPORTU

Badania z użyciem radioaktywnie znakowanych ładunków wskazywały, że nie wszystkie ładunki przemieszczane są w aksonie z tą samą prędkością. Pęcherzyki i organelle ulegają przemieszczeniu z szybkością 0,6-2,3 μ m/s (czyli około ~50-200 mm dziennie, tzw. szybki transport), natomiast aktyna, białka wiążące aktynę, klatryna, dyneina, miozyna, aneksyna, synapsyna, ubikwityna białka szoku termicznego i enzymy szlaków metabolicznych, np. fosfofruktokinaza, czy aldolaza, określane ogólnie jako ładunki SCb (ang. slow component b) są przemieszczane ze średnią prędkością 0,012-0,12 μ m/s (czyli około 1-10 mm dziennie). Najwolniej, bo z prędkością $0,002-0,012 \mu m/s$ (czyli około 0,2-1 mm na dzień), transportowane są ładunki z grupy SCa (ang. slow component a), obejmujące tubulinę (krótkie mikrotubule) i neurofilamenty.

Nasuwają się dwie uwagi dotyczące udziału białek motorycznych w transporcie. Po pierwsze, jest bardzo wątpliwe, aby w aksonie znajdowała się wystarczająca liczba motorów, które byłyby zdolne transportować indywidualnie wszystkie ładunki, zwłaszcza te z grupy SCb. Po drugie, nie wykryto w aksonie białek motorycznych poruszających się po mikrotubulach z szybkościami porównywalnymi do składników SCa lub SCb, chociaż wykazano, że ruch ładunków z tymi szybkościami jest zależny od obecności motorów (XIA i współaut. 2003, HE i współaut. 2005).

Wydaje się, że najpowolniejszy transport, tj. transport białek tworzących cytoszkielet, tzn. tubuliny, aktyny i neurofilamentów, zależy od mechanizmu nazwanego "Stop and Go" (BROWN i współaut. 2005). Zgodnie z mechanizmem, białka cytoszkieletu tym transportowane są jako polimery z szybkościami odpowiadającymi szybkiemu transportowi aksonalnemu, z tym, że okresy, gdy motor porusza się są bardzo krótkie, natomiast przez większość czasu, w przypadku neurofilamentów to ponad 97% (BROWN i współaut. 2005), motor molekularny nie porusza się. W efekcie średnia szybkość transportu jest niska. Jednocześnie transport taki jest stosunkowo wydajny, ponieważ jedna lub dwie cząsteczki kinezyny mogą transportować setki czy nawet tysiące cząsteczek spolimeryzowanego ładunku. Oprócz przerw w ruchu, występują także krótkie przebiegi w kierunku przeciwnym. Hipoteza ruchu "Stop and Go" znalazła potwierdzenie w wielu faktach doświadczalnych, w tym również dla niespolimeryzowanych białek cytozolu z grupy SCb; w przypadku tych białek nazwano ją "dynamiczną rekrutacją" (Roy 2014). Niespolimeryzowane białka SCb tworzą wieloskładnikowe kompleksy, które przyłączają się do tzw. "nośników" (ang. carriers). Funkcję nośników pełnią prawdopodobnie pęcherzyki lipidowe. Nośniki transportowane są przez motory z szybkością charakterystyczną dla transportu szybkiego, czyli ~0,6-2 µm/s. Oddziaływanie kompleksów z nośnikami jest dynamiczne i przypadkowe. Kompleksy te odłączają się od nośników i ponownie do nich przyłączają. Odłączyć mogą się także pojedyncze białka. Ponieważ przez większość czasu białka te nie są transportowane, szybkość transportu, mierzona jako średnia dla populacji przenoszonych ładunków, jest kilkadziesiąt razy niższa od szybkości poruszania się motorów. Bardzo niewiele wiemy

o mechanizmie tworzenia się kompleksów białkowych, które dołączają się do nośników. Spora część tych kompleksów tworzy się naturalnie, np. kompleks enzymów glikolitycznych lub białka wiążące aktynę, które znajdują się w tej samej frakcji co aktyna. Ostatnio opisywano również udział chaperoniny Hsp70 w transporcie synapsyny i organizację kompleksu, w którym to białko jest przenoszone (GANGULY i współaut. 2017).

ODDZIAŁYWANIE MOTOR-ŁADUNEK. BIAŁKA ADAPTOROWE

Transport ładunku przez motor molekularny odbywa się w 3 etapach: (i) utworzenie kompleksu motor-ładunek, (ii) związanie motoru niosącego ładunek do mikrotubuli, co prowadzi do aktywacji ATPazy motoru oraz (iii) ruch motoru z przyłączonym ładunkiem wzdłuż mikrotubuli. Biorąc pod uwagę różnorodność składników komórki transportowanych wzdłuż aksonu można zadać pytanie, w jaki sposób pierwszy z wymienionych etapów jest realizowany, tzn. w jaki sposób niewielka grupa białek motorycznych (kilka rodzin kinezyn i cytoplazmatyczna dyneina) tworzy tak wielką ilość specyficznych kompleksów białkowych pomiędzy motorami i przenoszonymi ładunkami.

