

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2025

ANEŽKA LYSÁČKOVÁ

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Molekulové motory
Bakalářská práce

University of Pardubice
Faculty of Chemical Technology

Molecular motors
Bachelor Thesis

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2024/2025

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Anežka Lysáčková**
Osobní číslo: **C22217**
Studijní program: **B0914P360019 Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví**
Téma práce: **Molekulové motory**
Téma práce anglicky: **Molecular Motors**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1. Vypracovat teoretickou rešerši na téma molekulových motorů.
2. V úvodních kapitolách stručně popsat stavbu a funkce cytoskeletu.
3. V dalších kapitolách uvést zástupce 3 hlavních skupin cytoskeletárních motorů, popsat jejich strukturu, pohyb po cytoskeletárních vláknech a jejich funkci.
4. V závěru zmínit onemocnění související s poruchou správné funkce motorických proteinů.

Rozsah pracovní zprávy: 25 s.
Rozsah grafických prací: dle potřeby
Forma zpracování bakalářské práce: tištěná

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Šárka Štěpánková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **20. prosince 2024**

Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2025**

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.
děkan

L.S.

prof. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2025

Prohlašuji:

Práci s názvem Molekulové motory jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 25. 6. 2025

Anežka Lysáčková

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala vedoucí své bakalářské práce Mgr. Šárce Štěpánkové, Ph.D. za její odborné vedení, cenné rady, vstřícný přístup a čas, které mi během psaní této práce poskytla.

Zároveň bych chtěla poděkovat své rodině za trpělivost, podporu a povzbuzení během celého studia.

ANOTACE

Bakalářská práce se věnuje popisu základních typů molekulových motorů, které hrají svou roli zejména v intracelulárním transportu a organizaci buněčného prostředí. V úvodní části se nejprve stručně zabývá intracelulárním prostředím, zejména popisem cytoskeletu buňky pro lepší pochopení drah, po kterých se motory pohybují. Následuje detailnější rozbor tří hlavních skupin cytoskeletálních motorických proteinů, jmenovitě: myozinu, dyneinu a kinezinu, se zaměřením na popis jejich struktury a způsoby pohybu. V závěru se pak tato práce věnuje případným patologickým stavům, které mohou nastat v souvislosti s nefunkčností, či omezením funkce těchto motorů.

KLÍČOVÁ SLOVA

molekulové motory, myozin, dynein, kinezin, aktinová filamenta, aktin, mikrotubuly

TITLE

Molecular motors

ANNOTATION

This bachelor thesis focuses on describing the basic types of molecular motors, which play a crucial role in intercellular transport and the organization of the cellular environment. The introductory part briefly addresses the intracellular environment, particularly the cytoskeleton, to provide a better understanding of the tracks along which these motors move. This followed by a more detail analysis of the three main groups of cytoskeletal motor proteins, specifically myosin, dynein and kinesin, with emphasis on their structure and mechanism of movement. In the final section, thesis discusses pathological conditions that may arise as a result of malfunction or impaired function of these molecular motors.

KEYWORDS

molecular motors, myosin, dynein, kinesin, actin filaments, actin, microtubules

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

2HB	dvouhlavý vázaný stav (two headed bound)
AAA	ATPázy spojené s různými buněčnými aktivitami (ATPases associated with diverse cellular activities)
ADP	adenosindifosfát (adenosine diphosphate)
Arp2/3 komplex	protein související s aktinem (actin-related protein 2/3)
ATP	adenosintrifosfát (adenosine triphosphate)
DYNC1H1	těžký řetězec 1 cytoplazmatického dyneinu typu 1 (dynein cytoplasmic 1 heavy chain 1)
GDP	guanosindifosfát (guanosine diphosphate)
GTP	guanosintrifosfát (guanosine triphosphate)
HC	těžký řetězec (heavy chain)
IC	střední řetězec (intermediate chain)
IDA	vnitřní dyneinová raménka (inner dynein arms)
IF	intermediární filamenta
JIP	protein interagující s JNK (JNK-interacting protein)
JNK	c-Jun N-terminální kináza
KANK1	protein obsahující ankyrinová opakování a KN motiv (KN motif and ankyrin repeat domain-containing protein 1)
KIF21A	člen rodiny kinezinů 4 označovaný 21A (kinesin family member 21A)
KIF2A	člen rodiny kinezinů 13 označovaný A2 (kinesin family member 2A)
KIF2C/MCAK	člen rodiny kinezinů 13 označovaný 2C / kinezin asociovaný s mitotickou centromerou (kinesin family member 2C/mitotic centromere-associated kinesin)
LC	lehký řetězec (light chain)
LCBD	doména vázající lehký řetězec (light chain binding domain)
MAP2	protein asociovaný s mikrotubuly 2
MAP4	protein asociovaný s mikrotubuly 4
MAPs	proteiny asociované s mikrotubuly
mRNA	mediátorová ribonukleová kyselina
MT	mikrotubuly

MTBD	doména vázající mikrotubuly (mikrotubule-binding domain)
MTD	mikrotubulové dublety
MYH7	gen pro těžký řetězec myozinu (myosin heavy chain 7)
NL	spojka krčku (neck linker)
ODA	vnější dyneinová raménka (outer dynein arms)
P _i	anorganický fosfát
RNA	ribonukleová kyselina
RS	radiální paprsky (radial spokers)
Tau protein	jednotka asociovaná s tubulinem (tubulin associated unit)
TnC	troponin C
TnI	troponin I
TnT	troponin T
TPR	tetratrikopeptidové repetitivní oblasti

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Cytoskelet a jeho části	14
Obrázek 2 Struktura myozinu	26
Obrázek 3 Sarkomera a její části.....	27
Obrázek 4 Zjednodušený kontraktlní cyklus	29
Obrázek 5 Struktura dyneinu	31
Obrázek 6 Dyneinový motor a jeho katalytický cyklus	33
Obrázek 7 Struktura a mechanochemie kinezinové superrodiny	41

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Jednotlivé třídy filamentárních proteinů	19
--	----

OBSAH

ÚVOD	13
1 CYTOSKELET BUŇKY	14
2 AKTINOVÁ FILAMENTA	16
2.1 Polymerizace a depolymerizace aktinových filament.....	17
2.2 Aktinová filamenta a jejich interakce s molekulovými motory	18
3 INTERMEDIÁRNÍ FILAMENTA	19
4 MIKROTUBULY	21
4.1 Dynamika mikrotubulů	21
4.2 Mikrotubuly a jejich interakce s molekulovými motory.....	22
5 MOLEKULOVÉ MOTORY	24
5.1 Myoziny	25
5.1.1 Mechanismus pohybu myozinu	26
5.1.2 Myozin II.....	26
5.2 Dyneiny	30
5.3 Cytoplazmatický dynein.....	30
5.3.1 Pohyb cytoplazmatického dyneinu	32
5.4 Axonemální dynein	34
5.4.1 Mechanismus pohybu bičičků a cílů	36
5.5 Kineziny	37
5.5.1 Kinezin-1	37
5.5.2 Motorický mechanismus kinezinu-1	39
5.5.3 Kineziny regulující dynamiku MT.....	42
6 PORUCHY MOLEKULOVÝCH MOTORŮ A S NIMI SPOJENÁ ONEMOCNĚNÍ	45
ZÁVĚR.....	48
POUŽITÁ LITERATURA	49

ÚVOD

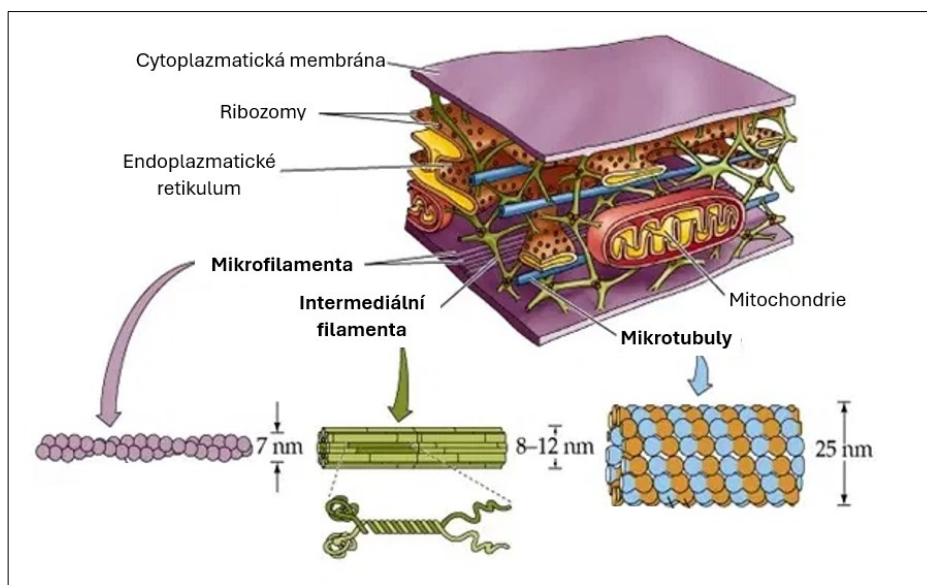
Život buňky závisí na precizní organizaci jejích vnitřních struktur a na efektivním pohybu jednotlivých komponent mezi různými částmi buněčného prostoru. Účinný intracelulární transport by nebyl možný bez přítomnosti bílkovinných komplexů označovaných jako molekulové motory. Tyto motory představují zásadní součást buněčného aparátu, jelikož umožňují transport organel, proteinů, vezikul a dalších nákladů po cytoskeletálních drahách, zároveň se podílejí na samotné dynamice těchto drah.

Buněčný cytoskelet je složitá síť, která buňce propůjčuje tvar, mechanickou stabilitu a organizaci vnitřního prostředí. Základními složkami této sítě jsou aktinová filamenta, mikrotubuly a intermediární filamenta, přičemž aktinová a mikrotubulární vlákna souží zároveň jako kolejnice pro pohyb příslušných molekulových motorů. Každá ze tří hlavních skupin motorických proteinů, myozinu, dyneinu a kinezinu má svou specifickou strukturu, energetický pohon a daný směr svého pohybu, čímž je funkčně přizpůsobena konkrétnímu typu buněčné aktivity.

Molekulové motory jsou zcela zásadní pro široké spektrum buněčných procesů, jako je mitóza, endocytóza, sekrece, buněčná migrace nebo diferenciaci neuronů. V nervové soustavě jsou nezbytné pro rychlý axonální transport, v imunitním systému se podílejí na polarizaci buněk a v epitelových buňkách umožňují například správnou funkci řasinek. Poruchy ve struktuře, nebo funkci těchto motorických proteinů mají tedy často závažné důsledky, které mohou vést k rozvoji různých patologických stavů, včetně neurodegenerativních onemocnění, kardiomyopatií, ciliárních dyskinezí nebo poruch vývoje kosterního svalstva.

1 CYTOSKELET BUŇKY

Buněčný cytoskelet představuje složitou síť vláken v eukaryotických buňkách. Tato síť obsahuje tři hlavní typy cytoskeletálních polymerů, a to aktinová filamenta, mikrotubuly (MT) a intermediární filamenta (viz obr. 1.). Každý z uvedených typů se vyznačuje svými specifickými vlastnostmi a funkcemi a jejich spojení umožňuje cytoskeletu plnit široké spektrum úkolů. [1, 2]



Obrázek 1 Cytoskelet a jeho části; upraveno a převzato z [3]

Díky těmto polymerům se cytoskelet podílí na prostorové organizaci obsahu buňky, například na správném rozmístění organel a transportu jejich obsahu. Tento intracelulární transport zajišťují molekulární motory, jako jsou myoziny, dyneiny a kineziny, které se pohybují podél aktinových filament nebo MT. Dále hraje cytoskelet zásadní roli v buněčném dělení, kdy se během mitózy reorganizují mikrotubuly za vzniku dělicího vřeténka, které zajišťuje rovnoměrné rozdělení chromozomů mezi dceřiné buňky. Cytoskelet také propojuje buňku s jejím okolím, a to nejen mechanicky prostřednictvím spojení s extracelulární matrix, ale také biochemicky pomocí signálních drah. Tím buňka reaguje na změny v prostředí a přizpůsobuje tomu svou strukturu a funkci. Cytoskelet rovněž generuje síly, které umožňují buňce pohybovat se a měnit svůj tvar. [4-6]

Jednotlivé typy polymerů se liší svou mechanickou tuhostí, dynamikou sestavování, polaritou a typy molekulárních motorů, které s nimi interagují. Aktinová filamenta jsou flexibilní, rychle se polymerizují a depolymerizují a často tvoří dynamické struktury, jako je buněčná kortikální síť. Mikrotubuly, naopak, poskytují pevnost a tvoří buněčné koleje

pro transport. Intermediární filamenta mají spíše statickou funkci, zajišťují mechanickou odolnost buňky a chrání ji před mechanickým stresem. [5, 7, 8]

Navzdory těmto odlišnostem fungují sítě cytoskeletálních polymerů jako integrovaný systém. Jsou propojeny příslušnými přídatnými proteiny a adaptory, což umožňuje koordinovanou odpověď na mechanické a chemické podněty. Taková organizace umožňuje cytoskeletu nejen odolávat deformaci, ale také se dynamicky reorganizovat, například při migraci buňky nebo změně tvaru. [5, 9]

2 AKTINOVÁ FILAMENTA

Aktinová filamenta, známá také jako mikrofilamenta, jsou jednou z hlavních složek cytoskeletu buňky. Jsou tvořena polymerizovaným proteinem aktinem, který patří mezi nejhojnější a nejkonzervovanější proteiny v eukaryotických buňkách. Tato filamenta hrají klíčovou roli při udržování tvaru buňky, jejím pohybu a nitrobuněčné organizaci. [7, 10]

Aktin je proteinová makromolekula, která tvoří základní součást cytoskeletu v eukaryotických buňkách. Nachází se zde v několika izoformách, a to α , β a γ . Konkrétně existují tři α -izoformy, které se nacházejí v různých typech svalové tkáně. První z nich je α -skeletální aktin, který se nachází v kosterním svalstvu, dále máme α -kardiální aktin, který je lokalizován v srdeční svalovině a třetí izoforma se nachází v hladkém svalstvu a nazývá se α -hladkosvalový aktin. Tyto izoformy mají zásadní roli v kontraktilitě svalstva. β a γ -izoformy, které se vyskytují v nesvalových i některých svalových buňkách, jsou důležité pro strukturální a dynamické vlastnosti cytoskeletu. Jednotlivé izoformy se liší pouze několika aminokyselinami, ze kterých jsou složeny. Přičemž většina těchto rozdílů je lokalizována v blízkosti N-konce (N-konec – označuje ten konec proteinu, který je zakončen $-\text{NH}_2$, tedy aminovou skupinou). I když jde jen o drobné rozdíly mají jednotlivé izoformy odlišné specifické funkce v různých buněčných procesech. [7, 11, 12]

Aktinová filamenta mají dvoušroubovicovou strukturu o průměru 5–7 nm. Tato dvoušroubovice je tvořena fibrilárním F-aktinem, který se skládá z globulárních podjednotek G-aktinu. Všechny molekuly G-aktinu jsou v těchto vláknech orientovány stejným směrem, díky čemuž mají aktinová mikrofilamenta polární charakter a lze u nich rozlišit plusový konec (někdy také označovaný jako barbed tedy ostnatý) a minusový konec (nazývaný také pointed end tedy špičatý konec). Ačkoli by se dle tohoto pojmenování mohlo zdát, že na jednom konci dochází pouze k rozpadu vlákna a na druhém k jeho růstu, není tomu tak. Oba děje probíhají na obou koncích. Je zde však zásadní rozdíl v rychlosti průběhu těchto dějů. Na plusovém konci dochází k výrazně rychlejšímu průběhu polymerizace vlákna, protože tento konec má vyšší afinitu k volným monomerům. Zatímco na minusovém konci je tento proces pomalejší, naopak zde probíhá rychleji depolymerizace. Dochází tak k neustálému dorůstání a zkracování vlákna, ale jeho délka zůstává zachována. Tyto rozdíly jsou způsobeny především strukturální odlišností obou konců. [7, 8, 13]

2.1 Polymerizace a depolymerizace aktinových filament

Polymerizace aktinu probíhá ve třech fázích. První z nich je nukleace, při níž se náhodně střetávají dva až čtyři monomery G-aktinu. Při střetu tří, případně čtyř takovýchto monomerů dochází ke vzniku stabilnějšího komplexu, který slouží jako základ pro připojení dalších monomerů G-aktinu a tak dochází k růstu aktinového filamenta. [14-16]

Další fází je elongace. Zde dochází k prodlužování aktinového vlákna, navazováním volných monomerů G-aktinu. Ty vstupují do filamenta ve formě ATP-aktinu, jde tedy o G-aktin u něž je v aktivním místě navázán adenosintrifosfát (ATP). Po jejich začlenění do vlákna dochází k hydrolyze ATP na adenosindifosfát (ADP). Vzniká tak gradient mezi navázanými ATP-aktinovými monomery a původními ADP-aktinovými monomery ve směru k minusovému konci. Čím více se blížíme k minusovému konci tím vyšší je zde převaha ADP-aktinu oproti ATP-aktinu a vlákno je zde méně stabilní a náchylnější k depolymerizaci. [15, 17]

Třetí fáze se nazývá steady-state neboli ustálený či stacionární stav. V průběhu tohoto rovnovážného děje dochází k tzv. treadmillingu. Treadmilling je stav, při kterém se aktinové filamentum neprodukuje ani nezkracuje a monomery se kontinuálně a rovnovážně přidávají na plusovém konci a odstraňují na minusovém. Právě tento dynamický stav umožňuje aktinovým vláknům udržovat flexibilní tvar buňky a plnit jejich funkce. [18, 19]

Vzhledem k tomu, že polymerizace aktinových filament je energeticky náročná a její nesprávný průběh by mohl vést k poškození správné funkce aktinových vláken, je nutná její regulace. Ta probíhá pomocí aktin-vazebných proteinů. Mezi proteiny podporující polymerizaci patří např. profilin, který napomáhá výměně ADP za ATP na aktinových monomerech, čímž zvyšuje jejich schopnost se začlenit do filamenta. Dalším důležitým proteinem je Arp2/3 komplex (actin-related protein 2/3), ten iniciuje tvorbu nových filament, čímž umožňuje jejich větvení a přispívá tak tvorbě složitějších sítí. Mezi další takové proteiny patří např. formin a tropomyozin. [17, 20]

V průběhu depolarizace dochází k rozpadu aktinových vláken zpět na základní monomery, což umožňuje rychlou přestavbu cytoskeletu v reakci na signály vnějšího i vnitřního prostředí. [16, 21]

