

Albrecht Ott

[Institut Curie](#)

Section de Recherche
11 rue Pierre et Marie Curie
75231 Paris Cedex 05
France

Tel.: +33 - 1-42 34 67 68

Fax: +33 - 1-40 51 06 36



email:
albrecht.ott@curie.fr

- [Research interests and ongoing projects](#)
- [Movies](#) (quicktime plugin required)
More detailed info on recent work concerning:
 - [The Actin-Myosin motor](#)
 - [The Listeria motor](#)
 - [Actin stiffness \(in French\)](#)
 - [Mechanical properties of cells \(in French\)](#)
 - [Neuron growth \(in French\)](#)
 - Symmetry breaking of Hydra ([Movie](#))
 - [Giant micelles and Lévy flights \(in French\)](#)
 - [Publications](#)
 - [CV](#)

Research Interests and ongoing projects

The Molecular Motor [Actin-Myosin](#) (D.Riveline, A. Ott, F. Jülicher, D.Winkelmann, J.Prost):

The speed as a function of the applied mechanical load is a key parameter for every motor. We performed an antibody based actin-myosin motility assay and noticed that an electrical field in the plane of the myosin substrate produces a mechanical force and orients the direction of motion of the actin filaments. Using PMMA gratings, which guide the filaments and act as rails, we obtained the first complete in vitro force-speed relationship. Interestingly the motor becomes unstable around zero speed: it has the tendency to hysteretically switch between forward and backward motion. This can be interpreted as a signature of the localized binding sites of myosin on the actin filament. In a theoretical "ratchet" model, such behavior may be explained as a dynamic phase transition of a collection of motors working on a single filament.

For a detailed discussion, please click on the link in the title; click on "movies" in the blue box above and watch moving actin filaments.

The molecular motor of [Listeria](#) (F.Gerbal, A.Ott, P. Chaikin, J.Prost, MFCarlier, D. Panataloni):

We are performing mechanical measurements on the propulsion of the bacteria *Listeria monocytogene* (Collaboration with M. F. Carlier, D. Pantaloni - CNRS - Gif) using the technique of optical tweezers. We showed that the bacteria is firmly attached to its actin tail and that the tail rigidity corresponds to a *crosslinked actin gel*. Our results suggest that bacteria motion is dominated by elastic forces and friction, generating a peristaltic propulsion. The force-speed diagram of *Listeria* should include an instability due to a stick-slip transition in the crosslinked actin gel.

For a few pictures, please click on "Listeria" in the title; click on "movies" in the blue box above and watch listeria and tweezers.

[Mechanical properties of cells](#) (Y. Marcy, A. Micoulet, J. Spatz, A.Ott, O.Thoumine):

Knowing the rheological properties of cancerous cells is important in understanding the movements associated with their abnormal proliferation and migration. We compare the mechanical properties of normal and SV40-transformed human dermal fibroblasts and studying their variation in response to the perturbation of specific structural components of these cells. A micromanipulation system has been set up to expose single cells between two walls to a permanent or oscillatory uniaxial stretch, while following the course of cell deformation and measuring the force applied. Viscoelastic moduli and the amount of active force generation can be determined. We improved the setup to do measurements at constant force and constant displacement with unachieved precision.

For a further description of parts of our work on cell mechanics, please click on the link in the title. Click on "movies" in the blue box and watch a cell pulling experiment.

[Neuronal growth](#) (O.Cardoso, D. Choquet, A.Ott) :

Preliminary experiments have begun to familiarize us with the growth mechanism of neurons. Our goal is to elucidate the principles of the growth cone motor function, the growth cone guidance and the overall regulation of axon growth. In order to be able to achieve a sufficient statistics of our observations, we constructed a robotized microscope equipped with an autofocus. We will compare the observed growth with a simple mechanical model, which we elaborated.

To look at a picture of growing neurons, please click on the link in the title, click on "movies" in the blue box above to watch growing neurons.

Symmetry breaking during [Hydra](#) regeneration (C. Colombo, C. Fütterer, A.Ott) :

We study how symmetry breaking from a homogeneous cell cluster may arise during Hydra regeneration . For more info follow the link. More to come!

Contents

Please click:

[Abstract](#)

[1 Introduction](#)

[2 Molecular motors in the organism](#)

[3 Proteins responsible for directed motion along micro-filaments](#)

[4 Experimental state of the art](#)

[5 Modeling molecular motors](#)

[6 Experiments using the antibody capture assay](#)

[7 Control of the force - the electric motility assay](#)

[8 Conclusion](#)

[Acknowledgments](#)

[References](#)

[HOME](#)

The molecular motor actin-myosin on a substrate

Laboratoire PhysicoChimieCurie*, Institut Curie, 11 rue Pierre et Marie Curie, 75231 Paris Cedex 05, France*UMR 168 du CNRS, associé l'Universit   Paris 7

Abstract. Following a short review of the biological function and the structure of molecular motors, we discuss the state of the art of research on the molecular motor actin-myosin. We show how the so called motility assay can be improved by the use of antibodies, yielding clean and reproducible data of the speed of actin on a myosin coated surface. We discuss the dependence of the measured speed on parameters such as ATP concentration, myosin density and temperature; we furthermore show that the specific anchoring of the myosin molecule to the substrate is important for a clean measurement. Using PMMA (poly(methylmethacrylate)) gratings as guidance for the moving actin filaments, we are able to control the mechanical load of the motor via an electric field and to establish a force-speed diagram. The numerical values of duty ratio, internal friction and stalling force of the motor can be deduced from it. The observation of an instability of the motor around stalling conditions is particularly surprising and suggests the existence of a dynamic phase transition.

Keywords. Molecular motors, Actin, Myosin, Motility Assay, Antibody, Force, Speed, Instability, Phase transition

The molecular motor actin-myosin on a substrate

Laboratoire PhysicoChimieCurie*, Institut Curie, 11 rue Pierre et Marie Curie, 75231 Paris Cedex 05, France*UMR 168 du CNRS, associé    l'Universit   Paris 7

Abstract. Following a short review of the biological function and the structure of molecular motors, we discuss the state of the art of research on the molecular motor actin-myosin. We show how the so called motility assay can be improved by the use of antibodies, yielding clean and reproducible data of the speed of actin on a myosin coated surface. We discuss the dependence of the measured speed on parameters such as ATP concentration, myosin density and temperature; we furthermore show that the specific anchoring of the myosin molecule to the substrate is important for a clean measurement. Using PMMA (poly(methylmethacrylate)) gratings as guidance for the moving actin filaments, we are able to control the mechanical load of the motor via an electric field and to establish a force-speed diagram. The numerical values of duty ratio, internal friction and stalling force of the motor can be deduced from it. The observation of an instability of the motor around stalling conditions is particularly surprising and suggests the existence of a dynamic phase transition.

Keywords. Molecular motors, Actin, Myosin, Motility Assay, Antibody, Force, Speed, Instability, Phase transition

1 Introduction

Molecular motors are of nm scale, they are the smallest motors known. They are quasi-omnipresent in the biological organism and among their most prominent functions are muscle contraction, flagellar motion, intracellular transport and cellular motion. In most cases the "fuel" for these motors is provided by the cleavage of a molecule named adenosinetri-phosphate (ATP) to its diphosphate (ADP). How this chemically stored energy is transformed into motion, although a subject of major research all over the world, is only partly understood. This may seem surprising, but, when starting to work on the subject one quickly realizes the inherent difficulties : the proteins responsible for force generation are huge and complex objects on a molecular scale and they easily degrade during in vitro experiments. Furthermore chemical purity is far more difficult to achieve than in synthetical systems. Motor function is a dynamical problem, and no technique today is capable of monitoring dynamics at nm scale. The energies involved are close to thermal, making a good signal to noise ratio difficult to achieve. Last but not least, a great deal of knowledge is needed to understand the multiple facets of this problem, ranging from biochemistry, nm technology to theoretical physics. This brings all the fascination but also the inherent difficulties of every interdisciplinary collaboration. In the following, we briefly review our current understanding of molecular motors. We will then present results from our work at the Nippon Electric Company Research Institute, Princeton University and the Institut Curie. We discuss experiments using the actin-myosin antibody capture motility assay. We show how the force speed diagram of the motor can be determined and what particularly interesting information can be gained from it.

2 Molecular motors in the organism

Looking at cellular transport through the microscope is like having a bird's view of busy highway system, recalling Feynman's saying that nature repeats itself at every scale : traffic inside of cells follows tracks, which are made of two types of filaments, actin and tubulin. Together with intermediate filaments, they form a major component of the cytoskeleton which is located just below the cell membrane (fig. 2.1). The cytoskeleton determines the shape of a cell and a major part of its mechanical function, it is involved in cell crawling and cell adhesion. Its actin filaments maybe oriented in a regular pattern when the cell is not exerting forces (fig 2.2). As the actin filaments organize in parallel and form the so called "stress fibers", the cell may exert forces.

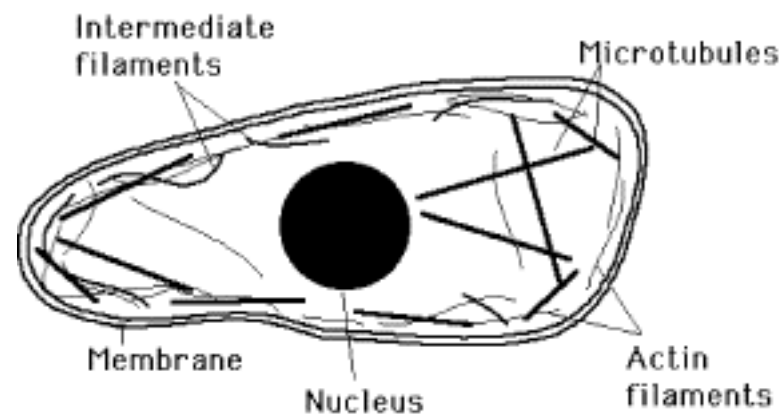


Fig. 2.1. Three types of filaments, f-actin, microtubules and intermediate filaments form the major structural components of the cytoskeleton, located underneath the cell membrane.

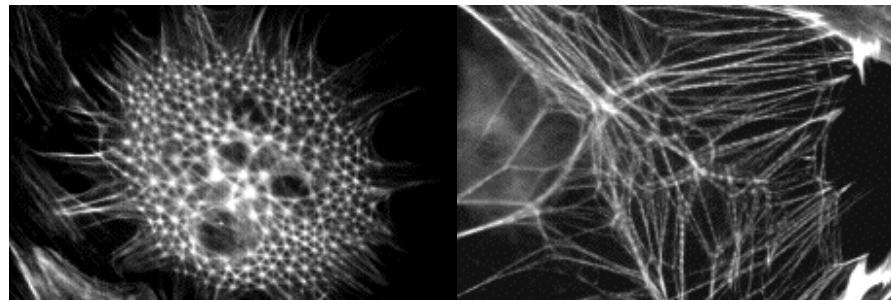


Fig. 2.2. The actin cytoskeleton may have a highly regular shape in a non adherent cell (left). As the cell adheres, it forms stress fibers and exerts traction forces (right).

The signature of these forces can be directly measured [1]. At the origin of the force is the interaction of actin with another protein, called myosin, which together form a molecular motor. Muscle contraction is another and most prominent example of force generation by actin-myosin. Kinesin and dynein are proteins moving on microtubules. Examples of their function are the separation of chromosomes during cell division, transport along neuron extensions... motor proteins are involved in almost any function of a cell. Other types of molecular motors are not linear, but rotary. They are often found in bacteria which propel themselves by spinning flagellar extensions. These motors are incorporated into the bacterial membrane and often the protonic gradient across it provides the driving force. Polymerization forces can also be used to generate motion : the bacteria *Listeria monocytogene* recruits the actin monomers present in the cytoplasm and makes them polymerize to form a hollow and hairy tail of short actin filaments glued together. It advances by maintaining itself on the tip of this growing tail [2].

3 Proteins responsible for directed motion along micro-filaments

Intermediate filaments are symmetrical with respect to both ends and do not contribute to transport (fig. 3.1). Their mechanical function is supposed to build passive elastic ribbons resisting cell extension. Actin and tubulin are dumbbell shaped proteins (fig 3.1). Their polymerization is accelerated in the presence of nucleotides, ATP in the case of actin, or GTP in the case of microtubules. Critical concentrations differ between both ends, the filaments are polar structures and motor proteins have a direction imposed by this polarity.

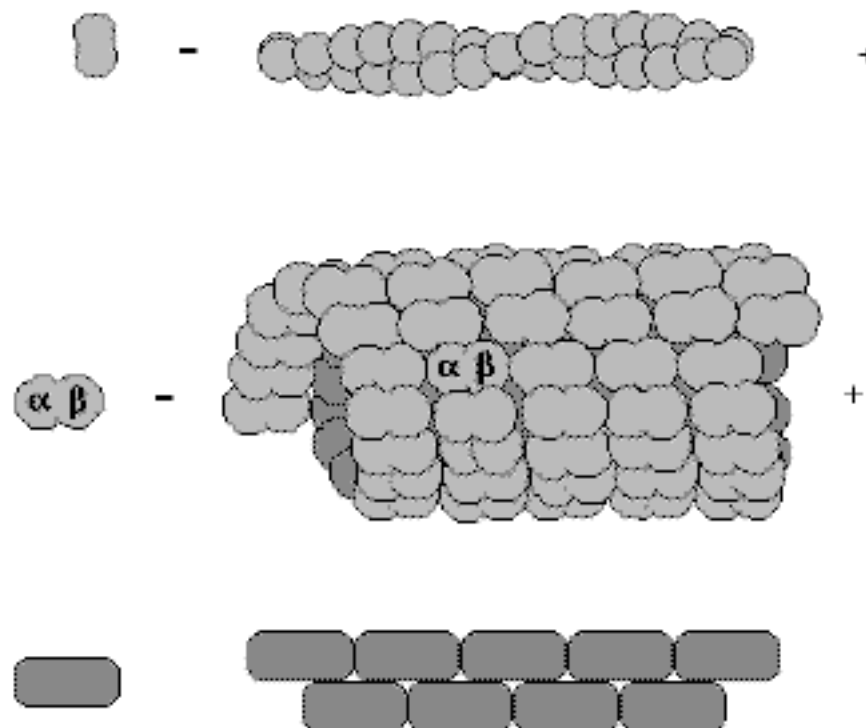


Fig. 3.1. Cartoon of the three microfilaments which are a major part of the cytoskeleton: Actin (top, left) is a dumbbell shaped protein which polymerizes to form a helically coiled filament, 9nm in diameter. Microtubules (middle), 26nm in diameter, are formed from proteins with two subunits α, β . Intermediate filaments (bottom) are not polar with respect to their axis, they are made from a brickshaped protein.

Microtubules are stiff compared to actin, their persistence length is roughly half a mm compared to about 10 micrometers for actin. Kinesin is a molecular motor moving in the + direction of a microtubule, dynein moves to the opposite direction. The kinesin family contains about 12 different isoforms respectively. Most of the differences are found in the tail portion of the proteins, where they are equipped with different "cargo specific" connectors. Myosins only work as motors on actin filaments. The myosin family comprises more than 10 different classes, in each class one finds different isoforms. Myosin I is a slow, one headed myosin responsible for some of the intracellular transport [3]. Muscles which obey voluntary control are called "striated" muscles from their appearance under the microscope: these muscles are made of a bundle of sarcomeres, each of which contains many subunits of interpenetrating filaments of actin and myosin (fig 3.2). It is the respective sliding of these filaments which generates muscle contraction.

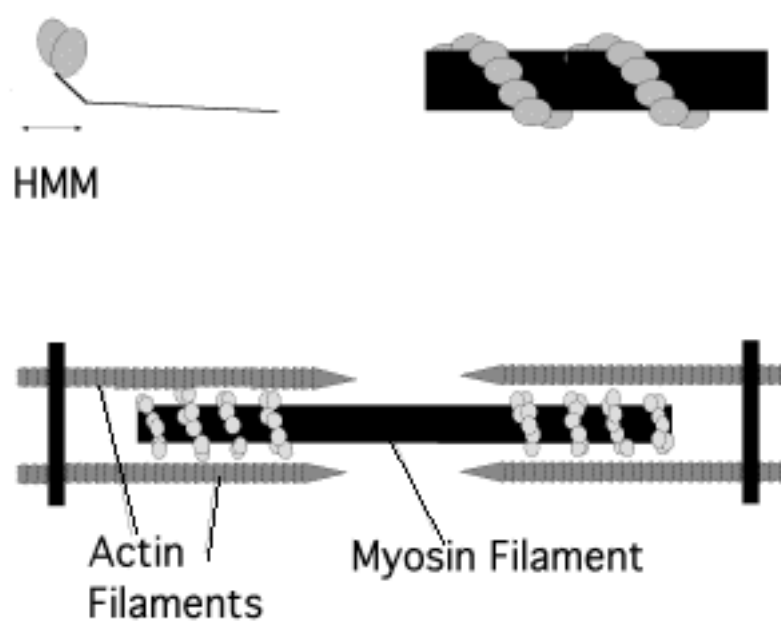


Fig. 3.2. The myosin II protein is made of two globular heads, about 6nm in size, and a 130 nm long tail (upper left, drawing not to scale). Myosin aggregates to form "thick filaments" with the head portion distributed in a helical way around its backbone (upper right). The respective sliding of actin and myosin filaments produces contraction of the sarcomere (bottom). In many experiments only the first part of the myosin protein, the heavy mero myosin (HMM) is used.

Striated muscles are mostly made of myosin II, a fast two headed myosin which works in groups. The activity of the muscle is regulated by proteins winding around actin, named tropomyosin and troponin. They act as a switch by hiding the actin from the myosin head and disabling the motor depending on calcium levels. First experiments on the precise force generation of entire muscles were performed during the first half of the century [4, 5]. The fine structure of the muscle was revealed later [6]. Biochemical measurements show that the interplay between actin and myosin involves strong and weak binding states, triggered by ATP hydrolysis. The ATP hydrolysis liberates about 15kT of energy corresponding to a force of 6pN over a distance of 10nm at maximum. Although the cyclic process involves many substrates [7], it can roughly be described by a four state model (fig. 3.3).

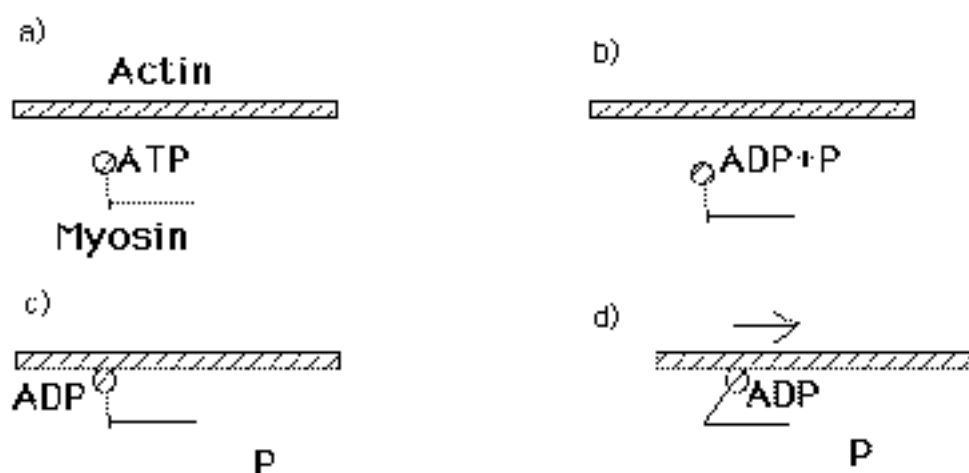


Fig. 3.3. Schematic of the actin myosin cycle: (a) ATP is bound to a myosin protein, the nucleotide is cleaved (b), myosin binds strongly to the actin filament upon liberation of phosphate (c). Myosin pulls on actin (d) and only detaches from it when a new ATP molecule binds to it.