W przypadku kinezyny-1, ładunek przyłącza się do końca karboksylowego białka motorycznego, zawierającego zachowane ewolucyjnie dodatnio naładowane sekwencje aminokwasowe (Lu i GELFAND 2017). Zatem oddziaływania pomiędzy motorem a ładunkiem mogą mieć charakter elektrostatyczny, jak np. w przypadku końca karboksylowego (tzw. ogona) tubuliny. W taki sposób kinezyna prawdopodobnie przenosi krótkie fragmenty mikrotubul (JOLLY i współaut. 2010). Jednak opisana tu sytuacja, w której ładunek oddziałuje bezpośrednio z łańcuchem ciężkim kinezyny, jest dość rzadka i większość ładunków wiąże się albo z łańcuchami lekkimi kinezyny, które zlokalizowane są w pobliżu jej końca karboksylowego, albo jednocześnie z łańcuchami lekkimi i łańcuchem ciężkim. W łańcuchu lekkim kinezyny-1 znajduje się pięć motywów TPR (tetratrico-peptydowych), które stanowią miejsce wiązania dla wielu białek i innych ligandów (ADIO i współaut. 2006, ZEYTUNI i ZARIVACH 2012). Przynajmniej 10 różnych typów białek oddziałuje z tymi motywami kinezyny-1 (ZHU i współaut. 2012).

Największą selektywność i kontrolę w tworzeniu kompleksów pomiędzy przenoszonymi składnikami komórki a kinezyną umożliwiają białka adaptorowe. Są to białka, które w jednym miejscu oddziałują z karboksylowym końcem kinezyny, a w drugim, z transportowanym ładunkiem. Użycie białek adaptorowych umożliwia precyzyjną regulację transportu pojedynczych ładunków bez konieczności zmiany stężenia samych białek motorycznych. Warto także przypomnieć, że ładunki transportowane wolno (grupy SCa i SCb) najczęściej występują w formie kompleksów białkowych. Włączenie białka do takiej struktury wymaga specyficznych oddziaływań, co można traktować jako oddziaływanie z pewnego rodzaju "adaptorem". Można tu także dostrzec dwustopniową kontrolę szybkości i wydajności transportu: jedną, przez wpływ na szybkość samego pęcherzyka, a drugą, przez zmianę składu przyłączonego do pęcherzyka kompleksu białkowego.

Przykładem białka adaptorowego jest białko JIP1 (ang. JNK-interacting protein 1). Pęcherzyki zawierające transbłonowy prekursor białka amyloidowego (APP), które jest bezpośrednio związane z patogenezą choroby Alzheimera, są transportowane w aksonie w kierunku synapsy, aczkolwiek pewien transport w kierunku ciała komórki także jest obserwowany. APP wiąże się z białkiem JIP1. Z kolei, koniec karboksylowy JIP1 oddziałuje zarówno z łańcuchem lekkim kinezyny-1, jak i jej łańcuchem ciężkim oraz podjednostką p150^{Glued} dynaktyny. Wiazanie JIP1 z łańcuchem lekkim znosi tzw. autoinhibicję kinezyny-1 (zobacz poniżej) i aktywuje transport. Natomiast wiązanie z dynaktyną hamuje aktywację kinezyny. To, czy JIP1 zwiąże się z podjednostką kinezyny czy dyneiny zależy od stanu fosforylacji białka JIP1 na reszcie Ser-421 (Fu i HOLZBAUR 2013). Zatem, białko JIP1 działa jak molekularny przełącznik kierunku transportu w aksonie.

Następnym przykładem transportu aksonalnego kontrolowanego przez białka adaptorowe jest transport mitochondriów (SHENG i CAI 2012). Mitochondria, organelle, w których zachodzi wytwarzanie ATP, są

przenoszone w obu kierunkach wzdłuż aksonu - w stronę synaps, ponieważ w ich pobliżu zużycie ATP jest wysokie, a szybkość jego dostarczania przez zwykłą dyfuzję z ciała komórki niewystarczająca. Z kolei mitochondria, które zostały wyeksploatowane lub uległy uszkodzeniu transportowane są do ciała komórki, gdzie mogą zostać poddane recyklingowi. W czasie transportu w kierunku synapsy, w miejscu docelowym, ruch mitochondriów powinien zostać zatrzymany, aby umożliwić lokalną produkcję ATP. Możliwe jest to dzięki systemowi Miro/Milton (odkrytym u Drosophila). U ssaków występują dwa białka homologiczne do białka Milton: TRAK1 (ang. trafficking protein, kinesin-binding 1), które występuje głównie w aksonie oraz TRAK2 (ang. trafficking protein, kine-sin-binding 2), znajdując się w dendrytach (VAN SPRONSEN i współaut. 2013) (Ryc. 2). Białko Miro jest receptorem transbłonowym zakotwiczonym w zewnętrznej błonie mitochondrialnej, zawierającym dwie domeny GTP-azowe i dwa motywy EF-hand, wiążące kationy Ca2+. Do Miro przyłącza się białko adaptorowe Milton/TRAK, które może wiązać się zarówno z kinezyną-1, jak i dyneiną/dynaktyna (SHENG i CAI 2012). Podwyższone stężenie jonów Ca²⁺ wywołuje zatrzymanie ruchu mitochondriów. Mechanizm wstrzymania ruchu mitochondriów pozostaje niejasny. Według jednej z hipotez (WANG i SCHWARTZ 2009), w obecności jonów Ca2+ domena motoryczna kinezyny zostaje związana przez Miro, co uniemożliwia jej oddziaływanie z mikrotubulami. W drugim proponowanym mechanizmie, przyłączenie jonów Ca2+ do motywów EF-hand Miro powoduje dysocjację kinezyny z kompleksu (MACASKILL i współaut. 2009). Dodatkową komplikacją w regulacji transportu mitochondriów jest obecność dwóch kolejnych białek: kinazy PINK1 (ang. PTEN-induced kinase 1) i ligazy ubikwityny, parkin. Białka te tworzą kompleks z Miro/



Ryc. 2. Transport ładunku przez motory poruszające się w przeciwnych kierunkach.