Jak již bylo zmíněno výše, při začlenění G-aktinu do filamenta dochází na jeho molekule k postupné hydrolyze ATP na ADP. Vzniklý ADP-aktin je méně stabilní, což

vede ke snížení vazebné afinity mezi jednotlivými podjednotkami ve vláknu. Filamentum je tak v místech s vyšším počtem ADP-aktinu méně stabilní a náchylnější k depolymerizaci. [15]

Průběh depolymerizace je rovněž regulován řadou proteinů. Mezi proteiny, které tento děj podporují patří např. kofilin (ADF/cofilin). Kofilin se specificky váže na ADP-aktinové segmenty filamenta, destabilizuje je a urychluje tak jejich depolymerizaci. Dalším důležitým proteinem je gelsolin, který narušuje interakce mezi sousedními aktinovými podjednotkami a štěpí tak aktinová vlákna na kratší fragmenty. Po tomto štěpení zůstává připojen na nově vzniklých plusových koncích a zabraňuje tak polymerizaci. Polymerizaci inhibuje také thymosin- β 4, který váže molekuly G-aktinu a brání jejich začlenění do filamenta. Obdobnou funkci plní také protein twinfilin. [16, 20, 22, 23]

2.2 Aktinová filamenta a jejich interakce s molekulovými motory

Aktinová filamenta jsou nezbytnou součástí cytoskeletu buňky také proto, že tvoří jednu z hlavních drah pohybu molekulových motorů, zejména myozinu. Pohyb těchto motorů po aktinových vláknech je umožněn interakcí aktinu s myozinovými proteiny. Dochází zde k opakovanému navázání hlav myozinového motoru na aktin, k jejich posunu a následnému uvolnění z této vazby za spotřeby ATP. [24, 25]

Každý cyklus začíná vazbou myozinové hlavy na aktinové vlákno, následně dochází k hydrolýze ATP za vzniku ADP a k uvolnění anorganického fosfátu (P_i), což vyvolá konformační změnu, která vede k posunu aktinového vlákna. Následně se nová molekula ATP váže na myozin, dochází k disociaci od aktinu a zahájení nového cyklu. [24, 26]

Celý tento proces je regulován řadou faktorů jako je koncentrace Ca^{2+} iontů, ty mají zásadní roli zejména ve svalových buňkách, dále jsou to regulační proteiny např. tropomyozin, troponin a také aktin-vazebné proteiny. Dalším regulačním faktorem může být dostupnost ATP a fosforylace myozinu. [26]

Interakce aktinových filament s myoziny je klíčová pro řadu buněčných procesů. Mezi nejdůležitější patří svalová kontrakce, při níž myozin II zajišťuje stah svalových vláken. Dále je zásadní při intracelulárním transportu, kde se myozin V podílí na pohybu vezikul a organel. Jejich interakce umožňuje také například buněčnou migraci díky tomu, že se podílí na tvorbě lamelopodií a filopodií. [26-28]

3 INTERMEDIÁRNÍ FILAMENTA

Intermediární filamenta (IF) představují další ze tří hlavních složek cytoskeletu. Jsou tvořena řadou proteinů, které se skládají do jejich základních podjednotek – monomerů. Tyto monomery obsahují tyčinkovou oblast a dva globulární konce, pomocí těchto konců se skládají do dimerů, tetramerů a vyšších oligomerů. Tvoří tak dlouhá, pružná a v tahu velice odolná vlákna o průměru 8–12 nm, tímto rozměrem velikostně zapadají mezi aktinová vlákna (5–7 nm) a mikrotubuly (cca 25 nm), od čehož byl také odvozen jejich název. [29-31]

Proteiny, ze kterých jsou IF tvořena jsou rozřazeny do šesti tříd (viz tabulka níže) na základě jejich podobnosti v aminokyselinové sekvenci jejich tyčinkové domény (tyčinková doména – je centrální část IF, tvoří α -helikální strukturu, která umožňuje dimerizaci a další sestavování do vláken). [29, 32]

Tabulka 1 Jednotlivé třídy filamentárních proteinů; upraveno dle [29]

Filamentární proteiny	Typická lokalizace
Keratiny	Všechny epitelální buňky
Vimentin a příbuzné proteiny	Buňky mezenchymového původu (pojivové buňky, endotel, buňky hladkého svalstva cév)
Neurofilamenta	Nervové buňky
Nestin	Kmenové buňky a progenitorové buňky
Laminy A, B, C	Lamina fibrosa buněčného jádra
Filamenta specifická pro některé tkáně	Př. CP49 (v oční čočce), synemin (ve svalech)

Tato vlákna díky své pružnosti a schopnosti odolávat mechanickému stresu, poskytují buňkám strukturální podporu a chrání je před deformací. Svou vazbou na desmozomy zajišťují např. správné stahy ve svalovině či mechanickou pevnost kůže. Kromě mechanické stability se podílejí také na regulaci intracelulární organizace buňky a buněčného růstu. Podílejí se na proliferaci, migraci a na programované buněčné

smrti. [33, 34]

Co se týče interakce s molekulovými motory, tak na rozdíl od mikrofilament a mikrotubulů intermediární filamenta neslouží jako primární dráha pro jejich pohyb. Nejsou tedy přímo spojeny s myoziny, dyneiny či kineziny a přímo se nepodílí na intracelulárním transportu zprostředkovaném těmito motory. Přesto mohou s molekulovými motory interagovat nepřímo, a to skrze vazby na jiné složky cytoskeletu a prostřednictvím stabilizace buněčného prostředí. Například pomocí proteinu plektinu, jenž propojuje intermediární filamenta s dalšími buněčnými strukturami, jako jsou mikrotubuly, mikrofilamenta či myozin, ale také je kotví třeba k plazmatické či jaderné membráně. [30, 35, 36]

4 MIKROTUBULY

Mikrotubuly jsou dutá vlákna cytoskeletu, vznikající cirkulárním seskupením 13 protofilament. Jejich základní stavební jednotkou je tubulin, tento protein je uspořádán do heterodimerových podjednotek α - a β -tubulinu. Tyto dimery se při polymerizaci organizují tak, že ve výsledném protofilamentu spolu vždy sousedí α - a β -tubulin. Tento proces, probíhá za spotřeby guanosintrifosfátu (GTP) a vede ke vzniku spirálovitě uspořádaných protofilament. [37-39]

Tato polarizovaná dutá vlákna dosahují vnějšího průměru 25 nm o tloušťce stěny 5 nm a svou délkou se pohybují v rozmezí 1–100 μm . Díky své struktuře jsou dostatečně pevná a tuhá, v buňce tak zastávají především organizační úlohu, udržují její tvar a zabezpečují intracelulární transport. Dále jsou také nezbytnou součástí pohybového aparátu řasinek a bičků. [37, 40, 41]

4.1 Dynamika mikrotubulů

Jde o vysoce dynamické struktury, jejichž tvorba začíná nukleací, v mikrotubulárních organizačních centrech jako je centrozom, kde je zcela zásadní přítomnost γ -tubulinu, který slouží jako šablona pro iniciaci polymerizace. [42, 43]

Mínus konec filamenta zůstává povětšinou stabilně zakotven v centrozomu (s výjimkou neuronů či rostlinných buněk), zatímco regulace délky a přestavba vlákna probíhá na plus konci. Zde se z počátku připojují GTP-tubulinové dimery (α - a β -tubuliny vázající GTP). Po připojení určitého počtu těchto podjednotek se zde tvoří „stabilizační čepička“. Tímto pojmem lze označit rozšířenou oblast v blízkosti rostoucího konce vlákna, která je stabilní díky vysokému obsahu GTP-tubulinu. Její přítomnost stabilizuje vlákno, a to tak může na svém plus konci bezproblémově růst. Po začlenění dimerů do mikrotubulu dochází k postupné hydrolýze GTP na GDP v β -tubulinové podjednotce, vznikající GDP-tubulin je méně stabilní a jeho zvýšená přítomnost vede k destabilizaci vlákna. Při ztrátě GTP čepičky dochází k rychlému zmenšení MT, které je známé také pod pojmem „katastrofa“. K této ztrátě může dojít např. při nadměrné spotřebě GTP-tubulinu. Tubulinové dimery se odpojují od plus konce a jsou uvolněny do cytoplazmy, kde může dojít k jejich opětovné aktivaci. Občas je rozpadající se vlákno „zachráněno“ znovuoživením GTP-tubulinu, dochází tak k jeho opětovné polymerizaci a růstu. Pro MT je typickým jevem tzv. dynamická nestabilita, při které dochází k náhodným přechodům mezi obdobím růstu a zkracování, povětšinou tedy na plus konci vlákna. [42-44]

I když se toto neustálé sestavování a opětovné rozpadání MT vláken může zdát zbytečné, ukazuje se, že je naopak zcela nezbytné pro buněčnou fyziologii. Je to právě toto chování, které buňkám umožňuje adaptovat se na změny prostředí. Samotným vláknům umožňuje prozkoumat buněčný prostor a zajistit tak, jejich kontakt s nákladem, kterým jsou vezikuly, organely a chromozomy, které jsou příliš velké na to, aby se samostatně pohybovaly buněčnou cytoplazmou. Mimo to umožňuje také tvorbu mitotického vřeténka, kterého jsou mikrotubuly součástí. [37, 41]

Zda bude dané vlákno růst či nikoli je ovlivněno několika faktory. Hlavním faktorem je přítomnost, respektive nepřítomnost volných tubulinových dimerů v cytoplazmě. Pokud je jich dostatek, je podporována polymerizace vlákna, v opačném případě pak dochází k jeho rozpadu. Dalším regulátorem jsou s mikrotubuly asociované proteiny (MAPs), které mohou ovlivnit stabilitu vlákna. Proteiny jako jsou tau, MAP2 či MAP4 se vážou na povrch mikrotubulu a stabilizují vlákno. Zatímco destabilizační proteiny jako např. katanin, spastin a fidgetin urychlují rozpad mikrotubulu. [37]

4.2 Mikrotubuly a jejich interakce s molekulovými motory

Mikrotubuly jsou pro intracelulární transport zcela nezastupitelné, protože jsou hlavní dopravní linkou pro molekulové motory typu kinezinů a dyneinů. Ty se od sebe liší především směrem, kterým se po vlákně pohybují. Oba motory se od sebe samozřejmě liší i v jiných ohledech jako je jejich struktura či způsob jakým se po vláknech pohybují, ale tím se budeme zabývat až v pozdější kapitole. Dyneiny se pohybují k mínus konci MT, zajišťují tedy transport ve směru k centrozomu. Kineziny se naopak pohybují k plus konci těchto vláken, transportují tedy náklad směrem k cytoplazmatické membráně. Díky tomu dochází k efektivní distribuci organel, vezikul a dalších buněčných komponent do přesně určených míst. [24]

Jejich pohyb po vláknech cytoskeletu je založen na cyklických konformačních změnách, které jsou řízeny hydrolýzou ATP. Kineziny i dyneiny se skládají z dvou motorických hlav, kterými se vážou k mikrotubulu a přenášejí tak svůj náklad. Každý krok motoru začíná vazbou jedné z hlav na ATP. Navázaná hlava hydrolyzuje ATP na ADP a P_i , což má za následek konformační změnu, která způsobí snížení afinity hlavy k mikrotubulu. Uvolněná energie způsobí „kývavý“ pohyb stonku motoru, druhá hlava se tak posouvá dopředu a váže se na další vazebné místo MT a celý cyklus se opakuje. [45]

Pohyb molekulových motorů po mikrotubulech není nahodilý, je koordinován řadou faktorů. Mezi tyto regulační faktory patří např. posttranslační modifikace vláken MT, jako fosforylace, acetylace a glykosylace, které mohou ovlivňovat afinitu motorových proteinů k mikrotubulům a tím i jejich pohyb. Dalším klíčovým faktorem jsou jejich interakce s regulačními proteiny, které mohou aktivovat či inhibovat činnost motorů v závislosti na buněčných podmínkách. Na této regulaci se podílejí i adaptérové proteiny, které zprostředkovávají specifickou vazbu motoru na různé typy nákladu a mohou ovlivnit směr a rychlost pohybu. Důležitou roli hrají také signální dráhy, např. ty, které jsou závislé na ATP, dále také iontové změny mohou dynamicky řídit aktivitu motorů tím, že upravují jejich interakci s mikrotubuly. Regulace také často závisí na souhře dyneinu a kinezinu, kde určité bílkoviny, např. proteiny z rodiny JIP nebo HAP1, rozhodují o tom, který z motorů převezme kontrolu nad transportem v daném okamžiku. Tento komplexní systém umožňuje přesnou kontrolu nad intracelulárním transportem, správným rozložením buněčných složek a přizpůsobení cytoskeletu podmínkám. [46-48]

5 MOLEKULOVÉ MOTORY

Pro správnou funkci organismu je zásadní, aby buňka dokázala efektivně organizovat své makromolekuly a koordinovat transport buněčných komponent. Toto přesné časové a prostorové uspořádání nitrobuněčného prostoru zajišťují specializované proteinové mechanismy. [49]

Zcela zásadní význam pro zkoumání a pochopení složitého cytoplazmatického prostoru mají pokroky v mikroskopii. Intracelulární pohyb byl poprvé pozorován již koncem 18. století italským přírodovědcem Bonaventurou Corti u řasy Chara. V 19. století byly poměrně přesně popsány pohyby chromozomů a již v 80. letech 20. století kontrastní mikroskopie zpřístupnila vizualizaci membránových organel a proteinových komplexů. Významným krokem bylo použití zeleného fluorescenčního proteinu (green fluorescent protein), který umožnil detailní sledování pohybu organel, proteinů a RNA. S těmito objevy vzrůstá také množství přepravovaného nákladu. Transportované komponenty nyní zahrnují membránové organely, vezikuly, mRNA, cytoskeletální filamenta i proteinové komplexy podílející se na buněčné signalizaci a polaritě. [49]

Nepostradatelnou součástí této organizované transportní sítě jsou molekulové motory, které zajišťují cílený pohyb buněčných komponent podél cytoskeletálních drah, a to především podél aktinových vláken a mikrotubulů. Jde o oligomerní proteiny, které zprostředkovávají intracelulární transport, umožňují buněčnou organizaci, proliferaci a pohyb řasinek a bičíků. Tyto činnosti mohou vykonávat díky tomu, že jsou schopny převádět chemickou energii na mechanickou a tu využít pro pohyb. Chemickou energii získávají především z ATP, méně často pak z GTP. [24, 49]

Existuje mnoho kritérií, dle kterých lze molekulové motory rozdělit do určitých skupin například dle typu vlákna po kterém se pohybují nebo dle energie kterou pro svůj pohyb potřebují. Jedno z typických dělení je také dle pohybu, který vykonávají. Podle tohoto kritéria se dělí na lineární a rotující. Mezi motory lineárního typu spadají například myozin, kinezin, dynein a DNA helikáza. Motory tohoto typu přeměňují energii získanou z ATP na přímočarý pohyb, kterým se pohybují podél vlákna cytoskeletu. Oproti tomu rotující molekulové motory přeměňují získanou energii na rotační pohyb. Skládají se z rotoru a statoru a jako zdroj energie k pohybu jim slouží protonový gradient. Příkladem takového motoru jsou flagelární motorové komplexy či ATP syntáza, která rotací své F_0 podjednotky (tedy protonového kanálu) umožňuje syntézu ATP. Tyto molekulární stroje

jsou nepostradatelné pro buněčné procesy a jejich efektivita z nich činí jedny z nejdokonalejších biologických systémů. [50-52]

5.1 Myoziny

Myoziny jsou tzv. superrodinou motorických proteinů zahrnující celkem osmnáct podtříd značených římskými číslicemi. Myozin se pohybuje po drahách aktinového filamenta, a to zpravidla ve směru k jeho plusovému konci. K tomuto pohybu využívají energii uloženou v molekulách ATP. Díky tomu, že jsou schopny převádět tuto energii získanou hydrolýzou ATP na mechanickou energii, jsou zapojeny do celé řady buněčných procesů jako je transport vezikul či organel, buněčné dělení nebo změny tvaru buňky, zcela zásadní roli hraje myozin ve svalové kontrakci. [53, 54]

Struktura myozinu (viz obr. 2) má tři části, globulární hlavičku, krček a ocasek. Součástí hlavy myozinu je také motorická doména, která je do určité míry součástí všech tříd myozinů. Tato motorická část obsahuje vazebná místa pro ATP a aktin. Je následovaná vazebnou doménou lehkého řetězce a ocasní části. Motor lze rozdělit na čtyři subdomény: N-terminální doménu, horní a dolní doménu a doménu konvertorovou. Tyto subdomény jsou propojeny flexibilními spoji, což umožňuje jejich vzájemné pohyby nezbytné pro funkčnost motorické domény. Konvertorová a motorická doména společně tvoří myozinovou hlavu. Na konvertorovou doménu nasedá doména vázající lehký řetězec (LCBD), který následně vytváří pákové rameno neboli krček. LCBD je zesílena proměnným počtem kalmodulinů nebo lehkých řetězců (LC), které jsou kalmodulinu podobné. Krček funguje jako spojovací část mezi hlavou a ocasem, zároveň také zesiluje pohyby generované motorickou doménou myozinu. Na svém povrchu obsahuje vazebná místa, pro již zmiňované lehké řetězce, které ovlivňují aktivitu motorické domény. Pohyb tohoto pákového ramene umožňuje při hydrolýze ATP vykonávat myozinu krokový pohyb podél aktinových filament. [24, 53, 55]

Na krček navazuje ocasová doména, která se u konkrétních typů myozinu liší, u dvouhlavých myozinů je součástí této domény i struktura zvaná coiled-coil (viz obr. 2). Jde o specifickou strukturu, která je tvořena dvěma nebo více polypeptidovými řetězci, které jsou navzájem obtočené do spirály. Jejich cílem je zajistit, že ocasy myozinových molekul mohou agregovat do větších svazků. Ocas myozinu je zakončen zaměřovací doménou, která zprostředkovává jeho vazbu na buněčný náklad. [24, 53, 56]



Obrázek 2 Struktura myozinu, upraveno a převzato z [24]

5.1.1 Mechanismus pohybu myozinu

Pohyb myozinu po aktinovém vlákně je založen na hydrolyze ATP a následných konformačních změnách v myozinové hlavě, které tento proces vyvolává. Tyto změny umožňují cyklické připojování a odpojování myozinu od aktinu. Na začátku tohoto cyklu je myozinová hlava pevně vázána na aktinové filamentum. Po navázání ATP dojde ke snížení afinity myozinu vůči aktinu, což má za následek jeho odtržení od vlákna. V nepřítomnosti aktinu myozin rychle hydrolyzuje ATP za vzniku ADP a P_i , čímž vyvolá konformační změnu, která uvede myozin do vysokoenergetického stavu. Tato konformační změna se projeví natažením myozinové hlavy a jejím posunem podél vlákna. [24]