4 Experimental state of the art

Purification of actin and myosin is relatively simple, reasonable quantities can be obtained from striated muscle in a few days. In our experiments, we use myosin from the chicken pectoralis muscle [8]. The protocol involves several cycles of polymerization and depolymerization, triggered by ATP concentration and ionic strength. However the purity from synthetic chemical preparations cannot be expected and a standard preparation contains about 70% to 80% myosin. Myosin can also be expressed by cells or bacteria using the techniques of genetic engineering, even modified myosin may be engineered by site directed mutagenesis. Producing motion from a myosin preparation is far from trivial. Spudich and Sheetz needed about twelve years to observe in vitro motion from actin-myosin. They took advantage of the highly organized actin cables which can be found in certain algae and observed the motion of myosin coated beads on these cables under the optical microscope [9]. They further developed the assay technique by covering glass slides with myosin and observing the motion of rhodamin phalloidin labeled actin on it [10]. The technique allows one to compare speeds of different myosin isoforms; by varying parameters of the system such as myosin density, ATP concentration and others, some interesting information about the behavior of the actin myosin motor has been obtained [10-14]. A major drawback of these assays is, that the accuracy of the measurement is not very good, different research groups do not always obtain the same numerical value of the observed speed. Reasons for this are differences in myosin preparation and difficulties in controlling the deposition of such huge proteins on the glass surface. Given furthermore the fragility of the protein and the fact that the mechanical load remains ill controlled, it is not surprising that the results are scattered. New experiments have been invented to get further insight into the process. A recent tendency of these experiments is to work on isolated motors therefore avoiding some of the problems linked to protein handling. However the measured quantities are small, the energies involved are close to brownian and precise and expensive equipment is needed. Spudich's group succeeded in monitoring the interaction of a single myosin protein with an actin filament using optical tweezers [15]. Among the results are a value of the step size of the motor of about 10nm, the peak force in isometric conditions around 5 pN and the frequency of the power stroke up to 1kHz. Although these values are close to earlier predictions, it is still a huge achievement to monitor the quantitative behavior of the motor directly and to get precise data on the fine tuned interaction of actin and myosin. Optical tweezers experiments were further developed by Molloy et al. using wiggling tweezers. Their AC measurement showed that the force is actively developed over 5 nm during one 10nm step [16]. The group of Yanagida developed similar results using the technique of microneedles [17]. Here the flexibility of finely pulled glass rods is used as a spring in the pN domain. Using this technique, Yanagida confirmed the results of Finer et al., however at low load Yanagida observed much longer steps than 10nm [18]. Following his interpretation, this result explains the very low ATP turnover measured on entire muscles at low mechanical load [19], but the huge step size seems difficult to reconcile with the size of myosin. One protein would have to go through several consecutive cycles of binding and unbinding during hydrolysis of a single ATP molecule. According to Yanagida, the differences occurring in his experiments compared to Spudich's are mainly due to the way the myosin is handled. Yanagida and colleagues use reconstituted myosin fibers as opposed to myosin bound covalently to polystyrene beads as in Spudich's experiment, but Yanagida's opinion is not shared by all specialists. It is clear that knowledge of the ATP consumption is a crucial parameter for further comprehension of the problem. This issue has only been addressed very recently on single molecules in experiments performed by Yanagida's group [20]. They used a dye which becomes fluorescent upon ATP hydrolysis in an experiment probing single protein dynamics and single molecule fluorescence. The main result is that the hydrolysis of ATP takes place a few 100ms before the generation of a power stroke; therefore it seems that Myosin is capable of storing the energy of ATP hydrolysis on timescales up to a second.

5 Modeling molecular motors

Many models have been made to interpret the numerous results on molecular motors. Initial ideas include the brownian rectifier or the brownian ratchet. The idea is that myosin is a Maxwell demon, binding to actin only when a brownian fluctuation has pushed it sufficiently far in the correct direction. Although appealing as an idea for a motor functioning in a brownian world, the model had to be discarded since it could not account for the huge forces which myosin generates. Many experiments suggest that the myosin head changes its conformation when hydrolysing ATP [21-23], even the aminoacid working as a hinge during tilting of the myosin head has been identified [24, 25], suggesting a simple mechanism reminiscent of a stepper motor : myosin binds to actin and pushes it forward as the head bends actively, the process is cyclic. It has to be kept in mind that the myosin head is attached to its backbone via a flexible tail, making this simple idea somewhat hard to believe. Furthermore it seems difficult to imagine that the binding of the myosin head to actin does not contribute to the generation of motion, given the high efficiency of muscles. A more physical approach to actin-myosin models are the "ratchet" inspired models [26-29], the situation is somewhat different from Feynman's *thermal* ratchet, since molecular motors are isothermal.

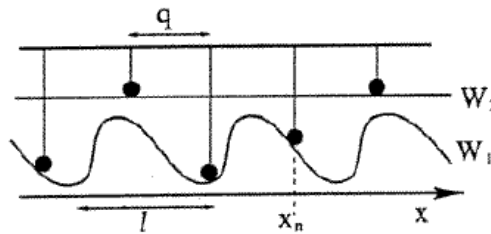


Fig.5.1. Example of a two state model: the particles can be pumped from the broken symmetry potential W_1 to W_2 where they are free to diffuse. After a while they fall back onto W_1 . The particles are coupled through a rigid backbone.

These models show that the necessary conditions for motion are symmetry breaking and a change in the fluctuation spectrum from brownian to colored. Energy dissipation such as ATP hydrolysis is needed for this. A huge number of models have been created based on the same ideas, particular promising are models with two potentials representing the weak and the strong binding state (fig. 5.1). A more precise discussion can be found in the same volume. At present the experimental results are still insufficient to distinguish among the different mechanisms proposed, and these models contain too many unknown parameters.

6 Experiments using the antibody capture assay

For a motility assay one often uses nitrocellulose coated glass slides which can be covered with myosin [30]. In spite of numerous tests, we realized that such a setup always gives poor results with respect to reproducibility, we furthermore noticed the existence of tracks on the surface. Observation with electron microscopy revealed

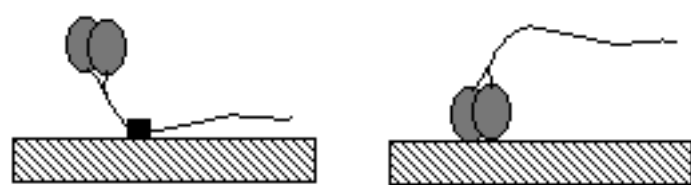


Fig. 6.2. Using the antibody capture technique myosin is attached to the surface in a well defined state (left). Without antibodies, nothing keeps the molecule from attaching randomly (right).

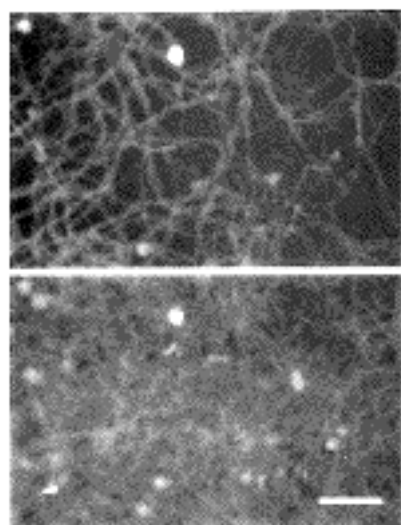


Fig. 6.1. Summation of actin filament tracks over a saturated myosin coated surface at 25 Å°C. Myosin was tethered through the anti S2 mAb, and actin filament motion was recorded. The tracks for filaments transiting through the field of view were determined with a computer tracking program. (left) The summation of tracks formed over a period of 90 s of observation is presented. Note the uniform distribution of tracks and the limited number of pinned filaments. (right) The summation of tracks in the same field after 8 min. of observation. These images demonstrate the uniformity of the surface distribution of myosin and the low number of point defects that trap and hold filaments. New filaments are transiting continuously through the field of view, making possible the observation of the same area for long periods without concern for photobleaching. Bar is 10 μm long.

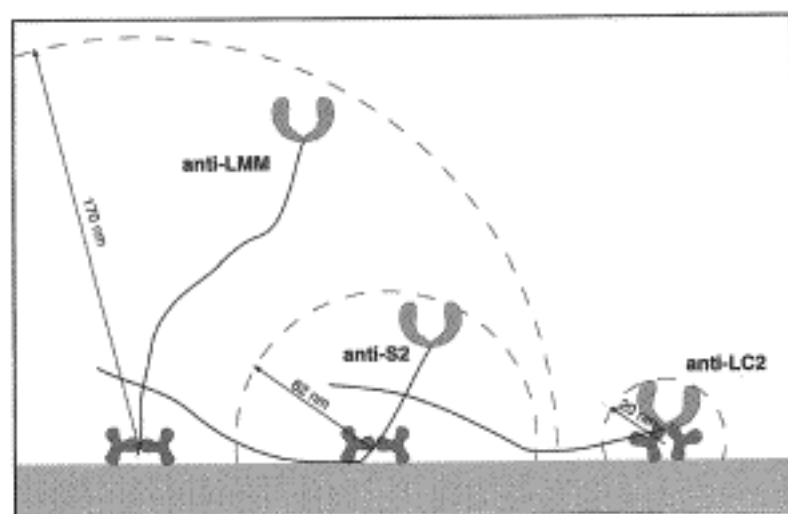


Fig. 6.3. Schematic diagram depicting the ideal disposition of myosin monomers tethered to the surface by three mAbs. Each myosin is shown simultaneously bound by two Fab arms of the IgG mAb. The radius vector depicts the reaching distance from the attachment point to the binding surface of myosin.

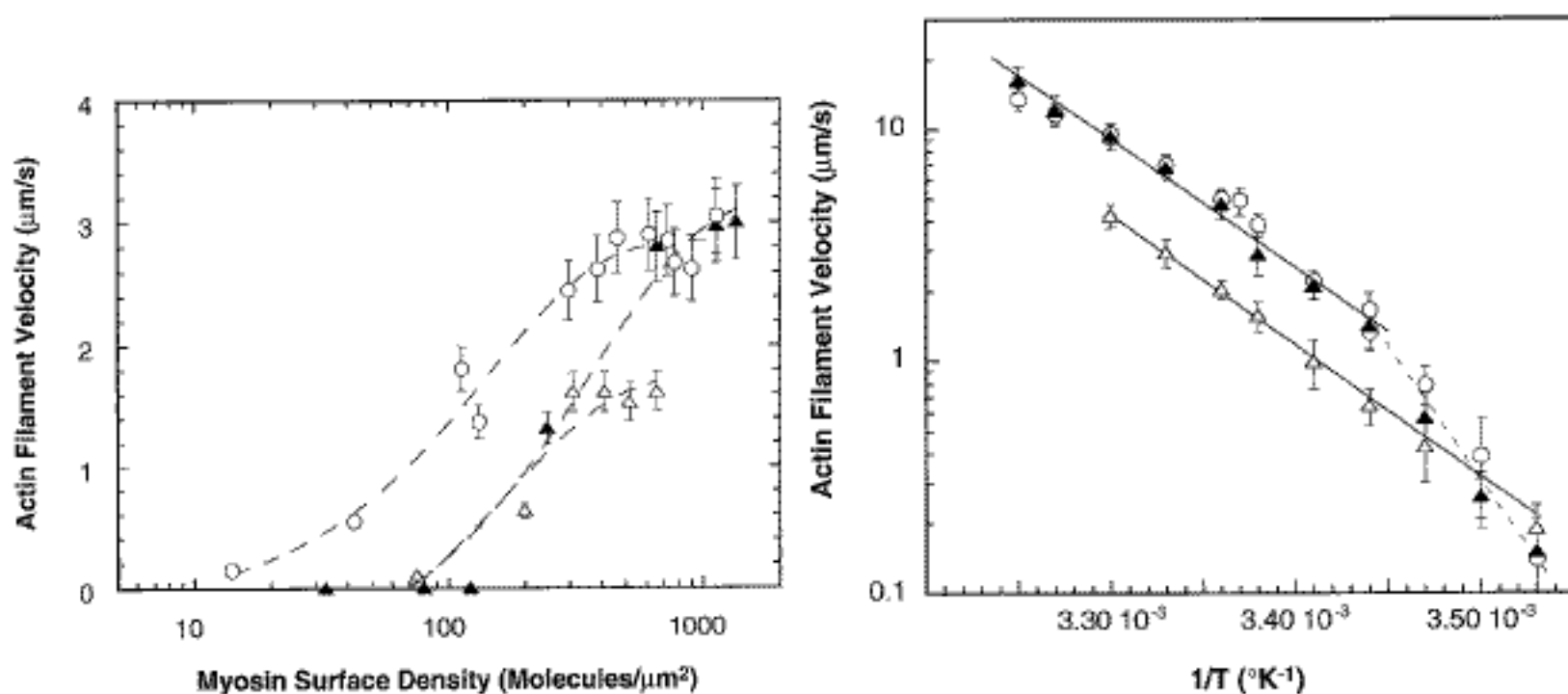


Fig. 6.4. (left) The average actin filament velocity as a function of the myosin density and the mode of attachment. For each antibody, anti LC2 (open triangles), anti-S2 (circles), or anti-LMM (filled triangles) a characteristic myosin density ϵ_{onset} was observed below which sliding movement was no longer supported. Above a second characteristic density, ϵ_{sat} , the velocity saturates at a value V_{sat} , which is the same for the anti-LMM and anti-S2 antibodies and 50% slower for anti-LC2. These data were collected at 23 Å°C. and data points correspond to the average velocity V_{max} of long filaments measured during the period of directed motion. The dashed lines correspond to a fit of the equation $V_{\text{max}} = V_{\text{sat}} (1 - \exp(-m(\epsilon - \epsilon_{\text{onset}})))$. The same fit was used for each antibody. Only for the anti-S2 there are enough points between ϵ_{onset} and ϵ_{sat} to determine accurately the shape of the experimental curve. **(right)** The average F-actin velocity as a function of the inverse temperature for myosin tethered via three different antibodies, anti LC2 (open triangles), anti-S2 (circles), or anti-LMM (filled triangles). For the anti-LC2, the solid line is a fit following equation $V = A \exp(-E/kT)$, where $E = 40 \text{ kT}$. For the other antibodies two regimes appear with a transition at 17.5 Å°C: In the high temperature regime, the solid line fit follows Arrhenius behavior, with $E = 40 \text{ kT}$. The dotted line is an approximation to illustrate the break in the temperature dependence for attachment through the rod at temperatures below 17.5 Å°C.

that myosin polymerizes to form filaments, but with many defects, which explains the observed sticky motion. The situation can be improved by using only the upper part of the molecule, called HMM. We did not follow this general scheme and used antibodies to bind myosin to the surface in a well defined way. The use of antibodies not only avoids a top-down situation (fig. 6.1), but also fixes myosin in a well defined state; it furthermore guarantees that only myosin can bind to the surface avoiding problems linked to the purity of the myosin preparation. Using our technique, we find that the motion is evenly distributed, i.e. no more tracks appear (fig 6.2), motion can be observed on much longer timescales, i. e. hours, and the measured speed is well defined. In the following we review some of the results of experiments using the antibody capture motility assay [31]. D. A. Winkelmann developed the antibodies, the initial motility protocol and gave us biochemical expertise. The goal of our first experiments was to establish a sort of "phase diagram" by varying the key parameters of the system. We used three different myosin antibodies binding the myosin at three different locations : at the head portion (anti-LC2), at about the middle of the myosin tail (anti S2), and at the end of the myosin tail (anti-LMM)(fig. 6.3). The anti-LMM provides the longest reach for myosin and one might suspect that therefore it leads to the fastest motion at low density. The experiment rejects this idea, since fastest motion is observed with the anti-S2 antibody which corresponds to the native situation (fig. 6.4). Somehow the length of the myosin tail plays a non negligible role in force generation.

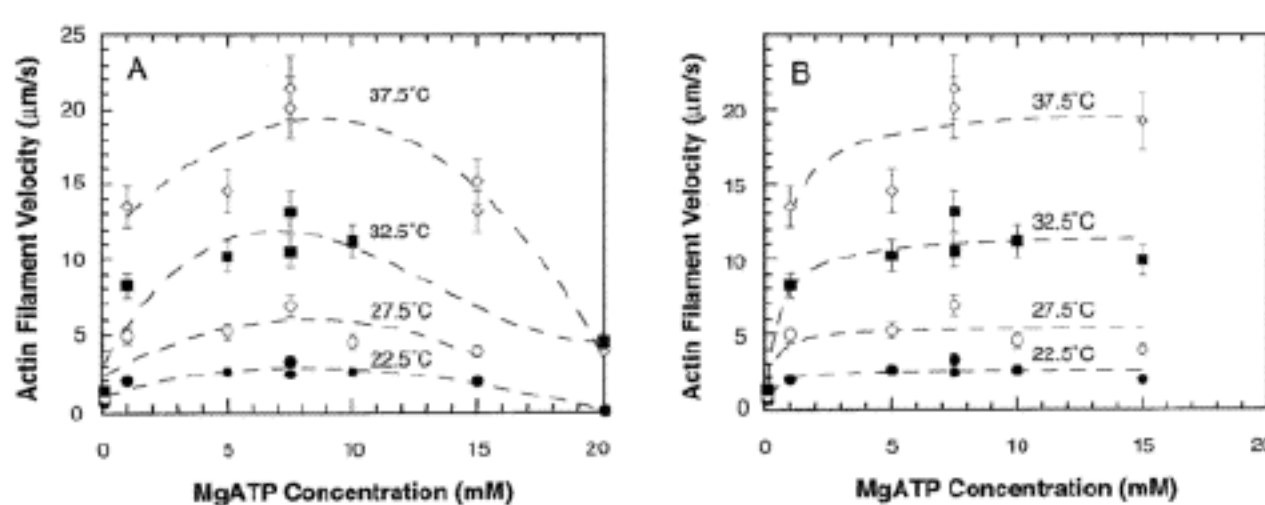


Fig. 6.5. Average velocity of actin filaments as a function of the MgATP concentration for different temperatures. The surface concentration of myosin is 1000 mol/μm². **(left)** The ionic strength of the buffer solution is not kept constant, and the filament speed decreases at large MgATP concentration. The dotted lines are guides for the eyes. **(right)** The ionic strength is held constant by varying the KCl concentration of the buffer solution (65 mM); the filament velocity saturates. The dotted lines are a fit to the experimental points, using the equation $V = V_{\text{o}} / (1 + K_m/[MgATP])$. T

The acto-myosin interaction has a strong dependence on temperature (fig. 6.4). Supposing a simply activated process, one obtains an activation energy of 40kT in agreement with literature values. However such an activation energy is much too high to explain a reasonable ATP turnover. The situation must be more complex. One may suspect that the conformational degrees of freedom of the myosin protein are also highly dependent on temperature. When considering the speed as a function of ATP concentration (fig. 6.5), one notices a saturation at high ATP. Such behavior is usually observed in enzymatic reactions. In the framework of ratchet models the interpretation would be that the ATP pumping sites are localized and fixed. While varying the ATP concentration, attention has to be paid to keep the ionic strength of the buffer constant, since the acto-myosin speed is greatly dependent on it. At low ionic strength, acto-myosin motion is slow, probably due to a strong adhesion between actin and the substrate; at high ionic strength the contact between actin and myosin is too weak to generate motion.

7 Control of the force - the electric motility assay

A drawback of the standard motility assay is, that the mechanical load of the motor is ill controlled, thus rendering the interpretation of the measured speed difficult. In previous experiments the load was controlled by adding strong binding "dead" myosin heads to the surface, increasing the friction of actin on the surface [32]. It was indeed possible to slow actin down, however the proper value of the force could not be determined. In the following we show how the mechanical load can be controlled with an electric field [33]. We first noticed that electric fields, when applied in the plane of motion, redirect the motion of the moving actin filaments parallel to the field. Once they have turned in direction of the field, which takes roughly a second, the filaments are found to move faster (fig. 7.1).