A. W mechanizmie bezpośredniej konkurencji o kierunku transportu decyduje liczba motorów i siła generowana przez dany typ motorów. B. Mechanizm selektywnej rekrutacji polega na preferencyjnym przyłączaniu się do ładunku jednego rodzaju motorów. C. W mechanizmie koordynacji oba typy motorów łączą się z ładunkiem, ale oddziaływanie z mikrotubulą lub generacja ruchu przez jeden z nich zostają zablokowane.



Ryc. 3. Receptor Miro i białko adaptorowe Miton/TRAK biorą udział w regulacji dwukierunkowego transportu mitochondriów w aksonie. CTT, końce karboksylowe tubuliny.

TRAK i kinezyną-1. Fosforylacja Miro przez PINK1 prowadzi do degradacji Miro, po jego dysocjacji z mitochondriów, w procesie zależnym od parkin. Po rozpadzie kompleksu degradacji ulega również sama kinezyna. (WANG i współaut. 2011). Ścieżka PINK/parkin jest najczęściej uruchamiana w momencie uszkodzenia mitochondriów lub ich depolaryzacji.

Podczas transportu często do jednego ładunku przyłączone są motory generujące ruch w przeciwnych kierunkach. Jak widać z dwóch przykładów opisanych powyżej, kierunkowość transportu może być kontrolowana. Zaproponowano kilka hipotez dotyczących zachowania się motorów w takich sytuacjach (Fu i HOLZBAUR 2013, HARTERINK i Hoogenraad 2013, Encalada i Goldstein 2014). W mechanizmie bezpośredniej konkurencji o kierunku transportu decyduje liczba motorów i siła generowana przez dany typ motorów (Ryc. 3A). Mechanizm selektywnej rekrutacji polega na preferencyjnym przyłączaniu się do ładunku jednego rodzaju motorów (Ryc. 3B). Drugi typ motorów w tych warunkach nie oddziałuje z ładunkiem. W mechanizmie koordynacji oba typy motorów łączą się z ładunkiem, ale oddziaływanie z mikrotubulą lub generacja ruchu przez jeden z nich zostają zablokowane (Ryc. 3C).

BIAŁKA MAP I POTRANSLACYJNE MODYFIKACJE TUBULINY

Mimo jednolitej orientacji mikrotubul w aksonie, powierzchnia, po której poruszają się białka motoryczne przenoszące ładunki, jest bardzo niejednorodna. Po pierwsze, w różnych miejscach znajdują się białka MAP (ang. microtubule associated proteins), które można traktować jako przeszkody w ruchu motorów, ale także jako regulatory tego ruchu. Po drugie, mikrotubule ulegają modyfikacjom potranslacyjnym (patrz KLISZCZ i współaut. w tym numerze KOSMOSU), które tworzą lokalny wzór i w znaczący sposób zmieniają właściwości mikrotubul, a przez to oddziaływanie między mikrotubulami a motorami i innymi ligandami.

Przykładem białka MAP, występującego głównie w neuronach, jest tau. Białko tau stabilizuje mikrotubule, wpływa na transport w aksonie, a także bierze udział we wzroście neurytów. Nieprawidłowy metabolizm tego białka prowadzi do wystąpienia wielu chorób neurodegeneracyjnych, tzw. tauopatii, w tym choroby Alzheimera (GUO i współaut. 2017). Tau jest dobrze rozpuszczalnym białkiem inherentnie nieuporządkowanym, z niewielką zawartością struktury drugorzędowej (SCHOLZ i MANDELKOW 2014). Wiąże się z ono mikrotubulą poprzez oddziaływanie z ujemnie naładowanymi końcami karboksylowymi tubuliny i znacząco wpływa na ruch białek motorycznych na mikrotubuli. In vitro wykazano, że obecność tau na mikrotubuli powoduje oddysocjowanie kroczącej kinezyny i zmianę kierunku ruchu dyneiny (DIXIT i współaut. 2008). Mimo iż szybkość poruszania się motoru pozostaje niezmieniona przez obecność tau, to zmienia się procesywność motoru (długość przebiegu), a więc wydajność transportu ładunków. Zmienia się także ilość dostępnych motorów, co wynika "wychwytywania" kinezyn niezwiązanych \mathbf{Z} z mikrotubulami przez tau. Tau wpływa znacznie silniej na kinezynę niż na dyneinę (DIXIT i współaut. 2008). Ta stosunkowo prosta sytuacja, gdzie tau występuje w roli czynnika blokującego drogę kinezyny transportującej ładunek, znacznie się komplikuje, gdy rozważymy modyfikacje potranslacyjne tau. Fosforylacja tau prowadzi do jego dysocjacji z mikrotubuli. Co prawda, pozwala to na odblokowanie transportu zależnego od kinezyny, ale powoduje destabilizację mikrotubul, które ulegają częściowemu pocięciu przez kataninę. Natomiast hiperfosforylacja tau, obserwowana w chorobie Alzheimera (NOBLE i współaut. 2013), prowadzi do utworzenia przez tau jego fibrylarnej formy, która prawdopodobnie jest toksyczna dla neuronu.