Jakmile se myozin znovu připojí k aktinu již na novém místě dále po filamentu, dojde k uvolnění P_i , což vyvolá hlavní pohybovou fázi cyklu, kterou je takzvaný silový zdvih (neboli power stroke). V průběhu tohoto zdvihu přechází myozinová hlava zpět do svého nízkoenergetického stavu, což se projeví mechanickým posunem aktinového filamenta. Následně se uvolní i ADP a cyklus se může opakovat. Po dokončení silového zdvihu se myozinová hlava naklání dopředu a její rameno (páka) rotuje. Tento proces se nazývá zotavovací zdvih (neboli recovery stroke). Jde o pohyb, který převádí myozin zpět do vysokoenergetického stavu, což umožňuje opětovné navázání na aktin na novém místě. [24]

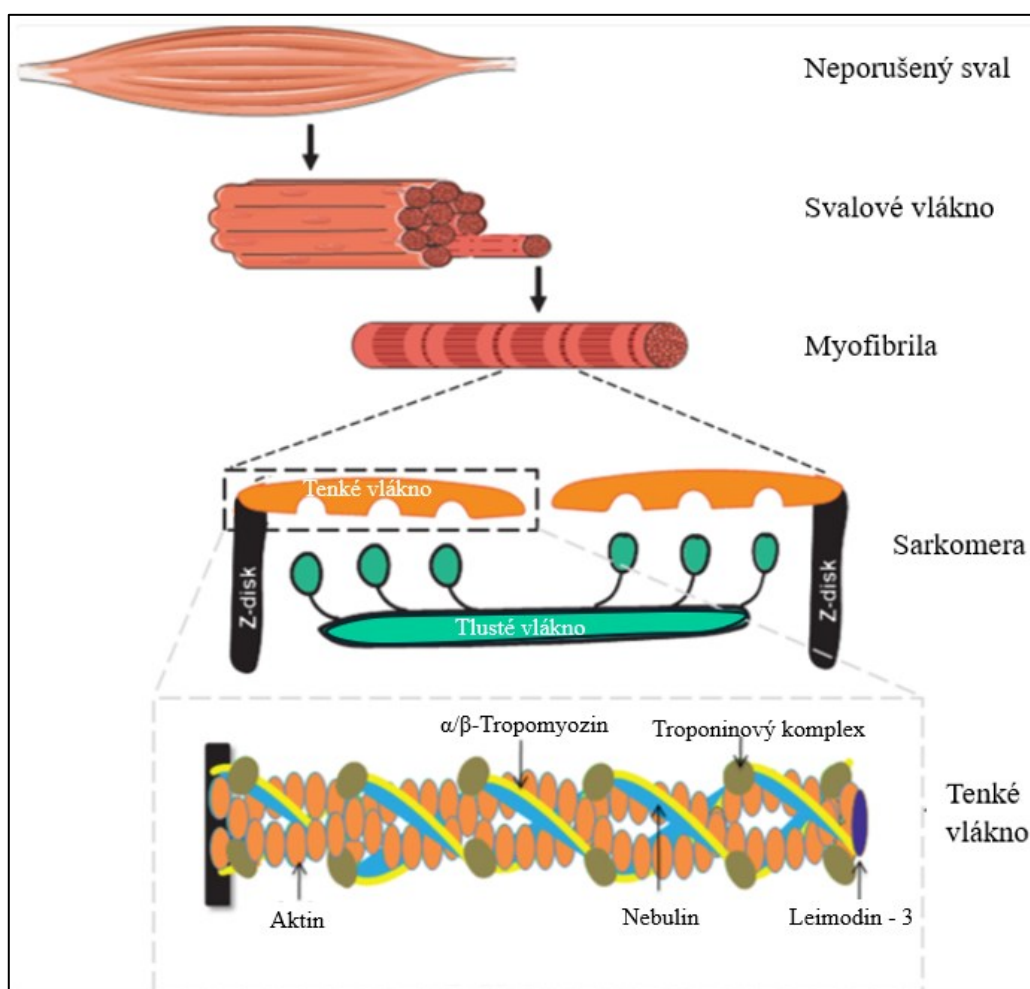
Tento cyklus se neustále opakuje, čímž dochází k posuvnému pohybu myozinu po aktinovém vlákně. Svůj pohyb myozin většinou koná ve směru k plus konci s výjimkami myozinu IV, VI a IX, které se pohybují k mínusovému konci. [24]

5.1.2 Myozin II

Myozin II, též označovaný jako svalový či konvenční myozin, byl prvním objeveným členem myozinové superrodiny. Jde o molekulární motor, který se vyskytuje především ve svalových buňkách a pohání tak kontrakci kosterního, srdečního a hladkého svalstva. [57]

Skládá se z celkem šesti řetězců, dvou těžkých a čtyř lehkých. Těžké řetězce tvoří hlavy s ATPázovou aktivitou, které přechází v krček a poté v dlouhé stočené domény tvořící ocásek. Vlákna jsou spletena pouze v ocásku, krček a hlavička jsou tvořeny vždy jen jedním těžkým vláknem, přičemž každá hlavička je otočena dvěma lehkými řetězci. [58, 59]

V příčně pruhovaném svalstvu je myozin II organizován do pravidelně uspořádaných sarkomer (viz obr. 3). Sarkomera je nejmenší kontraktilní jednotka svalu, složená z celkem čtyř hlavních složek: Z-disků, které sarkomeru ohraničují vždy jeden na každé straně, na tyto disky se upínají aktinová filamenta, označovaná jako tenká vlákna. Tato vlákna prostupují Z-disky a zasahují tak vždy až do středu dvou sousedních sarkomer. Další složkou je myozin II, který se zde nachází ve formě myozinových filament, označovaných jako tlustá vlákna. Poslední složkou je titin, molekulární pružina spojující uvedené složky. [60, 61]



Obrázek 3 Sarkomera a její části; převzato a upraveno dle [60]

Myozin, jak již víme, je vůči aktinu velmi afinitní a jeho cílem je jejich interakce. Proto hlavy myozinu vyčnívající z myozinového vlákna tahají za tenká vlákna, čímž stahují Z-disky k sobě. Sarkomera se tím stahuje a dochází ke kontrakci svalu. Navázání hlav svalového myozinu je regulováno různými proteiny, z nichž nejvýznamnější jsou troponinový komplex, nebulin a tropomyozin. [60, 62, 63]

Podél dvoušroubovice tenkého vlákna probíhají vlákna regulačních proteinů tropomyozinu a troponinu. Molekula tropomyozinu je tvořena dvěma spirálovitě obtočenými α -helikálními řetězci a váže k sobě troponinový komplex. Jeho molekuly se spojují end-to-end a vytvářejí dlouhá vlákna táhnoucí se podél aktinových filament, přičemž jedna molekula přesahuje 7 monomerních jednotek aktinu. V klidovém stavu svalu, tedy v případě přítomnosti ATP a nízké hladiny Ca^{2+} , tropomyozin interaguje s tenkými vlákny aktinu čímž zakrývá vazebná místa pro myozin. [26]

Navázaný troponinový komplex má tři složky, kterými jsou troponin C (TnC), troponin I (TnI) a troponin T. Každý z nich má svou funkci, TnC má schopnost reverzibilně vázat vápenaté ionty ve fyziologickém rozmezí, TnI inhibuje interakci aktinu s myozinem a troponin T slouží k interakci s tropomyozinem. [26]

Mimo svou zásadní roli ve svalových buňkách je myozin II dále přítomen prakticky ve všech typech živočišných buněk. Kde je označován jako nesvalový myozin II a účastní se zde řady významných biologických funkcí jako jsou migrace, adheze, intracelulární transport, ale také např. organizace a přestavba aktinového cytoskeletu, cytokineze či morfogeneze organel. [64]

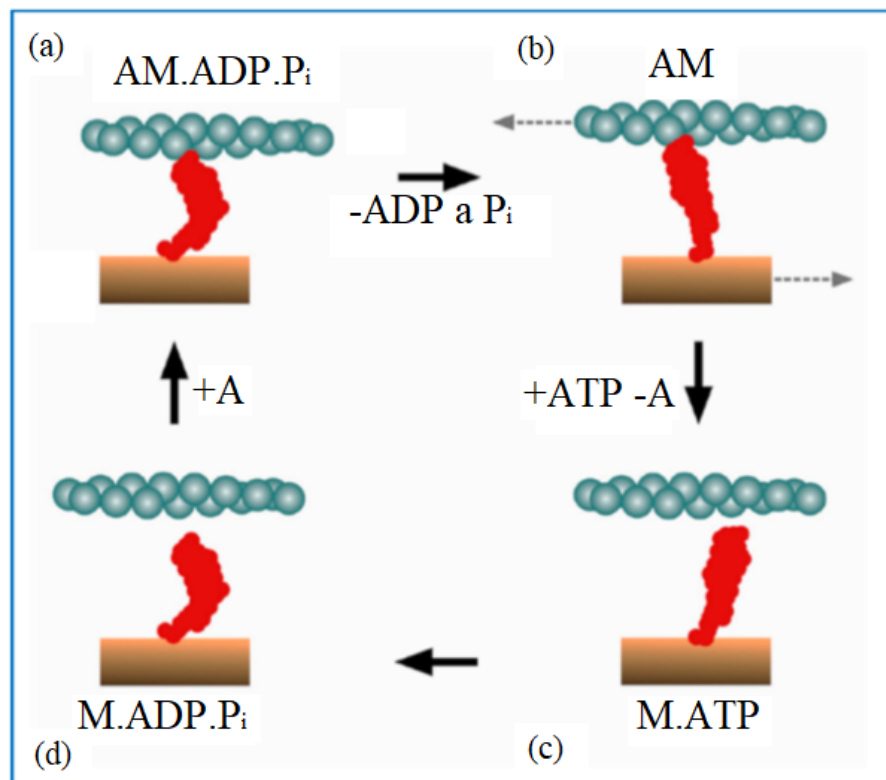
5.1.2.1 Kontraktilní cyklus

Stah svalu je aktivován uvolňováním Ca^{2+} iontů ze zásobáren v sarkoplazmatickém retikulu, obklopujícím svalové myofibrily. Uvolněné Ca^{2+} se váží na TnC, čímž způsobují změnu struktury troponinu. Tato změna vede k pohybu tropomyozinového řetězce po povrchu aktinového vlákna, čímž dochází k odkrytí vazebného místa pro myozin. Po odhalení vazebných míst dochází k navázání myozinových hlav na aktin, což zahájí kontraktilní cyklus. [26]

Kontraktilní cyklus je poháněn hydrolyzou ATP v reakci: $\text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{ADP} + \text{P}_i$. Během svalové kontrakce se ATP, které je navázané na myozinovou hlavu (M.ATP) štěpí na ADP a P_i , vzniká tak M.ADP. P_i (viz obr. 4), což umožňuje jeho spojení s aktinem za vzniku AM.ADP. P_i . Jejich vazba podporuje uvolnění P_i a následně ADP. Toto uvolnění vede

k vytvoření AM a vzniku rigorového komplexu, který je jen krátkodobou fází kontraktálního cyklu. Poměrně déle pak přetrvává v rigor mortis, kdy se po smrti v těle zastavuje produkce ATP. V kontraktálním cyklu se hlavy ve stavu AM navážou na ATP, čímž se urychlí oddělení hlav od aktinu a vznikne opět M.ATP, připravený na opětovné zahájení hydrolýzy. [26]

Každý z cyklů je spojen se změnou tvaru či náklonu myozinové hlavy (viz obr. 4). Předpokládá se že při přechodu mezi stavem, který dává vzniknout AM.ADP.P_i a konečným stavem po uvolnění ADP a P_i, dochází k rotaci ramene páky, a tedy k lineárnímu posunu aktinových a myozinových vláken vůči sobě, pokud nejsou omezeny v pohybu. Jakmile se ATP naváže na myozin, jeho hlava se odpojí od aktinu. Následuje krok zakotvení. Dochází k hydrolýze ATP a produkty ADP a P_i zůstávají navázány, vzniká tedy M.ADP.P_i. Zatímco motorová doména obnovuje svůj původní úhel vůči pákovému ramenu, čímž se připravuje na další cyklus interakce s aktinem. [26]



Obrázek 4 Zjednodušený kontraktální cyklus; červená – myozinová hlava; hnědá – páteř myozinového vlákna, modrozelené – aktinové vlákno. (a) počáteční stav připojení, (b) konečný stav (podobný ztuhlosti) po uvolnění produktu (ADP a P_i), (c) stav odpojení indukovaný vazbou ATP, (d) hlava myozinu po hydrolýze ATP s navázanými produkty ADP a P_i; upraveno a převzato z [26]

Opakované cykly těchto interakcí vedou ke koordinovanému posunu tenkých vláken v rámci sarkomery, což způsobuje svalovou kontrakci. Rychlost a síla kontrakce závisí na koncentraci Ca^{2+} a dostupnosti ATP. Po ukončení signálu se Ca^{2+} aktivně transportuje zpět do sarkoplazmatického retikula pomocí Ca^{2+} -ATPázy, čímž se troponin vrací do původní konformace a tropomyozin znovu blokuje vazebná místa pro myozin. Což vede k uvolnění svalového napětí a sval se tak navrácí do klidového stavu. [26]

5.2 Dyneiny

Dyneiny jsou molekulární motory, které zodpovídají za transport molekul látek prostorem cytoplazmy. Tento transport vykonávají díky své interakci s mikrotubuly, po kterých se pohybují směrem k jejich minusovému konci, většinou tedy k centru buňky. Jde o největší a také nejrychlejší typy motorů, pohybují se rychlostí 600 nm/s, přičemž délka jejich kroku činí 24–32 nm. [24, 65, 66]

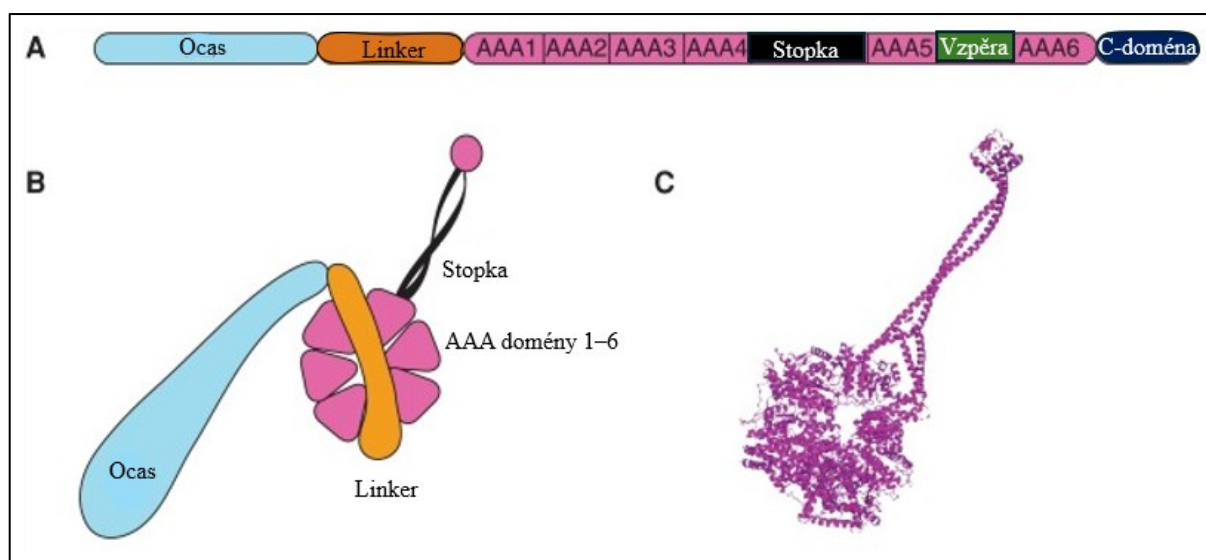
Tvoří rodinu proteinů, která se označuje jako AAA+ tedy ATPases associated with diverse cellular activities, což lze do češtiny přeložit jako ATPázy spojené s různými buněčnými aktivitami. Lze je rozdělit do třech hlavních tříd, a to na cytoplazmatické (dynein-1), intraflagelární (dynein-2) a axonemální (označované také jako flagelární či ciliární). Vzájemně se od sebe liší především svou funkcí. Cytoplazmatický dynein zodpovídá za vnitrobuněčný transport a organizaci mitotického vřeténka, dynein-2 zajišťuje retrogradní intraflagelární transport v řasinkách, čímž umožňuje recyklaci intraflagelárních komponent a signálních proteinů potřebných pro správnou funkci a údržbu řasinek a axonemální je nezbytný pro pohyb řasinek a bičíků. [65, 67, 68]

Správná funkce dyneinů je nezbytná pro životaschopnost buněk, a tedy i celého organismu. Jejich poruchy či absence mohou vést k řadě zdravotních problémů jako jsou neurodegenerativní onemocnění, vývojové poruchy spojené s kostními ciliopatiemi včetně zkrácených končetin, cystických ledvin a degenerace sítnice. Dysfunkce axonemálních dyneinů se pak pojí s ciliopatiemi, jako jsou mužská neplodnost nebo primární ciliární dyskineze. [33, 34]

5.2.1 Cytoplazmatický dynein

Cytoplazmatický dynein, také označovaný jako dynein-1, se nachází ve všech živočišných buňkách a jde o hlavní minus koncový motor. Jeho úlohou je intracelulární transport, při kterém přenáší organely, vezikuly či mRNA. Významný je také při buněčném dělení, kde se podílí na sestavení mitotického vřeténka. [65, 69]

Dynein-1 je dimer sestavený z šesti polypeptidů. Jeho největší podjednotkou je těžký řetězec (HC), který se skládá z C-terminální motorické domény a N-terminální koncové domény. C-terminální doména obsahuje šest modulů AAA uspořádaných do kruhu (viz obr. 5). Jednotlivé moduly se navzájem propojují do jednoho polypeptidového řetězce. Většina z modulů má na svém povrchu typické motivy Walker A a Walker B, což jsou specifické sekvence aminokyselin, které umožňují ATPázovým enzymům vázat a hydrolyzovat ATP. To vážou pouze první čtyři podjednotky AAA, z čehož pouze první modul (tedy AAA1) je určen pro hydrolyzu ATP. AAA1 je tak hlavním generátorem energie pro pohyb dyneinu. AAA2 sice váže ATP, pro jeho hydrolyzu mu však v motivu Walker B chybí katalytický glutamát. Vazba zmiňovaného nukleotidu na toto místo má však strukturální význam při pohybových změnách těžkého řetězce v rámci prstence. AAA3 a AAA4 slouží k asynchronní hydrolyze ATP, ve vztahu k AAA1 a fungují tak spíše jako regulátory pohybu tohoto motorického proteinu. U zbývajících dvou modulů, tedy AAA5 a AAA6 chybí místo pro navázání zmiňovaného nukleotidu. [65, 70]



