

FLANAMOVE, Comprendre, Assembler et Intégrer l'un des plus petits moteurs naturels : le nanomoteur du flagelle bactérien (BFNM)

Projet – 09-NANO-043 FLANAMOVE

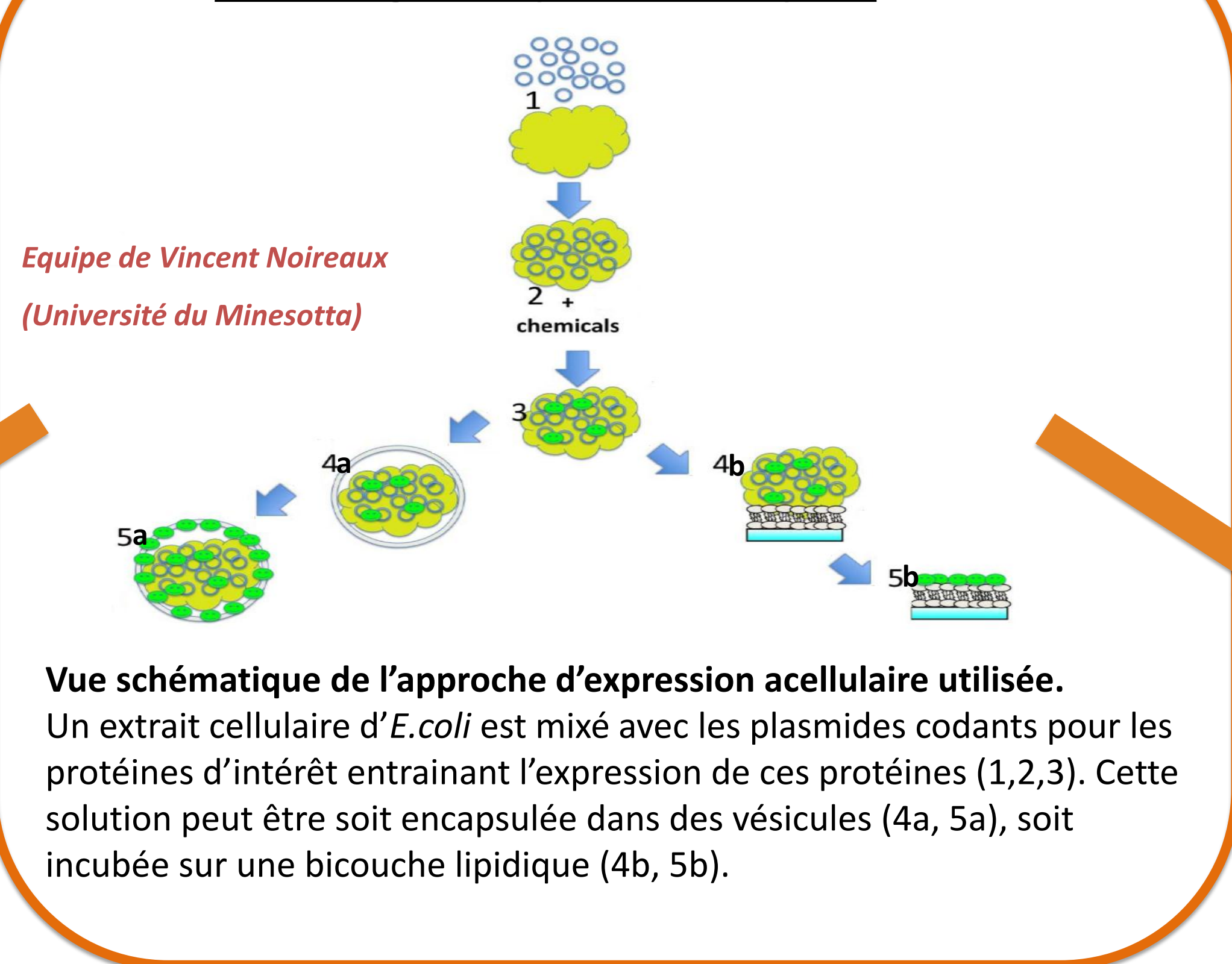
Auteurs : LAAS-CNRS (C.Vieu, C.Thibault, J. Chalmeau, A. Coutable, E. Trévisiol) _ LISBP (J-M. François, A. Coutable, E. Trévisiol) _ U1006 INSERM (S. Scheuring, N. Buzhynskyy) _ Minesota University (V. Noireaux, J. Chalmeau)