Na ruch motorów molekularnych i transport ładunków w neuronach wpływają również modyfikacje potranslacyjne tubuliny. Mikrotubule w aksonach charakteryzują się wysokim poziomem acetylacji (patrz KLISZCZ i współaut. w tym zeszycie KOSMOSU)), której ulega Lys-40, reszta położona we wnętrzu mikrotubuli (SOPPINA i współaut. 2012). Dotychczas nie było jasne, jaki wpływ ma acetylacja na strukturę samej mikrotubuli. Przy użyciu krio-mikroskopii elektronowej stwierdzono, że na poziomie rozdzielczości możliwej do uzyskania przy zastosowaniu tej metody, brak jest różnic strukturalnych pomiędzy acetylowaną i nieacetylowaną mikrotubulą (HOWES i współaut. 2014). Z drugiej strony, acetylowane podjednostki tubuliny w mikrotubuli są rozpoznawane przez enzym "tnący" mikrotubulę - kataninę (SUDO i BAAS 2010). Wyjaśniając rolę tej modyfikacji XU i współaut. (2017) oraz PORTRAN i współaut. (2017) wykazali, że acetylacja mikrotubul prowadzi do osłabienia niekowalencyjnych wiązań pomiędzy protofilamentami mikrotubuli, bez zmiany oddziaływań wzdłuż protofilamentu. Podczas zginania mikrotubuli sąsiednie protofilamenty mogą przemieszczać się bardziej swobodnie względem siebie, co czyni całą strukturę bardziej odporną deformujące odkształcenia mechaniczna ne. Dane o wpływie acetylacji na ruchliwość kinezyny-1 nie są jednoznaczne. Badania in vitro, wykazały, że acetylacja mikrotubul nie wpływa ani na szybkość poruszania się, ani na procesywność kinezyny-1 (WALTER i współaut. 2012, KAUL i współaut. 2014). Z drugiej strony, badania in vivo wykazały wpływ acetylacji na ruch kinezyny-1 (REED i współaut. 2006). Wyniki te niekoniecznie są sprzeczne. Obserwowany wpływ modyfikacji w komórkach nie musi oznaczać bezpośredniego wpływu acetylacji na cykl mechano--chemiczny kinezyny. Modyfikacja Lys-40 może powodować przyłączenie się do mikrotubuli pewnego czynnika, np. białka, które zmienia oddziaływania pomiędzy kinezyną a mikrotubulą.

Stabilne fragmenty (odcinki, regiony) mikrotubul w neuronach charakteryzują się poziomem detyrozynawysokim również cji, czyli obecnością a-tubuliny pozbawionej ostatniego aminokwasu, tyrozyny (patrz KLISZCZ i współaut. w tym zeszycie KOSMO-SU). Poziom detyrozynacji tubuliny wpływa na oddziaływanie mikrotubul z wieloma białkami, np. EB1 (ang. end-binding 1), CLIP-170 [ang. CAP-Gly domain containing (cytoplasmic) linker protein 1], jak również kinezyn-13 oraz -7 (PERIS i współaut. 2009, BARISIC i współaut. 2015). W aksonie, obszary detyrozynowanej tubuliny przypominają łatki na mikrotubulach, przy czym detyrozynowane tubuliny pojawiają się częściej w mikrotubulach zlokalizowanych w pobliżu ciała komórki niż zakończeń synaptycznych (BROWN i współaut. 1993). W hodowlach komórkowych kinezyna-1 jest preferencyjnie związana z mikrotubulami aksonalnymi, w przeciwieństwie do kinezyn-2 i -3, które wiążą się z jednakowym powinowactwem z mikrotubulami w aksonie i dendrytach (KONI-SHI i SETOU 2009). Podobny efekt miały mutacje kinezyny-1 w obszarze "wykrywającym" obecność tyrozyny na końcu karboksylowym tubuliny (KONISHI i SETOU 2009), choć dane te nie zostały jednoznacznie potwierdzone (HAMMOND i współaut. 2010). Badania z użyciem oczyszczonych białek wykazały brak wpływu detyrozynacji na szybkość poruszania się kinezyny-1 (KAUL i współaut. 2014, SIRAJUDDIN i współaut. 2014) oraz na jej procesywność (KAUL i współaut. 2014) lub niewielkie obniżenie procesywności (SIRAJUD-DIN i współaut. 2014). W przypadku kinezyny-2 detyrozynacja mikrotubul spowodowała dwukrotne podwyższenie procesywności motoru (SIRAJUDDIN i współaut. 2014).

Obecność reszty tyrozyny w podjednostce a-tubuliny nie wpływa na ruchliwość cytoplazmatycznej dyneiny drożdżowej, która nie zawiera dynaktyny (SIRAJUDDIN i współaut. 2014). Zupełnie inaczej zachowuje się kompleks ssaczej cytoplazmatycznej dyneiny z dynaktyną i białkiem BicD2. Detyrozynacja tubuliny powoduje około 4-krotne obniżenie ruchliwości (MCKENNEY i współaut. 2016). Ten efekt przypisuje się podjednostce p150 dynaktyny. Obecność reszt tyrozynowych nie jest potrzebna podczas trwania całego ruchu, jest tylko niezbędna do inicjacji procesywnego ruchu, który po rozpoczęciu, odbywa się również po detyrozynowanych mikrotubulach (MCKENNEY i współaut. 2016). Inna grupa badawcza przedstawiła mechanizm, w którym do inicjacji transportu przez dyneinę, oprócz dynaktyny, potrzebny jest także cytoplazmatyczny łącznik białkowy CLIP-170 (NIRSCHL i współaut. 2016). Zarówno CLIP-170, jak i p150 oddziałują z mikrotubulą w sposób zależny od obecności reszty Tyr w podjednostce alfa. Regulacja inicjacji transportu, zdaniem autorów (NIRSCHL i współaut. 2016) zachodzi przez fosforylację CLIP-170.