Obrázek 5 Struktura dyneinu; A: Lineární uspořádání domén těžkého řetězce dyneinu – od ocasu až po motorovou C-doménu, B: Zjednodušený 3D model motorické části dyneinu s vyznačením hlavních strukturálních částí, C: Páskový diagram krystalové struktury cytoplazmatického dyneinu-2 zobrazující jeho prostorové uspořádání. Upraveno a převzato z [24]

Na pomezí modulů AAA4 a AAA5 vychází z prstencové struktury motorové domény tzv. stalk neboli stopka o délce cca 15 nm. Ve své struktuře má charakteristickou oblast coiled-coil (stočenou spirálu). Stopka na svém konci nese doménu vázající mikrotubuly (MTBD), která zprostředkovává vazbu dyneinu s vláknem mikrotubulu. Vazba této domény k vláknu je řízena konformačními změnami, které nastávají v důsledku

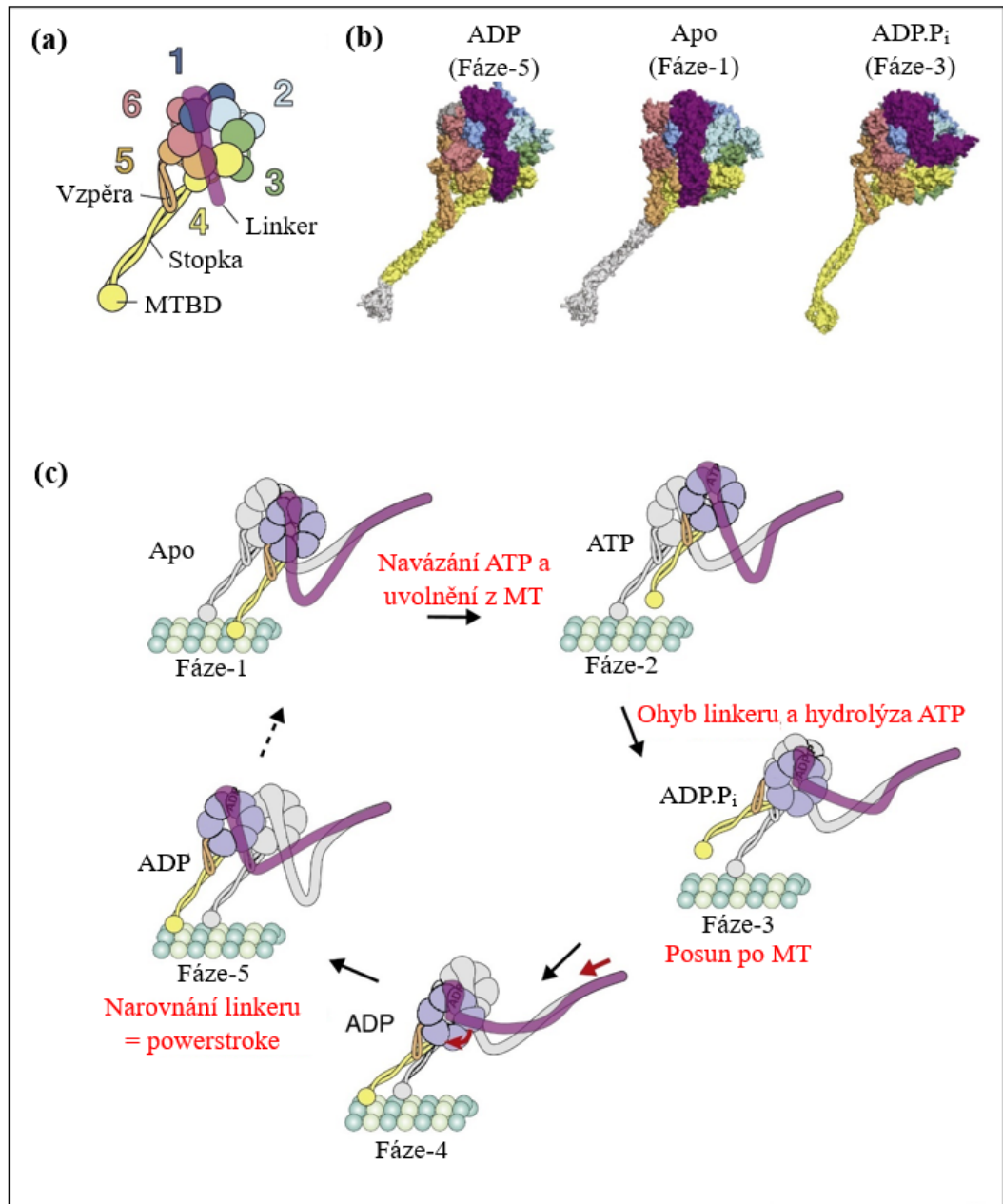
hydrolyzy ATP na motorické doméně. Konformační změny probíhající v doméně AAA1 jsou dále vedeny dolů ke stonku přes opěrku a krátkou stočenou cívku upevněnou na doméně AAA5, která tak společně s doménou AAA6 zprostředkovává posun stonku. [65, 71]

K N-konci AAA+ (AAA1 až AAA6) kruhu je připojen tzv. linker, tedy α -helikální svazek, na kterém probíhají konformační změny v závislosti na navázání nukleotidu. Tento linker funguje jako mechanický převodník, přenáší sílu vytvořenou hydrolyzou ATP do pohybu dyneinu podél MT. N-konec HC tvoří strukturu zvanou ocas, která plní především strukturální roli, dimerizuje dvě jednotky HC dohromady a tvoří tak dimer. Poskytuje také strukturu pro navázání dvou kopií středního řetězce (intermediate chain, IC) a dvou lehkých mezilehlých řetězců. IC dále slouží jako spojovací bod pro tři LC, které se podílejí na regulaci funkce a stability celého motorického komplexu. [65, 70]

5.2.1.1 Pohyb cytoplazmatického dyneinu

Na rozdíl od myozinových molekulových motorů, které pro svůj pohyb využívají aktinová vlákna, se dyneiny pohybují po drahách MT. Tento pohyb činí ve směru k mínusovému konci těchto vláken, tedy obvykle směrem do nitra buňky (např. k jádru nebo centrozomu). To z dyneinu dělá hlavní molekulový motor zodpovídající za transport nákladu tímto směrem. [72, 73]

Dynein je v klidovém stavu, tedy ve stavu, kdy k doméně AAA1 není navázáno ATP, pevně vázán k MT prostřednictvím MTBD (viz obr. 6). Tento stav, kdy k AAA1 není vázán příslušný nukleotid je označován jako apo fáze. Linker je v natažené (přímé) poloze a směřuje přes horní část AAA prstence. Pohyb cytoplazmatického dyneinu začíná navázáním ATP na doménu AAA1 na jednom z ramen. Tato vazba spouští kaskádu konformačních změn uvnitř motorové domény a uvádí tak dynein do pohybu. Jednou z prvních změn je posun helixů ve stopce, který způsobí snížení afinity MTBD k MT. Dochází tak k uvolnění vazebné domény a odpojení dyneinu od svého aktuálního místa na MT. Současně dochází k ohýbání linkeru ten tak přechází do tzv. priming pozice, která je energeticky méně stabilní, díky čemuž se v molekule dyneinu ukládá mechanická energie a ten se tak připravuje ke kroku. [72, 74, 75]



Obrázek 6 Dyneinový motor a jeho katalytický cyklus; (a) Znázornění motorické části dyneinu. Tato část je tvořena šesti AAA+ doménami (označenými 1 až 6), které jsou uspořádány do kruhu. Linker, tedy pružná spojovací doména, přenáší změny tvaru v tomto prstenci s přispívá ke generování mechanické síly. Z oblasti AAA4 vybíhá stopka, které nese MTBD, umožňující interakci s MT. (b) Znázornění krystalových struktur motorické oblasti ve třech odlišných stavech vázaných na nukleotidy. Úseky stonku, které ve strukturách odpovídajících ADP a Apo chybí, jsou značeny šedou barvou. (c) Schéma zachycující chemicko-mechanický cyklus dyneinu. Barevně zvýrazněná motorická doména prochází konformačními změnami v důsledku interakce s ATP, což jí umožňuje posouvat se po MT vůči druhé (šedě znázorněné) části v rámci dimeru. Směr pohybu během jednotlivých fází kroku je vyznačen červenými šipkami. Upraveno a převzato z [74].

Nesmíme však zapomínat, že tento molekulový motor je homodimer a tak tato fáze neprobíhá izolovaně a pohyb každého ramene závisí na tom druhém. Dynein navíc, na rozdíl od kinezinu nekráčí rovnoměrně, ale asymetricky a nekoordinovaně a ramena se navzájem ovlivňují skrze mechanické napětí v oblasti ocasu. Zatímco na jednom z monomerů dochází k jeho uvolnění a přípravě na krok, druhé zůstává stabilně připojeno k vláknu MT. [72, 76]

V průběhu odpojení krokujícího ramene dyneinu u něj dochází k hydrolyze ATP za vzniku ADP a P_i . Zatím ale nedochází k jeho uvolnění. MTBD se připojuje k novému místu na MT řetězci o několik nanometrů blíže k jeho minusovému konci. Tato relokace sama o sobě ještě nezpůsobí pohyb nákladu, jen změnu pozice MTBD. Po navázání dyneinu na nový segment MT dojde k uvolnění vzniklého P_i , což má za následek prudký pohyb linkeru. Jde o tzv. powerstroke, v jehož průběhu se linker vrací zpět do výchozí polohy a dochází k posunu dyneinu spolu s připojeným nákladem. Po navázání jednoho ramene na nové místo může druhé rameno provést svůj krok anebo zůstat navázané. Vzájemná koordinace těchto dvou cyklů zajišťuje efektivní, a přesto flexibilní pohyb, který umožňuje dyneinu přecházet i přes překážky na MT drahách. [72, 74, 77]

5.2.2 Axonemální dynein

Axonemální dynein je motorický protein, který se vyskytuje výhradně u buněk s pohyblivými řasinkami a bičíky. Je nedílnou součástí vnitřních struktur těchto pohybových aparátů, tzv. axonem. Axonema (někdy také axonéma či axonem) je hlavní stavební kostrou těchto vláknitých výběžků buňky. U většiny druhů – od řas *Chlamydomonas* až po člověka – má axonema podobnou strukturu a složení. Skládá se z mikrotubulových dubletů (MTD) a mnoha dalších proteinů zapouzdřených v plazmatické membráně. Pověštinou dosahuje délky 5–10 μm a průměru cca 300 nm. Co se struktury týče typická axonema má upořádání označované jako 9+2, tedy devět MTD, které tvoří prstenec okolo dvou centrálních singletových mikrotubulů. Oproti tomu primární neboli nepohyblivé cilie mají uspořádání 9+0, tedy bez centrálního páru MT. [78, 79]

MTD je složen z jednoho kompletního válcového MT (A-tubulu) a jednoho neúplného (B-tubulu), který se k A-tubulu připojuje. K A-tubulu jsou rovněž připojena vnitřní dyneinová raménka (IDA) a vnější dyneinová raménka (ODA). IDA šlapou po B-tubulu sousedního dubletu. Tyto sousední dublety jsou propojeny nejen dyneiny, ale také nexinem tedy dyneinovým regulačním komplexem, který zabraňuje tomu, aby se dublety

vůči sobě volně posouvaly, díky němu je výsledkem pohybu ohyb axonemy. Další důležitou částí axonemy jsou tzv. radiální paprsky (RS), které vycházejí z každého vnějšího dubletu směrem k centrálnímu páru MT. Jejich úkolem je mechanicky propojit periferii s centrem axonemy a regulovat aktivitu dyneinů, pravděpodobně prostřednictvím signálů z centrálního páru. Centrální pár MT (2 singletové MT uprostřed) není propojen s dyneiny, ale je klíčový pro směřování a koordinaci pohybu. Jak už bylo zmíněno výše, interaguje s RS a patrně tak funguje jako regulační centrum. [78, 79]

Axonemální dynein je velký motorový protein poháněný hydrolyzou ATP. Co se týče strukturálních odlišností od cytoplazmatického dyneinu, nejvíce se projevují v N-koncové (ocasní) doméně. Katalytická doména obsahuje šest AAA ATPázových domén, z nichž je za hydrolyzu ATP primárně zodpovědná doména AAA1. Součástí jeho struktury je také stopka neboli stalk, tedy dlouhá struktura obsahující tzv. coiled-coil (stočenou spirálu), na jejímž konci se nachází MTBD. MTBD interaguje s B-tubulem sousední mikrotubulové dvojice. Stejně tak má axonemální dynein svou linker doménu, bohatou na α -helix, která přenáší konformační změny mezi AAA doménami během pracovního cyklu motoru. Navíc má ve své struktuře aminoterminální ocas, který zajišťuje ukotvení dyneinu k A-tubulu mikrotubulové dvojice. [65, 78, 79]

Axonemální dyneiny se v rámci axonemy dělí na dva obecné typy, a to výše zmíněná vnější dyneinová ramena a vnitřní dyneinová ramena. Vnější dyneinová raménka, jak už název napovídá, se nacházejí na vnější straně axonemy a hrají svou roli při generování síly a regulaci frekvence ciliárních tepů. Oproti tomu vnitřní ramena mají své umístění blíže středu axonemy. Jsou nezbytná pro kontrolu velikosti a tvaru ohybu výsledné vlny axonemy. Studie těchto motorů jsou velmi obtížné, protože jde o velmi složité struktury, které se skládají z několika typů motorů vnitřních dyneinových ramen, z nichž každý je jedinečný svým složením a umístěním v axonemě. [79-81]

ODA se skládá ze tří těžkých řetězců, α , β a γ , které tvoří trojhranný motorový komplex. Každý HC obsahuje motorovou doménu (C-konec) se šesti AAA moduly uspořádanými do kruhu, z nichž většina má ATPázovou aktivitu. Tato část, především tedy AAA1, váže a hydrolyzuje ATP a dodává tak energii pro pohyb. Z motorové domény vybíhá stopka zakončená MTBD, která se připojuje k sousednímu MT. Stopka tedy zprostředkovává kontakt molekulového motoru s MT, po kterém kráčí. N-terminální doména (tail, nebo také ocasní část), která u cytoplazmatického dyneinu zprostředkovává vazbu nákladu, zde slouží k ukotvení dyneinu k A-tubulu MTD v axonemě. [79, 82]

IDA je rameno složené z osmi dyneinových těžkých řetězců, jednoho heterodimeru a šesti monomerů. Každý z těchto řetězců má specifické motilní vlastnosti a je doplněn o různé LC a IC, které modulují jeho funkci. Jeho struktura je komplexnější než ODA a zahrnuje různé izoformy s odlišnými úhly kroku a interakcemi s MT. [82, 83]

5.2.3 Mechanismus pohybu bičků a cilií

Pohyb cilií a bičků je umožněn procesy, které probíhají v axonemě. I když je cesta, kterou se signály šíří touto superstrukturou složitá, pohyblivé chování je v konečném důsledku generováno dvěma řadami dyneinových ramen, která jsou trvale připojena k A-tubulu jednoho MTD a v závislosti na ATP přechodně reagují s B-tubulem sousedního dubletu. Energie získaná z ATP je přeměněna na mechanickou práci, což vyvolá pohyb MTD. Vzhledem k tomu, že dublety jsou navzájem propojené nexiny a RS, nemohou se posunout do stran, namísto toho dochází k ohybu axonemy, a tedy i celé struktury cilie či bičku. [79, 84]

Koordinovaná aktivace dyneinů na jedné straně axonemy a inhibice na opačné straně vytváří oscilační pohyby, které se šíří podél axonemy. Jakmile je ohyb dokončen, aktivita dyneinů se přenesse na druhou stranu axonemy, čímž vzniká periodický ohybový cyklus. Během každého pohybového cyklu, tzn. jednoho ohybu cilie, dochází k asymetrické aktivaci dyneinových ramen, kdy pouze ta raménka, která jsou na aktivní straně axonemy generují skluz mezi MT, zatímco ta na opačné straně jsou v klidu. ODA se aktivují rytmicky v celé délce axonemy, čímž dávají impulz k pohybu. U IDA je pohyb složitější, různé typy IDA se aktivují v různých částech axonemy v různých fázích ohybu. [79, 85]

K pohybu je tedy nezbytné přesné prostorové a časové řízení aktivace dyneinů, přísun ATP a přítomnost regulačního systému, jako je centrální pár MT a RS, které zajišťují koordinaci celého procesu, pravděpodobně díky přenosu signálu regulujícího činnost dyneinů dle momentální polohy v zakřivení axonemy. Studie také ukazují že mechanismus pohybu odpovídá tzv. modelu geometrické vazby (geometric clutch) nebo modelu skluzu (sliding – control), podle nichž mechanická zátěž a konformace axonemy zpětně ovlivňují dostupnost vazebných míst pro axonemální dyneiny. Důležitá je i koncentrace Ca^{2+} , která ovlivňuje citlivost dyneinů a tím i charakter vlnění, např. přechod z lineárního pohybu na spirálovitý. Kromě toho se také uplatňuje mechanická zpětná vazba, která ovlivňuje aktivitu dyneinů na základě aktuálního zakřivení axonemy. [79, 84, 85]

5.3 Kineziny

Kineziny jsou skupinou molekulárních motorů, které pro svůj pohyb využívají dráhy MT. Po těchto dráhách se pohybují zpravidla ve směru k plus konci až na výjimku, kterou je kynezin-14. U člověka bylo identifikováno přibližně 45 různých genů kódujících kineziny. Existuje hned několik typů kinezinů, které se mezi sebou liší především typem aminokyselin v jejich motorické doméně. Tyto proteinové motory tak na základě fylogenetických znaků řadíme do 14 rodin. Některé z nich jsou přítomny v celé řadě typů buněk, zatímco jiné vykazují specifickou expresi pouze v určitých tkáních nebo vývojových stádiích. Rozdílné typy kinezinů mají také rozdílné funkce, a tak kineziny slouží nejen k transportu buněčných vezikul, Golgiho aparátu, mitochondrií a lysozomů, ale také např. ke kontrole růstu a stability MT vláken. Svou roli hrají také během buněčného dělení, kde zajišťují segregaci chromozomů v anafázi. Vzhledem k četnosti funkcí, které v buňce zastávají jsou mutace v genech kódujících tyto motory spojovány s řadou patologických stavů, včetně neurodegenerativních onemocnění, ciliopatií nebo či poruch buněčného dělení. [86-88]

Ačkoliv se struktura těchto molekulových motorů liší v závislosti na konkrétní rodině, všechny kineziny obsahují tři hlavní části: motor, stopku a cargo doménu. Motorická doména, váže MT a slouží k hydrolyze ATP, čímž zajišťuje pohyb motoru. Další typickou částí je tedy stopka, která zajišťuje dimerizaci a přenos konformačních změn během pohybu motoru, dále také cargo doména, která zprostředkovává vazbu přenášeného nákladu. [87, 89]