Contexte et objectif

Le but d'un précédent projet nommé FLANAMO était d'utiliser les nanotechnologies afin de mieux comprendre la structure et le fonctionnement du nano-moteur du flagelle bactérien (BFNM), ceci ouvrant la voie à l'assemblage artificiel de cette nano-machine biologique sur des surfaces de silicium.

L'objectif du projet FLANAMOVE est de poursuivre et d'étendre cette approche en utilisant une nouvelle voie couplant les nanobiotechnologies et la biologie synthétique.

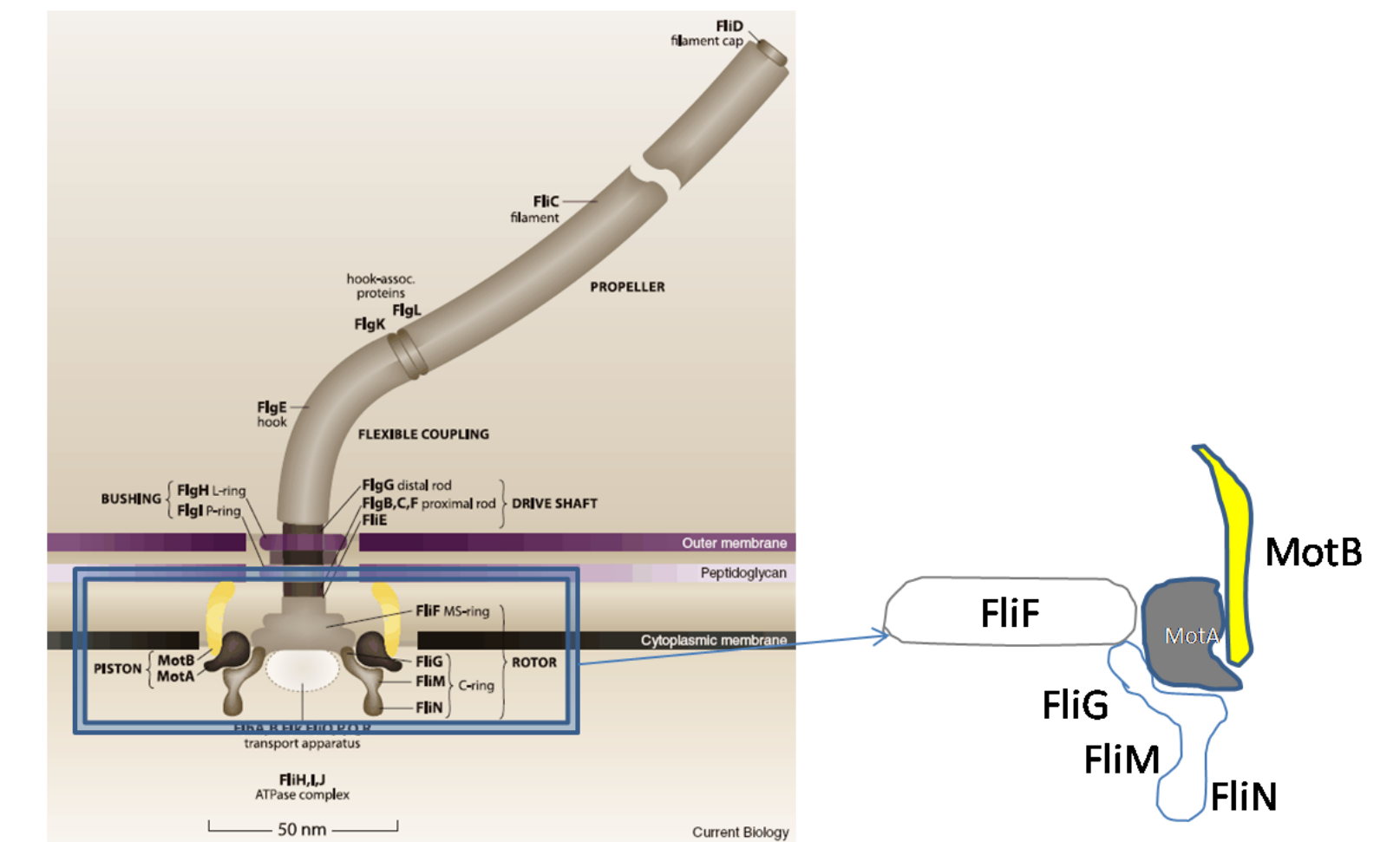
Biologie Synthétique



2 approches sont utilisées pour étudier les interactions et assembler le nanomoteur :

Vésicules

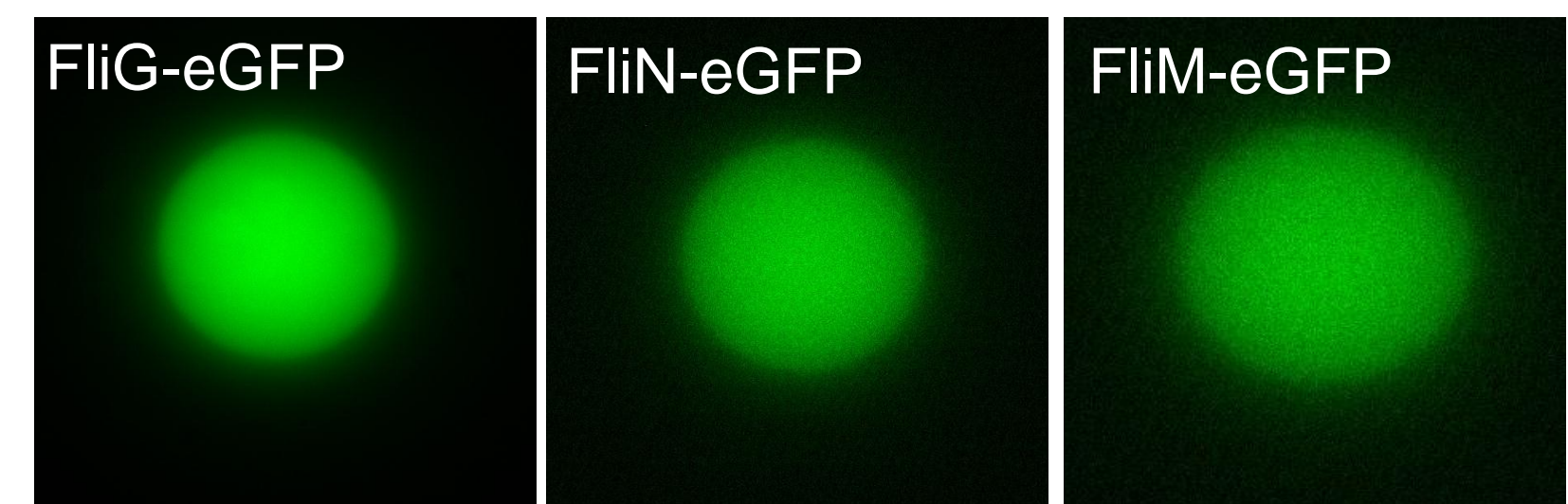
Bicouches phospholipidiques



Vue schématique du BFNM d'après H. Berg (à gauche) et les six protéines essentielles pour le mécanisme du moteur (à droite).
Bacterial flagellar motor, Howard.C.Berg, *Current Biology* Vol18 No16 R690.

