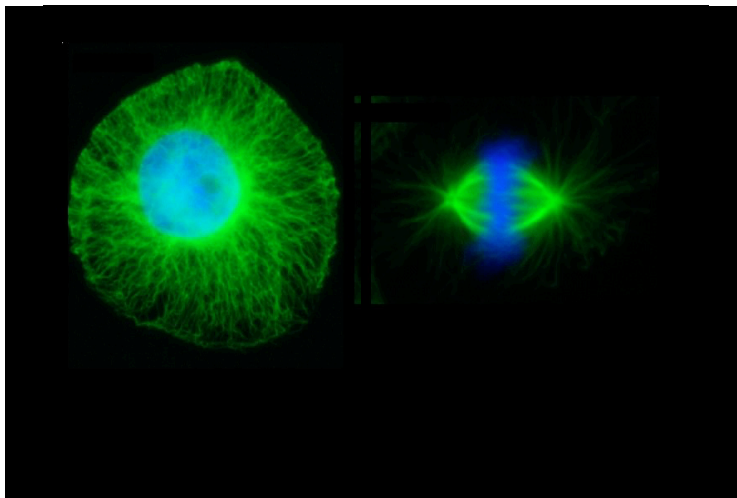
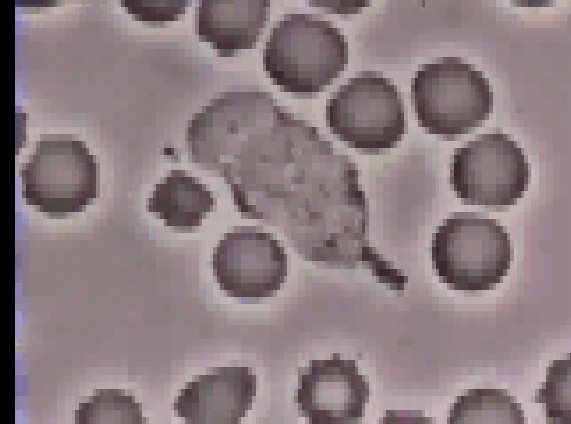


Plan du cours

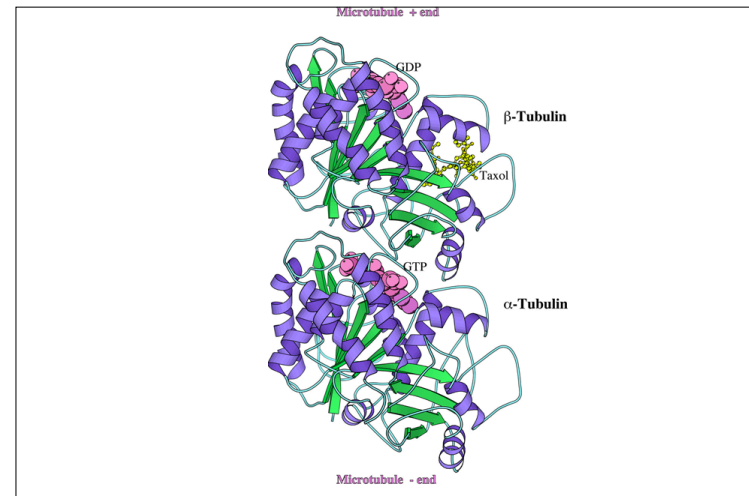
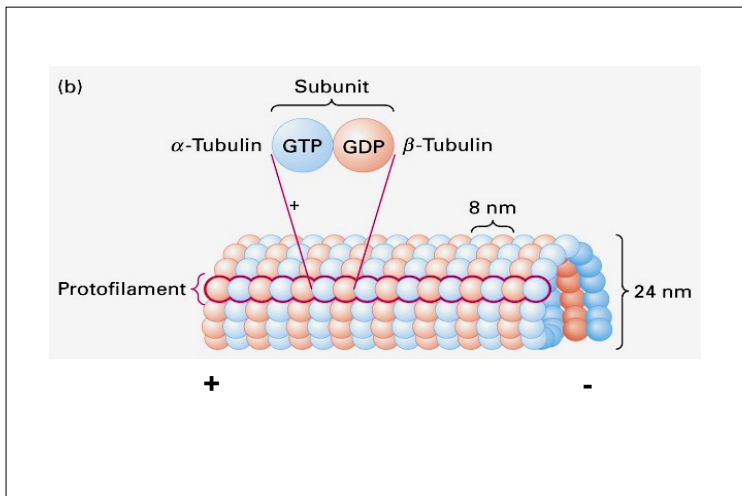
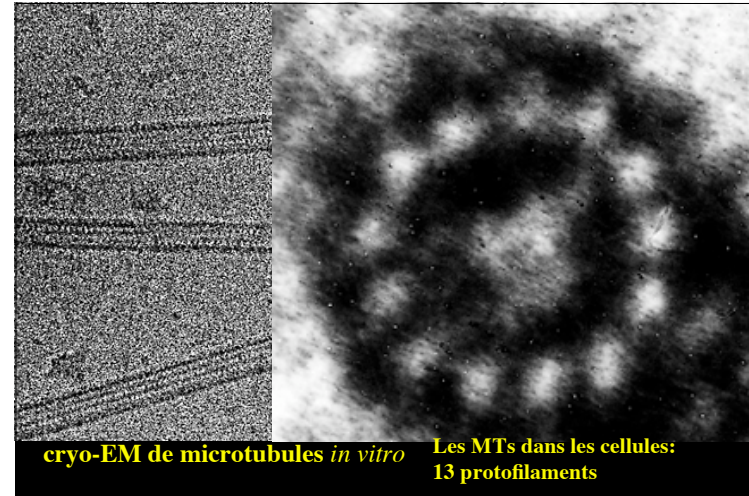
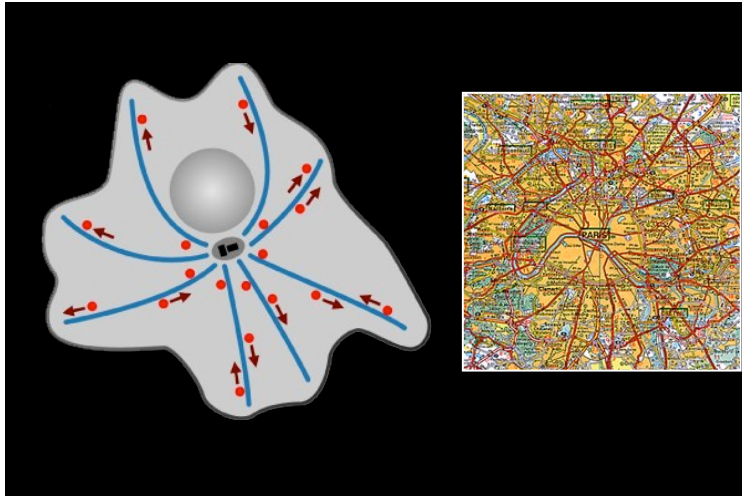
- Anatomie des protéines.
- Stabilité des protéines.
- D'où vient l'information structurale sur les protéines et que vaut-elle ?
- **Autoroutes et systèmes motorisés dans la cellule: microtubules et kinésines.**
- **Peut-on vaincre le virus de la grippe ?**

