



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
FIRENZE

BIO
DIPARTIMENTO
DI BIOLOGIA



LABORATORIO DI FISILOGIA

Dipartimento di Biologia

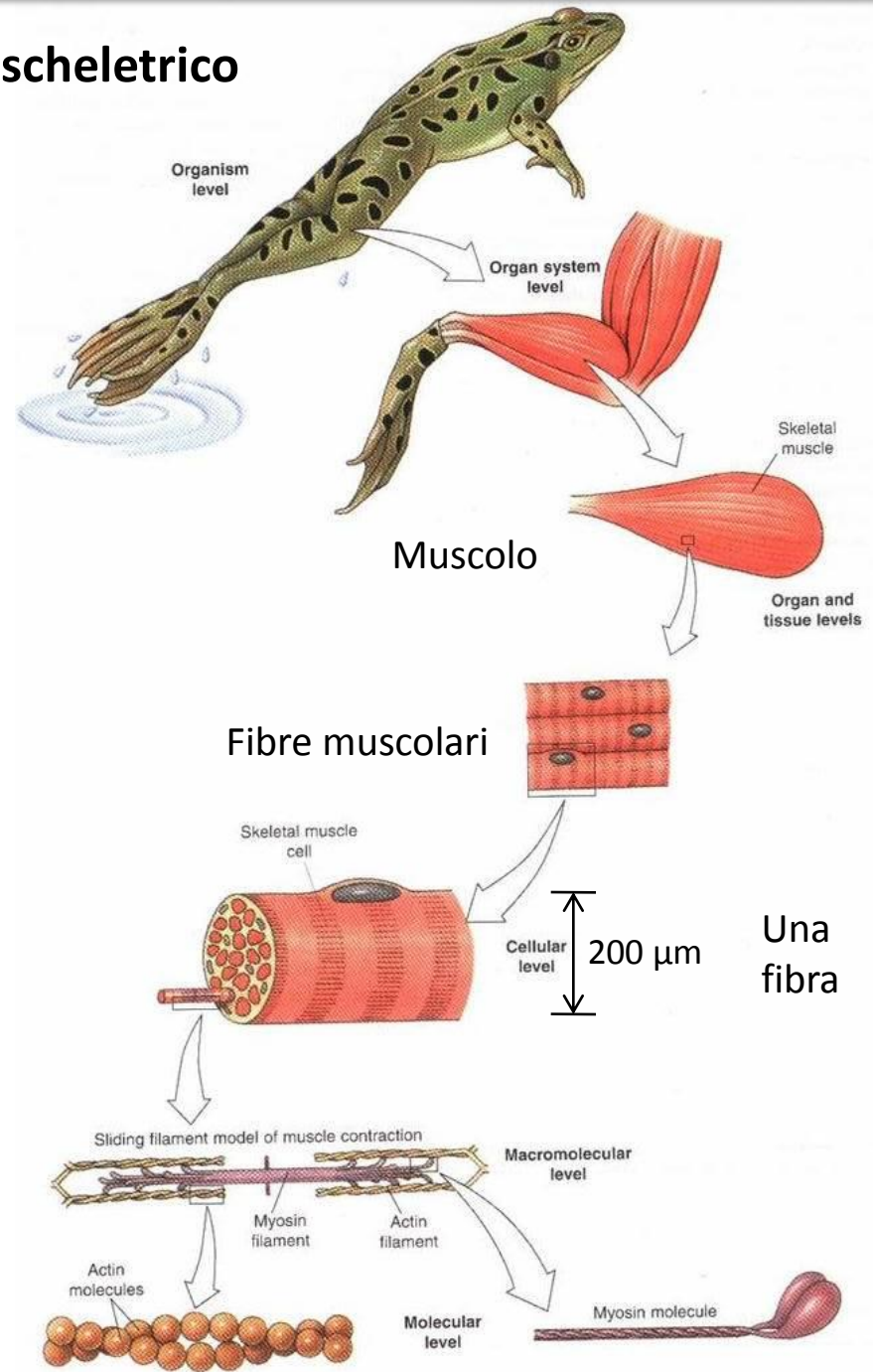
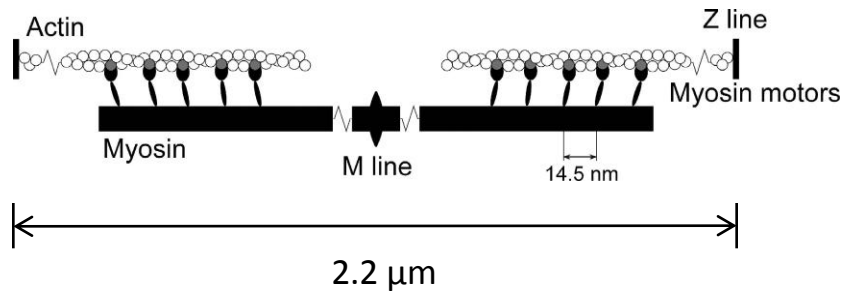
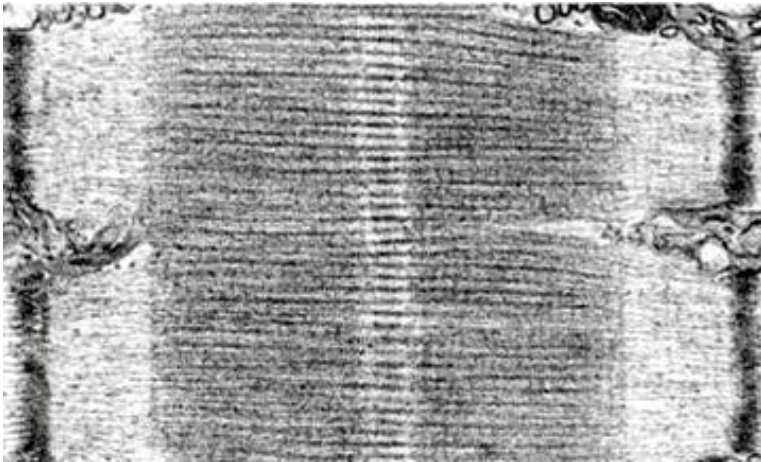
Temi di ricerca:

