

Manipulacija molekularnih motorjev z optično pinceto

Mojca Vilfan
Institut Jožef Stefan, Ljubljana

Abstract

Usmerjeno gibanje celic in transport snovi znotraj celic omogoča posebna vrsta proteinov, ki jih imenujemo molekularni motorji. S kombiniranjem optične pincete in fluorescenčne mikroskopije lahko opazujemo premikanje molekularnega motorja, razločimo posamične korake, ki jih motor opravi vzdolž aktinskih filamentov, in ugotovimo, kako se giblje. Optična pinceta nam tudi omogoča, da spremljamo vedenje motorja pod vplivom zunanje obremenitve. Take meritve so pomembne, saj v naravi motor pogosto deluje v kombinaciji z drugimi, močnejšimi motorji. Tovrstne meritve dajo pomembne informacije o mehanizmu premikanja motorja in o delovanju celice kot celote.

Manipulation of Molecular Motors Using Optical Tweezers

Directed motion of cells and transport of matter within cells is regulated by a special kind of proteins, the so-called molecular motors. Combining optical tweezers and fluorescence microscopy, motion of a molecular motor can be observed, single steps can be resolved and the stepping mechanism can be determined. Additionally, the optical tweezers enable us to study the behaviour of a motor under external loads. These measurements are especially relevant as in vivo the motor often co-localizes with other, much stronger, motors. The experiments give important information on the stepping mechanism of a motor and thus contribute to a better understanding of the cell.

1 Uvod

Ko se odpravimo na pot, želimo čim hitreje, varno in zanesljivo priti iz kraja A v kraj B. Izberemo poti, ki povezujejo izhodišče s ciljem, in prevozno sredstvo, ki nam je na voljo in ki ustreza poti. Tako reševanje problema ni omejeno zgolj na makroskopski svet - tudi v celicah je prevoz organiziran na podoben način.

V celicah živih bitij je za premikanje in prenos snovi vzpostavljen transportni sistem, ki temelji na usmerjenem gibanju vzdolž vnaprej načrtanih poti. Tako usmerjeno gibanje je pri transportu snovi in premikanju bistveno bolj učinkovito

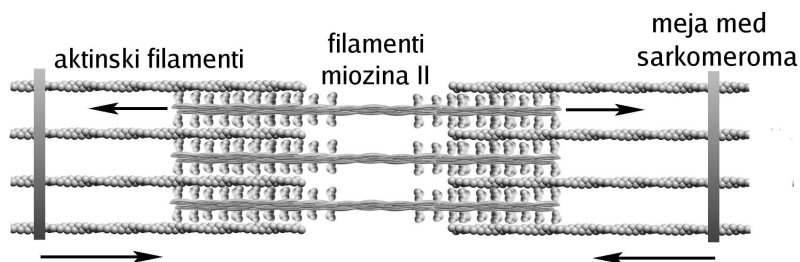


Figure 1: Shematski prikaz osnovne enote mišice – sarkomera. V njem se filamenti aktina in miozina II prepletajo in krčenje mišice je posledica mimobežnega drsenja filamentov.

kot, recimo, prosta difuzija molekul v prostoru. Molekule, ki opravljajo transport, imenujemo *molekularni motorji*. To so posebni proteini, ki imajo sposobnost uporabiti kemijsko energijo, praviloma shranjeno v molekulah adenozi-tri-fosfata (ATP), za usmerjeno gibanje v določeni smeri po vnaprej predpisani poti. Za boljše razumevanje lahko poiščemo analogijo v makroskopskem svetu: molekularne motorje nadomestimo z avti, molekule ATP z gorivom, filamente, vzdolž katerih se gibljejo motorji, pa z enosmernimi cestami.

Filamenti, ki jih pri premikanju izkoriščajo motorji, so dolgi filamenti cito-skeleta. Le-ti so različni za različne vrste motorjev, mi se osredotočimo zgolj na *aktinske filamente*. Aktin je protein, ki ga je v celici evkariontov največ. Filamenti, ki jih tvori, so razmeroma tanki (premer 6-8 nm), dolgi pa tudi več 10 μm . Največ jih najdemo tik pod zunanjo membrano celice, zato je aktin tisti, ki določa njeno obliko. Pomembno vlogo igra tudi pri premikanju, fagocitozi in delitvi celice, najbolj opazna pa je naloga, ki jo opravlja skupaj z molekularnim motorjem *miozinom* pri krčenju mišic [1].