Většina kinezinů má oligomerní strukturu, přičemž interakce mezi podjednotkami jsou zprostředkovány různými proteinovými asociačními doménami, nejčastěji jde o stočenou spirálu. Mnoho kinezinů je také dimerních, jako například kanonický motorický kinezin-1, ale byly charakterizovány i komplexnější formy jako např. heterotrimerní kinezin-2 nebo tetramerní kinezin-5. [24, 87, 90]

5.3.1 Kinezin-1

Kinezin-1 byl prvním motorem, u kterého byl pozorován transport nákladu podél intracelulárních MT. Díky čemuž je také jedním z nejlépe charakterizovaných zástupců kinezinové superrodiny, který se podílí na ukotvení a transportu celé řady buněčných nákladů, včetně vezikul, organel, proteinových komplexů a ribonukleoproteinů. [24, 91]

Strukturně jde o heterotetramer, který se skládá ze dvou těžkých a dvou lehkých řetězců. Těžké řetězce jsou identické, každý z nich ve své struktuře obsahuje: amino-terminální globulární motorickou doménu, centrální α -helikální oblast, která umožňuje tvorbu dimeru prostřednictvím tzv. coiled-coil (stočené spirály) a karboxy-terminální koncovou doménu, která se váže na lehké řetězce a pravděpodobně i na organelový receptor. Celý tento řetězec má délku 960 aminokyselin z čehož motorická doména zabírá 340, je tedy mnohem menší než doména myozinu se svými 850 aminokyselinami, či dyneinu jehož motorická doména je dlouhá 1000 aminokyselin. Motorická doména kinezinu-1 má určité podobnosti s motorickou doménou myozinu, obě jsou postaveny kolem jádra sedmivláknového β -skládaného listu, který je obtočen třemi α -helixy po obou stranách (viz obr. 7 na straně 41). Jednotliví členové kinezinové superrodiny sdílejí konzervovanou motorickou doménu, ale liší se v doménách, které zprostředkovávají asociaci, jako je doména s coiled-coil a doména vázající náklad (viz obr. 7). [24, 92, 93]

Lehké řetězce kinezinu často, ale ne vždy, asociují s karboxy-terminálními konci těžkých řetězců a sehrávají svou roli v motorické regulaci a vazbě nákladu. Tyto řetězce jsou sice menší, ale funkčně důležité podjednotky kinezinu-1. V tomto motoru se nachází dva řetězce, které jsou opět zcela totožné. Ve své struktuře obsahují N-terminální heptanovou repetitivní oblast, která napomáhá navázání na stonkovou část těžkého řetězce. Dále se zde nachází kyselá spojovací linker oblast a doména tetratrikopeptidové repetitivní oblasti (TPR), která obsahuje šest TPR. Jde o doménu, která umožňuje interakce s adaptorovými proteiny, které zprostředkovávají vazbu nákladu, jako např. milton nebo syntabulin. Tyto interakce jsou klíčové pro selektivní transport specifických organel např. mitochondrií nebo synaptických váčků zejména v neuronech. Lehké řetězce mají také regulační funkci, díky které mohou měnit aktivitu motoru prostřednictvím autoinhibice. V nepřítomnosti nákladu se totiž kinezin-1 může nacházet ve složené inaktivní formě, ve které je motorická aktivita potlačena. [94]

Mezi motorickou doménou a centrální α -helikální oblastí těžkého řetězce se nachází krátký, ale funkčně zásadní úsek označovaný jako tzv. neck linker (NL). Tento flexibilní spoj, který se skládá z přibližně patnácti aminokyselinových zbytků, je v průběhu nepřítomnosti ATP neuspořádaný a flexibilní, ale v momentě navázání tohoto nukleotidu dochází k jeho ukotvení a navázání na motorickou hlavici. Při hydrolyze ATP dochází ke konformační změně právě v oblasti NL, která tak při pohybu umožní překlopení podél

motorické domény. Kinezin-1 totiž, i přes svou podobnost s myozinem, ve své molekule neobsahuje strukturu pákového ramene, tuto funkci zde nahrazuje právě struktura NL, která přenáší mechanickou sílu na druhou hlavu motoru a umožňuje její předsunutí po MT. [95]

Každá strukturní doména kinezinu-1 má tedy svou specifickou úlohu v komplexním mechanismu pohybu tohoto motoru a umožňuje mu tak správně a efektivně plnit jeho transportní funkci v buňce. [24]

5.3.2 Motorický mechanismus kinezinu-1

Aby kinezin-1 mohl dobře plnit svou funkci buněčného motoru, musí být schopen přemísťovat relativně velké struktury, jako jsou např. vezikuly, hustým a často přeplněným intracelulárním prostorem buňky. Tento pohyb kinezinu-1 koná navzdory odporu, který vnitřní prostředí buňky klade. Pokud je odpor prostředí nízký, převládají kroky vpřed, tedy k plusovému konci MT. V případě, kdy odpor narůstá dochází k jejich zpomalení případně může tento motor udělat i pár kroků vzad, a to stejným způsobem jako při krokování vpřed a za spotřeby ATP. Za normálních okolností se však kinezin-1 pohybuje v pravidelných 8nm krocích k plusovému konci MT rychlostí cca 0,5–1 $\mu\text{m/s}$ *in vitro*. Jeden jeho krok mu tedy stačí k překročení vzdálenosti mezi sousedními dimery tubulinu v mřížce MT. [96]

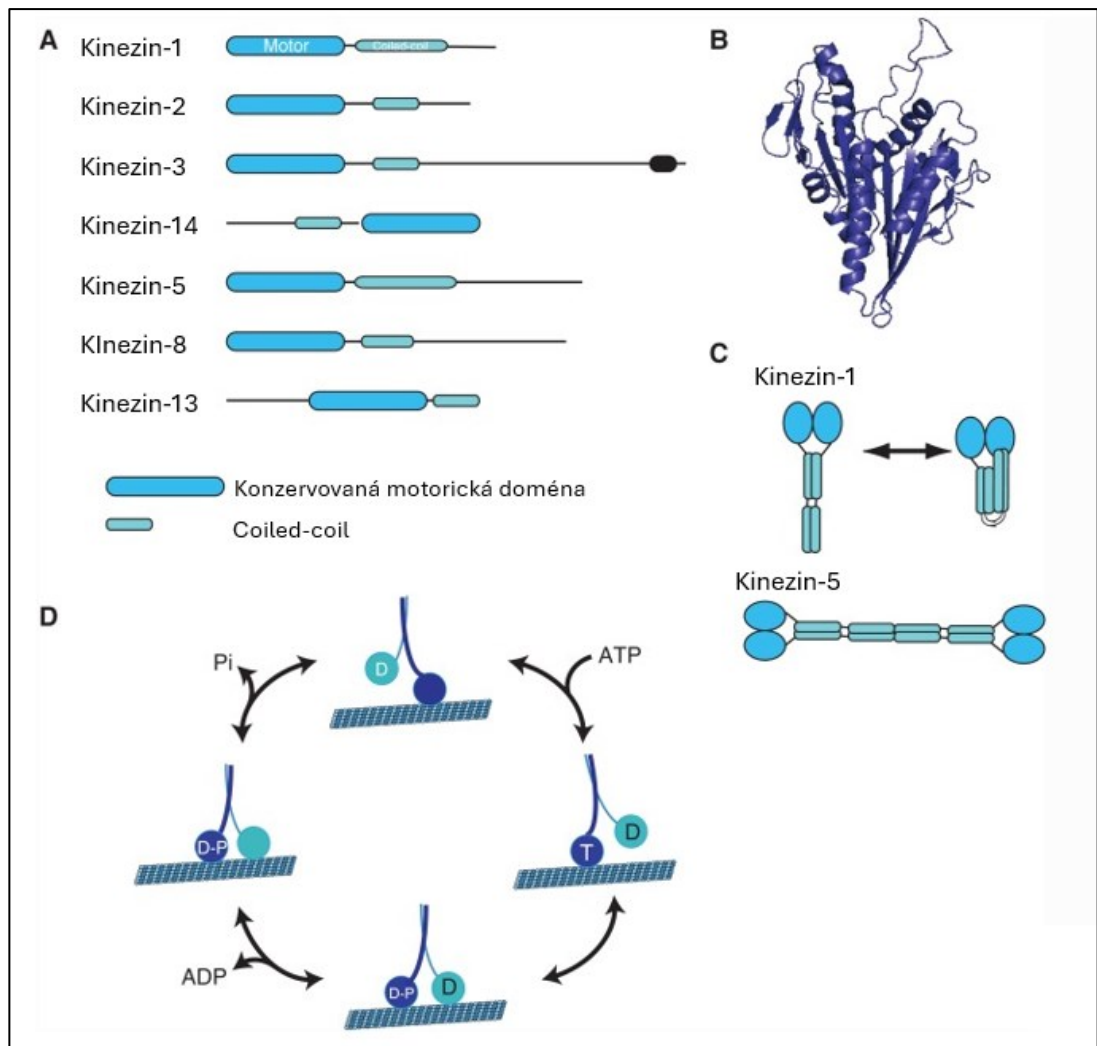
Pohyb kinezinu-1 závisí na dimerizaci těžkých řetězců, protože ty ve své struktuře nesou motorické domény, které zprostředkovávají interakci s vlákny MT. Tyto dvě hlavy kinezinu-1 se během pohybu střídavě vážou na MT (viz obr. 7) v tzv. „hand over hand“ cyklu, připomínajícím chůzi, přičemž jedna z hlav zůstává vždy pevně navázána, zatímco druhá je připravená k pohybu. Koordinace této pohybové sekvence je řízena intramolekulárním napětím, které vzniká během aktivní translokace a zajišťuje, že krokování probíhá směrově a efektivně. Výsledkem je vysoká procesivita, jakmile se kinezin-1 naváže na MT může vykonat až 100 kroků, než dojde k jeho odpojení. [96, 97]

Krokovací cyklus kinezinu-1 začíná ve stavu, kdy jsou obě jeho hlavy pevně navázány k vláknu MT, jde o tzv. dvouhlavý vázaný stav (2HB). V tomto stavu nese zadní hlava ADP, zatímco přední hlava je ve stavu s prázdným nukleotidovým místem a je připravena na navázání ATP. Po navázání potřebného nukleotidu se spouští konformační změny, které vedou k odpojení zadní hlavy a jejímu přesunutí přes hlavu přední, tedy do místa, které je blíže plusovému konci MT. Tento pohyb může motor vykonat díky flexibilitě spojovací oblasti mezi hlavami, tedy díky výše zmíněnému NL, který se po navázání ATP na původně přední hlavu „zakotví“ (docking) na motorickou doménu. Jde

o proces, který připravuje zadní hlavu na navázání na další vazebné místo na MT. Z dříve zadní hlavy se tedy stává hlava přední neboli předsunutá. [97, 98]

Předsunutá hlava po navázání na vlákno uvolní svůj ADP, což opět zvýší její afinitu k MT a dojde tak ke stabilizaci její vazby. Původně přední hlava, nyní tedy zadní, mezitím hydrolyzuje své ATP na ADP a P_i . Uvolnění vzniklého P_i probíhá s mírným zpožděním, což pomáhá udržet zadní hlavu ještě chvíli navázanou, čímž se zabrání roztržení motoru. Jakmile P_i opustí své enzymaticky aktivní místo, motorová doména přechází do slabě vázaného stavu s ADP. Kinezin-1 se tak opět nachází v 2HB. Slabě vázaný stav s ADP oslabí interakci mezi zadní hlavou a MT a připraví tak motor na další krok, kdy opět dochází k uvolnění a předsunutí zadní hlavy před přední pomocí změn v NL. [97]

Přestože je základní princip tohoto mechanismu znám již několik desetiletí, některé klíčové aspekty zůstávají předmětem výzkumu, zejména momenty, které iniciují oddělení hlavy od vlákna a navázání druhé hlavy na nové vazebné místo. [97]



Obrázek 7 Struktura a mechanochemie kinezinové superrodiny; **A:** Schematické znázornění různých členů kinezinové superrodiny, kteří sdílejí konzervovanou motorickou doménu, ale liší se doménou spojovací. **B:** Zobrazení krystalové struktury motorické domény kinezinu-1; **C:** Kinezin-1 vzniká homodimerizací dvou těžkých řetězců. Motorické domény jsou regulovány autoinhibicí, koncová doména se váže na motorické domény a inhibuje je. Autoinhibice je zmírněna asociací se specifickými vazebnými partnery. Kinezin-5 tvoří bipolární tetramerní motor. **D:** Cyklus pohybu kinezinu-1 podél MT s koordinovaným krokováním dvou motorických domén. Vazba ATP (značeno T) spouští vysoce afinitní spojení hlavičky motoru s MT. Uvolnění produktů hydrolýzy ATP, ADP (značeno D) a P_i , umožňuje odpojení hlavy od dráhy MT.
 Upraveno a převzato z [24].

5.3.3 Kinezy regulující dynamiku MT

Nejméně očekávanou vlastností některých kinezinů, konkrétně tedy kinezinu-8, 13 a 4, je jejich schopnost aktivně regulovat dynamiku MT. Buňky této jejich vlastnosti využívají při sestavování a remodelaci mitotického vřetena během dělení buňky, regulaci délky axonů během jejich vývoje a třeba i při regulaci délky řasinek a bičíků. [99]

Každý z výše uvedených motorů má svůj způsob, jakým zasahuje do délky MT. Kinezin-13 vůbec nespadá mezi transportní kinezy, jeho funkce je tedy čistě regulační a po MT se nepohybuje. Namísto toho se staticky váže na konce těchto vláken, kde využívá energii ATP k odstraňování tubulinových dimerů. Dokáže tak depolymerizovat i relativně stabilní MT, a to z obou jeho konců. Nejlépe prostudovaným kinezinem-13 je lidský KIF2C/MCAK (tedy, člen rodiny kinezinů 2C neboli MCAK tedy kinezin asociovaný s mitotickou centromerou), který se na koncích MT akumuluje buď difuzí, nebo je zde dopraven jinými s MT asociovanými proteiny. Na koncích těchto vláken dokáže rozpoznat ohnutá protofilamenta, tedy struktury typické pro MT připravené k depolymerizaci. Tím, že tyto ohyby stabilizuje, zvyšuje napětí mezi jednotlivými protofilamenty v mřížce MT, což ve výsledku podporuje jejich rozpad. KIF2C/MCAK tak urychluje depolymerizaci těchto vláken a snižuje jejich stabilitu, zároveň tím však zvyšuje jejich dynamiku, tedy rychlost, s jakou se střídají fáze jejich růstu a zkracování. Což je zásadní pro správný průběh dělení buňky. Během mitózy se KIF2C/MCAK lokalizuje na kinetochory, tedy struktury na chromozomech, ke kterým se vážou MT. Právě zde pak spouští depolymerizaci těchto vláken, která jsou nesprávně navázána a umožňuje opravu chybného připojení a zabezpečuje tak správné rozdělení chromozomů mezi dceřiné buňky. [99, 100]

Další členové kinezinů-13, jako je lidský KIF2A (tedy člen rodiny kinezinů 13 s označením 2A) nebo muší KLP10A, se nacházejí v oblasti pólů mitotického vřeténka. Tam odbourávají MT z jejich minus konců, včetně těch připojených ke kinetochorům. Jde o proces, který podporuje tzv. pólový tok, tedy posun MT směrem k pólům buňky, čímž napomáhá efektivnímu pohybu chromozomů během anafáze. Při nedostatku kinezinů-13 by buňky vykazovaly poruchy dělení jako např. prodloužené nebo nesymetrické vřeténko, vznik pouze jednoho pólu (monopolarizace), chybné připojení k chromozomům a jejich zpožděné oddělení v anafázi. [100]

Zatímco kinezin-13 nevykazuje schopnost pohybu po MT, kinezin-8 je schopen jak jejich depolymerizace, tak procesivního pohybu po těchto vláknech, a to ve směru k jejich plus koncům, které pak také preferenčně destabilizuje. Jeho depolymerizační aktivita však

závisí na akumulaci většího množství kinzinu-8 na koncích MT. Tento motor se tedy aktivně pohybuje po daném vláknu až k jeho plus konci. Zde se hromadí a přispívá ke zrychlení hydrolyzy GTP, čímž rozkládá přítomnou GTP čepičku. Bez ní se tubulinové dimery dostávají do konformace, která je více zakřivená, tím pádem i méně stabilní a náchylnější k rozpadu. [100, 101]

Během mitózy je koncentrován ve vnější oblasti kinetochoru, kde zabraňuje nadměrnému prodlužování MT a stabilizuje jejich připojení. Tím přispívá k přesnému zarovnání chromozomů v metafázové desce a ke správnému průběhu mitózy. Depolymerizační aktivita kinezinu-8, stejně jako kinezinu-13, je zásadní pro regulaci délky MT, a tedy i pro efektivní pohyb chromozomů během mitózy. Jejich funkce se však neomezuje pouze na dělení buňky. Oba typy kinezinů se účastní i regulace mikrotubulárního cytoskeletu v interfázi. Například kinezin-8 KIF19 reguluje délku primárních řasinek, zatímco kinezin-13 KIF2A se podílí na potlačování nadměrného růstu axonů nebo řízení ciliogeneze. [99, 100, 102]

Další členové kinezinové superrodiny, kteří se podílí na modulaci MT vláken, patří do rodiny kinezinů-4. Mechanismy, které k úpravě délky MT využívají jsou zcela odlišné od způsobů, které mají kineziny spadající do rodin kinezinů-8 a 13. Zatímco výše zmíněné motory urychlují rozpad těchto vláken, zde jde spíše o inhibici dalšího růstu, avšak bez rozpadu vláken. [103]

In vitro experimenty ukázaly, že zástupce kinzinů-4 jako je KIF21A, který se procesivně pohybuje po MT, potlačuje růst MT, a to především v oblasti buněčného kortexu. KIF21A je v kortikálních oblastech vázán prostřednictvím interakce s proteinem KANK1, který je součástí většího kortikálního komplexu, spolu s proteiny liprin- α 1/ β 1 a LL5 β . Tento komplex zajišťuje správnou prostorovou lokalizaci a aktivaci tohoto motoru na buněčném kortexu. Jakmile je KIF21A aktivován začíná působit jako taková růstová brzda potlačující další polymerizaci MT v dané oblasti. Současně snižuje četnost možných katastrof, tedy náhlých depolymerizačních událostí na vlákně. [103, 104]

Z hlediska buněčné funkce tak KIF21A přispívá k prostorové a stabilizační kontrole mikrotubulární sítě, a to zejména v periferních částech buňky, kde je potřeba omezit excesivní růst daných vláken např. během migrace buněk nebo růstu axonů. [103]