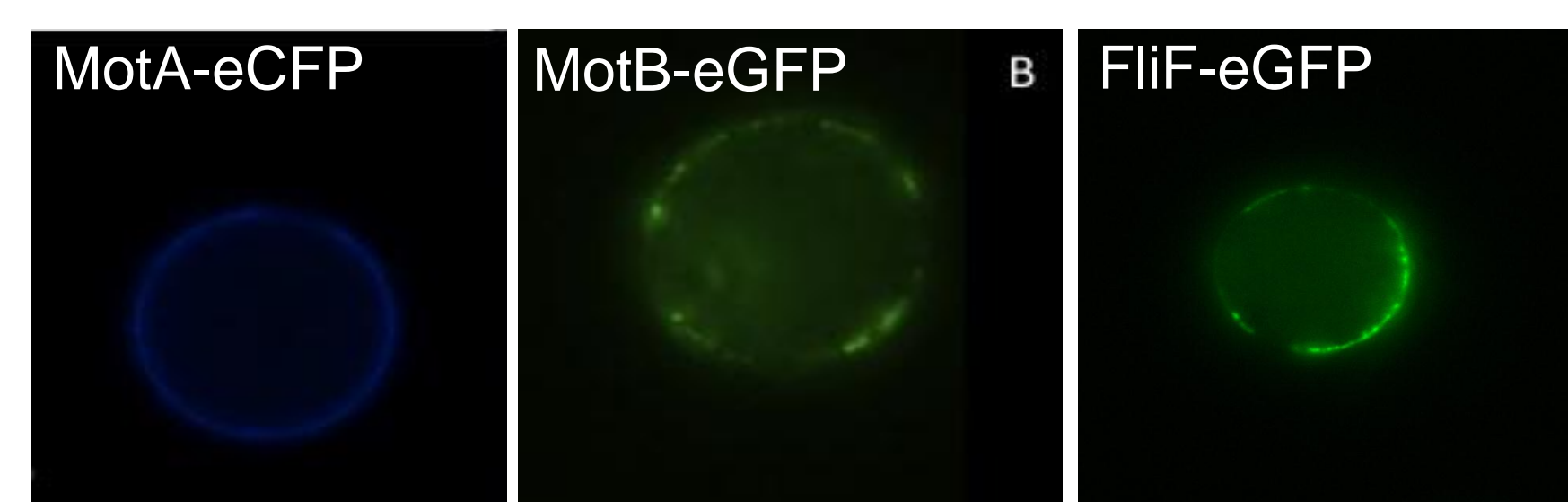
=> Intégration des six protéines essentielles du nanomoteur

- Les 3 Protéines Cytoplasmiques (FliG, FliN, FliM)



=> Les protéines sont localisées à l'intérieur des vésicules

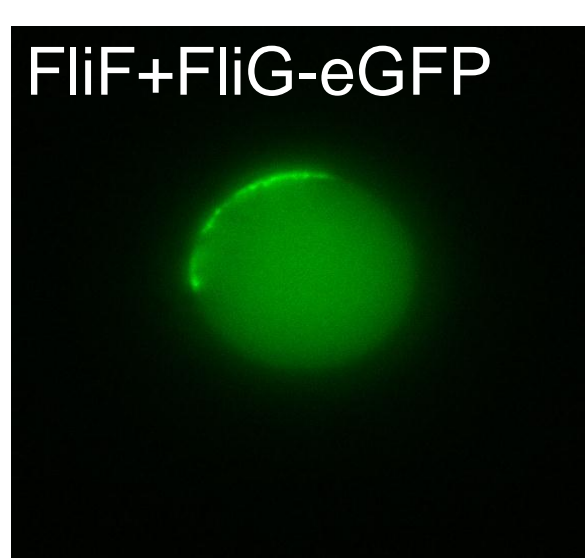
- Les 3 Protéines Membranaires (MotA, MotB, FliF)



