

# Los parámetros mecánicos de la Membrana controlan la Fisión mediada por Dinamina

S.Morlot<sup>†,‡</sup>, V.Galli<sup>†</sup>, M.Klein<sup>‡</sup>, J.Manzi<sup>‡</sup>, F.Humbert<sup>†</sup>, L.Dinis<sup>\*</sup>, M.Lenz<sup>‡</sup>, G.Capello<sup>‡</sup>, A.Roux<sup>†,‡</sup>  
*Dpto. Física Atómica, Molecular y Nuclear (UCM) y GISC*

La dinamina es una proteína helicoidal con actividad GTPasa que constriñe el cuello de las invaginaciones cubiertas de clatrina hasta conseguir su fisión.

Aunque la bioquímica de la dinamina está mejor caracterizada que para otros sistemas de fisión, la física de la fisión no se conoce bien. En particular, las condiciones mínimas para la fisión todavía son controvertidas ya que la presencia de dinamina es necesaria pero no suficiente, como muestran varios experimentos<sup>1,2</sup>. Estos resultados apuntan además a una más que probable influencia de los parámetros mecánicos de la membrana en el proceso de fisión.

Para estudiar cómo la mecánica de la membrana controla la fisión, se diseñó un experimento en el que a partir de una Vesícula Unilamellar Gigante (GUV) se extrae un nanotubo de membrana mediante pinzas ópticas (figura 1). La tensión  $\sigma$  se controla mediante la aspiración en la micropipeta que mantiene la GUV. Finalmente, el valor del módulo de flexión  $\kappa$  se puede controlar modificando la composición lipídica de la membrana utilizada en el experimento. Para iniciar la reacción de fisión, se inyectan simultáneamente una dinamina marcada con Alexa488 y GTP. El tiempo de fisión se mide controlando la fluorescencia de la dinamina-Alexa488.

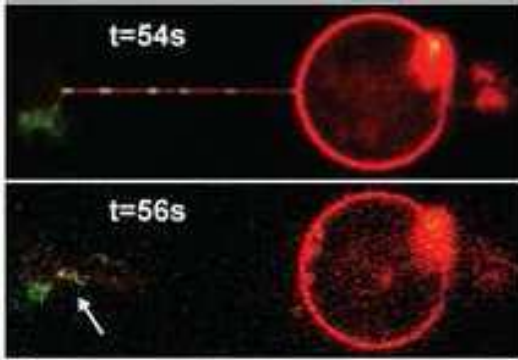


FIG. 1. Imagen confocal de la GUV y el tubo con la membrana en rojo y de la dinamina en verde, marcada con Alexa488. Arriba, nanotubo parcialmente cubierto con dinamina. Abajo, fisión del nanotubo tras 56 segundos.

Los datos muestran los tiempos de fisión se distribuyen exponencialmente y que el tiempo promedio disminuye con la tensión aplicada y crece con el módulo de flexión. Por otra parte, el logaritmo del tiempo medio de fisión decrece linealmente con el logaritmo de la concentración de GTP.

En este trabajo mostramos cómo, a pesar de la complejidad de la maquinaria biológica involucrada, las tendencias observadas pueden explicarse mediante la física de la deformación de la membrana. Para ello, modelamos la

fisión como una transición entre dos estados controlada por una barrera energética que se puede sobrepasar mediante fluctuaciones térmicas espontáneas. Dicha barrera tiene su origen en la energía necesaria para constreñir el cuello de membrana que une el nanotubo recubierto de dinamina con el resto de la membrana y puede evaluarse una vez conocida la forma de la membrana. Para calcular la forma de la membrana se ha de minimizar el Hamiltoniano de Canham-Helfrich<sup>3</sup> que representa la energía de la membrana en función de su curvatura y tensión superficial. La teoría predice un comportamiento del tiempo medio de fisión:

$$\langle t_f \rangle \simeq \tau e^{\frac{b\kappa^{3/2}}{\sqrt{\sigma}kT}}, \quad (1)$$

expresión que puede utilizarse para ajustar todos los datos experimentales, como se muestra en la figura 2.

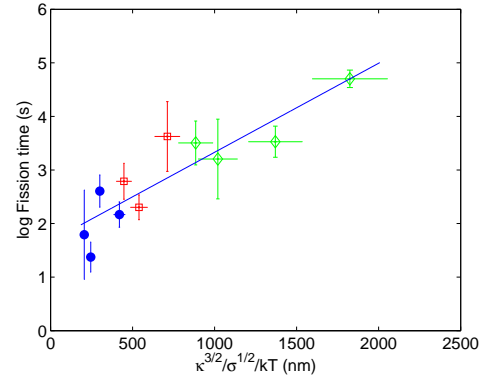


FIG. 2. Datos experimentales para distintos valores de tensión y módulos de flexión y ajuste a la expresión teórica. Puntos azules: EggPC + PI(4,5)P<sub>2</sub>, cuadrados rojos: EggPC + Cholesterol + PI(4,5)P<sub>2</sub>, rombos verdes: Esfingomielina + PI(4,5)P<sub>2</sub>

\* ldinis@fis.ucm.es

<sup>†</sup> Biochemistry Department, University of Geneva, CH-1211 Geneva, Switzerland.

<sup>‡</sup> Swiss National Centre for Competence in Research Programme Chemical Biology, CH-1211 Geneva, Switzerland.

<sup>‡</sup> Institut Curie, Centre de Recherche; CNRS, UMR 168; y UPMC, F-75248 Paris, France.

<sup>‡</sup> James Franck Institute, University of Chicago, IL-60637 Chicago, U.S.A.

<sup>1</sup> Danino, D., Moon, K.H., and Hinshaw, J.E., J Struct Biol **147**, 259 (2004)

<sup>2</sup> Roux, A., Uyhazi, K., Frost, A., and De Camilli, P., Nature **441**, 528 (2006).

<sup>3</sup> Helfrich, W., Zur Naturforschung **28c**, 693 (1973)