Společným rysem kinezinů-8, 13 a 4 tedy je jejich schopnost řídit délku MT, čímž se zásadně podílejí na jejich dynamické organizaci. Ačkoliv využívají rozdílné

mechanismy, od aktivní depolymerizace po inhibici růstu, všechny jsou zásadní pro udržení správné délky a organizace těchto vláken, a to jak během dělení buňky, tak i v diferenciovaných buňkách jako např. neuronech. Jejich přesná regulace je nezbytná pro zachování buněčné polariry, správný průběh mitózy, růst axonů i morfologii buněk jako celku. [100, 104]

6 PORUCHY MOLEKULOVÝCH MOTORŮ A S NIMI SPOJENÁ ONEMOCNĚNÍ

Ve výše uvedeném popisu jednotlivých molekulových motorů typu myozin, dynein a kynezin jsme se mohli přesvědčit o jejich důležitosti v mnoha buněčných procesech. Je tedy logické, že poruchy těchto motorových proteinů budou zasahovat do fyziologických funkcí organismu. Jejich poruchy vznikají především v důsledku mutací v genech kódujících jednotlivé proteinové složky těchto motorů, nebo jsou výsledkem dysregulace exprese těchto genů či funkční aktivity jejich proteinových enzymů. [105, 106]

Lidský genom kóduje 38 genů pro myoziny, které jsou rozděleny do 12 tříd na základě strukturálních a funkčních rozdílů. Největší z těchto tříd představuje myozin druhého typu, který je exprimován v příčně pruhovaném svalstvu. Poruchy funkce myozinů, zejména těchto svalových izoform, jsou často důsledkem mutací v genech kódujících jejich těžké řetězce. Nejlépe prozkoumané jsou právě mutace postihující myozin II, které jsou spojovány s řadou dědičných kardiomyopatií a některých forem kosterních myopatií. U některých těchto izoform bylo popsáno hned několik patogenních variant. Přičemž mezi nejčastější typy mutací patří missense, které vedou ke změně jediné aminokyseliny ve struktuře proteinu, čímž mohou významně ovlivnit jeho funkci. [107]

Příkladem onemocnění spojeného s myozinem typu II izoformy β je hypertrofická a dilatační kardiomyopatie, které jsou důsledkem mutací v genu MYH7 (myosin heavy chain 7). Tento gen kóduje těžké řetězce β -myozinu, který hraje zásadní roli v kontrakční funkci srdečního svalu. Patogenní varianty MYH7 tedy vedou k dědičným kardiomyopatiím, jejichž klinický obraz bývá proměnlivý i v rámci jedné rodiny. Studie Natural History of MYH7-Related Dilated Cardiomyopathy, zaměřená na dlouhodobý průběhem dilatační kardiomyopatie způsobené mutacemi v MYH7, ukázala že pro toto onemocnění je typický časný nástup, často již v dětském věku. Charakteristickým znakem je dále výrazná dilatace levé srdeční komory doprovázená oslabením kontraktilní funkce, které vede k postupnému snížení srdečního výdeje a dochází tak k rozvoji srdečního selhání. V pokročilých stádiích pak dochází k terminálnímu srdečnímu selhání. [108-110]

Kosterní myopatie jsou spojeny také s mutacemi v genu MYH2, který kóduje myozin IIa. Patogenní mutace v tomto genu mohou vést jak k dominantním, tak recesivním formám myopatie. Typickými projevy jsou proximální svalová slabost a u některých pacientů i oční svalové postižení (oftalmoplegie). Jedna z prvních studií (Recessive myosin

myopath with external ophthalmoplegia associated with MYH2 mutations detekovala u recesivních pacientů s MYH2 mutacemi výrazný pokles nebo absenci svalových vláken typu IIa. Novější práce z roku 2021 (Filamentous tangles with nemaline rods in MYH2 myopathy: a novel phenotype) pak rozšířila popis patologického fenotypu o přítomnost dezorganizovaných filament a nemalinových struktur. [110-112]

Dynein, tedy motor, který svůj pohyb vede podél dráhy mikrotubulu, je obzvláště důležitý pro nervové buňky, jejichž axony mohou dosahovat délky až několika desítek centimetrů. Nervové buňky jsou tedy do značné míry závislé na správné činnosti dyneinového transportního systému, který zajišťuje intracelulární přesun klíčových složek. Dysfunkce dyneinu způsobená mutacemi v genech kódujících jeho jednotlivé podjednotky může tento transport výrazně narušit a vést ke kumulaci buněčných složek a selhání synaptického přenosu. Klinicky se tyto dysfunkce projevují zejména v podobě neurovývojových poruch, periferních neuropatií nebo ciliopatií. [113, 114]

Mutace v genu DYNC1H1, tedy v genu kódujícím těžký řetězec cytoplazmatického dyneinu, jsou spojeny s širokým spektrem takovýchto onemocnění. Patří mezi ně například dědičná motoricko-senzorická neuropatie typu 1, spinální muskulární atrofie s dominantním přenosem nebo mentální retardace spojená s abnormalitami neuronální migrace. Dané mutace vedou ke snížené aktivitě dyneinu, a tedy i ke kumulaci proteinů a organel. Studie Exome Sequencing Identifies a DYNC1H1 Mutation in a Large Pedigree with Dominant Axonal Charcot-Marie-Tooth Disease popisuje konkrétní mutace v ocasní doméně genu DYNC1H1, které destabilizují dyneinový komplex a vedou k progresivní svalové slabosti a atrofii při axonální formě Charcot-Marie-Toothovy choroby. [115-117]

Dále například mutace v genech kódujících složky axonemálního dyneinu jako jsou DNAH5, DNAH11 nebo DNAL1, jsou zodpovědné za rozvoj primární ciliární dyskineze, tedy dědičného onemocnění, které je charakterizované poruchou motility řasinek. Klinicky se tato choroba projevuje chronickými respiračními infekcemi, neplodností (zejména u mužů) a situs inversus u přibližně 50 %, což je typické u Kartagenerova syndromu, tedy klinického podtypu této poruchy. Defekty v pohybu řasinek vedou také k nedostatečné clearance hlenů a k narušení určení tělních os během embryogeneze. V histologickém obraze lze pak často pozorovat nepřítomnost nebo strukturální abnormality dyneinových ramének v řasinkách. [118, 119]

Co se týče kinezinových motorů, lidský genom kóduje přes 40 genů jejich superrodiny, ve které jsou daní členové rozděleni na základě strukturálních a funkčních

charakteristik do celkem 14 rodin. Jde o motory, které hrají klíčovou roli zejména v neuronální tkáni, kde zajišťují axonální transport mitochondrií, synaptických vezikul a dalších buněčných komponent. Poruchy jejich funkce jsou většinou vyvolané mutacemi v genech KIF1A nebo KIF5A a nejčastěji jde o bodové změny (missense) v motorové nebo stopkové doméně kinezinu. Ty destabilizují komplex, snižují jeho vazbu na MT a oslabují i generovanou sílu, což výrazně narušuje efektivitu jejich transportu, což vede k závažným neurologickým onemocněním, jako je hereditární spastická paraplegie typu 30. Jedná se o autosomálně recesivní neurodegenerativní onemocnění způsobené mutacemi, v již výše zmíněném genu KIF1A, který kóduje neuronální motorický protein kinezin-1A. Missense mutace v tomto genu způsobují dysfunkci axonálního transportu a mají za následek spasticitu dolních končetin, distální svalovou atrofii a v některých případech i cerebelární ataxii či zrakové postižení. Například homozygotní mutace p.A255V byla identifikována v několika rodinách, což naznačuje možný zakladatelský efekt v určitých populacích. Klinický obraz je charakterizován pomalu progredujícími příznaky, přičemž většina pacientů si zachovává schopnost chůze i po několika letech od nástupu symptomů. [120-123]

Dalším takovým onemocněním je pak například Charcot-Marie-Toothova neuropatie typu 2, tedy dědičné onemocnění periferních nervů, které může být způsobeno mutacemi v genu KIF5A, jenž kóduje neuronální těžký řetězec kinezinu-1. Tyto mutace, zejména tedy opět missense mutace, se projevují svalovou slabostí, ztrátou hloubkových šlachových reflexů a postupnou atrofií svalů dolních a horních končetin. V některých případech byly zaznamenány i cerebelární ataxie. Například mutace p.E755K byla spojena s časným nástupem symptomů a rychlým progredujícím průběhem onemocnění. Histologické vyšetření nervových vláken ukázalo ztrátu myelinizovaných i nemyelinizovaných vláken a přítomnost abnormálních neurofilamentových svazků, což naznačuje poruchu cytoskeletu axonů. [121, 124]

ZÁVĚR

Molekulové motory jsou nedílnou součástí intracelulárního transportního systému buněk a podmiňují tak i správné fungování eukaryotických buněk. Jejich aktivita je nezbytná nejen pro transport organel, proteinů a vezikul, ale i pro dělení buněk, udržování polaritu, tvorbu cytoskeletu a pohyb. V této práci byly podrobně rozebrány tři hlavní skupiny těchto motorických proteinů, tedy myoziny, dyneiny a kineziny, přičemž u každé z nich byl popsán způsob vykonávání pohybu, struktura a jejich biologické funkce.

Zvláštní důraz byl kladen také na jejich interakci s jednotlivými složkami cytoskeletu, konkrétně tedy s aktinovými filamenti a mikrotubuly, které tvoří jejich dráhy pro pohyb. Popsány byly také rozdíly mezi jednotlivými typy molekulových motorů, jako je orientace jejich pohybu, různá struktura motorických domén či specifická lokalizace v různých typech buněk.

V závěru práce byla věnována pozornost patologickým stavům, které mohou vzniknout v důsledku narušení funkce těchto molekulových motorů. Bylo ukázáno že mutace v genech kódujících tyto proteiny mohou vést k řadě závažných onemocnění, jako jsou kardiomyopatie, neurodegenerativní poruchy, ciliopatie či dědičné neuropatie.

S rostoucím porozuměním molekulární biologie a s rozvojem moderních technik, jako je kryoelektronová mikroskopie či single-molecule imaging, se otevírají nové možnosti pro hlubší poznání struktury a funkce molekulových motorů. Tyto poznatky mohou přispět nejen k objasnění patofyziologie mnoha chorob, ale i k vývoji inovativních nástrojů v oblasti biotechnologie a medicíny.

POUŽITÁ LITERATURA

- [1] WEN, Zeyu, Yue ZHANG, Zhekai LIN, Kun SHI, Yaming JIU a Xuebiao YAO. Cytoskeleton—a crucial key in host cell for coronavirus infection. *Journal of Molecular Cell Biology* [online]. 2020, 2020-12-01, **12**(12), 968-979 [cit. 2025-02-16]. ISSN 1759-4685. Dostupné z: doi:10.1093/jmcb/mjaa042.
- [2] LEE, Gloria, Gregor LEECH, Pancy LWIN, et al. Active cytoskeletal composites display emergent tunable contractility and restructuring. *Soft Matter* [online]. 2021, 2021-12-08, **17**(47), 10765-10776 [cit. 2025-06-22]. ISSN 1744-683X. Dostupné z: doi:10.1039/D1SM01083B.
- [3] Pengertový sitoskelet. In: *Setu Jam* [online]. 2014-2024 [cit. 2024-12-29]. Dostupné z: <https://satujam.com/general/sitoskeleton/>.
- [4] WEINER, Orion D, William A MARGANSKI, Lani F WU, Steven J ALTSCHULER, Marc W KIRSCHNER a Manfred SCHLIWA. An Actin-Based Wave Generator Organizes Cell Motility. *PLoS Biology* [online]. 2007, 2007-8-14, **5**(9) [cit. 2025-06-23]. ISSN 1545-7885. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pbio.0050221.
- [5] FLETCHER, Daniel A. a R. Dyche MULLINS. Cell mechanics and the cytoskeleton. *Nature* [online]. 2010, **463**(7280), 485-492 [cit. 2025-02-16]. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/nature08908.
- [6] STACHOWIAK, Jeanne C., David L. RICHMOND, Thomas H. LI, Allen P. LIU, Sapun H. PAREKH a Daniel A. FLETCHER. Unilamellar vesicle formation and encapsulation by microfluidic jetting. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 2008, 2008-03-25, **105**(12), 4697-4702 [cit. 2025-06-23]. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.0710875105.
- [7] DOMINGUEZ, Roberto a Kenneth C. HOLMES. Actin Structure and Function. *Annual Review of Biophysics* [online]. 2011, 2011-06-09, **40**(1), 169-186 [cit. 2025-02-16]. ISSN 1936-122X. Dostupné z: doi:10.1146/annurev-biophys-042910-155359.

- [8] PARFENOV, Vladimir N., Donna S. DAVIS, Galina N. POCHUKALINA, Clare E. SAMPLE, Elena A. BUGAEVA a Kuruganti G. MURTI. Jaderná aktinová filamenta a jejich topologické změny v oocytech žáby. *Experimentální buněčný výzkum* [online]. 1995, **217** (2), 385-394 [cit. 2025-06-23]. ISSN 00144827. Dostupné z: doi:10.1006/excr.1995.1101.
- [9] BURSAC, Predrag, Guillaume LENORMAND, Ben FABRY, Madavi OLIVER, David A. WEITZ, Virgile VIASNOFF, James P. BUTLER a Jeffrey J. FREDBERG. Cytoskeletal remodelling and slow dynamics in the living cell. *Nature Materials* [online]. 2005, 2005-07-01, **4**(7), 557-561 [cit. 2025-06-23]. ISSN 1476-1122. Dostupné z: doi:10.1038/nmat1404.
- [10] GALKIN, Vitold E., Margaret S. VANLOOCK, Albina ORLOVA a Edward H. EGELMAN. A New Internal Mode in F-Actin Helps Explain the Remarkable Evolutionary Conservation of Actin's Sequence and Structure. *Current Biology* [online]. 2002, **12**(7), 570-575 [cit. 2025-06-23]. ISSN 09609822. Dostupné z: doi:10.1016/S0960-9822(02)00742-X.
- [11] SKRUBER, Kristen, Tracy-Ann READ a Eric A. VITRIOL. Reconsidering an active role for G-actin in cytoskeletal regulation. *Journal of Cell Science* [online]. 2018, 2018-01-01, **131**(1), 1-11 [cit. 2025-02-16]. ISSN 1477-9137. Dostupné z: doi:10.1242/jcs.203760.
- [12] AGBULUT, Onnik, Alexis HUET, Nicolas NIEDERLÄNDER, Michel PUCEAT, Philippe MENASCHÉ a Catherine COIRAULT. Green Fluorescent Protein Impairs Actin-Myosin Interactions by Binding to the Actin-binding Site of Myosin. *Journal of Biological Chemistry* [online]. 2007, **282**(14), 10465-10471 [cit. 2025-06-23]. ISSN 00219258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M610418200.
- [13] POLLARD, Thomas D a Mark S MOOSEKER. Direct measurement of actin polymerization rate constants by electron microscopy of actin filaments nucleated by isolated microvillus cores. *The Journal of cell biology* [online]. 1981, 1981-03-01, **88**(3), 654-659 [cit. 2025-02-16]. ISSN 0021-9525. Dostupné z: doi:10.1083/jcb.88.3.654.

- [14] MALLIRI, Angeliki, Patrick CASWELL, Christoph BALLESTREM, Adam HURLSTONE, Matthias SCHAKS, Grégory GIANNONE a Klemens ROTTNER. Actin dynamics in cell migration. *Essays in Biochemistry* [online]. 2019, 2019-10-31, **63**(5), 483-495 [cit. 2025-02-21]. ISSN 0071-1365. Dostupné z: doi:10.1042/EBC20190015.
- [15] DE LA CRUZ, Enrique M., Anna MANDINOVA, Michel O. STEINMETZ, Daniel STOFFLER, Ueli AEBI a Thomas D. POLLARD. Polymerization and structure of nucleotide-free actin filaments 1 Edited by W. Baumeister. *Journal of Molecular Biology* [online]. 2000, **295**(3), 517-526 [cit. 2025-06-23]. ISSN 00222836. Dostupné z: doi:10.1006/jmbi.1999.3390
- [16] OOSTERHEERT, Wout, Björn U. KLINK, Alexander BELYY, Sabrina POSPICH a Stefan RAUNSER. Structural basis of actin filament assembly and aging. *Nature* [online]. 2022, 2022-11-10, **611**(7935), 374-379 [cit. 2025-02-23]. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/s41586-022-05241-8.
- [17] DOMINGUEZ, Roberto. Actin filament nucleation and elongation factors – structure–function relationships. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* [online]. 2009, 2009-10-29, **44**(6), 351-366 [cit. 2025-02-22]. ISSN 1040-9238. Dostupné z: doi:10.3109/10409230903277340.
- [18] BUGYI, Beáta a Marie-France CARLIER. Control of Actin Filament Treadmilling in Cell Motility. *Annual Review of Biophysics* [online]. 2010, 2010-04-01, **39**(1), 449-470 [cit. 2025-02-23]. ISSN 1936-122X. Dostupné z: doi:10.1146/annurev-biophys-051309-103849.
- [19] SHORT, Ben. Assessing actin's growth rate. *Journal of Cell Biology* [online]. 2015, 2015-03-02, **208**(5), 499-499 [cit. 2025-06-23]. ISSN 1540-8140. Dostupné z: doi:10.1083/jcb.2085fa.
- [20] MACHESKY, Laura M., R. Dyche MULLINS, Henry N. HIGGS, Donald A. KAISER, Laurent BLANCHOIN, Robin C. MAY, Margaret E. HALL a Thomas D. POLLARD. Scar, a WASp-related protein, activates nucleation of actin filaments by the Arp2/3 complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 1999, 1999-03-30, **96**(7), 3739-3744 [cit. 2025-06-23]. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.96.7.3739.