=> Les protéines sont localisées dans la membrane

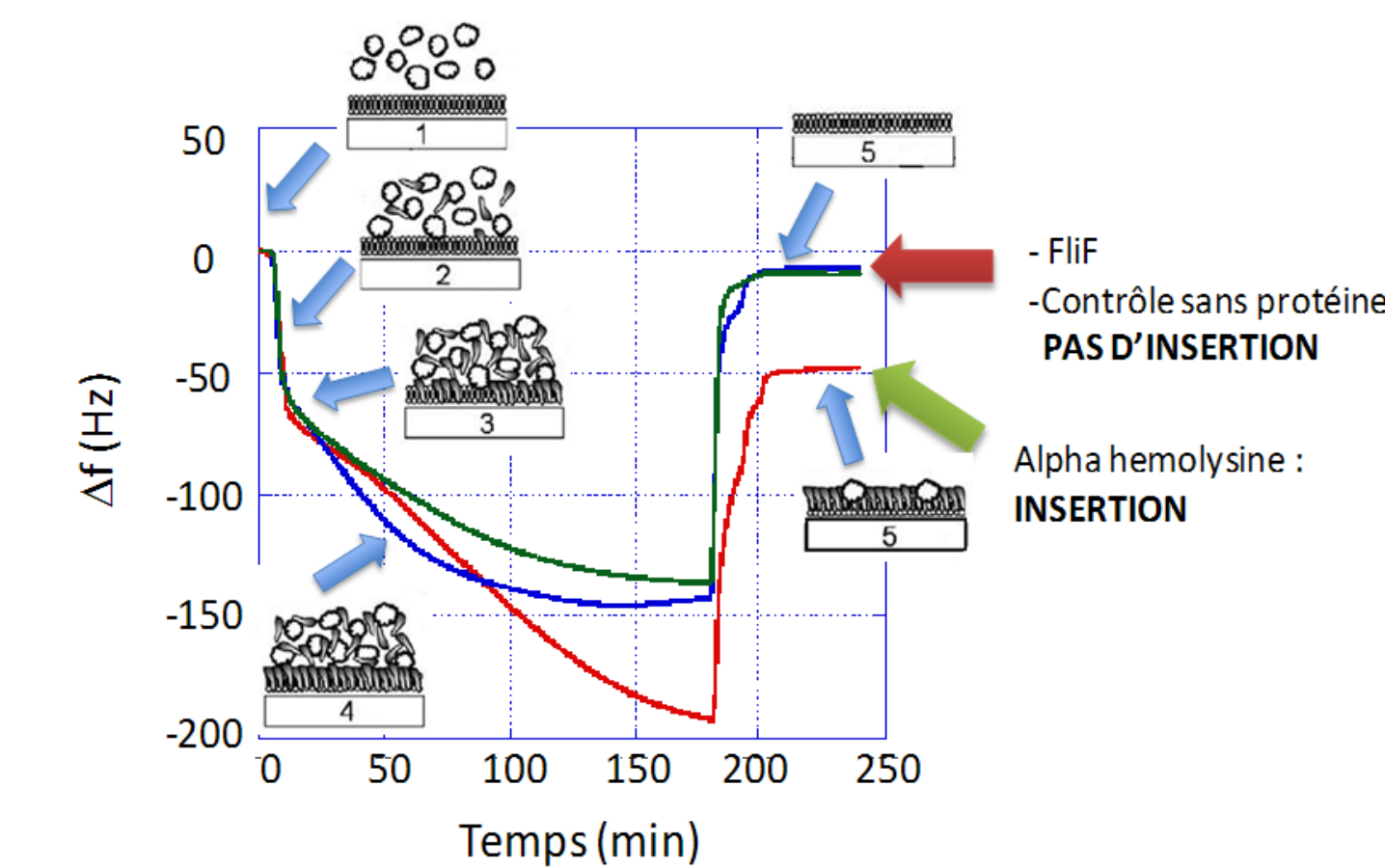
=> Co-Intégration des protéines essentielles du nanomoteur

Une protéine cytoplasmique FliG et une protéine membranaire FliF



=> FliG est localisée au niveau de la membrane grâce à la présence de FliF
=> Ceci confirme le bon repliement des protéines

=> Intégration de protéines dans une bicouche lipidique supportée (études QCM-D et AFM)



Expression de protéines (Alpha Hémolysine, FliF et contrôle négatif sans protéines) durant 3 heures grâce au système d'expression acellulaire. Expression protéique suivie par Microbalance à Quartz et Dissipation (QCM-D).