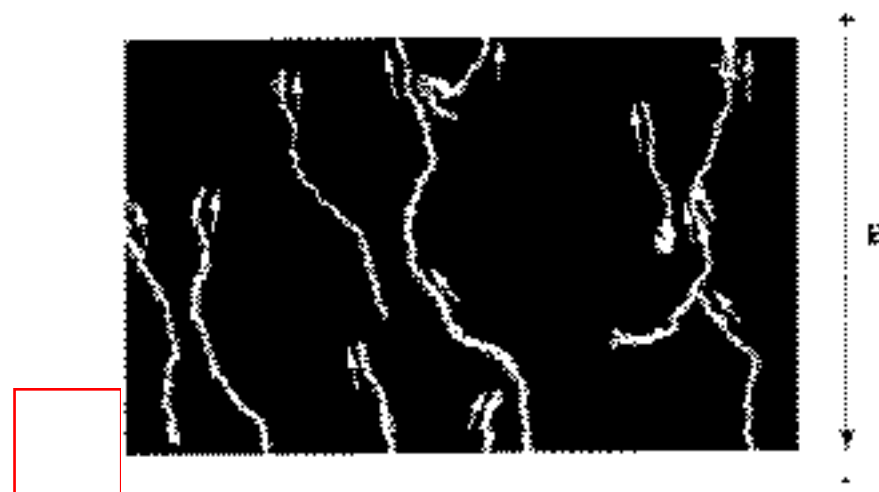


Fig. 7.1. Paths of actin filaments on a myosin coated surface, arrows indicate direction of motion. (left) In the absence of an electric field, directions of the filaments are uniformly distributed (myosin density of $900 \text{ proteins}/\epsilon \dots \text{m}^2$). (right) In presence of an electric field of $2.5 \text{ \AA} \cdot 10^3 \text{ V/m}$ paths are oriented along the field direction. Moving tips of actin filaments are directed towards the negative electrode (myosin density of $900 \text{ proteins}/\epsilon \dots \text{m}^2$). Figures show an average of a few video-frames followed by thresholding to obtain a binary image. The length of the filaments is $\approx 4 \mu\text{m}$. Note that, as a result of the velocity changes due to the presence of an electric field, paths are longer on the left than on right. Scale bar, $10 \epsilon \dots \text{m}$.

An electric field exerts a force on charged objects in brine and we interpret this observation as a force which directs the tip of the moving filament, the rest of the filament then follows the direction of the tip. Free actin in the bulk moves at a speed proportional to the electric field, its motion is dominated by the friction within the boundary layer between the charged actin body and its backflowing counter ions. Following this idea, corrections for actin close to the myosin coated surface can easily be calculated using hydrodynamics [34]. In our case we obtain a force of $2 \text{ pN}/\epsilon \dots \text{m}$. In order to avoid the turning of the filaments we used PMMA gratings with micron sized grooves acting as rails for the moving actin [35]. The actin filaments were found to follow the direction of these grooves, even when an electric field was applied against their motion (fig. 7.3). We used this technique to establish a force speed diagram and it is particularly interesting to observe it around stalling conditions.

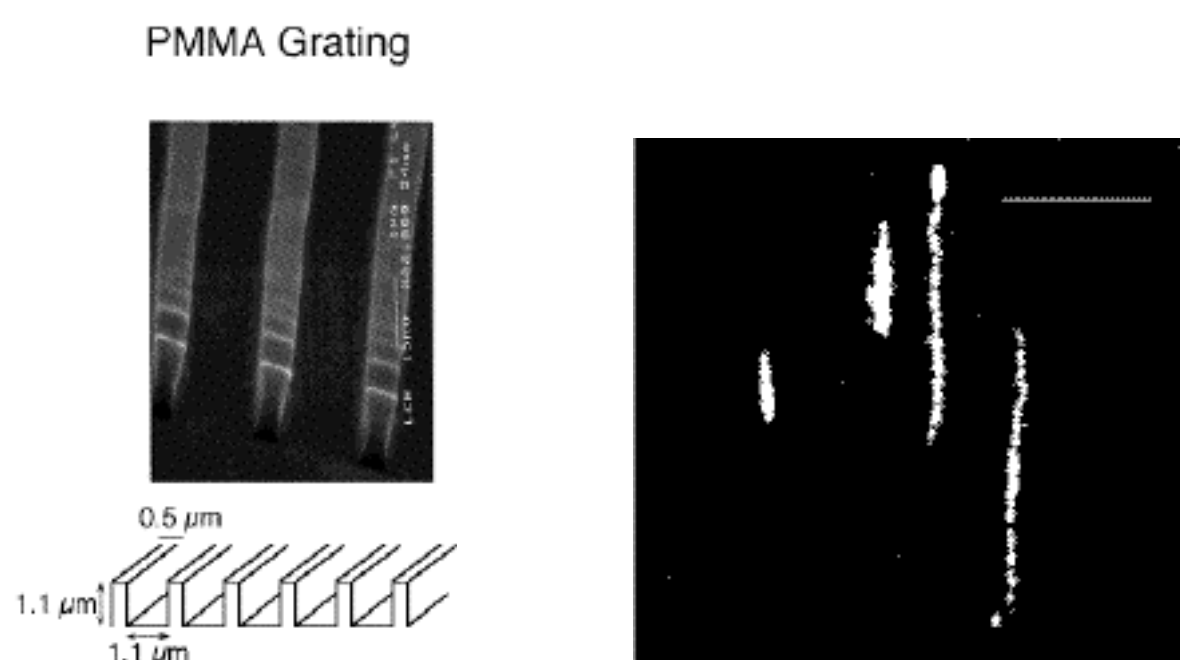


fig. 7.3. PMMA gratings as a substrate direct actin filament motion parallel to the grooves. Figure on the right shows an average of a few video-frames followed by thresholding to obtain a binary image. An electric field of $3 \text{ \AA} \cdot 10^3 \text{ V/m}$ is applied parallel to the grooves (myosin density of $200 \text{ proteins}/\epsilon \dots \text{m}^2$). The superimposed images of slow filaments moving towards the negative electrode appear to be shorter and thicker than for fast filaments moving in the opposite direction, since the former have time to fluctuate within the groove. Scale bar, $10 \epsilon \dots \text{m}$.

Some filaments simply stop their motion, sometimes irreversibly, but not all filaments do this: a fraction of them moves forward, some move in the reverse direction and others switch between the two directions from time to time. A little further increase of the electric field abruptly changes the situation, all filaments are then driven backwards (fig 7.4). We conclude that the force of the motor diminishes at this point with increasing mechanical load, leading to an instability around stalling conditions. A possible explanation is the recent prediction of such a hysteretical force speed relationship caused by a dynamic phase transition due to the collective interaction of many motors working together on a single filament [36, 37]. Interestingly entire muscles, dismantled of their regulatory proteins, also show an instability around stalling conditions [38].

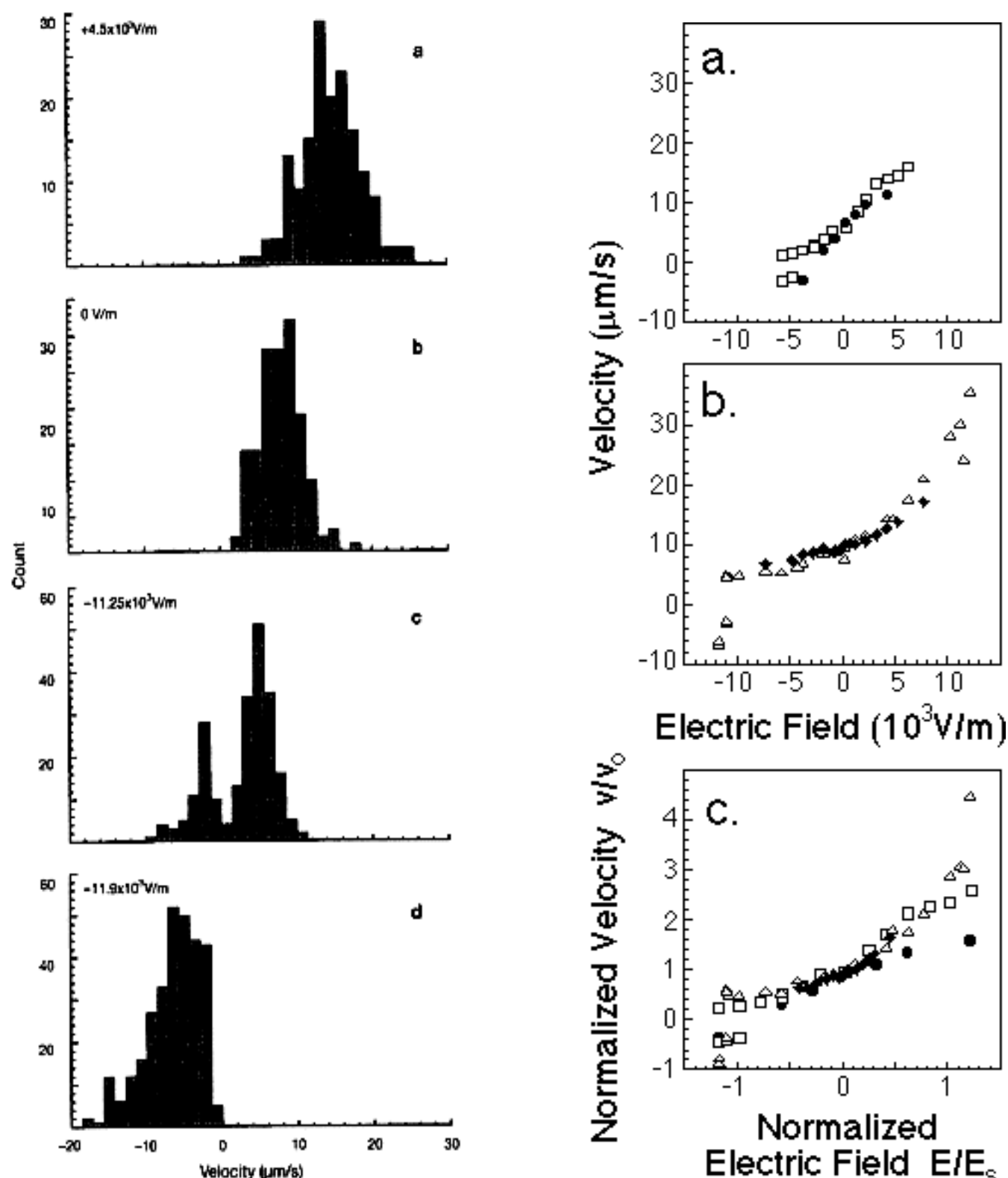


Fig. 7.4. (left) Histograms of velocity distributions for a myosin density of $400/\epsilon \dots \text{m}^2$ for different values of the electric field. The field is applied parallel to the grooves of the PMMA grating which is used as a substrate for motility. Speeds of actin filaments moving towards the positive electrode (a) are increased compared to the natural speed distribution without an electric field depicted in (b). Filaments moving towards the negative electrode are slowed down by the field (not shown). (c) For a strong opposing field around stalling value about 10% of the filaments are still moving, however backward and forward motion is observed. The two peaks of the histogram of the moving filaments reveal a discontinuity of the speed-force relation interpreted as a signature of an instability of the actin-myosin motor. (d) Upon a little further increase of the field strength all filaments move backwards. (right) Average velocity of actin filaments as a function of the electric field at $T = 30 \text{ \AA}^\circ \text{C}$ and 7.5 mM ATP in PMMA gratings. Only moving filaments were counted. The sign of the field is chosen with respect to actin motion: $E > 0$ field causes acceleration, $E < 0$ deceleration. Myosin densities are (a) 100 (plain circles) and 200 (squares), (b) 400 (triangles) and 900 (plain diamonds) $\text{proteins}/\epsilon \dots \text{m}^2$. As shown in the histogram on the left (c), positive and negative speeds occur around the stall-field (surface densities of 200 and 400 $\text{proteins}/\epsilon \dots \text{m}^2$) as a signature of an instability discussed in the text. (c) Our observations should not depend on the absolute value of the applied electric field but on the force per motor. The curves in (a) and (b) should be superposable after rescaling: The graph v/v_0 as a function of E/E_s (where v_0 is the velocity in absence of field and E_s is the stall field) shows that force-velocity diagrams have indeed a very similar shape for different myosin densities.

From the value of the field around stalling conditions we estimate the mean force per motor interacting with the filament as $0,15 \text{ pN}$ in agreement with results of Kishino et al. [17]. From the slope of the diagram around the spontaneous speed one may define an internal friction of the motor, it is found to be proportional to the myosin density on the surface (fig 7.5). Supposing that this friction is created by motors which are in the strongly bound state, the fraction of the strongly bound heads among all the heads which are interacting with one filament, otherwise called the "duty ratio" of the motor, is found to be 5%, in good agreement with the literature. The average force of the so called "powerstroke" of the myosin molecule turns out as 3 pN , also in good agreement with the literature [15, 16, 39, 40].

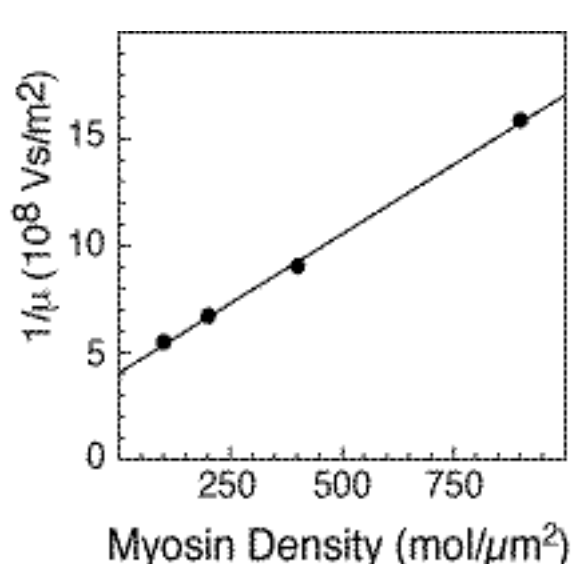


Fig. 7.5. The effective friction $\hat{\Gamma}^{-1}$ of the actin-myosin motor scales linearly with myosin surface density. Mobilities $\hat{\Gamma}^{-1}$ were obtained as the slope of the velocity-field diagrams for $\hat{\Gamma} \pm 4 \text{ \AA} \cdot 10^3 \text{ V/m}$. The straight line is a linear fit.

To further investigate the effect of the field, we applied alternating fields of sinusoidal or rectangular shape with different duty ratios. No particular effect on the observed motion could be noticed except an increase in speed. We attributed this to heating of the sample and the dependence of the speed on the applied tension was perfectly compatible with this idea. At a field of $4 \text{ \AA} \cdot 10^3 \text{ V/m}$ heating was expected to account for an increase of less than 25% in speed. Let us note that electric fields were found to deform the myosin head only at values about two orders of magnitude higher than ours [41, 42]. Improved experiments corrected for the heating effect and further investigation the actomyosin phase diagram with simultaneously improved the load of the motor are planned and needed to further understand the actin-myosin interaction.

8 Conclusion

We present a new approach to molecular motors : By developing well controlled macroscopic measurements on collections of motors, we are trying to asses key parameters of the system which provide information about the intimate interaction of actin and myosin. Our approach circumvents some of the inherent problems of single molecule measurements but it requires further modeling. The recent appearance of isothermal ratchet models is an encouragement in this sense. We present the antibody capture assay, showing that a good control of the myosin attachment is crucial for a meaningful measurement. Using this assay technique, the first complete in vitro force-speed relationship can be obtained. Introducing the internal friction of the motor, we extract physical parameters such as the mean force, the powerstroke and "duty ratio". These results agree very well with literature values. We show the surprising existence of a hysteretic instability around stalling conditions. Following suggestion of the work of JÄ¼licher et al., it can be explained by a collective effect of many motors working on a single filament. In the future, further information is needed, to get a complete picture of the functioning of the molecular motor actin myosin. Further exploration of the 'phase diagram' should be very helpful in that respect. The efficiency of the system clearly needs to be measured, in spite of numerous experiments, the situation is very unsatisfactory with regard to this issue.

Acknowledgments

Movies of our observations can be downloaded from: <http://perso.curie.fr/Albrecht.Ott/movies/movies.html>. We are grateful to T. Duke for critical reading of the manuscript and O. Thoumine for fig. 2.2. The results presented have been obtained in collaboration with L. Bourdieu, O. Cardoso, L. Gorre-Talini, F. JÄ¼licher, F. Kinose, J. J. LacapÄ¼re, A. Libchaber, S. MagnÄ½sdottir, J. Prost, D. Riveline, J.L. Viovy, D. A. Winkelmann. The work has benefited from direct or indirect funding by NECI, Princeton University, NIH, Institut Curie and CNRS.

References

1. O. Thoumine and A. Ott, *J. Cell Sci.*, **110**,2109-2116 (1997).
2. F. Gerbal, V. Laurent, A. Ott, M.-F. Carlier, P. Chaikin and J. Prost, submitted.
3. H. M. Warrick and S. J.A., *Annu. Rev. Cell. Biol.*, **3**,379-421(1987).
4. B. Katz, *J. Physiol.*, **96**,45-64(1939).
5. A. V. Hill, *Proc. R. Soc. Lond. B*, **126**,136-195(1938).
6. H. E. Huxley, *Science*, **164**,1356-1365(1969).
7. J. Biosca, F. Travers, T. Barman, R. Bertrand, E. Audemard and R. Kassab, *Biochemistry*, **24**,3814-20(1985).
8. I. Rayment, W. R. Rypniewski, K. Schmidt-Base, R. Smith, D. R. Tomchick, M. M. Benning, D. A. Winkelmann, G. Wesenberg and H. M. Holden, *Science*, **261**, 50-58(1993).
9. M. P. Sheetz, R. Chasan and J. A. Spudich, *J. Cell. Biol.*, **99**,1867-71(1984).
10. S. J. Kron and J. Spudich, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **83**,6272-6276(1986).
11. Y. Harada, K. Sakurada, T. Aoki, D. D. Thomas and T. Yanagida, *J. Mol. Biol.*, **216**,49-68(1990).
12. T. Q. P. Uyeda, S. J. Kron and J. A. Spudich, *J. Molec. Biol.*, **214**,699-710(1990).
13. D. M. Warshaw, J. M. Desrosiers, S. S. Work and K. M. Trybus, *J. Cell Biol.*, **111**,453-463(1990).
14. I. Sase, H. Miyata, S. Ishiwata and K. Kinoshita Jr, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**,5646-5650(1997).
15. J. T. Finer, R. M. Simmons and J. A. Spudich, *Nature*, **368**,113-119(1994).
16. J. E. Molloy, J. E. Burns, J. C. Sparrow, R. T. Tregear, J. Kendrick-Jones and D. C. S. White, *Biophys. J.*, **68**,298s-305s(1995).
17. A. Kishino and T. Yanagida, *Nature*, **334**,74-76(1988).
18. T. Yanagida and A. Ishijima, *Biophys. J.*, **68**,312s-320s(1995).
19. R. Cooke, *CRC Crit. Rev. Biochem.*, **21**,53-118(1986).
20. A. Ishijima, H. Kojima, T. Funatsu, M. Tokunaga, H. Higuchi, H. Tanaka and T. Yanagida, *Cell*, **92**,161-71(1998).
21. J. D. Jontes, E. M. Wilson-Kubalek and R. A. Milligan, *Nature*, **378**,751-753(1995).
22. M. Whittaker, E. M. Wilson-Kubalek, J. E. Smith, L. Faust, R. A. Milligan and H. L. Sweeney, *Nature*, **378**,748-751(1995).
23. T. Q. Uyeda, P. D. Abramson and J. A. Spudich, *PNAS*, **93**,4459-64(1996).
24. F. Kinoshita, S. X. Wang, U. S. Kidambi, M. C. L. and D. A. Winkelmann, *J. Cell. Biol.*, **134**,1-15(1996).
25. W. Liang and J. A. Spudich, *PNAS*, **95**,12844-7(1998).
26. A. Ajdari and J. Prost, *C. R. Acad. Sci. Paris II*, **315**,1635-1639(1992).
27. M. M. Magnasco, *Phys. Rev. Lett.*, **71**,1477-1481(1993).
28. M. M. Magnasco, *Phys. Rev. Lett.*, **72**,2656-60(1994).
29. J. Prost, J. F. Chauwin, L. Peliti and L. Ajdari, *Phys. Rev. Lett.*, **72**,2652-2655(1994).
30. E. H. Huxley, *The Journal of Biological Chemistry*, **265**,8347-8350(1990).
31. D. A. Winkelmann, L. Bourdieu, A. Ott, F. Kinoshita and A. Libchaber, *Biophys. J.*, **68**,2444-2453(1995).
32. J. R. Haeblerle and M. E. Hemric, *Biophys. J.*, **68**,306s-311s(1995).
33. D. Riveline, A. Ott, F. JÄ¼licher, D. A. Winkelmann, O. Cardoso, J. J. LacapÄ¼re, S. MagnÄ¼sdottir, V. J.L., L. Gorre-Talini and J. Prost, *Eur. Biophys. J.*, **27**,403- 408(1998).
34. A. J. Hunt, F. Gittes and J. Howard, *Biophys. J.*, **67**,766-781(1994).
35. H. Suzuki, A. Yamada, K. Oiwa, H. Nakayama and S. Mashiko, *Biophys. J.*, **72**, 1997-2001(1997).
36. F. JÄ¼licher and J. Prost, *Phys. Rev. Lett.*, **78**,4510-4513(1997).
37. F. JÄ¼licher and J. Prost, *Phys. Rev. Lett.*, **75**,2618-2621(1995).
38. H. Fujita and S. Ishiwata, *Biophys J.*, **75**,1439-1445(1998).
39. A. Ishijima, H. Kojima, H. Higushi, Y. Harada, T. Funatsu and T. Yanagida, *Biophys. J.*, **70**,383-400(1996).
40. L. Bourdieu, T. Duke, M. B. Elowitz, D. A. Winkelmann, S. Leibler and A. Libchaber, *Phys. Rev. Lett.*, **75**,176-179(1995).
41. S. Highsmith and D. Eden, *Biochemistry*, **24**,4917-4924(1985).
42. S. Highsmith and D. Eden, *Biochemistry*, **25**,2237-2242(1986).

