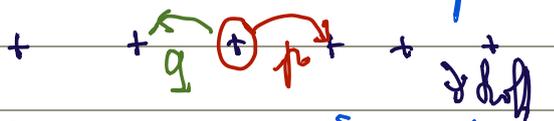


Transport actif, moteurs moléculaires

Le but de ce cours est de discuter les aspects du transport actif par les moteurs moléculaires : les interactions entre moteurs moléculaires ne dépassant sur un filament, et le bougeolement et le transport par des moteurs de vesicules ^{embouteillage}

Nous utiliserons un modèle très simple dans lequel le moteur moléculaire est une particule ponctuelle qui saute de site à site sur un filament.

+  Le moteur a une probabilité p

de sauter sur un site à droite et q à gauche. Si le filament est placé vers la droite $p > q$. Si on appelle s_n la probabilité de trouver le moteur à la position n $\frac{\partial s_n}{\partial t} = p(s_{n-1} - s_n) + q(s_{n+1} - s_n) - \text{diff } s_n$

On peut traiter le cas $\text{diff } s_n$ et calculer p_n avec diff jusqu'à la solution est $s_n \propto e^{(p-q)z}$. On peut passer à la limite continue en posant $z = na$, et en en posant la longueur totale $L = Na$.

$$\frac{\partial s(z,t)}{\partial t} = D \frac{\partial^2 s}{\partial z^2} - v \frac{\partial s}{\partial z} \quad \text{ou } v = (p-q)a \text{ est la vitesse et}$$

$D = \frac{1}{2} (p+q)a^2$ le coefficient de diffusion : le moteur a une marche aléatoire brisée par la vitesse v

Si on ajoute une force f dans la direction du filament $p = p_0 e^{f a / 2kT}$ et $q = q_0 e^{-f a / 2kT}$ (Théorie de Kramer) $\frac{p}{q} = \exp \left\{ \frac{(c+b) f a}{kT} \right\}$ de système est à l'équilibre ou $p_0 = q_0$ et $c + b = a$ pour satisfaire le bilan détaillé. C'est juste le cas d'un moteur. Nous en posons dans la suite $q=0$ pour que le moteur ne fasse pas de pas en arrière

I. Modèle TASEP *Derrida et al., Pareschi et al.*

1. Interaction entre les moteurs = exclusion de site

Pour prendre en compte les interactions entre les moteurs nous imposons que le moteur ne peut pas sauter si il y a déjà un autre moteur à sa droite, la probabilité moyenne de saut devient $p(1-s_{n+1})$

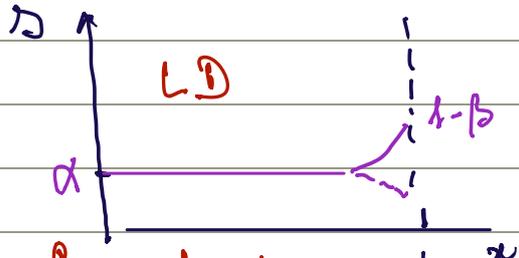
On trouve aussi avec une approximation de champ moyen

$$\frac{\partial s_n}{\partial t} = p [s_{n-1}(1-s_n) - s_n(1-s_{n+1})]$$

On a fait une approximation de champ moyen en remplaçant la probabilité de saut par une probabilité. On fait alors passer à la limite continue $\frac{\partial \langle s \rangle}{\partial t} = \nu (1 - 2s) \frac{\partial s}{\partial z} + D \frac{\partial^2 s}{\partial z^2}$ (1)

Plus $s(1)$ est grand, plus la vitesse diminue. $\frac{\partial s}{\partial z^2} \neq 0$ en l'absence des conditions aux limites: on impose des réservoirs à la concentration α à gauche $s(0) = \alpha$ et $(1-\beta)$ à droite $s(L) = 1-\beta$.