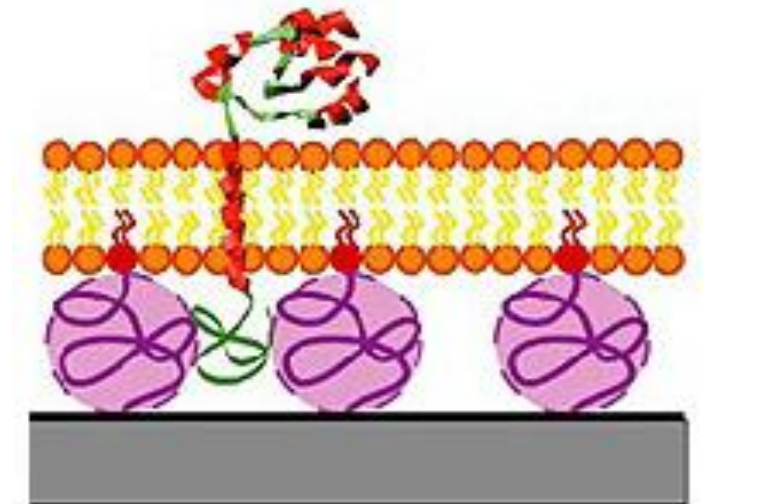
=> Insertion de l'alpha-hémolysine, pore membranaire
=> Pas d'insertion de FliF, une protéine membranaire du nanomoteur. La même chose a été observé pour MotA

=> Ce type de membrane ne peut pas être utilisé pour insérer les protéines membranaires du nanomoteur. Les protéines transmembranaires ont besoin d'espace pour une insertion correcte et un bon repliement.

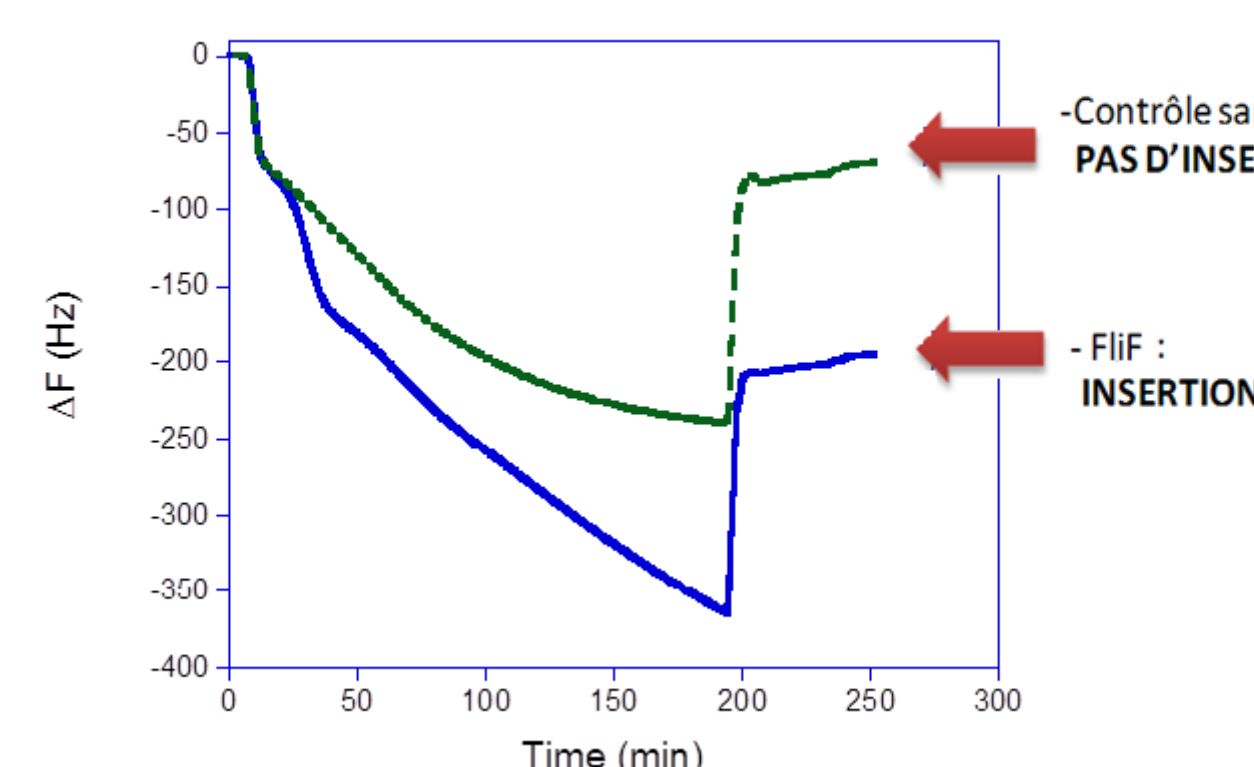
Bicouche Lipidique Supportée (SLB)