- [21] GRENKLO, Staffan, Marcus GEESE, Uno LINDBERG, Jürgen WEHLAND, Roger KARLSSON a Antonio S SECHI. A crucial role for profilin–actin in the intracellular motility of *Listeria monocytogenes*. *EMBO reports* [online]. 2003, **4**(5), 523-529 [cit. 2025-06-23]. ISSN 1469-221X. Dostupné z: doi:10.1038/sj.embor.embor823.
- [22] BAMBURG, James, Laurie MINAMIDE, O’Neil WIGGAN, Lubna TAHTAMOUNI a Thomas KUHN. Cofilin and Actin Dynamics: Multiple Modes of Regulation and Their Impacts in Neuronal Development and Degeneration. *Cells* [online]. 2021, **10**(10) [cit. 2025-02-23]. ISSN 2073-4409. Dostupné z: doi:10.3390/cells10102726.
- [23] BLANCHOIN, Laurent a Thomas D. POLLARD. Mechanism of Interaction of Acanthamoeba Actophorin (ADF/Cofilin) with Actin Filaments. *Journal of Biological Chemistry* [online]. 1999, **274**(22), 15538-15546 [cit. 2025-06-23]. ISSN 00219258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.274.22.15538.
- [24] SWEENEY, H. Lee a Erika L.F. HOLZBAUR. Motor Proteins. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* [online]. 2018, 2018-05-01, **10**(5) [cit. 2025-02-17]. ISSN 1943-0264. Dostupné z: doi:10.1101/cshperspect.a021931.
- [25] XU, Jian-Qiu, Brian A HARDER, P UMAN a R CRAIG. Myosin filament structure in vertebrate smooth muscle. *The Journal of cell biology* [online]. 1996, 1996-07-01, **134**(1), 53-66 [cit. 2025-06-23]. ISSN 0021-9525. Dostupné z: doi:10.1083/jcb.134.1.53.
- [26] SQUIRE, John. Special Issue: The Actin-Myosin Interaction in Muscle: Background and Overview. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2019, **20**(22) [cit. 2025-02-23]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms20225715
- [27] MIKLAVC, Pika a Manfred FRICK. Actin and Myosin in Non-Neuronal Exocytosis. *Cells* [online]. 2020, **9**(6) [cit. 2025-02-23]. ISSN 2073-4409. Dostupné z: doi:10.3390/cells9061455.
- [28] SCHUH, Melina. An actin-dependent mechanism for long-range vesicle transport. *Nature Cell Biology* [online]. 2011, **13**(12), 1431-1436 [cit. 2025-06-23]. ISSN 1465-7392. Dostupné z: doi:10.1038/ncb2353.

- [29] ROBERT, Amélie, Caroline HOOKWAY a Vladimir I. GELFAND. Intermediate filament dynamics: What we can see now and why it matters. *BioEssays* [online]. 2016, **38**(3), 232-243 [cit. 2025-02-16]. ISSN 0265-9247. Dostupné z: doi:10.1002/bies.201500142.
- [30] VAN BODEGRAVEN, Emma J. a Sandrine ETIENNE-MANNEVILLE. Intermediate Filaments from Tissue Integrity to Single Molecule Mechanics. *Cells* [online]. 2021, **10**(8), 1-4 [cit. 2025-02-16]. ISSN 2073-4409. Dostupné z: doi:10.3390/cells10081905.
- [31] HERRMANN, Harald, Laurent KREPLAK a Ueli AEBI. Isolation, Characterization, and In Vitro Assembly of Intermediate Filaments. In: *Intermediate Filament Cytoskeleton* [online]. Elsevier, 2004, s. 3-24 [cit. 2025-06-23]. Methods in Cell Biology. ISBN 9780125641739. Dostupné z: doi:10.1016/S0091-679X(04)78001-2.
- [32] YOON, Kyeong Han, Miri YOON, Robert D. MOIR, Satya KHUON, Frederick W. FLITNEY a Robert D. GOLDMAN. Insights into the Dynamic Properties of Keratin Intermediate Filaments in Living Epithelial Cells. *The Journal of Cell Biology* [online]. 2001, 2001-04-30, **153**(3), 503-516 [cit. 2025-06-23]. ISSN 0021-9525. Dostupné z: doi:10.1083/jcb.153.3.503.
- [33] ELDIRANY, Sherif A., Ivan B. LOMAKIN, Minh HO a Christopher G. BUNICK. Recent insight into intermediate filament structure. *Current Opinion in Cell Biology* [online]. 2021, **68**, 132-143 [cit. 2025-02-25]. ISSN 09550674. Dostupné z: doi:10.1016/j.ceb.2020.10.001.
- [34] STEINERT, Peter M., Lyuben N. MAREKOV, R.D.Bruce FRASER a David A.D. PARRY. Keratin Intermediate Filament Structure. *Journal of Molecular Biology* [online]. 1993, **230**(2), 436-452 [cit. 2025-06-23]. ISSN 00222836. Dostupné z: doi:10.1006/jmbi.1993.1161.
- [35] LECCIA, Eric, Sylvie Batonnet-PICHON, Anne TARZE, et al. Cyclic stretch reveals a mechanical role for intermediate filaments in a desminopathic cell model. *Physical Biology* [online]. 2013, 2013-02-01, **10**(1) [cit. 2025-06-23]. ISSN 1478-3967. Dostupné z: doi:10.1088/1478-3975/10/1/016001.

- [36] SCHOPFERER, Michael, Harald BÄR, Bernhard HOCHSTEIN, Sarika SHARMA, Norbert MÜCKE, Harald HERRMANN a Norbert WILLENBACHER. Desmin and Vimentin Intermediate Filament Networks: Their Viscoelastic Properties Investigated by Mechanical Rheometry. *Journal of Molecular Biology* [online]. 2009, **388**(1), 133-143 [cit. 2025-06-23]. ISSN 00222836. Dostupné z: doi:10.1016/j.jmb.2009.03.005.
- [37] GOODSON, Holly V. a Erin M. JONASSON. Microtubules and Microtubule-Associated Proteins. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* [online]. 2018, 2018-06-01, **10**(6) [cit. 2025-02-18]. ISSN 1943-0264. Dostupné z: doi:10.1101/cshperspect.a022608.
- [38] LOGAN, Caitlin M a A Sue MENKO. Microtubules: Evolving roles and critical cellular interactions. *Experimental Biology and Medicine* [online]. 2019, **244**(15), 1240-1254 [cit. 2025-02-18]. ISSN 1535-3702. Dostupné z: doi:10.1177/1535370219867296.
- [39] ADAMS, Gregory, Jiajia ZHOU, Wenwen WANG, et al. The Microtubule Plus End Tracking Protein TIP150 Interacts with Cortactin to Steer Directional Cell Migration. *Journal of Biological Chemistry* [online]. 2016, **291**(39), 20692-20706 [cit. 2025-06-23]. ISSN 00219258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M116.732719.
- [40] ALUSHIN, Gregory M., Gabriel C. LANDER, Elizabeth H. KELLOGG, Rui ZHANG, David BAKER a Eva NOGALES. High-Resolution Microtubule Structures Reveal the Structural Transitions in $\alpha\beta$ -Tubulin upon GTP Hydrolysis. *Cell* [online]. 2014, **157**(5), 1117-1129 [cit. 2025-06-23]. ISSN 00928674. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2014.03.053.
- [41] BOWNE-ANDERSON, Hugo, Marija ZANIC, Monika KAUER a Jonathon HOWARD. Microtubule dynamic instability: A new model with coupled GTP hydrolysis and multistep catastrophe. *BioEssays* [online]. 2013, **35**(5), 452-461 [cit. 2025-06-23]. ISSN 0265-9247. Dostupné z: doi:10.1002/bies.201200131.
- [42] BROUHARD, Gary J. a Luke M. RICE. Microtubule dynamics: an interplay of biochemistry and mechanics. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* [online]. 2018, **19**(7), 451-463 [cit. 2025-03-04]. ISSN 1471-0072. Dostupné z: doi:10.1038/s41580-018-0009-y.

- [43] MAURER, Sebastian P., Nicholas I. CADE, Gergő BOHNER, Nils GUSTAFSSON, Emmanuel BOUTANT a Thomas SURREY. EB1 Accelerates Two Conformational Transitions Important for Microtubule Maturation and Dynamics. *Current Biology* [online]. 2014, **24**(4), 372-384 [cit. 2025-06-23]. ISSN 09609822. Dostupné z: doi:10.1016/j.cub.2013.12.042.
- [44] DUELLBERG, Christian, Nicholas I CADE, David HOLMES a Thomas SURREY. The size of the EB cap determines instantaneous microtubule stability. *ELife* [online]. 2016, 2016-04-06, **5** [cit. 2025-06-23]. ISSN 2050-084X. Dostupné z: doi:10.7554/eLife.13470.
- [45] ASBURY, Charles L., Adrian N. FEHR a Steven M. BLOCK. Kinesin Moves by an Asymmetric Hand-Over-Hand Mechanism. *Science* [online]. 2003, 2003-12-19, **302**(5653), 2130-2134 [cit. 2025-03-12]. ISSN 0036-8075. Dostupné z: doi:10.1126/science.1092985.
- [46] LEEDS, Bonnibelle K, Katelyn F KOSTELLO, Yuna Y LIU, Christian R NELSON, Sue BIGGINS a Charles L ASBURY. Mechanical coupling coordinates microtubule growth. *ELife* [online]. 2023, 2023-12-27, **12** [cit. 2025-06-23]. ISSN 2050-084X. Dostupné z: doi:10.7554/eLife.89467.
- [47] HENTY-RIDILLA, Jessica L., Aneliya RANKOVA, Julian A. ESKIN, Katelyn KENNY a Bruce L. GOODE. Accelerated actin filament polymerization from microtubule plus ends. *Science* [online]. 2016, 2016-05-20, **352**(6288), 1004-1009 [cit. 2025-06-23]. ISSN 0036-8075. Dostupné z: doi:10.1126/science.aaf1709.
- [48] AYAZ, Pelin, Xuecheng YE, Patrick HUDDLESTON, Chad A. BRAUTIGAM a Luke M. RICE. A TOG: $\alpha\beta$ -tubulin Complex Structure Reveals Conformation-Based Mechanisms for a Microtubule Polymerase. *Science* [online]. 2012, 2012-08-17, **337**(6096), 857-860 [cit. 2025-06-23]. ISSN 0036-8075. Dostupné z: doi:10.1126/science.1221698.
- [49] VALE, Ronald D. The Molecular Motor Toolbox for Intracellular Transport. *Cell* [online]. 2003, **112**(4), 467-480 [cit. 2025-03-15]. ISSN 00928674. Dostupné z: doi:10.1016/S0092-8674(03)00111-9.

- [50] FAN, Fuli, Songshen LIU, Yuting YAN, Peng ZHANG a Kui CHE. Artificial molecular motors in biological applications. *Frontiers in Molecular Biosciences* [online]. 2025, 2025-1-8, **11** [cit. 2025-03-16]. ISSN 2296-889X. Dostupné z: doi:10.3389/fmolb.2024.1510619.
- [51] VAN BEEK, Carlijn L. F. a Ben L. FERINGA. Coupled Rotary Motion in Molecular Motors. *Journal of the American Chemical Society* [online]. 2024, 2024-02-28, **146**(8), 5634-5642 [cit. 2025-06-23]. ISSN 0002-7863. Dostupné z: doi:10.1021/jacs.3c14430.
- [52] LU, Di a Bin CHEN. Coordinated motion of molecular motors on DNA chains with branch topology. *Acta Mechanica Sinica* [online]. 2022, **38**(3) [cit. 2025-06-23]. ISSN 0567-7718. Dostupné z: doi:10.1007/s10409-021-09045-x.
- [53] MCMILLAN, Sean N. a Charlotte A. SCARFF. Cryo-electron microscopy analysis of myosin at work and at rest. *Current Opinion in Structural Biology* [online]. 2022, **75** [cit. 2025-03-18]. ISSN 0959440X. Dostupné z: doi:10.1016/j.sbi.2022.102391.
- [54] PADRÓN, Raúl, Debabrata DUTTA a Roger CRAIG. Variants of the myosin interacting-heads motif. *Journal of General Physiology* [online]. 2023, 2023-01-02, **155**(1) [cit. 2025-06-23]. ISSN 0022-1295. Dostupné z: doi:10.1085/jgp.202213249.
- [55] WOOD, Neil B., Colleen M. KELLY, Thomas S. O'LEARY, Jody L. MARTIN a Michael J. PREVIS. Cardiac Myosin Filaments are Maintained by Stochastic Protein Replacement. *Molecular & Cellular Proteomics* [online]. 2022, **21**(10) [cit. 2025-06-23]. ISSN 15359476. Dostupné z: doi:10.1016/j.mcpro.2022.100274.
- [56] ISHII, Shuya, Kotaro OYAMA, Fuyu KOBIRUMAKI-SHIMOZAWA, Tomohiro NAKANISHI, Naoya NAKAHARA, Madoka SUZUKI, Shin'ichi ISHIWATA a Norio FUKUDA. Myosin and tropomyosin–troponin complementarily regulate thermal activation of muscles. *Journal of General Physiology* [online]. 2023, 2023-12-04, **155**(12) [cit. 2025-06-23]. ISSN 0022-1295.
Dostupné z: doi:10.1085/jgp.202313414.
- [57] SWEENEY, H. Lee a David W. HAMMERS. Muscle Contraction. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* [online]. 2018, 2018-02-01, **10**(2) [cit. 2025-03-25]. ISSN 1943-0264. Dostupné z: doi:10.1101/cshperspect.a023200.

- [58] GUHATHAKURTA, Piyali, Ewa PROCHNIEWICZ a David D. THOMAS. Actin-Myosin Interaction: Structure, Function and Drug Discovery. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2018, **19**(9), 1-11 [cit. 2025-02-16]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms19092628.
- [59] WULF, Sarah F., Virginie ROPARS, Setsuko FUJITA-BECKER, et al. Force-producing ADP state of myosin bound to actin. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 2016, 2016-03-29, **113**(13) [cit. 2025-06-23]. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.1516598113.
- [60] DE WINTER, Josine M. a Coen A.C. OTTENHEIJM. Sarcomere Dysfunction in Nemaline Myopathy. *Journal of Neuromuscular Diseases* [online]. 2017, 2017-05-30, **4**(2), 99-113 [cit. 2025-03-27]. ISSN 2214-3599. Dostupné z: doi:10.3233/JND-160200.
- [61] COLOMBO, Irene, Mariacristina SCOTO, Adnan Y. MANZUR, et al. Congenital myopathies. *Neurology* [online]. 2015, 2015-01-06, **84**(1), 28-35 [cit. 2025-06-23]. ISSN 0028-3878. Dostupné z: doi:10.1212/WNL.0000000000001110.
- [62] BANG, Marie-Louise, Xiaodong LI, Ryan LITTLEFIELD, Shannon BREMNER, Andrea THOR, Kirk U. KNOWLTON, Richard L. LIEBER a Ju CHEN. Nebulin-deficient mice exhibit shorter thin filament lengths and reduced contractile function in skeletal muscle. *The Journal of Cell Biology* [online]. 2006, 2006-06-19, **173**(6), 905-916 [cit. 2025-06-23]. ISSN 1540-8140. Dostupné z: doi:10.1083/jcb.200603119.
- [63] MARTTILA, Minttu, Mubashir HANIF, Elina LEMOLA, Kristen J NOWAK, Jenni LAITILA, Mikaela GRÖNHOLM, Carina WALLGREN-PETTERSSON a Katarina PELIN. Nebulin interactions with actin and tropomyosin are altered by disease-causing mutations. *Skeletal Muscle* [online]. 2014, **4**(1) [cit. 2025-06-23]. ISSN 2044-5040. Dostupné z: doi:10.1186/2044-5040-4-15.
- [64] GOLOMB, Eliahu, Xuefei MA, Siddhartha S. JANA a kol. Identifikace a charakterizace nesvalového myosinu II-C, nového člena rodiny myosinů II. *Journal of Biological Chemistry* [online]. 2004, **279** (4), 2800-2808 [cit. 2025-06-23]. ISSN 00219258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M309981200.

- [65] CANTY, John T., Ruensern TAN, Emre KUSAKCI, Jonathan FERNANDES a Ahmet YILDIZ. Structure and Mechanics of Dynein Motors. *Annual Review of Biophysics* [online]. 2021, 2021-05-06, **50**(1), 549-574 [cit. 2025-03-09]. ISSN 1936-122X. Dostupné z: doi:10.1146/annurev-biophys-111020-101511.
- [66] SCHMIDT, Helgo, Ruta ZALYTE, Linas URNAVICIUS a Andrew P. CARTER. Structure of human cytoplasmic dynein-2 primed for its power stroke. *Nature* [online]. 2015, **518**(7539), 435-438 [cit. 2025-06-23]. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/nature14023.
- [67] KON, Takahide, Takuji OYAMA, Rieko SHIMO-KON, Kenji IMAMULA, Tomohiro SHIMA, Kazuo SUTOH a Genji KURISU. The 2.8 Å crystal structure of the dynein motor domain. *Nature* [online]. 2012, **484**(7394), 345-350 [cit. 2025-06-23]. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/nature10955.
- [68] DE-CASTRO, Ana R.G., Diogo R.M. RODRIGUES, Maria J.G. DE-CASTRO, et al. WDR60-mediated dynein-2 loading into cilia powers retrograde IFT and transition zone crossing. *Journal of Cell Biology* [online]. 2022, 2022-01-03, **221**(1) [cit. 2025-05-14]. ISSN 0021-9525. Dostupné z: doi:10.1083/jcb.202010178.
- [69] CARTER, Andrew P., Carol CHO, Lan JIN a Ronald D. VALE. Crystal Structure of the Dynein Motor Domain. *Science* [online]. 2011, 2011-03-04, **331**(6021), 1159-1165 [cit. 2025-06-23]. ISSN 0036-8075. Dostupné z: doi:10.1126/science.1202393.
- [70] YILDIZ, Ahmet a Yuanchang ZHAO. Dyneins. *Current Biology* [online]. 2023, **33**(24), R1274-R1279 [cit. 2025-04-26]. ISSN 09609822. Dostupné z: doi:10.1016/j.cub.2023.10.064.
- [71] CHO, Carol, Samara L. RECK-PETERSON a Ronald D. VALE. Regulatory ATPase Sites of Cytoplasmic Dynein Affect Processivity and Force Generation. *Journal of Biological Chemistry* [online]. 2008, **283**(38), 25839-25845 [cit. 2025-06-23]. ISSN 00219258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M802951200.
- [72] CANTY, John T. a Ahmet YILDIZ. Activation and Regulation of Cytoplasmic Dynein. *Trends in Biochemical Sciences* [online]. 2020, **45**(5), 440-453 [cit. 2025-04-29]. ISSN 09680004. Dostupné z: doi:10.1016/j.tibs.2020.02.002.