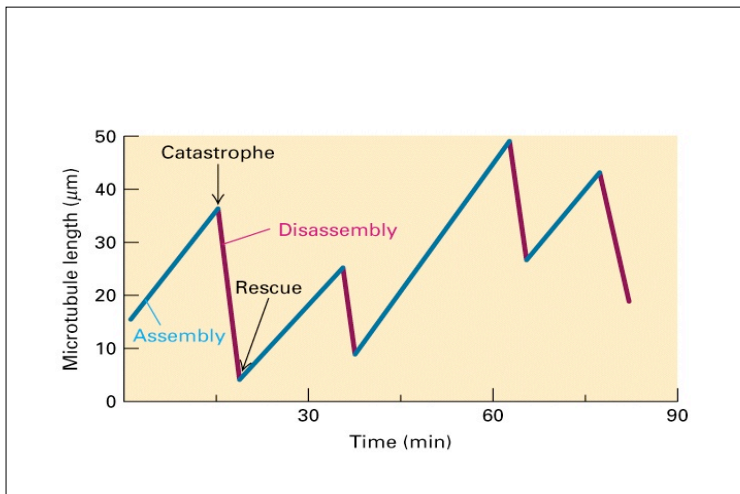
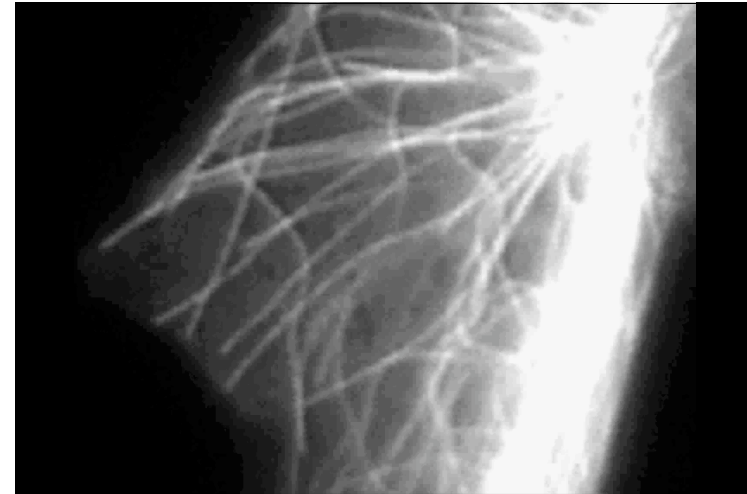
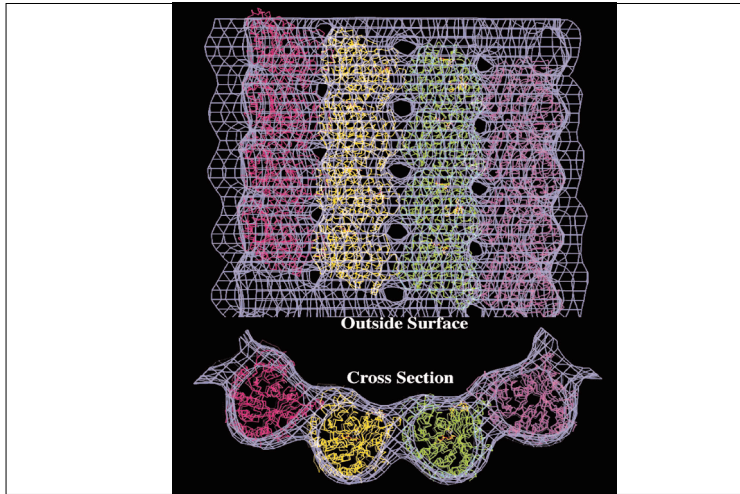
Neutrophile poursuivant une bactérie