- 1. MECCANISMO MOLECOLARE DELLA CONTRAZIONE MUSCOLARE**
- 2. MOTORI MOLECOLARI, FILAMENTI E NANOMACCHINE**

Giornata della ricerca in Scienze Naturali, 21 maggio 2014

Relazione struttura-funzione nel muscolo scheletrico dai tessuti alle proteine contrattili

Sarcomero



Organism level

Organ system level

Skeletal muscle

Muscolo

Organ and tissue levels

Fibre muscolari

Skeletal muscle cell

Cellular level

200 μm

Una fibra

Sliding filament model of muscle contraction

Macromolecular level

Actin molecules

Myosin filament

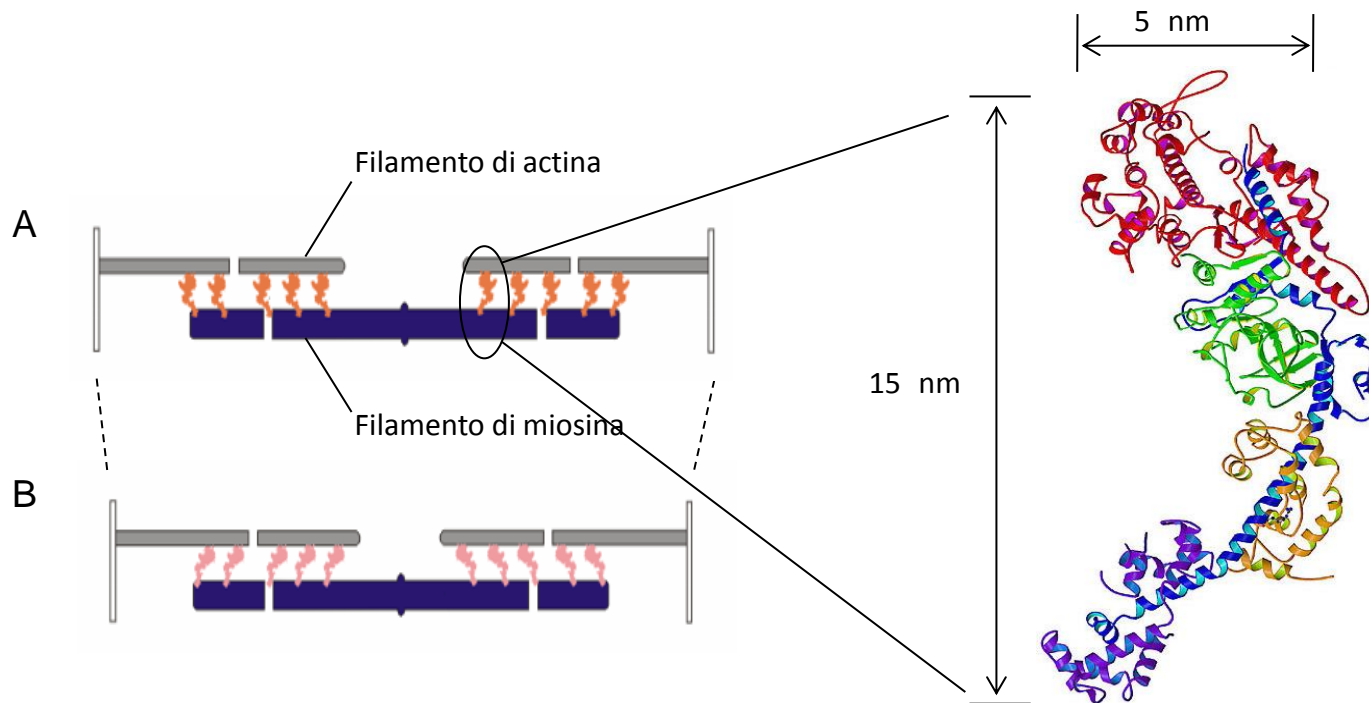
Actin filament

Molecular level

Myosin molecule

Temi di ricerca:

- 1. MECCANISMO MOLECOLARE DELLA CONTRAZIONE MUSCOLARE**
- 2. MOTORI MOLECOLARI, FILAMENTI E NANOMACCHINE**



Rappresentazione schematica del sarcomero durante una contrazione isometrica (A) e durante l' accorciamento (B). In ciascun emisarcomero i motori miosinici (in rosso) si attaccano al filamento di actina (in grigio) e lo tirano verso il centro del sarcomero.

La frazione motore (porzione S1) della molecola di miosina secondo il modello cristallografico

MECCANISMO MOLECOLARE DELLA CONTRAZIONE MUSCOLARE

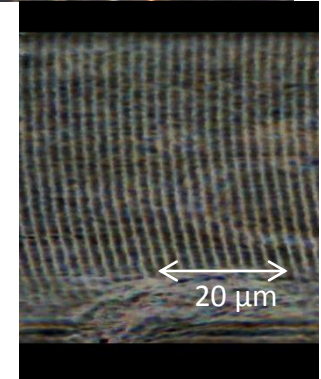
Studiato *in situ* con tre differenti approcci sperimentali

1. Meccanica di fibre intatte



L'uso di apparati optoelettronici e meccanici con risoluzione del nanometro-microsecondo rende possibile misurare la forza (pN) e il movimento (nm) prodotti dal motore miosinico nell'unità strutturale rappresentata dal sarcomero.

