Tutti sanno, o possono facilmente rendersi conto, che il movimento dipende dall'accorciamento dei muscoli degli arti e che la velocità alla quale i muscoli si accorciano, e quindi noi ci muoviamo, diminuisce se aumenta il peso che dobbiamo trasportare. Il meccanismo molecolare di questo fenomeno così intuitivo e fondamentale nella vita di tutti i giorni era rimasto finora sconosciuto.

Nei laboratori del LENS, Laboratorio Europeo di Spettroscopie Non-lineari dell'Università di Firenze, è stata sviluppata una tecnica in grado di "filmare" per la prima volta i movimenti di una singola molecola biologica con un dettaglio di un milionesimo di millimetro e su tempi di qualche milionesimo di secondo. Tale tecnica ha permesso un fondamentale passo in avanti nella comprensione del meccanismo molecolare alla base della regolazione della velocità di contrazione dei muscoli al variare di un carico applicato.

La scoperta, esito di uno studio condotto dal gruppo di Francesco Saverio Pavone (Marco Capitanio, Diego Beneventi, Carina Monico, Francesco Vanzi) dell'Università di Firenze, in collaborazione con il gruppo di Roberto Bottinelli (Monica Canepari, Manuela Maffei) dell'Università di Pavia è stata pubblicata on line su "Nature Methods" http://www.nature.com/nmeth/journal/vaop/ncurrent/full/nmeth.2152.html
(doi: 10.1038/nmeth.2152)

Il muscolo si accorcia grazie all'interazione ciclica tra due proteine presenti in tutti i muscoli: la miosina, che rappresenta il motore molecolare della contrazione, e l'actina. A ogni ciclo d'interazione, la miosina, consumando energia, cambia di conformazione e muove l'actina di qualche milionesimo di millimetro in tempi dell'ordine di pochi millesimi di secondo. La somma dell'attività di migliaia di molecole di miosina, che ripetono il loro ciclo molte volte durante la contrazione, genera il fenomeno che si apprezza a livello macroscopico come accorciamento muscolare e movimento.

"La tecnica, che abbiamo sviluppato e descritto in questo articolo ("ultrafast force-clamp spectroscopy") – spiega Francesco Pavone – nasce proprio dall'esigenza di studiare la dinamica del cambiamento conformazionale della miosina che dura circa un millisecondo, un tempo troppo breve per permetterne lo studio con le tecniche di singola molecola esistenti. L'ultrafast force-clamp spectroscopy sviluppa la tecnica delle trappole ottiche nella quale una proteina, di norma filamentosa, viene attaccata ai suoi estremi a due biglie di polistirene mobili, mentre l'altra proteina, il motore del movimento, di norma di forma globulare, viene posizionata sulla superficie di una biglia fissa. Manipolando le biglie mobili attraverso due raggi laser è possibile mettere in contatto le due proteine e studiarne l'interazione."

Nella "ultrafast force-clamp spectroscopy", l'actina funziona come una sorta di "guinzaglio" e la trappola ottica tira il guinzaglio per applicare forze costanti alla miosina. La trappola ottica è in grado di tirare il guinzaglio circa 10 microsecondi dopo che la miosina si è legata all'actina e di visualizzare la dinamica dell'interazione actina-miosina con una risoluzione temporale di poche decine di microsecondi. "La risoluzione temporale di questo sistema – dichiara Roberto Bottinelli –circa due ordini di grandezza superiore rispetto a quella dei sistemi precedenti, ha permesso, per la prima volta, di misurare direttamente la dinamica dei cambiamenti conformazionali della miosina e la loro dipendenza da un carico esterno, consentendo di comprendere il meccanismo

molecolare alla base della contrazione muscolare e della sua regolazione in presenza di forze esterne di entità diversa".

"L'incremento della risoluzione temporale ottenuto con il nostro metodo – spiega ancora Marco Capitanio – è paragonabile alla differenza tra fare un filmato di un centometrista ad un fotogramma al secondo o a 100 fotogrammi al secondo. In entrambi i casi il filmato durerebbe i circa 10 secondi necessari al corridore a compiere i 100 metri. Tuttavia, nel primo caso, vedremmo solo dieci immagini sfuocate. Nel secondo, invece, avremmo 1000 immagini a fuoco che ci consentirebbero di risolvere nel dettaglio i movimenti del corridore.

Inoltre, la nostra tecnica è applicabile ad una grande varietà di sistemi biologici e in questo lavoro ne abbiamo sfruttato le caratteristiche uniche per studiare l'interazione tra proteine e DNA. Nella cellula, una varietà di proteine e motori molecolari interagiscono con il DNA e sono coinvolte in processi fondamentali, quali la regolazione dell'espressione genica. La nostra tecnica ha permesso di rivelare interazioni veloci tra proteine e DNA, consentendo di chiarire i meccanismi molecolari alla base di questi fenomeni fondamentali per la vita cellulare."

Lo studio è stato pubblicato online il 2 Settembre 2012 e sarà stampato sul numero di Ottobre di Nature Methods. Sullo stesso numero di Ottobre, la rivista dedicherà a Marco Capitanio, ricercatore a tempo determinato presso il dipartimento di Fisica e Astronomia dell'Università di Firenze e primo autore dell'articolo, un profilo nel quale verrà anche descritto come si sia arrivati allo sviluppo della tecnica.

****

L'articolo "Ultrafast force-clamp spectroscopy of single molecules reveals load dependence of myosin working stroke", di Marco Capitanio 1,2, Monica Canepari 3, Manuela Maffei3, Diego Beneventi1, Carina Monico1, Francesco Vanzi 1,4, Roberto Bottinelli 3,5 & Francesco Saverio Pavone 1,2,6,7 è pubblicato on line dal 2 settembre 2012 su "Nature Methods" http://www.nature.com/nmeth/journal/vaop/ncurrent/full/nmeth.2152.html

e sarà stampato sul numero di Ottobre di "Nature Methods".

1European Laboratory for Non-linear Spectroscopy, University of Florence, Sesto Fiorentino, Italy.

2Department of Physics and Astronomy, University of Florence, Sesto Fiorentino, Italy.

3Department of Molecular Medicine, University of Pavia, Pavia, Italy.

4Department of Evolutionary Biology, University of Florence, Florence, Italy.

5Fondazione Salvatore Maugeri, Scientific Institute of Pavia, Pavia, Italy.

6National Institute of Optics–National Research Council, Florence, Italy.

7International Center of Computational Neurophotonics, Sesto Fiorentino, Italy.