V tem prispevku bom podrobneje predstavila molekularni motor miozin in opisala, kaj nam o njegovem delovanju razkrijejo eksperimenti z optično pinceto.

2 Miozin, mišice in še kaj

Kadar govorimo o molekularnem motorju miozinu, ne moremo mimo pomembne naloge, ki jo ima pri krčenju mišic. Mišica je namreč sestavljena iz dolgih vlaken, v katerih najdemo gosto mrežo filamentov aktina in mišičnega miozina, ki se med seboj prepletajo. Njihovo razporeditev najlepše prikažemo na shemi osnovnega gradnika mišične celice - *sarkomera* (slika 1): tanki aktinski filamenti so na enem koncu pripeti na steno sarkomera, vmes pa so debeli filamenti miozina, ki so sestavljeni iz velikega števila molekul. Miozin, ki ga najdemo v mišicah, je tako imenovani miozin II. Njegova molekula ima dimerno obliko z dolgim vijačno-vijačnim repom (slika 2). Ti repi se povezujejo v mikrometrške filamente, funkcionalne glave pa vedno ostanejo na zunanji strani. Ko mišica prejme signal za krčenje, začnejo glave motorja hidrolizirati

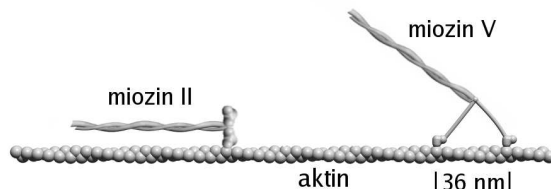


Figure 2: Shematski prikaz filamenta aktina in molekularnih motorjev miozina II in miozina V. Perioda dvojno-vijačne strukture aktina je 36 nm.

ATP (porabljeni kemijsko energijo) in motorji začnejo teči, pri čemer je smer premikanja določena z asimetrijo polarnega aktinskega filamenta. Posledica delovanja motorjev je mimobežno drsenje miozinskih in aktinskih filamentov in tako se mišica skrči, ne da bi se pri tem spremenila dolžina posameznih filamentov. Tipičen filament mišičnega miozina ima okoli 300 miozinskih glav, kar pod ugodnimi pogoji omogoča hitrosti drsenja okoli $15 \mu\text{m/s}$. Za krčenje enega sarkomera iz raztegnjenega stanja (tipično $3 \mu\text{m}$) v skrčeno stanje ($2 \mu\text{m}$), je tako potrebna manj kot desetinka sekunde. Ker v mišični celici vsi sarkomeri skoraj istočasno prejmejo signal za krčenje, je desetinka sekunde tudi časovna skala, na kateri se skrči celotna mišica.

Mišični miozin II je le en predstavnik zelo velike družine miozinov, ki se razlikujejo tako po zgradbi, obliki, kot tudi nalogi, ki jo imajo v celici. Trenutno je poznanih okoli 150 različnih vrst, vendar so le redki obširneje preučevani. Eden boljše raziskanih je *miozin V* (slika 2). Najdemo ga predvsem v nevronih, to je celicah živčevja, kjer skrbi za transport raznih organelov, veziklov in nukleinskih kislin. V nasprotju z miozinom II se miozin V ne združuje v filamente, ampak tečejo molekule miozina V vzdolž aktina posamično. Čeprav je hitrost premikanja zato bistveno manjša, saj dosega ena molekula hitrosti največ okoli 350 nm/s , je razdalja, ki jo opravi pri tem, izredno velika, pogosto več mikronov. Tako imenovana procesivnost motorja (to je lastnost, da lahko naredi ena molekula več zaporednih korakov) je zasnovana na dejstvu, da sta glavi motorja večino časa vezani na aktin in ga spustita le med korakom samim. Situacija je drugačna pri miozinu II, ki je zgolj med korakom vezan na aktin, sicer pa ne. Dolgo časa ni bilo jasno, na kakšen način se molekula miozina V premika - ali se premikanje kot gosenica (ena glava vedno ostaja vodilna) ali molekula "hodi" kot človek (vodilna glava se izmenjuje). Poskusi s fluorescenčno označenimi molekulami so pokazali, da dvoglava molekula dejansko "hodi" kot človek [2, 3]. Pri tem motor porabi po eno molekulo ATP za vsak korak.