Voies de communication et systèmes motorisés dans la cellule

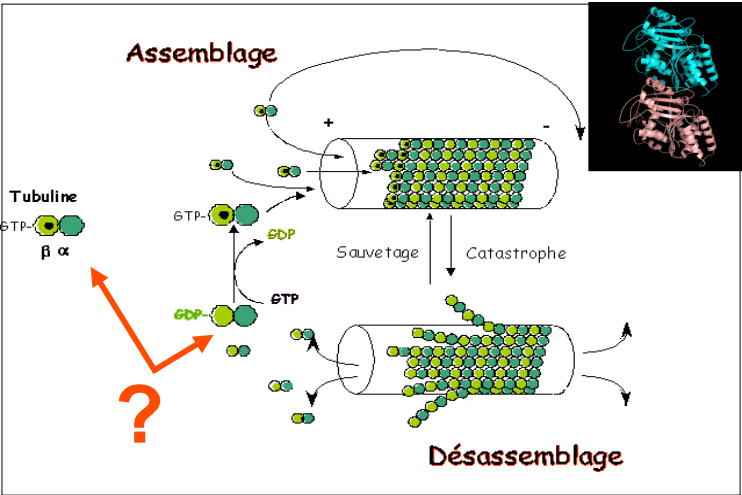
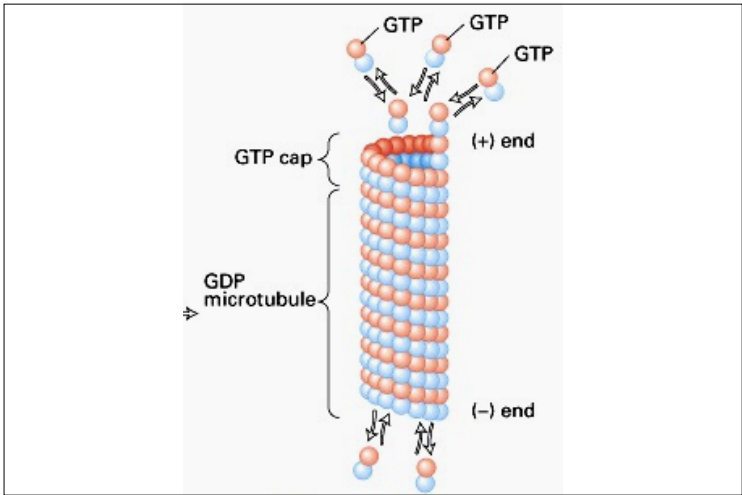
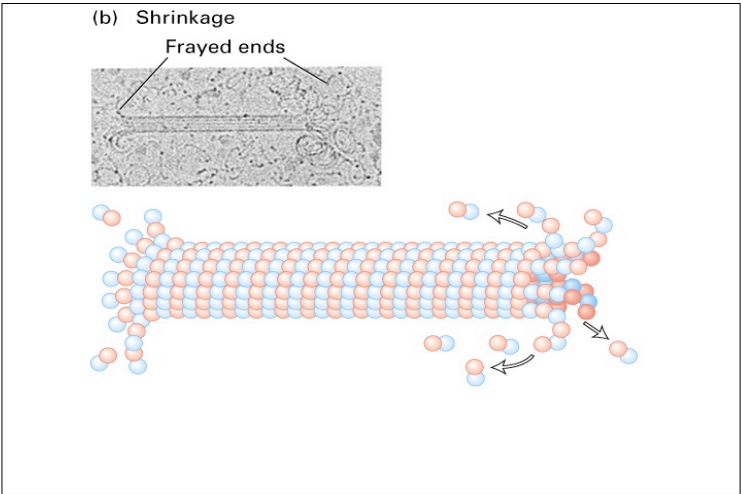
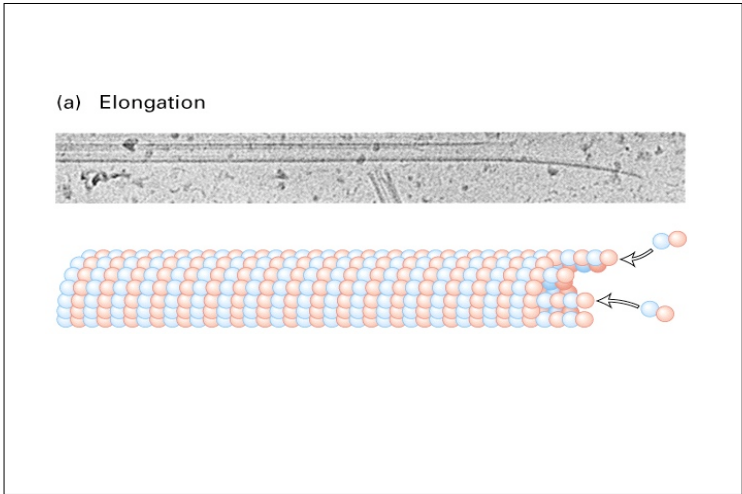
- **Rôle des microtubules**
- **Structure des microtubules**
- **Base structurale de l'instabilité dynamique**
- **Le mécanisme d'action des médicaments anti-cancéreux ciblant la tubuline**
- **Mouvements cellulaires**
- **Les moteurs qui se déplacent sur les microtubules**



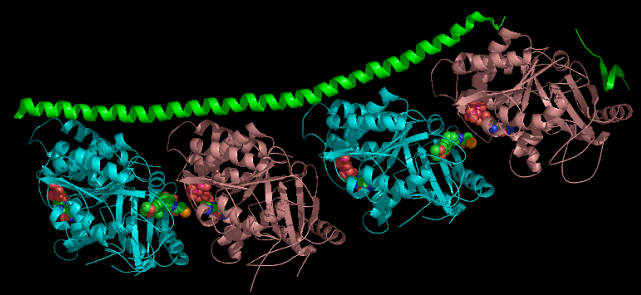


Voies de communication et systèmes motorisés dans la cellule

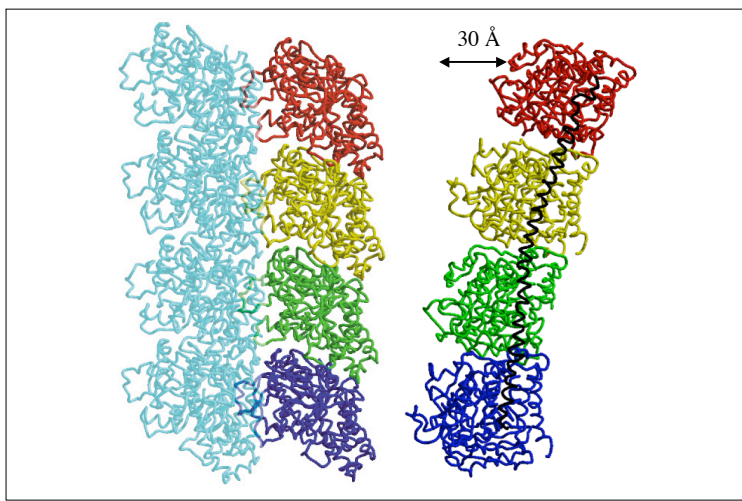
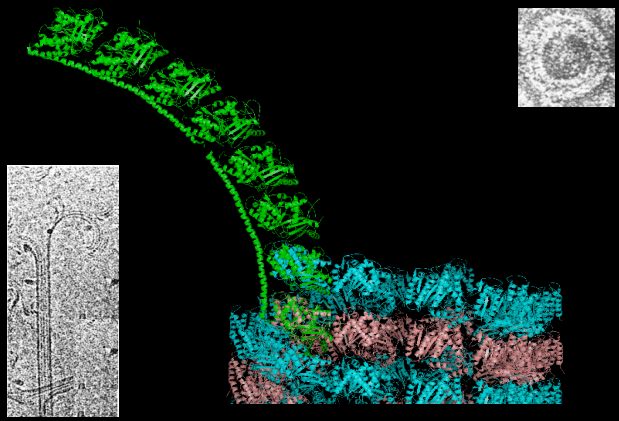
- Rôle des microtubules
- Structure des microtubules
- Base structurale de l'instabilité dynamique
- Le mécanisme d'action des médicaments anti-cancéreux ciblant la tubuline
- Mouvements cellulaires
- Les moteurs qui se déplacent sur les microtubules