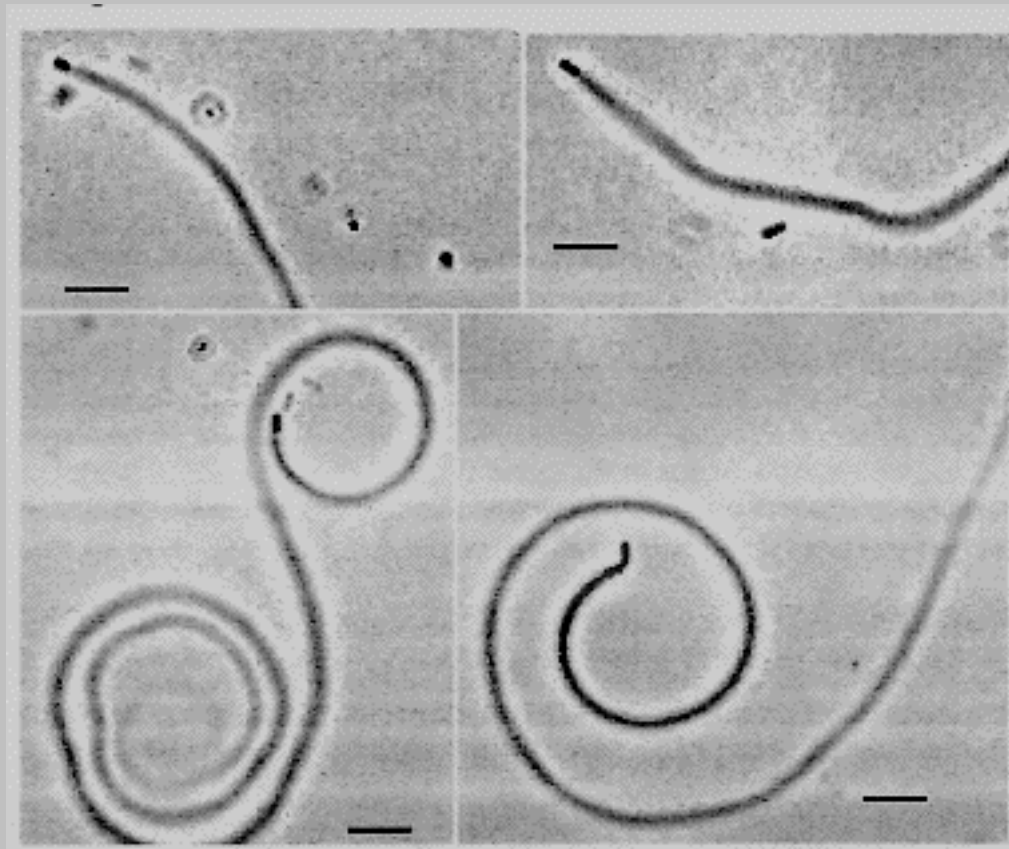
Mouvement de la Listéria

(with F. Gerbal, J. Prost et M. F. Carlier et D. Pantaloni -Laboratoire CNRS - Gif)

To watch movies of the listeria tail stiffness measurement, [click here](#).

We used optical tweezers to probe the mechanics of the Listeria motor. Listeria moves inside of biological cells by polymerizing an actin-tail behind it, pushing itself forward on the tip of the growing tail. It uses actin monomers present in the cytoplasm of the host cell to produce speeds of a micron/minute.

Nous avons effectué des mesures mécaniques sur la propulsion de la bactérie Listéria. La bactérie se déplace à l'intérieur des cellules en faisant polymériser sur sa membrane une " comète " d'actine à partir de l'actine monomérique, toujours présente dans les cellules. Elle se déplace d'une manière qui fait penser un peu à un moteur à réaction à des vitesses de l'ordre du micron par minute. (fig.)



Observation of the bacteria *Listeria monocytogenes* with phase contrast using a 100x /1.3 PlanNeofluar ph Zeiss objective.

[HOME](#)

Sommaire

[Introduction](#)

Mesure de la longueur de persistance du polymère d'actine par analyse

[- du mouvement brownien](#)

[-d'un mouvement sinusoïdal imposé.](#)

[Publications](#)

Introduction

En 1992 nous avons rejoint l'équipe d'Albert Libchaber à Princeton dans le laboratoire de la Nippon Electric Company (NEC). Nous nous y sommes intéressés un peu plus aux problèmes à l'interface physique-biologie. Une première expérience pendant la thèse, en étudiant le changement de rigidité d'une membrane en présence de protéines, nous avait déjà permis de nous familiariser avec tous les problèmes liés à la manipulation des protéines dont leur fragilité, et avec les contraintes expérimentales imposées par cette matière. Malgré notre expérience parfois difficile, nous avons décidé de faire un nouvel effort dans cette direction. L'étude de ces agrégats filamenteux est un bon sujet d'initiation à la biologie: on peut obtenir des quantités suffisamment grandes de tubuline et d'actine d'un bon degré de pureté sans trop de difficultés. Les filaments sont observables par microscopie optique ce qui permet d'accéder à leur dynamique. La dynamique brownienne des filaments d'actine a été notre premier champ d'étude. Nous devons beaucoup à D.Winkelmann qui nous a fait bénéficier de son savoir faire tout au long de notre séjour et sans lequel la réalisation de notre projet aurait été une tâche difficile.

Dans le système biologique l'actine joue un rôle essentiel et a des fonctions multiples. Parmi celles-ci on peut citer, à titre d'exemples, les fibres de stress qui permettent aux cellules d'exercer des forces, la motilité des cônes de croissance d'une cellule neuronale au cours du développement, l'établissement de microvilius dans l'estomac ou la pénétration de la parois de l'oeuf par le spermatozoïde. Les filaments d'actine et les microtubules constituent les rails de transport à l'intérieur d'une cellule et ces deux polymères, présents dans le cytosquelette sous la membrane, sont en grande partie responsables de la génération de forme de cellules.

L'actine est une protéine dont la forme peut se comparer à deux boules fusionnées. Elle polymérise pour former des filaments de 9 nm de diamètre (fig.).



Représentation schématique de l'actine. Un monomère (gauche) d'actine correspond à "une boule" à droite. Le filament forme une hélice (diamètre 9nm) avec une distance caractéristique de l'ordre de 36 nm. Les deux bouts ne sont pas équivalents, leur concentration critique de polymérisation diffère.

Ces filaments de structure hélicoïdale peuvent atteindre une longueur de plusieurs microns. Il s'agit de filaments directionnels, leurs deux bouts ne sont pas équivalents. Ils se distinguent par une concentration critique de polymérisation différente (en présence d'ATP comme source d'énergie). Les filaments d'actine peuvent se couper et se recombinaer, il s'agit de « polymères vivants » dans le sens de travaux sur les micelles cylindriques de CTAB.

Longueur de persistance de l'actine(1) (avec M. Magnasco, A. Simon, A. Libchaber):

Nous avons fait une mesure de la longueur de persistance du filament d'actine. L'idée était d'observer des fluctuations thermiques de filaments d'actine marqués à la rhodamine phalloïdine par microscopie d'épifluorescence. Afin de garder les filaments dans le plan focal du microscope il était nécessaire de les confiner entre deux plaques de verre séparées d'une distance d'un micron environ. Le contrôle d'une séparation aussi faible entre lame et lamelle a été rendu possible en imposant une courbure à la lamelle couvre-objet afin de la rigidifier. Une très faible quantité de billes 1.6 microns de diamètre servait d'espaceur (fig.).

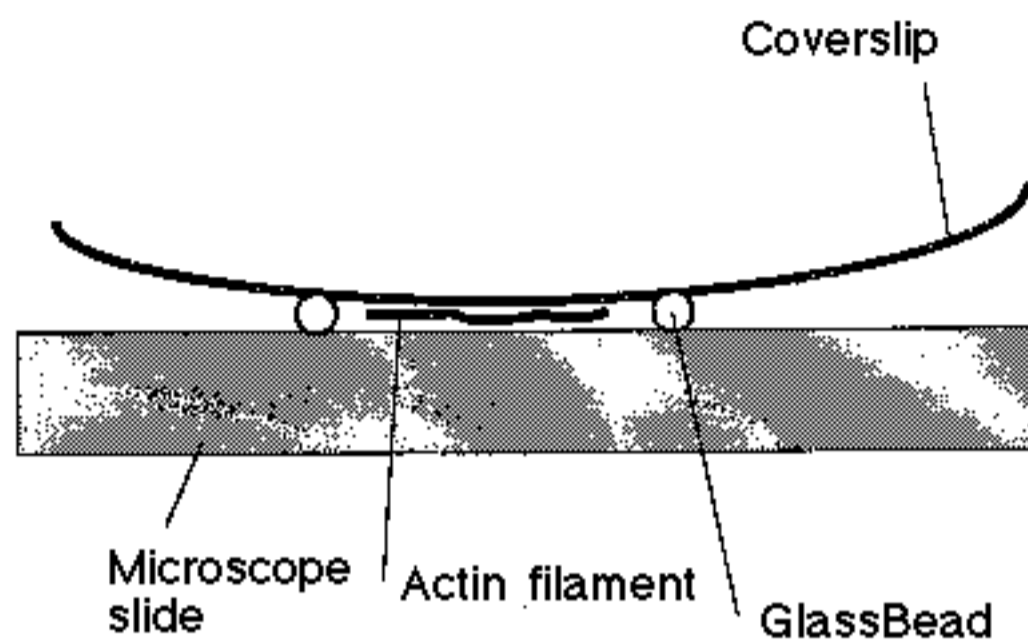


Schéma de la cellule d'observation utilisée pour confiner le mouvement brownien de l'actine en deux dimensions pendant l'observation microscopique.

Les surfaces de verre ont été couvertes d'Albumine afin d'éviter que le filament d'actine se colle sur la surface. Nous avons enregistré et analysé ses fluctuations browniennes afin de connaître la longueur de persistance de ces objets. M. Magnasco a analysé nos images en traçant le produit scalaire moyen de vecteurs unitaires le long du filament en fonction de leur distance: le filament se comporte comme un polymère idéal à notre échelle de mesure (au delà du micron) et la valeur de la longueur de persistance de 17 microns est en accord avec les valeurs que l'on trouve habituellement dans la littérature (fig.).

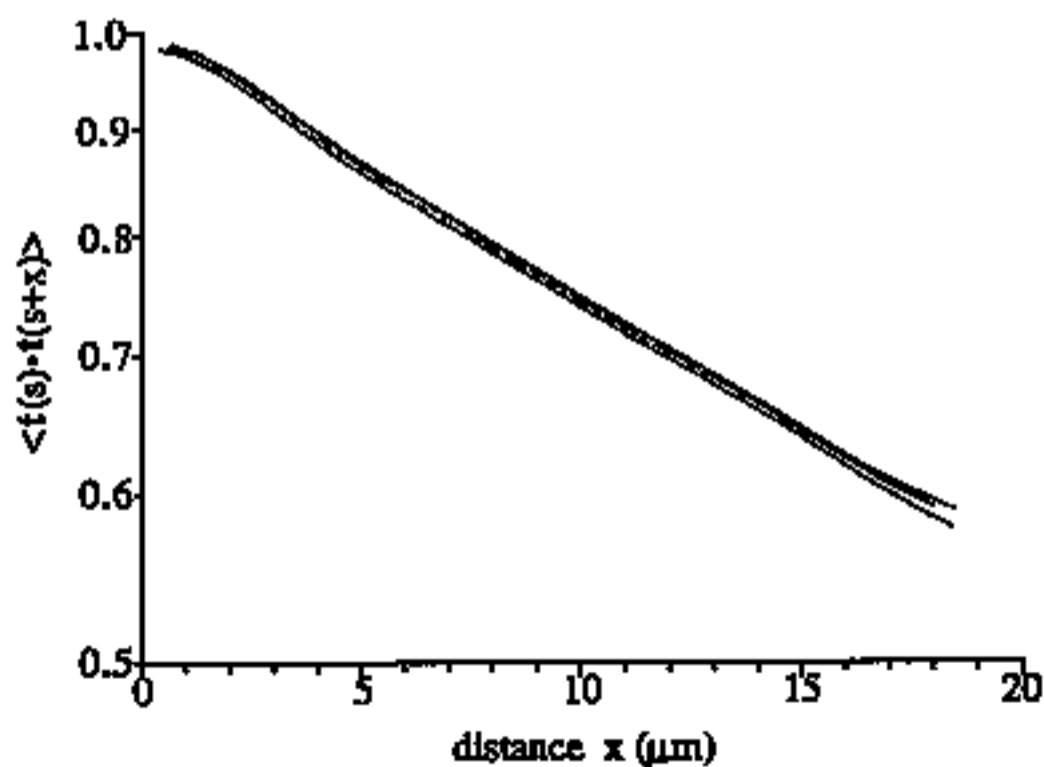


Fig.: Produit scalaire moyen des vecteurs tangentiels unitaires en fonction de la distance qui les sépare, échelle semi-logarithmique (les courbes différentes correspondent à des longueurs de vecteurs de 2 à 5 pixels). L'exponentielle montre bien le comportement de polymère idéal de l'actine.

Nous avons du constater que deux autres équipes avaient fait des mesures de longueur de persistance presque en même temps que nous. Elles avaient aussi utilisé la technique de microscopie de fluorescence. Notre résultat est en accord avec le résultat de F. Gittes et al., mais il est différent du résultat de J. Kaes et al.. Contrairement aux autres équipes, nous avons analysé les fluctuations dans l'espace direct et non pas dans l'espace de Fourier. Pour plus de détails voir la publication dans l'annexe.

Longueur de persistance de l'actine(2)

(avec Daniel Riveline (étudiant en thèse) et C. Wiggins, R. Goldstein de l'Université de Princeton)

Nous avons attaché le filament à une bille d'un micron de diamètre et lui avons imposé un mouvement sinusoïdal périodique de faible amplitude (fig.).

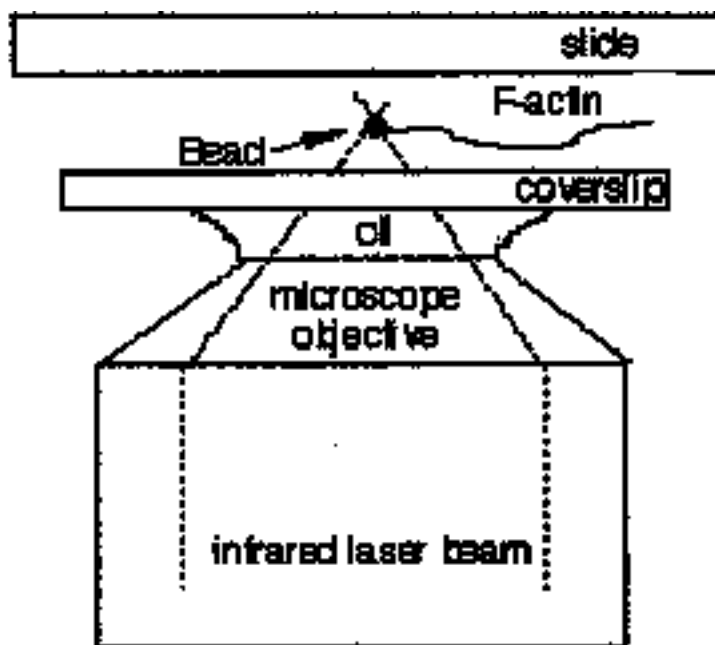


Fig.: Schéma de l'expérience permettant d'imposer un mouvement sinusoïdal à l'actine grâce à une pince optique.

Cette mesure était intéressante, car jusqu'à présent la déformation de l'actine avait seulement été observée dans le cas de fluctuations browniennes, il n'était pas certain que l'actine se comporte de la même manière lors d'une déformation plus importante. Mais cette mesure présente également un intérêt théorique: la déformation de l'actine attachée est uniquement gérée par l'hydrodynamique et l'élasticité du filament, l'inertie étant négligeable à ces échelles (thèse de Chris Wiggins, Princeton University, 1998). L'établissement d'un traitement théorique du problème a été nécessaire. Nos observations s'accordent bien aux prédictions de la théorie des polymères. La longueur caractéristique de décroissance du mouvement imposé qu'on peut extraire des observations diminue avec la puissance 0,25 de la fréquence comme prédit. La longueur de persistance qui peut en être déduite est de 7 microns.

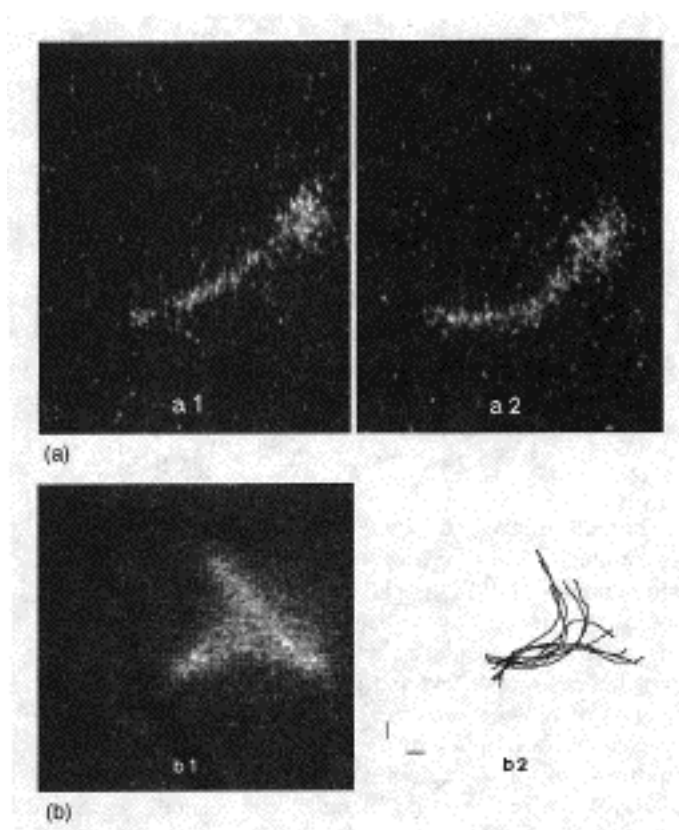


Fig. : Images du filament d'actine oscillant (a1, a2), superposition d'une séquence d'images (b1), superposition après pixelisation (b2).

