

Stage/thèse : Révéler la dynamique de moteurs moléculaires par suivi nanométrique 5D en position et en orientation

Les moteurs moléculaires, tels que les myosines, les kinésines ou les dynéines, assurent le transport intracellulaire et la génération de forces grâce à une succession de changements conformationnels à l'échelle nanométrique. Si leurs déplacements ont été largement étudiés, leur dynamique rotationnelle demeure beaucoup moins bien caractérisée, alors qu'elle constitue une signature directe de leur cycle mécanique. Ainsi, les pas d'une myosine V s'accompagnent d'une rotation de 90° du cargo transporté [1], tandis que la microscopie MINFLUX a récemment mis en évidence pour la première fois la rotation de la tige d'une kinésine au cours de son déplacement [2]. Ces travaux montrent que la mesure simultanée de la position et de l'orientation est essentielle pour comprendre le fonctionnement des moteurs moléculaires.

L'objectif de ce projet est de développer une nouvelle approche expérimentale permettant de suivre en temps réel la position et l'orientation de sondes individuelles avec des précisions qui n'ont jamais été atteintes simultanément, puis d'exploiter cette capacité pour mesurer la dynamique de moteurs moléculaires dans des systèmes in vitro. Il s'appuiera sur un microscope de tracking à deux photons, développé au LuMin [3]. Inspiré de la microscopie MINFLUX, il utilise des nanocristaux générant de la seconde harmonique (SHG) à la place de fluorophores. Ces sondes ne subissent aucun photoblanchiment, permettant un suivi continu sur plusieurs dizaines de minutes, tout en fournissant une information polarimétrique directement liée à leur orientation cristallographique. Ce microscope atteint aujourd'hui une précision de localisation de l'ordre de 3 nm et une précision angulaire proche de 1°, des performances qui ouvrent un nouveau champ d'investigation pour l'étude des moteurs moléculaires.

Le programme expérimental suivra une progression en complexité croissante. Une première étape sera consacrée à la myosine II. En effet, l'I2BC possède l'expertise dans le développement de modèles biomimétiques (qui reproduisent les mécanismes observés dans la nature) [4]. Des filaments d'actine seront fonctionnalisés avec des nanocristaux SHG (chimie NHS ou carboxyle) afin de mesurer quantitativement les mouvements d'actine induits par la myosine, notamment les phénomènes de contraction et de cisaillement. La méthodologie sera ensuite étendue à des géométries impliquant plusieurs filaments d'actine, avant d'aborder des moteurs processifs. L'objectif sera alors de reproduire et d'améliorer les expériences réalisées sur la myosine V grâce aux performances spatiales, angulaires et temporelles du microscope, puis d'étendre cette approche à l'étude de la dynéine, dont les mécanismes de déplacement restent largement méconnus. Dans le cadre de notre projet, nous commencerons par étudier les déplacements de moteurs moléculaires in vitro, dans des conditions hautement contrôlées composées de protéines purifiées. Nous validerons ensuite ces résultats in cellulo.

Au-delà de l'étude des moteurs moléculaires, cette thèse contribuera au développement d'une nouvelle génération de microscopies de suivi capables de mesurer simultanément position et orientation sur de très longues durées, ouvrant de nouvelles perspectives pour l'étude quantitative de la mécanique des biomolécules individuelles.

[1] Ohmachi et al., PNAS **109**, 5294 (2012), doi : [10.1073/pnas.1118472109](https://doi.org/10.1073/pnas.1118472109)

[2] Wolff et al., Science **379**, 1004 (2023), doi : [10.1126/science.ade2650](https://doi.org/10.1126/science.ade2650)

[3] F. Semmer et al., ACS Photonics **10**, 3426 (2023) doi : [10.1021/acsp Photonics.3c00949](https://doi.org/10.1021/acsp Photonics.3c00949)

[4] A.Ntadambanya et al. Angewandte Chemie **63**, e202409852 (2024) doi : [10.1002/anie.202409852](https://doi.org/10.1002/anie.202409852)

Contacts :

François Marquier (LuMin), francois.marquier@ens-paris-saclay.fr

Marcelina Cardoso Dos Santos (I2BC), marcelina.cardoso-dos-santos@i2bc.paris-saclay.fr