



Anne Houdusse

Chef d'équipe

anne.houdusse@curie.fr

Tél : +33 1 56 24 63 95

La motilité intracellulaire est l'une des caractéristiques propres à tous les organismes vivants. Les composants cellulaires, tels que vésicules et organelles du transport membranaire, se déplacent dans des directions spécifiques dans la cellule, soit grâce à la dynamique d'assemblage et de désassemblage du cytosquelette, soit par la conversion d'énergie chimique en énergie mécanique grâce à des moteurs moléculaires spécialisés. Les myosines constituent l'une des familles de ces moteurs moléculaires ; elles utilisent l'ATP cellulaire afin de créer des interactions avec les filaments d'actine (actine F), générant ainsi une force et des déplacements dirigés.

Le groupe « Motilité structurale » de l'Institut Curie utilise la cristallographie aux rayons X afin d'étudier les structures atomiques permettant de comprendre la façon dont les moteurs myosines créent de la force, comment leur activité est régulée et comment ils sont recrutés au niveau des organelles ou vésicules spécifiques.

Les informations structurales sur les différents états que la protéine moteur adopte au cours d'un cycle de fixation et d'hydrolyse de l'ATP et de libération des produits d'hydrolyse sont essentielles pour comprendre comment l'énergie chimique est convertie en force. En collaboration avec une grande équipe d'experts en myosines coordonnée par le Dr Lee Sweeney (Université de Pennsylvanie, Etats-Unis), nous validons et complétons également cette approche structurale avec des études fonctionnelles afin de tester les hypothèses soumises en visualisant les différents états structuraux du moteur. Cette intégration d'études structurales et fonctionnelles nous permet de répondre à des questions fondamentales sur la fonction, la régulation et le recrutement des myosines.

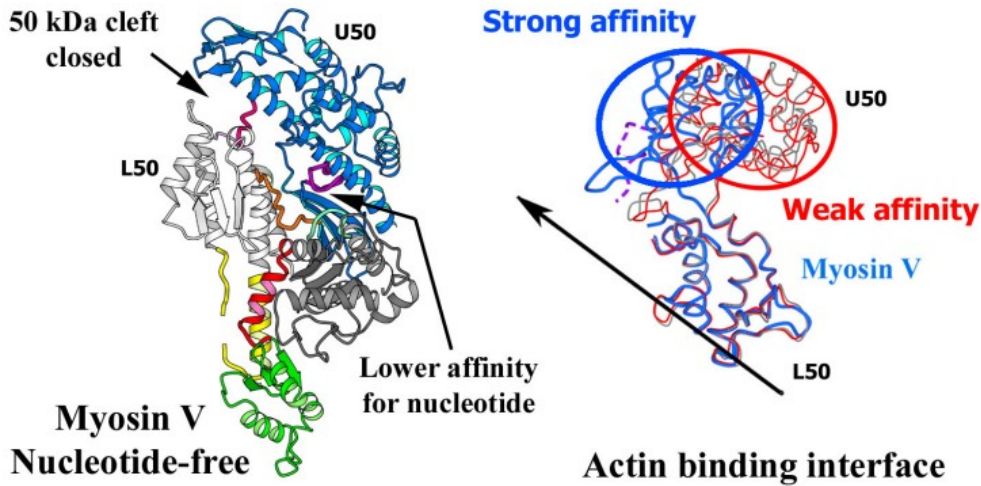


Figure 1 : La structure de la myosine V en absence de nucléotide révèle la conformation en l'état de rigidité. La structure du domaine moteur de la myosine V en état de rigidité (gauche) montre que les éléments de fixation du nucléotide adoptent de nouvelles conformations qui réduisent l'affinité pour le nucléotide par rapport à la conformation vue dans l'état précédant la phase de génération de force. La nouvelle conformation du feuillet β central (bleu et gris) est liée à la fermeture de la cavité de 50 kDa qui sépare les sous-domaines U50 et L50. A droite, se trouve l'interface de la molécule de myosine avec l'actine (flèche noire). Les sous-domaines U50 et L50 contribuent tous les deux à la surface d'interaction. L'interface de la myosine V (bleu) est comparée à celle trouvée dans les états de faible affinité pour l'actine de la myosine (rouge), après superposition de leurs sous-domaines L50. Il faut remarquer que le sous-domaine U50 ne peut pas atteindre les filaments d'actine lorsque la cavité est ouverte (rouge), mais tourne pour se rapprocher du filament d'actine dans l'état de rigidité (bleu).