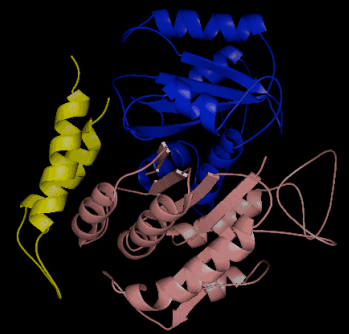
Le complexe Tubuline-domaine de type Stathmine



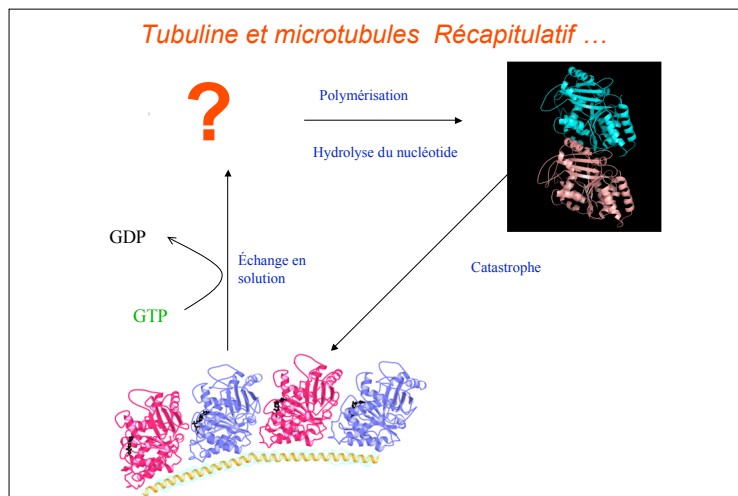
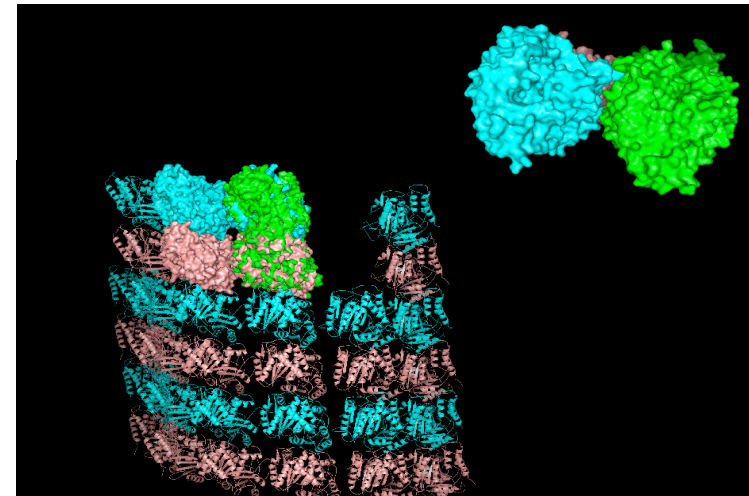
Curvature of tubulin



Overlap structural domains

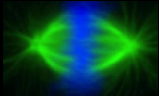
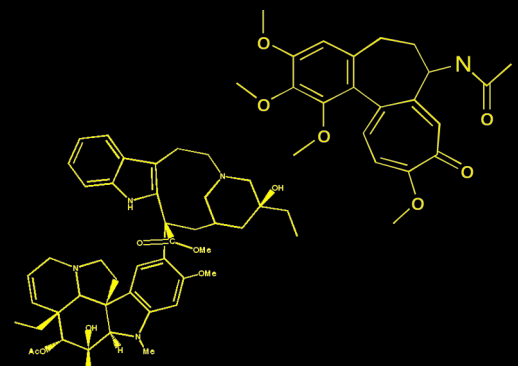


b-subunit
ref: straight



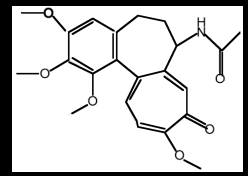

- ### Voies de communication et systèmes motorisés dans la cellule
- Rôle des microtubules
 - Structure des microtubules
 - Base structurale de l'instabilité dynamique
 - Le mécanisme d'action des médicaments anti-cancéreux ciblant la tubuline
 - Mouvements cellulaires
 - Les moteurs qui se déplacent sur les microtubules

- Taxol
- Colchicine
- Vinblastine

Colchicine

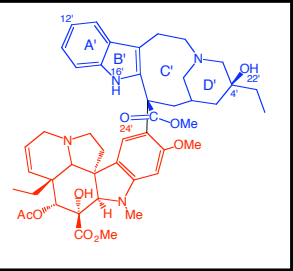

L'un des traitements les plus efficaces contre les douleurs dues aux attaques de goutte

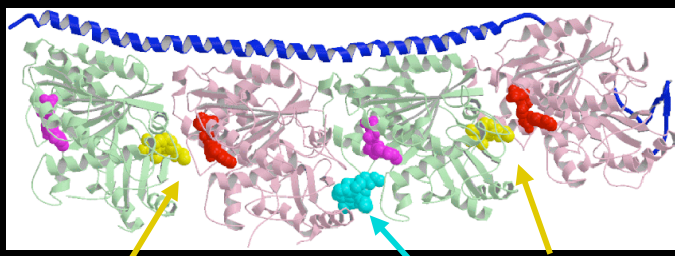
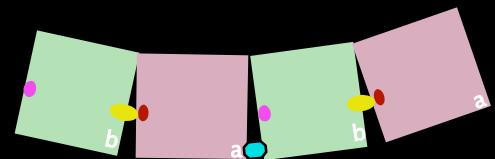
Colchicum autumnale

Vinblastine

Un des médicaments les plus utilisés en chimiothérapie antitumorale, en particulier contre la maladie de Hodgkin.