Zaradi procesivnega gibanja posameznih molekul in razmeroma majhne hi-

trosti je miozin V idealen za eksperimente, kjer nameravamo preučevati eno samo molekulo. Molekula je poleg tega še razmeroma velika (slika 2) in na koncu repa nespecifično veže tovor, kar pomeni, da jo lahko v laboratorijskih eksperimentih brez večjih težav pritrdimo na steklo ali na polistirensko kroglico. Izkazalo se je, da take molekule najboljše opazujemo s kombinacijo fluorescence in optične pincete, saj nam kombinirana postavitvev omogoča celo vrsto poskusov in načinov manipulacije gibanja motorja.

3 Optična pinceta

Začetni poskusi manipulacije mikrometrskih delcev s svetlobo segajo v leto 1970, ko je Arthur Ashkin (Bellovi laboratoriji, ZDA) opazil, da lahko z močno zbranim laserskim žarkom nevtralne delce ulovimo, držimo na mestu ter po želji premikamo [4]. Kmalu za tem so začeli delati poskuse z biološkimi vzorci, vendar je prišlo do pravega napredka šele leta 1987, ko so prvič uporabili manj destruktivne laserje. Takrat so lahko prvič držali bakterijo *Escherichia coli* v pasti več ur. Bakterija je eksperiment ne samo preživela, ampak se je, medtem ko je bila ujeta, celo razmnoževala [5]. V zadnjem času uporabljamo optično pinceto vse bolj za preučevanje posameznih molekul, npr. DNA in molekularnih motorjev [6].

Že Ashkin je ugotovil, da je za opazovanje bioloških (tudi živih) vzorcev najprimerneje uporabiti laser z valovno dolžino v infrardečem območju. Pri teh valovnih dolžinah je absorpcija najmanjša, kar občutno zmanjša nezaželeno segrevanje in uničenje vzorca. Večina optičnih pincet zato uporablja kot vir svetlobe Nd:YAG laser, katerega valovna dolžina je 1064 nm. Laserski snop v optični pinceti je močno zožan, kar dosežemo z zbiralno lečo (objektivom) z veliko numerično aperturo. Če se v bližini tako zbranega snopa nahaja objekt, ki ima lomni količnik večji od lomnega količnika okolice, deluje nanj sila, ki ga vleče v središče snopa. Pojav sile najlažje razložimo, če si shematsko narišemo prehod žarkov skozi objekt, v našem primeru dielektrično kroglico (slika 3). Žarki, ki prehajajo skozi kroglico, se lomijo, pri čemer pride do spremembe gibalne količine. Če bi bil profil intenzitete snopa povsod enak, bi se spremembe gibalnih količin med seboj izničile in ostal bi samo svetlobni tlak na kroglico. V močno zbranim Gaussovem snopu pa je zaradi gradienta intenzitete skupna sprememba gibalne količine in s tem sila, ki deluje na kroglico, različna od nič in kaže proti osi laserskega snopa. Velikost sile na kroglico je odvisna od moči laserja, običajno so sile med 1 in 100 pN.

Za poskuse ni dovolj, za kroglico ujamemo, moramo jo znati tudi premikati in pri tem natančno poznati njeno lego. To lahko naredimo na več načinov: kroglico lahko direktno opazujemo z digitalno kamero, lahko pa osvetljeno kroglico preslikamo na kvadrantno fotodiodo, ki zazna vsakršen odmik iz ravnovesne lege (slika 4). Lego kroglice lahko določimo na nekaj nanometrov natančno na milisekundni časovni skali.

Čeprav lahko z optično pinceto ujamemo posamezne molekule, je za opazovanje molekularnih motorjev primernejše, če motor najprej pritrdimo na poli-

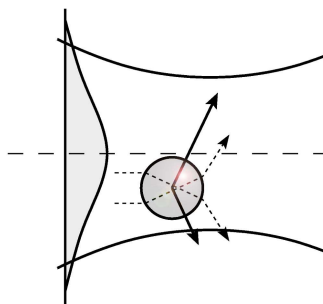


Figure 3: Shematski prikaz prehoda žarkov skozi dielektrično kroglico. Zaradi loma pride do sprememb gibalnih količin žarkov in tako do sile na kroglico, ki jo vleče v središče zbranega laserskega snopa.

stirensko kroglico. To naredimo tako, da zmešamo kroglice z izredno majhno količino motorjev v primerni raztopini. Zaradi lastnosti motorja, da nespecifično veže tovor, vezava na polistirensko kroglico ni problematična. Paziti moramo zgolj na to, da na kroglici ni preveč motorjev, ki bi se skušali hkrati vezati na aktin in bi se motili med premikanjem.