Dans cette limite on ne trouve que 3 comportements possibles



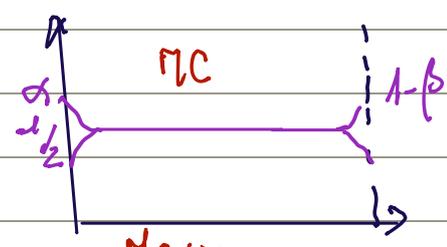
Low density

imposé par α



high density

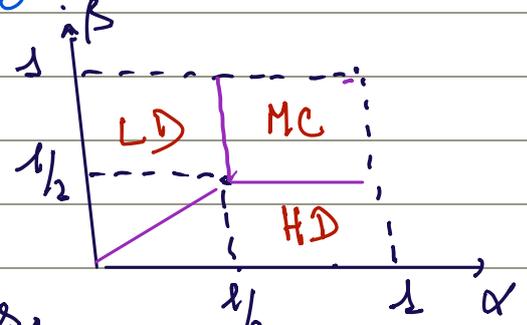
imposé par β



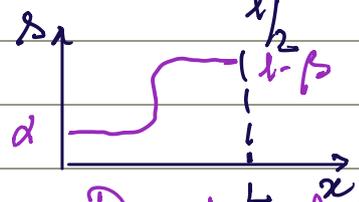
Maximum current

le diagramme de phase est le suivant
le courant est $j = -D \frac{\partial s}{\partial z} + \nu s(1-s)$
il vaut

$$j_{LD} = \alpha(1-\alpha)\nu \quad j_{HD} = \beta(1-\beta)\nu \quad j_{MC} = \frac{\nu}{4}$$



Rq: Si $\alpha = \beta < \frac{1}{2}$ il y a un front qui se déplace sans diffuser



Le modèle décrit a été résolu exactement par Demote et al, et a le même diagramme de phase que en champ moyen

2. Processivité des moteurs: cinétique de lamproline

Si les moteurs sont non-processifs et s'attachent et se détachent avec des taux k_{on} et k_{off} . L'équation pour la densité devient

$$\frac{\partial s}{\partial t} = D \frac{\partial^2 s}{\partial z^2} - \nu(1-s) \frac{\partial s}{\partial z} + k_{on}(1-s) - k_{off}s$$

Si k_{on}, k_{off} sont faibles $< \frac{\nu}{L}$ le comportement TASEP que nous venons de décrire est attendu

Si $k_{on}, k_{off} > \frac{\nu}{L}$ la cinétique d'attachement et de détachement prédomine et d'équilibre $s = \frac{k}{1+k}$ où $k = \frac{k_{on}}{k_{off}}$ est la constante

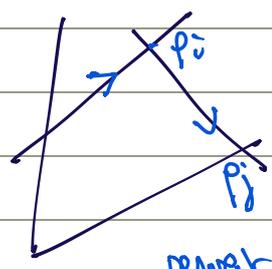
Dans les régions intermédiaires du paramètre $\Omega = \frac{k_{off}L}{\nu}$

un front assez raide apparaît dont la position est petite et se déplace vers la gauche quand Ω augmente. Un diagramme de phase est proposé. La phase avec un équilibre L.D.-H.D. est un embouteillage au sens où une phase de haute densité et faible vitesse s'accumule à la sortie derrière une phase de faible densité et de haute vitesse.

L'article expérimental de **Leclerc et al** donne une illustration expérimentale de tous ces effets en étudiant le mouvement de son tube à l'écoulement 3. L'article se focalise sur les embouteillages. Des moteurs n'ont pas de cargos et les auteurs observent 3 états. Pas d'embouteillage, embouteillage localisé à l'extrémité. Et occurrence d'un embouteillage de toute longueur. Ils font aussi des simulations numériques.

3. Réseau de filaments

New et al ont étudié le transport sur un réseau de filaments.



Ils utilisent un réseau d'un type particulier de Erdős-Rényi (pour que cela permet de faire les calculs.) avec une connectivité moyenne c . Pour chaque nœud, il doit noter la probabilité p_i que le nœud soit occupé qui leur permet d'obtenir les conditions aux limites α_i et β_j sur chaque

filament $\alpha_i = \frac{p_i}{c_i^{out}}$ ou c_i^{out} est le nombre de filaments qui partent du site i et $\beta_j = 1 - p_j$. A chaque nœud ils écrivent une

loi de Kirchhoff de conservation du courant. Le système est étudié numériquement. Des exemples des comportements sont montrés sur la figure 4 en variant deux paramètres la connectivité c et le taux d'échange $\Omega = \frac{\text{flon thon}}{L}$ $K = 1.5$. Ils calculent à chaque nœud le paramètre α et β et 2^{-V} reflétant ainsi le comportement calculé dans le diagramme de phase.