2 types de membranes envisagées

Membrane Lipidique ancrée (tBLM)



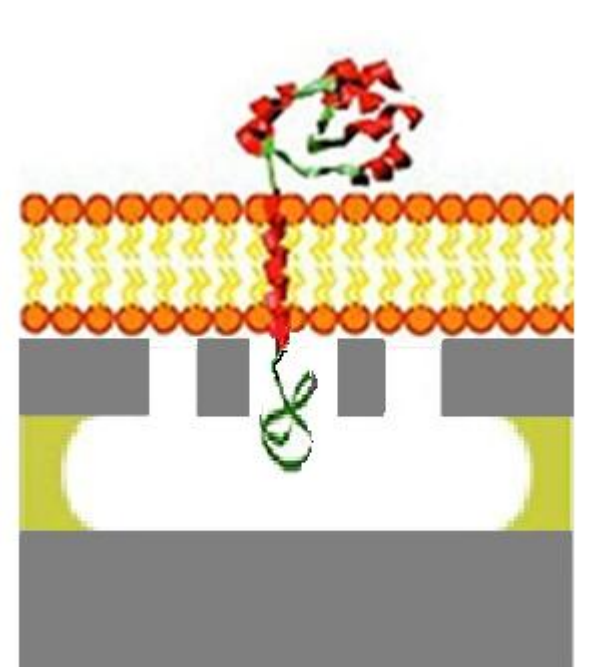
=> Intégration de protéines dans une bicouche lipidique ancrée



Expression de protéines (FliF et contrôle négatif sans protéines) durant 3 heures grâce au système d'expression acellulaire. Expression protéique suivie par Microbalance à Quartz et Dissipation (QCM-D).

=> Insertion de FliF, une protéine membranaire du nanomoteur.
=> Ce type de membrane peut être utilisé pour insérer les protéines membranaires du nanomoteur.

Membrane suspendue



=> Etude engagée

Conclusion:

- L'expression simultanée de deux protéines du nanomoteur démontre la faisabilité de l'assemblage du moteur dans les vésicules.
- Les membranes lipidiques ancrées (tBLM) permettent d'exprimer et d'insérer les protéines membranaires du nanomoteur

Perspectives:

- Intégrer les six protéines essentielles du nanomoteur dans la même vésicule
- Etudier les interactions des protéines transmembranaires dans les tBLMs
- Imager les protéines du moteur sur une membrane en AFM

Production scientifique

- α -Hemolysin pore formation into a supported phospholipid bilayer using cell-free expression, J. Chalmeau, N. Monina, J. Shin, C. Vieu and V. Noireaux, *Biochimica et Biophysica Acta* (2010)

- 3 articles en cours de rédaction.

CONTACT :

cvieu@laas.fr

Pr. Christophe Vieu
LAAS-CNRS
7 Avenue du Colonel Roche
31077 Toulouse Cedex 4 FRANCE

LAAS-CNRS

LAAS-CNRS
Equipe de C. Vieu

LISBP

LISBP
Equipe de J.M François

University of Minnesota

University of Minnesota
Equipe de V. Noireaux

Institut national de la santé et de la recherche médicale
INSERM

U1006-INSERM, Marseille
Equipe de S. Scheuring