Ko imamo pripravljen motor, mu moramo 'zgraditi' cesto, po kateri bo tek. V ta namen je potrebno aktin pritrditi, pri čemer se nam ponujata dve možnosti. Prva možnost je, da aktin vežemo na krovno stekelce, ki tvori steno našega vzroca. Taka priprava je razmeroma preprosta, vendar lahko vezava popači filament in tako vpliva na gibanje motorja. Drug način je vezava aktina med dve kroglici, ki ju simultano držimo v dveh pasteh (slika 5). Preklapljanje laserskega žarka z akustooptičnimi deflektorji je namreč dovolj hitro, da nam omogoča hkratno manipulacijo več delcev, saj je čas preklapljanja bistveno hitrejši od karakterističnega časa difuzije kroglice. Slednja izvedba je tehnično bolj zapletena, vendar lahko v tem primeru motor neovirano teče po aktinu in lahko opazujemo morebitno vijačno gibanje motorja okoli filameta. Pomembno je tudi, da aktinske filamente vidimo, saj drugače ne moremo pripeljati kroglice z motorjem v njihovo bližino. V ta namen jih fluorescenčno označimo, osvetljujemo z dodatnim laserjem, katerega valovna dolžina ustreza barvilu in opazujemo z dodatno kamero (glej sliko 4).

Vzorec za opazovanje pripravimo tako, da med dve stekelci najprej odpipetiramo raztopino aktinskih filamentov, ki se primejo na predhodno pripravljena stekelca, šele nato dodamo razredčene kroglice z motorji. Celoten eksperiment poteka v vodni raztopini, ki poleg proteinov vsebuje še potrebne količine kalcija, soli in ATP.

4 Meritve s posameznimi molekulami miozina

Ko kroglico, na katero je pritrjen motor, ujamemo in pripeljemo v bližino aktina, začne ob ustreznih pogojih (poleg pravilne koncentracije kalcija, raznih

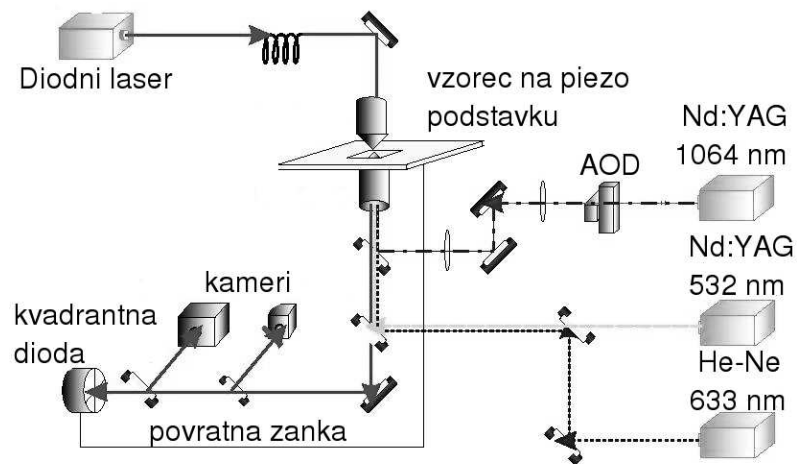


Figure 4: Postavitev optične pasti v kombinaciji s fluorescenčno mikroskopijo. IR Nd:YAG laser uporabimo za optično pinceto, druga dva laserja (Nd:YAG in HeNe) služita za vzbujanje fluorescence, AOD je akusto-optični deflektor za natančno krmiljenje žarka, diodni laser in ena kamera služita detekciji lege kroglice, prav tako tudi kvadrantna dioda. Drugo kamero uporabimo za opazovanje fluorescenčno označenega aktina.