Le paramètre de contrôle est Ω pour une valeur de c donnée.

Si Ω est très petit, les filaments sont dans la phase basse densité ou la phase haute densité et il y a une hétérogénéité au niveau du réseau.

Si $\Omega > \Omega^*$ la phase basse densité disparaît et une majorité de filaments est dans une phase L.D.-H.D. il y a une hétérogénéité au niveau du filament.

Enfin, si Ω est grand le réseau devient homogène. L'hétérogénéité est mesurée par la distribution de densité moyenne sur le filaments. Elle est

introduction mais peut être ajoutée en variant la possibilité de rebond
 (des autres font aussi une chaîne de champ moyen, qui est valable au moins
 si c est assez grand).

II. Transport d'une molécule par plusieurs moteurs Klempp-Lipowsky

Pour transporter des gros cargos la cellule attache ses cargos à plusieurs
 moteurs moléculaires, ce qui permet d'accroître énormément la longueur de
 processivité du transport. Cela a été étudié en détail par Klempp et Lipowsky
 le modèle est schématisé sur la figure. Chaque objet a N moteurs
 et parmi ces N moteurs seulement n sont liés au filament de track
 d'attachement pour passer de n à $n+1$ moteurs liés est Π_n (Π_0 est
 le taux d'attachement de la molécule avec 0 moteurs), et un taux de
 détachement de n à $(n-1)$ moteurs (ε_n est le taux de détachement
 du dernier moteur donc de cargo). Si les moteurs sont indépendants,
 $\Pi_n = \Pi_0 (N-n)$ et $\varepsilon_n = n\varepsilon$. La vitesse v_n varie avec
 le nombre de moteurs

L'équation de Fokker-Planck pour la probabilité p_n d'avoir n
 moteurs attachés est $\frac{\partial p_n}{\partial t} = \varepsilon_{n+1} p_{n+1} - \varepsilon_n p_n + \Pi_{n-1} p_{n-1} - \Pi_n p_n$

Si le cargo reste lié pendant un temps long $T_b \gg 1/\varepsilon_1, 1/\Pi_b$
 on peut chercher un état stationnaire qui est tel que

Envis $p_{n+1} = \Pi_n p_n$ cela conduit à la probabilité $p_n = p_0 \prod_{i=0}^{n-1} \frac{\Pi_i}{\varepsilon_{i+1}}$
 La constante p_0 est fixée par la normalisation $1 = \sum_{n=0}^N p_n$ ($n \geq 1$)

L'état à 0 moteurs attachés correspond à une molécule détachée de filament
 et pour calculer des moyennes sur le nombre de moteurs il faut renormaliser
 la probabilité p_n en enlevant l'état détaché $p'_n = \frac{p_n}{1-p_0}$ et pour l'état
 détaché $p_0 = \left[1 + \sum_{n=0}^{N-1} \prod_{i=0}^n \frac{\Pi_i}{\varepsilon_{i+1}} \right]^{-1}$

Le nombre moyen de moteurs liés est $N_b = \sum p_n n$. Si les moteurs
 sont identiques, $\frac{N_b}{N} = \frac{(\Pi_0/\varepsilon) [1 + \Pi_0/\varepsilon]^{N-1}}{[1 + \frac{\Pi_0}{\varepsilon}]^N - 1}$ soit si N est grand

$$\frac{N_b}{N} = \frac{\Pi_0}{\varepsilon + \Pi_0}$$

On peut aussi dans l'état stationnaire calculer des temps effectifs pour la

cube et le taux de débâtement du cargo $E_c = E_1 \mu_1 = E_1 \frac{\mu_1}{1 - \mu_0}$ mais $\mu_1 = \mu_0 \frac{\pi_0}{E_1}$
 et $E_c = \frac{\pi_0 \mu_0}{1 - \mu_0}$ et dans la limite où N est grand

$E_c = \frac{N \pi_0 b}{(1 + \pi_0 b / E)^N}$ Soit un temps de processivité $T = \frac{1}{N \pi_0 b} \left(\frac{\pi_0 b}{E} + 1 \right)^N$

croît exponentiellement avec le nombre de moteurs. Calcul de la distribution.