Dane o wpływie poliglutamylacji na transport komórkowy nie są jednoznaczne. Badania IKEGAMI i współaut. (2007) wykazały, że obniżony poziom glutamylacji zmienił dystrybucję kinezyny-3, ale nie kinezyny-1 lub kinezyny-2. Z kolei doświadczenia MAAS i współaut. (2009) udowodniły, że wzrost glutamylacji koreluje z hamowaniem ruchu kinezyny-1, lecz nie wpływa na ruchliwość kinezyny-3. Te ostatnie wyniki są w dużej mierze zgodne z badaniami in vitro. Używając chimerycznych rekombinowanych mikrotubul z resztami kwasu glutaminowego przyłączonymi chemicznie do wprowadzonej do ogona tubuliny reszty cysteiny, SIRAJUD-DIN i współaut.(2014) wykazali, że łańcuchy poliGlu składające się z 10 reszt obniżały szybkość, lecz nie procesywność kinezyny-1, podczas gdy łańcuchy zawierające 3 reszty kwasu glutaminowego nie miały wpływu na kinezynę-1. Właściwości kinezyny-2 pozostały niezmienione, natomiast cytoplazmatyczna dyneina drożdżowa wykazywała wyższą procesywność na poliglutamylowanych mikrotubulach.

UWAGI KOŃCOWE

Transport w neuronach to złożony, uporządkowany proces. Uczestniczą w nim białka motoryczne poruszające się po mikrotubulach (kinezyny, dyneiny), białka adaptorowe i inne białka, które wspomagają rozpoznawanie i regulują przenoszenie ładunków. Wszystkie wyżej wymienione białka mogą ulegać modyfikacjom potranslacyjnym, dostosowującym ich właściwości do konkretnego zapotrzebowania w danym neuronie. Z uwagi na różnorodność przenoszonych ładunków, proces ten musi być ściśle regulowany. Porównując długość aksonu, która wielokrotnie przekracza odległości przebiegu motorów na mikrotubuli, łatwo zauważyć, że transport aksonalny jest czasochłonny i energochłonny. Błędy na jednym z etapów tego procesu mogą pociągać za sobą kaskadę nieprawidłowości, która w konsekwencji prowadzi do zaburzeń transportu, a w efekcie, do zmian w neuronie i związanych z tym chorób. Jednym z ważnych problemów współczesnej biologii jest wyjaśnienie sposobów, w jaki komórka wykorzystuje motory molekularne do przemieszczania ładunków i organizacji struktur komórkowych. Z uwagi na powiązania pomiędzy białkami odpowiadającymi za przenoszenie ładunku oraz jego rozpoznawanie, istnieje potrzeba badań, które kompleksowo uwzględnią poszczególne składniki transportu i ich kooperację. Jest to trudne zadanie, ale dostarczyłoby wiedzy, która pozwoli lepiej zrozumieć podłoże chorób neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Alzheimera lub Huntingtona oraz pomogłoby odkryć skuteczną metodę ich leczenia i/lub zapobiegania.

Streszczenie

Transport wzdłuż mikrotubul aksonu i dendrytów jest niezbędny nie tylko dla zachowania ogólnej struktury i funkcjonowania komórki nerwowej, ale również całego układu nerwowego. W aksonie transport odbywa się dwukierunkowo, wzdłuż jednorodnie zorientowanych mikrotubul. Transport od ciała komórki w kierunku synapsy wymaga aktywności kinezyn i umożliwia dostarczanie białek (enzymów, cząsteczek sygnałowych, neurofilamentów, motorów molekularnych), pęcherzyków lipidowych i organelli, takich jak mitochondria do dystalnej części aksonu. Za transport w przeciwnym kierunku odpowiada dyneina cytoplazmatyczna, która przenosi zużyte lub niepoprawnie sfałdowane białka oraz czasteczki sygnałowe do ciała komórki. W niniejszej pracy opisujemy elementy neuronu, które biorą udział transporcie aksonalnym oraz mechanizmy transportu. Przedstawiamy również czynniki, od których zależy transport aksonalny, włączając w to obecność białek adaptorowych (Milton/ TRAK), białek MAP (białka związane z mikrotubulami) oraz modyfikacji potranslacyjnych tubuliny.

LITERATURA

- ADIO S., RETH J., BATHE F., WOEHLKE G., 2006. Review: regulation mechanisms of kinesin-1. J. Muscle Res. Cell Motil. 27, 153-160.
- Muscle Res. Cell Motil. 27, 153-160.
 BARISIC M., SILVA E SOUSA R., TRIPATHY S. K., MAGIERA M. M., ZAYTSEV A. V., PEREIRA A. L., JANKE C., GRISHCHUK E. L., MAIATO H., 2015. *Mitosis. Microtubule detyrosination guides chromosomes during mitosis.* Science 348, 799-803.
- BRAUN M., DRUMMOND D. R., CROSS R. A., MCA-INSH A. D., 2009. The kinesin-14 Klp2 organizes microtubules into parallel bundles by an ATP-dependent sorting mechanism. Nat. Cell Biol. 11, 724-730.
- BROWN A., LI Y., SLAUGHTER T., BLACK M. M., 1993. Composite microtubules of the axon: quantitative analysis of tyrosinated and acetylated tubulin along individual axonal microtubules. J. Cell Sci. 104, 339-352.