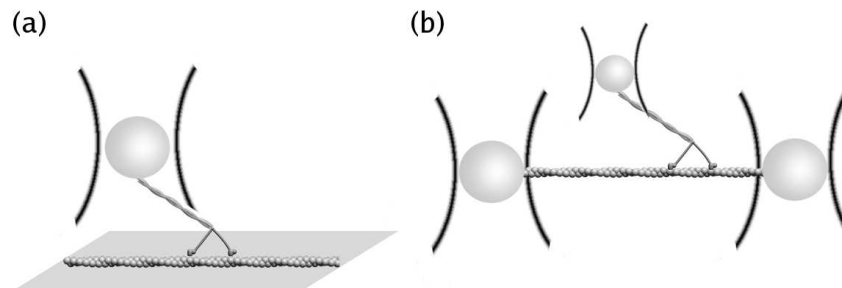


Figure 5: Dva možna načina priprave vzorca. (a) Vlakno aktina je pritrjeno na krovno stekelce, miozin na kroglico, ki je ujeta v past. (b) Aktin je vpet med dve kroglici, miozin je vezan na tretjo kroglico. Kroglice ujamemo v več pasti, kar nam omogoča postavitve z akusto-optičnimi deflektorji. Slednja izvedba je zahtevnejša, a motor neovirano teče po aktinu.

soli, in zadostne količine ATP tudi prava vrednost pH in temperature) motor teči po aktinu in s tem vleči kroglico iz središča snopa. Če je pinceta prešibka (sile na kroglico do približno 0.7 pN), lahko motor to silo premaga in kroglica uide iz pasti. V nasprotnem primeru motor začne teči in bolj ko je oddaljen od središča snopa, večja sila deluje na kroglico in bolj ga vleče nazaj. Če želimo silo, ki deluje na motor med tekom, držati konstantno, moramo vpeljati povratno zanko. Ta sproti premika ali pinceto ali aktin in tako ohranja vnaprej določen odmik kroglice iz središča snopa. Pri izvedbi povratne zanke se nam ponujata dve možnosti. Za opazovanje tekov, dolgih nekaj mikrometrov, je najugodnejše izvesti povratno zanko preko piezo podstavka, na katerega je pritrjen vzorec. Zaradi povratne zanke ostajata žarek in kroglica ves čas na istem mestu, podstavek z vzorcem in aktinom pa se kot tekoči trak izmika. Na ta način vedno ostanemo v optimalnem območju detekcije. Drug način povratne zanke je preko akustooptičnih deflektorjev, s katerimi premikamo žarek, vzorec pa ostaja na istem mestu. Prednost te metode je predvsem hiter odziv, saj smo pri piezo podstavku omejeni z razmeroma počasnim odzivom, ki je ponavadi okoli 10 ms.

S tem, ko ohranjamo izmik kroglice iz središča snopa, ohranjamo silo na kroglico - in s tem na motor - konstantno. Premikanje piezo podstavka (ali signal iz akustooptičnih deflektorjev) beležimo in tipična izmerjena krivulja je prikazana na sliki 6, kjer črna črta pomeni odmik podstavka, siva pa silo na kroglico. Na spodnjem delu je izhodiščna ravnovesna lega kroglice (A). Premikanje motorja ustreza premikanju podstavka (B), dokler motor aktina ne spusti (C) in ga povratna zanka potegne nazaj v ravnovesno lego (D). Običajno preteče motor nekaj 100 nm, včasih pa doseže največjo možno dolžino, ki je omejena z obsegom piezo podstavka (E). Takrat naredi še kakšen korak ali dva, dokler ne postane sila prevelika (tipično nad 1.7 pN) in motor se odtrga in vrne v izhodišče. Siva krivulja predstavlja silo, ki deluje na kroglico. Zaradi povratne zanke je le-ta med tekom konstantna (F) in enaka vnaprej nastavljeni vrednosti. Manjša je le, kadar motor ni vezan na aktin (G), večja pa takrat, ko naredi motor še kakšen korak izven območja povratne zanke (H). Opazimo, da je šum sile na kroglico bistveno večji v primeru, ko motor ni vezan na aktin, kot pa v primeru, ko motor teče. Meritev, predstavljena na sliki 6, vsebuje vse polno informacij o mehanizmih gibanja molekularnega motorja, mi si bomo ogledali le najosnovnejše.

4.1 Dolžina in čas enega koraka

Če izsek meritve močno povečamo, lahko vidimo, da poteka premikanje piezo podstavka v diskretnih korakih (slika 7). Ti koraki ustrezajo korakom molekularnega motorja in iz meritev lahko razberemo porazdelitev dolžine korakov motorja in časa, potrebnega za en korak. Z natančno analizo ugotovimo, da se povprečna dolžina koraka ujema s periodo aktinskega filamenta (36 nm), vendar je porazdelitev dolžine korakov okoli vrha razmeroma široka (slika 8a). To pomeni, da ima aktin več prostih mest, kamor se lahko veže miozin, a so ta konformacijsko manj ugodna in zato manj verjetna.