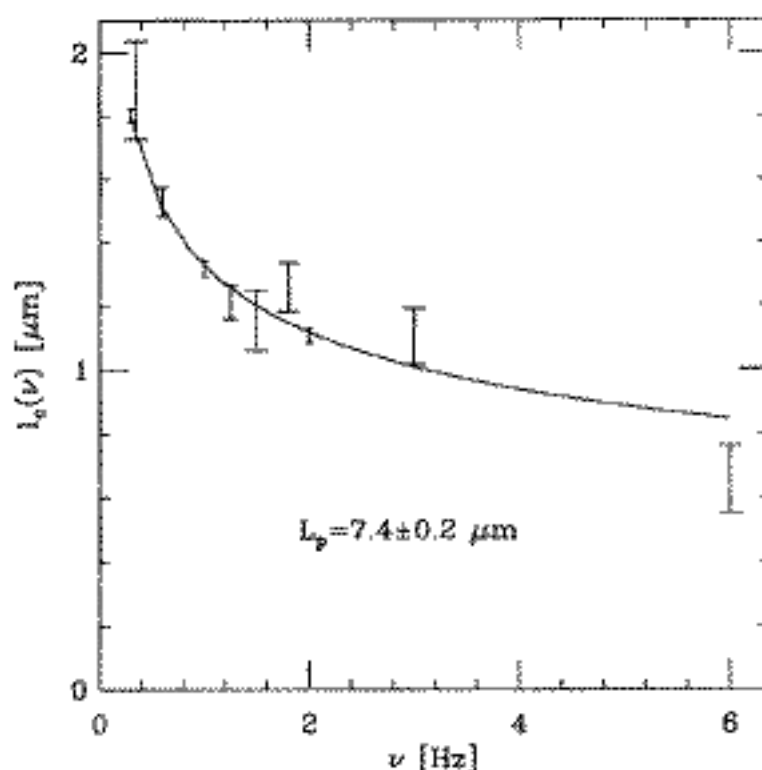


Fig.: Variation de la longueur caractéristique de décroissance du mouvement imposé avec la fréquence. La ligne continue représente la prédiction théorique. On constate un bon accord.

Il faut néanmoins savoir qu'une puissance quatre intervient dans le calcul de la longueur de persistance ce qui rend sa mesure imprécise. De plus, la théorie est linéaire et elle a tendance à sous-estimer la longueur de persistance dans les conditions de l'expérience. Du point de vue expérimental nous sommes proche de la limite de résolution du microscope optique et tout bruit ou perturbation a tendance à faire apparaître le filament plus flexible. Compte tenu de tous ces éléments, notre valeur de la longueur de persistance doit plutôt être considérée comme un seuil inférieur. Elle n'est pas suffisamment loin des valeurs habituelles pour pouvoir dire que la rigidité de l'actine apparaît changée dans ces conditions. Encore une fois, nous constatons que l'actine obéit bien aux lois de la physique des polymères.

Publications:

A. Ott, M. Magnasco, A. Simon, A. Libchaber: "Measurement of the persistence length of filamentous Actin using fluorescence microscopy" Phys. Rev. E, 48, 1993, R1642.

D. Riveline, C. H. Wiggins, R. E. Goldstein, and A. Ott: "Elastohydrodynamic study of actin filaments using fluorescence microscopy" Phys Rev E, 56, 1997, R1330-R1333.

C.H.Wiggins, D. Riveline, A. Ott, R. E. Goldstein: "Trapping and Wiggling: Elastohydrodynamics of Driven Microfilaments" Biophys J. 74,1998, p1043-1060.

Sommaire

[Introduction](#)

[Cellules soumises
à des champs
gravitationnels
forts](#)

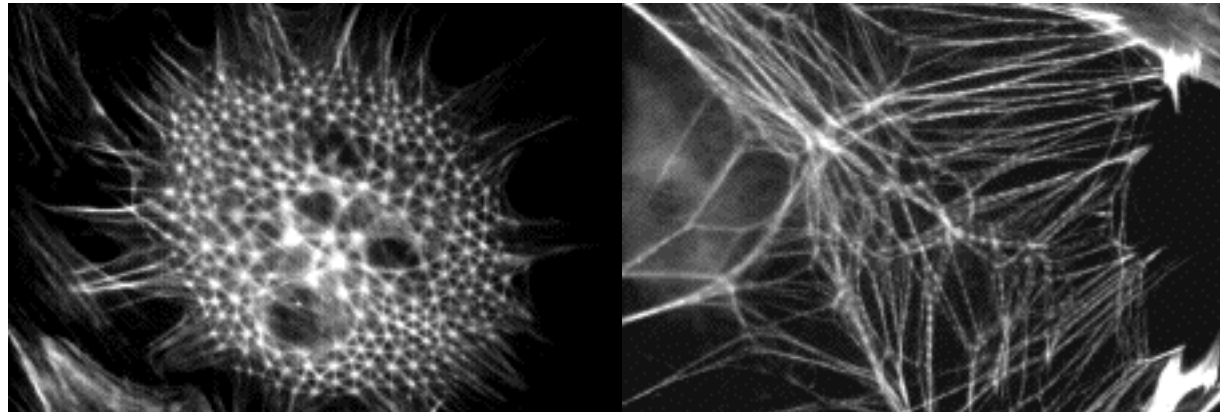
[Etirement uniaxial
de cellules](#)

[Publications](#)

Application de forces à des cellules en culture (avec O. Thoumine):

(Olivier Thoumine avait rejoint notre groupe en post-doc pour une période de presque deux ans après avoir fait un PhD en Biologie à l'Université de Georgia, Atlanta, USA.)

La connaissance des propriétés mécaniques des cellules est importante à la compréhension des mouvements qui accompagnent leur prolifération et leur migration. Des exemples en sont la cicatrisation et la migration tumorale. L'actine et le moteur moléculaire actine myosine jouent un rôle essentiel dans la définition de ces propriétés mécaniques de la cellule (fig.).



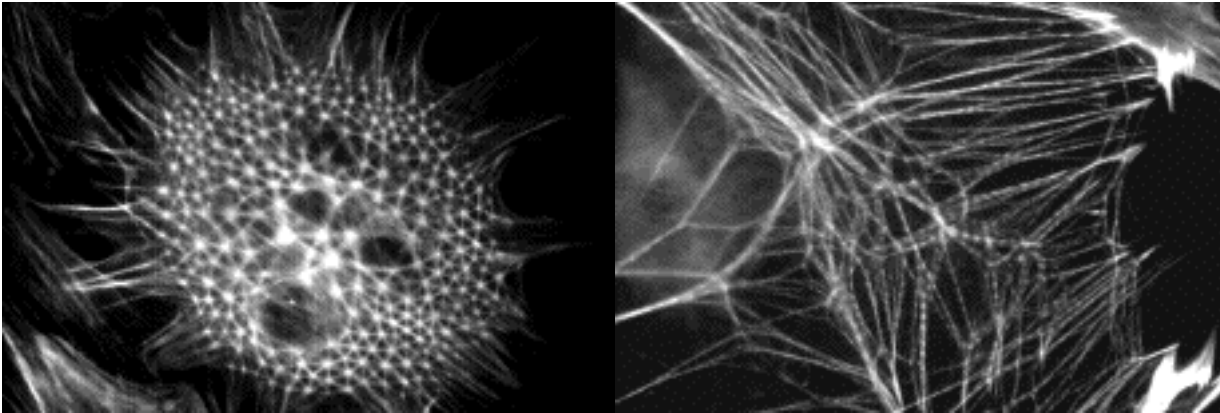
Distribution des filaments d'actine sur une cellule fixée. Gauche: Cellule ronde qui n'adhère pas encore sur le substrat. Droite: Fibres de stress qui se forment lors de l'adhésion et qui permettent à la cellule d'exercer des forces. Selon D. Ingber il s'agirait d'une structure géodésique qui se réorganise par interconversion.

Le problème de mesures dans ce domaine (utilisant un flux hydrodynamique par exemple) est qu'il est souvent difficile de distinguer la réponse active de la cellule impliquant les récepteurs dans sa membrane d'une réponse purement mécanique.

Application de forces à des cellules en culture (avec O. Thoumine):

(Olivier Thoumine avait rejoint notre groupe en post-doc pour une période de presque deux ans après avoir fait un PhD en Biologie à l'Université de Georgia, Atlanta, USA.)

La connaissance des propriétés mécaniques des cellules est importante à la compréhension des mouvements qui accompagnent leur prolifération et leur migration. Des exemples en sont la cicatrisation et la migration tumorale. L'actine et le moteur moléculaire actine myosine jouent un rôle essentiel dans la définition de ces propriétés mécaniques de la cellule (fig.).

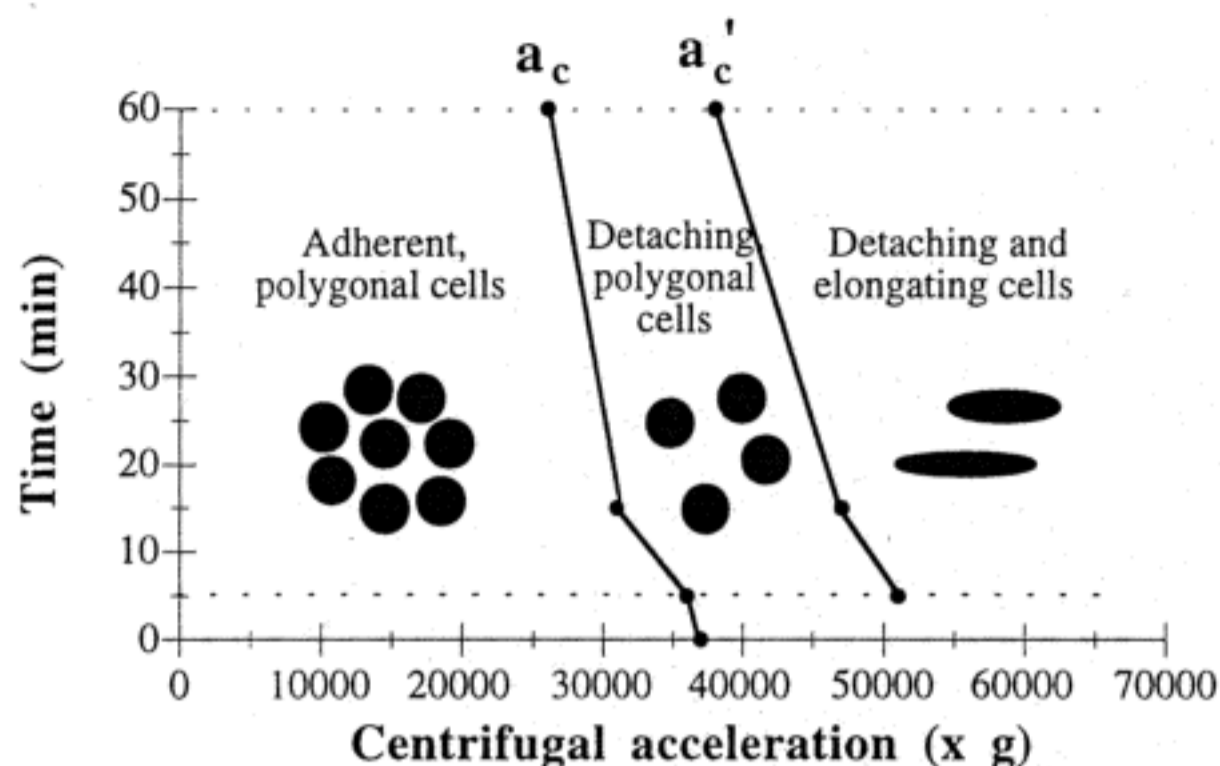


Distribution des filaments d'actine sur une cellule fixée. Gauche: Cellule ronde qui n'adhère pas encore sur le substrat. Droite: Fibres de stress qui se forment lors de l'adhésion et qui permettent à la cellule d'exercer des forces. Selon D. Ingber il s'agirait d'une structure géodésique qui se réorganise par interconversion.

Le problème de mesures dans ce domaine (utilisant un flux hydrodynamique par exemple) est qu'il est souvent difficile de distinguer la réponse active de la cellule impliquant les récepteurs dans sa membrane d'une réponse purement mécanique.

Cellules soumises à un champ gravitationnel élevé

Le problème de mesures dans le domaine de la mécanique cellulaire (utilisant un flux hydrodynamique par exemple) est qu'il est souvent difficile de distinguer la réponse active de la cellule impliquant les récepteurs dans sa membrane d'une réponse purement mécanique. Nous avons alors soumis des cellules épithéliales à des champs gravitationnels pour éviter ce problème. L'expérience montre que les cellules ne commencent à se détacher qu'au-delà d'une certaine accélération. Il existe un deuxième seuil à des accélérations plus élevées où les cellules s'allongent (fig.).



Représentation schématique des observations des cellules après centrifugation. Les cellules commencent à se détacher avant de s'allonger. Un temps de centrifugation plus long fait légèrement baisser ces seuils.

Les résultats nous ont permis de montrer que, dans nos conditions, les cellules ont une distribution exponentielle de forces d'adhésion autour de leur valeur moyenne de 150 nN. Une telle distribution n'a pas encore été observée à notre connaissance, mais elle dépend évidemment de manière cruciale des conditions de l'expérience. L'allongement des cellules est provoqué par le noyau de la cellule (dont la densité est supérieure), il intervient une fois la cellule quasi détachée du substrat. La force pour rallonger la cellule a été déterminée autour de 20-80 nN en accord avec les valeurs traditionnelles.

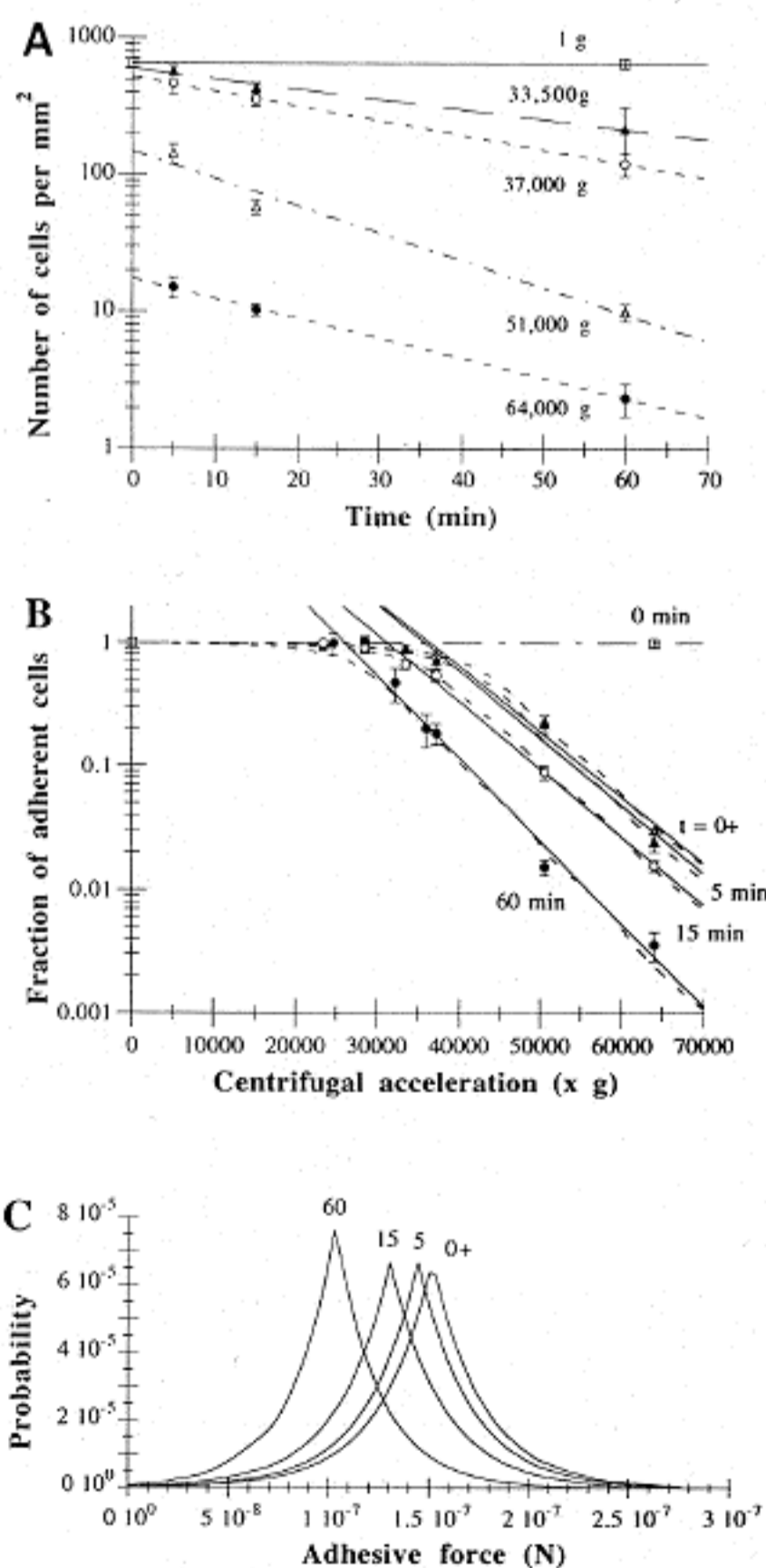


Fig. 2.

A: Densité surfacique des cellules en fonction du temps pour plusieurs accélérations. Un grand nombre de cellules se détachent rapidement. Ensuite, elles se détachent avec un temps caractéristique qui paraît quasi indépendant de l'accélération. **B:** Densité surfacique de cellules en fonction de l'accélération pour plusieurs temps de centrifugation. **C:** Distribution des forces d'adhésion déduite de B.

Etirement uniaxial de cellules

Afin de mieux contrôler le changement de forme des cellules un système de micromanipulation a été construit de façon à soumettre des fibroblastes à un étirement uni-axial permanent ou oscillatoire, tout en suivant la déformation cellulaire sous microscope et en mesurant la force appliquée (20). La géométrie retenue a été la plus simple: celle de deux plaques entre lesquelles il est possible de suspendre la cellule. La cellule survit dans ces conditions. Il est important de capturer la cellule rapidement entre ces deux plaques sinon elle développe une préférence pour une des deux et il n'est plus possible de l'étirer. Le schéma de principe de l'appareil peut être vu sur la fig. .

