



Kandidaatintutkielma

Kinesiini, dyneiini ja myosiini

Sofia Ylinen

Biokemian ja molekyyli lääketieteen tiedekunta

Oulun yliopisto

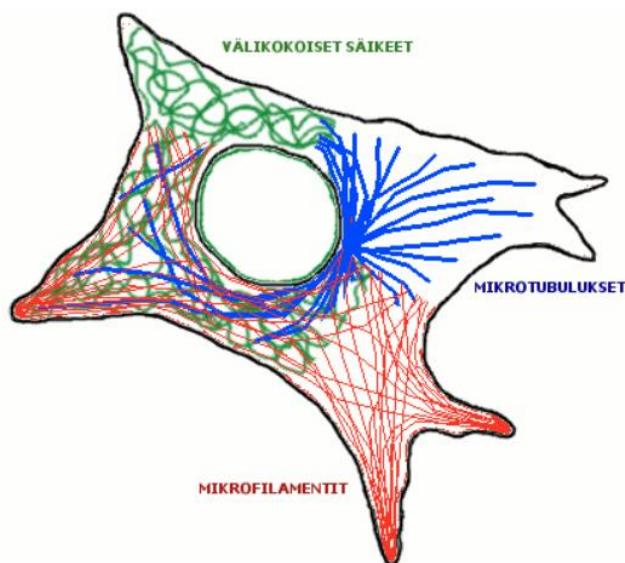
2021

# SISÄLLYSLUETTELO

1 Johdanto .....	1
1.1 Mikrotubulukset .....	2
1.2 Aktiini.....	4
2 Mikrotubulukseen sitoutuvat moottoriproteiinit .....	7
2.1 Kinesiini .....	7
2.1.1 Luokat .....	7
2.1.2 Rakenne ja toiminta .....	9
2.2 Dyneiini.....	12
2.2.1 Luokat .....	13
2.2.2 Rakenne ja toiminta .....	13
2.3 Kinesiinin ja dyneiinin erot.....	18
3 Aktiiniin liittyvät moottoriproteiinit.....	20
3.1 Myosiini .....	20
3.1.1 Luokat .....	20
3.1.2 Rakenne ja toiminta .....	21
4 Moottoriproteiinien merkitys .....	24
LÄHDELUETTELO .....	26

# 1 JOHDANTO

Solun toiminta vaatii toimivaa kuljetussysteemiä. Esimerkiksi soluorganellien uudelleen sijoittaminen sekä vesikkelien välityksellä tapahtuva aineiden kuljetus kuten endosytoosi ja eksosytoosi ovat tärkeitä solun toiminnalle. Endosytoosissa solun sisälle tulee aineita kalvosta kuroutuvan rakkulan eli vesikkelin avulla. Eksosytoosi taas toimii toisin päin ja solu vapauttaa aineita vesikkelin avulla. Myös kromosomeja täytyy liikuttaa solun sisällä mm. jakautumisen aikana. Lastin kuljettamiseen tarvitaan yleensä jokin ”rata”, esimerkiksi mikrotubulukset tai aktiinitukiranka ja jokin proteiini, joka kulkee tätä rataa pitkin. Kaiken kaikkiaan toimiva kuljetussysteemi on todella tärkeä soluille ja ilman sitä solu ei pystyisi esimerkiksi jakautumaan, saamaan tarvitsemiaan molekyylejä tai poistamaan haitallisia aineita. (Ali & Yang, 2020) Tässä työssä käsitellään lähinnä kinesiiniä, dyneiiniä sekä myosiinia, jotka ovat tunnetuimpia moottoriproteiineja. Aktiini muodostaa mikrofilamenteja, jotka ovat osa solun tukirankaa. Tukirangan muodostamiseen osallistuvat myös mikrotubulukset sekä välikokoiset säikeet. Kuvassa 1 näkyy kaavakuva näistä rakenteista solussa. Välikokoisista säikeistä ei kuitenkaan puhuta tässä työssä.

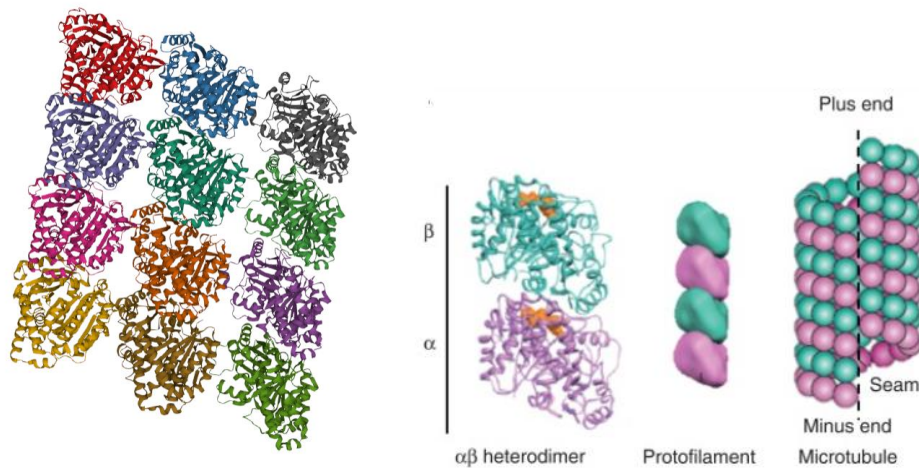


Kuva 1 Kuvassa näkyy kaavakuva solun tukirangasta. Vihreällä merkittynä ovat välikokoiset säikeet, sinisellä on merkittynä mikrotubulukset, joita pitkin liikkuvat kinesiini ja dyneiini. Punaisella taas on merkitty mikrofilamentit, jotka koostuvat aktiinista, ja joita myosiini hyödyntää liikkeessaan. Jokaiselle elementille on varattu oma kohta solusta selkeyden vuoksi, mutta todellisuudessa kaikki ovat jakautuneet soluun kuten vasemmassa nurkassa. (Solunetti: Yleisrakenne, n.d.)

## 1.1 Mikrotubulukset

Mikrotubulukset ovat dynaamisia rakenteita, jotka osallistuvat moniin eri solun toimintoihin. Ne mm. ovat osa solun sisäistä kuljetussysteemiä ja monet proteiinit kulkevat niitä pitkin. Mikrotubulukset ovat myös osa solun tukirankaa. Niiden avulla solu voi liikkua ja ne auttavat solua säilyttämään sille ominaisen muodon. Mikrotubulukset ovat osana myös mm. kromosomien liikuttamista solunjakautumisessa ja muodostavat tärkeitä rakenteita flagellaan. (Goodson & Jonasson, 2018)

Mikrotubulukset ovat onttoja rakenteita, jotka muodostuvat  $\alpha$ - ja  $\beta$ -tubuliinin muodostamista dimeereistä. Nämä dimeerit muodostavat niin kutsuttuja protofilamentteja, joista lopullinen mikrotubulus muodostuu. Tyypillinen määrä protofilamentteja on 13 mutta myös muut määrät ovat mahdollisia. Pää, jossa on ensimmäisenä  $\beta$ -tubuliini, on nimeltään pluspää ja  $\alpha$ -tubuliini taas on ensimmäisenä miinuspäässä. Mikrotubuluksen kasvaminen ja kutistuminen voi tapahtua kummasta päästä vain, mutta kasvaminen on nopeampaa pluspäässä ja hitaampaa miinuspäässä. Miinuspää sijaitsee yleensä solun keskiosissa. (Goodson & Jonasson, 2018) Kuvassa 2 vasemmalla puolella voidaan nähdä osa mikrotubuluksen rakenteesta. Siinä on muutamia tubuliinimonomeereja liittyneenä toisiinsa tasossa. Kuva on Protein Data Bankista. Kuvassa 2 oikealla puolella näkee hieman paremmin sekä protofilamentin että lopullisen mikrotubuluksen rakenneteen. Kuvasta näkyy myös hyvin protofilamenttien muodostama sauma.



Kuva 2 Vasemmallalla kuvassa osa mikrotubuluksen rakennetta. Kuvassa voi nähdä monomeeriyksiköitä sitoutuneena toisiinsa. Tämän yksikön koko on 585.31 kDa. Protein data bank koodi 5JCO. (Protein Data Bank, n.d.-e) Oikealla puolella tarkempi kuva mikrotubuluksen rakenteesta. Kuvassa näkyy kaksi monomeeriä sitoutuneena toisiinsa. Monomeerit taas muodostavat protofilamentteja ja kuten aikaisemmin on mainittu, lopullinen mikrotubulus muodostuu usein 13 protofilamentista, mutta määrä voi olla myös joku muu. Kuten kuvan oikeasta reunasta voi nähdä, jos mikrotubuluksessa on 13 protofilamenttia, muodostuu rakenteeseen sauma, jossa  $\alpha$ -monomeerit (lila) eivät ole enää vierekkäin, vaan vieressä onkin  $\beta$ -monomeeri (sininen). Kuvassa näkyvä osa havainnollistaa rakennetta, mutta on hyvä muistaa, että mikrotubulukset ovat huomattavasti pidempiä rakenteita, eivätkä niiden päät ole useinkaan noin tasaisia vaan protofilamentit voivat olla hieman eri pituisia, koska mikrotubulus kasvaa tai kutistuu jatkuvasti. (Goodson & Jonasson, 2018)

Moni asia vaikuttaa mikrotubulusten polymerisaatioon ja depolymerisaatioon. Yksi näistä on guaniinitrifostaatin (GTP) sitoutuminen. Tubuliinit ovat GTPaaseja, joten ne voivat hydrolysoida eli hajottaa GTP-molekyylejä. Kun GTP on sitoutuneena, mikrotubuluksen rakenne on vakaampi ja jäykempi, kun taas GDP-muodossa (guaniinidifosfaatti) rakenne on epävakaampi ja alkaa kutistua huomattavasti helpommin. Protofilamentit alkavat yleensä kaareutua, kun mikrotubulus depolymerisoituu. (Howard & Hyman, 2003) Voidaan myös huomata, että tubulusten polymerisoituminen on spontaani reaktio ja itseasiassa niiden hajottaminen vaatii energiaa, joka saadaan GTP:n hydrolysoinnista. (Goodson & Jonasson, 2018)

Yleisesti ottaen mikrotubulukset ovat kohtuullisen epävakaaita rakenteita ja ovatkin siten jatkuvasti liikkeessä kutistuen ja kasvaen. Kuitenkin polymerisaation jälkeen mikrotubuluksille voidaan tehdä erilaisia posttranslacionaalisia muokkauksia, esimerkiksi detyrosinaatio (aminohappo tyrosiinin poistaminen) ja asetylaatio (asetyyliryhmän liittäminen). Nämä ja muut muokkaukset vaikuttavat

tekevän tubuluksista vakaampia rakenteita. (Schulze et al., 1987) Muokkauksilla on myös vaikutusta sitoutuviin proteiineihin, koska muokkaukset voivat estää joidenkin molekyylien sitoutumista, samalla kun ne parantavat toisten sitoutumista. Näin ollen muokkaukset voivat myös ”merkitä” tubuluksia eri tehtäviin, kun niihin sitoutuvat juuri tiettyyn tehtävään tarkoitettut proteiinit. Tietynlainen epävakaus on kuitenkin tärkeää monille mikrotubulusten toiminnoille. Solun on mahdollista reagoida nopeammin muutoksiin, kun mikrotubulusten sijaintia on helpompi muokata. Esimerkiksi solun muodon muutos tai kuljetusreitien muutos on mahdollista toteuttaa nopeasti, jos jotain soluorganelleja tai vesikkeleitä tarvitaan eri puolella solua. (Goodson & Jonasson, 2018)