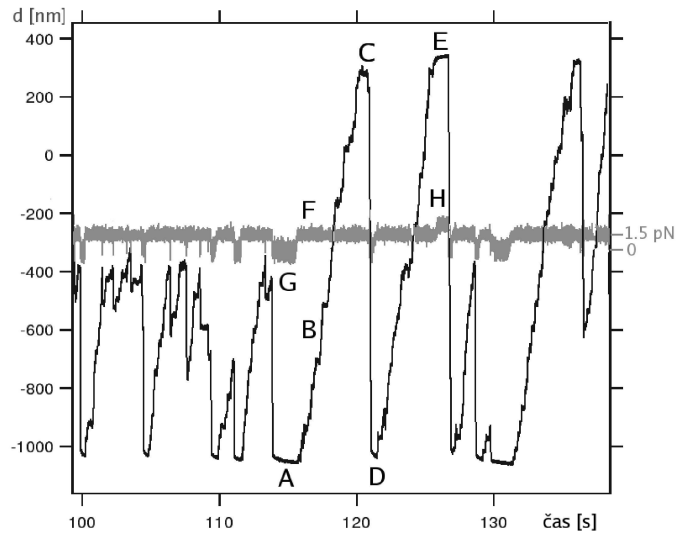


Figure 6: Značilna meritev gibanja molekularnega motorja, posneta z optično pinceto. Prikazuje izmik piezo podstavka iz izhodiščne lege, ki ustreza premikanju molekularnega motorja. Meritev je bila posneta pod pogoji nasičene koncentracije ATP pri konstantni sili 1.5 pN v smeri, ki je nasprotovala gibanju motorja. Podrobnejši opis je v besedilu.

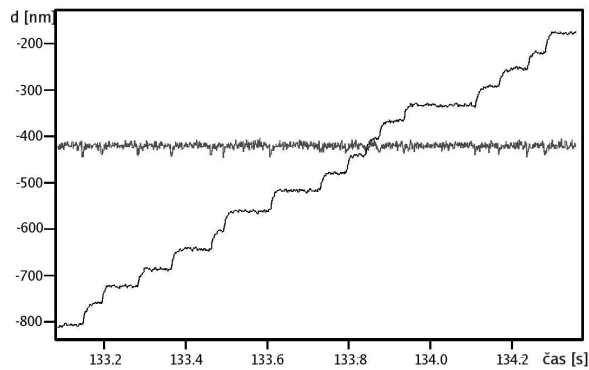


Figure 7: Povečan izsek meritve. Razločni so koraki, ki jih dela motor. V povprečju so dolgi 36 nm, kar se ujema s periodo vijačnice aktina. Sila na motor ostaja med meritvijo konstantna.

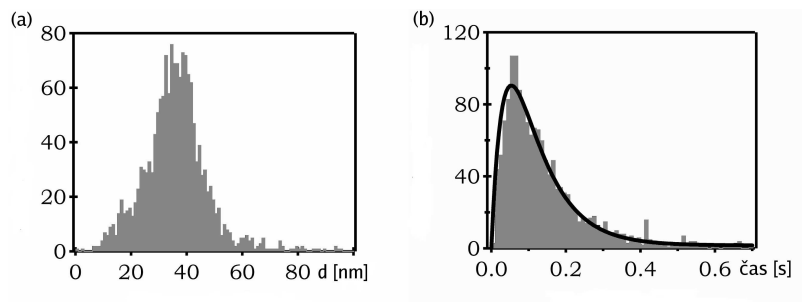


Figure 8: Porazdelitev dolžin korakov posameznih molekul miozina (a) in časa, potrebnega za en korak (b). Široka porazdelitev dolžine korakov nakazuje, da je na aktinu več mest, kamor se lahko veže miozin. Iz časovne porazdelitve sklepamo na mehanizme premikanja.