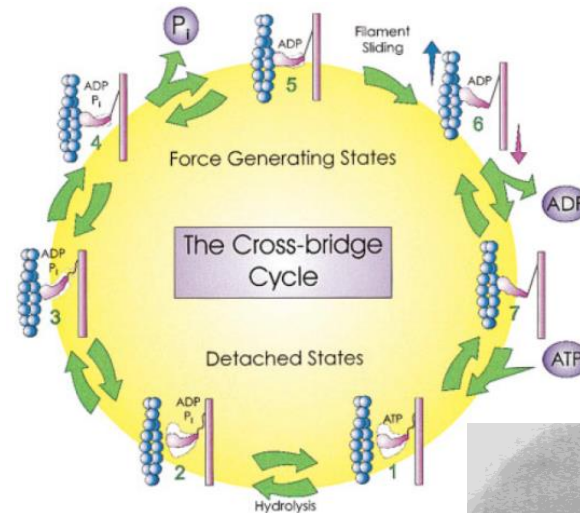
1 mm



20 μm

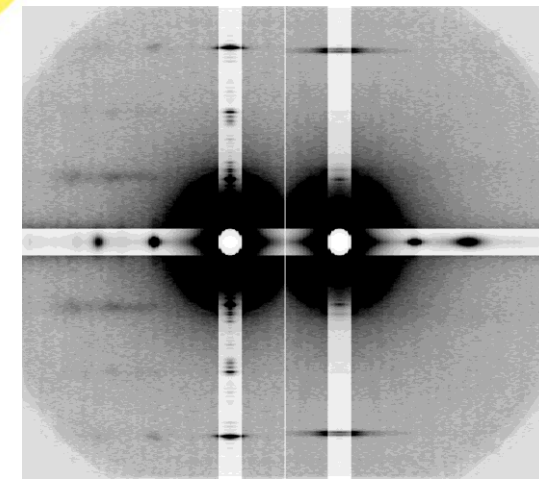
2. Meccanica di fibre demembrate

La possibilità di controllare la composizione del mezzo che bagna i miofilamenti permette di studiare l'accoppiamento tra passi meccanici e chimici del ciclo di interazione acto-miosinica che trasforma l'energia libera dell'idrolisi dell'ATP in lavoro e calore.



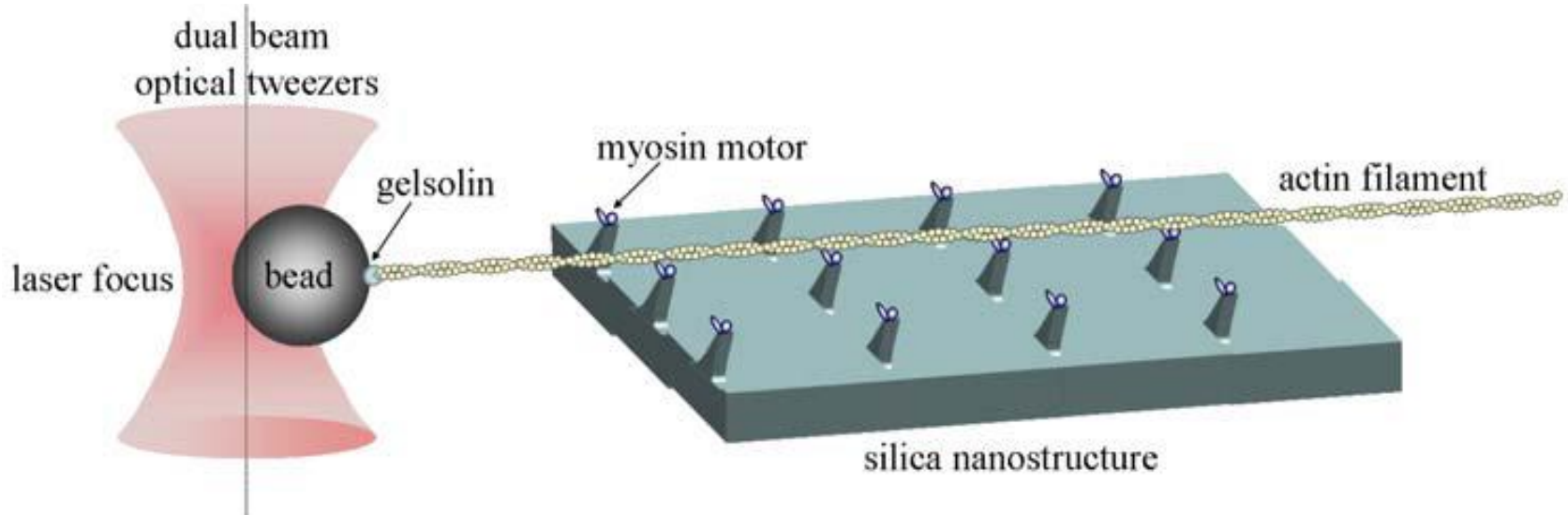
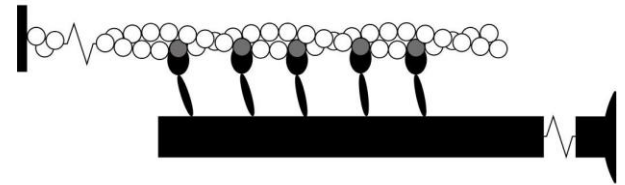
3. Diffrazione a raggi X a piccolo angolo