Catharantus roseus

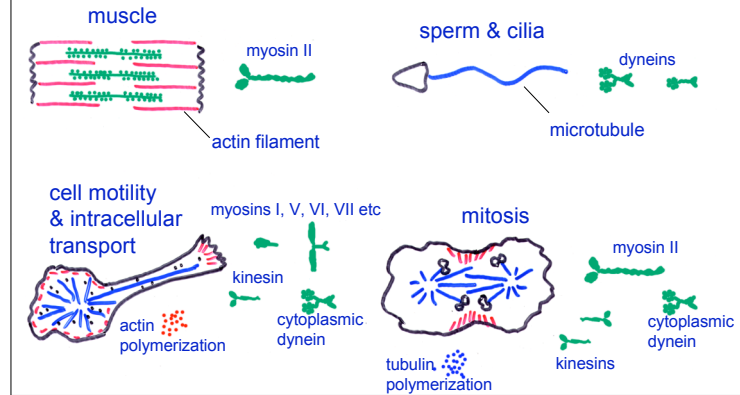



Gigant et al. (2005) Nature

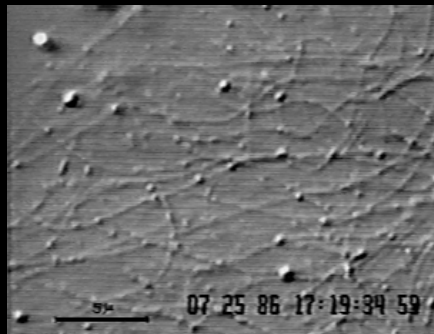
Voies de communication et systèmes motorisés dans la cellule

- Rôle des microtubules
- Structure des microtubules
- Base structurale de l'instabilité dynamique
- Le mécanisme d'action des médicaments anti-cancéreux ciblant la tubuline
- **Mouvements cellulaires**
- Les moteurs qui se déplacent sur les microtubules

Motor Proteins & Cellular Motility



Organelle Transport in Squid Axoplasm



5 μm

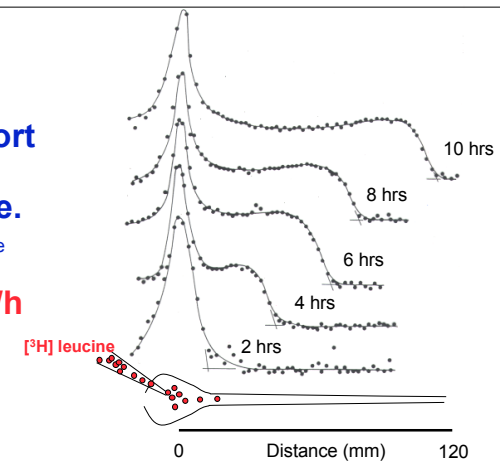
Lodish et al. (2000)

Le transport axonal est rapide.

Cat sciatic nerve

4800 km/h

[³H] leucine

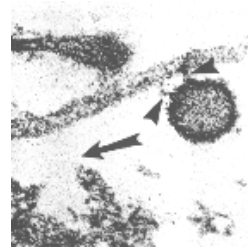


Ochs (1972)

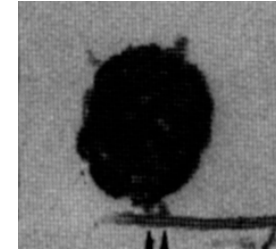
Voies de communication et systèmes motorisés dans la cellule

- Rôle des microtubules
- Structure des microtubules
- Base structurale de l'instabilité dynamique
- Le mécanisme d'action des médicaments anti-cancéreux ciblant la tubuline
- Mouvements cellulaires
- Les moteurs qui se déplacent sur les microtubules

Crossbridges between Microtubules and Organelles

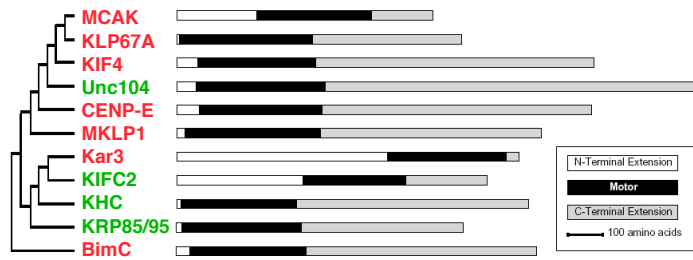


Miller & Lasek, J. Cell Biol.
101: 2181 (1985)



Ashkin et al., Nature
348: 346 (1990)

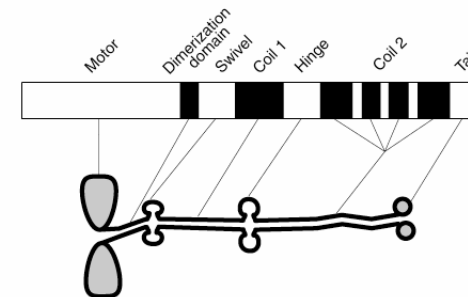
La famille des kinésines : un moteur, de nombreuses fonctions?