Les changements conformationnels dépendants de l'actine dans le moteur myosine entraînent la libération séquentielle de produits d'hydrolyse de l'ATP (phosphate inorganique (Pi) suivi d'ADP) afin de produire une force déplaçant la myosine le long des filaments d'actine. Ces changements conformationnels du domaine moteur sont amplifiés par un « bras de levier » (longue hélice α composée d'IQ motifs, qui agissent comme sites de liaison pour les chaînes légères

régulatrices
de la
myosine
semblables à
de la
calmoduline.
Le bras de
levier est
fixé à une
région du
moteur,
appelée
convertisseu
r, qui semble
amplifier et
convertir les
mouvements
issus de
changements
liés à
l'actine dans
la
conformation
du moteur.
Cela
engendre un
changement
d'orientation
du bras de
levier à peu
près
parallèle au
filament
d'actine, ce
qui est
appelé
phase de
génération
de la force
de la
myosine
(powerstroke
). La phase
de
génération
de la force
commence
lorsque la

myosine,
avec le Pi et
l'ADP liés sur
ses sites
actifs, se lie
aux
filaments
d'actine
(état
précédant le
« powerstroke » avec le
convertisseur
en position
« élevée »)
et prend fin
lorsque les
produits
d'hydrolyse
sont libérés
(état de
rigueur avec
le
convertisseur
en position
« basse »).
Selon cette
théorie du
« bras de
levier
rotatif » la
taille des pas
engendrés
par la
myosine
devrait être
proportionne
lle à la
longueur du
bras de
levier ; cela
s'est révélé
être le cas
pour la
myosine II et
la myosine
V, mais l'on
ne sait

toujours pas
très bien si
cela
s'applique à
la myosine
VI.

Notre structure cristalline de la myosine V en absence de nucléotide, publiée en 2003, a décrit pour la première fois la structure à haute résolution de l'état de rigueur de la myosine. En cristallisant ce même moteur avec un analogue Mg^{2+} -ATP, nous avons identifié à la résolution atomique les réarrangements dans le domaine moteur correspondant à son détachement des filaments d'actine (Fig. 1).

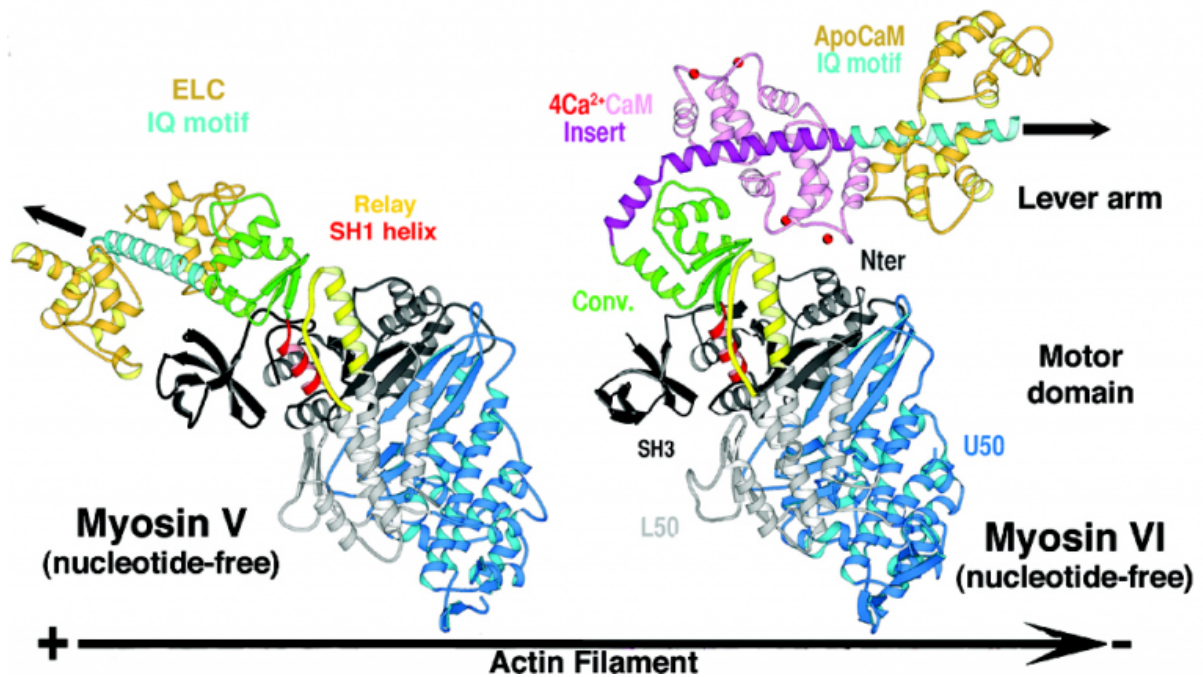


Figure 2 : Structure de la myosine VI en absence de nucléotide comparée à celle de la myosine V. Il faut remarquer la différence de position du bras de levier de la myosine VI (droite ; IQ motif, bleu clair) par rapport à celui de la myosine V (gauche ; IQ motif, bleu clair) à cause de l'insert de la myosine VI (violet) et de sa molécule de Ca^{2+} -calmoduline fixée ($4Ca^{2+}+CaM$, rose). Le bras de levier de la myosine V est dirigé vers le bout (+) du filament d'actine à la fin de la phase de génération de force, tandis que le bras de levier de la myosine VI est dirigé vers le bout (-) du filament d'actine.