Iz porazdelitve časovnih intervalov, v katerih miozin naredi en korak, lahko sklepamo na procese, ki potekajo v molekuli med korakom samim. Oblika časovne porazdelitve (slika 8b) namreč pove, da gre pri premikanju miozina V za najmanj dva ločena procesa: enega počasnega (eksponentno pojemanje pri daljših časih) in vsaj enega hitrega (hitro naraščanje na začetku). Zaradi omejitev našega eksperimenta hitrih procesov ne moremo razločevati in lahko damo le oceno za skupen čas. Eksponentno pojemanje za daljše čase pove, da je pri premikanju miozina V en sam počasen proces, ki omejuje hitrost gibanja. S spreminjanjem koncentracije adenozin-di-fosfata (ADP) so odkrili, da je najpočasnejši proces v ciklu enega koraka sprostitve molekule ADP z zadnje glave [7]. Šele ko se ADP sprosti, se lahko na glavo veže nova molekula ATP, ki bo dala energijo za nov korak. Zavedati se je treba, da je sprostitve ADP omejujoč proces zgolj v primeru, ko je v vzorcu zadostna količina molekul ATP. Če je le-teh zelo malo, je hitrost premikanja linearno sorazmerna s koncentracijo molekul ATP: 1 korak/s na mikromol ATP. Nadzorovano spreminjanje hitrosti je posebej prikladno za eksperimentalno delo, saj je počasnejše molekule lažje opazovati in spremljati njihovo gibanje.

4.2 Odvisnost parametrov gibanja od zunanje obremenitve

Eksperimenti z optično pinceto nam omogočajo, da spremljamo obnašanje motorja pod različno velikimi zunanji silami, ki zavirajo njegovo gibanje. Sami namreč lahko določimo, pri kakšnem izmiku kroglice iz ravnovesne lege sprožimo povratno zanko - čim večji je odmik, tem večja je sila, ki deluje na kroglico in posledično na motor med tekom. Meritve kažejo, da je povprečna dolžina koraka skoraj neodvisna od obremenitve za vse sile med 0.7 pN in 1.6 pN, pri večjih silah motor sploh ne začne teči. Te ugotovitve podpirajo domnevo, da gre pri premikanju motorja za usmerjen sunek in ne za difuzivno iskanje primerne

vezavnega mesta, saj bi bila dolžina koraka v tem primeru močnejše odvisna od sile.

4.3 Delovanje motorjev pod veliko obremenitvijo

V celici je pogost pojav, da en tovor vežeta dva različna motorja in kaj lahko se zgodi, da mora molekula miozina sodelovati (ali nasprotovati) molekuli drugega motorja, na primer kinezina. Ta vrsta motorjev deluje z bistveno večjo silo kot miozin, tipično okoli 8 pN. Zato so raziskave, kjer na motor delujemo z izredno veliko obremenitvijo, ključnega pomena za razumevanje delovanja motorja v naravnih pogojih.

V grobem lahko ločimo dva primera - ali motor vlečemo v smeri gibanja, ali v smeri, ki gibanju nasprotuje. Če deluje na motor sila 5 pN v smeri gibanja, se dolžina koraka še vedno ujema z vijacnico aktina. Edina opazna sprememba je rahlo povečana hitrost premikanja, ki naraste za okoli 20%.

Precej bolj zanimivo dogajanje opazimo pri močnih silah, ki zavirajo motor. Korakov naprej sploh ni več, saj sile okoli 5 pN motor ne more premagovati. Zato pa proti pričakovanjem pogosto zaznamo več zaporednih korakov v vzratni smeri. Vlakno aktina je namreč asimetrično in smer premikanja motorja je s to asimetrijo točno določena. V tem primeru gre torej za korake v prepovedani smeri. Statistična obdelava podatkov pokaže, da je povprečna dolžina korakov nazaj enaka kot naprej (36 nm). Vendar pri gibanju nazaj velika sila povzroči, da je 'sprednja' glava tista, ki spusti, in ne zadnja, kot bi pričakovali. Te ugotovitve lahko primerjamo s poskusi na 'enoglavih' različicah miozina [8], kjer so opazili, da je gibanje in obnašanje posameznega dela miozina (ene glave torej) močno odvisno od zunanje sile. Skupaj z našimi opazovanji lahko zaključimo, da je naravi še enkrat uspelo tehnično izpopolniti delovanje motorja: gibanje motorja kot celote je na zunanjo silo precej neobčutljivo, delovanje posameznih delov pa je odvisno od sile. Sklepamo, da so sile, posredovane preko elastičnih vratov v molekuli, tiste, ki skrbijo za komunikacijo med glavama, odločijo torej katera glava bo spustila aktin in naredila korak [9, 10].