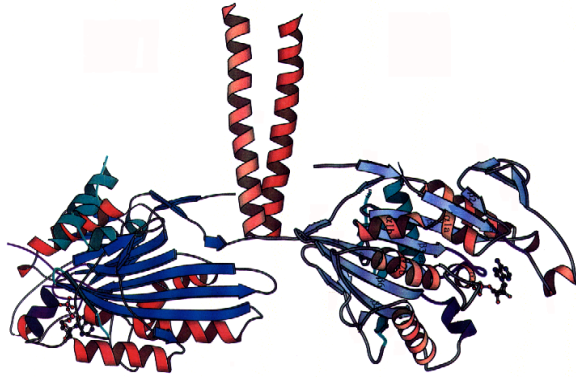
Mitose et meiose
Transport d'organelles

Lawrence et al. 2002

Structure of Kinesin

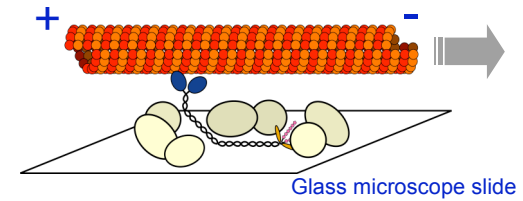


Rat Kinesin Dimer



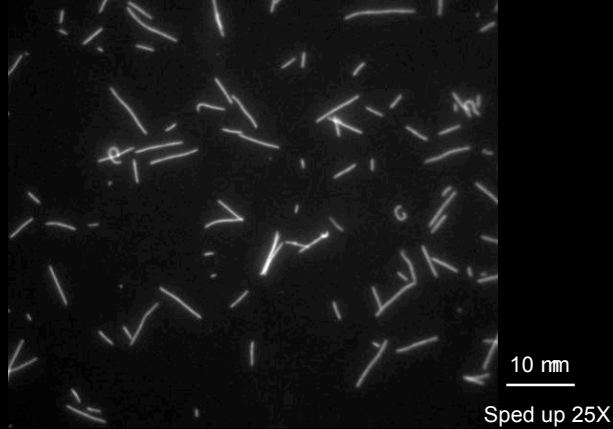
Kozielski et al. (1997) Cell, 91:985

Microtubule Gliding Assay

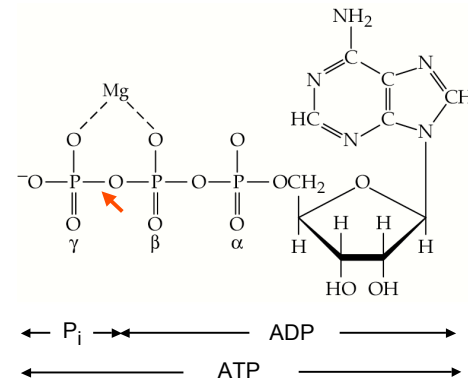


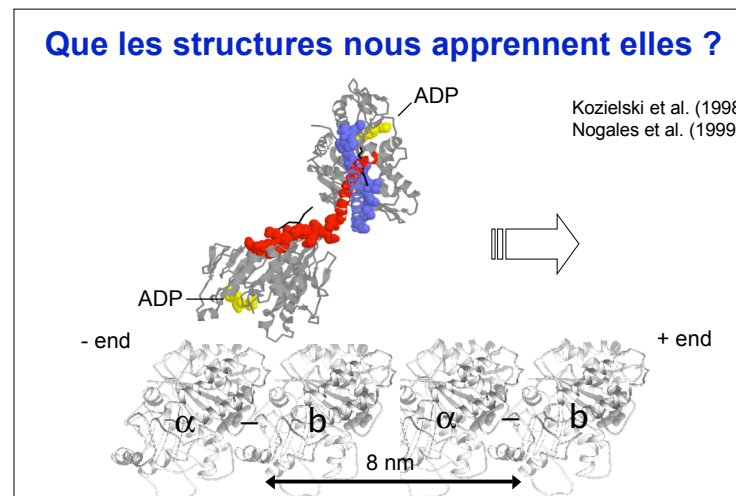
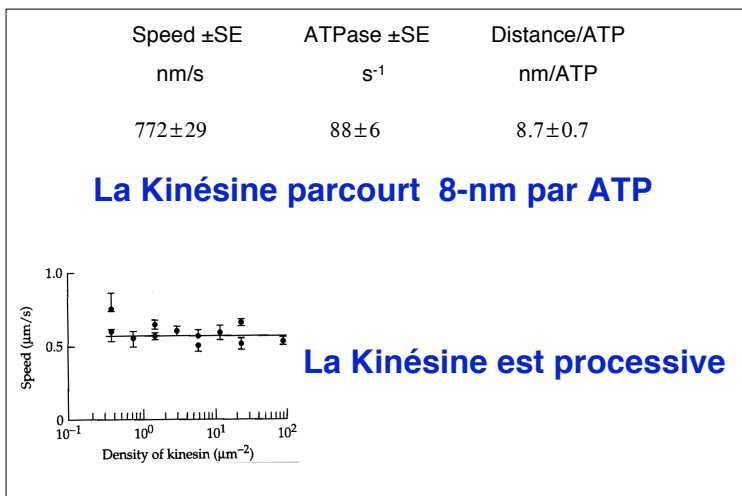
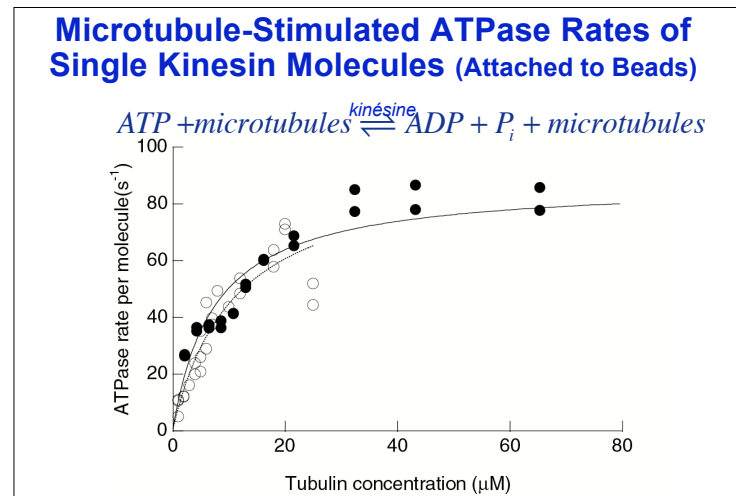
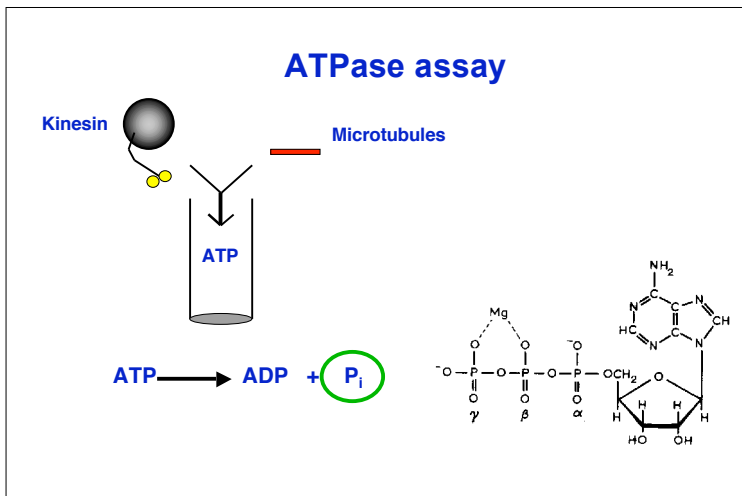
Glass microscope slide

Microtubule Gliding Assay



Hydrolysis of ATP





Comment la marche des kinésines est-elle liée à l'hydrolyse de l'ATP ?

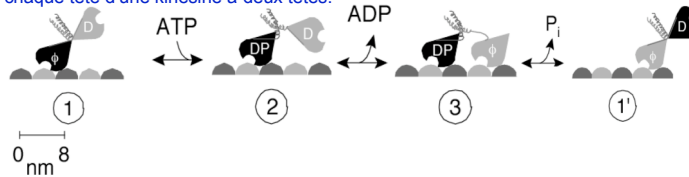
Les **kinésines détachées des microtubules** ont une forte affinité pour l'ADP, une faible affinité pour l'ATP et une **faible activité ATPase**.

Les kinésines vides et kinésines•ATP ont une forte affinité pour les microtubules. Les Kinésines•ADP ont une faible affinité pour les microtubules.

Les **kinésines•MT** ont une **forte activité ATPase**.

L'addition de l'ATP à des kinésines•ADP•MT accélère x5000 le largage de l'ADP par la tête non fixée au microtubule.