Rq. le temps est un temps de premier passage moyen à zéro vitesse. L'article calcule aussi la distribution de temps de processivité. La longueur de processivité est $L_p = VT$.

Pour la hénésie $E = 1 \text{ s}^{-1}$ $\pi_0 = 5 \text{ s}^{-1}$ $N = 1 \text{ per / s}$: pour $N = 2$
 $L = 3,5 \text{ per}$ pour $n = 5$ $3,5 \text{ per}$. Dans les axones il y a un transport axonal lent avec 1 moteur qui est processif sur 1 per et des bragues faibles qui conduisent à une vitesse moyenne de 0,1 à 1 $\mu\text{m} / \text{jour}$ $10^{-2} \mu\text{m} / \text{s}$. Le transport axonal rapide se fait à des vitesses de 1 per / s. La longueur de processivité croît exponentiellement avec le nombre de moteurs $L_p = 1 \text{ cm}$ si $N = 7-8$.

La force d'arrêt de la microtubule augmente aussi avec le nombre de moteurs

$F_s(n) = n F_0(1)$ Campos et al (2006) Goldstein pour la processivité

Des expériences ont été faites par le groupe de R. Donovan pour tester ces prédictions en utilisant comme cargos des billes de polystyrène auxquelles s'attache des moteurs hénésiques. Le nombre de moteurs adhésifs dépend de la concentration en hénésie et est de l'ordre de 10. La quantité mesurée est la distribution de longueur de persistance qu'ils comparant à la théorie et ils en déduisent le nombre moyen de moteurs attachés au microtubule.

III Bourgeoisement des microtubules **Sera et FRET**

Les microtubules impliqués dans le transport cellulaire doivent bourgeonner en nucléant avec l'aide de protéines de courbure coatomers sur la membrane du ER ou du Golgi. Les protéines de courbure atteignent la membrane avec un flux J_m , elles forment des coques en forme de calottes sphériques de protéines polymériques. Si la coque est une sphère elle joint et obstrue de la membrane et bourgeonne (k_{on} protéines).

Les monomères individuels arrivent sur la membrane avec un flux J_m et peuvent polymériser $1 + (l-1) \xrightleftharpoons[k_{p(l-1)}]{k_{p(l)}}$ (l) le couant associé est $f_p(l) = -k_{p(l)}^{-1} \eta_2 \eta_{l-1}$

+k_d m_e où m_e est le nombre de réticules de taille l. Elles jouent aussi qu'elles sur réticules avec un taux k_{off} j_{off} = +k_{off} l m_e. Si on pose f(l) = j_o - j_{off}, on obtient $\frac{dn_p}{dt} = -j(l) + j(l+1)$. Les taux de polymérisation

et de dépolymérisation doivent vérifier $\frac{j_p(l+1)}{j_p(l)} = e^{-\frac{[E(l+1) - E(l)] - E(l+2)}{kT}}$ où E est l'énergie libre d'une coque de taille l (k_{off} l).

Ceci donne j_o(l) = -k_p(l-1) [m₁ m_{e-1} - e ^{$\frac{E(l) - E(l-1) - E(l)}{kT}$}]. On définit la différence d'énergie libre ΔE(l) = E(l) - (E₁ + log m₁) l par rapport aux l protéines solées en solution et j_o(l) = k_p m₁ [m_{e-1} - m_e e ^{$\frac{\Delta E(l) - \Delta E(l-1)}{kT}$}]. En passant à la limite continue j_o(l) = -k_p m₁ [m_e + m_e $\frac{\partial \Delta E}{\partial l}$] où nous avons supposé que k_p ne dépend pas de l. On peut aussi écrire j_{off} = k_p m₁ m_e $\frac{\partial E_{off}(l)}{\partial l}$ avec E_{off} = $\frac{1}{2} \frac{j_p(l^2-1)}{k_p m_1}$ et donc l'équation d'évolution de m_e est une équation de Fokker-Planck avec une énergie $\tilde{E} = \Delta E + E_{off}(l)$.