Plus récemment, nous avons également obtenu la structure de la myosine VI en état de rigueur (Fig. 3). La myosine VI est un moteur qui se déplace dans le sens inverse des autres myosines, vers le bout pointu des filaments d'actine. Dans la famille des myosines, elle a un mécanisme unique, peu connu, qui lui permet d'effectuer plusieurs pas le long d'un filament d'actine sans avoir à s'en détacher. De façon surprenante, ces pas ont une taille similaire à ceux de la myosine V, bien que le bras de levier de la myosine VI ne contienne qu'un IQ motif, tandis que la

myosine V en comprend six. Notre structure de l'état de rigueur de la myosine VI révèle qu'une séquence de 39 résidus d'acides aminés (K771-K809), non présente dans les autres types de myosine, se fixe autour du convertisseur et fixe une calmoduline qui interagit avec le convertisseur (Fig. 2), ce qui permet de changer l'orientation du bras de levier de $\sim 120^\circ$ par rapport à celui des autres myosines, et ce qui explique sa directionnalité inverse. Cependant, pour expliquer la phase importante de génération de force de la myosine VI, l'état de la myosine VI précédant la génération de force doit être différent de celui des myosines qui se déplacent dans le sens (+).

Nos recherches actuelles se concentrent sur les structures d'autres états biochimiques de la myosine VI, la plus énigmatique de toutes les myosines. Nous devons décrire d'autres états du cycle ATPase afin de comprendre totalement comment ce moteur « inverse » se déplace et produit de la force. Des données préliminaires sur l'état précédant la phase de génération de force révèlent, de façon inattendue, qu'un changement conformationnel a lieu dans le convertisseur ; nous devons à présent confirmer que cette nouvelle conformation du convertisseur existe dans d'autres structures et/ou trouver des preuves de son existence grâce à des études fonctionnelles. En outre, nous utilisons plusieurs approches innovantes afin de comprendre l'état qui permet la libération de P_i , ce qui est au cœur de la production de force par la myosine. Enfin, comme aucune donnée structurale n'est encore disponible sur la façon dont la myosine reconnaît son « cargo », nous souhaitons obtenir des structures atomiques de l'intégralité du bras de levier de la myosine VI et du domaine du « cargo » de diverses myosines seules ou liées à des partenaires cellulaires.

Publications clés

Année de publication : 2018

Julien Robert-Paganin, Daniel Auguin, Anne Houdusse (2018 Oct 3)

Hypertrophic cardiomyopathy disease results from disparate impairments of cardiac myosin function and auto-inhibition.

Nature communications : 4019 : [DOI : 10.1038/s41467-018-06191-4](https://doi.org/10.1038/s41467-018-06191-4)

Florian Blanc, Tatiana Isabet, Hannah Benisty, H Lee Sweeney, Marco Cecchini, Anne Houdusse (2018 May 31)

An intermediate along the recovery stroke of myosin VI revealed by X-ray crystallography and molecular dynamics.

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America : 6213-6218 : [DOI : 10.1073/pnas.1711512115](https://doi.org/10.1073/pnas.1711512115)

Année de publication : 2017

Vicente J Planelles-Herrero, James J Hartman, Julien Robert-Paganin, Fady I Malik, Anne Houdusse (2017 Aug 5)

Mechanistic and structural basis for activation of cardiac myosin force production by omecamtiv mecarbil.

Nature communications : 190 : [DOI : 10.1038/s41467-017-00176-5](https://doi.org/10.1038/s41467-017-00176-5)

I-Mei Yu, Vicente J Planelles-Herrero, Yannick Sourigues, Dihia Moussaoui, Helena Sirkia, Carlos Kikuti, David Stroebel, Margaret A Titus, Anne Houdusse (2017 Jun 30)

Myosin 7 and its adaptors link cadherins to actin.

Nature communications : 15864 : [DOI : 10.1038/ncomms15864](https://doi.org/10.1038/ncomms15864)

Année de publication : 2016

Sirigu S, Hartman J, Planelles-Herrero VJ, Ropars V, Clancy S, Wang X, Chuang G, Qian X, Lu P-P, Barrett E, Rudolph K, Royer C, Morgan B, Stura EA, Malik FI, Houdusse A (2016 Nov 4)

Highly selective inhibition of myosin motors provides the basis of potential therapeutic application.

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America : 201609342 : [DOI : 10.1073/pnas.1609342113](https://doi.org/10.1073/pnas.1609342113)

Anne Houdusse, H Lee Sweeney (2016 Oct 9)

How Myosin Generates Force on Actin Filaments.

Trends in biochemical sciences : [DOI : S0968-0004\(16\)30152-9](https://doi.org/10.1016/j.tics.2016.09.004)