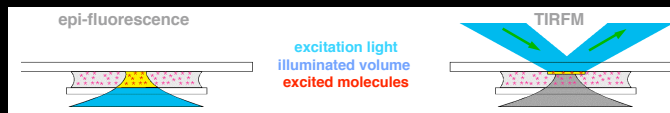
Les kinésines à une tête se détachent des microtubules beaucoup plus lentement que chaque tête d'une kinésine à deux têtes.



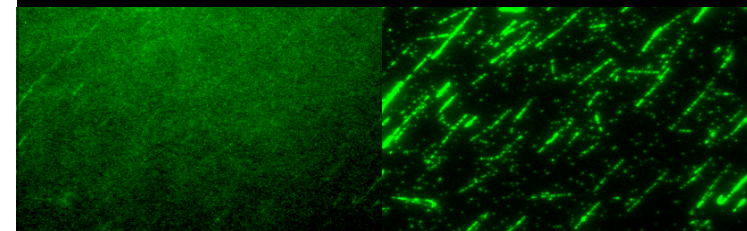
Techniques d'observation

- TIRF
- Fluorescence de molécules uniques
- Pincettes optiques

Total Internal Reflection Fluorescence (TIRF) Microscopy



Total Internal Reflection Fluorescence Microscopy (TIRF)

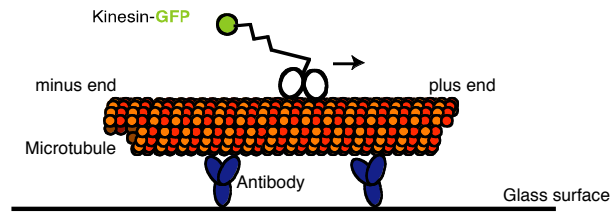


Fluorescence

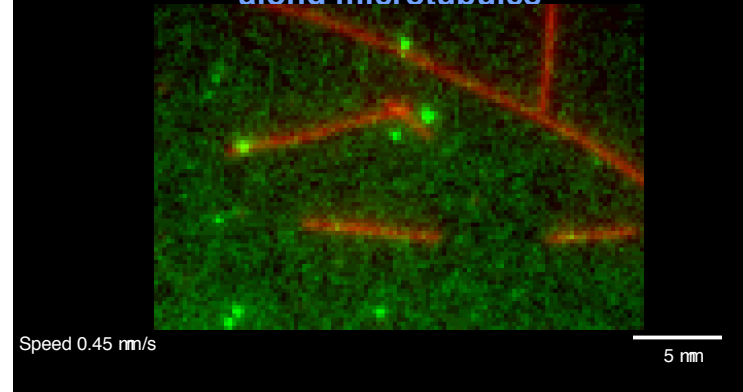
TIRF

Imaging area - 75 nm x 55 nm
GFP-MCAK on microtubules

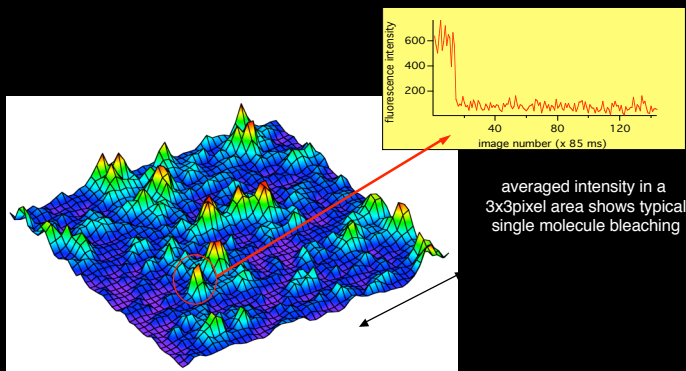
Single-molecule motor assay for conventional kinesin



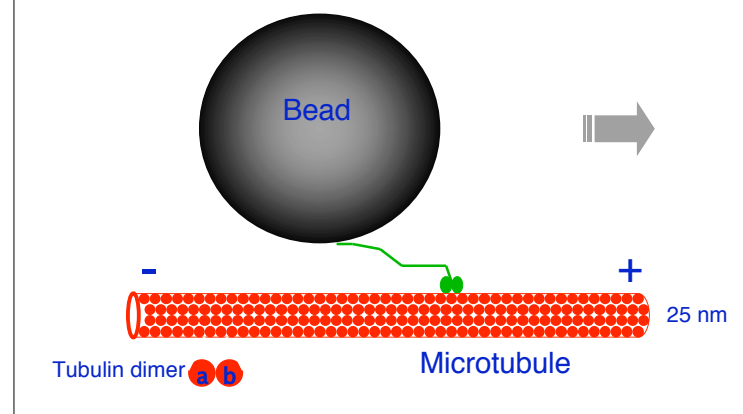
Movement of single kinesin molecules along microtubules