Mikrotubulusten rakenteeseen vaikuttavat myös niihin sitoutuvat proteiinit eli microtubule-associated proteins (MAPs). Useimmiten nämä proteiinit lisäävät mikrotubuluksen kasvua ja hidastavat kutistumista. Kuitenkin on olemassa myös kinesinejä, jotka sitoutuvat mikrotubuluksen päähän ja aiheuttavat sen depolymerisoitumisen. Nämä kinesiinit eivät osallistu aineiden kuljettamiseen mikrotubulusta pitkin. (Desai et al., 1999; Howard & Hyman, 2003) Muut mikrotubuluksiin sitoutuvat proteiinit voivat myös hidastaa depolymerisoitumista, ilman että ne vaikuttavat mikrotubuluksen kasvuun ja toisin päin. Osa proteiineista voi myös sitoutua vapaisiin tubuliini monomeereihin ja estää niiden osallistumisen mikrotubuluksen kasvuun. Lisäksi löytyy proteiineja, jotka toimivat ”korkkeina” ja estävät sekä kasvamisen että kutistumisen. Kaiken kaikkiaan mikrotubuluksiin vaikuttaa todella suuri joukko erilaisia proteiineja, joilla on hyvin suuri vaikutus mikrotubulusten rakenteeseen ja toimintaan. (Goodson & Jonasson, 2018)

## 1.2 Aktiini

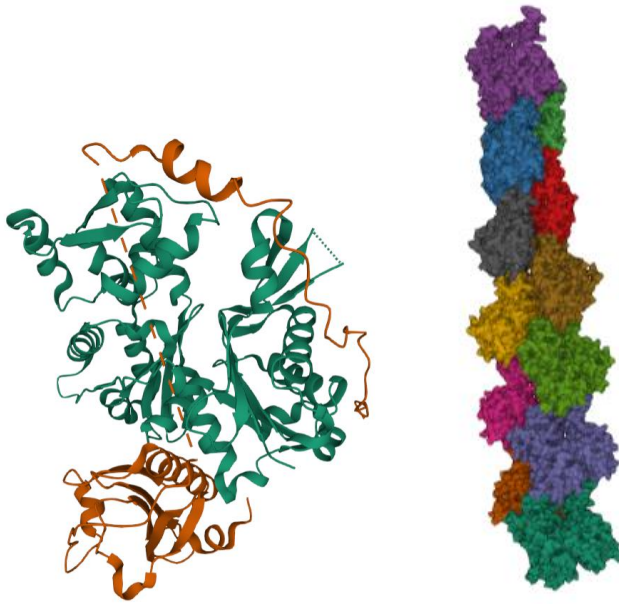
Samoin kuin mikrotubulukset, myös aktiini on erittäin tärkeä solulle. Se on yksi kaikista yleisimmistä proteiineista solussa ja on tärkeä osa mm. solun rakennetta, se antaa solulle muodon ja vaikuttaa myös solun liikkumiseen. (Dominguez & Holmes, 2011) Yksi tärkeistä rooleista aktiinilla on lihassupistuksen toteuttaminen yhteistyössä myosiinin kanssa, mutta tämä vain mainintana, koska lihassupistusta ei tässä työssä juurikaan käsitellä.

Ihmisillä on kolme erityyppistä aktiinia,  $\alpha$ -aktiinia löytyy lihassoluista,  $\beta$ -aktiinia taas on muissa kuin lihassoluissa. Viimeinen on  $\gamma$ -aktiini, jota löytyy kummastakin. Aktiinimonomeeri sen sijaan koostuu neljästä alayksiköstä ja aktiinia esiintyy kahdessa eri muodossa. G-aktiini on monomeeristä,

kun taas F-aktiini muodostaa filamentteja. F-aktiini on huomattavasti tehokkaampi ATPaasi, kuin G-aktiini. ATPaasit hydrolysoivat ATP-molekyylejä (adenosiinitrifosfaatti), tehden niistä ADP-molekyylejä (adenosiinidifosfaatti). F-aktiini muodostaa kierteisen rakenteen, kun kaksi aktiiniketjua kiertyy toistensa ympärille. (Pollard, 2016)

Toisin kuin mikrotubulukset, aktiinin muodostama rakenne voi olla haaroittunut. Ja siinä missä mikrotubulusten polymerisoituminen ja depolymerisoituminen voi olla hyvinkin nopeaa, aktiinitukiranka on huomattavasti pysyvämpi rakenne. Sekin kyllä muuttuu jatkuvasti, mutta paljon hitaammalla tahdilla kuin mikrotubulukset, jotka ovat lähes jatkuvassa liikkeessä. (Dominguez & Holmes, 2011; Pollard, 2016)

Aktiinimonomeerit ovat harvoin solussa vapaina, vaan niihin on sitoutuneena proteiineja, jotka joko estävät monomeerien osallistumisen polymerisaatioon tai vastaavasti ne voivat auttaa sitoutumisessa. Tällainen proteiini on esimerkiksi profiliini, joka auttaa sitoutumisessa tai tymosiini- $\beta$ 4, joka taas estää monomeerien polymerisoitumista. (Pollard, 2016) Aktiinimonomeerit ovat vapaina ollessaan pääsääntöisesti ATP-muodossa, ja sellaisena ne polymerisoituvat. Kuitenkin valmiissa aktiinifilamentissa olevia monomeerejä hydrolysoidaan ja sen jälkeen ne ovat ADP-muodossa, joka depolymerisoituu helpommin. Depolymerisoitumisen jälkeen vapaat ADP-muodossa olevat monomeerit muutetaan takaisin ATP-muotoon. Aktiinien polymerisoituminen on kuitenkin monimutkainen tapahtuma, johon osallistuu monia eri molekyylejä, kuten formiini. (Schaks et al., 2019) Kuvassa 3 vasemmalla puolella näkyy monomeerinen aktiini, joka on ADP-muodossa. Kuva on lähteestä Protein Data Bank. Oikealla puolella taas näkyy pala aktiinifilamenttia. Kuvasta voi paremmin nähdä filamentin kierteisen rakenteen ja monomeerien sjoittumisen suhteessa toisiinsa.



*Kuva 3 ADP-muodossa oleva aktiinimonomeeri. Aktiinifilamentit muodostuvat toisiinsa sitoutuvista monomeereistä. Kuvan yksiköllä on kokoa 253.88 kDa ja PDB koodi on 4PKH. (Protein Data Bank, n.d.-d) Oikealla puolella näkyy pala aktiinifilamentista. Eri väriset kohdat kuvaavat aina yhtä monomeeria. Kuten kuvasta näkyy, filamentti muodostaa hieman kierteisen rakenteen. Filamentissa toistuva jakso muodostuu aina neljästä toisiinsa sitoutuneesta monomeeristä. Filamentin PDB koodi 3G37 (Protein Data Bank, n.d.-b)*



## 2 MIKROTUBULUKSEEN SITOUTUVAT MOOTTORIPROTEIINIT

Kuten aiemmin on mainittu, solu tarvitsee aineiden kuljetusta ja siihen on erilaisia mekanismeja. Tässä kappaleessa keskitytään kahteen tiettyyn moottoriproteiiniin, jotka kuljettavat erilaisia kuormia mikrotubuluksia pitkin. Nämä moottoriproteiinit ovat kinesiini ja sytosolinen dyneiini. Niiden rakenne ja toiminta on kaikin puolin toisistaan poikkeavaa, mutta ne tekevät yhteistyötä kuljettamalla kuormia eri suuntiin tubuluksia pitkin. Tässä osiossa käsitellään tarkemmin näiden kahden proteiinin ominaisuuksia.

### 2.1 Kinesiini

Kinesiinit ovat superperhe, jonka molekyylit osallistuvat solun sisäiseen aineiden kuljetukseen. Ne kulkevat mikrotubuluksia pitkin hyödyntäen energiaa adenosinitrifosfaatin (ATP) hydrolysoinnista. Kinesiinit kuljettavat erilaisia lasteja, kuten aiemmin mainitut soluorganellit ja vesikkelit. Kinesiineissä on moottoriosan, joka sitoutuu mikrotubulukseen ja jossa ATP:n hydrolysoiminen tapahtuu. Tämä osa on suunnilleen samanlainen eri kinesineillä. Lisäksi on niin kutsuttu häntäosa, jonka avulla proteiini kiinnittyy kuljetettavaan lastiin. Häntäosa voi vaihdella hyvinkin paljon riippuen kinesiinistä ja sen tehtävästä solussa. (Ali & Yang, 2020) Kinesiinit harvemmin esiintyvät monomeereinä, mutta ne voivat esiintyä esimerkiksi homodimeereinä tai heterotrimeereinä. (Marx et al., 2005) Homodimeeri koostuu kahdesta samanlaisesta yksiköstä. Heterotrimeeri taas sisältää kolme keskenään erilaista yksikköä.

#### 2.1.1 Luokat

Kinesiineihin kuuluu valtava joukko eri proteiineja. Aiemmat nimeämiskäytännöt onkin todettu sekaviksi ja nykyään on käytössä yhtenäisempi luokittelu. Kinesiinit jaetaan 14 perheeseen niiden sekvenssin perusteella. Perheiden nimet ovat Kinesiini-1 – Kinesiini-14 ja luokittelussa on pyritty käyttämään vanhoja käytössä olleita nimiä silloin kun se on ollut mahdollista selkeyden vuoksi. (Lawrence et al., 2004) Luokittelu tapahtuu kinesinien moottoriosan perusteella, koska häntäosan vaihtelu voi olla hyvinkin suurta. Luokittelu tapahtuu geenin perusteella, joten vaikka kinesinejä tunnetaan useita, kaikkien toimintoja, kuljetettavaa lastia tai merkitystä solulle ei vielä tunneta. (Ali & Yang, 2020)

Esimerkiksi kinesiiini-1 perheeseen kuuluvat molekyylit kuljettavat soluelimiä ja niiden rakenteelle on yhteistä mm.  $\beta$ -laskos niskaosassa sekä kierteisen osan samankaltaisuus. Myös kinesiiini-2 luokan proteiinit osallistuvat soluelimien kuljetukseen. Niillä on kuitenkin monia muitakin tehtäviä, esim. ne osallistuvat flagellin toimintaan sekä spermatogeneesiin (Henson et al., 1997). Tämä perhe sisältää yhteensä kolme alaluokkaa, kahdella näistä on tapana muodostaa heterodimeereitä, kun taas kolmas muodostaa useimmiten homodimeerejä. (Miki et al., 2005)