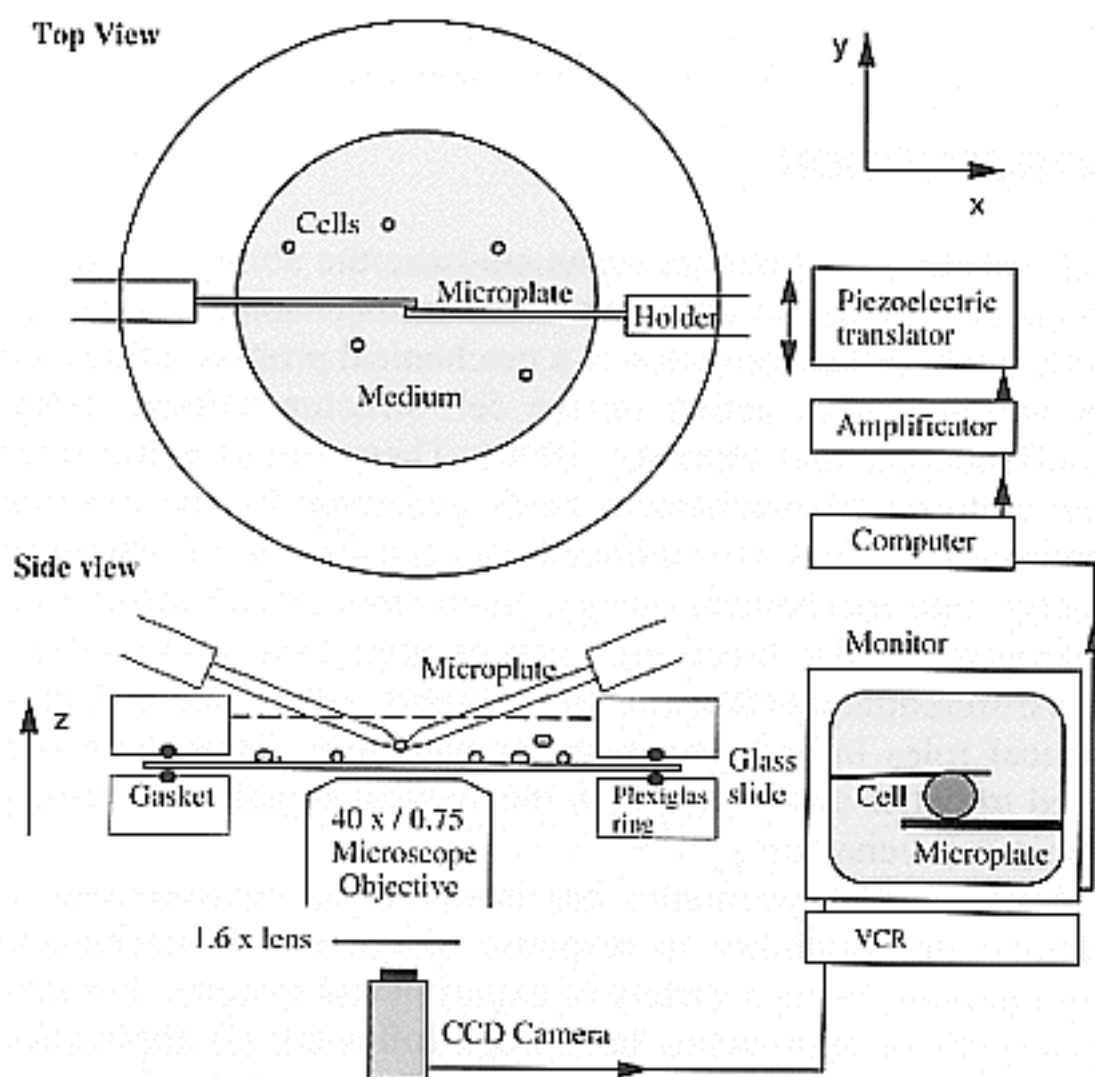
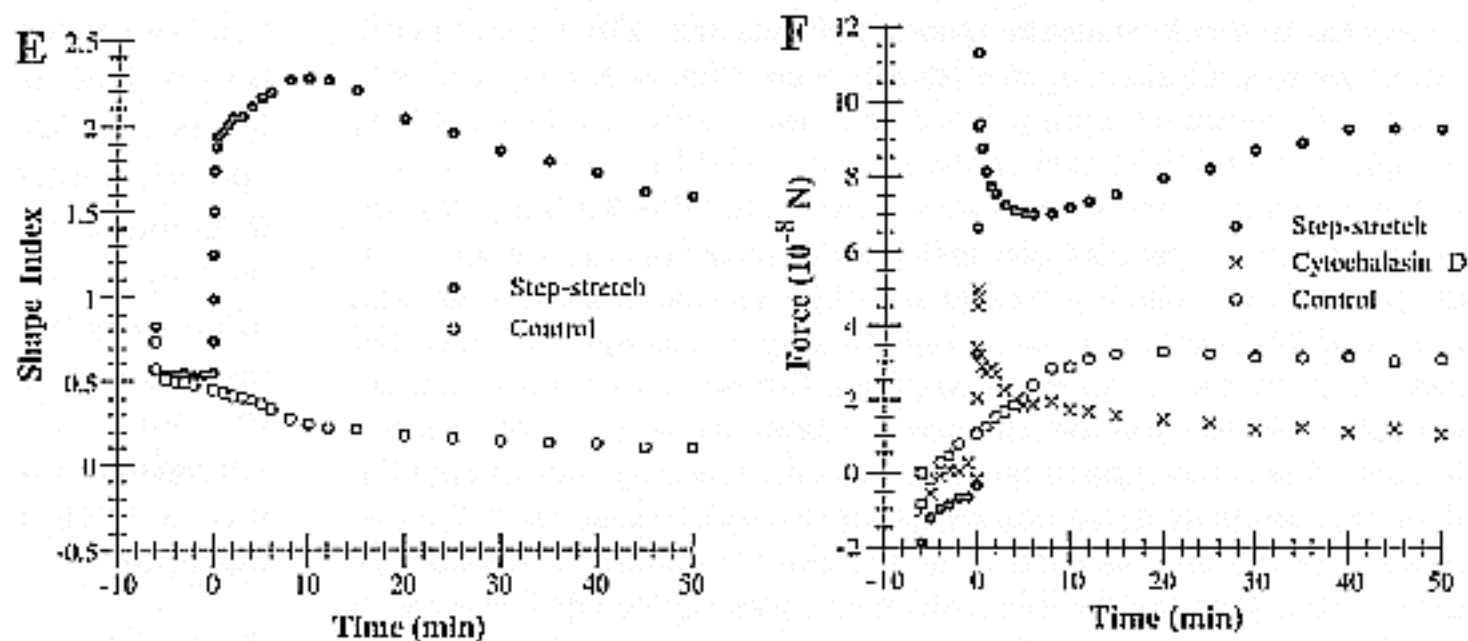
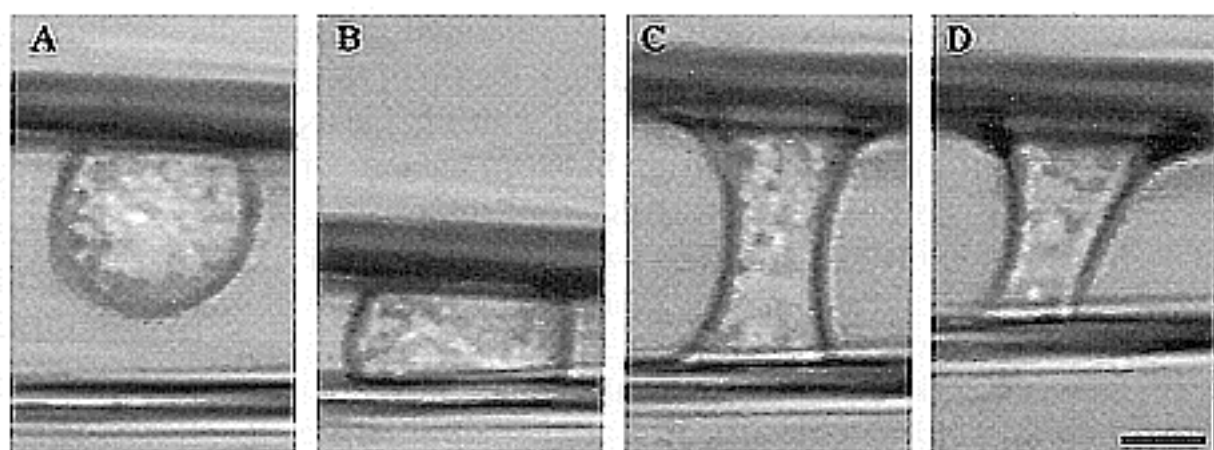


Schéma de l'expérience d'étirement uniaxial. La cellule est suspendue entre deux microplaques. Une de ces plaques peut être translatée avec un piézo afin d'imposer une contrainte mécanique contrôlée à la cellule.

Une des deux microplaques est plus flexible et permet de déduire la force générée par la cellule. Des modules de relaxation viscoélastiques peuvent ainsi être déterminés. Ils ont permis d'identifier des énergies et des constantes de temps caractéristiques de fibroblastes du coeur d'embryons de poulets. Les premières expériences montrent qu'à 20 °C les cellules étudiées sont élastiques à l'échelle de quelques secondes, visqueuses à l'échelle de minutes tandis qu'elles présentent une réponse active à l'échelle de l'heure. Les valeurs des modules élastiques déduits d'un modèle de Kelvin sont en bon accord avec les valeurs dans la littérature. Pour plus d'informations voir la publication dans l'annexe.



Expérience de traction: Observation microscopique d'une cellule en fond clair (haut), forme des cellules et les forces appliquées en fonction du temps au cours de l'expérience d'étirement soudain (bas). L'indice d'élongation est défini comme le coefficient longueur/largeur de la cellule. Il est facile de distinguer une réponse élastique d'une réponse visqueuse et d'une génération de force active en réponse à l'étirement. On notera qu'une cellule traitée avec du cytochalasine D, donc dépourvue d'actine polymérisé, ne développe pas de force de manière active.

Publications

O. Thoumine, A. Ott, D. Louvard: "Critical Centrifugal Forces Induce Adhesion, Rupture or Structural Reorganisation in Cultured Cells" Cell Mot. Cyt. 33, 1996, 276-287

O. Thoumine, A. Ott: "Influence of adhesion and cytoskeletal integrity on fibroblast traction" Cell Motil.Cytoskel. 35, 1996, 269-280.

O. Thoumine, A. Ott:"Time scale dependent viscoelastic and contractile regimes in fibroblasts probed by microplate manipulation" J. Cell Sci 110, 1997, 2109-2116.

O. Thoumine, A. Ott:"Comparison of the mechanical properties of normal and transformed fibroblasts" Biorheology, 34,1997, 309-326.

Croissance neuronale (avec O. Cardoso) :

Les neurones ont la propriété de croître et de se connecter selon des règles très précises, inconnues à l'heure actuelle. Bien qu'un grand nombre de molécules régissant cette croissance aient été trouvées, les mécanismes de régulation et de communication entre les neurones restent inconnus. Il sera intéressant de tenter une description avec le langage du physicien qui pourra éventuellement, on peut toujours l'espérer, mener dans le futur à une bonne maîtrise de la croissance de ces objets; une première étape afin de préparer de nouvelles expériences sur ces systèmes. Nous mettons aujourd'hui au point des expériences simples afin de nous familiariser avec le mécanisme de croissance de neurones. Notre but est de tenter d'éclaircir le principe de leur guidage et la régulation de leur croissance (Collaboration avec D. Choquet - Université de Bordeaux). Une observation pose un problème d'échelles: un neurite peut faire moins qu'un micron de diamètre alors que le neurone entier atteint la taille du mm au bout d'une nuit. Afin de pouvoir acquérir une statistique d'observations suffisante, nous avons construit un microscope automatisé qui permet de scanner de manière automatique un grand champ d'observation. (fig.).

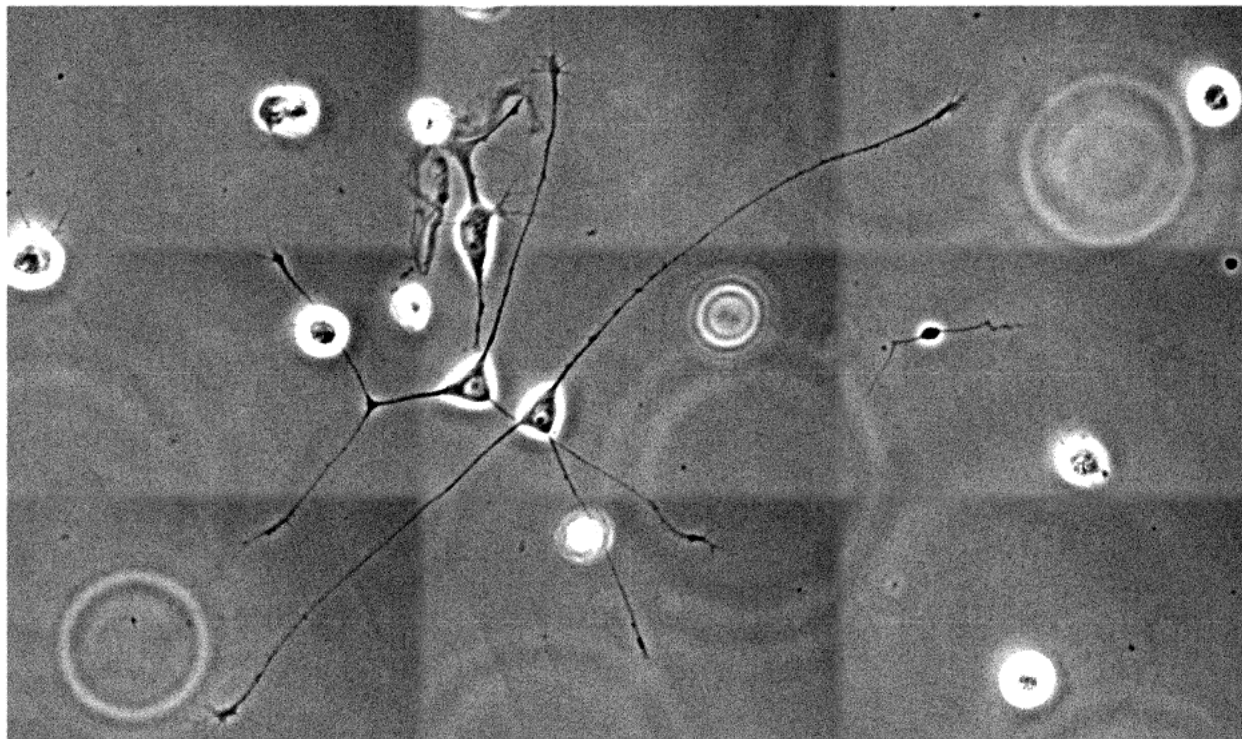


Image typique de neurones de ganglions dorsaux de poulet au cours de la croissance sur une surface couverte de laminine. Le champ d'observation est de 360 par 216 micromètres, correspondant à une prise de neuf images.

Dans nos expériences, seul le corps cellulaire et les cônes de croissance sont attachés au substrat, les neurites ne le sont pas: le réseau de neurites de chaque neurone fait penser à un ensemble d'élastiques connectés qui change de structure en fonction des forces appliquées aux points d'attachement. Comme les bifurcations sont des connexions glissantes, la forme du réseau renseigne sur le rapport des tensions dans les différents neurites. Il a été montré que la courbe charge mécanique - vitesse du cône de croissance passe par un maximum en partant de zéro. Ainsi la tension intérieure des neurites, autrement dit, la structure du réseau, devrait définir la vitesse et la direction de croissance future.

Sommaire

[Amphiphiles](#)

[Autodiffusion de micelles cylindriques](#)

[Vols de L²vy](#)

[Diffusion cooperative de micelles cylindriques](#)

[Vols de L²vy dans les micelles cylindriques : calcul d²taille](#)

[Publications sur le sujet](#)

Amphiphiles

Les molécules amphiphiles sont des molécules constituées d'une partie hydrophile et une partie hydrophobe. Dissoutes dans de l'eau au delà d'une concentration critique, elles forment des agrégats dits micelles. En fonction de leur rapport surface hydrophile/volume hydrophobe, définissant la courbure de l'agrégat, il peut s'agir de structures sphériques, cylindriques ou planes en formant des bicouches (fig.1).

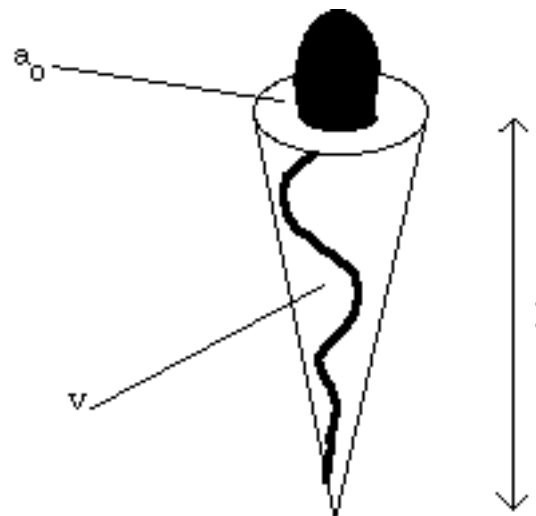


Fig. 1a: La chaîne hydrophobe de la molécule est supposée fluide. L'aire par tête polaire a_0 , la longueur maximale de la chaîne, et le volume v sont les paramètres qui déterminent la géométrie d'une micelle.

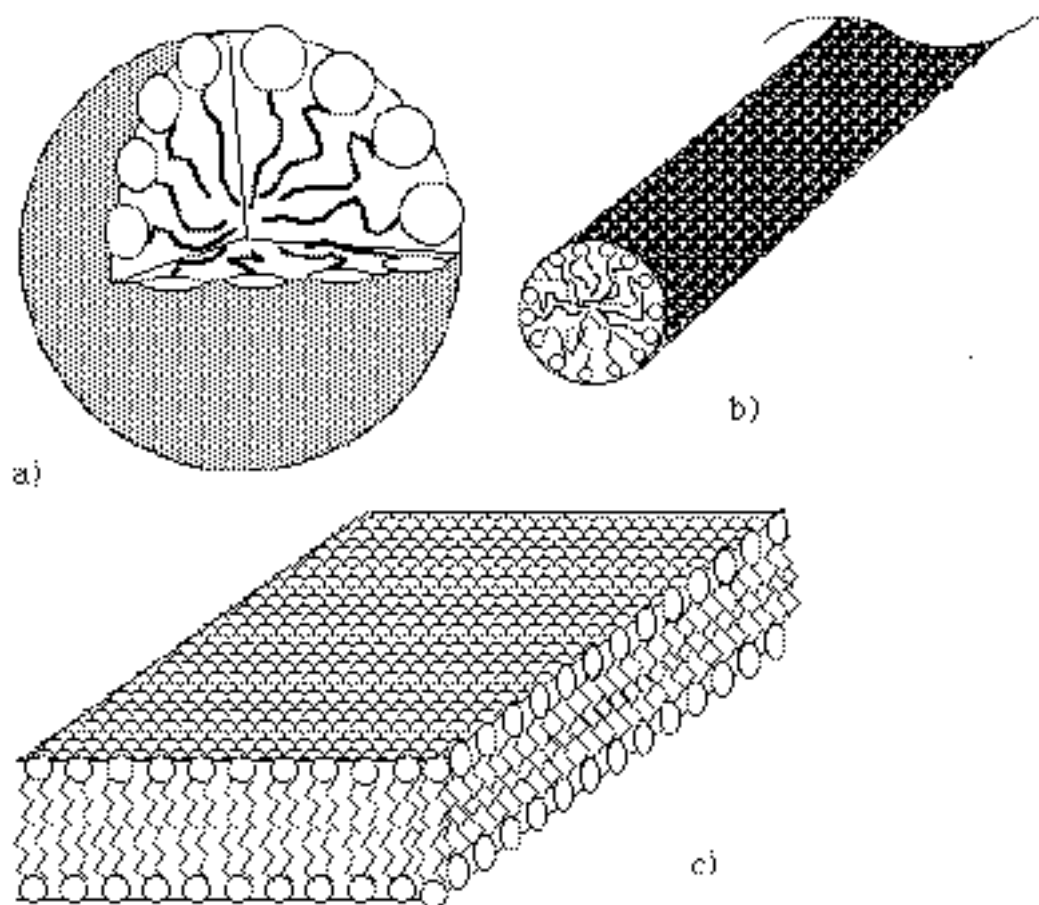


Fig. 1b: a) Micelle Sphérique, b) Micelle Cylindrique, c) Bicouche.

Amphiphiles

Les molécules amphiphiles sont des molécules constituées d'une partie hydrophile et une partie hydrophobe. Dissoutes dans de l'eau au delà d'une concentration critique, elles forment des agrégats dits micelles. En fonction de leur rapport surface hydrophile/volume hydrophobe, définissant la courbure de l'agrégat, il peut s'agir de structures sphériques, cylindriques ou planes en formant des bicouches (fig.1).

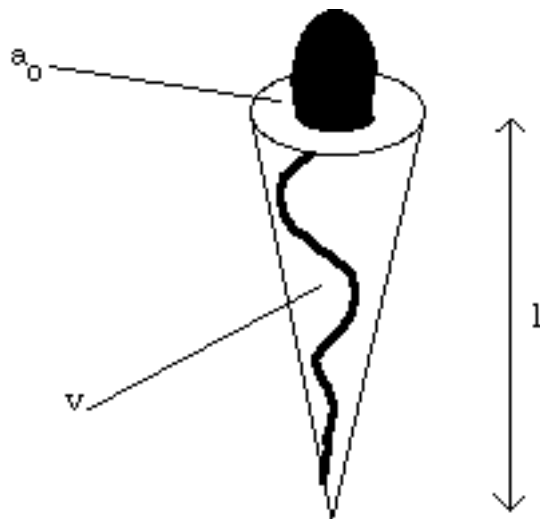


Fig. 1a: La chaîne hydrophobe de la molécule est supposée fluide. L'aire par tête polaire a_0 , la longueur maximale de la chaîne, et le volume v sont les paramètres qui déterminent la géométrie d'une micelle.