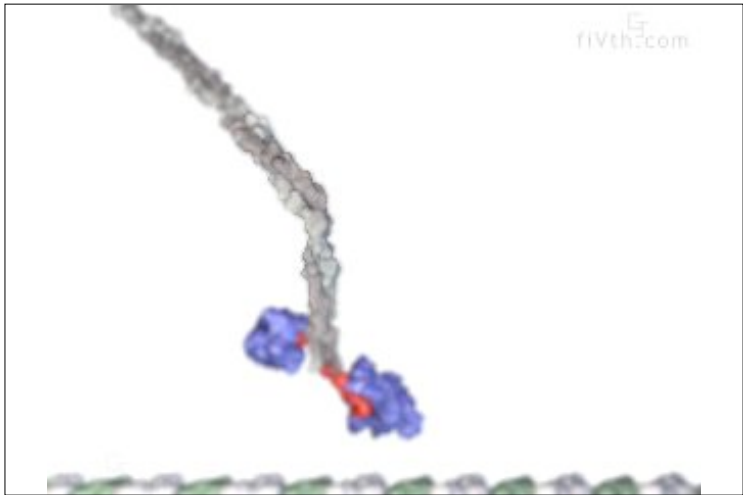
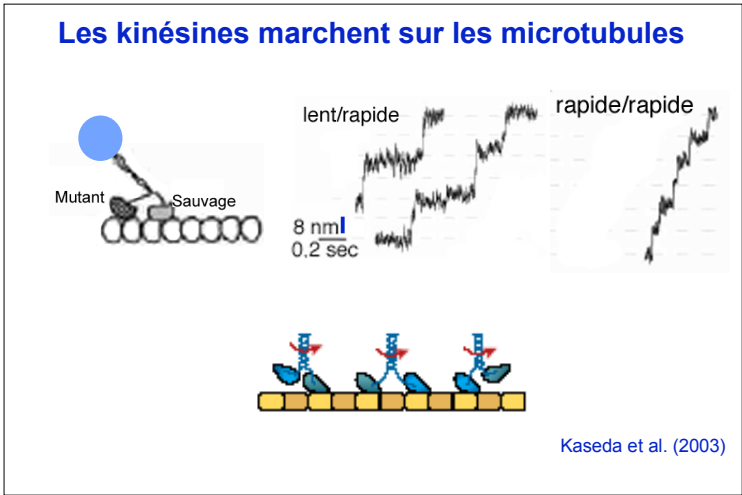
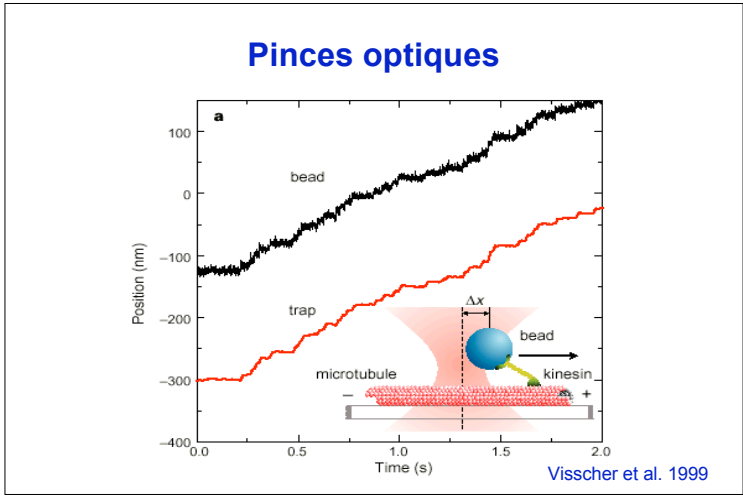
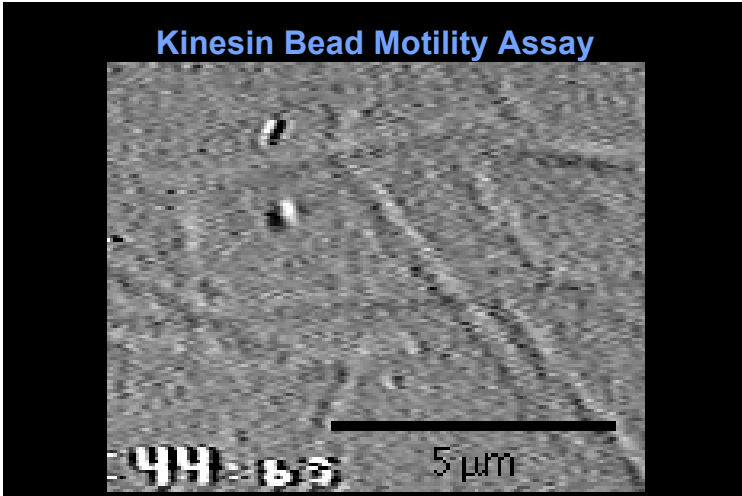


Single-molecule fluorescence (EGFP)

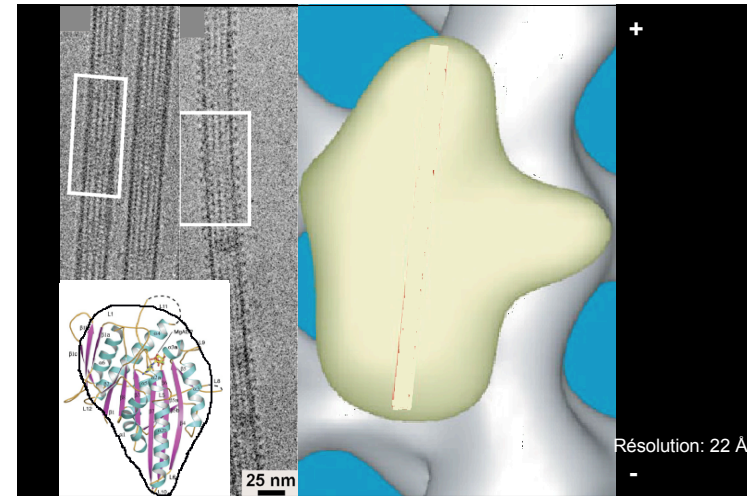
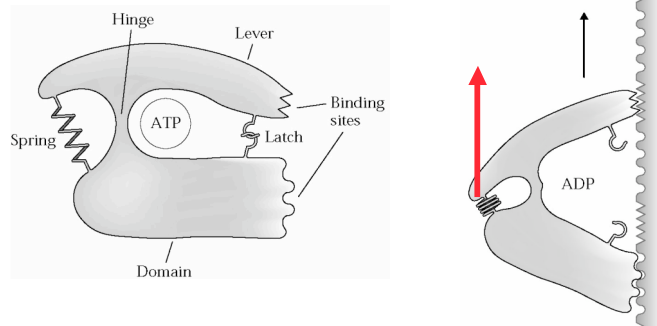


Bead Motility Assay





Les protéines : des machines



Résumé : kinésines moteurs

Les Kinésines associent un cycle chimique (hydrolyse de l'ATP) et un cycle mécanique (mouvement de la protéine)

Les étapes chimiques et mécaniques sont strictement couplées

Economique à faible charge: >90% des ATPs hydrolysées produisent un pas

Travail maximal = $8 \text{ nm} \times 6 \text{ pN} = 48 \text{ pN}\cdot\text{nm}$

Efficacité : $W/\Delta G_{\text{ATP}} = 48 \text{ pN}\cdot\text{nm}/100 \text{ pN}\cdot\text{nm} \sim 50\%$

Ce que l'on peut retenir ...

Tubuline et microtubules

- Seule la tubuline-GTP s'assemble en microtubules
- L'assemblage en microtubules est accompagné de l'hydrolyse du GTP; c'est la cause de l'instabilité dynamique des microtubules
- Dans les microtubules, la tubuline est 'droite'; elle est 'courbe' en solution

Kinésines

- Le mouvement des kinésines est accompagné d'hydrolyse de l'ATP
- Le pas du mouvement est de 8 nm (dimension d'un hétérodimère de tubuline)
- Les kinésines sont des moteurs extrêmement efficaces