Kinesiiini-3 proteiineille on tyypillistä niskaosassa oleva  $\beta$ -laskos sekä kierre. Tämän luokan kinesiiinit kuljettavat myös soluelimiä ja muistuttavat jossain määrin kinesiiini-1 luokan proteiineja. Kinesiiini-3 jakaantuu yhteensä viiteen alaluokkaan ja ne esiintyvät yleensä joko monomeereinä tai homodimeereinä (Dorner et al., 1999). Myös kinesiiini-4 voidaan jakaa viiteen alaluokkaan. Tämä perhe osallistuu mm. soluelimien kuljetukseen (Sekine et al., 1994). Näitä moottoriproteiineja voi löytyä sekä tumasta että sytosolista. Kuitenkaan kaikkien tehtäviä ei vielä tunneta. (Miki et al., 2005)

Kinesiiini-5 on yksi kaikkein yhtenäisimmistä luokista sekvenssin perusteella eikä sitä voida jakaa alaluokkiin samalla tavalla kuin muita luokkia. Nämä muodostavat usein homotetrameerejä ja osallistuvat tumasukkulan muodostumiseen (Cole et al., 1994). Tumasukkula ohjaa kromosomien liikettä mitoosin eli solunjakaantumisen aikana. Kinesiiini-6 voidaan jakaa kahteen alaluokkaan ja niille tyypillinen rakenne on moottoriosassa oleva silmukka. Sen toiminta ei ole aivan selvillä, mutta vaikuttaisi että se mahdollistaa kinesiinin progressiivisen etenemisen, vaikka kyseinen moottoriproteiini esiintyykin usein monomeerinä (Kikkawa et al., 2000). Kinesiiini-6 luokalla on mm. tehtävä sytokineesissä, jossa sytosoli jakautuu ja jakautuneet solut kuroutuvat irti toisistaan. Tämä luokka ei esiinny kasveilla, koska niiden solunjakauminen on erilaista. (Miki et al., 2005)

Kinesiiini-7 luokan proteiineille yhteistä on varsin pitkä niskaosa eikä perhe jakaudu alaluokkiin. Niiden tehtäviin kuuluu mm. mikrotubuluksiin sitoutuminen kinetokorissa (Weaver et al., 2003). Kinetokori on kohta kromosomissa, johon mikrotubulukset kiinnittyvät, jotta kromosomeja voidaan liikuttaa mitoosin aikana. Kinesiiini-8 taas voidaan jakaa kahteen eri alaluokkaan ja niiden tehtävät vaihtelevat suuresti riippuen eliöstä, esimerkkinä mitokondrioiden kuljettaminen (Miki et al., 2005; Pereira et al., 1997).

Kinesiiini-9 voidaan jakaa kahteen luokkaan. Tämän luokan tehtävät eivät ole vielä tiedossa, mutta se on tyypillinen nisäkkäille eikä löydy esimerkiksi kasveista tai sienistä. Kinesiiini-10 luokan

tyypillisiin ominaisuuksiin kuuluu DNA:han sitoutuva alue, ja toisin kuin muissa luokissa, niskaosa ei ole erityisen yhtenäinen proteiinien kesken. Myöskään tämän luokan tehtävät eivät ole aivan selvillä, mutta luultavasti osallistuvat kromosomien liikutteluun. (Miki et al., 2005; Tokai et al., 1996)

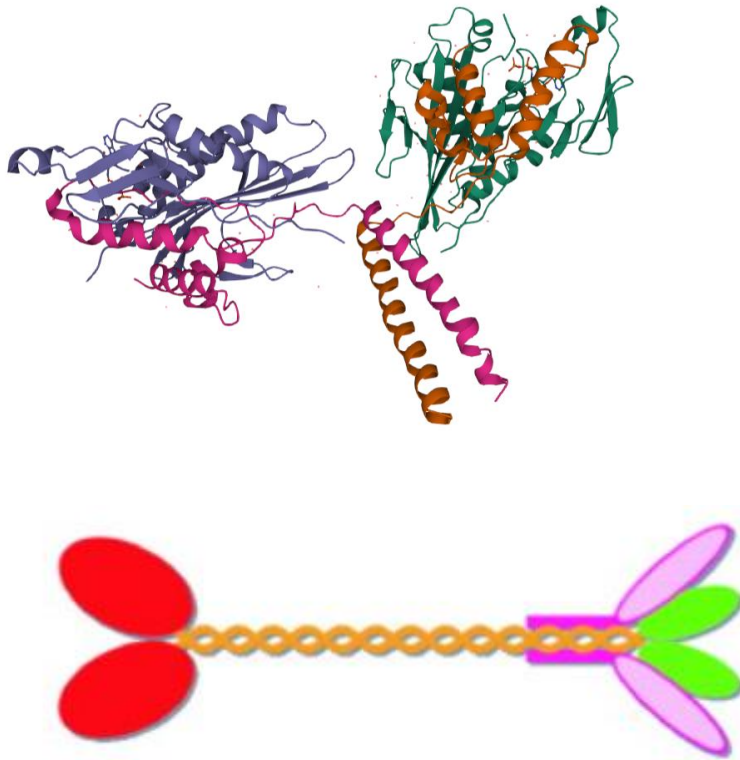
Kinesiini-11 eroaa hyvin paljon muista luokista, koska se ei kulje ollenkaan mikrotubuluksia pitkin (Lillie & Brown, 1998). Nämä proteiinit kuitenkin voivat hydrolysoida ATP:tä, mikä muissa luokissa on tärkeä osa nimenomaan liikkumisessa, mutta tässä luokassa sen tehtävästä ei ole varmuutta. Näiden proteiinien epäillään toimivan signaalin välityksessä ja vaikuttavan mm. reseptorien aktiivisuuteen (Wolf et al., 1998). Luokka 11 ei myöskään jakaudu alaluokkiin. Kinesiini-12 voidaan sen sijaan jakaa kolmeen alaluokkaan. Proteiineille on yhteistä  $\beta$ -laskos niskaosassa, mutta niiden varsiosa ei ole yhtä yhtenäinen. Tehtäviä tällä luokalla on erilaisia, mutta yksi tärkeä rooli on mitooseen osallistuminen (Rogers et al., 2000). (Miki et al., 2005)

Luokka 13 eli kinesiini-13 voidaan jakaa kahteen eri alaluokkaan. Tämän luokan yksi tunnetuimpia tehtäviä on mikrotubulusten depolymerisoiminen (Desai et al., 1999). Kinesiini-14 jaetaan kahteen alaluokkaan, 14A ja 14B. Kinesiini-14A:lla on monia tehtäviä, mutta muun muassa se osallistuu mitooseen (Kuriyama et al., 1995). Kinesiini-14B jaetaan itsessään vielä kolmeen eri alaluokkaan. Tämän luokan proteiinit voivat mm. osallistua endosytoosiin (Bananis et al., 2003). (Miki et al., 2005)

### **2.1.2 Rakenne ja toiminta**

Kinesiinit koostuvat kolmesta pääosasta. Ensimmäinen osa on moottori, joka sijaitsee kinesiini-1 luokassa N-terminuksessa. Moottoriosassa sisältää mikrotubulukseen sitoutuvan alueen sekä ATP:tä hydrolysoivan alueen. Moottorialueeseen kuuluu lisäksi niin kutsuttu niskaosa, joka liittyy moottorialueen seuraavaan osaan eli varteen. Moottoriosasta voidaan puhua myös raskaana ketjuna. Varsi on se kohta, jossa dimeerit kietoutuvat yhteen ja muodostavat kompleksin. Viimeisenä tulee C-terminuksessa sijaitseva häntäosa, jonka avulla kinesiini sitoutuu kuljetettavaan lastiin. Häntäosaan on sitoutuneena myös kevyt ketju. N-terminuksella viitataan aminohappoketjun päähän, jossa viimeisenä on aminoryhmä, ja C-terminuksessa taas karboksyyli-ryhmä. Pääsääntöisesti kinesiinit kulkevat kohti mikrotubuluksen pluspäättä, silloin moottoriosassa sijaitsee N-terminuksessa ja kyseessä on N-tyyppi. Kuitenkin pieni osa kulkee myös kohti miinus-päättä, silloin moottoriosassa sijaitsee C-terminuksessa ja kyseessä on C-tyyppi. Kolmannessa ryhmässä moottori sijaitsee myös C-

terminuksessa, mutta ne hajottavat mikrotubuluksia ja tällöin puhutaan M-tyyppin kinesiinistä. (Marx et al., 2005) Kuvassa 4 näkyy osa dimeeristä rotan kinesiiniä. Kuvassa voi nähdä molemmat moottorialueet sekä alueen, joka liittää moottorin varteen. Kuvan alalaidassa näkyy myös kaavakuva tyypillisestä dimeerisen kinesiinin rakenteesta.



*Kuva 4 Kuvassa näkyy dimeerinen rotan kinesiini. Tarkemmin sanottuna, kuvassa näkyy kaksi moottoriosaa ja kierteet, jotka ovat liittyneenä varsiosaan. Kompleksi paino on 81.5 kDa. (Protein Data Bank, n.d.-c) Alempi osa kuvasta on kaavakuva tyypillisestä dimeerisen kinesiinin rakenteesta. Punaiset osat kuvaavat moottoria. Keltainen on varsi, josta dimeerit ovat kiertyneet yhteen. Vihreä taas kuvaa häntäosaa. Tästä kohdasta kinesiini sitoutuu kuormaansa. Violetilla taas näkyvät kevyet ketjut. (Marx et al., 2005)*

Kuten aiemmin on mainittu, useimmiten kinesiinit eivät esiinny monomeereinä, mutta se on myös mahdollista. Kinesiinit, erityisesti luokista 2 ja 3, voivat toimia myös ryhmänä. Monomeerit sitoutuvat kuljetettavaan lastiin ja alkavat kulkea mikrotubulusta pitkin samalla tavalla kuin dimeerit. Koska monomeerejä on sitoutuneena useampi kappale, joku on aina sitoutuneena mikrotubulukseen eikä lasti irtoa. Mutta ryhmänä toimittaessa, proteiinin varsiosa ei voi olla kovin pitkä, jotta toiminta säilyy tehokkaana, kun taas dimeerisissä kinesiineissä varsiosan pituudella ei ole niin suurta merkitystä ja dimeerit voivat liikutella raskaampia kuormia. (Schimert et al., 2019)

Kinesiini kulkee siirtämällä takana tulevaa moottoriosaa aina noin 16 nm kerrallaan toisen moottoriosan ohi. Näin ollen kinesiini etenee yhdellä askeleella noin 8 nm. Tällainen eteneminen, jossa kumpikin osa liikkuu vuorotellen, vaatii tarkkaa säätelyä. Säätelymekanismista ei ole täyttä varmuutta, mutta yksi teoria on niin sanottu porttiteoria. Tässä teoriassa toinen osa ottaa askeleen, mutta jää sitten eräänlaiseen välitilaan. Vasta kun toinen moottori ottaa askeleen, tapahtuu muutos proteiinin konformaatioissa, joka vapauttaa ensimmäisen moottorin uuteen sykliin. (Gemerich & Vale, 2009) Kinesiinin moottoriosan ydin koostuu yhteensä seitsemästä  $\beta$ -laskoksesta ja sen kummallakin puolella on kolme  $\alpha$ -kierrettä, eli kierteitä on yhteensä kuusi kappaletta. (Kull & Endow, 2013)

