

Sujet Stage/Thèse

NanoRatchet : transport actif à l'échelle nanométrique

Encadrant : Fabien Montel (fabien.montel@ens-lyon.fr)

Institut/Département : Ecole Normale Supérieure de Lyon / Laboratoire de Physique (UMR 5672)

Les nanopores biologiques sont d'étonnantes machines moléculaires qui remplissent une grande variété de fonctions cellulaires. allant du tri des biomolécules à la construction de la pression osmotique cellulaire et au repliement des protéines nouvellement synthétisées. Leurs performances, mesurées par leur efficacité énergétique, leur directionnalité ou leur sélectivité, n'ont pas d'équivalent parmi les systèmes artificiels. Au cours des dernières années, nous nous sommes concentrés sur l'un de ces nanopores, le pore nucléaire, qui consomme de l'énergie chimique (hydrolyse de l'ATP) afin d'assurer le transport de macromolécules (protéines, ADN et ARN). En particulier nous avons étudié la contribution du confinement qui domine les propriétés de transport pour ce type d'objet [1,2,3] mais également pour le transport de particules virales [4].

Pour aller plus loin et mieux comprendre le fonctionnement du pore nucléaire nous proposons ici une approche mimétique qui sélectionne les fluctuations thermiques pour exercer une force active de translocation sur les espèces présentes en amont. Dans ce projet, à la suite du travail de thèse de Bastien Molcrette [3] nous utilisons une molécule placée en aval de la membrane, l'agent de ratchet, qui permet d'induire un transport directionnel à l'instar des transporteurs du système naturel (Figure 1a).

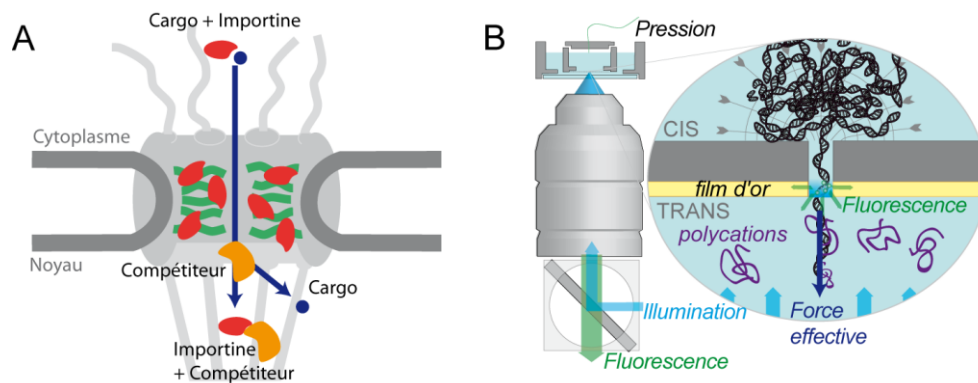


Figure 1 : (A) Mécanisme du transport directionnel à travers le pore nucléaire. La molécule à transporter (Cargo) est reconnue spécifiquement par un transporteur (Importine). Une fois le complexe formé il peut diffuser à travers le réseau de protéines (FG-nups) qui joue le rôle de barrière. La directionnalité du mouvement est induite par la présence d'un compétiteur qui sépare le complexe et empêche le cargo de revenir en arrière. (B) La technique de Zero Mode Waveguide permet de suivre en temps réel le transport de molécules individuelles dans des nanopores uniques. L'utilisation d'agent de ratchet sous la forme de polycations permet de reproduire la directionnalité du transport observé dans les pores biologiques. Extrait de [3].

Ces molécules sont capables de se lier fortement à l'ADN une fois sortie du compartiment en amont mais ne peuvent pas diffuser dans le compartiment en amont (exclusion de taille). Leur association avec l'ADN induit donc un biais dans la diffusion du polymère et donc un transport actif de ce dernier vers le compartiment en aval (Figure 1b). Nous caractériserons à l'échelle de la molécule unique ces nanopompes actives pour les biomacromolécules telles que l'ADN.

Le transport de macromolécules uniques sera mesuré par une technique optique de champ proche développée au laboratoire (Zéro-Mode Waveguide pour nanopores [1], Figure 1b) et les forces en jeu seront mesurées grâce à un système de pinces optiques unique en France couplé à un microscope confocal et à un système microfluidique (Lumicks C-Trap). A partir de cette mesure, nous extrairons le changement du paysage énergétique de translocation en présence des agent de ratchet.

Dans un deuxième temps nous utiliserons le même montage expérimental avec des enveloppes nucléaire de Xénopes et les transporteurs associés. Ceci nous permettra de mesurer l'efficacité énergétique du transport dans un système ex-vivo et de la comparer directement au paysage de phase obtenu avec le système mimétique.

Ce travail donnera accès aux paramètres limites des nano-pompes et guidera la compréhension des nano-pompes naturelles comme le translocon et le pore nucléaire. Il ouvrira la possibilité de construire des systèmes minimaux qui reproduisent le comportement de ces systèmes naturels essentiels au bon fonctionnement de nos cellules.

Bibliographie :

1] Zero-mode waveguide detection of flow-driven DNA translocation through nanopores. Auger T, Mathé J, Viasnoff V, Charron G, Di Meglio JM, Auvray L, Montel F. **Physical Review Letters**. 2014 Jul 11;113(2):028302.

2] Yong H, Molcrette B, Sperling M, Montel F, and Sommer J-U. Regulating the Translocation of DNA through Poly(N-isopropylacrylamide)-Decorated Switchable Nanopores by Conosolvency Effect. **Macromolecules** 2021, 54, 9, 4432–4442

3] Molcrette B, Chazot-Franguiadakis L, Liénard F, Balassy Z, Freton C, Grangeasse C, and Montel F. Experimental study of a nanoscale translocation ratchet. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 2022, 119 (30) e2202527119.

4] Chazot-Franguiadakis L, Eid J, Socol M, Molcrette B, Guégan P, Mougél M, Salvetti A, and Montel F. Optical Quantification by Nanopores of Viruses, Extracellular Vesicles and Nanoparticles. **NanoLetters** 2022, 22, 9, 3651–3658