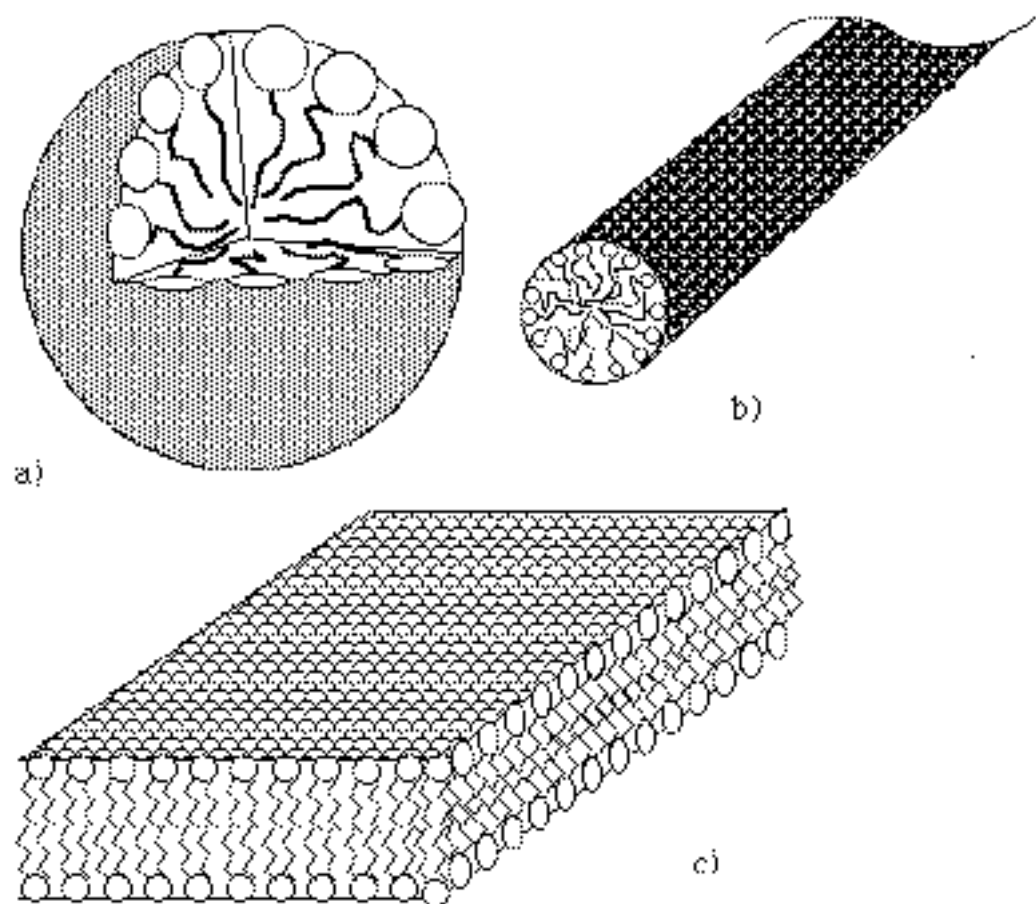


Fig. 1b: a) Micelle Sphérique, b) Micelle Cylindrique, c) Bicouche.

Autodiffusion de micelles cylindriques (R. Messenger, D. Chatenay, W. Urbach, D. Langevin):

Les micelles cylindriques sont des agrégats allongés et flexibles d'amphiphile. Leur courbure est plus élevée aux deux bouts. L'énergie associée à une telle frustration est élevée, ce qui explique que ces agrégats peuvent atteindre des longueurs considérables. Quoique leur longueur n'ait jamais été déterminée expérimentalement, on peut supposer qu'elle peut atteindre dix fois leur diamètre.

Les propriétés statiques et dynamiques des solutions de polymères sont maintenant assez bien connues. Quand on augmente leur concentration dans un solvant, les propriétés de la solution changent au moment où les chaînes commencent à s'enchevêtrer. Pour expliquer le comportement de la viscosité et de l'autodiffusion des polymères linéaires flexibles, de Gennes a proposé le modèle de reptation : une chaîne donnée, piégée dans un tube formé par les chaînes voisines, diffuse à l'intérieur de ce tube (fig).

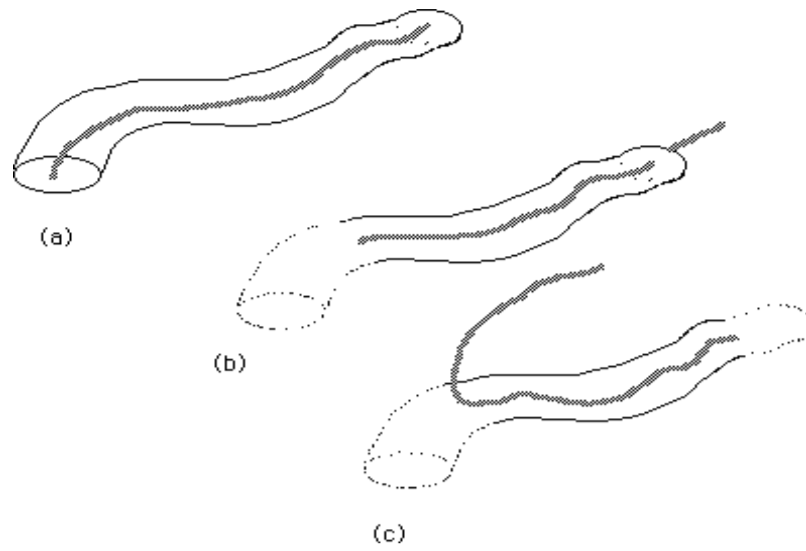


Fig. 1: Désengagement du polymère de son tube initial selon de Gennes: (a) la chaîne est confinée dans son tube, (b) la chaîne se déplace vers la droite et une partie du tube disparaît, (c) la chaîne se déplace vers la gauche et une autre partie du tube disparaît.

Ce modèle conduit à un coefficient de diffusion dépendant de la longueur de chaînes du polymère et de leur concentration par des lois de puissance et il est en assez bon accord avec les données expérimentales.

Nous avons voulu savoir si cette théorie était toujours applicable aux micelles cylindriques qui sont aussi des objets flexibles et très allongés. Des telles micelles sont formées par le CTAB (bromure de cetyltriméthylammonium) dans l'eau salée. Le sel fait écran aux répulsions électrostatiques entre les têtes polaires ce qui entraîne une diminution de l'aire par tête polaire. Les contraintes géométriques lors de l'assemblage des molécules conduisent à un allongement des micelles avec la quantité de sel ajoutée. Candau et ses collaborateurs à Strasbourg ont observé que ces micelles avaient un comportement analogue aux polymères en diffusion de lumière, mais la diffusion de lumière permet seulement d'observer des mouvements aux temps courts. Nous avons entrepris des mesures d'autodiffusion par recouvrement de fluorescence après photoblanchiment (R.F.A.P.) pour vérifier si il en était ainsi pour des temps d'observations plus grands. Nous avons observé que le coefficient de diffusion dépendait de la concentration par une loi de puissance $D \sim c^{-\alpha}$, mais l'exposant α est beaucoup plus petit que celui prédit par le modèle de reptation en adoptant les lois connues pour la variation de la longueur des micelles avec la concentration en tensioactif. De plus, cet exposant dépend de la salinité (fig.).

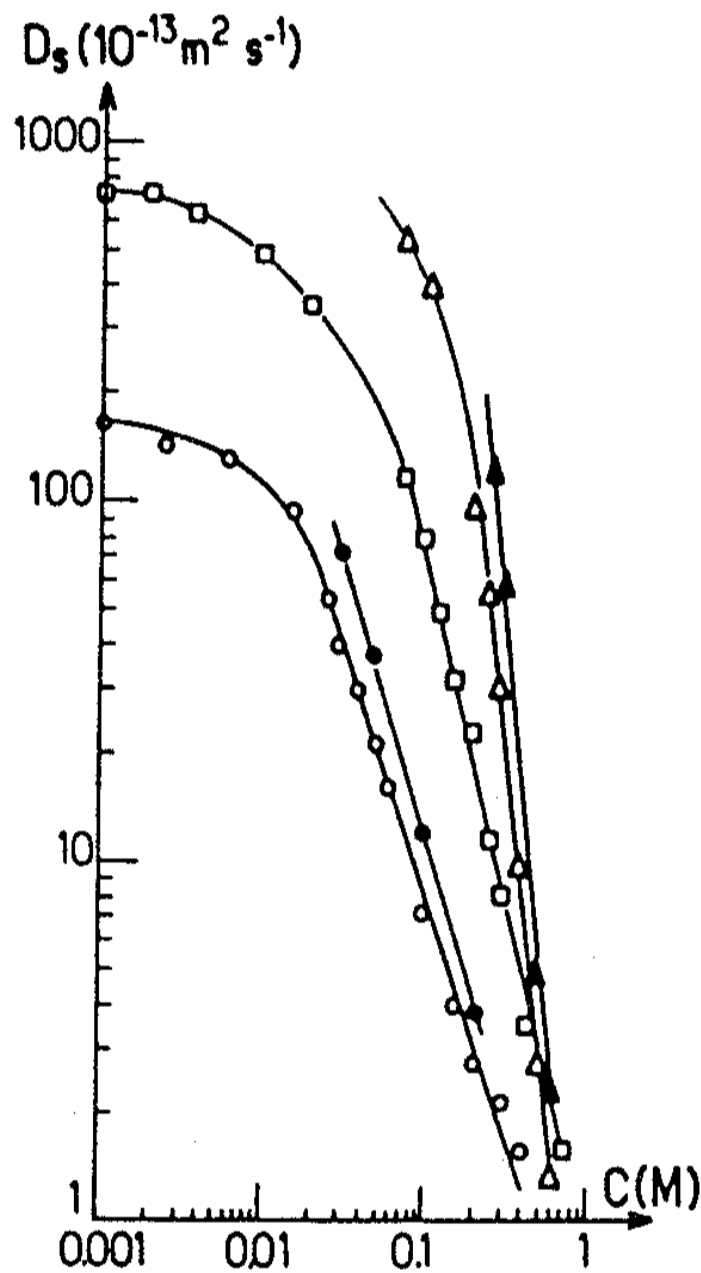


Fig.2: Coefficient d'autodiffusion d'une solution de CTAB dans de l'eau salée, les concentrations de KBr sont 0,05M (triangles), 0,1M (carrés) et 0,25 M (cercles) à 30°C (symboles creuses) et à 35 °C (symboles pleines). Au delà de la concentration d'enchevêtrement, D dépend de la concentration de CTAB par une loi de puissance, les valeurs des l'exposants sont respectivement (à 30 °C/35°C): -4,4/-4,6, -2, -1,4/-1,57. Le modèle de Cates prédit une valeur de -1,55.

La valeur α aux salinités les plus élevées est compatible avec un modèle théorique établi par Cates supposant un couplage du mouvement de reptation avec des coupures et recombinaisons des chaînes (fig.).

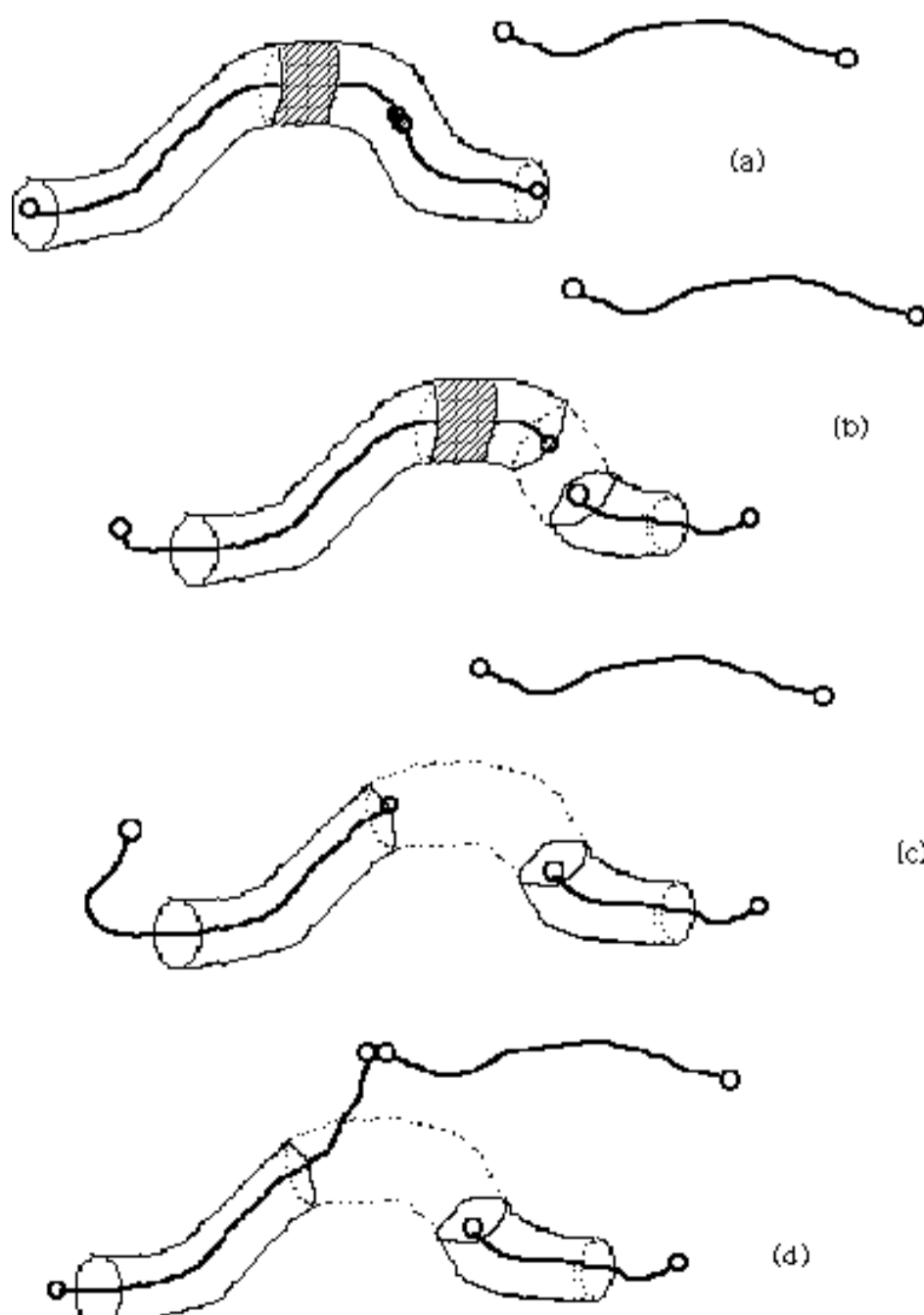


Fig. 3: Désengagement d'un segment de la chaîne du tube initial: Le désengagement de la partie hachurée a lieu si une coupure apparaît suffisamment proche pour que le nouveau bout passe par cette partie du tube avant de se perdre par recombinaison.

Vols de Lévy:

Nous avons repris des mesures d'autodiffusion par photoblanchiment dans des systèmes de micelles cylindriques de CTAB à des salinités plus élevées, ce qui offre l'avantage de rendre la concentration ionique indépendante de la concentration en tensioactif, contrairement aux premières expériences. Dans ce cas, on obtient une loi de puissance de la même forme, avec un exposant toujours différent de celui des polymères, mais en accord avec le modèle de Cates. Un comportement hyperdiffusif (distances moyennes parcourues croissant moins vite que la racine carrée du temps - jamais observé dans des systèmes non turbulents) a pu être mis en évidence à des salinités très élevées où les micelles sont très allongées. Ce phénomène a été interprété en termes de 'Vol de Lévy' en collaboration avec J. P. Bouchaud et, à notre connaissance, il constitue sa première et seule réalisation expérimentale dans un système non quantique et non dissipatif (fig).

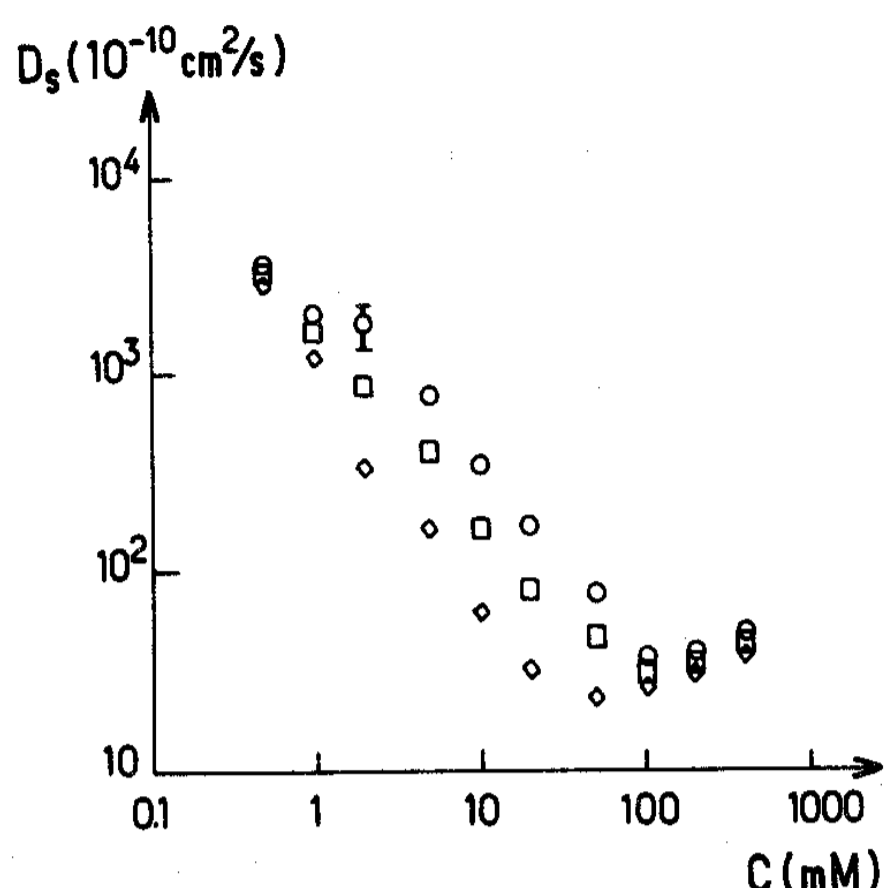


Fig.: Coefficient de diffusion pour une solution de CTAB dans 2M KBr/H₂O pour plusieurs distances caractéristiques de mesure: 89 micromètres, cercles; 20 micromètres, carrés; 3 micromètres, diamants. Le coefficient de diffusion augmente avec la distance d'observation, il s'agit d'un comportement « hyperdiffusif ».

Pendant les années 20 et 30 Paul Lévy se demandait dans quelles conditions une somme de variables distribuées au hasard et selon la même loi pouvait avoir la même distribution de probabilité que chacun de ses éléments. Ceci est une question d'échelle et du paradigme des fractales: quand une partie peut-elle avoir les mêmes propriétés que l'ensemble?

Lévy a entièrement résolu ce problème et les distributions résultantes sont maintenant appelées lois stables de Lévy. En général, les lois de Lévy comportent des densités de probabilité ayant des moments infinis et en conséquence elles ne possèdent pas d'échelle définie comme cela serait le cas pour une statistique gaussienne par exemple. Les lois de Lévy sont aujourd'hui un domaine connu en mathématique, néanmoins les applications en physique ont été très limitées du fait des moments infinies - malgré la prédiction de Kolmogorow en 1954: "It is probable that the scope of applied problems in which they [Lévy laws] play an important role will become in due course rather wide".

Le mécanisme conduisant à l'hyperdiffusion est lié à la polydispersité du système. La description de Cates du processus de diffusion ne tient compte que des micelles très allongées. Il est vrai que les micelles courtes sont peu nombreuses, mais elles peuvent diffuser rapidement et sur des grandes distances avant de se perdre par recombinaison. Leur contribution n'est pas obligatoirement négligeable, mais plus les micelles sont courtes, moins la probabilité pour que la molécule de traceur les rencontre est grande. Autrement dit il faut attendre un certain temps avant que le traceur rencontre une petite micelle:

Au cours du temps des micelles de plus en plus petites sont rencontrées par le traceur (il explore de plus en plus la gamme de micelles présentes) et de ce fait la constante de diffusion effective croît avec le temps d'observation.

On peut montrer que le modèle de Cates aboutit à une distribution de sauts pour l grand suivant:

$$P(l) = l^{-3},$$

ce qui - dans notre cas - ne conduit pas à une diffusion accélérée. Mais il suffit de légèrement changer un paramètre de son modèle comme par exemple la distribution en taille (ou dans le modèle de reptation l'exposant décrivant la dépendance du coefficient d'autodiffusion en fonction de la longueur du polymère ou le temps de survie d'une micelle) pour obtenir une distribution selon

$$P(l) = l^{-a} \text{ avec } a < 3,$$

ce qui donne lieu à un 'vol de Lévy'.