Askeleen alussa kinesiini on tiukasti sitoutuneena mikrotubulukseen. ATP:n sitoutuminen ja hydrolysoiminen käynnistää moottoriosan liikkeen. Vasta fosfaattiosan irtoaminen saa kinesiinin irtoamaan ja se alkaa hakeutumaan kohti uutta sitoutumispaikkaa. Tässä vaiheessa ADP on kuitenkin vielä sitoutuneena kinesiiniin. ADP:n irtoaminen mahdollistaa moottoriosan uudelleen sitoutumisen mikrotubulukseen ja kiertäminen voi alkaa alusta. (Kull & Endow, 2013)

Kinesiinit ovat hyvin tärkeitä soluille, näin ollen myös niiden säätely on tarkkaa. Yksi tärkeimmistä säätelymekanismeista vaikuttaisi olevan autoinhibitio. Silloin kun kuormaa ei ole saatavilla, kinesiineillä on eri mekanismeja, joilla laittaa itsensä ”lepotilaan”. Ilman säätelyä kinesiinit käyttäisivät runsain mitoin ATP:tä turhaan ja mikrotubulukset olisivat hyvin ruuhkautuneita. Autoinhibitiossa on usein erilainen konformaatio. Esimerkiksi häntäosa voi olla sitoutuneena moottoriosaan ja näin estetään kinesiinin toiminta. (Verhey & Hammond, 2009) Kuten aiemmin on mainittu, kinesiini koostuu raskaasta ketjusta sekä kevyestä ketjusta. Tutkimusten mukaan kevyellä ketjulla olisi merkittävä rooli kinesiinin autoinhibitiossa. Ilman sitä, raskas ketju sitoutuu huomattavissa määrin mikrotubuluksiin vaikka kuorma ei olisi sitoutuneena, kun taas kevyen ketjun läsnä ollessa turhan sitoutumisen määrä väheni merkittävästi. Kevyt ketju vaikuttaisi stabiloivan häntäosan sitoutumista moottoriosaan, joka itsessään on autoinhiboiva reaktio. (Verhey et al., 1998) Mikrotubuluksiin sitoutuvilla proteiineilla eli microtubule-associated proteins (MAP's) -proteiineilla on merkitys mikrotubulusten toiminnassa, sekä kinesiinien toiminnassa. Niiden sitoutuminen tubulukseen voi estää tiettyjen kinesiinien sitoutumisen tai ne voivat irrottaa ne ennen aikaisesti. Näin ollen ne ovat osa myös kinesiinien säätelyä. (Verhey & Hammond, 2009)

Kun kinesinejä alettiin aluksi tutkia, vaikutti siltä, että kuorma sitoutuisi suoraan häntäosaan. Myöhemmin on kuitenkin selvinnyt, että kinesineillä on erilaisia adaptoriproteiineja, joiden avulla kuorman sitoutuminen tapahtuu. Yksi esimerkki näistä on scaffold proteiinit. Näillä on erityisesti merkitystä vesikkelien sitoutumisessa. Ne sitoutuvat kinesiinin kevyeen ketjuun ja keräävät ympärilleen muita sitoutumiseen osallistuvia proteiineja, kunnes lopulta itse vesikkeli voi sitoutua kompleksiin. Kuitenkin kinesini sisältää myös muita kohtia kuorman sitoutumiselle. (Verhey et al., 2001)

Kuorman sitoutuminen on tietenkin hyvin tärkeää kinesiinien toiminnalle, mutta aivan yhtä tärkeää on myös kuorman irtoaminen. Kinesinejä on monia erilaisia, kuten myös niiden kuormia, joten myös tapoja irrottaa kuorma moottoriproteiinista löytyy monenlaisia. Yksi tapa on kuitenkin kinaasit. Esimerkiksi  $Ca^{2+}$ /kalmoduliini riippuvainen proteiini kinaasi II (CAMKII) voi fosforyloida seriinin kinesiinin häntäosassa, mikä aiheuttaa kuorman irtoamisen. Fosforylointi vaikuttaa nimenomaan scaffold proteiineihin, jotka ovat osa sitoutumisen mahdollistavaa kompleksia. Ei kuitenkaan ole varmuutta onko kinesini sitoutuneena mikrotubulukseen vai jo irronnut siinä vaiheessa, kun kuorma irtoaa. Myös muut kinaasit voivat fosforyloida kinesiniä, mutta ne eivät välttämättä suoraan irrota kuormaa vaan voivat vaikuttaa esimerkiksi kinesiinin autoinhibitioon. (Guillaud et al., 2007)

## 2.2 Dyneiini

Dyneiini on toinen yleinen moottoriproteiini kinesiinien lisäksi. Dyneiinit liikkuvat myös mikrotubuluksia pitkin, mutta toisin kuin kinesinit, ne liikkuvat kohti mikrotubuluksen miinuspäätä. Dyneiinit ovat valtavia proteiinikomplekseja ja niitä löytyy eukaryoottisoluista vähemmän kuin kinesineja. Samoin kuin kinesinit, myös dyneiinit kuljettavat vesikkeleitä, osallistuvat mitooseen ja ovat osallisena Golgin laitteen toiminnassa. Golgin laite on tärkeä paikka proteiinien muokkaukselle ja lajittelulle (Marx et al., 2005; Vallee et al., 2004)

Dyneiineistä valtaosa on osa esimerkiksi flagellaa ja osallistuu sen liikuttamiseen. Ainoastaan kaksi on niin kutsuttuja sytoplasmisia dyneiinejä, jotka kuljettavat eri solun osia mikrotubuluksia pitkin. (Vallee et al., 2004) Tässä työssä keskitytään erityisesti sytoplasmisen dyneiinin ominaisuuksiin.

### 2.2.1 Luokat

Toisin kuin kinesiin tapauksessa, dyneiineistä ei puhuta perheinä. Kuten aiemmin on jo mainittu, eläinsolusta löytyy kaksi erilaista sytoplasmista dyneinikompleksia. Nämä on nimetty sytoplasmisen dyneiini 1 ja 2. Sytoplasmisen dyneiini 1 on yleisempi näistä kahdesta. Näiden kahden kompleksin alayksiköt on nimetty kompleksin mukaan. Alayksiköiden nimeämiseen on käytetty mm. sanoja raskas ketju, välimuotoinen tai kevyt ketju, riippuen yksikön koosta. Tällä järjestelmällä on pyritty selkeyttämään dyneiniinien nimeämistä, joka on aiemmin voinut olla hyvin hämmentävä. (Pfister et al., 2005) Tämä nimeämistyyli käy järkeen, koska dyneinit ovat todella suuria komplekseja, näin ollen yksittäiset niihin liittyneet proteiinit voivat vaihdella ja luokittelu olisi vaikeampaa, kun taas kinesiini on kohtuullisen itsenäinen proteiini, joten niiden nimeäminen yksiköinä on huomattavasti helpompaa.

Molemmille sytoplasmisille dyneiineille on yksi tyypillinen raskas ketju, mutta erityisesti dyneiini-1 kompleksi voi vaihdella muiden ketjujen osalta, suurin vaihtelu on kevyessä ketjussa, joita on yhteensä kuusi erilaista kolmesta eri perheestä. Nämä perheet ovat Tctex1, Roadblock ja LC8. (Pfister et al., 2005)

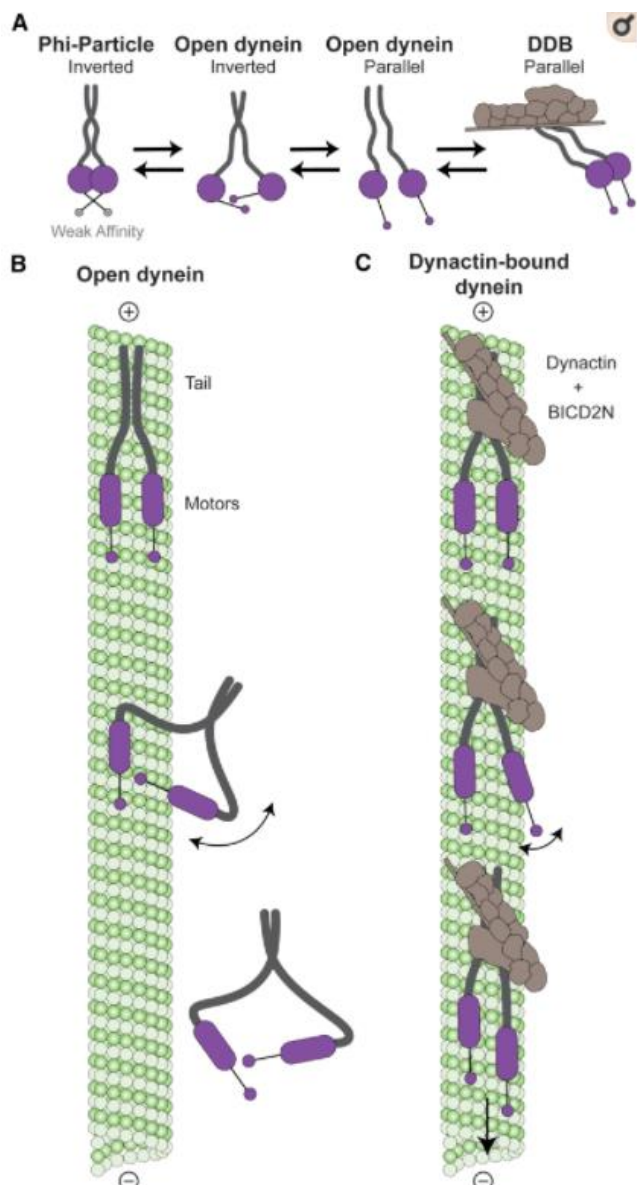
### 2.2.2 Rakenne ja toiminta

Kaikissa dyneiineissä on raskas ketju, jossa tapahtuu ATP:n hydrolysointi. Kyseinen osa on myös kaikista suurin dyneinin ketjuista. Raskaan ketjun lisäksi dyneiini koostuu monista muista ketjuista. Nämä osat voivat vaihdella suuresti eri luokkien tai ryhmien välillä, riippuen kyseisen proteiinin tehtävästä. (Vallee et al., 2004) Dyneiini tarvitsee kuitenkin toimiakseen myös muita proteiineja. Yleensä siihen on liittyneenä dynaktiini sekä proteiineja, joiden avulla kompleksi yhdistyy kuormaansa. (K. Zhang et al., 2017).