- BROWN A., WANG L., JUNG P., 2005. Stochastic simulation of neurofilament transport in axons: the "stop-and-go" hypothesis. Mol. Biol. Cell 16, 4243-4255.
- CIANFROCCO M. A., DESANTIS M. E., LESCHZINER A. E., RECK-PETERSON S. L., 2015. Mechanism and regulation of cytoplasmic dynein. Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 31, 83-108. DE Vos K. J., HAFEZPARAST M., 2017. Neurobiolo-
- gy of axonal transport defects in motor neuron diseases: Opportunities for translational rese-arch? Neurobiol Dis. 105, 283-299. DE Vos K. J., GRIERSON A. J., ACKERLEY S., MIL-LER C. C., 2008. Role of axonal transport in neurodoconcrative diseases.
- neurodegenerative diseases. Annu. Rev. Neu-
- rosci. 31, 151-173. Del Castillo U., Winding M., Lu W., Gelfand V. I., 2015. Interplay between kinesin-1 and cortical dynein during axonal outgrowth and microtubule organization in Drosophila neurons. Elife 4, e10140.
- DIXIT R., ROSS J. L., GOLDMAN Y. E., HOLZBAUR E. L., 2008. Differential regulation of dynein and kinesin motor proteins by tau. Science 319, 1086-1089.
- DRECHSLER H., MCAINSH A. D., 2016. Kinesin-12 motors cooperate to suppress microtubule catastrophes and drive the formation of parallel microtubule bundles. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 113, E1635-E1644. ENCALADA S. E., GOLDSTEIN L. S., 2014. *Biophysi*-
- cal challenges to axonal transport: motor-cargo deficiencies and neurodegeneration. Annu. Rev. Biophys. 43, 141-169.
- FINK G., HAJDO L., SKOWRONEK K. J., REUTHER C., KASPRZAK A. A., DIEZ S., 2009. The mitotic kinesin-14 Ncd drives directional microtubule-mi-
- nesur-14 INCA arives directional microtubule-microtubule sliding. Nat. Cell Biol. 11, 717-723.
 FRANKER M. A., ESTEVES DA SILVA M., TAS R. P., TORTOSA E., CAO Y., FRIAS C. P., JANSSEN A. F., WULF P. S., KAPITEIN L. C., HOOGENRAAD C. C., 2016. Three-step model for polarized sorting of KIF17 into dendrites. Curr. Biol. 26, 1705-1712.
 FU M. M. HOUTDARD F. L. 2012. JUST.
- FU M. M., HOLZBAUR E. L., 2013. JIP1 regulates the directionality of APP axonal transport by coordinating kinesin and dynein motors. J.
- Cell Biol. 202, 495-508. GANGULY A., HAN X., DAS U., WANG L., LOI J., SUN J., GITLER D., CAILLOL G., LETERRIER C., YATES J. R. 3RD., ROY S., 2017. Hsc70 chaper one activity is required for the cytosolic slow ground transport of summarin L. Coll Biol axonal transport of synapsin. J. Cell Biol. 216, 2059-2074.
- GUO T., NOBLE W., HANGER D. P., 2017. Roles of tau protein in health and disease. Acta Neu-
- ropathol. 133, 665-704. HAMMOND J. W., HUANG C. F., KAECH S., JACOB-SON C., BANKER G., VERHEY K. J., 2010. Post-topolation of modifications of tubuling and the translational modifications of tubulin and the polarized transport of kinesin-1 in neurons. Mol. Biol. Cell 21, 572-583.
- HAN B., ZHOU R., XIA C., ZHUANG X., 2017. Struc-tural organization of the actin-spectrin-based membrane skeleton in dendrites and soma of neurons. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 114, Ĕ6678-E6685.
- HANCOCK W. O., HOWARD J., 1999. Kinesin's processivity results from mechanical and chemi-cal coordination between the ATP hydrolysis
- cycles of the two motor domains. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96, 13147-13152.
 HARTERINK M., HOOGENRAAD C. C., 2013. Slide to the left and slide to the right: motor coordina-tion in neurons. Dev. Cell 26, 326-328.