Pour une coque on peut écrire l'énergie de la manière suivante E = ΔA γ + λ l - ε l + 2A [K(C-C₀)² + Km C²] où l'on inclut les énergies de courbure de la membrane et de la coque la tension de la membrane et un terme de bord proportionnel à l. Il faut exprimer cette énergie en fonction de l en écrivants que les protéines d'une coque couvrent la coque. La courbure totale est Δc et la courbure moyenne k_c. On minimise ensuite par rapport à c et si l < $\frac{(6\pi R K)^{1/2}}{\lambda} \approx 10^5$ C. v. G. L'énergie $\tilde{E}(l)$ est tracée en fonction de l pour diverses valeurs de m₁. avec le nombre de réticules de taille obtenue en résolvant l'équation stationnaire pour m_e j(l) = 0 = j_o = k_v m(l) **figure 2**

La stratégie est de fixer m₁ de calculer pour un m₁ donné la distribution de taille des coques possibles puis de fixer m₁ en imposant la conservation des protéines de courbure. Pour cela on définit les flux totaux $J_{off} = \sum_l j_{off} = \sum_l k_{off} m_l l$ et $J_v = j_0 l_0$. La conservation des protéines sur la surface s'écrit $J_m = J_{off} + J_v$.

À m₁ fixé il y a 3 régimes possibles. Si m₁ est petit j_o = 0 et l'équation sur j_o conduit à m(l) = m₀ e ^{$-\frac{\tilde{E}(l)}{kT}$} . À tout petit m₁ est E_{off}(l) est croissante et il n'y a pas de solution possible (1) pour m₁ $J_{off} = k_{off} m_1$ m_{1} = \frac{1}{m_0} / k_{off}. En augmentant J_{on} il apparaît un point d'inflexion à m_{1} = m_{crit}. La théorie est très semblable à celle de la formation de micelles dans des solutions savonneuses. Il y a 3 extrêmes possibles de $\tilde{E}(l)$ 2 maxima et 1 minimum qui correspond à la fonction des agrégats de taille l_m $J_{off} = (m(l_m) l_m + m_1) k_{off}$. En augmentant}}}

λ_m , m_2 sont à peu près constants et le nombre de vésicules augmente peu toute augmentation très peu. de courant λ_r est négligeable (mul) so $m_2 = m_{02}$ mais il augmente peu à peu

- Il y a des densités critiques m_c telle que si $m_2 > m_c$ l'énergie a 1 seul maximum et décroît ensuite en fonction de l'épaisseur. le maximum contrôle la nucléation de calottes sphériques qui croissent et forment des réseaux complètement qui bougent.

Sur la figure 3 sont tracés les 3 flux et les valeurs limites de m_2 . Il y a un pic de $\lambda_{off} + \lambda_r$ qui fait que dans une certaine gamme il y a trois valeurs de m_2 possibles et une transition possible entre un état $\lambda_r = 0$ et un état de bouillonnement "secretum switch"

les paramètres qui contrôlent le bouillonnement sont λ_m et h_{off} . le bouillonnement se produit so λ_m augmente ou h_{off} diminue. Un exemple de variation de h_{off} est observé sur la figure 4.

Dans le Golgi la protéine de courbure est COPI. Si le nombre de cargos augmente, le flux de vésicules augmente beaucoup soit en augmentant λ_m soit en diminuant h_{off}

Dans le ER, la protéine est COPII, la diminution de λ_m a été attribuée à l'augmentation de h_{off} s'il y a moins de cargos. Cela correspond à un échange plus rapide des protéines de courbure entre le ER et le cytosol car h_{off} .

① Il y a a fait 1 maximum de $\tilde{E}(l)$ avec $l > l_c$ mais ce maximum ne joue aucun rôle