Dyneinin moottoriosassa on yhteensä kuusi alayksikköä, neljä ensimmäistä voivat hydrolysoida ATP:tä. Ensimmäisellä alayksiköllä on tärkeä osa dyneinin liikkumisessa ja kolme muuta luultavasti osallistuvat enemmän sääntelyyn, mutta dyneinin liikkeitä ei tunneta aivan yhtä hyvin kuin kinesiin. (Gennerich & Vale, 2009)

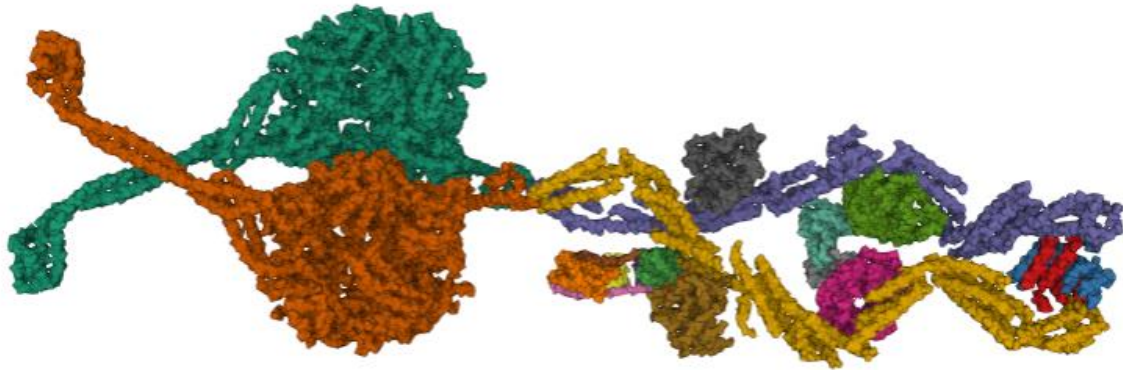
Dynaktiini on tärkeä osa dyneinikompleksin toimintaa. Kuten kuvasta 5 voidaan nähdä, dyneinin varret liikkuvat hyvin paljon ja näin ollen sitoutuminen mikrotubulukseen olisi vaikeaa ja proteiini irtoaisi jatkuvasti eikä kuorman kuljetus onnistuisi. Sen sijaan dynaktiini jäykistää tämän rakenteen ja saa dyneinin varret pysymään yhdensuuntaisina. Tämän ansiosta dyneini pystyy helpommin uudelleen sitoutumaan mikrotubulukseen ja kuljettamaan kuormaa, sen sijaan, että irtoaisi jatkuvasti. (K. Zhang et al., 2017) Dyneinikompleksi sisältää myös erilaisia ”aktivoivia adaptoreita”. Nämä aktivaattorit ovat usein kierteisiä rakenteita, ja niillä on tehtävä esimerkiksi auttaa dynaktiinin sitoutumisessa kompleksiin. Monilla näistä molekyyleistä on vaikutusta dyneinin liikkumiseen sekä kuorman sitoutumiseen. (Reck-Peterson et al., 2018)





Kuva 5 Kuvassa näkyy dynaktiinin vaikutus dyneiinin sitoutumiseen ja liikkumiseen. Kuvassa A voidaan nähdä dyneiinin eri muodot. Phi-muodossa dyneiinin moottorit ovat dimerisoituneet, mikä inhiboi sitoutumista mikrotubulukseen. Lisäksi on olemassa avoin muoto ja siitä kaksi versiota, joiden määrä on tasapainossa solussa. Kuten kuvasta voidaan nähdä dynaktiini saa dyneiinin asettumaan avoimeen muotoon, jossa varret ovat yhdensuuntaiset. Tällöin sitoutuminen mikrotubulukseen on voimakkaampaa, kuin jos varret ovat ristissä. Kuvassa B taas voidaan nähdä, että ilman dynaktiinia dyneiinin kulkeminen on hidasta, koska varsien liike on hyvin suurta ja ne ovat usein ristissä. Kuvassa C dynaktiini on vakauttanut dyneiinin varret yhdensuuntaisiksi. Tällöin dyneiini todennäköisemmin sitoutuu mikrotubulukseen ja "askellus" on jatkuvaa. (K. Zhang et al., 2017)

Kuvassa 6 voidaan nähdä kokonainen kompleksi sytosolisesta dyneiinistä. Vihreä ja oranssi alue näyttävät sekä moottoriosan että mikrotubulukseen sitoutuvan osan. Violetti ja keltainen alue taas ovat häntäosia, joihin on liittyneenä muita proteiineja. Tästä kohdasta dyneiini sitoutuu kuormaansa. Kyseisessä kuvassa oleva dyneiini on phi-muodossa, eli se autoinhiboi sitoutumista mikrotubulukseen ja on ikään kuin lepotilassa.



*Kuva 6 Kuvassa näkyy kokonainen sytosolinen dyneiini autoinhiboidussa muodossa eli kyseessä on niin sanottu phi-partikkeli. Kompleksin koko on 883.56 kDa. 5NVU Kuvassa näkyvä vihreä ja oranssi osa kuvaavat dimeerisen dyneiinin raskaita ketjuja, sekä mikrotubulukseen sitoutuvia osia. keltaisella ja violetilla olevat osat ovat varsia, joihin on liittyneenä muita tarvittavia proteiineja, esimerkiksi kevyitä ketjuja. (Protein Data Bank, n.d.-f)*

Dyneiinin liikkuminen eroaa aika paljon kinesiinien mekaniikasta. Ensinnäkin dyneiinin moottoriosaa ei ole se, joka sitoutuu mikrotubuluksiin, vaan siihen on erilliset varret, joiden päässä on mikrotubuluksiin sitoutuva alue. Nämä varret näkyvät myös yllä olevassa kuvassa 6 aivan vasemmassa reunassa. Kuten aiemmin on mainittu, dyneiinin moottoriosan kuudesta alayksiköstä vain ensimmäinen hydrolysoi ATP:tä sekä osallistuu suoraan molekyylin liikkumiseen. Silloin kun ATP ei ole sitoutuneena, dyneiini on tiukasti kiinni mikrotubuluksessa. ATP:n sitoutuminen aloittaa liikkeen ja saa dyneiinin välittömästi irtoamaan tubuluksesta. ATP:n sitoutuminen aiheuttaa konformaation muutoksen, joka välittyy moottoriosasta aina mikrotubulukseen sitoutuvaan alueeseen asti. Samaan aikaan niskaosa alkaa uudelleen asettua, jotta liike eteenpäin mahdollistuu. Kun ATP

hydrolysoidaan, dyneiini sitoutuu uudestaan tubulukseen, mutta toistaiseksi sitoutuminen on heikkoa. Kun dyneiini sitoutuu kunnolla, samalla vapautuu fosfaattiosa. Fosfaattiosan vapautuminen taas aiheuttaa konformaation muutoksen, jossa niskaosa palaa alkuperäiseen asentoon. Tämä siirtää koko molekyyliä ja mukana tulevaa lastia eteenpäin. Lopulta ADP irtoaa dyneiniinistä ja askellus voi alkaa alusta. (Roberts et al., 2013)

Dynaktiini on yksi tärkeimmistä dyneiiniin sitoutuvista proteiineista, mutta myös kahdella muulla molekyylillä tuntuu olevan huomattava vaikutus dyneiinin toimintaan. Lis1 on molekyyli, joka hidastaa dyneiinin nopeutta, mutta lisäksi se vaikuttaa parantavan dyneiinin sitoutumista mikrotubuluksiin ja näin ollen pidentää huomattavasti aikaa, jonka dyneiini voi pysyä sitoutuneena. Jos Lis1 konsentraatio nostetaan todella suureksi, dyneiini voi jopa lähes pysähtyä. Näin ollen Lis1 luultavasti vaikuttaa moottoriosan ja mikrotubulukseen sitoutuvan osan väliseen yhteyteen. Toinen molekyyli on Nudel, se vaikuttaa tehostavan Lis1 toimintaa, niin että sen konsentraation ei tarvitse olla yhtä suuri, mutta nopeus ei hidastu yhtä paljoa. (Huang et al., 2012) Dyneiini pystyy siis kuljettamaan esim. vesikkeleitä ja soluelimiä huomattavasti tehokkaammin ja pidemmälle, kun se ei irtoa yhtä helposti.

Kuten on todettu jo useasti, dyneiini kuljettaa lastia kohti mikrotubulusten miinuspäätä. Näin ollen dyneiinin pitää päästä jotenkin mikrotubulusten pluspähän, josta se voi lähteä liikkeelle. Tutkimusten mukaan dyneiini ja dynaktiini tarvitsevat toisiansa myös ennen askelluksen aloitusta. Ne auttavat toisiaan sitoutumaan mikrotubuluksen pluspähän. Samoin ylempänä mainittu Lis1 proteiini tehostaa kompleksin sitoutumista. On myös havaittu että, kinesiini auttaa siirtämään dyneiinin moottoriosia, kuten myös dynaktiinia, takaisin kohti pluspäätä, jossa kompleksi taas kasataan. Mutta myös muut vaihtoehdot ovat mahdollisia. (J. Zhang et al., 2003)

Kuorman kuljettamisen lisäksi on myös tärkeää vapauttaa lasti takaisin soluun. Dyneiniillä tämä mekanismi ei ole vielä täysin selvillä, mutta tutkimuksen mukaan Arl3 ja LC8 olisivat tärkeitä molekyylejä tässä tehtävässä (Jin et al., 2014). Arl3 eli ADP-ribosylation factor-like 3, osallistuu vesikkelien kuljetuksen säätelyyn. LC8 on yksi dyneiinin kevyistä ketjuista. Näiden kahden yhteistoiminta saa dynaktiini/kuorma -kompleksin irtoamaan dyneiniinistä. Dyneiinin toiminta vaatii dynaktiinia toimiakseen, joten niiden sitoutuminen on vahva. Kahden eri proteiinin yhteistyöllä luultavasti varmistuu, ettei dynaktiini irtoa liian aikaisin. LC8:lla vaikuttaisi olevan jonkinlainen rooli myös dyneiniinien takaisin kuljetuksessa tubulusten pluspähän. (Jin et al., 2014)

### 2.3 Kinesiinin ja dyneiinin erot

Sekä kinesiini että dyneiini ovat solun moottoriproteiineja, jotka liikkuvat mikrotubuluksia pitkin. Kinesiini kulkee pääsääntöisesti kohti mikrotubuluksen pluspäättä ja dyneiini kohti miinuspäättä. Rakenteeltaan nämä proteiinit ovat hyvin erilaisia. Dyneiinit mm. ovat huomattavasti suurempia komplekseja ja ne koostuvat useammasta osasta kuin kinesiinit. Kinesiinejä toisaalta löytyy eukaryoottisoluista huomattavasti suurempi määrä ja ne onkin jaettu 14 eri luokkaan. Kuormaa kuljettavia dyneiinejä sen sijaan on huomattavasti vähemmän. (Marx et al., 2005)

Eri kinesiini- ja dyneiini- luokkiin kuuluvat proteiinit kuljettavat erilaista lastia ja niillä on erilaisia tehtäviä. Esimerkiksi aiemmin mainitut, soluorganellien kuljetus, mitooseen osallistuminen, mikrotubulusten depolymerisoiminen ja monia muita. Dyneiini sen sijaan voi kuljettaa hyvinkin erilaisia kuormia siihen liittyneiden adaptoriproteiinien avulla. (Marx et al., 2005; K. Zhang et al., 2017) Toisaalta tässä on aiheena sytosolinen dyneiini. Dyneiinejä löytyy myös muita, ja kuten aiemmin mainittu, ne osallistuvat esimerkiksi flagellan toimintaan. (Vallee et al., 2004)

Myös moottoriosan toiminta on erilaista kuten aiemmin on mainittu. Kinesiinin moottoriosaa koostuu yhdestä osasta ja sitoutuu suoraan mikrotubulukseen. Dyneiinin moottoriosaa koostuu kuudesta alayksiköstä ja sitoutuu erillisellä varrella mikrotubulukseen. Vaikka voisikin kuvitella, että nämä kaksi moottoriproteiinia muistuttaisivat enempi toisiaan, koska ne kulkevat samaa ”rataa”, vain eri suuntiin, todellisuudessa niillä on hyvin vähän yhteistä. Seuraavassa osiossa puhutaan aktiinitukirankaa hyödyntävästä myosiinistä, jolla on itseasiassa paljon enemmän yhteistä kinesiinin kanssa, kuin dyneiinillä ja kinesiinillä keskenään.