- HE Y., FRANCIS F., MYERS K. A., YU W., BLACK M. M., BAAS P. W., 2005. Role of cytoplasmic dynein in the axonal transport of microtubules and neurofilaments. J. Cell Biol. 168, 697-703.
- HIGUCHI H., ENDOW S. A., 2002. Directionality and processivity of molecular motors. Curr. Opin. Cell Biol. 14, 50-57.
 HIROKAWA N., NIWA S., TANAKA Y., 2010. Molecular motors in neurons: transport mechanisms and roles in brain function, development, and dis-ease. Neuron 68, 610-638.
 HOWES S. C. ALUSHIN G. M. SHIDA T. NACHUPY.
- Howes S. C., ALUSHIN G. M., SHIDA T., NACHURY M. V., NOGALES E., 2014 Effects of tubulin acetylation and tubulin acetyltransferase binding on microtubule structure. Mol. Biol. Cell 25, 257-266.
- IKEGAMI K., HEIER R. L., TARUISHI M., TAKAGI H., MUKAI M., SHIMMA S., TAIRA S., HATANAKA K., MORONE N., YAO I., CAMPBELL P. K., YUASA S., JANKE C., MACGREGOR G. R., SETOU M., 2007. Loss of alpha-tubulin polyglutamylation in POSA22 mine associated with apportant. in ROSA22 mice is associated with abnormal targeting of KIF1A and modulated synaptic function. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 104, 3213-3218.
- JHA R., SURREY T., 2015. Regulation of processive motion and microtubule localization of cyto-plasmic dynein. Biochem. Soc. Trans. 43, 48-57.
- JOLLY A. L., KIM H., SRINIVASAN D., LAKONISHOK M., LARSON A. G., GELFAND V. I., 2010. Kinesin-1 heavy chain mediates microtubule slid-
- ing to drive changes in cell shape. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 107, 12151-12156. KAUL N., SOPPINA V., VERHEY K. J., 2014. Effects of a-tubulin K40 acetylation and detyrosination on kinesin-1 motility in a purified system. Biophys. J. 106, 2636-2643.
- KONISHI Y., SETOU M., 2009. Tubulin tyrosination navigates the kinesin-1 motor domain to axons. Nat. Neurosci. 12, 559-567.
- LIEM R. K., 2016. Cytoskeletal integrators: The spectrin superfamily. Cold Spring Harb Per-spect Biol., doi: 10.1101/cshperspect. a018259.
- S., LIU M., MOZGOVA O. I., YU W., BAAS P. W., 2012. Mitotic motors coregulate microtu-bule patterns in axons and dendrites. J. Neu-LIN
- rosci. 32, 14033-14049. LIPKA J., KAPITEIN L. C., JAWORSKI J., HOOGENRA-AD C. C., 2016. Microtubule-binding protein doublecortin-like kinase 1 (DCLK1) guides ki-nesin-3-mediated cargo transport to dendrites. EMBO J. 35, 302-318. W., GELFAND V. I., 2017. Moonlighting motors:
- LU kinesin, dynein, and cell polarity. Trends Cell Biol. 27, 505-514. MAAS C., BELGARDT D., LEE H. K., HEISLER F. F.,
- LAPPE-SIEFKE C., MAGIERA M. M., VAN DIJK J., HAUSRAT T. J., JANKE C., KNEUSSEL M., 2009. Synaptic activation modifies microtubules underlying transport of postsynaptic cargo. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 106, 8731-8736.
- MacAskill A. F., Rinholm J. E., Twelvetrees A. E., Arancibia-Carcamo I. L., Muir J., Frans-SON A., ASPENSTROM P., ATTWELL D., KITTLER J. T., 2009. Miro1 is a calcium sensor for glutamate receptor-dependent localization of mito-
- chondria at synapses. Neuron 61, 541-555. MCKENNEY R. J., HUYNH W., VALE R. D., SIRAJUD-DIN M., 2016. Tyrosination of a-tubulin con-tuble the initiation of a trols the initiation of processive dynein-dynac-tin motility. EMBO J. 35, 1175-1185.
- NIRSCHL J. J., MAGIERA M. M., LAZARUS J. E., JANKE C., HOLZBAUR E. L., 2016. a-Tubulin

tyrosination and CLIP-170 phosphorylation reg-

- Institution and CLIF-170 phosphorylation regulate the initiation of dynein-driven transport in neurons. Cell Rep. 14, 2637-2652.
 NOBLE W., HANGER D. P., MILLER C. C., LOVE-STONE S., 2013. The importance of tau phosphorylation for neurodegenerative diseases. Front. Neurol. 4, 83.
 PERIS L., WAGENBACH M. LAFANECHEDE J. BDO.
- PERIS L., WAGENBACH M., LAFANECHÈRE L., BRO-CARD J., MOORE A. T., KOZIELSKI F., JOB D., WORDEMAN L., ANDRIEUX A., 2009. Motor-dependent microtubule disassembly driven by tubulin tyrosination. J. Cell Biol. 185, 1159-1166
- PORTRAN D., SCHAEDEL L., XU Z., THÉRY M., NA-CHURY M. V., 2017. Tubulin acetylation pro-tects long-lived microtubules against mechani-cal against Not Coll Biol. 10, 201 208 cal ageing. Nat. Cell Biol. 19, 391-398. PRIOR R., VAN HELLEPUTTE L., BENOY V., VAN DEN
- BOSCH L., 2017. Defective axonal transport: A common pathological mechanism in inherited and acquired peripheral neuropathies. Neuro-
- biol. Dis. 105, 300-320.
 QIU W., DERR N. D., GOODMAN B. S., VILLA E., WU D., SHIH W., RECK-PETERSON S. L., 2012. Dynein achieves processive motion using both stochastic and coordinated stepping. Nat. Struct. Mol. Biol. 19, 193-200.
- RAO A. N., PATIL A., BLACK M. M., CRAIG E. M., MYERS K. A., YEUNG H. T., BAAS P. W., 2017. Cytoplasmic dynein transports axonal microtubules in a polarity-sorting manner. Cell Rep. 19, 2210-2219.
- REED N. A., CAI D., BLASIUS T. L., JIH G. T., MEYERHOFER E., GAERTIG J., VERHEY K. J., 2006. Microtubule acetylation promotes kine-sin-1 binding and transport. Curr. Biol. 16, 2166-2172.
- Roy S., 2014 Seeing the unseen: the hidden world of slow axonal transport. Neuroscientist 20, 71-81.
- SCHOLEY J. M., 2013. Kinesin-2: a family of heterotrimeric and homodimeric motors with diverse intracellular transport functions. Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 29, 443-469.
- SCHOLZ T., MANDELKOW E., 2014. Transport and diffusion of Tau protein in neurons. Cell. Mol. Life Sci. 71, 3139-3150.
- SHENG Z. H., CAI Q., 2012. Mitochondrial trans-port in neurons: impact on synaptic homeostasis and neurodegeneration. Nat. Rev. Neurosci. 13, 77-93.
- SIRAJUDDIN M., RICE L. M., VALE R. D., 2014. Regulation of microtubule motors by tubulin isotypes and post-translational modifications. Nat Cell Biol. 16, 335-344.
 SOPPINA V., VERHEY K. J., 2014. The family-spe-cific K loap influences the microtubule on rate
- cific K-loop influences the microtubule on-rate but not the superprocessivity of kinesin-3 mo-tors. Mol. Biol. Cell 25, 2161-2170.
 SOPPINA V., HERBSTMAN J. F., SKINIOTIS G., VERHEY K. J., 2012. Luminal localization of a-tubulin
- K40 acetylation by cryo-EM analysis of fab-la-beled microtubules. PLoS One 7, e48204. SUDO H., BAAS P. W., 2010. Acetylation of micro-
- tubules influences their sensitivity to severing by katanin in neurons and fibroblasts. J. Neurosci. 30, 7215-7226.
- VALE R. D., MILLIGAN R. A., 2000. The way things move: looking under the hood of molecular mo-tor proteins. Science 288, 88-95.
 VAN SPRONSEN M., MIKHAYLOVA M., LIPKA J., SCHLAGER M. A., VAN DEN HEUVEL D. J., KUI-