5 Model premikanja motorja

Zgoraj opisana opazovanja z optično pinceto in fluorescenčno mikroskopijo so pojasnila, kako se premika miozin V (slika 9): naj bo začetno stanje tako, da je miozin z obema glavama vezan na aktin. Sprednja nosi še molekulo ADP, zadnja pa čaka, da se nanjo veže ATP. V trenutku, ko se veže, zadnja glava spusti aktin in zaradi elastičnih sil naredi usmerjeni sunek v smeri naprej. Mimo druge glave se zavijti na novo prijemno mesto. Tam poteče hidroliza ATP v ADP, sprostitvev fosfata in ob tem vezava sedaj sprednje glave na aktinski filament. V stanju, kjer sta obe glavi vezani na aktin in obe nosita ADP, ostane molekula najdlje (okoli 100 ms). Nato zadnja glava sprosti ADP in molekula miozina je pripravljena na nov korak.

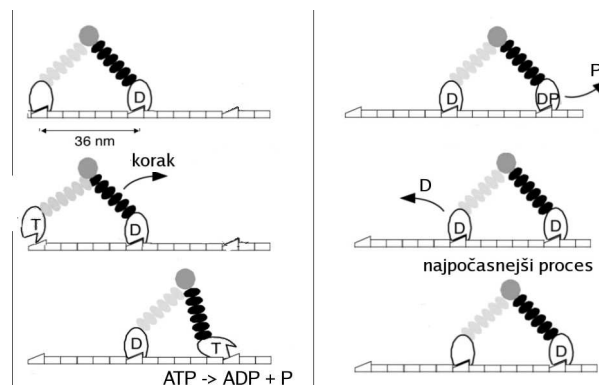


Figure 9: Trenutno uveljavljen model premikanja molekule miozina V. T označuje molekulo ATP, ki je vezana na glavo motorja, D molekulo ADP in P fosfat, ki se sprosti ob hidrolizi.

6 Povzetek

Predstavila sem enega izmed načinov uporabe optične pincete v biološke namene. Zaradi zadostne krajevne in časovne ločljivosti in sil, ki ustrezajo silam na nivoju posameznih molekul, je ta eksperiment za opazovanje molekularnih motorjev še posebej primeren. Opazujemo lahko diskretne korake in iz kinematike sklepamo na mehanizme premikanja molekule. Kljub temu, da imamo že dokaj jasno podobo o mehanizmu premikanja miozina V, pa ostaja - in nastaja - še veliko nerešenih vprašanj.

Omenjeni poskusi so bili narejeni v laboratoriju prof. dr. Matthiasa Riefa, Tehnična Univerza v Münchnu, sedaj pa jih nadaljujemo v Sloveniji, v sodelovanju Instituta Jožef Stefan in Fakultete za matematiko in fiziko Univerze v Ljubljani.

References

- [1] B. Alberts et al., *Essential Cell Biology*, Garland, New York (1998).
- [2] A. Yildiz, J.N. Forkey, S.A. McKinney, T. Ha, Y.E. Goldman in P.R. Selvin, *Science*, **300**, 2061 (2003).
- [3] D.M. Warshaw, G.G. Kennedy, S.S. Work, E. B. Kremetskova, S. Beck in K. M. Trybus, *Biophys. J.*, **88**, L30 (2005).
- [4] A. Ashkin, *Phys. Rev. Lett.*, **24**, 156 (1970).
- [5] A. Ashkin, J. M. Dziedzic in T. Yamane, *Nature (London)* **330**, 769 (1987).
- [6] J.E. Molloy, K. Dholakia in M.J. Padgett, *J. of Mod. Opt.*, **50**, 1501 (2003).

- [7] M. Rief, R.S. Rock, A.D. Mehta, M.S. Mooseker, R.E. Cheney, in J.A. Spudis, PNAS, **97**, 9482 (2000).
- [8] C. Veigel, F. Wang, M.L. Bartoo, J.R. Sellers in J.E. Molloy, Nat. Cell. Biol., **4**, 59 (2002).
- [9] A.E.M. Clemen, M. Vilfan, J. Jaud, J. Zhang, M. Bärman in M. Rief, Biophys. J., **88** (2005).
- [10] A. Vilfan, Biophys. J., **88**, 3792 (2005).