Kinesiinit ja dyneiinit tekevät yhteistyötä kuljettamalla kuormia eri suuntiin solussa. Kuitenkin ilman sääntelyä on mahdollista, että samaan kuormaan on sitoutuneena kummankin luokan moottoriproteiineja. Silloin syntyy tilanne, jossa molemmat vetävät vastakkaisiin suuntiin ja kuorma liikkuu hyvin hitaasti ja on pitkiä aikoja paikallaan. Kuitenkin pääasiallisena suuntana on se, jossa on enemmän moottoriproteiineja sitoutuneena. Soluissa tätä kuitenkin esiintyy huomattavasti vähemmän kuin koeolosuhteissa, joten on luultavasti olemassa erilaisia ulkoisia sääntelymekanismeja, joilla estetään turha kuorman edestakaisin vetäminen. Kuitenkin tutkimuksessa havaittiin, että eteneminen on paljon kuormakohtaista. (Hendricks et al., 2010) Solussa osa lasteista eteni määrätietoisesti

eteenpäin, ilman keskeytyksiä, kun taas osalla kuormista esiintyi jossain määrin tällaista edestakaisin kulkemista. Syystä tällaiselle mekanismille ei kuitenkaan ole varmuutta. (Hendricks et al., 2010)

### 3 AKTIINIIN LIITTYVÄT MOOTTORIPROTEIINIT

Aiemmin tässä työssä käsiteltiin mikrotubuluksia käyttäviä moottoriproteiineja, mutta tässä kappaleessa pääosassa on myosiini, joka kulkee aktiinitukirankaa pitkin. Myosiinin yksi tunnetuimpia muotoja on myosiini II, joka aktiinin kanssa saa aikaan lihassupistuksen, mutta seuraavien kappaleiden pääasiallisena aiheena on myosiini V, jonka tehtävänä on kuljettaa kuormaa aktiniä pitkin.

#### 3.1 Myosiini

Yksi yleisimmistä moottoriproteiineista on myosiini. Myosiini, toisin kuin dyneiini ja kinesiini, käyttää liikkumiseen aktiinitukirankaa mikrotubulusten sijaan. Myosiinin ehkä tunnetuin tehtävä on kuitenkin osana lihassupistuksen aikaansaamista. Tässä työssä kuitenkin käsitellään myosiinin muita muotoja. Valtaosa myosiineista kulkee aktiinin pluspäättä kohti. Ainoastaan myosiini VI kulkee eri suuntaan. Aktiini muodostaa verkkomaista rakennetta ja aktiinifilamentit ovat harvoin yhdensuuntaisia sytoplasmassa, sen sijaan ne sijaitsevat paljon satunnaisemmin. Näin ollen kuorma saadaan kuljetettua helposti ympäri solua. (Titus, 2018)

##### 3.1.1 Luokat

Myosiinit jaetaan luokkiin ja yleisin luokka, joka kuljettaa kuormia aktiniä pitkin on myosiini V. (Titus, 2018) Luokkia on yhteensä 35 ja myosiinien luokittelu näihin tapahtuu moottoriosan perusteella, koska häntäosissa voi olla suurtakin vaihtelua tai se aiheuttaisi ristiriitaisuuksia luokitteluun. Monet luokat ovat tyypillisiä vain tietyille eliöille, kuten kasveille tai bakteereille. (Odrionitz & Kollmar, 2007) Myosiinien luokittelussa on kuitenkin ollut jonkun verran erimielisyyksiä, ja luokkien lukumäärä riippuu paljolti lähteestä.

Yllä mainittu on niin sanottu perinteinen luokittelutapa, jossa molekyylit jaotellaan niiden sekvenssin perusteella luokkiin. Myosiinit voidaan jakaa luokkiin myös niiden moottoriosan toiminnan perusteella. Näitä luokkia on neljä ja ne ovat nopeasti liikkuvat (Fast movers), tehokkaasti liikkuvat ja lastin kuljettajat (efficient movers and load bearers), ”strain sensors” ja viimeisenä portilliset ja prosessiiviset moottorit (gated and processive motors). Perinteisiin luokkiin voi kuulua molekyylijä

useammista yllä mainituista toiminnallisista luokista. Esimerkiksi myosiini V -luokkaan kuuluu sekä prosessiivisiä moottoreita, että strain sensoreita. (Bloemink & Geeves, 2011)

Nopeasti liikkuvat moottorit hydrolysoivat nopeasti ATP:tä ja vapauttavat myös nopeasti ADP:tä, kun taas esimerkiksi portilliset moottorit vapauttavat ADP:tä huomattavasti hitaammin. Tämä mahdollistaa esimerkiksi dimeerisessä myosiinissa kahden moottorin vuorovaikutuksen, kun toiset signaalimolekyylit voivat vaikuttaa askeleen etenemiseen. ADP:n vapauttaminen mahdollistaa uuteen askeleeseen siirtymisen, kuten seuraavassa kappaleessa käydään läpi. Toinen ominaisuus, jota käytetään yllä mainittujen luokkien vertailuun, on niin kutsuttu ”duty ratio”, vapaasti suomennettuna käyttösuhde. Tällä tunnusluvulla kuvataan aikaa, jonka myosiini on sitoutuneena aktiinifilamenttiin yhden ATP-syklin aikana. Luonnollisesti nopeasti liikkuvilla tämä aika on pienempi, kuin muilla ryhmillä. Prosessiivisilla myosiineilla tämä luku on suuri, jolloin yksi dimeerinen myosiini voi vetää tehokkaasti lastia aktiinia pitkin irtoamatta välillä. Nopeasti liikkuvat toimivat sen sijaan usein ryhmissä. (Bloemink & Geeves, 2011)

### **3.1.2 Rakenne ja toiminta**

Myosiini koostuu moottoriosasta, jonka perusteella luokittelu tapahtuu, ja jossa tapahtuu ATP:n hydrolysoiminen. Lisäksi on niin kutsuttu vipu, joka on liittyneenä moottoriosaan. Moottoriosassa tapahtuvat muutokset mahdollistavat vivun kääntymisen ja myosiinin liikkumisen. Jos kyseessä on dimeerinen myosiini, seuraavasta kohdasta eli varresta, yksiköt ovat kiertyneet yhteen, jonka jälkeen tulee häntäosa, josta myosiini voi sitoutua kuljettamaansa lastiin. (Sweeney & Holzbaur, 2018) Kuvassa 7 näkyy myosiini V monomeerin moottoriosan ja pienen osan niskaosasta. Myosiinin moottoriosan muistuttaa rakenteeltaan kinesiin moottoria, vaikka niiden sekvenssit ovat hyvin erilaisia. Moottorin ydin muodostuu kummallakin yhteensä 7  $\beta$ -laskoksesta, joiden vierestä löytyy kolme  $\alpha$ -kierrettä kummaltakin puolelta, eli yhteensä kuusi. (Kull & Endow, 2013)



Kuva 6 Myosiini V moottoriosan ja niskaosa. Molekyylipaino 108.79 kDa ja PDB koodi 1OE9. Kuvan alaosassa näkyy vihreällä moottoriosan ja aiemmin mainittu  $\beta$ -laskokset sekä  $\alpha$ -kierteet. Kuvan yläosassa vasemmalla taas näkyy niskaosaa, joka linkittää moottoriosan varteen. Tämä kohta vihreällä ja oranssilla. (Protein Data Bank, n.d.-a) Alemassa kuvassa on kaavakuva monomeerisestä myosiinista. Kuvassa näkyy (vapaasti suomennettuna) punaisella moottoriosan, vihreällä vipuvarsi, josta myosiini taittuu askeleen aikana. Keltaisella näkyy kiertäinen osa, josta varret voivat sitoutua yhteen dimeerisessä myosiinissa ja lopuksi oranssilla alue, joka sitoutuu kuormaan. (Sweeney & Holzbaur, 2018)

Myosiini on ATPaasi eli se hydrolysoi ATP:tä. ATP:n sitoutuminen moottoriosaan saa myosiinin irtoamaan aktiinista ja päättää edellisen askeleen. Myosiini hydrolysoi ATP:tä hyvin nopeasti, mutta lopputuotteiden vapauttaminen vaikuttaa sen toimintaan. ATP:n sitoutuminen saa aikaan sen, että myosiinin ikään kuin uudelleen asettuu ja valmistautuu seuraavaan askeleeseen. ATP:n hydrolysoinnin jälkeen myosiini liikkuu ja sitoutuu heikosti aktiinin uudesta kohtaan. Fosfaattiosan vapautuminen saa myosiinin sitoutumaan tiukasti aktiiniin. Lisäksi seuraavaksi myosiinin varsi liikkuu voimakkaasti, kun se asettuu uudelleen. Liikkeen lopuksi ADP vapautuu ja uuden ATP:n sitoutuminen on taas mahdollista. (Sweeney & Holzbaur, 2018)

Myosiineilla on monia eri tehtäviä, mutta myosiini V on pääasiallinen luokka, joka kuljettaa solussa lastia aktiinitukirankaa pitkin. Sen askellus koostuu kolmesta eri vaiheesta. Ensimmäisessä vaiheessa myosiini ikään kuin notkahtaa eteenpäin ja tämän jälkeen on pieni tauko ennen kuin liike jatkuu. Tämä kohta askeleesta voi vielä peruuntua. Tämän jälkeen myosiinin moottoriosan irtoaa aktiinista ja



alkaa hakeutumaan kohti uutta sitoutumiskohtaa. Viimeisessä vaiheessa moottoriosaa sitoutuu uudestaan ja askel on suoritettu päätökseen. Joskus on mahdollista, että myosiini ei löydä uutta sitoutumiskohtaa ja palaa takaisin alkuperäiseen asentoonsa, mutta tämä ei ole kovin yleistä. (Cappello et al., 2007)

Dimeerinen myosiini V voi myös autoinhiboida itseään. Silloin häntäosa on sitoutuneena moottoriin ja estää ATP-syklin etenemisen. Myosiini vapautuu uuteen kiertoon, kun lasti sitoutuu häntäosaan. (Trybus et al., 2006) Osa myosiineista esiintyy monomeereinä ja ”vapaina” ollessaan ovat taittuneina. Lastin sitoutuminen monomeeriin saa myosiinin avautumaan ja muodostamaan dimeerin, jolloin lastin kuljetus mahdollistuu. (Phichith et al., 2009)

Myosiini V sitoo itseensä kalmoduliinia. Kyseinen proteiini sen sijaan sitoo itseensä kalsiumia ja useat sen tehtävät liittyvätkin viestin kuljettamiseen ja muiden proteiinien aktivoimiseen. Kalmoduliinin toiminnasta ei ole täyttä varmuutta, mutta vaikuttaisi, että sen sitoutuminen myosiinin niskaosaan vaikuttaa myosiinin rakenteeseen niin, että se ei pysty sitoutumaan aktiiniin yhtä tehokkaasti. Näin ollen kalmoduliinin sitoutuminen inhiboi myosiinin toimintaa. Kalsium sen sijaan vaikuttavaa myosiiniin kykyyn toimia ATPaasina tehostavasti. Näin ollen kalsiumilla voi olla rooli myosiini V:n säätelyssä. Kalsiumin puute saa myosiinin häntäosan pysymään taittuneena. Ja kuten ylemmässä kappaleessa oli puhetta, tämä konformaation muoto voi mahdollistaa häntäosan sitoutumisen moottoriosaan ja näin ollen myosiini autoinhiboi itseään. Kalsiumin läsnä ollessa häntäosan konformaatio on erilainen, jolloin myosiini on aktiivinen. Kuorman sitoutumisella vaikuttaisi olevan samankaltainen vaikutus. (Krementsov et al., 2004)