Suivant notre interprétation la diffusion redeviendra normale au bout d'un temps t où le traceur aura exploré toute la gamme de micelles de taille différente dans la solution. Ne pouvant pas augmenter le temps d'observation dans nos expériences pour vérifier cette hypothèse, nous avons alors augmenté la température. A température élevée les coupures et recombinaisons s'effectuent plus rapidement, le temps t diminue et la diffusion doit devenir normale aux échelles d'observation (fig.).

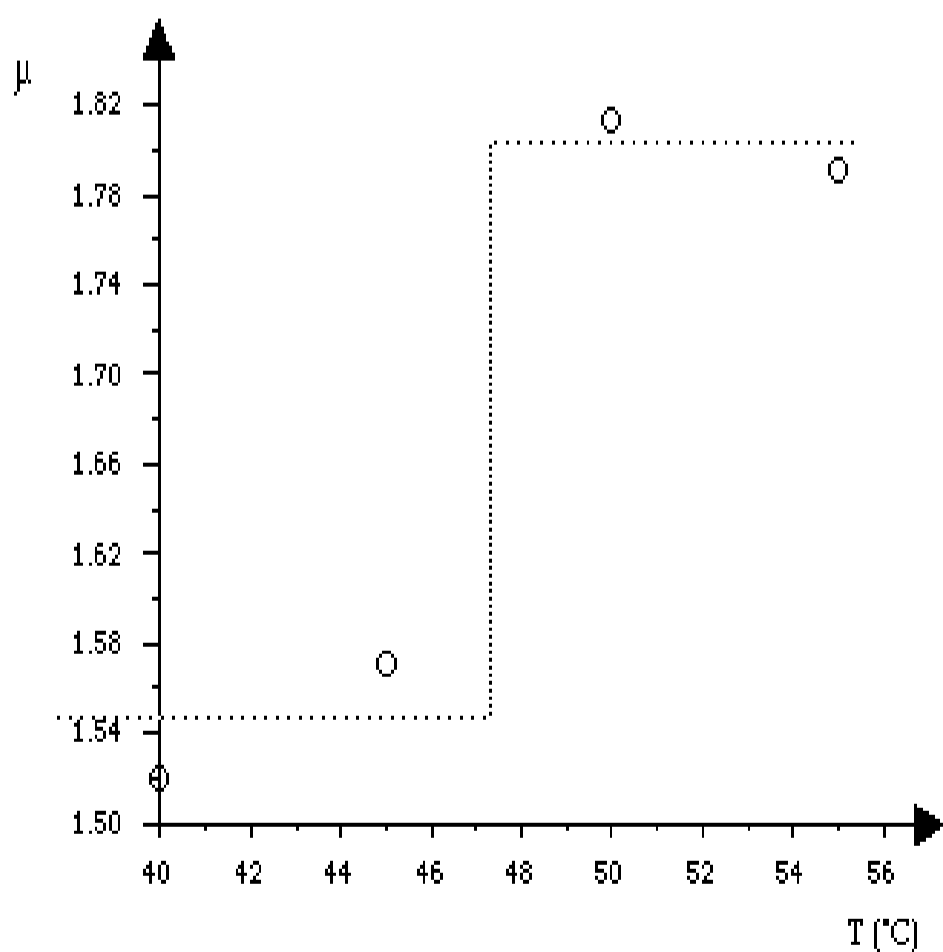


Fig.: Une diffusion normale correspond à une relation $r^2 \propto t$ ou r est la distance caractéristique de mesure et t le temps nécessaire pour y parvenir. Ici nous écrivons $r^m \propto t$ et nous montrons m en fonction de la température pour une solution de 2mM CTAB et 2M KBr

Un autre point important de notre modèle proposé est qu'un système de micelles cylindriques constitué uniquement de traceurs est stationnaire, il ne peut pas être hyperdiffusif. Pour vérifier cette hypothèse nous avons augmenté le rapport sondes fluorescentes/ CTAB à 1/40 et le caractère anormal de la diffusion diminue considérablement.

Les observations décrites ci-dessus sont seulement possibles en-dessous d'une fraction volumique d'environ 5% où le coefficient de diffusion diminue avec la concentration, en accord avec la croissance des micelles. Au delà de cette concentration le coefficient de diffusion reste constant ou augmente légèrement avec la concentration. Nous avons interprété ce résultat par la diffusion du marqueur sur la micelle qui devient plus importante que la diffusion de la micelle elle-même: le coefficient doit être constant dans le cas d'une solution de bâtonnets qui se coupent et qui se recombinaison et varier comme la puissance de 1/4 dans le cas de polymères sécables (résultat développé avec N. Morié, étudiant en thèse). Dans ce régime, la variation du coefficient de diffusion avec la température permet de connaître l'énergie d'activation d'un événement de coupure et de recombinaison en supposant un processus activé simple. Dans notre système CTAB-KBr nous retrouvons la même valeur que l'énergie de formation d'un bout mesuré par saut de température. Notons que ceci n'est pas nécessairement le cas: un événement de réorganisation des micelles ne passe pas forcément par un événement de coupure et de recombinaison. Il peut passer par des agrégats intermédiaires nécessitant une énergie d'activation plus faible. Ceci est probablement la raison pour laquelle le modèle des "living polymers", établi par M. Cates, s'applique mal au comportement rhéologique des solutions de micelles cylindriques.

Les micelles préférentielles dans la solution n'obéissent pas toutes au processus de diffusion défini par Cates : il est seulement applicable aux micelles suffisamment longues. Pour les micelles plus courtes qu'une certaine longueur critique L_c on peut distinguer deux régimes :- Les micelles, dont le rayon de giration est inférieur à la taille d'enchevêtrement ξ de la solution (ou dont la longueur est inférieure à L_c) ne diffusent pas par reptation mais passent à travers les mailles du filet. Dans ce cas D est inversement proportionnel au rayon de giration R :

$$D(L) \propto \frac{1}{R(L)} \propto \left(\frac{L}{L_c}\right)^{1/2}$$

et ne varie pas beaucoup avec L . - Des micelles dont le rayon de giration est supérieur à ξ , mais qui sont suffisamment courtes pour que le temps caractéristique de reptation soit inférieur au temps de survie de la chaîne, le désengagement du tube se fait par reptation et non par coupure et recombinaison de la chaîne comme dans le modèle de Cates. La micelle la plus longue qui obéisse à ce régime est de longueur L_c donnée par la relation:

$$\tau_{break} = \tau_{rep} \left(\frac{L_c}{L}\right)^3$$

où τ_{rep} est le temps de reptation d'une chaîne de longueur moyenne \bar{L} ; le membre de droite est le temps de reptation d'une chaîne de longueur L_c . Il s'ensuit que

$$L_c = \bar{L} \frac{\tau_{break}}{\tau_{rep}} = \bar{L} \zeta^{1/3}$$

Le coefficient de diffusion de ces chaînes est seulement déterminé par la reptation et il décroît fortement de leur longueur (fig 1):

$$D_{rep}(L) = D_0 \left(\frac{L_c}{L}\right)^2$$

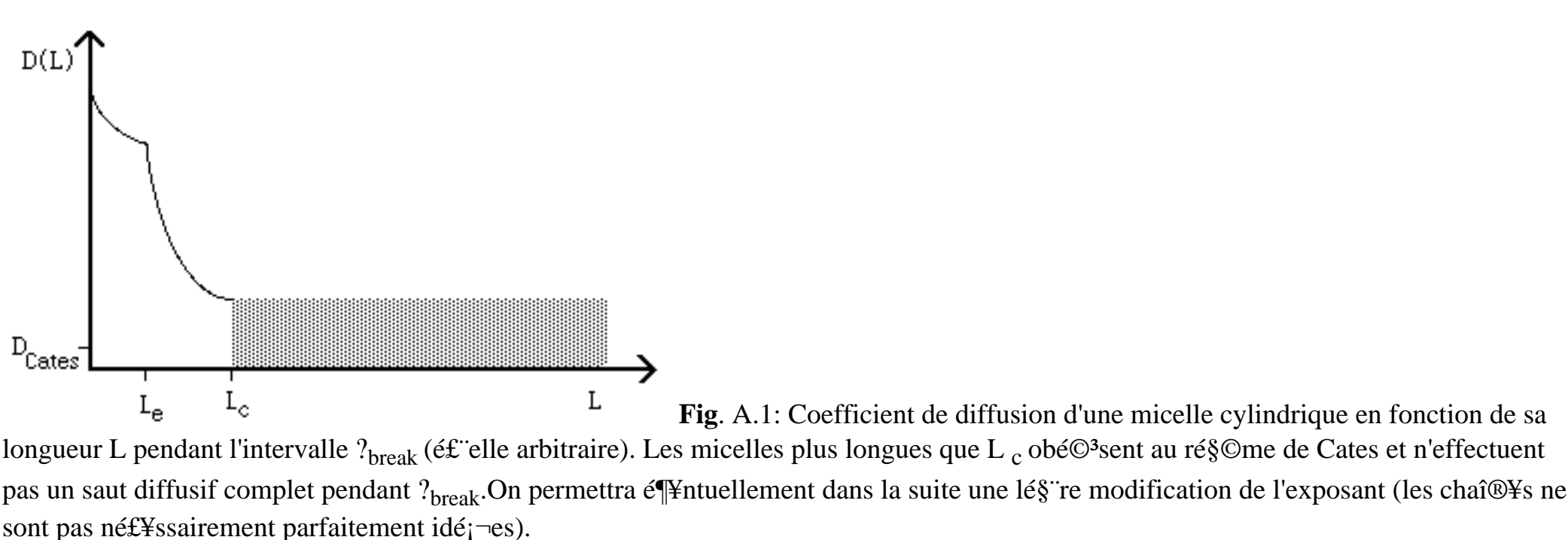


Fig. A.1: Coefficient de diffusion d'une micelle cylindrique en fonction de sa longueur L pendant l'intervalle τ_{break} (éventuellement arbitraire). Les micelles plus longues que L_c obéissent au régime de Cates et n'effectuent pas un saut diffusif complet pendant τ_{break} . On permettra éventuellement dans la suite une légère modification de l'exposant (les chaînes ne sont pas nécessairement parfaitement idéales).

$$D_{rep}(L) = D_0 \left(\frac{L_c}{L}\right)^{2\beta}$$

où β est supposé voisin de l'unité. La concentration d'équilibre de micelles de longueur L est selon le modèle de Cates de la forme:

$$N(L) \propto \exp[-L/\bar{L}]$$

où \bar{L} est la longueur moyenne des micelles (voir chapitre 'Polymères Vivants'). Elle est reliée à la concentration micellaire totale ϕ par:

$$\phi = \int_0^\infty dL L N(L) = \bar{L}^2$$

(Ici L est une longueur réduite sans dimension en unité de rayon micellaire $\approx 25 \text{ \AA}$). On utilisera une distribution d'équilibre légèrement modifiée

$$N(L) \propto L^{-2\sigma} \exp[-L/\bar{L}]$$

où σ est petit et positif. Cette distribution est classique dans les agrégats de percolation. Dans le cas des micelles cylindriques la probabilité de coupure peut être supposée plus grande près des bouts qu'au centre et ceci modifie la distribution en taille dans ce sens. La probabilité d'une molécule d'appartenir à une micelle de taille L devient:

$$P(L) \approx \phi^{-1} L^{1-2\sigma} \exp[-L/\bar{L}]$$

(le préfacteur ϕ^{-1} provient de la condition de normalisation : $\int P(L) = 1$).

Les chaînes de taille L avec $L_c < L < L_c$ diffusent typiquement sur une distance l pendant leur temps de vie τ_{break} :

$$l(L) \approx [D_{rep}(L) \tau_{break}]^{1/2}$$

$$l(L) \approx \left[D_0 \left(\frac{L_c}{L}\right)^{2\beta} \tau_{break} \right]^{1/2}$$

ce qui peut s'écrire: $l(L) \approx l_0 L^{-\beta}$; $l_0^2 = D_0 \tau_{break} L_c^{2\beta}$. La probabilité de faire un saut de longueur l , $P(l)$, est donnée par une distribution gaussienne autour de la valeur moyenne de largeur $2D(L) \tau_{break}$:

$$P(l) = 2 \int_0^\infty dL d^3x P(L) \delta[x - l(\tau_{break} D(L))] \left(\frac{1}{2\pi D(L) \tau_{break}}\right)^{3/2} \exp\left[-\frac{x^2}{2D(L) \tau_{break}}\right]$$

$$P(l) = 2 \int_0^\infty dL P(L) \left(\frac{1}{2\pi l(L)}\right)^{1/2} \exp\left[-\frac{l^2}{2l(L)}\right]$$

où $l = D(L) \tau_{br}$. Le comportement asymptotique de cette expression est donné par:

$$P(l) = P(L) \frac{dL}{dl}$$

Avec

$$L \propto \left(\frac{l}{l_0}\right)^{-1/\beta}$$

on obtient

$$\frac{dL}{dl} \propto l_0^{1/\beta} \frac{1+\beta}{l^{1+\beta}}$$

et

$$P(l) \approx \phi^{-1} L^{(1-2\sigma)} \approx \phi^{-1} \left(\frac{l}{l_0}\right)^{-\frac{1-2\sigma}{\beta}}$$

(L est supposé petit devant \bar{L} , et le terme exponentiel est négligé à l'unité)

$$P(l) = P(L) \frac{dL}{dl} \propto \phi^{-1} l_0^\mu l^{-(1+\mu)}$$

où $\mu = 2(1-\sigma)/\beta$.

Il a été montré dans le chapitre "diffusion" que le saut le plus long effectué en N pas est:

$$l_m \approx N^{1/\mu}$$

La moyenne du carré de la distance parcourue en N sauts, $R^2(N)$, est donnée par :

$$R^2(N) \propto N \int_0^{l_m} dl l^2 P(l)$$

Dans notre cas:

$$R^2(N) \propto N \int_0^{l_m} dl l^{2-(1+\mu)} = \begin{cases} N^{2/\mu} & \text{si } \mu < 2 \\ N & \text{si } \mu > 2 \end{cases}$$

Dans un intervalle de temps donné une molécule fait $N \tau_{break}$ sauts, ce qui veut dire que:

$$R^2 \approx t \text{ si } \mu < 2 \text{ et } R^2 \approx t \text{ si } \mu > 2$$

Le cas 'classique' ($\sigma=1, \beta=0$) correspond à $\mu=2$, ce qui conduit à une divergence logarithmique (voir ci dessus). Une légère modification de ces valeurs peut entraîner la diffusion anormale, pour $\mu=1, \beta=1/4$ par exemple on retrouve l'exposant $\mu=1,5$. On verra plus loin que cette valeur a été observée dans nos expériences. On ne peut observer la diffusion anormale que sur des échelles de temps limitées; en effet, une fois le saut le plus long effectué le marqueur ne peut plus emprunter de micelles plus rapides et le processus devient stationnaire. La chaîne la plus rapide a pour longueur L_c (il faut se rappeler que pour des chaînes encore plus petites, D ne varie pas suffisamment avec la taille pour que la diffusion soit anormale). Le nombre de sauts pour arriver à une chaîne de cette longueur est donné par la condition:

$$L(l_m(N)) \approx L_c$$

et le temps nécessaire pour y arriver là est $t_c = N \tau_{break}$. On voudrait que le saut de longueur l_m soit obtenu une fois dans N pas:

$$N \int_0^{l_m} dl P(l) = 1$$

soit

$$N \int_0^{l_m} dl l_0^\mu \phi^{-1} l^{-(1+\mu)} = 1$$

où

$$l_m = N^{1/\mu} \phi^{-1/\mu} l_0^{-1/\mu}$$

Comme

$$l_m = l_0^{-1} L_c^{-\beta}$$

$$N = \phi L_c^{-\beta\mu}$$

donc $t_c = \tau_{break} L_c^{-2(1-\beta)/\mu}$. Nous pouvons calculer le coefficient de diffusion pour des temps plus longs que t_c . Dans ce cas les contributions des chaînes courtes et longues s'ajoutent :

$$D \approx \tau_{break}^{-1} \int_{L_c}^{L_0} dL l^2(L) P(L) + D_{rep} \zeta^{-1/3} \int_{L_1}^\infty dL P(L)$$

$$\zeta = \frac{\tau_{break}}{\tau_{rep}}$$

Si $\bar{L} \gg L_c$, le premier terme (chaînes courtes) peut s'écrire :

$$\tau_{break}^{-1} \int_{L_c}^{L_0} dL l^2(L) P(L) = \tau_{break}^{-1} l_0^{2\beta} \phi^{-1} \int_{L_c}^{L_0} dL L^{2\beta} L^{1-2\sigma}$$

$$= D_0 L_c^{2\beta} \phi^{-1} \left[\frac{1}{2(1-\sigma-\beta)} L^{2(1-\sigma-\beta)} \right]_{L_c}^{L_0}$$

$$= D_{rep} \bar{L}^{-2\beta} \frac{2\sigma-2}{L} \left[\frac{1}{2(1-\sigma-\beta)} L^{2(1-\sigma-\beta)} \right]_{L_c}^{L_0}$$

$$\approx D_{rep} \left(\frac{\bar{L}}{L_c}\right)^{2(\sigma+\beta-1)}$$

car $\sigma < 2$ (cas de la diffusion anormale accélérée) impose $2(\sigma+\beta-1) > 0$, et

$$\left(\frac{\bar{L}}{L_c}\right)^{2(\sigma+\beta-1)} \gg \left(\frac{\bar{L}}{L_c}\right)^{2(\sigma+\beta-1)}$$

Le deuxième terme (chaînes longues) peut s'écrire :

$$D_{rep} \zeta^{-1/3} \int_{L_1}^\infty dL P(L) = D_{rep} \zeta^{-1/3} \left(1 - \int_0^{L_1} dL P(L) \right)$$

$$= D_{rep} \frac{\bar{L}}{L_c} \left(1 - \left(\frac{L_c}{\bar{L}}\right)^{2-2\sigma} \right)$$

$$\approx D_{rep} \left(\frac{\bar{L}}{L_c}\right)$$

et le coefficient de diffusion pour un monomère devient:

$$D \approx D_{rep} \left(\frac{\bar{L}}{L_c}\right)^{2(\sigma+\beta-1)} + D_{rep} \left(\frac{\bar{L}}{L_c}\right)$$

la contribution des chaînes courtes (le premier terme) domine si :

$$L_c \ll L_c \left(\frac{\bar{L}}{L_c}\right)^{1-\gamma}$$

$$\text{avec } \gamma = (2(\sigma+\beta-1))^{-1}$$

Avec la distribution en taille modifiée $\beta=1/4, \sigma=1, \beta=2$; la condition pour observer la diffusion anormale devient:

$$L_c \ll \frac{L_c^2}{L} \text{ ou } \frac{L_c}{L} \ll \zeta^{2/3}$$

Publications :

R.Messenger, A.Ott,D.Chatenay, W.Urbach et D.Langevin : "Are giant micelles living polymers?" Phys. Rev. Lett. 60, 1988, 1410.

A.Ott, W.Urbach, D. Langevin, P.Schurtenberger, R. Scartazzini, P.L. Luisi:
"A self-diffusion study of polymer-like micelles" J.Phys. : Condens. Matter
2, 1990, 5907.

A.Ott, J.P. Bouchaud, D. Langevin, W. Urbach, "Anomalous diffusion in living polymers : a genuine Levy flight ? " Phys.Rev.Lett. 65, 1990, 2201.

A. Ott, J.P.Bouchaud, D.Langevin, W. Urbach: "Les vols de Levy ou la diffusion non brownienne", La Recherche, 230 , 1991, 378.

A.Ott, J.P.Bouchaud, D.Langevin, W.Urbach: "Anomalous diffusion in elongated micelles and its Levy flight interpretation" J.Phys. II France 1, 1991, 1465.

A. Khatory, F. Kern, F. Lequeux, J. Appel, G. Porte, N. Morie, A. Ott, W. Urbach:
"Entangeld versus multiconnected network of wormlike micelles"
Langmuir, 9, 1993, 933

A. Ott, N. Morie, J.P. Bouchaud, W. Urbach, D. Langevin: "Self-diffusion of polymer-like micelles" J. de Physique IV, 3, 1993, 91.

A.Ott, J.P.Bouchaud, D.Langevin, W.Urbach: "Collective Diffusion of "Living Polymers"" J. Phys II (France) 7, 1997, 1099-1109.