- [73] REDWINE, William B, Morgan E DESANTIS, Ian HOLLYER, et al. The human cytoplasmic dynein interactome reveals novel activators of motility. *ELife* [online]. 2017, 2017-07-18, **6** [cit. 2025-06-23]. ISSN 2050-084X. Dostupné z: doi:10.7554/eLife.28257.
- [74] CARTER, Andrew P, Aristides G DIAMANT a Linas URNAVICIUS. How dynein and dynactin transport cargos: a structural perspective. *Current Opinion in Structural Biology* [online]. 2016, **37**, 62-70 [cit. 2025-05-10]. ISSN 0959440X. Dostupné z: doi:10.1016/j.sbi.2015.12.003.
- [75] TROKTER, Martina, Norbert MÜCKE a Thomas SURREY. Reconstitution of the human cytoplasmic dynein complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 2012, 2012-12-18, **109**(51), 20895-20900 [cit. 2025-06-23]. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.1210573110.
- [76] BHABHA, Gira, Hui-Chun CHENG, Nan ZHANG, Arne MOELLER, Maofu LIAO, Jeffrey A. SPEIR, Yifan CHENG a Ronald D. VALE. Allosteric Communication in the Dynein Motor Domain. *Cell* [online]. 2014, **159**(4), 857-868 [cit. 2025-06-23]. ISSN 00928674. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2014.10.018.
- [77] FERRO, Luke S, Sinan CAN, Meghan A TURNER, Mohamed M ELSHENAWY a Ahmet YILDIZ. Kinesin and dynein use distinct mechanisms to bypass obstacles. *ELife* [online]. 2019, 2019-09-09, **8** [cit. 2025-05-09]. ISSN 2050-084X. Dostupné z: doi:10.7554/eLife.48629.
- [78] ISHIKAWA, Takashi. Axoneme Structure from Motile Cilia. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* [online]. 2017, 2017-01-03, **9**(1) [cit. 2025-04-25]. ISSN 1943-0264. Dostupné z: doi:10.1101/cshperspect.a028076.
- [79] YAGI, Toshiki, Keigo UEMATSU, Zhongmei LIU a Ritsu KAMIYA. Identification of dyneins that localize exclusively to the proximal portion of Chlamydomonas flagella. *Journal of Cell Science* [online]. 2009, 2009-05-01, **122**(9), 1306-1314 [cit. 2025-06-23]. ISSN 1477-9137. Dostupné z: doi:10.1242/jcs.045096.
- [80] TOROPOVA, Kateřina, Ruta ZALYTE, Aakash G. MUKHOPADHYAY, Miroslav MLADENOV, Andrew P. CARTER a Anthony J. ROBERTS. Struktura komplexu dynein-2 a jeho sestavení s intraflagelárními transportními vlaky. *Nature Structural & Molecular Biology* [online]. 2019, **26** (9), 823-829 [cit. 2025-06-23]. ISSN 1545-9993. Dostupné z: doi:10.1038/s41594-019-0286-y

- [81] YAMAMOTO, Ryosuke, Juyeon HWANG, Takashi ISHIKAWA, Takahide KON a Winfield S. SALE. Composition and function of ciliary inner-dynein-arm subunits studied in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Cytoskeleton* [online]. 2021, **78**(3), 77-96 [cit. 2025-05-17]. ISSN 1949-3584. Dostupné z: doi:10.1002/cm.21662.
- [82] ROBERTS, Anthony J., Takahide KON, Peter J. KNIGHT, Kazuo SUTOH a Stan A. BURGESS. Functions and mechanics of dynein motor proteins. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* [online]. 2013, **14**(11), 713-726 [cit. 2025-05-17]. ISSN 1471-0072. Dostupné z: doi:10.1038/nrm3667.
- [83] NICASTRO, Daniela. Cryo-Electron Microscope Tomography to Study Axonemal Organization. In: *Cilia: Structure and Motility* [online]. Elsevier, 2009, s. 1-39 [cit. 2025-06-23]. Methods in Cell Biology. ISBN 9780123749734. Dostupné z: doi:10.1016/S0091-679X(08)91001-3.
- [84] MOHRI, Hideo, Kazuo INABA, Sumio ISHIJIMA a Shoji A. BABA. Tubulin-dynein system in flagellar and ciliary movement. *Proceedings of the Japan Academy, Series B* [online]. 2012, **88**(8), 397-415 [cit. 2025-05-18]. ISSN 0386-2208. Dostupné z: doi:10.2183/pjab.88.397.
- [85] VISWANADHA, Rasagnya, Winfield S. SALE a Mary E. PORTER. Ciliary Motility: Regulation of Axonemal Dynein Motors. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* [online]. 2017, 2017-08-01, **9**(8) [cit. 2025-05-18]. ISSN 1943-0264. Dostupné z: doi:10.1101/cshperspect.a018325.
- [86] KONJIKUSIC, Mia J., Ryan S. GRAY a John B. WALLINGFORD. The developmental biology of kinesins. *Developmental Biology* [online]. 2021, **469**, 26-36 [cit. 2025-03-10]. ISSN 00121606. Dostupné z: doi:10.1016/j.ydbio.2020.09.009.
- [87] HIROKAWA, Nobutaka, Yasuko NODA, Yosuke TANAKA a Shinsuke NIWA. Kinesin superfamily motor proteins and intracellular transport. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* [online]. 2009, **10**(10), 682-696 [cit. 2025-05-14]. ISSN 1471-0072. Dostupné z: doi:10.1038/nrm2774.
- [88] DOVAL, Florence., Kyoko. Chiba, Robert J. MCKENNEY, Kathryn .M. ORI-MCKENNEY a M.D. VERSHININ. Temperature-dependent activity of kinesins is regulable. *Biochemical and Biophysical Research Communications* [online]. 2020, **528**(3), 528-530 [cit. 2025-06-23]. ISSN 0006291X. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbrc.2020.05.157.

- [89] GYOEVA, Fatima K., Dmitry V. SARKISOV, Alexey L. KHODJAKOV a Alexander A. MININ. The Tetrameric Molecule of Conventional Kinesin Contains Identical Light Chains. *Biochemistry* [online]. 2004, 2004-10-01, **43**(42), 13525-13531 [cit. 2025-06-23]. ISSN 0006-2960. Dostupné z: doi:10.1021/bi049288l.
- [90] XU, Kaiming, Ming LI a Guangshuo OU. Distinct roles of two homologous kinesins in mammalian motile cilia. *Journal of Cell Biology* [online]. 2024, 2024-11-04, **223**(11) [cit. 2025-06-23]. ISSN 0021-9525. Dostupné z: doi:10.1083/jcb.202409214.
- [91] VALE, Ronald D, T Reese a M SHEETZ. Identification of a novel force-generating protein, kinesin, involved in microtubule-based motility. *Cell* [online]. 1985, **42**(1), 39-50 [cit. 2025-05-15]. ISSN 00928674. Dostupné z: doi:10.1016/S0092-8674(85)80099-4.
- [92] XU, Amadeus, Angika BASANT, Sibylle SCHLEICH, Timothy P. NEWSOME a Michael WAY. Kinesin-1 transports morphologically distinct intracellular virions during vaccinia infection. *Journal of Cell Science* [online]. 2023, 2023-03-01, **136**(5) [cit. 2025-05-15]. ISSN 0021-9533. Dostupné z: doi:10.1242/jcs.260175.
- [93] JON KULL, F., Elena P. SABLIN, Rebecca LAU, Robert J. FLETTERICK a Ronald D. VALE. Crystal structure of the kinesin motor domain reveals a structural similarity to myosin. *Nature* [online]. 1996, **380**(6574), 550-555 [cit. 2025-05-21]. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/380550a0.
- [94] COCKBURN, Joseph J.B., Sophie J. HESKETH, Peter MULHAIR, Maren THOMSEN, Mary J. O'CONNELL a Michael WAY. Insights into Kinesin-1 Activation from the Crystal Structure of KLC2 Bound to JIP3. *Structure* [online]. 2018, **26**(11), 1486-1498.e6 [cit. 2025-05-22]. ISSN 09692126. Dostupné z: doi:10.1016/j.str.2018.07.011.
- [95] KHALIL, Ahmad S., David C. APPLEYARD, Anna K. LABNO, Adrien GEORGES, Martin KARPLUS, Angela M. BELCHER, Wonmuk HWANG a Matthew J. LANG. Kinesin's cover-neck bundle folds forward to generate force. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 2008, 2008-12-09, **105**(49), 19247-19252 [cit. 2025-05-22]. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.0805147105.

- [96] TOLEIKIS, Algirdas, Nicholas J. CARTER a Robert A. CROSS. Backstepping Mechanism of Kinesin-1. *Biophysical Journal* [online]. 2020, **119**(10), 1984-1994 [cit. 2025-05-21]. ISSN 00063495. Dostupné z: doi:10.1016/j.bpj.2020.09.034.
- [97] HANCOCK, William O. The Kinesin-1 Chemomechanical Cycle: Stepping Toward a Consensus. *Biophysical Journal* [online]. 2016, **110**(6), 1216-1225 [cit. 2025-05-24]. ISSN 00063495. Dostupné z: doi:10.1016/j.bpj.2016.02.025.
- [98] KAWAGUCHI, Kenji. Energetics of kinesin-1 stepping mechanism. *FEBS Letters* [online]. 2008, 2008-11-12, **582**(27), 3719-3722 [cit. 2025-05-24]. ISSN 0014-5793. Dostupné z: doi:10.1016/j.febslet.2008.10.019.
- [99] WALCZAK, Claire E., Sophia GAYEK a Ryoma OHI. Microtubule-Depolymerizing Kinesins. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* [online]. 2013, 2013-10-06, **29**(1), 417-441 [cit. 2025-05-24]. ISSN 1081-0706. Dostupné z: doi:10.1146/annurev-cellbio-101512-122345.
- [100] LEONG, Shu Yao, Tomoya EDZUKA, Gohta GOSHIMA a Moé YAMADA. Kinesin-13 and Kinesin-8 Function during Cell Growth and Division in the Moss *Physcomitrella patens*. *The Plant Cell* [online]. 2020, 2020-03-02, **32**(3), 683-702 [cit. 2025-05-31]. ISSN 1040-4651. Dostupné z: doi:10.1105/tpc.19.00521.
- [101] VARGA, Vladimir, Cecile LEDUC, Volker BORMUTH, Stefan DIEZ a Jonathon HOWARD. Kinesin-8 Motors Act Cooperatively to Mediate Length-Dependent Microtubule Depolymerization. *Cell* [online]. 2009, **138**(6), 1174-1183 [cit. 2025-05-31]. ISSN 00928674. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2009.07.032.
- [102] EDZUKA, Tomoya a Gohta GOSHIMA. Drosophila kinesin-8 stabilizes the kinetochore–microtubule interaction. *Journal of Cell Biology* [online]. 2019, 2019-02-04, **218**(2), 474-488 [cit. 2025-06-01]. ISSN 0021-9525. Dostupné z: doi:10.1083/jcb.201807077.
- [103] VAN DER VAART, Babet, Wilhelmina E. VAN RIEL, Harinath DOODHI, et al. CFEOM1-Associated Kinesin KIF21A Is a Cortical Microtubule Growth Inhibitor. *Developmental Cell* [online]. 2013, **27**(2), 145-160 [cit. 2025-06-07]. ISSN 15345807. Dostupné z: doi:10.1016/j.devcel.2013.09.010.

- [104] SUN, Shi-Yan, Lingyun NIE, Jing ZHANG, Xue FANG, Hongmei LUO, Chuanhai FU, Zhiyi WEI a Ai-Hui TANG. The interaction between KIF21A and KANK1 regulates dendritic morphology and synapse plasticity in neurons. *Neural Regeneration Research* [online]. 2025, **20**(1), 209-223 [cit. 2025-06-07]. ISSN 1673-5374. Dostupné z: doi:10.4103/1673-5374.391301.
- [105] HIROKAWA, Nobutaka, Shinsuke NIWA a Yosuke TANAKA. Molecular Motors in Neurons: Transport Mechanisms and Roles in Brain Function, Development, and Disease. *Neuron* [online]. 2010, **68**(4), 610-638 [cit. 2025-06-07]. ISSN 08966273. Dostupné z: doi:10.1016/j.neuron.2010.09.039.
- [106] COLUCCIO, Lynne M. Myosins and Disease. In: COLUCCIO, Lynne M., ed. *Myosins* [online]. Cham: Springer International Publishing, 2020, s. 245-316 [cit. 2025-06-07]. Advances in Experimental Medicine and Biology. ISBN 978-3-030-38061-8. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-030-38062-5_12.
- [107] PARKER, Francine a Michelle PECKHAM. Disease mutations in striated muscle myosins. *Biophysical Reviews* [online]. 2020, **12**(4), 887-894 [cit. 2025-06-17]. ISSN 1867-2450. Dostupné z: doi:10.1007/s12551-020-00721-5.
- [108] KIM, Oc-Hee, Jihyun KIM, Youngjun KIM, Soyoung LEE, Beom Hee LEE, Bong-Jo KIM, Hyun-Young PARK a Mi-Hyun PARK. Exploring novel MYH7 gene variants using in silico analyses in Korean patients with cardiomyopathy. *BMC Medical Genomics* [online]. 2024, **17**(1) [cit. 2025-06-18]. ISSN 1755-8794. Dostupné z: doi:10.1186/s12920-024-02000-8.
- [109] GAO, Yuan, Lu PENG a Cuifen ZHAO. MYH7 in cardiomyopathy and skeletal muscle myopathy. *Molecular and Cellular Biochemistry* [online]. 2024, **479**(2), 393-417 [cit. 2025-06-18]. ISSN 0300-8177. Dostupné z: doi:10.1007/s11010-023-04735-x.
- [110] DE FRUTOS, Fernando, Juan Pablo OCHOA, Marina NAVARRO-PENALVER, et al. Natural History of MYH7-Related Dilated Cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology* [online]. 2022, **80**(15), 1447-1461 [cit. 2025-06-18]. ISSN 07351097. Dostupné z: doi:10.1016/j.jacc.2022.07.023.

- [111] TAJSHARGHI, Homa, Simon HAMMANS, Christopher LINDBERG, et al. Recessive myosin myopathy with external ophthalmoplegia associated with MYH2 mutations. *European Journal of Human Genetics* [online]. 2014, **22**(6), 801-808 [cit. 2025-06-18]. ISSN 1018-4813. Dostupné z: doi:10.1038/ejhg.2013.250.
- [112] MADIGAN, Nicolas N., Michael J. POLZIN, Gaofeng CUI, et al. Filamentous tangles with nemaline rods in MYH2 myopathy: a novel phenotype. *Acta Neuropathologica Communications* [online]. 2021, **9**(1) [cit. 2025-06-18]. ISSN 2051-5960. Dostupné z: doi:10.1186/s40478-021-01168-9.
- [113] MARZO, Matthew G, Jacqueline M GRISWOLD, Kristina M RUFF, Rachel E BUCHMEIER, Colby P FEES a Steven M MARKUS. Molecular basis for dyneinopathies reveals insight into dynein regulation and dysfunction. *ELife* [online]. 2019, 2019-07-31, **8** [cit. 2025-06-17]. ISSN 2050-084X. Dostupné z: doi:10.7554/eLife.47246.
- [114] MÖLLER, Birk, Lena-Luise BECKER, Afshin SAFFARI, et al. The expanding clinical and genetic spectrum of DYNC1H1 -related disorders. *Brain* [online]. 2025, 2025-02-03, **148**(2), 597-612 [cit. 2025-06-19]. ISSN 0006-8950. Dostupné z: doi:10.1093/brain/awae183.
- [115] ROSCIOLI, Tony, Erik-Jan KAMSTEEG, Karen BUYSSE, et al. Mutations in ISPD cause Walker-Warburg syndrome and defective glycosylation of α -dystroglycan. *Nature Genetics* [online]. 2012, **44**(5), 581-585 [cit. 2025-06-19]. ISSN 1061-4036. Dostupné z: doi:10.1038/ng.2253.
- [116] VERGULT, Sarah, Danijela KRGOVIC, Bart LOEYS, et al. Nasal speech and hypothyroidism are common hallmarks of 12q15 microdeletions. *European Journal of Human Genetics* [online]. 2011, **19**(10), 1032-1037 [cit. 2025-06-19]. ISSN 1018-4813. Dostupné z: doi:10.1038/ejhg.2011.67.
- [117] WEEDON, Michael N., Robert HASTINGS, Richard CASWELL, et al. Exome Sequencing Identifies a DYNC1H1 Mutation in a Large Pedigree with Dominant Axonal Charcot-Marie-Tooth Disease. *The American Journal of Human Genetics* [online]. 2011, **89**(2), 308-312 [cit. 2025-06-22]. ISSN 00029297. Dostupné z: doi:10.1016/j.ajhg.2011.07.002.

- [118] KNOWLES, Michael R, Margaret W LEIGH, Johnny L CARSON, et al. Mutations of DNAH11 in patients with primary ciliary dyskinesia with normal ciliary ultrastructure. *Thorax* [online]. 2012, 2012-04-17, **67**(5), 433-441 [cit. 2025-06-19]. ISSN 0040-6376. Dostupné z: doi:10.1136/thoraxjnl-2011-200301.
- [119] LUCAS, Jane S, Stephanie D DAVIS, Heymut OMRAN a Amelia SHOEMARK. Primary ciliary dyskinesia in the genomics age. *The Lancet Respiratory Medicine* [online]. 2020, **8**(2), 202-216 [cit. 2025-06-19]. ISSN 22132600. Dostupné z: doi:10.1016/S2213-2600(19)30374-1.
- [120] MORIKAWA, Manatsu, Nivedita U JERATH, Tadayuki OGAWA, Momo MORIKAWA, Yosuke TANAKA, Michael E SHY, Stephan ZUCHNER a Nobutaka HIROKAWA. A neuropathy-associated kinesin KIF1A mutation hyper-stabilizes the motor-neck interaction during the ATPase cycle. *The EMBO Journal* [online]. 2022, **41**(5) [cit. 2025-06-19]. ISSN 0261-4189. Dostupné z: doi:10.15252/embj.2021108899.
- [121] CRIMELLA, Carolina, Chiara BASCHIROTTO, Alessandra ARNOLDI, et al. Mutations in the motor and stalk domains of KIF5A in spastic paraplegia type 10 and in axonal Charcot–Marie–Tooth type 2. *Clinical Genetics* [online]. 2012, **82**(2), 157-164 [cit. 2025-06-19]. ISSN 0009-9163. Dostupné z: doi:10.1111/j.1399-0004.2011.01717.x.
- [122] WANG, Lina a Anthony BROWN. A hereditary spastic paraplegia mutation in kinesin-1A/KIF5A disrupts neurofilament transport. *Molecular Neurodegeneration* [online]. 2010, **5**(1) [cit. 2025-06-19]. ISSN 1750-1326. Dostupné z: doi:10.1186/1750-1326-5-52.
- [123] KLEBE, Stephan, Alexander LOSSOS, Hamid AZZEDINE, et al. KIF1A missense mutations in SPG30, an autosomal recessive spastic paraplegia: distinct phenotypes according to the nature of the mutations. *European Journal of Human Genetics* [online]. 2012, **20**(6), 645-649 [cit. 2025-06-19]. ISSN 1018-4813. Dostupné z: doi:10.1038/ejhg.2011.261.

- [124] DU, Kang, Lingchao MENG, He LV, Wei ZHANG, Zhaoxia WANG a Yun YUAN. Sural biopsy to detect the axonal cytoskeleton defects in KIF5A-related Charcot-Marie-Tooth disease type 2. *Clinical Neuropathology* [online]. 2021, **40**(05), 142-149 [cit. 2025-06-19]. ISSN 0722-5091. Dostupné z: doi:10.5414/NP301323.