## 4 MOOTTORIPROTEIINIEN MERKITYS

Molemmille verkostoille on omat moottoriproteiininsa ja omat toimintansa. Kuitenkin näiden täytyy jollain tavalla toimia yhteen. Onkin huomattu, että mikrotubulukset ovat hyvin pitkiä eivätkä ne haaroitu, joten ne vaikuttavat kuljettavan soluelimiä pidempiä matkoja ja kokonaan eri paikkoihin. Aktiinifilamentit ovat lyhyempiä ja haaroittuneita, joten ne voivat huolehtia soluelimien paikallisesti järjestyksestä. Eri verkostoilla voi olla myös fyysinen yhteys. On esimerkiksi huomattu, että microtubule-associated proteins (MAPs) -proteiinit voivat sitoutua aktiinitukirankaan ja auttaa sen muodostamisessa. Mutta löytyy myös muita molekyyliä, jotka vaikuttavat sitoutuvan kumpaankin elementtiin. (Langford, 1995; Sattilaro et al., 1981)

Moottoriproteiinien merkitys kehon toiminnalle on erittäin suuri. Jos niiden rakenne on poikkeavaa eivätkä ne pysty suorittamaan tehtäviään, tuloksena on monia erilaisia ongelmia kehityksessä tai alkio ei ole ollenkaan elinkelpoinen. Esimerkiksi tutkimuksissa on huomattu, että eräs kinesiiniperheen jäsen KIF21B on erittäin tärkeä aivokuoren kehitykselle. Kyseinen kinesiini pystyy jossain määrin sietämään virheellisiä versioita ja toimimaan, mutta silloin kun kyseinen proteiini ei toimi kunnolla, voidaan havaita mm. ongelmia aksonien haarautumisessa, hermosolujen sijoittumisessa sekä aivokurkaisen kehittymiseen. (Asselin et al., 2020) Samoin dyneiini on huomattavan tärkeä hermosoluille. Tutkimuksissa on huomattu, että ilman sytosolista dyneiiniä, alkio kuolevat hyvin nopeasti. Yksi dyneinikompleksin kevyistä ketjuista on nimeltään roadblock. Tämän ketjun puuttuminen aiheuttaa ongelmia muun muassa motoriikassa ja sillä vaikuttaisi olevan merkitystä myös aikuisen hermosolujen ylläpidolle. Näitä ominaisuuksia on tutkittu ja havaittu ensisijaisesti hiirimalleilla. (Terenzio et al., 2020)

Myosiini vaikuttaisi olevan tärkeässä osassa Golgin laitteen ylläpidossa. Golgin laite on keskeinen osa proteiinien muokkausta sekä niiden lajittelua ja erityistä ulos solusta. Golgin laite koostuu kolmesta osasta ja kauimpana tumasta on trans-Golgi verkosto. Tältä alueelta lähtee vesikkeleitä mm. eksosytoosiin. Vesikkeleiden muodostumisessa on mukana erilaisia proteiineja, jotka täytyy kuljettaa takaisin trans-Golgille uudelleen käytettäväksi. Tätä tehtävää hoitaa esimerkiksi myosiini. Proteiinien takaisin kuljetuksessa voi kuitenkin ilmetä ongelmia, jos myosiini on viallinen. Häiriöillä tässä systeemissä vaikuttaisi olevan yhteys esimerkiksi Alzheimerin sekä Parkinsonin tautiin. (Nguyen et al., 2021) Näin ollen voidaan huomata, että moottoriproteiininen merkitys on todella suuri. Niitä

tarvitaan jokaisessa solussa, mutta erityisesti hermot ovat herkkiä, jos proteiinit ovat jostain syystä vioittuneita. Hermojen toiminnan häiriöt vaikuttavat lähes kaikkiin kehon toimintoihin.

Vaikka nämä kolme moottoriproteiinia ovat erittäin tunnettuja ja laajasti tutkittuja, jatkuvasti parantuvat tutkimusmenetelmät helpottavat uusien tutkimusten tekemistä ja parantavat ymmärrystä niistä. Yksi viime vuosien tärkeäksi nousseista menetelmistä on cryo-EM. Kyseessä on menetelmä, jossa näytteet jäädytetään ja sen jälkeen niitä kuvataan elektronimikroskoopilla. Menetelmä on viime aikoina kehittynyt huomattavasti ja sillä saadaan selvitettyä jatkuvasti uusia rakenteita ja tulokset ovat entistä tarkempia. Aiemmin käytössä ollut röntgenkristallografia onkin jäämässä taka-alalle näiden laitteistojen kehittyessä ja yleistyessä. (Callaway, 2020)

## LÄHDELUETTELO

- Ali, I., & Yang, W.-C. (2020). The functions of kinesin and kinesin-related proteins in eukaryotes. *Cell Adhesion & Migration*, *14*(1), 139. <https://doi.org/10.1080/19336918.2020.1810939>
- Asselin, L., Alvarez, J. R., Heide, S., Bonnet, C. S., Tilly, P., Vitet, H., Weber, C., Bacino, C. A., Baranaño, K., Chassevent, A., Dameron, A., Faivre, L., Hanchard, N. A., Mahida, S., McWalter, K., Mignot, C., Nava, C., Rastetter, A., Streff, H., ... Godin, J. D. (2020). Mutations in the KIF21B kinesin gene cause neurodevelopmental disorders through imbalanced canonical motor activity. *Nature Communications*, *11*(1). <https://doi.org/10.1038/S41467-020-16294-6>
- Banani, E., Murray, J. W., Stockert, R. J., Satir, P., & Wolkoff, A. W. (2003). Regulation of early endocytic vesicle motility and fission in a reconstituted system. *Journal of Cell Science*, *116*(13), 2749–2761. <https://doi.org/10.1242/jcs.00478>
- Bloemink, M. J., & Geeves, M. A. (2011). Shaking the Myosin Family Tree Biochemical kinetics defines four types of myosin motor. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, *22*(9), 961–967. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2011.09.015>
- Callaway, E. (2020). Revolutionary cryo-EM is taking over structural biology. *Nature*, *578*(7794), 201. <https://doi.org/10.1038/D41586-020-00341-9>
- Cappello, G., Pierobon, P., Symonds, C., Busoni, L., Christof, J., Gebhardt, M., Rief, M., & Prost, J. (2007). Myosin V stepping mechanism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *104*(39), 15328–15333. <https://doi.org/10.1073/pnas.0706653104>
- Cole, D. G., Saxton, W. M., Sheehan, K. B., & Scholey, J. M. (1994). A “slow” homotetrameric kinesin-related motor protein purified from *Drosophila* embryos. *The Journal of Biological Chemistry*, *269*(37), 22913–22916. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(17\)31593-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)31593-4)
- Desai, A., Verma, S., Mitchison, T. J., & Walczak, C. E. (1999). Kin I Kinesins Are Microtubule-Destabilizing Enzymes. *Cell*, *96*(1), 69–78. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80960-5](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80960-5)

- Dominguez, R., & Holmes, K. C. (2011). Actin Structure and Function. *Annual Review of Biophysics*, 40, 169–186. <https://doi.org/10.1146/annurev-biophys-042910-155359>
- Dorner, C., Ullrich, A., Häring, H.-U., & Lammers, R. (1999). The Kinesin-like Motor Protein KIF1C Occurs in Intact Cells as a Dimer and Associates with Proteins of the 14-3-3 Family. *The Journal of Biological Chemistry*, 274(47), 33654–33660. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.47.33654>
- Gennerich, A., & Vale, R. D. (2009). Walking the walk: how kinesin and dynein coordinate their steps. *Current Opinion in Cell Biology*, 21(1), 59–67. <https://doi.org/10.1016/j.ccb.2008.12.002>
- Goodson, H. v, & Jonasson, E. M. (2018). Microtubules and Microtubule-Associated Proteins. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 10(6). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a022608>
- Guillaud, L., Wong, R., & Hirokawa, N. (2007). Disruption of KIF17–Mint1 interaction by CaMKII-dependent phosphorylation: a molecular model of kinesin–cargo release. *Nature Cell Biology* 2008 10:1, 10(1), 19–29. <https://doi.org/10.1038/ncb1665>
- Hendricks, A. G., Perlson, E., Ross, J. L., Schroeder, H. W., III, Tokito, M., & Holzbaur, E. L. F. (2010). Motor Coordination Via Tug-Of-War Mechanism Drives Bidirectional Vesicle Transport. *Current Biology : CB*, 20(8), 697. <https://doi.org/10.1016/J.CUB.2010.02.058>
- Henson, J. H., Cole, D. G., Roesener, C. D., Capuano, S., Mendola, R. J., & Scholey, J. M. (1997). The heterotrimeric motor protein kinesin-II localizes to the midpiece and flagellum of sea urchin and sand dollar sperm. *Cell Motility*, 38(1), 29–37. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0169\(1997\)38:1<29::AID-CM4>3.0.CO;2-C](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0169(1997)38:1<29::AID-CM4>3.0.CO;2-C)
- Howard, J., & Hyman, A. A. (2003). Dynamics and mechanics of the microtubule plus end. *Nature (London)*, 422(6933), 753–758. <https://doi.org/10.1038/nature01600>
- Huang, J., Roberts, A. J., Leschziner, A. E., & Reck-Peterson, S. L. (2012). Lis1 Acts as a “Clutch” between the ATPase and Microtubule-Binding Domains of the Dynein Motor. *Cell*, 150(5), 975. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2012.07.022>