JPERS M., WULF P. S., KEIJZER N., DEMMERS J., KAPITEIN L. C., JAARSMA D., GERRITSEN H. C., AKHMANOVA A., HOOGENRAAD C. C., 2013. TRAK/Milton motor-adaptor proteins steer mi-

- tochondrial trafficking to axons and dendrites. Neuron 77, 485-502.
 WALTER W. J., BERÁNEK V., FISCHERMEIER E., DIEZ S., 2012. Tubulin acetylation alone does not affect kinesin1 velocity and run length in vitro.
- PLoS One 7, e42218. WANG X., SCHWARZ T. L., 2009. The mechanism of Ca2+ -dependent regulation of kinesin-mediated mitochondrial motility. Cell 136, 163-174.
- WANG X., WINTER D., ASHRAFI G., SCHLEHE J., WONG Y. L., SELKOE D., RICE S., STEEN J., LAVOIE M. J., SCHWARZ T. L., 2011. PINK1 and Darkin torget Mire for shorehomilation and Parkin target Miro for phosphorylation and degradation to arrest mitochondrial motility. Cell 147, 893-906.
- WITTE H., NEUKIRCHEN D., BRADKE F., 2008. Microtubule stabilization specifies initial neuronal polarization. J. Cell Biol. 180, 619-632
- XIA C. H., ROBERTS E. A., HER L. S., LIU X., WIL-LIAMS D. S., CLEVELAND D. W., GOLDSTEIN L. S., 2003. Abnormal neurofilament transport caused by targeted disruption of neuronal ki-nesin heavy chain KIF5A. J. Cell Biol. 161, 556 CC 55-66.
- XU K., ZHONG G., ZHUANG X., 2013. Actin, spectrin, and associated proteins form a periodic cytoskeletal structure in axons. Science 339, 452-456.
- Z., SCHAEDEL L., PORTRAN D., AGUILAR A., GAILLARD J., MARINKOVICH M. P., THÉRY M., NACHURY M. V., 2017. Microtubules acquire re-Xu sistance from mechanical breakage through in-
- tralumenal acetylation. Science 356, 328-332. YAU K. W., SCHÄTZLE P., TORTOSA E., PAGÈS S., HOLTMAAT A., KAPITEIN L. C., HOOGENRAAD C. C., 2016. Dendrites in vitro and in vivo contain microtubules of opposite polarity and axon formation correlates with uniform plus-end-out microtubule orientation. J. Neurosci 36, 1071-1085.
- YOGEV S., COOPER R., FETTER R., HOROWITZ M., SHEN K., 2016. Microtubule organization determines axonal transport dynamics. Neuron 92, 449-460.
- ZEYTUNI N., ZARIVACH R., 2012. Structural and functional discussion of the tetra-trico-peptide repeat, a protein interaction module. Structure 20, 397-405.
- ZHANG K., FOSTER H. E., RONDELET A., LACEY S. E., BAHI-BUISSON N., BIRD A. W., CARTER A. P., 2017. Cryo-EM reveals how human cytoplasmic dynein is auto-inhibited and activated. Cell 169, 1303-1314.
- ZHENG Y., WILDONGER J., YE B., ZHANG Y., KITA A., YOUNGER S. H., ZIMMERMAN S., JAN L. Y., JAN Y. N., 2008. Dynein is required for polarized dendritic transport and uniform microtubule orientation in axons. Nat. Cell Biol. 10, 1172-1180.
- ZHU H., LEE H. Y., TONG Y., HONG B. S., KIM K. P., SHEN Y., LIM K. J., MACKENZIE F., TEMPEL W., PARK H. W., 2012. Crystal structures of the tetratricopeptide repeat domains of kinesin light chains: insight into cargo recognition mechanisms. PLoS One 7, e33943.

BEATA KLISZCZ, ANDRZEJ A. KASPRZAK

Laboratory of Motor Proteins, Department of Biochemustry, Nencki Institute of Experimental Biology PAS, 3 Pasteur Str., 02-093 Warsaw, E-mail: b.kliszcz@nencki.gov.pl; a.kasprzak@nencki.gov.pl

ROLE OF MOTOR PROTEINS IN AXONAL TRANSPORT

Summary

Axonal transport is essential for maintaining the overall architecture of the brain and the entire nervous system. In the axon, the bidirectional transport takes place along uniformly oriented microtubules. Anterograde axonal transport is performed by kinesins and its function is to supply nerve terminals with proteins (enzymes, signaling molecules, filaments, motors), lipid vesicles and organelles like mitochondria for local energy requirements. Retrograde transport carried out by dyneins clears recycled or misfolded proteins but also it transmits trophic signals to the cell body. Here, we describe various components and mechanisms of axonal transport and we outline the factors that have been proposed to contribute to the cargo movement such as the use of adaptor proteins, the effect of MAPs (microtubule associated proteins) and the role of posttranslational modifications of tubulin.

Key words: axon, dynein, kinesin, microtubule, molecular motor, neuron