La combinazione degli esperimenti di meccanica di singola cellula con la diffrazione a raggi X risolta nel tempo permette di determinare le modifiche strutturali del motore miosinico associate ai diversi passi del ciclo di transduzione dell'energia.



MOTORI MOLECOLARI, FILAMENTI E NANOMACCHINE

Meccanica di singola molecola con il metodo della trappola ottica a doppio laser (DLOT)



La tecnica della trappola ottica consiste nel tenere intrappolata nel fuoco di un raggio laser una pallina di polistirolo (diametro $\sim 1 \mu\text{m}$) a cui è attaccato un estremo della molecola o del sistema molecolare in esame. Il DLOT, utilizzando due laser confocali, permette di raggiungere ambiti di forze di $\sim 200 \text{ pN}$, con sensibilità di 0.5 pN . L'altro estremo del sistema in esame è attaccato ad un nanoposizionatore piezoelettrico che permette il movimento nell'ambito $0.5\text{-}75000 \text{ nm}$. Il sistema è usato per misurare la meccanica di una schiera di motori miosinici organizzata su un supporto nanostrutturato. Il DLOT è usato anche per misure di meccanica su proteine citoscheletriche singole o polimerizzate in filamenti e su filamenti di acidi nucleici.

Obiettivi della ricerca:

MECCANISMO MOLECOLARE DELLA CONTRAZIONE MUSCOLARE

- Misurare la forza (pN) e il movimento (nm) prodotti dal motore molecolare miosinico nella contrazione muscolare
- Determinare le modifiche strutturali nei filamenti di actina e miosina durante l'attivazione e il rilasciamento della contrazione
- Definire i passi dell'accoppiamento chemo-meccanico nel motore miosinico
- Descrivere le basi molecolari del funzionamento del muscolo come freno nella contrazione eccentrica
- Descrivere la funzione delle proteine citoscheletriche del sarcomero in modelli murini wild-type e trasgenici

Obiettivi della ricerca:

MOTORI MOLECOLARI, FILAMENTI E NANOMACCHINE

- Definire la funzione dell'organizzazione polimerica delle miosine: l'emisarcomero come motore collettivo
- Sviluppare nanomacchine di sintesi basate sul motore miosinico
- Definire la reazione di superallungamento della molecola di DNA a doppia elica

Responsabili delle linee di ricerca:

- Meccanica su fibre muscolari intatte: ***Gabriella Piazzesi
Elisabetta Brunello***
- Meccano-chimica su fibre demembranate: ***Marco Linari
Marco Caremani***
- Dinamica strutturale con diffrazione a raggi X: ***Gabriella Piazzesi
Massimo Reconditi***
- Meccanica di singola molecola: ***Vincenzo Lombardi
Luca Melli, Pasquale Bianco***