- Jin, M., Yamada, M., Arai, Y., Nagai, T., & Hirotsune, S. (2014). Arl3 and LC8 regulate dissociation of dynactin from dynein. *Nature Communications* 2014 5:1, 5(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/ncomms6295>
- Kikkawa, M., Okada, Y., & Hirokawa, N. (2000). 15 Å Resolution Model of the Monomeric Kinesin Motor, KIF1A. *Cell*, 100(2), 241–252. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81562-7](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81562-7)
- Krementsov, D. N., Krementsova, E. B., & Trybus, K. M. (2004). Myosin V regulation by calcium, calmodulin, and the tail domain. *Journal of Cell Biology*, 164(6), 877–886. <https://doi.org/10.1083/JCB.200310065>
- Kull, F. J., & Endow, S. A. (2013). Force generation by kinesin and myosin cytoskeletal motor proteins. *Journal of Cell Science*, 126(1), 9–19. <https://doi.org/10.1242/jcs.103911>
- Kuriyama, R., Kofron, M., Essner, R., Kato, T., Dragas-Granoic, S., Omoto, C. K., & Khodjakov, A. (1995). Characterization of a minus end-directed kinesin-like motor protein from cultured mammalian cells. *Journal of Cell Biology*, 129(4), 1049–1059. <https://doi.org/10.1083/jcb.129.4.1049>
- Langford, G. M. (1995). Actin- and microtubule-dependent organelle motors: interrelationships between the two motility systems. *Current Opinion in Cell Biology*, 7(1), 82–88. [https://doi.org/10.1016/0955-0674\(95\)80048-4](https://doi.org/10.1016/0955-0674(95)80048-4)
- Lawrence, C. J., Dawe, R. K., Christie, K. R., Cleveland, D. W., Dawson, S. C., Endow, S. A., Goldstein, L. S. B., Goodson, H. v, Hirokawa, N., Howard, J., Malmberg, R. L., McIntosh, J. R., Miki, H., Mitchison, T. J., Okada, Y., Reddy, A. S. N., Saxton, W. M., Schliwa, M., Scholey, J. M., ... Wordeman, L. (2004). A standardized kinesin nomenclature. *The Journal of Cell Biology*, 167(1), 19. <https://doi.org/10.1083/jcb.200408113>
- Lillie, S. H., & Brown, S. S. (1998). Smy1p, a Kinesin-related Protein That Does Not Require Microtubules. *Journal of Cell Biology*, 140(4), 873–883. <https://doi.org/10.1083/jcb.140.4.873>

- Marx, A., Müller, J., & Mandelkow, E. (2005). *The structure of microtubule motor proteins* (J. M. Squire & D. A. D. Parry, Eds.; Vol. 71, pp. 299–344). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0065-3233\(04\)71008-6](https://doi.org/10.1016/S0065-3233(04)71008-6)
- Miki, H., Okada, Y., & Hirokawa, N. (2005). Analysis of the kinesin superfamily: insights into structure and function. *Trends in Cell Biology*, *15*(9), 467–476. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2005.07.006>
- Nguyen, V., Smothers, J., Ballhorn, P., Kottapalli, S., Ly, A., Villarreal, J., & Kim, K. (2021). Myosin V-mediated transport of Sncl and Vps10 toward the trans-Golgi network. *European Journal of Cell Biology*, *100*(3), 151143. <https://doi.org/10.1016/J.EJCB.2020.151143>
- Odrionitz, F., & Kollmar, M. (2007). Drawing the tree of eukaryotic life based on the analysis of 2,269 manually annotated myosins from 328 species. *Genome Biology*, *8*(9), R196. <https://doi.org/10.1186/gb-2007-8-9-r196>
- Pereira, A. J., Dalby, B., Stewart, R. J., Doxsey, S. J., & Goldstein, L. S. B. (1997). Mitochondrial Association of a Plus End-Directed Microtubule Motor Expressed during Mitosis in *Drosophila*. *Journal of Cell Biology*, *136*(5), 1081–1090. <https://doi.org/10.1083/jcb.136.5.1081>
- Pfister, K. K., Fisher, E. M. C., Gibbons, I. R., Hays, T. S., Holzbaur, E. L. F., McIntosh, J. R., Porter, M. E., Schroer, T. A., Vaughan, K. T., Witman, G. B., King, S. M., & Vallee, R. B. (2005). Cytoplasmic dynein nomenclature. *Journal of Cell Biology*, *171*(3), 411–413. <https://doi.org/10.1083/jcb.200508078>
- Phichith, D., Travaglia, M., Yang, Z., Liu, X., Zong, A. B., Safer, D., & Sweeney, H. L. (2009). Cargo binding induces dimerization of myosin VI. *Proceedings of the National Academy of Sciences - PNAS*, *106*(41), 17320–17324. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201301691931>
- Pollard, T. D. (2016). Actin and Actin-Binding Proteins. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, *8*(8), a018226. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a018226>

- Protein Data Bank. (n.d.-a). *RCSB PDB - 1OE9: Crystal structure of Myosin V motor with essential light chain-nucleotide-free* (Vol. 2021, Issue Aug 30,). <https://www.rcsb.org/structure/1OE9>
- Protein Data Bank. (n.d.-b). *RCSB PDB - 3G37: Cryo-EM structure of actin filament in the presence of phosphate*. Retrieved September 15, 2021, from <https://www.rcsb.org/structure/3G37>
- Protein Data Bank. (n.d.-c). *RCSB PDB - 3KIN: KINESIN (DIMERIC) FROM RATTUS NORVEGICUS* (Vol. 2021, Issue Jun 9,). <https://www.rcsb.org/structure/3KIN>
- Protein Data Bank. (n.d.-d). *RCSB PDB - 4PKH: Complex of ADP-actin With the N-terminal Actin-Binding Domain of Tropomodulin*. Retrieved September 9, 2021, from <https://www.rcsb.org/structure/4PKH>
- Protein Data Bank. (n.d.-e). *RCSB PDB - 5JCO: Structure and dynamics of single-isoform recombinant neuronal human tubulin*. Retrieved September 9, 2021, from <https://www.rcsb.org/structure/5JCO>
- Protein Data Bank. (n.d.-f). *RCSB PDB - 5NVU: Full length human cytoplasmic dynein-1 in the phi-particle conformation* (Vol. 2021, Issue Jul 29,). <https://www.rcsb.org/structure/5NVU>
- Reck-Peterson, S. L., Redwine, W. B., Vale, R. D., & Carter, A. P. (2018). The Cytoplasmic Dynein Transport Machinery and its Many Cargoes. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 19(6), 382–398. <https://doi.org/10.1038/s41580-018-0004-3>
- Roberts, A. J., Kon, T., Knight, P. J., Sutoh, K., & Burgess, S. A. (2013). Functions and mechanics of dynein motor proteins. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 14(11), 713. <https://doi.org/10.1038/NRM3667>
- Rogers, G. C., Chui, K. K., Lee, E. W., Wedaman, K. P., Sharp, D. J., Holland, G., Morris, R. L., & Scholey, J. M. (2000). A Kinesin-Related Protein, Krp180, Positions Prometaphase Spindle Poles during Early Sea Urchin Embryonic Cell Division. *Journal of Cell Biology*, 150(3), 499–512. <https://doi.org/10.1083/jcb.150.3.499>



- Sattilaro, R. F., Dentler, W. L., & LeCluyse, E. L. (1981). Microtubule-associated proteins (MAPs) and the organization of actin filaments in vitro. *Journal of Cell Biology*, *90*(2), 467–473. <https://doi.org/10.1083/JCB.90.2.467>
- Schaks, M., Giannone, G., & Rottner, K. (2019). Actin dynamics in cell migration. *Essays in Biochemistry*, *63*(5), 483. <https://doi.org/10.1042/EBC20190015>
- Schimert, K. I., Budaitis, B. G., Reinemann, D. N., Lang, M. J., & Verhey, K. J. (2019). Intracellular cargo transport by single-headed kinesin motors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *116*(13), 6152–6161. <https://doi.org/10.1073/pnas.1817924116>
- Schulze, E., Asai, D., Bulinski, J. C., & Kirschner, M. (1987). Posttranslational modification and microtubule stability. *The Journal of Cell Biology*, *105*(5), 2167–2177. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2114866/>
- Sekine, Y., Okada, Y., Noda, Y., Kondo, S., Aizawa, H., Takemura, R., & Hirokawa, N. (1994). A novel microtubule-based motor protein (KIF4) for organelle transports, whose expression is regulated developmentally. *Journal of Cell Biology*, *127*(1), 187–201. <https://doi.org/10.1083/jcb.127.1.187>
- solunetti: Yleisrakenne.* (n.d.). Retrieved September 30, 2021, from [https://www.solunetti.fi/fi/solubiologia/yleisrakenne\\_1/2/](https://www.solunetti.fi/fi/solubiologia/yleisrakenne_1/2/)
- Sweeney, H. L., & Holzbaur, E. L. F. (2018). Motor Proteins. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, *10*(5), a021931. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021931>
- Terenzio, M., Pizio, A. di, Rishal, I., Marvaldi, L., Matteo, P. di, Kawaguchi, R., Coppola, G., Schiavo, G., Fisher, E. M. C., & Fainzilber, M. (2020). DYNLRB1 is essential for dynein mediated transport and neuronal survival. *Neurobiology of Disease*, *140*. <https://doi.org/10.1016/J.NBD.2020.104816>

- Titus, M. A. (2018). Myosin-Driven Intracellular Transport. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 10(3), a021972. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021972>
- Tokai, N., Fujimoto-Nishiyama, A., Toyoshima, Y., Yonemura, S., Tsukita, S., Inoue, J., & Yamamota, T. (1996). Kid, a novel kinesin-like DNA binding protein, is localized to chromosomes and the mitotic spindle. *The EMBO Journal*, 15(3), 457–467. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC449964/>
- Trybus, K. M., Taylor, K. A., Krementsova, E. B., Taylor, D. W., & Liu, J. (2006). Three-dimensional structure of the myosin V inhibited state by cryoelectron tomography. *Nature*, 442(7099), 208–211. <https://doi.org/10.1038/nature04719>
- Vallee, R. B., Williams, J. C., Varma, D., & Barnhart, L. E. (2004). Dynein: An ancient motor protein involved in multiple modes of transport. *Journal of Neurobiology*, 58(2), 189–200. <https://doi.org/10.1002/neu.10314>
- Verhey, K. J., & Hammond, J. W. (2009). Traffic control: regulation of kinesin motors. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2009 10:11, 10(11), 765–777. <https://doi.org/10.1038/nrm2782>
- Verhey, K. J., Lizotte, D. L., Abramson, T., Barenboim, L., Schnapp, B. J., & Rapoport, T. A. (1998). Light Chain-dependent Regulation of Kinesin's Interaction with Microtubules. *The Journal of Cell Biology*, 143(4), 1053. <https://doi.org/10.1083/JCB.143.4.1053>
- Verhey, K. J., Meyer, D., Deehan, R., Blenis, J., Schnapp, B. J., Rapoport, T. A., & Margolis, B. (2001). Cargo of Kinesin Identified as Jip Scaffolding Proteins and Associated Signaling Molecules. *The Journal of Cell Biology*, 152(5), 959. <https://doi.org/10.1083/JCB.152.5.959>
- Weaver, B. A. A., Bonday, Z. Q., Putkey, F. R., Kops, G. J. P. L., Silk, A. D., & Cleveland, D. W. (2003). Centromere-associated protein-E is essential for the mammalian mitotic checkpoint to prevent aneuploidy due to single chromosome loss. *Journal of Cell Biology*, 162(4), 551–563. <https://doi.org/10.1083/jcb.200303167>

- Wolf, F. W., Hung, M.-S., Wightman, B., Way, J., & Garriga, G. (1998). *vab-8* Is a Key Regulator of Posteriorly Directed Migrations in *C. elegans* and Encodes a Novel Protein with Kinesin Motor Similarity. *Neuron*, *20*(4), 655–666. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)81006-5](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)81006-5)
- Zhang, J., Li, S., Fischer, R., & Xiang, X. (2003). Accumulation of Cytoplasmic Dynein and Dynactin at Microtubule Plus Ends in *Aspergillus nidulans* Is Kinesin Dependent. *Molecular Biology of the Cell*, *14*(4), 1479. <https://doi.org/10.1091/MBC.E02-08-0516>
- 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*(7), 1303-1314.e18. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.05.025>